

Prosessoinnin vaikutukset kasviproteiinien käytettävyyteen

Patrik Lahtinen
Kandidaatin tutkielma
Ravitsemustiede
Lääketieteen laitos
Terveystieteiden tiedekunta
Itä-Suomen yliopisto
Toukokuu 2018

Itä-Suomen yliopisto, Terveystieteiden tiedekunta
Kansanterveystieteen ja kliinisen ravitsemustieteen yksikkö
Ravitsemustiede

LAHTINEN PATRIK M: Prosessoinnin vaikutukset kasviproteiinien käytettävyyteen
Kandidaatin tutkielma, 29 sivua, 1 liite (1 sivu)
Ohjaajat: FM Kati Väkeväinen, FT Outi Mäkinen
Toukokuu 2018

Avainsanat: proteiini, prosessointi, palkokasvi, antiravinne, *in vitro*-imeytyminen

PROSESSOINNIN VAIKUTUKSET KASVIPROTEIININ KÄYTETTÄVYYTEEN

Kasviproteiinin lähteillä on ekologisia ja terveyteen liittyviä etuja, mutta yleisesti heikompi käytettävyys verrattuna eläinproteiiniin. Kasviproteiinin käytettävyyttä vähentävät antiravinteet, selluloosasta koostuva soluseinä ja eläinproteiinin lähteitä huonompi aminohappoprofiili, erityisesti rikkiä sisältävien aminohappojen osalta. Erilaisilla prosesseilla voidaan kuitenkin vaikuttaa kasviproteiinien käytettävyyteen ihmisravintona. Tämän kandidaatin tutkielman tavoite oli selvittää, millä prosesseilla kasvavassa kysynnässä olevat kasviproteiinit saadaan parhaiten hyödynnettyä. Prosessit valittiin saatavilla olevan tutkimustiedon mukaan. Tarkastellut prosessit ovat keittäminen, paahtaminen, mikronisaatio, mikroaaltouunikuuminen, painekeittäminen, ekstruusio, fermentointi, liottaminen, idättäminen, kuoriminen ja nestepaineprosessointi. Tutkielmassa on käsitelty erityisesti palkokasveja, sillä ne ovat ravitsemuksellisesti hyviä proteiinin lähteitä. Proteiinin käytettävyyden mittarina käytettiin *in vitro* proteiinin imeytymistä, sillä sitä oli käytetty lähes kaikissa tarkastelluissa tutkimuksissa. Eri tutkijoiden tulokset erosivat kuitenkin huomattavasti toisistaan, koska *in vitro* proteiinin imeytymisen määrittämiseen käytetään erilaisia menetelmiä, joten tulosten vertailtavuus kärsi.

Kirjallisuuskatsauksen perusteella elintarvikeprosessien merkittävin imeytymistä parantava tekijä oli antiravinteiden inaktivoituminen, mutta tärkeitä tekijöitä ovat myös soluseinän kuitujen hajoaminen, tertiaarisen proteiinirakenteen denaturoituminen ja siemenen endogeenisen entsyymitoiminnan aktivoituminen. Kemiallisista reaktioista Maillard-reaktio, aminohappojen ristosilloittuminen ja rasemoituminen huomattiin olevan merkittävimpiä käytettävyyttä heikentäviä tekijöitä. Tehokkaimpia prosesseja proteiinin imeytymisen kannalta olivat erilaiset kuumennukset vedessä. Tarkastellun kirjallisuuden perusteella eniten käytettävyyttä parantava prosessi oli keittäminen. Palkokasveilla paahtaminen ja mikronisaatio taas olivat proteiinin imeytymistä heikentäviä prosesseja. Jatkossa kaikki proteiinin käytettävyyttä *in vitro*-menetelmällä mittaavat tutkimukset tulisi suorittaa standardoidulla menetelmällä, että tuloksia voitaisiin vertailla luotettavammin. *In vitro* proteiinin imeytyvyys on vajavainen mittari käytettävyyden arvioimiseksi, sillä välttämättömien aminohappojen todellisen imeytyvyyden on huomattu olevan heikompaa verrattuna kokonaisproteiinin imeytyvyyteen. Tämän takia käytettävyyttä tulisi tarkastella enemmän aminohappokohtaisesti. Lisää tutkimusta tarvittaisiin erityisesti uusimmista prosesseista ja tulosten heikon vertailtavuuden takia mahdollisesti myös perinteisistä prosesseista. Prosesseja oikein yhdistelemällä voitaisiin saavuttaa yksittäisiä prosesseja parempi käytettävyys, minkä vuoksi prosessien yhdistäminen on hyvä tulevaisuuden tutkimuskohde.

SISÄLTÖ

1.	JOHDANTO.....	4
2.	PROTEIININ IMEYTYMINEN	4
3.	KASVIPROTEIINIEN KÄYTETTÄVYYTEEN VAIKUTTAVAT TEKIJÄT	5
3.1	Antiravinteet	6
3.1.1	Tanniinit.....	6
3.1.2	Trypsiini-inhibiittorit	6
3.1.3	Fytiinihappo.....	7
3.2	Aminohappojen hapettumisesta johtuvat reaktiot	8
3.2.1	Maillard-reaktio	8
3.2.2	D-aminohapot	8
3.2.3	Aminohappojen hapettuminen ja ristosilloittuminen	9
4.	PROSESSOINTIMENETELMÄT	10
4.1	Kuumakäsittelyt	10
4.1.1	Keittäminen	11
4.1.2	Paahtaminen.....	11
4.1.3	Mikronisaatio.....	13
4.1.4	Mikroaaltouunikuumennus	13
4.1.5	Painekeittäminen	14
4.1.6	Ekstruusio	14
4.2	Fermentointi.....	16
4.3	Liottaminen ja idättäminen	18
4.4	Kuoriminen	20
4.5	Nestepaineprosesointi	20
5.	POHDINTA.....	22
6.	JOHTOPÄÄTÖKSET	25
	LÄHTEET	26

1. JOHDANTO

Kasvava tietoisuus lihatuotannon eettisistä ja ekologisista ongelmista on saanut monet kuluttajat lisäämään kasviperaisten tuotteiden käyttöä. Kasvisten käytöllä on myös huomattu monia terveydelle hyödyllisiä vaikutuksia (Craig 2009, Glick-Bauer ja Yeh 2014). Lihaan verrattuna kasviproteiininlähteissä on vähemmän ihmiselle välttämättömiä aminohappoja, erityisesti rikkiä sisältävää metioniinia (Nosworthy ym. 2018). Viljaproteiineista puuttuu lysiini, maissituotteista lysiini ja tryptofaani, sekä palkokasveista metioniini (Friedman 1996). Proteiinien ravitsemuksellinen laatu määräytyy aminohappokoostumuksen mukaan, eli sen, kuinka paljon välttämättömiä aminohappoja proteiini sisältää ja kuinka hyvin ne saadaan hyödynnettyä. Yleisesti ottaen myös kasviproteiinien imeytyvyys on heikompaa verrattuna lihaan, mikä johtuu kasvien sisältämistä antiravinteista. Osa antiravinteista häiritsevät ruoansulatusentsyymien toimintaa tai sitovat aminohappoja imeytymättömiksi komplekseiksi (Friedman 1996).

Tämän kandidaatin tutkielman tavoitteena oli tarkastella, miten erilaiset prosessointimenetelmät vaikuttavat kasviproteiinien imeytyvyyteen ja tämän kautta käytettävyyteen, jotta saataisiin käsitys parhaista menetelmistä parantaa kasvisten ravitsemuksellisia hyötyjä. Kasviproteiininlähteistä keskityttiin erityisesti palkokasveihin. Ravitsemuksellisten hyötyjen parantaminen on elintarviketeollisuuden kiinnostuksen kohteena, mutta myös yksilölle hyödyllinen tieto. Aminohappojen laatua ja käytettävyyttä mitataan useilla eri mittareilla (Friedman 1996), mutta tässä työssä on selkeyden ja vertailtavuuden vuoksi valittu *in vitro* proteiinin imeytyminen (*In vitro* protein digestion, IVPD) käytettävyyden mittariksi.

2. PROTEIININ IMEYTYMINEN

Proteiinimetabolia alkaa mahassa, kun pepsinientsyymi hydrolysoi ravinnon proteiineja (Mutanen ja Voutilainen 2012). Mahaan saapuva ruoka venyttää mahaa, mikä stimuloi gastriini-entsyymien erittymistä. Gastriinin vaikutuksesta mahahapon erittyminen kiihtyy, jolloin ravinnon proteiinit turpoavat ja pepsinogeeni aktivoituu pepsiiniksi. Pepsini hydrolysoi korkeintaan 15 % proteiineista peptideiksi ja aminohapoiksi. Pääasiassa proteiinit hydrolysoidaan pohjukaissuolessa ja tyhjäsuolen alkuosassa. Pepsinin pH-optimi on 1,6–3,2, eli sen vaikutus lakkaa pohjukaissuolessa, jossa hapan ruokasula neutraloidaan haimanesteellä.

Haima erittää inaktiivisia proteolyttisiä entsyymejä, joita ovat trypsinogeeni, kymotrypsinogeeni, proelastaasi ja prokarboksipeptidaasi. Pohjukaissuoleen eritettävä sappineste stimuloi limakalvon solut erittämään enteropeptidaasia, joka aktivoi trypsinogeenin trypsiiniksi. Tämä aloittaa autokatalyyttisen reaktion, jossa trypsiini aktivoi lisää trypsinogeeniä trypsiiniksi. Trypsiini aktivoi myös muut inaktiiviset proteaasit. Aktivointi jatkuu, kunnes ohutsuolesta loppuu proteiini, johon trypsiini voi sitoutua. Vapaa trypsiini aloittaa negatiivisen takaisinkytkennän, jolloin trypsinogeeniä ei enää aktivoita. Oligopeptidit hydrolysoidaan pienemmiksi peptideiksi tai aminohapoiksi enterosyytin eli suolen epiteelisolun pinnalla. Di- ja tripeptidit hydrolysoidaan enterosyytissä solunsisäisten peptidaasien toimesta. Pienet peptidit siirtyvät enterosyytteihin nopeammin kuin aminohapot. Aminohappojen kuljetus enterosyyttiin tapahtuu helpotetulla kuljetuksella tai sekundaarisella aktiivisella kuljetuksella. Hydrofobiset aminohapot kulkeutuvat diffuusiolla. Enterosyytin basolateraaliselältä, eli verenkierron puoleiselta, puolelta vereen siirtyy lähinnä aminohappoja, mutta hieman myös di- ja tripeptidejä. Happamat aminohapot, kuten glutamaatti, glutamiini ja aspartaatti, jäävät epiteelisolujen omaan energiantuottoon.

3. KASVIPROTEIINIEN KÄYTETTÄVYYTEEN VAIKUTTAVAT TEKIJÄT

Tässä kappaleessa käsitellään kasviproteiinin lähteissä tyypillisesti esiintyviä antiravinteita ja aminohappojen hapettumisesta johtuvia tekijöitä, jotka vaikuttavat proteiinin käytettävyyteen. Tarkasteltaviksi antiravinteiksi valikoituivat ne, joita tutkijat pitävät kirjallisuudesta löytyvän tiedon perusteella tärkeimpinä proteiinin käytettävyyteen kannalta. Muita antiravinteita, jotka vaikuttavat proteiinimetaboliaan ovat esimerkiksi soijassa esiintyvät lunasin ja Bowman-Birk, jotka jätettiin tässä tutkielmassa käsittelemättä vähäisen tutkimustiedon takia (Gianluca Rizzo ja Luciana Baroni 2018). Valituista antiravinteista löytyi tietoa useista proteiinin käytettävyyteen kantaa ottavista tutkimuksista (Khattab ym. 2009, Ma ym. 2017), sekä erillisistä antiravinnetutkimuksista (Wang ym. 2008a, Khattab ja Arntfield 2009). Aminohappojen hapettuminen edesauttaa useita käytettävyyttä heikentäviä reaktiota, joita tässä tutkielmassa on käsitelty. Proteiinin käytettävyyttä käsittelevät tutkimukset selittävät heikentyvää imeytymistä useissa tutkimuksissa Maillard-reaktiolla ja proteiinien ristosilloittumisella (Ilo ym. 1996, Khattab ym. 2009, Ma ym. 2017, Zhu ym. 2017, Wang ym. 2008b), minkä vuoksi ne on otettu tarkasteluun. Aminohappojen rasemoitumisesta on myös tehty kattavasti tutkimusta, missä on huomattu huomattavaa aminohappojen käytettävyyden heikkenemistä (Csapó ym. 2009, Gilani ym. 2012), joten sitäkin käsitellään tässä tutkielmassa.

3.1 Antiravinteet

3.1.1 Tanniinit

Tanniinit ovat polyfenolisia polymeereja, joilla on suurehko molekyyliaino. (B. Wang ja Heinonen 2017). Ne muodostavat useilla hydroksyyliyhmillään komplekseja aminohappojen kanssa. Kompleksit voivat muodostua joko vetysidoksilla, jolloin ne ovat reversiibeileitä (palautuva) tai kovalenttisilla sidoksilla, jolloin ne ovat irreversiibeileitä (palautumaton). Kovalentisti sitoutuneena polyfenoli-proteiinikompleksi heikentää proteiinien ravitsemuksellista käytettävyyttä. Tanniinit sijaitsevat melko tasaisesti kaikkialla kasvissa, mutta esimerkiksi keltaherneiden kuorimisen jälkeen on huomattu merkittävää alenemaa tanniinipitoisuuksissa, eli tanniinit ovat kyseisellä palkokasvilla konsentroituneet kuoriosaan (Ma ym. 2017). Hydroksyyliyhmiensä ansiosta tanniinit ovat hyvin vesiliukoisia molekyylejä ja hajoavat helposti korkeissa lämpötiloissa (Rakić ym. 2007). Tehokkaimpia tapoja poistaa tanniineja olivat kuumakäsittelyt vedessä (Ma ym. 2017). Kuivat kuumakäsittelyt olivat keskimäärin tehottomampia inaktivoimaan tanniineja (Khattab ja Arntfield 2009). Inaktivaation hajonta oli suurta riippuen palkokasvista ja kasvin alkuperämaasta, esimerkiksi mikronisaatiossa tanniinien vähentymä vaihteli 6,4 ja 88,6 prosentin välillä (Liite 1). Fermentoinnissa tanniinipitoisuuksien väheneminen johtui mahdollisesti mikrobien fermentaatiosta tai polyfenolioksidaasin aktiivisuudesta.

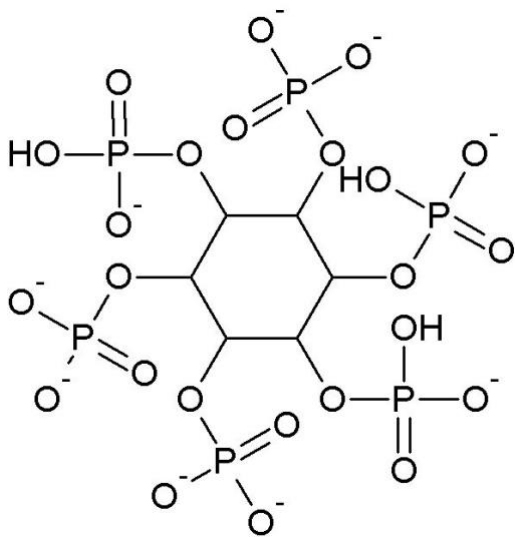
3.1.2 Trypsiini-inhibiittorit

Trypsiini-inhibiittorit eli trypsiiniä inhiboivat entsyymit (TIE) kuuluvat proteaasi-inhibiittoreihin (Gilani ym. 2012). TIE:tä on useissa kasvikunnan tuotteissa, kuten palkokasveissa, viljoissa, tomaateissa ja perunoissa. TIE sitoutuvat irreversiibelisti ohutsuoleen eritettävään trypsiinientsyymiin, jolloin entsyymin proteiineja hajottava toiminta estyy (Solanki ym. 1999). Inhibition seurauksena proteaasien synteesi ja erityisesti kiihtyvät tasoittain TIE:n vaikutusta. Proteiinioluonteensa ansiosta TIE hajoavat kuumakäsittelyllä (Gilani ym. 2012). Tällaisia lämpökäsittelyjä ovat esimerkiksi höyryttäminen, keittäminen, painekeittäminen, mikronisaatio, ja ekstruusio. Pitkittetty lämpökäsittely soijapavuilla kuitenkin heikensi proteiinien käytettävyyttä enemmän kuin TIE:n inaktivoinnilla saatiin hyötyjä. TIE sijaitsevat palkokasvien sisäosissa, joten kuoriminen lisää siemenen suhteellista TIE-pitoisuutta (Embaby 2010, Gilani ym. 2012). Ekstruusio oli tehokkaimpia elintarvikeprosesseja TIE:n inaktivointiin, sillä sitä käytettäessä TIE:n aktiivisuus saadaan

poistettua elintarvikkeesta lähes kokonaan (Rathod ja Annapure 2016). Joissakin tutkimuksissa mikroaaltouunikuuminen, keittäminen ja painekeitäminen tuhosivat TIE:n täydellisesti (Khattab ym. 2009).

3.1.3 Fytiinihappo

Fytiinihappo esiintyy yksi- ja kaksiarvoisten kationien kanssa muodostuneina suoloina, joita kutsutaan fytaateiksi (Gilani ym. 2012). Fytaatit ovat jyvien fosfori- ja mineraalivarastoja, joita otetaan käyttöön itämisen aikana. Fytaatteja sisältäviä kasviproteiinilähteitä ovat esimerkiksi siemenet, viljat ja pähkinät. Ruoansulatuskanavassa fytiinihappojen negatiivisesti varautuneilla fosfaattiryhmillä (Kuva 1) on korkea affiniteetti eli taipumus sitoutua positiivisesti varautuneisiin ravintoaineisiin, kuten aminohappoihin. Fytiinihappo-aminohappokompleksi ei imeydy ohutsuolesta. Lisäksi ne vähentävät ruoansulatusentsyymien toimintaa kelatoimalla kofaktoreja tai sitoutumalla joko entsyymiin tai sen substraattiin. Fytiinihappo on hyvin lämpöstabiili, joten kuumakäsittelyllä saavutetaan vain hillittyä alenemaa pitoisuuksissa. Endogeeninen fytaasientsyymi tuhoutuu kuitenkin lämpökäsittelyllä, minkä jälkeen sen fytaatteja hajottava vaikutus lakkaa. Inaktivoitunut fytaasientsyymi ei aktivoidu idättämisessä, jolloin prosessin fytiinihappoja vähentävät ja edelleen proteiinin käytettävyyttä parantavat vaikutukset jäävät pienemmiksi. Tämän takia on tärkeää ajoittaa mahdollinen liottaminen ja idättäminen ennen kuumakäsittelyä, että niistä saadaan mahdollisimman suuri hyöty proteiinin käytettävyyden kannalta. Joillakin siemenillä fytaasientsyymien aktiivisuudella ei ole havaittu vaikutusta proteiinin käytettävyyteen.



Kuva 1. Fytiinihapon rakennekuva (Kuva: Kati Väkeväinen 2010)

3.2 Aminohappojen hapettumisesta johtuvat reaktiot

3.2.1 Maillard-reaktio

Kasvi proteiinien lähteissä Maillard-reaktiota tapahtuu lähinnä viljatuotteissa korkeassa lämpötilassa (Gilani ym. 2012). Maillard-reaktion tapahtumiseen vaikuttavat veden läsnäolo (Fayle ja Gerrard 2002), pH-arvo, lämpötila ja ympäristön hapetuskyky (Hellwig ym. 2015). Aminohapoista erityisesti esimerkiksi lysyiini reagoi usean vaiheen kautta sokereiden tai toisten aminohappojen kanssa muodostaen imeytymättömiä yhdisteitä (Hellwig ym. 2015). Lysiini kuuluu ihmiselle välttämättömiin aminohappoihin (Mutanen ja Voutilainen 2012), joten Maillard-reaktiolla on ruoan ja proteiinin ravitsemuksellista laatua heikentävä vaikutus (Fayle ja Gerrard 2002). Ohutsuolen proteolyttiset entsyymit eivät pysty vaikuttamaan Maillard-reaktion tuotteisiin (Hellwig ym. 2015). Osa Maillard-reaktion tuotteista pääsee ohutsuolen epiteeliin di- tai tripeptideihin liittyneenä. Epiteelisoluihin päässeistä tuotteista polarisoitumattomat voivat siirtyä basolateraalisen puolen kautta elimistöön. Polaariset molekyylit sen sijaan jäävät solujen sisälle, kunnes vapautuvat epiteelin hilseilyn seurauksena ja jatkavat paksusuoleen. Paksusuolen mikrobiston oli huomattu pystyvän hajottamaan joitakin Maillard-reaktion tuotteita, mutta vielä ei ollut tutkittu, onko näillä reaktiotuotteilla merkitystä ihmisen proteiinimetaboliaan.

3.2.2 D-aminohapot

Aminohapot ovat optisesti aktiivisia, koska α -hiileen, eli aminohapon keskushiileen, on sitoutunut vety, aminoryhmä, karboksyylihapporyhmä ja sivuketju, jotka kaikki ovat toisistaan eroavia. Aminohapoilla esiintyy optista isomeriaa, jotka havaitaan L- ja D-enantiomeereina (Csapó ym. 2009). Aminohapot esiintyvät yleensä ihmis- ja kasvisoluissa L-enantiomeereina, mutta hyönteisten ja mikrobien aminohapoista huomattava osa on D-aminohappoja. Ihmisen suoliston kuljetusmekanismit peptideille ja aminohapoille ovat stereoselektiivisiä, eli reseptorit syrjivät D-aminohappoja, minkä vuoksi D-enantiomeerien muodostuminen ei ole toivottua. Osa epiteelin lävitse diffundoituneista D-aminohapoista metaboloidaan pääasiassa munuaisissa D-aminohappo-oksidaasin toimesta useiden reaktioiden kautta α -ketohapoiksi, joista muodostetaan edelleen L-aminohappoja vaihtamalla ketohapon karbonyyliryhmä aminoryhmään. Muodostuneet L-enantiomeerit saadaan normaaliin proteiinimetaboliaan. Suuri osa epiteelin läpi päässeistä D-aminohapoista hajotetaan kuitenkin suoraan oksidatiivisessa dekarboksylaatioissa ja eritetään virtsaan. Tutkimuksissa on havaittu, että mikäli peptidiketjussa

on useita rasemoituneita aminohappoja, pääsevät proteolyttiset entsyymit vaikuttamaan niihin vain osittain. Tällöin imeytymättömään peptidiketjuun jää jonkin verran myös rasemoitumattomia aminohappoja. D-aminohappoja sisältävät rasvaliukoiset di- ja tripeptidit voivat siirtyä epiteelin läpi diffuusiolla, mutta ne eivät ole sopivia substraatteja D-aminohappoksidaasille.

D-aminohapot muodostuvat korkeissa lämpötiloissa ja/tai alkalisissa käsittelyissä, jolloin aminohappoja rasemoituu L-enantiomeereista D-enantiomeereiksi (Csapó ym. 2009). Aminohapon hapettuneen karboksyyliiryhmän kaksoissidos voi hetkellisesti vaihtua α -hiilen ja karboksyyliiryhmän hiilen välille, mikäli α -hiili menettää vetyatominsa. Tämä α -hiilen vetyioni voi irrota voimakkaissa hapettavissa olosuhteissa, kuumakäsittelyissä tai emäskäsittelyissä. Kun kaksoissidos palaa paikalleen karboksyyliiryhmän hapen ja hiilen välille, jää α -hiileen negatiivinen varaus. Mikäli α -hiili saa ympäristöstään korvaavan vetyionin, voi uusi vetyioni muodostaa sidoksen eri elektronin kanssa kuin alkuperäinen vetyioni, jolloin aminohaposta muodostuu D-enantiomeeri. Rasemoitumiseen vaikuttaa, ovatko aminohapot vapaina vai peptidiketjussa. Kysteini on erityisen herkkä rasemoitumiselle. Alifaattisen sivuketjun sisältävät aminohapot ovat stabiilimpia kuin muut aminohapot. D-aminohappoja on kasviproteiinin lähteistä huomattu olevan suuria määriä teksturoidussa soijaproteiinissa $< 13 \%$ ja lämpö- tai emäskäsitellyssä soijaproteiinissa $27 \pm 7 \%$. (Gilani ym. 2012)

3.2.3 Aminohappojen hapettuminen ja ristosilloittuminen

Hapettavat tekijät voivat irrottaa aminohappojen sivuketjun karboksyyliiryhmästä vetyionin, minkä seurauksena sivuketjun karbonyyliiryhmän negatiivisesti varautunut happi voi sitoutua toisten aminohappojen aminoryhmiin muodostaen amidisidoksen (Santé-Lhoutellier ym. 2008). Voimakkaasti hapettavissa olosuhteissa jopa aromaattiset aminohapot saattavat hapettua ja sitoutua toisiinsa, mikä aloittaa aminohappoja kasaavan polymerisaatioketjureaktion. Hapettuessaan aminohappojen tioliryhmän rikki voi sitoutua toisen aminohapon hapettuneen tioliryhmän kanssa ja näin muodostaa rikkisidoksen aminohappojen välille. Aminohappojen kasautumisen ja ristosilloittumisen on huomattu olevan yhteydessä heikentyneeseen aminohappojen käytettävyyteen. Toisaalta aminohappojen hapettumisen oli huomattu lisäävän proteiinin pinnan hydrofobisuutta, mikä puolestaan oli lisännyt proteiinin käytettävyyttä. Lihalla suoritetuissa tutkimuksissa oli havaittu kuumakäsittelyissä aminohappojen nopeaa oksidaatiota. Tätä oli perusteltu antioksidanttien hajoamisella ja hemiraudan vapautumisella soluista. Hemirauta voi muodostaa vapaita radikaaleja, jotka hapettavat aminohappoja

tehokkaasti. Hajonneet antioksidantit eivät estä hapettumista. Kasviproteiinilla samanlaista oletusta ei voida tehdä, sillä kasvit sisältävät lähinnä non-hemirautaa ja rauta voi olla sitoutuneena antiravinteisiin (Repo-Carrasco-Valencia ym. 2010).

Lysioalaniini (LAL) on yleinen ristosilloittumisen tuote, jota muodostuu pääasiassa emäskäsittelyissä, mutta sitä on huomattu muodostuvan myös lämpökäsittelyissä (Gilani ym. 2012). LAL:n muodostuminen tarvitsee lysiinijäännöksen, jossa α -aminoryhmä on menettänyt vetyatomit ja α -karboksyyliryhmä hydroksyyliiryhmän. Lysiinijäännös voi muodostua emäksisessä ympäristössä tai kuumennuksen, kuten esimerkiksi keittämisen, seurauksena. Jäännöksen ϵ -aminoryhmä, eli sivuketjun aminoryhmä, sitoutuu dehydroalaniinijäännökseen, joka on prosessoinnissa muodostunut kysteiniinistä tai seriinistä. LAL ei imeydy ohutsuolen epiteelin kautta.

4. PROSESSOINTIMENETELMÄT

Tässä kappaleessa käsitellään eri prosessointimenetelmiä, jotka on jaettu kuumakäsittelyihin ja sellaisiin prosesseihin, jotka eivät vaadi kuumennusta. Kirjallisuuskatsauksessa käsiteltäviksi valikoituivat prosessit, joista on tällä hetkellä parhaiten saatavilla proteiinin käytettävyyteen kantaa ottavia tutkimuksia. Kuumakäsittelyistä tarkastellaan keittämistä, paahtamista, mikronisaatiota, mikroaaltouunikuumennusta, painekeittämistä ja ekstruusiota. Muita käsiteltäviä prosesseja ovat fermentointi, liottaminen ja nestepaineprosessointi. Kuorimisesta ei löytynyt vertailukelpoista taulukoitavaa tulosaineistoa. Kuorimista käsitellään silti lyhyesti, koska se on usein olennaisesti yhteydessä muihin prosesseihin.

4.1 Kuumakäsittelyt

Kuumakäsittelyssä tuotteeseen tuodaan lämpöä, jolloin tuotteen sisälämpötila kasvaa (Lewis ja Jun 2011). Yleensä lämmönvälittäjänä on vesi, metalli tai ilma. Kuumakäsittelyllä on useita eri tarkoituksia elintarvikkeen muokkaamiseksi. Pilaajamikrobit ja patogeeniset mikrobit kuolevat korkeissa lämpötiloissa, mikä parantaa tuotteen turvallisuutta ja säilyvyyttä. Kuumakäsittelyillä tavoitellaan myös entsyymi-inhibitioita ravitsemuksellisen ja aistinvaraisen laadun parantamiseksi. Korkea lämpötila denaturoi entsyymejä, jolloin elintarvikkeen entsyymitoiminta hidastuu tai loppuu kokonaan. Tavoiteltuja vaikutuskohteita ovat esimerkiksi proteiinien imeytymistä häiritsevät entsyymit, hedelmien ruskettumisen aiheuttava polyfenolioksidaasi tai flavorimuutoksia aiheuttavat lipaasit ja proteaasit. Prosesseissa

proteiineja, erityisesti palkokasvien globuliineja, hajoaa pienemmiksi peptideiksi tai aminohapoiksi, jolloin ruoansulatusentsyymit pääsevät vaikuttamaan niihin tehokkaammin (Khattab ym. 2009, Ma ym. 2017). Kuumakäsittelyillä voidaan pyrkiä saamaan tuotteeseen fysikaalisia muutoksia tai kemiallisia reaktioita, jotka muuttavat tuotteen koostumusta, väriä tai makua (Lewis ja Jun 2011). Kuumennettaessa antiravinteet vähenevät, mikä johtuu todennäköisesti yhdisteiden hajoamisesta kuumassa, muutoksista kemiallisessa reaktiivisuudessa ja liukenemattomien yhdisteiden muodostumisesta (Rathod ja Annapure 2016).

4.1.1 Keittäminen

Keittäminen tapahtuu kiehumispisteessä olevassa vedessä, joka on lämpötilaltaan noin 100 °C lähellä merenpintaa. Vesi toimii lämmön välittäjänä. Keittämisen tarkoituksena on pehmentää tuotetta ja tuhota mahdollisesti haitallisia yhdisteitä (Lewis ja Jun 2011). Prosessin aikana tuotteesta voi liueta veteen peptidejä, entsyymejä, ja muita vesiliukoisia yhdisteitä. Liukenevien yhdisteiden johdosta herneiden suhteellinen proteiinipitoisuus kasvoi keitetessä 3–6,7 % (Wang ym. 2008a). Linsseillä punaisten proteiinipitoisuus kasvoi 1,5 % ja vihreiden 1,7 % (Nosworthy ym. 2018). Kuitenkin joissain tutkimuksissa kokonaisproteiinipitoisuuksien on huomattu laskevan, kun peptidejä tai aminohappoja oli diffundoitunut väliaineena toimivaan veteen (Ma ym. 2017). Keltaisilla herneillä proteiinipitoisuus laski 3,4 %.

Proteiinin imeytymisen parantamiseksi keittäminen vaikuttaa olevan hyvä prosessi (Taulukko 1). Koska lämpötila ei nouse normaalin ilmanpaineen veden kiehumispistettä suuremmaksi, ei Maillard-reaktiota tai aminohappojen ristosilloittumista pääse muodostumaan merkittävässä määrin, jolloin kyseiset tekijät eivät vähennä imeytyvien aminohappojen määrää. Keittäminen inaktivoi proteiinien imeytymistä estäviä antiravinteita melko tehokkaasti. TIE tuhoutuivat useilla palkokasveilla täydellisesti (Khattab ja Arntfield 2009).

4.1.2 Paahtaminen

Paahtaminen voi tapahtua uunissa (Khattab ym. 2009, Ma ym. 2017), tai paistinpannalla (Tiwari ja Awasthi 2014). Tuotetta, kuten esimerkiksi jyviä, voidaan paahtaa sellaisenaan tai sen jauhot voidaan sekoittaa veteen taikinaksi, joka paahdetaan. Veden läsnäolo vaikuttaa paahtamisen lopputulokseen, sillä vesi vaikuttaa Maillard-reaktion aktiivisuuteen (Fayle ja Gerrard 2002). Lehmäpapujen, tarhapapujen ja herneiden imeytyvyys heikkeni paahtamisen

seurauksena, mikä johtuu mahdollisesti Maillard-reaktiosta ja aminohappojen ristosilloittumisesta (Khattab ym. 2009).

Paahtaessa lämpötilat ovat niin korkeita, että olosuhteet Maillard-reaktiolle ja aminohappojen ristosilloittumiselle ovat otollisia, jolloin suurin osa reaktiotuotteissa olevista aminohapoista jää imeytymättä. Korkeissa lämpötiloissa aminohapot alkavat myös rasemoitua, jolloin aminohappojen D-enantiomeerit eivät juuri imeydy ohutsuolesta. Todennäköisesti edellä mainituista syistä Khattabin ryhmän (2009) suorittamassa tutkimuksessa paahtaminen vähensi IVPD:tä merkittävästi, vaikka antiravinteita inaktivoitui tehokkaasti. Tiwarin ja Awasthin (2014) tutkimuksissa ei määritetty raan kauran imeytyvyyttä, mutta verrattuna idätettyyn kauraan (Taulukko 3), oli paahtetun kauran IVPD (Taulukko 1) merkittävästi idätettyä pienempi. Toisaalta Man tutkimuksessa (2017) paahtettujen keltaisten herneiden IVPD oli hieman raakoja herneitä parempi, vaikka tutkimuksessa käytetty lämpötila ja aika olivat samat kuin Khattabilla ym. (2009). Erot voivat osittain johtua analyysimenetelmien eroista tai käytetyistä raaka-aineista.

Taulukko 1. Kuumakäsittelyjen jälkeinen proteiinin *in vitro* imeytyminen (IVPD) prosenttiosuus (%) ja suluissa prosessoinnin aiheuttamat muutokset imeytymiseen verrattuna käsittelemättömään proteiinin lähteeseen.

	Keittäminen	Paahtaminen	Mikronisaatio	Mikro-aaltouuni	Paine-keittäminen	Käsittelemätön
K. lehmäpapu ¹	87,5 (+19,3)	77,6 (-5,7)	80,0 (-2,7)	92,8 (+12,8)	90,3 (+9,7)	82,3
K. tarhapapu ¹	86,7 (+19,2)	76,6 (-6,1)	67,9 (-3,0)	81,7 (+13,0)	79,0 (+10,0)	70,5
K. herne ¹	70,5 (+23,9)	64,9 (-8,0)	76,0 (-3,7)	89,1 (+15,8)	86,6 (+11,9)	78,4
E. lehmäpapu ¹	83,2 (+20,6)	73,0 (-6,5)	79,1 (-3,2)	92,2 (+13,6)	89,7 (+10,3)	81,6
E. tarhapapu ¹	83,7 (+20,3)	73,1 (-6,8)	75,5 (-3,1)	88,6 (+13,6)	86,1 (+10,4)	78,0
E. herne ¹	85,5 (+19,5)	75,0 (-6,4)	77,9 (-2,8)	90,9 (+13,4)	88,3 (+10,2)	80,1
Keltainen herne ²	92,5 (+10,1)	86,7 (+3,3)	85,5 (+2,4)	89,3 (+6,3)		84,0
Mungopapu ³	87,8 (+9,5)			88,2 (+10,0)	88,7 (+10,6)	80,2
Lehmäpapu ⁴	91,0 (+26,0)				93,9 (+30,0)	72,2
Vihreä linssi ⁵	84,0					
Punainen linssi ⁵	84,7					
Kaura ⁶		55,2				

K = Kanadalainen, E = Egyptiläinen, prosessin merkittävin tulos lihavoitu

Keittäminen: ¹(Khattab ym. 2009) 4 h liottaminen ennen keittämistä, minkä jälkeen 35–45 min keittäminen, ²(Ma ym. 2017) 30 min keittäminen, ³(Ma ym. 2017) 12 h liottaminen, 72 h idättäminen, jonka jälkeen 30 min keittäminen ³(Mubarak 2005) 12 h liottaminen, 90 min keittäminen ⁴(Deol ja Bains 2010) 15 min keittäminen ⁵(Nosworthy ym. 2018) 16 liottaminen, 25–35 min keittäminen

Paahtaminen: ¹(Khattab ym. 2009) 180 °C 15–20 min, ²(Ma ym. 2017) 180 °C 10 + 10 min, välissä ravistelu ⁶(Tiwari ja Awasthi 2014) paistinpannalla 10–15 min

Mikronisaatio: ¹(Khattab ym. 2009) 90 °C 2,5–3 min kosteus 24 % ²(Ma ym. 2017) 110–115 °C kosteus 16 %

Mikroaaltouuni: ¹(Khattab ym. 2009) 15–20 min 1200 W ²(Ma ym. 2017) 25 min 1200 W ³(Mubarak 2005) 12 h liottaminen + 15 min mikroaaltouunikäsittely

Painekeittäminen: ¹(Khattab ym. 2009) paine 103,43 kPa, lämpötila 121 °C ja kesto 20 min ³(Mubarak 2005) 12 h liottaminen, keittäminen 121 °C 35 min; ⁴(Deol ja Bains 2010)

5 min paineen nousu + 3 min keittämistä täydellä paineella

4.1.3 Mikronisaatio

Mikronisaatiossa kuumentaminen tapahtuu infrapunalampulla (Deepa ja Hebbar 2014). Infrapuna lämmittää tuotetta suoraan vaikuttamatta väliaineeseen, joten mikronisaatio on paahtamiseen verrattuna tehokas ja nopea kuumennusmenetelmä. Mikronisaatio voidaan suorittaa asettamalla siemenet tärisevälle alustalle, joka kääntää siemeniä koko prosessin ajan (Ma ym. 2017). Mikronisaatiossa kokonaisproteiinipitoisuus laskee, todennäköisesti Maillard-reaktion ja aminohappojen ristosilloittumisen takia (Khattab ym. 2009, Ma ym. 2017). Peptidien ja aminohappojen ollessa imeytymättömässä muodossa, IVPD voi hieman laskea, vaikka antiravinteiden pitoisuudet vähenevät (Liite 1). Tutkimuksissa käytetyt lämpötilat olivat verrattain alhaisia, jolloin Maillard-reaktion, aminohappojen ristosilloittumisen ja D-aminohappojen muodostumisen pitäisi olla hillittyä. Khattabin ym. (2009) tutkimuksessa IVPD oli kuitenkin vähentynyt selvästi, kun taas Man ym. (2017) tutkimuksessa keltaisen herneen IVPD oli hieman noussut, vaikka keltaisia herneitä oli käsitelty korkeammassa lämpötilassa verrattuna Khattabin ym. (2009) tutkimuksessa käytettyyn lämpötilaan. Toisaalta Man ym. (2017) tutkimuksessa prosessointiaikaa ei kerrottu. Eroja selittää todennäköisesti osittain analyysimenetelmien erot.

4.1.4 Mikroaaltouunikuuminen

Mikroaaltouunissa lämpöä muodostuu, kun laitteen elektromagneettinen sähkökenttä on vuorovaikutuksessa tuotteen molekyylin kanssa (Das ym. 2009). Mikroaallot liikuttavat sähköä johtamattoman materiaalin varauksellisia molekyylejä, jolloin liikettä vastustavat voimat muodostavat lämpöä. Energia viedään suoraan lämmitettävään tuotteeseen, joten väliaineen lämmittämiseen ei kulu energiaa. Tarkastelluissa tutkimuksissa siemenet olivat käsittelyn aikana hanavedessä (Khattab ym. 2009, Ma ym. 2017). Siemeniä käsiteltiin, kunnes 50 % siemenistä tuntui pehmeiltä sormilla puristaessa. Mikroaaltouuni on ollut tehokas menetelmä parantamaan IVPD:tä. Khattabin ym. (2017) tutkimuksessa mikroaaltouunikuuminen vaikutus IVPD:een oli huomattavasti suurempi, lyhemmästä prosessointiajasta huolimatta, verrattuna Man ym. (2017) tuloksiin, mikä voi johtua IVPD:n mittausten eroista.

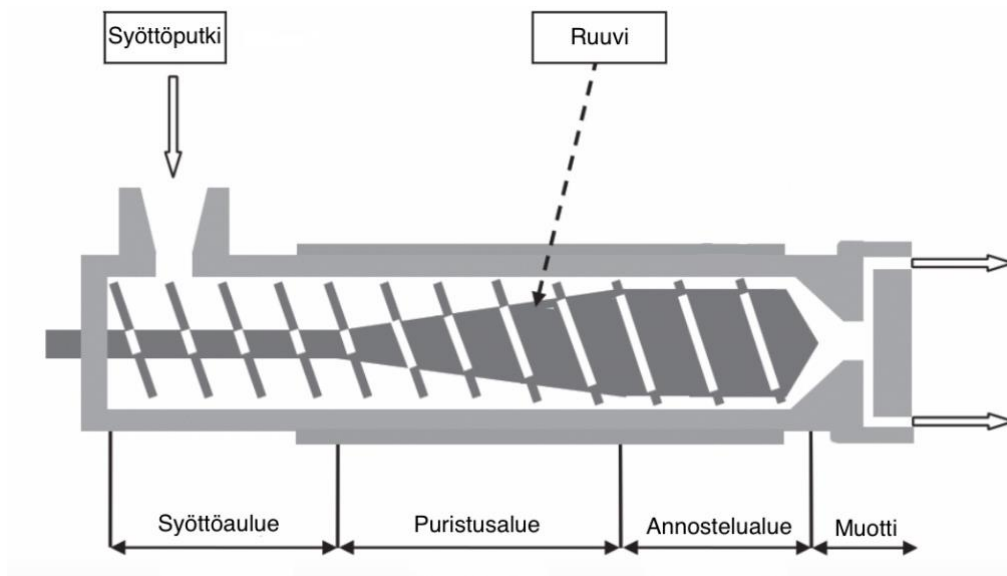
4.1.5 Painekeittäminen

Tarkastelluissa tutkimuksissa painekeittäminen tapahtui pääasiassa pienillä kotitalouskäyttöön tarkoitetuilla painekeitimillä (Taulukko 1). Painekeittimissä lämpötila voi nousta yli sadan asteen, sillä korkeammassa paineessa energiaa vievää höyrystymistä pääsee tapahtumaan rajoitetusti, toisin kuin normaalissa keittämisessä. Yleinen painekeittämisen lämpötila on 121 °C (Khatab ym. 2009, Ma ym. 2017). Painekeittäminen paransi huomattavasti vähemmän IVPD:tä verrattuna normaaliin keittämiseen (Taulukko 1). Toisaalta Deolin ja Bainsin (2010) tutkimuksessa lehmäpavulla huomattiin hieman parempaa imeytymistä painekeittämisen jälkeen verrattuna normaaliin keittämiseen. Painekeittämisellä saadaan tehostettua imeytymistä paljon nopeammin normaaliin keittämiseen verrattuna.

4.1.6 Ekstruusio

Ekstruusiossa laitteen ruuvi murskaa ja paineistaa tuotteen, minkä lisäksi tuotetta lämmitetään (Ainworth 2011). Kuvassa 2 on esitetty yksinkertaisen yksiruuvisen ekstruusiolaitteen poikkileikkaus. Menetelmää voidaan käyttää kasviproteiininlähteiden, kuten papujen, auringonkukansiementen ja viljaproteiinin, prosessointiin. Prosessiin syötetty lämpö voi muuttaa tuotteen olomuotoa nestemäiseksi tai höyrystää nesteitä. Suuttimen muotoa muuttamalla voidaan tuottaa halutun muotoista elintarviketta. Kun voimakkaasti paineistettu tuote puristuu suuttimen kautta normaaliin ilmanpaineeseen, tuote puffautuu eli laajenee nopean paineen alenemisen seurauksena.

Ekstruusioon on huomattu vähentävän merkittävästi fytaatteja, tanniineja ja polyfenoleita linsseistä, mitä voidaan pitää yhtenä imeytymistä tehostavana tekijänä (Rathod ja Annapure 2016). Antiravinteita väheni huomattavasti enemmän sen mukaisesti, mitä enemmän tuotteessa oli kosteutta ja mitä korkeammassa lämpötilassa ekstruusio tapahtui. Antiravinteita inaktivoivia tekijöitä olivat mahdollisesti peptidisidosten hydrolyysi, sekä kovalenttisten sidosten ja rikkisidosten katkeaminen. Proteiinien imeytymisellä oli selvä korrelaatio kosteuspitoisuuden, lämpötilan ja tuhoutuneiden antiravinteiden kanssa.



Kuva 2. Piirroskuva yksiruuvisesta ekstruusiolaitteesta toiminta-alueittain muokattu (Bouvier ja Campanella 2014)

Ekstruusiossa esimerkiksi soijaproteiini käsitellään emäksillä ja lämmöllä siten, että saadaan kuitupitoinen tuote mahdollisimman lihan kaltaiseksi (Csapó ym. 2009). Tämän seurauksena tuotteen aminohappoja voi merkittävässä määrin ristosilloittua ja rasemoitua, mikä heikentää käytettävyyttä. Alhainen kosteuspitoisuus, korkea lämpötila ja/tai paine voi johtaa Maillard-reaktiotuotteiden muodostumiseen, mikä vähentää imeytymistä (Wang ym. 2008b). Maillard-reaktion oli huomattu vaikuttavan ekstruusiossa merkittävästi vasta 180 °C korkeammissa lämpötiloissa, sillä 156–180 °C lämpötilalla ja matalalla kosteuspitoisuudella saatiin hyvä imeytyvyys (Wang ym. 2008b, Rathod ja Annapure 2016). Vehnällä tehdyssä tutkimuksessa huomattiin ekstruusion vähentävän proteiinin imeytymistä merkitsevästi 55–85 °C lämpötiloissa, minkä epäiltiin johtuvan Maillard-reaktiosta tai proteiinien kasautumisesta (Zhu ym. 2017). Kyseisessä tutkimuksessa ruuvien nopeudella ei ollut merkitsevää eroa IVPD:en.

Pellavansiemenillä (Wang ym. 2008b) ja maissilla (Ilo ym. 1996) tehdyissä tutkimuksissa tarkasteltiin kosteuspitoisuuden, lämpötilan, syöttönopeuden ja syöttöruuvien nopeuden vaikutuksia IVPD:en. Kosteuspitoisuudella huomattiin negatiivinen korrelaatio IVPD:een, minkä epäiltiin johtuvan veden kyvystä vähentää viskositeettia (Wang ym. 2008b). Tulokset olivat ristiriidassa soijalla tehdyn tutkimuksen tulosten kanssa (Taulukko 2). IVPD:n voitiin olettaa olleen tehokkainta, mikäli kummatkin, sekä syöttötahti ja syöttöruuvien vauhti, olivat nopeita tai hitaita. Kuitenkin alhaisella kosteuspitoisuudella päästiin parhaaseen tulokseen nopealla syöttötahdilla. Syöttöruuvien nopeudella 170 kierrosta minuutissa 132 °C lämpötilassa paras IVPD saavutettiin 4 % kosteuspitoisuudella ja 113,4 kg/h syöttötahdilla.

Taulukko 2. Ekstruusion jälkeinen proteiinin *in vitro* imeytyminen (IVPD, %) ja suluisissa prosessoimien aiheuttama IVPD:n muutos suhteessa käsittelemättömään proteiinin lähteeseen (%).

Lämpötila	Kosteus	Linssi ¹	Härkäpapu ²	Herne ²	Kikherne ²	Tarhapapu ²	Vehnäjauho
85	30						87,8 (-5,9)³
	30						89,9 (-3,7) ⁴
140	14	70,6 (+79,3)					
	18	73,1 (+85,5)	78,4 (+4,0)	77,6 (+4,2)	78,2 (+5,7)	76,8 (+8,8)	
	22	75,4 (+91,4)	78,2 (+3,7)	76,2 (+2,3)	77,5 (+4,7)	78,7 (+11,5)	
160	14	78,3 (+98,8)					
	18	80,2 (+103,7)					
	22	81,1 (+105,8)					
180	14	86,2 (+118,9)					
	18	87,1 (+121,2)	78,4 (+4,0)	77,3 (+3,8)	79,4 (+7,3)	77,3 (+9,5)	
	22	88,6 (+125,0)	78,6 (+4,3)	75,6 (+1,5)	80,2 (+8,3)	76,4 (+8,2)	
Käsittelemätön		39,4	75,4	74,5	74,00	70,6	93,4

¹(Rathod ja Annapure 2016) ²(El-Hady ja Habiba 2003) ³(Zhu ym. 2017) ruuvin nopeus 350 rpm ⁴(Zhu ym. 2017) ruuvin nopeus 200 rpm, merkittävin tulos lihavoitu

Ekstruusio vaikuttaa olevan hyvä prosessi antiravinnepitoisten palkokasvien IVPD:n parantamisessa, sillä se inaktivoi antiravinteita tehokkaasti. Olosuhteista riippuen myös imeytymistä vähentäviä reaktioita voi muodostua merkittävässä määrin, minkä vuoksi ekstruusion olosuhteet (lämpötila, kosteus, ruuvin ja syötön nopeus) tulisi määrittää jokaiselle eri tuotteelle erikseen parhaan mahdollisen imeytyvyyden saavuttamiseksi.

4.2 Fermentointi

Fermentointia käytetään parantamaan tuotteiden ravitsemuksellista arvoa, aistinvaraista laatua ja säilyvyyttä (Saxena 2011). Fermentointitekniikat luokitellaan pääasiassa nesteessä ja pintaviljelynä tapahtuviin reaktioihin, sekä edelleen hapen läsnäolon ja jatkuvuuden mukaan. Fermentointi lisäsi hirssin IVPD:tä 5,5–22 %, mahdollisesti fytaattien ja tanniinien runsaan inaktivoitumisen seurauksena (Antony ym. 1996). Tutkimuksessa tarkasteltiin myös entsyymästä käsittelyä yhdistettynä fermentointiin. Punaisella tanniinipitoisella hirssillä entsyymikäsittely yhdistettynä fermentointiin paransi IVPD:stä runsaasti (Taulukko 3). Entsyymikontrollilla ja valkoisella hirssillä ei huomattu imeytymisen tehostumista. Tulosten epäiltiin johtuvan entsyymien kyvystä hajottaa kuituja, jotka sitovat tanniineja ja fytaatteja. Kuiduista vapautuneet antiravinteet ovat herkempiä prosessin antiravinteita hajottaville tekijöille, kuin kuituihin sitoutuneet tai solun sisällä sijaitsevat antiravinteet. Fenolisten yhdisteiden pitoisuudet vaikuttavat siemenen endogeeniseen mikrobiflooraan ja jauhon koostumukseen, jotka osittain määrittävät jauhon herkkyyden fermentoinnin aiheuttamille muutoksille.

Fermentoimalla voidaan valmistaa antiravinteita hajottavia entsyymejä, kuten fytaasia (Singh ja Satyanarayana 2011). Fytaasia voidaan valmistaa eri mikrobeissa, kuten bakteereissa, homeissa ja hiivoissa. Fytaasista saadaan erilaisia variaatioita eri mikrobilajikkeilla ja erilaisiin olosuhteisiin sopeutuneilla mikrobeilla. Useita mikrobeja on tutkittu, jotta löydettäisiin mahdollisimman hyvin markkinoiden tarpeita vastaava fytaasientsyymi. Kustannustehokkaalla entsyymillä voitaisiin muun muassa parantaa ravintoaineiden käytettävyyttä.

Palkokasveilla tehdyssä tutkimuksessa fermentointi paransi merkitsevästi IVPD:tä (Taulukko 3). Tulokset voivat kuitenkin selittyä osin myös liottamisella ja lämpökäsittelyllä, sillä Khattabin ym. (2009) tutkimuksessa 18–22 h liottaminen lisäsi IVPD:tä enemmän, kuin 24 tunnin vedessä fermentointi (Taulukko 3). Eri mikrobeilla on erilainen metabolia, minkä vuoksi toiset ovat parempia tehostamaan imeytyvyyttä kuin toiset. Khattabin ym. (2009) valitsema *Saccharomyces cerevisiae* -hiiva ei vaikuta olevan hyvä vaihtoehto proteiinin käytettävyyden kannalta. Antonyn ym. (1996) tutkimuksessa käytetyillä *Lactobacillus*-, *Leuconostoc*- ja *Pediococcus*-bakteereilla saavutettiin huomattava nousu hirssin IVPD:ssä, etenkin tanniinipitoista punaista hirssiä käytettäessä (Taulukko 3). Khattabin ryhmällä fermentointiaika oli puolet pienempi ja fermentointi tapahtui kokonaisilla siemenillä, jolloin mikrobeilla oli vähemmän toimintapinta-alaa verrattuna hienojakoisiin jauhoihin. Mikrobin toiminnasta muodostuvat D-aminohapot ovat imeytymistä heikentäviä tekijöitä, jotka todennäköisesti osittain heikentävät fermentoinnin hyötyjä käytettävyyden parantamisessa.

Taulukko 3. Muiden kuin kuumennusprosessien jälkeinen proteiinin *in vitro* imeytyminen (IVPD) prosenttiosuus (%) ja suluissa prosessoinnin aiheuttamat muutokset imeytymiseen verrattuna käsittelemättömään proteiinin lähteeseen (%).

	Fermentointi	Liottaminen	Liottaminen+ idättäminen	Nestepaine- prosessointi	Käsittele- mätön
K. lehmäpapu ¹	85,1 (+3,4)	87,5 (+6,3)			82,3
K. tarhapapu ¹	73,4 (+3,3)	76,0 (+6,3)			70,5
K. herne ¹	81,4 (+4,1)	83,7 (+7,7)			78,4
E. lehmäpapu ¹	84,3 (+3,6)	86,7 (+6,6)			81,6
E. tarhapapu ¹	80,9 (+3,8)	83,2 (+6,8)			78,0
E. herne ¹	82,9 (+3,5)	85,5 (+6,7)			80,1
Valkoinen hirssi ²	75,6 (+15,1)				65,7
Punainen hirssi ²	83,7 (+36,3)				61,4
Valkoinen hirssi ^{2*}	74,5 (+13,4)				65,7
Punainen hirssi ^{2*}	89,5 (+45,8)				61,4
Härkäpapu		76,0 (-0,8)			75,4
Herne ³		75,2 (+1,0)			74,5
Kikherne ³		74,8 (+1,1)			74,0
Tarhapapu ³		70,2 (-0,5)			70,6
Kaura ⁴			76,6		
Mungopapu ⁵		87,4 (+9,0)	89,1 (+11,1)		80,2
Vehnä ⁶			92,1 (-1,3)		93,4
Riisileipä ⁷			73,3 (+1,1)		72,5
Riisileipä ⁸			72,2 (-1,8)		72,5
Valkopapu ⁹				75,1 (+8,7)	69,1
Herne ⁹				85,8 (+4,3)	82,3

K = Kanadalainen, E = Egyptiläinen, prosessin merkittävin tulos lihavoitu

Fermentointi: ¹(Khattab ym. 2009) Siemeniä fermentoitiin 24 h vedessä, johon oli lisätty *Saccharomyces cerevisiae* -kuivahiivaa, minkä jälkeen hiiva inaktivoitiin pitämällä siemeniä 10 min 70 °C uunissa ²(Antony ym. 1996) Jauhoja fermentoitiin 48 h *Lactobacillus*, *Leuconostoc* ja *Pediococcus* bakteereilla *entsyymattainen käsittely sellulaasilla ja hemisellulaasilla

Liottaminen: ¹(Khattab ym. 2009) 18-22 h liottaminen huoneenlämmössä, kunnes siemenet eivät enää vastaanottaneet vettä. ³(El-Hady) 30°C 16 h, 50°C kuivatus 24 h ⁵(Mubarak 2005) 12 h liottaminen huoneenlämmössä

Liottaminen + idättäminen: ⁴(Tiwari ja Awasthi 2014) ⁵(Mubarak 2005) 12 h liottaminen huoneenlämmössä, 3 vrk idättäminen ja 12 h jäädyttäminen ⁶(Zhu ym. 2017) 6 h liottaminen, 48 h idättäminen ⁷(Cornejo ym. 2015) 24 h liottaminen, 12 h idättäminen, jauhaminen, taikinan valmistaminen ja paistaminen 175 °C 35 min ⁸(Cornejo ym. 2015) 24 h liottaminen, 48 h idättäminen, jauhaminen, taikinan valmistaminen ja paistaminen 175 °C 35 min

HHP = Nestepaine-prosessointi: (Linsberger-Martin)¹ herneiden käsittely 600 MPa 60 °C, paineistettu aika merkityksetön, valkopapujen käsittely 600 MPa, 60 °C, 60 min

4.3 Liottaminen ja idättäminen

Liottamisessa tuotteen sekaan lisätään vettä tietyksi ajaksi, minkä jälkeen vesi poistetaan tai sitä käytetään keitinvetenä (Annor ym. 2014). Käytetty vesi voi olla steriiliä vettä tai hanavettä. Liottamisvesi voi olla hieman lämmitettyä tai ympäristön lämpöistä. Palkokasvien liotuksessa on mahdollista käyttää 0,25–1 % suolavettä, joka pehmentää kuoriosan ja nopeuttaa kuumakypsennystä. Natriumbikarbonaattia käytetään ilmavaivoja aiheuttavien yhdisteiden

poistamiseksi. Liottamisajat vaihtelevat suuresti tutkimuksesta riippuen, mutta yleinen liotusaika on 24 h. Tuotteesta voi liueta veteen erilaisia vesiliukoisia molekyyliä, kuten aminohappoja ja entsyymejä.

Liotuksessa veteen liukenee yleensä enemmän muita yhdisteitä, kuin aminohappoja ja peptideitä, minkä seurauksena suhteellinen proteiinipitoisuus kasvaa (Wang ym. 2008a). Herneillä proteiinipitoisuuden kasvu oli 2,6–5,0 %. Proteiinin imeytymisen tehostumista on raportoitu useilla palkokasveilla (Annor ym. 2014). Yleensä liottaminen vähentää huomattavasti palkokasvien tanniini- ja fytiinihappopitoisuuksia. TIE-pitoisuuksiin liottamisella on kuitenkin vaihteleva vaikutus, mikä riippuu tarkasteltavasta proteiininlähteestä. Liottaminen lisäsi tarhaherneiden TIE-pitoisuutta 3,2–19,3 % (Wang ym. 2008a). Lupiineilla lyhyt liottaminen ei aiheuttanut merkitsevää muutosta, mutta usean vuorokauden kestävä liotus lisäsi TIE-pitoisuutta tilastollisesti merkitsevästi (Embaby 2010). Toisaalta lehmäpapujen TIE-pitoisuus oli vähentynyt 28 % (Roman, Bender, Morton 1987). Linsseillä fytiinihappopitoisuudet vähenivät 38 % (Martín-Cabrejas ym. 2009). Samassa tutkimuksessa havaittiin suora korrelaatio fytaasientsyymien aktivoitumisen ja fytiinihappojen vähenemisen välillä. Siemenen endogeeninen fytaasientsyymi aktivoituu liottaessa ja alkaa hajottaa fytaatteja ja siemenen sisältämiä ravintoaineita ja mineraaleja siemenen käyttöön. Fytiinihappojen vähenemistä on raportoitu muissakin tutkimuksissa (El-Hady ja Habiba 2003). Fytaasientsyymien aktivoituminen liottaessa riippuu palkokasvista, sillä joissain tutkimuksissa liottamisella ei ole huomattu olevan fytiinihappoa vähentävää vaikutusta (Embaby 2010).

Liottamista voi seurata idättäminen, jolloin liotetut siemenet asetetaan kostealle alustalle yleensä noin 48 tunniksi (Annor ym. 2014). Idättämisessä siemen aktivoituu lepotilasta, jolloin siemenen entsyymitoiminta ja proteiinisynteesi kiihtyvät (Jamdar ym. 2017). Siemenen endogeeniset proteaasit aktivoituvat ja alkavat hajottaa varastoproteiineja liukoisempaan muotoon. Tummasta riisistä valmistetuilla leivillä proteiinipitoisuus kasvoi 35,0 prosenttia 12 tunnin idättämisaikalla, joka havaittiin kyseisessä tutkimuksessa proteiinipitoisuuden kannalta parhaaksi (Cornejo ym. 2015). Myös 12 tunnin idättämisaikalla oli merkitsevä IVPD:n paraneminen, mutta pidempi idättämisaika sen sijaan aiheutti merkitsevän laskun IVPD:ssä. Pidemmän idätysajan aiheuttaman IVPD:n vähenemisen epäiltiin johtuvan suuremmista lysiinin ja muiden Maillard-reaktiossa toimivien aminohappojen pitoisuuksista idätetyissä jauhoissa.

Viljatuotteiden idättämistä kutsutaan mallastamiseksi (Malleshi ja Desikachar 1986). Mallastetuista kauranjyvistä valmistetulla jauholla huomattiin olevan merkittävästi parempi IVPD verrattuna samassa tutkimuksessa tarkasteltuun paahdettuun kaurajauhoon (Taulukot 1 ja 3). Tutkimuksessa mallastaminen tehtiin 25 °C, minkä jälkeen itäneitä siemeniä kuivattiin 45 °C. Tiedot mallastamisen kestosta olivat puutteelliset. Kokonaisproteiinipitoisuus voi mahdollisesti vähentyä hieman pienten vesiliukoisten peptidien liuetessa jyvää ympäröivään veteen. Itämisen seurauksena kasvava juuri poistetaan ja sen mukana poistuu proteiinia.

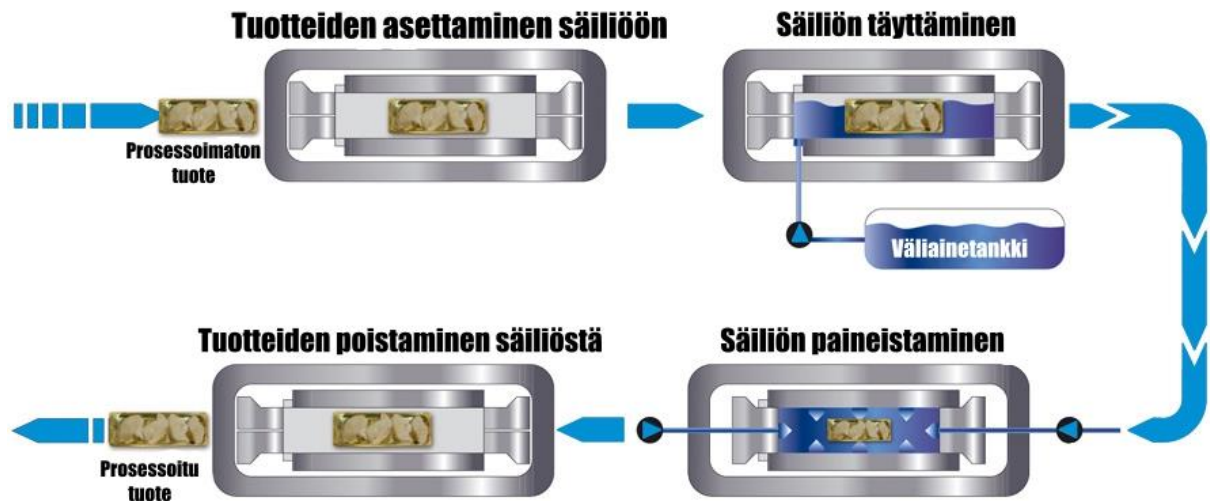
4.4 Kuoriminen

Kuorimisessa siemenestä tai jyvästä poistetaan kuoriosaa. Kuoriosaa on proteiinipitoisuudeltaan köyhä, minkä vuoksi kuoren poistaminen lisää kasvin suhteellista proteiinipitoisuutta (Wang ym. 2008a), mutta kuitenkin vähentää kokonaisproteiinipitoisuutta (Ma ym. 2017). Keltaherneiden proteiinipitoisuuden kasvu oli kuorimisen jälkeen 5,4–10,4 % (Wang ym. 2008a). Kuori sisälsi herneillä runsaasti TIE:ä (Wang ym. 2008a) ja pavuilla tanniineja (Annor ym. 2014). Kuoriminen vähensi kuuden eri hernelajikkeen TIE-pitoisuuksia 5,3–13,1 %. Herneillä kuoriminen lisäsi fytinihappopitoisuuksia 13,9–16,2 % ja TIE-pitoisuuksia 17,2–23 %, mikä tarkoittaa, että kyseiset antiravinteet sijaitsivat siemenen sisäosissa (Embaby 2010). Useissa muissa tutkimuksissa eri proteiininlähteillä oli huomattu samankaltaisia tuloksia. Mungopavuilla IVPD parani 5,1 % 12 tunnin liottamisen ja kuorimisen jälkeen, mutta pelkällä 12 tunnin liottamisella IVPD parani 9,0 %, eli huomattavasti enemmän (Mubarak 2005). Mungopavuilla kuoriminen heikensi proteiinin käytettävyyttä.

4.5 Nestepaineprosessointi

Nestepaineprosessoinnissa (High hydrostatic pressure, HHP) koko tuotteeseen kohdistuu yhtä suuri, korkea paine, joka tappaa bakteereja, sekä inaktivoi entsyymejä ja antiravinteita (Pattersson ym. 2011). Tuote ei tarvitse kuumakäsittelyä, joka usein muuttaa tuotteen aistinvaraisia ominaisuuksia tuoreesta prosessoidummaksi. HHP:a voidaan toteuttaa osittain jatkuvalla prosessilla tai panosprosessilla, joista jälkimmäinen on yleisemmin teollisuudessa käytetty menetelmä (Hogan ym. 2005). Panosprosessissa tuote asetetaan korkeapainekammioon, minkä jälkeen kammio täytetään nesteellä. Väliaine on usein vettä, mutta myös öljyä ja alkoholeja on käytetty. Kammion paine saadaan aikaiseksi väliainetta pumppaamalla tai pienentämällä kammion tilavuutta esimerkiksi männällä. Kun haluttu paine on saavutettu, pumppu tai mäntä pysäytetään. Painetta ylläpidetään tarvittava aika, minkä

jälkeen paine poistetaan. Prosessissa tuotteet ovat yleensä lopullisessa pakkauksessaan, jolloin kontaminaatioita ei pääse tapahtumaan ennen kuin kuluttaja avaa pakkauksen. Panosprosessia havainnollistetaan kuvassa 3. Puolijatkuva prosessi sopii nestemäisille tuotteille, jotka voidaan pumpata laitteen sisään (Hogan ym. 2005). Laitteessa tuotteen ja väliaineen erottaa vapaa mäntä. Väliaine paineistetaan, jolloin vapaa mäntä puristaa tuotteen haluttuun paineeseen. Paineikäsitellyn jälkeen tuote pumpataan steriloituihin pakkauksiin.



Kuva 3. Nestepaineprosessoinnin toiminta muokattu (Gaz Khodro Sepehr 2018)

Nestepaineprosesseissa lopputulokseen vaikuttaa käytetty paine, lämpötila ja painekäsittelyn kesto (Hogan ym. 2005). Tuote altistetaan yleensä 50–1000 MPa paineelle. Prosessi on energiatehokas, sillä paineen ylläpitäminen ei vaadi energiaa. HHP:n lämpötila on usein sama kuin ympäristön lämpötila. Tuotetta voidaan lämmittää yli 45–50 °C, mikäli tavoitellaan tehokkaampaa mikrobien ja antivinteiden inaktivoitumista (Linsberger-Martin ym. 2013). Adiabaattisesta kompressiosta aiheutuva lämpötilan nousu voi olla $> 3 \text{ }^{\circ}\text{C}/100 \text{ MPa}$, riippuen tuotteen koostumuksesta. Adiabaattisella kompressiolla tarkoitetaan tilannetta, jossa lämpöä ei siirry systeemiin tai pois systeemistä, vaan lämpötilan nousu johtuu mekaanisesta työstä.

Nestepaineprosessoinnin vaikutuksia kasviproteiinien imeytymiseen on tutkittu vielä huomattavasti vähemmän verrattuna perinteisiin prosesseihin. Soijaproteiinin IVPD:n huomattiin paranevan merkitsevästi 500–600 MPa paineessa 10–30 minuutin paineistusajalla (Su ym. 2010). Menetelmä erosi muiden tutkimusten menetelmistä, joten tuloksia ei voida suoraan verrata toisiin tutkimuksiin. Herneillä ja valkopavuilla tehdyssä tutkimuksessa

havaittiin merkittävää IVPD:n tehostumista korkeimmilla tutkituilla paineilla ja lämpötiloilla (Taulukko 3). Pienemmillä paineilla, lämpötiloilla tai paineistusajoilla ei valkopavuilla kuitenkaan huomattu lainkaan parempaa imeytymistä. IVPD:n tehostumista perusteltiin proteiinien rakenteiden avautumisella paineessa, jolloin ne ovat paremmin proteolyyttisten entsyymien saatavilla. Lisäksi antiravinteiden inaktivointi vaikuttaa imeytyvyyden tehostumiseen.

Leipäjauhoilla tehdyssä tutkimuksessa huomattiin merkitsevä IVPD:n väheneminen vehnä- ja kaurasekoitelevillä, kun jauhoja oli käsitelty HHP:llä (Angioloni ja Collar 2012). Paineessoiduista jauhoista valmistetulla vehnälevillä oli kolme prosenttiyksikköä heikompi IVPD ja kauraleivillä neljä prosenttiyksikköä pienempi IVPD verrattuna paineessoimattomista jauhoista valmistettuun leipään. Hirssi- ja durraleivillä ei havaittu merkitsevää eroa. Pienen IVPD:n vähenemisen epäillään johtuvan korkeassa paineessa muodostuvista yhteenliittymistä ja/tai rikkisidoksista proteiinien tai aminohappojen välillä.

5. POHDINTA

Tämän kandidaatin tutkielman tavoitteena oli etsiä, koota ja vertailla tutkimustietoa eri prosessien vaikutuksista kasviproteiinien käytettävyyteen. Tarkastellut prosessit valikoituivat saatavilla olevan tutkimustiedon mukaisesti. Kasviproteiininlähteistä keskityttiin erityisesti palkokasveihin.

Pääsääntöisesti prosessointi vaikutti parantavan kasviproteiinin käytettävyyttä. Poikkeuksia olivat mikronisaatio ja paahtaminen, mitä Khattab ym. (2009) selittivät Maillard-reaktiolla ja aminohappojen ristosilloittumisella. Mikronisaatiossa lämpötilat olivat melko alhaisia, huomioiden sen, että Maillard-reaktio tarvitsee yleensä korkean lämpötilan (Taulukko 1). Viljatuotteilla idättämisen vaikutuksia tarkastelevissa tutkimuksissa havaittiin IVPD:n alenemaa myös leipäaikinaa paahtaessa (Cornejo ym. 2015) ja ekstruusiossa (Zhu ym. 2017). Ekstruusiossa Maillard-reaktiota on huomattu tapahtuvan palkokasveilla huomattavasti vasta yli 180 °C lämpötiloissa (Wang ym. 2008). Vehnällä tehdyssä tutkimuksessa huomattiin IVPD:n vähenemistä jo alle 100 °C lämpötiloissa, minkä perusteltiin johtuvan Maillard-reaktiosta (Zhu ym. 2017). Vilja vaikuttaisi olevan erityisen herkkä Maillard-reaktiolle. Maillard-reaktiotuotteiden muodostumiseen vaikuttavat muutkin tekijät kuin pelkkä lämpötila, kuitenkin alle 100 °C:ssa Maillard-reaktion vaikutusten pitäisi palkokasveilla jäädä vähäisiksi

(Taulukko 1). Toisaalta veden läsnäololla on vaikutuksia Maillard-reaktion aktiivisuuteen (Fayle ja Gerrard 2002), joten vaikuttaisi siltä, että kuiva-kuumakäsittelyissä Maillard-reaktiota voisi tapahtua huomattavasti alhaisemmissa lämpötiloissa.

Tähän kandidaatin tutkielmaan kerätyn tutkimustiedon perusteella vedessä tapahtuvat kuumennusprosessit näyttävät selkeästi parhailta proteiinin käytettävyyden kannalta. Veden kiehumispiste on noin 100 °C, mikä tarkoittaa, että kyseisessä lämpötilassa vesi höyrystyy ja tarvitsee höyrystymiseen energiaa. Niin kauan kuin tuote on vedessä, siihen tuotu lämpö ei nosta itse tuotteen lämpötilaa veden kiehumispistettä korkeampaan lämpötilaan, koska energia kuluu veden höyrystämiseen. Huomattavaan Maillard-reaktioon tarvitaan yleensä veden kiehumispistettä korkeampia lämpötiloja. Tämän vuoksi vedessä tapahtuvilla kuumennusprosesseilla IVPD:tä vähentävät vaikutukset jäävät hyvin vähäisiksi. Tässä tutkielmassa ei tarkasteltu höyryttämistä, mutta näiden tulosten perusteella vesihöyryllä kypsentaaminen voisi olla keittämistäkin parempi tai yhtä hyvä prosessi proteiinin käytettävyyden kannalta. Keittäessä keitinveteen voi liueta kasvista riippuen pieniä peptidejä ja aminohappoja, mutta myös antiravinteita. Liukenemisen nettovaikutus voi kasviproteiinin lähteestä riippuen jäädä positiiviseksi tai negatiiviseksi proteiinin käytettävyyden kannalta.

Toisinaan eri prosessien yhdistäminen on IVPD:n kannalta hyödyllistä, kuten Antonyn ym. (1996) tutkimuksessa, jossa entsyymaattinen käsittely yhdistettiin fermentointiin ja näin saatiin huomattavasti parempi käytettävyys. Kummatkin prosessit voivat vaikuttaa erikseen tai ensimmäinen prosessi voi tehostaa toista, kuten kyseisessä tutkimuksessa epäiltiin tapahtuneen. Toisinaan prosessien yhdistäminen voi olla IVPD:n kannalta haitallista. Tämä huomattiin viljatuotteilla, kun idättäminen yhdistettiin paistamiseen (Cornejo ym. 2015) tai ekstruusioon (Zhu ym. 2017). Idättäminen lisäsi Maillard-reaktion tarvitsemia aminohappoja, jolloin aminohappoja muuttui kuumakäsittelyssä imeytymättömään muotoon enemmän verrattuna idättämättömään jauhoon (Cornejo ym. 2015). Idättäminen lisäsi myös siemenen sokeripitoisuutta (Zhu ym. 2017), jolloin Maillard-reaktiolla oli enemmän sokereita reagoimaan aminohappojen kanssa. Idättäminen yhdistettynä kuumakäsittelyyn vedessä, voisi parantaa IVPD:tä, sillä paremmin saatavilla olevat aminohapot ja sokerit eivät todennäköisesti reagoisi yhtä voimakkaasti keskenään.

Harva tutkimus otti kantaa aminohappojen rasemoitumisen vaikutuksiin, vaan IVPD:tä vähentäviä vaikutuksia selitettiin lähes yksinomaan Maillard-reaktiolla tai aminohappojen ristosilloittumisella. Aminohappojen rasemoitumista tapahtuu kuumakäsittelyissä,

emäskäsittelyissä ja mikrobien metaboliatuotteena (Csapó ym. 2009). Valtaosa käytetyistä elintarvikeprosesseista sisältää jonkun edellä mainituista käsittelyistä, joten rasemoituminen vaikuttaisi olevan merkittävä tekijä proteiinin käytettävyyden kannalta. Proteiinin käytettävyyden väheneminen on tuskin merkittävä tekijä Suomessa, sillä runsaan proteiinin saannin takia menetetyille aminohapoille ja peptideille löytyy korvaajia. Huonosti koostetussa vegaaniruokavaliossa helpoiten rasemoituvien ja ristiliitoksia muodostavien välttämättömien aminohappojen, kuten treoniinin, metioniinin ja lysiinin, tarpeellinen saanti saattaa vaarantua, kun vähäiset aminohapot ovat käyttämättömässä muodossa.

Tähän kandidaatin tutkielmaan valittiin käytettävyyden mittariksi IVPD, että tulokset olisivat mahdollisimman hyvin vertailtavissa. Eri tutkijat ja tutkimusryhmät olivat kuitenkin saaneet hyvin erilaisia tuloksia samankaltaisilla prosesseilla ja samoilla kasvilajikkeilla (Khattab ym. 2009, Deol ja Bains 2010, Ma ym. 2017). Tutkijat ovat ottaneet IVPD-mittaavan menetelmän aiemmista tutkimuksista ja muokanneet menetelmää omaan tutkimukseensa. Tällainen menettelytapa tarkoittaa, että eri tutkijoiden määritykset eroavat huomattavasti toisistaan esimerkiksi käytettyjen entsyymien osalta (Egger ym. 2016). Eroavat määritykset ja tulokset kyseenalaistavat IVPD-menetelmien luotettavuuden ja tulosten vertailtavuuden. Esimerkiksi taulukossa 1 eri tutkijat ovat saaneet hyvin samankaltaisilla lajikkeilla noin 10 prosenttiyksikön eroavaisuuksia lehmäpavun ja herneiden IVPD:ssä. Paahtamisen ja mikronisaation tulokset eroavat huomattavasti tutkimusten välillä, sillä toisissa IVPD laski ja toisissa nousi.

IVPD:tä proteiinin käytettävyyden mittarina tulisi kehittää tai yhtenäistää siten, että tulokset olisivat keskenään paremmin vertailtavissa. Tähän ongelmaan on jo vastattu kehittämällä harmonoitu *in vitro* -malli INFOGEST-verkostossa (Egger ym. 2016). Tavoitteena on harmonoitu *in vitro* -menetelmä, joka olisi mahdollisimman helppo pystyttää ja jonka tulokset olisivat keskenään vertailtavissa. Samalla määritelmä pyritään kehittämään mahdollisimman hyvin todellista imeytyvyyttä mittaavaksi. Mikäli vastaisuudessa proteiinin käytettävyyden tutkimukset suoritettaisiin kyseisellä menetelmällä, tässä kandidaatin tutkielmassa todettu ongelma todennäköisesti poistuisi.

Käytettävyyttä tutkittaessa välttämättömien aminohappojen imeytyminen on tärkeä tieto, jota IVPD:en menetelmä ei kerro. Linsseillä on tutkittu ulosteesta eri aminohappojen todellista sulavuutta (*true fecal digestibility*) ja huomattu, että monen välttämättömän aminohapon imeytyvyys oli ollut huonompi verrattuna kokonaisproteiinin imeytyvyyteen (Gilani ym. 2012). Tämä tarkoittaisi, että kasviproteiinien käytettävyys on huonompi, mitä *in vitro* -kokeet antavat

ymmärtää. Käytettävyyden tarkemmassa tarkastelussa tulisi mahdollisesti määrittää jokaisen aminohapon imeytyminen erikseen, esimerkiksi välttämättömien aminohappojen käytettävyyden menetelmällä (Digestible Indispensable Amino Acid Score, DIAAS) (Nosworthy ym. 2018). Kyseinen menetelmä on kuitenkin vaikeammin vertailtavissa ja ymmärrettävissä verrattuna IVPD:een.

Prosessoinnin jälkeiset menetelmät voivat aiheuttaa eroja IVPD:een, sillä tuotteet täytyy kuivata ja jauhaa, että tarvittavat määritykset voidaan suorittaa. Joissain tutkimuksissa käytetään normaalia lämminilma-kuivaamista ja toisissa kylmäkuivaamista, jotka voivat mahdollisesti vaikuttaa eri tavoin proteiinin käytettävyyteen. Palkokasveja yleensä liotetaan ennen pääasiallista prosessointia, jolloin eri liotusajat ja veden vaihtaminen ennen pääasiallista prosessointia voivat aiheuttaa tuloksiin eroja. Yksittäisissä prosesseissa voi olla myös prosessille tyypillisiä menettelytapoja, joita eri tutkimuksissa toteutetaan eri tavoin. Esimerkiksi idättämisessä siemenet voidaan steriloida alkoholilla (Mubarak 2005) tai hypokloriitilla (Cornejo ym. 2015) tai siementen sterilointi voidaan jättää kokonaan suorittamatta (Zhu ym. 2017).

Muita mahdollisesti nousevia elintarvikeprosesseja, jotka eivät vaadi kuumakäsittelyä, ovat valoimpulssi (*pulsed light*), kylmäplasmateknologia (*cold plasma technology*), ultrasonifikaatio (*ultrasonication*) ja pulssitettu sähkökenttä (*pulsed electric field*). Näistä menetelmistä ei kuitenkaan ole vielä saatavilla tarpeeksi proteiinien käytettävyyteen kantaa ottavia tutkimuksia. Edellä mainituista prosesseista olisikin hyvä saada lisää tutkimustietoa.

6. JOHTOPÄÄTÖKSET

Kasviproteiineilla IVPD:tä lisääviä tekijöitä ovat antiravinteiden inaktivaatio, solurakenteen hajoaminen, kolmiulotteisten proteiinirakenteiden hajoaminen, proteiinien pinnan hydrofobisuus ja endogeenisten, antiravinteita tai proteiineja hajottavien, entsyymien aktivoituminen. IVPD:tä laskevia tekijöitä taas ovat Maillard-reaktio, aminohappojen ristosilloittuminen, aminohappojen rasemoituminen ja endogeenisten antiravinteita hajottavien entsyymien tuhoutuminen. Tarkastellun tutkimusnäytön pohjalta parhaita IVPD:tä parantavia prosesseja olivat kuumakäsittelyt vedessä, joista paras oli keittäminen.

LÄHTEET

Ainworth P. Extrusion. Kirjassa: Brennan JG, Grandison AS, Brennan JG, toim. Food Processing Handbook. Weinheim: John Wiley & Sons, Incorporated 2011, s. 429-454.

Angioloni A ja Collar C. Effects of pressure treatment of hydrated oat, finger millet and sorghum flours on the quality and nutritional properties of composite wheat breads. 2012;56:713-719.

Annor GA, Zhen M, Boye JI. Crops – Legumes. Kirjassa: Stephanie C, Stephanie J, Buddhi L, toim. Food Processing. John Wiley & Sons, Ltd: John Wiley & Sons, Ltd 2014, s. 305-337.

Antony U, Sripriya G, Chandra TS. Effect of Fermentation on the Primary Nutrients in Finger Millet (*Eleusine coracana*). J Agric Food Chem 1996;44:2616-2618.

Bouvier J, Campanella OH. Extrusion Processing Technology: Food and Non-Food Biomaterials. Hoboken: John Wiley & Sons, Incorporated 2014.

Cornejo F ym. Effects of germination on the nutritive value and bioactive compounds of brown rice breads. Food Chemistry 2015;173:298-304.

Craig WJ. Health effects of vegan diets. The American Journal of Clinical Nutrition 2009;89:1633.

Csapó J, Albert C, Csapó-Kiss Z. The D-amino acid content of foodstuffs (A Review). Acta Universitatis Sapientiae - Alimentaria 2009;2:5-30.

Das S, Mukhopadhyay A, Datta S, Basu D. Prospects of microwave processing: An overview. Bull Mater Sci 2009;32:1-13.

Deepa C, Hebbar HU. Micronization of maize flour: Process optimization and product quality. Journal of Cereal Science 2014;60:569-575.

Deol JK, Bains K. Effect of household cooking methods on nutritional and antinutritional factors in green cowpea (*Vigna unguiculata*) pods. Journal of Food Science and Technology 2010;47:579-581.

Egger L, ym. The harmonized INFOGEST in vitro digestion method: From knowledge to action. Food Research International 2016;88:217-225.

El-Hady AEA ja Habiba RA. Effect of soaking and extrusion conditions on antinutrients and protein digestibility of legume seeds. LWT - Food Science and Technology 2003;36:285-293.

Embaby HE. Effect of soaking, dehulling, and cooking methods on certain antinutrients and in vitro protein digestibility of bitter and sweet lupin seeds. Food Science and Biotechnology 2010;19:1055-1062.

Fayle SE, Gerrard JA. The Maillard Reaction. Cambridge: Royal Society of Chemistry 2002.
Friedman M. Nutritional Value of Proteins from Different Food Sources (A Review). Journal of Agricultural and Food Chemistry 1996;44:6-29.

Gaz Khodro Sepehr. Food High Pressure Processing (HPP). <http://en.gazkhodro.ir/food-high-pressure-processing-hpp> (lueettu 24.4.2018)

Gilani SG, Xiao CW, Cockell KA. Impact of Antinutritional Factors in Food Proteins on the Digestibility of Protein and the Bioavailability of Amino Acids and on Protein Quality. *The British Journal of Nutrition* 2012;108:315-332.

Glick-Bauer M, Yeh M. The Health Advantage of a Vegan Diet: Exploring the Gut Microbiota Connection. *Nutrients* 2014;6:4822-4838.

Hellwig M, Bunzel D, Huch M, Franz, Charles MAP, Kulling SE, Henle T. Stability of Individual Maillard Reaction Products in the Presence of the Human Colonic Microbiota. *JAFAC* 2015;63:6723-6730.

Hogan E, Kelly AL, Sun D. 1 - High Pressure Processing of Foods: An Overview. Kirjassa: Sun D, toim. *Emerging Technologies for Food Processing*. London: Academic Press 2005, s. 3-32.

Ilo S, Tomschik U, Berghofer E, Mundigler N. The Effect of Extrusion Operating Conditions on the Apparent Viscosity and the Properties of Extrudates in Twin-Screw Extrusion Cooking of Maize Grits. *LWT - Food Science and Technology* 1996;29:593-598.

Jamdar SN, Deshpande R, Marathe SA. Effect of processing conditions and in vitro protein digestion on bioactive potentials of commonly consumed legumes. *Food Bioscience* 2017;20:1-11.

Khattab RY ja Arntfield SD: Nutritional quality of legume seeds as affected by some physical treatments 2. Antinutritional factors. *LWT - Food Science and Technology* 2009;42:1113-1118.

Khattab RY, Arntfield SD, Nyachoti CM. Nutritional quality of legume seeds as affected by some physical treatments, Part 1: Protein quality evaluation. *LWT - Food Science and Technology* 2009;42:1107-1112.

Lewis MJ, Jun S. *Thermal Processing*. Weinheim: John Wiley & Sons, Incorporated 2011.
Linsberger-Martin G, Weiglhofer K, Thi Phuong TP, Berghofer E. High hydrostatic pressure influences antinutritional factors and in vitro protein digestibility of split peas and whole white beans. *LWT - Food Science and Technology* 2013;51:331-336.

Ma Z, Boye JI, Hu X. In vitro digestibility, protein composition and techno-functional properties of Saskatchewan grown yellow field peas (*Pisum sativum* L.) as affected by processing. *Food Research International* 2017;92:64-78.

Malleshi NG, Desikachar HSR. Nutritive value of malted millet flours. *Plant Food Hum Nutr* 1986;36:191-196.

Martín-Cabrejas MA ym. The impact of dehydration process on antinutrients and protein digestibility of some legume flours. *Food Chemistry* 2009;114:1063-1068.

Mubarak AE. Nutritional composition and antinutritional factors of mung bean seeds (*Phaseolus aureus*) as affected by some home traditional processes. *Food Chemistry* 2005;89:489-495.

- Mutanen M, Voutilainen E. Ravitsemustiede. Kirjassa: Aro A, Mutanen M, Uusitupa M, toim. Ravitsemustiede. Helsinki: Duodecim 2012, s. 34-72.
- Nosworthy MG, Medina G, Franczyk AJ, Neufeld J, Appah P, Utioh A, Frohlich P, House JD. Effect of processing on the in vitro and in vivo protein quality of red and green lentils (*Lens culinaris*). *Food Chemistry* 2018;240:588-593.
- Patterson MF, Ledward DA, Leadley C, Rogers N. High Pressure Processing. Weinheim: John Wiley & Sons, Incorporated 2011.
- Rakić S, Petrović S, Kukić J, Jadranin M, Tešević V, Povrenović D, Šiler-Marinković S. Influence of thermal treatment on phenolic compounds and antioxidant properties of oak acorns from Serbia. *Food Chemistry* 2007;104:830-834.
- Rathod RP ja Annapure US: Effect of extrusion process on antinutritional factors and protein and starch digestibility of lentil splits. *LWT - Food Science and Technology* 2016;66:114-123.
- Repo-Carrasco-Valencia RAM, Encina CR, Binaghi MJ, Greco CB, Ronayne de Ferrer, Patricia A. Effects of roasting and boiling of quinoa, kiwicha and kañiwa on composition and availability of minerals in vitro. *J Sci Food Agric* 2010;90:2068-2073.
- Rizzo G, Baroni L. Soy, Soy Foods and Their Role in Vegetarian Diets. *Nutrients* 2018;10:1-51.
- Santé-Lhoutellier V, Astruc T, Marinova P, Greve E, Gatellier P. Effect of meat cooking on physicochemical state and in vitro digestibility of myofibrillar proteins. *Journal of agricultural and food chemistry* 2008;56:1488-1494.
- Saxena S. Fermentation Technology. Springer, New Delhi 2011.
- Singh B ja Satyanarayana T. Phytases from thermophilic molds: Their production, characteristics and multifarious applications. *Process Biochemistry* 2011;46:1391-1398.
- Solanki IS, Kapoor AC, Singh U. Nutritional parameters and yield evaluation of newly developed genotypes of lentil (*Lens culinaris* Medik.). *Plant Foods for Human Nutrition* 1999;54:79-87.
- Su D, Li S, Laurie HM, Zhao F, Zhang L, Zhao X, Liu W, Cao Y. Effects of high hydrostatic pressure on in vitro digestion of soy protein. *International Agricultural Engineering Journal* 2010;19:49-58.
- Tiwari N, Awasthi P. Effect of different processing techniques on nutritional characteristics of oat (*Avena sativa*) grains and formulated weaning mixes. *J Food Sci Technol* 2014;51:2256-2259.
- Wang N, Hatcher DW, Gawalko EJ. Effect of variety and processing on nutrients and certain anti-nutrients in field peas (*Pisum sativum*). *Food Chemistry* 2008a;111:132-138.
- Wang Y, Li D, Wang L, Chiu YL, Chen XD, Mao Z, Song C. Optimization of extrusion of flaxseeds for in vitro protein digestibility analysis using response surface methodology. *Journal of Food Engineering* 2008b;85:59-64.

Zhu L, Adedeji AA, Alavi S. Effect of Germination and Extrusion on Physicochemical Properties and Nutritional Qualities of Extrudates and Tortilla from Wheat. *Journal of Food Science* 2017;82:1867-1875.

Liite 1. Proteiininlähteiden fytiinihapon, tanniinien ja trypsiini-inhibiittoreiden väheneminen prosesseittain (%). Prosenttiluku kuvaa antinutrienttien määrää verrattuna alkuperäiseen, prosessoimattomaan raaka-aineeseen (100%) (Khattab ja Arntfield 2009).

		Kanadalainen lehmäpapu	Kanadalainen tarhapapu	Kanadalainen herne	Egyptiläinen lehmäpapu	Egyptiläinen tarhapapu	Egyptiläinen herne
Keittäminen	Fytiinihappo	55,8	56,2	57,7	57,9	54,7	55,2
	Tanniinit	72,2	87,5	68,5	99,3	94,6	89,4
	Trypsiini-inhibiittorit	100	100	100	100	100	100
Paahtaminen	Fytiinihappo	37,2	36,5	40,2	36	38,3	36,7
	Tanniinit	30,8	95,4	8,7	79	84,7	85,6
	TIE	100	100	100	100	100	100
Mikronisaatio	Fytiinihappo	33,5	31,9	37,6	33,5	31,9	33,5
	Tanniinit	7,3	67,7	6,4	71,7	82,5	88,6
	TIE	92,6	94	88,8	91,6	94,3	92
Mikroaaltouuni	Fytiinihappo	63,2	60,8	62,7	54	63,8	60,2
	Tanniinit	42,8	93,8	49,4	91,6	83,6	95,4
	TIE	100	100	100	100	100	100
Painekeittäminen	Fytiinihappo	65	68,3	67,7	69,4	67,5	70,2
	Tanniinit	62,8	95,6	70,9	95	91,7	89,5
	TIE	100	100	100	100	100	100
Fermentaatio	Fytiinihappo	66,9	66,9	68,9	66,8	67,5	66,9
	Tanniinit	22,4	79	50,1	84,2	92,7	95,7
	TIE	47,1	39,1	38	42,8	41,5	41
Liottaminen	Fytiinihappo	42,8	44	48,9	47,6	43,8	45,2
	Tanniinit	35	77,9	59	86,3	86,6	86,6
	TIE	10,2	18,2	13	19,4	19,9	17