



ΓΕΩΠΟΝΙΚΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΑΘΗΝΩΝ
AGRICULTURAL UNIVERSITY OF ATHENS

**ΤΜΗΜΑ ΕΠΙΣΤΗΜΗΣ ΤΡΟΦΙΜΩΝ ΚΑΙ ΔΙΑΤΡΟΦΗΣ ΤΟΥ ΑΝΘΡΩΠΟΥ
ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟ ΧΗΜΕΙΑΣ ΚΑΙ ΑΝΑΛΥΣΗΣ ΤΡΟΦΙΜΩΝ**

**Π.Μ.Σ. ΕΠΙΣΤΗΜΗ ΚΑΙ ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑ ΤΡΟΦΙΜΩΝ ΚΑΙ ΔΙΑΤΡΟΦΗΣ ΤΟΥ ΑΝΘΡΩΠΟΥ
ΚΑΤΕΥΘΥΝΣΗ: ΔΙΑΤΡΟΦΗ, ΔΗΜΟΣΙΑ ΥΓΕΙΑ ΚΑΙ ΠΟΛΙΤΙΚΕΣ**

ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΗ ΕΡΕΥΝΗΤΙΚΗ ΜΕΛΕΤΗ

**Διερεύνηση της επίδρασης της κοκκομετρίας αλεύρου
στο γλυκαιμικό δείκτη, στην ινσουλίνη σιέλου και
λειτουργικά χαρακτηριστικά άρτου ολικής άλεσης.**

ΠΑΠΑΛΕΞΗ ΑΙΚΑΤΕΡΙΝΗ

ΕΠΙΒΛΕΠΟΥΣΑ: ΑΙΜΙΛΙΑ ΠΑΠΑΚΩΝΣΤΑΝΤΙΝΟΥ

Αθήνα 2017



ΓΕΩΠΟΝΙΚΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΑΘΗΝΩΝ
AGRICULTURAL UNIVERSITY OF ATHENS

ΤΜΗΜΑ ΕΠΙΣΤΗΜΗΣ ΤΡΟΦΙΜΩΝ ΚΑΙ ΔΙΑΤΡΟΦΗΣ ΤΟΥ ΑΝΘΡΩΠΟΥ
ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟ ΧΗΜΕΙΑΣ ΚΑΙ ΑΝΑΛΥΣΗΣ ΤΡΟΦΙΜΩΝ

Π.Μ.Σ. ΕΠΙΣΤΗΜΗ ΚΑΙ ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑ ΤΡΟΦΙΜΩΝ ΚΑΙ ΔΙΑΤΡΟΦΗΣ ΤΟΥ ΑΝΘΡΩΠΟΥ
ΚΑΤΕΥΘΥΝΣΗ: ΔΙΑΤΡΟΦΗ, ΔΗΜΟΣΙΑ ΥΓΕΙΑ ΚΑΙ ΠΟΛΙΤΙΚΕΣ

ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΗ ΕΡΕΥΝΗΤΙΚΗ ΜΕΛΕΤΗ

**Διερεύνηση της επίδρασης της κοκκομετρίας αλεύρου
στο γλυκαιμικό δείκτη, στην ινσουλίνη σιέλου και
λειτουργικά χαρακτηριστικά άρτου ολικής άλεσης.**

ΠΑΠΑΛΕΞΗ ΑΙΚΑΤΕΡΙΝΗ

ΕΠΙΒΛΕΠΟΥΣΑ: ΑΙΜΙΛΙΑ ΠΑΠΑΚΩΝΣΤΑΝΤΙΝΟΥ

Τριμελής Εξεταστική Επιτροπή:

Αιμιλία Παπακωνσταντίνου, Λέκτορας Διατροφής και Μεταβολισμού
Τμήμα Επιστήμης Τροφίμων και Διατροφής του Ανθρώπου Γεωπονικό Πανεπιστήμιο
Αθηνών.

Ιωάννα Μαντάλα, Επίκουρος Καθηγήτρια στις Φυσικές Ιδιότητες Τροφίμων
Τμήμα Επιστήμης Τροφίμων και Διατροφής του Ανθρώπου
Γεωπονικό Πανεπιστήμιο Αθηνών.

Νικόλαος Στοφόρος, Καθηγητής Συντήρησης Τροφίμων
Τμήμα Επιστήμης Τροφίμων και Διατροφής του Ανθρώπου
Γεωπονικό Πανεπιστήμιο Αθηνών

ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ

Αρχικά θα ήθελα να ευχαριστήσω τα μέλη της ερευνητικής ομάδας Χαλούλο Παναγιώτη, Γουρδομιχάλη Θεοδώρα, Βενέτη Νατάσα η συμβολή τους ήταν καθοριστική για την πραγματοποίηση της μελέτης.

Επίσης, θα ήθελα να ευχαριστήσω θερμά τους εθελοντές μας για την υπομονή τους και την πολύτιμη συνεισφορά τους.

Θα ήθελα ιδιαιτέρως να εκφράσω τις ευχαριστίες και την ευγνωμοσύνη μου στην επιβλέπουσα καθηγήτρια μου Παπακωνσταντίνου Αιμιλία για την ανάθεση του θέματος, την πολύτιμη βοήθεια της, τον ενδιαφέρον και το χρόνο που διέθεσε για την διεκπεραίωση της μελέτης.

Τέλος, θέλω να ευχαριστήσω την οικογένεια και τους φίλους μου για τη θερμή υποστήριξη στο βήμα της απόκτησης του Μεταπτυχιακού αυτού Τίτλου.

Αθήνα 2017

Περιεχόμενα

1. Εισαγωγή	10
1.1 Γλυκαιμικός Δείκτης (ΓΔ) και Γλυκαιμικό Φορτίο (ΓΦ)	11
1.2 Σημασία Γλυκαιμικού Δείκτη	12
2. Ψωμί.....	14
2.1 Συστατικά Παρασκευής του Ψωμιού.....	14
2.2 Δημητριακά Ολικής Άλεσης (ΔΟΛ).....	15
2.3 Περιγραφή Σπόρου	16
2.4 Αμυλούχα Τρόφιμα και Επίδραση στην υγεία	18
2.5 Γλυκαιμικός Δείκτης Ψωμιού Ολικής Άλεσης.....	19
2.6 Επίδραση της Κοκκομετρίας στη Γλυκαιμική Απόκριση.....	19
2.7 Διατροφική Αξία Δημητριακών Ολικής Άλεσης.....	20
2.8 Χαρουπάλευρο	22
3. Μεθοδολογία.....	23
3.1 Εθελοντές-Κριτήρια επιλογής.....	24
3.2 Σχεδιασμός της μελέτης.....	24
3.3 Εξεταζόμενα ψωμιά και τρόφιμα αναφοράς.....	25
3.4 Πειραματική διαδικασία	28
3.5 Ανθρωπομετρία.....	31
3.6 Ερωτηματολόγια	31
3.7 Διατροφική αξιολόγηση.....	32
3.8 Εκτίμηση υποκειμενικής πείνας και κορεσμού (VAS).....	32
3.10 Υπολογισμός Εμβαδού κάτω από την καμπύλη	32
3.11 Στατιστική ανάλυση.....	33
4. Αποτελέσματα.....	34

4.1 Περιγραφή δείγματος.....	34
4.2 Γλυκαιμική απόκριση	34
4.3 Εμβαδό κάτω από την καμπύλη (AUC).....	35
4.4 Γλυκαιμικός Δείκτης και Γλυκαιμικό Φορτίο	37
4.5 Ινσουλίνη σιέλου και Εμβαδό κάτω από την καμπύλη (AUC)	37
4.7 Επίδραση των ψωμιών στην Υποκειμενική Πείνα και τον Κορεσμό.....	38
5. Συζήτηση - Συμπεράσματα.....	39
6. Παράρτημα.....	43
6.1 Διαγράμματα Αποτελεσμάτων.....	43
Εικόνα 6.1.1 Οι συγκεντρώσεις γλυκόζης αίματος (mmol/l) από τους 11 εθελοντές πριν και μετά την κατανάλωση των 4 υπό εξέταση ψωμιών και του ροφήματος ελέγχου (Mean±SEM).....	43
Εικόνα 6.1.2 Εμβαδά συγκεντρώσεων γλυκόζης αίματος (AUC) σε mmol*min/l, πριν και μετά την κατανάλωση των 4 υπό μελέτη ψωμιών και του ροφήματος γλυκόζης (τρόφιμο ελέγχου), (Mean±SEM).....	44
Εικόνα 6.1.3 Μέση συγκέντρωση ινσουλίνης σιέλου των 10 εθελοντών πριν και μετά την κατανάλωση των 4 υπό εξέταση ψωμιών και του ροφήματος ελέγχου (γλυκόζη). (Mean ±SEM).	44
6.2 Πίνακες Αποτελεσμάτων	45
Πίνακας 6.2.1 Κατανομή των χαρακτηριστικών των συμμετεχόντων ¹	45
Πίνακας 6.2.2 Οι συγκεντρώσεις της γλυκόζης του αίματος (mmol/l) 2h μετά την κατανάλωση των γευμάτων. ¹	46
Πίνακας 6.2.3 Εμβαδά συγκεντρώσεων γλυκόζης αίματος (AUC) σε mmol*min/l, πριν και μετά την κατανάλωση των 4 υπό μελέτη ψωμιών και του ροφήματος γλυκόζης (τρόφιμο ελέγχου) ¹	46
Πίνακας 6.2.4 Συνολικά εμβαδά κάτω από τη καμπύλη (iAUC) για το διάστημα των 2 ωρών (Mean±SEM).	46
Πίνακας 6.2.5 Γλυκαιμικός Δείκτης και Γλυκαιμικό Φορτίο των 4 υπό εξέταση ψωμιών, με την γλυκόζη (Glu) και το Λευκό ψωμί (WB) ως πρότυπο αναφοράς. (Mean SEM).....	47

Πίνακας 6.2.6 Οπτικές αναλογικές κλίμακες (VAS) (mm) υποκειμενικής πείνας και κορεσμού στους χρόνους 0 και 120 λεπτά, για τα 4 είδη ψωμιού, Median (Q1, Q3)	47
---	----

Περίληψη

Τίτλος: Διερεύνηση της επίδρασης της κοκκομετρίας αλεύρου στο γλυκαιμικό δείκτη, στην ινσουλίνη σιέλου και λειτουργικά χαρακτηριστικά άρτου ολικής άλεσης.

Υπόβαθρο και στόχος: Οι δίαιτες χαμηλού γλυκαιμικού δείκτη και/ή γλυκαιμικού φορτίου έχουν συνδεθεί με μειωμένο κίνδυνο εμφάνισης χρόνιων νοσημάτων. Το μέγεθος των σπόρων των δημητριακών που χρησιμοποιούνται για την παρασκευή ψωμιών ενδέχεται να επηρεάζει την γλυκαιμική απόκριση, πιθανότατα λόγω της διαφορετικής επιφάνειας του αμύλου. Ωστόσο, η επίδραση που μπορεί να έχει η μεταβολή της κοκκομετρίας αποκλειστικά του πιτύρου στην γλυκαιμική απόκριση δεν έχει μελετηθεί. Ο στόχος της παρούσας μελέτης ήταν να μελετηθεί η επίδραση της άλεσης του πιτύρου στην γλυκαιμική απόκριση.

Μεθοδολογία: Δέκα υγιή άτομα φυσιολογικού βάρους συμμετείχαν σε μία τυχαιοποιημένη διασταυρούμενη κλινική δοκιμή, όπου και κατανάλωσαν με τυχαία σειρά καθαρή γλυκόζη (Glu), λευκό ψωμί (WB), ένα ψωμί με το χονδρόκοκκο πίτυρο (X), ένα με το λεπτόκοκκο πίτυρο (Λ) και το Λ στο οποίο 10% του λευκού αντικαταστήθηκε από χαρουπάλευρο (ΛΧΑ). Μετρήσεις της συγκέντρωσης γλυκόζης αίματος και σάλιου για μέτρηση ινσουλίνης ελήφθησαν 0, 15, 30, 45, 60, 90 και 120 min έπειτα από την κατανάλωση των γευμάτων.

Αποτελέσματα: Οι γλυκαιμικοί δείκτες και τα γλυκαιμικά φορτία (με πρότυπο τη γλυκόζη) ήταν 69 και 10 για το X, 83 και 12 για το Λ και 70 και 8 για το ΛΧΑ. Σημειώθηκε σημαντική αλληλεπίδραση γλυκόζης*χρόνου ($p < 0.001$) και γλυκόζης*ψωμιού ($p = 0.03$). Σε σύγκριση με την καθαρή γλυκόζη το X παρουσίασε υψηλότερη συγκέντρωση γλυκόζης αίματος για τα 120 min ($p = 0.016$), το Λ χαμηλότερη στα 15 και 30 min ($p = 0.049$ και $p = 0.004$, αντίστοιχα) και υψηλότερη στα 120 min ($p = 0.008$), ενώ το ΛΧΑ χαμηλότερη στα 15 min ($p = 0.008$), 30 min ($p = 0.008$) και οριακά στα 45 min ($p = 0.057$). Δεν σημειώθηκαν σημαντικές διαφορές μεταξύ των ψωμιών. Για το συνολικό εμβαδόν κάτω από την καμπύλη (iAUC) για τις 2 ώρες, σημειώθηκε σημαντική αλληλεπίδραση iAUC*ψωμί ($p = 0.013$). Η Glu σημείωσε την υψηλότερη τιμή, ενώ τα X και ΛΧΑ είχαν τις χαμηλότερες.

Συμπεράσματα: Η παρούσα μελέτη παρέχει ενδείξεις πως η μεγαλύτερη κοκκομετρία του πιτύρου και η αντικατάσταση αλεύρου από χαρουπάλευρο ενδέχεται να μειώνουν την γλυκαιμική απόκριση και να βοηθούν στον καλύτερο γλυκαιμικό έλεγχο.

Λέξεις κλειδιά: πίτουρο, κοκκομετρική σύσταση, γλυκαιμική απόκριση, χαρούπι

Abstract

Title: Effects of bran size on glycemic responses. A randomized clinical trial in healthy subjects.

Background and objectives: Diets characterized by low glycemic index (GI) have been associated with decreased risk of chronic diseases. Breads' grain particle size may affect glycemic response, possibly due to the altered starch surface, hence its susceptibility to enzymatic hydrolysis. However, the role of bran's particle size alone has not been studied. The aims of this study were to determine the GI of three breads and to investigate the effects of bran's particle size on postprandial glycemic response.

Methods: Ten healthy, normal-weight subjects participated in GI investigation following International Standard Organization's protocol. Participants, in this double blind, crossover trial, consumed in random order 50g available carbohydrate portions as glucose (Glu, reference food, tested three-times) and white bread (WB), bread enriched with coarse wheat bran (CB), bread enriched with fine wheat bran (obtained by milling of the coarse bran) (FB) and the FB in which 10% of the flour was substituted with carob seed flour (CSFB), tested once, on separate occasions. Capillary blood glucose and salivary insulin samples were taken at 0, 15, 30, 45, 60, 90 and 120min.

Results: The glycemic index was 69 for CB, 83 for FB and 70 for CSFB and the glycemic load was 10 for CB, 12 for FB and 8 for CSFB. There was a significant glucoseXtime interaction ($p < 0.001$), a glucoseXbread interaction ($p = 0.03$). There was a significant main effect of bread type on iAUC for glucose ($p = 0.013$). Compared to the reference food, blood glucose concentrations were significantly lower: for CB at 120min ($p = 0.02$); for FB at 15, 30, and 120min ($p = 0.049$, $p = 0.004$ and $p = 0.008$, respectively); for CSFB at 15 and 30min and marginally at 45min ($p = 0.0008$, $p = 0.008$, $p = 0.06$, respectively). Peak glucose rise was significantly lower only for CSFB compared to the reference food ($p = 0.03$). No differences were observed for fasting glucose, fasting salivary insulin, iAUC for salivary insulin, time to peak rise for glucose or insulin.

Conclusion: Breads differed in GI/GL. Bran particle size and flour substitution by carob seed flour attenuated postprandial glycemic response, which may offer advantages to glycemic control.

Key-words: bran, particle size, glycemic response, carob.

1. Εισαγωγή

Το ψωμί είναι ένα βασικό τρόφιμο που χρονολογείται από το 12000 π.Χ. και κατέχει περίοπτη θέση στην ιστορία του ανθρώπινου πολιτισμού, καθώς ο έλεγχος της παραγωγής και διανομής του έχει χρησιμοποιηθεί για την άσκηση πολιτικής επιρροής, ενώ η έλλειψη του έχει συνδεθεί με δύσκολους καιρούς (Mondal A. 2008).

Παγκοσμίως τα δημητριακά και τα προϊόντα τους και ειδικά το ψωμί είναι η κύρια πηγή ενέργειας στη διατροφή του ανθρώπου και το λευκό ψωμί που παρασκευάζεται από αλεύρι σίτου είναι το πιο διαδεδομένο είδος ψωμιού παγκοσμίως (Nations 10-11 February 2004). Είναι ευρέως γνωστό ότι το άμυλο του λευκού ψωμιού διασπάται και απορροφάται ραγδαία από τον οργανισμό, προκαλώντας υψηλή γλυκαιμική απόκριση (αύξηση μεταγευματικής γλυκόζης αίματος) (Fardet et al. 2006), με πολλές έρευνες να συσχετίζουν την αύξηση αυτή με πολλές Μεταβολικές Νόσους όπως ο Διαβήτης τύπου 2 και η Παχυσαρκία (Serra-Majem and Bautista-Castano 2015). Έτσι τα τελευταία χρόνια παρατηρείται και πάλι αυξημένη ζήτηση για προϊόντα ολικής άλεσης λόγω της υψηλής διατροφικής αξία τους, αφού πλήθος μελετών έχουν συσχετίσει αρνητικά την κατανάλωσή δημητριακών ολικής άλεσης με την εμφάνιση χρόνιων νόσων, όπως η καρδιαγγειακή νόσος, ο Σακχαρώδης Διαβήτης Τύπου 2 και μερικούς τύπους καρκίνου (Alminger and Eklund-Jonsson 2008).

Ο Γλυκαιμικός δείκτης των τροφίμων χρησιμοποιείται για να κατηγοριοποιήσει τα τρόφιμα βάσει της επίδρασής τους στην μεταγευματική γλυκαιμία. Έχει συγκεντρώσει μεγάλο ερευνητικό ενδιαφέρον, αφού έχει φανεί ότι δίαιτες χαμηλού Γλυκαιμικού δείκτη δρουν προστατευτικά έναντι αρκετών χρόνιων νοσημάτων (Jenkins et al. 2002). Συνεπώς, γίνεται προσπάθεια να μειωθεί ο γλυκαιμικός δείκτης των τροφίμων, ιδιαίτερα εκείνων που έχουν υψηλό γλυκαιμικό δείκτη όπως το ψωμί. Υπάρχουν ενδείξεις ότι η κοκκομετρία του σπόρου μπορεί να επηρεάσει την μεταγευματική γλυκαιμική απόκριση, το οποίο έχει αποδοθεί στην μικρότερη έκθεση του αμύλου στα αμυλολυτικά ένζυμα (Jenkins et al. 1988). Εντούτοις, δεν έχει μελετηθεί αν η κοκκομετρία του πιτύρου μπορεί να επηρεάσει την γλυκαιμική απόκριση.

1.1 Γλυκαιμικός Δείκτης (ΓΔ) και Γλυκαιμικό Φορτίο (ΓΦ)

Η έννοια του γλυκαιμικού δείκτη (ΓΔ) εισήχθη το 1981, ως ένα μέσο για να αξιολογηθεί η επίδραση των διαφόρων τροφίμων στα επίπεδα γλυκόζης του αίματος (Jenkins et al. 1981). Με βάση τον ορισμό κατά ISO (<https://www.iso.org/standard/43633.html>): «Ο ΓΔ είναι μια ιδιότητα των υδατανθράκων διαφορετικών τροφίμων και ειδικότερα των εύπεπτων υδατανθράκων, οι οποίοι έχουν την ικανότητα να αυξάνουν τα επίπεδα γλυκόζης του αίματος. Συγκρίνει τους υδατάνθρακες μάζα προς μάζα σε μεμονωμένα τρόφιμα, στη φυσιολογική κατάσταση στην οποία αυτά καταναλώνονται» (Wolever 2004). Για ερευνητικούς σκοπούς ο ΓΔ, ορίζεται ως το ποσοστό του εμβαδού κάτω από την καμπύλη γλυκόζης που σημειώνεται 2 ώρες μετά την κατανάλωση ποσότητας του προς εξέταση τροφίμου που περιέχει 50g. διαθέσιμων υδατανθράκων ως προς το αντίστοιχο εμβαδό έπειτα από κατανάλωση 50g. διαθέσιμων υδατανθράκων από ένα τρόφιμο αναφοράς, το οποίο συνήθως είναι η γλυκόζη ή το λευκό ψωμί (Brouns et al. 2005). Υπάρχουν διάφοροι τρόποι υπολογισμού του εμβαδού κάτω από την καμπύλη, ωστόσο ο πιο ενδεδειγμένος είναι το incremental Area Under the Curve (iAUC), το οποίο προτείνεται και από τον FAO/ WHO (1998). Ο συγκεκριμένος τρόπος υπολογισμού λαμβάνει υπόψη μόνο το εμβαδόν κάτω από την καμπύλη της γλυκόζης που βρίσκεται πάνω από την γλυκόζη νηστείας (Brouns et al. 2005).

Επειδή όμως, ο ΓΔ δεν λαμβάνει υπόψη την ποσότητα υδατανθράκων που περιέχονται σε μία τυπική μερίδα, συχνά χρησιμοποιείται το Γλυκαιμικό Φορτίο που υπολογίζεται ως εξής (Monro and Shaw 2008):

$$\text{ΓΦ} = (\text{ΓΔ}/100) * \text{w} * \text{p}$$

όπου,

p: τα γραμμάρια διαθέσιμων υδατανθράκων στα 100 γραμμάρια του τροφίμου,

w: τα γραμμάρια του τροφίμου.

Να σημειωθεί ότι οι διαθέσιμοι υδατάνθρακες, μπορεί να είναι σε διαφορετικές μονάδες μέτρησης, για παράδειγμα g ανά μερίδα, g ανά 100g τροφίμου, g ανά ημερήσια πρόσληψη και g ανά 1000kcal. Επομένως, ανάλογα με τη μονάδα μέτρησης που χρησιμοποιείται, το ΓΦ μπορεί να έχει μονάδες g ανά μερίδα, g ανά 100g τροφίμου ή g ανά 1000 kcal (Monro and Shaw 2008)

Με άλλα λόγια το Γλυκαιμικό Φορτίο αποτελεί της ποσοτικοποίηση της ολικής γλυκαιμικής απόκρισης ενός τροφίμου καθώς συμπεριλαμβάνει την ποσότητα των υδατανθράκων στη μερίδα του τροφίμου. Για αυτό το λόγο αποτελεί ακριβέστερο δείκτη από το γλυκαιμικό δείκτη.

1.2 Σημασία Γλυκαιμικού Δείκτη

Τρόφιμα χαμηλού ΓΔ θεωρούνται όσα περιέχουν υδατάνθρακες που επιδρούν σε μικρότερο βαθμό στα επίπεδα γλυκόζης του αίματος, επειδή η πέψη και απορρόφησή τους είναι πιο αργή ή επειδή τα σάκχαρα που περιέχουν (π.χ. φρουκτόζη, λακτόζη) αυξάνουν τη γλυκόζη του αίματος σε μικρότερο βαθμό συγκριτικά με τη γλυκόζη. Όταν συνδυάζονται σε γεύματα, τα τρόφιμα χαμηλού ΓΔ παράγουν μικρότερη διακύμανση στη γλυκόζη του αίματος και στα επίπεδα ινσουλίνης συγκριτικά με τρόφιμα υψηλού ΓΔ. Η κλινική και πρακτική σημασία του ΓΔ συνεχίζεται να μελετάται και υπάρχουν αυξανόμενες αποδείξεις για οφέλη στην υγεία όταν τρόφιμα χαμηλού ΓΔ αντικαθιστούν τρόφιμα υψηλού ΓΔ στα πλαίσια μιας ισορροπημένης διατροφής (Brouns et al. 2005).

Ο ΓΔ έχει συγκεντρώσει έντονο ενδιαφέρον, αφού έχει φανεί ότι οι δίαιτες χαμηλού ΓΔ βοηθούν στον καλύτερο γλυκαιμικό έλεγχο σε άτομα με ΣΔΤ2. Αυτό καταδεικνύεται από μετα-αναλύσεις τυχαιοποιημένων κλινικών δοκιμών, οι οποίες έχουν σημειώσει μείωση της γλυκοζυλιωμένης αιμοσφαιρίνης (HbA1c) σε σχέση με δίαιτες υψηλού ΓΔ (Wang et al. 2015) ή άλλες δίαιτες (Ajala, English, and Pinkney 2013). Σε πρόσφατη μετα-ανάλυση (Wang et al. 2015) βρέθηκε Standard Mean Difference = - 0.42 (95% CI: -0.69 με -0,16). Η διαφορά αυτή, αν και μικρή, θεωρείται σημαντική για την αποφυγή των επιπλοκών του διαβήτη. Δύο ακόμα μετα-αναλύσεις απέδειξαν πως η αύξηση 5 μονάδων στο ΓΔ και 20 στο ΓΦ, αυξάνουν την επίπτωση του ΣΔ τύπου 2 (RR=1.08 και RR=1.03 αντίστοιχα) και οι δίαιτες χαμηλού ΓΔ και ΓΦ φαίνεται να μειώνουν τη συγκέντρωση ινσουλίνης νηστείας (WMD= - 5.16mmol/l, p=0.002) και τη C-αντιδρώσα πρωτεΐνη (WMD=-0.43, p=0.01) (Schwingshackl and Hoffmann 2013; Greenwood et al. 2013). Οι νεότερες συστάσεις της Αμερικάνικης Διαβητολογικής Εταιρίας περιλαμβάνουν την πρόληψη υδατανθράκων από τρόφιμα χαμηλού γλυκαιμικού δείκτη, βασιζόμενοι πως μπορούν να μειώσουν την γλυκοζυλιωμένη αιμοσφαιρίνη (HbA1c) κατά 0,2-0,5% (American Diabetes 2017).

Σημαντικές ενδείξεις υπάρχουν και για στο κομμάτι των Καρδιαγγειακών Νοσημάτων. Σε μετα-ανάλυση 14 προοπτικών μελετών (229.213 συμμετέχοντες) σημείωσαν σημαντικά υψηλότερο κίνδυνο εμφάνισης καρδιαγγειακών νοσημάτων για την ομάδα υψηλότερου ΓΔ (RR = 1.13, 95% CI: 1.04-1.22) και ΓΦ (RR = 1.23, 95% CI: 1.11-1.36) σε σύγκριση με τις αντίστοιχες χαμηλότερες ομάδες. Άλλες δύο μετα-αναλύσεις προοπτικών μελετών έχουν εξετάσει τη συσχέτιση ΓΔ/ ΓΦ και εγκεφαλικών επεισοδίων (Ma, Liu, and Song 2012). Σε άλλη μελέτη βρέθηκε υψηλότερος κίνδυνος για την ομάδα υψηλότερου ΓΦ έναντι της χαμηλότερης ομάδας (RR=1.23, 95% CI: 1.07-1.41) (Rossi et al. 2015).

Η Ευρωπαϊκή Αρχή για την Ασφάλεια των Τροφίμων (EFSA) δεν έχει κάνει καμία σύσταση για την χρησιμότητα του Γλυκαιμικού Δείκτη στην διατροφή, παρόλο που εξέτασε τα παραπάνω ευρήματα το 2010 (EFSA 2010). Κάποιες ευρωπαϊκές χώρες, όμως έχουν συμπεριλάβει τον ΓΔ στις συστάσεις των εθνικών διατροφικών τους οδηγών (Augustin et al. 2015).

2. Ψωμί

2.1 Συστατικά Παρασκευής του Ψωμιού

Τα 4 βασικά συστατικά για την παρασκευή του ψωμιού είναι: αλεύρι, νερό, μαγιά και αλάτι. Το αλεύρι μαζί με το νερό είναι τα σημαντικότερα συστατικά για την παρασκευή ψωμιού. Το συνηθέστερο αλεύρι που χρησιμοποιείται είναι αυτό που παράγεται από το σίτο, καθώς οι αποθηκευτικές πρωτεΐνες του σίτου (γλουτενίνες και γλοιαδίνες) έχουν την ικανότητα να σχηματίζουν τη γλουτένη. Η γλουτένη προσδίδει στο ζυμάρι ιξωδοελαστικές ιδιότητες και παρέχει τη δυνατότητα συγκράτησης αερίων κατά την επώαση και το ψήσιμο, καθιστώντας έτσι το άλευρο σίτου το πλέον κατάλληλο για αρτοποιία (Barak, Mudgil, and Khatkar 2015). Επιπλέον το νερό και ο προσδιορισμός της βέλτιστης ποσότητας διαδραματίζει πολύ σημαντικό ρόλο κατά την παραγωγή του ψωμιού, αφού αποτελεί τον συνδετικό κρίκο των συστατικών για την δημιουργία του ζυμαριού. Τόσο οι πρωτεΐνες, όσο και το άμυλο δεσμεύουν νερό και ανταγωνίζονται για αυτό, ενώ όταν προστεθούν και ίνες (πχ. με προσθήκη πιτύρου) οι ανάγκες για νερό αυξάνονται, αφού και αυτές έχουν την ικανότητα να δεσμεύουν σημαντικές ποσότητες νερού (Chaplin 2003). Η μαγιά αρτοποιίας συνίσταται από καλλιέργειες της ζύμης *Saccharomyces cerevisiae* ή συγγενικά είδη, συμβάλλει στο φούσκωμα του ζυμαριού μέσω του καταβολισμού των ζυμώσιμων σακχάρων και της ταυτόχρονης παραγωγής CO₂ (Donalies et al. 2008). Τέλος το αλάτι (Χλωριούχο Νάτριο) συμβάλλει σημαντικά στη διαμόρφωση τόσο των οργανοληπτικών, όσο και των φυσικοχημικών χαρακτηριστικών του τελικού προϊόντος.

Εκτός από τα 4 βασικά συστατικά που αναφέρθηκαν, συχνά γίνεται χρήση και άλλων συστατικών που έχουν ως στόχο την βελτίωση των τελικών προϊόντων. Η προσθήκη ζάχαρης γίνεται για να υποβοηθηθεί η εκκίνηση της ζύμωσης της μαγιάς (*S.cerevisiae*), αφού ο μύκητας εκτός από την μαλτόζη που παράγεται από τις αμυλάσες του αλεύρου δεν χωρίς να έχει την δυνατότητα να εκμεταλλευτεί το άπεπτο άμυλο (Donalies et al. 2008). Η προσθήκη λιπών και ελαίων (Shortening) στο ψωμί είναι μια συνήθης τακτική, αφού έχει θετικές επιδράσεις στον όγκο, στην δομή (πιο μαλακή), στην ενσωμάτωση του αέρα. Το ασκορβικό οξύ χρησιμοποιείται ευρέως στην αρτοποιία, ιδιαίτερα σε αδύναμα άλευρα, για να βελτιώσει την δύναμή τους και να μειώσει το κολλώδες της ζύμης (M. 1997).

2.2 Δημητριακά Ολικής Άλεσης (ΔΟΑ)

Η American Association of Cereal Chemists (AACC) ορίζει ως **ολικής άλεσης** (whole grain) «την άθικτη, αλεσμένη, σπασμένη ή νιφαδοποιημένη καρύωση, της οποίας τα κύρια ανατομικά συστατικά, το αμυλούχο ενδοσπέρμιο, το φύτρο και το πίτυρο, βρίσκονται ουσιαστικά στις ίδιες σχετικές αναλογίες που υπάρχουν στην άθικτη καρύωση». Ο ορισμός αυτός συμφωνεί με τους περισσότερους ορισμούς που έχουν δοθεί, όπως αυτός που έχει δοθεί από την κοινοπραξία HEALTHGRAIN, με τον τελευταίο να επιτρέπει την απώλεια συστατικών (2% του σπόρου, 10% του πίτυρου) κατά την επεξεργασία για λόγους ασφαλείας (van der Kamp et al. 2014). Λιγότερο ξεκάθαρη είναι η βοτανική προέλευση των σπόρων που μπορούν να χρησιμοποιηθούν. Πολλοί φορείς (AACC , HEALTGRAIN, Whole Grains Council) περιλαμβάνουν τα δημητριακά (σιτάρι, κριθάρι, βρώμη, σίκαλη, ρύζι, αραβόσιτο κ.α.), καθώς και μερικά ψευδοδημητριακά που δεν ανήκουν στη οικ. Poaceae. όπως ο αμάραντος, το φαγόπυρο και η κινόα, ενώ εξαιρούν τους ελαιούχους σπόρους και τα ψυχανθή (van der Kamp et al. 2014). Ωστόσο, έχουν εκφραστεί επιφυλάξεις για το αν πρέπει ο ορισμός να είναι τόσο ευρύς. Η Δανία, η Σουηδία και η Νορβηγία έχουν συμφωνήσει σε ένα σύστημα κανόνων (“Scandinavian Keyhole for healthy eating”) οι οποίοι περιορίζουν τον χαρακτηρισμό δημητριακά ολικής άλεσης στο σιτάρι, τη σίκαλη, τη βρώμη, το ρύζι, το κριθάρι, τον αραβόσιτο, το σόργο και το κεχρί (Frolich, Aman, and Tetens 2013).

Από το 2000, ξεκίνησαν τα προϊόντα ολικής άλεσης να εισάγονται σαν εναλλακτική υγιεινή επιλογή, σε πολλούς εθνικούς διατροφικούς οδηγούς παγκοσμίως. Η Αμερική έχει εισάγει στα σχολικά γεύματα που δίνονται στους μαθητές προϊόντα ολικά άλεσης (Food and Nutrition Service 2012). Επιπλέον και η νέα έκδοση της Πυραμίδας της Μεσογειακής Διατροφής, επιτάσσει την στροφή στην καθημερινή κατανάλωση προϊόντων ολικής άλεσης (http://mediterradiet.org/nutrition/mediterranean_diet_pyramid).

Τα οφέλη των δημητριακών ολικής άλεσης έχουν ως αποτέλεσμα την ραγδαία αύξηση της κατανάλωσης προϊόντων ολικής άλεσης πχ δημητριακά πρωινού, ψωμιά, ζυμαρικά, κλπ. Έτσι τα τελευταία χρόνια, δημιουργείται μία νέα αγορά παραγωγής και διάθεσης προϊόντων ολικής άλεσης, που μάλιστα φαίνεται ότι μεγάλη μερίδα καταναλωτών

είναι διατεθειμένη να πληρώσει παραπάνω για αυτά τα προϊόντα. Αυτή η στροφή δεν θα μπορούσε να αφήσει ανεπηρέαστη την αγορά του ψωμιού, το οποίο είναι ένα από τα βασικότερα προϊόντα δημητριακών ανά τον κόσμο.

2.3 Περιγραφή Σπόρου

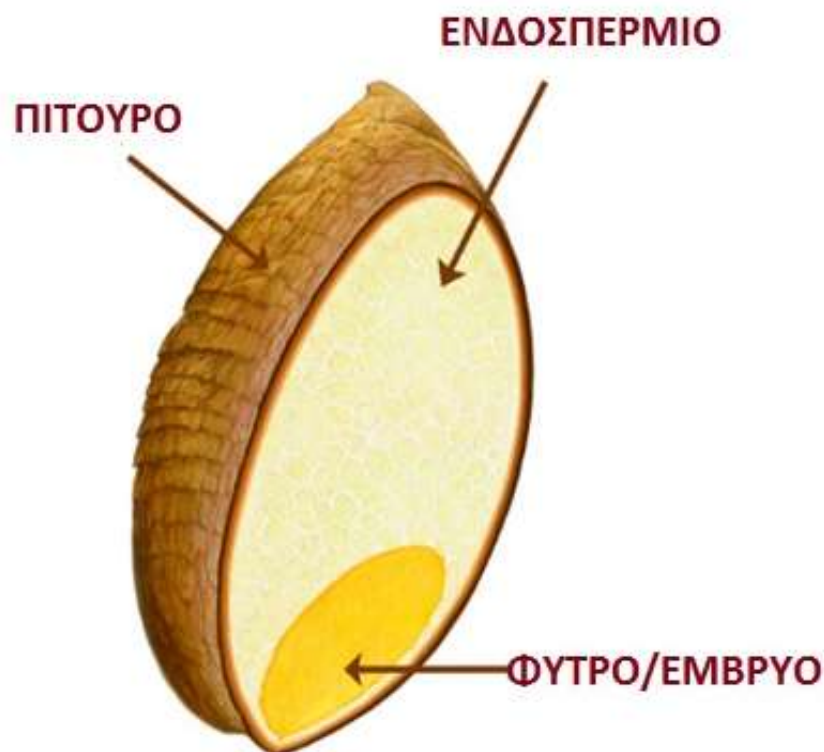
Ο σπόρος των δημητριακών ονομάζεται καρύωση και αποτελείται από 3 βασικά τμήματα, τα οποία είναι το ενδοσπέρμιο (80-85% w/w), το φύτρο (ή έμβρυο) (2-3% w/w) και το πίτυρο (12-18% w/w) (Brouns et al. 2012).

Το πίτυρο αποτελείται από τις εξωτερικές στρώσεις, οι οποίες είναι το περικάρπιο, το περίβλημα του σπόρου (testa), ο υαλώδης ιστός και η αλευρώνη. Το περικάρπιο μπορεί να διακριθεί περεταίρω στην εξωτερική επιδερμίδα, την υποδερμίδα και τα σωληνοειδή κύτταρα. Η αλευρώνη από βοτανικής άποψης αποτελεί την εξωτερική στρώση κυττάρων του ενδοσπερμίου, ωστόσο διαχωρίζεται από το αμυλούχο ενδοσπέρμιο κατά τη διαδικασία της άλεσης (Pomeranz 1988). Συνεπώς, το κλάσμα του πιτύρου που παίρνουμε από την άλεση περιέχει αλευρώνη μαζί με κομμάτια αμυλούχου ενδοσπερμίου που είναι ενωμένα στα κύτταρα της αλευρώνης (Brouns et al. 2012). Το πίτυρο έχει μεγάλη περιεκτικότητα σε ίνες, βιταμίνες του συμπλέγματος Β, τέφρα (K, P, Mg, Fe, Zn) και φυτοχημικές ενώσεις όπως φυτοστερόλες, φερουλικό οξύ κ.α. Οι ίνες στο σιτάρι είναι κυρίως αραβινοξυλάνες και κυτταρίνες. Είναι κατά βάσει αδιάλυτες και μόνο ένα μικρό ποσοστό (<5%) είναι διαλυτό, το οποίο αποτελείται από β-γλυκάνες και ξυλάνες. Η περιεκτικότητα του πιτύρου σε ίνες ανέρχεται περίπου στο 53%, όμως ανάλογα με το κλάσμα που παίρνουμε στην άλεση, το ποσοστό αυτό μπορεί να κυμαίνεται από 33,4-63% . Το περικάρπιο είναι πλούσιο σε κυτταρίνη και φαινολικά οξέα. Η αλευρώνη περιέχει υψηλές ποσότητες ινών κυρίως αραβινοξυλάνες (~35%), ενώ σε αυτό το κλάσμα βρίσκονται και οι β-γλυκάνες. Χαρακτηριστικό της αλευρώνης είναι η πολύ υψηλή ποσότητα σε τέφρα, η οποία ξεπερνάει το 10% (Brouns et al. 2012), ενώ αποτελεί και πολύ καλή πηγή βιταμινών, κυρίως θειαμίνης, νιασίνης και φολικού οξέος.

Το ενδοσπέρμιο του σπόρου περιέχει κυρίως άμυλο (80 - 84%) και πρωτεΐνες (7,4 - 13,9%) (Brouns et al. 2012). Το άμυλο του σιταριού περιέχει 26-31% αμυλόζη και το υπόλοιπο είναι αμυλοπηκτίνη (Belitz and Grosch 1999). Οι πρωτεΐνες του σιταριού

μπορούν να διακριθούν βάσει της διαλυτότητάς τους σε 4 κλάσματα (κλάσματα κατά Osborne): αλβουμίνες (υδατοδιαλυτές), γλοβουλίνες ή σφαιρίνες (αλατοδιαλυτές), γλοιαδίνες ή προλαμίνες (διαλυτές σε 70% υδατική αιθανόλη) και γλουτενίνες (οι υπόλοιπες) (Belitz and Grosch 1999).

Το έμβryo (ή φύτρο) αποτελείται από τον εμβρυικό άξονα και το περισπέρμιο. Το έμβryo έχει υψηλές ποσότητες πρωτεΐνης (24-31%), ελεύθερων σακχάρων (~18%, κυρίως σακχαρόζη και ραφινόζη), λιπιδίων (15% ο εμβρυικός άξονας και 32% στο περισπέρμιο), τέφρας (5%), καθώς και βιταμίνης E, με ποσότητες ως και 500 ppm (Brouns et al. 2012; Pomeranz 1988) (Hoseney 1994).



Εικόνα 1 Η ανατομία του σπόρου: Πίτουρο (Bran), Ενδοσπέρμιο (Endosperm), Έμβryo ή Φύτρο (Germ), <https://wholegrainscouncil.org/what-whole-grain>

2.4 Αμυλούχα Τρόφιμα και Επίδραση στην υγεία

Το άμυλο ευρίσκεται υπό μορφή κόκκων (granules) δηλαδή «πακέτα» χαρακτηριστικού μεγέθους και σχήματος. Το άμυλο είναι γλυκάνη, η γλυκόζη που το αποτελεί με την βοήθεια των αμυλασών μπορεί να επανέλθει στο μεταβολισμό του ανθρώπου για την κάλυψη των ενεργειακών του αναγκών. Το άμυλο και ως εκ τούτου τα αμυλούχα τρόφιμα, είναι κύρια πηγή ενέργειας για τον ανθρώπινο οργανισμό (Shewry 2009). Βάση της ταχύτητας της πέψης από τον πεπτικό σύστημα, τα άμυλα μπορούν να διαχωριστούν στις εξής κατηγορίες:

1. RDS (rapidly digestible starch): τα άμυλα ταχέως απορρόφησης μετατρέπονται σε μόρια γλυκόζης μέσω των πεπτικών ενζύμων εντός 20 λεπτών (Englyst et al. 1999). Τα RDS προάγουν τα αυξημένα μεταγευματικά επίπεδα σακχάρου στο αίμα και την αντίσταση στην ινσουλίνη και κατά συνέπεια συνδέονται με αυξημένο κίνδυνο Παχυσαρκίας, Διαβήτη και μεταβολικού συνδρόμου (Jenkins et al. 2002).
2. SDS (slowly digestible starch): τα άμυλα αργής απορρόφησης, τα οποία διασπώνται στο λεπτό έντερο και για αυτό ο χρόνος που απαιτείται είναι 120 λεπτά και κατά βάση είναι τροφές μετρίου γλυκαιμικού δείκτη. Τα SDS επηρεάζονται από την μηχανική και θερμική επεξεργασία (Jenkins et al. 2002).
3. RS (resistant starch): ανθεκτικό άμυλο δεν πέπτεται από τα ενζυμα του λεπτού εντέρου αλλά ζυμώνεται από την μικροχλωρίδα του παχέος εντέρου. Με την ζύμωση των RS στο παχύ έντερο απελευθερώνονται λιπαρά οξέα βραχείας αλυσίδας <6 άτομα άνθρακα (short-chain lipid acids) πχ οξικό οξύ, βουτυρικό με ευεργετική δράση στην ανθρώπινη υγεία. Έχει αποδειχθεί ότι δρουν όπως οι φυτικές ίνες πχ αυξάνουν τη κινητικότητα του παχέος εντέρου. Ανθεκτικά στην πέψη άμυλα απαντώνται στα όσπρια, στους σπόρους ολικής άλεσης, σε τροφές που έχουν τροποποιηθεί χημικώς για να αντιστέκονται στην πέψη κ.α. (Zaman and Sarbini 2016).

2.5 Γλυκαιμικός Δείκτης Ψωμιού Ολικής Άλεσης

Το ψωμί, όπως προαναφέρθηκε, είναι ένα από τα πιο κοινά τρόφιμα. Σε πολλές ευρωπαϊκές χώρες μάλιστα, συνεισφέρει μεγάλο μέρος των συνολικών υδατανθράκων (Stamataki, Yanni, and Karathanos 2016). Ωστόσο, το λευκό ψωμί είναι ένα τρόφιμο υψηλού ΓΔ, ενώ και το ψωμί από αλεύρι ολικής άλεσης (whole meal) δεν φαίνεται να διαφέρει σημαντικά, εν αντιθέσει με προϊόντα από την ίδια πρώτη ύλη, όπως τα ζυμαρικά, τα οποία εμφανίζουν χαμηλό ως μέτριο ΓΔ (Atkinson, Foster-Powell, and Brand-Miller 2008). Οι υψηλός ΓΔ του ψωμιού αποδίδεται στην πορώδη δομή του, που του προσδίδει μεγάλη επιφάνεια, καθώς και στον υψηλό βαθμό ζελατινοποίησης του αμύλου, τα οποία αμφότερα επιταχύνουν την πέψη και απορρόφησή του (Fardet et al. 2006).

2.6 Επίδραση της Κοκκομετρίας στη Γλυκαιμική Απόκριση

Η ευρεία χρήση του ψωμιού καθιστά επιτακτική την βελτίωση της διατροφικής του αξίας. Κατά συνέπεια, έχουν γίνει πολλές προσπάθειες να μειωθεί ο γλυκαιμικός του δείκτης. Αρκετές μελέτες έχουν δείξει ότι ο βαθμός άλεσης των δημητριακών μπορεί να επηρεάσει την γλυκαιμική απόκριση τόσο σε υγιή άτομα (Jayasinghe, Ekanayake, and Nugegoda 2013; Holt and Miller 1994; Heaton et al. 1988), όσο και σε άτομα με Σακχαρώδη Διαβήτη Τύπου 2 (Jenkins et al. 1981), ενώ σε άλλες μελέτες δεν παρατηρήθηκε σημαντική διαφορά (Eelderink et al. 2017; Behall, Scholfield, and Hallfrisch 1999, 2005). Όλες οι παραπάνω έρευνες έχουν γίνει βάσει του βαθμού της άλεσης ολόκληρου του σπόρου. Ωστόσο, το άμυλο βρίσκεται κυρίως στο αμυλούχο ενδοσπέρμιο, το οποίο και απομονώνεται για την παραγωγή λευκών αλεύρων. Αντιθέτως, το κλάσμα που απομακρύνεται αποτελείται κυρίως από πίτυρο και φύτρο, με συνέπεια να είναι φτωχό σε άμυλο, ενώ περιέχει πολλά βιοδραστικά συστατικά, όπως ίνες, βιταμίνες, ιχνοστοιχεία και φυτοχημικές ενώσεις (Brouns et al. 2012), στα οποία έχουν αποδοθεί οι ευεργετικές επιδράσεις των δημητριακών ολικής άλεσης στην υγεία. Είναι επομένως εφικτό, να μελετηθεί η επίδραση του βαθμού άλεσης του συγκεκριμένου κλάσματος στην γλυκαιμική απόκριση, χωρίς να έχει μεταβληθεί σημαντικά η κοκκομετρία του αμύλου του γεύματος, αφού, όπως προαναφέρθηκε, περιέχει πολύ μικρό ποσοστό αμύλου. Εντούτοις, η μοναδική έρευνα στην οποία έχει διερευνηθεί η επίδραση της κοκκομετρίας του πιτύρου, έχει γίνει σε χοίρους (CHRISTOPHE LECLERE and CHERBUT 1993). Στην συγκεκριμένη μελέτη

χρησιμοποιήθηκε πύρου 2 διαφορετικών κοκκομετριών ($D_{50} = 250$ και $500 \mu\text{m}$), μαζί με ένα τυποποιημένο γεύμα. Δεν παρατηρήθηκαν στατιστικά σημαντικές διαφορές ούτε στην γλυκαιμική, ούτε στην ινσουλιναϊκή απόκριση. Αξίζει να σημειωθεί ότι το εύρος της κοκκομετρίας ήταν αρκετά μικρό, δεδομένου ότι το κλάσμα που απομονώνεται από την άλεση μπορεί να έχει μέση διάμετρο αρκετά μεγαλύτερη από $1800\mu\text{m}$ (Bleis F.L. 2015) και μπορεί να φτάσει με την άλεση σε πολύ μικρότερα επίπεδα $<20 \mu\text{m}$ (Protonotariou S. 2015). Μέχρι στιγμής, δεν έχει πραγματοποιηθεί κάποια παρέμβαση σε ανθρώπους.

Μετά την μάζηση, η κοκκομετρία του πτύρου μεταβάλλεται ελάχιστα μέχρι να φτάσει στο παχύ έντερο, επομένως η αρχική κοκκομετρία έχει σημασία (Brewer R.L. 2014). Αρκετές από τις φυτοχημικές ουσίες του σιταριού είναι δεσμευμένες στα κυτταρικά τοιχώματα, με συνέπεια να παρουσιάζουν μειωμένη βιοδιαθεσιμότητα, η οποία ωστόσο, δύναται να αυξηθεί με την άλεση (Belobrajdic 2013). Τέλος, το μέγεθος της κοκκομετρίας μπορεί να μεταβάλει τις φυσικοχημικές ιδιότητες των ινών, οι (Chau C.F. 2006) ανέφεραν ότι η μείωση της κοκκομετρίας αδιάλυτων ινών κατέστησε μέρος αυτών διαλυτές. Η διαλυτότητα των ινών παρουσιάζει μεγάλο ενδιαφέρον για την πέψη (I.A. 2011). Συνεπώς, για όλους αυτούς τους λόγους, έχει μεγάλο ενδιαφέρον να διερευνηθεί εάν η κοκκομετρία του πτύρου μπορεί να έχει σημαντική επίδραση σε μια οξεία παρέμβαση.

2.7 Διατροφική Αξία Δημητριακών Ολικής Άλεσης

Τα δημητριακά ολικής άλεσης αποτελούν υψηλής διατροφικής αξίας τρόφιμα, καθώς, είναι πλούσια σε πολλά βιοδραστικά συστατικά (φυτικές ίνες, μέταλλα, φυτοχημικές ενώσεις, βιταμίνες, πρωτεΐνες κ.α.) αλλά και σημαντικό ρόλο παίζουν οι υψηλές συγκεντρώσεις σε ανθεκτικό άμυλο (resistance starch). Έρευνες χρόνων απέδειξαν ότι 2-3 μερίδες των 45g ημερησίως συμβάλλουν στην μείωση της γλυκαιμικής απόκρισης και της αντίδρασης της ινσουλίνης (Alminger and Eklund-Jonsson 2008; Rosen et al. 2009) και τη διαχείριση του βάρους (Giacco et al. 2011). Έμμεσα, λοιπόν τα προϊόντα ολικής άλεσης λειτουργούν προστατευτικά κατά της Παχυσαρκίας (Giacco et al. 2011), του Διαβήτη τύπου 2 (Fung et al. 2002; Aune et al. 2013), των Καρδιαγγειακών Νοσημάτων (Tovar et al. 2014) και κάποιων μορφών Καρκίνου (Kyro et al. 2014).

Επιδημιολογικές μελέτες έδειξαν ότι άτομα (άνδρες και γυναίκες) που τρέφονταν με ολικής άλεσης προϊόντα είχαν χαμηλότερο Δείκτη Μάζας Σώματος (BMI), μικρότερη περιφέρεια μέσης και λιγότερο κοιλιακό λίπος, χωρίς όμως να υπάρχει κάποια σημαντική συσχέτιση που να δικαιολογεί την σχέση δημητριακών ολικής άλεσης και την διαχείριση βάρους. Η υπόθεση που μπορεί να γίνει για τα οφέλη των ΔΟΛ στην καταπολέμηση της παχυσαρκίας είναι ότι τα άτομα που τα εντάσσουν στην διατροφή τους, έχουν ένα υγιεινό τρόπο ζωής (άθληση, σωστή διατροφή) (Silveira et al. 2016; McRae 2017; Aune et al. 2016).

Μελέτες έδειξαν πως η συστηματική χρήση ΔΟΛ στην διατροφή μείωσαν τον κίνδυνο εμφάνισης Καρδιαγγειακών Νοσημάτων από 21-31% (Aune et al. 2016; Anderson et al. 2000; Hollaender, Ross, and Kristensen 2015). Οι φυτοστερόλες (πχ β-γλυκάνη) που βρίσκονται στα ΔΟΛ ανταγωνίζονται την χοληστερόλη κατά την απορρόφηση τους από το Λεπτό Έντερο, με αποτέλεσμα την μείωση της απορρόφησης της και η αύξηση της απέκκρισης από το Παχύ Έντερο (Brufau, Canela, and Rafecas 2008). Οι διαλυτές ίνες (soluble fiber), μπορούν να μειώσουν την LDL χοληστερόλη και κατά συνέπεια την ολική χοληστερόλη (Bazzano 2008). Συγκεντρωτικά αποτελέσματα δύο μετα-αναλύσεων έδειξαν μείωση της LDL χοληστερόλης και της Ολικής χοληστερόλης με την κατανάλωση 30g ΔΟΛ την ημέρα (Kelly et al. 2007; Hollaender, Ross, and Kristensen 2015). Τέλος τα ΔΟΛ μέσω των φυτοχημικών ενισχύουν την αγγειοδιαστολή στο αγγειακό ενδοθήλιο (Vascular endothelium), μειώνοντας την πίεση του αίματος, μειώνοντας την πιθανότητα εγκεφαλικού επεισοδίου έως και 14% (Biesinger et al. 2016).

Όσον αφορά τον καρκίνο πληθυσμοί που κατανάλωναν επαρκείς ποσότητες ΔΟΛ, παρουσίασαν υψηλά ποσοστά μείωσης εμφάνισης Καρκίνου: 43% Καρκίνο του Στομάχου, 24-30% Καρκίνο του Παγκρέατος και 21% Καρκίνο του Παχέος Εντέρου (Jacobs et al. 1998; Haas et al. 2009). Ο μηχανισμός δράσεις των ΔΟΛ κατά της εμφάνισης κάποιων μορφών καρκίνου βασίζεται στην αντιοξειδωτική δράση των φαινολών και της Βιταμίνης E που περιέχουν, ενάντια στις ελεύθερες ρίζες και στην οξείδωση των βάσεων του DNA (Slavin 2003). Ιχνοστοιχεία που βρίσκονται στα ΔΟΛ όπως το Se, Zn, Mg, Cu ενισχύουν ένζυμα που έχουν αντιοξειδωτική δράση GPx (Υπεροξειδάση της Γλουταθειόνης) και SOD (Υπεροξειδική Δισμουτάση). Οι

πολυφαινόλες τυπικά μπορούν να απενεργοποιήσουν την λειτουργία των καρκινογενών N- νιτροζαμίνων και να μειώσουν και αυτές με την σειρά τους την οξείδωση του DNA και τις βλάβες που προκαλούνται από τις οξειδώσεις (Delgado et al. 2008). Οι N-νιτροζαμίνες συσχετίζονται άμεσα με τον Καρκίνο του Στομάχου και η συμβολή των ΔΟΛ ίσως εξηγεί την μείωση εμφάνισης καρκίνων όπως του Πάγκρεας και του Παχέος Εντέρου (Song, Wu, and Guan 2015). Η σχέση των ΔΟΛ με την μείωση εμφάνισης Σακχαρώδη Διαβήτη τύπου 2, οφείλεται στις αδιάλυτες ίνες που καθυστερούν το ρυθμό γαστρικής κένωσης και την απορρόφηση της γλυκόζης, μηχανισμοί που συνδέονται με την μεταγευματική συγκέντρωση της γλυκόζης στο αίμα και την έκκριση ινσουλίνης από το πάγκρεας (Kaline et al. 2007). Τα παραπάνω ευρήματα στηρίζονται σε μία μετα-ανάλυση, όπου με 1,5 μερίδες την ημέρα ΔΟΛ μειώθηκαν σημαντικά τα επίπεδα γλυκόζης και ινσουλίνης στο αίμα (Nettleton et al. 2010). Επίσης συστατικά των κόκκων όπως το Mg (EFSA 2015) ('Scientific Opinion on Dietary Reference Values for magnesium' 2015) και Cr , μπορούν να βοηθήσουν στη διατήρηση του φυσιολογικού μεταβολισμού της γλυκόζης και της ινσουλίνης (Dong et al. 2011; Yin and Phung 2015).

2.8 Χαρουπάλευρο

Το Χαρουπιά (*Ceratonia siliqua*) είναι ένα αειθαλές μακρόβιο δένδρο συναντάται στις παράκτιες ακτές της Μεσογείου και της Μέσης Ανατολής (Durazzo et al. 2014). Όλα τα μέρη του καρπού (pulp 90%, seeds 10%) χρησιμοποιούνται ευρέως από την βιομηχανία τροφίμων, φαρμάκων και καλλυντικών (Wang et al. 2001). Οι σπόροι (seeds) χαρουπιού αποτελούνται από το εξωτερικό περίβλημα (30-33%), το ενδοσπέρμιο (42-46%) και τον έμβρυο ή φύτρο (23-25%). Το αλεύρι του χαρουπιού, λόγω απουσίας γλουτένης μπορεί να αντικαταστήσει τα παραδοσιακά προϊόντα δημητριακών, κάνοντας τα προϊόντα με χαρούπι κατάλληλα για τους ασθενείς της Κοιλιοκάκης αλλά και σε άτομα που αποφεύγουν την κατανάλωση αλλεργικών συστατικών όπως το σιτάρι (Feillet 1998). Επιπλέον οι καταναλωτές απαιτούν μεγάλη ποικιλία προϊόντων με διαφορετικές –συνηθισμένες γεύσεις και το χαρούπι προσφέρει πολλές εναλλακτικές όπως καφές, υποκατάστατα σοκολάτας κλπ. Το χαρουπάλευρο είναι πλούσιο σε θρεπτικά συστατικά (ασβέστιο, κάλιο, μαγνήσιο), καθώς και σε αντιοξειδωτικές ουσίες (πολυφαινόλες, τανίνες και τερπένια) οι οποίες δρουν προστατευτικά για τα κύτταρα (Yousif A.K. 2000).

3. Μεθοδολογία

Η κατάταξη ενός τροφίμου σε μία από τις τρεις κατηγορίες απαιτεί μια τυποποιημένη μεθοδολογία μέτρησης (Brouns et al. 2005). Η ένταξη δέκα ατόμων παρέχει έναν αποδεκτό βαθμό ισχύος και ακρίβειας στη μελέτη (80%) (Brouns et al. 2005). Όσον αφορά στον αριθμό των παρεμβάσεων που θα εξεταστεί το τρόφιμο αναφοράς (γλυκόζη ή λευκό ψωμί), η βιβλιογραφία προτείνει τουλάχιστον μία επανάληψη της παρέμβασης του τροφίμου αναφοράς για κάθε εθελοντή. Επιπλέον προτείνεται η παροχή της ποσότητας 250ml νερού μαζί με τη μερίδα του τροφίμου που εξετάζεται (Brouns et al. 2005). Η κατανάλωση ροφημάτων ή γευμάτων είναι καλό να πραγματοποιηθεί μέσα σε 10 λεπτά, ενώ στερεά τρόφιμα σε 10 έως 20 λεπτά (Brouns et al. 2005). Το πρώτο δείγμα αίματος συλλέγεται 15 λεπτά από την αρχή της κατανάλωσης του τροφίμου (Brouns et al. 2005). Η μέτρηση του γλυκαιμικού δείκτη στα τρόφιμα υπό εξέταση βασίζεται στη χρήση ποσοτήτων των τροφίμων (μερίδες), οι οποίες αποδίδουν την ίδια περιεκτικότητα σε διαθέσιμους υδατάνθρακες. Τα τρόφιμα, τα οποία εξετάζονται πρέπει να δίνουν 50g διαθέσιμων υδατανθράκων, εκτός εάν φέρουν χαμηλή περιεκτικότητα σε υδατάνθρακες και το μέγεθος της μερίδας πολύ μεγάλο (Brouns et al. 2005). Σημαντική παράμετρος της μέτρησης του γλυκαιμικού δείκτη είναι η ανάλυση των κύριων υδατανθράκων του τροφίμου με ακριβείς αναλυτικές μεθόδους (Brouns et al. 2005). Οι παρεμβάσεις για την εξέταση του τροφίμου δοκιμασίας και του τροφίμου ελέγχου πρέπει να πραγματοποιούνται πριν τις 10.00 το πρωί, μετά από νηστεία 10-14 ωρών. Συνιστάται οι εθελοντές την προηγούμενη από κάθε ημέρα παρέμβασης να απέχουν από έντονη σωματική δραστηριότητα, κάπνισμα ή δίαιτα (Brouns et al. 2005). Η σειρά παρεμβάσεων προκύπτει από τυχαιοποίηση των τροφίμων υπό εξέταση στον αριθμό των συμμετεχόντων στη μελέτη και η συνολική διάρκεια της μελέτης δεν πρέπει να υπερβεί τους 4 μήνες (Brouns et al. 2005). Όσον αφορά στην προέλευση των δειγμάτων αίματος, προτείνεται η συλλογή αίματος από τριχοειδή αγγεία ακροδαχτύλων ή από αρτηριακό φλεβικό αίμα, το τριχοειδικό αίμα προτιμάται λόγω αυξημένης ευαισθησίας (Brouns et al. 2005). Η συλλογή του αίματος πραγματοποιείται κατά τη νηστεία και στους χρόνους 15, 30, 45, 60, 90 και 120 λεπτών μετά την κατανάλωση του τροφίμου, για τη μέτρηση του γλυκαιμικού δείκτη, η εξέταση της γλυκόζης του αίματος επαρκεί (Brouns et al. 2005). Εντούτοις, η

μέτρηση των συγκεντρώσεων ινσουλίνης συνθέτει πληρέστερη εικόνα των αποτελεσμάτων (Brouns et al. 2005).

3.1 Εθελοντές-Κριτήρια επιλογής

Υγιείς, μη καπνιστές, μη διαβητικοί εθελοντές άντρες και γυναίκες κλήθηκαν για να συμμετάσχουν στην μελέτη. Οι εθελοντές επιλέχθηκαν από ανακοίνωση που αναρτήθηκε στο Γεωπονικό Πανεπιστήμιο. Τα κριτήρια συμμετοχής ήταν δείκτης μάζα σώματος (ΔΜΣ) 18-25kg/m² και ηλικία 18-50 ετών. Τα κριτήρια αποκλεισμού συμπεριέλαβαν σοβαρής μορφής χρόνια νοσήματα (π.χ. στεφανιαία νόσο, σακχαρώδεις διαβήτης, νεφροπάθεια ή ηπατοπάθεια), γαστρεντερικές διαταραχές, κύηση, γαλουχία, συμμετοχή σε ανταγωνιστικά αθλήματα και αυξημένη κατανάλωση αιθανόλης ή εξάρτηση ουσιών. Όλοι οι εθελοντές έδωσαν γραπτή συγκατάθεση συμμετοχής στην μελέτη μετά από αναλυτική επεξήγηση των διαδικασιών και των στόχων του πρωτοκόλλου. Το πρωτόκολλο εγκρίθηκε από την Επιτροπή Βιοηθικής του Γεωπονικού Πανεπιστημίου Αθηνών και πραγματοποιήθηκε σύμφωνα με την Διακήρυξη του Ελσίνκι (1997).

3.2 Σχεδιασμός της μελέτης

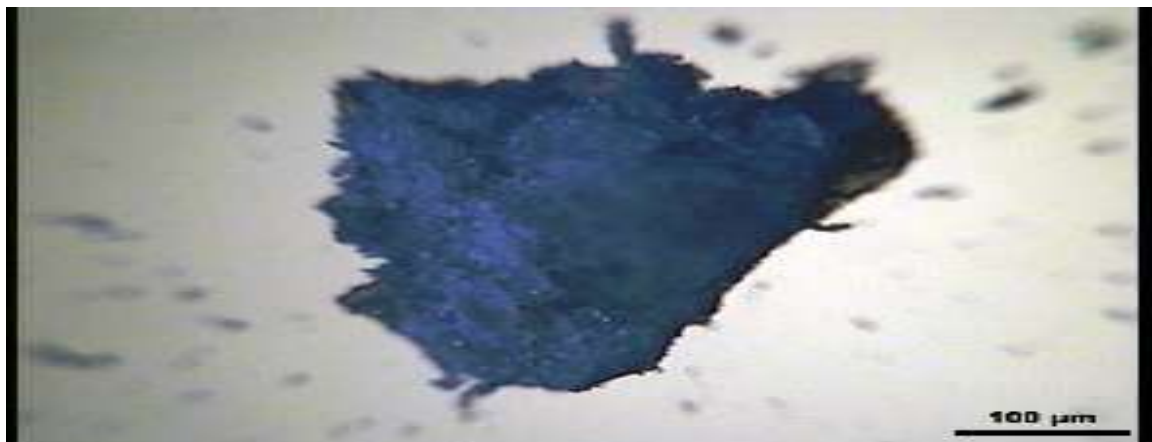
Η μελέτη ήταν μία οξεία τυχαιοποιημένη διασταυρούμενη κλινική δοκιμή. Δέκα υγιείς εθελοντές (7 ♂, 3 ♀) με δείκτη μάζας σώματος (ΔΜΣ) 21.8kg/m² (18.74-23.43kg/m²) και ηλικίας 24.51 ετών (23,2-26,3 ετών) ξεκίνησαν την παρέμβαση με τυχαία κατανομή καρτών χρησιμοποιώντας τυχαίους αριθμούς από λογισμικό υπολογιστή. Ένα άτομο, που δεν εμπλέκονταν στην διαχείριση και ανάλυση των ερευνητικών δεδομένων ορίστηκε υπεύθυνο για την τυχαία κατανομή των εθελοντών στις παρεμβάσεις για τα υπό εξέταση ψωμιά και την γλυκόζη αναφοράς. Όλοι οι εθελοντές προσήλθαν το πρωί στις 8.45-9.00 στην Μονάδα Διατροφής του Ανθρώπου, συνολικά 8 φορές, με διάστημα 2 ημερών μεταξύ των παρεμβάσεων. Κατά τις ημέρες της μελέτης οι εθελοντές έπρεπε να είναι νηστικοί για 12 ώρες (να έχουν καταναλώσει το προηγούμενο γεύμα τους μέχρι τις 21:00 το προηγούμενο βράδυ), να μην έχουν καταναλώσει αιθανόλη και να μην είχαν έντονη σωματική δραστηριότητα το προηγούμενο 24ώρο πριν από το πρωινό.

3.3 Εξεταζόμενα ψωμιά και τρόφιμα αναφοράς

Τα 3 υπό μελέτη ψωμιά καθώς και το λευκό ψωμί (τρόφιμο αναφοράς), φτιαχτήκαν από το Εργαστήριο Μηχανικής Τροφίμων, Επεξεργασίας & Συντήρησης Γεωργικών Προϊόντων του Γεωπονικού Πανεπιστημίου Αθηνών. Τα 3 ψωμιά και η καθαρή γλυκόζη δόθηκαν από μία φορά, με εξαίρεση το λευκό ψωμί που έγινε 2 φορές.

Τα ψωμιά διαχωρίστηκαν πρώτον με βάση ως προς την κοκκομετρία του πίτουρου σε χονδρόκοκκο (X), λεπτόκοκκο (Λ) και ως προς την αναλογία αλεύρι : πίτουρο (η αναλογία αναφέρεται στην σύσταση των αλεύρων ανά 100gr ψωμιού):

- το λευκό ψωμί (WB) περιείχε 100:0 (αλεύρι : πίτουρο),
- το χονδρόκοκκο (X) περιείχε 80:20 (αλεύρι : πίτουρο),
- το λεπτόκοκκο (Λ) 80:20 (αλεύρι: αλεσμένο πίτουρο)
- και το λεπτόκοκκο ψωμί με χαρουπάλευρο (ΛΧΑ) 70:20:10 (λευκό αλεύρι : πίτουρο αλεσμένο : χαρουπάλευρο).



Εικόνα 2 Φωτογραφία από οπτικό μικροσκόπιο για το χονδρόκοκκο πίτουρο (X)



Εικόνα 3 Φωτογραφία από οπτικό μικροσκόπιο για το λεπτόκοκκο πίτουρο (Λ)

Το Πίτουρο Σίτου (Μύλοι Λούλη) χρησιμοποιήθηκε ως έχει στο χονδρόκοκκο (X), ενώ ποσότητα από αυτό που χρειάστηκε για την παρασκευή των λεπτόκοκκων ψωμιών, αλέστηκε σε μύλο άλεσης με πεπιεσμένο αέρα (Jet Mill, Model 0101S Jet-O-Mizer Milling, Fluid Energy Processing and Equipment Company, Telford, PA, U.S.A). Για την παρασκευή των ψωμιών χρησιμοποιήθηκε αλεύρι τύπου 70% από μαλακό σιτάρι, ασκορβικό οξύ, κιτρικό οξύ, α-αμυλάση (Μύλοι Λούλη) και το χαρουπάλευρο προήλθε από κοσκίνισμα αλεσμένων σπόρων χαρουπιού. Στους παρακάτω πίνακες 3.1, 3.2 παρατίθενται οι συνταγές των ψωμιών και η ανάλυση των ψωμιών της παρέμβασης.

Πίνακας 3.1 Συνταγές ψωμιών

	X	Λ	ΛΧΑ
Αλεύρι (g)	240	240	210
Πίτουρο Χονδρόκοκκο (g)	60	-	-
Πίτουρο Λεπτόκοκκο (g)	-	57,52	57,52
Χαρουπάλευρο (g)	-	-	30
Ξηρή Μαγιά (g)	9	9	9
Ιωδιούχο αλάτι (g)	6	6	6
Νερό (g)	65	67,48	92,48

Τα g του αλεσμένου πιτύρου ήταν λιγότερα, ώστε να επιτευχθεί η ίδια ξηρά ουσία, αφού με την άλεση παρατηρείται μείωση της υγρασίας. Για τον ίδιο λόγο προστέθηκε

το χαμένο νερό στα Λ και ΛΧΑ. Στο ΛΧΑ χρησιμοποιήθηκε αρκετά μεγαλύτερη ποσότητα νερού στη συνταγή (90%), αφού τόσο η πρωτεΐνη από το έμβρυο του χαρουπιού (καρουβίνη) όσο και το κόμμα του χαρουπιού δεσμεύουν σημαντικές ποσότητες νερού.

Πίνακας 3.2 Περιεκτικότητα ψωμιών σε διαθέσιμους υδατάνθρακες (ACH)

Ψωμί	ACHg/100g¹
WB	58,91
X	48,58
Λ	48,61
ΛΧΑ	38,59

¹ ACHg/100g αναφέρεται στα gr διαθέσιμων υδατανθράκων ανα 100g ψωμιού

Παρατηρούμε, ότι το WB είχε την υψηλότερη περιεκτικότητα σε ACH, το οποίο είναι λογικό, αφού περιείχε μόνο λευκό αλεύρι. Τα X και Λ είχαν την ίδια σύσταση και αυτό αποτυπώνεται και στους ACH. Η μειωμένη περιεκτικότητα σε σχέση με το WB οφείλεται στην προσθήκη πιτύρου, το οποίο περιέχει σημαντικές ποσότητες διαιτητικών ινών, πρωτεϊνών και τέφρας, εν αντιθέσει με το λευκό αλεύρι. Τέλος, το ΛΧΑ, είχε ακόμη χαμηλότερη περιεκτικότητα από το Λ, αφού ακόμα ένα μέρος λευκού αλεύρου αντικαταστήθηκε από χαρουπάλευρο, το οποίο περιέχει υψηλή περιεκτικότητα σε φυτικές ίνες και πρωτεΐνες.

Οι ποσότητες των ψωμιών που εξετάστηκαν στην παρέμβαση ήταν 84.88g λευκό ψωμί (WB), 120.92g χονδρόκοκκου ψωμιού (X), 102.86g λεπτόκοκκου ψωμιού (Λ) και 129.55g λεπτοκόκκου ψωμιού με χαρουπάλευρο (ΛΧΑ). Με τις παραπάνω αναλογίες επιτεύχθηκε η ίδια ποσότητα διαθέσιμων υδατανθράκων (ACH) σε όλα τα τρόφιμα της παρέμβασης. Τα 50g καθαρής γλυκόζης (D-glucose, 99%, Alfa Aesar, Germany) που δόθηκαν, είχαν διαλυθεί σε 250 ml νερό (κατά προσέγγιση).

3.4 Πειραματική διαδικασία

Η αξιολόγηση του γλυκεμικού δείκτη έγινε σύμφωνα με την συνιστώμενη μεθοδολογία των Brouns και συνεργατών (Brouns et al. 2005). Για την μέτρηση των συγκεντρώσεων γλυκόζης, συλλέχθηκαν δείγματα τριχοειδούς αίματος χρησιμοποιώντας μετρητή γλυκόζης με αυτόματο σύστημα τρυπήματος, σκαρφιστήρα και ταινίες μέτρησης γλυκόζης (TNG Voice, ForaCare Suisse AG, CH-9000St. Gallen). Αρχικά, γινόταν λήψη της πρώτης μέτρησης (χρόνος 0) και έπειτα οι εθελοντές κατανάλωναν κατάλληλη ποσότητα γεύματος ώστε να εξασφαλιστούν τα 50g διαθέσιμων υδατανθράκων) μέσα σε 3 λεπτά. Εκτός από το υπό εξέταση τρόφιμο, οι εθελοντές μπορούσαν να καταναλώσουν έως και 0,5l νερό εντός των δύο ωρών της παρέμβασης. Οι επόμενες μετρήσεις γίνονταν στα 15, 30, 45, 60, 90 και 120 λεπτά από το χρόνο 0. Το δείγμα τριχοειδούς αίματος τοποθετήθηκε στην περιοχή συλλογής αίματος στο άκρο της ταινίας. Η ταινία μέτρησης απορροφά το δείγμα αίματος στη ζώνη αντίδρασης. Το ένζυμο FAD-δεσμευόμενη αφυδρογονάση της γλυκόζης καταλύει την αφυδρογόνωση της γλυκόζης παράγοντας γλυκονολακτόνη. Κατά την διάρκεια της αντίδρασης, ένας αγωγός μεταφέρει ηλεκτρόνια στην επιφάνεια του ηλεκτροδίου και παράγει ρεύμα. Η ποσότητα του ρεύματος που παράγεται είναι ανάλογη με την ποσότητα της γλυκόζης στο δείγμα αίματος. Οι ταινίες γλυκόζης δεν ενεργοποιούνται με κανένα άλλο είδος σακχάρου πλην της γλυκόζης και έχουν καλύτερη αντίσταση στη θερμοκρασία και στο οξυγόνο. Μετά από 5 δευτερόλεπτα ο μετρητής εμφάνιζε τη συγκέντρωση της γλυκόζης στην οθόνη. Κάθε ταινία μέτρησης περιείχε τα παρακάτω αντιδραστήρια: 6 (βάρος/ βάρος) % FAD-δεσμευόμενη αφυδρογονάση της γλυκόζης (*Aspergillusoryzae*, 2,0 IU/ταινία μέτρησης), 56 (βάρος/βάρος) % Σιδηροκυανιούχο κάλιο και 38 (βάρος/ βάρος) % μη αντιδρώντα συστατικά. Τα επιτρεπόμενα όρια των μετρητών γλυκόζης για τα αποτελέσματα γλυκόζης >100mg/dl ήταν μέσα στο 15% της μεθόδου αναφοράς. Η τιμή CV (%) ήταν λιγότερο από 5% τόσο σε έμμεση ακρίβεια όσο και επαναληψιμότητα. Σε όλους τους χρόνους λήφθηκε ο μέσος όρος από δύο διαδοχικές μετρήσεις των τιμών της γλυκόζης.

Για τους ίδιους χρόνους (0, 15, 30, 45, 60, 90, 120) πάρθηκαν δείγματα σιέλου για την μέτρηση ινσουλίνης, με την μέθοδο «Salivette» (Σωληνάρια Sarstedt). Πριν την λήψη των δειγμάτων σιέλου οι εθελοντές ξέπλυναν καλά το στόμα τους με νερό. Στην

συνέχεια ζητήθηκε από τους εθελοντές να απομακρύνουν το βαμβάκι από το ειδικό σωληνάριο και να ασκήσουν με αυτό ήπια πίεση σε όλη την επιφάνεια της γλώσσας τους, ώστε να ληφθεί δείγμα από όλους τους αδένες, για περίπου 1 λεπτό. Τα σωληνάρια φυγοκεντρήθηκαν (3000rpm, 5', 5°C) και αποθηκεύτηκαν σε eppendorf στους -80 °C, ώστε να μείνουν αναλλοίωτα μέχρι την στιγμή της μέτρησης της ινσουλίνης.



Εικόνα 4 Σαλιβέτες για την συλλογή σιέλου.

Οι συγκεντρώσεις ινσουλίνης σιέλου μετρήθηκαν με αυτοματοποιημένο αναλυτή (Cobas Hitachi c411, Roche Diagnostics, Greece), με τη μέθοδο διπλής ανοσοσήμενσης με ηλεκτροχημειοφωταύγεια (sandwich-ECLIA).



Εικόνα 5 Αυτοματοποιημένος ανοσολογικός αναλυτής (Cobas Hitachi c411, Roche Diagnostics)

Η αρχή διπλής ανοσοσήμανσης («σάντουιτς») έχει συνολική διάρκεια ανάλυσης 18 λεπτά και ακολουθήθηκε η εξής διαδικασία:

- 1η επώαση: Ινσουλίνη από 20 μL δείγματος, ένα βιοτινυλιωμένο μονοκλωνικό ειδικό αντίσωμα έναντι της ινσουλίνης και ένα μονοκλωνικό ειδικό αντίσωμα έναντι της ινσουλίνης σημασμένο με σύμπλοκο ρουθηνίου σχηματίζουν σύμπλοκο «σάντουιτς».
- 2η επώαση: Μετά την προσθήκη μικροσφαιριδίων επικαλυμμένων με στρεπταβιδίνη, το σύμπλοκο δεσμεύεται στη στερεά φάση μέσω της αλληλεπίδρασης της βιοτίνης με τη στρεπταβιδίνη.
- Το μίγμα αντίδρασης εισάγεται με αναρρόφηση στον θάλαμο μέτρησης, όπου τα μικροσφαιρίδια δεσμεύονται μαγνητικά στην επιφάνεια του ηλεκτροδίου. Οι μη δεσμευμένες ουσίες απομακρύνονται, κατόπιν, με ProCell/ProCell M. Η εφαρμογή τάσης στο ηλεκτρόδιο προκαλεί κατόπιν την εκπομπή χημειοφωταύγειας, η οποία μετράται με φωτοπολλαπλασιαστή.

Τα αποτελέσματα προσδιορίστηκαν από μια καμπύλη βαθμονόμησης, η οποία παράγεται ειδικά για κάθε αναλυτή, μέσω μιας διαδικασίας βαθμονόμησης 2 σημείων και μιας πρότυπης καμπύλης που λαμβάνεται μέσω του γραμμικού κώδικα των αντιδραστηρίων. Ο αναλυτής υπολόγισε αυτόματα τη συγκέντρωση της αναλυόμενης ουσίας σε κάθε δείγμα (σε $\mu\text{U}/\text{mL}$ και σε pmol/L). Οι συντελεστές μετατροπής είναι: $\mu\text{U}/\text{mL} \times 6.945 = \text{pmol}/\text{L}$ και $\text{pmol}/\text{L} \times 0.144 = \mu\text{U}/\text{mL}$. Το εύρος μέτρησης κυμαίνεται από 0.2-1000 $\mu\text{U}/\text{mL}$ ή 1.39-6945 pmol/L (οριζόμενο από το κατώτατο όριο ανίχνευσης και το ανώτατο σημείο της πρότυπης καμπύλης). Οι τιμές που ήταν χαμηλότερες από το κατώτατο όριο ανίχνευσης δίδονται ως $< 0.2 \mu\text{U}/\text{mL}$ ($< 1.39 \text{pmol}/\text{L}$). Οι τιμές που ήταν υψηλότερες από το εύρος μέτρησης δίδονται ως $> 1000 \mu\text{U}/\text{mL}$ ($> 6945 \text{pmol}/\text{L}$). Έτσι το κατώτατο όριο ανίχνευσης: 0.2 $\mu\text{U}/\text{mL}$ (1.39 pmol/L). Τέλος οι τιμές αναφοράς κυμαίνονταν από 2.6-24.9 $\mu\text{U}/\text{mL}$ (17.8-173 pmol/L).

3.5 Ανθρωπομετρία

Στην πρώτη επίσκεψη, μετρήθηκε το ύψος με αναστημόμετρο τοίχου και το σωματικό βάρος (σε kg, Seka 220, Germany). Ο υπολογισμός του δείκτη μάζας σώματος (ΔΜΣ) εκτιμήθηκε με διαίρεση του σωματικού βάρους (kg) με το τετράγωνο του ύψους (m²). Το σωματικό λίπος και η άλιπη μάζα εκτιμήθηκαν με τη μέθοδο της Απορροφησιομετρίας Διπλής Ενέργειας Ακτινών Χ (DXA –Dual Energy X-Ray Absorptiometry, Lunar DPX Series, General Electric, U.S.A).



Εικόνα 6 DXA, Dual Energy X-Ray Absorptiometry, Lunar DPX, General Electric, U.S.A

3.6 Ερωτηματολόγια

Στην πρώτη επίσκεψη οι εθελοντές συμπληρώσαν ένα ερωτηματολόγιο ιατρικού ιστορικού και το επιστημονικό ερωτηματολόγιο FINDRISK (Finnish Type 2 Diabetes Risk Score) που χρησιμοποιήθηκε για τον εντοπισμό των ατόμων που βρίσκονται σε υψηλό κίνδυνο για την εμφάνιση ΣΔ2.

3.7 Διατροφική αξιολόγηση

Η διαιτητική πρόσληψη εκτιμήθηκε με την χρήση ανάκλησης 24-ωρου σε κάθε επίσκεψη κα αναλύθηκε με την χρήση Ελληνικών και Αμερικάνικων Βάσεων Δεδομένων Σύνθεσης Τροφίμων:

- Ελληνικό Ίδρυμα Υγείας
<http://www.hhf-greece.gr/tables/Home.aspx?l=el>
- Τμήμα Ιατρικής Κρήτης
<http://nutrition.med.uoc.gr/GreekTables/Main/main.htm>
- Υπουργείο Γεωργίας των Η.Π.Α (USDA)
<https://ndb.nal.usda.gov/ndb/>,

με εμπλουτισμό των βάσεων με ετικέτες τροφίμων και προσθήκη συνταγών όπου δεν υπήρχαν δεδομένα.

3.8 Εκτίμηση υποκειμενικής πείνας και κορεσμού (VAS)

Ζητήθηκε από τους εθελοντές σε κάθε επίσκεψη να αξιολογήσουν την υποκειμενική τους πείνα, επιθυμία για φαγητό και κορεσμό σε οπτικές αναλογικές κλίμακες των 100mm (Madison, Kozarek, and Damo 1976), στην έναρξη της παρέμβασης (χρόνος 0 λεπτά) και τέλος (χρόνος 120 λεπτά).

3.10 Υπολογισμός Εμβαδού κάτω από την καμπύλη

Για τον υπολογισμό του εμβαδού κάτω από την καμπύλη χρησιμοποιήθηκε το incremental Area Under the Curve (Brouns et al. 2005), το οποίο προτείνεται και από τον FAO/ WHO ('Carbohydrates in human nutrition. Report of a Joint FAO/WHO Expert Consultation' 1998).

3.11 Στατιστική ανάλυση

Όλα τα δεδομένα (ηλικία, ύψος, βάρος, ΔΜΣ, ποσοστό λίπους, γλυκόζη αίματος, ινσουλίνη σιέλου) παρουσιάζονται ως μέσος όρος \pm SEM, εκτός και εάν αναφέρεται κάτι διαφορετικό. Για τη γλυκόζη αίματος και την ινσουλίνη σιέλου, υπολογίστηκε το επιμέρους εμβαδό κάτω από την καμπύλη (incremental area under the curve, iAUC), με τη μέθοδο των τραπεζοειδών, σύμφωνα με το συνιστώμενο υπολογισμό βάσει του Οργανισμού Τροφίμων και Γεωργίας των Ηνωμένων Εθνών (FAO, <http://www.fao.org/docrep/w8079e/w8079e0a.htm>). Για τον υπολογισμό των iAUCs για τη γλυκόζη αίματος και ινσουλίνη σιέλου, χρησιμοποιήθηκε μια χρονική περίοδος από μηδέν έως δύο ώρες. Ο ΓΔ των ψωμίων υπολογίστηκε από τα iAUCs που καταγράφηκαν για τις συγκεντρώσεις γλυκόζης αίματος. Για αυτό το σκοπό, δημιουργήθηκε μια αναλογία χρησιμοποιώντας όλες τις τιμές των iAUCs των διαφορετικών ψωμίων και του iAUC του τροφίμου αναφοράς (γλυκόζη). Η στατιστική επεξεργασία έγινε βάσει της κατανομής των δεδομένων (ανάλυση One-way Anova για μεταβλητές με κανονική κατανομή, μη παραμετρική ανάλυση Kruskal-Wallis για ισότητα των πληθυσμών με ασύμμετρα συνεχή δεδομένα, μη παραμετρική ανάλυση Pearson χ^2 για τις κατηγορικές μεταβλητές και μη παραμετρική ανάλυση Mann-Whitney U). Οι διαφορές στις συγκεντρώσεις γλυκόζης αίματος και ινσουλίνης σιέλου μεταξύ και αναμεταξύ των ψωμίων στις διαφορετικές χρονικές στιγμές εκτιμήθηκαν με την ανάλυση επαναλαμβανόμενων μετρήσεων (repeated measures ANOVA) με δυο παράγοντες στις μεταξύ τους συγκρίσεις (είδος τροφίμου υπό εξέταση και χρόνου). Οι συσχετίσεις μεταξύ των μεταβλητών πραγματοποιήθηκαν με το συντελεστή συσχέτισης Pearson r για τις κανονικές μεταβλητές και το συντελεστή Spearman rho για τις μη παραμετρικές μεταβλητές. Οι αλληλεπιδράσεις της σειράς με την οποία οι εθελοντές κατανάλωσαν τα τρόφιμα υπό εξέταση ή το τρόφιμο αναφοράς χρησιμοποιήθηκαν ως συμμεταβλητές στις αναλύσεις ANOVA για την εξέταση υπολειμματικής μεταφερόμενης επίδρασης (carry-over effect). Η μελέτη είχε ισχύ 80% power ($\alpha = 0.05$) για να εντοπίσει διαφορές μεταξύ των ομάδων για 0.8 ± 0.1 mmol/l στις μεταγενεματικές συγκεντρώσεις γλυκόζης. Η στατιστική σημαντικότητα ορίστηκε ως $p < 0.05$ και περιγράφεται με χρήση αστερίσκου στα διαγράμματα: * $p < 0.05$, ** $p < 0.005$, *** $p < 0.001$. Τα δεδομένα αναλύθηκαν με χρήση SPSS 20.0 λογισμικού (SPSS Inc., Chicago, IL, USA).

4. Αποτελέσματα

4.1 Περιγραφή δείγματος

Στη μελέτη συμμετείχαν 10 υγιείς εθελοντές (7 άνδρες και 3 γυναίκες), ηλικίας $24,51 \pm 0,37$ έτη, μέσου βάρους 69,15 (58.9, 74,37) με ΔΜΣ 21,8 (18.74, 23.82) και μέσου σωματικού λίπους 23.9%. Να σημειωθεί ότι όλοι οι συμμετέχοντες ολοκλήρωσαν την μελέτη. Στον πίνακα 6.2.1 του παραρτήματος, περιγράφονται τα στοιχεία του δείγματος της μελέτης.

4.2 Γλυκαιμική απόκριση

Υπήρξε σημαντική αλληλεπίδραση του χρόνου στις συγκεντρώσεις γλυκόζης του αίματος (γλυκόζης * χρόνου, $F(6,4)=77.303$, $p < 0.01$) και στις συγκεντρώσεις της γλυκόζης του αίματος με το είδος του γεύματος (γλυκόζη * ψωμί, $F(4,6)=5.503$, $p=0.33$). Σημειώθηκε σημαντική κύρια επίδραση του χρόνου στις συγκεντρώσεις γλυκόζης του αίματος ($F(2.023,18205)=42,161$, $p < 0.01$) και της αλληλεπίδρασης μεταξύ ψωμιού και χρόνου ($F(4.469,6492)=3.190$, $p < 0.019$), ενώ φαίνεται ότι το ψωμί δεν είχε σημαντική κύρια επίδραση στις τιμές γλυκόζης ($F(1.523,13.710)=2.333$, $p=0.143$). Στον πίνακα 6.2.2 του παραρτήματος, παρουσιάζονται οι συγκεντρώσεις της γλυκόζης του αίματος σε mmol/l, μετά την κατανάλωση των γευμάτων.

Παρατηρήθηκε στατιστικά σημαντική αλληλεπίδραση του γεύματος (ψωμί ή ρόφημα γλυκόζης) στις συγκεντρώσεις γλυκόζης στους χρόνους 15 min ($F(4,6)=2.575$, $p=0.021$), 30 min ($F(4,6)=9.378$, $p=0.009$) και 120 min ($F(4,6)=7.805$, $p=0.015$). Παρατηρήθηκε στατιστικά σημαντική κύρια επίδραση του γεύματος (ψωμί ή γλυκόζη) στον χρόνο 15 min ($F(4.36)=5.929$), $p < 0.001$), στα 30 min και στα 120 min ($F(4.36)=10,533$), $p < 0.001$), $F(4.36)=5.738$), $p < 0.001$) αντίστοιχα).

Συγκριτικά με τις συγκεντρώσεις γλυκόζης αίματος μετά την κατανάλωση των υπό μελέτη ψωμιών δεν παρατηρήθηκαν στατιστικά σημαντικές διαφορές στις συγκεντρώσεις γλυκόζης νηστείας (0 min) στο τρόφιμο ελέγχου (μεταξύ των 4 παρεμβάσεων με ρόφημα γλυκόζης) ή μεταξύ των υπό εξέταση ψωμιών ($F(4,6)=2.575$, $p=0.144$). Συγκριτικά με τις συγκεντρώσεις γλυκόζης αίματος μετά την

κατανάλωση του ροφήματος γλυκόζης (τρόφιμο αναφοράς), στο χρόνο 15 min όλα τα ψωμιά είχαν χαμηλότερες συγκεντρώσεις, με μόνο τα Λ ($p=0.049$) και ΛΧΑ ($p<0.008$) να έχουν στατιστικά σημαντική διαφορά. Συγκριτικά με τις συγκεντρώσεις γλυκόζης αίματος μετά την κατανάλωση του ροφήματος γλυκόζης (τρόφιμο αναφοράς), στο χρόνο 30 min μόνο τα ψωμιά WB ($p=0.001$), Λ ($p=0,004$) και ΛΧΑ ($p=0,008$) είχαν στατιστικά σημαντική διαφορά, με όλα όμως τα ψωμιά να έχουν χαμηλότερες τιμές συγκέντρωσης γλυκόζης του αίματος από το ρόφημα γλυκόζης. Συγκριτικά με τις συγκεντρώσεις γλυκόζης αίματος μετά την κατανάλωση του ροφήματος γλυκόζης (τρόφιμο αναφοράς), στο χρόνο 120 min στατιστικά σημαντική διαφορά είχαν τα ψωμιά WB ($p=0.037$), X ($p=0.016$) και Λ ($p=0.008$) που είχαν υψηλότερες συγκεντρώσεις γλυκόζης αίματος, όπως και το ψωμί ΛΧΑ χωρίς όμως να έχει κάποια στατιστικά σημαντική διαφορά. Στο χρόνο 45 min, 60 min και 90 min δεν παρατηρήθηκε καμία στατιστικά σημαντική διαφορά μεταξύ των υπό μελέτη ψωμιών και του ροφήματος γλυκόζης. Τέλος δεν σημειώθηκαν σημαντικές διαφορές μεταξύ των ψωμιών. Στην παρακάτω 6.1.3 του Παραρτήματος, παρουσιάζονται οι συγκεντρώσεις γλυκόζης αίματος (mmol/l) από τους 11 εθελοντές πριν και μετά την κατανάλωση των 4 υπό εξέταση ψωμιών και του ροφήματος ελέγχου.

Η μέγιστη τιμή γλυκόζης για όλα τα γεύματα σημειώθηκε στα 45 min, με το X να έχει τη χαμηλότερη τιμή, χωρίς όμως να φτάσει σε στατιστικά σημαντικά επίπεδα, ενώ η Glu είχε την ψηλότερη τιμή. Η Glu σημείωσε την πιο γρήγορη αύξηση σε σχέση με τις υπόλοιπες παρεμβάσεις, ενώ ήταν και η μόνη που οδήγησε σε πτώση της συγκέντρωσης γλυκόζης αίματος κάτω από τα επίπεδα νηστείας στο διάστημα των 2 ωρών. Υπήρξε στατιστικά σημαντική αλληλεπίδραση max τιμής γλυκόζης του αίματος (peak rise) και παρέμβασης (ψωμί ή ρόφημα γλυκόζης) ($F(4,6)=6.227$, $p=0.025$), χωρίς όμως κύρια επίδραση max τιμής γλυκόζης του αίματος και παρέμβασης ($F(1.530,13768)$, $p=0.96$). Στατιστικά σημαντική διαφορά στην max τιμή γλυκόζης μεταξύ του ροφήματος γλυκόζης (τρόφιμο αναφοράς) και ΛΧΑ ($p=0.04$).

4.3 Εμβαδό κάτω από την καμπύλη (AUC)

Υπήρξε σημαντική αλληλεπίδραση μεταξύ του εμβαδού κάτω από την καμπύλη με το χρόνο (χρόνος*AUC) και το γεύμα (ψωμί*AUC), $F(5,5)=32.176$, $p<0.001$ και

$F(4,6)=8.176$, $p=0.013$ αντίστοιχα. Κύρια στατιστικά σημαντική επίδραση υπήρξε μόνο για το χρόνο ($AUC \cdot \text{χρόνος}$) $F(1,495,13.458)=30.821$, $p<0.001$. Σημαντική επίδραση στις τιμές του AUC είχαν οι χρόνοι 0-15min ($F(4,6)=8.756$, $p<0.01$), 30-45min ($F(4,6)=11.996$, $p=0.005$) και 45-60min ($F(4,6)=10.404$, $p<0.007$). Παρατηρήθηκε στατιστικά σημαντική κύρια επίδραση του χρόνου στις τιμές AUC στους χρόνους 0-15min ($F(1,822,16.400)=5.634$, $p=0.016$) και 30-45min ($F(4,36)=9.096$, $p<0.001$).

Συγκριτικά με τις τιμές AUC της Glu στο χρόνο 0-15min στατιστικά σημαντική διαφορά παρουσιάστηκε μόνο με το ΛΧΑ να έχει χαμηλότερη τιμή ($p=0.044$). Συγκριτικά με τις τιμές AUC της Glu στο χρόνο 15-30min, στατιστικά σημαντική μείωση εμφάνισαν τα WB ($p=0.025$) και Λ ($p=0.025$). Συγκριτικά με τις τιμές AUC της Glu στο χρόνο 30-45min, όλα τα ψωμιά (WB, X, Λ, ΛΧΑ) διέφεραν στατιστικά σημαντικά με χαμηλότερες τιμές, $p=0.011$, $p=0.027$, $p=0.005$, $p=0.037$ αντίστοιχα. Στον χρόνο 90-120min παρατηρήθηκε και η μοναδική στατιστικά σημαντική διαφορά ανάμεσα στα ψωμιά, μεταξύ των WB με το X ($p=0.005$) και με το ΛΧΑ ($p=0.036$), με τα δύο ψωμιά να εμφανίζουν χαμηλότερη τιμή από το WB. Στον πίνακα 6.2.4 και την εικόνα 6.1.2 του παραρτήματος, παρουσιάζονται τα εμβαδά των συγκεντρώσεων γλυκόζης αίματος κάτω από την καμπύλη (AUC) για τα διάφορα χρονικά διαστήματα, πριν και μετά την κατανάλωση των 4 υπό εξέταση ψωμιών και του ροφήματος γλυκόζης (τρόφιμο ελέγχου).

Το συνολικό AUC για τις δύο ώρες, σημείωσε σημαντική αλληλεπίδραση μεταξύ των γευμάτων (ψωμί ή ρόφημα γλυκόζης) με το συνολικό εμβαδό κάτω από την καμπύλη ($iAUC \cdot \text{ψωμί}$) $F(4,6)=8,167$, $p=0.013$, δεν παρατηρήθηκε σημαντική κύρια επίδραση του ψωμιού στις τιμές $iAUC$. Συγκριτικά με όλες τις τιμές των παρεμβάσεων, η Glu είχε την υψηλότερη τιμή, ενώ τα X και ΛΧΑ είχαν τις χαμηλότερες. Οι διαφορές μεταξύ των γευμάτων δεν έφτασαν σε σημαντικά στατιστικά επίπεδα. Στον πίνακα 6.2.4 παρουσιάζονται τα συνολικά εμβαδά κάτω από την καμπύλη ($iAUC$) για το διάστημα των δύο ωρών.

4.4 Γλυκαιμικός Δείκτης και Γλυκαιμικό Φορτίο

Στο Γλυκαιμικό δείκτη με τρόφιμο αναφοράς την γλυκόζη, παρατηρήθηκε στατιστικά σημαντική αλληλεπίδραση του ψωμιού με το γλυκαιμικό δείκτη ($F(4,6)=16.038$, $p=0.002$), χωρίς όμως κύρια επίδραση του ψωμιού στον γλυκαιμικό δείκτη ($F(1.791,16.119)=1.542$, $p=0.243$). Στατιστικά σημαντική διαφορά υπήρξε μόνο μεταξύ γλυκόζης (Glu) και ΛΧΑ ($p=0.043$).

Στο Γλυκαιμικό δείκτη με το λευκό ψωμί ως τρόφιμο αναφοράς δεν εμφανίστηκε στατιστικά σημαντική αλληλεπίδραση μεταξύ ψωμιού και γλυκαιμικού δείκτη ($F(4,8)=1.470$, $p=0.286$), ούτε και κύρια επίδραση μεταξύ ψωμιού και γλυκαιμικού δείκτη ($F(2,18)=1.952$, $p=0.171$).

Στο γλυκαιμικό φορτίο με τρόφιμο αναφοράς την γλυκόζη, βρέθηκε στατιστικά σημαντική αλληλεπίδραση των ψωμιών με το γλυκαιμικό φορτίο ($F(3,7)=20.582$, $p=0.001$), με κύρια επίδραση μεταξύ ψωμιών και γλυκαιμικού φορτίου ($F(1.606,14.454)=5.029$, $p=0.028$). Η μοναδική στατιστικά σημαντική διαφορά είναι ανάμεσα στο WB και το ΛΧΑ ($p=0.03$).

Στο γλυκαιμικό φορτίο με τρόφιμο αναφοράς το λευκό ψωμί, υπάρχει στατιστικά σημαντική αλληλεπίδραση ψωμιού και γλυκαιμικού φορτίου ($F(2,8)=5.825$, $p=0.027$), με κύρια επίδραση του ψωμιού στο γλυκαιμικό φορτίο ($F(2,18)=4.425$, $p=0.027$). Στατιστικά σημαντική διαφορά ήταν ανάμεσα στο ΛΧΑ και Λ ψωμί με $p=0.032$. (Πίνακας 6.2.5)

4.5 Ινσουλίνη σιέλου και Εμβαδό κάτω από την καμπύλη (AUC)

Δεν βρέθηκε καμία στατιστικά σημαντική αλληλεπίδραση ή κύρια επίδραση ανάμεσα στις τιμές ινσουλίνης, στο εμβαδό κάτω από την καμπύλη, στις max τιμές (time to peak) και τα υπό μελέτη ψωμιά ή το ρόφημα γλυκόζης. (Διάγραμμα 6.1.3).

4.7 Επίδραση των ψωμίων στην Υποκειμενική Πείνα και τον Κορεσμό

Στον πίνακα 6.2.6 περιγράφονται τα σκορ από τις οπτικές αναλογικές κλίμακες (VAS) ως προς την εκτίμηση της υποκειμενικής πείνας και του κορεσμού στους χρόνους 0 και 120 λεπτά. Η υποκειμενική πείνα μειώθηκε σημαντικά από το χρόνο 0 στα 120 λεπτά ($\chi^2=36.326$, $p<0.001$), ο κορεσμός αυξήθηκε σημαντικά 2 ώρες μετά από την λήψη του γεύματος ($\chi^2=34.101$, $p<0.001$)

5. Συζήτηση - Συμπεράσματα

Τα κύρια ευρήματα της μελέτης ήταν:

- ❖ Για πρώτη φορά πραγματοποιήθηκε in vivo μελέτη σε ανθρώπους που να εξετάζει την επίδραση της κοκκομετρίας του σταρένιου πίτουρου στην μεταγευματική γλυκαιμική απόκριση. Σημειώθηκε μείωση της γλυκαιμικής απόκρισης για το Χονδρόκοκκο (Χ) σε σύγκριση με το αλεσμένο, χωρίς όμως να φτάνει σε στατιστικά σημαντικά επίπεδα.
- ❖ Σημειώθηκε μείωση της γλυκαιμικής απόκρισης για το Λεπτόκοκκο ψωμί με Χαρούπι (ΛΧΑ) σε σύγκριση με το Λεπτόκοκκο ψωμί χωρίς προσθήκη χαρουπιού (Λ), χωρίς η διαφορά να φτάνει σε στατιστικά σημαντικά επίπεδα.
- ❖ Η προσθήκη χαρουπάλευρου στο Λ ψωμί επέδρασε δραστικά στη μείωση του Γλυκαιμικού Φορτίου. Το ΛΧΑ αν και είχε υψηλό γλυκαιμικό δείκτη (70), ήταν ψωμί χαμηλού γλυκαιμικού φορτίου (8) σε σχέση με το Λ ($\Gamma\Delta=82$, $\Gamma\Phi=12$).

Επιπλέον φαίνεται πως το Χονδρόκοκκο ψωμί είχε την χαμηλότερη τιμή, στα 45 min που ήταν η μέγιστη τιμή γλυκόζης για όλα τα ψωμιά (peak rise), ενώ το Λεπτόκοκκο Χαρουπόψωμο αν και δεν είχε την χαμηλότερη τιμή διέφερε στατιστικά σημαντικά από το τρόφιμο αναφορά (ρόφημα γλυκόζης). Τέλος, η κατανάλωση των ψωμιών και της γλυκόζης επέδρασαν παρόμοια στις συγκεντρώσεις της ινσουλίνης σιέλου, ενώ ο χρόνος επηρέασε σημαντικά το αίσθημα της πείνας και του κορεσμού στο χρόνο 120, με τη χρήση των εκτιμήσεων VAS.

Η μοναδική έρευνα που έχει εξετάσει την επίδραση της κοκκομετρίας σταρένιου πίτουρου στην γλυκαιμική απόκριση είναι των (CHRISTOPHE LECLERE and CHERBUT 1993) και πραγματοποιήθηκε σε χοίρους. Δεν αφορούσε την ενσωμάτωση του πίτουρου σε ψωμί, αλλά την χορήγηση του μαζί με τυποποιημένο γεύμα, πλούσιο σε λίπος. Στην έρευνα αυτή οι δύο κοκκομετρίες που χρησιμοποιήθηκαν ήταν 500 και 250 μm , με τα 500 μm να παρουσιάζουν χαμηλότερο AUC (114.9 $\text{mmol}\cdot\text{min}/\text{l}$ έναντι 157,3 $\text{mmol}\cdot\text{min}/\text{l}$ για τα 250 μm), χωρίς η διαφορά να φτάνει σε στατιστικά σημαντικά επίπεδα. Εδώ, θα πρέπει να σημειωθεί πως η μεταβλητότητα που παρουσιάζουν οι έρευνες που εξετάζουν την γλυκαιμική απόκριση καθιστά δύσκολη την ανάδειξη

μικρών διαφορών σε σημαντικές. Η μεταβλητότητα που παρουσιάστηκε στην παρούσα μελέτη είναι συγκρίσιμη με αυτή που έχει αναφερθεί και σε άλλες μελέτες ίδιου σχεδιασμού, στις οποίες μόνο μεγάλες διαφορές κατάφεραν να αναδειχθούν σημαντικές (Nordlund et al. 2016; Yanni et al. 2017). Έτσι δεν μπορούμε να γνωρίζουμε με ασφάλεια αν υπάρχει κάποιος μηχανισμός που εξηγεί την μειωμένη γλυκαιμική απόκριση που παρατηρήθηκε στο X σε σύγκριση με το Λ ή αν αυτό οφείλεται αποκλειστικά στην μεταβλητότητα του πληθυσμού. Απαιτούνται περισσότερες έρευνες για την εξαγωγή ασφαλούς συμπεράσματος. Η αύξηση του κλάσματος των διαλυτών ιών που παρατηρείται μετά την άλεση (με την μείωση του μεγέθους του κόκκου (Chau C.F. 2006; Protonotariou S. 2015), δεν μπορούν να ερμηνεύσουν την διαφορά αφού το Λ σημείωσε υψηλότερο iAUC από το X.

Αρκετές έρευνες έχουν εξετάσει την κοκκομετρία ολόκληρου του σπόρου. Έχει βρεθεί σημαντική επίδραση τόσο σε υγιή άτομα (Holt and Miller 1994) (Heaton et al. 1988), όσο και σε άτομα με Σακχαρώδη Διαβήτη τύπου 2 (Heaton et al. 1988; Jenkins et al. 2002; Jenkins et al. 1988). Σε άλλες έρευνες που εξετάζουν την επίδραση της κοκκομετρίας ολόκληρου του σπόρου δεν βρέθηκαν σημαντικές διαφορές (Eelderink et al. 2017; Behall, Scholfield, and Hallfrisch 1999, 2005). Η μειωμένη γλυκαιμική απόκριση που έχει παρατηρηθεί με την αύξηση της κοκκομετρίας του σπόρου των δημητριακών έχει αποδοθεί στην μειωμένη επιφάνεια του αμύλου και τον μειωμένο ρυθμό γαστρικής κένωσης (Jenkins et al. 1988). Η σημαντική αντικατάσταση του αλεύρου από σπασμένους σπόρους (85% αντικατάσταση) που επιχειρήθηκε σε μια μελέτη έδωσε παρόμοιο iAUC για την γλυκόζη (τρόφιμο αναφοράς) και για το ψωμί με τους σπασμένους σπόρους (163,2mmol*min/l και 159,4mmol*min/l αντίστοιχα) (Eelderink et al. 2017). Συμπεράνουμε λοιπόν πως η σημαντική διαφοροποίηση της επιφάνειας του αμύλου δεν εγγυάται απαραίτητα και διαφορετική γλυκαιμική απόκριση. Στην παρούσα μελέτη η κοκκομετρία του αμύλου διατηρήθηκε πρακτικά σταθερή, αφού το άμυλο του πίτουρου αποτελεί ασήμαντο ποσοστό του συνολικού ψωμιού. Έχει φανεί ότι ο ρυθμός γαστρικής κένωσης επηρεάζεται όχι μόνο από τις διαλυτές ίνες αλλά και από την κοκκομετρία και την θερμιδική πυκνότητα του γεύματος (Gopirajah et al. 2016). Οι τελευταίοι εξέτασαν τον ρυθμό γαστρικής κένωσης και την γλυκαιμική απόκριση ενός γεύματος βρώμης και ενός από σκληρό σιτάρι και βρήκαν ότι το γεύμα σιταριού παρουσίασε μείωση τόσο στο ρυθμό

γαστρικής κένωσης, όσο και στη γλυκαιμική απόκριση, παρά την παρουσία β-γλυκάνης στο γεύμα της βρώμης. Επομένως, φαίνεται ότι και άλλοι παράγοντες διαδραματίζουν σημαντικό ρόλο σε αυτό το κομμάτι. Επιπλέον το δίκτυο της γλουτένης προστατεύει μερικώς το άμυλο από την πέψη, αν και μετά το στομάχι το μεγαλύτερο μέρος των πρωτεϊνών έχει επηρεαστεί σημαντικά μέσω της διαδικασίας της πέψης (Fardet et al. 2006). Μείωση της κοκκομετρίας του πύτου θεωρείται ότι είχε αρνητική επίδραση στο δίκτυο της γλουτένης (Noort M.W.J. 2010). Συνεπώς, ενδέχεται η μείωση της κοκκομετρίας του πύτου να καθιστά το άμυλο πιο επιδεκτικό στην υδρόλυση από πολύ νωρίς.

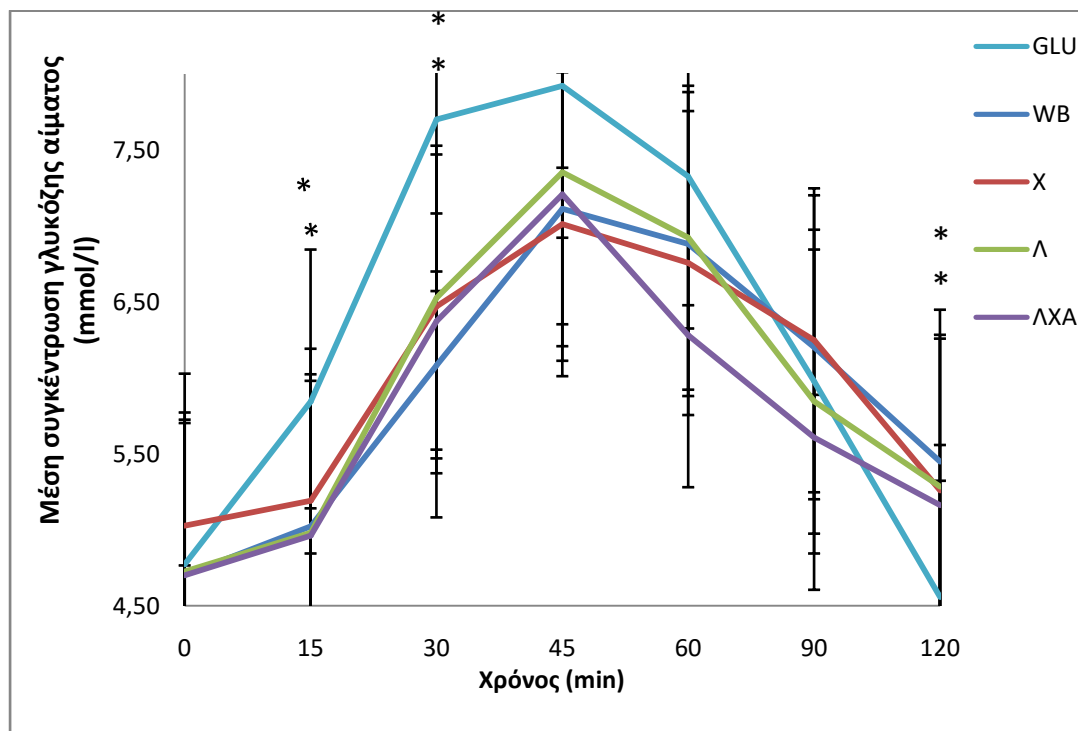
Μείωση της γλυκαιμικής απόκρισης όμως, φάνηκε πως επιτεύχθηκε και με την αντικατάσταση μικρού μέρους του αλεύρου από χαρουπάλευρο (10%). Η μείωση αυτή πιθανότατα οφείλεται στη μεγάλη περιεκτικότητα του σε ίνες (51.8% w.b.). Οι ίνες που περιέχονται στον σπόρο του χαρουπιού είναι ιξώδεις διαλυτές (Barak, Mudgil, and Khatkar 2015) και έχει φανεί ότι μπορούν να μειώσουν την γλυκαιμική απόκριση (Wood et al. 1994; Brennan 2005). Σε *in vitro* υδρόλυση που έγινε στη μελέτη των (Milek Dos Santos et al. 2014) βρέθηκε ότι το αλεύρι που προέρχεται από την άλεση όλου του καρπού του χαρουπιού είχε χαμηλό γλυκαιμικό δείκτη και φορτίο. Παρόλα αυτά δεν έχει μελετηθεί επαρκώς η επίδραση του χαρουπάλευρου στην μεταγευματική γλυκαιμία και υπάρχει σύγχυση των αποτελεσμάτων όσων μελετών υπάρχουν λόγω ότι το υπό μελέτη αλεύρο χαρουπιού προέρχεται από διαφορετικό μέρος του καρπού, αλλάζοντας έτσι το κλάσμα διαλυτών και αδιάλυτων ινών. Στην παρούσα μελέτη το αλεύρι προήλθε μόνο από τους σπόρους του καρπού.

Τέλος, ο χρόνος επηρέασε σημαντικά το αίσθημα της πείνας και του κορεσμού στο χρόνο 120, με τη χρήση των εκτιμήσεων VAS. Οι διαλυτές ίνες που διέρχονται στο παχύ έντερο με την μεσολάβηση της εντερικής χλωρίδας υφίστανται γρήγορη ζύμωση και παράγουν ελεύθερα λιπαρά οξέα βραχείας αλύσου και αέρια. Τα ελεύθερα λιπαρά οξέα βραχείας αλύσου που προκύπτουν κυρίως το βουτυρικό οξύ, το προπιονικό οξύ και το οξικό και αντίστοιχα αέρια υδρογόνο (H_2), μεθάνιο (CH_4) και διοξείδιο του άνθρακα (CO_2). Τα αέρια απομακρύνονται μέσω των πνευμόνων ή της γαστρεντερικής οδού και εκλαμβάνονται από τον οργανισμό ως αίσθημα κορεσμού/ φουσκώματος (Zaman and Sarbini 2016).

Συμπερασματικά, απαιτούνται περισσότερες μελέτες με στόχο να εξακριβωθεί με ασφάλεια αν υπάρχει κάποιος μηχανισμός που να εξηγεί τις διαφορές στην μείωση της γλυκαιμικής απόκρισης για το χονδρόκοκκο σταρένιο πίτουρο σε σύγκριση με το λεπτόκοκκο. Αν υπάρχει κάποιος μηχανισμός και μπορεί να αξιοποιηθεί σε τέτοιο βαθμό ώστε να ωφελεί την υγεία. Επίσης για να επιτευχθεί σημαντική μείωση της γλυκαιμικής απόκρισης, η οποία θα μπορούσε να προσφέρει οφέλη για την υγεία, θα μπορούσε να δοκιμαστεί μεγαλύτερη αντικατάσταση πχ 30% χαρουπάλευρου δηλαδή η τριπλάσια από αυτή που πραγματοποιήθηκε στην παρούσα μελέτη. Τέλος προτείνεται για μελλοντικά πειράματα η παρασκευή της συνταγής του χονδρόκοκκου ψωμιού, που σύμφωνα με την παρούσα μελέτη δείχνει να μειώνει την γλυκαιμική απόκριση με αντικατάσταση ενός μέρους του αλεύρου με χαρουπάλευρο που φαίνεται στην παρούσα μελέτη πως η προσθήκη του κατέταξε το ψωμί σε χαμηλού γλυκεμικού φορτίου γεύμα.

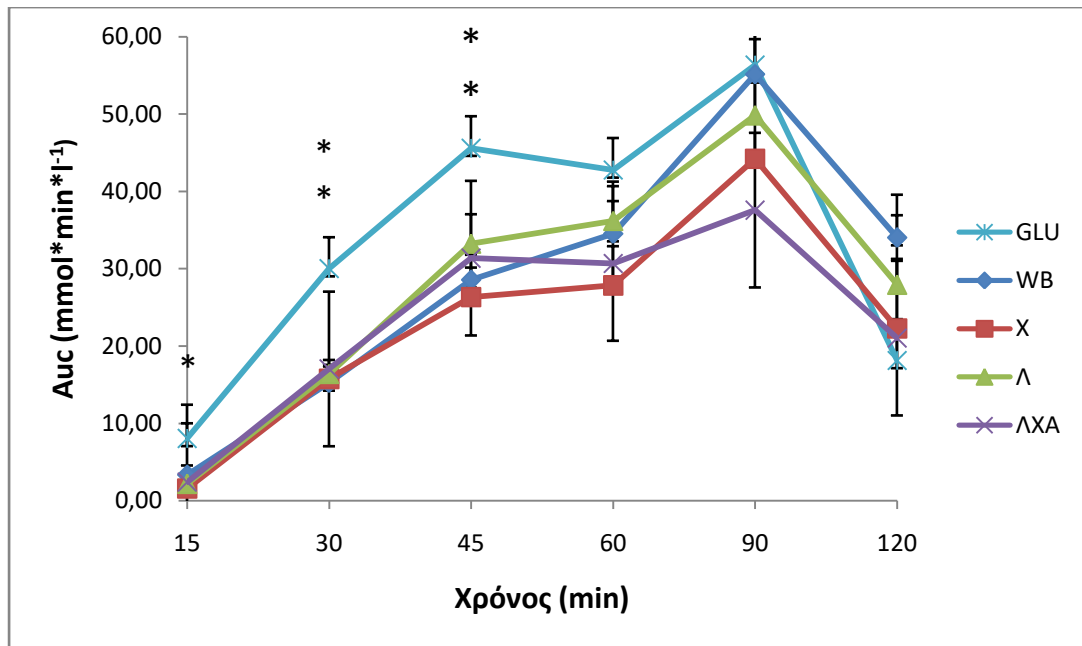
6. Παράρτημα

6.1 Διαγράμματα Αποτελεσμάτων



Εικόνα 6.1.1 Οι συγκεντρώσεις γλυκόζης αίματος (mmol/l) από τους 10 εθελοντές πριν και μετά την κατανάλωση των 4 υπό εξέταση ψωμιών και του ροφήματος ελέγχου (Mean±SEM).

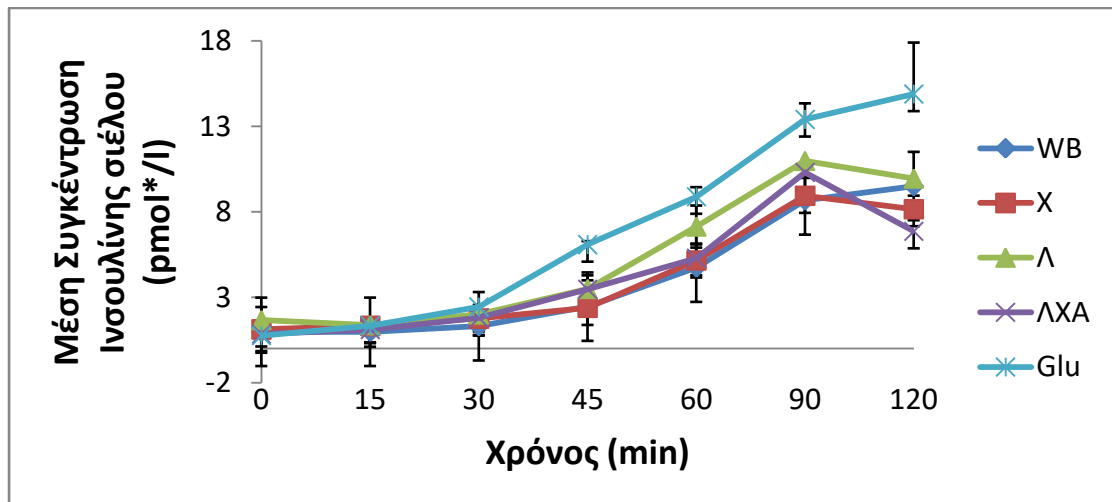
**στατιστικά σημαντική επίδραση των ψωμιών στις συγκεντρώσεις γλυκόζης του αίματος, στις συγκεκριμένες χρονικές στιγμές ($p < 0.001$).



Εικόνα 6.1.2 Εμβαδά συγκεντρώσεων γλυκόζης αίματος (AUC) σε mmol*min/l, πριν και μετά την κατανάλωση των 4 υπό μελέτη ψωμιών και του ροφήματος γλυκόζης (τρόφιμο ελέγχου), (Mean±SEM).

*στατιστικά σημαντική επίδραση των ψωμιών στις τιμές AUC, στις συγκεκριμένες χρονικές στιγμές ($p < 0.05$).

**στατιστικά σημαντική επίδραση των ψωμιών στις τιμές AUC, στις συγκεκριμένες χρονικές στιγμές ($p < 0.001$).



Εικόνα 6.1.3 Μέση συγκέντρωση ινσουλίνης σιέλου των 10 εθελοντών πριν και μετά την κατανάλωση των 4 υπό εξέταση ψωμιών και του ροφήματος ελέγχου (γλυκόζη). (Mean ±SEM).

6.2 Πίνακες Αποτελεσμάτων

Πίνακας 6.2.1 Κατανομή των χαρακτηριστικών των συμμετεχόντων¹

	Σύνολο	Άνδρες	Γυναίκες	P*
N	10	7	3	
Ηλικία	24.51±0.37	24.2±0.48	25.23±0.12	N/S
<i>Σύσταση σώματος από DXA</i>				
ΣΒ (kg)	69.15 (58.9, 74.37)	71.6 (67.5, 75.55)	47.5 (47.7, 57.25)	N/S
Ύψος (cm)	1.75±0.28	1.8±0.21	1.64±0.1	0.02
ΔΜΣ (kg/m ²)	21.8 (18.74, 23.43)	22.03 (21.36, 22.87)	17.87 (17.69, 21.02)	N/S
Λίπος (%)	23.9 (18.17, 30.82)	25 (21.25, 27.35)	20.3 (16.95, 34.4)	N/S
ΠΜ (cm)	75±6.36	84.21±3.04	53.5±14.6	N/S
A/G ratio	0.97 (0.5, 1.11)	1.06 (0.97, 1.14)	0.47 (0.39, 0.49)	0.01
<i>Διαιτητική πρόσληψη (από ανάκληση 24ώρου)</i>				
Ενέργεια (kcal)	2064.62±132.11	2205.33±162.21	1736.29±25.03	N/S
Πρωτεΐνη (g)	72.17 (67.43, 81.54)	78.96 (72.17, 82.59)	67.51 (62.8, 69.23)	N/S
Υδατάνθρακες (g)	289.14±92.29	336.54±130.09	178.54±23.54	N/S
Σάκχαρα (g)	53.83 (32, 66.04)	55.72 (41.52, 71.12)	45.76 (39.04, 51.86)	N/S
Φυτικές ίνες (g)	13.16 (9.6, 17.34)	10.41 (9.55, 16.85)	13.43 (13.16, 15.11)	N/S
Λιπαρά (g)	85.32 (71.3, 122.38)	100.29 (84.83, 125.87)	64.82 (63.31, 74.36)	N/S
Na (mg)	1936.63 (1505.94, 2196.16)	1958.89 (1493.47, 2225.43)	1743.68 (1697.15, 1923.27)	N/S
Ενυδάτωση (L)	1.74 (1.47, 2.12)	1.9 (1.7, 2.1)	1.4 (1.175, 1.45)	0.02
FINDRISK score	2.7±1.09	3±1.54	2±1	N/S

¹Τα δεδομένα εκφράζονται ως μέσος όρος ± SEM ή διάμεσος (1^ο, 3^ο τεταρτημόριο)

*Μεταξύ ανδρών και γυναικών, με τη χρήση Independent Sample t-test

Οι P-τιμές<0,05 θεωρούνται στατιστικά σημαντικές.

Συντομεύσεις: ΣΒ; Σωματικό Βάρος, ΔΜΣ; Δείκτης Μάζας Σώματος, ΠΜ; Περίμετρο Μέσης, A/G ratio; Αναλογία κοιλιακού λίπους ως προς το λίπος περιφέρειας ισχίου, N/S; Μη στατιστικά σημαντική διαφορά.

Πίνακας 6.2.2 Οι συγκεντρώσεις της γλυκόζης του αίματος (mmol/l) 2h μετά την κατανάλωση των γευμάτων.¹

	Χρόνος (min)						
	0	15	30	45	60	90	120
Glu	4,77±0.07a	5,84±0.26a	7,70±0.3a	7,92±0.21a	7,33±0.39a	5,98±0.27a	4,56±0.25a
WB	4,70±0.11a	5,02±0.19ab	6,08±0.20b	7,11±0.36a	6,88±0.36a	6,20±0.31a	5,45±0.26b
X	5,03±0.13a	5,19±0.15ab	6,47±0.26ab	7,01±0.29a	6,76±0.51a	6,25±0.25a	5,26±0.19b
Λ	4,73±0.13a	4,98±0.15b	6,53±0.23b	7,35±0.31a	6,92±0.33a	5,84±0.37a	5,28±0.29b
ΛXA	4,70±0.07a	4,96±0.18b	6,37±0.2b	7,21±0.17a	6,28±0.2a	5,61±0.26a	5,16±0.16ab

¹Τα δεδομένα εκφράζονται ως μέσος όρος ± SEM.

Διαφορετικά γράμματα σε μία γραμμή δηλώνουν στατιστικά σημαντικές διαφορές, $p < 0.05$

Πίνακας 6.2.3 Εμβαδά συγκεντρώσεων γλυκόζης αίματος (AUC) σε mmol*min/l, πριν και μετά την κατανάλωση των 4 υπό μελέτη ψωμιών και του ροφήματος γλυκόζης (τρόφιμο ελέγχου)¹.

	Χρόνος (min)					
	0-15	15-30	30-45	45-60	60-90	90-120
Glu	8.04±1.95a	30±4.06a	45.58±4.12a	42.77±4.12a	56.33±9.4a	18.12±5.3ab
WB	3.33±1.2ab	15.21±2.12b	28.54±3.24b	34.52±4.2a	55.14±6.83a	34±5.55a
X	1.56±0.58ab	15.74±2.48ab	26.33±3.01b	27.83±5.04a	44.2±8.923a	22.26±4.13b
Λ	2.16±0.54ab	16.38±1.8b	33.22±3.8b	36.18±5.06a	49.82±9.85a	27.91±8.9ab
ΛXA	2.396±0.93b	17.02±2.31ab	31.35±2.68b	30.66±1.88a	37.56±5.45a	21±4.99b

¹Τα δεδομένα εκφράζονται ως μέσος όρος ± SEM.

Διαφορετικά γράμματα σε μια σειρά δηλώνουν στατιστικά σημαντικές διαφορές ($p < 0.05$).

Πίνακας 6.2.4 Συνολικά εμβαδά κάτω από τη καμπύλη (iAUC) για το διάστημα των 2 ωρών (Mean±SEM).

	iAUC (mmol*120min*Γ ⁻¹)
Glu	200,85±22.79a
WB	170,77±15.06a
X	136,94±18.5a
Λ	165,71±22.64a
ΛXA	140.01±9.02a

* Διαφορετικά γράμματα σε μια σειρά δηλώνουν στατιστικά σημαντικές διαφορές ($p < 0.05$).

Πίνακας 6.2.5 Γλυκαιμικός Δείκτης και Γλυκαιμικό Φορτίο των 4 υπό εξέταση ψωμιών, με την γλυκόζη (Glu) και το Λευκό ψωμί (WB) ως πρότυπο αναφοράς. (Mean SEM)

	Γλυκαιμικός δείκτης (GLU)	Γλυκαιμικός δείκτης (WB)	Γλυκαιμικό φορτίο(GLU)	Γλυκαιμικό Φορτίο (WB)
Glu	100a	100a	-	-
WB	85±6.6a	-	17±2.8a	-
X	69±8.1ab	81±12a	10±2.1ab	12±1.3ab
Λ	82±9.9ab	97±15a	12±1.19ab	15±2.4a
ΛΧΑ	70±4b	82±6a	8±0.76b	10±1b

* Διαφορετικά γράμματα σε μια σειρά δηλώνουν στατιστικά σημαντικές διαφορές (p<0.05).

Πίνακας 6.2.6 Οπτικές αναλογικές κλίμακες (VAS) (mm) υποκειμενικής πείνας και κορεσμού στους χρόνους 0 και 120 λεπτά, για τα 4 είδη ψωμιού, Median (Q1, Q3)

	Πείνα (0 min)	Πείνα (120 min) ^a	Κορεσμός (0 min)	Κορεσμός ^b (120min)
Glu	-	-	-	-
WB	7.25 (7, 8.5)	5.45 (3.6, 6.5)	2.5 (1, 4.25)	3.9 (3.12, 5)
X	8 (7.75, 8.25)	5.7 (4.5, 7)	2.5 (1, 4.1)	3.7 (3, 4.25)
Λ	5 (2.75, 7)	5.8 (5, 7)	2.75(1.75, 5)	5.9 (3.75, 8)
ΛΧΑ	4 (2.75, 6.25)	7.6 (7, 8.25)	2 (1.38, 3)	4.2 (3, 4.25)

^a Σημαντική επίδραση του χρόνου $\chi^2=36.326$, p<0.001, Friedman (K-Related)

^b Σημαντική επίδραση του χρόνου $\chi^2=34.101$, p<0.001, Friedman (K-Related)

BIBΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

- Ajala, O., P. English, and J. Pinkney. 2013. 'Systematic review and meta-analysis of different dietary approaches to the management of type 2 diabetes', *Am J Clin Nutr*, 97: 505-16.
- Alminger, M., and C. Eklund-Jonsson. 2008. 'Whole-grain cereal products based on a high-fibre barley or oat genotype lower post-prandial glucose and insulin responses in healthy humans', *Eur J Nutr*, 47: 294-300.
- American Diabetes, Association. 2017. 'Erratum. Microvascular Complications and Foot Care. Sec. 10. In Standards of Medical Care in Diabetes-2017. Diabetes Care 2017;40(Suppl. 1);S88-S98', *Diabetes Care*.
- Anderson, J. W., T. J. Hanna, X. Peng, and R. J. Kryscio. 2000. 'Whole grain foods and heart disease risk', *J Am Coll Nutr*, 19: 291S-99S.
- Atkinson, F. S., K. Foster-Powell, and J. C. Brand-Miller. 2008. 'International tables of glycemic index and glycemic load values: 2008', *Diabetes Care*, 31: 2281-3.
- Augustin, L. S., C. W. Kendall, D. J. Jenkins, W. C. Willett, A. Astrup, A. W. Barclay, I. Bjorck, J. C. Brand-Miller, F. Brighenti, A. E. Buyken, A. Ceriello, C. La Vecchia, G. Livesey, S. Liu, G. Riccardi, S. W. Rizkalla, J. L. Sievenpiper, A. Trichopoulou, T. M. Wolever, S. Baer-Sinnott, and A. Poli. 2015. 'Glycemic index, glycemic load and glycemic response: An International Scientific Consensus Summit from the International Carbohydrate Quality Consortium (ICQC)', *Nutr Metab Cardiovasc Dis*, 25: 795-815.
- Aune, D., N. Keum, E. Giovannucci, L. T. Fadnes, P. Boffetta, D. C. Greenwood, S. Tonstad, L. J. Vatten, E. Riboli, and T. Norat. 2016. 'Whole grain consumption and risk of cardiovascular disease, cancer, and all cause and cause specific mortality: systematic review and dose-response meta-analysis of prospective studies', *BMJ*, 353: i2716.
- Aune, D., T. Norat, P. Romundstad, and L. J. Vatten. 2013. 'Whole grain and refined grain consumption and the risk of type 2 diabetes: a systematic review and dose-response meta-analysis of cohort studies', *Eur J Epidemiol*, 28: 845-58.
- Barak, S., D. Mudgil, and B. S. Khatkar. 2015. 'Biochemical and functional properties of wheat gliadins: a review', *Crit Rev Food Sci Nutr*, 55: 357-68.
- Bazzano, L. A. 2008. 'Effects of soluble dietary fiber on low-density lipoprotein cholesterol and coronary heart disease risk', *Curr Atheroscler Rep*, 10: 473-7.
- Behall, K. M., D. J. Scholfield, and J. Hallfrisch. 1999. 'The effect of particle size of whole-grain flour on plasma glucose, insulin, glucagon and thyroid-stimulating hormone in humans', *J Am Coll Nutr*, 18: 591-7.
- . 2005. 'Comparison of hormone and glucose responses of overweight women to barley and oats', *J Am Coll Nutr*, 24: 182-8.
- Belitz, H. D., and W. Grosch. 1999. *Food chemistry* (Springer: Berlin ; New York).
- Belobrajdic, D. P., & Bird, A. R. 2013. 'The potential role of phytochemicals in wholegrain cereals for the prevention of type-2 diabetes.', *Nutr J*, 12: 62.

- Biesinger, S., H. A. Michaels, A. S. Quadros, Y. Qian, A. B. Rabovsky, R. S. Badger, and T. Jalili. 2016. 'A combination of isolated phytochemicals and botanical extracts lowers diastolic blood pressure in a randomized controlled trial of hypertensive subjects', *Eur J Clin Nutr*, 70: 10-6.
- Bleis F.L., Chaunier L., Chiron H., Valle D., Saulnier L. 2015. 'Rheological properties of wheat flour dough and French bread enriched with wheat bran. ', *Journal of Cereal Science*, 65: 167-74.
- Brennan, C. S. 2005. 'Dietary fibre, glycaemic response, and diabetes', *Mol Nutr Food Res*, 49: 560-70.
- Brewer R.L., Kubola J., Siriamornpun S., Herald T.J., Shi Y.C. . 2014. 'Wheat bran particle size influence on phytochemical extractability and antioxidant properties', *Food Chem*, 152: 483-90.
- Brouns, F., I. Bjorck, K. N. Frayn, A. L. Gibbs, V. Lang, G. Slama, and T. M. Wolever. 2005. 'Glycaemic index methodology', *Nutr Res Rev*, 18: 145-71.
- Brouns, F., Y. Hemery, R. Price, and N. M. Anson. 2012. 'Wheat aleurone: separation, composition, health aspects, and potential food use', *Crit Rev Food Sci Nutr*, 52: 553-68.
- Brufau, G., M. A. Canela, and M. Rafecas. 2008. 'Phytosterols: physiologic and metabolic aspects related to cholesterol-lowering properties', *Nutr Res*, 28: 217-25.
- 'Carbohydrates in human nutrition. Report of a Joint FAO/WHO Expert Consultation'. 1998. *FAO Food Nutr Pap*, 66: 1-140.
- Chaplin, M. F. 2003. 'Fibre and water binding', *Proc Nutr Soc*, 62: 223-7.
- Chau C.F., Wen Y.L., Wang Y.T. . 2006. 'The effect of particle size of wheat bran fractions on bread quality – Evidence for fibre–protein interactions.', *International Journal of Food Science & Technology*, 41: 1054-60.
- CHRISTOPHE LECLERE, DENIS LAIRON, MARTINE CHAMP, and AND CHRISTINE CHERBUT. 1993. 'Influence of particle size and sources of non-starch polysaccharides on postprandial glycaemia, insulinaemia and triacylglycerolaemia in pigs and starch digestion in vitro', *British Journal of Nutrition*, 70: 179-88.
- Delgado, M. E., A. I. Haza, N. Arranz, A. Garcia, and P. Morales. 2008. 'Dietary polyphenols protect against N-nitrosamines and benzo(a)pyrene-induced DNA damage (strand breaks and oxidized purines/pyrimidines) in HepG2 human hepatoma cells', *Eur J Nutr*, 47: 479-90.
- Donalies, U. E., H. T. Nguyen, U. Stahl, and E. Nevoigt. 2008. 'Improvement of *Saccharomyces* yeast strains used in brewing, wine making and baking', *Adv Biochem Eng Biotechnol*, 111: 67-98.
- Dong, J. Y., P. Xun, K. He, and L. Q. Qin. 2011. 'Magnesium intake and risk of type 2 diabetes: meta-analysis of prospective cohort studies', *Diabetes Care*, 34: 2116-22.

- Durazzo, A., V. Turfani, V. Narducci, E. Azzini, G. Maiani, and M. Carcea. 2014. 'Nutritional characterisation and bioactive components of commercial carobs flours', *Food Chem*, 153: 109-13.
- Eelderink, C., M. W. Noort, N. Sozer, M. Koehorst, J. J. Holst, C. F. Deacon, J. F. Rehfeld, K. Poutanen, R. J. Vonk, L. Oudhuis, and M. G. Priebe. 2017. 'Difference in postprandial GLP-1 response despite similar glucose kinetics after consumption of wheat breads with different particle size in healthy men', *Eur J Nutr*, 56: 1063-76.
- EFSA. 2010. 'Scientific Opinion on Dietary Reference Values for carbohydrates and dietary fibre.'
- Englyst, K. N., H. N. Englyst, G. J. Hudson, T. J. Cole, and J. H. Cummings. 1999. 'Rapidly available glucose in foods: an in vitro measurement that reflects the glycemic response', *Am J Clin Nutr*, 69: 448-54.
- Fardet, A., F. Leenhardt, D. Lioger, A. Scalbert, and C. Remesy. 2006. 'Parameters controlling the glycaemic response to breads', *Nutr Res Rev*, 19: 18-25.
- Feillet, P. & Roulland, T.M. 1998. 'Caroubin: A gluten-like protein isolate from carob bean germ', *Cereal Chemistry*, 75: 488-92.
- Food, and Usda Nutrition Service. 2012. 'Nutrition standards in the National School Lunch and School Breakfast Programs. Final rule', *Fed Regist*, 77: 4088-167.
- Frolich, W., P. Aman, and I. Tetens. 2013. 'Whole grain foods and health - a Scandinavian perspective', *Food Nutr Res*, 57.
- Fung, T. T., F. B. Hu, M. A. Pereira, S. Liu, M. J. Stampfer, G. A. Colditz, and W. C. Willett. 2002. 'Whole-grain intake and the risk of type 2 diabetes: a prospective study in men', *Am J Clin Nutr*, 76: 535-40.
- Giacco, R., G. Della Pepa, D. Luongo, and G. Riccardi. 2011. 'Whole grain intake in relation to body weight: from epidemiological evidence to clinical trials', *Nutr Metab Cardiovasc Dis*, 21: 901-8.
- Gopirajah, R., K. P. Raichurkar, R. Wadhwa, and C. Anandharamakrishnan. 2016. 'The glycemic response to fibre rich foods and their relationship with gastric emptying and motor functions: an MRI study', *Food Funct*, 7: 3964-72.
- Greenwood, D. C., D. E. Threapleton, C. E. Evans, C. L. Cleghorn, C. Nykjaer, C. Woodhead, and V. J. Burley. 2013. 'Glycemic index, glycemic load, carbohydrates, and type 2 diabetes: systematic review and dose-response meta-analysis of prospective studies', *Diabetes Care*, 36: 4166-71.
- Haas, P., M. J. Machado, A. A. Anton, A. S. Silva, and A. de Francisco. 2009. 'Effectiveness of whole grain consumption in the prevention of colorectal cancer: meta-analysis of cohort studies', *Int J Food Sci Nutr*, 60 Suppl 6: 1-13.
- Heaton, K. W., S. N. Marcus, P. M. Emmett, and C. H. Bolton. 1988. 'Particle size of wheat, maize, and oat test meals: effects on plasma glucose and insulin responses and on the rate of starch digestion in vitro', *Am J Clin Nutr*, 47: 675-82.

- Hollaender, P. L., A. B. Ross, and M. Kristensen. 2015. 'Whole-grain and blood lipid changes in apparently healthy adults: a systematic review and meta-analysis of randomized controlled studies', *Am J Clin Nutr*, 102: 556-72.
- Holt, S. H., and J. B. Miller. 1994. 'Particle size, satiety and the glycaemic response', *Eur J Clin Nutr*, 48: 496-502.
- Hoseney, R. Carl. 1994. *Principles of cereal science and technology* (American Association of Cereal Chemists: St. Paul, Minn.).
- I.A., Brownlee. 2011. 'The physiological roles of dietary fibre.', *Food Hydrocolloids*, 25: 238-50.
- Jacobs, D. R., Jr., L. Marquart, J. Slavin, and L. H. Kushi. 1998. 'Whole-grain intake and cancer: an expanded review and meta-analysis', *Nutr Cancer*, 30: 85-96.
- Jayasinghe, M. A., S. Ekanayake, and D. B. Nugegoda. 2013. 'Effect of different milling methods on glycaemic response of foods made with finger millet (*Eucenea coracana*) flour', *Ceylon Med J*, 58: 148-52.
- Jenkins, D. J., C. W. Kendall, L. S. Augustin, S. Franceschi, M. Hamidi, A. Marchie, A. L. Jenkins, and M. Axelsen. 2002. 'Glycemic index: overview of implications in health and disease', *Am J Clin Nutr*, 76: 266S-73S.
- Jenkins, D. J., V. Wesson, T. M. Wolever, A. L. Jenkins, J. Kalmusky, S. Guidici, A. Csima, R. G. Josse, and G. S. Wong. 1988. 'Wholemeal versus wholegrain breads: proportion of whole or cracked grain and the glycaemic response', *BMJ*, 297: 958-60.
- Jenkins, D. J., T. M. Wolever, R. H. Taylor, H. Barker, H. Fielden, J. M. Baldwin, A. C. Bowling, H. C. Newman, A. L. Jenkins, and D. V. Goff. 1981. 'Glycemic index of foods: a physiological basis for carbohydrate exchange', *Am J Clin Nutr*, 34: 362-6.
- Kaline, K., S. R. Bornstein, A. Bergmann, H. Hauner, and P. E. Schwarz. 2007. 'The importance and effect of dietary fiber in diabetes prevention with particular consideration of whole grain products', *Horm Metab Res*, 39: 687-93.
- Kelly, S. A., C. D. Summerbell, A. Brynes, V. Whittaker, and G. Frost. 2007. 'Wholegrain cereals for coronary heart disease', *Cochrane Database Syst Rev*: CD005051.
- Kyro, C., A. Olsen, R. Landberg, G. Skeie, S. Loft, P. Aman, M. Leenders, V. K. Dik, P. D. Siersema, T. Pischon, J. Christensen, K. Overvad, M. C. Boutron-Ruault, G. Fagherazzi, V. Cottet, T. Kuhn, J. Chang-Claude, H. Boeing, A. Trichopoulou, C. Bamia, D. Trichopoulos, D. Palli, V. Krogh, R. Tumino, P. Vineis, S. Panico, P. H. Peeters, E. Weiderpass, T. Bakken, L. A. Asli, M. Arguelles, P. Jakszyn, M. J. Sanchez, P. Amiano, J. M. Huerta, A. Barricarte, I. Ljuslinder, R. Palmqvist, K. T. Khaw, N. Wareham, T. J. Key, R. C. Travis, P. Ferrari, H. Freisling, M. Jenab, M. J. Gunter, N. Murphy, E. Riboli, A. Tjonneland, and H. B. Bueno-de-Mesquita. 2014. 'Plasma alkylresorcinols, biomarkers of whole-grain wheat and rye intake, and incidence of colorectal cancer', *J Natl Cancer Inst*, 106: djt352.
- M., Nakamura. 1997. 'Effect of l-Ascorbic Acid on the Rheological Properties of Wheat Flour-Water Dough. ', *Cereal Chemistry*, 75: 647-50.

- Ma, X. Y., J. P. Liu, and Z. Y. Song. 2012. 'Glycemic load, glycemic index and risk of cardiovascular diseases: meta-analyses of prospective studies', *Atherosclerosis*, 223: 491-6.
- Madison, B. L., W. J. Kozarek, and C. P. Damo. 1976. 'High-pressure liquid chromatography of caffeine in coffee', *J Assoc Off Anal Chem*, 59: 1258-61.
- McRae, M. P. 2017. 'Health Benefits of Dietary Whole Grains: An Umbrella Review of Meta-analyses', *J Chiropr Med*, 16: 10-18.
- Milek Dos Santos, L., L. Tomzack Tulio, L. Fuganti Campos, M. Ramos Dorneles, and C. Carneiro Hecke Kruger. 2014. 'Glycemic response to carob (*Ceratonia siliqua* L) in healthy subjects and with the in vitro hydrolysis index', *Nutr Hosp*, 31: 482-7.
- Mondal A., Datta A.K. . 2008. 'Bread Baking – A review.', *Journal of Food Engineering.*, 86: 465-74.
- Monro, J. A., and M. Shaw. 2008. 'Glycemic impact, glycemic glucose equivalents, glycemic index, and glycemic load: definitions, distinctions, and implications', *Am J Clin Nutr*, 87: 237S-43S.
- Nations, Food and Agriculture Organization of the United. 10-11 February 2004. "Cereal and Other Starch-based Staples: Are Consumption Patterns Changing? Joint Meeting of the Intergovernmental Group on Grains (30th Session) and the Intergovernmental Group on Rice (41st Session)." In, edited by FAO Corporate Document and Repository. Rome.
- Nettleton, J. A., N. M. McKeown, S. Kanoni, R. N. Lemaitre, M. F. Hivert, J. Ngwa, F. J. van Rooij, E. Sonestedt, M. K. Wojczynski, Z. Ye, T. Tanaka, M. Garcia, J. S. Anderson, J. L. Follis, L. Djousse, K. Mukamal, C. Papoutsakis, D. Mozaffarian, M. C. Zillikens, S. Bandinelli, A. J. Bennett, I. B. Borecki, M. F. Feitosa, L. Ferrucci, N. G. Forouhi, C. J. Groves, G. Hallmans, T. Harris, A. Hofman, D. K. Houston, F. B. Hu, I. Johansson, S. B. Kritchevsky, C. Langenberg, L. Launer, Y. Liu, R. J. Loos, M. Nalls, M. Orho-Melander, F. Renstrom, K. Rice, U. Riserus, O. Rolandsson, J. I. Rotter, G. Saylor, E. J. Sijbrands, P. Sjogren, A. Smith, L. Steingrimsdottir, A. G. Uitterlinden, N. J. Wareham, I. Prokopenko, J. S. Pankow, C. M. van Duijn, J. C. Florez, J. C. Witteman, Magic Investigators, J. Dupuis, G. V. Dedoussis, J. M. Ordovas, E. Ingelsson, L. Cupples, D. S. Siscovick, P. W. Franks, and J. B. Meigs. 2010. 'Interactions of dietary whole-grain intake with fasting glucose- and insulin-related genetic loci in individuals of European descent: a meta-analysis of 14 cohort studies', *Diabetes Care*, 33: 2684-91.
- Noort M.W.J., van Haaster D., Hemery Y., Schols H.A., Hamer R.J. . 2010. 'The effect of particle size of wheat bran fractions on bread quality – Evidence for fibre–protein interactions', *Journal of Cereal Science*, 52: 59-64.

- Nordlund, E., K. Katina, H. Mykkanen, and K. Poutanen. 2016. 'Distinct Characteristics of Rye and Wheat Breads Impact on Their in Vitro Gastric Disintegration and in Vivo Glucose and Insulin Responses', *Foods*, 5.
- Pomeranz, Y. 1988. *Wheat : chemistry and technology* (American Association of Cereal Chemists: St. Paul, Minn., USA).
- Protonotariou S., Mandala I., Rosell C.M. . 2015. 'Jet Milling Effect on Functionality, Quality and In Vitro Digestibility of Whole Wheat Flour and Bread.', *Food and Bioprocess Technology*, 8: 239-49.
- Rosen, L. A., L. O. Silva, U. K. Andersson, C. Holm, E. M. Ostman, and I. M. Bjorck. 2009. 'Endosperm and whole grain rye breads are characterized by low post-prandial insulin response and a beneficial blood glucose profile', *Nutr J*, 8: 42.
- Rossi, M., F. Turati, P. Lagiou, D. Trichopoulos, C. La Vecchia, and A. Trichopoulou. 2015. 'Relation of dietary glycemic load with ischemic and hemorrhagic stroke: a cohort study in Greece and a meta-analysis', *Eur J Nutr*, 54: 215-22.
- Schwingshackl, L., and G. Hoffmann. 2013. 'Long-term effects of low glycemic index/load vs. high glycemic index/load diets on parameters of obesity and obesity-associated risks: a systematic review and meta-analysis', *Nutr Metab Cardiovasc Dis*, 23: 699-706.
- 'Scientific Opinion on Dietary Reference Values for magnesium'. 2015. *EFSA Journal*, 13: 4186.
- Serra-Majem, L., and I. Bautista-Castano. 2015. 'Relationship between bread and obesity', *Br J Nutr*, 113 Suppl 2: S29-35.
- Shewry, P. R. 2009. 'Wheat', *J Exp Bot*, 60: 1537-53.
- Silveira, E. A. D., L. L. Vieira, T. V. Jardim, and J. D. Souza. 2016. 'Obesity and its Association with Food Consumption, Diabetes Mellitus, and Acute Myocardial Infarction in the Elderly', *Arq Bras Cardiol*, 107: 509-17.
- Slavin, J. 2003. 'Why whole grains are protective: biological mechanisms', *Proc Nutr Soc*, 62: 129-34.
- Song, P., L. Wu, and W. Guan. 2015. 'Dietary Nitrates, Nitrites, and Nitrosamines Intake and the Risk of Gastric Cancer: A Meta-Analysis', *Nutrients*, 7: 9872-95.
- Stamataki, N. S., A. E. Yanni, and V. T. Karathanos. 2016. 'Non-cereal ingredients for the attenuation of glycaemic response to bread: a review of the clinical evidence', *Food Funct*, 7: 2926-36.
- Tovar, J., A. Nilsson, M. Johansson, and I. Bjorck. 2014. 'Combining functional features of whole-grain barley and legumes for dietary reduction of cardiometabolic risk: a randomised cross-over intervention in mature women', *Br J Nutr*, 111: 706-14.
- van der Kamp, J. W., K. Poutanen, C. J. Seal, and D. P. Richardson. 2014. 'The HEALTHGRAIN definition of 'whole grain'', *Food Nutr Res*, 58.

- Wang, Q., W. Xia, Z. Zhao, and H. Zhang. 2015. 'Effects comparison between low glycemic index diets and high glycemic index diets on HbA1c and fructosamine for patients with diabetes: A systematic review and meta-analysis', *Prim Care Diabetes*, 9: 362-9.
- Wang, Y., P. S. Belton, H. Bridon, E. Garanger, N. Wellner, M. L. Parker, A. Grant, P. Feillet, and T. R. Noel. 2001. 'Physicochemical studies of caroubin: a gluten-like protein', *J Agric Food Chem*, 49: 3414-9.
- Wolever, T. M. 2004. 'Effect of blood sampling schedule and method of calculating the area under the curve on validity and precision of glycaemic index values', *Br J Nutr*, 91: 295-301.
- Wood, P. J., J. T. Braaten, F. W. Scott, K. D. Riedel, M. S. Wolynetz, and M. W. Collins. 1994. 'Effect of dose and modification of viscous properties of oat gum on plasma glucose and insulin following an oral glucose load', *Br J Nutr*, 72: 731-43.
- Yanni, A. E., N. Stamataki, M. Stoupaki, P. Konstantopoulos, I. Pateras, N. Tentolouris, D. Perrea, and T. Karathanos V. 2017. 'Cr-enriched yeast: beyond fibers for the management of postprandial glycemic response to bread', *Eur J Nutr*, 56: 1445-53.
- Yin, R. V., and O. J. Phung. 2015. 'Effect of chromium supplementation on glycated hemoglobin and fasting plasma glucose in patients with diabetes mellitus', *Nutr J*, 14: 14.
- Yousif A.K., Alghzawi H.M. 2000. 'Processing and characterization of carob powder.', *Food Chemistry*, 69: 283-87.
- Zaman, S. A., and S. R. Sarbini. 2016. 'The potential of resistant starch as a prebiotic', *Crit Rev Biotechnol*, 36: 578-84.