

Surkålens mjölksyrabakterier

deras samverkan med vårt immunförsvar



LUNDS
UNIVERSITET

Lunds Tekniska Högskola

Institutionen för livsmedelsteknik
Livsmedelsteknisk högskoleutbildning vid Campus Helsingborg

Niclas Andersson
Per Högberg
Examensarbete 2009

© Copyright Niclas Andersson, Per Högberg

Institutionen för livsmedelsteknik
Lunds universitet
Box 882
251 08 Helsingborg

Department of Technology, Engineering and Nutrition
Lund University
Box 882
SE-251 08 Helsingborg
Sweden

Förord

Temat i vårt examensarbete har växt fram successivt ur ett intresse väckt i enskilda kurser på vår utbildning. Pro och prebiotika i Näringslära med Yvonne Granfeldt, en entusiasmerande Bo Furugren i Livsmedelskemi, ett tillfälle att utnyttja institutionens laboratorium och Ingrid Blomqvists manualer, Charlott Håkanssons outsinliga engagemang i allt, Dan Johansson och Nils-Bo Nilsson som alltid finns tillhands. Sist men inte minst de fantastiska mjölksyrabakterierna.

Vi vill rikta ett speciellt tack till Crister Olsson som varit vår handledare och gett oss outhärligt stöd under arbetets gång. Tack också till Dr. Maris Dubniks, Lunds Universitetssjukhus som upplyste om och lånade oss Dr. Bengt Klarins doktorsavhandling.

Recept på surkål, enligt Tom Olefalk (se bilagor 9.1), publicerade med vänligt tillstånd av Eldrimner, nationellt resurscentrum för hantverk.

Innehållsförteckning	
1 Inledning	1
2 Syfte	3
3 Metod	3
3.1 Teoretisk	3
3.2 Praktisk	3
3.2.1 Surkålsframställning	3
3.2.2 Bestämning av mikroorganismer och pH-värden	4
3.2.2.1 Tabell – tidsschema laboratoriearbete	4
3.3 Sensorisk	4
4 Resultat, teoretisk del	5
4.1 Immunförsvaret	5
4.1.1 Tarmsystemet	5
4.1.2 Vita blodkroppar	5
4.1.3 Fagocytos (cellätande)	6
4.1.4 Allergi	6
4.1.4.1 Interleukiner	7
4.1.5 Stress	8
4.1.6 Probiotika	8
4.1.7 Prebiotika	8
4.1.8 Antibiotika	9
4.2 Mjölksyrabakterier (LAB)	9
4.2.1 Definition	10
4.2.2 Produkter/Metaboliter	10
4.2.2.1 SCFA	11
4.2.3 Metabolism	11
4.2.4 Fermentationens kemi	12
4.2.4.1 Homo och heterofermentativa	12
5 Resultat, praktisk del	13
5.1 Diagram, pH-värden och mikroorganismer	13
5.2 Tabell, identifierade sekvenser 16S ribosomal RNA	19
6 Resultat, sensorisk del	20
7 Resultatdiskussion	21
8 Källhänvisningar	23
9 Bilagor	i
9.1 Recept surkål	i
9.2 Tabeller	ii
9.2.1 Näringsvärde vitkål/surkål:	ii
9.2.2 Mikroorganismer, cfu/g:	iii
9.2.3 pH värden vitkål/surkål:	iii

Sammanfattning

Rapportens tema har växt fram som ett sätt att knyta samman olika kurser i Livsmedelsteknisk Högskoleutbildning, Lunds Universitet, med ett speciellt intresse för probiotika/ mjölksyrabakterier, lactic acid bacteria (LAB). Vi har studerat fermentationsprocessen i surkål med en hypotes i grunden, ”mjölksyrabakterierna kommer att, med de levnadsbetingelser de skapar, konkurrera ut andra befintliga mikroorganismer”. Vi jämförde 3 olika startkulturers fermentativa egenskaper på ekologiskt respektive konventionellt odlad vitkål.

Resultat: 1. *Streptococcus thermophilus* och *Lactobacillus bulgaricus* (från yoghurt) gav för båda kålsorterna misslyckade fermentationer som ej var ätliga. pH uppmättes till omkring $\approx 3,4$. 2. *Lactobacillus plantarum* 299v (från Pro Viva) gav de lägsta pH-värdena, $< 3,4$ i båda kålsorterna. Lyckade fermentationer som gav en välsmakande surkål. 3. Naturell LAB – flora. I den ekologiska kål som fermenterades med naturell LAB -flora utvecklades andra mikroorganismer vilket startade en förruttnelseprocess som gjorde surkålen oätlig. I denna uppmättes det högsta pH-värdet till 5,79. Fermentationen misslyckades och gav en otjänlig produkt. Den konventionella kålen hade pH = 3,45 och det skedde en bra fermentation som gav en välsmakande produkt.

Vår studie gav således att yoghurt ger en dålig startkultur för surkålstillverkning, 299v ger en bra samt att den naturellt förekommande LAB- floran är bra, i den mån den finns. Detta beror på tid för skörd och lagringstid. Ju senare på hösten vitkålen är skördad och ju längre den är lagrad dess sämre fermentationsegenskaper. Dessa faktorer torde vara viktigare än skillnader mellan ekologiskt och konventionellt odlad vitkål. Även om materialet var litet kan det indikera att det inte är mängden LAB som avgör resultatet utan deras artspezifika egenskaper.

Fermentering är en uråldrig metod att använda LAB för att konservera och smaksätta. Idag skulle många sådana produkter kvalificeras som probiotika, vilket definieras enligt FAO och WHO som ”levande organismer som när de tillförs i adekvata mängder ger värden en fördelaktig hälsoeffekt”. Bakterier som ingår i begreppet LAB är framförallt ur släktet *Lactobacillus* med 60 arter identifierade. De allmänt kända och som kommersiellt används inom livsmedelsproduktion är emellertid *Lactobacillus*, *Leuconostoc*, *Lactococcus*, *Streptococcus*, *Pediococcus* och *Bifidobacterium*. LAB producerar, när de bryter ner kolhydrater, framför allt mjölksyra och metaboliter i form av SCFA (short chain fatty acids). Detta ger en pH-sänkning både *in vitro* och *in vivo*. *In vitro* har LAB en konserverande och smakförhöjande verkan. Vid förtäring ger de *in vivo* positiva effekter för immunförsvaret och magtarmkanalen som skydd mot patogena bakterier och endotoxiner, inflammationshämmande effekter, en ökad förmåga till återhämtning efter infektioner och ett ökat näringsupptag.

Nyckelord: Mjölksyrabakterier, fermentering, surkål, immunförsvar

Abstract

The theme of this essay has gradually grown as a way to merge the individual courses of Food Technology, Lund University, with a special interest regarding probiotics/lactic acid bacteria (LAB). We have studied the process of fermentation in sauerkraut with a hypothesis that “LAB will, with the environmental conditions they create, compete out other microorganisms”. We compared 3 different kinds of starter cultures, their fermentative ability concerning ecologically and conventionally cultivated cabbage.

Results: 1. *Streptococcus thermophilus* and *Lactobacillus bulgaricus* (from yoghurt). Both kinds of cabbage had a pH \approx 3, 4. The fermentation was unsuccessful and the product inedible. 2. *Lactobacillus plantarum* 299v (from ProViva) had the lowest measured pH, less than 3, 4 in both kinds of cabbage. This fermentation was successful and tasted good. 3. Natural LAB. The ecological cabbage had the highest measured pH = 5, 79. It developed other microorganisms than LAB and the sauerkraut started to putrefy, the fermentation was unsuccessful and became inedible. On the other hand, the fermentation of the conventional cabbage became successful where pH decreased to around 3, 45. The product had a good smell and tasted well.

Our study consequently presented that a yoghurt culture gives a poor starter, regarding sauerkraut fermentation. 299v gave in our study a better starter culture than yoghurt. The amount of naturally existing LAB, concerning cabbage, depends on the time of harvest and time of storage. The later in autumn cabbage is harvested and the longer the storage time, the poorer the fermentative ability. These factors are of more importance than whether the cabbage is ecologically or conventionally cultivated. If existing in sufficient amount, natural LAB in our study presents good fermentors. Furthermore, it's not the actual amount of existing LAB that decides the result of fermentation, it's the specific ability of a bacterium.

Fermentation is an ancient method of preserving and flavouring food. Many of these products would, in modern time, be considered as probiotics. Probiotics are defined by FAO and WHO as “live microorganisms which when administered in adequate amounts confer a health benefit on the host”. The concept LAB includes bacteria preferably from the genus *Lactobacillus* with approximately 60 different species isolated. Most commonly used for commercial purposes, in the food industry, are *Lactobacillus*, *Leuconostoc*, *Lactococcus*, *Streptococcus*, *Pediococcus* and *Bifidobacterium*. LAB produces in the catabolic process, decomposing carbohydrates, mainly lactate and metabolites as short chain fatty acids (SCFA) which results in a decreasing pH concerning both *in vitro* and *in vivo*. LAB *in vitro* gives food a preserving and flavouring effect. Consumed they *in vivo* present a variety of positive effects in our immune defence and intestines, such as a protection against pathogenic bacteria and endotoxines, restraint of inflammation, enhances post infectious capability of recovery and increases nutritional assimilation.

Keywords: Lactic acid bacteria, fermentation, sauerkraut, immune defence

1 Inledning

Den mikrobiologiska floran i färsk kål består mest av aeroba bakterier och eventuellt en liten grad *Enterobacteriaceae*. LAB finns det alltid (beroende av säsong och lagring, (23)) men de överstiger sällan mer än 1 % av den totala mikrofloran (17). Inledningsvis i fermenteringsprocessen förbrukas syre, dels pga. att kålen respirerar (andas) och dels av aeroba (syrekrävande) bakteriers närvaro. Här ges *Enterobacteriaceae* en möjlighet att tillväxa och inledningsvis sänka pH ned mot 4,4. Inom 2-3 dagar förhindras de dock av syror som heterofermentativa LAB efterlämnar. I denna fas är det framförallt *Leuconostoc mesenteroides* och *Lactobacillus brevis* som dominerar. Vidare i fermenteringsprocessen tar så småningom homofermentativa LAB (se 4.2.4.1) över och producerar ytterligare mjölksyra och medför att pH sänks ned mot 3,7. I den homofermentativa bakterieflora som råder i detta skede har det identifierats *Lactobacillus plantarum*, *Pediococcus pentosaceus*, *Lactobacillus sakei*, *Lactobacillus curvatus*, och *Lactobacillus bavaricus* (17). Forskningsresultat från 2007 (18) visade på att ytterligare arter kan förekomma. Det identifierades från den studien (utöver ovan nämnda) *Leuconostoc citreum*, *Leuconostoc argentinum*, *Lactobacillus paraplanctarium*, *Lactobacillus coryniformis*, *Weissella* samt ett flertal stammar ur arten *Leuconostoc fallax*. Resultatet gav mot förmodan endast ett fåtal identifieringar av *Pediococcus pentosaceus* och *Lactobacillus brevis* som annars är vanliga. (18)

(För näringsvärden i surkål/vitkål se bilagor, tabell 9.2.1)

Med fermentering menas att man tillgodoser en bakterieflora med dess optimala levnadsvillkor så att den kan tillväxa och bidra med framförallt bättre hållbarhet. Historiskt var det en bättre hållbarhet som eftersträvades men numera fermenteras livsmedel främst av andra orsaker, nämligen för smakförbättringar och positiva förändringar av näringsvärdet. För fermentering av livsmedel används i huvudsak LAB, de bildar under processen i första hand mjölksyra vilket medför pH-sänkning av livsmedlet. Viktiga mjölksyrefermenterade livsmedel är yoghurt, fil, ost och grönsaker.(3)

För att erhålla en bra fermentering ska livsmedlet vara näringstät dvs. innehålla kolhydrat, aminosyror samt en miljö som gynnar mjölksyrabakterier respektive hämmar andra bakteriers tillväxt. Förhållanden som gynnar mjölksyrabakterierna är t.ex. väteperoxidproduktion, gradvis sjunkande pH, sänkt a_w , höjd salthalt och en mikroaerofil(syrefattig) miljö.(14)

Det har gjorts mängder med undersökningar om LAB, en uppsjö av forskningsrapporter finns att läsa för den intresserade. Man kan dra slutsatsen att den goda hälsoeffekt som LAB ger har genererat mycket pengar till forskning. Det finns stora pengar att spara inom sjukvården om människor börjar äta och dricka hälsosammare.

Vi har för att kunna skriva denna rapport dels försökt sammanställa många forskares positiva resultat och dels utfört en fermentering av surkål för att studera utvecklingen av mikrofloran under fermenteringsprocessen.

För att undvika förväxlingar mellan exempelvis *Leuconostoc plantarum* och *Lactobacillus plantarum* har vi valt att skriva ut bakteriers hela namn, utan förkortningar. Undantaget tabell 5.2 där enbart *Lactobacillus* förekommer.

Avsnitt 4.1 är skrivet av Per Högberg, avsnitt 4.2 och styckena 1-3 i inledningen av Niclas Andersson, övriga avsnitt är gemensamt skrivna.

2 Syfte

Att tillverka surkål och att i denna process bestämma den mikrobiologiska floran, från den färska – till den färdigfermenterade vitkålen. Vi riktar ett speciellt intresse mot mjölksyrabakterier, lactic acid bacteria (LAB), med en hypotes i grunden.

”Mjölksyrabakterierna kommer att, med de levnadsbetingelser de skapar, konkurrera ut andra befintliga mikroorganismer”.

Att jämföra ekologiskt och konventionellt odlad vitkål, deras mikrobiologiska flora och fermentationsegenskaper. I vad mån påverkar en startkultur slutresultatet, i sensorisk och mikrobiologisk bemärkelse?

Att inom rapportens ramar söka förklara det samarbete mjölksyrabakterier har med människans immunförsvar.

3 Metod

3.1 Teoretisk

Vi har använt oss av databas Elin@Lund, för vetenskapliga artiklar, nationalencyklopedin, pubmed etc. Använd litteratur redovisas i källhänvisningar. Intervju med Uldis Sterninieks i Riga, Lettland 2009-04-12.

3.2 Praktisk

3.2.1 Surkålsframställning

400 g vitkål (*Brassica oleracea*) strimlades fint och 8 g salt (= 2 %) tillsattes (saltet tillsätts för att skapa ett osmotiskt tryck vilket frambringar vätskan ur vitkålen).

Vitkålen vändes ordentligt för att blanda in saltet och lades sedan i väl rengjort kärl, med tätslutande lock. Kålen stöttes i burken för att packas tätt, tills vätskan täcker.

Tre satser sattes med ekologiskt odlad vitkål. En ympades med 20g startkultur bestående av *Lactobacillus plantarum* 299v (från Pro Viva, mango fruktdryck) och en med 20g startkultur med *Streptococcus thermophilus/Lactobacillus bulgaricus* från yoghurt (Arla, naturell). Till en tredje tillfördes ingen startkultur. Tre satser med konventionellt odlad vitkål gjordes på samma sätt.

Startkulturerna togs fram genom att sila produkten genom kaffefilter. Den avrunna vätskan användes. Det var av intresse att veta hur många bakterier som kom igenom kaffefiltret, till startkulturerna. Vi odlade den avrunna vätskan på Rogosa agar, inkuberade i 3 dygn 37 °C anaerobt. De innehöll antal colony forming units (cfu) $3, 5 \times 10^5$ cfu/g i Pro Viva (299v) respektive $1, 3 \times 10^6$ cfu/g i yoghurt. Mängden ympade bakterier i 20g startkultur var 7×10^6 cfu totalt av 299v och $2,6 \times 10^7$ cfu totalt av yoghurt.

Kålen lades i glasburkar med tätslutande lock och ställdes mörkt, 48 timmar i 22 °C och sedan 18 °C i 4 veckor.

3.2.2 Bestämning av mikroorganismer och pH-värden

För levandehaltbestämning av *Enterobacteriaceae* användes Violet red bile agar (VRB) som inkuberades aerobt vid 37 °C i 24 h. För totalantal, Trypton glucose extract agar (TGEA) inkuberades aerobt vid 30 °C i 3 dygn. För LAB användes Rogosa agar som inkuberades anaerobt vid 37 °C i 3 dygn. Prov togs av färsk vitkål som homogeniserades 2 min. i stomacher med peptonlösning, förhållande 1+9. Detsamma gjordes med prover av surkål. Proven applicerades genom ytspridning med rackla på respektive agarplatta. LAB renodlades och inkuberades på Rogosa agar anaerobt vid 37 °C i 3 dygn. Enstaka kolonier plockades och renodlades. Från dessa togs sedan en koloni som slammades upp i frysmedium innehållande glycerol och frystes vid - 80 °C för senare analys. Polymerase chain reaction (PCR, metod för genanalys) gjordes och prover skickades till laboratorium i Tyskland för identifiering av sekvenser enligt 16S ribosomal RNA.

pH – värden bestämdes i surkålen med kalibrerad pH Meter. Proven togs på vätskan i fermenteringskärlen. Samma metod användes för naturell saltad (2 %) vitkål på frampressad vätska.

3.2.2.1 Tabell – tidsschema laboratoriearbete

Dag 1	6	9	15	18	22	25	29	32	37, 38
Odlingar från vitkål, startkulturer. pH mätning	Cfu bestämning. Isolering LAB. pH mätning	Infrysning, LAB - 80 °C	Odlingar från surkål. pH mätning	Cfu bestämning. Isolering LAB	Infrysning LAB - 80 °C	Odlingar från surkål. pH mätning	Cfu bestämning. Isolering LAB Surkål klar	Infrysning LAB - 80 °C	PCR Sensorisk test

3.3 Sensorisk

De färdiga resultaten bedömdes hedoniskt, av författarna enligt kriterier:

- Smak
- Lukt
- Konsistens
- Utseende

4 Resultat, teoretisk del

4.1 Immunförsvaret

Immunologi (latin – grekiska) läran om undantagen (1), genom studier av de som inte blev sjuka av farsoter.

70-80 % av immunförsvaret finns i mag- tarmkanalen.

4.1.1 Tarmsystemet

Människans tarmar innehåller ca 1 kg bakterier av varierande slag, 500 olika arter har konstaterats. 30 – 40 arter utgör 99 % av den fekala mikrofloran, som grundläggs under de första levnadsåren i en människas liv (2). Sammansättningen är delvis genetiskt betingad men mestadels beroende av den föda som intas och de bakterier i omgivningen vi kommer i kontakt med. Den stora majoriteten av dessa bakterier är icke patogena ”medhjälpare” som hjälper till att hålla patogena bakterier borta, eller att inte göra någon skada. På engelska heter dessa bakterier commensals, från latinets *com mensa* = dela bord. Till dessa räknas mjölksyrabakterierna.

En frisk tarmvägg har förmågan att åtskilja två väldigt olika miljöer. På insidan finns upp till 10^{12} (1000 miljarder) bakterier per ml, på utsidan en nästan steril miljö. Denna barriärfunktion är för oss livsviktig. Patogena bakterier som passerar tarmens slemhinna (mucosa) och gut associated lymphatic tissue (GALT) kan orsaka infektioner och blodförgiftning (sepsis), hög feber och cirkulationssvikt (septisk chock) vilket kan leda till organsvikt och död (2).

Vissa mjölksyrabakterier t.ex. *Lactobacillus plantarum* har förmåga att fästa sig på slemhinnan i hela mag- tarmkanalen och hindra patogena bakterier och endotoxiner (gifter från cellväggen i de flesta gramnegativa bakteriearter) (3) från att skada eller komma igenom barriären (2). Mjölksyrabakterier producerar mjölksyra (se 4.2.2) och short chain fatty acids (SCFA) vilka sänker pH i tarmen. De stimulerar dessutom andra mikroorganismer att producera SCFA (3) vilket förhöjer näringsupptaget och stärker cellfunktionerna i mucosa (slemhinna) och GALT, man kan säga att de blir ”trimmade”. Detta skyddar oss mot patogena bakterier och s.k. Shwartzman-fenomen (3).

Salmonella enteritidis, en välkänd gramnegativ bakterie som orsakar tarminfektioner och diarréer (typhimurium infektion), vill efter det att den passerat magsäcken, fästa på tunntarmens väggar (3). En ”mjölksyretrimmad” tarmvägg visar sig i forskningsresultat vara ett gott skydd mot kolonisation av *Salmonella* (4). I vissa fall har LAB visat sig fungera bättre än antibiotika och att de dessutom bidrar till en snabbare återhämtning i kroppen efter en infektion/inflammation (4).

4.1.2 Vita blodkroppar

Det sammanfattande namnet för våra vita blodkroppar är leukocyter (3)(från grek. *Leukos* ljus, vit. *Kytos* ihålig kropp, hölje) (3), dessa är vår kropps försvarare och krigare. Vi har upp till 10^{10} st. per liter blod. Leukocyter delas in i granulocyter, monocyter, B och T lymfocyter. De bildas i benmärgen av s.k. stamceller (granulocyter

och monocyter ur samma) men ”mognar” på skilda ställen. Granulocyter indelas i neutrofila, eosinofila och basofila, med olika uppgifter. Monocyter bildar makrofager (ätarceller) som har en liknande funktion i *fagocytosen* (se 4.1.3) som den neutrofila granulocyter har. Lymfocyterna delas in i B – lymfocyter, som är producenter av antikroppar och T – lymfocyter vilka finns av tre olika slag (5):

1. T-hjälparceller som är ”partners” till makrofagerna, tillsammans stimulerar de till förökning av både B och T-lymfocyter samt attraherar ytterligare makrofager.
2. Mördar T-celler som dödar kroppsegna sjuka celler.
3. Suppressor (hämmar) T-celler som signalerar ”eld upphör” när ett angrepp är avstyrat. Nyproduktionen av försvarsceller avstannar då.

En antikropp (immunoglobulin) är ett protein, fyra polypeptidkedjor som tillsammans bildar ett Y. Dessa Y:n produceras specifikt, i miljarder olika variationer. Det antigenbindande området i Y: ets klykas toppar passar som nyckel i lås till en eller några främmande celler (3).

4.1.3 Fagocytos (cellätande)

Alla våra kroppsegna friska celler bär på en ytmarkör, ett ID – kort, proteinet CD47 (6). Celler som saknar detta ID kallas antigener. Utifrån kommande celler kallas exogena antigener, kroppsegna sjuka celler endogena antigener. En cell som saknar CD47 blir täckt av antikroppar som skickar signaler (cytokiner) till makrofager (ätarceller) som slukar den. Genetiskt material från antigenen sätter sig på makrofagens yta vilket attraherar speciellt anpassade hjälpar T-lymfocyter (5). Dessa stimulerar immunförsvarets förökning, mot just denna antigen. Makrofager kan behålla främmande celler flera dygn i tarmväggens *mucosa* för att stimulera immunförsvaret (2). Den ”cellätande” processen kallas *fagocytos*. I fagocytosen stimuleras nyproduktion av våra försvarsceller, både antikroppar och makrofager, B och T-lymfocyter, i direkt relation till ”angreppet”. Ju fler främmande celler som slukas desto fler produceras.

Det finns ett enormt antal lymfocyter i vår kropp, ca 10^{12} st. vilket i vikt motsvarar ca 1 kg (2). De kan svara mot varje tänkbart ”angrepp” av olika cellkonstruktioner, med specifik anpassad produktion. Denna försvarsfunktion utnyttjas vid vaccinering, då man med en utvald inaktiverad bakterie eller virus ”lär” lymfocyterna en avsedd specifik produktion.

Mjölksyrabakterier kan i vissa fall vara bärare av genetiskt material(2) från andra celler och likt processen vid en vaccinering hjälpa uppbyggnaden av vårt immunförsvaret.

4.1.4 Allergi

Man delar in allergier i tre olika slag (5):

1. Atopisk allergi, för vilken IgE antikroppars närvaro är nödvändig. Ex astma (som i många fall är fråga om överkänslighet), hösnuva eller reaktioner på högmolekylära ämnen (proteiner) ex mjölkallergi.

2. Allergiska kontaktextem, lågmolekylära ämnen som ändrar kroppseigna celler, ex plaster och metaller.
3. Allergisk alveolit, ex lunginflammation.

Vad anbelangar magtarmkanalen är det alltså den atopiska allergiformen som är intressant. En förutsättning för en sådan reaktion är, som nämnts förekomst av IgE antikroppar (8).

Antikropparna (immunoglobiner) delas in i 5 olika grupper (3):

Klass A, IgA

Klass D, IgD

Klass E, IgE

Klass G, IgG

Klass M, IgM

Dessa har alla specifika funktioner i immunförsvaret men vi tittar på IgE antikroppar (de tros från början vara ett försvar mot parasiter). En allergen kallas ett ämne som framkallar IgE produktion (3). T - hjälparceller spelar en viktig roll för reglerandet av IgE nivåerna (8). De stimulerar B-lymfocyterna till produktion. Vid felaktiga signaler från T-cellerna stimuleras en högre produktion av IgE antikroppar än vad som är nödvändigt (8). IgE fäster på s.k. mastceller. De producerar signalsubstanser, bl.a. histamin, som förmedlar inflammatoriska reaktioner och reglerar blodets koaguleringsförmåga (3). Vid för hög IgE produktion blir följden höga histaminhalter som framkallar allergi. Man kan säga att vid en allergisk reaktion har kroppen lurats till ett större försvar än vad som var nödvändigt, den inflammatoriska reaktionen var från början avsedd för att avvärja parasiter (5) (som inte fanns där). Men en gång när parasiterna fanns där kan man tänka sig att de inte var så "intresserade" av inflammerad vävnad. Ett genialiskt försvar, förutsatt att vävnaden blir frisk igen efter angreppet (förf. kommentar).

Att kroppen reagerar så är ännu inte klarlagt, men en förklaringsmodell är den s.k. "hygienhypotesen". Enligt denna är det västvärldens nutida hygienhysteri, under uppväxtåren, som orsakar allergier. I fattiga länder, där barn i låg ålder kommer i kontakt med mycket mer bakterier och andra mikroorganismer, är inte allergier ett problem (jfr 4.1.1 stycke 1).

Mjölksyrabakterier stimulerar en produktion av IgA antikroppar vilka inte framkallar allergiska reaktioner.

4.1.4.1 Interleukiner

Interleukiner är proteiner som produceras, mestadels, som förstärkning av immunsystemet. Detta sker vid kroppens egen immunisering (jfr vaccinering ovan) eller vid infektion (3). Interleukiner bildas snabbt i samband med ett "angrepp", dvs. inom loppet av timmar eller dygn.

Tumörnekrosfaktor (TNF) är en av 15 kända interleukiner. TNF finns i α och β – form. I detta sammanhang är det α - formen som är intressant. Den produceras av makrofagerna. TNF- α spelar en viktig roll, jämte histamin, vid inflammationsprocessen. För höga nivåer under lång tid kan ge allvarliga sjukdomar i magtarmkanalen (ex. Crohns sjukdom eller vid väldigt allvarliga tillstånd celldöd) (3). *Streptococcus thermophilus* och *Bifidobacterium breve* frigör metaboliter (ämnen som uppstår vid kemiska processer = ämnesomsättningsprodukter. Se 4.2.2) vilka är kapabla att ta sig igenom tarmväggen med en anti TNF- α effekt (9). De har därför förmågan att dämpa inflammationer i magtarmsystemet. Forskare har genom genmodifiering fått *Lactococcus lactis* att producera interleukin 10 som är en kroppsegen inflammationshämmande substans (10)

4.1.5 Stress

Stressrelaterade sjukdomar ökar, som en följd av höjt tempo, ökade krav etc. Den mat vi äter är också i allt högre grad framställd under striktare hygienisk kontroll. Kroppen har inte under den korta tid, sett i evolutionens tidsperspektiv, hunnit producera ett eget försvar relaterat till dessa nya omständigheter. Förr fick vi genom födan i oss mycket mer bakterier (däribland mjölksyrabakterier) och fibrer. Vårt immunförsvar var i denna bemärkelse mer anpassat till vår omgivning och miljö. Jfr hygienhypotesen. Det är belagt att de skador magtarmsystemet kan få av stress, bl.a. inflammation, IBS (irritable bowel syndrome) lindras eller t.o.m. försvinner vid regelbunden förtäring av mjölksyrabakterier/probiotika (2).

4.1.6 Probiotika

(Av orden pro som betyder för och lat. *bios* liv, dvs. för liv) (3). Probiotika definieras enligt FAO och WHO som ” *levande organismer som när de tillförs i adekvata mängder ger värden en fördelaktig hälsoeffekt* ” (3). Till dessa räknas förutom mjölksyrabakterier också kolibakteriestammar (jfr commensals) och jästsvamp (*Saccharomyces boulardii*) som är den enda registrerade med hälsoeffekt i Sverige (2).

För att bakterier ska ha en probiotisk effekt krävs en livskraftig art, helst av kroppseget humant ursprung. De skall nämligen kunna överleva pH sänkningen i magsäcken, gallsalterna i tunntarmen och de måste finnas i tillräckligt stort antal för att kunna ha någon inverkan (11). Under förutsättning att dessa kriterier uppfylls samt ett regelbundet intag kan ”värden” åtnjuta alla de hälsoeffekter som redovisas ovan. Resonemang förs i litteraturen huruvida en frisk person kan bli ännu friskare genom probiotika (12), de flesta användare är nämligen fullt friska. Klarlagt är att probiotikan erbjuder ett visst skydd mot sjukdom och en snabbare återhämtning därefter (2).

4.1.7 Prebiotika

(betyder före liv)

Är enligt definition ”en icke digererbar livsmedelsingrediens som har en positiv påverkan på värden genom att selektivt gynna tillväxt och/eller aktivitet av en eller begränsat antal bakterier i kolon och därmed stärka hälsan”

Det är inte klarlagt hur många prebiotiska kolhydrater som existerar, de är många. Deras funktionssätt, i de flesta fall, är inte är kända. Prebiotika kan utvinnas från växtmaterial, t.ex. soja- oligosackarider från sojaböner och inulin från cikoria (flerårig ört). Nedan följer exempel på prebiotiska kolhydrater (12):

- Frukt- oligosackarider
- Inulin
- Galakto- oligosackarider
- Gentio- oligosackarider
- Isomalt- oligosackarider
- Soja- oligosackarider
- Laktulos
- Laktosukros
- Xylo- oligosackarider

Under fermentationsprocessen i tjocktarmen omvandlas de odigererbara kolhydraterna till SCFA (se 4.2.2.1) dvs. samma positiva effekter för hälsan erhålls som vid förtäring av levande LAB.

4.1.8 Antibiotika

(betyder emot liv)

Alexander Fleming upptäckte 1928 penicillinet (som är en diminutiv form av lat. *penis*, svans) (3) av en tillfällighet. Han fann att odlade *Staphylococcus aureus* bakterier dog runt en av misstag uppkommen koloni av mögelsvampar av arten *Penicillium notatum* (3). Han renframställde det bakteriedödande ämnet och belönades med Nobel-priset 1945 i medicin för den första betalaktam-antibiotikan (3). Betalaktamer är ringar, i kemisk bemärkelse, som hämmar uppbyggnaden i bakteriers cellväggar. Med resistenta bakterier menar man bakterier som producerar betalaktamaser, enzymer som förstör betalaktamringen i antibiotikan. Antibiotika produceras i naturlig form som metaboliter vid ämnesomsättningen av mjölksyrabakterier. Exempel på sådana är nisin (metabolit av *Lactococcus lactis*) (13) och reuterin (14) (metabolit av *Lactobacillus reuteri*) (15) Enligt dr. Bengt Klarin, Gabriela Perdigón, Roy Fuller och Raúl Raya (2, 4) har de naturliga metaboliterna från mjölksyrabakterier i vissa fall en bättre läkande effekt - vid inflammationer i magtarmsystemet, än framställd antibiotika.

4.2 Mjölksyrabakterier (LAB)

Bakterier som ingår i begreppet LAB är framförallt ur släktet *Lactobacillus* med ca 60 arter beskrivna. Andra släkten som rymmer LAB är arter ur *Lactococcus*, *Pediococcus*, *Enterococcus*, *Leuconostoc* *Carnobacterium*, *Oenococcus*, *Streptococcus*, *Tetragenococcus*, *Vagococcus* och *Weissella* (16). De allmänt kända, och som oftast kommersiellt används inom probiotisk livsmedelsproduktion, är emellertid

Lactobacillus, *Leuconostoc*, *Lactococcus*, *Streptococcus* och *Pediococcus*. Det finns ytterligare ett som släkte, *Bifidobacterium*, som räknas som LAB. De är inte närbesläktade, men på grund av att de påträffas under samma förhållanden som ”genuina” LAB (12) räknas de likväl in. Arterna *Streptococcus thermophilus* och *Lactobacillus bulgaricus* används allmänt i yoghurt. Dessa två arter gynnar varandra och sänker pH- värdet i mjölk mer än den enskilda bakterien har benägenhet att göra själv. En annan välkänd bakterie är *Lactobacillus plantarum* 299v som finns i drycken ProViva. Denna produkt anses mildra en irriterad tarm och innehar tillstånd att märkas med ett såkallat produktspecifikt hälsopåstående. Denna och flera (som anges i tabell nedan) andra bakterier som används kommersiellt för livsmedel är stamspecifika, dvs. bakterien har isolerats till släkte, art och typ av stam. Inom bakterietaxonomi används stam som den yttersta kategoriseringen för bestämning av en bakterie (12).

Mjölksyrabakterierna finner man naturligt på många ställen. De påträffas i tarmen på djur och människor, utanpå dvs. på huden och också på olika slags växtmaterial, bland annat vitkål (12).

Tabell (Exempel på bakteriestammar L= *Lactobacillus* och B=*Bifidobacterium*)

<i>L. acidophilus</i> NCFM	<i>L. casei</i> Shirota	<i>L. rhamnosus</i> LB21
<i>L. acidophilus</i> DDS-1	<i>L. plantarum</i> 299v	<i>L. rhamnosus</i> GG
<i>L. acidophilus</i> SBT-2062	<i>L. paracasei</i> F19	<i>L. salivarius</i> UCC118
<i>B. longum</i> SBT- 2928	<i>L. casei</i> Immunitas	<i>L. lactococcus lactis</i> L1A
<i>L. acidophilus</i> R0011	<i>L. rhamnosus</i> 271	<i>L. reuteri</i> SD2112

4.2.1 Definition

LAB brukar definieras efter ett antal generella krav (14), de ska:

- I huvudsak producera mjölksyra
- Vara grampositiva orörliga stavar eller kocker
- Vara katalasnegativa
- Tolerera låga pH
- Inte vara patogena
- Inte vara sporbildande

4.2.2 Produkter/Metaboliter

Produkter av fermentering skiljer sig beroende på bakterieart, omgivande miljö och vilken slags kolhydrat som förbrukas under processen. Kanske mest omskriva av fermenteringens produkter är de kortkedjiga fettsyror (SCFA). Nedan beskrivs dess uppkomst ur fermenteringen. Under mjölksyrebakteriens tillväxtperiod produceras också väteperoxid (se 4.2.4.1) vilket verkar hämmande för andra bakteriers tillväxt. LAB syntetiserar också antimikrobiella bakteriociner (antibiotika). *Lactobacillus salivarius* UCC118 producerar t.ex. ett ämne, Abp118 som i tester på möss visat sig minska infektioner av *Listeria monocytogenes*. (19)

Som nämnts i avsnitt 4.1.8. produceras också nisin och reuterin.

4.2.2.1 SCFA

Vid fermenteringen av kolhydrater sker en syntetisering av olika SCFA såsom smörtsyra, ättiksyra och propionsyra. Det är framförallt de lösliga polysackariderna pektin och vissa hemicelluloser som bidrar med denna produktion. Anledningen till detta är att kroppsegna enzymer inte kan spjälka cellulosa och andra polysackarider (20, 12). Dessa slags kolhydrater (som populärt kallas kostfiber) digererar alltså inte i tunntarmen utan når tjocktarmen intakta. Här producerar istället bakterier dessa enzymer som möjliggör hydrolysen av polysackariderna. De spjälkas till glukosenheter som bakterierna vidare kan nyttja som energi för sin egna metabolism. Det är denna anaeroba process som bildar SCFA. Den kemiska uppbyggnaden av olika slags kostfiber (prebiotiska kolhydrater) som fermenteras påverkar sammansättningen av produkterna, dvs. SCFA. Effekterna av SCFA anses vara många, t.ex. ska upptag av järn, magnesium och kalcium gynnas. Prebiotiska kolhydrater som fruktooligosackarider och inulin stimulerar specifikt Bifidobakteriernas tillväxt, andra bakterier tillväxt t.ex. vissa *Clostridium* hämmas då. (12). Fler prebiotiska kolhydrater namnges under kapitel (4.1.7)

Vidare bildas det under fermentationsprocessen ämnen som kolin, acetylkolin (ester av acetat och kolin), vitamin B₁₂, C-vitamin, ett flertal enzymer samt doft och aromämnen. Kolin anses vara blodtryckssänkande och jämna ut näringsupptaget i blodet samt påverka fettbearbetningen i kroppen. Acetylkolin förbättrar tarmens blodcirkulation och dess peristaltiska verkan. Dessutom inverkar cellulosan i kålen positivt genom att föra med sig slaggprodukter från tarmväggen. LAB:s huvudprodukt mjölksyra, är bra för matspjälkningen, magtarmsystemets pH, gynnar järnupptaget som är beroende av C-vitamin samt främja bukspottskörtelns funktion. (21)

4.2.3 Metabolism

I alla levande celler sker det kontinuerligt ett flertal biokemiska reaktioner. Reaktionerna i heterotrofa (som kräver organiskt ämne) mikroorganismer delas upp i energigivande nedbrytningsprocesser (katabolism) och energiförbrukande uppbyggnadsprocesser (anabolism). Nedbrytningen genomgår ett flertal redoxprocesser dvs. reduktion - oxidation processer (11). Väte förflyttas från ett organiskt ämne som härmed oxideras (vätedonator) till annat ämne som då reduceras (väteacceptor). Det handlar alltså om väteförflyttning i förbindelse med varandra. Huruvida nedbrytningen sker aerobt eller anaerobt dvs. med eller utan syre som väteacceptor skiljs katabolismen i två riktningar, nämligen respiration (andning) och fermentation (jäsning) (11). Respiration är den reaktion som vi människor och djur utnyttjar, denna variant av nedbrytning alstrar mer energi jämfört med den anaeroba motsvarigheten, dvs. fermentation.

4.2.4 Fermentationens kemi

Som nämns ovan innebär fermentering nedbrytning av ett organiskt ämne (t.ex. aminosyror eller kolhydrat) under anaeroba förhållanden. Vid denna nedbrytning sker väteöverföringen inom molekylerna, dvs. det organiska ämnet verkar som både donator och acceptor. Man skiljer på etanoljäsning som är karaktäriserande av olika jästarter samt mjölksyrajäsning som är en huvudsaklig slutprodukt av ett flertal LAB, därav namnet, Lactic Acid Bacteria (mjölkisyra bakterie). Men även slutprodukten av LAB kan skilja sig, man delar in dem i homo- och heterofermentativa beroende på vilka slutprodukter som bildas. (11,14)

4.2.4.1 Homo och heterofermentativa

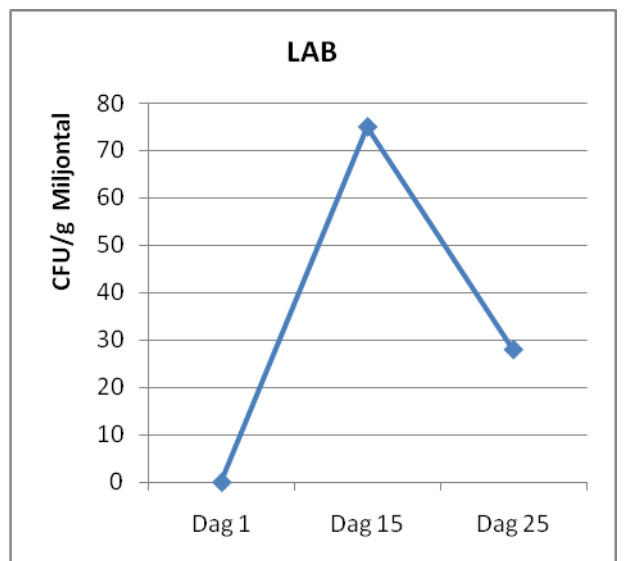
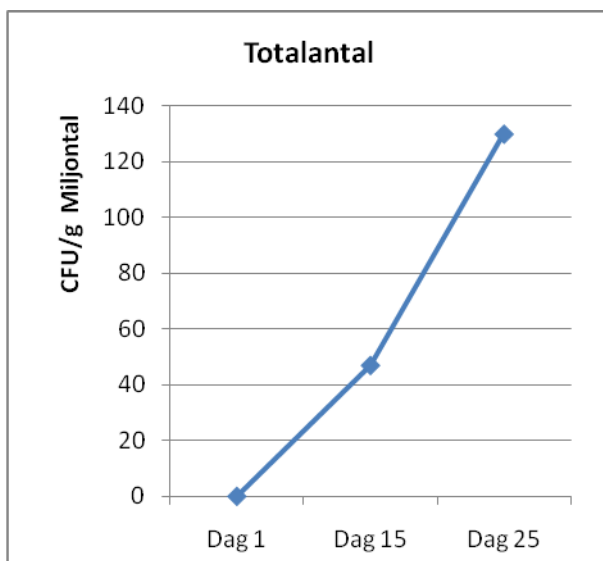
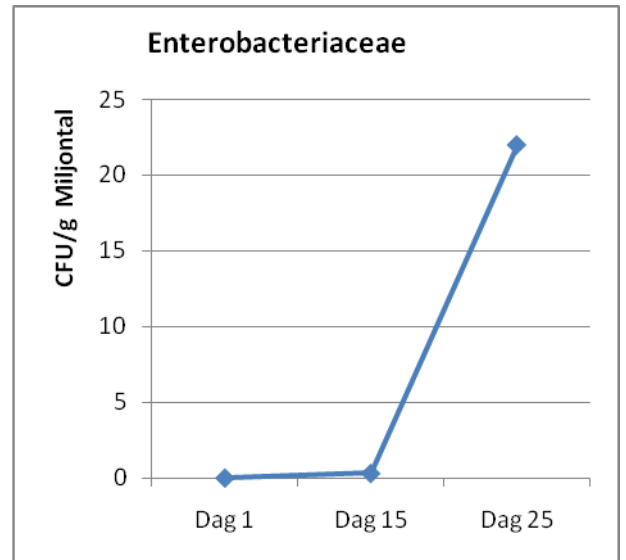
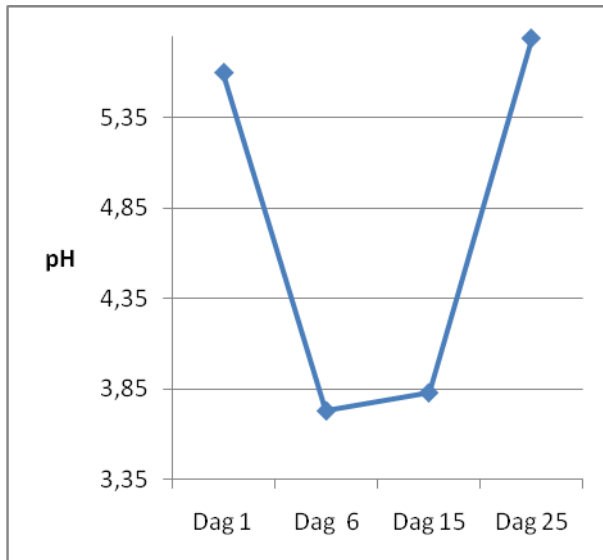
LAB har som gemensam nämnare att de i sin energigivande nedbrytningsprocess katabolism (11) i huvudsak bildar mjölksyra (α -hydroxi-propansyra) (3) vid fermentering, men skillnader finns. De delas in i två funktionella grupper, nämligen homofermentativa, som endast producerar mjölksyra, och heterofermentativa som förutom mjölksyra även producerar etanol och CO_2 . Om syre finns att tillgå kan ett flertal av de heterofermentativa och en del stammar homofermentativa LAB respirera (aerob nedbrytning), dvs. utnyttja syre som väteacceptor. När så är fallet (speciellt de homofermentativa) ansamlas väteperoxid som undertrycker tillväxten. (14)

Arter ingående i släktena *Lactococcus*, *Enterococcus*, *Streptococcus*, *Pediococcus* och ett antal i släktet *Lactobacillus* är homofermentativa. Dess metabolism är en glykolys enligt Embden–Meyerhof–Parnas modell (22) och visar att en mol glukos ger två mol mjölksyra. Dess kataboliska motsats, den heterofermentativa, rymmer släktena *Leuconostoc*, *Weissella* och även här finns *Lactobacillus* – varianter. Mönstret för denna metabolism är hexos-monofosfat-pentos och producerar vardera en mol mjölksyra, etanol och CO_2 . (22)

5 Resultat, praktisk del

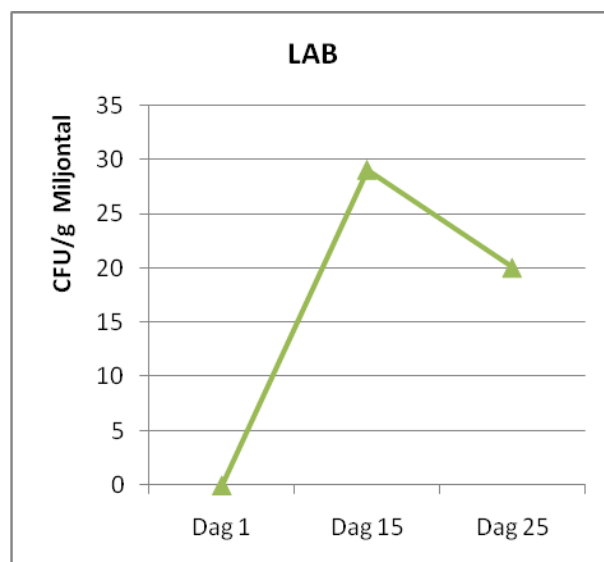
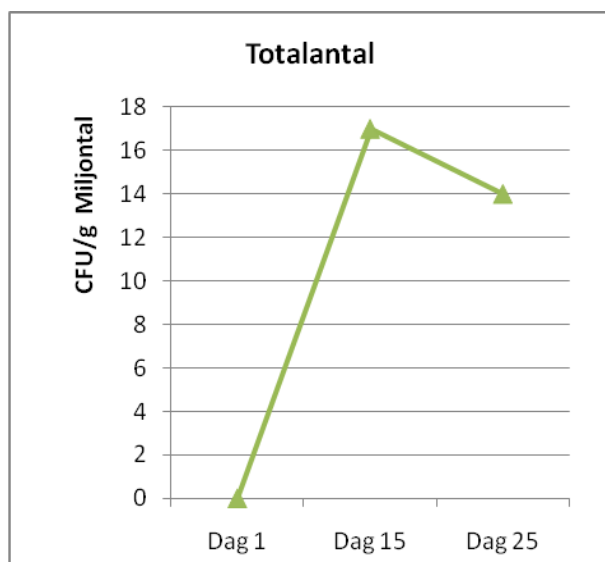
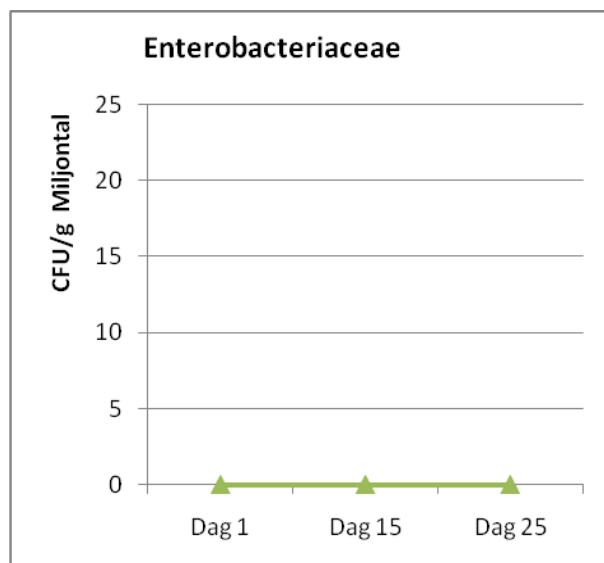
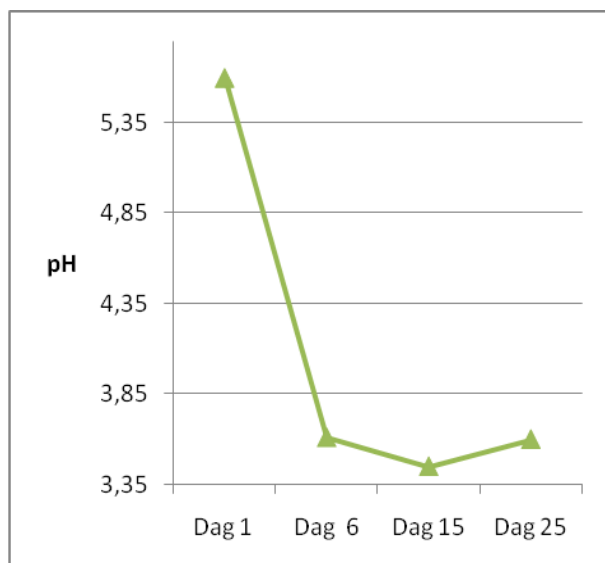
5.1 Diagram, pH-värden och mikroorganismer

Ekologisk vitkål utan startkultur (X-axel markerar dag för provtagning)



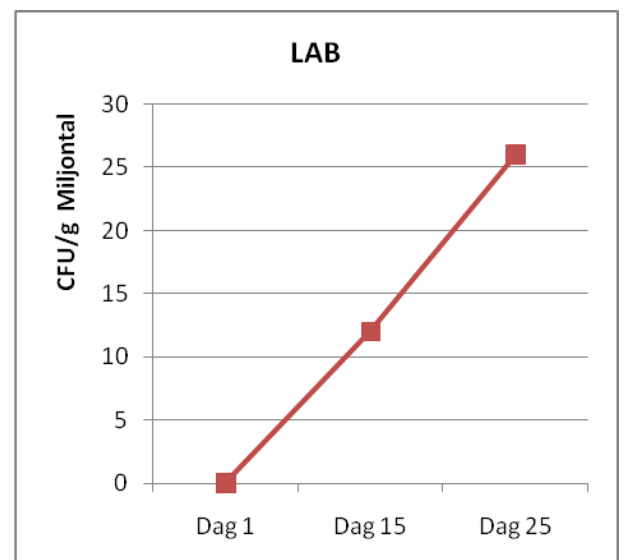
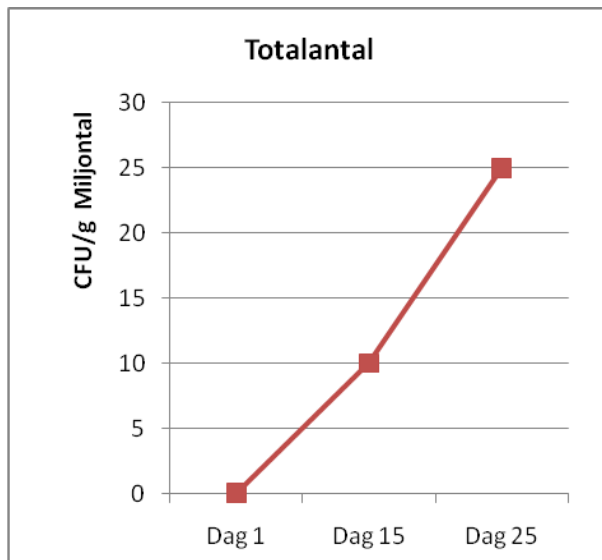
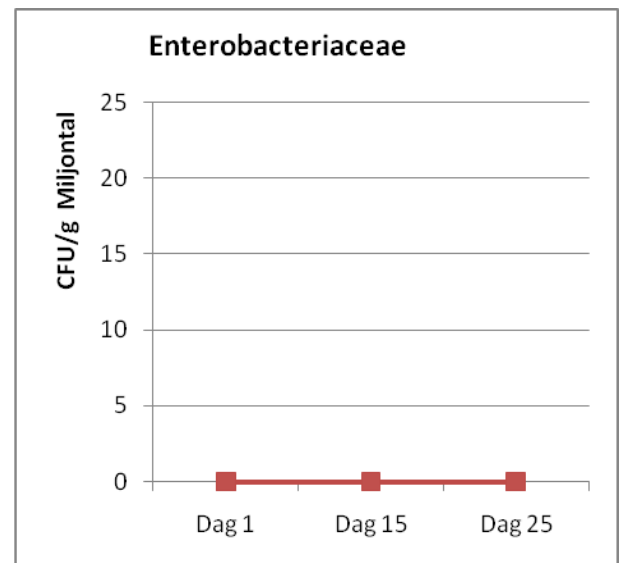
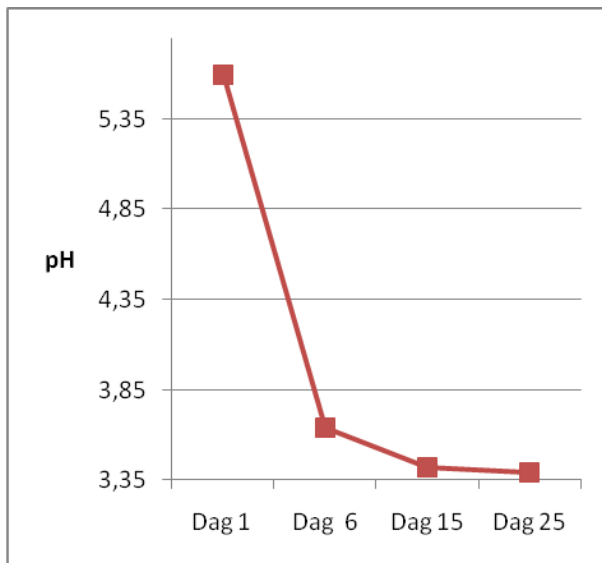
pH – värde ökar markant efter dag 15 samtidigt som LAB minskar. Här ser vi också en tillväxtfas av både *Enterobacteriaceae* och totalantal. När LAB minskar och övriga mikroorganismer ökar, avtar produktionen av mjölksyra och SCFA, pH- värdet ökar.

Ekologisk vitkål med yoghurtbakterier som startkultur (X-axel markerar dag för provtagning)



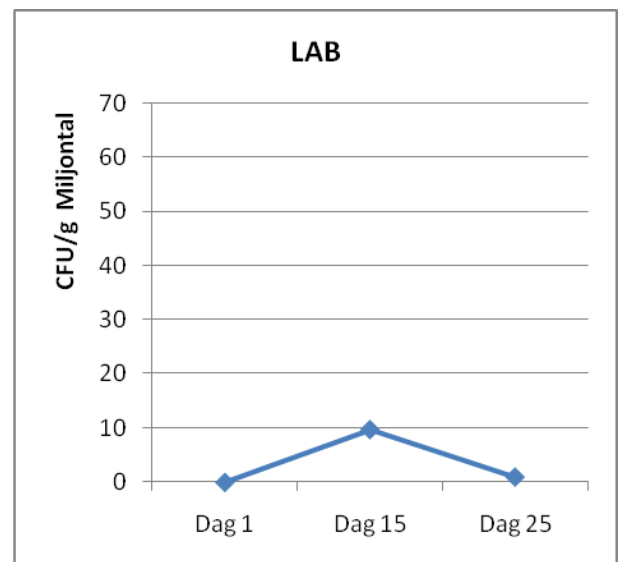
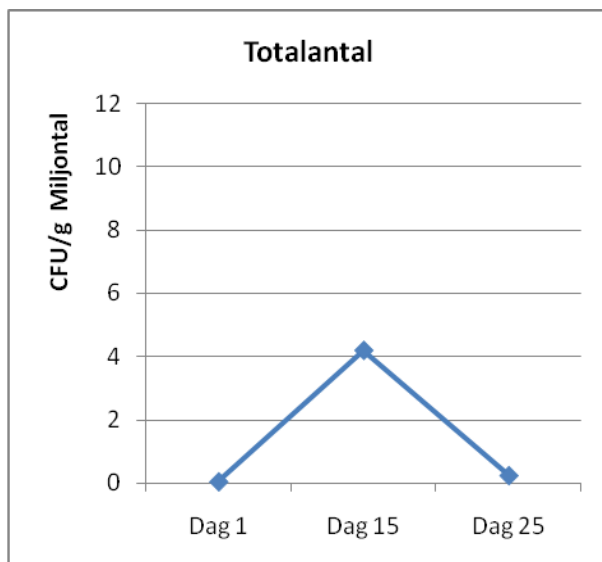
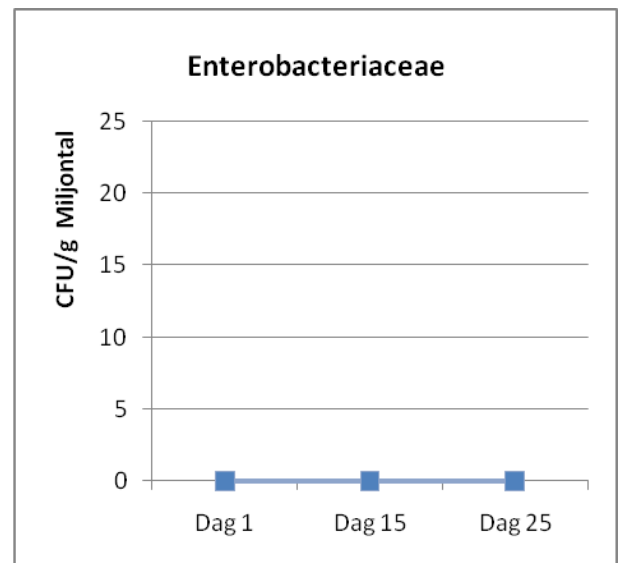
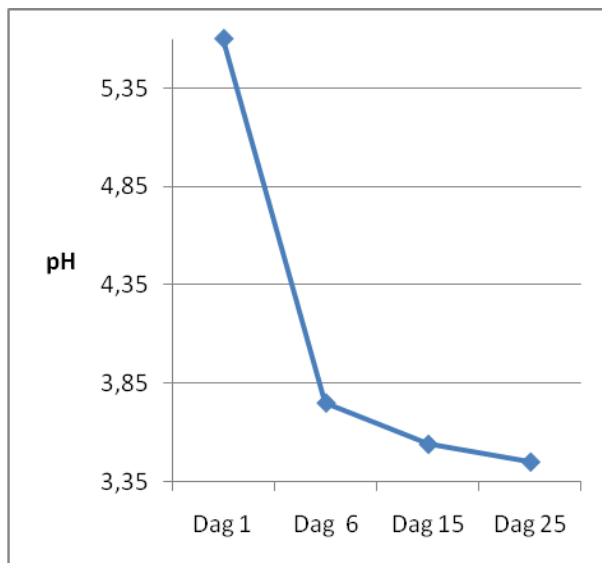
Startkulturen har gett en god fermentation av vitkålen fram till dag 15 både vad beträffar pH – värde och LAB. En viss minskning av LAB efter dag 15, med åtföljande höjning av pH-värde, har registrerats. Förekomst av övriga mikroorganismer (totalantal) har samtidigt minskat.

Ekologisk vitkål med startkultur 299v (X-axel markerar dag för provtagning)



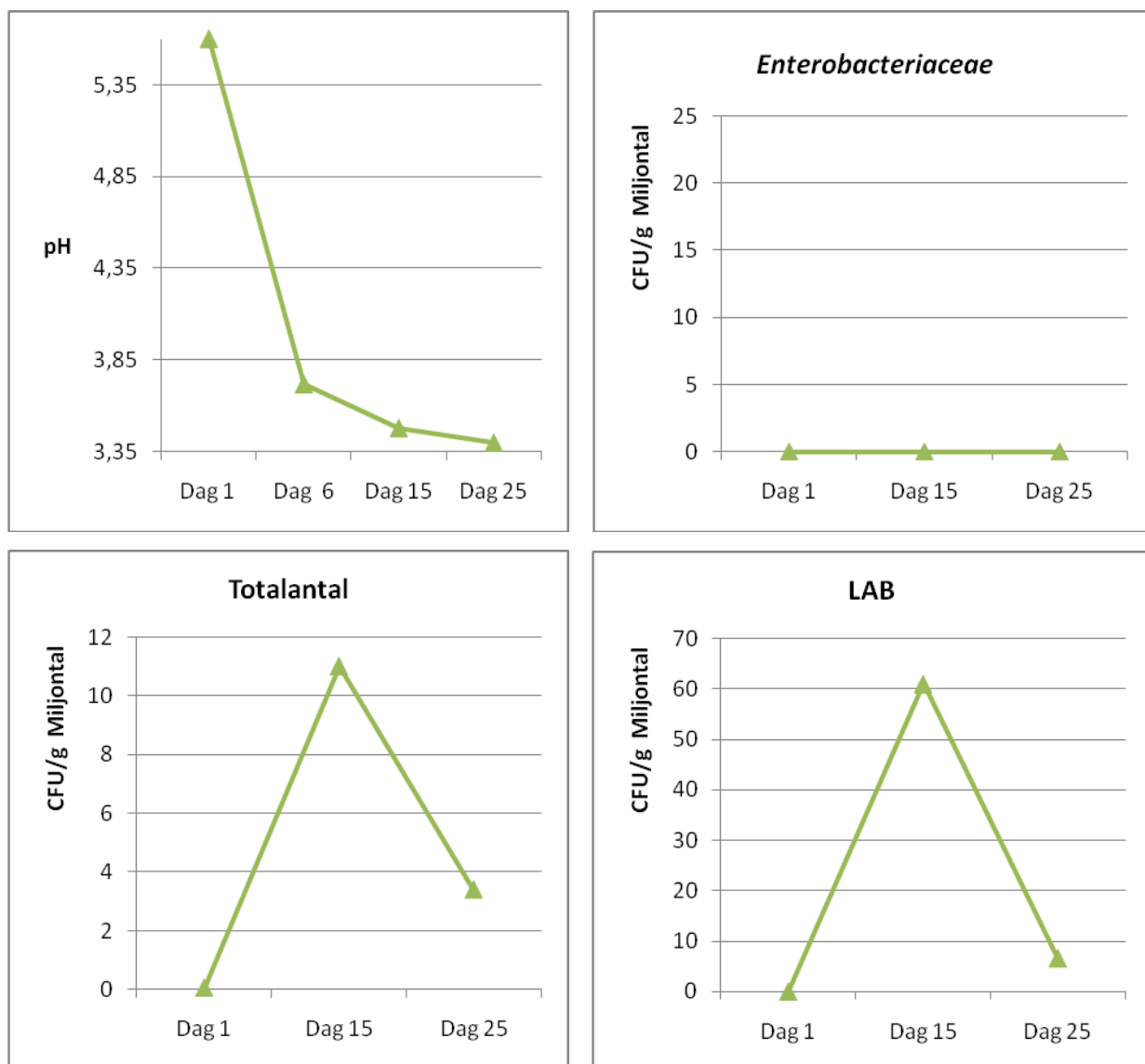
Startkulturen har gett det bästa resultatet vad beträffar pH-värde, som stadigt föll och förekomst av LAB, som stadigt ökade.

Konventionell vitkål utan startkultur (X-axel markerar dag för provtagning)



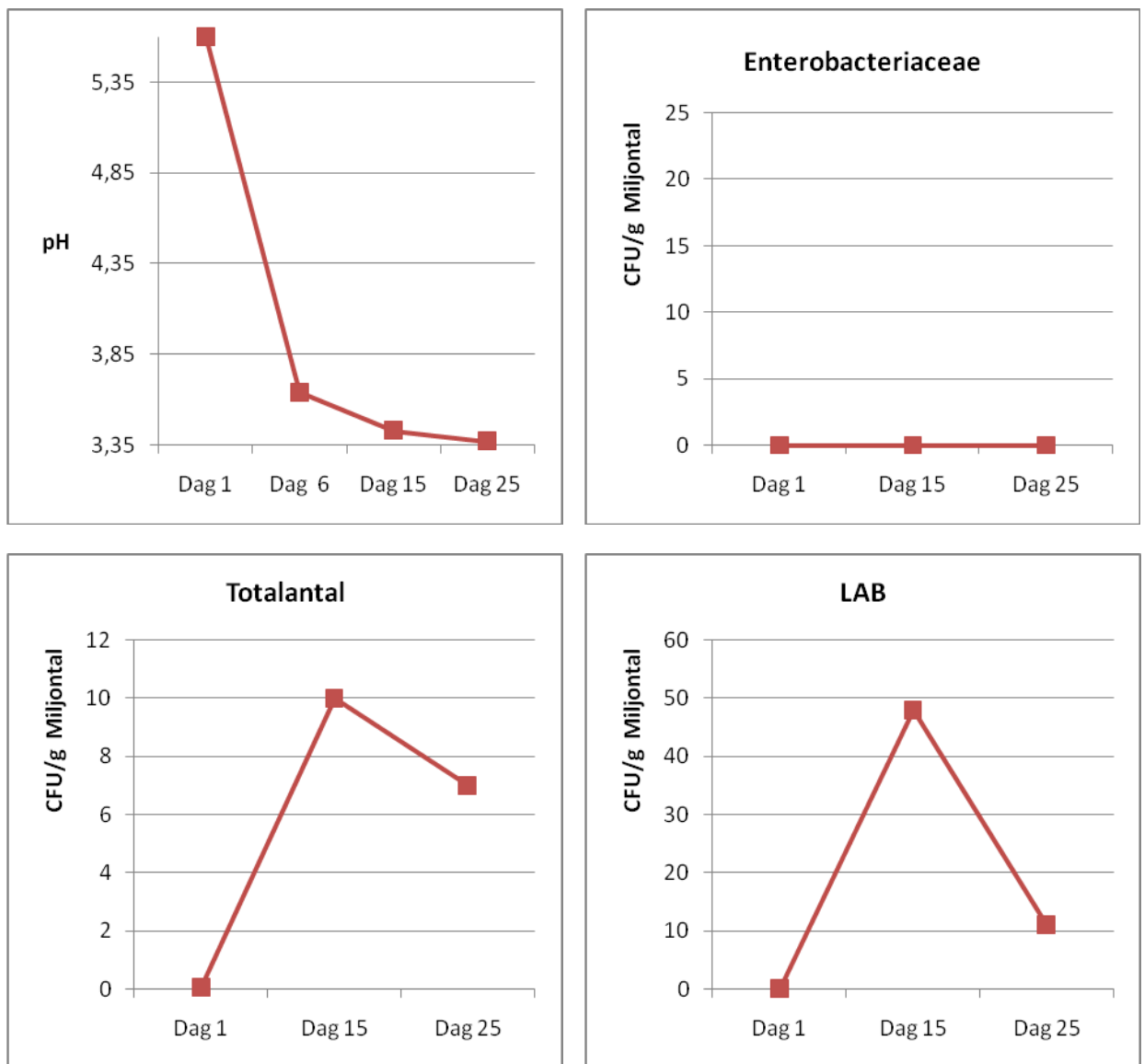
Den naturella floran av LAB var tillräcklig för en god fermentation av vitkålen, trots det lägsta uppmätta antalet LAB cfu/g dag 15 och 25. Mycket låg förekomst av *Enterobacteriaceae*.

Konventionell vitkål med yoghurtbakterier som startkultur (X-axel markerar dag för provtagning)



Startkulturen har initialt, likt den ekologiska, gett en god fermentation av vitkålen med stadigt sjunkande pH-värde. God förekomst av LAB dag 15 som dock avtar kraftigt till dag 25.

Konventionell vitkål med startkultur 299v (X-axel markerar dag för provtagning)



Startkulturen har gett det bästa resultatet vad beträffar pH-värde, som stadigt föll och förekomst av LAB, som stadigt ökade.

5.2 Tabell, identifierade sekvenser 16S ribosomal RNA

Tabell över isolat av LAB från de olika fermenteringarna av vitkål som identifierats med hjälp av sekvensering av 16S rRNA gener.

Kålsort/startkultur	Provtagning dag 15	Provtagning dag 25
Eko* naturell	<i>L. pentosus</i>	<i>L. plantarum</i>
Eko yoghurt	<i>L. plantarum</i>	<i>L. plantarum</i>
Eko 299v	<i>L. plantarum</i>	<i>L. plantarum</i>
Konv** Naturell	<i>L. plantarum</i>	<i>L. plantarum</i>
Konv Yoghurt	<i>L. plantarum</i>	Sekvens saknas
Konv 299v	<i>L. plantarum</i>	<i>L. pentosus</i>

* Eko = ekologiskt odlad vitkål

** Konv = konventionellt odlad vitkål

6 Resultat, sensorisk del

Av de 6 satser surkål som gjordes var 3 oätliga och 3 mycket goda. Surkålen som ympades med 299v var i båda fallen mycket goda, hade klar vätska och doftade friskt. I båda satserna ympade med yoghurt misslyckades fermentationen. De var oätliga, hade grumlig vätska, doftade jäst, smörsyra och alkohol. Vad beträffar de naturella fermentationerna blev den med ekologisk kål oätlig. Den luktade ruttet, varför inga smakdommen finns. Den konventionella var mycket god, hade klar vätska och doftade friskt.

Tabell, resultat sensoriskt test:

	Smak	Lukt	Konsistens	Utseende
Eko* naturell	Oätlig	Obehaglig, ruttet	Upplöst, slemmig	Brun med vita skikt, grumlig vätska
Eko yoghurt	Besk, ruttet, oätlig	Jäst, surt	Krispig	Ytskikt slemmig, grumlig vätska
Eko 299v	Mycket god, frisk, mycket syrlig, ngt besk	Frisk, syrlig	Krispig	Friskt, klar vätska
Konv** Naturell	Mycket god, frisk, syrlig	Frisk, syrlig	Krispig	Friskt, klar vätska
Konv Yoghurt	Oätlig	Obehaglig	Krispig	Ytskikt slemmig, grumlig vätska
Konv 299v	Mycket god, frisk, syrlig	Frisk, syrlig	Krispig	Friskt, klar vätska

* Eko = ekologiskt odlad vitkål

** Konv = konventionellt odlad vitkål

7 Resultatdiskussion

P.g.a. skillnaden i bakteriernas tillväxt har vi, för ett visuellt resultat i diagramform, använt olika skalor på y-axeln. Vid användandet av genomgående samma skala, i vår sammanställning, hade de flesta diagram annars inte gett någon kurva utan visat en flat linje nära 0.

Resultaten i diagrammen för totalantal bör tolkas så att flertalet är LAB, därav det höga antalet. Att antalet LAB är högre än vad totalantal bakterier är, beror förmodligen på att LAB tillväxer utan konkurrens från andra mikroorganismer på Rogosa agar. Detta substrat är specifikt för LAB.

Det fanns ett mindre antal mikroorganismer (LAB, totalantal och *Enterobacteriaceae*) på den ekologiskt odlade vitkålen än på den konventionellt odlade (se bilagor, tabell 9.2.2, dag 1) Detta är lite anmärkningsvärt, eftersom ekologiskt odlad vitkål enligt litteratur (24) skall vara att föredra vid fermentering. De kemikalier man använder till besprutning sägs minska LAB. Den konventionella kålen gav genomgående ett bättre resultat än den ekologiska, vad beträffar pH-värden och LAB.

Förekomst av LAB kan vara lite förbryllande eftersom den naturella ekologiskt odlade kålen dag 1 hade <1 cfu/g (lägst uppmätta antal LAB, förmodligen hade provtagning på en annan bit vitkål visat LAB) och dag 15 innehåller $7,5 \times 10^7$ cfu/g LAB (högst uppmätta antal LAB), medan den naturella konventionella, i jämförelse innehåller mycket mindre, $8,6 \times 10^2$ cfu/g LAB dag 1 och $9,7 \times 10^6$ cfu/g LAB dag 15. Ändå gav den sistnämnda ett bättre slutresultat. Man tycker sig kunna utläsa ur våra resultat att det inte är mängden LAB som avgör resultatet utan deras arts specifika egenskaper. Dock vill vi poängtera att underlaget är för litet i vår undersökning för att dra någon slutsats.

Det är av betydelse för fermentationsresultatet när på året vitkålen skördas och hur länge kålen lagrats (23). Ju kortare tid mellan skörd och påbörjad fermentation, dess bättre resultat. Vår studie gjordes i månaderna mars – maj, dvs. de sämsta möjliga förutsättningar, vad vitkålens kvalitet beträffar. Vi använde kål som skördats på hösten och sedan lagrats till mars månad. Skörd och lagringsfaktorer har enligt erfarna surkålsmakare (23) större påverkan på resultatet än skillnaden mellan ekologiskt och konventionellt odlad vitkål.

Vi drar den slutsatsen, utifrån den vitkål vi använde, att det ger ett säkrare fermentationsresultat med tillsättande av en startkultur. Detta gäller i synnerhet *Lactobacillus plantarum* 299v som klarar att sänka pH-värdet under 3,4 (2). I vår undersökning fann vi i de två satser som gjordes med 299v de genomgående lägsta pH-värdena trots en lägre förekomst av LAB än i proven gjorda med yoghurt. Det påverkade således inte resultatet att startkulturen framtagen ur Pro Viva hade en högre sockerhalt. Denna extra energi gav inte den ”flygande start” man kunde förmoda. Vi drar också slutsatsen att bakteriekulturerna i yoghurt är bättre avsedda för fermentation av mjölkprodukter än av vegetabilier. Detta är en egen slutsats som grundar sig på vår

undersöknings resultat. Båda satser med 299v var utmärkta, medan båda satserna yoghurtbakterier blev dåliga. Detta understryks av de identifierade sekvenserna, 16S ribosomal RNA (tabell 5.2) där *Lactobacillus plantarum* dominerar. Här bör poängteras att *Lactobacillus pentosus* och *Lactobacillus plantarum* är i stort sett identiska i en sekvensering 16S ribosomal RNA. Det finns därmed anledning att förmoda, i de provresultat vi fått, att alla egentligen är *Lactobacillus plantarum*. Denna förmodan är i enlighet med forskningsresultat vi har funnit (18).

För att återgå till vår inledande hypotes, ”mjölksyrabakterierna kommer att, med de levnadsbetingelser de skapar, konkurrera ut andra befintliga mikroorganismer”. Om vi applicerar den på vårt resultat kan vi konstatera att den inte stämde, av 6 satser blev 3 bra och 3 dåliga. Av de tre som blev bra var två av den konventionella kålen (299v och naturell) och den ekologiska med 299v, vilka alltså bekräftade vår hypotes. Av de tre som blev dåliga var en ekologisk naturell. I denna utvecklades förmodligen aeroba mikroorganismer vilka oxiderade mjölksyra med påföljd att pH-värdet steg. Detta kan ha gynnat produktförstörare som *Pseudomonas* (16) vilket startade en oönskad förruttelseprocess. För mycket smörsyra bildades, detta gjorde surkålen slemmig och illaluktande (21). De andra två som blev dåliga var ekologisk och konventionell med yoghurt. Möjligtvis beror minskad LAB och sänkning av pH-värde, som ovan på syretillförsel vid provtagning. En oönskad jäsningsprocess (etanoljäsnings) har startat efter dag 15 och även här har för mycket smörsyra bildats.

Avslutningsvis vill vi rekommendera läsaren ett dagligt intag av LAB, i ”adekvata mängder” för att ge alla de goda hälsoeffekter vi redovisat. Vi vill också konstatera att fermentering av vitkål är en konst som kräver många års erfarenhet.

8 Källhänvisningar

(Internetadresser kontrollerade och överensstämmande med rapportinnehåll 2009-05-18)

1. Bra Böckers Lexikon (1986) Höganäs: Bokförlaget Bra Böcker
2. Klarin B. (2008) *Using Probiotics in Intensive Care*. Doktorsavhandling Lunds universitet, Medicinska fakulteten, (sid. 8 – 20, 61 – 63)
3. Nationalencyklopedin (NE) <http://ne.se.ludwig.lub.lu.se>
4. Perdigón G, Fuller R och Raya R. *Lactic acid bacteria and their effect on the immune system*. <http://www.open-access-biology.com/probiotics/perdigon/perdigon.html>
5. Utbildningsmaterial- medicin, *Immunförsvaret*. www.ts.mah.se/utbild/mi7931/V_05/ImmunV_05.rtf
6. Umeå universitet, <http://www.info.umu.se/nyheter/Pressmeddelande.aspx?id=451>
7. Fadeel, B. *Programmerad eliminering av celler*. <http://vrproj.vr.se/detail.asp?arendeid=38509>
8. Moström, A. *Antikroppar*. <http://www.neuro.ki.se/neuro/KK2/antikropp.html>
9. Ménard S, Candalh C, Bambou JC, Terpend K, Cerf-Bensussan N, Heyman M. *Lactic acid bacteria secrete metabolites retaining anti-inflammatory properties after intestinal transport*. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15138208?ordinalpos=5&itool=EntrezSystem2.PEntrez.Pubmed.Pubmed_ResultsPanel.Pubmed_DefaultReportPanel.Pubmed_RVDocSum
10. Genetiknämnden. *Genetikens utveckling under 2001*. <http://www.genteknik.se/Bazment/44.aspx>
11. Thougard H, Varlund V, Madsen RM. (2007) *Grundläggande mikrobiologi med livsmedelsapplikationer*. Studentlitteratur (sid. 96, 234)
12. Blücher, A. (2007) Probiotika och prebiotika- positiva mikroorganismers betydelse, *Functional foods*. Studentlitteratur (sid. 129-147)

13. H. Matsusaki, N. Endo, K. Sonomoto, A. Ishizaki
<http://springerlink.metapress.com.ludwig.lub.lu.se/content/lc79r6bvy953b4fx/fulltext.pdf>
14. Molin, G.(1998) Mjölksyrafermenterade livsmedel. *Livsmedelsmikrobiologi*. Lund: Göran Molin förlag AB (sid. 121-130)
15. Miguel A. Zamudio-Jaramillo, Adrian Hernandez-Mendoza, Victor J. Robles, Patricia G. Mendoza-Garcia, Jos´e Joel Espinosa-de-los-Monteros and Hugo S. Garcia.
<http://download.interscience.wiley.com.ludwig.lub.lu.se/cgi-bin/fulltext?ID=121382374&PLACEBO=IE.pdf&mode=pdf&CRETRY=1&SETRY=0>
16. Stiles, M.E. Holzapfel, W.H. (1997) *Lactic acid bacteria of foods and their current taxonomy*. International Journal of Food Microbiology. Elsevier
http://www.sciencedirect.com.ludwig.lub.lu.se/science?_ob=MIimg&_imagekey=B6T7K-3RJG2PV-1-1&_cdi=5061&_user=745831&_orig=search&_coverDate=04%2F29%2F1997&_sk=99639998&_view=c&_wchp=dGLzVlz-zSkWz&_valck=1&_md5=3fbaefc52650df397d83c7a617134e84&_ie=/sdarticle.pdf
17. Lund, B. (2000) Microbiological chemical changes during fermentation. *The microbiological safety and quality of food*. Aspen Publishers. Gaithersburg (sid.686- 693)
18. Plengvidhya V, Breidt F(jr), Lu Z, Fleming H P. *DNA Fingerprinting of Lactic Acid Bacteria in Sauerkraut Fermentations*.
<http://aem.asm.org.ludwig.lub.lu.se/cgi/reprint/73/23/7697>
19. Pfeiler, E. A.; Klaenhammer, T.R. (2007) *The genomics of lactic acid bacteria*.
<http://elin.lub.lu.se.ludwig.lub.lu.se/elin?func=record&query=05ff5a529e43104ef982270dbb81f602&lang=se&start=0&fromColl=1&orgFunc=simpleSearch>
20. Furugren, Bo. (2007) Kolhydrater. *Matens Molekyler*. Studentlitteratur (sid. 229-234)
21. Schöneck, A. (2007) *Mjölksyrejäsning av grönsaker*. Syrans förlag: Arboga (sid. 64-72)
22. Paul Ross R, Morgan S, Hill C. *Preservation and fermentation: past, present and future* (sid. 6)
<http://elin.lub.lu.se.ludwig.lub.lu.se/elin?func=record&resid=73763296a27016cc875f912ca9a3b257&lang=se&query=all%3A%22Preservation%20and%20fermentation%3A%20>

[20past%20%20present%20and%20future%22&start=0&sessionId=3CA7A0C694A472EFDAE6D00CA2AA4415&orgFunc=basicSearch&ftxtOnly=&sdi](#)

23. Intervju gjord med erfaren surkålstillverkare Uldis Sterninieks i Riga, Lettland
2009-04-12

24. Olefalk, T. *Mjölksyrejämsning av grönsaker*
http://www.eldrimner.com/3462.mjolksyrejasning_av_gronsaker_med_tom_olefalk.htm
1

9 Bilagor

9.1 Recept surkål

Publicerat med vänligt tillstånd av eldrimner (24)

Tillverkning av rivna grönsaksprodukter

Exempel på detta är surkål, rivna rödbetor (Borstj) och syrade rivna morötter.

SÖNDERDELNINGEN spelar ingen större roll, men finfördelade produkter saftar sig lättare.

SALTET däremot spelar stor roll eftersom det drar ur vätskan ur grönsakerna vilket skapar en syrefri miljö. Rekommenderad salthalt är 1-2 %. En högre salthalt gör att det saftar sig lättare, ger en fastare produkt och är positivt för smaken, men det gäller att tänka på hälsoaspekten också.

BANKNING är inte alltid nödvändigt, ofta räcker det att blanda de rivna grönsakerna med salt för att vätskan ska dras ur. Att banka hjälper till att gnida in saltet snarare än att pressa ur saften. Produkten packas så att vätskan står över det fasta materialet.

SKAPA SYREFRI miljö med hjälp av ett vattenlås eller ett tättslutande lock. Det går även att göra en öppen jäsning med en barriär av hela kålblad och en tyngd ovanpå, men det är känsligare.

KÅLEN behöver inte sköljas med de yttersta bladen tas bort. Huvudena delas och den hårda stocken skärs bort. Stocken finrivs och tillsätts eftersom den är mineralrik och också ger en mer stabil surkål. De kryddor som används är exempelvis kummin, enbär, lingon, lök, och äpple. När detta blandats med salt (1,5 %) får kärlet stå i 24°C i 2-3 dagar och sedan 18°C i 3 veckor. Nu smakar produkten gott, men för att kunna burka upp den måste den stå ytterligare minst en månad i kyla. Kålen håller i tunnorna i 1,5 år, och efter uppburkning ca 3-4 månader.

9.2 Tabeller

9.2.1 Näringsvärde vitkål/surkål:

(källa SLV)

Näringsämne	Vitkål	Surkål	Vikt
Fiber	2,0	1,7	g
Energi	108	70	kJ**
Protein	1,4	0,9	g
Kolhydrat	3,8	2,0	g
Fett	0,1	0,2	g
Fettsyra C18:3	0,0	0,1	g
Monosackarid	3,3	0,0	g
Disackarid	0,1	0,1	g
Sackaros	0,1	0,1	g
Retinolekvivalenter	6,0	1,0	*
Vitamin E	0,02	0,00	mg
α -Tokoferol	0,02	0,00	mg
Karoten	66	12	μ g
Tiamin	0,05	0,02	mg
Riboflavin	0,04	0,02	mg
Askorbinsyra	36	15	mg
Niacinekvalenter	0,6	0,3	*
Niacin	0,4	0,1	mg
Vitamin B6	0,10	0,10	mg
Folat	57	40	μ g
Fosfor	30	28	mg
Järn	0,40	1,10	mg
Kalium	270	260	mg
Kalcium	45	42	mg
Magnesium	13	13	mg
Natrium	14	320	mg
Selen	2,9	0,0	μ g
Zink	0,20	0,30	mg
Vatten	92	93	g

*omräkningsfaktorer anges ej i vikt

1 retinolekvivalent = 1 μ g retinol = 6 μ g beta-karoten.

1 niacinekivalent = 1 mg niacin

** mått på energiinnehåll

9.2.2 Mikroorganismer, cfu/g:

Kålsort/startkultur	Cfu/g <i>Enterobacteriaceae</i>			Cfu/g Totalantal			Cfu/g LAB		
	Dag 1	Dag 15	Dag 25	Dag 1	Dag 15	Dag 25	Dag 1	Dag 15	Dag 25
Eko* naturell	1×10^2	3×10^5	$2,2 \times 10^7$	3×10^2	$4,7 \times 10^7$	$1,3 \times 10^8$	< 1	$7,5 \times 10^7$	$2,8 \times 10^7$
Konv naturell	3×10^3	< 1	< 1	$5,5 \times 10^4$	$4,2 \times 10^6$	$2,5 \times 10^5$	$8,6 \times 10^2$	$9,7 \times 10^6$	$9,8 \times 10^5$
Eko yoghurt	***	< 1	< 1	***	$1,7 \times 10^7$	$1,4 \times 10^7$	***	$2,9 \times 10^7$	$2,0 \times 10^7$
Konv **yoghurt	***	< 1	< 1	***	$1,1 \times 10^7$	$3,4 \times 10^6$	***	$6,1 \times 10^7$	$6,6 \times 10^6$
Eko 299v	***	< 1	< 1	***	$1,0 \times 10^7$	$2,5 \times 10^7$	***	$1,2 \times 10^7$	$2,6 \times 10^7$
Konv 299v	***	< 1	< 1	***	$4,5 \times 10^7$	$7,0 \times 10^6$	***	$4,8 \times 10^7$	$1,1 \times 10^7$

9.2.3 pH värden vitkål/surkål:

Kålsort/startkultur	pH Naturell	pH Yoghurt(startkultur)	pH Pro Viva(startkultur)
Eko dag 1	5,60	***	***
Konv dag 1	5,60	***	***
Eko dag 6	3,73	3,61	3,64
Konv dag 6	3,75	3,72	3,64
Eko dag 15	3,83	3,45	3,42
Konv dag 15	3,54	3,48	3,43
Eko dag 25	5,79	3,60	3,39
Konv dag 25	3,45	3,40	3,37

* Eko = ekologiskt odlad vitkål

** Konv = konventionellt odlad vitkål

*** inga resultat eftersom startkulturer ännu inte är tillsatta dag 1