

Andrea Hobbelstad Hansen
Emilie Elton
Tilde Tveraa Røilid

Tilsetning av ulike bladpulver til glutenfritt brød

Bacheloroppgave i Matteknologi
Veileder: Marcin A. Kurek
Mai 2021



NTNU - Norges teknisk-naturvitenskapelige universitet
Institutt for bioteknologi og matvitenskap

BACHELOROPPGAVE 2021

20 studiepoeng

Tilsetning av ulike bladpulver til glutenfritt brød

Utført av

Andrea Hobbelstad Hansen
Emilie Elton
Tilde Tveraa Røilid

Dette arbeidet er gjennomført som ledd i bachelorutdanningen i matteknologi ved Institutt for bioteknologi og matvitenskap, NTNU. Bruk av oppgavens innhold skjer på eget ansvar.

Sammendrag

Hensikten med denne bacheloroppgaven var å finne ut hvordan tilsetning av ulike konsentrasjoner av ulike bladpulver i glutenfritt brød ville påvirke antioksidantinnholdet og de fysiske egenskapene, samt graden av aksept hos forbrukere.

Pulver av spinat (*Spinacia oleracea*), brennesle (*Urtica dioica*) og grønnkål (*Brassica oleracea* var. *sabellica*) ble tilsatt i konsentrasjoner på 1% og 3%, og vurdert opp mot et kontrollbrød uten tilsetning av bladpulver. De fysiske egenskapene som ble analysert var tekstur, farge, vanninnhold, vektsvinn, volum og porøsitet. For å undersøke antioksidantinnhold ble det gjennomført analyse av antioksidantaktivitet, totalt innhold av fenolforbindelser (TPC) og askorbinsyre. Det ble gjennomført en forbrukertest for å undersøke grad av aksept.

Resultatene fra de fysiske analysene viste at tilsetning av bladpulver utgjorde noen signifikante endringer, blant annet høyere vanninnhold og endring i farge. Tilsetning av spinatpulver resulterte i hardere tekstur, høyere porøsitet, samt lavere vektsvinn og volum. Tilsetning av brenneslepulver resulterte i økt hardhet, lav spenstighet og volum, samt endring av porøsitet. Tilsetning av grønnkålpulver resulterte i mykere tekstur, økning av volum og høyere porøsitet.

De kjemiske analysene viste at tilsetning av spinatpulver ikke bidro til noen signifikant økning i antioksidantinnhold. Tilsetning av brenneslepulver ga høyest antioksidantaktivitet, men kun en liten økning i TPC og mengde askorbinsyre. Tilsetning av grønnkålpulver ga ingen signifikant økning i TPC, men ga økt antioksidantaktivitet og inneholdt mest askorbinsyre av alle brødene.

Resultatene fra forbrukertesten viste at brødet tilsatt 3% grønnkål hadde høyeste grad av aksept på egenskapene farge, tekstur og helhetlig inntrykk. Derimot hadde kontrollbrødet høyest grad av aksept på egenskapene smak og aroma.

Det ble konkludert med at tilsetning av brennesle- og grønnkålpulver ga økt antioksidantinnhold og medførte signifikante endringer i fysiske kvaliteter og grad av aksept. Tilsetning av spinatpulver hadde derimot en negativ effekt på de fysiske og kjemiske kvalitetene, med unntak av vanninnhold og vektsvinn, samt dårligere grad av aksept.

Abstract

The purpose of this bachelor thesis was to find out how the addition of different leaf powders in different concentrations in gluten-free bread would affect its antioxidant content and physical properties, as well as its degree of acceptance by consumers.

Powders of spinach (*Spinacia oleracea*), nettle (*Urtica dioica*) and kale (*Brassica oleracea var. Sabellica*) were added in concentrations of 1% and 3% and compared against a control sample without leaf powder. The samples underwent antioxidant activity, total phenolic content (TPC) and ascorbic acid testing methods to determine their antioxidant content. The physical properties analysed were texture, colour, water content, baking loss, volume, and porosity. A consumer test was conducted to examine the degree of acceptance.

The results from the physical analyses showed that the addition of leaf powder constituted some significant changes, including higher water content and change in colour. The addition of spinach powder resulted in a harder texture, higher porosity, lower baking loss and volume. The addition of nettle powder increased hardness, lowered springiness, and decreased volume, as well as changes in porosity. The addition of kale powder led to softer texture and increase in both volume and porosity.

The chemical analyses showed that spinach powder did not contribute to any significant increase in antioxidant content. The addition of nettle powder resulted in the highest antioxidant activity, and a minor increase in TPC and ascorbic acid. The addition of kale powder did not receive a significant increase in TPC but showed increased antioxidant activity and contained the most ascorbic acid of all the breads.

The results from the consumer test showed that the addition of 3% kale powder gave the bread with the highest rate of acceptability of colour, texture, and overall impression. The control bread had the highest rate of acceptability on taste and aroma.

It can be concluded that the addition of nettle and kale powders to bread leads to increase in antioxidant content and few significant changes of physical qualities and acceptability. Addition of spinach powder however had a negative effect on most physical and chemical qualities, apart from moisture content and baking loss, as well as a poor degree of acceptance.

Forord

Denne bacheloroppgaven ble utført som avsluttende oppgave ved studieprogrammet matteknologi ved Institutt for bioteknologi og matvitenskap på NTNU i Trondheim.

Analysene ble utført på NTNUs laboratorier ved bioteknologi og matvitenskap, på campus Kalvskinnet.

Vi ønsker å rette en stor takk til vår hovedveileder Marcin A. Kurek for veldig god veiledning og hjelp underveis i prosjektet. Vi vil også takke hverandre for god støtte, motivasjon og et velfungerende samarbeid. Videre vil vi takke dommerne som stilte opp på forbrukertesten.

Det har til tider vært mye krevende arbeid, men læringsutbyttet for denne oppgaven har til gjengjeld vært stort, og vi vil ha stor nytte av denne kunnskapen til videre studier og senere i arbeidslivet.

Trondheim, 20.05.21

Andrea Hobbestad Hansen

Emilie Elton

Tilde Tveraa Røilid

Andrea H. Hansen

Emilie Elton

Tilde T. Røilid

Innholdsfortegnelse

1	Introduksjon	1
2	Teori.....	3
2.1	Cøliaki.....	3
2.2	Glutens rolle i matproduksjon	4
2.3	Glutenfritt brød	5
2.3.1	Mel.....	6
2.3.2	Hydrokolloider.....	7
2.3.3	Tilsetninger.....	8
2.4	Antioksidanter	8
2.4.1	Bladgrønnsaker som kilde til antioksidanter.....	10
2.5	Analyser	11
2.5.1	DPPH-test	11
2.5.2	TPC-test	13
2.5.3	Askorbinsyre.....	14
2.6	Sensorikk.....	14
2.6.1	Sensorisk forbrukertest.....	15
3	Materialer og metoder.....	17
3.1	Tilberedning av brød.....	17
3.2	Fysiske analyser	18
3.2.1	Tekstur.....	18
3.2.2	Farge.....	19
3.2.3	Vanninnhold	19
3.2.4	Vektsvinn	19
3.2.5	Volum	19
3.2.6	Porøsitet.....	20
3.3	Kjemiske analyser	20

3.3.1	Forberedelser til analysene	20
3.3.2	DPPH.....	21
3.3.3	TPC.....	21
3.3.4	Askorbinsyre.....	22
3.4	Forbrukertest.....	22
3.5	Databehandling og statistisk analyse	23
4	Resultater og vurdering.....	24
4.1	Resultat og vurdering av de fysiske analysene.....	24
4.1.1	Tekstur.....	24
4.1.2	Farge.....	27
4.1.3	Vanninnhold	30
4.1.4	Vektsvinn	31
4.1.5	Volum	32
4.1.6	Porøsitet	33
4.2	Resultat og vurdering av de kjemiske analysene	34
4.2.1	DPPH.....	34
4.2.2	TPC.....	36
4.2.3	Askorbinsyre.....	37
4.3	Resultat og vurdering av forbrukertesten	37
5	Konklusjon.....	41
6	Referanseliste	43

1 Introduksjon

I de siste årene har det markedet for glutenfrie matvarer vokst betraktelig. En grunn til dette er en økende trend i oppfatning av at en glutenfri diett er helsemessig gunstig. Den vanligste årsaken til en glutenfri diett skyldes glutenrelaterte sykdommer. Cøliaki er en autoimmun sykdom hvor inntak av gluten fører til feilaktig produksjon av antistoffer som angriper tynntarmens celler og vev. 1% av verdens befolkning lever med cøliaki og det er den vanligste genetiske matintoleransen i verden. I tillegg til cøliaki finnes det flere glutenintoleranser hvor personer reagerer på gluten, som blant annet dermatitis herpetiformis, hveteallergi og ikke-cøliakisk glutensensitivitet (Langeland, 2019). Dette påvirker millioner av mennesker verden over. (Myhrstad et al., 2021) I denne oppgaven fokuseres det på cøliaki, grunnet den høye sensitiviteten for gluten denne sykdommen innebærer.

En glutenfri diett kan føre til mangelsykdommer på grunn av et for lavt inntak av forskjellige mikronæringsstoffer, proteiner og fiber. For å øke den ernæringsmessige kvaliteten på glutenfritt brød kan det være fordelaktig å tilsette antioksidanter, men dette kan forårsake negative effekter på de sensoriske kvalitetene til brødet (Fellstone, 2011).

Antioksidanter er stoffer som kan bidra til å motvirke de potensielt skadelige effektene oksidasjon kan ha i kroppen (Karlsen, 2010). Under celleåndingen vil det dannes frie radikaler i kroppen, og en opphopning av disse i kroppen kalles oksidativt stress. Dette kan føre til forskjellige sykdommer som for eksempel kreft og diabetes. Det er derfor viktig at kroppen får rikelig med antioksidanter for å unngå oksidativt stress. (Preedy Victor & Watson Ronald, 2010)

Det er tidligere blitt utført forskjellige studier der det ble sett på hvordan pulver fra en enkelt frukt, grønnsak eller frø tilsatt i forskjellige konsentrasjoner påvirker glutenfritt brød, slik som studiet av Bourekoua et al. (2018b), hvor de undersøker hvordan forskjellige konsentrasjoner av pulver fra granateplefrø påvirker fysiske og sensoriske egenskaper, samt antioksidantinnhold i glutenfritt brød.

I denne oppgaven undersøkes det om tilsetning av pulver fra forskjellige bladgrønnsaker øker antioksidantinnholdet i glutenfritt brød. Det testes også om tilsetningene bevarer eller

forbedrer brødets opprinnelige fysiske kvaliteter. Til slutt finnes akseptraten hos forbrukere for denne typen brød. Antioksidantinnholdet regnes ut ved hjelp av TPC, DPPH- og askorbinsyremetoder. Brødets fysiske kvaliteter omhandler brødets tekstur, farge, vanninnhold, vektsvinn, volum og porøsitet, og testes med samsvarende metoder for disse. Å bevare eller forbedre disse aspektene er viktig for å opprettholde eller forsterke forbrukerens aksept. Akseptraten kommer frem gjennom en forbrukertest, som er viktig for fremtidig produktutvikling og eventuell omsetning av et slikt produkt. Dette utgjør grunnlaget for denne oppgavens problemstilling:

Hvordan vil tilsetning av bladpulver fra ulike planter og i ulike konsentrasjoner påvirke brødets antioksidantinnhold og fysiske egenskaper, samt graden av aksept hos forbrukere?

2 Teori

2.1 Cøliaki

Cøliaki er en kronisk autoimmun sykdom, hvor kroppens immunsystem feilaktig produserer antistoffer som angriper kroppens friske celler og vev (NHI, 2019). Personer med cøliaki er permanent følsomme mot gluten og selv et lite inntak (50mg) vil potensielt kunne utløse en autoimmun reaksjon (King et al., 2019). Når kroppen eksponeres for gluten, vil glutenet bli oppfattet som fremmedstoffer. Da vil en betennelsesreaksjon starte og antistoffer produseres for å reagere med og avstøte glutenpartiklene. Antistoffene vil også angripe tarmtottene i tynntarmen slik at det skjer en avflatning av tarmtottene. Tarmtottene er viktige for kroppens evne til å ta opp næringsstoffer fra tarmen. Når tarmtottene avflates av antistoffer, vil næringsopptaket forstyrres og en rekke symptomer kan oppstå. (NHI, 2020)

Cøliaki er den vanligste genetiske matintoleransen i verden, med en utbredelse blant 1% av den generelle befolkningen (Oxentenko & Rubio-Tapia, 2019). Den kan forekomme i alle aldre og er karakterisert av en rekke kliniske tegn og symptomer, både i og utenfor mage-tarmkanalen. Dette gjør det utfordrende å diagnostisere cøliaki og det vil kreve en høy grad av mistanke, derfor forblir mange pasienter udiagnostisert (Al-Toma et al., 2019; Oxentenko & Rubio-Tapia, 2019). Hvis cøliaki eller andre glutenrelaterte lidelser blir påvist, er eneste tilgjengelige behandling å følge en streng glutenfri diett resten av livet (Myhrstad et al., 2021). Dette betyr at man kun skal spise produkter som er merket "glutenfri". For at et produkt skal kunne klassifiseres som glutenfritt må gluteninnholdet være på høyst 20mg/kg (Matinformasjonsforskriften, 2017). En glutenfri diett betyr at man ikke skal spise mat som inneholder hvete, bygg, rug og havre (Dizlek & Ozer, 2016). Ved å unngå disse vil en kunne redusere symptomer og det gir vanligvis komplett remisjon (Guandalini & Assiri, 2014).

De siste årene har det glutenfrie markedet vokst (Myhrstad et al., 2021). Dette er både på grunn av sykdommer som cøliaki, men også fordi det har blitt en trend å spise glutenfritt. Det har blitt en offentlig oppfatning at en glutenfri diett er helsemessig gunstig og en effektiv måte å gå ned i vekt på. Dette støttes ikke av forskning da glutenfrie produkter ofte inneholder mer karbohydrater og fett og mindre fiber enn tilsvarende glutenholdige produkter. (Myhrstad et al., 2021) Til tross for det voksende markedet, har pasienter fortsatt

problemer med å finne glutenfrie produkter på grunn av høye priser, dårlige sensoriske egenskaper, begrenset variasjon og tilgjengelighet. (Capriles et al., 2016)

Glutenfrie brød lages ofte med ris- eller maismel kombinert med ingredienser som stivelse, hydrokolloider, emulgatorer og proteiner som ikke er gluten. Disse vil være alternativer til gluten. Disse ingrediensene er ofte ikke beriket eller tilsatt næringsstoffer, og glutenfrie brød laget med disse ingrediensene vil ofte ha et lavt innhold av proteiner, mineraler og andre næringsstoffer i sammenligning med hvetebrød (Bourekoua et al., 2018a). Dette vil kunne lede til ernæringsmessige mangler i mikro- og makronæringsstoffer. Spesielt antioksidanten selen kan personer som ikke spiser glutenholdig korn få for lite av (Pedersen et al., 2017, s. 288). Pasienter med ernæringsmessige mangler vil kunne trenge kosttilskudd som vitaminer, mineraler, antioksidanter og proteiner for å motvirke mangler og gjenopprette næringsreserve (Bourekoua et al., 2018a). Ved å kunne berike eller forsterke glutenfrie brød som pasienter allerede spiser vil man kunne minske problemet med mangel på næringsstoffer. (Bourekoua et al., 2018b)

Siden gluten har en så viktig rolle i brødbaking vil ikke de glutenfrie erstatningene være i stand til å opprettholde de samme funksjonene som gluten. Deigen vil ofte få konsistens som en røre. Dette gjør at brødet ikke vil klare å holde på karbondioksidet som frigjøres under heveprosessen og vil ikke utvikle en tilstrekkelig struktur under bakefasen. Som en konsekvens vil det resultere i et brød med flere defekter som kornete tekstur, lysere krumme og skorpe farge, redusert spesifikt volum og dårlig munnfølelse og smak. Det forskes derfor på nye ingredienser som kan inkluderes i glutenfri brødlaging. Ingredienser som er rike på antioksidanter og som kan begrense de nevnte kvalitetsdefektene og forbedre den generelle kvaliteten. Mat med høyt innhold av antioksidanter er i høy etterspørsel på grunn av helsemessige fordeler og beskyttelse mot sykdommer som kreft og hjerte- og karsykdommer. (Bourekoua et al., 2018b; Conte et al., 2018)

2.2 Glutens rolle i matproduksjon

Glutenproteiner finnes blant annet i kornslagene hvete, rug, bygg og spelt (Ditlefsen, 2020). Hvete er den viktigste kilden til mat for mennesker og vokser over et større landområde enn andre kommersielle avlinger. I årene 2007-2008 ble det høstet over 610 millioner tonn

hvete. (Carena, 2009, s. 128) Kornslaget består av fire forskjellige grupper proteiner: albuminer, globuliner, prolaminer og gluteliner. Innenfor gruppene gluteliner og prolaminer er det henholdsvis glutenin og gliadin, som er hovedbestanddelene i gluten. (Ribeiro et al., 2013) Prolaminer og gluteliner står for 80% av det totale innholdet av proteiner i hvete (Fellstone, 2011, s. 4). De monomere gliadinene sørger for viskøse egenskaper, mens de polymere gluteninene gir elastisitet og styrke i brøddeig (Arendt & Dal Bello, 2008, s. 291). Gluten utvikles når glutenin og gliadin-proteinene utsettes for væske og energi i form av vann og elting, og bidrar til deigens viskoelastiske egenskaper. Det skjer deretter mange komplekse forandringer, blant annet redoksreaksjoner og dannelsen av bindinger i form av kovalente disulfid-bindinger og en rekke svakere bindinger (Arendt & Dal Bello, 2008, s. 204). Forandringene vil øke brødetts evne til å holde på gass og gi brødet en jevn struktur og god munnfølelse, på grunn av generell økt viskoelastisitet. (Cauvain & Young, 2007, s. 21-23)

2.3 Glutenfritt brød

Etterspørselen etter hvete- og glutenfrie produkter øker stadig med den økende forekomsten av allergier, sensitivitet, intoleranse og autoimmune sykdommer (Fellstone, 2011, s. 49). En studie gjort av ACELBRA, den brasilianske cøliaki assosiasjonen, viste at personer med cøliaki ønsker flere glutenfrie alternativer av brød, pasta, kjeks og pizza (Fellstone, 2011, s. 3). Fokuset rettes mot alternative melsorter for å fø denne delen av befolkningen, slik som ris, mais, sorghum og kassava (Cauvain & Young, 2007, s. 380-381). Ofte benyttes det blandinger av forskjellige stivelsler for å oppnå gode sensoriske egenskaper (Fellstone, 2011, s. 50). På grunn av mangel på gluten vil glutenfrie deiger oppnå en høyere viskositet, og derfor minne mer om kakerøre enn en brøddeig. Dette resulterer også i mindre hevetid enn det som trengs for vanlige brød. (Arendt & Dal Bello, 2008, s. 306) På samme måte vil også metodene for å stabilisere gass i røren ofte være inspirert fra kakebaking. I mangel på høyt innhold fett, vann og sukker slik som i kaker, vil en utnyttelse av stivelsens klebrighet og forklistring være essensiell for gassformering i glutenfrie brød. (Cauvain & Young, 2007, s. 379-380) Introduksjon av for eksempel egg, meieriprotein, og soya kan også hjelpe på strukturen, men vil introdusere andre allergener som kan være uønsket (Arendt & Dal Bello, 2008, s. 295-298).

2.3.1 Mel

Cøliaki og trenden for glutenfri mat har gjort at det glutenfrie markedet har vokst. Det betyr mer etterspørsel etter glutenfrie produkter og man blir nødt til å finne erstatninger for glutenholdig mel. Det har blitt brukt flere produkter som erstatning, inkludert durra, kassava, mais, ris og potet (Wang et al., 2017). De viktigste kildene til stivelse i glutenfrie brød er mais, ris og potet. Siden stivelse har et lavt innhold av proteiner, vitaminer, mineraler og kostfiber vil glutenfrie brød ha et lavt innhold av næringsstoffer. (Witczak et al., 2016) Stivelse fra korn blir ofte betraktet som geleringsmaterialer og i baking bidrar de til tekstur, utseende og generell aksept. Under bakeprosessen vil stivelseskorn forklistre, som betyr at de svulmer opp og blir delvis oppløst. (Horstmann et al., 2016) Potetstivelse er et eksempel på stivelse som har en god evne til svelling og forklistring (Kim et al., 2015). Kim et al. (2015) antyder at inkluderingen av potetstivelse i rismel forbedrer både tekstur og holdbarhet, sammenlignet med brød laget av kun rismel.

Mais- og rismel blir ofte brukt til produksjon av glutenfrie brød og brød laget med disse melene blir ofte karakterisert med dårlig tekstur, utilstrekkelig volum og lett smuldring (Dizlek & Ozer, 2016). Ris (*Orzya sativa*) er en av de ledende matavlingene i Sørøst-Asia. Mel laget av ris har stadig blitt mer populært som en erstatning for hvetemel i glutenfrie brød og er det mest brukte glutenfrie melet i industrien. Rismel er en billig næringskilde og består av 80% stivelse og proteiner som ikke anses som farlig for cøliakere. Rismel mangler mange imidlertid viktige vitaminer som vitamin A, D, E og C (Mattilsynet & Helsedirektoratet, 2021a). Rismel er også et kornmel egnet til produksjon av glutenfrie brød da det er smakløst, har en hvit farge og har allergivennlige egenskaper. (Hager et al., 2012; Therdthai et al., 2016) Mais (*Zea mays*) er en av de store kornavlingene i verden. Maismel er også et egnet kornmel til produksjon av glutenfrie brød og er sammen med ris et av de mest kultiverte kornslagene i verden (de la Hera et al., 2013). Mais inneholder 72% stivelse og mange makro- og mikronæringsstoffer som er nødvendige for mennesker, men noen viktige næringsstoffer er dårlig balansert eller utilstrekkelig. Mais mangler askorbinsyre (vitamin C), B-vitaminer, jern, jod og karotenoider. (Nuss & Tanumihardjo, 2010)

2.3.2 Hydrokolloider

For å forbedre teksturen til glutenfrie brød kan man tilsette hydrokolloider, også kjent som gummer. Det har vist å ha positive resultater på brødernes viskoelastiske egenskaper, men uten andre tilsetninger vil sluttresultatet mangle essensielle næringsstoffer. (Fellstone, 2011, s. 49) Hydrokolloiders gluten-liknende egenskaper gjør de til et ofte brukt tilsetningsstoff i glutenfrie bakevarer. De har i tillegg har andre positive egenskaper som holdbarhetsforlengende, tinstabiliserende og fungerer som en fetterstatning (Cruz, 2010, s. 51).

Alle hydrokolloider har unike egenskaper, men de kan deles i to hovedgrupper: geldannende og ikke-geldannende hydrokolloider. De geldannende hydrokolloidene binder vann og gir brødet viskoelastiske egenskaper slik som gluten. Det dannes et tredimensjonalt nettverk av hydrogen-bindinger, kryssbindinger hos anionede molekyler og multivalente kationer, eller hydrofobiske interaksjoner. (Arendt & Dal Bello, 2008, s. 204-205) Ikke-geldannende hydrokolloider blir oftest brukt som tykningsmidler, eller sammen med geldannende hydrokolloider for å oppnå ønsket sluttresultat (Saha & Bhattacharya, 2010). Hydrokolloider består oftest av kun polysakkarider, og det vil da ikke oppstå redoksreaksjoner slik som hos gluten (Arendt & Dal Bello, 2008, s. 205). Det finnes noen unntak som guar gum, locust bean gum og tara gum, som inneholder andre næringsstoffer som protein og fiber (BeMiller, 2011).

Et eksempel på en hydrokolloid som ofte benyttes til glutenfri brødproduksjon er xantangummi. Xantangummi er en ikke-geldannende hydrokolloid, som produseres av bakterien *xanthomonas campestris* under fermentering. Fremstillingsmetoden gjør xantangummi til en billig, lett-produsert og lett-tilgjengelig hydrokolloid av god kvalitet. (Imeson, 1992, s. 284) Xantangummi er et heteropolysakkarid bestående mannose- og glukuronsyreenheter bundet til en kjede 1,4- β -D-glukose. Gummien kan løses i både kaldt og varmt vann, og er svært varmestabil. (Butler, 2016, s. 6-12) Xantangummi virker positivt inn på tekstur og volum av brødprodukter, da den danner uniforme luftbobler godt distribuert gjennom røra. Xantangummi er også væskeansamlende, hindrer klumping, bedrer homogenisering og virker pseudoplastisk. (Imeson, 1992, s. 310) Den har også holdbarhetsforlengende egenskaper i brød, pasta og kaker, ved å forsinke nedbrytningen av amylose og hindre retrogradering av vann (Butler, 2016, s. 19-21).

2.3.3 Tilsetninger

For å forbedre brødets kvaliteter kan det benyttes tilsetninger. Dette kan være alt fra sukker og salt til konserveringsmidler og melbehandlingsmidler. Andre tilsetninger som bladpulver eller ekstrakter kan også benyttes for å øke innholdet av næringsstoffer eller tilføre antioksidanter. Salt- og sukertilsetninger er først og fremst for smak, men forsinker fermenteringen til gjæret. Salt forsinker hevingprosessen kraftig, derfor tilsettes det ofte ikke mer enn 2% av melvekta med salt. (Cauvain & Young, 2007, s. 87-88) Askorbinsyre er et ofte brukt melbehandlingsmiddel som gir sprø og luftig skorpe, mens konserveringsmidler som eddiksyre (E260), kaliumacetat (E261) og natriumacetat (E262) inhiberer mugg og termofile bakterier (Cauvain & Young, 2007, s. 66-67; Mattilsynet, 2020).

Berikelse av brød ved å tilsette bladpulver eller ekstrakt har mange utfordringer, da en økning i ernæringsmessig kvalitet ofte går på bekostning av fysisk kvalitet. Đurović et al. (2020) observerte redusert elastisitet og volum, samt økt hardhet og endring av farge ved tilsetning av brenneslepulver. Odunlade et al. (2017) målte et høyere innhold fiber, antioksidanter og reduksjon av karbohydrater i sine forsøk med gresskar, amarant og aubergine, men mindre fuktighet og volum enn hos kontrollprøvene. Tilsetninger av ekstrakter bevarer det meste av kvaliteten til originalproduktet, men gir samme fordeler som tilsetninger av grønnsakspulver (Đurović et al., 2020).

2.4 Antioksidanter

Antioksidanter kan beskrives som substanser som kan motvirke de potensielt skadelige effektene av oksidasjon (Karlsen, 2010). Antioksidanter regnes som et bioaktivt stoff, som er et stoff som har en ernæringsmessig eller fysiologisk effekt i kroppen (Almvik & Stenrød, [u.å.]). De finnes naturlig i mange matvarer, men det er spesielt stor forekomst av dem i bær, frukt og grønnsaker. De viktigste antioksidantene i et kosthold er vitamin A, C (askorbinsyre) og E i tillegg til selen og karotenoider som for eksempel betakaroten (Ditlefsen & Svihus, 2020). Oksidasjon er en kjemisk prosess der elektroner blir avgitt, som vil si at oksidasjonstallet til minst et av atomene som er med i reaksjonen øker. Eksempler av reaksjoner der oksidasjon skjer kan være harskning av fett eller bruning av oppkuttete epler. (Frankel, 2007, s. 21-24)

Under kroppens vanlige celleånding vil cellene danne frie radikaler, som er atomer med et uparet elektron. Disse atomene er høyst reaktive med andre stoffer i kroppen. Det fører til en ubalanse mellom produksjon og nøytralisering av de frie radikalene, som kalles oksidativt stress. En opphopning av frie radikaler kan føre til endringer, skader og mutasjoner av ulike cellekomponenter inkludert lipidmembraner, proteiner, karbohydrater, RNA og DNA. Oksidativt stress er derfor ofte forbundet med sykdommer som kreft og diabetes. (Frankel, 2007, s. 8-9)

Kroppen har derfor et eget forsvar mot oksidativt stress. Dette kalles antioksidantforsvaret og består av eksogene forbindelser, de som tas opp fra kosten, og av endogene forbindelser, de som kroppen produserer selv. Kroppens produksjon av de endogene forbindelsene bestemmes av genetiske faktorer og påvirkes av livsstilsvalg som kosthold, røyking og fysisk aktivitet. Kroppen har en begrenset evne til å produsere antioksidereforbindelser, og er dermed avhengig av tilskudd fra eksogene kilder for å beskytte seg mot oksidativt stress. Oksidative skader er mangfoldige, og det er derfor gunstig om de eksogene antioksidantene har ulike kjemiske egenskaper for å gi optimal beskyttelse. Antioksidanter beskytter mot oksidativt stress ved at de frigir et elektron til et fritt radikal, slik at de frie radikalene ikke tar fra kroppens egne celler. (Gull & Nayik, 2020; Karlsen, 2010)

Folk som følger en glutenfri diett i dag er gjerne utsatt for mangler av mikronæringsstoffer, proteiner og fiber på grunn av dagens begrensede utvalg av glutenfrie produkter. Det er derfor satt i gang en rekke studier for å finne metoder for å øke innholdet av næringsstoffer og bioaktive stoffer i glutenfritt brød. Disse studiene viste at de fleste funksjonelle forbindelser, inkludert naturlige antioksidanter, hadde en positiv effekt på næringsegenskapene til brød. Til tross for ernæringsmessige fordeler, ga tilskudd med fullkorn og ris visse teknologiske begrensninger som endringer i utseende, farge, tekstur, aroma og smak hos glutenfrie produkter. Slike endringer kan svekke forbrukernes grad av aksept. Nyere undersøkelser har også studert muligheten for å bruke frø, grønnsaker eller frukt som kilde til antioksidanter for glutenfrie bakevarer. (Torres et al., 2017)

2.4.1 Bladgrønnsaker som kilde til antioksidanter

Spinat (*Spinacia oleracea*) er en grønn bladgrønnsak i amarantfamilien. Planten kommer opprinnelig fra Sentral-Asia, og i 2018 ble det produsert ca. 26.3 millioner tonn spinat, hvor Kina sto for 90% av produksjonen (Food and Agriculture Organization of the United States, 2018). Den blir omtrent 20-30cm høy, og har glatte grønne blader. Spinat er en næringsrik grønnsak, og inneholder omtrent 46mg askorbinsyre per 100g. Spinat inneholder mye Monogalactosyl diacylglycerol (MDGD) og sulfoquinovosyl diacylglycerol (SQDG) som er stoffer som skal være med på å hemme vekst av kreftceller. (Preedy Victor & Watson Ronald, 2010)

Brennesle (*Urtica dioica*) er en plante i neslefamilien. Den har grovtaggede grønne blader og små blomster i knipper fra bladhjørnene (Sundling, 2019). Planten bør høstes tidlig på våren, da den er mest næringsrik. Brennesle liker seg godt i nitrogenrik jord, og vokser i store deler av Eurasia, New Zealand, Nord-Afrika og Nord-Amerika (Hjelmstad, 2007). Brennesle anses av mange som ugress, men har gjennom tidene hatt stor nytteverdi for befolkningen. Tidligere var det vanlig å bruke plantens stengler til å lage tekstilfibre. Den ble også brukt som medisin mot anemi på grunn av dens høye innhold av jern, og i moderne tid er det også blitt oppdaget at planten inneholder høye verdier av antioksidanter. Derfor ser man en økende bruk av planten i matretter som for eksempel brenneslesuppe. (Carlberg, 1981; Skalozubova & Reshetova, 2013)

Grønnskål (*Brassica oleracea var. sabellica*) er en form av bladkål som har meget krusete blader, og kommer fra korsblomstfamilien (Sjøborg, 2020). Planten stammer opprinnelig fra Midtøsten, men i dag dyrkes den i store deler av verden. Grønnskål omtales ofte som supermat. Begrepet brukes om matvarer som inneholder høye konsentrasjoner av næringsstoffer og som generelt assosieres med reduserende risiko for kreft og hjerte- og karsykdommer (Migliozzi et al., 2015). Bladene har svært høy næringsverdi, og inneholder blant annet ca. 169mg askorbinsyre og 4.7mg vitamin A per 100g grønnskål (Sjøborg, 2020).

I tillegg til at bladgrønnsaker inneholder antioksidanter, har flere ofte en sterk grønnfarge. For grønnsaker er farge en av parameterne som definerer direkte kvalitet. Farge vil ofte kunne si noe om grønnsakens ferskhetsgrad, smak og næringsverdi. Fargen skyldes fire hovedgrupper av pigmenter: betalain, flavonoider, karotenoider og klorofyll. Betalain er

røde eller gule, flavonoider er fargeløse eller gule, karotenoider er gule, oransje eller røde og klorofyll er grønne. For grønne bladgrønnsaker er det klorofyll som er det dominerende pigmentet, og er det som gir spinat, brennesle og grønnkål sin grønne farge. Karotenoider vil i grønne grønnsaker bli maskert av den grønne fargen til klorofyll. De to pigmentene finnes i cellene og vil i grønne bladgrønnsaker ligge sammen i klorofyll-karotenoid-proteinkomplekser. I grønne bladgrønnsaker er betakaroten den viktigste karotenoiden, og spinat og grønnkål har et høyt innhold av dette pigmentet. (MacDougall, 2002, s. 179-185)

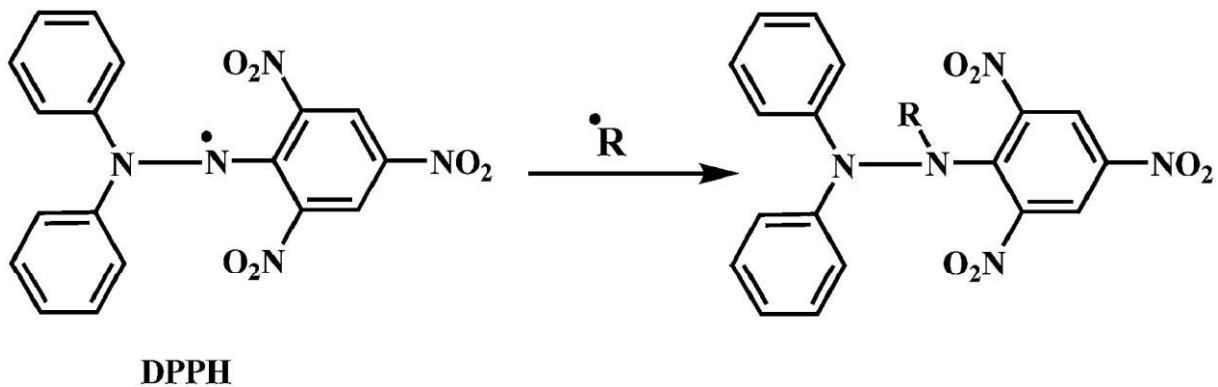
Forskjellig prosessering, som for eksempel tørking og blansjering, av grønnsaker kan ha en negativ innvirkning på innholdet av antioksidanter. Frysetørkede grønnsaker holder bedre på antioksidantinnholdet enn lufttørkede grønnsaker. Frysetørking er en tørkemethode som reduserer vannaktiviteten uten å varme maten, noe som resulterer i minimum ødeleggelse av næringsinnhold og sensoriske kvaliteter. De fleste tørkemethoder fjerner vann fra produktet gjennom fordamping ved bruk av varme, og det er her frysetørking skiller seg fra resten. I tillegg til prosessering kan også lagringstid ha innvirkning på innholdet av antioksidanter i et produkt. (Korus, 2012) Temperaturen under en eventuell lufttørking av grønnsaker vil også påvirke fenolinnholdet negativt ved tørking i temperaturer over 75°C. (Fellows, 2009, s. 687-688; Oliveira et al., 2016)

2.5 Analyser

2.5.1 DPPH-test

Under en DPPH-test reagerer antioksidantene med DPPH som er et svært sterkt fiolett farget og vedvarende radikal. DPPH (2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl) er et stabilt fritt radikal sentrert rundt et nitrogenmolekyl, som kan brukes i bestemmelsen av antioksidantaktivitet (Amorati & Valgimigli, 2015). Når DPPH-løsningen blandes med et antioksidantmolekyl, som kan donere et hydrogenatom, vil det skje en reduksjon, som fører til tap av den fiolette fargen (Gulcin, 2020). Figur 2.1 viser reduksjonen av DPPH. Reduksjonsevnen til DPPH-radikaler bestemmes av reduksjonen i absorbans ved 517nm (Dayan, 2008). En DPPH-test benyttes ofte på grunn av dens enkelhet, og at den gir en nyttig screening av antioksidantinnholdet i naturlige ekstrakter eller ukjente sammensetninger. Man bør være klar over at en

overestimering av antioksidantinnhold er sannsynlig da sterkt oksiderbare eller reduserbare forbindelser kan bli forvekslet for antioksidanter. (Amorati & Valgimigli, 2015)



Figur 2.1: Reduksjon av DPPH-radikal med et reduksjonsmiddel ($R\bullet$). (Nimse & Pal, 2015) CC BY 3.0

Fenolforbindelser, slik som antioksidanter, har et stort strukturelt mangfold og mange variasjoner i kjemisk sammensetning blant planteavledede stoffer. Fenolforbindelser er sekundære plantemetabolitter som er naturlig til stede i nesten alle plantematerialer, inkludert matvarer av vegetabilsk opprinnelse. Disse forbindelsene antas å være en integrert del av både mennesker og dyrs dietter, gjennom inntak av frukt og grønnsaker. De mest vanlige plantefenolforbindelsene inkluderer fenolsyrer, flavonoider, tanniner, lignaner og terpenener. Gjennomsnittlig inntak av fenolsyre i menneskelig diett har blitt rapportert å være i størrelsesorden 200mg per dag, avhengig av preferanser og diettvaner. Det siste fokuset av interesse for fenolsyrer stammer fra deres potensielle beskyttende rolle mot oksidative skadesykdommer slik som hjertesykdom, hjerneslag og kreft. (Gulcin, 2020)

Antioksidantaktiviteten til fenolsyrer og deres derivater avhenger av antall og plassering av hydroksylgrupper bundet til den aromatiske ringen, bindingen sted og gjensidig posisjon av hydroksylgrupper i den aromatiske ringen og typen substituent. Det er to hovedgrupper av fenolsyrer: hydroksybenzoesyrer og hydroksykanaminsyrer, hvor hydroksykanaminsyrer har vist seg å ha betydning høyere antioksidantaktivitet enn hydroksybenzoesyre. Dette skyldes bøyningen gjennom ringens dobbeltbindinger til $-\text{CH} = \text{CH} - \text{COOH}$ av kanelsyrestrukturen, som forbedrer evnen til å stabilisere frie radikaler. Tilstedeværelsen av $-\text{CH}_2 = \text{CH} - \text{COOH}$ -gruppe i kanelsyrer sørger for større antioksidantkapasitet enn $-\text{COOH}$ -gruppen i benzoesyre. Tilstedeværelsen av forskjellige substituent i fenolstrukturen endrer deres antioksidantegenskaper, spesielt deres hydrogenoverføringskapasitet. Generelt er usubstituert

fenol inaktiv som hydrogendonor og monofenol er en mindre effektiv antioksidant enn polyfenol. Innføringen av elektrondonerende grupper slik som hydroksylgruppe i orto- eller paraposisjon øker antioksidantaktiviteten til fenol eller fenolsyre. Antioksidantaktiviteten til et molekyl øker også når dets karbonylgruppe er skilt fra den aromatiske ringen. Så kanelsyrer er det mer effektive antioksidanter enn tilsvarende benzosyrer. (Gulcin, 2020)

2.5.2 TPC-test

En TPC (total phenolic content)-test er ikke en antioksidantmetode. I denne metoden blir totalt fenolinnhold i planter og matvaremateriale bestemt som gallinsyre eller en annen antatt fenolforbindelseekvivalent. Høyet fenolinnhold blir assosiert med høy antioksidantevne. Derfor er denne analysen en viktig parameter for bestemmelse av total antioksidantaktivitet. Analysen er mye brukt til evaluering av antioksidant ekstrakter, inkludert ekstrakter fra blant annet urter, krydder, frukt, frokostblandinger og belgfrukter. Denne analysen har flere negative sider inkludert reaksjonstid og følsomhet for pH og temperatur som medfører en del usikkerhet. (Gulcin, 2020)

Folin – Ciocalteu-analysen er en velkjent metode for å bestemme det totale fenolinnholdet. Denne metoden blir ofte brukt for bestemmelse av TPC i planter. Det grunnleggende prinsippet for metoden er avhengig av reaksjonen mellom FCR (Folin-Ciocalteu reagent) og et oksidasjonsmiddel med aminosyrer som resulterer i dannelsen av redusert molybdenblått proporsjonalt med konsentrasjonen av proteinet. Denne metoden er presis, sensitiv, og enkel. FCR inneholder ikke fenol. I stedet vil reagenset reagere med fenoler og ikke-fenolreduserende stoffer for å danne kromogener som kan oppdages spektrofotometrisk. Fargeutviklingen skyldes overføring av elektroner ved basisk pH som reduserer fosfotungstinsyre-komplekser for å danne kromogener hvor metallene har lavere valens. Generelt blir gallinsyre mye brukt som referansestandardforbindelse og resultatene er uttrykt som gallinsyreekvivalenter. Det skal understrekes at de blå kompleksene som dannes er uavhengig av strukturen til fenolforbindelser, og derfor utelukker muligheten for koordineringskomplekser dannet mellom metallet og fenolforbindelsene. (Gulcin, 2020)

Det er også kjent at det er lineære korrelasjoner mellom FCR-analysen og andre antioksidantanalyser som for eksempel DPPH. Disse sammenhengene bekrefter verdien av

FCR-reduserende kapasitet som vurdering av antioksidantkapasiteten til matvarer eller andre prøver. (Gulcin, 2020)

2.5.3 Askorbinsyre

Askorbinsyre, også kalt vitamin C, er en vannløselig antioksidant som finnes i høye konsentrasjoner i alle delene av plantecellen (UiO, 2011). Kjemisk sett er askorbinsyre en syre av et monosakkarid som har 6 C-atomer, som finnes i flere isomere former.

Askorbinsyre fungerer veldig godt som antioksidant, da bindingene ved andre og tredje C-atom er ustabile og dermed veksler fort mellom å binde oksygen eller en hydroksylgruppe. Dette gjør at askorbinsyre er med på å hindre harsking av fett, og dermed kan bidra med å øke holdbarheten på forskjellige matvarer. (Frankel, 2007, s. 5-6)

For å finne ut hvor mye askorbinsyre en matvare inneholder er det vanlig å gjennomføre en væsekromatografi. Dette er en analyse som brukes for å separere og identifisere kjemiske komponenter i en væske. Prøveløsning drives igjennom en kolonne under høyt trykk (10-400 Bar) ved hjelp av en pumpe som er tilknyttet reservoarer med væske. Denne væsken kalles mobilfasen fordi den er det mobile medium som prøveløsningen drives i. Kolonnen er fylt med partikler som kalles stasjonærfasen, som vekselvirker med de kjemiske komponentene som skal bestemmes, slik at forskjellige komponenter vil bruke forskjellig tid gjennom kolonnen mens mobilfasen pumpes gjennom. (Harris, 2010)

2.6 Sensorikk

Sensorikk handler om de menneskelige sansers evne til å oppfatte stimuli, enten gjennom smak, lukt, syn, berøring eller lyd. Sensorikk blir derfor brukt som en viktig målemetode som skaper bedre forståelse og mer treffsikkerhet i både forskning og produktutvikling. For å teste et produkt sensorisk tar man i bruk en sensorisk analyse. Det finnes tre hovedgrupper av sensoriske tester: forskjellstester, beskrivende tester og forbrukertester. (Sensorisk Studiegruppe, 2015, s. 78-79)

Forskjellstester brukes til å undersøke om det finnes noen sensorisk forskjell mellom prøver. Beskrivende tester brukes til å beskrive prøvens sensoriske profil. Beskrivende tester kalles også for kvantitative tester. Disse metodene er objektive og utføres av et trent panel. I

forskjellstester og beskrivende tester er det vanligst å bruke et laboratoriepanel. Dette er som regel utvalgte sensorisk trente personer, gjerne fra egen bedrift, som ikke er for sterkt knyttet til prøven som skal testes. Det kan også brukes et ekspertpanel, som er ekstra godt trente dommere med detaljert produksjonskunnskap. Forbrukertester er subjektive analyser og skal gi informasjon om hvilken prøve forbrukerne foretrekker. I forbrukertester skal dommerne ikke ha noen forkunnskaper, og være tilfeldig valgt innenfor en forbrukergruppe. (Sensorisk Studiegruppe, 2015)

2.6.1 Sensorisk forbrukertest

I dagens markedsorienterte samfunn er det viktig at forskingsprosjektet inkluderer forbrukerne, da det er nettopp disse som er som skal bruke produktene. Det vil derfor være en fordel å benytte seg av sensoriske analyser som kan gi informasjon om forbrukernes preferanser og aksept. En av måtene å gjøre dette på er ved å gjennomføre en aksepttest. (Sensorisk Studiegruppe, 2015, s. 118)

En aksepttest er en forbrukertest, der forbrukerne får smake på et og et produkt, og svare på spørsmål om grad av aksept. Med svarene man får i testen er det mulig å finne ut hvilken av prøvene som prefereres av forbrukerne. Det er vanligst å benytte seg av en 9-punkts hedonisk skala under en aksepttest. Denne skalaen har beskrivende ord på engelsk sammen med tallene, for å være sikker på at hvert tall betyr det samme for hver forbruker. Det er viktig å være oppmerksom på at svaret man får i en aksepttest vil være relativ, da bedømmelsen som gis av forbrukerne vil avhenge av det utvalget av prøver som inngår i testen. (Sensorisk Studiegruppe, 2015, s. 123-125)

For å gjennomføre en forbrukertest trengs det et stort antall utrente dommere, altså personer som ikke har mye erfaring innen sensorisk testing, og det er en fordel om mesteparten av forbrukerne er innenfor produktets målgruppe. Det er vanlig å bruke 50-100 forbrukere, da et større antall forbrukere vil gi et sikrere resultat (Sensorisk Studiegruppe, 2021). Hver dommer serveres et prøvesett hvor serveringsrekkefølgen av prøvene er trukket tilfeldig på forhånd. (Sensorisk Studiegruppe, 2015, s. 47)

Alle forbrukerne får utdelt et bedømmelsesskjema slik sett i vedlegg 1. Skjemaet skal inneholde tydelig, kortfattet og riktig informasjon om hvordan testen skal gjennomføres og

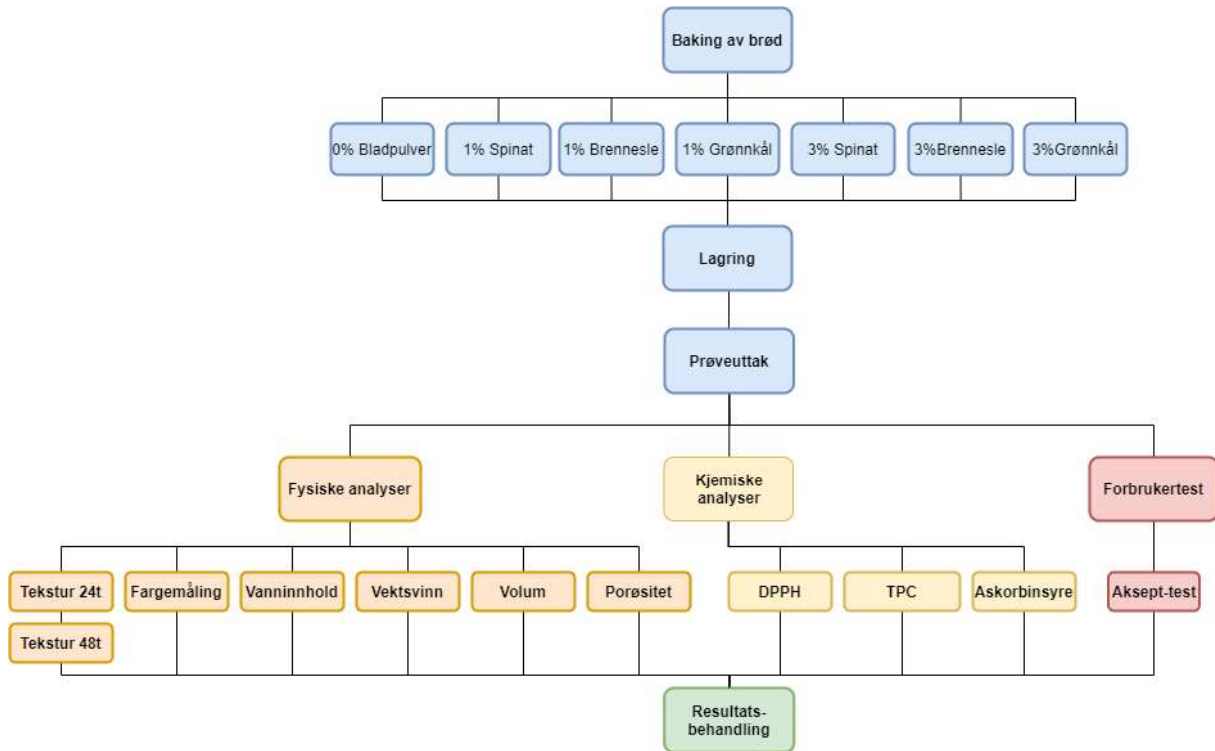
hva som skal svares på. Ingen av forbrukerne må kunne misforstå eller tolke gjennomføringen av testen feil (Waldenstrøm, 2018). Det er viktig at kodene og rekkefølgen på prøvene oppgitt på bedømmelseskjema, stemmer overens med serveringsrekkefølgen til dommeren (Sensorisk Studiegruppe, 2015, s. 91).

Under enhver sensorisk analyse er det viktig å ha en panelleder. En panelleders hovedoppgaver er å gjennomføre smakstester, rekruttere og trene dommere (Bejerholm, 2018). Panellederen kan ikke selv delta som dommer i en smakstest de selv er panelleder i. En panelleder sitter på mye teoretisk kunnskap om både sensorisk analyse og testmetoder, og fungerer som et bindeledd mellom forbrukerne og de som avholder testen. Under en sensorisk test vil en panelleder være til stede og forklare forbrukerne på forhånd hva som skal gjøres, samt bistå med eventuelle spørsmål fra forbrukerne. Det er også panelleders jobb å kontakte forbrukerne på forhånd og kalle inn til en test. (Sensorisk Studiegruppe, 2015, s. 59-61)

En viktig del av forbrukertesten er prøveprepareringen. Alle prøvene bør prepareres med samme type utstyr, og det er viktig at prøvene har samme størrelse og form. Beholderne som benyttes bør være godkjent for bruk i sensoriske analyser, og ikke avgir noen form for uønsket lukt eller smak. Utstyr og redskaper som vaskes skal være rene uten noen såperester da dette kan avgi lukt og smak til prøvene. Det er også viktig at det sørges for at alle prøvene er av samme temperatur når de serveres. Skyllervannet bør alltid være romtemperert, da for varmt eller kaldt vann kan forstyrre smaksansene mellom prøvene. (Sensorisk Studiegruppe, 2015, s. 63-64)

3 Materialer og metoder

Arbeidet ble utført i henhold til flytskjemaet i figur 3.1.



Figur 3.1: Flytskjema over arbeidet og analysene i oppgaven.

3.1 Tilberedning av brød

Bladpulver som ble benyttet til brødbakingen var spinatpulver, brenneslepulver og grønnkålpulver. De ble tilsatt i konsentrasjoner på 1% og 3%, i tillegg til et kontrollbrød med 0% bladpulver. Resterende ingredienser ble tilsatt i samme mengde i de forskjellige variantene. Ingrediensliste finnes i tabell 3.1. Resept for brødene finnes i vedlegg 2 tabell 1. Brødene ble laget med rismel/maismel/potetmel i et forhold på 1/0.5/0.5. Det ble laget 7 batcher hvor batch 1 var kontrollbrødet uten tilsetning av bladpulver, batch 2-4 ble tilsatt 1% bladpulver og batch 5-7 ble tilsatt 3% bladpulver av henholdsvis spinatpulver, brenneslepulver og grønnkålpulver.

Tabell 3.1: Oversikt over ingredienser brukt til brødbakingen.

Ingredienser	Produsent
Rismel	Det Glutenfrie verksted
Maismel	Det Glutenfrie verksted
Potetmel	Hoff
Salt	Jozo
Gjær	Idun
Xantangummi	SunnRask
Spinatpulver	SunnRask
Brenneslepulver	Dragon superfoods
Grønnskålpulver	SunnRask

De tørre ingrediensene ble først mikset i en Kenwood kjøkkenmaskin med en K-krok på hastighet 1 i 30 sekunder. Videre ble vannet tilsatt og røren ble mikset på hastighet 1 i 2 minutter. Bollen ble skrapet med en slikkepott før røren ble mikset på hastighet 2 i 5 minutter, og deretter satt til side for å hvile i ytterligere 5 minutter. Røren til hver brødvariant ble veid til omtrent 250g sammen med aluminiumsformer (15x10x5.5cm) og vekta notert ned. Det ble laget tre brød per røre. Formene med røren ble plassert til heving i klimaskap ved 35°C i 40 minutter med en relativ luftfuktighet på 80%. Etter hevingen ble brødene stekt ved 211°C i 25 minutter i en konveksjonsovn. Brødene ble satt til avkjøling i 1 time og 45 minutter, før de ble veid og deretter pakket i vakuumposer og forseglet med en vakuumpakkemaskin. Deretter ble de lagret mørkt og i romtemperatur for videre analyser.

3.2 Fysiske analyser

3.2.1 Tekstur

Brødernes tekstur ble målt ved hjelp av Texture Analyser TA-XT2, både 24 timer og 48 timer etter steking. Hver brødprøve ble skåret i 4-6 terninger på ca. 2.5cm³, uten toppskorpe. En probe ble senket ned på hver terning, hvor "springiness" (spenstighet) og "hardness" (hardhet) ble målt ved hjelp av programmet ExponentLite. Resultatene ble overført til Microsoft Excel for statistiske analyser.

3.2.2 Farge

Bilder av brødene for farge- og porøsitetsanalyser ble tatt ved hjelp av DigiEye, en type kameraenhet med lyskammer, og iPhone SE. Det ble tatt bilder av hele brødet først med DigiEye, men deretter iPhone SE etter en feil med programmet som oppstod etter at billedtakingen av kontrollbrødet var utført. Bilder av tre skiver av hvert brød på skala-ark for porøsitets- og krummefargeanalyser ble tatt eksklusivt i DigiEye. Bildene fra lyskammeret ble tatt i .tif bildeformat, men for fargeanalyse ble de konvertert til .jpeg-format ved hjelp av programmet Paint for å minske filstørrelsen til et akseptabelt nivå. Bildene fra iPhone SE ble tatt i .jpeg-format. For å finne RGB-verdiene ble det benyttet nettsiden image-color.com, hvor det ble tatt gjennomsnittsfarge med en radius på 15 piksler av hvert brød og hver skive. RGB-verdiene ble omgjort til $L^*a^*b^*$ verdier ved hjelp av nettsiden colormine.org.

3.2.3 Vanninnhold

Vanninnholdet til brødet ble målt ved å tørke terningene fra teksturanalysen. Vekten til en aluminiumsskål ble veid, notert og tarert, før 40-50g brødprøve ble revet til mindre biter og veid i skålen. Dette ble gjentatt for alle syv prøvene. Etter veiing ble prøvene plassert i et tørkeskap over natten, og deretter ble det gjort måling av både skål og prøve 24 timer senere. Vekta av brødprøven ble funnet ved å trekke ifra veid aluminiumsskål fra dagen før. Vanninnholdet ble regnet ut fra vektforskjellen mellom brødprøven før og etter tørking.

3.2.4 Vektsvinn

Veksvinnet ble målt etter avkjølingen på 1 time og 45 minutter. Aluminiumsformene ble veid med og uten brød, og vektene ble notert ned. Vekten til aluminiumsformene ble trukket fra vekten til røra før steking og brødene etter steking. Deretter ble vektsvinnet regnet ut fra vektforskjellen før og etter steking.

3.2.5 Volum

Brødernes volum ble målt ved hjelp av "Seed displacement"-metoden. Metoden ble utført ved å helle frø av durumhvete i et to-liters målebeger til en gitt linje, og deretter ble frøenes volum målt ved hjelp av målesylindere (4x500ml). En liten mengde frø ble plassert i bunnen

av målebegeret, før brødprøven ble plassert oppå og deretter dekt med frø til samme gitte volumlinje. Brødet volum tilsvarte volumet av frø som ble til overs i målesylindrene.

3.2.6 Porøsitet

Til porøsitetsanalyse ble bildefilene i .tif-format av brødsnivene fra fargeanalysen analysert i programmet ImageJ. Bildene ble manipulert til svart-hvitt binære bilder. Skala-arket ble brukt for å måle hvor mange centimeter hver pixel var, og deretter bestemme arealet av et bestemt område i en brødsnive. Arealet av området på brødet ble målt, og deretter ble porene til samme området også målt hjelp av programmet. Graden av porøsitet ble deretter bestemt ved hjelp av Microsoft Excel.

3.3 Kjemiske analyser

Tabell 3.2: Oversikt over kjemikalier brukt til de kjemiske analysene.

Kjemikalie	Produsent
Folin-reagent ($C_{10}H_5NaO_5S$)	VWR, VWR International AS, Norway
Gallinsyre ($C_7H_6O_5$)	Merck, Merck Life Science AS, Norway
Natriumkarbonat (Na_2CO_3)	Sigma Aldrich, Merck Life Science AS, Norway
DPPH ($C_{18}H_{12}N_5O_6$)	Sigma Aldrich, Merck Life Science AS, Norway
Metanol (CH_3OH)	VWR, VWR International AS, Norway
Metaphosphoric syre (HPO_3)	VWR, VWR International AS, Norway
Kaliumdihydrogenfosfat (KH_2PO_4)	VWR, VWR International AS, Norway

3.3.1 Forberedelser til analysene

Tabell 3.2 viser oversikt over kjemikaliene brukt til de kjemiske analysene. Før de kjemiske analysene ble gjennomført måtte prøvene klargjøres på en måte som ville gi mest mulige nøyaktige svar. Prøvene ble derfor frysetørket, kvernet, homogenisert og sentrifugert før selve analysene kunne starte. Denne prosessen vises i flytskjema i vedlegg 3 figur 1.

Til frysetørkingen ble 60-70g av hvert brød revet i mindre biter, og lagt i fryseren over natta. Deretter ble de plassert i frysetørkeren, hvor de lå i 3 døgn. Da bitene var ferdig tørket, ble de kvernet med en elektrisk kaffekvern til det ikke var noen store smuler igjen.

Før analysene for TPC og antioksidantaktivitet, ble det veid opp 2g av prøvene. Disse ble tilført 10mL av en metanolløsning (8:2), før de ble homogenisert i 1.5 minutter. Prøvene ble deretter overført til 15mL rør, og det ble brukt 2mL av metanol-vannløsningen til å skylle ut restene. Flytskjemaene for disse analysene finnes i vedlegg 3 figur 2.

3.3.2 DPPH

0.7mL av prøvemateriale ble tilført 2.8mL av DPPH-metanolløsning (0.1mM). Blandingen ble mikset med en vortexmikser, og deretter satt på en mørk plass i 30 minutter for å forhindre lysoksidasjon. Etter 30 minutter ble prøvene målt med spektrofotometer ved 514nm, mot en blank prøve med metanol.

Antioksidantaktivitet ble uttrykt som prosentandelen av uttømming av DPPH, med følgende formel:

$$\text{Radikal renseaktivitet (\%)} = \frac{\text{Absorbans blankprøve} - \text{Absorbans prøve}}{\text{Absorbans blankprøve}} \times 100$$

3.3.3 TPC

0.1mL prøvemateriale ble overført til et nytt prøverør, deretter ble 0.1mL H₂O og 0.4mL folinløsning (1:5 avionisert vann) pipettert inn i det samme prøverøret. Etter 3 minutter ble 2mL 10% Na₂CO₃ tilført, og prøvene ble mikset med en vortexmikser. Prøvene ble plassert på et mørkt sted i 30 minutter, og deretter ble absorbansen målt spektrofotometrisk med en bølgelengde på 720nm. Resultatene ble uttrykt som mg gallinsyrekvivalenter (GAE) per 100 g tørrvekt basert på en standardkurve av gallinsyre.

3.3.4 Askorbinsyre

Når det skulle analyseres for askorbinsyre ble 500mg av prøvene blandet med 10mL av 4% metafosforsyre i 15mL rør. Deretter ble prøvene homogenisert i 1 minutt.

Prøvene ble satt i en sentrifuge i 10 minutter. Etter sentrifugeringen hadde væsken skilt seg fra tørrstoffet i prøven. Væsken fra alle prøvene ble overført til nye prøverør, og denne ekstrakten ble brukt videre som prøvemateriale for de kjemiske analysene. Under klargjøringen av prøvene til askorbinsyreanalysen ble prøverørene rotert på et mørkt sted i 20 minutter før de ble sentrifugert. Etter sentrifugeringen ble prøvene sprøytet opp med et sprøytefilter for å unngå tørrstoff i prøven, før de ble innsprøytet i HPLC-hetteglass (High-performance liquid chromatography). Disse glassene ble satt inn i en HPLC-maskin som gjennomførte en væskekromatografi.

Analysene for innhold av askorbinsyre i ekstraktene (20µL injeksjonsvolum) ble utført på en Agilent 1100-serie HPLC-system (Agilent Technologies). Separasjon ble utført ved romtemperatur på en C18 kolonne med mobil fase KH₂PO₄ (0.2M) justert til pH 2.4. Retensjonstiden for askorbinsyre var 4.37 minutter, med en strøm på 0.800ml/min og injeksjonsintervallet var 7 minutter. Videre ble askorbinsyren påvist ved 254nm spektrofotometrisk.

3.4 Forbrukertest

Syv nye brød bakt med samme metode som tidligere ble benyttet i en forbrukertest. Det ble utført en aksepttest for å finne ut brødernes grad av aksept hos forbrukere. Testen ble gjennomført 24 timer etter bakingen på sensorikklaboratoriet på NTNU Kalvskinnets i Trondheim. Her ble 28 utrente forbrukere hentet inn for å bedømme de forskjellige brødene. Alle forbrukerne ble informert om at de skulle evaluere glutenfritt brød. 14 av forbrukerne smakte på kontrollbrødet og brød 2-4. De resterende 14 forbrukerne smakte på kontrollbrødet og brød 5-7.

Dagen før den sensoriske testen ble det laget serveringsplan og bedømmelsesskjema, og vann ble satt ut for temperering. Det ble laget to serveringsplaner for testing av to forskjellige grupper. Gruppe 1 testet brød tilsatt 1% bladpulver, mens gruppe 2 testet brød tilsatt 3% bladpulver. Serveringsplanene bestod av fire ulike tre-sifrede koder som ble satt

opp i forskjellige rekkefølger. Rekkefølgen for kodene ble trukket tilfeldig, hvor gruppe 1 hadde kodene 514, 925, 638 og 742 for henholdsvis kontrollbrødet, 1% spinatpulver, 1% brenneslepulver og 1% grønnkålpulver. Kontrollbrødet, 3% spinatpulver, 3% brenneslepulver og 3% grønnkålpulver fikk henholdsvis kodene 915, 258, 763 og 571 i gruppe 2.

På testdagen ble brødene skjært i skiver og delt i to slik at hver prøve veide 15g. Brødene ble skjært ti minutter før hver test for å forhindre inntørking. Prøvene ble plassert på hvite skåler merket med tilsvarende koder fra serveringsplanen. Alle forbrukerne fikk utdelt fire prøver i rekkefølge etter serveringsplanen, samt et bedømmelsesskjema vist i vedlegg 1. De ble bedt om å vurdere prøvene etter grad av liking eller misliking på en ni-punkts hedonisk skala (1: misliker ekstremt, 5: verken liker eller ikke liker, 9: liker ekstremt).

3.5 Databehandling og statistisk analyse

Etter gjennomføring av fysiske og kjemiske analyser og aksepttesten ble rådataene registrert i Microsoft Excel og videre analysert ved bruk av programvaren Minitab. I Minitab ble gjennomsnitt funnet, sammenlignet og evaluert ved hjelp av enveis variansanalyse (ANOVA), etterfulgt av Tukeys signifikante forskjeller post hoc-test. En statistisk forskjell ved $p < 0.05$ ble ansett som signifikant.

4 Resultater og vurdering

4.1 Resultat og vurdering av de fysiske analysene

4.1.1 Tekstur

Til teksturmålingene sett i tabell 4.1 ble det fokusert på hardhet (hardness) og spenstighet (springiness). Det ble foretatt to målinger, en 24 timer og en 48 timer etter steking. Prøvene med 3% spinat og 3% brennesle tilsatt oppnådde signifikant høyest hardhet på henholdsvis 1362.95g og 1392.3g. I forsøk gjort av Galla et al. (2017) og Adhikari et al. (2016) resulterte tilsetning av spinat- og brenneslepulver til økt protein- og fiberinnhold i sluttproduktet, som kan være årsaken til økt hardhet. Dette argumentet styrkes etter lignende funn av Kaack et al. (2006), som konkluderte med at økt innhold av uløselig fiber var en av grunnene til økt hardhet. Høy hardhet assosieres ofte med mindre ferske brød, så en tilsats av disse pulverne kan resultere i et produkt som oppfattes mindre ferskt (Cauvain & Young, 2007, s. 283).

Det var forventet at prøven med 3% grønnkål ville resultere i samme effekt som ovennevnte, men prøven oppnådde kun en hardhet på 862.1g som ikke er signifikant ulik kontrollen. Krupa-Kozak et al. (2021) observerte samme fenomen i sine brød beriket med brokkolipulver, som viser til egenskaper i brokkoliprotein som resulterer i god fordeling og størrelser av luftbobler og porer i krummestrukturen til glutenfritt brød. I og med at både brokkoli og grønnkål tilhører korsblomstfamilien, vil dette være en mulig forklaring for den resulterende hardheten. Dette gjenspeiles også i grønnkålprøvenes porøsitet og volum fra våre egne resultater.

En tilsats på 1% av brenneslepulver ga ingen signifikant forskjell, mens prøven med 1% spinat ga signifikant lavere hardhet. Dette kan være på grunn av et økt vanninnhold i spinatpulveret, som ble motvirket ved høyere tilsats pulver og derav økt protein- og fiberinnhold.

Etter dag 2 var alle prøvene signifikant ulike fra hverandre. Dette kan tyde på at tilsetninger av forskjellige typer bladpulvere vil gi ulik grad av økt hardhet over tid. Alle prøvene utenom spinat 3% hadde signifikant høyere hardhet enn kontrollprøven på dag 2. Det kan tyde på at tilsats av bladpulver øker forringelsesprosessen betraktelig, enten ved raskere overføring av

vann fra krummestrukturen til skorpen, eller ved å øke rekrystalliseringsraten av stivelsesmolekylene (Cauvain & Young, 2007, s. 283-284). Grønnkål 1% hadde den største økningen i hardhet på ca. 120% fra dag 1 til dag 2 med en verdi på 1861.8g, som også er hardere enn grønnkål 3% sin verdi på 1594.2g. Spinat 1% hadde også en høyere dag 2 verdi enn 3% tilsatsen på henholdsvis 1433g og 1210.2g. Som kan tyde på dårligere evne til å holde på vann ved kun 1% tilsats av bladpulver. Prøven tilsatt 3% brennesle hadde den signifikant høyeste hardheten hos alle prøvene, og størst signifikant forskjell fra kontrollprøven. Dette kan være på grunn av generelt høyere fiberinnhold hos brennesle enn hos grønnkål og spinat (Mattilsynet & Helsedirektoratet, 2021b).

Brød tilsatt 3% spinatpulver hadde en reduksjon i hardhet fra dag 1 til 2. Det kan være et resultat av en potensiell lagringsfeil for denne prøven, slik som et hull i posen eller ufullstendig forsegling, som har ført til opptak av vann fra miljøet. En annen forklaring kan være variasjoner i brødene brukt fra dag 1 og dag 2, da det ikke er tatt prøver fra samme brødstykke, men heller brød fra samme batch. Eventuelle temperaturforskjeller innad i ovnen kan ha ført til tørrere og hardere brød på prøven som lå lengst inn, og ufullstendig steking på prøven nærmest ovnsdøren.

Spenstigheten målt på dag 1 er signifikant like mellom alle prøvene, med forskjeller i spenstighetsraten på 0.01-0.02. Prøvene tilsatt 3% pulver hadde noe lavere verdier av spenstighet, med en forskjell i verdier fra kontrollen på 0.03-0.05. Sammenlagt kan de signifikant like resultatene tyde på at tilsetning av ekstra bladpulver ikke har betydning for spenstigheten etter lagring i korte perioder.

På dag 2 ble det observert en signifikant minking i spenstighet på alle prøvene utenom kontrollen, med fall i spenstighetsraten på 0.02 (grønnkål 3%) til 0.15 (brennesle 3%) fra dag 1. Brennesle 3% hadde lavere spenstighet enn de andre prøvene på begge dagene av målingene, men er kun signifikant lavere de andre prøveresultatene på dag 2 med en verdi på 0.76. Høy spenstighet er ofte assosiert med et ferskere og mer elastisk produkt, mens lav spenstighet tyder på et skjørt produkt som smuldrer mye under skjæring (Salmanowicz et al., 2012). Resultatene tyder på at ved å berike glutenfritt brød med bladpulver vil det oppnås et produkt med dårligere tekstur etter lagring. Tilsats av brenneslepulver ved 3% vil øke denne effekten betraktelig.

Tabell 4.1: Gjennomsnittsverdier for teksturmåling av hardhet og spenstighet med tilhørende standardavvik for glutenfrie brød med bladpulver. Verdier i samme linje som ikke deler samme bokstav er signifikant forskjellige ($p < 0.05$).

Bladpulver konsentrasjon							
Parametere	0 %	1% Spinat	1% Brennesle	1% Grønnskål	3% Spinat	3% Brennesle	3% Grønnskål
Tekstur 24 timer etter baking							
Hardhet (g)	918.59 ± 14.03 ^b	792.8 ± 40.6 ^c	933.1 ± 30.8 ^b	845.9 ± 1.99 ^{bc}	1362.95 ± 9.69 ^a	1392.3 ± 62.6 ^a	862.1 ± 21.7 ^{bc}
Spenstighet	0.96 ± 0.034 ^a	0.95 ± 0.032 ^a	0.95 ± 0.009 ^a	0.94 ± 0.01 ^a	0.93 ± 0.032 ^a	0.91 ± 0.014 ^a	0.93 ± 0.018 ^a
Tekstur 48 timer etter baking							
Hardhet (g)	1007.88 ± 1.61 ^f	1433 ± 43 ^d	1674.4 ± 109 ^c	1861.8 ± 39.2 ^b	1210.2 ± 42 ^e	2050.6 ± 22.5 ^a	1594.2 ± 57.5 ^c
Spenstighet	0.97 ± 0.034 ^a	0.90 ± 0.014 ^b	0.87 ± 0.019 ^b	0.89 ± 0.003 ^b	0.89 ± 0.012 ^b	0.76 ± 0.015 ^c	0.91 ± 0.019 ^b

4.1.2 Farge

Resultatene for fargemålingene av innsiden og skorpen til brødene er vist i tabell 4.2.

Tilsetningen av 0% bladpulver til 3% bladpulver reduserte lysheten (L^*) for innsiden betraktelig. Spinat reduserte lysheten (L^*) med 34%, brennesle reduserte lysheten med 44% og grønnkål reduserte lysheten med 19%. Dette kommer trolig av at det tilsatte bladpulveret er mørkt grønt.

Grønnheten ($-a^*$) på innsiden av brødene øker generelt sett ved tilsetting av bladpulver. Spinat 1% og 3% er signifikant like i grønnhet, og 3.4 ganger grønnere enn kontrollbrødet. Grønnkål 1% og 3% er signifikant like i grønnhet og 1.7 ganger mer grønn enn kontrollbrødet. 1% brennesle er 2 ganger så grønn som kontrollbrødet. 3% brennesle derimot viser seg å være signifikant lik kontrollbrødet i grønnhet, til tross for at det er tilsatt en større andel bladpulver. Resultatene viser også at 3% brennesle er det mørkeste brødet og at det i stedet for å bli oppfattet som grønt kan ha blitt oppfattet som mørkt. Videre viser resultatene at det er liten forskjell på å tilsette 1% og 3% bladpulver med tanke på grønnfarge. Ifølge MacDougall (2002) er klorofyll relativt ustabil i grønne grønnsaker som blir utsatt for prosessering og er samtidig sensitiv for varme. Dette gjør at når brødene stekes vil varmen kunne gi redusert grønnfarge og derfor oppfattes ikke brødene med 3% bladpulver som grønnere enn 1%.

Gulheten (b^*) på innsiden av brødene synker generelt sett ved tilsetting av bladpulver. Unntak er 1% spinat og 3% grønnkål som er signifikant like kontrollbrødet i gulhet. 1% grønnkål er signifikant lik 3% grønnkål i gulhet, men 5.4% gulere enn kontrollbrødet. Tilsetningen av 0% bladpulver til 3% bladpulver reduserte gulheten for spinat og brennesle med henholdsvis 6% og 28%. Resultatene tyder på at spinat og grønnkål er de brødene som er nærmest gulfargen til kontrollbrødet og at brennesle har mest reduisering i gulfarge. Dette kan komme av at de har et høyt innhold av betakaroten som har en oransje farge (MacDougall, 2002, s. 180).

Til fargemålingene av skorpen ble det tatt bilder med både DigiEye og iPhone SE. DigiEye ble brukt til å ta bilder av kontrollbrødet og iPhone SE ble brukt til å ta bilder av brødene tilsatt bladpulver. Fargene på bildene kan ha blitt påvirket av at mengden lys og lyskilden var forskjellig (Delgado-Vargas & Paredes-López, 2003, s. 7). Måten fargen da har blitt oppfattet

på kan gjøre at det å sammenligne resultatene for brødene med bladpulver mot resultatene for kontrollbrødet blir feil.

Skorpene til alle brødene tilsatt bladpulver er signifikant like skorpen til kontrollbrødet i lyshet (L^*). Spinat 1% og 3% og brennesle 1% og 3% er signifikant like i lyshet. Tilsetningen av 1% grønnkål til 3% grønnkål reduserte lysheten for skorpen med 20%. Dette kan tyde på at tilsetning av bladpulver ikke påvirker lysheten til skorpa.

Rødheten (a^*) i skorpen øker betraktelig ved tilsetning av bladpulver med unntak av 3% spinat som er signifikant lik kontrollbrødet. 1% og 3% spinat er signifikant like i rødhets og 1% spinat er 2.3 ganger mer rød enn kontrollbrødet. Brennesle 1% og 3% er signifikant like i rødhets og 2 ganger rødere enn kontrollbrødet. Grønnkål 1% og 3% er signifikant like i rødhets, og 3.8 ganger så rød som kontrollbrødet.

Gulheten (b^*) i skorpen øker betraktelig ved tilsetning av bladpulver. Alle brødene tilsatt bladpulver er signifikant gulere enn kontrollbrødet. Spinat 1% og 3% er signifikant like i gulhet og 33% gulere enn kontrollbrødet. 1% brennesle er 9.7% gulere enn 3% brennesle og 1% og 3% brennesle er henholdsvis 40% og 27% gulere enn kontrollbrødet. Grønnkål 1% og 3% er signifikant like i gulhet og 45% gulere enn kontrollbrødet.

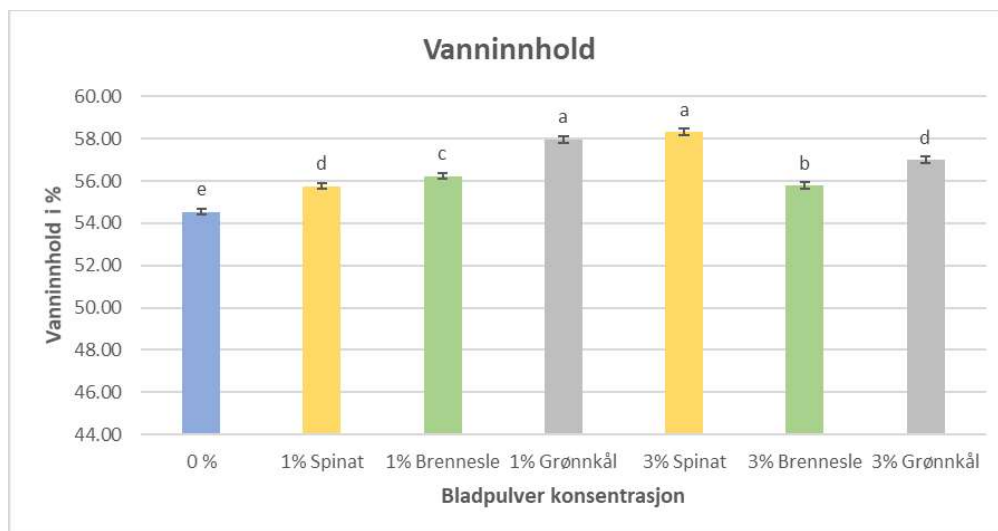
Tilsetning av bladpulver gir økt rød- og gulfarge, men økt mengde bladpulver tilsatt gir ikke mer økning i farge. Skorpefargen til brød kommer av en kjemisk reaksjon som kalles maillardreaksjon. Det skjer en reaksjon mellom reduserende sukker og aminosyrer. Derfor kan økningen i farge komme av at bladpulverne inneholder reduserende sukker eller aminosyrer som gir en sterkere maillardreaksjon under stekeprosessen. Sterkere maillardreaksjon vil gi flere bruningsprodukter og derfor brunere farge. (Aarnes, 2016)

Tabell 4.2: Gjennomsnittsverdier for fargemåling av krumme og skorpe med tilhørende standardavvik for glutenfritt brød med blødpulver. Verdier i samme linje som ikke deler samme bokstav er signifikant forskjellige ($p < 0.05$).

Blødpulver konsentrasjon							
Parametere	0 %	Spinat 1%	Brennesle 1%	Grønnkål 1%	Spinat 3%	Brennesle 3%	Grønnkål 3%
Farge krumme							
<i>L</i> *	59.51 ± 0.532 ^a	51.44 ± 0.031 ^c	47.38 ± 1.003 ^d	55.27 ± 0.767 ^b	39.22 ± 1.82 ^e	33.43 ± 1.058 ^f	48.33 ± 0.229 ^d
<i>a</i> *	-1.11 ± 0.291 ^a	-3.58 ± 0.226 ^d	-2.23 ± 0.08 ^c	-2.08 ± 0.09 ^c	-3.72 ± 0.177 ^d	-1.46 ± 0.109 ^{ab}	-1.9 ± 0.01 ^{bc}
<i>b</i> *	28.31 ± 0.505 ^a	28.12 ± 1.065 ^{ab}	22.91 ± 0.32 ^d	26.79 ± 0.25 ^{bc}	26.59 ± 0.326 ^c	20.45 ± 0.245 ^e	27.79 ± 0.022 ^{abc}
Farge skorpe							
<i>L</i> *	49.50 ± 0.694 ^{ab}	49.61 ± 3.56 ^{ab}	49.83 ± 3.06 ^{ab}	57.26 ± 3.98 ^a	45.12 ± 0.808 ^b	46.52 ± 4.92 ^b	45.78 ± 0.837 ^b
<i>a</i> *	3.00 ± 0.624 ^d	6.87 ± 1.274 ^{bc}	7.22 ± 1.238 ^{bc}	8.77 ± 1.267 ^{ab}	5.70 ± 0.844 ^{cd}	6.08 ± 0.728 ^{bc}	11.46 ± 0.556 ^a
<i>b</i> *	34.04 ± 0.261 ^e	47.96 ± 1.91 ^{bc}	47.54 ± 1.344 ^{bc}	51.53 ± 0.367 ^a	45.43 ± 1.024 ^{cd}	43.35 ± 1.135 ^d	49.49 ± 1.64 ^{ab}

4.1.3 Vanninnhold

Vanninnhold tester for innholdet vann i prøvene, ved å veie en gitt mengde prøve før og etter uttørking i tørkeskap.



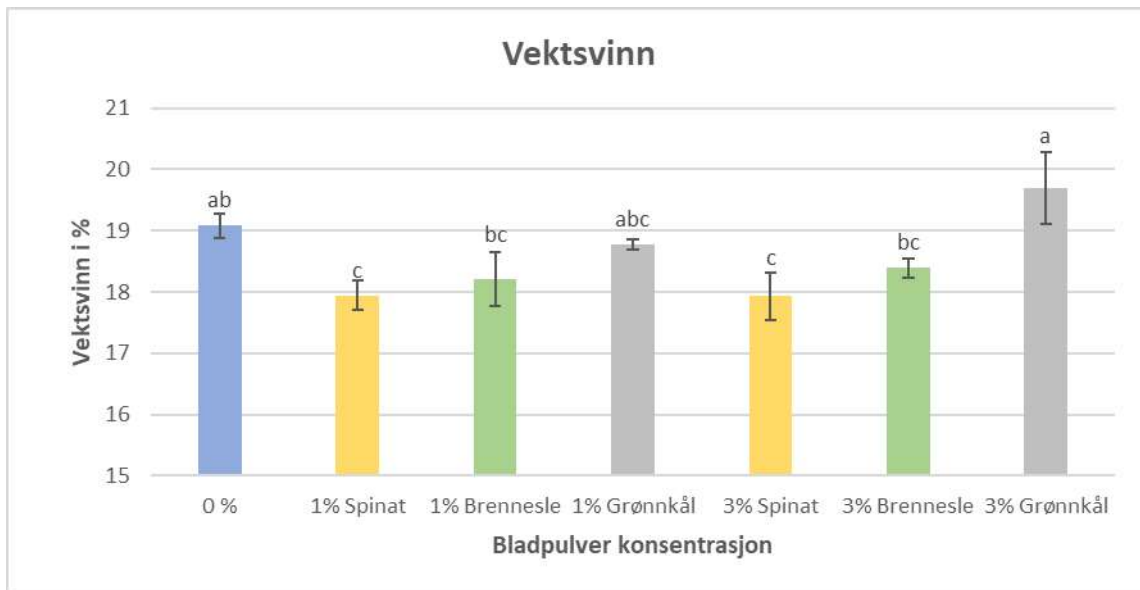
Figur 4.1: : Gjennomsnittlig resultat av vanninnhold med tilhørende standardavvik for glutenfrie brød tilsatt bladpulver. Forskjellig bokstav indikerer signifikant forskjell ($p < 0.05$).

Resultatene til brødernes fysiske egenskaper er satt opp i figur 4.1. Alle brødene tilsatt grønnsakspulver hadde et signifikant høyere vanninnhold enn kontrollbrødetts vanninnhold på 54.54%. Dette kan komme av et høyere innhold vannløselige fiber som har økt krummens kapasitet til å holde på vann. Dette samsvarer med resultater fra Sayed-Ahmad et al. (2018), som observerte et høyere vanninnhold i brød beriket med chiafrø.

Høyest vanninnhold var å finne hos brødene tilsatt 3% spinatpulver og 1% grønnkålpulver, med vanninnhold på henholdsvis 58.32% og 57.98%. Prøven tilsatt 3% spinat er også det eneste brødet hvor tilsatt av 3% pulver resulterer i et signifikant høyere vanninnhold enn tilsvarende brød tilsatt 1% pulver. Dette kan komme av økt vanninnhold i råmaterialet, og derfor et høyere vanninnhold ved høye konsentrasjoner pulver. Et forsøk gjort av Ataei Nukabadi et al. (2021) viser et lavere vanninnhold i prøver med et høyere innhold brenneslepulver, som forsterker påstanden om et høyere vanninnhold i spinatpulveret enn brennesle- og grønnkålpulverne.

4.1.4 Vektsvinn

Vektsvinnet, som vist i figur 4.2, ble regnet ut fra vekten til brødene før og etter ovnen.

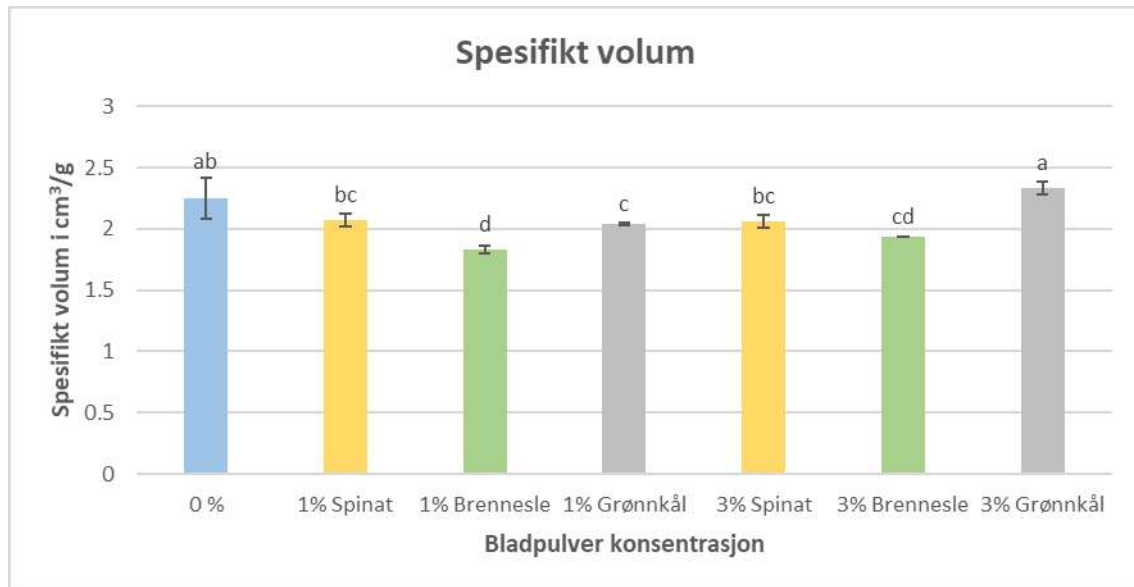


Figur 4.2: Gjennomsnittlig resultat av vektsvinn med tilhørende standardavvik for glutenfrie brød tilsatt bladpulver. Forskjellig bokstav indikerer signifikant forskjell ($p < 0.05$).

Det er små ubetydelige forskjeller i vektsvinn for de fleste brødene, utenom brødene tilsatt spinat. Spinatbrødene vektsvinn var signifikant lavere enn kontrollbrødet på henholdsvis 17.94% og 17.93% for 1% og 3% tilsatt pulver, kontra kontrollbrødets vektsvinn på 19,08%. En forklaring er at spinatpulveret mulig hadde et høyere vanninnhold i forhold til de andre pulverne, som derfor resulterte i et lavere vektsvinn på grunn av økt innhold vann i røra. Dette samsvarer med resultatene fra vanninnholdet, men må etterprøves på råmaterialene for å konkludere med denne påstanden.

4.1.5 Volum

Volumet av brødene ble testet ved hjelp av frøforskyvning, hvor antall frø gjenværende i målekoblene tilsvarte volumet til brødprøven slik sett i figur 4.3.



Figur 4.3: Gjennomsnittlig resultat av spesifikt volum med tilhørende standardavvik for glutenfrie brød tilsatt bladpulver. Forskjellig bokstav indikerer signifikant forskjell ($p < 0.05$).

Bortsett fra prøven tilsatt 3% grønnkål, hadde alle prøvene et lavere volum enn kontrollbrødet slik sett i figur 4.3. Denne forskjellen var signifikant for prøvene med brennesle og 1% grønnkål. Dette er mest sannsynlig forårsaket av svovelforbindelsene i grønnsakene, som kan ha en negativ effekt på gjæraktiviteten (Ranawana et al., 2016). Sulfoquinovose er blant annet en svovelforbindelse det finnes mye av i grønne grønnsaker (Preedy Victor & Watson Ronald, 2010). Grønnkål og andre grønnsaker i korsblomstfamilien er kjent for å ha et høyt innhold av svovel, slik også observert i studier gjort av Makowska et al. (2017).

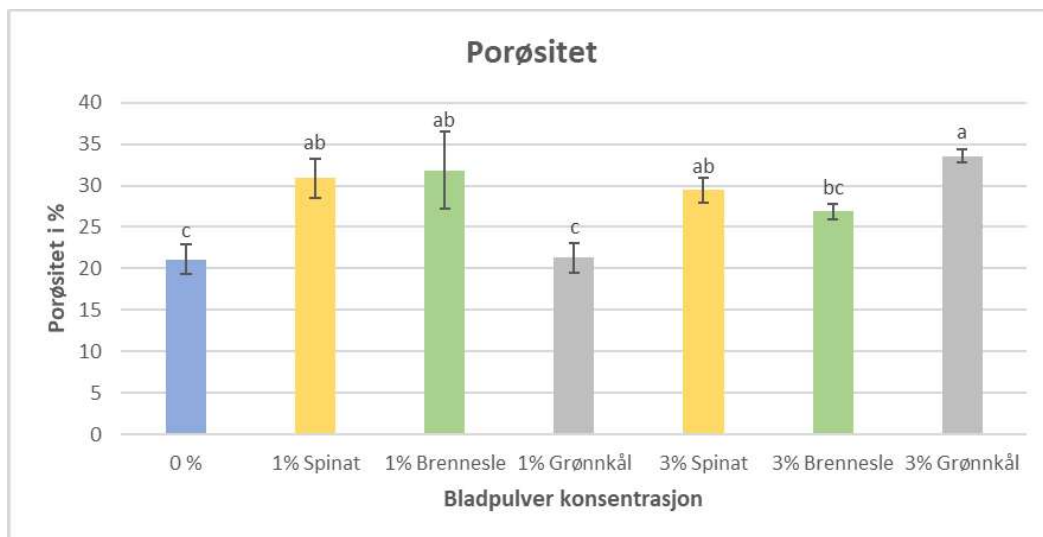
I vårt forsøk observerte vi derimot ingen signifikant endring i volum hos brødet med høyest innhold grønnkål. Dette kan være på grunn av et større tomrom mot skorpen som oppstod i alle brødene. Skorpen kan ha blitt bedre bevart i grønnkålbrødet under målingene, som ga en større grad av frøforskyvning enn hos brød hvor skorpen kollapset. Hu et al. (2004) bekrefter et redusert volum med tilsetninger av grønnsaker i korsblomstfamilien, mens en studie gjort av Krupa-Kozak et al. (2021) viser et økt volum i brød tilsatt brokkoli, som tilhører korsblomstfamilien. På grunn av et signifikant lavere volum ved tilsetning av 1%

grønnskål og et uendret volum ved 3% tilsetning, er det vanskelig å konkludere med kun én av påstandene. Videre testing vil derfor være nødvendig for å avkrefte eller bekrefte om tilsetninger av grønnskål ikke har en negativ effekt på volumet.

Sett bort ifra grønnskålpulverne, var det ingen signifikant forskjell i volum ved tilsetninger av forskjellige konsentrasjoner med samme pulver. Tilsats av brennesle ga signifikant lavest volum, mens spinatpulvernes volum var i noen tilfeller signifikant lik og i andre tilfeller signifikant ulik. Resultatene her stemmer overens med forsøket utført av Bourekoua et al. (2018b), hvor det forklares at økt fiberinnhold utgjør en minking av volum i brød tilsatt pulver rikt på fiber. Fiberinnholdet av spinat-, brennesle- og grønnskålpulverne er på henholdsvis 4.1%, 2.1%, og 3.8% (Mattilsynet & Helsedirektoratet, 2021a).

4.1.6 Porøsitet

Porøsiteten ble målt ved hjelp av dataprogrammet ImageJ, og viser prosentandelen porer i et gitt området av en brødkiveprøve som vist i figur 4.4. Det ble gjort tre repetisjoner av hver prøve.



Figur 4.4: Gjennomsnittlig resultat av porøsitet med tilhørende standardavvik i glutenfrie brød tilsatt bladpulver. Forskjellig bokstav indikerer signifikant forskjell ($p < 0.05$).

Prøvene tilsatt spinatpulver hadde en signifikant høyere porøsitet enn kontrollbrødet med 30.89% og 29.47% på henholdsvis 1% og 3% tilsetninger. I følge Rózyło et al. (2015) vil et økende vanninnhold også øke grad av porøsitet, som styrker påstanden om et høyt vanninnhold i disse pulverne. Brennesle 1% hadde også signifikant høyere porøsitet enn

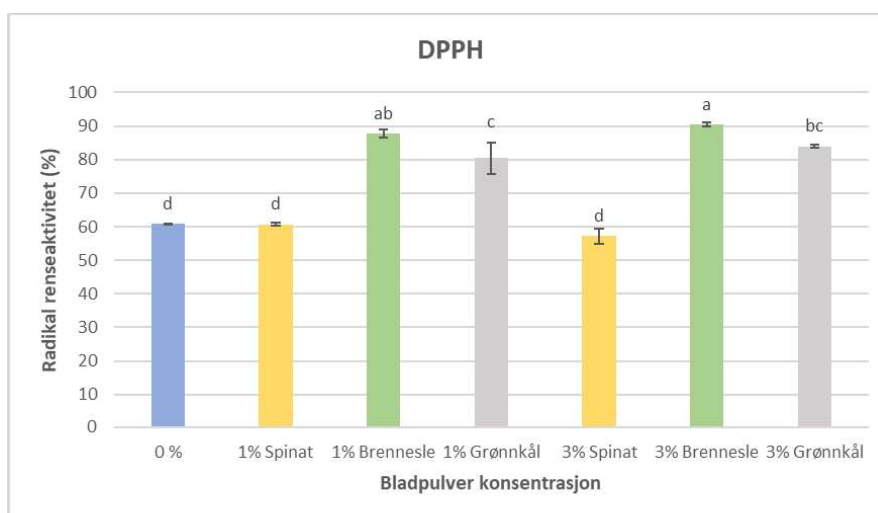
kontrollbrødet på 31.85%, mens brennesle 3% var til dels signifikant lik. Dette stemmer med observasjoner gjort av Golubkina et al. (2019), som forklarte den reduserte porøsiteten som følge av et økt innhold polyfenoler. Dette stemmer med resultatene fra TPC-testen, hvor brennesle hadde et høyere, men ikke signifikant ulikt, fenolinnhold fra kontrollen. Det tyder på at selv en ikke-signifikant økning i fenolinnhold kan resultere i en lavere porøsitet. Hos prøver tilsatt grønnkålpulver er det observert en motsatt effekt, hvor 3% tilsetning ga signifikant høyere porøsitet enn ved 1%. Dette stemmer med resultatene sett i volumprøvene, og ifølge Golubkina et al. (2019) vil man se mest reduksjon i porøsitet når galat og hydroksylatbenzol-grupper av polyfenoler er til stede. Grønnkål kan ha et lavere innhold av disse spesifikke polyfenolene enn brennesle, men mer testing må foretas for å trekke en endelig konklusjon for denne påstanden.

4.2 Resultat og vurdering av de kjemiske analysene

Alle de gjennomsnittlige resultatene fra de kjemiske analysene finnes i tabell 1 i vedlegg 4.

4.2.1 DPPH

DPPH-analysen er en kjemisk analyse som måler antioksidantaktiviteten i en prøve ved se på hvor stor del av DPPH-reagensen som oksideres. Oksidasjonen fører til at løsningen endrer farge, og dette måles med et spektrofotometer hvor mindre fargeendring observert betyr et større antioksidantinnhold i prøven.



Figur 4.5: Gjennomsnittlig resultat av målt antioksidantaktivitet med tilhørende standardavvik i glutenfrie brød tilsatt bladpulver. Forskjellig bokstav indikerer signifikant forskjell ($p < 0.05$).

Resultatene fra analysen vist i figur 4.5 viser at brødene som er tilsatt spinatpulver er i samme gruppe som kontrollbrødet. Dette betyr at spinatpulveret ikke har bidratt til noen signifikant økning i mengden antioksidanter. I figur 4.5 kan man se at det er brødet som er tilsatt 3% brenneslepulver som inneholder mest antioksidanter (gruppe a). Brødet tilsatt 1% brenneslepulver er signifikant lik brødet med 3% brenneslepulver (gruppe ab), men det er også signifikant likt brødet som er tilsatt 3% grønnkål (gruppe bc). Dette brødet er igjen signifikant likt med brødet som inneholder 1% grønnkål (gruppe c). Dette tyder på at det er litt mer antioksidanter i brenneslebrødene enn grønnkålbrødene og at de med 3% har mest, men denne forskjellen er nesten ikke merkbar (se vedlegg 4).

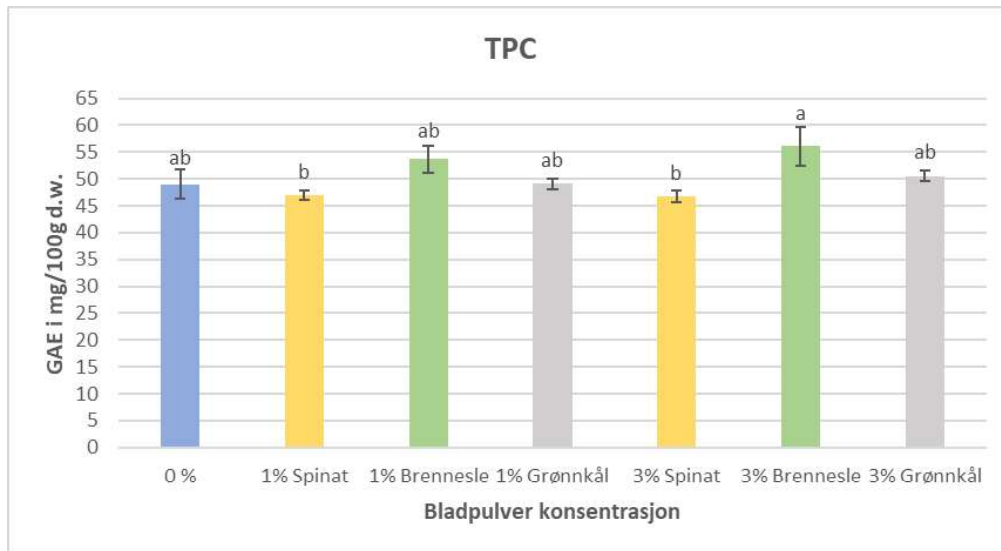
Det at det er en tydelig forskjell på mengden antioksidanter i brødene tilsatt spinatpulver i forhold til de som var tilsatt brennesle og grønnkål, kan skyldes at spinat ikke håndterer prosesseringen som skjer under omgjøringen til pulver like godt som brennesle og grønnkål. Det kan da være at spinat har større tap av antioksidanter under for eksempel tørkeprosessen. Det kan også være at det er benyttet forskjellig tørkeprosess på de forskjellige grønnsakspulverne. I et forsøk utført av Korus (2012) der lufttørket og frysetørket grønnkål hadde blitt lagret i 12 måneder, hadde de lufttørkede prøvene kun beholdt mellom 43-57% av den opprinnelige mengden askorbinsyre, mens de frysetørkede prøvene beholdt 50-65%. Før lagringen hadde de frysetørkede prøvene inneholdt 10% mer askorbinsyre enn de lufttørkede. Dette skyldes at den varme luften under lufttøringen fører til mer oksidasjon i prøvene (Korus, 2012).

Det er også mulig at spinat naturlig inneholder en betydelig mindre mengde antioksidanter enn brennesle og grønnkål, eller at spinatbrødet har tapt mer antioksidanter under steking enn de andre brødene (Krogh, 2016; Oliveira et al., 2016). For å minske denne usikkerheten kunne det blitt gjennomført en DPPH-analysene på pulverne for å se hvor mye antioksidanter de inneholdt før de ble tilsatt i brødene.

Siden rå spinat, brennesle og grønnkål inneholder en rikelig mengde antioksidanter, ble det på forhånd antatt at tilsetning av pulver fra disse bladgrønnsakene i glutenfritt brød ville resultere i en økning av antioksidanter (Preedy Victor & Watson Ronald, 2010; Skalozubova & Reshetova, 2013; Watada, 1982). Derimot indikerer resultatene fra dette prosjektet at dette ikke er tilfellet ved tilsetning av spinatpulver.

4.2.2 TPC

Målet med TPC-testen var å finne hvor høyt innhold av fenolforbindelser det var i brødene, da dette kan tyde på høyt innhold av antioksidanter.



Figur 4.6: Gjennomsnittlig resultat av målt totale fenolforbindelser med tilhørende standardavvik i glutenfrie brød tilsatt bladpulver. Forskjellig bokstav indikerer signifikant forskjell ($p < 0.05$).

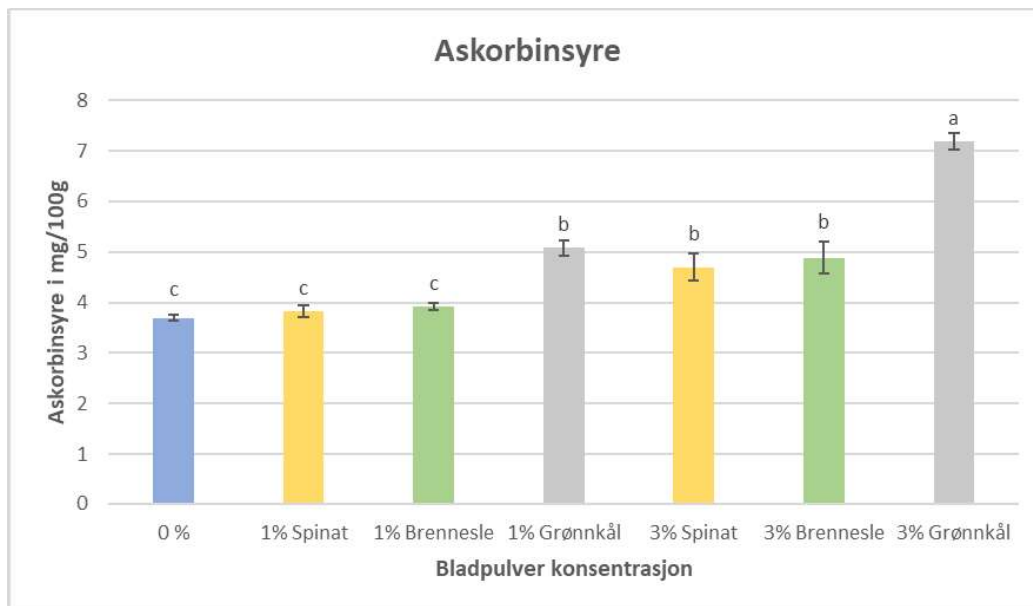
Figur 4.6 viser resultatene for TPC-testen. Resultatene viser ingen signifikant endring i fenolforbindelser i brød tilsatt bladpulver fra kontrollprøven. Derimot er brødene tilsatt spinatpulver og 3% brenneslepulver signifikant forskjellig. Tilførsel av 3% brenneslepulver ga større økning i fenolforbindelser i brødet hva tilførsel av spinatpulver ga. Dette tyder på at det er et høyere innhold av fenolforbindelser i brenneslepulver enn i spinatpulver. Et forsøk av Makowska et al. (2017) viste at knekkebrød tilsatt brennesle inneholdt en signifikant høyere verdi av fenolforbindelser, som forklarer økningen observert i resultatene. Krogh (2016) viser til et generelt høyere antioksidantinnhold i brennesle i forhold til spinat. Gulcin (2020) forklarer at forholdet mellom antioksidanter og innhold av fenolforbindelser ofte henger sammen, som støtter påstanden om et høyere innhold fenolforbindelser i brenneslepulveret kontra spinatpulveret.

En ikke-signifikant endring i pulverne kan være som følge av et tap av fenolforbindelser på grunn av lang lagringstid, eller at grønnsakene ble utsatt for høye temperaturer under tørkeprosessen ved tillaging av bladpulverne (Oliveira et al., 2016). Tabell 2 i vedlegg 5 viser at spinatpulveret går ut på dato i desember 2021, som tyder på at den har vært en lagret

lenger enn de andre pulverne. Det er også mulig at den høye temperaturen under steking av brødet har ført til at fenolinnholdet i bladpulverne minsket.

4.2.3 Askorbinsyre

Mens DPPH-analysen måler mengden av alle antioksidanter, måler askorbinsyretesten kun innhold denne spesifikke typen antioksidant.



Figur 4.7: Gjennomsnittlig resultat av målt askorbinsyreinnhold med tilhørende standardavvik i glutenfrie brød tilsatt bladpulver. Forskjellig bokstav indikerer signifikant forskjell ($p < 0.05$).

Resultatene i figur 4.7 viser at det er ingen signifikant forskjell mellom brød tilsatt 1% spinatpulver og 1% brenneslepulver fra kontrollbrødet. Resterende brød har signifikant mer askorbinsyre enn kontrollbrødet, hvor brødet med 3% grønncål har signifikant mest askorbinsyre. Resultatene fra DPPH-analysen viser at det er mest antioksidanter i brenneslebrødet, men askorbinsyreinnholdet til brenneslepulver er kun signifikant høyere enn kontrollbrødet ved tilsats av 3% pulver. Dette tyder på at en stor andel av de antioksidantene som er i prøvene tilsatt grønncålpulver er askorbinsyre. Dette samsvarer med resultatene til Watada (1982) hvor det også ble utført en HPLC-analyse for å finne innholdet av askorbinsyre i forskjellige frukter og grønnsaker.

4.3 Resultat og vurdering av forbrukertesten

Forbrukertest er en sensorisk test der forskjellige prøver eller produkter kan bli testet ut av en gruppe forbrukere. Forbrukertesten i dette prosjektet ble gjennomført som en aksepttest

der det ble brukt en hedonisk skala for å måle grad av aksept, hvor resultatene er vist i tabell 4.3.

Ut fra resultatene kan man se at brødet tilsatt 3% grønnkålpulver har signifikant høyest grad av aksept på krumme- og skorpefarge. Brødet tilsatt 3% spinatpulver ble signifikant minst akseptert på krummefarge. Dette kan skyldes den kraftige grønnfargen som vises i fargemålingen i tabell 4.2. De resterende brødene var ikke signifikant ulike kontrollbrødet på verken krummefarge eller skorpefarge.

Brødet med 1% grønnkålpulver hadde signifikant dårligst grad av aksept på spørsmålene om aroma og smak, i forhold til kontrollbrødet. Kontrollbrødet ble mest akseptert på disse punktene. I et forsøk av Makowska et al. (2017) observerte de at knekkebrød tilsatt grønnkål hadde en signifikant lavere grad av aksept på smak, da forbrukerne mente at det hadde en gressaktig smak. Dette kan skyldes et høyt innhold svovelforbindelser i grønnkål, og da spesielt dimetyl trisulfid som har en kålaktig aroma (Makowska et al., 2017). Grunnen til at smak og aroma ble mindre akseptert ved tilsetning av 1% grønnkålpulver, men ikke hadde en signifikant endring i aksept hos brød tilsatt 3% grønnkålpulver, kan være på grunn av dimetyl trisulfid. En gruppe kan ha mislikt denne egenskapen sterkere enn den andre, som har ført til en økt aksept ved høyere konsentrasjoner.

Alle brødene scoret signifikant likt på tekstur, men utfra tabell 4.3 kan man se at brødet med 3% grønnkålpulver hadde høyest grad av aksept. Resultatene fra teksturanalysen viste at brødet med 3% grønnkålpulver hadde mykest tekstur av brødene tilsatt 3% bladpulver. Et mykt brød blir ofte assosiert med ferskt brød, som kan begrunne den noe høyere akseptgraden av tekstur for dette brødet. Alle brødene helhetlige inntrykk hadde også samme signifikante grad av aksept, men brødet tilsatt 3% grønnkålpulver har igjen høyest grad av aksept. Siden dette brødet tidligere har fått høyest score på krummefarge, skorpefarge og tekstur kan dette være med på å øke dens helhetlige inntrykk.

Det at mange av brødene havner i samme signifikante gruppe kan skyldes at testen ble gjennomført med kun 28 dommere, og at man dermed ikke har nok resultater til å få et pålitelig statistisk svar på testen. Til vanlig utføres en forbrukertest med 50-100 dommere (Sensorisk Studiegroupe, 2021). På grunn av koronasituasjonen var det vanskelig å få tak i nok dommere grunnet steriliseringsrutinene som trengtes for å utføre forsøket. Antallet

dommere som kunne være i sensorikklaboratoriet samtidig var halvert, og tiden benyttet til rengjøring etter hver test var betydelig større enn under vanlige forhold.

I tillegg var det vanskelig å finne nok dommere som var i den ønskede forbrukergruppen, altså folk som lever med en glutenfri diett. Noe som kan ha vært med på å gi lavere grad av aksept på flere av resultatene på forbrukertesten da folk er vant til brød med gluten og derfor kan ha høyere krav til brødets egenskaper.

Tabell 4.3: Gjennomsnittsverdier for aksept med tilhørende standardavvik (skala fra 1-9 der 1 var liker veldig dårlig og 9 var liker veldig godt), 14 forbrukere testet brødene tilsatt 1% bladpulver mot kontrollbrødet og 14 forbrukere testet brødene tilsatt 3% bladpulver mot kontrollbrød hvor 14 dommere. Verdier i samme kolonne som ikke deler samme bokstav er signifikant forskjellige ($p < 0.05$).

	Sensorisk egenskap						Helhetlig inntrykk
	Farge krumme	Farge skorpe	Aroma	Tekstur	Smak		
0 %	5.71 ± 1.487 ^b	6.04 ± 1.319 ^b	5.93 ± 1.086 ^a	5.04 ± 1.621 ^a	5.5 ± 1.528 ^a	5.5 ± 1.374 ^a	
1% Spinat	5.93 ± 1.207 ^{ab}	5.86 ± 1.027 ^b	5.29 ± 1.204 ^{ab}	4.64 ± 1.865 ^a	4.57 ± 1.342 ^{ab}	4.86 ± 1.351 ^a	
1% Brennesle	5.64 ± 1.393 ^b	5.64 ± 1.336 ^b	4.93 ± 1.072 ^{ab}	5.14 ± 1.512 ^a	4.79 ± 1.188 ^{ab}	5 ± 1.24 ^a	
1% Grønnskål	6.64 ± 0.745 ^{ab}	6.57 ± 1.016 ^{ab}	4.5 ± 1.743 ^b	4.57 ± 1.95 ^a	3.93 ± 1.592 ^b	4.36 ± 1.598 ^a	
3% Spinat	3.93 ± 1.328 ^c	5.57 ± 1.697 ^b	4.57 ± 1.604 ^{ab}	4.71 ± 1.541 ^a	4.21 ± 1.762 ^{ab}	4.5 ± 1.605 ^a	
3% Brennesle	5.57 ± 1.742 ^b	6.64 ± 1.216 ^{ab}	5.5 ± 1.743 ^{ab}	4.86 ± 1.61 ^a	4.43 ± 1.453 ^{ab}	4.71 ± 1.267 ^a	
3% Grønnskål	7.29 ± 0.825 ^a	7.93 ± 0.917 ^a	5.64 ± 1.781 ^{ab}	6.21 ± 1.762 ^a	5.29 ± 1.858 ^{ab}	6 ± 1.797 ^a	

5 Konklusjon

Hovedmålet med denne bacheloroppgaven var undersøke på hvordan tilsetning av bladpulver i forskjellige konsentrasjoner til glutenfritt brød ville påvirke brødets antioksidantinnhold og fysiske egenskaper. Brødene ble testet mot hverandre i en forbrukertest for å undersøke grad av aksept.

Tilførselen av spinatpulver i glutenfritt brød fører til et brød med sterkere grønnfarge, høyere vanninnhold og lavere vektsvinn. Ved tilsetning av 1% pulver er brødet også mykere enn kontrollbrødet. Mengden antioksidanter skiller seg ikke på noen signifikant måte, annet enn en liten økning i askorbinsyre ved tilførsel av 3% spinatpulver. I tillegg er brødet tilsatt spinatpulver lite akseptert på forbrukertesten, som kan skyldes dens sterke grønnfarge på krummen. Dette tyder på at tilførsel av spinatpulver i glutenfritt brød vil være til liten nytte for berikelse av brød, men at tilsatt av spinatpulver i kombinasjon med andre pulvere kan være en idé, for å få utnyttet de få positive egenskapene tilsetningen medfører.

Tilførselen av brennesle var det som førte til høyest antioksidantaktivitet i brødene. Prøvene med brennesle har heller ikke skilt seg spesielt negativt eller positivt ut på forbrukertesten eller de fysiske analysene, utenom tekstur hvor tilsatt av pulveret senket spenstigheten betraktelig mer over tid sammenlignet med de andre pulvere. Sett bort ifra det kan tilførsel av brenneslepulver være et godt alternativ til å øke antioksidantaktiviteten, med minimal påvirkning av de fysiske og sensoriske kvalitetene.

De fysiske resultatene for brødene tilsatt grønnkålpulver viste en reduisering av hardhet og økning av porøsitet, med minst signifikant endring i farge fra kontrollbrødet.

Grønnkålbrødene fikk en signifikant økning i antioksidanter, hvor en stor andel av disse antioksidantene var askorbinsyre. I tillegg ble brødet som var tilsatt 3% grønnkål mest akseptert på krummefarge, skorpefarge, tekstur og helhetlig inntrykk, noe som stemmer overens med resultatene på de fysiske testene. Hvis man ønsker et brød med best mulig sensoriske egenskaper, god bevarelse av fysiske egenskaper og i tillegg har et økt innhold av antioksidanter kan det være gunstig å benytte seg av grønnkålpulver.

Det kan konkluderes med at man kan bruke både grønnkålpulver og brenneslepulver som tilsetning i glutenfritt brød for å øke antioksidantinnholdet. Brennesle vil gi høyest økning av innhold antioksidanter, og grønnkåltilsetning vil resultere i et høyt innhold av askorbinsyre i tillegg til høyest grad av aksept hos forbrukere. Spinatpulver øker ikke innholdet av antioksidanter, men kan brukes i kombinasjon med andre pulvere for å forbedre deres fysiske egenskaper innen vanninnhold, vektsvinn og redusert hardhet ved lave tilsetninger.

6 Referanseliste

- Adhikari, B. M., Bajracharya, A. & Shrestha, A. K. (2016). Comparison of nutritional properties of Stinging nettle (*Urtica dioica*) flour with wheat and barley flours. *Food Sci Nutr*, 4(1), 119-124. <https://doi.org/10.1002/fsn3.259>
- Al-Toma, A., Volta, U., Auricchio, R., Castillejo, G., Sanders, D. S., Cellier, C., Mulder, C. J. & Lundin, K. E. A. (2019). European Society for the Study of Coeliac Disease (ESsCD) guideline for coeliac disease and other gluten-related disorders. *United European Gastroenterol J*, 7(5), 583-613. <https://doi.org/10.1177/2050640619844125>
- Almvik, M. & Stenrød, M. ([u.å.]). *Analyser og kvantifisering av naturlige bioaktive stoffer*. Hentet 09.04. fra <https://www.nibio.no/tjenester/analyser-og-quantifisering-av-naturlige-bioaktive-stoffer>
- Amorati, R. & Valgimigli, L. (2015). Advantages and limitations of common testing methods for antioxidants. *Free Radic Res*, 49(5), 633-649. <https://doi.org/10.3109/10715762.2014.996146>
- Arendt, E. & Dal Bello, F. (2008). *Gluten-free cereal products and beverages* (1. utg.). Academic Press.
- Ataei Nukabadi, F., Hojjatoleslami, M. & Abbasi, H. (2021). Optimization of fortified sponge cake by nettle leaves and milk thistle seed powder using mixture design approach. *Food Sci Nutr*, 9(2), 757-771. <https://doi.org/10.1002/fsn3.2041>
- Bejerholm, M. D. A. C. (2018). Sensorikk i virksomheten. Hentet 20.11.19, fra <http://www.matindustrien.no/bransjenytt/sensorikk-i-virksomheten/>
- BeMiller, J. N. (2011). Pasting, paste, and gel properties of starch–hydrocolloid combinations. *Carbohydrate polymers*, 86(2), 386-423. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2011.05.064>
- Bourekoua, H., Różyło, R., Gawlik-Dziki, U., Benatallah, L., Zidoune, M. N. & Dziki, D. (2018a). Evaluation of physical, sensorial, and antioxidant properties of gluten-free bread enriched with Moringa Oleifera leaf powder. *European Food Research and Technology*, 244(2), 189-195. <https://doi.org/10.1007/s00217-017-2942-y>
- Bourekoua, H., Różyło, R., Gawlik-Dziki, U., Benatallah, L., Zidoune, M. N. & Dziki, D. (2018b). Pomegranate seed powder as a functional component of gluten-free bread (Physical, sensorial and antioxidant evaluation). *International journal of food science & technology*, 53(8), 1906-1913. <https://doi.org/10.1111/ijfs.13777>
- Butler, M. (2016). *Xanthan gum : applications and research studies*. Nova Science Publisher's, Incorporated.

- Capriles, V. D., dos Santos, F. G. & Arêas, J. A. G. (2016). Gluten-free breadmaking: Improving nutritional and bioactive compounds. *Journal of cereal science*, 67, 83-91.
<https://doi.org/10.1016/j.jcs.2015.08.005>
- Carena, M. J. (2009). *Cereals* (1. utg., Bd. 3). Springer New York : Imprint: Springer.
- Carlberg, B. (1981). *Nyttevekster i ny og gammel tid*. J. W. Cappelens forlag AS.
- Cauvain, S. P. & Young, L. S. (2007). *Technology of Breadmaking* (2. utg.). New York, NY: Springer. <https://doi.org/10.1007/0-387-38565-7>
- Conte, P., Del Caro, A., Balestra, F., Piga, A. & Fadda, C. (2018). Bee pollen as a functional ingredient in gluten-free bread: A physical-chemical, technological and sensory approach. *Food science & technology*, 90, 1-7.
<https://doi.org/10.1016/j.lwt.2017.12.002>
- Cruz, W. S. (2010). Hydrocolloids in Bakery Products. I(s. 51-66). Oxford, UK: Wiley-Blackwell.
- Dayan, N. (2008). In vitro Methods to Screen Materials for Anti-Aging Effects. I(s. 2-3). William Andrew Publishing.
- de la Hera, E., Talegón, M., Caballero, P. & Gómez, M. (2013). Influence of maize flour particle size on gluten-free breadmaking. *J Sci Food Agric*, 93(4), 924-932.
<https://doi.org/10.1002/jsfa.5826>
- Delgado-Vargas, F. & Paredes-López, O. (2003). *Natural colorants for food and nutraceutical uses*. CRC Press.
- Ditlefsen, A. (2020). Gluten. I *Store Norske Leksikon*. Hentet 3. mai 2021 fra <https://snl.no/gluten>
- Ditlefsen, A. & Svihus, B. (2020). Antioksidanter. I *Store norske leksikon*.
<https://snl.no/antioksidanter>
- Dizlek, H. & Ozer, M. S. (2016). The Impacts of Various Ratios of Different Hydrocolloids and Surfactants on Quality Characteristics of Corn Starch Based Gluten-free Bread. *Cereal research communications*, 44(2), 298-308. <https://doi.org/10.1556/0806.43.2015.049>
- Đurović, S., Vujanović, M., Radojković, M., Filipović, J., Filipović, V., Gašić, U., Tešić, Ž., Mašković, P. & Zeković, Z. (2020). The functional food production: Application of stinging nettle leaves and its extracts in the baking of a bread. *Food Chem*, 312.
<https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2019.126091>
- Fellows, P. (2009). *Food processing technology : principles and practice* (3. utg.). CRC Press.
- Fellstone, D. S. (2011). *Gluten: Properties, Modifications and Dietary Intolerance*. Hauppauge: Nova Science Publishers, Incorporated.

- Food and Agriculture Organization of the United States. (2018). *Crops/Regions/World List for Production Quantity of Spinach in 2018*. Hentet 04.05.21 fra <http://www.fao.org/faostat/en/#search/Spinach>
- Frankel, E. N. (2007). *Antioxidants in food and biology: facts and fiction* (Bd. 20). Oily Press.
- Galla, N. R., Pamidighantam, P. R., Karakala, B., Gurusiddaiah, M. R. & Akula, S. (2017). Nutritional, textural and sensory quality of biscuits supplemented with spinach (*Spinacia oleracea* L.). *International journal of gastronomy and food science*, 7, 20-26. <https://doi.org/10.1016/j.ijgfs.2016.12.003>
- Golubkina, N., Seredin, T., Kriachko, T. & Caruso, G. (2019). NUTRITIONAL FEATURES OF LEEK CULTIVARS AND EFFECT OF SELENIUM-ENRICHED LEAVES FROM GOLIATH VARIETY ON BREAD PHYSICAL, QUALITY AND ANTIOXIDANT ATTRIBUTES. *Italian journal of food science*, 31(2), 288-300.
- Guandalini, S. & Assiri, A. (2014). Celiac Disease: A Review. *JAMA Pediatr*, 168(3), 272-278. <https://doi.org/10.1001/jamapediatrics.2013.3858>
- Gulcin, İ. (2020). Antioxidants and antioxidant methods: an updated overview. *Arch Toxicol*, 94(3), 651-715. <https://doi.org/10.1007/s00204-020-02689-3>
- Gull, A. & Nayik, G. A. (2020). *Antioxidants in vegetables and nuts : properties and health benefits* (1. utg.). Springer.
- Hager, A.-S., Wolter, A., Jacob, F., Zannini, E. & Arendt, E. K. (2012). Nutritional properties and ultra-structure of commercial gluten free flours from different botanical sources compared to wheat flours. *Journal of cereal science*, 56(2), 239-247. <https://doi.org/10.1016/j.jcs.2012.06.005>
- Harris, D. C. (2010). *Quantitative chemical analysis*. W.H. Freeman and Co.
- Hjelmstad, R. (2007). Brennesle - vårens nyttigste grønnsak. Hentet 04.05.21, fra https://www.rolv.no/urtemedisin/artikler/urti_dio/art2.htm
- Horstmann, S. W., Belz, M. C. E., Heitmann, M., Zannini, E. & Arendt, E. K. (2016). Fundamental Study on the Impact of Gluten-Free Starches on the Quality of Gluten-Free Model Breads. *Foods*, 5(2), 30. <https://doi.org/10.3390/foods5020030>
- Hu, S.-H., Wang, J.-C., Kung, H.-F., Wang, J.-T., Lee, W.-L. & Yang, Y.-H. (2004). Antimicrobial Effect of Extracts of Cruciferous Vegetables. *Kaohsiung J Med Sci*, 20(12), 591-599. [https://doi.org/10.1016/S1607-551X\(09\)70264-5](https://doi.org/10.1016/S1607-551X(09)70264-5)
- Imeson, A. (1992). *Thickening and gelling agents for food*. Blackie.
- Karlsen, A. (2010). Har antioksidanter helseeffekt? Hentet 04.05.21, fra <https://www.bioingenioren.no/contentassets/a3d609234fd9488aaf1366decd3f9d86/har-antioksidanter-helseeffekter.pdf>

- Kim, M., Yun, Y. & Jeong, Y. (2015). Effects of corn, potato, and tapioca starches on the quality of gluten-free rice bread. *Food science and biotechnology*, 24(3), 913-919. <https://doi.org/10.1007/s10068-015-0118-8>
- King, J. A., Kaplan, G. G. & Godley, J. (2019). Experiences of coeliac disease in a changing gluten-free landscape. *J Hum Nutr Diet*, 32(1), 72-79. <https://doi.org/10.1111/jhn.12597>
- Korus, A. (2012). Effect of technological processing and preservation method on amino acid content and protein quality in kale (*Brassica oleracea* L. var. *acephala*) leaves. *J Sci Food Agric*, 92(3), 618-625. <https://doi.org/10.1002/jsfa.4619>
- Krogh, L. v. (2016). Brennesle er sunnere enn spinat. <https://bramat.no/forsiden/ekspertblogg/2194-brennesle-er-sunnere-enn-spinat>
- Krupa-Kozak, U., Drabińska, N., Bączek, N., Šimková, K., Starowicz, M. & Jeliński, T. (2021). Application of Broccoli Leaf Powder in Gluten-Free Bread: An Innovative Approach to Improve Its Bioactive Potential and Technological Quality. *Foods*, 10(4), 819. <https://doi.org/10.3390/foods10040819>
- Kaack, K., Pedersen, L., Laerke, H. N. & Meyer, A. (2006). New potato fibre for improvement of texture and colour of wheat bread. *European food research & technology*, 224(2), 199-207. <https://doi.org/10.1007/s00217-006-0301-5>
- Langeland, T. (2019). Dermatitis herpetiformis. I *Store norske leksikon*. Store medisinske leksikon. https://sml.snl.no/dermatitis_herpetiformis
- MacDougall, D. B. (2002). *Colour in food : improving quality*. CRC Press.
- Makowska, A., Majcher, M., Mildner-Szkodlarz, S., Jedrusek-Golinska, A. & Przygoński, K. (2017). Triticale crisp bread enriched with selected bioactive additives: volatile profile, physical characteristics, sensory and nutritional properties. *J Food Sci Technol*, 54(10), 3092-3101. <https://doi.org/10.1007/s13197-017-2745-y>
- Matinformasjonsforskriften. (2017). *Forskrift om matinformasjon til forbrukerne* (FOR-2017-05-06-560). Lovdata. <https://lovdata.no/forskrift/2014-11-28-1497>
- Mattilsynet. (2020). *Veileder om tilsetningsstoffer i næringsmidler*. https://www.mattilsynet.no/om_mattilsynet/gjeldende_regelverk/veiledere/veileder_til_forskrift_om_tilsetningsstoffer.4594/binary/Veileder%20til%20forskrift%20om%20tilsetningsstoffer
- Mattilsynet & Helsedirektoratet. (2021a). *Kostholdsplanleggeren*. Hentet 22.04 fra <https://www.kostholdsplanleggeren.no/comparefoods/?profileId=43&slot0Id=05.223>
- Mattilsynet & Helsedirektoratet. (2021b). *Kostholdsplanleggeren*. Hentet 14.05 fra <https://www.kostholdsplanleggeren.no/comparefoods/?profileId=149&slot0Id=06.035&slot1Id=06.118&slot2Id=06.064>

- Migliozzi, M., Thavarajah, D., Thavarajah, P. & Smith, P. (2015). Lentil and Kale: Complementary Nutrient-Rich Whole Food Sources to Combat Micronutrient and Calorie Malnutrition. *Nutrients*, 7(11). <https://www.mdpi.com/2072-6643/7/11/5471>
- Myhrstad, M. C. W., Slydahl, M., Hellmann, M., Garnweidner-Holme, L., Lundin, K. E. A., Henriksen, C. & Telle-Hansen, V. H. (2021). Nutritional quality and costs of gluten-free products: a case-control study of food products on the Norwegian marked. *Food & nutrition research*, 65, 1-10. <https://doi.org/10.29219/fnr.v65.6121>
- NHI. (2019). *Autoimmune sykdommer*. <https://nhi.no/sykdommer/allergi/diverse/autoimmune-sykdommer/>
- NHI. (2020). *Cøliaki*. Norsk Helseinformatikk. <https://nhi.no/sykdommer/barn/magetarm/coliaki-oversikt/>
- Nimse, S. B. & Pal, D. (2015). Free radicals, natural antioxidants, and their reaction mechanisms. *RSC advances*, 5(35), 27986-28006. <https://doi.org/10.1039/c4ra13315c>
- Nuss, E. T. & Tanumihardjo, S. A. (2010). Maize: A Paramount Staple Crop in the Context of Global Nutrition. *Compr Rev Food Sci Food Saf*, 9(4), 417-436. <https://doi.org/10.1111/j.1541-4337.2010.00117.x>
- Odunlade, T. V., Famuwagun, A. A., Taiwo, K. A., Gbadamosi, S. O., Oyedele, D. J. & Adebooye, O. C. (2017). Chemical Composition and Quality Characteristics of Wheat Bread Supplemented with Leafy Vegetable Powders. *Journal of food quality*, 2017, 1-7. <https://doi.org/10.1155/2017/9536716>
- Oliveira, S. M., Oliveira, S. M., Brandão, T. R. S., Brandão, T. R. S., Silva, C. L. M. & Silva, C. L. M. (2016). Influence of Drying Processes and Pretreatments on Nutritional and Bioactive Characteristics of Dried Vegetables: A Review. *Food engineering reviews*, 8(2), 134-163. <https://doi.org/10.1007/s12393-015-9124-0>
- Oxentenko, A. S. & Rubio-Tapia, A. (2019). Celiac Disease. *Mayo Clin Proc*, 94(12), 2556-2571. <https://doi.org/10.1016/j.mayocp.2019.02.019>
- Pedersen, J. I., Hjartåker, A., Müller, H. & Anderssen, S. (2017). *Grunnleggende ernæringslære* (3. utg.). Gyldendal akademisk.
- Preedy Victor, R. & Watson Ronald, R. (2010). Spinach and Health: Anticancer Effect. I. Elsevier.
- Ranawana, V., Campbell, F., Bestwick, C., Nicol, P., Milne, L., Duthie, G. & Raikos, V. (2016). Breads Fortified with Freeze-Dried Vegetables: Quality and Nutritional Attributes. Part II: Breads Not Containing Oil as an Ingredient. *Foods*, 5(3), 62. <https://doi.org/10.3390/foods5030062>
- Ribeiro, M., Nunes-Miranda, J. I. D., Branlard, G. r., Carrillo, J. M., Rodriguez-Quijano, M. & Igrejas, G. (2013). One Hundred Years of Grain Omics: Identifying the Glutens That

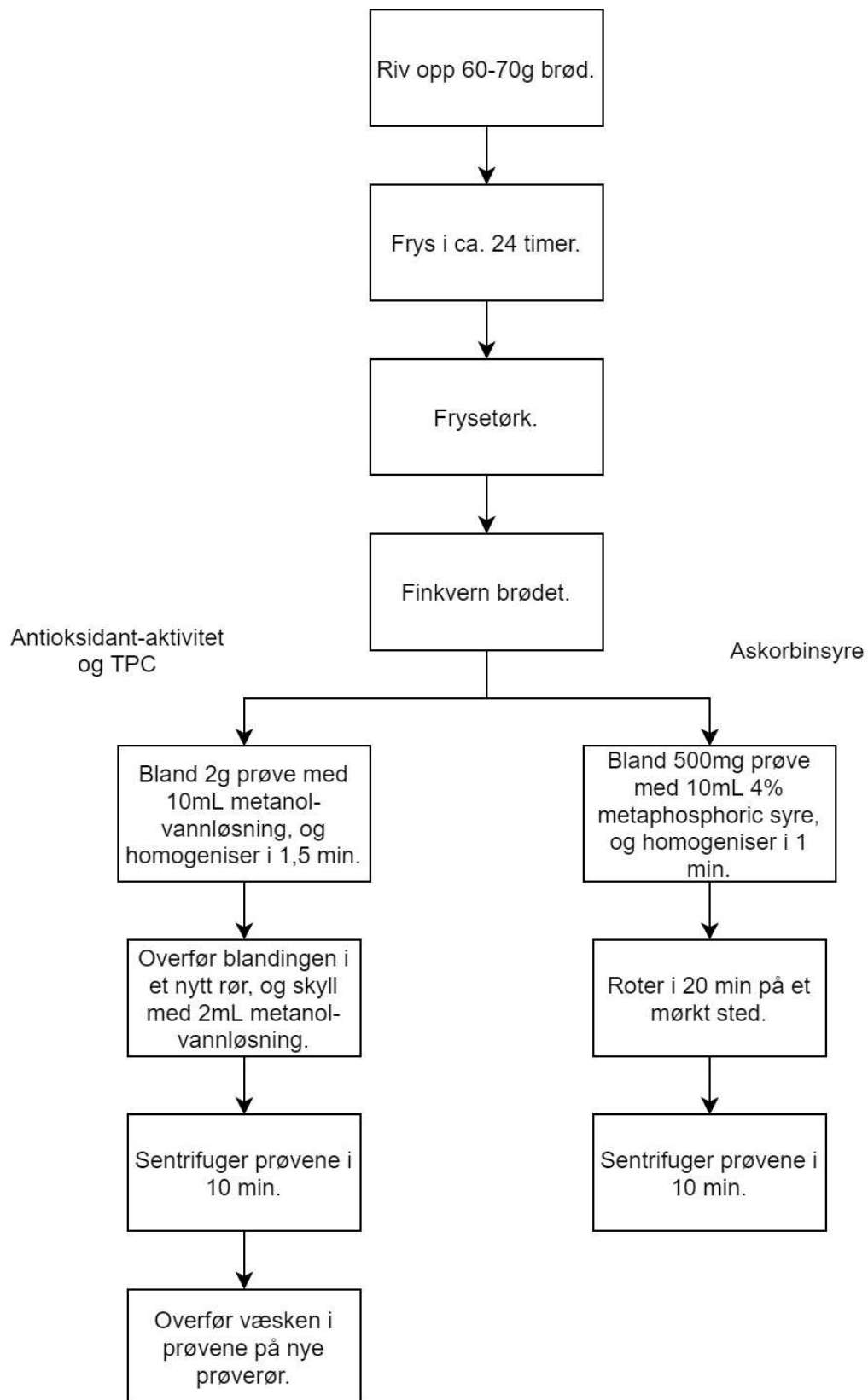
- Feed the World. *J. Proteome Res*, 12(11), 4702-4716.
<https://doi.org/10.1021/pr400663t>
- Różyło, R., Dziki, D., Gawlik-Dziki, U., Cacak-Pietrzak, G., Miś, A. & Rudy, S. (2015). Physical properties of gluten-free bread caused by water addition. *International Agrophysics*, 29(3), 353-364. <https://doi.org/10.1515/intag-2015-0042>
- Saha, D. & Bhattacharya, S. (2010). Hydrocolloids as thickening and gelling agents in food: a critical review. *J Food Sci Technol*, 47(6), 587-597. <https://doi.org/10.1007/s13197-010-0162-6>
- Salmanowicz, B. P., Adamski, T., Surma, M., Kaczmarek, Z., Karolina, K., Kuczyńska, A., Banaszak, Z., Ługowska, B., Majcher, M. & Obuchowski, W. (2012). The relationship between grain hardness, dough mixing parameters and bread-making quality in winter wheat. *Int J Mol Sci*, 13(4), 4186-4201. <https://doi.org/10.3390/ijms13044186>
- Sayed-Ahmad, B., Talou, T., Straumite, E., Sabovics, M., Kruma, Z., Saad, Z., Hijazi, A. & Merah, O. (2018). Evaluation of nutritional and technological attributes of whole wheat based bread fortified with Chia flour. *Foods*, 7(9), 135. <https://doi.org/10.3390/foods7090135>
- Sensorisk Studiegruppe. (2015). *Sensorikk: måling med menneskelige sanser* (3. utg.). Kopinor pensum.
- Sensorisk Studiegruppe. (2021). *Hvem skal teste produktene?* Sensorisk Studiegruppe. Hentet 14.05.21 fra <https://www.sensorikk.no/hvem-skal-teste-produktene/>
- Sjøborg, S. (2020). Grønnskål. I *Store norske leksikon*. <https://snl.no/gr%C3%B8nnsk%C3%A5l>
- Skalozubova, T. A. & Reshetova, V. O. (2013). Leaves of Common Nettle (*Urtica dioica* L.) As a Source of Ascorbic Acid (Vitamin C). [http://www.idosi.org/wasi/wasi28\(2\)13/17.pdf](http://www.idosi.org/wasi/wasi28(2)13/17.pdf)
- Sundling, P. (2019). Nesle. I *Store norske leksikon*. <https://snl.no/nesle>
- Therdthai, N., Tanvarakom, T., Ritthiruangdej, P. & Zhou, W. (2016). Effect of Microwave Assisted Baking on Quality of Rice Flour Bread. *Journal of food quality*, 39(4), 245-254. <https://doi.org/10.1111/jfq.12207>
- Torres, M. D., Arufe, S., Chenlo, F. & Moreira, R. (2017). Coeliacs cannot live by gluten-free bread alone – every once in awhile they need antioxidants. *International journal of food science & technology*, 52(1), 81-90. <https://doi.org/10.1111/ijfs.13287>
- UiO. (2011). *Askorbinsyre*. Hentet 04.05.21 fra <https://www.mn.uio.no/ibv/tjenester/kunnskap/plantefys/leksikon/a/askorbi.html>
- Waldenstrøm, L. (2018). Sensoriske metoder. I. Institutt for bioteknologi og matvitenskap Norges teknisk-naturvitenskapelige universitet NTNU.

- Wang, K., Lu, F., Li, Z., Zhao, L. & Han, C. (2017). Recent developments in gluten-free bread baking approaches: a review. *Food Sci. Technol*, 37, 1-9.
<https://doi.org/10.1590/1678-457x.01417>
- Watada, A. E. (1982). A high-performance liquid chromatography method for determining ascorbic acid content of fresh fruits and vegetables. *HortScience*, 17(3).
- Witczak, M., Ziobro, R., Juszcak, L. & Korus, J. (2016). Starch and starch derivatives in gluten-free systems – A review. *Journal of cereal science*, 67, 46-57.
<https://doi.org/10.1016/j.jcs.2015.07.007>
- Aarnes, H. (2016). Maillard-reaksjoner. I *Store norske leksikon*. <https://snl.no/Maillard-reaksjoner>

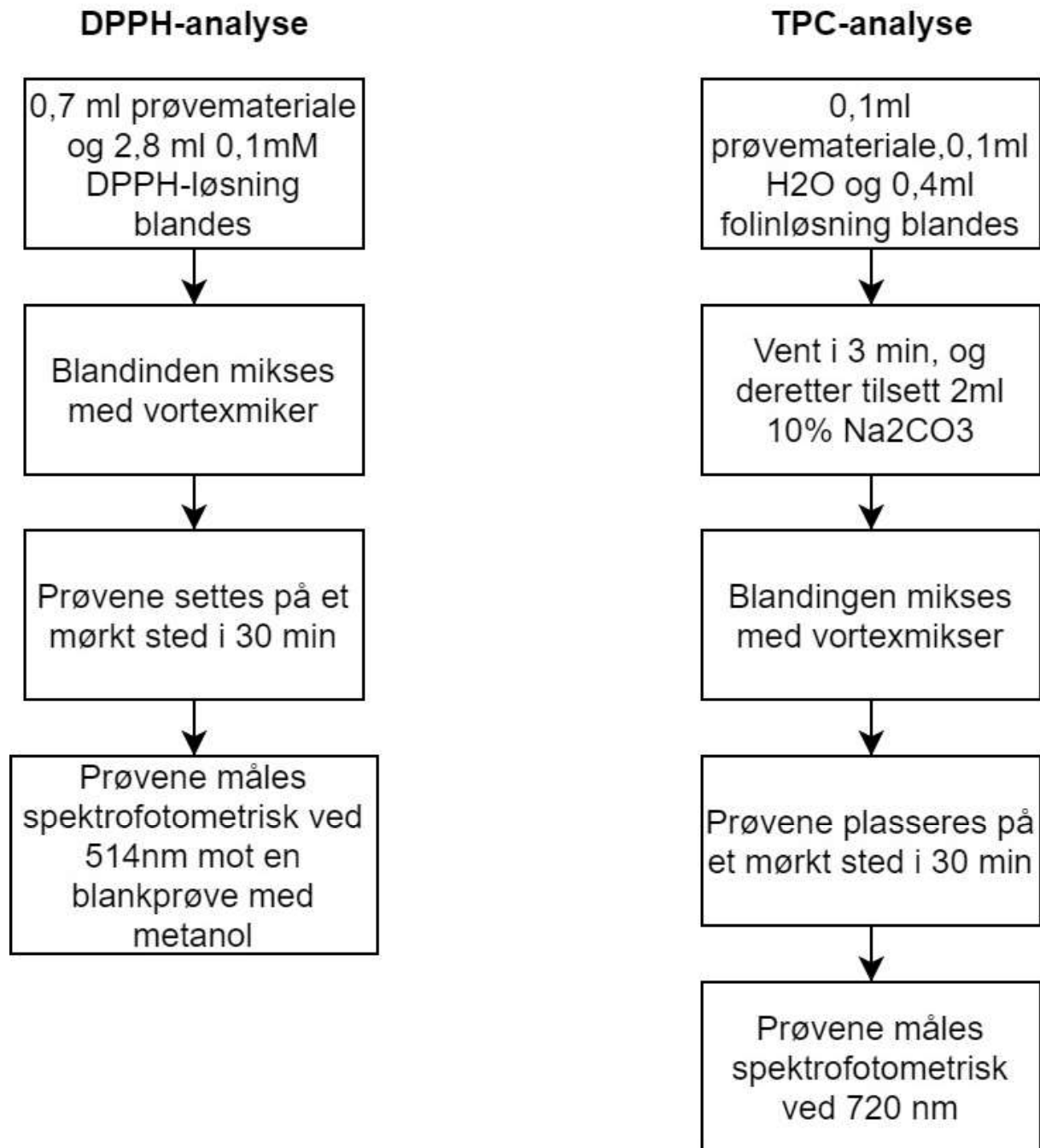
Vedlegg 2: Resept

Tabell 1: Resept for baking av tre brød à 250g. Alle tall i gram.

Ingredienser	Bladpulver konsentrasjon								
	0 %	1% Spinat	1% Brennesle	1% Grønncål	3% Spinat	3% Brennesle	3% Grønncål		
Rismel	170.8	170.8	170.8	170.8	170.8	170.8	170.8		
Maismel	85.4	85.4	85.4	85.4	85.4	85.4	85.4		
Potetmel	85.4	85.4	85.4	85.4	85.4	85.4	85.4		
Salt	1.4	1.4	1.4	1.4	1.4	1.4	1.4		
Gjær	5.5	5.5	5.5	5.5	5.5	5.5	5.5		
Xantangummi	5.1	5.1	5.1	5.1	5.1	5.1	5.1		
Vann	444.0	444.0	444.0	444.0	444.0	444.0	444.0		
Spinatpulver	0.0	3.4	0.0	0.0	10.2	0.0	0.0		
Brenneslepulver	0.0	0.0	3.4	0.0	0.0	10.2	0.0		
Grønncålpulver	0.0	0.0	0.0	3.4	0.0	0.0	10.2		

Vedlegg 3: Flytskjema over de kjemiske analysene

Figur 1: Flytskjema over prosessen med alle forberedelsene til de kjemiske analysene.



Figur 2: Flytskjema av metoden til DPPH-analysen og TPC-analysen.

Vedlegg 4: Resultater fra kjemianalysene

Tabell 1: Gjennomsnittsverdier for målt antioksidantinnhold i kontrollbrød og brød tilsatt bladpulver med tilhørende standardavvik. Verdier i samme kolonne som ikke deler samme bokstav er signifikant forskjellige ($p < 0.05$).

Prøve	DPPH (%)	TPC (mg/100g)	Askorbinsyre (mg/100g)
0 %	60.82 ± 0.075 ^d	49.03 ± 2.67 ^{ab}	3.69 ± 0.057 ^c
1% Spinat	60.71 ± 0.528 ^d	46.91 ± 0.82 ^b	3.83 ± 0.12 ^c
1% Brennesle	87.81 ± 1.14 ^{ab}	53.73 ± 2.52 ^{ab}	3.92 ± 0.061 ^c
1% Grønncål	80.37 ± 4.62 ^c	49.08 ± 0.94 ^{ab}	5.08 ± 0.148 ^b
3% Spinat	57.18 ± 2.25 ^d	46.76 ± 1.04 ^b	4.70 ± 0.276 ^b
3% Brennesle	90.41 ± 0.548 ^a	56.05 ± 3.66 ^a	4.88 ± 0.317 ^b
3% Grønncål	83.95 ± 0.498 ^{bc}	50.54 ± 1.05 ^{ab}	7.19 ± 0.157 ^a

Vedlegg 5: Næringsinnhold

Tabell 1: Næringsinnhold og best før dato for spinatpulver (SunnRask) per 100g.

Energi	251 kcal
Fett	0.0 g
Hvorav mettet fett	0.0 g
Karbohydrater	50.0 g
Hvorav sukkerarter	0.0 g
Fiber	Oppgis ikke
Protein	25.0 g
Salt	0.0 g
Best før	Desember 2021

Tabell 2: Næringsinnhold og best før dato for brenneslepulver (Dragon Superfoods) per 100g.

Energi	1295 kJ/309 kcal
Fett	3.9 g
Hvorav mettet fett	0.7 g
Karbohydrater	26.0 g
Hvorav sukkerarter	19.0 g
Fiber	24.0 g
Protein	31.0 g
Salt	0.95 g
Best før	31.07.2022

Tabell 3: Næringsinnhold og best før dato for grønnkålpulver (SunnRask) per 100g.

Energi	300 kcal
Fett	67.0 g
Hvorav mettet fett	0.0 g
Karbohydrater	1.0 g
Hvorav sukkerarter	7.0 g
Fiber	Oppgis ikke
Protein	0.0 g
Salt	3.0 g
Best før	Desember 2022

