



Norges miljø- og
biovitenskapelige
universitet

Masteroppgave 2023 30 stp

Fakultet for kjemi, bioteknologi og matvitenskap

Tove G. Devold

Endringer i FODMAP-innholdet under surdeigsfermentering og steking av brød basert på ulike hvetetyper dyrket i Norge

Changes in FODMAP content during sourdough
fermentation and baking of bread based on wheat
varieties grown in Norway

Henriette Holmsen

Matvitenskap

Forord

Denne oppgaven er skrevet i forbindelse med avslutning av min toårige mastergrad i matvitenskap og ernæring ved fakultetet for kjemi, bioteknologi og matvitenskap på Norges miljø- og biovitenskapelige universitet (Ås, Norge). Oppgaven utgjør 30 studiepoeng og forsøkene i masteroppgaven ble gjennomført i løpet av januar-april 2023. Det har vært et spennende, krevende og ikke minst lærerikt halvår og jeg vil rette en stor takk til alle som har gjort denne oppgaven mulig.

Først og fremst vil jeg takke til min hovedveileder Tove G. Devold og biveileder Catrin Tyl for faglig oppfølging og veiledning. Dere har vist en stor interesse for oppgaven og har alltid vært behjelpelig når jeg har stått fast. Jeg vil også rette en stor takk til Hilde Østlie for hjelp til planlegging av vekst- metabolismeforsøkene og diskusjon i etterkant. En takk til biveileder Tora Asledottir som kom med forslaget til oppgaven og analyser som kunne gjennomføres.

I tillegg vil jeg rette en stor takk til Emilie Gullberg Jørgensen for all hjelp rundt det praktiske på laboratoriet. En takk må også rettes til senioringeniør Kari Olsen for hjelp med HPL-analyser, og alle dere andre på laben for all hjelp og hyggelige samtaler.

Til slutt vil jeg gi en takk til samboer, familie, kollegaer og venner for all støtte og oppmuntrende ord denne våren.

Norges miljø- og biovitenskapelige universitet
Fakultet for kjemi, bioteknologi og matvitenskap
Ås, 14. mai 2023

Henriette Holmsen

Sammendrag

Fermenterbare oligo-, di- og monosakkarider og polyoler (FODMAP) har vist seg å forverre symptomene på irritabelt tarm-syndrom (IBS). Den eneste behandlingen for å unngå denne lidelsen er å redusere inntaket av FODMAPs i kostholdet. Fermentering har blitt foreslått som en bearbeiding av hvetebaserte produkter for å redusere innholdet av FODMAPs som fruktan og raffinose. Disse karbohydratene har vist seg å være hovedbidraget til oligosakkaridene som utgjør FODMAPs i hvetebaserte produkter. Det finnes produkter med lavere innhold av FODMAPs på markedet, men disse er ofte glutenfrie med lavt kostfiber innhold og dårligere sensoriske egenskaper. Det har blitt vist i studier at fermentering av hvetebaserte produkter gir et lavere innhold av FODMAPs uten at det går på bekostning av kostfiberinnholdet. Derimot er det ingen studier på norsk-dyrket varianter av moderne hvete og urkorn. Hensikten med oppgaven var å undersøke endringen av fruktan- og raffinoseinnhold i norsk-dyrket moderne hvete og urhvete under surdeigsfermentering. I denne oppgaven ble surdeigsbrød laget med mel av fire norsk-dyrket moderne hvetetyper (Fram, Bastian, Børsum og Mirakel) og urhvetetyper (emmer, spelt og einkorn) ved to ulike inkuberingsbetingelser (22 °C i 12 timer og 4 °C i 41 timer). Det ble også inkludert vekst- og metabolismeforsøk som måling av organiske syrer, maltose, glukose og fruktose, pH og bestemt celletall for gjær og melkesyrebakterier. Resultatene viste at fruktaninnholdet i mel varierte fra 1,296 til 0,913 g/100g i henholdsvis Mirakel og einkorn. Raffinoseinnholdet var lavere og varierte fra 0,596 til 0,292 g/100g i henholdsvis emmer og einkorn. Fermentering hadde en signifikant effekt på reduksjon av fruktan og raffinose for alle hvetetypene. Nedbrytningen var mest effektiv for fermenterte deiger ved 22 °C i 12 timer. Ved denne inkuberingsbetingelsen ble det også produsert mest melkesyre og eddiksyre, samtidig høyest reduksjon i pH og funnet høyest celletall for melkesyrebakterier og gjær. Derimot viste steking av brød kun en signifikant reduksjon i fruktan og raffinose for noen av hvetetypene. Konsentrasjonen av maltose, glukose og fruktose ble målt ved to typer HPLC-metoder. Det var variasjon i konsentrasjonen av maltose og glukose, men begge metodene viste den samme trenden hvor karbohydratene ble i størst grad metabolisert i surdeigene fermentert ved 22 °C. Derimot var det større forskjeller i målt fruktose for metodene for hvetetypene fermentert ved 22 °C og 4 °C. Hvor fruktose ble akkumulert ved en av metodene og metabolisert ved den andre metoden.

Abstract

Fermentable oligo-, di- and monosaccharides and polyols (FODMAPs) have been shown to worsen the symptoms of irritable bowel syndrome (IBS). The only treatment to avoid this disorder is to reduce the intake of FODMAPs in the diet. Fermentation has been proposed as a processing method of wheat-based products to reduce the content of FODMAPs such as fructans and raffinose. These carbohydrates have been shown to be the main contributor to the oligosaccharides that make up FODMAPs in wheat-based products. There are products with a lower content of FODMAPs on the market, but these are often gluten-free with a low dietary fiber content and poorer sensory properties. It has been shown in studies that fermentation of wheat-based products results in a lower content of FODMAPs without compromising the dietary fiber content. However, there are no studies on Norwegian wheat varieties. The aim of this project was to investigate the change in fructan and raffinose content in Norwegian grown modern wheat and ancient wheat types during sourdough fermentation. Sourdough bread was made with flours of four Norwegian grown modern wheat types (Fram, Bastian, Børsum and Mirakel) or ancient wheat types (emmer, spelt and einkorn) at two different incubation conditions (22 °C for 12 hours and 4 °C for 41 hours). Growth and metabolism experiments were also included, such as measurement of organic acids, maltose, glucose and fructose, pH measurement and cell count for yeast and lactic acid bacteria. The results showed that the fructan content in flour varied from 1.296 to 0.913 g/100g in Mirakel and einkorn respectively. The raffinose content was lower and varied from 0.596 to 0.292 g/100g in emmer and einkorn respectively. Fermentation had a significant effect on the reduction of fructan and raffinose in all wheat samples. The degradation was most effective in sourdoughs incubated at 22 °C for 12 hours. Under this incubation condition, the most lactic acid and acetic acid were also produced, at the same time the highest reduction in pH and the highest cell count measured for lactic acid bacteria and yeast. Baking bread only showed a significant reduction in fructan and raffinose for some of the wheat types. The concentration of maltose, glucose and fructose were measured by two types of HPLC methods. There was variation in the concentration of maltose and glucose, but both methods showed the same trend where most of the carbohydrates were metabolized in the sourdoughs incubated at 22 °C. In contrast, there were greater differences in measured fructose for the methods for the wheat samples fermented at 22 °C and 4 °C. Where fructose was accumulated by one method and metabolized by the other method.

Innhold

Forord	I
Sammendrag	II
Abstract	III
1. Innledning	1
2. Teori	3
2.1 Korn.....	3
2.1.1 Hvetekornets oppbygning.....	3
2.1.2 Moderne hvete.....	4
2.1.3 Urhvete.....	5
2.2. Oligosakkarider i hvete.....	6
2.2.1 Fruktan.....	6
2.2.2 Raffinose-familie oligosakkarider.....	9
2.3 Surdeig.....	10
2.3.1 Mikroorganismer i surdeig.....	10
2.3.2 Melkesyrebakterier.....	11
2.3.3 Eddiksyrebakterier.....	13
2.3.4 Gjær.....	13
2.3.5 Surdeigsfermenterings påvirkning på fruktan og raffinose.....	14
2.4 Hensikt med oppgaven.....	15
3. Materialer og metoder	16
3.1 Råmateriale.....	16
3.2 Opparbeidelse av brøddeig.....	17
3.2.1 Fremgangsmåte for fordeig.....	17
3.2.2 Fremgangsmåte for brøddeig.....	17
3.3 Steking av brød.....	18
3.4 Forsøksoppsett.....	19
3.5 Frysetørking.....	20
3.6 Analyse av fruktan.....	21
3.7 Analyse av raffinose-familie oligosakkarider.....	24
3.8 Vekst- og metabolismeforsøk.....	27
3.8.1 Mikrobiologiske analyser.....	27
3.8.2 Analyse av organiske syrer, maltose, glukose og fruktose.....	27
3.8.3 Analyse av maltose, glukose og fruktose.....	28
3.8.4 Måling av pH.....	29

3.9 Databehandling	29
4. Resultater	30
4.1 Analyse av fruktan- og raffinoseinnhold i mel	30
4.2 Analyse av fruktaninnhold i deig og brød	32
4.3 Analyse av raffinoseinnhold i deig og brød.....	34
4.4 Mikrobiologiske analyser av brøddeig	36
4.5 Analyse av organiske syrer og målt pH i brøddeig	37
4.6 Analyse av maltose, glukose og fruktose i brøddeig	39
4.7 PCA bi-plott.....	41
5. Diskusjon.....	42
5.1 Innhold av fruktan og raffinose i mel	43
5.2 Innhold av fruktan og raffinose i deig og brød	45
5.3 Vekst- og metabolismeforsøk av brøddeig	49
5.4 Konklusjon.....	53
6. Til ettertanke og videre arbeid.....	54
7. Referanser	55
Vedlegg	i

1. Innledning

Hvete bidrar med mellom 20 % til 50 % av det totale inntaket av kalorier i menneskers kosthold (Mattei et al., 2015). Omtrent 95 % av hveten som dyrkes globalt er *Triticum aestivum*, vanligvis kalt moderne hvete eller brødhvete. Imidlertid dyrkes det fortsatt små mengder av eldre hvetesorter som einkorn, emmer og spelt som omtales som urhvete (Shewry et al., 2022).

For noen mennesker gir hvete lidelse og redusert livskvalitet, dette kan skyldes følsomhet for hvete, glutenallergi eller irritabel-tarm syndrom (IBS). Fermenterbare oligo-, di- og monosakkarider og polyoler (FODMAPs) har vist seg å utløse irritabel tarm -syndrom (IBS) og ikke-cøliaki hvetesensitivitet (NCWS) (Boakye et al., 2022). IBS er den vanligste tarmlidelsen og er en kronisk gastrointestinal lidelse som rammer omtrent 12% av den europeiske befolkningen og er mer vanlig hos kvinner enn menn (Lovell & Ford, 2012). Symptomer på IBS er magesmerter, oppblåsthet og endret avføring kombinert med tidvis diaré (IBS-D) eller forstoppelse (IBS-C) (Hayes et al., 2014). IBS påvirker derfor pasienters livskvalitet og genererer betydelige helsekostnader. Etersom det er et høyt inntak av hvete i mange land er det stor interesse for forskning på høy- og lav-FODMAP varianter av hvete, samtidig utvikling av teknologiske strategier for å muliggjøre produksjon av hvetebaserte produkter med lavt innhold av FODMAPS. FODMAPs består av raffinose-familie oligosakkarider som raffinose, verbaskose og stakyoase, fruktan, laktose, fruktose og polyoler som sorbitol og mannitol, og surdeigsfermentering av hvete har blitt rapportert som en metode for å redusere innholdet av disse FODMAPsene i bakevarer (Boakye et al., 2022).

Denne oppgaven er skrevet i prosjektet «Undersøkelser av norske hvetetyper – mulighet for bedre utnyttelse og innovative produkter for personer med hveteintoleranse», som er finansiert av Landbruksdirektoratet. Formålet med prosjektet er å kartlegge ulike komponenter i norsk hvete som kan føre til bedre utnyttelse og innovative produkter av norske hvetetyper til nytte for personer med hveteintoleranse. I flere studier har surdeigfermentering av moderne hvete og urhvete blitt analysert. Loponen og Gänzle (2018) hevdet at bruk av spesifikke melkesyrebakterier i surdeig kan muliggjøre produksjon av brød med lavt FODMAP-innhold uten at det går utover det totale kostfiberinnholdet. Samtidig hevder Ispiryan et al. (2022) at det allerede finnes produkter med lavt FODMAP-innhold, men de er stort sett bare glutenfrie og inneholder generelt lite kostfiber og har dårlige sensoriske

egenskaper. Selv om det er flere studier som hevder at surdeigsfermentering med moderne hvete og urhvete reduserer innholdet av fruktan og raffinose, har det ikke blitt gjort studier med norsk-dyrket varianter av moderne hvete og urhvete. I denne oppgaven blir innholdet av fruktan og raffinose under surdeigsfermentering av brød analysert for ulike norsk-dyrket hvetetyper. Prosjektet vil være viktig for videre utvikling av nye norsk-dyrket hvetebaserte produkter, som har lavt innhold av fruktan og raffinose uten av det går utover næringsinnholdet. Dette vil være nyttig for IBS-pasienter og næringsmiddelindustrien, og samtidig styrke matvareberedskapen.

2. Teori

2.1 Korn

Korn har hatt en viktig rolle for menneskers og dyrs kosthold i tusenvis av år. Korn tilhører botanisk sett gressfamilien (*Gramineae*) som er delt inn i arter som hvete, bygg, rug, havre og mais. Klima og jordsmonn er avgjørende for veksten av artene. I tempererte soner er det vanlig å finne arter som hvete, bygg, rug og havre, mens i subtropiske soner er det vanlig å finne mais og ris. I Sørøst og Øst-Asia er vanntilgangen tilstrekkelig og ris er hovedveksten, mens i Afrika hvor vann er en begrensning dyrkes hovedsakelig sorghum og mais (Belderok, 2000).

I Norge dyrkes det i hovedsak hvete, bygg, havre og rug. I 2022 var 70 % av hvetemelet i Norge produsert med norsk hvete, mens de resterende 30 % var importert (Landbruksdirektoratet, 2023). Matkornpartnerskapet har som mål at 90 % av matkornet som brukes i Norge skal være norskprodusert. Etersom hvete utgjør 82 % av kornet som går til mat i Norge, er det derfor en viktig avling for å oppnå dette målet (Landbruksdirektoratet, 2023).

2.1.1 Hvetekornets oppbygning

De ulike hvetesortene har en generell oppbygning bestående av perikarp, frøskall, hyalinlag, aleuronlag, endosperm og kime, men andel av disse komponentene kan variere mellom de ulike hvetesortene (Koehler & Wieser, 2013). Endosperm-, kli- og kimlagene utgjør henholdsvis 80-85 %, 12-18 % og 2-3 % av kornets vekt. Stivelse og proteiner finnes i endospermen, mens fibre, vitaminer (B og E), mineraler og fytinsyre finnes hovedsakelig i ytre lag og kimlag (Koehler & Wieser, 2013). De botaniske lagene i hvetekli består av 6-23 % perikarp, 6-30 % frøskall, 33-52 % aleurone og 9-35 % stivelse (Hemdane et al., 2016). Den kjemiske sammensetningen av hvetekliet varierer med ulike hvetesorter, som påvirker produktene. Avhengig av hvetesort inneholder hvetekliet 14-26 % protein, 43-50 % kostfiber hvor hovedkostfiber er arabinoxylaner (17-33 %) etterfulgt av cellulose (9-14 %), fruktan (3-4 %) og β -glukan (1-3 %), videre inneholder hvetekliet 3-4 % lipid, 5-7 % aske og 12-19 % stivelse (Hemdane et al., 2016).

Protein er den nest største bestanddelen i hvete og utgjør 8-11 %. Proteinene i hvete har funksjonelle egenskaper, som er viktig i brødbakst hvor hveteproteinene glutelin og gliadin har en avgjørende rolle (Koehler & Wieser, 2013). Stivelse er et lagringskarbohydrat i hvete, og er viktig for teksturen til brødvarer. Stivelse er til stede i endospermen i granulær form og

består av amylose og amylopektin, som er vannuløselige homoglukaner. Forholdet i hvete er 25-28 % amylose og 72-75 % amylopektin (Koehler & Wieser, 2013). Amylose er lineært og består av α -(1,4)- koblede D-glukopyranosyl enheter. Amylopektin er forgrenet og består av α -(1,4)- koblede D-glukopyranosyl enheter som er bundet sammen via α -(1,6)-glykosidbindinger (Li et al., 2017). Endogene og mikrobielle enzymer bryter ned stivelse i hvete. De splitter glykosidbindingene inne i polysakkaridet (endohydrolaser), eller ved enden av kjeden (eksohydrolaser). Den viktigste eksohydrolasen er α -amylase som hydrolyserer α -(1,4)- bindingene i både amylose og amylopektin, som resulterer i dannelse av dekstriner, maltose og oligosakkarider. Den viktigste endohydrolasen er β -amylase som hydrolyserer α -(1,4)-glukosidbindinger fra den ikke-reduserende enden på polysakkaridene som resulterer i produksjon av maltose. Deforgreningsenzymer bidrar også med å bryte α -(1,6)-glukosidbindingene mellom kjedene i amylopektin (Koehler & Wieser, 2013)

2.1.2 Moderne hvete

Moderne hvete er den dominerende avlingen etter mais og ris, og kan dyrkes både vår og høst (Shewry, 2009). Moderne hvete oppsto for ca. 9000 år siden ved hybridisering av dyrket emmer med vilt «geitegress». Moderne hvete er en heksaploid art med tre genomer (AABBDD). Det er over 25 000 forskjellige arter og disse typene er både forskjellig i deres tilpasninger til lokale miljøer, men også i sammensetning av bioaktive komponenter. Tilpassningsevnen og høyt utbytte er en av suksessfaktorene til hvete. Forutsatt at det er tilstrekkelig tilgang til vann og næringsstoffer, samtidig kontroll av patogener kan utbytte av avlingen overstige 10 tonn per ha⁻¹ (Shewry, 2009).

Proteinene til hvete er klassifisert i fire fraksjoner (albuminer, globuliner, prolaminer og gluteliner) basert på deres løselighet (Koehler & Wieser, 2013). Albuminer er løselig i vann, mens globuliner er uløselig i rent vann, men løselig i saltløsninger. Prolaminer og gluteliner er løselig i vandige alkoholer. De fleste albuminer og globuliner er enzymer eller enzymhemmere. Derimot er prolaminer og gluteliner lagringsproteinene til korn (Koehler & Wieser, 2013). Prolaminfraksjonen i hvete kalles gliadin og glutelinfraksjonen kalles glutelin. Disse to proteinene blir kombinert til det som kalles gluten eller glutenproteinene. Egenskapene til disse glutenproteinene i hvete er nøkkelfaktoren for at hvete er mye brukt i bakevarer inkludert kjeks og kaker (Cauvain, 2015). Innholdet av gluteliner er høyere enn gliadiner som gir moderne hvete bedre bakeegenskaper sammenlignet med urhvete (Cauvain, 2015). Gliadiner er små hydrofobe monomerer, mens glutelin er hydrofobe polymere med disulfidbindinger. Når lagringsproteiene i hvete blir hydrert danner gliadin og glutelin et

nettverk som utvikles ved elting av deigen. Gliadin danner en viskøs struktur, mens glutelin danner en elastisk struktur som ved nettverksbygging kalles en viskoelastisk struktur. Denne strukturen er blant annet viktig for å beholde karbondioksid i deigen som utvikles av gjæren under fermentering (Cauvain, 2015).

2.1.3 Urhvete

Urhvete ble dyrket for 10 000 år siden, som en del av den «neolittiske revolusjonene». Dette var en del av overgangen fra jakt etter mat til bosatt jordbruk. De første artene var diploid (genom AA) einkorn (*Triticum monococcum*), tetraploid (genom AABB) emmer (*Triticum dicoccum*) og heksaploid (AABBDD) spelt (*Triticum spelta*). Sannsynligvis stammer einkorn og emmer fra den sørøstlige delen av Tyrkia hvor emmer oppsto ved spontan hybridisering av stamfaren til einkorn med en beslektet art av vilt gress (Dubcovsky & Dvorak, 2007). I dag dyrkes det lite av urhvete ettersom det gir 30-60 % lavere kornavling. På en annen side er urhvete mer resistent mot soppsykdommer, bedre tilpasset ulike klimatiske forhold og krever mindre gjødsel enn moderne hvete (Longin & Würschum, 2016). På grunn av genetiske forskjeller mellom urhvete og moderne hvete har de forskjellig proteinsammensetning som gir urhvete dårligere bakeegenskaper (Shewry, 2019). Urhvete har et høyere innhold av proteiner, men et lavere innhold av gliadiner i forhold til gluteliner sammenlignet med moderne hvete. Gluteliner er viktig for egenskapene til brøddeigen og bakevolumet. Baking med urhvete gir derfor dårligere bakeytelse sammenlignet med moderne hvete (Geisslitz et al., 2018).

Det er en økende interesse for urhvete, men i litteraturen rapporteres det forskjellig i hvilken grad urhvete har produkt- og helse fordeler sammenlignet med moderne hvete (Shewry, 2018). I en studie av (Asledottir et al., 2020) ble det presentert at urkorn ved fordøyelse frigjør færre peptider med T-celle epitoper som trigger cøliaki. Inntak av urkorn har også vist ved studier på mennesker at det forbedrer pro-inflammatoriske/ antioksidant parametere (Dinu et al., 2018). Likevel mener Shewry (2018) at det ikke er mulig å fastslå om effekten urhvete viser i utvalgte studier er relatert til genetiske forskjeller eller miljø, og at det derfor er behov for ytterligere studier. En studie av Dinu et al. (2018) ser seg også enig i dette og mener det derfor er for tidlig å konkludere med at urhvete har flere positive helseeffekter sammenlignet med moderne hvete. Derimot er det en klar enighet i litteraturen om at urhvete har et høyere innhold av karotenoidet lutein enn moderne hvete, som gir gulfarge (Shewry & Hey, 2015).

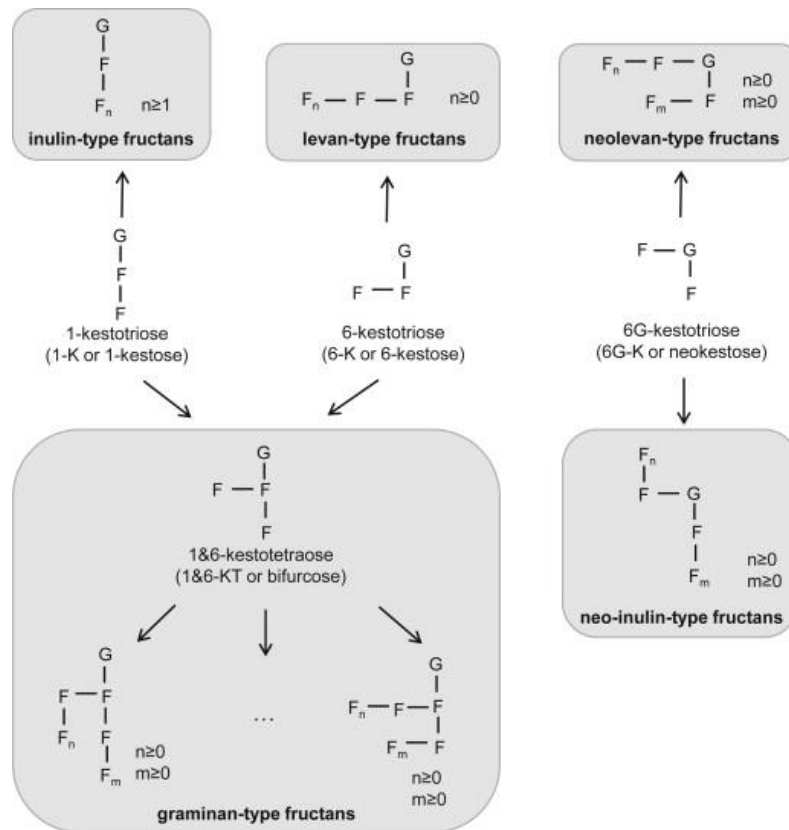
2.2. Oligosakkarider i hvete

Oligosakkarider er karbohydrater bestående av 2 til 10 eller 2 til 20 monosakkarider bundet sammen ved hjelp av glykosidbindinger. Er det flere enn 20 monosakkarider bundet sammen kalles det et polysakkarid (Huber, 2017).

2.2.1 Fruktan

Fruktan finnes i matvarer som hvete, pære, jordskock, løk og belgfrukter (Ziegler et al., 2016). Hvor fruktan i hvete er hovedbidragsyteren til daglig konsumert FODMAPs (Gibson & Shepherd, 2010). I hvete finnes fruktan i kliet og endospermen, men i en studie av Haskå et al. (2008) ble det observert høyere nivåer av fruktan i kliet enn i endospermen. Fullkorns hvetemel inneholder derfor høyere nivåer av fruktan enn siktet hvetemel, som også har blitt bekreftet av Verspreet et al. (2012) og Pejcz et al. (2019). Fruktan er et lagringskarbohydrat og under normale forhold vil det være jevn tilførsel av karbohydratet (Nyyssölä et al., 2020). Derimot under stress som tørke remobiliseres fruktan fra vegetative vev som er viktig på grunn av begrenset tilgjengelighet av fotosynat fra fotosyntesen (Ehdaie et al., 2006). Fruktan fungerer også som osmotisk regulatorer under kulde- og saltstress, og ofte er endring i karbohydratsammensetningene i hvete assosiert med økt kulde (Pilon-Smits et al., 1995).

Fruktan består hovedsakelig av β - koblede fruktosemolekyler og inneholder ingen eller en glukoseenhet. Klassifiseringen av fruktan er basert på typen fruktose- fruktosylbinding [β -(2-1) eller β -(2-6)] på kjernemolekylet (Verspreet et al., 2015). Syntetiseringen av kjernemolekylet skjer når fruktose kobles til sukrose. Avhengig av stedet hvor fruktose kobles til sukrose dannes enten 1-kestotriose, 6-kestotriose eller 6G-kestotriose. Disse fruktan trisakkaridene danner grunnlaget for syntese av fem ulike typer fruktan som har navnet inulin, levan/phlein, graminan, neo-inulin og neo-levan, som vist i figur 2.1 (Verspreet et al., 2015).



Figur 2.1. Syntese og strukturen til de fem ulike typene av fruktan: inulin, levan, graminan, neo-inulin og neo-levan. Hentet fra Verspreet, J., Dornez, E., Van den Ende, W., Delcour, J. A. & Courtin, C. M. (2015). *Cereal grain fructans: Structure, variability, and potential health effects. Trends in Food Science & Technology*, 43 (1): 32-42. doi: <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2015.01.006>.

Inulin-type fruktan syntetiseres fra 1-kestotriose, og har en lineær struktur som består av β -(2-1) koblede fruktosyl-enheter (figur 2.1). Inulin, oligofruktose og fruktoligosakkarider (FOS) er de mest kjente fruktan av inulin-typen på grunn av deres positive helseeffekter. Levan er et lineært fruktan og syntetiseres av 6-kestotriose og består hovedsakelig av β -(2-6) koblede fruktosyl-enheter. Graminan er en forgrenet polymer som består av både β -(2-1) og β -(2-6) fruktosyl-forbindelser. De fleste fruktan som finnes i korn tilhører typen graminan. Neo-inulin og neo-levan-type fruktan er bygget opp fra 6G-kestotriose og inneholder β -(2-1) og β -(2-6) bindinger (Veenstra et al., 2017).

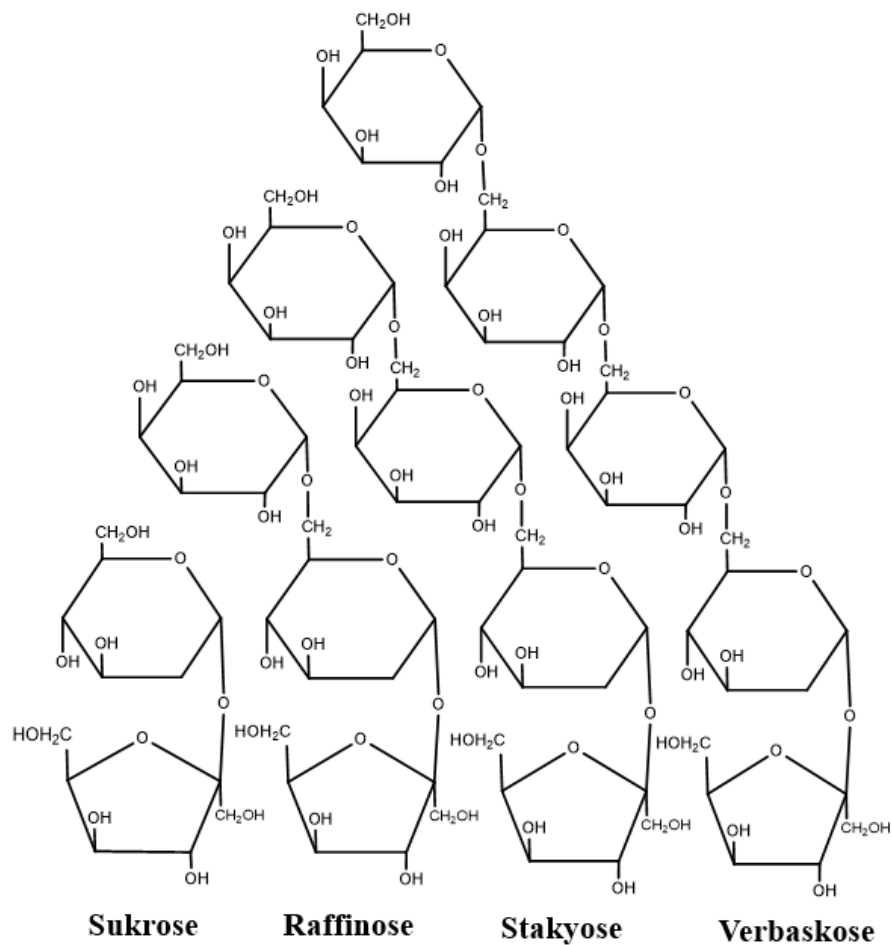
Fruktaninnholdet varierer mellom ulike kornsorter. I rug varierer fruktaninnholdet fra 3,6 % til 6,6 %, mens i hvete er innholdet fra 0,7 % til 2,9 % (Andersson et al., 2009; Huynh et al., 2008). Konsentrasjonen av fruktan i bygg og havre er lavere med henholdsvis <1,0 % og <0,5 %. Innholdet av fruktan i mais og ris er derimot nesten fraværende, og dette har en sammenheng med deres subtropiske opprinnelse (Huynh et al., 2008). Fruktaninnholdet i hvete variere også avhengig av dyrkingssted. I studien av Huynh et al. (2008) ble det rapporterte et lavere fruktaninnhold i hvete som var dyrket i drivhus sammenlignet med hvete

dyrket på åker. Dette skyldes at ved høyere temperaturer og tilstrekkelig nærings- og vanntilførsel, vil fruktanlagrene bli redusert sammenlignet med hvete dyrket på åker ved kjøligere temperaturer (Huynh et al., 2008).

Fruktan har både teknologiske og ernæringsmessige fordeler og ulemper. I brødbaking er fruktan i hvetemel en kilde til fermenterbare sukkerarter for gjær under fermenteringen. Struyf et al. (2017a) viste at hydrolysen av fruktan i hvete under brødbaking er viktig for CO₂ produksjon som utøves av gjær i de tidlige fermenteringsstadiene. Samtidig for en del av befolkningen forårsaker fruktan negative helseeffekter (Laurent et al., 2020). Fruktan blir ikke fordøyd i den øvre mage-tarmkanalen og passerer rett til tykktarmen. Der spaltes β-bindinger av bifidobakterier og andre prebiotika. Samtidig som fruktan skaper helseproblemer har de også helsefordeler ved at det fremmer veksten av probiotiske bakterier i tarmen, bedre avføringssekvens, økt opptak av mineraler og sporstoffer og økt metthetsfølelse (Kucek et al., 2015). Et forskningsprosjekt fra Rikshospitalet har vist at tilstanden ikke- cøliakisk glutensensitivitet (NCGS) er vanligere enn cøliaki. For disse pasientene er det fruktan som skaper problemer og disse pasientene har vist å ha mange av de samme symptomene som pasienter med IBS (Skodje et al., 2018). Disse pasientene opplever også gastrointestinale problemer, men også ekstraintestinale symptomer som tretthet, hodepine, angst, tåkete syn, ledd- og muskelsmerter og hudutslett. Forskning har vist at disse pasientene tester positivt for IgG-anti-gliadin-antistoffer og gener for DQ2 eller DQ8. Disse vevstypene (DQ2 og DQ8) kjennetegnes for de fleste som får diagnostisert cøliaki (Green & Jabri, 2003). Forskningen viste at det var ingen korrelasjon mellom vevstypene, som gir mangel på pålitelige sykdomsspesifikke resultater som gjør at diagnosen er vanskelig å diagnostisere (Dieterich & Zopf, 2019).

2.2.2 Raffinose-familie oligosakkarider

Raffinose-familie oligosakkarider, også kjent som galaktosyl-sukrose oligosakkarider er lagringskarbohydrater med beskyttende plantefysiologiske funksjoner i både hvete og belgfrukter (Ispiryan et al., 2020). Raffinose-familie oligosakkarider er α -galaktosyl-derivater av sukrose hvor det er α - (1 \rightarrow 6) bindinger mellom sukrose og galaktosyl-enhetene. Antall galaktose-enheter som er festet til sukrose gir opphavet til raffinose, stakiose og verbaskose, som vist i figur 2.2. Raffinose er et mono-galaktosyl derivat, stakiose di-galaktosyl derivat og verbaskose er et tri-galaktosyl derivat av sukrose (figur 2.2) (Galli et al., 2019).



Figur 2.2. Struktur av sukrose, raffinose, stakiose og verbaskose. Tegnet i ChemDraw (versjon 20.1.1).

Som kjent kan FODMAP skape helseutfordringer (Boakye et al., 2023). Mennesker mangler enzymet α -galaktosidase som kan bryte ned raffinose-familie oligosakkarider (Menezes et al., 2019). De passerer derfor direkte til nedre del av tarmen hvor de fermenteres av tykktarmens mikrobiota. Dette gir produksjon av karbondioksid, hydrogen og metan som forårsaker gastrointestinale lidelser (Ispiryan et al., 2020).

2.3 Surdeig

Å bake brød med surdeig er en gammel tradisjon og kan spores helt tilbake til oldtiden. Surdeigsbrød har fordeler i form av gode ernæringsmessige egenskaper, bærekraft, innovasjon, kulturarv og en sterk forbrukerinteresse, og er derfor et utmerket produkt for matinnovasjon. Surdeigsfermentering er en blanding av mel og vann som utvikler melkesyrebakterier og gjær (Poutanen et al., 2009). Gjær og melkesyrebakterier er viktig for den metabolske aktiviteten og bidrar til surdeigens karakteristikk og biokjemiske endringer. Dette gir teknologiske effekter som økt vannopptak, smidigere deig, bedre poredannelse, økt brødvolum og bedre smak og aroma (Katina et al., 2006). Aromakomponentene er hovedsakelig alkoholer, estere, organiske syrer, aldehyder og ketoner (Fujimoto et al., 2019).

Den metabolske aktiviteten til gjær og melkesyrebakterier kan også redusere eller øke nivåene av ulike forbindelser, forsterke eller forsinker biotilgjengeligheten av næringsstoffer som påvirker den ernæringsmessige kvaliteten i surdeig. Enzymer og justering av pH forbedrer selektiv aktivitet til visse enzymer, slik som amylaser, proteaser, peptidaser, hemicellulaser og fytaser (Fujimoto et al., 2019). Studier har vist at melkesyrebakterier og gjær i surdeig aktiverer enzymer fra korn og fremmer proteinnedbrytning (Gänzle, 2014). Disse ekstracellulære proteasene og peptidasene kan øke peptid- og frie aminosyreinnholdet i surdeig som deltar i Maillard reaksjonen under stekingen som påvirker aromaen til brødet (Gänzle, 2014).

Produksjonen av organiske syrer påvirker strukturdannende komponenter som gluten og stivelse samtidig som det påvirker brødets smak og gir en lav pH-verdi (Fujimoto et al., 2019). Mengden syrer produsert i brødet påvirkes av forholdet mellom mengden mel og vann. En høyere andel mel i forhold til vann gir økt produksjon av syrer ettersom det er mer karbohydrater tilgjengelig. Dette fører til denaturering av glutenproteiene og økt vannbindingsevne, på grunn av en positiv nettolading av proteinene i et surt miljø som gir økt intramolekylæres frastøtninger mellom glutenproteiene (Fujimoto et al., 2019). Disse sterke intermolekylære elektrostatiske frastøtende kreftene, forhindrer dannelse av nye bindinger som gir en mindre klissete deig med kortere eltetid (Galle, 2013).

2.3.1 Mikroorganismer i surdeig

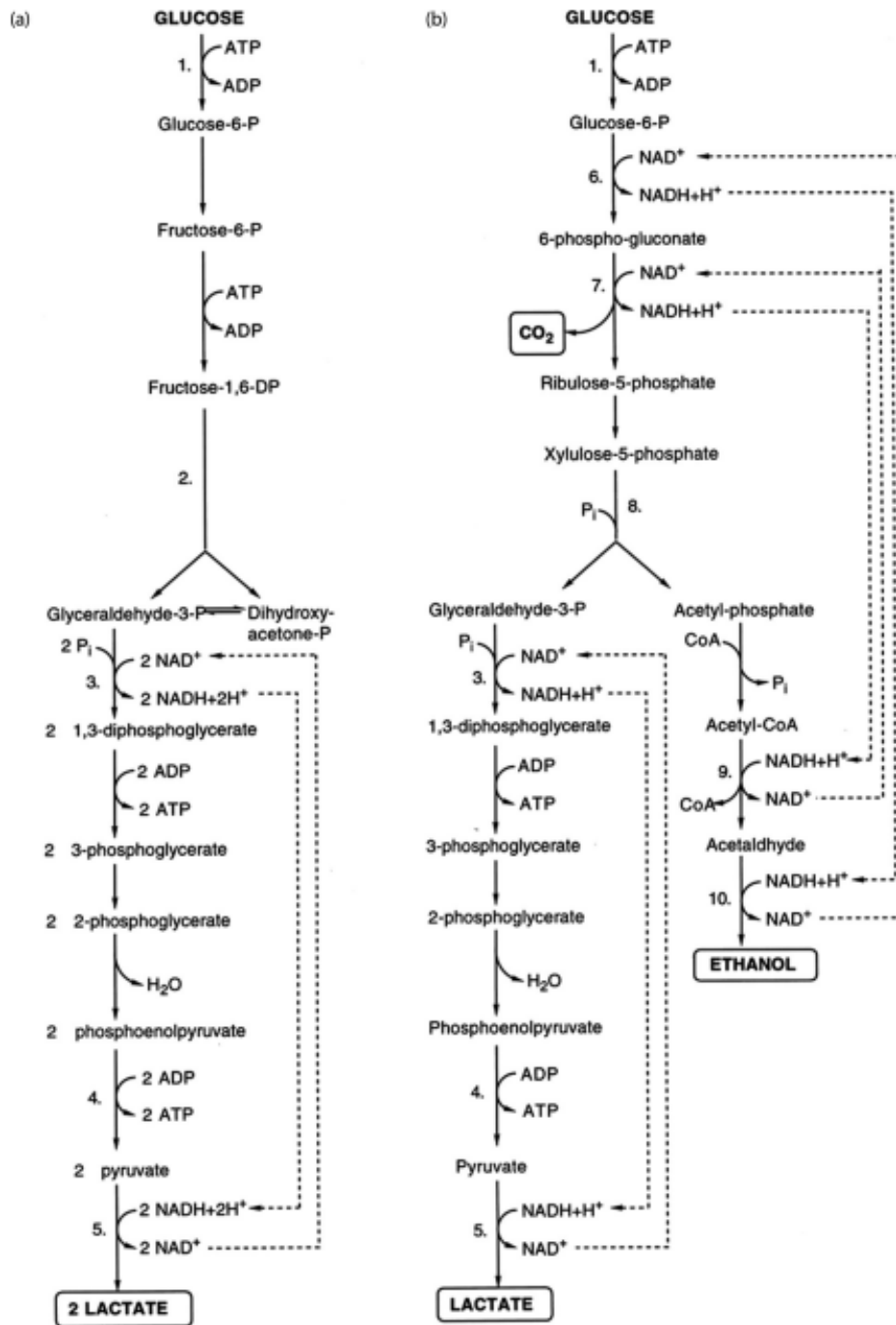
Mikrofloraen i surdeig består hovedsakelig av melkesyrebakterier av slekten *Lactobacillus* og gjærearter av slektene *Saccharomyces* og *Candida*. Forholdet mellom melkesyrebakterier og gjær i en surdeig er generelt 100:1 og melkesyrebakterienes aktivitet er avgjørende for

reologien, smaken og ernæringssegenskaper til surdeigs produkter (Fujimoto et al., 2019). Mikrofloraen til surdeigen er avhengig av både endogene og eksogene faktorer. De endogene faktorene bestemmes av den kjemiske og mikrobiologiske sammensetningen av deigen, mens de eksogene faktorene bestemmes hovedsakelig av temperatur og redokspotensial. Prosessparametere som mengden vann, tilsetning av salt, mengden og sammensetningen av surdeigsstartern og fermenteringstid har også en stor effekt (De Vuyst & Neysens, 2005).

2.3.2 Melkesyrebakterier

Melkesyrebakterier, på engelsk kjent som lactic acid bacteria (LAB), benyttes til fermentering av mange næringsmiddelprodukter og er vanlig å finne i meieri-, kjøtt-, grønnsak- og kornprodukter. Melkesyrebakterier til hører rekken *Firmicutes*, klasse *Bacilli* og ordenen *Lactobacillales*. De deles inn i familiene *Aerococcaceae*, *Carnobacteriaceae*, *Enterococcaceae*, *Lactobacillaceae*, *Leuconostocaceae* og *Streptococcaceae* (von Wright, 2011).

Basert på metabolismevei skilles det mellom to ulike melkesyrebakterier, homofermentative og heterofermentative, vist i figur 2.3.



Figur 2.3. Metabolismevei for homofermentative (a) og heterofermentative melkesyrebakterier (b). Hentet fra Von Wright, A., Axelsson, L. (2011). *Lactic Acid Bacteria: An Introduction. I: Vinderola, G., Ouwehand, Arthur C, Salminen, Seppo, Wright, Atte Von (red.) Lactic Acid Bacteria Broken Sound Parkway NW: Taylor & Francis Group.*

Homofermentative melkesyrebakterier produserer kun melkesyre fra glukose gjennom Embden-Meyerhof-Parnas (EMP) reaksjonsvei (figur 2.3 a). Heterofermentative melkesyrebakterier benytter pentosefosfatvei (PF) og produserer i tillegg til melkesyre, CO₂ og etanol eller acetat (figur 2.3 b) (De Vuyst & Neysens, 2005). Mengden melkesyre som produseres variere mellom arter og stammer av melkesyrebakterier. I surdeig dominerer obligate og fakultative heterofermentative melkesyrebakterier. Hvor slektene *Leuconostoc*, *Oenococcus*, *Weissella* og *Fructobacillus* er obligat heterofermentative (von Wright, 2011). *Lactobacillus* kan fermentere glukose ved homofermentativ, fakultativ heterofermentativ og obligat heterofermentativ reaksjonsvei. Obligat homofermentative *Lactobacillus* kan ikke fermentere glukonat eller pentose og de følger derfor EMP reaksjonsvei. Fakultativ heterofermentativ *Lactobacillus* benytter PF samtidig som de har evnen til å omdanne både pentoser og glukonat ved pentosefosfatvei. Obligat heterofermentative *Lactobacillus* fermenterer både pentoser og heksoser ved pentosefosfatvei som i tillegg til melkesyre, etanol og CO₂ gir eddiksyre (von Wright, 2011).

2.3.3 Eddiksyrebakterier

Eddiksyrebakterier, på engelsk kjent som acetic acid bacteria (AAB), er obligat aerobe og tilhører slekten *Acetobacter*. Optimale vekstvilkår er ved pH 5-6,5 men de kan vokse ved lavere pH-verdier mellom 3-4. Eddiksyrebakterier har evnen til å oksidere sukker og alkohol til organiske syrer og er derfor viktig for matindustrien (Sengun & Karabiyikli, 2011). I surdeig har eddiksyrebakterier blitt lite omtalt ettersom de ofte er til stede i lavt antall sammenlignet med andre mikroorganismer. Eddiksyrebakterier omdanner etanol til eddiksyre og forskere forbinder ofte eddiksyre med økt gjæraktivitet fordi gjær frigjør fruktose, som heterofermentative melkesyrebakterier bruker til å lage eddiksyre (Calvert et al., 2021).

2.3.4 Gjær

Gjær er fakultative anaerobe som betyr at de både er i stand til fermentering og respirasjon. Fermentering utføres når det ikke er oksygen til stede, mens respirasjon gjøres når det er oksygen til stede. I surdeig finnes mer enn 20 arter av gjær og den store variasjonen skyldes faktorer som hydrering, korntype, fermenteringstemperatur og temperaturen når fordeigen etableres også kjent som «backsloppings» temperatur (De Vuyst & Neysens, 2005). Fermenteringen som utføres av gjær i surdeig bruker først og fremst karbohydrater som energikilde. Den foretrukne energikilden til gjær er glukose på grunn av konvertering av glukose til pyruvat via glykolysen, og videre omdanning av pyruvat til etanol og CO₂ i en to-stegs prosess via acetaldehyd (Struyf et al., 2017b). I tillegg produserer gjæren organiske

syrer, glyserol og aromaforbindelser, som har en viktig innvirkning på brødfremstillingsprosessen og brødkvaliteten (Cho & Peterson, 2010). Tilgjengeligheten av karbohydrater og aktiviteten til enzymer i melet påvirker gjæringshastigheten. Det har også blitt vist at tilsetningen av andre ingredienser påvirker gjæringshastigheten. I søt deig, som inneholder store mengder sukrose øker stressnivået til gjærcellene og det dannes et høyt osmotisk trykk, mens salt induserer både osmotisk og ionisk stress til gjærcellene. Dette gir en reduksjon av CO₂-produksjon, som også kan være en fordel for en mer kontrollert gjæringsprosess (Struyf et al., 2017b). Samtidig er salt en viktig faktor for å styrke glutennettverket (Struyf et al., 2017b).

2.3.5 Surdeigsfermenterings påvirkning på fruktan og raffinose

Fermentering har blitt foreslått som en bearbeiding for å redusere innholdet av fruktan og raffinose i brødvarer (Ziegler et al., 2016). Surdeigsbrød krever lenger fermentering, noe som medfører flere endringer i karbohydratsammensetningen. Melkesyrebakterier har en stor rolle i fruktan-nedbrytningsprosessen ved at de skaper sure forhold slik at forholdene for gjæren blir gunstige (Kucek et al., 2015). I de første timene av fermenteringen blir sukrose, maltose, glukose og fruktose metabolisert, mens karbohydrater med høyere polymeriseringsgrad slik som fruktan blir metabolisert senere (Kucek et al., 2015). Dette har gitt økt interesse for surdeigsfermentering ettersom en lang fermentering kan gi en høyere nedbrytning av fruktan. Hvilken gjærstamme som brukes, fermenteringstid og mengde gjær påvirker mengden fruktan som hydrolyseres (Laurent et al., 2020). Gjær produserer inulinase og invertase-enzymmer som hydrolyserer fruktan. Invertase bryter sukrose ned til glukose og fruktose, deretter blir glukose metabolisert av gjær, mens fruktose kan reduseres av heterofermentative melkesyrebakterier til mannitol (Pejcz et al., 2021). Melkesyrebakterieartene *Lactobacillus amylovorus* og *Lactobacillus crispatus* har vist å være i stand til å metabolisere fruktan (Menezes et al., 2018). Melkesyrebakterier bryter ned raffinose ved å produsere α -galaktosidase som hydrolyserer bindingen mellom galaktose og glukose-enheten (Loponen & Gänzle, 2018). Forskning har vist at stammer av melkesyrebakterier som tilhører *Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus rhamnosus*, *Lactobacillus fermentum*, *Lactobacillus curvatus* og *Leuconostoc mesenteroides* kan produsere α -galaktosidase og har derfor vært brukt for å redusere innholdet av raffinose-familie oligosakkarider (Galli et al., 2019).

2.4 Hensikt med oppgaven

I denne oppgaven blir surdeigsbrød laget på norsk-dyrket moderne hvete (Fram, Bastian, Børsum og Mirakel) og urhvete (emmer, spelt og einkorn). Hensikten med oppgaven er å undersøke effekten av surdeigsfermentering på reduksjonen av fruktan og raffinose under fermentering og steking av brød på norsk-dyrket hvete ved to ulike inkuberingsbetingelser (22 °C i 12 timer og 4 °C i 41 timer). Oppgaven inkluderer både kjemiske og mikrobiologiske analyser, for å undersøke hvilken rolle melkesyrebakterier og gjær har for en eventuell forandring i konsentrasjonen av fruktan og raffinose under fermentering av de ulike hvetesurdeigene.

3. Materialer og metoder

3.1 Råmateriale

I dette forsøket ble det benyttet norsk-dyrket urhvetete og moderne hvete. Urhvetetypene som ble benyttet var einkorn, spelt og emmer, mens de moderne hveteypene som ble benyttet var Fram, Bastian, Børsum og Mirakel. Alle hveteypene bortsett fra einkorn var fra to dyrkingssteder på samme jordet, og det var derfor 13 ulike hvete typer i forsøket (Fram 804, Fram 808, Bastian 809, Bastian 805, Børsum 807, Børsum 803, Mirakel 709, Mirakel 806, emmer 707, emmer 801, spelt 708, spelt 802 og einkorn 706). Hvetetypene ble samlet inn fra et forsøksfelt på Ås i 2021 (Vollebakk Forskningsgård, Norges miljø- og biovitenskapelige universitet, Ås, Norge). De er malt til mel med en partikkelstørrelse <0,5 mm med en mølle (Ultra Centrifugal Mill ZM 200, Retsch, Tyskland). Oversikten i tabellen under viser geonomisk verdi og opprinnelsen til de undersøkte hveteypene i forsøket.

Tabell 3.1. Artsnavn, geonomisk verdi, opprinnelse og utgivelse til de undersøkte hveteypene einkorn, spelt, emmer og moderne hvete Fram, Bastian, Børsum og Mirakel. Hentet fra Asledottir, T., Rehman, R., Mamone, G., Picariello, G., Devold, T. G., Vegarud, G. E., Røseth, A., Lea, T. E., Halstensen, T. S., Ferranti, P., et al. (2020). Ancestral Wheat Types Release Fewer Celiac Disease Related T Cell Epitopes than Common Wheat upon Ex Vivo Human Gastrointestinal Digestion. Foods, 9 (9): 1173.

Hvetetype	Arter	Genom	Variasjon	Avlsselskap/ Opprinnelse	Merket utgivelse
Einkorn	<i>T. monococcum</i>	AA	Ukjent		
Emmer	<i>T. dicoccon</i>	AABB	Gotland		
Spelt	<i>T. aestivum</i> var. <i>spelta</i>	AABBDD	Gotland		
Moderne hvete	<i>T. aestivum</i> var. <i>aestivum</i>	AABBDD	Fram	Norsk landrase	Før 1900
		AABBDD	Børsum	Norges Landbrukshøgskole (NLH)	1936
		AABBDD	Bastian	Graminor, Norge	1989
		AABBDD	Mirakel	Graminor, Norge	2012

3.2 Opparbeidelse av brøddeig

3.2.1 Fremgangsmåte for fordeig

I dette forsøket er det brukt en opparbeidet surdeigsstarter. Den er tatt vare på og backsloppet (matet) med hvetemel. Det ble for alle syv hvetetyper opparbeidet en fordeig med surdeig, mel og vann. Melprøvene som ble benyttet var Fram 804, Bastian, 809, Børsum 807, Mirakel 806, emmer 707, spelt 708 og einkorn 706. På grunn av lite prøvematerialet ble fordeigene laget i et mindre skala enn hva den opprinnelige oppskriften viste. Tabellen under viser mengde av de ulike ingrediensene i den opprinnelige og mengden som ble brukt i forsøket.

Tabell 3.2 Mengden av surdeig, vann og mel for opparbeidelse av fordeig for urhvete (emmer, einkorn og spelt) og moderne hvete (Fram, Børsum, Bastian og Mirakel).

Ingrediens	Mengde opprinnelig oppskrift (g)	Mengde i forsøket (g)
Surdeig	50	25,5
Vann	50	25,5
Mel	50	25,5

Mengden som ble brukt i opparbeidelse av fordeigen er halvparten av den opprinnelige oppskriften. Surdeigen ble veid ut i en bakebolle og tilsatt vann. Dette ble rørt sammen før mel fra hvetetyper ble tilsatt. Fordeigen ble inkubert i 9 timer ved romtemperatur før resten av ingrediensene ble tilsatt. Det ble veid ut 40 g av fordeigen som ble frosset ned for frysetørking, se avsnitt 3.5.

3.2.2 Fremgangsmåte for brøddeig

Tabellen under viser mengden av de ulike ingrediensene som ble brukt i brøddeigen.

Tabell 3.3 Brøduppskrift for surdeigsbrød bakt med urhvete (emmer, einkorn og spelt) og moderne hvete (Fram, Børsum, Bastian og Mirakel).

Ingrediens	Mengde opprinnelig oppskrift (g)	Mengde i forsøket (g)
Fordeig	100	20
Vann	380	76
Mel	500	100
Salt	10	2
Totalt	990	198

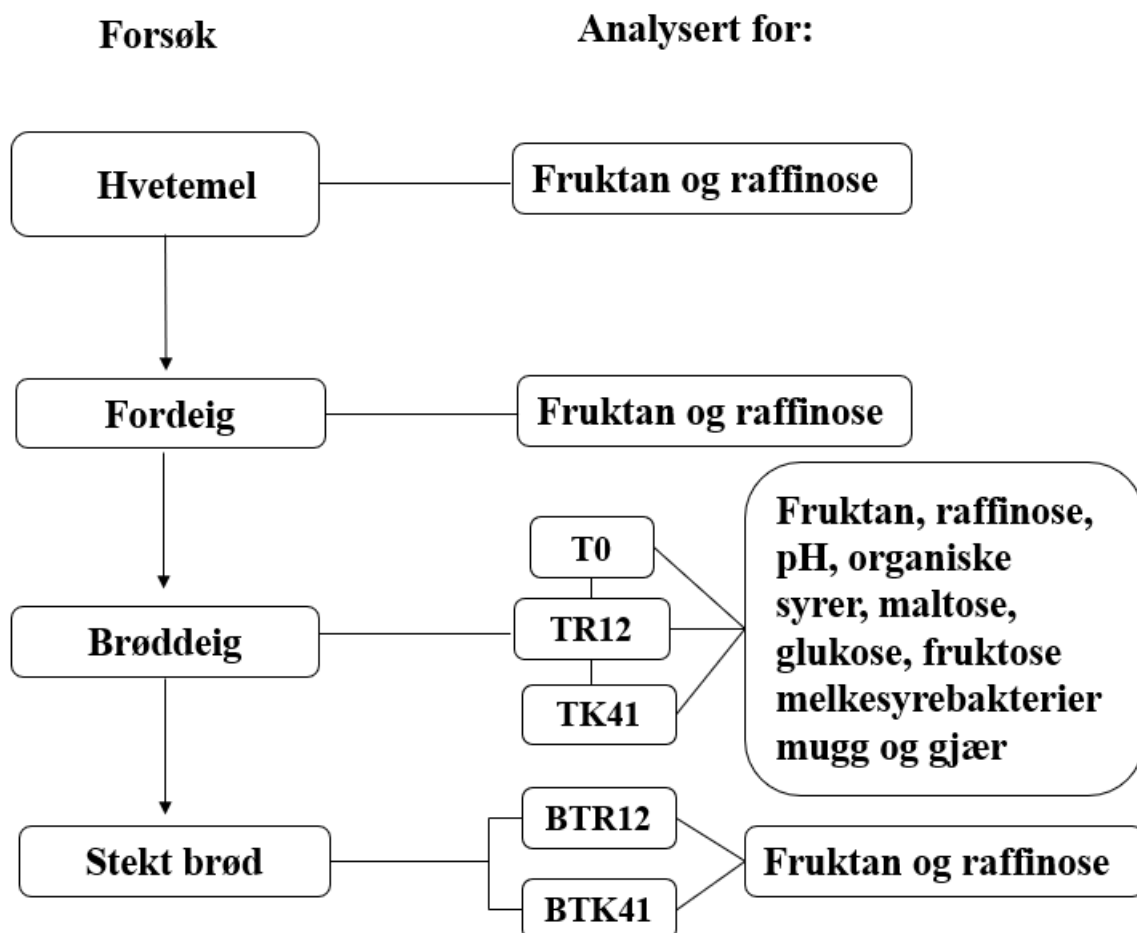
Oppskriften var den samme for alle brøddeigene med de ulike hvetetyper. Fordeig ble veid ut, blandet i vann og mel ble tilsatt. Denne blandingen ble eltet for hånd i 4 minutter før deigen hvilte i 30 minutter. Etter 30 minutter ble salt tilsatt og vendt inn med hendene. Deretter hvilte deigen i nye 30 minutter. Etter hviletiden ble deigen brettet i bakebollene 3 ganger med 30 minutters mellomrom. Etter siste bretteing ble deigen delt opp i tre emner og overført til tre glass med lokk. Disse deigene ble brukt til analyser etter elting (T0), til inkubasjon i 12 timer ved 22 °C (TR12) og til inkubasjon i 41 timer ved 4 °C (TK41). Det ble også frosset ned brøddeig for videre kjemiske analyser og frysetørking, se avsnitt 3.5. Det var ingen gjentak av fordeig- og brøddeigforsøket ettersom det var lite prøvemateriale tilgjengelig.

3.3 Steking av brød

Stekeforsøket ble utført med moderne hvetetyper fra én lokasjon (Fram 804, Bastian, 809, Børsum 807 og Mirakel 806), mens urhvetetyperne emmer og spelt var fra to lokasjoner for å få nok prøvemateriale til to gjentak av stekeforsøket. Einkorn ble utelatt i stekeforsøket på grunn av lite prøvemateriale. Opparbeidelsen av brøddeigen ble utført som beskrevet under avsnitt 3.2 «opparbeidelse av brøddeig». Etter inkubering av brøddeig TR12 og TK41 ble brøddeigene stekt ved 240 °C på varmluft i 15 min med damp, og dette ble gjort ved å sette en ildfast form i bunnen av ovnen med vann. Brødene ble stekt i en stekeovn (Electrolux) med over og under varme. Etter 15 minutter ble den ildfasteformen med damp tatt ut og brødene ble stekt videre ved 230 °C i 10 minutter. Brødene ble avkjølt til romtemperatur på rist etter de var ferdig stekt.

3.4 Forsøksoppsett

Surdeig av tre urkorn- og fire moderne norsk-dyrket hvetetyper ble undersøkt med fokus på fruktan- og raffinoseinnhold før, under og etter surdeigsfermenteringen. For å undersøke veksten og metabolismen til mikroorganismene ble det bestemt celletall for melkesyrebakterier og gjær, det ble målt pH og evnen bakteriene hadde til å produsere organiske syrer og metabolisere karbohydrater ble analysert. Det ble gjort analyser av hvetemel, fordeig og brøddeigene ved tre ulike inkuberingsbetingelser: Etter elting (T0), etter 12 timers inkubering ved 22 °C (TR12) og etter 41 timers inkubering ved 4 °C (TK41). Det ble også gjort analyser av stekt brød fermentert ved 22 °C i 12 timer (BTR12) og stekt brød fermentert ved 4 °C i 41 timer (BTK41). Hvilke prøveuttak og analyser som ble gjennomført er vist i figur 3.1.



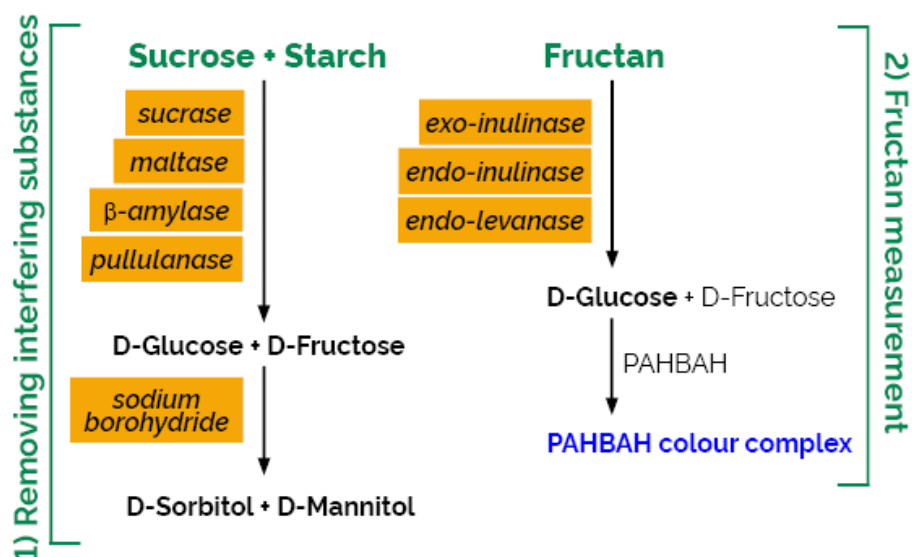
Figur 3.1 Forsøksoppsett. Oversikt over hvilke analyser som ble utført for hvetemel, fordeig, brøddeig (T0, TR12 og TK41) og stekt brød (BTR12 og BTK41).

3.5 Frysetørking

Prøveopparbeidelsen for analyse av fruktan og raffinose i fordeig, brøddeig og stekt brød ble gjort ved å frysetørke prøvene. Av fordeig, brøddeig etter elting (T0), ved 12 timers inkubasjon i 22 °C (TR12) og ved 41 timers inkubasjon i 4 °C (TK41) ble det veid ut 40 g deig som ble fordelt i to Falcon-rør. For de stekte brødene (BTR12 og BTK41) ble skorpen på brødet skåret bort og brødet ble skåret opp i terninger på 50 x 50 mm før 40 g brød ble veid ut. Prøvene ble først fryst ved -20 °C, før de ble fryst til -80 °C over natten. Brøddeigene ble tørket i 48 timer og brødprøvene ble tørket i 24 timer i en frysetørker (DryWinner 6-85, Heto-Holten A/S, Danmark) for å fjerne resten av det gjenværende vannet. Deretter ble prøvene malt ytterligere til et finmalt mel ved hjelp av en morter før videre analyser.

3.6 Analyse av fruktan

Innholdet av fruktan i hvetetyperne ble bestemt ved bruk av Fructan Assay Kit fra Megazyme (Megazyme, Irland). Analysen ble utført på mel, fordeig, brøddeig etter elting (T0), brøddeig fermentert ved 22 °C i 12 timer (TR12), brøddeig fermentert ved 4 °C i 41 timer (TK41) og stekt brød (BTR12 og BTK41). Metoden baserer seg på ekstrahering av fruktan ved hjelp av kokende vann, ettersom løseligheten til fruktan øker ved høyere temperaturer og det denaturerer proteiner som kan forstyrre analysen (Huynh et al., 2008). Videre baserer metoden seg på hydrolyse ved hjelp av buffer og enzymer. Hydrolyse av sukrose til D-Glukose og D-Fruktose gjøres ved tilsetning av et spesifikt sukrase-enzym, vist i figur 3.2. Videre skjer det en hydrolyse av stivelse til D-Glukose av enzymene maltase, β -amylase og pullulanase. D-Glukose og D-fruktose blir redusert av natriumborhydrid til sukkeralkoholene D-Sorbitol og D-Mannitol og fruktan. Videre blir fruktan, D-Sorbitol og D-Mannitol hydrolysert til D-glukose og D-fruktose av *exo-inulinase*, *endo-inulinase* og *endo-levanase* enzymer. D-Fruktose og D-Glukose avledet fra fruktan reagerer med *p*-hydroksybenzoesyrehydrazid (PAHBAH), som gir en fargereaksjon som måles spektrofotometrisk ved 410 nm, hvor absorbansen brukes til å regne ut innholdet av fruktan i prøven (Megazyme, 2020a).



Figur 3.2 Oversikt over nedbrytning av karbohydrater og hvilke enzymer som er involvert i fruktan-analysen. Hentet fra Megazyme. (2023a). Fructan Assay Kit. Tilgjengelig fra: <https://www.megazyme.com/fructan-assay-kit> (lest 11.05.2023).

Det ble opparbeidet ulike reagenser før analysen ble utført. Natriumhydroksid (50 mM) ble opparbeidet ved å løse 2,0 g natriumhydroksid (Sigma) i 900 mL destillert vann og fylt opp til 1000 mL. Eddiksyre (200 mM) ble opparbeidet ved å tilsette 11,6 mL av 99,7 % eddiksyre (Sigma- Aldrich, Tyskland) til 600 mL destillert vann og fylt opp til 1000 mL. Den reduserende sukker reagensen PAHBAH, løsning A, ble opparbeidet ved å tilsette 10 g av p-hydroksybenzoesyrehydrazid (Sigma, Tyskland) til 60 mL destillert vann med røring av en magnetrører. Deretter ble 10 mL av konsentrert saltsyre (Merck, Tyskland) tilsatt og volumet fylt til 200 mL med destillert vann. PAHBAH, løsning B, ble opparbeidet ved å tilsette 24,9 g av trinatriumsitratdihydrat (Sigma, Tyskland) til 500 mL destillert vann med røring av en magnetrører. Deretter ble 2,2 g av kalsiumkloriddihydrat (Merck, Tyskland) tilsatt og løst opp ved røring. Volumet ble fylt opp til 2000 mL med destillert vann.

Prøveopparbeidelsen ble gjort i henhold til prosedyren for prøver som inneholder 0-10 % (w/w) fruktan. Til ekstraheringen ble 400 mg av prøven veid inn i et Pyrex-rør med kork og det ble gjort ett gjentak for hver prøve. Prøvene ble tilsatt 25 mL destillertvann før de ble inkubert i kokende vannbad med korken løst på toppen av røret i 10 minutter. Etter 5 minutter ble korken skrudd til, og løsningen ble ristet før røret ble satt tilbake i vannbadet. Etter ytterligere 5 minutter ble rørene tatt ut fra vannbadet, ristet og kjølt til romtemperatur. Det ble pipettert ut 2,0 mL av løsningen til 2,0 mL sentrifugerør og sentrifugert ved 13 000 rpm i 5 minutter i romtemperatur i en Micromax sentrifuge (International equipment company (IEC), USA).

Det ble pipettert ut nøyaktig 0,2 mL av supernatanten over i ett glassreagensrør. Supernatanten ble tilsatt 50 μ L α -galaktosidase (Megazyme kat.nr. E-AGLANP) ved 200 U/mL i 50 mM natriumacetatbuffer (pH 4,5) for nedbryting av raffinose. Løsningen ble inkubert i 30 min ved 40 °C.

For fjerning av sukrose, stivelse og redusert sukker ble løsningen tilsatt 0,2 ml av sukrase/amylase enzym og inkubert ved 30 °C i 30 min. For fullstendig reduksjon av reduserende sukker til sukkeralkoholer ble det laget en alkalisk borhydrid-løsning hvor 50 mg natriumborhydrid ble løst i 5,0 mL 50 mM natriumhydroksid. Prøven ble tilsatt 0,2 mL av reagens 3 (alkalisk borhydrid-løsning) og kraftig rørt ved bruk av en ZX3 vortexer (VELP scientifica, Italia). Løsningene ble inkubert ved 40 °C i 30 min med klinkekuler på toppen av rørene. Etter inkubering ble løsningen tilsatt 0,5 ml av reagens 4 (200 mM eddiksyre) og rørt kraftig ved bruk av en vortexer. Denne løsningen kalles nå løsning S.

Det ble overført 0,2 mL av løsning S til tre glassreagensrør. For hydrolyse av prøvene ble to av rørene tilsatt 0,1 mL av fruktanase enzym. Til det tredje røret ble det tilsatt 0,1 mL av 100 mM natriumacetat, dette er en blank prøve. Rørene ble inkubert ved 40 °C i 30 min med klinkekuler på toppen av rørene. For opparbeidelse av prøvene til måling spektrofotometrisk ble det laget en løsning blank med 0,3 mL av 100 mM natriumacetat buffer som ble brukt for å nullstille spektrofotometeret. D-fruktose kontrollen ble laget ved tilsetning av 0,2 mL av D-fruktose Standard løsning (1,5 mg/mL) til 0,9 mL av 100 mM natriumacetat. Det ble tatt 0,2 mL av denne løsningen i fire replikaer. For å måle fruktan avledet fra D-fruktose og D-glukose brukes PAHBAH reduserende sukker metoden. PAHBAH reagens lages ved å blande 20 mL av løsning A og 180 mL av løsning B. Alle rørene ble tilsatt 5,0 mL PAHBAH reagens. Rørene ble inkubert i kokende vannbad i nøyaktig 6 minutter. Etter 6 minutter ble rørene tatt ut av vannbadet og avkjølt i kaldt vann (18-20 °C) i ca. 5 minutter. Målingen ble gjort spektrofotometrisk (Spectramax M2, Molecular Devices, USA) rett etter at prøvene var avkjølt ettersom fargekomplekset PAHBAH avtar etter kort tid. Det ble overført 1 mL av prøvene til 1,5 mL kyvette (Semi-micro 24 cuvette, PS, 1,5 mL, Brand GMBH + Co KG, Germany) og absorbansen ble målt ved 410 nm.

Utrekningen av fruktaninnhold ble gjort ved følgende formel:

$$= \Delta A \times F \times 5 \times 25 \times \frac{1,15}{0,2} \times \frac{100}{W} \times \frac{1}{1000} \times \frac{162}{180} \times D$$

Hvor:

ΔA : absorbansen til prøven - absorbansen til prøve blank.

F: faktor for å konvertere absorbansverdien til μg av D- fruktose.

5: faktor for å konvertere fra 0,2 mL analysert til 1,0 mL.

25: volumet av ekstraktet som blir brukt.

$\frac{1,15}{0,2}$: 0,2 mL fra 1,15 mL enzym.

W: vekten (mg) av prøven.

$\frac{100}{W}$: faktor for å uttrykke fruktan som en prosentandel av prøvevekten.

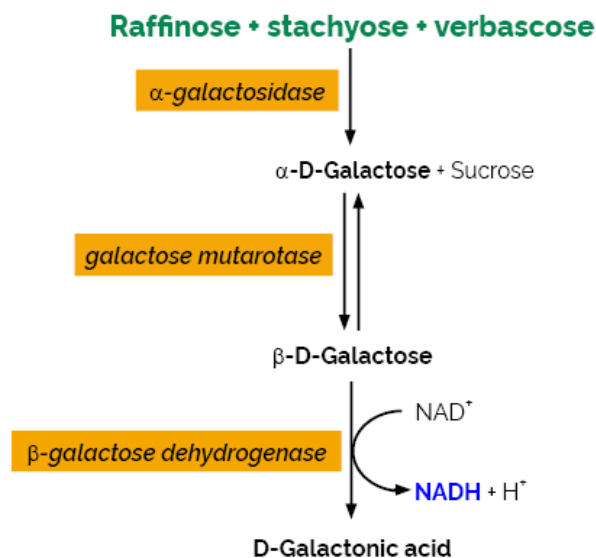
$\frac{1}{1000}$: faktor for å konvertere fra μg til mg.

$\frac{162}{180}$: faktor for å konvertere fra fri D-fruktose til fruktan.

D: ytterligere fortynning av prøveekstraktet.

3.7 Analyse av raffinose-familie oligosakkarider

Innholdet av raffinose-familie oligosakkarider i melprøvene, fordeig, brøddeig etter elting (T0), brøddeig fermentert ved 22 °C i 12 timer (TR12), brøddeig fermentert ved 4 °C i 41 timer (TK41) og stekt brød (BTR12 og BTK41) ble bestemt ved bruk av Raffinose/ D-Galactose assay fra Megazyme (Megazyme, Irland). Metoden baserer seg på ekstrahering av raffinose-familie oligosakkarider ved hjelp av etanol. Hydrolysering av raffinose til D-galaktose og sukrose skjer ved tilsetning av enzymet α -galaktosidase, vist i figur 3.3. Dette enzymet hydrolyserer også andre oligosakkarider som staktyose og verbaskose. Videre katalyserer mutarotasjon av D-galaktose fra α -form til β -form ved tilsetning av galaktose mutarotase. Ved tilsetning av β -galaktose dehydrogenase ved pH 8,6 vil NAD^+ oksidere β -D-Galaktose til D-galakturonsyre. Dette gir en reduksjon av NAD^+ til NADH , og denne reaksjonen måles spektrofotometrisk ved økning i absorbans ved 340 nm som brukes til å finne innholdet av D-galaktose i prøven, som brukes til å beregne innholdet av α -galaktosidase i prøvematerialet (Megazyme, 2020b).



Figur 3.3 Oversikt over nedbrytningen av karbohydrater og hvilke enzymer som er involvert i raffinose-analysen. Hentet fra Megazyme. (2023b). Raffinose/D-Galactose Assay Kit. Tilgjengelig fra: <https://www.megazyme.com/raffinose-d-galactose-assay-kit> (lest 11.05.2023).

Til ekstrahering av de ulike hvetetyperne ble det opparbeidet to løsninger, Carrez I og Carrez II. Disse løsningene bidrar til aggregering av proteinene slik at de kan filtrere ut av hvetetyperne. Løsningene Carrez I ble opparbeidet ved å veie ut 3,60 g av kalium-heksacyanoferrat (VWR Chemicals, Belgia) som ble løst opp i 100 mL destillert vann. Carrez

II ble laget ved å veie opp 4,49 g av sinkulfat monohydrat (Honeywell Fluka, Tyskland) som ble løst opp i 100 mL destillert vann. Begge løsningsene ble løst opp ved bruk av en magnetrør. Det ble veid ut 4,0 g av natriumhydroksid (Sigma, Tyskland) som ble løst i 1000 mL destillert vann.

Prøveopparbeidelsen ble utført i henhold til protokollen «bestemmelse av raffinose i malt frømateriale med alternative ekstraksjonsmetode». Det ble veid opp 1,00 g av prøvemateriale i en 50-mL-målekolbe og tilsatt 6,0 mL etanol (96 %). Prøven ble inkubert i 80 °C vannbad i 20 minutter ettersom etanol koker ved denne temperaturen. Etter inkubering ble prøvene avkjølt til romtemperatur før 30 mL destillert vann ble tilsatt. Deretter ble henholdsvis 3,0 mL av Carrez I, 3,0 mL av Carrez II og 6,0 mL av natriumhydroksid tilsatt med røring mellom hver tilsetning. Målesylindrene ble fylt med destillert vann til 50 mL merket og mikset før de ble filtrert ved bruk av filterpapir (Ederol Rundfilter Nr.1, Tyskland). Dette brukes videre som prøvematerialet i analysen.

Det ble laget én separat prøve for analyse av raffinose + fritt D-galaktose og én prøve for analyse av fritt D-galaktose. Det ble også laget én blank prøve for raffinose + fritt D-galaktose og én blank prøve for fritt D-galaktose. Absorbansen til prøvene ble målt ved 340 nm i et spektrofotometer før og etter enzymet ble tilsatt. I prøvene som ble analysert for fritt raffinose + fritt D-galaktose ble tilsatt α -galaktosidase, mens prøvene som ble analysert for kun fritt D-galaktose ble tilsatt destillert vann. Prøve blank analysert for raffinose + fritt D-galaktose ble tilsatt destillert vann og α -galaktosidase, mens prøven blank analysert for fritt D-galaktose ble tilsatt kun destillert vann. Tilsetningen ble gjort i 2,5 mL plastkyvetter (Semi-micro 24 cuvette, polystyrene (PS), 2,5 mL, Brand GMBH + Co KG, Tyskland). Før tilsetning av de ulike løsningene ble α -galaktosidase oppvarmet til 25-30 °C. Etter tilsetning ble prøvene inkubert i romtemperatur i 20 min. Prøven analysert for raffinose+ fritt D-galaktose og prøvene analysert for fritt D-galaktose og begge blank prøvene ble tilsatt buffer som inneholdt natriumazid, destillert vann og NAD^+ . Prøvene ble blandet ved å pipetere opp og ned ved tilsetning av NAD^+ . Målingene ble gjort spektrofotometrisk (Spectramax M2, Molecular Devices, USA) ved 340 nm. Alle prøvene ble tilsatt enzymet D-galaktose dehydrogenase+ galaktose mutarotase suspensjon før inkubering i varmeblokk ved 40 °C i 20 min. Etter inkubering ble absorbansen målt til kontroll raffinose, og reaksjonen var ferdig hvis prøven inneholdt raffinose rundt 4 g/100g.

For beregning av innhold av raffinose og fritt D-galaktose i prøven ble først innholdet av raffinose og fritt D-galaktose ble regnet ut ved å finne absorbansforskjellen. Deretter ble

absorbansdifferansen fra de blanke prøvene subtrahert fra absorbansdifferansen fra de tilhørende prøvene.

$$\Delta A = (A_2 - A_1)_{\text{prøve}} - (A_2 - A_1)_{\text{blank}}$$

$$\Delta A_{\text{raffinose}} = \Delta A_{\text{raffinose + fritt D-galaktose}} - \Delta A_{\text{fritt D-galaktose}}$$

Formelen for å regne ut innholdet av fritt D-galaktose og raffinose er følgende:

$$c = \frac{V \times MW}{\epsilon \times d \times v} \times \Delta A \times F \quad [\text{g/L}]$$

V: er sluttvolumet [2,62 mL].

MW: molekylvekten til substansene som ble analysert.

ϵ : ekstinksjonskoeffisienten til NADH ved 340 nm (6300 [$\text{l} \times \text{mol}^{-1} \times \text{cm}^{-1}$]).

d: lysvei [1 cm].

v: prøvevolum [0,2 mL].

ΔA : $\Delta A_{\text{raffinose}}$ for raffinose og $\Delta A_{\text{fritt D-galaktose}}$ for fritt D-galaktose.

F: fortynningsfaktor for prøveekstraktene.

Konsentrasjonen av fritt D-galaktose og raffinose i g/100g ble regnet ut ved å benytte formlene nedenfor, hvor beregnet konsentrasjon av fritt D-galaktose og raffinose ble satt inn for å beregne innhold av henholdsvis fritt D-galaktose og raffinose.

$$\text{Innhold} = \frac{c \left[\frac{\text{g}}{\text{L}} \right]}{\text{vekt prøve} \left[\frac{\text{g}}{\text{L}} \right]} * 100 \quad [\text{g}/100\text{g}]$$

Metoden analyserer for raffinose, men innholdet er overestimert ettersom det også er andre α -galaktosider i prøven som stakiose og verbaskose. Disse karbohydratene hydrolyserer også av α -galaktosidase til D-galaktose. Molekylvekten til raffinose er 504,5 g/mol, mens stakiose og verbaskose har en molekylvekt på henholdsvis 666,6 og 827,7 g/mol.

Det er derfor ikke helt sammenlignbart å regne ut raffinoseinnholdet på bakgrunnen av molekylvekten til raffinose. Analysen gir derfor et omtrentlig estimat av det faktiske innholdet av α -galaktosider i prøvene.

3.8 Vekst- og metabolismeforsøk

3.8.1 Mikrobiologiske analyser

Vekstmediene ble laget i samsvar med produsents anbefaling. Mediet som ble benyttet for undersøkelse av melkesyrebakterier var MRS broth (Merck, Tyskland) hvor det i tillegg ble tilsatt 15 g/L agar (VWR, Spania), og for undersøkelse av mugg og gjær ble Rose-Bengal Chloramphenicol Agar (Merck, Tyskland) benyttet.

Syv ulike brøddeiger ble undersøkt for å bestemme tilstedeværelse av melkesyrebakterier, mugg og gjær i de ulike brøddeigene. I forkant av bakeforsøket ble surdeigen dyrket på MRS og RB for å kontrollere tilstedeværelsen av melkesyrebakterier, mugg og gjær slik at det ikke skulle være en faktor som påvirket forsøket. Tabell 3.3.1 viser oversikt over vekstmediene og inkubasjonsbetingelsene som ble benyttet.

Tabell 3.4 Oversikt over agarene, inkubasjonstemperaturer og inkubasjonstider som ble brukt i analysen.

Agar	Produsent	Vekst	Inkubasjons- temperatur	Inkubasjonstid (Timer)
MRS	Merck KGaA	Melkesyrebakterier	30	48
Rose-Bengal	Merck KGaA	Mugg og gjær	22	96

Det ble veid ut 1,0 g brøddeig opp i et Falcon-rør og tilsatte 9,0 mL Ringers løsning. Prøvene ble homogenisert ved å riste prøvene. Den homogeniserte prøven ble seriefortynnet i 9,9 mL Ringers og innstøpt på agarene MRS og RB. MRS ble inkubert ved 30 °C i 48 timer og Rose Bengal ble inkubert ved 22 °C i 96 timer.

3.8.2 Analyse av organiske syrer, maltose, glukose og fruktose

Innhold av organiske syrer ble analysert i alle hvetetyperne ved inkuberingsbetingelsene T0, TR12 og TK41. Analysen ble gjennomført ved bruk av «high performance liquid chromatography» (HPLC). Det ble benyttet to ulike HPLC-metoder for analyse av karbohydrater, ettersom fruktose eluerte ut med en ukjent komponent for metoden beskrevet i dette kapitlet. Begge metodene måler konsentrasjonen av maltose, glukose og fruktose, men prøveopparbeidelsen og kolonnen som ble brukt til analyse var forskjellig.

De fryste prøvene ble tint i kjøleskap over natt før analyse. Måling av organiske syrer ble gjort i henhold til Grønnevik et al. (2011) med noen modifikasjoner. Det ble veid ut 1,00 g som ble tilsatt 0,2 mL svovelsyre, 2,5 mL ionebyttet vann og 8,0 mL acetonitril. Prøvene ble

deretter ristet kraftig og satt i en MultiRS-6p BIOSAN vendemaskin (Montebello Diagnostics A/S, Oslo, Norge) i 30 min. Sentrifugert i romtemperatur, 20 minutter ved 3500 rpm (Heraeus Multifuge X3R, Thermo Fisher Scientific, Waltham, Massachusetts, USA)

Supernatanten ble filtrert med 0,2 PTEF Membran (Acrodics CR 13 mm Syringe Filter, Pall, Storbritannia) over i et HPLC-rør. HPLC-instrumentet som ble brukt for å analysere prøvene var en Agilent Technologies 1260 Infinity II (Agilent Technologies, Singapore), bestående av pumpe, autosampler, kolonneovn, DAD-UV detektor og RI-detektor (Agilent Technologies). OpenLab CDS (Agilent Technologies) var programvaren som ble benyttet. Det ble injisert 25 µL av prøven og den ble separert med en Aminex HPX-87H (Bio-Rad Laboratories, Hercules, CA 300 x 7,8 mm). En forkolonne av typen Cation- H refil (Bio Rad Laboratories, CA 30 x 4,6 mm) ble ført gjennom for å beskytte kolonnen med en temperatur på 32 °C.

Det ble benytt mobil fase som var 5,0 mM svovelsyre (Merck), med en hastighet på 0,4 mL/min.

Standardløsninger for kalibrering ble preparert på samme måte som prøvene ble analysert, og komponentene i prøvene ble identifisert og kvantifisert på bakgrunn av retensjonstid sammenlignet med standardløsningen. Karbohydrater benyttet til standardløsningen var maltose, fruktose, laktose, glukose og galaktose (Merck) og av organiske syrer ble sitronsyre, orotinsyre, pyrodruesyre, ravsyre, melkesyre, maursyre, eddiksyre, urinsyre, propionsyre og pyro-glutaminsyre (Sigma- Aldrich, Kina) benyttet til standardløsning. Karbohydratene og eddiksyre ble detektert ved hjelp av en RI-detektor, mens organiske syrer ble detektert ved hjelp av DAD-UV detektor. Denne HPLC-metoden omtales videre som metode 1.

3.8.3 Analyse av maltose, glukose og fruktose

Innhold av karbohydrater med den andre HPLC-metoden ble også gjennomført på alle hvetetyperne ved inkuberingsbetingelsene T0, TR12 og TK41.

De fryste prøvene ble tint over natt i kjøleskap før analyse. Analysen ble gjennomført etter en metode av Knudsen (1997) med noen modifikasjoner. Prøvene ble godt blandet før 1,00 g ble veid ut i 50 mL Greiner bio-one rør (Tyskland). De ble tilsatt 9,0 mL ionebyttet vann og 30 mL 96 % etanol (PROLABO, BDH, VWR). Prøvene ble mikset i en MultiRS-60 BIOSAN vendemaskin (Montebello Diagnostics A/S, Oslo, Norge) i 30 min, og deretter satt på kjølerom i en time. 4,0 mL av supernatanten ble tilsatt 2,0 mL med indrestandardløsning (arabinose 1,00 mg/mL). Prøvene ble filtrert gjennom Sep-Pak Plus C18 kolonne (Waters, Ireland). Før filtrering ble kolonnene vasket med 2,0 mL metanol (Merck, USA) og 5 mL

ionebyttet vann. De første 2,0 mL prøve ble samlet opp, og de ble videre tørket i en vakuumsentrifuge (Savant SPD2010, SpeedVac concentrator, Thermo Fisher Scientific, USA) ved 55 °C. Pelleten ble løst i 400 µL ionebyttet vann. Prøven ble deretter filtrert med 0,22 µm Millex-GV filter (Millipore, Ireland) over i et HPLC-rør forseglet med plastkork med silikon/PTFE septa (VWR). 10 µL av prøven ble injisert i HPLC-instrumentet.

Etter opparbeidelse ble prøvene separert ved hjelp av en Nucleogel Suger Pb kolonne (Macherey-Nagel, Tyskland, CA 300 x 7,8 mm) oppvarmet til 80 °C. HPLC-systemet var Agilent 1200 series, bestående av pumpesystem, autosampler med kjøling, kolonneovn og RI-detektor. Prøvene ble oppbevart ved 5 °C i autosamplern før injisering. Som mobilfase ble det benyttet ionebyttet vann, med en hastighet på 0,5 mL/min.

Standardløsninger for kalibrering ble preparert på samme måte som prøvene som ble analysert, og komponentene i prøvene ble identifisert og kvantifisert på bakgrunn av retensjonstid sammenlignet med standardløsningene. Karbohydrater benyttet til standardløsning var sukrose, glukose, arabinose og fruktose (Merck). Denne HPLC-metoden omtales videre som metode 2.

3.8.4 Måling av pH

For pH-målinger ble det brukt et PHM92 lab pH-meter (Radiometer, København, Danmark) med kombinert glasselektrode og temperaturmåler. pH-meterer ble kalibrert ved bruk standardbufferløsning ved pH 4,0 og 7,0. pH ble målt når brøddeigen var ferdig eltet (T0) og etter 12 timers inkubering ved 22 °C (TR12) og etter 41 timers inkubering ved 4 °C (TK41).

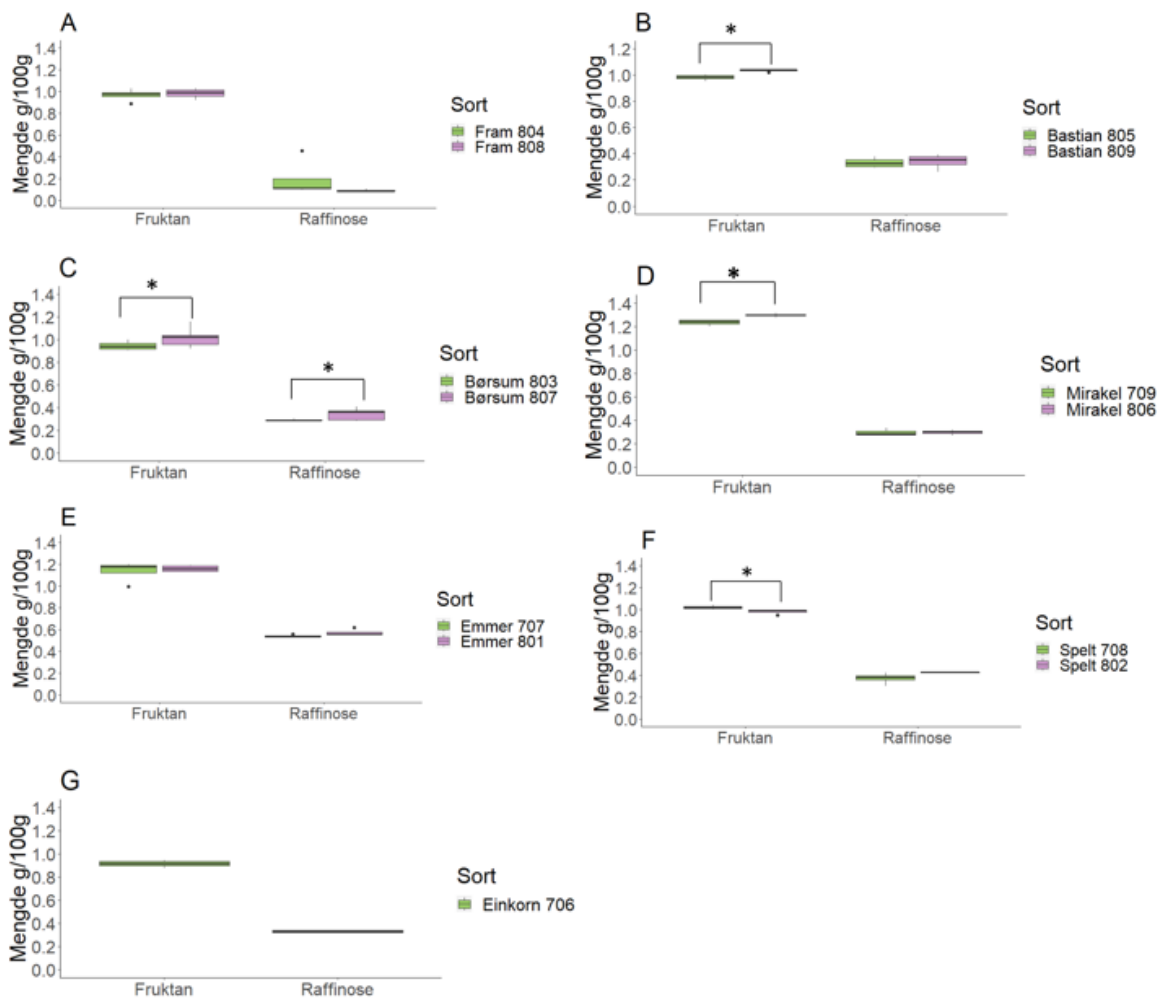
3.9 Databehandling

For databehandling av rådata ble Microsoft Excel (2023) benyttet. Statistisk analyse og fremstilling av modeller ble utført i RStudio (2023), hvor det ble benyttet signifikans på $p < 0,05$. Enveis variansanalyse (ANOVA) ble benyttet for å analysere signifikans mellom hvetetyperne og inkuberingsbetingelsene med en variabel. Tukey test ble benyttet for å undersøke signifikans mellom hvetetyperne for de ulike inkuberingsbetingelsene og mellom inkuberingsbetingelsene for de ulike hvetetyperne.

4. Resultater

4.1 Analyse av fruktan- og raffinoseinnhold i mel

Innholdet av fruktan og raffinose ble analysert for å undersøke om det var signifikante forskjeller for samme hvetetype fra to lokasjoner, og for å undersøke om fruktan- og raffinoseinnholdet varierte mellom hvetetyperne. Resultatene for hvetetyperne Fram, Bastian, Børsum, Mirakel, emmer og spelt fra to lokasjoner, og einkorn fra én lokasjon er vist i figur 4.1.



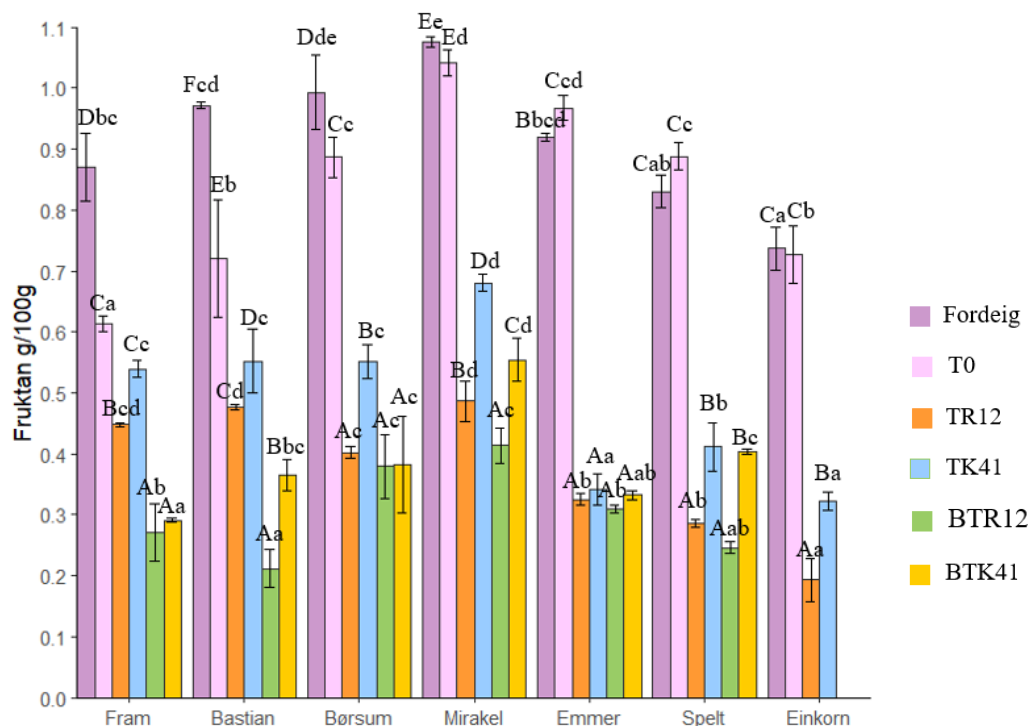
Figur 4.1 A-G mengde fruktan (g/100g) og raffinose (g/100g) i melprøvene Fram 804 og Fram 808, Bastian 809 og Bastian 805, Børsum 807 og Børsum 803, Mirakel 709 og Mirakel 806, emmer707 og emmer 801, spelt 708 og spelt 802 og einkorn 706. (n=4). * indikerer signifikante forskjeller.

Figur 4.1 viser at det var høyere innhold av fruktan enn raffinose for alle hvetetyperne. Med unntak Bastian, Børsum, Mirakel og Spelt var det ingen signifikante forskjeller i

fruktaninnholdet mellom samme hvetetype fra to lokasjoner. Det var ingen signifikante forskjeller i raffinoseinnholdet for samme hvetetype fra to lokasjoner, med unntak av Børsum. Innholdet av fruktan i moderne hvete varierte fra 1,296 g/100g (Mirakel 806) til 0,944 g/100g (Børsum 803), og innholdet av raffinose varierte fra 0,421 g/100g (Fram 804) til 0,292 g/100g (Mirakel 709). Fruktaninnholdet i urhvete varierte fra 1,16 g/100g (Emmer 801) til 0,913 (Einkorn 706), og innholdet av raffinose varierte fra 0,596 g/100g (Emmer 801) til 0,330 g/100g (Einkorn 706).

4.2 Analyse av fruktaninnhold i deig og brød

Analyse av fruktaninnhold i deig og brød ved de ulike inkuberingsbetingelsene ble gjort på frysetørkede prøver av alle hvetetyper. Einkorn ble utelatt ved steke forsøket på grunn av lite prøvemateriale. Prosent nedgang fra fordeig til brød er vist i vedlegg 4. Gjennomsnittlig innhold av fruktan i de moderne hvetetyper og urhvetetyper ved de ulike inkuberingsbetingelsene fordeig, T0, TR12, TK41, BTR12 og BTK41 er presentert i figur 4.2. Resultatene for fordeig, T0, TR12 og TK41 har ingen gjentak på grunn av lite prøvemateriale (n=4), mens BTR12 og BTK41 er fra to gjentak (n=8).



Figur 4.2 Gjennomsnittlig innhold av fruktan (g/100g) i frysetørkede prøver for fordeig, etter elting (T0), inkubasjon i 12 timer ved 22 °C (TR12), inkubasjon i 41 timer ved 4 °C (TK41), stekt brød ved inkubasjon i 12 timer ved 22 °C (BTR12) og stekt brød ved inkubasjon i 41 timer ved 4 °C (BTK41), for de moderne hvete typene Fram, Bastian, Børsum og Mirakel, og urhvetetyperne emmer, spelt og einkorn. Ulike bokstaver indikerer signifikante forskjeller, og hvor store bokstaver representerer signifikante forskjeller ved de ulike inkuberingsbetingelsene for samme prøve og små bokstaver indikerer signifikans for samme inkuberingsbetingelse mellom de ulike prøvene. Standardavvik for hver prøve er illustrert i feilfelt.

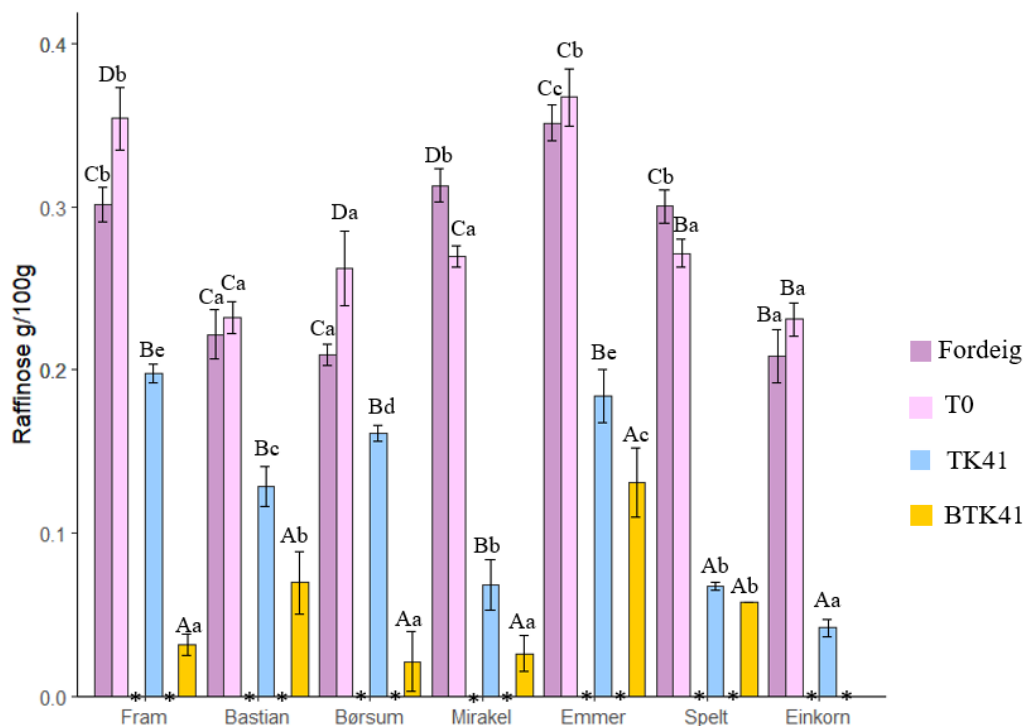
Figur 4.2 viser at alle hvetetyper hadde en signifikant reduksjon i fruktaninnholdet fra fordeig til brød. Deig og brød hadde også et signifikant lavere fruktaninnhold enn T0. For urhvetetyperne emmer og spelt, økte fruktaninnholdet i fordeig til T0, men dette var kun signifikant for spelt. Imidlertid viste prøvene noe forskjellige mønstre. For Fram, Børsum og emmer brød var det ingen signifikant forskjellig i fruktaninnholdet basert på om brøddeigen

hadde blitt fermentert ved 4 °C eller 22 °C. I motsetning til dette var fruktaninnholdet i brød for Bastian, Mirakel og spelt signifikant lavere for brøddeig som hadde blitt fermentert ved 22 °C sammenlignet med 4 °C. Med unntak av emmer hadde også brøddeigene signifikant lavere fruktaninnholdet dersom de ble fermentert ved 22 °C i forhold til emmer fermentert ved 4 °C. Faktisk var fruktaninnholdet i Mirakel og spelt brøddeig fermentert ved 22 °C allerede lavere enn fruktaninnholdet i stekt brød laget av brøddeig fermentert ved 4 °C.

4.3 Analyse av raffinoseinnhold i deig og brød

Innholdet av raffinose i fordeig, brøddeig og stekt brød ble analysert i de frysetørkede prøvene av alle hvetetyper. Einkorn ble utelatt ved steke forsøket på grunn av lite prøvemateriale.

Resultater for prosent nedgang i raffinose fra fordeig til brød er vist i vedlegg 5. Figur 4.3 viser gjennomsnittlig innhold av raffinose i moderne hvete og urhvete ved inkuberingsbetingelsene fordeig, T0, TR12, TK41, BTR12 og BTK41. Resultatene for fordeig, T0, TR12 og TK41 har ingen gjentak (n=4), mens BTR12 og BTK41 er fra to gjentak (n=8).



Figur 4.3 Gjennomsnittlig innhold av raffinose (g/100g) i frysetørkede prøver for fordeig, etter elting (T0), inkubasjon i 12 timer ved 22 °C (TR12), inkubasjon i 41 timer ved 4 °C (TK41), stekt brød inkubasjon i 12 timer ved 22 °C (BTR12) og stekt brød inkubasjon i 41 timer ved 4 °C (BTK41) for Fram, Bastian, Børsum, Mirakel, emmer, spelt og einkorn. Ulike bokstaver indikerer signifikante forskjeller, og hvor store bokstaver representerer signifikante forskjeller ved de ulike inkuberingsbetingelsene for samme prøve og små bokstaver indikerer signifikans for samme inkuberingsbetingelse mellom de ulike prøvene. Standardavvik for hver prøve er illustrert som feilfelt. * indikerer at raffinose ikke er detektert.

Figur 4.3 viser at alle hvetetyperne hadde en signifikant reduksjon i raffinoseinnholdet fra fordeig til brød. For hvetetyperne Fram, Børsum og emmer økte raffinoseinnholdet fra fordeig til T0, men dette var kun signifikant for Fram og Børsum. Selv om Fram og Børsum hadde en signifikant økning fra fordeig til T0 var det fremdeles en signifikant reduksjon fra T0 til brød

for alle hvetetyper. For alle hvetetyper hadde fermentering ved 22 °C størst effekt på reduksjonen av raffinose, og raffinose ble verken detektert i deig eller brød fermentert ved 22 °C. Derimot ble det detektert raffinose i deig og brød fermentert ved 4 °C. Med unntak av spelt var det en signifikant reduksjon fra deig til brød for alle hvetetyper fermentert ved 4 °C. Emmer hadde et signifikant høyere innhold av raffinose i fordeig og brød fermentert ved 4 °C sammenlignet med de andre hvetetyper. Einkorn hadde signifikant lavest innhold av raffinose for deig fermentert ved 4 °C, mens Fram, Børsum og Mirakel hadde signifikant lavest innhold av raffinose for brød.

4.4 Mikrobiologiske analyser av brøddeig

Veksten av gjær og mugg og melkesyrebakterier ble bestemt ved innstøping på agarene RB og MRS. Dette ble gjort samtidig som det ble gjort uttak til analyse av organiske syrer, maltose, glukose, fruktose, fruktan, raffinose og måling av pH. Celletall for alle hvetetyper ved de ulike inkubasjons- tidene og temperaturene er oppgitt i log kde/g, vist i tabell 4.1.

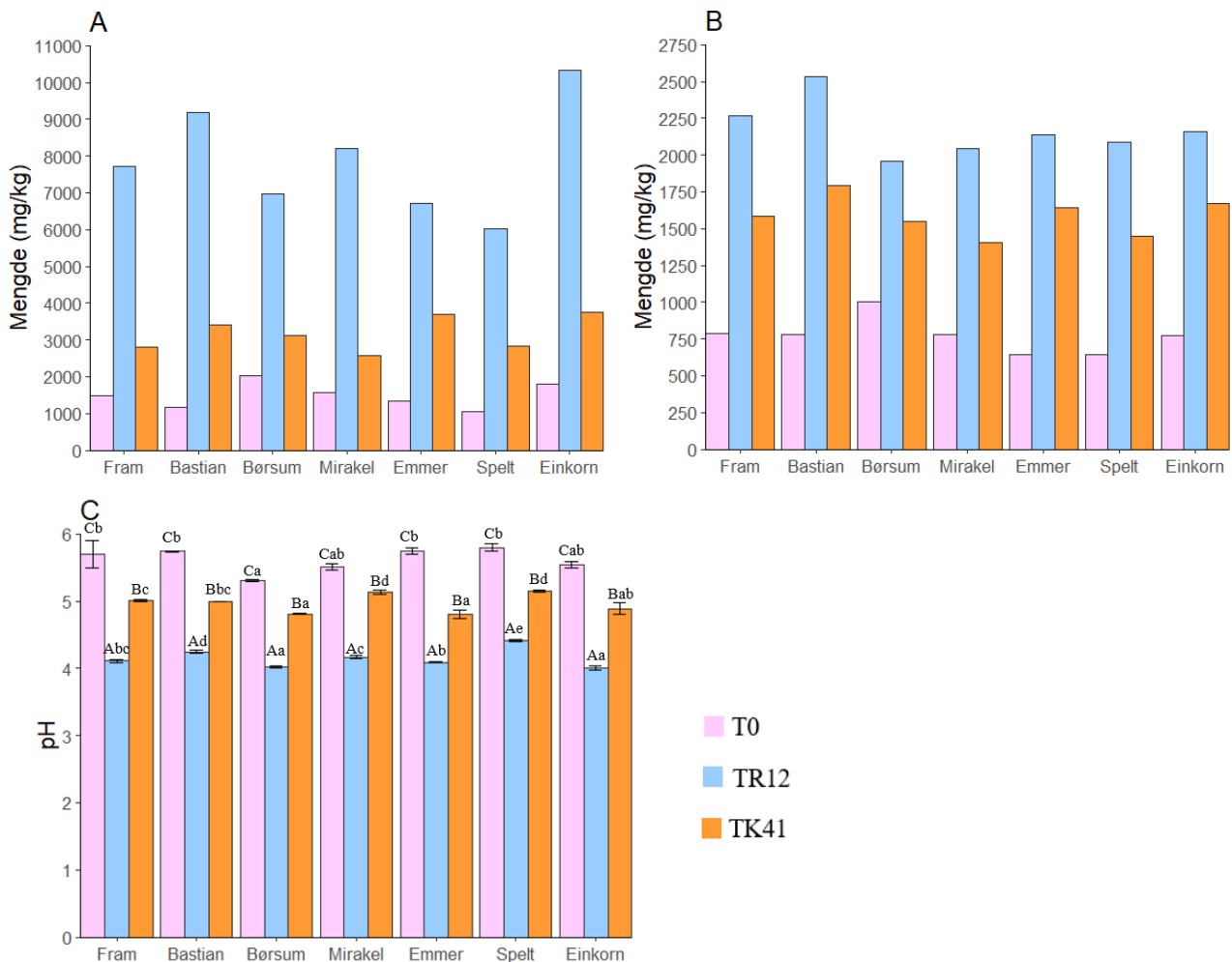
Tabell 4.1 Celletall (log kde/g) i de ulike brøddeigene laget med de moderne hvetetyper Fram, Bastian, Børsum, Mirakel og urhvetetyper emmer, einkorn og spelt etter elting (T0), ved inkubering i 12 timer ved 22 °C (TR12) og ved inkubering i 41 timer ved 4 °C (TK41) (n=2).

Prøve	Celletall log kde/g					
	Gjær og mugg (RB)			Melkesyrebakterier (MRS)		
	T0	TR12	TK41	T0	TR12	TK41
Fram	6,18 ± 0,03	7,10 ± 0,10	5,88 ± 0,03	7,06 ± 0,02	8,50 ± 0,03	6,64 ± 0,05
Bastian	5,91 ± 0,01	7,29 ± 0,12	6,04 ± 0,1	7,13 ± 0,02	8,32 ± 0,05	7,00 ± 0,17
Børsum	6,13 ± 0,03	7,21 ± 0,10	6,01 ± 0,05	7,57 ± 0,01	8,77 ± 0,06	7,40 ± 0,04
Mirakel	6,07 ± 0,01	7,19 ± 0,04	5,93 ± 0,02	7,08 ± 0,04	8,19 ± 0,04	6,80 ± 0,04
Emmer	6,21 ± 0,15	7,52 ± 0,03	6,00 ± 0,31	6,77 ± 0,08	8,30 ± 0,05	7,36 ± 0,07
Einkorn	6,48 ± 0,02	7,54 ± 0,03	6,11 ± 0,02	6,84 ± 0,07	8,39 ± 0,05	7,53 ± 0,07
Spelt	6,11 ± 0,07	7,36 ± 0,08	5,99 ± 0,01	7,17 ± 0,00	8,35 ± 0,12	7,32 ± 0,02

Tabell 4.1 viser høyest økning i celletall for gjær og mugg og melkesyrebakterier for alle brøddeigene fermentert ved 22 °C. Det var en minimal forandring av gjær og mugg og melkesyrebakterier ved T0 sammenliknet med brøddeiger fermentert ved 4 °C. Celletallet for gjær og mugg ved T0 varierte fra 6,48 log kde/g (einkorn) til 5,91 log kde/g (Bastian). Det var en økning fra 0,92 log kde/g (Fram) til 1,38 log kde/g (Bastian) for brøddeiger fermentert ved 22 °C. Alle prøvene bortsett fra Bastian viste en nedgang i celletallet for gjær og mugg for brøddeiger fermentert ved 4 °C. Emmer og einkorn hadde høyest celletall for gjær og mugg både etter elting og fermentering ved 22 °C. Celletallet for melkesyrebakterier i brøddeigene etter elting varierte fra 7,57 log kde/g (Børsum) til 6,77 log kde/g (Emmer). Det var en økning fra 1,11 kde log/g (Mirakel) til 1,53 log kde/g (Emmer) og 1,55 log kde/g (Einkorn) for brøddeiger fermentert ved 22 °C. Det var kun einkorn og emmer som viste en økning på >0,5 log kde/g for brøddeiger fermentert ved 4 °C.

4.5 Analyse av organiske syrer og målt pH i brøddeig

Innhold av organiske syrer ble analysert for å undersøke produksjon av melkesyre og eddiksyre i brøddeig for alle hvetetyper. Konsentrasjonen av melkesyre og eddiksyre og målt pH er presentert i figur 4.4. Det er ingen gjentak av resultatene for melkesyre og eddiksyre, og det ble derfor ikke utført statistiske analyser på disse resultatene (n=1). Resultatene for pH er presentert som gjennomsnitt fra en parallell (n=2).



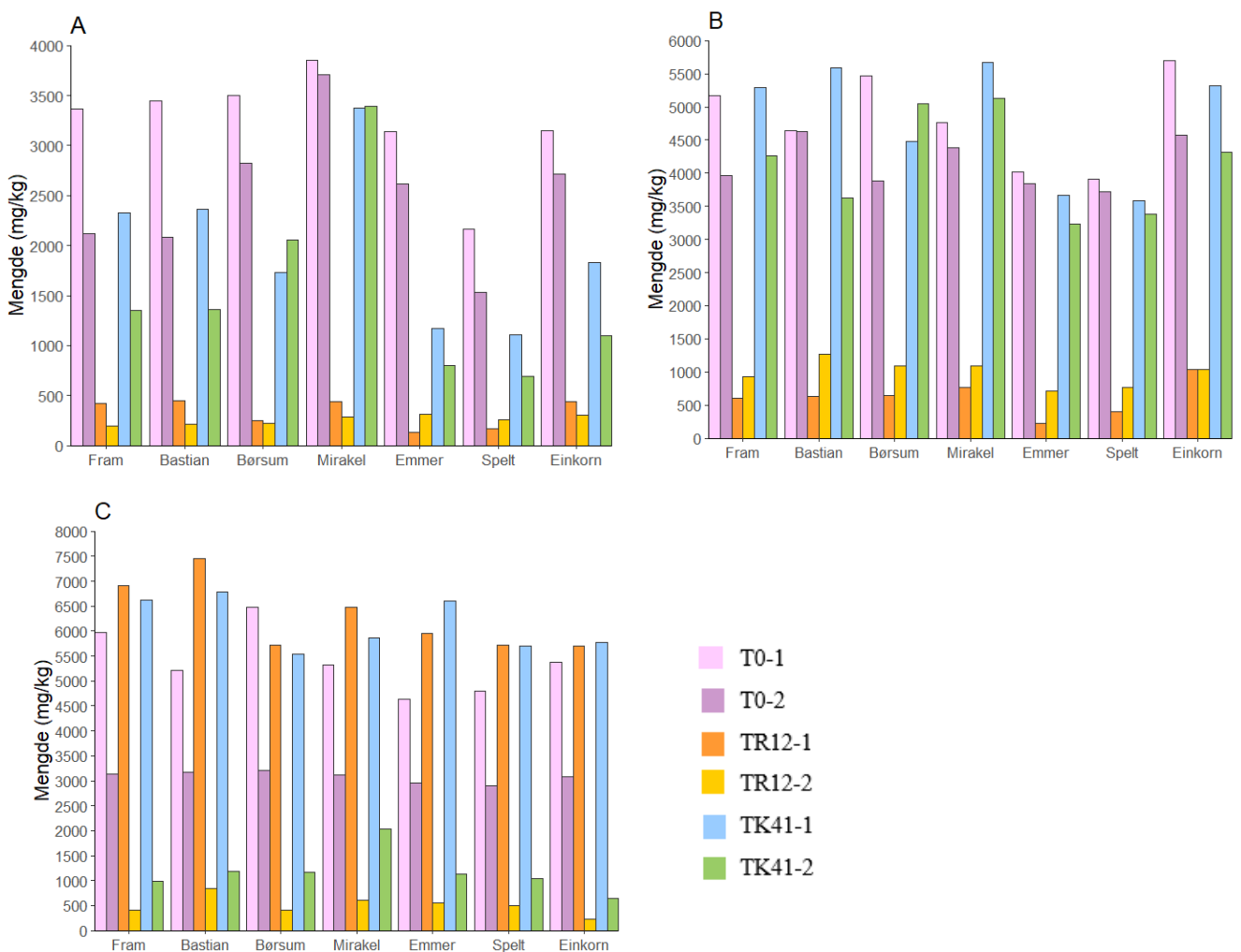
Figur 4.4 Mengde (mg/kg) melkesyre (a), eddiksyre(b) målt pH (c) i Bastian, Børsum, Mirakel, Fram, einkorn, emmer og spelt etter elting (T0), inkubasjon i 12 timer ved 22 °C (TR12) og inkubasjon i 41 timer ved 4 °C (TK41). Ulike bokstaver indikerer signifikante forskjeller, og hvor store bokstaver representerer signifikante forskjeller ved de ulike inkuberingsbetingelsene for samme prøve og små bokstaver indikerer signifikans for samme inkuberingsbetingelse mellom de ulike prøvene. Standardavvik er illustrert som feilfelt.

Figur A-B viser at konsentrasjonen av melkesyre overstiger konsentrasjonen av eddiksyre for alle hvetetyper, og er betydelig høyere for hvetetyper fermentert ved 22 °C sammenlignet hvetetyper fermentert ved 4 °C. Figuren viser også at alle hvetetyper fermentert ved 4 °C har dobbelt så høy konsentrasjon av melkesyre sammenlignet eddiksyre. For hvetetyper

fermentert ved 22 °C er derimot konsentrasjonen av melkesyre tre ganger så høy sammenlignet med eddiksyre. Imidlertid viste hvetetyperne noe forskjellig mønstre og det var betydelig større forskjeller i melkesyrekonsentrasjonen mellom hvetetyperne sammenlignet med eddiksyrekonsentrasjonen. Forskjellen i konsentrasjonene av melkesyre mellom spelt og einkorn var omtrent 4000 mg/kg, mens variasjonen eddiksyrekonsentrasjonen var omtrent 600 mg/kg. Einkorn hadde høyest konsentrasjon av melkesyre og signifikant lavest pH for hvetetyperne fermentert ved 22 °C, mens spelt hadde lavest konsentrasjon av melkesyre og signifikant høyere pH. For hvetetyperne fermentert ved 4 °C hadde einkorn høyest konsentrasjon av melkesyre og pH var signifikant lavest for Børsum og emmer. Mirakel hadde lavest konsentrasjon av melkesyre og pH var også signifikant høyere for Mirakel og spelt ved denne inkuberingsbetingelsen. Det var ikke det samme mønsteret for konsentrasjonen av eddiksyre og melkesyre. Eddiksyrekonsentrasjonen var høyest i Bastian og lavest for Børsum for prøver fermentert ved 22 °C, og høyest for Bastian og lavest for Mirakel for prøver fermentert ved 4 °C.

4.6 Analyse av maltose, glukose og fruktose i brøddeig

For å undersøke forekomst og omdannelse av karbohydrater ble det gjennomført to ulike HPLC-analyser. Det ble gjennomført to typer (metode 1 og metode 2) ettersom fruktose viste eluering med en ukjent komponent ved metode 1. Konsentrasjonen av maltose, glukose og fruktose i Fram, Bastian, Børsum, Mirakel, emmer, spelt og einkorn ved inkuberingsbetingelsene T0, TR12 og TK41 for begge metodene er presentert i figur 4.5. Resultatene for hver metode er fra ett forsøk (n=1).



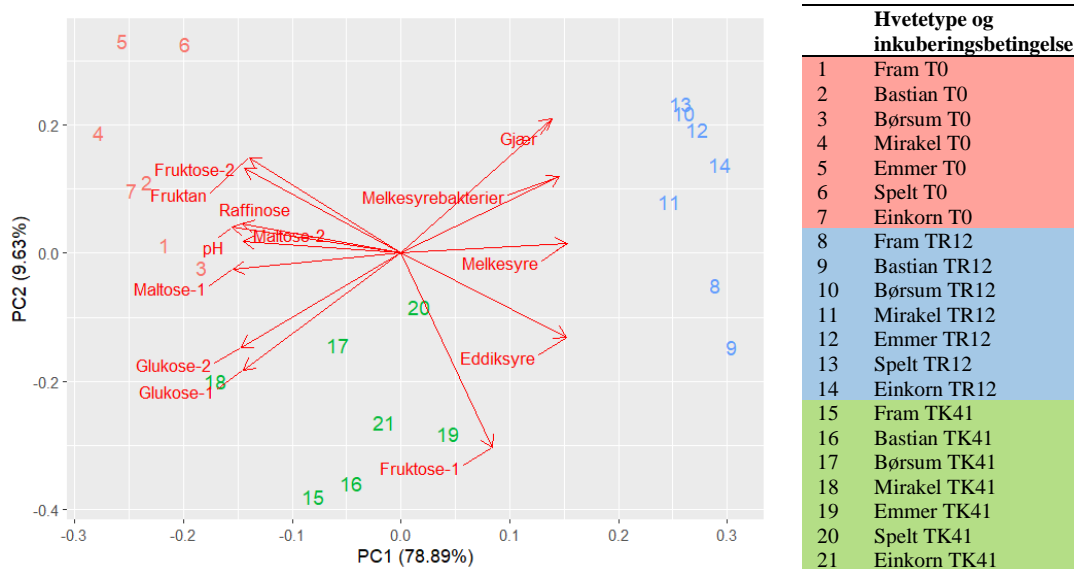
Figur 4.5 Mengde (mg/kg) maltose (a), glukose (b) og fruktose (c) i Bastian, Børsum, Mirakel, Fram, einkorn, emmer og spelt etter elting (T0), inkubasjon i 12 timer ved 22 °C (TR12) og inkubasjon i 41 timer ved 4 °C (TK41) for metode 1 og 2.

Figur 4.5 A-C viser variasjon i konsentrasjonen av maltose, glukose og fruktose målt med metode 1 og 2. Innholdet av maltose ble redusert under fermentering for alle hvetetyperne både ved metode 1 og 2. Prøver fermentert ved 22 °C hadde størst effekt på metabolismen av maltose sammenliknet med prøver fermentert ved 4 °C. Med unntak av emmer og spelt viste

metode 2 en lavere konsentrasjon av maltose for hvetetyper fermentert ved 22 °C sammenliknet med metode 1. For hvetetyper fermentert ved 4 °C viste hvetetyper med unntak av Børsum og Mirakel en lavere konsentrasjon av maltose med metode 2. Innholdet av glukose ble redusert for alle hvetetyper fermentert ved 22 °C både for metode 1 og 2, likevel var det en høyere konsentrasjon av glukose for alle hvetetyper målt med metode 2 sammenliknet med metode 1. Konsentrasjonen av glukose for hvetetyper fermentert ved 4 °C viste derimot et annet mønster. Med unntak av Børsum var konsentrasjonene av glukose for prøver fermentert ved 4 °C høyere for metode 1 sammenliknet med metode 2. For hvetetyper Fram, Bastian og Mirakel økte konsentrasjonen av glukose med metode 1, mens konsentrasjonen av glukose i Fram, Børsum og Mirakel økte med metode 2. Konsentrasjon av fruktose hadde betydelig variasjon mellom metode 1 og metode 2. Hvor alle hvetetyper ved T0, TR12 og TK41 viste høyere konsentrasjon av fruktose ved metode 1 sammenliknet med metode 2. Med unntak av Børsum økte konsentrasjonen av fruktose for hvetetyper fermentert ved 22 °C og 4 °C for metode 1. Metode 2 viste derimot en reduksjon i konsentrasjonen av fruktose for hvetetyper fermentert ved 22 °C og 4 °C. Likevel ble det metabolisert mest fruktose i fermenterte prøver ved 22 °C sammenliknet med fermenterte prøver 4 °C. Metode 1 og 2 viste derfor størst variasjon i målt konsentrasjon av fruktose sammenliknet med konsentrasjonen av maltose og glukose.

4.7 PCA bi-plott

Et PCA bi-plott (Principal Component Analysis) ble fremstilt for å oppsummere variasjonene som ble observert, samtidig undersøke korrelasjon mellom de forskjellige analyserte komponentene. Plottet tar for seg resultater for alle hvetetyperne ved inkuberingsbetingelsene T0, TR12 og TK41.



Figur 4.6 PCA bi-plott for de målte komponentene fruktan, raffinose, melkesyrebakterier, gjær, melkesyre, eddiksyre, pH, maltose, glukose og fruktose (metode 1 og 2) i Fram, Bastian, Børsum, Mirakel, emmer, spelt og einkorn ved de ulike inkuberingsbetingelsene T0, TR12 og TK41.

PCA bi-plottet viser at PC1 og PC2 forklarer 88,5 % variasjonene i datasettet (PC1=78,9 %, PC2= 9,6 %). PC1 skilte mellom de ulike inkuberingsbetingelsene T0, TR12 og TK41. PC2 skilte hovedsakelig mellom gjær og fruktose-1. Prøver etter elting ble lokalisert i de negative regionene til PC1 og ble karakterisert med fruktan, raffinose, pH, fruktose-2 og maltose-1 og 2. Prøver fermentert ved 22 °C ble lokalisert i den positive regionen til PC1 og var karakterisert med melkesyre, gjær og melkesyrebakterier. Samtidig viste PC1 at pH var på motsatt side av melkesyre og melkesyrebakterier, og de var derfor negativt korrelert. Prøver fermentert ved 4 °C var karakterisert med eddiksyre, fruktose-1, mens glukose 1 og 2 karakteriserte både prøver etter elting og prøver fermentert ved 4 °C. Samtidig viste PC2 at glukose 1 og 2 var på motsatt side av gjær og de var derfor negativt korrelert.

5. Diskusjon

I denne oppgaven ble surdeigsbrød laget på norsk-dyrket moderne hvete (Fram, Bastian, Børsum og Mirakel) og urhvete (emmer, spelt og einkorn) analysert. Hensikten med oppgaven var å undersøke effekten av surdeigsfermentering for reduksjon av fruktan og raffinose i deig og brød laget med norsk-dyrket hvete. Veksten og metabolismen til gjær og melkesyrebakteriene i brøddeigene ble også analysert for å undersøke om deres vekst og metabolisme endres under surdeigsfermenteringen, og om det var forskjeller mellom de ulike hvetetyperne. Resultatene for fruktan- og raffinoseinnhold er oppgitt i g/100g ettersom det ikke var tid til å gjennomføre tørrstoffanalyse mot slutten av masterperioden. Resultatene kan derfor avvike noe fra hva som er oppgitt i litteraturen ettersom fruktan- og raffinoseinnhold ofte oppgis i g/100g DM (tørrstoff).

FODMAPs som fruktan og raffinose gir økt vannopptak og gjæring av tarmbakterier som igjen gir gass og væskeforandringer i tarmen, og som bidrar til symptomer på IBS. Mennesker mangler enzymer som kan bryte ned fruktan og raffinose i tarmen, og det er derfor nødvendig med en reduksjon av FODMAPs i kostholdet for å unngå ubehag, eller bearbeiding av produktene som fermentering for å redusere FODMAP-innholdet (Boakye et al., 2023). I dag er det svært få produkter med lavt FODMAP-merking tilgjengelig på markedet. Produktene som er egnet for disse pasientene i dag er hovedsakelig glutenfrie, som ofte mangler sensorisk appell og ernæringsmessig verdi (Ispiryan et al., 2022). Utvikling av velsmakende lav FODMAP-produkter med høy ernæringsverdi er derfor etterspurt. Det er ingen studier av surdeigsfermentering med norsk-dyrket hvetetyper, som viser til reduksjonen av FODMAPs som rapporteres i litteraturen. Denne oppgaven vil derfor være nyttig for videre utvikling av norske hvetebaserte innovative produkter med redusert FODMAP-innhold.

5.1 Innhold av fruktan og raffinose i mel

Innholdet av fruktan og raffinose ble målt i alle 13 melprøvene fra to ulike lokasjoner før deig- og stekeforsøket ble gjennomført. Dette ble gjort for å undersøke om det var forskjeller i fruktan- og raffinoseinnhold for samme hvetetype fra to lokasjoner, og for å undersøke om innholdet av fruktan og raffinose varierte for de ulike hvetetyperne.

Fruktaninnholdet var høyest for Mirakel, Bastian, Børsum etterfulgt av emmer, spelt, Fram og einkorn. Fruktaninnholdet for moderne hvete varierte fra 1,30 g/100g til 0,97 g/100g i henholdsvis Mirakel og Fram (figur 4.1). Dette er noe lavere enn fruktaninnholdet som ble rapportert av Ziegler et al. (2016) hvor fruktaninnholdet for moderne hvete ble målt til 1,568 g/100g DM. For urhvetetyperne var fruktaninnholdet høyest for emmer med 1,16 g/100g og lavest for einkorn med 0,91 g/100g (figur 4.1). Innholdet av fruktan i emmer er i samsvar med det som ble rapportert av Ziegler et al. (2016) hvor fruktaninnholdet i emmer ble målt til 0,959 g/100g DM. Det ble også rapportert i studien av Ziegler et al. (2016) at fruktaninnholdet i spelt var 1,257 g/100g DM, men dette er noe høyere enn det som ble målt i denne oppgaven hvor innholdet av fruktan i spelt var 0,998 g/100g (figur 4.1). Shewry et al. (2022) og Ziegler et al. (2016) er også enig om at moderne hvete har høyere fruktaninnhold enn emmer. Shewry et al. (2022) rapporterte også et høyere fruktaninnholdet i moderne hvete enn i spelt, mens i studien av Ziegler et al. (2016) var det ingen signifikant forskjell mellom moderne hvete og spelt. I studien av Ziegler et al. (2016) ble også fruktaninnholdet i einkorn analysert og det ble rapportert at fruktaninnholdet i einkorn var 1,739 g/100g DM. Brandolini et al. (2011) studerte også fruktaninnholdet i einkorn hvor det ble dyrket én kontroll og fire andre einkorn-typer. Resultatene viste at fruktaninnholdet var 1,90 g/100 g DM for einkorn og 1,29 g/100 g DM for kontrollen. Resultatene fra disse to studiene er derfor ikke i samsvar med resultatene fra denne oppgaven, hvor einkorn var hvetetypen med lavest fruktaninnhold (figur 4.1). Derimot rapporterte Gebruers et al. (2008) den samme trenden for fruktan i denne oppgaven som for det totale kostfiberinnholdet i hvete. I studien var kostfiberinnholdet høyest i moderne hvete (11,5-18,3 % DM) etterfulgt av durumhvete og spelt (10,7–13,9 % DM), einkorn og emmer (7,2-12,8 % DM). Det blir diskutert at disse variasjonene gir ernæringsmessige og teknologiske forskjeller, som vil være interessant å studere videre for hvetetyperne i denne oppgaven (Gebruers et al., 2008).

For alle hvetetyperne var raffinoseinnholdet betydelig lavere enn fruktaninnholdet. Innholdet av raffinose var høyest i emmer etterfulgt av Fram, Børsum, Bastian, spelt, einkorn og

Mirakel. Det var derfor ikke mulig å sammenligne raffinoseinnholdet i moderne hvete og urhvete ettersom hvetetyperne viste forskjellige mønstre. I studien av Ziegler et al. (2016) ble det rapportert at raffinoseinnholdet i emmer og einkorn var henholdsvis 0,292 g/100g DM og 0,271 g/100g DM. Dette er lavere sammenlignet med raffinoseinnholdet for emmer og einkorn som ble målt til henholdsvis 0,596 g/100g og 0,396 g/100g i denne oppgaven (figur 4.1). Derimot var raffinoseinnholdet i denne oppgaven for spelt 0,330 g/100g og mirakel 0,292 g/100g (figur 4.1). Dette er i samsvar med studien av Ziegler et al. (2016), hvor raffinoseinnholdet i spelt og mirakel ble målt til henholdsvis 0,309 g/100g DM og 0,214 g/100g DM. Raffinoseinnholdet som ble målt i studien av Ziegler et al. (2016) og denne oppgaven er i samsvar med tidligere rapporterte raffinosenivåer for moderne hvete og spelt (Huynh et al., 2008).

Ettersom det var begrenset mengde prøvemateriale av urhvetemel ble det gjennomført statistiske analyser for å undersøke om det var signifikante forskjeller mellom urhvete av samme hvetetype fra to forskjellige lokasjoner. Det var ingen signifikante forskjeller for den samme hvetetypen fra de to ulike lokasjonene, med unntak av fruktaninnholdet for spelt 708 og spelt 802 (figur 4.1). I andre studier har det også blitt rapportert om hvetetyper med forskjellige vekstforhold, som i studiet av Ziegler et al. (2016). I denne studien ble dyrket moderne hvetetyper på fire forskjellige steder i Tyskland, men det ble ikke observert signifikante forskjeller mellom de ulike vekststedene. Likevel ble det rapportert i studien av Boakye et al. (2022) at vekststed påvirket FODMAPs-innholdet i samme grad som hvetetype og klimatiske forhold er avgjørende for innholdet av karbohydratene. Ettersom variasjonen i fruktaninnhold for spelt fra to lokasjoner var minimal, ble det konkludert at dette ikke hadde noe betydning i praksis, og mel fra to lokasjoner for spelt ble blandet for å få nok prøvemateriale til to gjentak av stekeforsøket. Ut i fra resultatene i studien av Boakye et al. (2022) ville det ha vært større variasjoner i innholdet av fruktan og raffinose hvis hvetetypene var dyrket på to steder med forskjellig klima.

5.2 Innhold av fruktan og raffinose i deig og brød

I deigforøket ble alle hvetetyperne benyttet, mens i stekeforsøket ble einkorn utelatt på grunn av lite prøvemateriale. Innholdet av fruktan og raffinose ble målt i fordeig, brøddeig etter elting (T0), brøddeig fermentert ved 22 °C i 12 timer (TR12) og brøddeig fermentert ved 4 °C i 41 timer (TK41) og stekt brød (BTR12 og BTK41).

Nedgangen i fruktan fra fordeig til stekt brød BTR12 var høyest for Bastian og spelt med henholdsvis 78 % og 71 %, sammenlignet med Mirakel og Børsum som hadde lavest reduksjon med 62 % (vedlegg 4). Det var en lavere nedgang fra fordeig til BTK41. Hvor Fram og emmer hadde størst reduksjon med henholdsvis 66 % og 64 %, mens Mirakel hadde lavest reduksjon med 49 %. Basert på disse mønstrene, kunne ingen klar differensiering mellom moderne hvete og urhvete påvises. Imidlertid kan det opprinnelige fruktaninnholdet ha påvirket resultatene, da Mirakel hadde det høyeste fruktaninnholdet i melet, fordeig så vel som brød, sammenlignet med de andre prøvene (figur 4.2). I litteraturen blir det også rapportert at fermentering har en effekt på reduksjon av fruktan. I en studie av Knez et al. (2014) ble det rapportert en signifikant reduksjon av fruktan fra mel til fermentert brød. Derimot ble det rapportert ingen signifikant reduksjon av fruktan fra mel til brød som ikke var fermentert, som tyder derfor på at det er fermenteringen som gir reduksjon i fruktaninnhold.

På samme måte som fruktan hadde surdeigsfermentering en signifikant effekt på reduksjon av raffinose for alle hvetetyperne. Det ble ikke detektert raffinose i noen av brøddeigene fermentert ved 22 °C og raffinose ble derfor heller ikke detektert i brød som var fermentert ved 22 °C (figur 4.3). Reduksjon av raffinose fra fordeig til stekt brød fermentert ved 4 °C var høyere for moderne hvete typene med opptil 92 % reduksjon for Mirakel, mens reduksjonen for spelt og emmer var henholdsvis 81 % og 57 % (vedlegg 5). For stekt brød Fram, Børsum og Mirakel var det signifikant lavere innhold a raffinose sammenliknet med spelt (figur 4.3). I litteraturen blir det også rapportert at fermentering har en effekt på reduksjon av raffinoseinnholdet og at innholdet av raffinose er høyere i spelt sammenliknet med moderne hvete som er i samsvar med denne oppgaven. Ziegler et al. (2016) rapporterte at raffinose ikke ble detektert i moderne hvete etter fermentering, mens i speltbrød var det 7,2 % igjen av raffinose av det totale FODMAPs innholdet etter 4,5 timers fermentering.

I denne oppgaven ble det kun undersøkt hvilken effekt surdeigsfermentering har på reduksjonen av fruktan- og raffinoseinnholdet i brød, men i litteraturen rapporteres forskjellig om fermentering med surdeig har større effekt på reduksjonen av FODMAPs sammenliknet

med fermentering med gjær. I en studie av Shewry et al. (2022) ble det rapportert at både surdeigsfermentering og fermentering med gjær ga en reduksjon i fruktan- og raffinoseinnhold i brød, men at fermentering med gjær hadde størst effekt. Derimot har det også blitt rapportert at surdeigsfermentering har større effekt på reduksjonen av fruktan, hvor fermentering med gjær ga 50 % reduksjon, mens surdeigsfermenteringen ga over 80 % reduksjon (Longin et al., 2020; Struyf et al., 2017a). Dette ble også bekreftet i en studie av Menezes et al. (2019) hvor surdeigsfermentering ga 69-75 % og fermentering med gjær ga 3-15 % reduksjon. Det blir diskutert at den høyere reduksjonen av fruktan som blir rapportert i flere studier for surdeig skyldes melkesyrebakterienes reduksjon av pH, som gir optimale forhold til gjærinvertase som gir en ytterligere reduksjon av fruktan (Loponen & Gänzle, 2018).

Det var en signifikant reduksjon i både fruktan- og raffinoseinnhold for alle hvetetyperne fra T0 til TR12 og TK41. I litteraturen blir det også rapportert at fermenteringstid har en effekt på reduksjonen av fruktan og raffinose både for fermentering med surdeig og fermentering med gjær. I studien av Ziegler et al. (2016) ble det rapportert at 1 times fermentering ga minimal reduksjon av fruktan og raffinose, og at fermenteringstider over 4 timer ga størst reduksjon. Pejcz et al. (2021) undersøkte og sammenlignet FODMAPs-innholdet brøddeig fermentert ved enten 24, 48 og 72 timer. Studien rapporterte at inkuberingstid er svært avgjørende for reduksjonene av FODMAPs og at inkuberingstid oppimot 72 timer ved 28 °C ga den størst reduksjonen. Ettersom det kun ble undersøkt reduksjon etter 12 timer ved 22 °C i denne oppgaven kunne det ifølge studien av Pejcz et al. (2021) gi en ytterligere reduksjon i fruktaninnholdet hvis deigene hadde blitt fermentert lengre. Samtidig vil økning av inkuberingstiden sannsynligvis øke kostnadene for produksjon av surdeigsbrød i industrien, det vil også kreve mer tid og planlegging for surdeigsbakingen i hjemmet og påvirke kvaliteten på brødet. Det vil derfor være viktig både for industri og hjemme baking å finne inkuberingsbetingelser som fungerer best i praksis, samtidig som det gir en reduksjon av FODMAPs til et optimums nivå og gir et brød med best mulig kvalitet.

Fruktaninnhold i brød av moderne hvetetyper fermentert ved 4 °C varierte fra 0,554 g/100g til 0,291 g/100g i henholdsvis Mirakel og Fram (figur 4.2). Innholdet av fruktan i Børsum og Bastian var et midtnivå og stemmer med det som er rapportert i litteraturen. I studie av Longin et al. (2020) ble fermentert brød med gjær fermentert i 24 timer i kjøleskap. Det ble rapportert at fruktaninnholdet i brød laget med moderne hvete var 0,4 g/100g DM.

Det var kun en signifikant effekt av fermentering til steking i fruktaninnholdet for Fram, Bastian og Mirakel for både deiger fermentert ved 22 °C og 4 °C. Ettersom det var en signifikant effekt for alle hvetetyperne fra fordeig til fermentert deig TR12 og TK41 indikerer dette at fermentering hadde en større effekt på fruktan-nedbrytningen enn steking. Dette blir også bekreftet i en studie av Knez et al. (2014). Derimot har det også blitt vist at stekebetingelser kan være avgjørende for fruktan-nedbrytningen. I en studie av Menezes et al. (2019) ble det brukt kommersielt hvetemel og det ble observert en signifikant reduksjon av fruktan etter steking av brødet. Ved denne studien ble brødet stekt ved 180 °C i 30 minutter i kombinert varme med 10 minutter damp og 20 minutter i tørr varme. På en annen side ble det rapportert i en studie av Verspreet et al. (2013) ingen signifikant reduksjon i fruktan etter steking. Stekbetingelsene ved denne studien var 232 °C i 13 minutter. Disse studiene tyder på at bakeparametere, spesielt tid og temperatur har en effekt på fruktan-reduksjonen. Ettersom det ble brukt kombinert varme i denne oppgaven kan det tyde på at fruktaninnholdet hadde vært høyere hvis det kun hadde vært brukt tørr varme, og at kombinert varme derfor er den mest effektive steke betingelsen for reduksjon av fruktan. Einkorn var ikke med i brødforsøket på grunn av lite råmateriale, men ettersom innholdet av fruktan var 0,196 g/100g ved TR12 og ingen av de andre hvetetyperne hadde et lavere fruktaninnhold ved TR12 er det å forvente at einkorn også vill hatt lavere fruktaninnholdet ved BTR12 og BTK41.

I denne oppgaven ble ikke innholdet av mannitol analysert, men flere studier viser at dette sukkeralkoholet produseres under surdeigsfermentering. Costabile et al. (2014) rapporterte at surdeigsbrød inneholdt mannitol noe som normalt ikke påvises i melprøver. På en annen side ble det rapportert at nedbrytningen av fruktan kan være viktigere for IBS-pasienter enn økning av polyoler ettersom andelen fruktan i hvetemel er høyere enn polyoler (Menezes et al., 2019). I surdeiger er det heterofermentative melkesyrebakterier som kan omdanne fruktose til mannitol, de kan i utgangspunktet ikke bruke fruktose som karbonkilde, men har mannitol dehydrogenaseaktivitet som muliggjør at fruktose kan brukes som elektronakseptor. Dette gir syntese av en ekstra adenosintrifosfat (ATP) som resulterer i mannitolakkumulering (Loponen & Gänzle, 2018). Bakteriene som er i stand til mannitolnedbrytning er *Lactobacillus delbrueckii*, *Lactobacillus casei*, *Lactobacillus plantarum* og *Lactobacillus salivarius*. Mannitol er et polyol og dermed FODMAP som raskt fermenteres av mikroorganismene i tarmen. For å bryte ned mannitol trengs det mannitol-fermenterende lactobaciller. Det vil derfor være nødvendig å kvantifisere innholdet av mannitol i prøvene for å bestemme det totale innholdet av FODMAPs i brød (Loponen & Gänzle, 2018).

Enzymatiske metoder som fruktan-analysen fra Megazyme er effektiv og kostnadsbesparende. Derimot gir denne fruktan-analysen ingen informasjon om polymeriseringsgraden til fruktan og den kan også være unøyaktig. Kromatografiske metoder kan derfor være mer egnet for identifikasjon av fruktan i prøven. Ziegler et al. (2016) sammenlignet analyse av fruktan ved bruk av kromatografisk metode og enzymatisk fruktan-analyse (AOAC Method 999.03 og AACC Method 32-32.01) fra Megazyme, og det ble rapportert at ved bruk av fruktan-analysen fra Megazyme ble innholdet av fruktan overestimert. Ispiryan et al. (2020) viste på en annen side at det var ingen signifikante forskjeller ved sammenligning av kromatografisk metode og fruktan-analysen (AOAC Method 999.03 og AACC Method 32-32.01) fra Megazyme.

Kitet fra Megazyme for måling av raffinose viser kun innholdet av raffinose i prøven, og ikke staktyose og verbaskose som også hydrolyseres av α -galaktosidase. Ettersom NAD^+ oksideres til β -D-galaktose fra raffinose, staktyose og verbaskose, kan derfor ta tid før reaksjonen stabiliserer seg. Hvis hydrolyse av D-galaktose ikke er fullført etter 20 minutter ved 40 °C vil interferens finne sted og det kan være større mengder av staktyose, verbaskose til stede som ikke blir målt (Megazyme, 2020b). Derimot ble det ikke observert økning i prøvene etter 20 min som kan tyde på at reaksjonene kan ha stabilisert seg og at det var hovedsakelig raffinose til stede. Likevel kan ikke konstateres uten nærmere undersøkelser av staktyose og verbaskose i prøvene. Samtidig blir det i litteraturen rapportert varierende innholda av de tre oligosakkaridene raffinose, staktyose og verbaskose i hvete, og det kan derfor ikke med sikkerhet fastslås at de tre ulike raffinose-familie oligosakkaridene er til stede i prøven. Ispiryan et al. (2020) rapporterer at hovedrepresentanten fra raffinose-familien er raffinose, og staktyose forekommer kun i lave nivåer eller spor og verbaskose ble ikke detektert i noen av melprøvene. Det ble rapportert at HPLC var en mer nøyaktig metode for å måle innholdet av tre oligosakkaridene til stede i prøvematerialet. Det ble diskutert at denne metoden skiller mellom ulike kjemiske forbindelser og vil dermed gi et mer presist mål på innhold av enkeltkomponentene raffinose, staktyose og verbaskose.

5.3 Vekst- og metabolismeforsøk av brøddeig

For å undersøke produksjonen av organiske syrer ble det gjennomført HPLC-analyse av brøddeigene ved T0, TR12 og TK41. Det ble også undersøkt forekomst og omdannelse av karbohydrater ved to ulike metoder: HPLC-metode 1 og 2. I tillegg ble det målt pH og bestemt celletall for melkesyrebakterier og gjær. Etersom det ikke var gjentak av resultatene for organiske syrer og karbohydratene maltose, glukose og fruktose var det ikke mulig å diskutere med hensyn på signifikante forskjeller mellom de ulike hvetetyperne og inkuberingsbetingelsene, og det ble derfor diskutert med hensyn på trender. Det ville derfor vært bedre statistiske resultater for vekst- og metabolismeforsøkene hvis det hadde vært tre gjentak av brøddeigforsøket.

I alle brøddeigene ble det produsert mest melkesyre for brøddeiger fermentert ved 22 °C sammenliknet med brøddeiger fermentert ved 4 °C (figur 4.4 A). Dette er i tråd med veksten av melkesyrebakterier var høyest (>8 log kde/g) for brøddeigene fermentert ved 22 °C (tabell 4.1). pH var også lavest for brøddeiger fermentert ved 22 °C som er i sammenheng med høyest produksjon av melkesyre og veksten av melkesyrebakterier. Variasjonen i melkesyrebakteriene viste for brøddeig fermentert ved 22 °C og 4 °C, skyldes at de vokser med redusert hastighet ved temperaturer under 20 °C som gjør at det også kreves lengre fermenteringstid (Gobbetti et al., 2005).

Produksjonen av eddiksyre økte for alle de fermenterte brøddeigene som kan tyde på at det var bakterier til stede som produserte eddiksyre (figur 4.4 B). En studie av Di Cagno et al. (2007) viste at *Furfurilactobacillus rossiae* isolert fra surdeig har høy evne til å produsere eddiksyre. Det samme ble også vist i masteroppgaven til Paulsen (2021) hvor *F. rossiae* konsentrasjonen av eddiksyre i surdeig var sterkt positivt korrelert med melkesyre, som stemmer overens ettersom det er en obligat heterofermentativ art (Corsetti et al., 2005). Videre forskning burde analysere tilstedeværelse av eddiksyrebakterier og stammen *F. rossiae* i brøddeigene brukt i denne oppgaven, for å undersøke om det kan være denne eddiksyrebakterien som var til stede.

Resultatene fra PCA bi-plottet viste at det var mindre variasjoner mellom HPLC-metodene for maltose og glukose sammenliknet med HPLC-metodene for fruktose (figur 4.6). Hvor fruktose-1 karakteriserte de fermenterte prøvene, mens fruktose-2 karakteriserte de ikke fermenterte prøvene. Grunnen til at det ble benyttet to ulike HPLC-metoder, var fordi fruktose eluerte ut samtidig med ukjent topp ved metode 1, som resulterte i lenger retensjonstid og en

økning av fruktose for de fermenterte prøvene 22 °C og 4 °C (figur 4.5 C). Ziegler et al. (2016) rapporterte også en økning av fruktose under surdeigsfermenteringen og det diskuteres at økningen av fruktose kan skyldes at fruktosen frigjøres ved metabolisme av fruktan. På en annen side blir det diskutert i andre studier at mannitol produseres av laktobaciller hvor de bruker fruktose som energikilde og at konsentrasjonen av fruktose dermed blir redusert under fermentering. Ettersom sameløring ved metode 1 gjorde det vanskelig å kvantifisere konsentrasjonen av fruktose i brøddeigene ble metode 2 utført. Metode 2 viste at konsentrasjonen av fruktose ble redusert under surdeigsfermenteringen og at prøvene fermentert ved 22 °C hadde en lavere konsentrasjon sammenlignet med prøvene fermentert ved 4 °C (figur 4.5 C). Dette stemmer også i samsvar med resultatene som ble rapportert av Verspreet et al. (2013), hvor det ble observert en nesten fullstendig fruktosenedbrytning etter 2 timers fermentering. Fruktose-2 viser den samme trenden, som analysen av fruktan og raffinose, hvor innholdet av karbohydratene ble redusert under fermenteringen. Ettersom fruktose er et FODMAP, er trenden metode 2 viser viktig for å anbefale surdeigsfermentering som en bearbeidingsmetode for å redusere innholdet av FODMAPs i bakevarer.

Maltose ble metabolisert i alle brøddeigene fermentert ved 22 °C og 4 °C for både metode 1 og 2 (figur 4.5 A). Likevel viste metodene forskjeller i konsentrasjonen av maltose, hvor metode 2 viste en lavere konsentrasjon for brøddeiger fermentert ved 22 °C med unntak av emmer og spelt, og en lavere konsentrasjon for brøddeigene fermentert ved 4 °C med unntak av Børsum og Mirakel. Derimot ble det for begge metodene metabolisert mer maltose for brøddeigene fermentert ved 22 °C sammenliknet med 4 °C, som er i samsvar med at det også ble funnet høyest celletall av melkesyrebakterier ved denne inkuberingsbetingelsen (tabell 4.1). Disse resultatene er i samsvar med litteraturen, hvor det blir diskutert at melkesyrebakterier metaboliserer maltose ved gode vekstvilkår (von Wright, 2011).

På samme måte som for melkesyrebakterier ble det funnet høyere celletall for gjær i brøddeigene fermentert ved 22 °C (tabell 4.1). I PCA-plottet var gjær negativt korrelert med glukose som karakteriserte prøver fermentert ved 4 °C (figur 4.6). Dette er i samsvar med litteraturen hvor det diskuteres at gjærstammer vokser saktere ved temperaturer rundt 4-8 °C. Dette gir en liten økning av deigvolumet og det vil derfor være høyere konsentrasjoner av glukose for fermenterte prøver ved 4 °C. I noen av hvetetyperne fermentert ved 4 °C var det færre gjærceller til stede sammenliknet med hvetetyperne etter elting. Dette gir en høyere konsentrasjon av glukose for prøver fermentert ved 4 °C, ettersom det var færre gjærceller som kunne metabolisere glukose (De Vuyst & Neysens, 2005). HPLC-metoden viste

forskjellig mønstre i innholdet av glukose for fermenterte prøver, hvor metode 2 viste en høyere konsentrasjon for hvetetyperne fermentert ved 22 °C, mens metode 1 viste en høyere konsentrasjon av glukose for prøver fermentert ved 4 °C med unntak av Børsum (figur 4.5 B). Det var dermed ingen klar differensiering mellom metode 1 og 2 i konsentrasjonene av maltose og glukose, sammenliknet med fruktose hvor de var en klar differensiering mellom metodene.

Ettersom metode 1 detekterte fruktose og en ukjent komponent som ikke var fruktose, illustrerer dette at metodeutvikling for prøver er viktig. Metode 1 er først og fremst designet for å måle innholdet av maltose, glukose og fruktose i meieriprodukter, og dermed kan denne metoden anses å være unøyaktig for måling av disse karbohydratene i surdeig. Derimot viser metode 2 å skille fruktose bedre fra de andre komponentene sammenliknet med metode 1. Ettersom metode 2 kun har fokus på karbohydratene maltose, glukose og fruktose anses den derfor å være mer nøyaktig. Dette burde tas i betraktning for videre analyse av surdeig og andre produkter som ikke er melkebaserte.

Analysene i denne oppgaven viser kun tilstedeværelse av gjær og melkesyrebakterier, mens i studier har det blitt rapportert at ulike stammer og arter av gjær og melkesyrebakterier kan påvirke hastigheten på FODMAPs-reduksjonen. Struyf et al. (2017a) og Struyf et al. (2017b) viste en reduksjon av fruktan på 90 % når *Kluyveromyces marxianus* ble brukt som gjær, sammenliknet med 56 % fruktan reduksjonen når *Saccharomyces cerevisiae* ble brukt. Forfatteren diskuterer at *K. marxianus* produserer mindre karbondioksid siden den mangler evnen til å metabolisere maltose noe som gir et mindre brødvolum. For å løse dette problemet foreslo forfatteren en kultur bestående av begge gjærartene. Dette ga et brød med et brødvolum som var sammenlignbart med kontrollbrødet samtidig som fruktan ble redusert tilstrekkelig. Det er viktig å merke seg at dette var en studie hvor tilsatt gjær ble brukt, men det er interessant å se at typen gjærstamme kan ha en effekt på fruktaninnholdet. I en studie av Laurent et al. (2020) ble fire ulike stammer av *S. cerevisiae* undersøkt med hensyn til invertaseaktivitet. Studien rapporterte forskjeller i invertaseaktivitet for de ulike gjærstammene, og som et resultat av dette var det også forskjell i nedbrytningen av raffinose for de ulike gjærstammene. Det ble også rapportert at raffinose ble fullstendig hydrolysert av invertase etter 60 minutters fermentering for moderne hvete. I studien av Teixeira et al. (2012) ble det undersøkt om levansukrase, et glykosidhydrolaseenzym som finnes i mange lactobaciller kan redusere innholdet av raffinose, staktyose og verbaskose. Det må merkes at denne studien var basert på surdeigsfermentering av blant annet sorghum og bønnemel altså

en glutenfri deig, men det er interessant å se at også enzymene som er til stede i laktobaciller kan påvirke effekten av surdeigsfermentering. I studien ble det rapportert at levansukrase konverterte raffinose raskt til α -galaktosidase og at stakyose og verbaskose ble redusert under fermenteringen. Dette viser at laktobaciller har en effekt på raffinose-familie oligosakkarider, og at denne effekten også kan tiltenkes at har skjedd i de fermenterte deigene i denne oppgaven. Ettersom det blir rapportert i litteraturen at lactobaciller er en vanlig melkesyrebakteriestamme å finne i surdeiger.

5.4 Konklusjon

Ut ifra resultatene i oppgaven kan det konkluderes med at surdeigsfermentering reduserte innholdet av fruktan og raffinose for alle norsk-dyrket hvetetypene. Det var ingen store forskjeller i fruktan- og raffinoseinnholdet mellom de to ulike lokasjonene for samme hvetetype, og vekststed hadde derfor ingen stor påvirkning i dette forsøket. Dette kan ha en sammenheng med at hvetetypene var dyrket på to vekststeder med samme klima. Det var ikke uventet at det ble observert forskjeller i fruktan og raffinoseinnhold for moderne hvete og urhvete i brøddeig og stekt brød, men det var ingen tydelig differensiering mellom disse verken for fruktan- eller raffinoseinnhold. Likevel kan det konkluderes med at ulike hvetetyper inneholder ulike nivåer av fruktan og raffinose. Innholdet av fruktan og raffinose i fordeig og brøddeig var lavest for einkorn, men ettersom det ikke var nok prøvemateriale til å steke brød med einkorn kan det ikke fastslås at det også ville ha vært lavest i brød. Ettersom det er få studier som rapporterer om innholdet av fruktan og raffinose i einkorn, kan dette ikke fastslås at det lave innholdet av fruktan og raffinose er en effekt av norsk-dyrket hvete. Oppgaven viste at fermentering ved 22 °C i 12 timer hadde størst effekt på reduksjonen av fruktan og raffinose, og vil derfor være anbefalt inkubasjonsbetingelse for personer som lider av IBS ut fra resultatene i denne oppgaven. Konsentrasjonen av melkesyre og eddiksyre var høyest for fermentert deig ved 22 °C og pH var også lavest for disse prøvene. Ved denne inkuberingsbetingelsen ble det også funnet høyest celletall for gjær og melkesyrebakterier. Hvilken type HPLC-metode som brukes ser ut til å være avgjørende for hvilke resultater som oppnås. Konsentrasjonen maltose og glukose ble redusert under fermenteringen for begge metoder, men det var forskjeller i konsentrasjonen mellom metodene. Derimot for konsentrasjonen av fruktose var det betydelig forskjeller mellom metodene. Hvor metode 1 viste akkumulering av fruktose, mens metode 2 viste metabolisering av fruktose for de fermenterte prøvene.

6. Til ettertanke og videre arbeid

Ettersom hvetetyper som ble benyttet i denne oppgaven var fra samme vekstsesong og på to ulike lokasjoner med samme klima, kan det gi andre resultater hvis det ble benyttet hvetetyper fra flere vekstsesonger og vekststeder med ulikt klima. Ettersom det var variasjoner i fruktan- og raffinoseinnhold for de ulike hvetetyper kan det også gi andre resultater hvis det blir brukt andre hvetetyper. De moderne hvetetyper som ble brukt i denne oppgaven var vårhvete sorter. Det ville vært interessant å analysere høsthvete sorter av moderne hvete, for å undersøke om dyrkningstidspunkt også har en effekt på fruktan- og raffinoseinnholdet. Det må også nevnes at selv om innholdet av fruktan og raffinose ble redusert under surdeigsfermentering i denne oppgaven, gir det ingen indikasjon på om innholdet er redusert til et akseptabelt nivå som ikke gir IBS-symptomer. Det er derfor nødvendig for videre forskning å undersøke om surdeigsfermentering med disse hvetetyper ikke skaper ubehag for IBS-pasienter, for å kunne med sikkerhet si at surdeigsfermentering med norsk-dyrket hvetetyper reduserer innholdet av fruktan og raffinose til et nivå som ikke gir IBS-symptomer.

Fremtidige studier burde også analysere de tekniske egenskapene til brødene som ble laget i denne oppgaven. I denne oppgaven var det kun fokus på FODMAPs innholdet i hvetetyper, men det ville ha vært interessant å vite om forskjellig temperaturer og inkuberingsbetingelser gir forskjeller i brødvolum, eller om det er forskjeller i farge på grunn av forskjellig innhold av lavmolekylære karbohydrater. Det ville også vært interessant med sensorisk profilering for å kartlegge om det er forskjeller mellom de ulike hvetetyper. Dette vil spesielt være nyttig for hvetetyper som viser høyest reduksjon av FODMAPs under surdeigsfermentering, for å kartlegge om de sensoriske egenskapene i disse produktene er bedre enn de i glutenfrie som ofte er produktene IBS-pasienter benytter seg av.

I litteraturen rapporteres det også at surdeigsfermentering har en effekt på reduksjon av såkalte amylase-trypsin inhibitorer (ATI) i hvete (Boakye et al., 2022). Asledottir et al. (2020) har gjort ATI-studier på mel av hvetetyper brukt i denne oppgaven, men det har ikke blitt gjort ATI-studier på disse hvetetyper under surdeigsfermentering. Det ville vært interessant å undersøke om innholdet av ATI i hvetetyper ble redusert under surdeigsfermentering og om det er variasjoner mellom dem.

7. Referanser

- Andersson, R., Fransson, G., Tietjen, M. & Åman, P. (2009). Content and Molecular-Weight Distribution of Dietary Fiber Components in Whole-Grain Rye Flour and Bread. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 57 (5): 2004-2008. doi: 10.1021/jf801280f.
- Asledottir, T., Rehman, R., Mamone, G., Picariello, G., Devold, T. G., Vegarud, G. E., Røseth, A., Lea, T. E., Halstensen, T. S., Ferranti, P., et al. (2020). Ancestral Wheat Types Release Fewer Celiac Disease Related T Cell Epitopes than Common Wheat upon Ex Vivo Human Gastrointestinal Digestion. *Foods*, 9 (9): 1173. doi: 2304-8158/9/9/1173.
- Belderok, B. (2000). Developments in bread-making processes. *Plant Foods for Human Nutrition*, 55 (1): 1-14. doi: 10.1023/A:1008199314267.
- Boakye, P. G., Kouglblenou, I., Murai, T., Okyere, A. Y., Anderson, J., Bajgain, P., Philipp, B., LaPlante, B., Schlecht, S., Vogel, C., et al. (2022). Impact of sourdough fermentation on FODMAPs and amylase-trypsin inhibitor levels in wheat dough. *Journal of Cereal Science*, 108: 103574. doi: 10.1016/j.jcs.2022.103574.
- Boakye, P. G., Okyere, A. Y. & Annor, G. A. (2023). Reduction of FODMAPs and amylase-trypsin inhibitors in wheat: A review. *Food Hydrocolloids for Health*, 3: 100117. doi: 10.1016/j.fhfh.2023.100117.
- Brandolini, A., Hidalgo, A., Plizzari, L. & Erba, D. (2011). Impact of genetic and environmental factors on einkorn wheat (*Triticum monococcum* L. subsp. *monococcum*) polysaccharides. *Journal of Cereal Science*, 53 (1): 65-72. doi: 10.1016/j.jcs.2010.09.008.
- Calvert, M. D., Madden, A. A., Nichols, L. M., Haddad, N. M., Lahne, J., Dunn, R. R. & McKenney, E. A. (2021). A review of sourdough starters: Ecology, practices, and sensory quality with applications for baking and recommendations for future research. *PeerJ*, 9 (e11389). doi: 10.7717/peerj.11389.
- Cauvain, S. (2015). Principles of Dough Formation. I: Cauvain, S. (red.) *Technology of Breadmaking* s. 312-315. Switzerland: Springer.
- Cho, I. H. & Peterson, D. G. (2010). Chemistry of bread aroma: A review. *Food Science and Biotechnology*, 19 (3): 575-582. doi: 10.1007/s10068-010-0081-3.
- Corsetti, A., Settanni, L., van Sinderen, D., Felis, G. E., Dellaglio, F. & Gobbetti, M. (2005). *Lactobacillus rossii* sp. nov., isolated from wheat sourdough. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 55 (1): 35-40. doi: 10.1099/ijms.0.63075-0.
- Costabile, A., Santarelli, S., Claus, S. P., Sanderson, J., Hudspith, B. N., Brostoff, J., Ward, J. L., Lovegrove, A., Shewry, P. R., Jones, H. E., et al. (2014). Effect of Breadmaking Process on In Vitro Gut Microbiota Parameters in Irritable Bowel Syndrome. *PLOS ONE*, 9 (10): e111225. doi: 10.1371/journal.pone.0111225.
- De Vuyst, L. & Neysens, P. (2005). The sourdough microflora: biodiversity and metabolic interactions. *Trends in Food Science & Technology*, 16 (1): 43-56. doi: 10.1016/j.tifs.2004.02.012.
- Di Cagno, R., De Angelis, M., Gallo, G., Settanni, L., Berloco, M. G., Siragusa, S., Parente, E., Corsetti, A. & Gobbetti, M. (2007). Genotypic and phenotypic diversity of *Lactobacillus rossiae* strains isolated from sourdough. *Journal of Applied Microbiology*, 103 (4): 821-835. doi: 10.1111/j.1365-2672.2007.03389.x.
- Dieterich, W. & Zopf, Y. (2019). Gluten and FODMAPS—Sense of a Restriction/When Is Restriction Necessary? *Nutrients*, 11 (8): 1957. doi: 10.3390/nu11081957.
- Dinu, M., Whittaker, A., Pagliai, G., Benedettelli, S. & Sofi, F. (2018). Ancient wheat species and human health: Biochemical and clinical implications. *The Journal of Nutritional Biochemistry*, 52: 1-9. doi: 10.1016/j.jnutbio.2017.09.001.
- Dubcovsky, J. & Dvorak, J. (2007). Genome Plasticity a Key Factor in the Success of Polyploid Wheat Under Domestication. *Science*, 316 (5833): 1862-1866. doi: doi:10.1126/science.1143986.
- Ehdaie, B., Alloush, G. A., Madore, M. A. & Waines, J. G. (2006). Genotypic Variation for Stem Reserves and Mobilization in Wheat: I. Postanthesis Changes in Internode Dry Matter. *Crop Science*, 46 (2): 735-746. doi: 10.2135/cropsci2005.04-0033.

- Fujimoto, A., Ito, K., Narushima, N. & Miyamoto, T. (2019). Identification of lactic acid bacteria and yeasts, and characterization of food components of sourdoughs used in Japanese bakeries. *Journal of Bioscience and Bioengineering*, 127 (5): 575-581. doi: 10.1016/j.jbiosc.2018.10.014.
- Galle, S. (2013). Sourdough: A Tool to Improve Bread Structure. I: Gänzle, M., Gobbetti, M. (red.) *Handbook on Sourdough Biotechnology*, s. 217-220. New York: Springer.
- Galli, V., Venturi, M., Pini, N., Guerrini, S. & Granchi, L. (2019). Exploitation of sourdough lactic acid bacteria to reduce raffinose family oligosaccharides (RFOs) content in breads enriched with chickpea flour. *European Food Research and Technology*, 245 (11): 2353-2363. doi: 10.1007/s00217-019-03353-6.
- Gebruers, K., Dornez, E., Boros, D., Fraś, A., Dynkowska, W., Bedő, Z., Rakszegi, M., Delcour, J. A. & Courtin, C. M. (2008). Variation in the Content of Dietary Fiber and Components Thereof in Wheats in the HEALTHGRAIN Diversity Screen. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 56 (21): 9740-9749. doi: 10.1021/jf800975w.
- Geisslitz, S., Wieser, H., Scherf, K. A. & Koehler, P. (2018). Gluten protein composition and aggregation properties as predictors for bread volume of common wheat, spelt, durum wheat, emmer and einkorn. *Journal of Cereal Science*, 83: 204-212. doi: 10.1016/j.jcs.2018.08.012.
- Gibson, P. R. & Shepherd, S. J. (2010). Evidence-based dietary management of functional gastrointestinal symptoms: The FODMAP approach. *Journal of Gastroenterology and Hepatology*, 25 (2): 252-258. doi: 10.1111/j.1440-1746.2009.06149.x.
- Gobbetti, M., De Angelis, M., Corsetti, A. & Di Cagno, R. (2005). Biochemistry and physiology of sourdough lactic acid bacteria. *Trends in Food Science & Technology*, 16 (1): 57-69. doi: 10.1016/j.tifs.2004.02.013.
- Green, P. H. R. & Jabri, B. (2003). Coeliac disease. *The Lancet*, 362 (9381): 383-391. doi: 10.1016/S0140-6736(03)14027-5.
- Grønnevik, H., Falstad, M. & Narvhus, J. A. (2011). Microbiological and chemical properties of Norwegian kefir during storage. *International Dairy Journal*, 21 (9): 601-606. doi: 10.1016/j.idairyj.2011.01.001.
- Gänzle, M. G. (2014). Enzymatic and bacterial conversions during sourdough fermentation. *Food Microbiology*, 37: 2-10. doi: 10.1016/j.fm.2013.04.007.
- Haskå, L., Nyman, M. & Andersson, R. (2008). Distribution and characterisation of fructan in wheat milling fractions. *Journal of Cereal Science*, 48 (3): 768-774. doi: 10.1016/j.jcs.2008.05.002.
- Hayes, P. A., Fraher, M. H. & Quigley, E. M. (2014). Irritable bowel syndrome: the role of food in pathogenesis and management. *Gastroenterol Hepatol (N Y)*, 10 (3): 164-74. doi: PMC4014048.
- Hemdane, S., Jacobs, P. J., Dornez, E., Verspreet, J., Delcour, J. A. & Courtin, C. M. (2016). Wheat (*Triticum aestivum* L.) Bran in Bread Making: A Critical Review. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 15 (1): 28-42. doi: 10.1111/1541-4337.12176.
- Huber, K. C., BeMiller, J.N. . (2017). Carbohydrates. I: Damodaran, S., Parkin K.L. (red.) *Fennema's FOOD CHEMISTRY FIFTH EDITON* s. 113-119. Boca Raton, FL: CRC Press.
- Huynh, B.-L., Palmer, L., Mather, D. E., Wallwork, H., Graham, R. D., Welch, R. M. & Stangoulis, J. C. R. (2008). Genotypic variation in wheat grain fructan content revealed by a simplified HPLC method. *Journal of Cereal Science*, 48 (2): 369-378. doi: 10.1016/j.jcs.2007.10.004.
- Ispiryan, L., Zannini, E. & Arendt, E. K. (2020). Characterization of the FODMAP-profile in cereal-product ingredients. *Journal of Cereal Science*, 92: 102916. doi: 10.1016/j.jcs.2020.102916.
- Ispiryan, L., Zannini, E. & Arendt, E. K. (2022). FODMAP modulation as a dietary therapy for IBS: Scientific and market perspective. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 21 (2): 1491-1516. doi: 10.1111/1541-4337.12903.
- Katina, K., Salmenkallio-Marttila, M., Partanen, R., Forssell, P. & Autio, K. (2006). Effects of sourdough and enzymes on staling of high-fibre wheat bread. *LWT - Food Science and Technology*, 39 (5): 479-491. doi: 10.1016/j.lwt.2005.03.013.
- Knez, M., Abbott, C. & Stangoulis, J. C. R. (2014). Changes in the content of fructans and arabinoxylans during baking processes of leavened and unleavened breads. *European Food Research and Technology*, 239 (5): 803-811. doi: 10.1007/s00217-014-2273-1.

- Knudsen, K. E. B. (1997). Carbohydrate and lignin contents of plant materials used in animal feeding. *Animal Feed Science Technology* 67: 319-338.
- Koehler, P. & Wieser, H. (2013). Chemistry of Cereal Grains. I: Gobetti, M. & Gänzle, M. (red.) *Handbook on Sourdough Biotechnology*, s. 11-45. New York, NY: Springer US.
- Kucek, L. K., Veenstra, L. D., Amnuaycheewa, P. & Sorrells, M. E. (2015). A Grounded Guide to Gluten: How Modern Genotypes and Processing Impact Wheat Sensitivity. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 14 (3): 285-302. doi: 10.1111/1541-4337.12129.
- Landbruksdirektoratet. (2023). *Andelen norsk hvete i brødet den høyeste siden 2008*. Tilgjengelig fra: <https://www.landbruksdirektoratet.no/nb/nyhetsrom/nyhetsarkiv/andelen-norsk-hvete-i-brødet-den-hoyeste-siden-2008?resultId=0.0&searchQuery=andelen+norsk+hvete+i+br%C3%B8det+den+h%C3%B8yeste+siden+2008> (lest 05.05.2023).
- Laurent, J., Timmermans, E., Struyf, N., Verstrepen, K. J. & Courtin, C. M. (2020). Variability in yeast invertase activity determines the extent of fructan hydrolysis during wheat dough fermentation and final FODMAP levels in bread. *International Journal of Food Microbiology*, 326: 108648. doi: 10.1016/j.ijfoodmicro.2020.108648.
- Li, M., Dhital, S. & Wei, Y. (2017). Multilevel Structure of Wheat Starch and Its Relationship to Noodle Eating Qualities. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 16 (5): 1042-1055. doi: 10.1111/1541-4337.12272.
- Longin, C. F. H. & Würschum, T. (2016). Back to the Future – Tapping into Ancient Grains for Food Diversity. *Trends in Plant Science*, 21 (9): 731-737. doi: 10.1016/j.tplants.2016.05.005.
- Longin, C. F. H., Beck, H., Gütler, A., Gütler, H., Heilig, W., Zimmermann, J., Bischoff, S. C. & Würschum, T. (2020). Influence of wheat variety and dough preparation on FODMAP content in yeast-leavened wheat breads. *Journal of Cereal Science*, 95: 103021. doi: 10.1016/j.jcs.2020.103021.
- Loponen, J. & Gänzle, M. G. (2018). Use of Sourdough in Low FODMAP Baking. *Foods*, 7 (7). doi: 10.3390/foods7070096.
- Lovell, R. M. & Ford, A. C. (2012). Global Prevalence of and Risk Factors for Irritable Bowel Syndrome: A Meta-analysis. *Clinical Gastroenterology and Hepatology*, 10 (7): 712-721.e4. doi: 10.1016/j.cgh.2012.02.029.
- Mattei, J., Malik, V., Wedick, N. M., Hu, F. B., Spiegelman, D., Willett, W. C., Campos, H. & Global Nutrition Epidemiologic Transition, I. (2015). Reducing the global burden of type 2 diabetes by improving the quality of staple foods: The Global Nutrition and Epidemiologic Transition Initiative. *Globalization and Health*, 11 (1): 23. doi: 10.1186/s12992-015-0109-9.
- Megazyme. (2020a). *FRUCTAN ASSAY PROTOCOL*. Bray Business Park, Bray, Co. Wicklow, A98 YV29, IRELAND: Megazyme.
- Megazyme. (2020b). *RAFFINOSE/D-GALACTOSE I*. Bray Business Park, Bray, Co. Wicklow, A98 YV29, IRELAND: Megazyme.
- Menezes, L. A. A., Minervini, F., Filannino, P., Sardaro, M. L. S., Gatti, M. & Lindner, J. D. D. (2018). Effects of Sourdough on FODMAPs in Bread and Potential Outcomes on Irritable Bowel Syndrome Patients and Healthy Subjects. *Frontiers in Microbiology*, 9. doi: 10.3389/fmicb.2018.01972.
- Menezes, L. A. A., Molognoni, L., de Sá Ploêncio, L. A., Costa, F. B. M., Daguer, H. & Dea Lindner, J. D. (2019). Use of sourdough fermentation to reducing FODMAPs in breads. *European Food Research and Technology*, 245 (6): 1183-1195. doi: 10.1007/s00217-019-03239-7.
- Nyyssölä, A., Ellilä, S., Nordlund, E. & Poutanen, K. (2020). Reduction of FODMAP content by bioprocessing. *Trends in Food Science & Technology*, 99: 257-272. doi: 10.1016/j.tifs.2020.03.004.
- Paulsen, J. (2021). *Mikrobiota analyser av spontant fermenterte surdeiger av moderne hvete og urkorn*. Masteroppgave: Norge miljø- og biovitenskapelige universitet. Tilgjengelig fra: <https://nmbu.brage.unit.no/nmbu-xmlui/bitstream/handle/11250/2789537/Paulsen2021.pdf?sequence=1> (lest 20.04.2023).
- Pejcz, E., Spychaj, R. & Gil, Z. (2019). Technological Methods for Reducing the Content of Fructan in Wheat Bread. *Foods*, 8 (12). doi: 10.3390/foods8120663.

- Pejcz, E., Lachowicz-Wisniewska, S., Nowicka, P., Wojciechowicz-Budzisz, A., Spychaj, R. & Gil, Z. (2021). Effect of Inoculated Lactic Acid Fermentation on the Fermentable Saccharides and Polyols, Polyphenols and Antioxidant Activity Changes in Wheat Sourdough. *Molecules*, 26 (14). doi: 10.3390/molecules26144193.
- Pilon-Smits, E., Ebskamp, M., Paul, M. J., Jeuken, M., Weisbeek, P. J. & Smeekens, S. (1995). Improved Performance of Transgenic Fructan-Accumulating Tobacco under Drought Stress. *Plant Physiology*, 107 (1): 125-130. doi: 10.1104/pp.107.1.125.
- Poutanen, K., Flander, L. & Katina, K. (2009). Sourdough and cereal fermentation in a nutritional perspective. *Food Microbiology*, 26 (7): 693-699. doi: 10.1016/j.fm.2009.07.011.
- Sengun, I. Y. & Karabiyikli, S. (2011). Importance of acetic acid bacteria in food industry. *Food Control*, 22 (5): 647-656. doi: 10.1016/j.foodcont.2010.11.008.
- Shewry, P. (2019). What Is Gluten—Why Is It Special? *Frontiers in Nutrition*, 6. doi: 10.3389/fnut.2019.00101.
- Shewry, P. R. (2009). Wheat. *Journal of Experimental Botany*, 60 (6): 1537-1553. doi: 10.1093/jxb/erp058.
- Shewry, P. R. & Hey, S. (2015). Do “ancient” wheat species differ from modern bread wheat in their contents of bioactive components? *Journal of Cereal Science*, 65: 236-243. doi: 10.1016/j.jcs.2015.07.014.
- Shewry, P. R. (2018). Do ancient types of wheat have health benefits compared with modern bread wheat? *Journal of Cereal Science*, 79: 469-476. doi: 10.1016/j.jcs.2017.11.010.
- Shewry, P. R., America, A. H. P., Lovegrove, A., Wood, A. J., Plummer, A., Evans, J., van den Broeck, H. C., Gilissen, L., Mumm, R., Ward, J. L., et al. (2022). Comparative compositions of metabolites and dietary fibre components in doughs and breads produced from bread wheat, emmer and spelt and using yeast and sourdough processes. *Food Chemistry*, 374: 131710. doi: 10.1016/j.foodchem.2021.131710.
- Skodje, G. I., Sarna, V. K., Minelle, I. H., Rolfsen, K. L., Muir, J. G., Gibson, P. R., Veierød, M. B., Henriksen, C. & Lundin, K. E. A. (2018). Fructan, Rather Than Gluten, Induces Symptoms in Patients With Self-Reported Non-Celiac Gluten Sensitivity. *Gastroenterology*, 154 (3): 529-539.e2. doi: 10.1053/j.gastro.2017.10.040.
- Struyf, N., Laurent, J., Verspreet, J., Verstrepren, K. J. & Courtin, C. M. (2017a). *Saccharomyces cerevisiae* and *Kluyveromyces marxianus* Cocultures Allow Reduction of Fermentable Oligo-, Di-, and Monosaccharides and Polyols Levels in Whole Wheat Bread. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 65 (39): 8704-8713. doi: 10.1021/acs.jafc.7b02793.
- Struyf, N., Van der Maelen, E., Hemdane, S., Verspreet, J., Verstrepren, K. J. & Courtin, C. M. (2017b). Bread Dough and Baker's Yeast: An Uplifting Synergy. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 16 (5): 850-867. doi: 10.1111/1541-4337.12282.
- Teixeira, J. S., McNeill, V. & Gänzle, M. G. (2012). Levansucrase and sucrose phosphorylase contribute to raffinose, stachyose, and verbascose metabolism by lactobacilli. *Food Microbiology*, 31 (2): 278-284. doi: 10.1016/j.fm.2012.03.003.
- Veenstra, L. D., Jannink, J.-L. & Sorrells, M. E. (2017). Wheat Fructans: A Potential Breeding Target for Nutritionally Improved, Climate-Resilient Varieties. *Crop Science*, 57 (3): 1624-1640. doi: 10.2135/cropsci2016.11.0955.
- Verspreet, J., Pollet, A., Cuyvers, S., Vergauwen, R., Van den Ende, W., Delcour, J. A. & Courtin, C. M. (2012). A Simple and Accurate Method for Determining Wheat Grain Fructan Content and Average Degree of Polymerization. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 60 (9): 2102-2107. doi: 10.1021/jf204774n.
- Verspreet, J., Hemdane, S., Dornez, E., Cuyvers, S., Delcour, J. A. & Courtin, C. M. (2013). Maximizing the Concentrations of Wheat Grain Fructans in Bread by Exploring Strategies To Prevent Their Yeast (*Saccharomyces cerevisiae*)-Mediated Degradation. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 61 (6): 1397-1404. doi: 10.1021/jf3050846.
- Verspreet, J., Dornez, E., Van den Ende, W., Delcour, J. A. & Courtin, C. M. (2015). Cereal grain fructans: Structure, variability and potential health effects. *Trends in Food Science & Technology*, 43 (1): 32-42. doi: 10.1016/j.tifs.2015.01.006.

- von Wright, A., Axelsson, L. (2011). Lactic Acid Bacteria: An Introduction. I: Vinderola, G., Ouwehand, Arthur C, Salminen, Seppo, Wright, Atte Von (red.) *Lactic Acid Bacteria, Microbial and Functional Aspects*, s. 1-16. Boca Raton, FL: CRC Press.
- Ziegler, J. U., Steiner, D., Longin, C. F. H., Würschum, T., Schweiggert, R. M. & Carle, R. (2016). Wheat and the irritable bowel syndrome – FODMAP levels of modern and ancient species and their retention during bread making. *Journal of Functional Foods*, 25: 257-266. doi: 10.1016/j.jff.2016.05.019.

Vedlegg

Oversikt over vedlegg

Vedlegg 1: Innhold av fruktan, raffinose og p-verdi.

Vedlegg 2: Innhold av fruktan.

Vedlegg 3: Innhold av raffinose.

Vedlegg 4: Prosent nedgang i fruktan fra fordeig til brød.

Vedlegg 5: Prosent nedgang i raffinose fra fordeig til brød.

Vedlegg 6: Celletall for gjær og mugg og melkesyrebakterier.

Vedlegg 7: pH-verdier.

Vedlegg 8: Organiske syrer.

Vedlegg 9: Karbohydrater metode 1.

Vedlegg 10: Karbohydrater metode 2.

Vedlegg 11-38: Output fra RStudio fruktan, raffinose og pH.

Vedlegg 1: Gjennomsnittlig innhold av fruktan og raffinose med p-verdi for alle 13 hvetetypene.

Tabell A Gjennomsnittlig innhold av fruktan (g/100g) og raffinose (g/100g) med p-verdi for alle hvetetypene fra to ulike lokasjoner.

Prøve ID	Sort/Art	Fruktan g/100g	p-verdi	Raffinose g/100g	p-verdi
803	Børsum	0,981 ± 0,037	0,021	0,289 ± 0,006	<0,001
807	Børsum	1,035 ± 0,056		0,372 ± 0,023	
805	Bastian	0,981 ± 0,009	0,005	0,330 ± 0,034	0,772
809	Bastian	1,063 ± 0,009		0,341 ± 0,050	
709	Mirakel	0,913 ± 0,024	0,009	0,346 ± 0,026	0,863
806	Mirakel	1,135 ± 0,015		0,295 ± 0,018	
804	Fram	1,158 ± 0,050	0,676	0,421 ± 0,027	0,056
808	Fram	0,965 ± 0,041		0,471 ± 0,025	
707	Emmer	0,981 ± 0,083	0,664	0,540 ± 0,009	0,135
801	Emmer	1,234 ± 0,028		0,569 ± 0,028	
802	Spelt	1,018 ± 0,018	0,031	0,424 ± 0,004	0,073
708	Spelt	1,295 ± 0,015		0,368 ± 0,044	
706	Einkorn	0,979 ± 0,025		0,330 ± 0,010	

Vedlegg 2: Gjennomsnittlig innhold av fruktan i Fram, Børsum, Bastian, Mirakel, emmer, spelt og einkorn ved inkuberingsbetingelsene T0, TR12, TK41, BTR12 og BTK41.

Tabell B Gjennomsnittlig innhold av fruktan (g/100g) i Børsum, Bastian, Mirakel, Fram, Emmer, spelt og einkorn for fordeig, etter elting (T0), inkubasjon i 12 timer ved 22 °C (TR12), inkubasjon i 41 timer ved 4 °C (TK41), stekt brød ved inkubasjon i 12 timer ved 22 °C (BTR12) og stekt brød ved inkubasjon i 41 timer ved 4 °C (BTK41).

Prøve ID	Sort/Art	Faktor	Fruktan g/100g
807	Børsum	Fordeig	0,993 ± 0,061
		T0	0,887 ± 0,033
		TR12	0,402 ± 0,010
		TK41	0,551 ± 0,027
		BTR12	0,380 ± 0,052
		BTK41	0,383 ± 0,079
809	Bastian	Fordeig	0,972 ± 0,006
		T0	0,721 ± 0,096
		TR12	0,476 ± 0,004
		TK41	0,552 ± 0,052
		BTR12	0,212 ± 0,031
		BTK41	0,366 ± 0,026
806	Mirakel	Fordeig	1,075 ± 0,009
		T0	1,041 ± 0,022
		TR12	0,486 ± 0,033
		TK41	0,681 ± 0,015
		BTR12	0,413 ± 0,029
		BTK41	0,554 ± 0,036
804	Fram	Fordeig	0,871 ± 0,056
		T0	0,614 ± 0,012
		TR12	0,448 ± 0,004
		TK41	0,539 ± 0,014
		BTR12	0,271 ± 0,047
		BTK41	0,291 ± 0,004
707	Emmer	Fordeig	0,919 ± 0,006
		T0	0,968 ± 0,021
		TR12	0,325 ± 0,009
		TK41	0,341 ± 0,026
		BTR12	0,310 ± 0,006
		BTK41	0,332 ± 0,008
708	Spelt	Fordeig	0,830 ± 0,027
		T0	0,888 ± 0,023
		TR12	0,286 ± 0,006
		TK41	0,411 ± 0,039
		BTR12	0,246 ± 0,011
		BTK41	0,403 ± 0,004
706	Einkorn	Fordeig	0,728 ± 0,047
		T0	0,728 ± 0,047
		TR12	0,193 ± 0,035
		TK41	0,322 ± 0,014

Vedlegg 3: Gjennomsnittlig innhold av raffinose i Fram, Børsum, Bastian, Mirakel, emmer, spelt og einkorn ved inkuberingsbetingelsene T0, TR12 og TK41.

Tabell C Gjennomsnittlig innhold av raffinose (g/100g) i Børsum, Bastian, Mirakel, Fram, Emmer, spelt og einkorn for fordeig, etter elting (T0), inkubasjon i 12 timer ved 22 °C (TR12), inkubasjon i 41 timer ved 4 °C (TK41), stekt brød ved inkubasjon i 12 timer ved 22 °C (BTR12) og stekt brød ved inkubasjon i 41 timer ved 4 °C (BTK41).

Prøve ID	Sort/Art	Faktor	Raffinose g/100g
807	Børsum	Fordeig	0,209 ± 0,007
		T0	0,262 ± 0,023
		TK41	0,161 ± 0,005
		BTK41	0,021 ± 0,018
809	Bastian	Fordeig	0,222 ± 0,015
		T0	0,232 ± 0,010
		TK41	0,129 ± 0,012
		BTK41	0,069 ± 0,020
806	Mirakel	Fordeig	0,313 ± 0,010
		T0	0,270 ± 0,006
		TK41	0,068 ± 0,016
		BTK41	0,026 ± 0,011
804	Fram	Fordeig	0,302 ± 0,011
		T0	0,354 ± 0,019
		TK41	0,198 ± 0,006
		BTK41	0,031 ± 0,006
707	Emmer	Fordeig	0,351 ± 0,011
		T0	0,367 ± 0,017
		TK41	0,184 ± 0,016
		BTK41	0,131 ± 0,021
708	Spelt	Fordeig	0,300 ± 0,010
		T0	0,271 ± 0,008
		TK41	0,067 ± 0,003
		BTK41	0,058 ± 0,000
706	Einkorn	Fordeig	0,208 ± 0,016
		T0	0,231 ± 0,010
		TK41	0,042 ± 0,005

Vedlegg 4: Prosent nedgang i fruktan fra fordeig til stekt brød BTR12 og BTK41.

Tabell D Prosent (%) nedgang i fruktan fra fordeig til BTR12 og BTK41 for Fram, Bastian, Børsum, Mirakel, emmer og spelt.

Sort/Art	Reduksjon i fruktan %	
	BTR12	BTK41
Fram	68,68 ± 0,06	65,59 ± 0,03
Bastian	78,20 ± 0,03	62,37 ± 0,02
Børsum	61,66 ± 0,02	61,31 ± 0,03
Mirakel	61,54 ± 0,03	48,48 ± 0,03
Emmer	66,25 ± 0,09	63,86 ± 0,01
Spelt	70,69 ± 0,02	51,40 ± 0,01

Vedlegg 5: Prosent nedgang i raffinose fra fordeig til stekt brød BTK41.

Tabell E Prosent (%) nedgang i raffinose fra fordeig til BTK41 for Fram, Bastian, Børsum, Mirakel, emmer og spelt.

Sort/Art	Reduksjon i raffinose %
	BTK41
Fram	89,66 ± 0,02
Bastian	68,82 ± 0,09
Børsum	89,94 ± 0,09
Mirakel	91,69 ± 0,02
Emmer	62,61 ± 0,01
Spelt	79,34 ± 0,02

Vedlegg 6: Celletall (log kde/g) av gjær og mugg og melkesyre bakterier for Fram, Bastian, Børsum, Mirakel, emmer, spelt og einkorn ved T0, TR12 og TK41.

Tabell F Log av antall kolonidannende enheter per gram (kde/g) for alle hvetetyper ved de ulike inkuberingsbetingelsene.

	Celletall log kde/g											
	Gjær (RB)						Melkesyrebakterier (MRS)					
Prøveuttak	T0		TR12		TK41		T0		TR12		TK41	
Skål	A	B	A	B	A	B	A	B	A	B	A	B
Fram	6,15	6,20	7,00	7,20	5,90	5,85	7,08	7,04	8,53	8,47	6,60	6,69
Bastian	5,92	5,90	7,41	7,17	6,14	5,94	7,11	7,14	8,27	8,36	6,84	7,17
Børsum	6,15	6,10	7,30	7,11	6,06	5,96	7,58	7,56	8,83	8,71	7,36	7,44
Mirakel	6,06	6,07	7,23	7,15	5,91	5,95	7,11	7,04	8,23	8,15	6,77	6,84
Emmer	6,06	6,35	7,54	7,49	5,92	6,07	6,69	6,84	8,25	8,34	7,43	7,30
Einkorn	6,46	6,49	7,51	7,56	6,09	6,13	6,90	6,77	8,43	8,34	7,47	7,60
Spelt	6,17	6,04	7,43	7,28	5,98	5,99	7,17	7,17	8,47	8,23	7,30	7,34

Vedlegg 7: Gjennomsnittlig pH i Fram, Bastian, Børsum, Mirakel, emmer, einkorn og spelt i T0, TR12 og TK41.

Tabell G Gjennomsnittlig pH for alle hvetetyperne etter elting (T0), ved inkubering i 12 timer ved 22 °C (TR12) og inkubering i 41 timer ved 4 °C (TK41).

	pH		
	T0	TR12	TK41
Fram	5,70 ± 0,05	4,11 ± 0,02	5,01 ± 0,02
Bastian	5,74 ± 0,01	4,25 ± 0,03	4,99 ± 0,00
Børsum	5,31 ± 0,02	4,02 ± 0,01	4,81 ± 0,01
Mirakel	5,51 ± 0,04	4,17 ± 0,03	5,13 ± 0,03
Emmer	5,75 ± 0,05	4,09 ± 0,01	4,81 ± 0,06
Einkorn	5,54 ± 0,05	4,01 ± 0,03	4,89 ± 0,09
Spelt	5,80 ± 0,05	4,41 ± 0,02	5,15 ± 0,02

Vedlegg 8: Konsentrasjon av organiske syrer i alle hvetetyperne ved de ulike inkuberingsbetingelsene.

Tabell H Konsentrasjon (mg/kg) melkesyre og eddiksyre i alle hvetetyperne etter elting (T0), ved inkubering i 12 timer ved 22 °C (TR12) og inkubering i 41 timer ved 4 °C (TK41).

Sort	Faktor	Melkesyre (mg/kg)	Eddiksyre (mg/kg)
Fram	T0	1490,11	783,84
Fram	TR12	7704,07	2270,08
Fram	TK41	2791,49	1582,63
Bastian	T0	1152,67	780,51
Bastian	TR12	9174,91	2532,50
Bastian	TK41	3406,05	1794,87
Børsum	T0	2013,89	1004,20
Børsum	TR12	6965,51	1959,26
Børsum	TK41	3123,56	1545,42
Mirakel	T0	1582,07	781,65
Mirakel	TR12	8197,20	2041,70
Mirakel	TK41	2573,86	1405,64
Emmer	T0	1336,67	646,38
Emmer	TR12	6710,65	2137,98
Emmer	TK41	3707,27	1642,85
Spelt	T0	1048,09	646,39
Spelt	TR12	6028,16	2086,13
Spelt	TK41	2819,03	1449,26
Einkorn	T0	1805,40	770,57
Einkorn	TR12	10320,19	2158,56
Einkorn	TK41	3740,11	1672,40

Vedlegg 9: Konsentrasjonene av maltose, glukose og fruktose (mg/kg) i alle hvetetypene ved de ulike inkuberingsbetingelsene med metode 1.

Tabell 1 Konsentrasjon (mg/kg) maltose, glukose og fruktose i alle hvetetypene etter elting (T0), ved inkubering i 12 timer ved 22 °C (TR12) og inkubering i 41 timer ved 4 °C (TK41) med metode 1.

Sort	Faktor	Maltose (mg/kg)	Glukose (mg/kg)	Fruktose (mg/kg)
Fram	T0-1	3369,84	5165,76	5977,79
Fram	TR12-1	425,03	606,02	6919,26
Fram	TK41-1	2330,91	5292,43	6626,02
Bastian	T0-1	3450,97	4638,70	5205,73
Bastian	TR12-1	449,89	634,87	7451,13
Bastian	TK41-1	2362,64	5593,38	6788,90
Børsum	T0-1	3502,93	5472,26	6475,71
Børsum	TR12-1	246,56	645,98	5722,99
Børsum	TK41-1	1730,18	4472,92	5530,87
Mirakel	T0-1	3852,20	4760,10	5326,79
Mirakel	TR12-1	436,61	762,20	6473,66
Mirakel	TK41-1	3376,70	5666,11	5866,13
Emmer	T0-1	3142,57	4022,05	4635,87
Emmer	TR12-1	130,40	218,72	5962,65
Emmer	TK41-1	1168,48	3666,20	6596,42
Spelt	T0-1	2166,93	3912,05	4804,75
Spelt	TR12-1	168,59	395,18	5713,73
Spelt	TK41-1	1108,62	3589,94	5707,38
Einkorn	T0-1	3147,15	5693,17	5371,10
Einkorn	TR12-1	442,67	1036,10	5708,75
Einkorn	TK41-1	1831,26	5318,88	5773,20

Vedlegg 10: Konsentrasjon av maltose, glukose og fruktose (mg/kg) i alle hvetetyperne ved de ulike inkuberingsbetingelsene med metode 2.

Tabell J Konsentrasjon (mg/kg) maltose, glukose og fruktose i alle hvetetyperne etter elting(T0), ved inkubering i 12 timer ved 22 °C (TR12) og inkubering i 41 timer ved 4 °C (TK41) med metode 2.

Sort	Faktor	Maltose (mg/kg)	Glukose (mg/kg)	Fruktose (mg/kg)
Fram	T0-2	2123,39	3963,63	3139,62
Fram	TR12-2	2085,54	4630,96	3172,95
Fram	TK41-2	2085,54	3876,82	3201,17
Bastian	T0-2	3709,53	4389,69	3109,17
Bastian	TR12-2	2619,15	3836,39	2957,59
Bastian	TK41-2	1536,20	3715,13	2902,02
Børsum	T0-2	2719,38	4573,03	3075,83
Børsum	TR12-2	190,81	928,01	409,82
Børsum	TK41-2	214,22	1261,81	844,42
Mirakel	T0-2	220,75	1092,20	401,83
Mirakel	TR12-2	288,57	1087,18	615,71
Mirakel	TK41-2	308,50	715,88	553,85
Emmer	T0-2	258,40	765,43	495,72
Emmer	TR12-2	306,50	1040,24	233,27
Emmer	TK41-2	1347,05	4262,53	989,58
Spelt	T0-2	1359,32	3627,41	1182,19
Spelt	TR12-2	2059,65	5054,46	1167,33
Spelt	TK41-2	3389,99	5127,31	2033,73
Einkorn	T0-2	798,97	3232,54	1125,06
Einkorn	TR12-2	694,28	3379,49	1033,85
Einkorn	TK41-2	1097,68	4321,82	642,43

Vedlegg 11: Enveis ANOVA med påfølgende Tukey test: Frukta ~ fordeig.

```
Response: Frukta
          Df Sum Sq Mean Sq F value Pr(>F)
Sort      6 0.302331 0.050388  29.189 3.791e-09 ***
Residuals 21 0.036252 0.001726
---
Signif. codes:  0 '***' 0.001 '**' 0.01 '*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1
```

```
$Sort
      diff      lwr      upr      p adj
Børsum-Bastian 0.02182411 -0.073681648 0.117329871 0.9879320
Einkorn-Bastian -0.23407576 -0.329581519 -0.138570000 0.0000016
Emmer-Bastian -0.05267077 -0.148176526 0.042834993 0.5665738
Fram-Bastian -0.10088085 -0.196386611 -0.005375092 0.0340321
Mirakel-Bastian 0.10339125 0.007885489 0.198897008 0.0283398
Spelt-Bastian -0.14125027 -0.236756026 -0.045744507 0.0015620
Einkorn-Børsum -0.25589987 -0.351405630 -0.160394111 0.0000004
Emmer-Børsum -0.07449488 -0.170000638 0.021010881 0.1967579
Fram-Børsum -0.12270496 -0.218210722 -0.027199203 0.0065963
Mirakel-Børsum 0.08156714 -0.013938622 0.177072897 0.1277317
Spelt-Børsum -0.16307438 -0.258580137 -0.067568618 0.0002873
Emmer-Einkorn 0.18140499 0.085899233 0.276910752 0.0000713
Fram-Einkorn 0.13319491 0.037689148 0.228700667 0.0029258
Mirakel-Einkorn 0.33746701 0.241961248 0.432972767 0.0000000
Spelt-Einkorn 0.09282549 -0.002680266 0.188331253 0.0603213
Fram-Emmer -0.04821008 -0.143715844 0.047295675 0.6592305
Mirakel-Emmer 0.15606202 0.060556256 0.251567775 0.0004937
Spelt-Emmer -0.08857950 -0.184085259 0.006926260 0.0806730
Mirakel-Fram 0.20427210 0.108766340 0.299777859 0.0000132
Spelt-Fram -0.04036941 -0.135875174 0.055136345 0.8090045
Spelt-Mirakel -0.24464151 -0.340147274 -0.149135755 0.0000008
```

Figur A Output fra enveis ANOVA i RStudio, frukta ~ fordeig, samt fra påfølgende Tukey test.

Vedlegg 12: Enveis ANOVA med påfølgende Tukey test: Frukta ~ T0

```
Response: Frukta
          Df Sum Sq Mean Sq F value Pr(>F)
Sort      6 0.55587 0.092644  78.236 2.847e-13 ***
Residuals 21 0.02487 0.001184
---
Signif. codes:  0 '***' 0.001 '**' 0.01 '*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1
```

```
$Sort
      diff      lwr      upr      p adj
Børsum-Bastian 0.165148140 0.086047716 0.2442485642 0.0000188
Einkorn-Bastian 0.006198343 -0.072902081 0.0852987666 0.9999712
Emmer-Bastian 0.246068089 0.166967665 0.3251685128 0.0000000
Fram-Bastian -0.107690239 -0.186790663 -0.0285898150 0.0037434
Mirakel-Bastian 0.319810290 0.240709866 0.3989107138 0.0000000
Spelt-Bastian 0.166792839 0.087692415 0.2458932631 0.0000163
Einkorn-Børsum -0.158949798 -0.238050221 -0.0798493736 0.0000326
Emmer-Børsum 0.080919949 0.001819525 0.1600203725 0.0427793
Fram-Børsum -0.272838379 -0.351938803 -0.1937379553 0.0000000
Mirakel-Børsum 0.154662150 0.075561726 0.2337625735 0.0000478
Spelt-Børsum 0.001644699 -0.077455725 0.0807451228 1.0000000
Emmer-Einkorn 0.239869746 0.160769322 0.3189701700 0.0000000
Fram-Einkorn -0.113888582 -0.192989006 -0.0347881578 0.0020909
Mirakel-Einkorn 0.313611947 0.234511523 0.3927123711 0.0000000
Spelt-Einkorn 0.160594496 0.081494073 0.2396949203 0.0000281
Fram-Emmer -0.353758328 -0.432858752 -0.2746579039 0.0000000
Mirakel-Emmer 0.073742201 -0.005358223 0.1528426250 0.0782216
Spelt-Emmer -0.079275250 -0.158375674 -0.0001748258 0.0492603
Mirakel-Fram 0.427500529 0.348400105 0.5066009527 0.0000000
Spelt-Fram 0.274483078 0.195382654 0.3535835020 0.0000000
Spelt-Mirakel -0.153017451 -0.232117875 -0.0739170269 0.0000555
```

Figur B Output fra enveis ANOVA i RStudio, frukta ~ T0, samt fra påfølgende Tukey test.

Vedlegg 13: Enveis ANOVA med påfølgende Tukey test: fruktan ~ TR12

```
Response: Fruktan
      Df Sum Sq Mean Sq F value Pr(>F)
Sort   6 0.29039 0.048398   96.8 3.369e-14 ***
Residuals 21 0.01050 0.000500
---
Signif. codes:  0 '***' 0.001 '**' 0.01 '*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1
```

```
$Sort
      diff      lwr      upr    p adj
Børsum-Bastian -0.076335452 -0.127733773 -0.02493713 0.0014915
Einkorn-Bastian -0.285329154 -0.336727476 -0.23393083 0.0000000
Emmer-Bastian  -0.152952481 -0.204350803 -0.10155416 0.0000001
Fram-Bastian    -0.030273537 -0.081671859  0.02112479 0.4929525
Mirakel-Bastian 0.008168742 -0.043229580  0.05956706 0.9982955
Spelt-Bastian  -0.191872851 -0.243271173 -0.14047453 0.0000000
Einkorn-Børsum -0.208993702 -0.260392024 -0.15759538 0.0000000
Emmer-Børsum    -0.076617029 -0.128015351 -0.02521871 0.0014319
Fram-Børsum     0.046061915 -0.005336407  0.09746024 0.0984647
Mirakel-Børsum  0.084504194  0.033105872  0.13590252 0.0004583
Spelt-Børsum    -0.115537399 -0.166935721 -0.06413908 0.0000063
Emmer-Einkorn   0.132376673  0.080978351  0.18377500 0.0000007
Fram-Einkorn    0.255055617  0.203657295  0.30645394 0.0000000
Mirakel-Einkorn 0.293497896  0.242099574  0.34489622 0.0000000
Spelt-Einkorn   0.093456303  0.042057981  0.14485463 0.0001279
Fram-Emmer      0.122678944  0.071280622  0.17407727 0.0000025
Mirakel-Emmer   0.161121223  0.109722901  0.21251954 0.0000000
Spelt-Emmer     -0.038920370 -0.090318692  0.01247795 0.2230615
Mirakel-Fram    0.038442279 -0.012956043  0.08984060 0.2345340
Spelt-Fram      -0.161599314 -0.212997636 -0.11020099 0.0000000
Spelt-Mirakel  -0.200041593 -0.251439915 -0.14864327 0.0000000
```

Figur C Output fra enveis ANOVA i RStudio, fruktan ~ TR12, samt fra påfølgende Tukey test.

Vedlegg 14: Enveis ANOVA med påfølgende Tukey test: fruktan ~ TK41

```
Response: Fruktan
      Df Sum Sq Mean Sq F value Pr(>F)
Sort   6 0.41040 0.068400  124.6 2.619e-15 ***
Residuals 21 0.01153 0.000549
---
Signif. codes:  0 '***' 0.001 '**' 0.01 '*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1
```

```
$Sort
      diff      lwr      upr    p adj
Børsum-Bastian -0.0001183168 -0.05397552  0.05373888 1.0000000
Einkorn-Bastian -0.2290389070 -0.28289611 -0.17518171 0.0000000
Emmer-Bastian  -0.2098824454 -0.26373965 -0.15602524 0.0000000
Fram-Bastian    -0.0119947358 -0.06585194  0.04186246 0.9894359
Mirakel-Bastian 0.1295247319  0.07566753  0.18338193 0.0000022
Spelt-Bastian  -0.1399865634 -0.19384376 -0.08612936 0.0000006
Einkorn-Børsum -0.2289205902 -0.28277779 -0.17506339 0.0000000
Emmer-Børsum    -0.2097641286 -0.26362133 -0.15590693 0.0000000
Fram-Børsum     -0.0118764191 -0.06573362  0.04198078 0.9899673
Mirakel-Børsum  0.1296430487  0.07578585  0.18350025 0.0000022
Spelt-Børsum    -0.1398682466 -0.19372545 -0.08601105 0.0000006
Emmer-Einkorn   0.0191564616 -0.03470074  0.07301366 0.9025277
Fram-Einkorn    0.2170441712  0.16318697  0.27090137 0.0000000
Mirakel-Einkorn 0.3585636389  0.30470644  0.41242084 0.0000000
Spelt-Einkorn   0.0890523436  0.03519514  0.14290954 0.0004276
Fram-Emmer      0.1978877095  0.14403051  0.25174491 0.0000000
Mirakel-Emmer   0.3394071773  0.28554998  0.39326438 0.0000000
Spelt-Emmer     0.0698958819  0.01603868  0.12375308 0.0059936
Mirakel-Fram    0.1415194678  0.08766227  0.19537667 0.0000005
Spelt-Fram      -0.1279918276 -0.18184903 -0.07413463 0.0000027
Spelt-Mirakel  -0.2695112953 -0.32336850 -0.21565409 0.0000000
```

Figur D Output fra enveis ANOVA i RStudio, fruktan ~ TK41, samt fra påfølgende Tukey test.

Vedlegg 15: Enveis ANOVA med påfølgende Tukey test: fruktan ~ BTR12

```
Response: Fruktan
      Df Sum Sq Mean Sq F value Pr(>F)
Sort   5 0.231147 0.046229  47.969 1.925e-14 ***
Residuals 34 0.032767 0.000964
---
Signif. codes:  0 '***' 0.001 '**' 0.01 '*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1
```

```
$Sort
      diff      lwr      upr    p adj
Børsum-Bastian 0.16752431 0.12067505 0.214373566 0.0000000
Emmer-Bastian  0.09818401 0.04080562 0.155562394 0.0001435
Fram-Bastian   0.05925321 0.01240396 0.106102473 0.0066416
Mirakel-Bastian 0.20146904 0.15461978 0.248318294 0.0000000
Spelt-Bastian  0.03091649 -0.02646190 0.088294882 0.5875855
Emmer-Børsum  -0.06934030 -0.12671869 -0.011961913 0.0104391
Fram-Børsum    -0.10827109 -0.15512035 -0.061421834 0.0000007
Mirakel-Børsum 0.03394473 -0.01290453 0.080793987 0.2700491
Spelt-Børsum   -0.13660781 -0.19398620 -0.079229425 0.0000004
Fram-Emmer     -0.03893079 -0.09630918 0.018447598 0.3378669
Mirakel-Emmer  0.10328503 0.04590664 0.160663420 0.0000650
Spelt-Emmer    -0.06726751 -0.13352237 -0.001012655 0.0448851
Mirakel-Fram   0.14221582 0.09536656 0.189065080 0.0000000
Spelt-Fram     -0.02833672 -0.08571511 0.029041668 0.6723478
Spelt-Mirakel -0.17055254 -0.22793093 -0.113174154 0.0000000
```

Figur E Output fra enveis ANOVA i RStudio, fruktan ~ BTR12, samt fra påfølgende Tukey test.

Vedlegg 16: Enveis ANOVA med påfølgende Tukey test: fruktan ~ BTK41

```
Response: Fruktan
      Df Sum Sq Mean Sq F value Pr(>F)
Sort   5 0.300756 0.060151  150.2 < 2.2e-16 ***
Residuals 34 0.013616 0.000400
---
Signif. codes:  0 '***' 0.001 '**' 0.01 '*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1
```

```
$Sort
      diff      lwr      upr    p adj
Børsum-Bastian 0.01723923 -0.0129606732 0.047439132 0.5268106
Emmer-Bastian  -0.03357059 -0.0705577617 0.003416590 0.0932936
Fram-Bastian   -0.06752553 -0.0977254304 -0.037325625 0.0000013
Mirakel-Bastian 0.18808953 0.1578896305 0.218289436 0.0000000
Spelt-Bastian  0.03753165 0.0005444766 0.074518828 0.0450650
Emmer-Børsum  -0.05080982 -0.0877969912 -0.013822639 0.0026961
Fram-Børsum    -0.08476476 -0.1149646598 -0.054564855 0.0000000
Mirakel-Børsum 0.17085030 0.1406504010 0.201050206 0.0000000
Spelt-Børsum   0.02029242 -0.0166947528 0.057279599 0.5689018
Fram-Emmer     -0.03395494 -0.0709421177 0.003032234 0.0871979
Mirakel-Emmer  0.22166012 0.1846729431 0.258647295 0.0000000
Spelt-Emmer    0.07110224 0.0283931265 0.113811350 0.0002164
Mirakel-Fram   0.25561506 0.2254151582 0.285814963 0.0000000
Spelt-Fram     0.10505718 0.0680700043 0.142044356 0.0000000
Spelt-Mirakel -0.15055788 -0.1875450565 -0.113570705 0.0000000
```

Figur F Output fra enveis ANOVA i RStudio, fruktan ~ BTK41, samt fra påfølgende Tukey test.

Vedlegg 17: Enveis ANOVA med påfølgende Tukey test: fruktan ~ einkorn

```
Response: Fruktan
      Df Sum Sq Mean Sq F value Pr(>F)
Faktor  3 0.93634 0.312114  192.79 2.05e-10 ***
Residuals 12 0.01943 0.001619
---
Signif. codes:  0 '***' 0.001 '**' 0.01 '*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1
```

```
$Faktor
      diff      lwr      upr    p adj
T0-Fordeig -0.009823338 -0.09429179 0.07464511 0.9851579
TK41-Fordeig -0.415233080 -0.49970153 -0.33076463 0.0000000
TR12-Fordeig -0.544665592 -0.62913404 -0.46019714 0.0000000
TK41-T0      -0.405409742 -0.48987819 -0.32094129 0.0000000
TR12-T0      -0.534842254 -0.61931071 -0.45037380 0.0000000
TR12-TK41    -0.129432512 -0.21390096 -0.04496406 0.0032200
```

Figur G Output fra enveis ANOVA i RStudio, fruktan ~ fordeig, samt fra påfølgende Tukey test.

Vedlegg 18: Enveis ANOVA med påfølgende Tukey test: fruktan ~ spelt

```
Response: Fruktan
      Df Sum Sq Mean Sq F value Pr(>F)
Faktor  5 1.55323 0.310646  469.22 < 2.2e-16 ***
Residuals 18 0.01192 0.000662
---
Signif. codes:  0 '***' 0.001 '**' 0.01 '*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1
```

```
$Faktor
      diff      lwr      upr    p adj
BTR12-BTK41 -0.160392176 -0.2182137229 -0.10257063 0.0000008
Fordeig-BTK41 0.427165193 0.3693436462 0.48498674 0.0000000
T0-BTK41     0.485110858 0.4272893112 0.54293241 0.0000000
TK41-BTK41  0.008158964 -0.0496625834 0.06598051 0.9973203
TR12-BTK41  -0.116869589 -0.1746911357 -0.05904804 0.0000610
Fordeig-BTR12 0.587557369 0.5297358220 0.64537892 0.0000000
T0-BTR12     0.645503034 0.5876814869 0.70332458 0.0000000
TK41-BTR12  0.168551140 0.1107295923 0.22637269 0.0000004
TR12-BTR12  0.043522587 -0.0142989600 0.10134413 0.2105124
T0-Fordeig   0.057945665 0.0001241178 0.11576721 0.0493302
TK41-Fordeig -0.419006230 -0.4768277768 -0.36118468 0.0000000
TR12-Fordeig -0.544034782 -0.6018563291 -0.48621323 0.0000000
TK41-T0      -0.476951895 -0.5347734418 -0.41913035 0.0000000
TR12-T0      -0.601980447 -0.6598019941 -0.54415890 0.0000000
TR12-TK41    -0.125028552 -0.1828500995 -0.06720701 0.0000256
```

Figur H Output fra enveis ANOVA i RStudio, fruktan ~ spelt, samt fra påfølgende Tukey test.

Vedlegg 19: Enveis ANOVA med påfølgende Tukey test: fruktan ~ emmer

```

Response: Fruktan
      Df Sum Sq Mean Sq F value    Pr(>F)
Faktor   5  2.0309  0.40618  1353.2 < 2.2e-16 ***
Residuals 18  0.0054  0.00030
---
Signif. codes:  0 '***' 0.001 '**' 0.01 '*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1

```

```

$Faktor
      diff      lwr      upr    p adj
BTR12-BTK41 -0.02202243 -0.060956162  0.01691131 0.4912196
Fordeig-BTK41  0.58684693  0.547913194  0.62578067 0.0000000
T0-BTK41      0.63548835  0.596554609  0.67442208 0.0000000
TK41-BTK41    0.00936532 -0.029568417  0.04829906 0.9701383
TR12-BTK41    -0.00684698 -0.045780718  0.03208676 0.9925309
Fordeig-BTR12 0.60886936  0.569935619  0.64780309 0.0000000
T0-BTR12      0.65751077  0.618577034  0.69644451 0.0000000
TK41-BTR12    0.03138775 -0.007545992  0.07032148 0.1580231
TR12-BTR12    0.01517544 -0.023758292  0.05410918 0.8125444
T0-Fordeig    0.04864142  0.009707678  0.08757515 0.0098192
TK41-Fordeig -0.57748161 -0.616415348 -0.53854787 0.0000000
TR12-Fordeig -0.59369391 -0.632627649 -0.55476017 0.0000000
TK41-T0       -0.62612303 -0.665056764 -0.58718929 0.0000000
TR12-T0       -0.64233533 -0.681269064 -0.60340159 0.0000000
TR12-TK41     -0.01621230 -0.055146038  0.02272144 0.7689150

```

Figur I Output fra enveis ANOVA i RStudio, fruktan ~ emmer, samt fra påfølgende Tukey test.

Vedlegg 20: Enveis ANOVA med påfølgende Tukey test: fruktan ~ Mirakel

```

Response: Fruktan
      Df Sum Sq Mean Sq F value    Pr(>F)
Faktor   5  1.96791  0.39358  421.51 < 2.2e-16 ***
Residuals 26  0.02428  0.00093
---
Signif. codes:  0 '***' 0.001 '**' 0.01 '*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1

```

```

$Faktor
      diff      lwr      upr    p adj
BTR12-BTK41 -0.14039751 -0.18734017 -0.093454858 0.0000000
Fordeig-BTK41  0.52124883  0.46375605  0.578741605 0.0000000
T0-BTK41      0.48757043  0.43007765  0.545063206 0.0000000
TK41-BTK41    0.12711238  0.06961960  0.184605156 0.0000046
TR12-BTK41    -0.06738588 -0.12487865 -0.009893099 0.0147999
Fordeig-BTR12 0.66164634  0.60415356  0.719139118 0.0000000
T0-BTR12      0.62796794  0.57047516  0.685460720 0.0000000
TK41-BTR12    0.26750989  0.21001711  0.325002670 0.0000000
TR12-BTR12    0.07301164  0.01551886  0.130504415 0.0071227
T0-Fordeig    -0.03367840 -0.10006534  0.032708542 0.6313411
TK41-Fordeig -0.39413645 -0.46052339 -0.327749508 0.0000000
TR12-Fordeig -0.58863470 -0.65502164 -0.522247763 0.0000000
TK41-T0       -0.36045805 -0.42684499 -0.294071109 0.0000000
TR12-T0       -0.55495630 -0.62134325 -0.488569364 0.0000000
TR12-TK41     -0.19449825 -0.26088520 -0.128111314 0.0000000

```

Figur J Output fra enveis ANOVA i RStudio, fruktan ~ Mirakel, samt fra påfølgende Tukey test.

Vedlegg 21: Enveis ANOVA med påfølgende Tukey test: fruktan ~ Bastian

```
Response: Fruktan
      Df Sum Sq Mean Sq F value    Pr(>F)
Faktor   5 1.89936  0.37987  697.36 < 2.2e-16 ***
Residuals 26 0.01416  0.00054
---
Signif. codes:  0 '***' 0.001 '**' 0.01 '*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1
```

```
$Faktor
      diff      lwr      upr    p adj
BTR12-BTK41 -0.15377702 -0.18963165 -0.11792239 0.0000000
Fordeig-BTK41 0.60594711  0.56203434  0.64985989 0.0000000
T0-BTK41      0.35584967  0.31193690  0.39976244 0.0000000
TK41-BTK41    0.18567718  0.14176441  0.22958995 0.0000000
TR12-BTK41    0.11253491  0.06862214  0.15644769 0.0000003
Fordeig-BTR12 0.75972413  0.71581136  0.80363690 0.0000000
T0-BTR12      0.50962669  0.46571392  0.55353946 0.0000000
TK41-BTR12    0.33945420  0.29554142  0.38336697 0.0000000
TR12-BTR12    0.26631193  0.22239916  0.31022470 0.0000000
T0-Fordeig    -0.25009744 -0.30080354 -0.19939134 0.0000000
TK41-Fordeig  -0.42026993 -0.47097603 -0.36956383 0.0000000
TR12-Fordeig  -0.49341220 -0.54411830 -0.44270609 0.0000000
TK41-T0       -0.17017249 -0.22087859 -0.11946639 0.0000000
TR12-T0       -0.24331476 -0.29402086 -0.19260865 0.0000000
TR12-TK41     -0.07314226 -0.12384837 -0.02243616 0.0018799
```

Figur K Output fra enveis ANOVA i RStudio, fruktan ~ Bastian, samt fra påfølgende Tukey test.

Vedlegg 22: Enveis ANOVA med påfølgende Tukey test: fruktan ~ Børsum

```
Response: Fruktan
      Df Sum Sq Mean Sq F value    Pr(>F)
Faktor   5 1.78297  0.35659  420.54 < 2.2e-16 ***
Residuals 26 0.02205  0.00085
---
Signif. codes:  0 '***' 0.001 '**' 0.01 '*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1
```

```
$Faktor
      diff      lwr      upr    p adj
BTR12-BTK41 -0.003491938 -0.04822595  0.04124207 0.9998773
Fordeig-BTK41 0.610531994  0.55574425  0.66531974 0.0000000
T0-BTK41      0.503758583  0.44897083  0.55854633 0.0000000
TK41-BTK41    0.168319633  0.11353189  0.22310738 0.0000000
TR12-BTK41    0.018960234 -0.03582751  0.07374798 0.8913027
Fordeig-BTR12 0.614023932  0.55923618  0.66881168 0.0000000
T0-BTR12      0.507250521  0.45246277  0.56203827 0.0000000
TK41-BTR12    0.171811572  0.11702382  0.22659932 0.0000000
TR12-BTR12    0.022452172 -0.03233558  0.07723992 0.8037021
T0-Fordeig    -0.106773411 -0.17003685 -0.04350997 0.0002709
TK41-Fordeig  -0.442212360 -0.50547580 -0.37894892 0.0000000
TR12-Fordeig  -0.591571760 -0.65483520 -0.52830832 0.0000000
TK41-T0       -0.335438949 -0.39870239 -0.27217551 0.0000000
TR12-T0       -0.484798349 -0.54806179 -0.42153491 0.0000000
TR12-TK41     -0.149359400 -0.21262284 -0.08609596 0.0000015
```

Figur L Output fra enveis ANOVA i RStudio, fruktan ~ Børsum, samt fra påfølgende Tukey test.

Vedlegg 23: Enveis ANOVA med påfølgende Tukey test: fruktan ~ Fram

```

Response: Fruktan
      Df Sum Sq Mean Sq F value    Pr(>F)
Faktor   5 1.2877  0.257545  207.34 < 2.2e-16 ***
Residuals 26 0.0323  0.001242
---
Signif. codes:  0 '***' 0.001 '**' 0.01 '*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1

```

```

$Faktor
      diff      lwr      upr    p adj
BTR12-BTK41 -0.02699827 -0.08114168  0.027145127  0.6476986
Fordeig-BTK41  0.57259179  0.50627994  0.638903641  0.0000000
T0-BTK41      0.31568496  0.24937311  0.381996813  0.0000000
TK41-BTK41   0.24120797  0.17489612  0.307519824  0.0000000
TR12-BTK41   0.14978691  0.08347505  0.216098759  0.0000032
Fordeig-BTR12 0.59959006  0.53327821  0.665901915  0.0000000
T0-BTR12     0.34268323  0.27637138  0.408995087  0.0000000
TK41-BTR12   0.26820625  0.20189439  0.334518099  0.0000000
TR12-BTR12   0.17678518  0.11047333  0.243097033  0.0000002
T0-Fordeig   -0.25690683 -0.33347716 -0.180336496  0.0000000
TK41-Fordeig -0.33138382 -0.40795415 -0.254813485  0.0000000
TR12-Fordeig -0.42280488 -0.49937521 -0.346234550  0.0000000
TK41-T0      -0.07447699 -0.15104732  0.002093343  0.0600294
TR12-T0      -0.16589805 -0.24246839 -0.089327723  0.0000064
TR12-TK41    -0.09142107 -0.16799140 -0.014850734  0.0125929

```

Figur M Output fra enveis ANOVA i RStudio, fruktan ~ Fram, samt fra påfølgende Tukey test.

Vedlegg 24: Enveis ANOVA med påfølgende Tukey test: raffinose ~ fordeig

```

Response: Raffinose
      Df Sum Sq Mean Sq F value    Pr(>F)
Sort    6 0.080729 0.0134549  71.884 6.611e-13 ***
Residuals 21 0.003931 0.0001872
---
Signif. codes:  0 '***' 0.001 '**' 0.01 '*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1

```

```

$Sort
      diff      lwr      upr    p adj
Børsum-Bastian -0.01245000 -0.04389834  0.018998338  0.8502992
Einkorn-Bastian -0.01311250 -0.04456084  0.018335838  0.8182402
Emmer-Bastian   0.12981375  0.09836541  0.161262088  0.0000000
Fram-Bastian    0.07998625  0.04853791  0.111434588  0.0000009
Mirakel-Bastian 0.09135263  0.05990429  0.122800963  0.0000001
Spelt-Bastian   0.07867500  0.04722666  0.110123338  0.0000012
Einkorn-Børsum -0.00066250 -0.03211084  0.030785838  1.0000000
Emmer-Børsum    0.14226375  0.11081541  0.173712088  0.0000000
Fram-Børsum     0.09243625  0.06098791  0.123884588  0.0000001
Mirakel-Børsum  0.10380263  0.07235429  0.135250963  0.0000000
Spelt-Børsum    0.09112500  0.05967666  0.122573338  0.0000001
Emmer-Einkorn   0.14292625  0.11147791  0.174374588  0.0000000
Fram-Einkorn    0.09309875  0.06165041  0.124547088  0.0000001
Mirakel-Einkorn 0.10446512  0.07301679  0.135913463  0.0000000
Spelt-Einkorn   0.09178750  0.06033916  0.123235838  0.0000001
Fram-Emmer     -0.04982750 -0.08127584 -0.018379162  0.0007131
Mirakel-Emmer  -0.03846112 -0.06990946 -0.007012787  0.0103725
Spelt-Emmer    -0.05113875 -0.08258709 -0.019690412  0.0005235
Mirakel-Fram    0.01136638 -0.02008196  0.042814713  0.8958304
Spelt-Fram     -0.00131125 -0.03275959  0.030137088  0.9999993
Spelt-Mirakel  -0.01267762 -0.04412596  0.018770713  0.8396249

```

Figur N Output fra enveis ANOVA i RStudio, raffinose ~ fordeig, samt fra påfølgende Tukey test.

Vedlegg 25: Enveis ANOVA med påfølgende Tukey test: raffinose ~ T0

Response: Raffinose

```

Df Sum Sq Mean Sq F value Pr(>F)
Sort 6 0.072852 0.0121420 43.042 9.888e-11 ***
Residuals 21 0.005924 0.0002821

```

Signif. codes: 0 '***' 0.001 '**' 0.01 '*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1

```

$Sort
      diff      lwr      upr      p adj
Børsum-Bastian  0.03027750 -8.329906e-03 0.068884906 0.1921400
Einkorn-Bastian -0.00110625 -3.971366e-02 0.037501156 0.9999999
Emmer-Bastian   0.13517750  9.657009e-02 0.173784906 0.0000000
Fram-Bastian    0.12223750  8.363009e-02 0.160844906 0.0000000
Mirakel-Bastian 0.03758625 -1.021156e-03 0.076193656 0.0596786
Spelt-Bastian   0.03945625  8.488438e-04 0.078063656 0.0430767
Einkorn-Børsum -0.03138375 -6.999116e-02 0.007223656 0.1631057
Emmer-Børsum    0.10490000  6.629259e-02 0.143507406 0.0000003
Fram-Børsum     0.09196000  5.335259e-02 0.130567406 0.0000026
Mirakel-Børsum  0.00730875 -3.129866e-02 0.045916156 0.9955416
Spelt-Børsum    0.00917875 -2.942866e-02 0.047786156 0.9852131
Emmer-Einkorn   0.13628375  9.767634e-02 0.174891156 0.0000000
Fram-Einkorn    0.12334375  8.473634e-02 0.161951156 0.0000000
Mirakel-Einkorn 0.03869250  8.509384e-05 0.077299906 0.0492623
Spelt-Einkorn   0.04056250  1.955094e-03 0.079169906 0.0353860
Fram-Emmer      -0.01294000 -5.154741e-02 0.025667406 0.9243352
Mirakel-Emmer   -0.09759125 -1.361987e-01 -0.058983844 0.0000010
Spelt-Emmer     -0.09572125 -1.343287e-01 -0.057113844 0.0000014
Mirakel-Fram    -0.08465125 -1.232587e-01 -0.046043844 0.0000092
Spelt-Fram      -0.08278125 -1.213887e-01 -0.044173844 0.0000128
Spelt-Mirakel   0.00187000 -3.673741e-02 0.040477406 0.9999983

```

Figur O Output fra enveis ANOVA i RStudio, raffinose ~ T0, samt fra påfølgende Tukey test.

Vedlegg 26: Enveis ANOVA med påfølgende Tukey test: raffinose ~ TK41

Response: Raffinose

```

Df Sum Sq Mean Sq F value Pr(>F)
Sort 6 0.093738 0.015623 185.93 < 2.2e-16 ***
Residuals 21 0.001765 0.000084

```

Signif. codes: 0 '***' 0.001 '**' 0.01 '*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1

```

$Sort
      diff      lwr      upr      p adj
Børsum-Bastian  0.03066500  0.009594329 0.05173567 0.0018624
Einkorn-Bastian -0.08819050 -0.109261171 -0.06711983 0.0000000
Emmer-Bastian   0.05345138  0.032380704 0.07452205 0.0000009
Fram-Bastian    0.06769400  0.046623329 0.08876467 0.0000000
Mirakel-Bastian -0.06206625 -0.083136921 -0.04099558 0.0000001
Spelt-Bastian   -0.06295500 -0.084025671 -0.04188433 0.0000001
Einkorn-Børsum -0.11885550 -0.139926171 -0.09778483 0.0000000
Emmer-Børsum    0.02278637  0.001715704 0.04385705 0.0285667
Fram-Børsum     0.03702900  0.015958329 0.05809967 0.0001993
Mirakel-Børsum -0.09273125 -0.113801921 -0.07166058 0.0000000
Spelt-Børsum    -0.09362000 -0.114690671 -0.07254933 0.0000000
Emmer-Einkorn   0.14164188  0.120571204 0.16271255 0.0000000
Fram-Einkorn    0.15588450  0.134813829 0.17695517 0.0000000
Mirakel-Einkorn 0.02612425  0.005053579 0.04719492 0.0091728
Spelt-Einkorn   0.02523550  0.004164829 0.04630617 0.0124689
Fram-Emmer      0.01424262 -0.006828046 0.03531330 0.3377639
Mirakel-Emmer   -0.11551763 -0.136588296 -0.09444695 0.0000000
Spelt-Emmer     -0.11640638 -0.137477046 -0.09533570 0.0000000
Mirakel-Fram    -0.12976025 -0.150830921 -0.10868958 0.0000000
Spelt-Fram      -0.13064900 -0.151719671 -0.10957833 0.0000000
Spelt-Mirakel   -0.00088875 -0.021959421 0.02018192 0.9999993

```

Figur P Output fra enveis ANOVA i RStudio, raffinose ~ TK41, samt fra påfølgende Tukey test.

Vedlegg 27: Enveis ANOVA med påfølgende Tukey test: raffinose ~ BTK41

```

Response: Raffinose
      Df Sum Sq Mean Sq F value    Pr(>F)
Sort    5  0.043730  0.0087460  46.437 3.101e-14 ***
Residuals 34  0.006404  0.0001883
---
Signif. codes:  0 '***' 0.001 '**' 0.01 '*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1

$Sort
      diff      lwr      upr    p adj
Børsum-Bastian -0.048402500 -0.069113363 -0.02769164 0.0000005
Emmer-Bastian  0.061906875  0.036541352  0.08727240 0.0000002
Fram-Bastian   -0.037999375 -0.058710238 -0.01728851 0.0000477
Mirakel-Bastian -0.043440000 -0.064150863 -0.02272914 0.0000046
Spelt-Bastian  -0.011504375 -0.036869898  0.01386115 0.7446941
Emmer-Børsum   0.110309375  0.084943852  0.13567490 0.0000000
Fram-Børsum    0.010403125 -0.010307738  0.03111399 0.6566365
Mirakel-Børsum 0.004962500 -0.015748363  0.02567336 0.9777084
Spelt-Børsum   0.036898125  0.011532602  0.06226365 0.0013551
Fram-Emmer     -0.099906250 -0.125271773 -0.07454073 0.0000000
Mirakel-Emmer  -0.105346875 -0.130712398 -0.07998135 0.0000000
Spelt-Emmer    -0.073411250 -0.102700834 -0.04412167 0.0000001
Mirakel-Fram   -0.005440625 -0.026151488  0.01527024 0.9668472
Spelt-Fram     0.026495000  0.001129477  0.05186052 0.0363871
Spelt-Mirakel  0.031935625  0.006570102  0.05730115 0.0069586

```

Figur Q Output fra enveis ANOVA RStudio, raffinose ~ BTK41, samt påfølgende Tukey test.

Vedlegg 28: Enveis ANOVA med påfølgende Tukey test: raffinose ~ Fram

```

Response: Raffinose
      Df Sum Sq Mean Sq F value    Pr(>F)
Faktor   3  0.35837  0.11946  797.63 < 2.2e-16 ***
Residuals 16  0.00240  0.00015
---
Signif. codes:  0 '***' 0.001 '**' 0.01 '*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1

$Faktor
      diff      lwr      upr    p adj
Fordeig-BTK41  0.2702350  0.24879419  0.29167581 0.00e+00
T0-BTK41       0.3228575  0.30141669  0.34429831 0.00e+00
TK41-BTK41     0.1665927  0.14515194  0.18803356 0.00e+00
T0-Fordeig     0.0526225  0.02786479  0.07738021 8.52e-05
TK41-Fordeig  -0.1036423 -0.12839996 -0.07888454 0.00e+00
TK41-T0        -0.1562648 -0.18102246 -0.13150704 0.00e+00

```

Figur R Output fra enveis ANOVA RStudio, raffinose ~ Fram, samt påfølgende Tukey test.

Vedlegg 29: Enveis ANOVA med påfølgende Tukey test: raffinose ~ Bastian

```
Response: Raffinose
      Df Sum Sq Mean Sq F value    Pr(>F)
Faktor   3 0.100374 0.033458  113.88 5.249e-11 ***
Residuals 16 0.004701 0.000294
---
Signif. codes:  0 '***' 0.001 '**' 0.01 '*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1
```

```
$Faktor
      diff      lwr      upr    p adj
Fordeig-BTK41 0.15224938 0.12221898 0.18227977 0.0000000
T0-BTK41      0.16262063 0.13259023 0.19265102 0.0000000
TK41-BTK41    0.06089938 0.03086898 0.09092977 0.0001438
T0-Fordeig    0.01037125 -0.02430486 0.04504736 0.8271308
TK41-Fordeig -0.09135000 -0.12602611 -0.05667389 0.0000065
TK41-T0       -0.10172125 -0.13639736 -0.06704514 0.0000016
```

Figur S Output fra enveis ANOVA RStudio, raffinose ~ Bastian, samt påfølgende Tukey test.

Vedlegg 30: Enveis ANOVA med påfølgende Tukey test: raffinose ~ Mirakel

```
Response: Raffinose
      Df Sum Sq Mean Sq F value    Pr(>F)
Faktor   3 0.31155 0.103849   884 < 2.2e-16 ***
Residuals 16 0.00188 0.000117
---
Signif. codes:  0 '***' 0.001 '**' 0.01 '*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1
```

```
$Faktor
      diff      lwr      upr    p adj
Fordeig-BTK41 0.28704200 0.26805253 0.30603147 0.0000000
T0-BTK41      0.24364688 0.22465740 0.26263635 0.0000000
TK41-BTK41    0.04227312 0.02328365 0.06126260 0.0000501
T0-Fordeig    -0.04339512 -0.06532228 -0.02146797 0.0001877
TK41-Fordeig -0.24476888 -0.26669603 -0.22284172 0.0000000
TK41-T0       -0.20137375 -0.22330091 -0.17944659 0.0000000
```

Figur T Output fra enveis ANOVA RStudio, raffinose ~ Mirakel, samt påfølgende Tukey test.

Vedlegg 31: Enveis ANOVA med påfølgende Tukey test: raffinose ~ emmer

```
Response: Raffinose
      Df Sum Sq Mean Sq F value    Pr(>F)
Faktor   3 0.168892 0.056297  387.52 3.32e-12 ***
Residuals 12 0.001743 0.000145
---
Signif. codes:  0 '***' 0.001 '**' 0.01 '*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1
```

```
$Faktor
      diff      lwr      upr    p adj
Fordeig-BTK41 0.22015625 0.194852855 0.24545964 0.0000000
T0-BTK41      0.23589125 0.210587855 0.26119464 0.0000000
TK41-BTK41    0.05244387 0.027140480 0.07774727 0.0002490
T0-Fordeig    0.01573500 -0.009568395 0.04103839 0.3001991
TK41-Fordeig -0.16771238 -0.193015770 -0.14240898 0.0000000
TK41-T0       -0.18344738 -0.208750770 -0.15814398 0.0000000
```

Figur U Output fra enveis ANOVA RStudio, raffinose ~ emmer, samt påfølgende Tukey test.

Vedlegg 32: Enveis ANOVA med påfølgende Tukey test: raffinose ~ einkorn

```
Response: Raffinose
          Df Sum Sq Mean Sq F value Pr(>F)
Faktor    2 0.085129 0.042564 244.44 1.436e-08 ***
Residuals 9 0.001567 0.000174
---
Signif. codes:  0 '***' 0.001 '**' 0.01 '*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1
```

```
$Faktor
          diff      lwr      upr    p adj
T0-Fordeig  0.0223775 -0.003674245  0.04842925 0.0921033
TK41-Fordeig -0.1664280 -0.192479745 -0.14037625 0.0000001
TK41-T0      -0.1888055 -0.214857245 -0.16275375 0.0000000
```

Figur V Output fra enveis ANOVA RStudio, raffinose ~ einkorn, samt påfølgende Tukey test.

Vedlegg 33: Enveis ANOVA med påfølgende Tukey test: raffinose ~ spelt

```
Response: Raffinose
          Df Sum Sq Mean Sq F value Pr(>F)
Faktor    3 0.201402 0.067134 1130.1 5.637e-15 ***
Residuals 12 0.000713 0.000059
---
Signif. codes:  0 '***' 0.001 '**' 0.01 '*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1
```

```
$Faktor
          diff      lwr      upr    p adj
Fordeig-BTK41 0.24258125 0.226400701 0.25876180 0.0000000
T0-BTK41      0.21373375 0.197553201 0.22991430 0.0000000
TK41-BTK41    0.00960125 -0.006579299 0.02578180 0.3367666
T0-Fordeig    -0.02884750 -0.045028049 -0.01266695 0.0009445
TK41-Fordeig -0.23298000 -0.249160549 -0.21679945 0.0000000
TK41-T0       -0.20413250 -0.220313049 -0.18795195 0.0000000
```

Figur W Output fra enveis ANOVA RStudio, raffinose ~ spelt, samt påfølgende Tukey test.

Vedlegg 34: Enveis ANOVA med påfølgende Tukey test: raffinose ~ Børsum

```
Response: Raffinose
          Df Sum Sq Mean Sq F value Pr(>F)
Faktor    3 0.193510 0.064503 205.47 5.54e-13 ***
Residuals 16 0.005023 0.000314
---
Signif. codes:  0 '***' 0.001 '**' 0.01 '*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1
```

```
$Faktor
          diff      lwr      upr    p adj
Fordeig-BTK41 0.18820188 0.15715994 0.21924381 0.0000000
T0-BTK41      0.24130063 0.21025869 0.27234256 0.0000000
TK41-BTK41    0.13996688 0.10892494 0.17100881 0.0000000
T0-Fordeig    0.05309875 0.01725461 0.08894289 0.0031546
TK41-Fordeig -0.04823500 -0.08407914 -0.01239086 0.0069525
TK41-T0       -0.10133375 -0.13717789 -0.06548961 0.0000026
```

Figur X Output fra enveis ANOVA RStudio, raffinose ~ Børsum, samt påfølgende Tukey test.

Vedlegg 35: Enveis ANOVA med påfølgende Tukey test: pH T0 ~ Sort

```
Response: pH
      Df Sum Sq Mean Sq F value    Pr(>F)
Sort    6  0.53763  0.089605   9.1123 0.0003559 ***
Residuals 14  0.13767  0.009833
---
Signif. codes:  0 '***' 0.001 '**' 0.01 '*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1
```

```
$Sort
      diff      lwr      upr    p adj
Børsum-Bastian -0.4200000 -0.69646672 -0.14353328 0.0020390
Einkorn-Bastian -0.1800000 -0.45646672  0.09646672 0.3426914
Emmer-Bastian   0.0300000 -0.24646672  0.30646672 0.9997135
Fram-Bastian   -0.1100000 -0.38646672  0.16646672 0.8138522
Mirakel-Bastian -0.2133333 -0.48980005  0.06313339 0.1872861
Spelt-Bastian   0.0800000 -0.19646672  0.35646672 0.9485971
Einkorn-Børsum  0.2400000 -0.03646672  0.51646672 0.1094099
Emmer-Børsum    0.4500000  0.17353328  0.72646672 0.0010681
Fram-Børsum     0.3100000  0.03353328  0.58646672 0.0237072
Mirakel-Børsum  0.2066667 -0.06980005  0.48313339 0.2128125
Spelt-Børsum    0.5000000  0.22353328  0.77646672 0.0003759
Emmer-Einkorn   0.2100000 -0.06646672  0.48646672 0.1997174
Fram-Einkorn    0.0700000 -0.20646672  0.34646672 0.9723960
Mirakel-Einkorn -0.0333333 -0.30980005  0.24313339 0.9994762
Spelt-Einkorn   0.2600000 -0.01646672  0.53646672 0.0715760
Fram-Emmer     -0.1400000 -0.41646672  0.13646672 0.6097239
Mirakel-Emmer   -0.2433333 -0.51980005  0.03313339 0.1020473
Spelt-Emmer     0.0500000 -0.22646672  0.32646672 0.9950388
Mirakel-Fram    -0.1033333 -0.37980005  0.17313339 0.8517062
Spelt-Fram      0.1900000 -0.08646672  0.46646672 0.2886828
Spelt-Mirakel  0.2933333  0.01686661  0.56980005 0.0344182
```

Figur Y Output fra enveis ANOVA i RStudio sort ~ pH T0, samt påfølgende Tukey test.

Vedlegg 36: Enveis ANOVA med påfølgende Tukey test: pH TR12

```
Response: pH
      Df Sum Sq Mean Sq F value    Pr(>F)
Sort    6  0.4742  0.079033  131.72 1.488e-15 ***
Residuals 21  0.0126  0.000600
---
Signif. codes:  0 '***' 0.001 '**' 0.01 '*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1
```

```
$Sort
      diff      lwr      upr    p adj
Børsum-Bastian -0.225 -0.281305217 -0.16869478 0.0000000
Einkorn-Bastian -0.235 -0.291305217 -0.17869478 0.0000000
Emmer-Bastian   -0.155 -0.211305217 -0.09869478 0.0000002
Fram-Bastian   -0.135 -0.191305217 -0.07869478 0.0000023
Mirakel-Bastian -0.080 -0.136305217 -0.02369478 0.0024079
Spelt-Bastian   0.165  0.108694783  0.22130522 0.0000001
Einkorn-Børsum -0.010 -0.066305217  0.04630522 0.9968501
Emmer-Børsum    0.070  0.013694783  0.12630522 0.0089486
Fram-Børsum     0.090  0.033694783  0.14630522 0.0006427
Mirakel-Børsum  0.145  0.088694783  0.20130522 0.0000007
Spelt-Børsum    0.390  0.333694783  0.44630522 0.0000000
Emmer-Einkorn   0.080  0.023694783  0.13630522 0.0024079
Fram-Einkorn    0.100  0.043694783  0.15630522 0.0001739
Mirakel-Einkorn 0.155  0.098694783  0.21130522 0.0000002
Spelt-Einkorn   0.400  0.343694783  0.45630522 0.0000000
Fram-Emmer     -0.020 -0.036305217  0.07630522 0.9030794
Mirakel-Emmer   0.075  0.018694783  0.13130522 0.0046548
Spelt-Emmer     0.320  0.263694783  0.37630522 0.0000000
Mirakel-Fram    0.055 -0.001305217  0.11130522 0.0583963
Spelt-Fram      0.300  0.243694783  0.35630522 0.0000000
Spelt-Mirakel  0.245  0.188694783  0.30130522 0.0000000
```

Figur Z Output enveis ANOVA fra Rstudio etter fulgt av Tukey test T0~sort.

Vedlegg 37: Enveis ANOVA med påfølgende Tukey test: pH ~ TK41

```

Response: pH
      Df Sum Sq Mean Sq F value    Pr(>F)
Sort    6  0.47214  0.078690  33.183 1.157e-09 ***
Residuals 21  0.04980  0.002371
---
Signif. codes:  0 '***' 0.001 '**' 0.01 '*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1

```

```

$Sort
      diff      lwr      upr    p adj
Børsum-Bastian -0.180 -0.291938127 -0.068061873 0.0005986
Einkorn-Bastian -0.105 -0.216938127  0.006938127 0.0753586
Emmer-Bastian  -0.180 -0.291938127 -0.068061873 0.0005986
Fram-Bastian    0.015 -0.096938127  0.126938127 0.9993487
Mirakel-Bastian 0.140  0.028061873  0.251938127 0.0084728
Spelt-Bastian   0.160  0.048061873  0.271938127 0.0022597
Einkorn-Børsum  0.075 -0.036938127  0.186938127 0.3473851
Emmer-Børsum    0.000 -0.111938127  0.111938127 1.0000000
Fram-Børsum     0.195  0.083061873  0.306938127 0.0002230
Mirakel-Børsum  0.320  0.208061873  0.431938127 0.0000001
Spelt-Børsum    0.340  0.228061873  0.451938127 0.0000000
Emmer-Einkorn  -0.075 -0.186938127  0.036938127 0.3473851
Fram-Einkorn    0.120  0.008061873  0.231938127 0.0305062
Mirakel-Einkorn 0.245  0.133061873  0.356938127 0.0000094
Spelt-Einkorn   0.265  0.153061873  0.376938127 0.0000028
Fram-Emmer      0.195  0.083061873  0.306938127 0.0002230
Mirakel-Emmer   0.320  0.208061873  0.431938127 0.0000001
Spelt-Emmer     0.340  0.228061873  0.451938127 0.0000000
Mirakel-Fram    0.125  0.013061873  0.236938127 0.0222847
Spelt-Fram      0.145  0.033061873  0.256938127 0.0061024
Spelt-Mirakel   0.020 -0.091938127  0.131938127 0.9967452

```

Figur AÆ Output enveis ANOVA fra RStudio pH ~ TK41, etterfulgt av Tukey test.

Vedlegg 38: Tukey test pH Bastian, Børsum, Mirakel, Fram, emmer, spelt og einkorn ved T0, TR12 og TK41.

1)

\$Faktor	diff	lwr	upr	p adj
TK41-T0	-0.750	-0.8418694	-0.6581306	2.28e-05
TR12-T0	-1.495	-1.5868694	-1.4031306	0.00e+00
TR12-TK41	-0.745	-0.8368694	-0.6531306	2.60e-05

2)

\$Faktor	diff	lwr	upr	p adj
TK41-T0	-0.50	-0.5835753	-0.4164247	0.0002845
TR12-T0	-1.29	-1.3735753	-1.2064247	0.0000000
TR12-TK41	-0.79	-0.8735753	-0.7064247	0.0000000

3)

\$Faktor	diff	lwr	upr	p adj
TK41-T0	-0.380	-0.5707336	-0.1892664	0.0074391
TR12-T0	-1.345	-1.5357336	-1.1542664	0.0001168
TR12-TK41	-0.965	-1.1557336	-0.7742664	0.0005193

4)

\$Faktor	diff	lwr	upr	p adj
TK41-T0	-0.690	-1.394631	0.0146308	0.0527843
TR12-T0	-1.585	-2.289631	-0.8803692	0.0052377
TR12-TK41	-0.895	-1.599631	-0.1903692	0.0264337

5)

\$Faktor	diff	lwr	upr	p adj
TK41-T0	-0.94	-1.2086569	-0.6713431	0.0014607
TR12-T0	-1.66	-1.9286569	-1.3913431	0.0002466
TR12-TK41	-0.72	-0.9886569	-0.4513431	0.0031478

6)

\$Faktor	diff	lwr	upr	p adj
TK41-T0	-0.65	-0.8460014	-0.4539986	0.0017005
TR12-T0	-1.39	-1.5860014	-1.1939986	0.0001121
TR12-TK41	-0.74	-0.9360014	-0.5439986	0.0011810

7)

\$Faktor	diff	lwr	upr	p adj
TK41-T0	-0.655	-1.006695	-0.3033047	0.0090293
TR12-T0	-1.530	-1.881695	-1.1783047	0.0008010
TR12-TK41	-0.875	-1.226695	-0.5233047	0.0039081

Figur Ø 1-7 Output fra Tukey for Bastian, Børsum, Mirakel, Fram, emmer, spelt og einkorn for pH etter elting (T0), inkubasjons 22 °C i 12 timer (TR12) og ved 4 °C i 41 timer (TK41).



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

Postboks 5003
NO-1432 Ås
Norway