

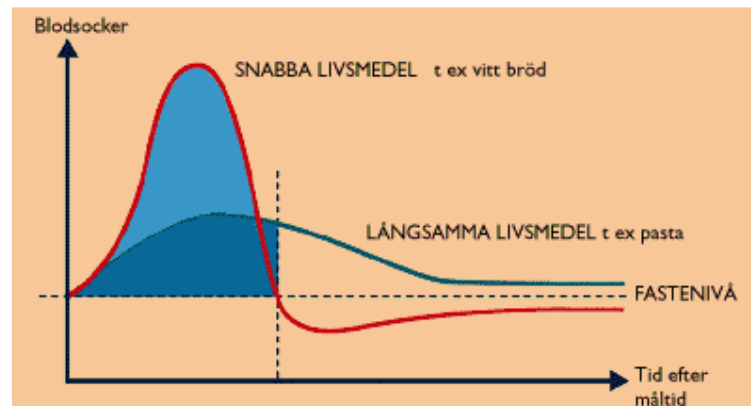
Examensarbete 20p utfört vid Cerealia R&D AB Malmö
Livsmedelsagronomprogrammet
SLU inst. f. Livsmedelsvetenskap Uppsala

Titel

Strukturegenskaper hos cerealier och dess betydelse för stärkelsens nedbrytningshastighet

-Metodutveckling av stärkelsehydrolys *in vitro* och bestämning av hydrolysisindex (HI)

Av: Jonas Jönsson



(Källa: Sötningslexikon, 1996; s. 35)

Handledare: Ingemar Gröön, Cerealia R&D
Handledare/Examinator: Margaretha Jägerstad, SLU

1 Referat

Snabba kolhydraterna har i kostdebatten ibland utpekats som en av orsakerna till metabola syndromet (insulinresistens och höga blodfetter). Stärkelsen i sin renaste form bidrar till att blodsockernivån höjs dramatiskt efter måltid precis som en ren glukoslösning. Att vi skall undvika att äta ren glukos för att minska risken för metabola syndromet känns naturligt, men att undvika stärkelsesrika livsmedel är svårare att förstå. Det kräver ett nytt tänkande att dela in livsmedel i snabba och långsamma, beroende på hur de påverkar blodsockerhöjningen efter en måltid. Många livsmedel har fått ett glykemiskt index (GI) som ett mått på kolhydraternas kvalitet. GI underlättar för konsumenten att välja rätt livsmedel, speciellt lämpligt är det för diabetiker och för dem som ligger i riskzonen för metabola syndromet. Industrin har anammat problemen kring snabba kolhydrater och gör allt för att hitta nya lösningar och produkter som kan ha en GI-sänkande effekt. Det har visat sig att strukturen hos livsmedlet har en stor effekt på hastigheten med vilken stärkelsen bryts ner och orsakar blodsockerhöjningen. Detta examensarbete fokuserar på stärkelsens nedbrytningshastigheten i spannmålsbaserade livsmedel och hur olika strukturer och behandlingar påverkar bildningen av glukos. För att underlätta studierna av stärkelsens nedbrytningsmönster har en *in vitro* metod utvecklats. Livsmedlet utsattes för enzymatisk hydrolys med en cocktail av α -amylas och amyloglukosidas som bryter ner stärkelsen till enkla socker. Glukoskoncentrationen mättes under hydrolysen (200 min) med en biosensor och plottades i en hydrolyskurva över tiden. Arean under hydrolyskurvan jämfördes med motsvarande area för ett referensbröd och skillnaden beräknades som ett hydrolysisindex (HI). Tre olika produktgrupper studerades: pastaprodukter, havreprodukter och trekornspop. Pastan representeras av tre konsumentprodukter som redan finns att köpa på marknaden. Havreprodukterna är en serie av havrekärnor som valsats olika tjocka (0,54-2,0 mm). Trekornspoppen är en ingrediens som finns i müsliprodukter och är en blandning av tre sädeslag (korn, vete och råg) som poppats och valsats. Alla produkterna hydrolyserades obehandlade (hela) och tuggade (15 ggr). Under inledande pilotstudier användes en pastaprodukt som utsattes för flera olika förbehandlingar (malning, pressning, tuggning och obehandlad), men det visade sig att obehandlad och tuggad gav de intressantaste resultaten. Ett HI-värde beräknades med vitt formbröd som referens. Alla produkter som testats har varit signifikant ($P < 0,01$) skilda från referensbrödet. Inom pastaprodukterna utmärkte sig Snabbmakaronerna som hade ett signifikant ($P < 0,01$) högre HI än Fusilli-produkterna när de hydrolyserades hela. Tuggades produkterna utjämnades skillnaderna i HI och de lade sig på samma nivå. Yta och godstjocklek dvs. formen hos pastan hade stor betydelse för stärkelsens tillgänglighet för enzymerna. Att en pastaprodukt var en fullkornspasta påverkade inte resultaten i undersökningen. Valsade havrekärnor som var > 1 mm hade en intakt struktur och inneslöt stärkelsen effektivt vilket gav mycket låga HI när de hydrolyserades obehandlade. Var de däremot < 1 mm släppte de ifrån sig stärkelsen i större utsträckning och gav signifikant ($P < 0,01$) högre HI-värden för varje tunnare fraktion. När havrefraktionerna tuggades upprepades resultaten men skillnaderna mellan fraktionerna utjämnades och variationerna minskade. Effekten av tuggningen var betydligt större för de tjockare fraktionerna (> 1 mm), stärkelsens tillgänglighet ökade dramatiskt när den naturliga strukturen sönderdelades. Trekornspop sorterades efter utseende i hela oskadade kärnor och rejält tillplattade kärnor oberoende av vilket spannmålsslag som var ursprunget. Även här visade sig de rejält skadade kärnorna ha en mer tillgänglig stärkelse än de som hade bevarad form. HI-värdena var signifikant ($P < 0,01$) skilda åt både med avseende på form och behandling. Effekten av tuggbehandlingen var densamma oberoende av formerna. Slutsatserna av undersökningarna var att strukturen eller formen hos livsmedlet har stor betydelse för stärkelsens tillgänglighet. När strukturen tuggades utjämnades skillnaderna och stärkelsens tillgänglighet blev ungefär lika trots att formen varierade kraftigt när produkten stoppades i munnen. I vidare produktutveckling bör därför produkter med hela kärnor göras mer lättuggade så att de kan sväljas efter minimal tuggning.

1	REFERAT	2
2	INLEDNING	4
3	LITTERATURÖVERSIKT	4
3.1	SPANNMÅLSKÄRNANS MORFOLOGI OCH EGENSKAPER	5
3.2	STÄRKELSE.....	5
3.2.1	<i>Stärkelsehydrolys</i>	<i>6</i>
3.2.2	<i>Stärkelse digestion och absorption.....</i>	<i>8</i>
3.3	GLYKEMISKT INDEX (GI).....	8
3.4	HYDROLYSINDEX (HI)	9
3.5	GLUKOSANALYS	10
4	EXPERIMENT	11
4.1	FÖRSÖKSDESIGN FÖR STUDIER AV STÄRKELSENS NEDBRYTNING	11
4.2	RÅMATERIAL OCH TESTPRODUKTER	12
4.2.1	<i>Referensmaterial</i>	<i>12</i>
4.2.2	<i>Pilotstudier.....</i>	<i>12</i>
4.2.3	<i>Pastaprodukter.....</i>	<i>12</i>
4.2.3.1	<i>Provberedning</i>	<i>12</i>
4.2.4	<i>Havreprodukter</i>	<i>13</i>
4.2.4.1	<i>Provberedning</i>	<i>13</i>
4.2.5	<i>Trekornspop</i>	<i>13</i>
4.2.5.1	<i>Provberedning</i>	<i>14</i>
4.3	MATERIAL OCH METODER.....	14
4.3.1	<i>Apparatur och utrustning</i>	<i>14</i>
4.3.2	<i>Enzymer.....</i>	<i>14</i>
4.3.3	<i>Kemikalier</i>	<i>15</i>
4.3.4	<i>Stärkelsehydrolys</i>	<i>15</i>
4.3.4.1	<i>Tillgänglig stärkelse</i>	<i>15</i>
4.3.4.2	<i>Enzymcocktail.....</i>	<i>15</i>
4.3.4.3	<i>Dialysslang</i>	<i>15</i>
4.3.4.4	<i>Kokvattenanalys</i>	<i>16</i>
4.3.5	<i>Beräkning av hydrolysisindex.....</i>	<i>16</i>
4.3.6	<i>Statistisk analys.....</i>	<i>16</i>
4.4	RESULTAT OCH DISKUSSION	16
4.4.1	<i>Metodutveckling och pilotstudier</i>	<i>16</i>
4.4.2	<i>Pastaprodukter.....</i>	<i>17</i>
4.4.2.1	<i>Kokvatten</i>	<i>20</i>
4.4.3	<i>Havreprodukter</i>	<i>20</i>
4.4.4	<i>Trekornspop</i>	<i>23</i>
5	SLUTSATSER	25
6	ACKNOWLEDGEMENTS	25
7	REFERENSER	25

2 Inledning

I den ständigt pågående debatten om kost & hälsa förekommer ofta kolhydrater, antingen som boven eller som lösningen på kostrelaterade hälsoproblem. Det lanseras ständigt nya revolutionerande metoder, alla med avsikten att skapa välmående eller helt enkelt framkalla viktnedgång. Eftersom kost & hälsa är ett område som angår oss alla kan det vara mycket kontroversiellt att introducera nya kostråd som går på tvärs med den allmänt vedertagna. En uppstickare får räkna med att utstå hård kritik och granskning från både vetenskapen och industrin.

Att just kolhydraterna är satta i fokus beror främst på att de efter en måltid orsakar en blodsockerhöjning med ett efterföljande insulinpåslag. Denna mekanism är livsviktig för att upprätthålla kroppens funktioner och vid rubbningar kallas sjukdomstillståndet diabetes. Det inträffar ofta hos äldre personer och beror då på insulinresistens och att insulinproduktionen börjar avta. Eftersom en stor del av vårt födointag består av kolhydrater har stor möda lagts ned på att undersöka hur de tas upp, omsätts och påverkar kroppen. En metod har utvecklats för att undersöka blodsockerstegringen *in vivo* orsakat av kolhydraterna och den ger ett glykemiskt index (GI) som möjliggör jämförelser mellan livsmedel. Man har klassat kolhydraterna efter hur snabbt de tas upp och bryts ner i kroppen. De långsamma kolhydraterna anses då som de goda kolhydraterna eftersom de orsakar en lägre blodsockerstegring och därmed ett mindre insulinpåslag (FAO, 1998).

Spannmålsbaserade produkter är en av de största kolhydratkällorna i vår föda. I tidigare studier har det visat sig att livsmedel med en tät struktur (t.ex. pasta) eller med hela kärnor har positiv fysiologisk effekt erhållits (Björck, 2000). Förr eller senare bryts all stärkelse ner till glukos i kroppen. Kan denna nedbrytningshastighet påverkas, genom att tillsätta ingredienser eller ändra processbetingelser, erhålls en positiv fysiologisk effekt. Mätningar görs idag *in vivo* på försökspersoner och denna metod är dyr och svår att standardisera och genomföra i långa serier. Det krävs en enkel och billig *in vitro* metod för att kunna påvisa effekter av livsmedelsstrukturer och ingredienser i en utvecklingsprocess av nya livsmedel.

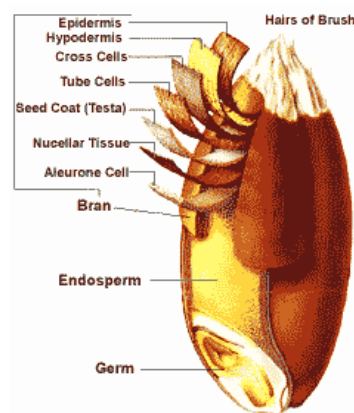
Projektets huvudmål är att utveckla och förfina en *in vitro* metod i syfte att utreda hur strukturen hos spannmålsprodukter påverkar stärkelsens nedbrytning till glukos i tunntarmen. Det är spannmålsråvaran i olika former t.ex. hel, klippt, krossad, puffad och mald som till en början ska analyseras. Pasta och grynprodukter kommer att undersökas med avseende på produkternas botaniska ursprung och geometriska utformning. I projektet kommer livsmedel att utsättas för enzymatisk hydrolys med målet att studera nedbrytningen av stärkelse till glukos. Genom att standardisera provberedning och enzymatisk behandling kan olika livsmedel jämföras med avseende på stärkelsens nedbrytningshastighet. För att möta målet att göra det laborativa momentet så enkelt som möjligt kommer olika system för stärkelsehydrolys testas.

3 Litteraturoversikt

Genomgången av litteraturen har koncentrerats på att belysa mekanismerna bakom stärkelsens nedbrytning, samt hur livsmedelsstrukturer kan påverka denna. Mycket kraft har även lagts ner på att förstå sockerkemin som i stor utsträckning påverkat utvecklingsarbetet av analysmetoden.

3.1 Spannmålskärnans morfologi och egenskaper

Spannmålskärnan är en enfröig frukt med sammanvuxet fruktskal (perikarp) och fröskal (testa). Så är fallet med vete- och rågkärnan. Havre- och kornkärnan har ytterligare ett skikt, blomfjället, utanför frukt- och fröskalet och kallas därför täckta spannmålsslag. Blomfjället faller bort vid tröskningen av nakna spannmålsslag men måste slipas bort innan malning av täckta spannmålsslag. Eftersom det innehåller mycket cellulosa och andra polymerer som vi har svårt att tillgodogöra oss utgör de en restprodukt i livsmedelstillverkningen. Dessa skikt utgör ett skydd mot yttre faror att tränga in, som mikrober och främmande substanser. Det är även här färgämnen lagras in och ger en färg åt kärnan. Innanför sitter aleuronskiktet som är ett enkelt cellager som täcker hela kärnan.



Figur 1. Vetekärnan illustrerad. (Källa: www.tasgrain.com.au; 2005-03-22)

Cellväggarna är tjocka och cellkärnan är stor. Cellerna innehåller även aleurongranuler med mycket komplex struktur. Askhalten är hög liksom protein-, fosfor-, fett- och niacinhalten (Hoseney, 1998). Alla skikt som sitter utanför endospermet ingår i klifractionen, denna siktas till största delen bort vid tillverkningen av vanligt mjöl. Endospermet utgör 80-85 % av kärnan och är förrådsvävnad där stärkelse och protein lagras. Endospermcellernas väggar innehåller pentosaner och β -glukaner men inte cellulosa. Cellväggarnas tjocklek varierar och är tjockast närmast aleuronlagret. Embryot utgör ~5 % av kärnan och är uppdelat i två delar: grodd och sköld. Embryot är mycket näringsrikt och halterna av protein, fett och socker är höga. Även tokoferolhalten är hög vilket utgör ett antioxidativt skydd (Hoseney, 1998).

Den kemiska sammansättningen i spannmålskärnorna skiljer sig inte speciellt mycket (se tabell 1). Siffrorna i tabellen är hämtade ur Livsmedelsverkets livsmedelsdatabas och gäller för ångbehandlade och krossade kärnor. Det innebär att havre- och kornkärnorna är skalade, vilket sänker fiberhalten för dessa. Värdet för kolhydrater är framräknat genom att dra ifrån vatten, fett, protein, fibrer, aska och alkoholer från totalvikten. Värdena för de olika sockerarterna har analyserats fram (www.slv.se; 2005-03-18).

Tabell 1. Kemisk sammansättning (g/100g) hos ångbehandlade och krossade spannmåls kärnor. Ur Livsmedelsverkets livsmedelsdatabas, www.slv.se

	Vatten	Fett	Protein	Kolhydrater*	sockerarter		Kostfibrer	Aska
					Mono	Di		
Vete	14	2	10,2	61,0	0	0,5	11,3	1,5
Korn	10,2	3,1	9,2	65,3	0,4	0,5	10,7	1,4
Råg	14	1,5	9,2	61,3	1	1,4	12,7	1,5
Havre	10,2	7	13,3	62,3	0,4	0,9	10	1,9

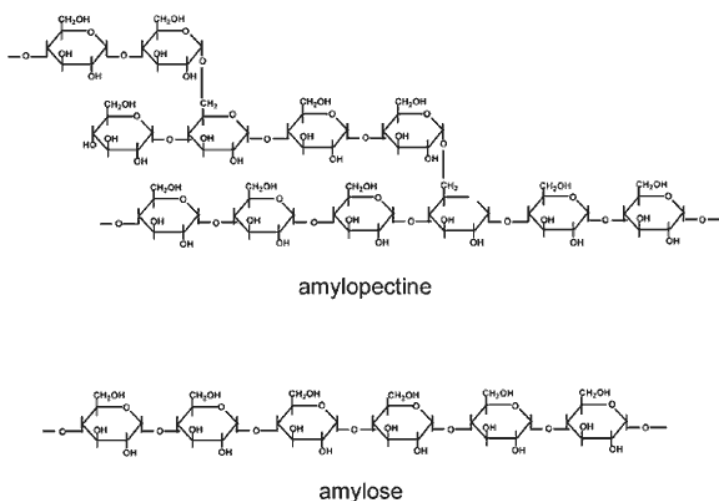
*Huvudsakligen stärkelse

3.2 Stärkelse

Stärkelse har unika kemiska och fysiska egenskaper och en näringsmässig kvalitet som skiljer sig från andra kolhydrater. Stärkelse är den dominerande lagringsformen av kolhydratenergi i växter och svarar för 50-60% av mänsklighetens energiintag. Via fotosyntesen bildas sackaros som är ett ickereducerande socker och därmed lämplig för transport i kroppen. Stärkelsen lagras i små korn

som bildas i speciella organeller, amyloplasterna som finns inne i mjölkroppen. Det finns olika typer av stärkelsekorn; stora (10-40 μm) linsformade som anläggs först och små (<10 μm) klotformade som är avknoppade utväxter på amyloplasterna. Stärkelsegranulerna kan sitta samman i agglomerat vilket är vanligast i havre och ris (Hoseney, 1998).

Kemiskt är stärkelsen uppbyggd av glukosenheter. Polymeren kan vara rak och binds samman med α -1,4 bindningar och kallas då amylos. Den andra formen amylopektin har 4-5% α -1,6 bindningar och är grenad i sin struktur. Den fysiska strukturen är mycket betydelsefull för egenskaperna. Amylos är rak men vriden som en spiral vilket ger en rigid struktur som packar sig lätt i en ordnad struktur och har i genomsnitt en molekylvikt på 250 kDa vilket motsvarar 1500 glukosenheter. Amylopektin med sina grenar tar mycket större plats och är mer oordnad i strukturen molekylvikten är på flera tusen kDa vilket gör den till en av de största molekylerna som förekommer i naturen. Dessa olikheter utnyttjas tekniskt vid gelatinisering (Hoseney, 1998).



Figur 2. Strukturformler av stärkelse amylos och amylopektin.

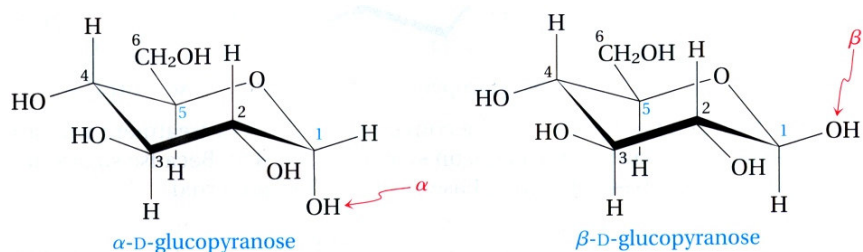
(Källa: www.nice-info.be; 2005-01-20)

Stärkelsegranulerna är kompakta och löser sig knappast alls i kallt vatten. Med ökad temperatur sväller stärkelsen och redan vid rumtemperatur ökar volymen med 5 % jämfört med kallt vatten. Värms suspensionen ytterligare till 60-80°C gelatiniseras stärkelsen och bildar en viskös massa. Vid gelatinisering läcker först amylosen ut i lösningen från granulen därefter löser sig även amylopektinet. När lösningen kyls av bildas en stärkelsegel som håller vatten inneslutet i ett nätverk av amylos och amylopektin. När gelen åldras, eller retrograderar, återkristalliseras stärkelsemolekylerna och vatten frigörs. Nätverket kan då ej längre hålla den mängd inneslutet vatten vilket gör att gelen läcker (Fennema, 1996). I bröd frigörs troligen inget vatten vid retrograderingen eftersom det inte kunnat gelatiniseras fullständigt pga. brist på vatten (personligt meddelande, Ingemar Gröön, 2005-03-17).

3.2.1 Stärkelsehydrolys

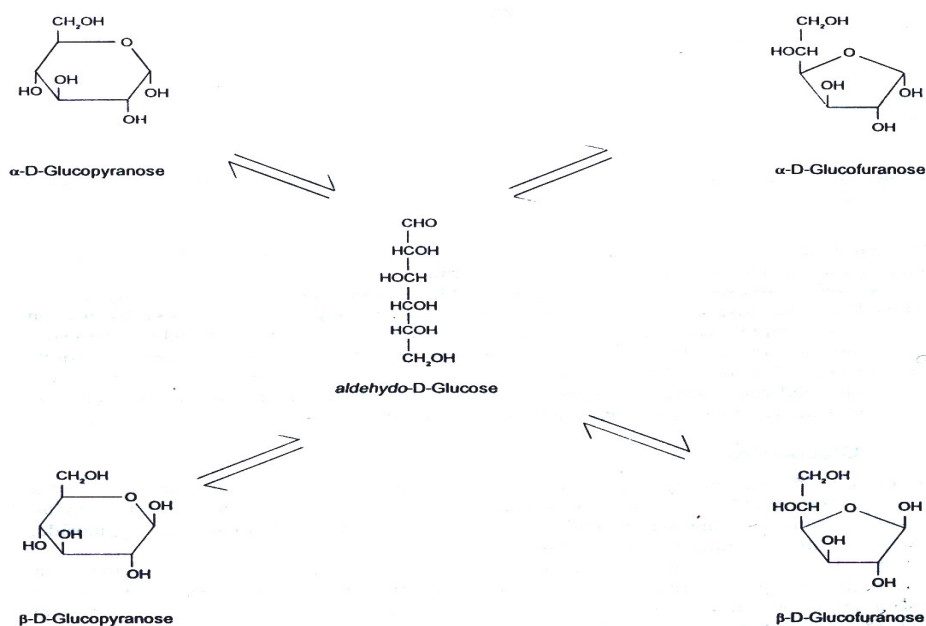
Stärkelsepolymeren är uppbyggd av glukosenheter med en glykosidbindning mellan varje enhet. Den korrekta benämningen på glukosenheten är 1,4- α -D-glukopyranos, vilket betyder att glukosmolekylen $\text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}_6$ är ringsluten med fem kolatomer och en syreatom i ringen. Ringen har ett stolformat utseende som har två former D/L som är spegelbilder av varandra. D-formen är den vanligaste formen och är också den som återfinns i stärkelsepolymeren. 1,4- α indikerar att glykosidbindningen sker mellan C1 och C4 och den är vertikal (α) sett från C1 som är det

anomeriska kolet. Detta är den vanligaste bindningen men vid förgreningar finns även bindningen mellan C1 och C6 (Fennema, 1996).



Figur 3. Två anomera former av glukos ritad i Haworth projektion. Kolatomerna är markerade C1-C6. Det anomera kolet är C1. (Källa: Hart, 1999; s.461).

Hydrolysis av stärkelsepolymerens glykosidbindningar kan katalyseras av syra (H^+) eller enzym. Hydrolyshastigheten kan regleras med temperatur, pH, syra/enzym styrkan och enzymernas specificitet. Industriellt används detta vanligtvis för att sänka lösningens viskositet vilket blir resultatet av kortare dextriner som tar mindre plats än bulkiga polymerer. Med enzymatisk hydrolysis kan depolymeriseringen styras mer exakt med olika enzym och ge dextriner av en viss längd t.ex. maltos.



Figur 4. Glukosmolekylen antar fem olika formationer när den befinner sig i lösning (Källa: Fennema, 1996; s.166).

Vid total hydrolysis av stärkelse är slutprodukten D-glukos. När glukos befinner sig i lösning ställer en jämvikt in sig med fem olika former. En av formerna är en öppen kedja som är mycket instabil och förekommer endast i små mängder (<0,003 %). Karbonylgruppen (C1) kan reagera med C4 och bilda en furanosring med två anomera former α/β . Denna formation förekommer också i mycket små mängder (<1 %). Den vanligaste ringformen (99 %) är där karbonylgruppen (C1) reagerar med C5 och bildar en pyranosring. Även denna har två anomera former α (35 %) och β (64 %). Anledningen till att jämvikten ställer sig som den gör är att de relativt utrymmeskrävande hydroxylgrupperna strävar bort från varandra. Då passar en pyranosring med stolform bra eftersom alla utrymmeskrävande sidogrupper ligger i samma plan och pekar snett ut från ringen (Hart, 1999).

Industriellt används ofta stärkelsenedbrytande amylaser för att åstadkomma bestämda egenskaper hos stärkelsen. Effekten av enzymerna kan påverkas positivt genom att blanda dem så att de får arbeta tillsammans. En sådan effektiv blandning är: α -amylas och amyloglukosidas. De angriper stärkelsen på olika sätt och har tillsammans förmågan att snabbt bryta ner stärkelsen till glukos. Det är teoretiskt möjligt att erhålla 100 % glukos men i praktiken är utbyten på 92-95 % mer vanliga (Hoseney, 1998). Enzymerna kräver att stärkelsen har gelatiniserats, vilket sker vid 55-65°C när det finns vatten i överskott, innan de kommer åt och kan angripa stärkelsepolymeren. I ett livsmedel är vattnet ofta den begränsande faktorn för att erhålla fullständig gelatinisering. Detta påverkar även gelatiniseringsförloppet som blir mer utdraget när vatten finns i underskott (Hoseney, 1998).

Endoenzymet α -amylas klipper upp glykosidbindningen mellan C1 och C4 i stärkelsepolymeren slumpmässigt till mindre dextriner. Dess verkan sker mycket snabbt och reducerar viskositeten i stärkelsenlösningen. Tillsammans med exoenzymet amyloglukosidas kan α -amylas snabbt bilda en glukoslösning från stärkelse. Amyloglukosidas angriper stärkelsepolymeren i den ickereducerande änden, dvs. C4 i glukopyranosen. Detta gör att enzymet har mycket få angreppspunkter hos intakt gelatiniserad stärkelse. Finns däremot exoenzymet α -amylas med i lösningen bildas det många angreppspunkter när polymeren klipps upp i flera kortare dextriner (Fennema, 1996).

3.2.2 Stärkelse digestion och absorption

För att kunna tillgodogöra oss energin från kolhydrater måste vi människor bryta ner stärkelsepolysackariden till enkla sockerarter. Nedbrytningen börjar redan i munhålan där saliven innehåller amylaser som angriper stärkelsen. I magsäckens sura miljö (~pH 1) avstannar dock enzymaktiviteten med begränsad nedbrytning som följd. Syran gör att proteiner denaturerar och löser upp strukturer som kan utgöra steriska hinder och försämra upptaget i tarmen. Magsäcken portionerar ut lagom mängd till tarmen så att näringen hinner absorberas. I övre delen av tarmen sitter bukspottkörteln som är det organ som frisätter mest stärkelsenedbrytande enzym. Miljön i tarmen är neutral och enzymaktiviteten är hög. Det är här den mesta av stärkelsenedbrytningen sker. Polysackaridernas glykosidbindningar (α -1,4) bryts upp slumpmässigt och det bildas dextriner av varierande längd från monosackarider till dextriner av oligo- och polysackaridlängd. I tarmslemhinnans mucosa sker den sista nedbrytningen till enkla socker av mer specialiserade enzym (t ex. invertas, maltas, laktas) som bryter ner disackarider till enkla absorberbara socker. Isoamylas tar sig an förgreningspunkterna (α -1,6) som ger den grenade strukturen i amylopektinet (Abrahamsson, 2003).

Monosackarider tas upp direkt via diffusion över tarmslemhinnan men även genom aktiv transport. Glukos och galaktos konkurrerar om samma transportmekanism medan fruktos har en egen transport. Blodsockerhalten påverkas direkt av glukos som tas upp i tarmen. Fruktos måste ta omvägen över levern för att ombildas till glukos och orsaka en höjning av blodsockernivån. Därför orsakar inte produkter med högt fruktos innehåll lika högt blodsockersvar som en produkt med motsvarande halt glukos (Larsson, 1996).

3.3 Glykemiskt index (GI)

GI-systemet introducerades 1981 av den kanadensiska näringsforskaren D. Jenkins. Det definierades som blodsockerhöjningen efter en måltid (0-2 h) innehållande 50 g tillgängliga kolhydrater. Blodprov tas på tiderna (min): 0; 15; 30; 45; 60; 90; 120 för att analysera sockernivån i blodet. Mellan fastevärdet (0 min) och 15 min intas livsmedlet som skall testas tillsammans med ett glas vatten. Arean under blodsockerkurvan jämförs med en motsvarande area för en standardiserad referensprodukt som är vitt bröd eller ren glukoslösning. Den procentuella skillnaden mellan areorna ger ett index som gör det möjligt att jämföra olika produkters inverkan på

blodsockerhöjningen. Ingen skillnad ger GI=100 och lägre blodsockerhöjning ger GI<100. Definitionen av GI och mättekniken finns beskriven av FAO/WHO:s expertkommitté och har antagits som internationell standard (FAO, 1998).

Den glykemiska responsen påverkar även insulinnivån i blodet. Detta påverkas av magsäckens tömningshastighet, nedbrytning och upptag av kolhydrater i tarmen. Tidigare ansågs att endast mängden kolhydrater var det som påverkade den glykemiska responsen. Forskningen har nu visat att även kolhydraternas kvalitet påverkar den glykemiska responsen. I avsaknad av digestionshinder ger stärkelsen i stort sett lika stor blodsockerhöjning som ren glukos (Björck, 2000). Genom att bevara den naturliga strukturen i råvaran eller livsmedlet eller inducera bildningen av retrograderad stärkelse, s.k. resistent stärkelse, kan stärkelsens nedbrytningshastighet påverkas. Det har också visat sig att organiska syror har en positiv effekt på GI genom att fördröja magsäckstömningen, bara genom att tillsätta vinäger i salladen eller surdeg i brödet har GI kunnat sänkas (Liljeberg, 1994).

Diabetiker har fått rådet att välja livsmedel med långsamma kolhydrater och därmed lågt GI för att ha kontroll på sina blodglukosvärden. Det var för denna grupp som systemet med GI utvecklades, men det visade sig att även patienter med förhöjda blodfetter (hyperlipidemi) och övervikt (riskgrupper för metabola syndromet) kunde få hjälp av en kost med lågt GI. Personer som har metabola syndromet med insulinresistens och höga blodfetter har visat klart bättre insulinkänslighet och sänkta kolesterolvärden efter omläggning av kosten till låg-GI kost (Björck, 2000). En låg och förlängd blodsockerrespons har även visat sig vara fördelaktigt för friska personer eftersom det minskar insulinutsöndringen och därmed utjämnas blodsockersvängningarna mellan måltiderna (FAO, 1998). Det har diskuterats någon typ av märkning som ska underlätta för konsumenten att välja rätt produkter. Problemet är att GI-systemet bara är relevant för kolhydratrika livsmedel som innehåller minst 15 gram kolhydrater per portion som t ex. bröd, frukostflingor, ris, pasta och potatis (Arvidsson-Lenner, 2004). Alla jämförelser av GI-värden bör ske inom respektive grupp av livsmedel. Hänsyn bör också tas till innehållet av andra näringsämnen, en produkt med högt GI kan i övrigt innehålla mycket vitaminer och därmed ha en positiv hälsoeffekt.

Att börja dagen med en bra frukost har visat sig vara mycket betydelsefull ur GI-synpunkt. Att välja en frukost med lågt GI påverkar den glykemiska effekten även för nästa måltid. Även om lunchen består av traditionellt snabba kolhydrater blir inte blodsockerhöjningen så hög som man skulle ha förväntat sig. Detta fenomen kallar forskarna ”second-meal effects” och det är frukosten som visat sig ha störst inverkan på nästa måltid (Björck, 2000).

En hög andel kristallin stärkelse som ej gelatiniserats, dvs. ta upp vatten och svälla vid förhöjd temperatur, sänker hydrolyshastigheten (amylolysen). Stärkelsen kan ej tas upp innan den gelatiniserats och därmed blivit tillgänglig för enzymerna (Björck, 2000). Detta utnyttjas i tillverkningsprocessen av spannmålsprodukter. Genom att bevara den kristallina strukturen får produkterna lågt GI. Problemet är att det ofta krävs fullständig förklistring av stärkelsen, dvs. upptag av vatten och gelatinisering, för att få en tilltalande produkt som går att äta. Om produkten är fullständigt gelatiniserad kan stärkelsen återkristalliseras genom att retrogradering induceras med tid- och temperaturecykler (Björck, 2000).

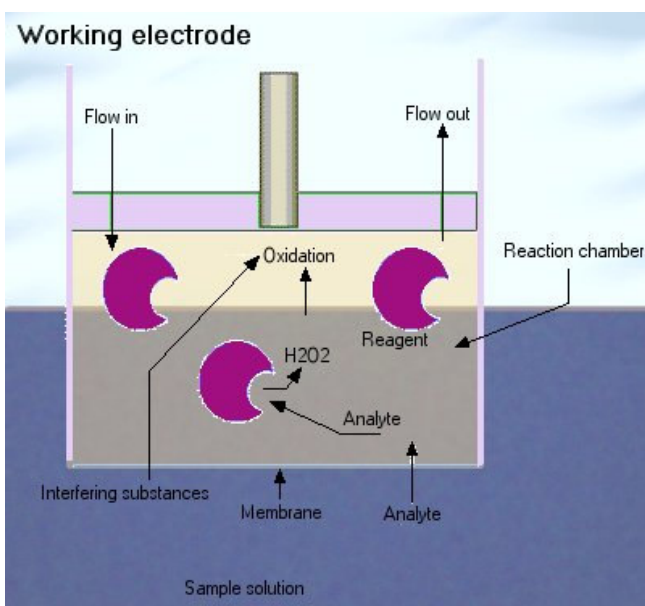
3.4 Hydrolysisindex (HI)

Metoden att mäta hydrolysisindex liknar i princip den som mäter glykemiskt index. Hydrolysisindex är en *in vitro* metod för att studera stärkelsens nedbrytningsmönster (Granfeldt, 1992). Stärkelsenedbrytande enzym (amylaser) tillsätts en lösning med känd mängd stärkelse. Glukoshalten i lösningen mäts med jämna intervall (30-45 min) under hydrolysen. Glukoshalten ökar med tiden och plottas i ett diagram som bildar en hydrolyskurva. Skillnaden mot GI är att inget

insulinsvar erhålls och att glukosnivån aldrig sjunker igen som den gör i kroppen. Hydrolysen pågår tills all tillgänglig stärkelse är hydrolyserad och har ett exponentiellt förlopp då det till en början finns mycket stärkelse lätt tillgängligt för enzymerna. Tillgängligheten är viktig och är ofta begränsad pga. liten vattentillgång i livsmedelsprodukter som i sin tur påverkar gelatiniseringen av stärkelsen. Även kristallina strukturer som uppstår när stärkelsen retrograderar gör att stärkelsens tillgänglighet begränsas. Hydrolyshastigheten avtar efter en tid och glukoshalten stabiliserar sig på en jämn nivå. Viss enzymatisk aktivitet pågår även efter att nivån stabiliserat sig och det är stärkelse som lyckats lösgöra sig från bundna strukturer i livsmedlet. Ett index beräknas genom att hydrolysera en referensprodukt på samma sätt. Arealen under hydrolyskurvan för referensprodukten bildar en kvot med arean för testprodukten vilket ger ett hydrolysisindex och ett mått på skillnaden (FAO, 1998). Vanligen används ren stärkelse eller ett vitt bröd som referens. Beroende på vilka enzymssystem som används blir slutprodukten av hydrolysen olika. Vissa *in vitro* system är utformade så att det är maltos som blir slutprodukt efter hydrolysen. Detta påverkar i sin tur hur slutprodukten skall analyseras (Granfeldt, 1992).

3.5 Glukosanalys

Glukoshalter kan mätas med flera olika metoder. I litteraturen som behandlar GI/HI används oftast enzymatiskt/spektrofotometriskt- eller HPLC metoder. I min studie användes en biosensor för glukoshaltsbestämningen. Biosensorn använder ett reagensenzym som pumpas tillsammans med en intern buffert till en reaktionskammare. Reaktionskammaren sitter i änden på en probe som sticks ner i glukoslösningen som ska analyseras. Ett membran i spetsen släpper in analyten i reaktionskammaren. Pumpen stannas och reagensenzymet får reagera med analyten (~50 s). Reagensenzymet som används vid kvantifiering av glukos är glukosoxidas som är mycket specifikt för β -D-glukos. Efter en serie av reaktioner bildas H_2O_2 vars mängd är proportionell mot glukoskoncentrationen. Enzymet reagerar inte med α -anomeren av glukos däremot kan liten aktivitet registreras med 2-deoxy-glukos, D-mannos och D-galaktos.



Figur 5. Schematisk bild över reaktor och reagensenzym-aktivitet i SIRE Biosensor. (www.chemel.com; 2005-03-17)

Väteperoxiden H_2O_2 som bildas ger upphov till en elektrisk signal som lagras i biosensorn. Därefter mäts bakgrundssignalen på provet utan reagensenzym. Denna dras ifrån för att minimera effekten av störande substanser. Biosensorn kalibreras varje dag mot en standardlösning som späs till: 10;

1,0 eller 0,1 mM beroende på i vilket koncentrationsområde mätningarna sker (www.chemel.com, 2005-03-17).

4 Experiment

4.1 Försöksdesign för studier av stärkelsens nedbrytning

Projektets övergripande syfte var att studera stärkelsens hydrolyshastighet i olika spannmålsbaserade produkter (se tabell 2). Försöksupställningen utarbetades genom inledande pilotstudier och skulle i möjligaste mån hållas enkel och överskådlig. Stärkelsen utsattes för enzymatisk hydrolys och bröts fullständigt ner till glukos. Glukoskoncentrationen i lösningen mättes med jämna mellanrum med en biosensor i syfte att studera det enzymatiska förloppet. Glukosutbytet beräknades och plottades mot hydrolystiden i ett diagram. Ett hydrolysisindex beräknades som arean under hydrolyskurvan jämfört med arean för en standardprodukt som utgör referens. Detta index jämfördes sedan med resultat från tidigare försök som utförts i bl.a. humanstudier.

Genom att variera förbehandlingarna av provet innan det utsattes för enzymerna studerades strukturernas effekter. I inledande pilotförsök studerades pastaprodukterna som maldes ner till mjöl, pressades i vitlökspress, tuggades av en testperson (15 ggr) (Granfeldt, 1992) eller hydrolyserades hela. Med resultaten av dessa försök som grund valdes två förbehandlingar ut för vidare studier. Varje produkt analyserades, hel (obehandlad) och tuggad av en testperson (15 ggr), som dubbelprov med två upprepningar. Varje behandling utfördes totalt fyra gånger per prov för att möta kraven på statistisk säkerhet.

Tabell 2. Sammanställning av analyserade produkter. Kolhydrat- och kostfiberhalterna är angivna i procent

Produkt	Struktur	Huvudingrediens	Kolhydrat*	Kostfibrer
<u>Referensbröd:</u>				
Henning Storform	bröd	vetemjöl, siktat rågmjöl	49 ^a	2,5 ^a
<u>Pastaprodukt:</u>				
Kungsörnen	makaron	durumvetemjöl/vetemjöl med	71 ^a	3 ^b
Snabbmakaroner	(0,1 g/st)	hög proteinhalt		
Kungsörnen	pastaskruv	durumvetemjöl/vetemjöl med	71 ^a	3 ^b
Fusilli	(0,5 g/st)	hög proteinhalt		
Kungsörnen	pastaskruv	durumvetemjöl	65 ^a	6 ^a
Fusilli Fullkorn	(0,6 g/st)	varav 55 % fullkorn		
<u>Havreprodukter:</u>				
Gyllenhammar	valsad 0,54 mm	skalad havrekärna	56 ^{ae} /53 ^c	11,3 ^c
AXA havregryn	valsad 0,62 mm	skalad havrekärna	56 ^{ae}	
START müsli	valsad 0,84 mm	skalad havrekärna	56 ^e /51 ^c	12,4 ^c
specialtillverkad	valsad 1,53 mm	skalad havrekärna	56 ^e	
specialtillverkad	valsad 1,8 mm	skalad havrekärna	56 ^e	
specialtillverkad	valsad 2,0 mm	skalad havrekärna	56 ^e /50 ^c	13,4 ^c
<u>Müsliingrediens:</u>				
Trekornspop	poppad kärna	vete, råg, skalat korn	61 ^d	11-12 ^d

*Huvudsakligen stärkelse. Beräknad kolhydrathalt by difference.

^aKolhydrathalt från innehållsdeklarationen på produkten.

^bKostfiberhalt på liknande produkt i livsmedelsdatabasen (www.slv.se)

^cAnalyserade värden från Ceralalia Mills kemilab. i Malmö.

^dHalter analyserade av producenten Cerealia Mills, Norge.

^eAntaget värden vid beräkningar

4.2 Råmaterial och testprodukter

4.2.1 Referensmaterial

Som referens användes skivat vitt formbröd (Henning Storform) som köptes i butik i Malmö. Brödet förvarades i frys (-20°C) och en skiva togs upp på morgonen varje dag när analyser kördes. Skivan var halvt tinad när bitar av inkråmet vägdes in (2,0 g) så att det motsvarade ~1 g kolhydrater.

4.2.2 Pilotstudier

Under pilotstudierna användes Fusilli Fullkornspasta som maldes torr i en kaffekvarn. En större sats maldes upp och användes under hela den förberedande undersökningen.

4.2.3 Pastaprodukter

Tre olika pastaprodukter ur Kungsörnens sortiment jämfördes: Fusilli, Fusilli Fullkorn och Snabbmakaroner. Produkterna skiljer sig på flera olika sätt. Fusilli är en skruv med stor godstjocklek och därmed är koktiden längre 7-8 min. Fusilli Fullkorn är också en skruv men den är tillverkad på 55 % fullkornsmjöl och innehåller därmed mer kostfibrer (6 g/100g) vilket sänker andelen tillgängliga kolhydrater per portion. Snabbmakaroner har tunn godstjocklek och därmed kort koktid 3 min. Innehållet i pastasmeten är lika den för Fusilli men formen är ett svagt böjt rör. Vattenupptaget när pastan tillagas är för Fusilliprodukterna ~100 % och för Snabbmakaronerna ~114 % (Cerealia R&D, Järna).

Pasta tillverkas genom att blanda mjöl och vatten till en grymig massa. Man eftersträvar ett jämnt vattenupptag och att vattenhalten stannar omkring 30 %. Bearbetningen är mycket försiktig för att undvika glutenbildning i smeten. Smeten skruvas därefter till en vacuumkammare där luften pressas ut ur smeten, vilket ökar stabiliteten och ger en produkt med större genomskinlighet. Smeten pumpas vidare till en degpress som pressar smeten genom en matris som ger pastan dess form. Denna process sker också under högt tryck vilket gör att eventuella luftblåsor trycks ut. När pastan har fått sin form torkas den långsamt ner till 12 % vattenhalt under ca. sex timmar. För korta produkter (tex. Snabbmakaroner) är torktiden endast två timmar. Torktemperaturen har ökat på senare år då det visade sig att mindre stärkelse kokas ur pastan om den torkas vid högre temperatur. Hypotesen är att den förhöjda temperaturen stabiliserar proteinstrukturen och gör pastan tätare vilket skyddar stärkelsen.

4.2.3.1 Provberedning

För att testa olika egenskaper utsattes alla pastaprodukterna de för olika förbehandlingsmetoder. Syftet var att utreda om någon egenskap utmärker sig och påverkar stärkelsehydrolysen mer än någon annan. Koktider och kolhydratmängder som angivits på produkterna har legat till grund för alla beräkningar.

Torrmald: Pastan torrmaldes under 30 sek i en blender avsedd för kaffeböner. En större mängd maldes och mjölet förvarades i en återförslutningsbar påse. Pastamjölet vägdes upp (~1,5 g) så att det motsvarade ~1 g stärkelse vid provtillfället. Fosfatbuffert (0,08 M; pH 5,0) tillsattes (99 g) bägaren med pastamjöl som därefter koktes i vattenbad enligt koktiden angiven på produkten. Detta genomfördes för att gelatinisera stärkelsen och få en rättvisande jämförelse med de övriga kokta produkterna.

Kokt & pressad: Pastan koktes enligt instruktion på paketen. Vattnet hälldes av och resterande fritt vatten tilläts ånga bort. Därefter pressades den mängd pasta som varje prov krävde genom en

vitlökspress. All pasta gick igenom pressen även det som slank vid sidan om togs tillbaka och pressades igen. Pressen rensades sedan väl, med en spatel, mellan proven.

Kokt & tuggad: Pastan koktes enligt instruktion på paketet. Vattnet hälldes av och resterande vatten tilläts ånga bort. Försökspersonen som skulle tugga pastan sköljde munnen med vatten vid försökets början. Därefter tuggades avsedd mängd pasta 15 gånger. Tuggan spottades ut i en bägare och försökspersonen sköljde därefter munnen med vatten som även det spottades ut i bägaren.

Kokt & hel: Pastan koktes enligt instruktion på paketet. Vattnet hälldes av och resterande vatten tilläts ånga bort. Avsedd mängd pasta togs ut och användes utan vidare behandling i försöket.

Kokvattenanalys: En portion pasta tillagades enligt instruktion på paketet. Alla ingredienser vägdes in. Kokvattnet samlades i en bägare och vägdes liksom den färdigkokta pastan.

4.2.4 Havreprodukter

En serie med 6 olika fraktioner av havrekärnor som valsats till flingor med varierande tjocklek (0,54-2,0 mm) användes som testmaterial för havreprodukter. Vissa av dem ingår i konsumentprodukter som gryn och flingor. De tjockare fraktionerna var specialtillverkade vid Cerealias kvarn i Järna för detta ändamål och finns ej att köpa på marknaden.

Processen där havrekärnor valsas till flingor börjar med rensning och skalning. Därefter går de skalade kärnorna till darren som är en stor ångbehandlingsprocess. I darren tillförs ånga, värme och kyla till havren i olika steg. I första delen av darren är temperaturen 99°C, den justeras genom tillförd mängd ånga. Passagen över direktånga tar ca 2 timmar. Ångbehandlingen är till för att öka lagringsstabiliteten genom att enzymer inaktiveras. Efter direktångan tillförs torr värme för att kärnan ska torkas. I denna del av processen varierar temperaturen från 80-65°C, temperaturen sjunker gradvis när kärnorna passerar neråt i darren. Denna passage tar ca 2 timmar. Därefter kyls kärnorna ner till mellan 20-30°C, vilket tar ca 0,5 timme. Efter sista steget går kärnorna till en slip som tar bort rester av skaldelar. Efter darren mellanlagras havren innan nästa ångbehandling sker.

Efterföljande ångbehandling görs för att mjuka upp kärnorna så att de är mindre benägna att spricka under valsningen och för att få en jämnare tjocklek. Denna ångbehandling är kortare och tar ca 0,5-1 timme, temperatur 90-100°C. Efter ångbehandlingen går kärnorna vidare ner på en pressvalsstol där de pressas ut till flingor. De valsade flingorna torkas därefter i en svävtork och kyls. Valsningen syftar till att göra havren mer anpassad för konsumtion genom att koktiden förkortas och genom att flingan blir mer lättäten.

4.2.4.1 Provberedning

Havreflingorna analyserades hela direkt efter ovanstående behandling. När de tuggade proverna analyserades tuggades havren 15 gånger enligt ett standardiserat förfarande. Provmängden (1,8 g) vägdes upp vilket motsvarade ~1 g stärkelse. Testpersonen sköljde munnen med vatten innan provet tuggades 15 ggr. Eftersom havreprovet var torrt intog försökspersonen lite vatten innan tuggan spottades ut i en bägare (600 ml). Av praktiska skäl utfördes tuggningen av en och samma person med totalt fyra upprepningar.

4.2.5 Trekornspop

Trekornspop är en müsliråvara som tillverkas vid Cerealias fabrik i Moss i Norge. Den består av en blandning av vete, råg och grovskalade kornkärnor. Skalningen av kornkärnorna sker i en stenslip där ca. 25% av skalet slipas av, detta medför en förhöjd kostfiberhalt när delar av skalet följer med. Kärnorna rensas och blandas innan de konditioneras, då vatten tillsätts under 6-8 timmar vilket

mjukar upp strukturen. Därefter fördelas kärnorna på ett stålband och rullar igenom en värmezona (100-110°C) där de ytbehandlas med strålvärme. Passagetiden är ca. 1 min så att kärnorna blir delvis poppade av trycket i kärnan som orsakas av strålvärmen. Stärkelsen blir genom denna behandling delvis gelatiniserad. Poppningen görs för att erhålla en produkt som går att äta direkt utan vidare behandlingar. Beroende på vilket användningsområde blandningen skall användas till valsas kärnorna lätt så att de spricker upp. Rågkärnorna bestämmer tjockleken när valsarna justeras. Tiden i värmezonen ger en rostad smak vilket höjer smakupplevelsen och ger produkten ett mervärde.

4.2.5.1 Provberedning

Trekornspop analyserades hela (obehandlade) och tuggade. När de tuggade proverna analyserades tuggades kärnorna 15 gånger enligt ett standardiserat förfarande. Provmängden (1,8 g) vägdes upp vilket motsvarade ~1 g stärkelse. Testpersonen sköljde munnen med vatten innan provet tuggades 15 ggr. Därefter spottade testpersonen ut provet i en bägare (600 ml). Bägaren ställdes på vågen och tarerades. Testpersonen tilläts skölja munnen med vatten som spottades i den tarerade bägaren för att få med alla provrester. Av praktiska skäl utfördes tuggningen av en och samma person med totalt fyra upprepningar.

4.3 Material och metoder

4.3.1 Apparatur och utrustning

Glukosanalys: SIRE Biosensor P100, analyskit för glukos, skakvattenbad: Tecator 1024, TS-IR mätare: Sartorius MA 30 Moisture Analyzer, substratvåg: Sartorius CP 4201, pipetter, bägare, magnetomrörare, dialysslang: Spectrapor 45 mm cut-off 12-14 kDa, kaffekvarn: Krupp.

4.3.2 Enzymer

All stärkelsehydrolys genomfördes med enzymatiska metoder. Två typer av enzym användes: α -amylas och amyloglukosidas.

Tabell 3. Enzymer som användes vid in vitro stärkelsehydrolys. Enzymaktiviteten är angiven enligt enzymleverantörernas definition.

Enzym	Produktnamn	Leverantör	Ursprung	Enzymaktivitet
α -amylas	Termamyl 120L	Novozymes	<i>B. licheniformis</i>	120 KNU/ml
α -amylas	A6255	Sigma-Aldrich	Gris pankreas	43840 U/ml
amyloglukosidas	AMG 300L	Novozymes	<i>A. niger</i>	300 AGU/ml
amyloglukosidas	A1602	Sigma-Aldrich	<i>A. niger</i>	1244 U/ml

KNU-(Kilo Novo Unit) AGU-(Aminoglukosidas Unit) U-(Sigma Unit)

Termamyl från Novozymes har en speciell egenskap genom att den är termostabil. Den klarar att kokas tillsammans med stärkelsen vilket är en fördel vid provberedning. Alla enzymer levererades med en dokumenterad enzymaktivitet som är jämförd med en standardlösning. Eftersom mätmetoderna skiljer sig något erhålls aldrig exakt rätt aktivitet. Enzymaktiviteten justerades genom att späda stocklösningen med vatten.

SIRE Biosensor som användes för att analysera glukoshalten kräver ett reagensenzym som levereras i ett färdigt kit av tillverkaren Chemel AB. Reagensenzymet är ett glukosoxidas med okänd enzymaktivitet.

4.3.3 Kemikalier

0,08 M fosfatbuffert tillverkades från salterna natriumfosfat (1,4 g) och natriumdivätefosfat (9,68 g) som löstes i 1 liter vatten. Lösningen hade då ~pH 6 men ställdes med HCl/NaOH beroende på om lägre eller högre pH önskades.

SIRE Buffert A är en neutral buffert som levererades tillsammans med reagensenzym från Chemel AB. Denna buffertlösning späddes med vatten 1:4 enligt instruktion från leverantören.

4.3.4 Stärkelsehydrolys

Stärkelsehydrolys kan utföras på en mängd olika sätt. I detta projekt har enbart enzymatiska metoder prövats. Originalmetoder från litteraturen har justerats efterhand för att praktiskt passa systemet och testprodukterna. Provmängder kan variera något mellan olika försök då svårigheter har uppstått att finna rätt glukoskoncentrationer inom biosensorns mätområde.

4.3.4.1 Tillgänglig stärkelse

(Modifierad från Holm *et al.* 1986)

Mald Fusilli Fullkornspasta (250 mg) vägdes upp (dubbelprov) och löstes i vatten (15 ml) i en 50 ml bägare. Termamyl 120 L (Novozymes) tillsattes (100 µl) i lösningen som rördes om kraftigt och placerades i ett kokande vattenbad (15 min) med omrörning var femte minut. Efter inkubation fick suspensionen svalna på bänken under omrörning. Suspensionen fördes över till en volumetrisk kolv (25 ml) och späddes upp till volym med vatten. Ett prov (1 ml) togs ur suspensionen till ett provrör och (2 ml) fosfatbuffert (pH 4,75) och amyloglukosidas med aktivitet motsv. 7 U tillsattes. Provröret inkuberades i vattenbad (60°C) i 30 min med omrörning var femte minut. Ett prov (1 ml) fördes över till en volumetrisk kolv (25 ml) och späddes upp till volym med SIRE Buffert A. Lösningen fördes över till en bägare med omrörning och glukoskoncentrationen mättes med SIRE Biosensor (Se avsnitt 3.5).

4.3.4.2 Enzymcocktail

(Modifierad från Larsson *et al.* 1989)

Varje testprodukt (se tabell 2) motsvarande 1 g tillgänglig stärkelse vägdes in (dubbelprov) i (600 ml) bägare. Mängden stärkelse togs från näringsdeklarationen på produkten eller ur tabell. Bägaren med provet fylldes med 99 g fosfatbuffert (0,08 M; pH 5,0) och placerades i skakvattenbad (50°C). Enzymerna α -amylas (Termamyl 120L) och amyloglukosidas (AMG 300L) blandades i styrkeförhållandet: 0,8 AGU/KNU. Ur stamlösningarna togs (250 µl) Termamyl 120L och (100 µl) AMG 300L vilka späddes upp till volym (10 ml) med vatten. Ur denna enzymlösning togs 1 ml och tillsattes varje bägare för att starta hydrolysen. Tiden startades och prover om 1 ml togs ur varje bägare med ett intervall på 45-60 min. Provet späddes upp till 25 ml i SIRE Buffert A och glukoskoncentrationen analyserades därefter direkt med SIRE Biosensor kalibrerad för 1 mM glukoslösningar (Se avsnitt 3.5).

4.3.4.3 Dialysslang

(Modifierad från Granfeldt *et al.* 1992)

Fusilli Fullkornspasta motsvarande 1 g tillgänglig stärkelse vägdes upp (dubbelprov) i bägare. Bägarna tillsattes 25 ml fosfatbuffert (0,08 M; pH 5,0) och 100 µl Termamyl 120L. Allt blandades väl och inkuberades i kokande vattenbad i 15 min med kraftig omrörning var 5:e min. Bägarna fick svalna på bänken och därefter tillsattes amyloglukosidas (mängd motsvarande 12,2 U) till lösningarna samtidigt som tidtagningen startades. Dialysslang (25 cm spectrapor 45 mm cut-off 12-14 kDa) blötlades i 30 min innan användning. Slangen förslöts i ena änden och därefter tömdes stärkelsesuspensionen ner i slangen som återförslöts. Slangen stoppades ner i en flaska med 975 ml

fosfatbuffert (pH 5,0) som var placerad i ett skakvattenbad (50°C). Prover (1 ml) togs ur dialysatet under ~200 min med ett intervall om 45-60 min. Provet späddes upp till 25 ml med SIRE Buffert A och fördes över till en bågare med omrörning. Glukoskoncentrationen analyserades med SIRE Biosensor (Se avsnitt 3.5).

4.3.4.4 Kokvattenanalys

Kokvattnet från var och en av de tre pastaprodukterna vägdes upp i en bågare (enkelprov) så att det motsvarade ungefär 150 g. Termamyl 120L (1 ml) tillsattes under omrörning och bågarna inkuberades i kokande vattenbad i 15 min. Bågarna tilläts svalna till 37°C under omrörning. Syra tillsattes för att sänka pH i lösningen till pH 4,3 innan AMG 300L (0,4 ml) tillsattes. Bågarna inkuberades (37°C) under omrörning i 30 min. Prover (1 ml) togs ut och späddes till 25 ml med SIRE Buffert A innan glukosanalys med SIRE Biosensor (Se avsnitt 3.5).

Torrsubstanshalten i kokvattnet analyserades direkt genom att ett enkelprov (1 ml) togs ut och analyserades med en TS-IR analysator (130°C i 20 min) efter att provet hade torkat in.

4.3.5 Beräkning av hydrolysisindex

Hydrolysisindex beräknades enligt en metod som är fastställd av FAO för beräkning av glykemiskt index (FAO, 1998). Glukosutbytet (%) plottades mot hydrolystiden (min) i ett diagram. Areal under hydrolyskurvan från hydrolysens start till tiden 200 min beräknades för varje upprepning och medelarean av upprepningarna representerade produktens hydrolysisarea. Som referensmaterial användes vitt formbröd. Produktens hydrolysisarea dividerades med referensbrödets genomsnittliga hydrolysisarea. Kvoten multiplicerades med 100 vilket gav ett hydrolysisindex.

4.3.6 Statistisk analys

Statistiska beräkningar utfördes med hjälp av ett statistikprogram Minitab 14. Variansanalysen utfördes på HI-värden som beräknats med vitt bröd som referensmaterial. Signifikanta skillnader i försöksresultaten dels mellan behandlingar, former och mellan olika produkter undersöktes statistiskt. Först sattes en General Linear Model (GLM) upp med två fixa faktorer (form och behandling). Därefter utfördes parvisa jämförelser (mellan produkter och behandlingar) och kontraster till referensmaterialet enligt Tukey's metod. Signifikansnivån sattes till minst 99% ($P < 0,01$).

4.4 Resultat och diskussion

4.4.1 Metodutveckling och pilotstudier

De första försöken utfördes enligt metoden för bestämning av total tillgänglig stärkelse beskriven av Holm *et al.* (1986). Endast mald pasta (Fusilli Fullkorn) användes som råmaterial. Enzymerna som användes var α -amylas Termamyl 120L och amyloglukosidas. Enzymerna fick hydrolysera stärkelsen i för dem optimala förhållanden. Utbytet i de första försöken blev som bäst 61 % av den på produkten deklarerade mängden kolhydrater. Felkällorna var många och största svårigheten var att hitta rätt spädningar så att lösningen fick en mätbar glukoskoncentration i biosensorn. Det var även problem med kalibreringen av biosensorn som gjorde att vissa mätningar föll bort.

Steget att koka provet med Termamyl är ett mycket effektivt sätt att hydrolysera stärkelse. Detta visade sig när jag gjorde jämförande försök mellan Termamyl och ett annat α -amylas tillverkat från grispankreas. Proverna behandlades lika förutom att Termamyl kokades tillsammans med provet och α -amylaset tillsattes efter kokning då suspensionen svalnat (20°C). Reaktionstiden med substratet var densamma liksom efterbehandlingen med amyloglukosidas. Utbytet blev för Termamyl: 80 % av den mängd kolhydrater som är deklarerad på produkten. Grispankreas α -

amylaset gav ett utbyte på 65 %. Detta visar att metoden att koka det termotabila enzymet tillsammans med substratet är det bästa sättet att få ut stärkelsen. Jag är nöjd med ett utbyte på 80 % med tanke på att kaffekvarnen inte maler provet homogent utan att det fanns större partiklar (ca. 1-2 mm) i pastamjölet.

En diskussion har förts att blanda enzymerna till en cocktail som skulle göra det lättare att genomföra hydrolysen laborativt. Dessutom borde det bli en synergieffekt i en blandning av ett endo- och ett exoenzym. Larsson *et al.* (1989) har dragit slutsatsen att blandningen ska ha styrkeförhållandet 0,8 AGU/KNU för att få optimal hydrolyseffekt. Detta motsvarar en blandning av: 40 µl AMG 300L och 100 µl Termamyl 120L. Eftersom enzymerna jobbar optimalt vid olika temperatur och pH, har en reaktortemperatur på 50°C och pH 5,0 visat sig vara effektivast enligt tidigare försök (Larsson *et al.* 1989).

Några försök att spjälka prover *in vitro* och efterlikna mag- tarmkanalen har beskrivits i litteraturen bl.a. av Granfeldt *et al.* (1992). I deras metod ingår en dialysslang som ska efterlikna tunntarmen. I originalmetoden används endast ett α -amylas i dialysslangen och sedan mäts mängden maltosekvivalenter i dialysatet med en spektrofotometrisk metod. För att anpassa detta till våra förutsättningar tillsattes även amyloglukosidas i dialysslangen så att glukoskoncentrationen i dialysatet kunde analyseras direkt med SIRE Biosensor. Detta medförde att även pH (5,0) och temperaturen (50°C) fick anpassas jämfört med originalmetoden (37°C; pH 6,9).

Resultaten blev aldrig speciellt lyckade med dialysslangen. Ojämna resultat troligtvis pga. dålig omrörning gav ibland helt orimliga värden. Allt för stora spädningar orsakades eftersom dialysen krävde stora volymer (ca. 1000 ml buffert) för att åstadkomma effektiv dialys. Detta gav koncentrationsproblem vid analys av glukoskoncentrationen med biosensorn. Dessutom var det laborativa arbetet svårt att genomföra med precision när dialysslangen skulle fyllas och knytas. Dialysslangen rationaliserades därför bort och hydrolysen genomfördes direkt i bägaren som står i skakvattenbadet. Detta medförde att en häftigare skakrörelse kunde åstadkommas. I inledande test med denna variant gick hydrolysen mycket fort och var över på en kvart. Därför sänktes enzymkoncentrationen och reaktorvolymen ökades för att praktiskt hinna mäta under hela hydrolysförloppet.

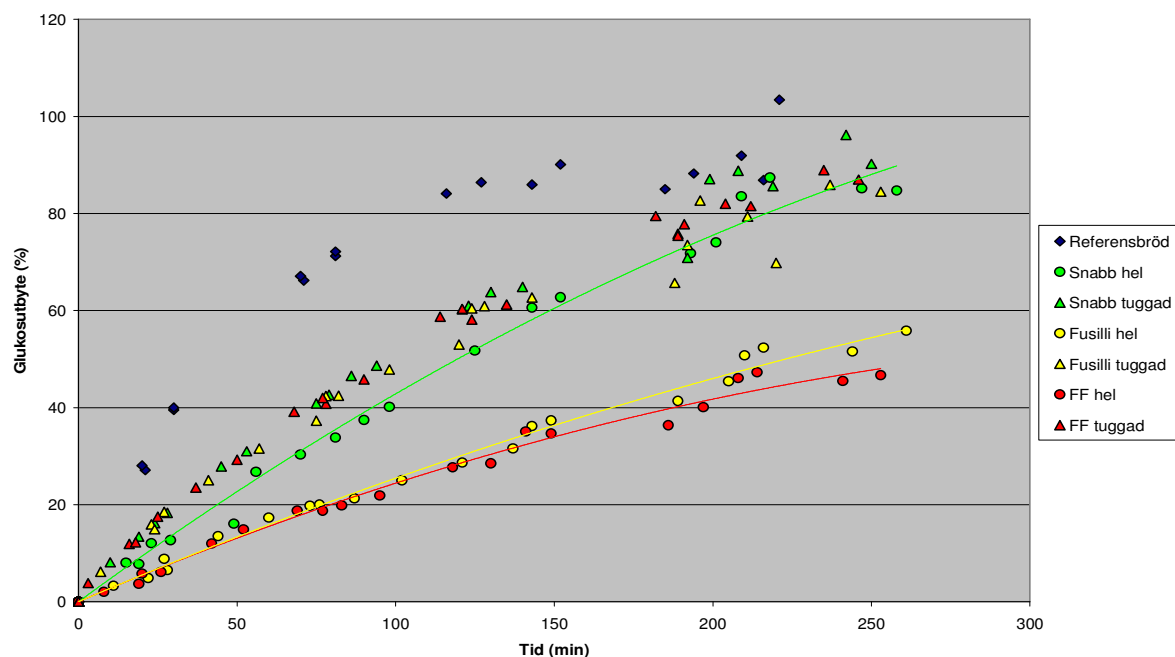
Resultaten från pilotstudierna har lagts till grund för fortsatta försök på pastaprodukter. Hydrolyskurvans form och stabilitet har varit viktiga faktorer i valet av metod. Försöket visar även att Novozymes amyloglukosidas fungerar bättre än Sigma-Aldrich:s. Det kan vara så att det bildas former av glukos som SIRE Biosensor inte kan mäta eller att enzymstyrkan behöver ökas för att nå liknande effektivitet. Mönstret har återupprepat sig några gånger varför jag beslöt att använda Novozymes amyloglukosidas AMG 300L tillsammans med Termamyl 120L i en enzymcocktail för att hydrolysera stärkelsen i fortsatta försök.

4.4.2 Pastaprodukter

Målet var att väga in produkt motsvarande 1 g stärkelse. Detta var enkelt att uppnå exakt med torrt malt pastapulver men det var svårare med en tillagad pasta. Näringsdeklarationen på paketen anger kolhydratmängden i 100 g torr produkt som kokats enligt instruktionen. Eftersom vattenupptagningsförmågan skiljer sig något mellan produkterna ställer detta till problem vid invägningen. Jag beslutade mig för att väga in vardera tre skruvar Fusilli och Fusilli Fullkorn (~1,8 g) och 23 Snabbmakaroner (~1,8 g) för varje hydrolysoverprov. Eftersom produkterna är homogena varierar vikten för varje hel och oskadad skruv eller makaron först i andra decimalen vilket ger acceptabel precision trots att valet (3 skruvar eller 23 makaroner) sker slumpmässigt efter kokningen. Analysresultatet räknades om till hydrolyserad mängd (gram) glukos med hänsyn tagen

till spädningsarna. För att underlätta jämförelser mellan produkter beräknades ett glukosutbyte (%) av den tillförda mängden stärkelse.

Pressnings- och tuggningsförfarandet orsakade en del förlust av råvara vilket ökade spridningen mellan proverna. Vitlökspressen rengjordes väl mellan proverna men lite material fastnade i hålen vilket orsakade något lägre värden för det prov som pressades först. Vid tuggningen tillförs lite saliv vilket innehåller stärkelsenedbrytande enzym (α -amylas), den tillförda mängden tycks inte påverka resultaten i försöket. Vätskemängden som tillfördes (~10 ml), saliv och vatten att skölja munnen med, kompenseras med motsvarande mindre mängd buffert. Denna utspädning (10 %) av bufferten påverkade endast systemets pH marginellt.



Figur 6. Stärkelsens nedbrytningsförlopp under enzymatisk hydrolysis hos tre olika pastaprodukter: Snabbmakaroner (Snabb), Fusilli, Fusilli Fullkorn (FF). Produkterna tillagades och utsattes för olika behandling: obehandlade (hel) och tuggade (15 ggr). De tre pastaprodukterna skiljer sig geometrisk (form och tjocklek) och m.a.p. kostfiberinnehåll (Se tabell 2). Referensprodukt var vitt formbröd.

I figur 6 är alla produkterna plottade efter respektive förbehandling (tuggad och obehandlad). Hydrolyskurvan för de malda och pressade produkterna presenteras inte i figuren men de återfinns strax under hydrolyskurvan för referensbrödet. Innehållet i pastasmeten (fullkornsinblandning) tycks inte påverka stärkelsehydrolysen däremot tycks formen ha effekt. Tuggad pasta antar en lägre och mer utdragen hydrolysis, vilket gäller generellt för alla produkterna. De resterande bitarna i tuggan har intakt struktur och hindrar därmed stärkelsen att läcka ut samt enzymerna från att komma åt bunden stärkelse. Det maximala utbytet stannar kring 85 % för alla produkterna, resterande stärkelse får antas vara oåtkomliga i den intakta strukturen. När hel tillagad pasta utsattes för hydrolysis observerades en klar skillnad mellan produkterna (se figur 6). Snabbmakaronerna hydrolyserades betydligt snabbare än Fusilliskruvarna. Hydrolyskurvan är i det närmaste linjär och beskriver troligtvis stärkelsens läckagehastighet ut ur pastastrukturen. Enzymerna finns i överskott men kan endast angripa stärkelsen som ligger på ytan. Ytan och godstjockleken tycks ha betydelse eftersom Snabbmakaronerna är tunnare och har en större yta i förhållande till vikten än Fusilliskruvarna. Vägen till ytan som stärkelsen ska flytta sig är kortare och ger därmed ett snabbare förlopp. Eftersom det visade sig finnas klara skillnader mellan produkterna när de hydrolyserades hela undersöktes de vidare. Även den tuggade pastan undersöktes vidare. Hydrolysisindex

beräknades med vitt formbröd som referens. Antalet mätningar med referensbrödet är begränsat (n=4) eftersom jag till en början inte tänkte använda formbröd som referens. Vid senare upprepning av vissa delar av försöket med pastaprodukter har alla resultat motsvarat tidigare mätningar. Därför antogs att medelarean för referensbrödet kunde användas till HI-beräkningar för alla pastaprodukterna och respektive behandling.

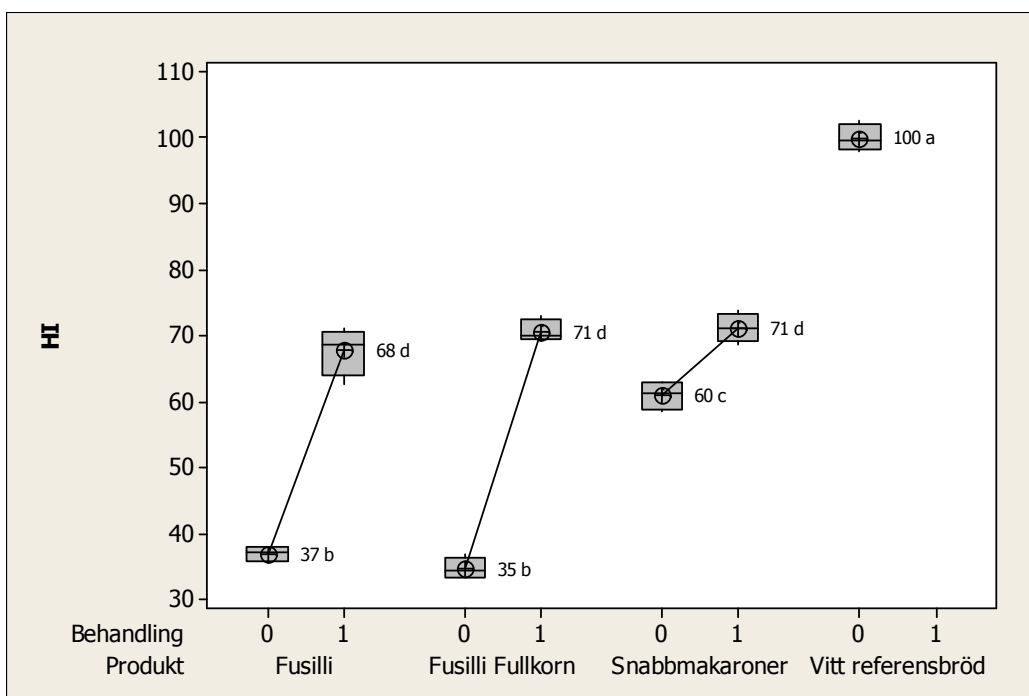
Tabell 4. HI-medelvärde (HI) och standardavvikelse (SD) för tre olika pastaprodukter som tillagats enligt instruktion på förpackningen. Parvisa jämförelser enligt Tukey (P<0,01). Produkter med HI-värde följt av olika bokstäver är signifikant skilda åt. Kolhydrat- och kostfibrerhalterna är angivna i procent

	Kolhydrat (%)	Kostfibrer (%)	Obehandlad (0)			Tuggad (1)		
			HI	SD	n	HI	SD	n
Referensbröd*	49	2,5	100 ^a	2,0	4	100 ^a	2,0	4
Snabbmakaroner	71	3 ^{**}	60 ^c	2,3	4	71 ^d	2,2	4
Fusilli	71	3 ^{**}	37 ^b	1,3	4	68 ^d	3,7	4
Fusilli Fullkorn	65	6	35 ^b	1,7	4	71 ^d	1,7	4

* HI-värdet för referensbrödet antas vara lika oavsett behandling.

**ej angivna på förpackningen, värdet hämtat ur livsmedelsdatabasen (www.slv.se)

Den parvisa jämförelsen enligt Tukey's modell (P<0,01) visar att alla pastaprodukterna har ett signifikant lägre HI-värde än referensbrödet oavsett vilken behandling de fått. När pastan analyserades hel (obehandlad) har Snabbmakaronerna ett signifikant högre HI-värde än de två Fusilliprodukterna. Skillnaderna suddas ut när de tuggas och de lägger sig alla kring HI 70 fortfarande signifikant (P<0,01) skiljt från referensbrödet. Figur 7 är en boxplot som visar hur pastaprodukternas hydrolysisindex för respektive behandling står i relation till varandra och referensbrödet. Varje box illustrerar spridningen mellan upprepningarna från övre till undre kvantil och medelvärdet är markerat med en ring. Den parvisa jämförelsen är angiven med bokstäver efter HI-medelvärdet i figuren.



Figur 7. Boxplot med angivna HI-medelvärden (n=4) för tre pastaprodukter (Fusilli, Fusilli Fullkorn och Snabbmakaroner) och vitt referensbröd (n=4). Behandlingar: obehandlad (0) och tuggad (1). Produkter med signifikant (P<0,01) skilda HI-medelvärde är markerade med olika bokstäver.

Boxen för tuggad (1) Fusilli är något utdragen vilket tyder på en större spridning i mätvärden. Övriga boxar är ganska lika och har jämn spridning mellan upprepningarna. Man ser tydligt hur HI påverkas av behandlingen. För Fusilliprodukterna dubblas HI när de tuggas. Effekten blir inte lika stor när Snabbmakaronerna tuggas, då höjs endast HI-värdet (10 enheter) till ungefär samma nivå som de tuggade Fusilliprodukterna.

Att Fusilli Fullkorn har annan sammansättning med 55% fullkornsmjöl (6g kostfiber per 100g pasta) verkar inte påverka stärkelsens beteende när den bryts ner. Jag antog att en fullkornspasta skulle orsaka en mer utdragen hydrolys men detta antagande kan ej påvisas i dessa försök. Det är möjligt att verkligheten är en annan när produkterna studeras *in vivo* då även tarmpassagehastigheten och magsäckstömningen påverkar produktens effekt på blodsockerhöjningen och därmed GI-värdet för produkten. GI-studier som gjorts tidigare inom Cerealia R&D har inte kunnat visa några signifikanta skillnader mellan produkterna (Fusilli, Fusilli Fullkorn och Snabbmakaroner). Snabbmakaroner utmärker sig dock med ett något lägre GI-värde som beräknats med vitt bröd som referens. Det finns dock stor osäkerhet i dessa resultat eftersom antalet försökspersoner och upprepningar är begränsat.

Det verkar föreligga ett samband mellan hur mycket en produkt tuggas och hur finfördelad den blir. Snabbmakaroner kräver mindre bearbetning innan de sväljs, de slinker ner efter bara några få tuggningar. Däremot kräver Fusilli Fullkorn mer bearbetning innan den sväljs och blir troligen mer finfördelad än Snabbmakaronerna. Detta visar hur komplext problemet blir när man jämför *in vitro* och *in vivo* resultat.

4.4.2.1 Kokvatten

När pasta tillagas går en del av den tillgängliga stärkelsen förlorad ut i kokvattnet. Pastaprodukterna skiljer sig inte speciellt mycket i förlusterna under tillagning vilket visas i tabell 5. När torrsbstanshalten (TS) analyseras i kokvattnet påverkas den av flera komponenter. Saltmängden tillsätts vid tillagningen och faller till stor del ut i kokvattnet och utgör ungefär en tredjedel av TS-halten. Under övrigt döljer sig fett, proteiner och lösliga kostfibrer. En observation som gjordes under försöket var att lösningarna aldrig blev riktigt klara efter enzymbehandlingarna. Troligen är det någon av komponenterna under övrigt som gör att lösningen blir grumlig.

Tabell 5. Tre pastaprodukter tillagades enligt instruktion. Kokvattnets sammansättning analyserades och pastans läckage av stärkelse beräknades

Sammansättning	Fusilli	Fusilli Fullkorn	Snabbmakaroner
Torrsubstans (%)	1,25	1,45	1,62
varav stärkelse (%)	24	38	34
salt (%)	32	48	37
övrigt (%)	45	14	28
Stärkelseläckage (%)	3,39	4,12	4,28

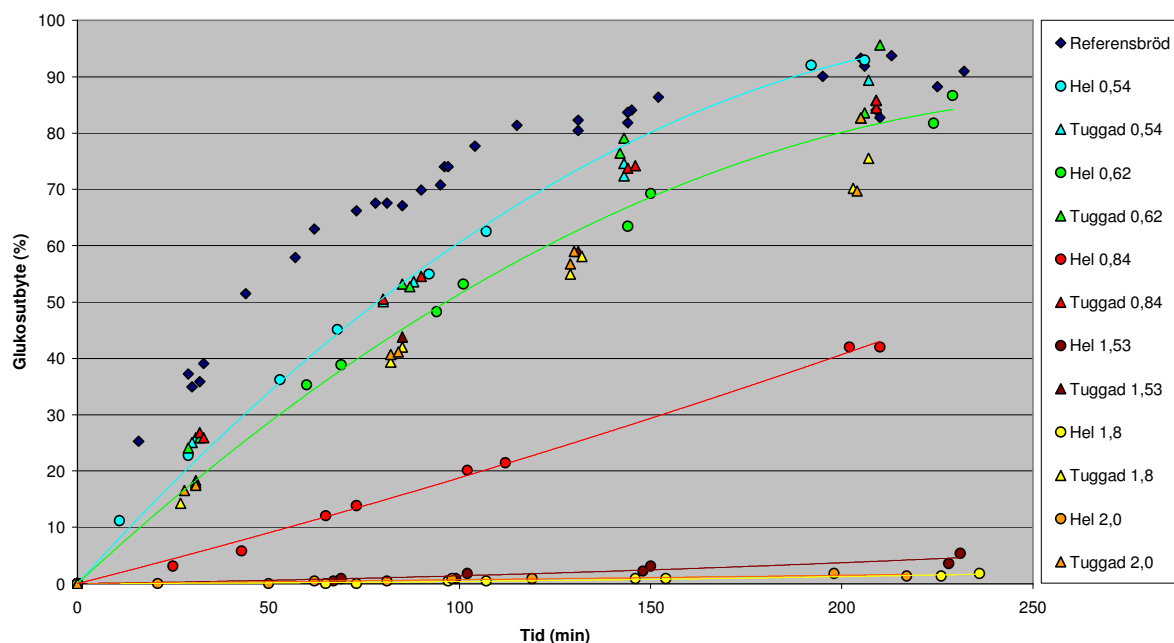
Resultaten visar att viss förlust av stärkelse (~4%) sker vid tillagningen av pastaprodukter. Denna förlust är dock kompenserad i näringsdeklarationen eftersom analysen är utförd på tillagad produkt.

4.4.3 Havreprodukter

Havrekärnorna visade sig ha en ganska stor spridning i stärkelsens tillgänglighet beroende på hur mycket de valsats. Först testades serien som hela kärnor utan någon ytterligare behandling än den som utförts under tillverkningen. Då utmärkte sig de kärnor som hade en tjocklek >1 mm. De släpper inte ifrån sig stärkelse som enzymerna kan hydrolysera. Alternativt är enzymerna hindrade

av den förhållandevis intakta strukturen att ta sig in till stärkelsen. Havrekärnor som valsats ner till <1 mm är däremot så tillplattade att stärkelsen blir mer tillgänglig för hydrolys. Strukturerna i kärnorna är skadade och det gör att stärkelsen delvis läcker ut.

Hela havreserien tuggades sedan för att studera hur strukturen och stärkelsens naturliga skydd påverkas i den verkliga livsmedelssituationen. Kärnorna tuggades 15 ggr av en försöksperson innan de spottades ut i bägaren. Munnen sköljdes med vatten som också spottades i bägaren. Eventuell saliv med tillskott av enzym i systemet har ej beaktats. Av praktiska skäl har endast en person medverkat i tuggförfarandet. Resultatet av tuggbehandlingen visade sig betydligt minska skillnaderna mellan fraktionerna som fanns när de var hela. Den inbördes ordningen består dock mellan fraktionerna.



Figur 8. Valsade havrekärnor med olika tjocklek (0,54-2,0 mm) utsattes för enzymatisk stärkelsehydrolys. Referensprodukt var vitt formbröd. Samtliga produkter analyserades hela och tuggade (15 ggr) som dubbelprov.

Referensbrödet har funnits med under alla analyser, därav det stora antalet upprepningar (n=16). Det har även fungerat som kvalitetskontroll för metoden. Spridningen inom referensbrödet blev stort (standardavvikelse 5,0) speciellt mot slutet av hydrolysen. Då var det troligen många faktorer som gjorde att precisionen minskade: mikroorganismer i systemet förbrukar glukosen i allt snabbare takt, biosensorn driver något.

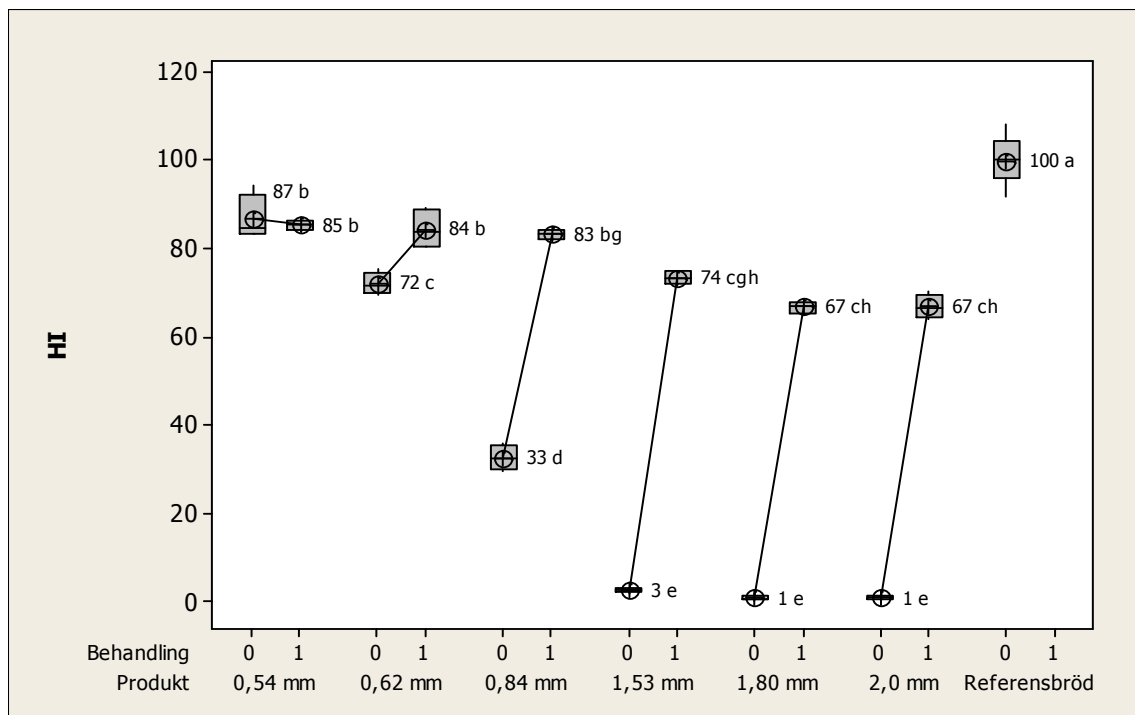
Tabell 6. HI-medelvärde (HI) och standardavvikelse (SD) för havreserien och referensbrödet. Parvisa jämförelser enligt Tukey (P<0,01). Produkter med olika bokstav är signifikant skilda åt. Kolhydrat- och kostfiberhalterna i produkterna är angiven i procent

	Kolhydrat (%)	Kostfibrer (%)	Obehandlad (0)			Tuggad (1)		
			HI	SD	n	HI	SD	n
Referensbröd*	49	2,5	100 ^a	5,0	16	100 ^a	5,0	16
0,54 mm	56/53**	11,3**	87 ^b	5,1	4	85 ^b	1,2	4
0,62 mm	56		72 ^c	2,4	4	84 ^b	4,5	4
0,84 mm	56/51**	12,4**	33 ^d	3,1	4	83 ^{bg}	1,1	4
1,53 mm	56		3 ^e	0,5	4	74 ^{cgh}	1,7	4
1,80 mm	56		1 ^e	0,6	4	67 ^{ch}	1,5	4
2,00 mm	56/50**	13,4**	1 ^e	0,3	4	67 ^{ch}	2,7	4

* HI-värdet för referensbrödet antas vara lika oavsett behandling.

** Analyserade värden från Cerealia Mills kemilab. Vid beräkningarna antogs alla ha 56% kolhydrater.

Den parvisa jämförelsen enligt Tukey's modell (P<0,01) visar att alla havrefraktionerna har ett signifikant lägre HI-värde än referensbrödet oavsett vilken behandling de fått. De relativt intakta kärnorna (>1 mm) är ej signifikant skilda åt varken före eller efter tuggningen. Valsas kärnorna sedan tunnare (<1 mm) ökar HI signifikant mellan varje fraktion. Tuggas de tunnaste flingorna (<1 mm) försvinner den signifikanta skillnaden i HI-värdet mellan fraktionerna, men de är fortfarande signifikant skilda från referensbrödet. De övriga har höjt sina HI-värden rejält från nästan noll till HI-värden kring 70 efter tuggbehandling. Figur 9 visar tydligt hur effekten av tuggningen ökar med tjockleken på havrekärnorna. Lutningen på linjen som knyter samman medelvärdena (inom produkt) för de olika behandlingarna ökar med tuggningseffekten. Svag lutning (se 0,62 mm) betyder att effekten av tuggningen inte varit speciellt stor. Ingen effekt av tuggningen har kunnat visas i den tunnaste flingan (0,54 mm). Bokstäverna anger signifikanta (P<0,01) skillnader.

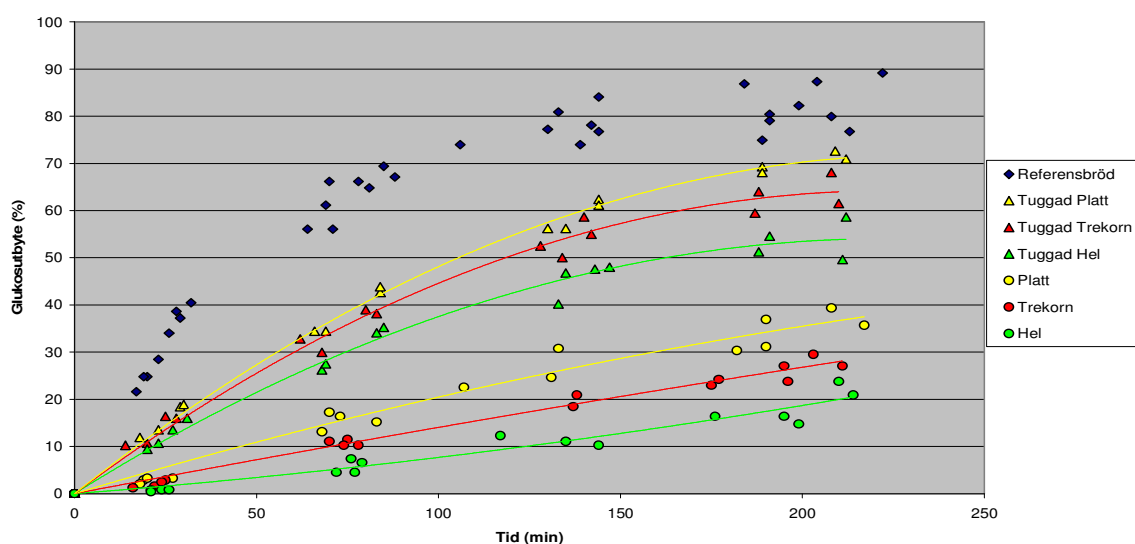


Figur 9. Boxplot med angivet HI-medelvärde (n=4) för sex havreprodukter (0,54-2,0 mm) och vitt referensbröd (n=16). Behandlingar: obehandlad (0) och tuggad (1). Produkter med signifikant skilda HI-medelvärde är markerade med olika bokstäver.

Havrestärkelsens utseende skiljer sig från vetestärkelsens. Granulstorleken är betydligt mindre vilket gör att ytan per viktenhet blir större. Detta påverkar vattenupptaget och gör angreppsytan för enzymerna större. Stärkelsens gelatinisering startar därmed vid lägre temperaturer vid fri tillgång på vatten (Hoseney, 1998). I mitt hydrolyssystem är vattnet i överskott och temperaturen 50°C, detta möjliggör att en gelatinisering av stärkelsen kan ske. Detta särskiljer mitt system från andra som har valt en lägre (37°C) temperatur (Granfeldt, 1992). Resultaten tyder på att det krävs ett visst våld på kärnan som slår isär strukturen och blottlägger stärkelsen. Har detta skett är det fritt fram att utnyttja energin. När kärnorna tuggas gör den mekaniska bearbetningen att skillnaderna i tillgängligheten suddas ut. Detta belyser vikten av att titta även på tuggade prov trots att det är svårt att standardisera försöket. Om havrekärnor skall användas som ingrediens i produkter med avsikten att sänka GI bör strukturen bevaras så intakt som möjligt. Kärnorna bör även göras mjuka så att de lätt kan sväljas hela utan att tuggas. Hur effekten av kärnorna, t.ex. i ett bröd, kan bevaras är något som bör studeras vidare. Blötläggning borde vara en nyckelfaktor som dels gör kärnorna mjukare i munnen och samtidigt bevarar formen.

4.4.4 Trekornspop

Tanken var till en början att studera de olika spannmålsslagen (vete, korn och råg) i trekornsblandningen, men pga. svårigheter att särskilja speciellt vete och korn, gavs denna idé upp. Istället inriktades analysen på kärnornas form och hur den kan påverka stärkelsens tillgänglighet. Eftersom kärnorna genomgått en ytvärmebehandling och poppats är den naturliga strukturen förstörd i olika grad från kärna till kärna. Därför sorterades intakta kärnor som endast hade små sprickor ut och kallades hela. Den andra ytterligheten, rejält tillplattade kärnor som spruckit upp och blottar stärkelsen, kallades platta. Ett slumpmässigt prov togs direkt ur påsen och det kallades trekorn. Kärnorna analyserades precis som havreserien hela (obehandlade) och tuggade. Det visade sig som förväntat att tuggningen gjorde stärkelsen mer tillgänglig och gav därmed ett signifikant ($P < 0,01$) högre HI-värde. Den inbördes skillnaden mellan de olika formerna bevaras tydligt trots att de tuggats. Hydrolyskurvan för Trekorn som är ett genomsnitt av ytterligheterna Hel och Platt lägger sig i mitten som förväntat. Alla fraktioner ligger klart under hydrolyskurvan för referensbrödet och kan därmed vara en bra ingrediens för att sänka stärkelsens tillgänglighet och därmed även GI för en produkt.



Figur 10. Hydrolyskurva för trekornspop som är en müsliingrediens bestående av poppade vete, korn och rågkärnor. Ur blandningen (Trekorn) har hela kärnor (Hel) och tillplattade kärnor (Platt) sorterats ut och utsatts för enzymatisk stärkelsehydrolyt. Referensprodukt var vitt formbröd. Samtliga produkter analyserades hela och tuggade (15 ggr).

Referensbrödet har funnits med vid alla mätningarna på Trekornspop. Det kan även ses som en kvalitetskontroll för metoden. Spridningen i mätvärdena (standardavvikelse 3,9) är förhållandevis stora trots att antalet upprepningar (n=8) var fler än för testprodukterna (n=4). Den statistiska analysen visar att det finns signifikanta skillnader ($P<0,01$) både mellan formerna (Trekorn, Platt och Hel) och behandlingarna (Obehandlad och Tuggad). Däremot finns det inga signifikanta ($P>0,01$) samspel som visar om formen påverkar effekten av behandlingen. Det kvittar alltså vilken form kärnan har, effekten av tuggningen är den samma.

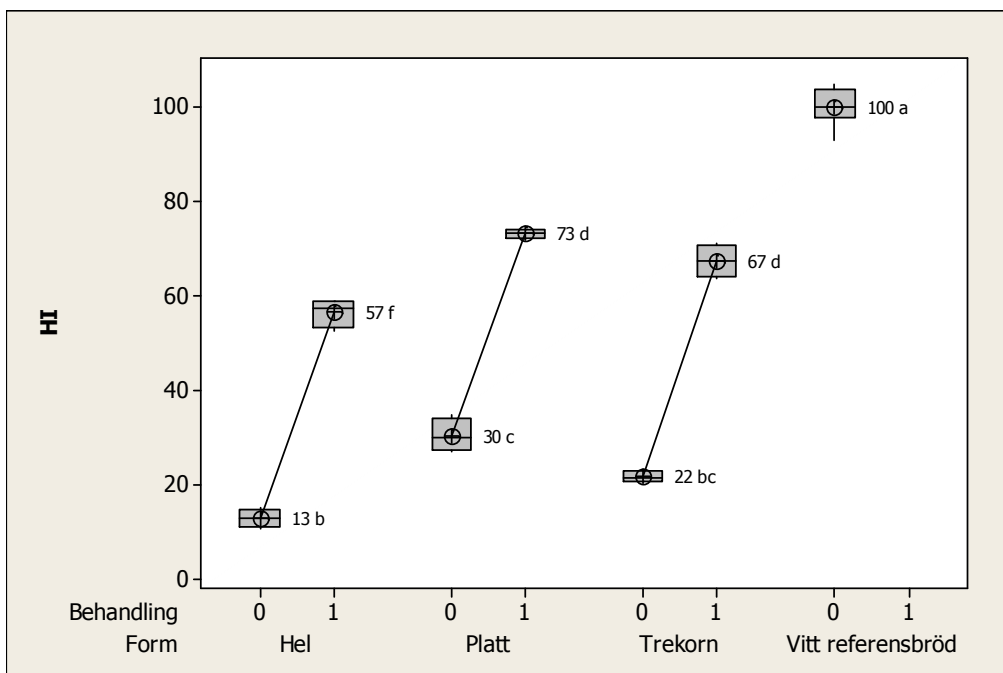
Tabell 7. HI-medelvärde (HI) och standardavvikelse (SD) för trekornspop och referensbröd. Parvisa jämförelser enligt Tukey ($P<0,01$). Produkter med olika bokstav är signifikant skilda åt. Kolhydrat- och kostfiberhalterna är angivna i procent

	Kolhydrat (%)	Kostfibrer (%)	Obehandlad (0)			Tuggad (1)		
			HI	SD	n	HI	SD	n
Referensbröd*	49	2,5	100 ^a	3,9	8	100 ^a	3,9	8
Trekorn	61 ^{**}	11-12 ^{**}	22 ^{bc}	1,3	4	67 ^d	3,6	4
Hel	61 ^{**}	11-12 ^{**}	13 ^b	1,9	4	57 ^f	2,9	4
Platt	61 ^{**}	11-12 ^{**}	30 ^c	3,5	4	73 ^d	0,9	4

* HI-värdet för referensbrödet antas vara lika oavsett behandling.

** Näringsvärden angivna av producenten Cerealia Mills, Moss i Norge.

Den parvisa jämförelsen mellan de olika produkterna och behandlingar enligt Tukey's modell ($P<0,01$) påvisar var signifikanta skillnader finns (tabell 7). De båda ytterligheterna Hel och Platt håller sig signifikant skilda åt både som obehandlad och tuggade. Blandningen Trekorn ligger som ett genomsnitt av ytterligheterna och skiljer sig bara från tuggad Hel. Alla formerna av trekornspop är signifikant skilda från referensbrödet. Figur 11 visar hur HI-värdet fördelar sig mellan de olika formerna och behandlingarna. Den illustrerar klart effekten av tuggningen vilket avsevärt höjer HI-värdet för produkten oavsett vilken form den har.



Figur 11. Boxplot med angivet HI-medelvärde (n=4) för trekornspop i tre olika former (Hel, Platt och Trekorn) samt vitt referensbröd (n=8). Behandling: obehandlat (0) och tuggad (1). Produkter med signifikant skilda HI-medelvärde är markerade med olika bokstäver.

Mekanismen som ger det låga HI-värdet hos trekornspop är svår att förklara. Det kan vara så att förbehandlingen där kärnorna poppas bildar strukturer som gör stärkelsen mindre tillgänglig för hydrolys. Stärkelsens gelatiniseringsgrad borde vara ofullständig beroende på att värmebehandlingen (100-110°C) sker under en begränsad tid (1 min) och begränsad vattentillgång. Resterande ogelatiniserad stärkelse förklustras troligen i reaktorn då vattentillgången är obegränsad och reaktortemperaturen (50°C) ligger nära spannmålsstärkelsens gelatiniseringstemperatur (50-60°C). Att överföra effekten till ett livsmedel (t.ex. bröd) kompliceras av att det passerar munnen och tuggas. Tuggningen visar sig ha en stor effekt och tuggbehovet bör därmed begränsas genom att göra livsmedlet lättuggat utan att öppna strukturen för mycket.

5 Slutsatser

- Stärkelsen hos produkter baserade på fullkornsmjöl har liknande hydrolyshastighet som produkter baserade på vanligt mjöl.
- Hela livsmedel (spannmålskärnor, pasta) med bevarad form skyddar effektivt stärkelsen från enzymatisk hydrolys.
- Tuggning av livsmedel ökar signifikant tillgängligheten av stärkelsen. Individuell variation mellan försökspersoner har troligtvis stor roll i hur mycket livsmedlet tuggas.
- Livsmedel som är lättuggade och kräver liten bearbetning bevarar i större utsträckning sin naturliga struktur vilket gör stärkelsen mindre tillgänglig.
- Stora skillnader i hydrolysisindex mellan hela (obehandlade) livsmedel jämnas ut när de tuggas.
- Metoden för bestämning av hydrolysisindex är ett funktionellt, effektivt och billigt redskap att studera strukturegenskaper hos livsmedelsråvaror.
- Den förhöjda reaktortemperaturen (50°C) gör metoden osäker för studier av gelatiniseringsgraden hos stärkelsen, det kan troligtvis ske en viss gelatinisering under hydrolysens gång.

6 Acknowledgements

Jag vill tacka Cerealia R&D med personal för att ni skapat möjligheterna att genomföra mitt examensarbete i Skåne. Det har varit en mycket spännande och utvecklande tid som jag fått se delar av skarp produktutveckling från insidan.

Examinator och handledare Margaretha Jägerstad skall ha ett tack för att med smidighet och elegans lyckats lotsa mig igenom den akademiska labyrinten.

7 Referenser

Abrahamsson, L., Andersson, I., Aschan-Åberg, K., Becker, W., Göranson, H., Hagren, B., Håglin, L., Jonsson, I., Jonsson, L., Nilsson, G. 1999. *Näringslära för högskolan*. 3:e uppl. Liber AB. Stockholm.

Arvidsson-Lenner, R., Asp, N-G., Axelsen, M., Bryngelsson, S., Haapa, E., Järvi, A., Karlström, B., Raben, A., Sohlström, A., Thorsdottir, I., Vessby, B. *Glycaemic Index. Relevance for health, dietary recommendations and food labelling*. Scandinavian journal of Nutrition. 2004; 48(2): s84-94.

Björck, I., Elmståhl, H. *Glykemiskt Index Metabolism och mättnadsgrad*. Scandinavian journal of Nutrition/Näringsforskning. 2000; 44: s113-117.

Björck, I., Liljeberg, H., Östman, E. *Low glycaemic-index foods*. British Journal of Nutrition. 2000; 83: (suppl. 1) s149-155.

FAO Food and Nutrition Paper 66: *Carbohydrates in human nutrition*. Report of a joint FAO/WHO Expert Consultation, Rome; 1998.

Fennema, O.R. 1996. *Food Chemistry 3rd ed.*, Marcel Dekker, New York, USA.

Granfeldt, Y., Björck, I., Drews, A., Tovar, J. *An in vitro procedure based on chewing to predict response to starch in cereal and legume products*. European Journal of Clinical Nutrition. 1992; 46: s. 649-660.

Hart, H., Craine, L.E., Hart, D.J. 1999. *Organic Chemistry 10th ed.*, Houghton Mifflin Company, Boston, New York, USA.

Holm, J., Björck, I., Drews, A., Asp, N-G. *A rapid method for the analysis of starch*. Starch/Stärke. 1986; 38: s224-226.

Hoseney, R.C. 1998. *Principles of cereal science and technology*. AACC, Inc., St. Paul, USA.

Larsson, M., Arasaratnam, V., Mattiasson, B. *Integration of bioconversion and downstream processing: Starch hydrolysis in an aqueous two-phase system*. Biotechnology and Bioengineering. 1989; 33: s758-766.

Larsson, M., Salomonsson, I. 1996. *Sötningsexikon –om socker och sötningsmedel*. Danisco Sugar AB. Malmö. Sverige.

Liljeberg, H. 1994. *Nutritional properties of starch in bread*. PhD thesis. Dep. of applied nutrition and food chemistry, Lund University, Sweden.

Internet

www.chemel.com

www.fao.org

www.slv.se

www.tasgrain.com.au

www.nice-info.be/image/NUTRINEWS