

ΓΕΩΠΟΝΙΚΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΑΘΗΝΩΝ

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

**ΠΜΣ ΕΠΙΣΤΗΜΗ & ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑ ΤΡΟΦΙΜΩΝ & ΔΙΑΤΡΟΦΗ ΤΟΥ
ΑΝΘΡΩΠΟΥ**

ΚΑΤΕΥΘΥΝΣΗ: ΔΙΑΤΡΟΦΗ ΤΟΥ ΑΝΘΡΩΠΟΥ

**ΠΡΟΒΛΕΨΗ ΤΗΣ ΓΛΥΚΑΙΜΙΚΗΣ ΑΠΟΚΡΙΣΗΣ:
ΜΕΛΕΤΗ IN VITRO ΣΕ ΜΟΝΤΕΛΑ ΣΥΣΤΗΜΑΤΑ ΚΑΙ
ΣΕ ΤΡΟΦΙΜΑ**



ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΗ ΔΙΑΤΡΙΒΗ

ΑΔΕΛΑΪΣ Α. ΑΘΑΝΑΣΑΤΟΥ

**ΕΠΙΒΛΕΠΟΥΣΑ ΚΑΘΗΓΗΤΡΙΑ: ΚΑΨΟΚΕΦΑΛΟΥ ΜΑΡΙΑ ΑΝΑΠΛΗΡΩΤΡΙΑ
ΚΑΘΗΓΗΤΡΙΑ Γ.Π.Α**

Αθήνα, 2013

ΓΕΩΠΟΝΙΚΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΑΘΗΝΩΝ
ΤΜΗΜΑ ΕΠΙΣΤΗΜΗΣ & ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑΣ ΤΡΟΦΙΜΩΝ
ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟ ΧΗΜΕΙΑΣ ΚΑΙ ΑΝΑΛΥΣΗΣ ΤΡΟΦΙΜΩΝ ΜΟΝΑΔΑ ΔΙΑΤΡΟΦΗΣ
ΤΟΥ ΑΝΘΡΩΠΟΥ

ΠΜΣ ΕΠΙΣΤΗΜΗ & ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑ ΤΡΟΦΙΜΩΝ & ΔΙΑΤΡΟΦΗ ΤΟΥ
ΑΝΘΡΩΠΟΥ

ΚΑΤΕΥΘΥΝΣΗ: ΔΙΑΤΡΟΦΗ ΤΟΥ ΑΝΘΡΩΠΟΥ

**ΠΡΟΒΛΕΨΗ ΤΗΣ ΓΛΥΚΑΙΜΙΚΗΣ ΑΠΟΚΡΙΣΗΣ:
ΜΕΛΕΤΗ IN VITRO ΣΕ ΜΟΝΤΕΛΑ ΣΥΣΤΗΜΑΤΑ ΚΑΙ
ΣΕ ΤΡΟΦΙΜΑ**

ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΗ ΔΙΑΤΡΙΒΗ

ΑΔΕΛΑΪΣ Α. ΑΘΑΝΑΣΑΤΟΥ

Επιβλέπων

Καψοκεφάλου Μαρία, Αναπληρώτρια Καθηγήτρια Γ.Π.Α.

Μέλη

Ζαμπέλας Αντώνιος, Καθηγητής Γ.Π.Α.

Ευαγγελίου Βασιλική, Επίκουρη καθηγήτρια Γ.Π.Α.

Περίληψη

Ο σακχαρώδης διαβήτης αποτελεί εδώ και πολλά χρόνια αντικείμενο ενδιαφέροντος και μελέτης της επιστημονικής κοινότητας διότι εμφανίζεται σε ολοένα και περισσότερους ανθρώπους. Η κατανάλωση φυτικών ινών προκαλεί μειωμένη μεταγευματική απόκριση γλυκόζης και ινσουλίνης. Στην παρούσα μελέτη προτείνεται μια *in vitro* μεθοδολογία που προσομοιάζει τις φυσιολογικές συνθήκες πέψης των υδατανθράκων και για την πρόβλεψη της μεταγευματικής συγκέντρωσης της γλυκόζης. Η προτεινόμενη μεθοδολογία περιλαμβάνει 4 στάδια (στοματική κοιλότητα, στομάχι, μεταβατικό στάδιο ρύθμισης του pH και λεπτό έντερο) *in vitro* πέψης του τροφίμου ή μίγματος τροφίμων σε διαφορετικά pH, παρουσία ενζύμων και με τη χρήση μεμβράνης διάλυσης. Ο συνολικός χρόνος της *in vitro* πέψης είναι 4,5 ώρες. Χρησιμοποιήθηκε α-κυκλοδεξτρίνης σε αυξανόμενες δόσεις (0.01g, 0.025g και 0.05g α-κυκλοδεξτρίνης) σε δείγματα λευκού ψωμιού ώστε να μελετηθεί η απορρόφηση της γλυκόζης. Η προσθήκη 0.05g α-κυκλοδεξτρίνης στο λευκό ψωμί είχε ως αποτέλεσμα τη μείωση της απορρόφησης της γλυκόζης στα 90min ($p=0.046$) και στα 120min ($p=0.011$). Στη συνέχεια, επιλέχθηκαν δείγματα που υποβλήθηκαν σε *in vitro* πέψη από το διεθνή πίνακα τιμών για τον προσδιορισμό του γλυκαιμικού δείκτη και γλυκαιμικού φορτίου. Καλύτερη στατιστικά σημαντική συσχέτιση με το γλυκαιμικό δείκτη *in vivo* παρουσιάζει η απορρόφηση της γλυκόζης των δειγμάτων στα 120min (Spearman's $\rho=0,883$). Επίσης, η απορρόφηση της γλυκόζης στα 120min συσχετίστηκε με τις τιμές του γλυκαιμικού φορτίου δίνοντας πολύ καλά αποτελέσματα (Spearman's $\rho=0,953$).

Abstract

Diabetes mellitus is for several years object of interest and study of the scientific community because it's increased prevalence. Fiber consumption causes decreased postprandial glucose and insulin responses. The present study suggests an *in vitro* methodology that simulates the normal conditions of digestion for carbohydrates and predicts the postprandial glucose concentration. The suggested methodology involves 4 stages (oral cavity, stomach, a transitional phase adjustment pH and intestinal digestion) *in vitro* digestion for food or mix foods at different pH, presence of enzymes and using dialysis membrane. The total time of *in vitro* digestion is 4^{1/2} hours. The first step of this study was the addition α -cyclodextrin in increasing doses (0.01g, 0.025g and 0.05g α -cyclodextrin) in samples of white bread. The samples of white bread with 0.05g α -cyclodextrin resulted in decreased absorption of glucose at 90 min (p=0.011) and at 120min (p=0.046). Subsequently, samples were selected for *in vitro* digestion from the International table of Glycemic Index and Glycemic Load Values. Stronger statistically significant correlation with the Glycemic Index *in vivo* was observed with the absorption of glucose at t=120min (Spearman's rho=0,883). Moreover, the absorption of glucose at t=120min correlated with the values of glycemic load, giving very good results (Spearman's rho=0,953).

Ευχαριστίες

Οφείλω θερμές ευχαριστίες στην επιβλέπουσα καθηγήτριά μου, κ. Μαρία Καψοκεφάλου, Αναπληρώτρια Καθηγήτρια του Τμήματος Επιστήμης και Τεχνολογίας Τροφίμων του Γεωπονικού Πανεπιστημίου Αθηνών, που δέχθηκε την εποπτεία της μεταπτυχιακής μου μελέτης. Η ουσιαστική, διαρκής, επικοινωνιακή και ευχάριστη συνεργασία μας, καθώς και το κριτικό πνεύμα της κατάφεραν να αλλάξουν το δικό μου τρόπο σκέψης.

Θεωρώ υποχρέωσή μου να ευχαριστήσω θερμά τον κ. Ζαμπέλα Αντώνιο, Καθηγητή του Τμήματος Επιστήμης και Τεχνολογίας Τροφίμων του Γεωπονικού Πανεπιστημίου Αθηνών και την κ. Ευαγγελίου Βασιλική, Επίκουρη Καθηγήτρια του Τμήματος Επιστήμης και Τεχνολογίας Τροφίμων του Γεωπονικού Πανεπιστημίου Αθηνών, για τις εύστοχες παρατηρήσεις τους στην μεταπτυχιακή μελέτη και τη συμμετοχή τους στην τριμελή εξεταστική επιτροπή.

Ευχαριστώ ιδιαίτερα την κ. Κωνσταντίνα Αργύρη, Διδάκτωρ του Τμήματος Επιστήμης και Τεχνολογίας Τροφίμων του Γεωπονικού Πανεπιστημίου Αθηνών, για την ευχάριστη, επικοινωνιακή και εξαιρετική συνεργασία που είχαμε, η βοήθεια της οποίας ήταν καθοριστική στην περάτωση της παρούσας μελέτης. Ιδιαίτερα σημαντική ήταν η συμβολή της κ. Όλγας Μαλισόβα, Υποψήφιας Διδάκτορος του Τμήματος Επιστήμης και Τεχνολογίας Τροφίμων του Γεωπονικού Πανεπιστημίου Αθηνών, για τη συνεχή βοήθεια και τις επικοινωνιακές συμβουλές της σε όλη τη διάρκεια του πειράματος.

Κι επειδή θεωρώ ότι το ξεκίνημα αλλά και η ολοκλήρωση των Μεταπτυχιακών μου σπουδών δεν οφείλεται μονάχα σε μένα αλλά και στην οικογένεια μου, τους ευχαριστώ θερμά γιατί με στήριξαν, με ενίσχυσαν, μα πάνω απ' όλα με πίστεψαν.

Περιεχόμενα

Περίληψη.....	3
Abstract	4
Ευχαριστίες.....	5
Κεφάλαιο 1. Εισαγωγή	8
1.1.Γλυκαιμικός δείκτης	8
1.2 Γλυκαιμικό φορτίο.....	14
1.3Παράγοντες που επηρεάζουν την τιμή του ΓΔ και του ΓΦ	15
1.3.1. Φυσική μορφή του τροφίμου.....	15
1.3.2. Μεταβολή στις διάφορες κλάσεις τροφίμων.....	16
1.3.2.1. Τύπος του αμύλου που περιέχεται στο τρόφιμο.....	16
1.3.2.2. Επεξεργασία του αμυλούχου τροφίμου	19
1.3.2.3. Προετοιμασία του αμυλούχου τροφίμου.....	20
1.3.3 Σύσταση σε μακροθρεπτικά συστατικά	20
1.3.4. Περιεκτικότητα του τροφίμου σε φυτικές ίνες	22
1.3.4.1. Γενικά για τις ίνες.....	22
1.3.4.2. Μηχανισμοί δράσης των ινών	23
1.3.5. Περιεκτικότητα του τροφίμου σε σάκχαρα.....	25
1.3.6. Οξύτητα του τροφίμου	25
1.3.7 Ωριμότητα του τροφίμου	26
1.4. <i>In vitro</i> μέθοδοι μέτρησης της γλυκαιμικής απόκρισης	27
1.4.1 Περιγραφή <i>in vitro</i> μεθοδολογίας.....	30
1.4.1.1. Στοματική φάση	30
1.4.1.2. Γαστρική φάση	31
1.4.1.3.Εντερική φάση	32
1.4.2.Ανάγκη για τυποποίηση	35
1.4.3.Συσχέτιση <i>in vivo</i> – <i>in vitro</i>	37
1.5.Επιπολασμός του Σακχαρώδη διαβήτη	38
1.6. Διατροφικές Συστάσεις για το Σακχαρώδη Διαβήτη	39
1.7.Δεξτρίνες	40
1.8.Αντικείμενο Μελέτης και Στόχος.....	44
Κεφάλαιο 2. Υλικά και Μέθοδοι	45
2.1 Υλικά.....	45
2.2 Δείγματα.....	46

2.3 Πειραματικός σχεδιασμός.....	48
2.3.1. Γενικά.....	48
2.3.2. Προετοιμασία των δειγμάτων.....	50
2.3.3. Διαδικασία <i>in vitro</i> πέψης.....	50
2.4. Στατιστική Ανάλυση.....	53
Κεφάλαιο 3. Αποτελέσματα.....	54
3.1. Επίδραση της α-κυκλοδεξτρίνης στα επίπεδα γλυκόζης.....	54
3.2. Συσχέτιση των <i>in vitro</i> αποτελεσμάτων με το γλυκαιμικό φορτίο.....	56
3.3. Συσχέτιση <i>in vitro</i> αποτελεσμάτων με τον γλυκαιμικό δείκτη GI.....	57
Κεφάλαιο 4. Συζήτηση.....	60
Βιβλιογραφία.....	66

Κεφάλαιο 1. Εισαγωγή

1.1.Γλυκαιμικός δείκτης

Παλαιότερα, οι υδατάνθρακες χαρακτηρίζονταν ως απλοί ή σύνθετοι με την πεποίθηση ότι το μήκος της ανθρακικής αλυσίδας καθορίζει και επηρεάζει τις τιμές πέψης και απορρόφησης. Πολλά αμυλούχα τρόφιμα, ωστόσο, αυξάνουν τη γλυκόζη στο αίμα το ίδιο ή περισσότερο από αντίστοιχα ποσά επιτραπέζιας ζάχαρης. Η παρατήρηση αυτή οδήγησε τον David Jenkins και τους συνεργάτες του στο Πανεπιστήμιο του Τορόντο να προτείνουν την έννοια του Γλυκαιμικού Δείκτη (ΓΔ) το 1981, για να ποσοτικοποιήσουν τη γλυκαιμική απόκριση των υδατανθράκων σε διάφορα τρόφιμα (Ludwig, 2003, Ferrer-Mairal *et al*, 2011). Σε ένα τρόφιμο, που καταναλώνεται, που περιέχει υδατάνθρακες παρατηρείται μία αύξηση και στη συνέχεια επέρχεται μείωση στα επίπεδα γλυκόζης του αίματος. Το φαινόμενο αυτό είναι γνωστό ως γλυκαιμική αντίδραση. Η γλυκαιμική αντίδραση μετά την κατανάλωση τροφίμων που περιέχουν διαφορετικές ποσότητες υδατανθράκων μπορεί να συγκριθεί με τη γλυκαιμική αντίδραση μετά την κατανάλωση ενός πρότυπου τροφίμου (eufic, 2011).

Ο γλυκαιμικός δείκτης (GI) αποτελεί ένα τρόπο προσδιορισμού της επίδρασης των επιπέδων σακχάρων του αίματος μετά την κατανάλωση ενός τροφίμου και κατ' επέκταση μια ταξινόμηση των τροφίμων (eufic, 2011). Υπολογίζεται ως το πηλίκο της αύξησης των επιπέδων γλυκόζης στο αίμα δύο ώρες μετά την κατανάλωση γνωστής ποσότητας τροφίμου που εξετάζεται, προς την αύξηση των επιπέδων γλυκόζης στο αίμα δύο ώρες μετά την κατανάλωση ενός τροφίμου αναφοράς που περιέχει την ίδια ποσότητα υδατανθράκων. Ως τρόφιμα αναφοράς χρησιμοποιούνται είτε η γλυκόζη είτε το λευκό ψωμί (Bell *et al*, 2003, Goni, Garcia-Alonso & Saura-Calixto, 1997, Hu *et al*, 2004).

Ο γλυκαιμικός δείκτης ενός τροφίμου γενικά προσδιορίζεται με την αύξηση στα επίπεδα γλυκόζης του αίματος μετά την κατανάλωση ενός εξεταζόμενου τροφίμου για ένα συγκεκριμένο χρονικό διάστημα και συγκρίνεται με ένα γεύμα ελέγχου που περιέχει την ίδια ποσότητα γλυκόζης (συνήθως λευκό ψωμί ή γλυκόζη) και εκφράζεται ως ποσοστό επί τοις εκατό

Δηλαδή:

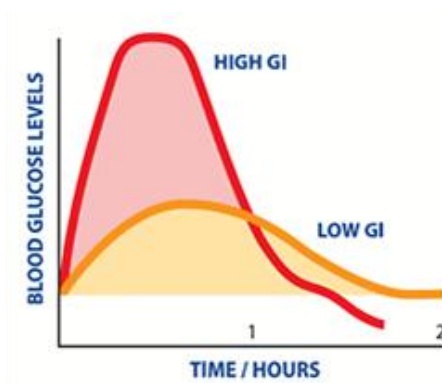
$$\text{Γλυκαιμικός δείκτης} = \frac{\text{Αύξηση των επιπέδων γλυκόζης του υπό εξέταση τροφίμου}}{\text{Αύξηση των επιπέδων γλυκόζης του τροφίμου αναφοράς}} * 100$$

Ο προσδιορισμός του γλυκαιμικού δείκτη ενός τροφίμου, πραγματοποιείται χορηγώντας σε 10 υγιείς ανθρώπους, μετά από ολονύκτια νηστεία, υπολογισμένες μερίδες του υπό εξέταση τροφίμου που περιέχουν 50g υδατανθράκων. Τα επίπεδα γλυκόζης του αίματος προσδιορίζονται λαμβάνοντας δείγματα αίματος σε χρονικά διαστήματα 15-30 λεπτών για τις επόμενες δύο-τρεις ώρες. Από τις μετρήσεις κατασκευάζεται μια καμπύλη απόκρισης σακχάρου στο αίμα για το χρονικό διάστημα των δύο ωρών. Στη συνέχεια, η διαδικασία

επαναλαμβάνεται για το τρόφιμο αναφοράς που περιέχει ίση ποσότητα διαθέσιμων υδατανθράκων, συνήθως 50g. Κατασκευάζεται πάλι η καμπύλη απόκρισης του σακχάρου στο αίμα, αυτή τη φορά για το εξεταζόμενο τρόφιμο, για το χρονικό διάστημα των δύο ωρών. Η περιοχή κάτω από την καμπύλη (AUC) αντικατοπτρίζει τη συνολική αύξηση των επιπέδων γλυκόζης στο αίμα. Ο γλυκαιμικός δείκτης (GI%) υπολογίζεται διαιρώντας το AUC του εξεταζόμενου τροφίμου με το AUC του τροφίμου αναφοράς και πολλαπλασιάζεται με το 100. Ο μέσος όρος του γλυκαιμικού δείκτη που υπολογίστηκε από τα δέκα άτομα δημοσιεύεται ως ο γλυκαιμικός δείκτης του τροφίμου (glycemicindex, 2011). Δηλαδή :

$$\text{Γλυκαιμικός δείκτης (\%)} = \frac{\text{Επιφάνεια κάτω από την καμπύλη του εξεταζόμενου τροφίμου}}{\text{Επιφάνεια κάτω από την καμπύλη του τροφίμου αναφοράς}} * 100$$

Ο γλυκαιμικός δείκτης για το τρόφιμο αναφοράς είναι εξ' ορισμού 100, ενώ ο γλυκαιμικός δείκτης για τα εξεταζόμενα τρόφιμα είναι ο λόγος της περιοχής κάτω από την καμπύλη προς το τρόφιμο αναφοράς 100. Η χρήση ενός προτύπου τροφίμου είναι ιδιαίτερα σημαντική για τη μείωση της σύγχυσης που προκαλείται από την επίδραση της διαφοράς στα φυσικά χαρακτηριστικά των ατόμων (glycemicindex, 2011).

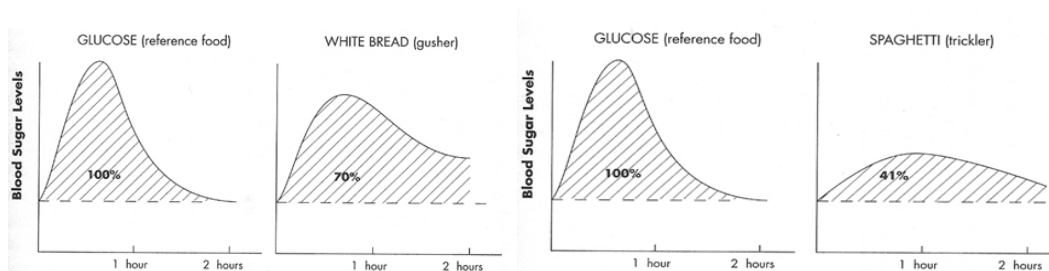


Εικόνα 1.1 Τυπικές καμπύλες γλυκόζης για τρόφιμα χαμηλού και υψηλού γλυκαιμικού δείκτη

Ουσιαστικά, ο ΓΔ αποτελεί ένα μέτρο που μας δείχνει πόσο πολύ και πόσο γρήγορα ένα συγκεκριμένο τρόφιμο ανεβάζει τα επίπεδα γλυκόζης του αίματος (Εικόνα 1.1.), επιτυγχάνοντας την ταξινόμηση του συνόλου των τροφίμων (Gagne, 2008, Gibson, Schonfeldt & Pretorius, 2011). Τα τρόφιμα ταξινομούνται ως χαμηλού, μεσαίου και υψηλού γλυκαιμικού δείκτη χρησιμοποιώντας τις εξής αναφορές γλυκόζης: χαμηλού GI =55 ή λιγότερο, μεσαίου GI= 56-69, υψηλού GI= 70 ή περισσότερο (glycemicindex,2011). Η κατάταξη αυτή για τις τιμές του γλυκαιμικού δείκτη έγινε έχοντας ως τρόφιμο αναφοράς το λευκό ψωμί (Schakel *et al*, 2008). Τρόφιμα υψηλού ΓΔ προκαλούν μια μεγαλύτερη περιοχή κάτω από την καμπύλη της γλυκόζης κατά τη μεταγευματική περίοδο όταν συγκρίνεται με

έναν ισοδύναμο υδατάνθρακα που περιέχεται σε ένα τρόφιμο χαμηλού ΓΔ (Ferrer-Mairal *et al*, 2011)

Μέχρι σήμερα, έχουν καθοριστεί περισσότερες από 2400 τιμές ΓΔ τροφίμων με εργαστηριακές αναλύσεις. Ωστόσο, η δημιουργία έγκυρων εκτιμήσεων του ΓΔ/ΓΦ είναι μια πρόκληση στη διατροφική επιδημιολογία. Οι ερευνητές αντλούν τις τιμές ΓΔ/ΓΦ από Διεθνείς Πίνακες και με τον τρόπο αυτό μπορούν να επιβάλλουν πολλές υποθέσεις (Lin *et al*, 2012). Τα τρόφιμα υψηλού γλυκαιμικού δείκτη περιέχουν υδατάνθρακες οι οποίοι πέπτονται γρήγορα, γεγονός που προκαλεί την ταχεία άνοδο και πτώση των επιπέδων γλυκόζης του αίματος. Αντίθετα, τα τρόφιμα χαμηλού γλυκαιμικού δείκτη περιέχουν υδατάνθρακες που πέπτονται αργά, οι οποίοι παράγουν μια βαθμιαία, σχετικά χαμηλή αύξηση των επιπέδων της γλυκόζης στο αίμα. Καμπύλες γλυκόζης τροφίμων, όπως το λευκό ψωμί, τα ζυμαρικά και η γλυκόζη (τρόφιμο αναφοράς) φαίνονται στην Εικόνα 1.2. Σε μελέτες της Σχολής Δημόσιας Υγείας του Harvard φαίνεται ότι ο κίνδυνος εμφάνισης ασθενειών όπως ο διαβήτης τύπου 2 και η στεφανιαία νόσος είναι στενά συνδεδεμένος με τον γλυκαιμικό δείκτη του καθημερινού διαιτολογίου. Το 1999, ο Παγκόσμιος Οργανισμός Υγείας (WHO) και ο Οργανισμός Τροφίμων και Γεωργίας (FAO) συνέστησαν οι άνθρωποι στις βιομηχανικές χώρες να βασίζονται τη διατροφή τους σε τρόφιμα χαμηλού γλυκαιμικού δείκτη, ώστε να αποτρέψουν την εμφάνιση των πιο κοινών ασθενειών του πλούτου, όπως η στεφανιαία νόσος, ο διαβήτης και η παχυσαρκία (glycemicindex, 2011).

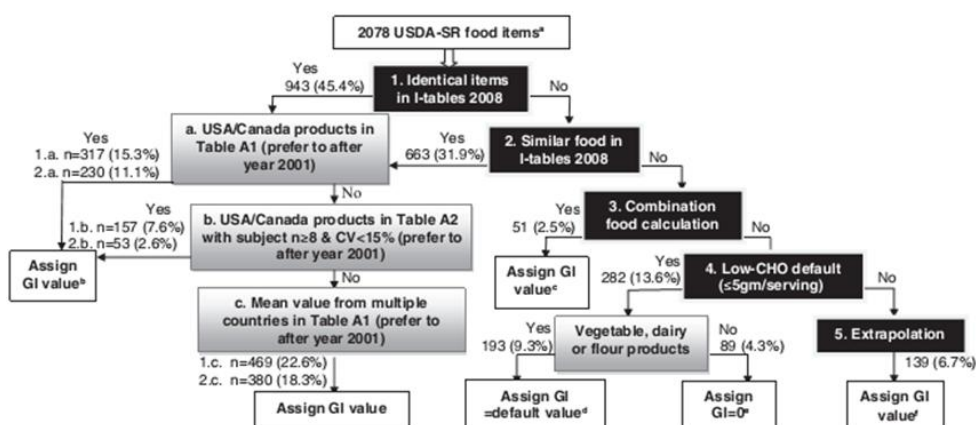


Εικόνα 1.2. Καμπύλες αύξησης των επιπέδων γλυκόζης του αίματος για τη γλυκόζη (τρόφιμο αναφοράς), το λευκό ψωμί και τα ζυμαρικά

Η μελέτη της επίδρασης ενός διαιτολογίου υψηλού ή χαμηλού γλυκαιμικού δείκτη σχετικά με τον κίνδυνο εμφάνισης χρόνιων ασθενειών έχει βασιστεί σε ερωτηματολόγια συχνότητας κατανάλωσης τροφίμων (FFQ) ή σε ημερολόγιο καταγραφής τροφίμων (Schakel *et al*, 2008). Ωστόσο, τα μέχρι σήμερα διαθέσιμα FFQ δεν μετρούν συνήθως συνδυασμούς μικτών τροφίμων ή μεμονωμένων συνταγών με ακρίβεια, διότι δεν επικυρώνονται για τον προσδιορισμό του Γλυκαιμικού Δείκτη ή του Γλυκαιμικού Φορτίου. Τα μεθοδολογικά αυτά ζητήματα μπορεί να συμβάλλουν στην ευρεία διακύμανση των εκτιμήσεων μεταξύ του

διαιτητικού ΓΔ/ΓΦ και των διαφορετικών αποτελεσμάτων υγείας που παρατηρούνται στη βιβλιογραφία. Από την άλλη πλευρά, η διαιτητική ανάκληση και οι μεθοδολογίες αξιολόγησης των τροφίμων βελτιώνουν τα FFQ, εφόσον περιλαμβάνουν γενικά τις πληροφορίες που αφορούν στα τρόφιμα και τα ποτά που καταναλώνει ένα άτομο σε καθημερινή βάση, εξαρτάται από τον αριθμό των ημερών αξιολόγησης και τη συνολική διατροφή. Τα δεδομένα αυτά αποτελούν καθοριστικούς παράγοντες για τα τρόφιμα και τις τιμές του γλυκαιμικού δείκτη. Η μεθοδολογία που ακολούθησε η NHANES (2003-2006) μελέτη για τον προσδιορισμό του γλυκαιμικού δείκτη 3,155 τροφίμων συνοψίζεται στην Εικόνα 1.3. Επιπλέον, η χρήση δεδομένων από μεμονωμένες ή επαναλαμβανόμενες διαιτητικές ανακλήσεις για την εκτίμηση του διαιτητικού γλυκαιμικού δείκτη μπορεί να έχει πλεονεκτήματα έναντι του FFQ (Lin *et al*, 2012).

Η υιοθέτηση ενός διαιτολογίου χαμηλού γλυκαιμικού και ινσουλιναμικού δείκτη μειώνει τον κίνδυνο εκδήλωσης σακχαρώδη διαβήτη, παχυσαρκίας και καρδιαγγειακής νόσου, ορισμένων μορφών καρκίνου καθώς επίσης βελτιώνει και τον έλεγχο της γλυκόζης και των λιπιδίων του αίματος σε διαβητικούς. Επιπλέον, διαιτολόγια χαμηλού γλυκαιμικού δείκτη μπορούν να βοηθήσουν τα άτομα να χάσουν βάρος, διότι αυτά τα τρόφιμα συμβάλλουν σε μια παρατεταμένη αίσθηση κορεσμού και στη σταθερή απελευθέρωση της ενέργειας με περαιτέρω επιπτώσεις για την πνευματική και σωματική επίδοση. Επίσης, οι δίαιτες χαμηλού γλυκαιμικού δείκτη μειώνουν τα επίπεδα της ινσουλίνης καθώς και την αντίσταση στην ινσουλίνη (Opperman *et al*, 2004, glycemindex, 2011, Holub *et al*, 2010, Hu *et al*, 2004, Chung, Shin & Lim, 2008, Ferrer-Mairal *et al*, 2011, Gibson, Schonfeldt & Pretorius, 2011).



Εικόνα 1.3. Διάγραμμα ροής της προσθήκης των τιμών του ΓΔ στο Ενικό Σύστημα Υγείας και Διατροφής (NHANES).

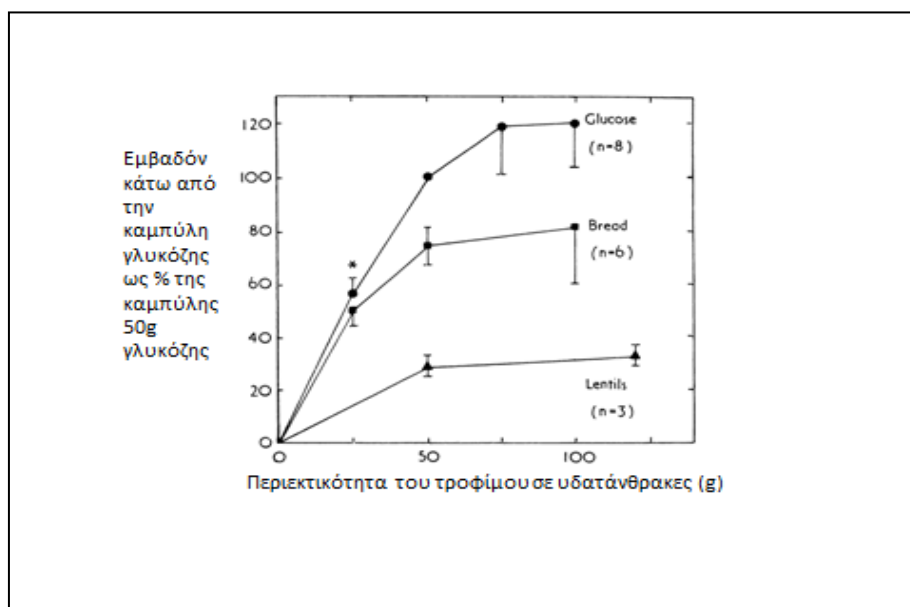
Ο γλυκαιμικός δείκτης μπορεί να έχει εφαρμογή και στον αθλητικό τομέα. Η γενική σύσταση αφορά στην κατανάλωση τροφίμων χαμηλού γλυκαιμικού δείκτη πριν από παρατεταμένη άσκηση ώστε να προωθηθούν οι διαθέσιμοι υδατάνθρακες. Τρόφιμα και ποτά μέτριου έως υψηλού γλυκαιμικού δείκτη θεωρούνται κατάλληλα κατά τη διάρκεια παρατεταμένης άσκησης. Οι υδατάνθρακες υψηλού γλυκαιμικού δείκτη θεωρούνται η καλύτερη επιλογή ώστε να ενισχυθεί η αποθήκευση γλυκογόνου μετά την άσκηση προωθώντας τη μεγαλύτερη απόκριση γλυκόζης και ινσουλίνης (Gretebeck, Gretebeck & Tittelbach, 2002).

Ο γλυκαιμικός δείκτης των τροφίμων έχει σημαντική επίδραση στη βιομηχανία τροφίμων. Σε μερικά τρόφιμα στην Αυστραλία ήδη αναγράφεται στον πίνακα διατροφικών πληροφοριών και ο γλυκαιμικός τους δείκτης. Όροι όπως σύνθετοι υδατάνθρακες και σάκχαρα, που συχνά αναφέρονται στις ετικέτες τροφίμων, θεωρείται πως πια έχουν μικρή θρεπτική και φυσιολογική σημασία (glycemicindex, 2011). Το 1997 συστάθηκε μια Επιτροπή με μέλη από τον Παγκόσμιο Οργανισμό Υγείας (WHO) και τον Οργανισμό Τροφίμων και Γεωργίας (FAO), η οποία ενέκρινε τη χρήση της μεθόδου του ΓΔ για την ταξινόμηση των πλούσιων σε υδατάνθρακες τροφίμων και συνέστησε οι τιμές του ΓΔ μαζί με τα άλλα δεδομένα σύνθεσης τροφίμων να χρησιμοποιούνται για την καθοδήγηση ενός πιο υγιεινού τρόπου ζωής. Τρόφιμα χαμηλού ΓΔ, όπως τα προϊόντα ζωικής προέλευσης με χαμηλά λιπαρά και τα όσπρια, έχουν προταθεί ως μέρος της στρατηγικής για την απώλεια του βάρους με στόχο τη βελτίωση της υγείας. Το 2002 συστάθηκε από τη Διεύθυνση Ελέγχου Τροφίμων μια ερευνητική ομάδα στη Νότια Αφρική, με σκοπό την τυποποίηση της μεθοδολογίας για τον προσδιορισμό του γλυκαιμικού δείκτη, ώστε να είναι εφικτή η επισήμανση των τροφίμων αλλά και η εκπαίδευση του καταναλωτικού κοινού. Η προτεινόμενη Νομοθεσία ορίζει πως ο γλυκαιμικός δείκτης ενός τροφίμου θα παρουσιάζεται ως κατηγορία διατροφικού ισχυρισμού. Η προτεινόμενη ετικέτα γλυκαιμικού δείκτη δεν θα πρέπει να αναφέρει μια συγκεκριμένη αριθμητική τιμή, αλλά να υποδεικνύει χαμηλό (<55), ενδιάμεσο (55-70) ή υψηλό γλυκαιμικό δείκτη (>70). Στην Ευρώπη δεν αναγράφεται η τιμή του γλυκαιμικού δείκτη στην ετικέτα του τροφίμου, ενώ σε χώρες της Νότιας Αφρικής επιτρέπεται η αναγραφόμενη ένδειξη του γλυκαιμικού δείκτη είτε ως λογότυπο, είτε ως διατροφική πληροφορία (Gibson, Schonfeldt & Pretorius, 2011).

Αυτή τη στιγμή στις περισσότερες χώρες του κόσμου χρησιμοποιούνται μόνο *in vivo* μέθοδοι για τον προσδιορισμό του γλυκαιμικού δείκτη των τροφίμων. Οι υπάρχουσες *in vivo* μεθοδολογίες είναι δαπανηρές και χρονοβόρες, και είναι πιθανό να μην καθιστούν

εφικτή την επίτευξη ενός τέτοιου έργου σε επίπεδο χωρών, γεγονός που χρειάζεται για την επισήμανση.

Μέθοδοι ταχείας ανάλυσης έχουν αναπτυχθεί και αξιολογηθεί παγκοσμίως. Τα αποτελέσματά τους συσχετίζονται καλά με τις τιμές του γλυκαιμικού δείκτη από προηγούμενες *in vivo* μεθόδους (Gibson, Schonfeldt & Pretorius, 2011). Οι Englyst *et al* (1999) βρήκαν ότι οι μέθοδοι ταχείας ανάλυσης (*in vitro* μετρήσεις) για την ποσότητα της ταχέως διαθέσιμης γλυκόζης στα τρόφιμα μπορεί να αντανακλά τη γλυκαιμική απόκριση. Σε μια σύγκριση μεταξύ του *in vitro* προσδιορισμού του ρυθμού πέψης των υδατανθράκων και της γλυκαιμικής απόκρισης σε άνδρες βρέθηκε ότι ο ρυθμός πέψης των υδατανθράκων συσχετίστηκε σημαντικά με το ΓΔ των γευμάτων, υποδεικνύοντας ότι ο *in vitro* προσδιορισμός του ρυθμού πέψης των υδατανθράκων μπορεί να χρησιμοποιηθεί ως μια χρήσιμη, απλή και φθηνή μέθοδος για την εκτίμηση της βιολογικής απόκρισης γευμάτων με υψηλή περιεκτικότητα υδατανθράκων (Hu *et al*, 2004). Είναι βέβαια σίγουρο, ότι οι *in vitro* μεθοδολογίες δεν μπορούν να δώσουν μια αριθμητική τιμή για το γλυκαιμικό δείκτη, αλλά μια ένδειξη για το αν η γλυκαιμική απόκριση του τροφίμου είναι υψηλή, μέση ή χαμηλή (Gibson, Schonfeldt & Pretorius, 2011).



Εικόνα 1.4. Δοσοεξαρτώμενη απόκριση μετά από λήψη γλυκόζης, ψωμιού ολικής άλεσης και φακών σε 11 υγιείς εθελοντές (Jenkins *et al*, 1981)

1.2 Γλυκαιμικό φορτίο

Η μεταγευματική γλυκαιμική απόκριση μετά την κατανάλωση ενός γεύματος ή ενός τροφίμου επηρεάζεται τόσο από την ποσότητα όσο και από την ποιότητα (πηγή ή φύση) των υδατανθράκων. Ο γλυκαιμικός δείκτης, όπως έχει αναφερθεί, συγκρίνει ίσες ποσότητες υδατανθράκων παρέχοντας ένα μέτρο της ποιότητας αλλά όχι της ποσότητας των υδατανθράκων (Foster-Powell, Holt & Brand-Miller, 2002).

Το 1997 εισήχθη η έννοια του γλυκαιμικού φορτίου από τον Walter Willet και τους συνεργάτες του στο Πανεπιστήμιο του Harvard, για να περιγράψει ταυτόχρονα την ποσότητα και την ποιότητα των υδατανθράκων ενός γεύματος, δηλαδή τη συνολική γλυκαιμική επίδραση μίας μερίδας τροφίμων (Ludwig, 2003, Lin *et al*, 2012). Η κατανάλωση της ίδιας περίπου ποσότητας δύο τροφίμων εντελώς διαφορετικής σύστασης με παρόμοιες τιμές γλυκαιμικού δείκτη, δεν θα προκαλέσει την ίδια αύξηση στα επίπεδα σακχάρου στο αίμα, λόγω διαφορετικής περιεκτικότητας σε υδατάνθρακες. Επίσης, δύο τρόφιμα παρόμοιου γλυκαιμικού δείκτη μπορεί να έχουν τελείως διαφορετικό μέγεθος μερίδας, όποτε και η αύξηση στα επίπεδα σακχάρου του αίματος θα είναι διαφορετική. Το γλυκαιμικό φορτίο συνοψίζει τη συνδυασμένη επίδραση της ποσότητας και ποιότητας των υδατανθράκων του τροφίμου. Υπολογίζεται ως το γινόμενο του γλυκαιμικού δείκτη και της ποσότητας των υδατανθράκων (σε γραμμάρια) του τροφίμου διαιρούμενο με το 100 (Chiu & Taylor, 2011).

Γλυκαιμικό Φορτίο = Γλυκαιμικός δείκτης * ποσότητα υδατανθράκων /100

Το γλυκαιμικό φορτίο αποτελεί ένα μέτρο που χρησιμοποιείται για να αντικατοπτρίσει τον τρόπο με τον οποίο μια μέση μερίδα τροφίμου θα επηρεάσει τα επίπεδα γλυκόζης του αίματος. Τα τρόφιμα κατατάσσονται ανάλογα με την τιμή του γλυκαιμικού φορτίου τους σε χαμηλού μέτρου και υψηλού. Τρόφιμα χαμηλού γλυκαιμικού φορτίου θεωρούνται αυτά με $ΓΦ < 10$, μέτρου αυτά με $ΓΦ = 10-19$ και υψηλού $ΓΦ > 20$ (Gagne, 2008). Όσο υψηλότερο είναι το γλυκαιμικό φορτίο, τόσο μεγαλύτερη είναι η αναμενόμενη αύξηση της γλυκόζης στο αίμα. Η μακροχρόνια υιοθέτηση μιας διατροφής με σχετικά υψηλό γλυκαιμικό φορτίο (προσαρμοσμένη στο σύνολο της ενέργειας) συνδέεται με αυξημένο κίνδυνο εμφάνισης διαβήτη τύπου 2 και στεφανιαίας νόσου (Foster-Powell, Holt & Brand-Miller, 2002).

Ο λόγος για τον οποίο συμπεριλαμβάνονται οι τιμές του γλυκαιμικού φορτίου στον αναθεωρημένο πίνακα 'International Table of Glycemic Index (GI) and Glycemic Load (GL) Values' του 2002 (εικόνα 1.2) είναι η δυνατότητα που δίνεται να συγκριθούν οι πιθανές

γλυκαιμικές συνέπειες πραγματικών μεγεθών μερίδων διαφορετικών τροφίμων. Τα δεδομένα πρέπει να χρησιμοποιούνται με προσοχή επειδή δεν μπορούν να εφαρμοστούν σε όλες τις περιπτώσεις. Οι μερίδες και η ποιότητα των υδατανθράκων διαφέρουν σημαντικά τόσο από χώρα σε χώρα όσο και πολλές φορές στην ίδια χώρα (Foster-Powell, Holt & Brand-Miller, 2002). Για παράδειγμα, στις Η.Π.Α. διαιτολόγια με υψηλή περιεκτικότητα σε υδατάνθρακες κυριαρχούνται από τρόφιμα με υψηλό γλυκαιμικό δείκτη, ενώ στις Σκανδιναβικές χώρες τα διαιτολόγια με πολλούς υδατάνθρακες περιέχουν τρόφιμα χαμηλού γλυκαιμικού δείκτη. Αυτό πιθανόν να είναι αποτέλεσμα των γεωγραφικών ή εθνικών διαφορών στις εκάστοτε ενώσεις μεταξύ του γλυκαιμικού φορτίου και του κινδύνου για την εκδήλωση ασθενειών (Chiu & Taylor, 2011). Οι ερευνητές και οι επαγγελματίες υγείας θα πρέπει ως εκ τούτου να υπολογίζουν τα δεδομένα του γλυκαιμικού φορτίου με τη χρήση κατάλληλων μεγεθών και δεδομένων σύνθεσης υδατανθράκων (Foster-Powell, Holt & Brand-Miller, 2002).

1.3 Παράγοντες που επηρεάζουν την τιμή του ΓΔ και του ΓΦ

Ο γλυκαιμικός δείκτης ενός τροφίμου δεν αποτελεί μια σταθερή τιμή αλλά μπορεί να επηρεαστεί από ένα μεγάλο αριθμό παραγόντων.

1.3.1. Φυσική μορφή του τροφίμου

Η σημασία της φυσικής μορφής των υδατανθράκων στον καθορισμό της μεταγευματικής γλυκόζης και της ινσουλιναϊκής απόκρισης είναι πολύ μεγάλη. Μια πιθανή αλλαγή στο μέγεθος των σωματιδίων ενός τροφίμου ενδέχεται να επιφέρει και μεταβολή στο γλυκαιμικό δείκτη κάποιων τροφίμων. Για παράδειγμα, ο γλυκαιμικός δείκτης ενός κύβου πατάτας 1 ίντσας μπορεί να αυξηθεί κατά 25% μόνο με την πολτοποίηση του κύβου. Οι τιμές της γλυκόζης καθώς και η απόκριση της ινσουλίνης διαφέρουν σημαντικά μετά την κατανάλωση ολόκληρου μήλου, μήλου σε μορφή πουρέ ή χυμού μήλου (Pi-Sunyer, 2002). Ο χυμός μήλου έχει τη μεγαλύτερη τιμή, τα ολόκληρα μήλα τη μικρότερη και ο πουρές μήλου μια ενδιάμεση τιμή γλυκαιμικού δείκτη. Αυτό συμβαίνει γιατί οι υδατάνθρακες από το χυμό απορροφούνται πολύ πιο γρήγορα, εφόσον βρίσκονται σε ένα ελεύθερο διάλυμα, παρά όταν βρίσκονται «εγκλωβισμένοι» σε φυτικές ίνες (ολόκληρο φρούτο) ή σε ένα τζελ (πουρέ) (O'Dea *et al*, 1980, E.Δ.Ε., 2008). Επίσης, ο βαθμός στον οποίο τα άτομα μασούν ένα τρόφιμο πριν την κατάποση επηρεάζει τα επίπεδα γλυκόζης στο αίμα. Ο βαθμός ωρίμασης των τροφίμων, ακόμη, οδηγεί σε μείωση της ποσότητας του ανθεκτικού αμύλου και αύξηση

των σακχάρων, με αποτέλεσμα την αυξημένη γλυκαιμική απόκριση (Venn & Green, 2007, Hermansen *et al*, 2006).

1.3.2. Μεταβολή στις διάφορες κλάσεις τροφίμων

Η τιμή του γλυκαιμικού δείκτη ενός τροφίμου μπορεί να διαφέρει σημαντικά ανάλογα με τον τύπο του, το είδος της επεξεργασίας καθώς και τον τρόπο της προετοιμασίας του.

1.3.2.1. Τύπος του αμύλου που περιέχεται στο τρόφιμο

Το άμυλο αποτελεί το 70-80% του συνόλου των υδατανθράκων σε ένα διαιτολόγιο. Για διατροφικούς σκοπούς, το άμυλο κατατάσσεται με βάση το ρυθμό και το βαθμό της πέψης του σε τρεις κατηγορίες: το γρήγορα εύπεπτο άμυλο (RDS - rapidly digestible starch), το βραδέως εύπεπτο άμυλο (SDS - slowly digestible starch) και το ανθεκτικό άμυλο (RS - resistant starch). Το RDS είναι το κλάσμα του αμύλου που προκαλεί μια ταχεία αύξηση (περίπου στα 30 λεπτά) στα επίπεδα γλυκόζης του αίματος μετά την κατάποση ζελατινοποιημένων και επεξεργασμένων αμυλούχων τροφίμων. Το SDS είναι το κλάσμα του αμύλου που υφίσταται αργή πέψη στο λεπτό έντερο προκαλώντας αργή και παρατεταμένη απελευθέρωση της γλυκόζης. Συμβάλλει στην πρόληψη διάφορων ασθενειών, όπως καρδιαγγειακές παθήσεις, σακχαρώδης διαβήτης τύπου 2 και παχυσαρκία. Η σταθερότητα των SDS προϊόντων που παρασκευάζονται μέσω αποικοδόμησης (υποβάθμισης) είναι χαμηλή, λόγω του ότι η θερμοκρασία τήξης των κρυσταλλιτών αμυλοπηκτικής είναι λιγότερη από 70°C. Το RS είναι το τμήμα του αμύλου που δεν μπορεί να υποστεί πέψη στο λεπτό έντερο, αλλά με μικροβιακή ζύμωση στο παχύ έντερο μπορεί να παράξει υψηλή ποσότητα βουτυρικού οξέος που είναι ευεργετικό για την καλή λειτουργία του παχέος εντέρου (Zhang & Hamaker, 2009, Englyst *et al*, 1987, Chung, Shin & Lim, 2008, Uehata *et al*, 2012). Οι ιδιότητες του μπορούν να χαρακτηριστούν παρόμοιες με αυτές των διαιτητικών ινών (Amelvoort *et al*, 1995). Επίσης, το RS ορίζεται ως το άθροισμα του αμύλου και των προϊόντων αποικοδόμησης του αμύλου που δεν αφομοιώνονται στο λεπτό έντερο των υγιών ατόμων. Η κατασκευή του RS περιλαμβάνει συνήθως μερική όξινη υδρόλυση και υδροθερμικούς χειρισμούς, θέρμανση, υποβάθμιση, χημική τροποποίηση και πολυμερισμό (Fuentes-Zaragoza *et al*, 2010).

Το RS υποδιαιρείται σε τέσσερις κατηγορίες ανάλογα με το βαθμό αντίστασης του: το RS1, το RS2, το RS3 και το RS4. Το RS1 είναι ένα φυσικά απροσπέλαστο άμυλο λόγω της παγίδευσης του σε μια μη-εύπεπτη μήτρα (ανθεκτικό κυτταρικό τοίχωμα). Το RS2 είναι ακατέργαστοι κόκκοι αμύλου (π.χ. μπανάνα & πατάτα) ή άμυλα με υψηλή περιεκτικότητα σε αμυλόζη (αραβόσιτος με υψηλή αμυλόζη) των οποίων η κρυσταλλικότητα τα καθιστά

ανεπαρκώς ευαίσθητα στην υδρόλυση. Το RS3 παρουσιάζει ιδιαίτερο ενδιαφέρον λόγω της θερμικής του σταθερότητας. Είναι ένα μη κοκκώδες άμυλο που αντιστέκεται στην πέψη. Είναι μια υποβαθμισμένη (άμυλο) αμυλόζη (διπλές έλικες και κρυσταλλική διάταξη) που σχηματίζεται σε μαγειρεμένα τρόφιμα που φυλάσσονται σε χαμηλές θερμοκρασίες ή θερμοκρασίες δωματίου. Μέθοδοι επεξεργασίας τροφίμων, που περιλαμβάνουν θέρμανση και υγρασία, στις περισσότερες περιπτώσεις καταστρέφουν το RS1 και το RS2, αλλά διατηρείται το RS3. Παραδείγματα RS3 αμύλου είναι οι μαγειρεμένες πατάτες και οι νιφάδες καλαμποκιού (corn-flakes). Το RS4 είναι ένα χημικά τροποποιημένο άμυλο το οποίο μπορεί να αντισταθεί στην ενζυματική πέψη (όπως αιθέρες αμύλου, εστέρες αμύλου και διασταυρούμενα άμυλα). Μπορεί να διαιρεθεί σε τέσσερις υποκατηγορίες ανάλογα με τη διαλυτότητα τους στο νερό και τις πειραματικές μεθόδους με τις οποίες μπορούν να αναλυθούν. Το RS4 μπορεί να παραχθεί με χημικές τροποποιήσεις, όπως η μετατροπή, η υποκατάσταση και η σύνδεση, και μπορεί να παρεμποδίσει την πέψη του αμύλου δημιουργώντας ένα εμπόδιο για την πρόσβαση του αμύλου και σχηματίζοντας άτυπους δεσμούς όπως οι δεσμοί $\alpha(1\rightarrow4)$ και $\alpha(1\rightarrow6)$. Το RS4 είναι ένα χημικά τροποποιημένο άμυλο το οποίο έχει εγκριθεί στην Ευρώπη και την Ιαπωνία (Khondkar, Tester & Karkalas, 2009, Fuentes-Zaragoza *et al*, 2010).

Το είδος του αμύλου που περιέχεται σε ένα τρόφιμο επηρεάζει τα επίπεδα γλυκόζης στο αίμα. Ο ρυθμός και η έκταση της αποδόμησης του αμύλου στο λεπτό έντερο έχει σημαντική επίδραση στην απορρόφηση της γλυκόζης και την αντίστοιχη έκκριση ινσουλίνης (Zhang & Hamaker, 2009, Englyst *et al*, 1987). Τα πιθανά οφέλη για την υγεία του SDS περιλαμβάνουν το σταθερό μεταβολισμό της γλυκόζης, τη διαχείριση του διαβήτη, την πνευματική απόδοση και το αίσθημα του κορεσμού. Στο παχύ έντερο, το RS αυξάνει τον όγκο των περιττωμάτων, μειώνει το pH του παχέως εντέρου και το τμήμα που έχει υποστεί ζύμωση από τη μικροχλωρίδα του εντέρου παράγει μια σειρά από λιπαρά οξέα βραχείας αλύσου (SCFA), κυρίως οξικό, προπιονικό και βουτυρικό οξύ. Η παραγωγή των SCFA έχει θετικό αντίκτυπο στην υγεία του εντέρου, συμπεριλαμβανομένου της αυξημένης απορρόφησης του μαγνησίου και του ασβεστίου, της ισορροπίας των βακτηριακών ειδών και του βακτηριακού μεταβολισμού των χολικών αλάτων. Επιπλέον, οφέλη για την υγεία από τη χρήση του RS είναι οι υπογλυκαιμικές επιδράσεις, αποτελούν ένα ευνοϊκό υπόστρωμα για την ανάπτυξη των προβιοτικών, η μείωση του σχηματισμού χοληδόχου πέτρας, οι υποχοληστερολαιμικές επιδράσεις, η αναστολή της συσσώρευσης λίπους, η ελεγχόμενη έκκριση ινσουλίνης. Το RS είτε έμμεσα μέσω της επίδρασης των χολικών αλάτων είτε λόγω της αραίωσης, παρέχει ένα βαθμό προστασίας έναντι του καρκίνου του λεπτού εντέρου.

Επίσης, σχετίζεται αρνητικά με το ΓΔ, με αποτέλεσμα να μπορεί να χρησιμοποιηθεί ως ένα μέσο για την αργή απελευθέρωση της γλυκόζης. Έτσι, το RS μπορεί να χρησιμοποιηθεί ως συστατικό σε συνταγές τροφίμων για άτομα με ορισμένες μορφές διαβήτη (Hu *et al*, 2004, Chung, Shin & Lim, 2008).

Το άμυλο αποτελεί την κύρια πηγή υδατανθράκων στην ανθρώπινη διατροφή. Μπορεί να χρησιμοποιηθεί ως συστατικό των τροφίμων για τη βελτίωση των φυσικών του ιδιοτήτων, καθώς και την κάλυψη ανεπιθύμητων μεταβολών που παρατηρούνται κατά την επεξεργασία ή την αποθήκευση. Τα αποτελέσματα των χημικά τροποποιημένων αμύλων έχουν αξιολογηθεί διεξοδικά, και ο βαθμός χημικής τροποποίησης τους καθώς και η χρήση τους ρυθμίζονται νομικά (Chung, Shin & Lim, 2008). Χημικά, το άμυλο είναι ένας πολυσακχαρίτης που αποτελείται από μονάδες α-D-γλυκοκυρανοσύλης συνδεδεμένες με α-D-(1-4) και/ή α-D-(1-6) δεσμούς, και αποτελούνται από δύο μοριακούς τύπους: την αμυλόζη και την αμυλοπηκτίνη. Η αμυλόζη είναι ένα γραμμικό μόριο από 1000 περίπου μονάδες D-γλυκόζης συνδεδεμένες με α-1→4 δεσμούς. Η αμυλοπηκτίνη, που αποτελείται από περίπου 4000 μονάδες D-γλυκόζης, έχει τόσο α-1→4 όσο και α-1→6 δεσμούς, και για το λόγο αυτό έχει διακλαδισμένη μορφή. Η αμυλοπηκτίνη έτσι, υδρολύεται ευκολότερα στο έντερο από τα πεπτικά ένζυμα συγκριτικά με τα μόρια της αμυλόζης (Pi-Sunyer, 2002, Fuentes-Zaragoza *et al*, 2010). Η μοριακή δομή του αμύλου εξαρτάται κυρίως από την αναλογία της αμυλόζης προς την αμυλοπηκτίνη καθώς και τη διακλάδωση της αμυλοπηκτίνης (Gagne, 2008).

Τα επίπεδα της μεταγευματικής γλυκόζης και ινσουλίνης εξαρτώνται από την αναλογία της αμυλόζης (γραμμικό μόριο) και της αμυλοπηκτίνης (διακλαδισμένο μόριο) στο κλάσμα αμύλου του τροφίμου. Η συνηθισμένη αναλογία για το άμυλο είναι 20 αμυλόζη:80 αμυλοπηκτίνη. Τρόφιμα με υψηλή περιεκτικότητα σε αμυλόζη (π.χ. ρύζι) προκαλούν χαμηλότερη απόκριση μεταγευματικής γλυκόζης του αίματος συγκριτικά με τρόφιμα που περιέχουν υψηλή αναλογία αμυλοπηκτίνης, και κατ' επέκταση χαμηλότερο γλυκαιμικό δείκτη (Gagne, 2008). Διαφορετικά είδη ρυζιού, με διαφορετική αναλογία αμυλόζης αμυλοπηκτίνης στους κόκκους τους, αποδίδουν τιμές γλυκαιμικού δείκτη που κυμαίνεται από 68 έως 103 (Pi-Sunyer, 2002). Οι περισσότερες πηγές αμύλου αποτελούνται από λιγότερο του 30% αμυλόζη, ενώ τα λαχανικά έχουν 35-40% αμυλόζη, κάτι που μπορεί να εξηγήσει το χαμηλότερο γλυκαιμικό τους δείκτη. Επιπλέον, η καθιέρωση ενός διαιτολογίου υψηλής περιεκτικότητας σε αμυλόζη επιφέρει σημαντική μείωση στη μεταγευματική

συγκέντρωση γλυκόζης και ινσουλίνης την πρώτη ώρα μετά το γεύμα, όπως και στη γλυκόζη νηστείας (Amelvoort *et al*, 1992, ΕΔΕ, 2008).

Επίσης, το μέγεθος των σωματιδίων και η ποσότητα του αμύλου που περιέχεται στα τρόφιμα διαδραματίζουν σημαντικό ρόλο στο μέγεθος της γλυκαιμικής απόκρισης και κατά συνέπεια και στο γλυκαιμικό δείκτη (Hermansen *et al*, 2006). Παράδειγμα αποτελούν τα διάφορα είδη ζυμαρικών όπως το αστέρι *pastina*, το σπαγγέτι, το λεπτό λιγκουίνι και το παχύ λιγκουίνι που έχουν τιμές γλυκαιμικού δείκτη 54, 45, 87 και 68 αντίστοιχα (Pi-Sunyer, 2002).

1.3.2.2. Επεξεργασία του αμυλούχου τροφίμου

Η μέθοδος επεξεργασίας ενός τροφίμου μπορεί να αλλάξει σημαντικά και το γλυκαιμικό δείκτη του. Άκρως επεξεργασμένα τρόφιμα τύπου σνακ τείνουν να έχουν υψηλότερες τιμές γλυκαιμικού δείκτη (Frost & Dornhorst, 2005). Το άμυλο υπάρχει στα τρόφιμα που περιέχουν υδατάνθρακες με τη μορφή μεγάλων κόκκων. Οι κόκκοι αυτοί πρέπει να διασπαστούν ώστε τα μακρομόρια αμύλου της αμυλόζης ή της αμυλοπηκτίνης να καταστούν διαθέσιμα για υδρόλυση. Η άλεση, η πίεση ή ακόμα και το μάζημα ενός καρπού ή ενός αμυλούχου τροφίμου μπορεί να διασπάσει τους κόκκους. Η πίεση ενός τροφίμου, όπως συμβαίνει κατά την επεξεργασία πολλών σπόρων, διασπών και απομακρύνουν το εξωτερικό περίβλημα των καρπών βελτιώνοντας την πέψη της αμυλάσης και αυξάνουν το γλυκαιμικό δείκτη τους (Pi-Sunyer, 2002, Frost & Dornhorst, 2005).

Η εφαρμογή θερμότητας και υγρασίας επηρεάζει τους κόκκους του αμύλου. Όταν το τρόφιμο εκτίθεται σε υψηλή θερμοκρασία και υγρασία για μεγαλύτερο χρονικό διάστημα διαταράσσεται η κρυσταλλική δομή του αμύλου. Το άμυλο υφίσταται πρώτα ζελατινοποίηση, με αποδιοργάνωση της κρυσταλλικής δομής, που ακολουθείται από την αποδιοργάνωση των κόκκων. Αυτό έχει ως αποτέλεσμα τη μείωση ή την απώλεια του SDS αμύλου που περιέχεται στο τρόφιμο. Οι περισσότερες μέθοδοι επεξεργασίας αμυλούχων τροφίμων χρησιμοποιούν υψηλή περιεκτικότητα σε υγρασία και υψηλή θερμοκρασία που ζελατινοποιούν τελείως τους αμυλοκόκκους και τους καθιστούν ιδιαίτερα ευπαθείς στην ενζυμική πέψη (Zhang & Hamaker, 2009). Το άμυλο μπορεί επίσης να δημιουργήσει αδιάλυτη μορφή συμπλέγματος με τις πρωτεΐνες, όπως συμβαίνει και στην αντίδραση αμαύρωσης (αντίδραση Maillard), καθιστώντας το μη διαθέσιμο για πέψη και απορρόφηση (Pi-Sunyer, 2002, Zhang & Hamaker, 2009).

1.3.2.3. Προετοιμασία του αμυλούχου τροφίμου

Η μέθοδος μαγειρέματος επηρεάζει το γλυκαιμικό δείκτη πέρα από τις επιπτώσεις της πολυτοποίησης των τροφίμων. Με το μαγείρεμα διαχωρίζονται οι κόκκοι του αμύλου, αυξάνοντας έτσι τη διαθεσιμότητα του αμύλου σε αμυλόζη και επιπλέον αυξάνει το ιξώδες του τροφίμου. Οι επιπτώσεις του μαγειρέματος στην απόκριση των διαφόρων διαιτητικών υδατανθράκων είναι ιδιαίτερα σημαντικές. Η διαφορετική απόκριση της γλυκόζης στο ωμό και μαγειρεμένο άμυλο μπορεί θεωρητικά να οφείλεται είτε στη μείωση της διαθεσιμότητας του ωμού αμύλου σε αμυλάση είτε στη διαφορά του ιξώδους των δυο ελεγχόμενων δειγμάτων. Ωστόσο, η μικρότερη απόκριση της γλυκόζης και ινσουλίνης στο ωμό άμυλο δείχνει ότι η μεταβολή του ιξώδους δεν είναι υπεύθυνη (Collings *et al*, 1981). Για παράδειγμα, ωμές πατάτες είναι ανθεκτικές στην υδρόλυση, αλλά όταν μαγειρεύονται οι κόκκοι αμύλου ζελατινοποιούνται και γίνεται εύκολα εύπεπτοι. Όταν οι πατάτες στη συνέχεια ψύχονται, η ζελατινοποίηση αντιστρέφεται και το 12% περίπου του αμύλου είναι ανθεκτικό στη υδρόλυση και άπεπτο (Pi-Sunyer, 2002).

Το γεγονός ότι η απόκριση της ινσουλίνης μετά την κατανάλωση μαγειρεμένου αμύλου είναι μικρότερη απ' ό,τι μετά την κατανάλωση γλυκόζης δείχνει ότι το ιξώδες του γεύματος παίζει ένα ρόλο. Φαίνεται ότι η ικανότητα του ιξώδους να μεταβάλλει την απόκριση ινσουλίνης και γλυκόζης, ή και των δύο, σε ένα γεύμα υδατανθράκων, δεν είναι ασυνήθιστο φαινόμενο σε ορισμένους τύπους διαιτητικών ινών, αλλά μπορεί επίσης να προκληθεί και από το μαγείρεμα (Collings *et al*, 1981).

Η θερμότητα που χρησιμοποιείται, η ποσότητα του νερού και η ώρα του μαγειρέματος έχουν σημαντική επίδραση στην τιμή του γλυκαιμικού δείκτη. Έτσι, όσο περισσότερο χρόνο ένα αμυλούχο τρόφιμο θερμαίνεται, ενυδατώνεται ή συμπιέζεται τόσο πιο εύκολα θα υδρολυθεί και θα είναι πιο εύπεπτο, εκτός από το τμήμα που σχηματίζει το σύμπλεγμα. Αυτό διαψεύδει την έννοια ότι ένα τρόφιμο έχει σταθερή τιμή γλυκαιμικό δείκτη, επειδή αυτή εξαρτάται από την επεξεργασία, την αποθήκευση, την ωρίμαση, την κοπή και το μαγείρεμα των τροφίμων (Pi-Sunyer, 2002).

1.3.3 Σύσταση σε μακροθρεπτικά συστατικά

Οι άνθρωποι δεν καταναλώνουν σκέτα τρόφιμα, αλλά συνήθως γεύματα ή τρόφιμα τύπου σνακ που περιέχουν περισσότερα από δύο μακροθρεπτικά. Ο συνδυασμός των μακροθρεπτικών στο γλυκαιμικό δείκτη έδειξε ότι α) όσο μεγαλύτερο είναι το ποσό των υδατανθράκων σε ένα τρόφιμο, σε αντίθεση με την πρωτεΐνη και το λίπος, τόσο υψηλότερη είναι και η τιμή του γλυκαιμικού δείκτη, β) ένα σύνθετο γεύμα υδατανθράκων, πρωτεϊνών

και λίπους θα έχει διαφορετική και μεταβλητή απόκριση γλυκόζης ανάλογα με τις ποσότητες του κάθε θρεπτικού συστατικού. Έτσι, η απόκριση της γλυκόζης ενός τροφίμου που καταναλώνεται μόνο του ή σε συνδυασμό με άλλα τρόφιμα διαφέρει (Pi-Sunyer, 2002). Οι επιστήμονες είναι επιφυλακτικοί στην κλινική εφαρμογή του ΓΔ λόγω των συγκεχυμένων επιδράσεων του λίπους, της πρωτεΐνης και άλλων χημικών ουσιών (όπως τα οργανικά οξέα) για την εκτίμηση του ΓΔ. Σε αρκετές μελέτες φαίνεται ότι ο ΓΔ δεν αποδίδει καλά κάτω από συνθήκες που μεταβάλλονται οι διατροφικές παράμετροι. Υπάρχουν ωστόσο μελέτες που δείχνουν ότι ο ΓΔ των τροφίμων μπορεί να προβλέψει επαρκώς το ΓΔ ενός πλήρους γεύματος, με το λίπος και την πρωτεΐνη να μην έχουν σημαντική επίδραση, όταν καταναλώνονται σε συνήθεις ποσότητες. Ο κακός σχεδιασμός και τα μεθοδολογικά προβλήματα των μελετών μπορεί να αποτελούν τις πιθανές πηγές σφαλμάτων στις περιπτώσεις που δεν προβλέπονταν ο ΓΔ του συνολικού γεύματος (Lin *et al*, 2012).

Η αναλογία υδατανθράκων, πρωτεϊνών και λίπους σε ένα τρόφιμο ή γεύμα μπορεί να επηρεάσει τη γλυκαιμική απόκριση. Η προσθήκη λίπους σε ένα γεύμα μπορεί να οδηγήσει σε μείωση της γλυκόζης στο αίμα επιβραδύνοντας τη γαστρική κένωση (Hermansen *et al*, 2006). Η διαφορά που παρατηρείται στις τιμές του γλυκαιμικού δείκτη του ψωμιού και των μπισκότων εξηγείται καλύτερα από την παρουσία λίπους στα μπισκότα παρά από τη διαφορά στο είδος του αμύλου στα δύο προϊόντα. Η ικανότητα του λίπους να μειώνει το γλυκαιμικό δείκτη εξαρτάται και από τον τρόπο με τον οποίο το λίπος μπερδεύεται με τους υδατάνθρακες (ΕΔΕ, 2008). Επίσης, μεγάλες ποσότητες πρωτεϊνών (π.χ. πρωτεΐνες γάλακτος) διεγείρουν την έκκριση ινσουλίνης χωρίς να αυξάνονται οι συγκεντρώσεις γλυκόζης. Λαμβάνοντας υπόψη ότι η απόκριση γλυκόζης δεν αλλάζει πολύ ή στην πραγματικότητα μειώνεται, η ινσουλιναϊκή απόκριση αυξάνεται. Οι πρωτεΐνες και τα λίπη είναι ιδιαίτερα αποτελεσματικά στην απελευθέρωση των πεπτιδίων στο έντερο παρά τη μικρή επίδραση της γλυκόζης (Pi-Sunyer, 2002).

Αναφορικά με τους υδατάνθρακες, το μέγεθος της γλυκαιμικής απόκρισης εξαρτάται από το είδος των υδατανθράκων. Υδατάνθρακες που παράγονται από τη σακχαρόζη ή τη φρουκτόζη έχουν ιδιαίτερους γλυκοζιτικούς δεσμούς που είναι διαφορετικοί από τα μόρια του αμύλου και διασπώνται πλήρως και απορροφώνται με βραδύτερο ρυθμό που οδηγεί σε αμβλεία γλυκαιμική απόκριση. Ωστόσο, η φυσιολογική επίδραση τους στο σώμα δεν είναι ισοδύναμη με αυτή των SDS λόγω διαφορετικής χημικής δομής. Η φρουκτόζη επίσης, δεν ελέγχεται από το σύστημα ομοιόστασης της γλυκόζης και υψηλή πρόσληψη της μπορεί να οδηγήσει σε απορρύθμιση του ενεργειακού ισοζυγίου και του μεταβολισμού των λιπών και

των υδατανθράκων ευνοώντας τη λιπογένεση με αποτέλεσμα την εμφάνιση υπερλιπιδαιμίας και παχυσαρκίας (Hermansen *et al*, 2006).

1.3.4. Περιεκτικότητα του τροφίμου σε φυτικές ίνες

1.3.4.1. Γενικά για τις ίνες

Ο Παγκόσμιος Οργανισμός Υγείας συνιστά την υιοθέτηση ενός διαιτολογίου πλούσιου σε φυτικές ίνες και με αυξημένη κατανάλωση δημητριακών ολικής άλεσης για το γενικό πληθυσμό και τα άτομα με σακχαρώδη διαβήτη τύπου 2, διότι σχετίζεται με μειωμένο κίνδυνο εμφάνισης χρόνιων παθήσεων και χαμηλότερο δείκτη μάζας σώματος (Jenkins *et al*, 2008, Turgeon & Rioux, 2011). Οι Μη Αμυλούχοι Πολυσακχαρίτες (NSPs) και οι διαιτητικές ίνες (DF) χρησιμοποιούνται για να ρυθμίζουν την έκταση της διόγκωσης του αμύλου, τη ζελατινοποίηση και κατά συνέπεια την πέψη των υδατανθράκων (Brennan & Brennan, 2009).

Οι ίνες αποτελούν το μέρος του φυτού που είναι ανθεκτικό στα ένζυμα του ανώτερου τμήματος του εντέρου του ανθρώπου. Στον Καναδά οι ίνες ορίζονται ως «τα ενδογενή συστατικά του φυτικού υλικού τα οποία είναι ανθεκτικά στην πέψη από ένζυμα που παράγονται από τον άνθρωπο. Είναι κατά κύριο λόγο μη αμυλούχοι πολυσακχαρίτες και λιγνίνη και μπορεί να περιλαμβάνονται, επιπλέον, συναφείς ουσίες». Η EFSA ορίζει ως διαιτητικές ίνες « τους μη αφομοιώσιμους υδατάνθρακες καθώς και τη λιγνίνη» (Turgeon & Rioux, 2011). Οι διαιτητικές ίνες (DF) συχνά ορίζονται και ως μη αμυλούχοι πολυσακχαρίτες (NSPs), και αποτελούν ένα βασικό μέρος των διαιτητικών ινών των σπόρων. Οι κύριοι πολυσακχαρίτες των NSPs είναι η κυτταρίνη, η πηκτίνη, οι β-γλυκάνες, οι πεντοζάνες, οι ετεροζυλάνες και η ξυλογλυκάνη. Η αναλογία των διαλυτών και αδιάλυτων NSPs καθορίζεται από το στάδιο της ωριμότητας των σπόρων (Kumar *et al*, 2012).

Διαλυτοί NSPs περιέχονται στα όσπρια, τα φρούτα, τα λαχανικά, το κριθάρι και τη βρώμη (Jenkins *et al*, 1978). Οι διαλυτοί NSPs όταν αναμιγνύονται με νερό μεταβάλλουν την υφή και τη δομή του τροφίμου, σχηματίζουν ζελατινώδη πηκτώματα, αυξάνουν το ιξώδες του, με αποτέλεσμα την επιβράδυνση της ενζυμικής πέψης, της απορρόφησης θρεπτικών συστατικών, της γαστρικής κένωσης, με τελευταίο το σχηματισμό ενός φυσικού εμποδίου γύρω από τον υδατάνθρακα (Brennan and Brennan, 2009, Kumar *et al*, 2012, Jenkins *et al*, 1978, Jenkins *et al*, 2008). Στους αδιάλυτους NSPs ανήκουν η κυτταρίνη, η λιγνίνη και πολλές ημι-κυτταρίνες που χρησιμοποιείται ευρέως στα δημητριακά, το ψωμί ολικής άλεσης και το καστανό ρύζι (Wursch & Pi-Sunyer, 1997, Frost, 2003). Οι αδιάλυτοι NSPs έχουν μικρή επίδραση στη γαστρική κένωση και καμία επίδραση στην απορρόφηση της

γλυκόζης, και κατά συνέπεια στο διαιτητικό γλυκαιμικό δείκτη (Brennan and Brennan, 2009). Οι ιδιότητες των NSPs εξακολουθούν να ισχύουν και όταν ενσωματωθούν σε προϊόντα διατροφής (Zhang & Hamaker, 2009). Η διαλυτότητα των DF/NSPs σε συνδυασμό με τη δομή του τροφίμου έχουν οφέλη στη μεταγευματική γλυκαιμία και την υπερινσουλιαιμία (Frost & Dornhorst, 2005, Turgeon & Rioux, 2011).

Κλινικές μελέτες δείχνουν ότι διαιτολόγια πλούσια σε DF/NSPs, όπως το κόμμι γκούαρ και οι πηκτίνες, μειώνουν τα μεταγευματικά επίπεδα γλυκόζης και ινσουλίνης (Jenkins *et al*, 1987). Σε μελέτες παρέμβασης που πραγματοποιήθηκαν σε διαβητικούς ασθενείς φαίνεται η ευεργετική επίδραση των DF στη βελτίωση του γλυκαιμικού ελέγχου, γεγονός που επιβεβαιώνεται και από μια μετά-ανάλυση (Anderson *et al*, 2004), όπου η παρουσία διαλυτών NSPs σε βρώμη και όσπρια μείωσε σημαντικά τη γλυκαιμική απόκριση. Σε μελέτες που πραγματοποιήθηκαν φαίνεται ότι συνεργιστικές επιδράσεις μεταξύ των πολυσακχαριτών είναι πιθανό να ενισχύσουν το ιξώδες της β-γλυκάνης σε φρουτοποτά με αποτέλεσμα να μειώνουν τα επίπεδα γλυκόζης του αίματος στους συμμετέχοντες (Turgeon & Rioux, 2011). Η κατανάλωση 50g DF την ημέρα για 24 εβδομάδες βελτίωσε σημαντικά το γλυκαιμικό έλεγχο και μείωσε τα υπογλυκαιμικά επεισόδια σε άτομα σε σακχαρώδη διαβήτη τύπου I (Giacco *et al*, 2000). Μια αυξημένη πρόσληψη φυτικών ινών συσχετίστηκε με χαμηλότερες καθημερινές ανάγκες σε ινσουλίνη σε εγκυμονούσες με σακχαρώδη διαβήτη τύπου I (Kalkwarf *et al*, 2001). Η προσθήκη των ινών, που δεν περιέχουν καθόλου διαθέσιμους υδατάνθρακες, σε τρόφιμα που περιέχουν υδατάνθρακες μπορεί να επηρεάσει το γλυκαιμικό του δείκτη. Το υψηλότερο ιξώδες *in vitro* αντιστοιχεί άμεσα σε χαμηλότερα επίπεδα γλυκόζης *in vivo*. Η αυξημένη πρόσληψη φυτικών ινών από μπισκότα με μίγμα παχύρευστων διαιτητικών φαίνεται να έχει οφέλη τόσο στους διαβητικούς (μείωση του ΓΔ κατά 63%) όσο και στους υγιείς συμμετέχοντες (μείωση του ΓΔ κατά 74%) (Jenkins *et al*, 2008).

1.3.4.2. Μηχανισμοί δράσης των ινών

Ο μηχανισμός που εξηγεί την επίδραση των NSPs στη μείωση των μεταγευματικών επιπέδων γλυκόζης και ινσουλίνης και την ενίσχυση του μεταβολισμού των υδατανθράκων δεν είναι σαφής πλήρως. Θεωρείται, ωστόσο, ότι οι επιδράσεις σχετίζονται με το μικρό ιξώδες του εντέρου, την απορρόφηση θρεπτικών συστατικών και τις συστημικές επιδράσεις που προέρχονται από τα SCFAs. Η ικανότητα των NSPs να αυξάνουν το ιξώδες της πεπτόμενης τροφής (αλλαγή της συμπεριφοράς του πολυσακχαρίτη) αποτελεί σημαντικό παράγοντα στο μειωμένο ρυθμό γαστρικής κένωσης, στην αναστολή του ρυθμού πέψης και απορρόφησης των διαθέσιμων υδατανθράκων και θρεπτικών συστατικών, στη

μειωμένη προσβασιμότητα των υδρολυτικών ενζύμων στα υποστρώματα τους με αποτέλεσμα την καθυστερημένη μεταφορά της γλυκόζης στο σημείο απορρόφησης της. Οι διαιτητικές ίνες μπορεί να καθυστερήσουν τη δράση της α-αμυλάσης μέσω της ενθυλάκωσης του αμύλου και των ενζύμων και ενδέχεται να αναστείλουν άμεσα την ενζυμική δραστηριότητα. Επιπλέον, η επιμήκυνση των υδατανθράκων πέψης και απορρόφησης φαίνεται να είναι βασικός παράγοντας για τα χαμηλότερα επίπεδα γλυκόζης στο πλάσμα. Το μέγεθος της γλυκαιμικής απόκρισης ενός τροφίμου σχετίζεται άμεσα με το ιξώδες και/ή τη συγκέντρωση των διαλυτών ινών που περιέχονται σε αυτό, με αποτέλεσμα μίγμα ινών με υψηλότερο ιξώδες να έχει μεγαλύτερη επίδραση στη μείωση των μεταγευματικών επιπέδων γλυκόζης (Wursch & Pi-Sunyer, 1997, Kumar *et al*, 2012, Brennan & Brennan, 2009, Zhang & Hamaker, 2009, Jenkins *et al*, 2008).

Επιπλέον, οι ίνες που αποκτούν υψηλό ιξώδες στο λεπτό έντερο, όπως το κόμμι γκουάρ και η πηκτίνη, έχουν γενικά μεγαλύτερη επίδραση στη μεταγευματική γλυκαιμία. Από την άλλη, τα SCFAs που παράγονται στο παχύ έντερο από καλά ζυμούμενες ίνες (π.χ. ινουλίνη) είναι πιθανό να οδηγούν σε μειωμένο ποσό γαστρικής κένωσης και βελτίωση της ινσουλινοαντοχής. Με τον τρόπο αυτό, παρέχεται η δυνατότητα ρύθμισης της μεταγευματικής γλυκαιμικής απόκρισης. Ο χρόνος διέλευσης σύνθετων γευμάτων από το λεπτό έντερο είναι σχετικά μεγάλος (περίπου 6 ώρες), τα προερχόμενα από το παχύ έντερο SCFAs πιθανόν δεν εξηγούν τις οξείες επιδράσεις της επιβράδυνσης της απορρόφησης των υδατανθράκων από το λεπτό έντερο, χαρακτηριστικό των μεταγευματικών επιπτώσεων ακολουθούμενων από την πρόσληψη παχύρρευστων (ιξωδών) καλά ζυμούμενων ινών. Το οξικό οξύ που παράγεται από τη ζύμωση των ινών, μετά την απορρόφηση στο περιφερικό αίμα, μειώνει τα επίπεδα λιπαρών οξέων στον ορό, χωρίς ωστόσο να αποδεικνύεται ότι βελτιώνει την ανοχή των υδατανθράκων. Το προπιονικό και το γλυκονογενικό στο ήπαρ έχει φανεί ότι μειώνουν τη γλυκόζη του αίματος και μεταβάλλουν το μεταβολισμό των λιπιδίων. Επίσης, η προσθήκη ανθεκτικού αμύλου στα τρόφιμα βελτιώνει την ινσουλινοευαισθησία στους μύες και αυξάνει την πρόσληψη των λιπαρών οξέων βραχείας αλύσου (SCFAs) από το λιπώδη ιστό. Έτσι, τα SCFAs που παράγονται συμπεριφέρονται ως αρνητικό σήμα ανατροφοδότησης μειώνοντας το ρυθμό της γαστρικής κένωσης και την κινητικότητα των άλλων τμημάτων του γαστρεντερικού σωλήνα. Παρόλα αυτά, οι μηχανισμοί με τους οποίους τα SCFAs επιδρούν στο μεταβολισμό των υδατανθράκων δεν είναι πλήρως κατανοητοί (Kumar *et al*, 2012, Zhang & Hamaker, 2009, Turgeon & Rioux, 2011).

Ένας άλλος μηχανισμός δράσης των NSPs είναι ότι η αυξημένη διαιτητική τους πρόσληψη αυξάνει την έκφραση του προγλυκαγονικού γονιδίου που προέρχεται από το έντερο και την έκκριση του προγλυκαγονικού–προερχόμενου πεπτιδίου, συμπεριλαμβανομένου και του GLP-1. Το GLP-1 μειώνει τα ποσοστά γαστρικής κένωσης, ενισχύει την ινσουλινοεξαρτώμενη διάθεση της γλυκόζης, αναστέλλει την έκκριση γλυκαγόνης, προάγει την πρόσληψη γλυκόζης και τη διάθεσή της σε περιφερικούς ιστούς, περιορίζει την ηπατική παραγωγή γλυκόζης τόσο σε ζώα όσο και σε ανθρώπους και τελικά μειώνει την ποσότητα της εξωγενούς ινσουλίνης που απαιτείται για άτομα με διαταραγμένο μεταβολισμό της γλυκόζης (Kumar *et al*, 2012).

Η σύσταση των πολυσακχαριτών και των ινών μπορεί επίσης να ρυθμίσει την κινητική της πέψης των πρωτεϊνών. Οι πολυσακχαρίτες φαίνεται ότι μειώνουν την πρωτεόλυση. Η δράση τους μπορεί να είναι αποτέλεσμα της αύξησης του ιξώδους, παρεμβαίνοντας με ενζυμική δράση ή δημιουργώντας ηλεκτροστατικές αλληλεπιδράσεις μεταξύ πολυσακχαριτών, πρωτεϊνών, πεπτιδίων, περιορίζοντας την πρόσβαση στη θέση διάσπασης του ενζύμου (Turgeon & Rioux, 2011).

1.3.5. Περιεκτικότητα του τροφίμου σε σάκχαρα

Τα προηγούμενα χρόνια επικρατούσε η αντίληψη ότι οι διαβητικοί απαγορεύονταν να καταναλώνουν διαιτητική σακχαρόζη επειδή θα αυξάνονταν υπερβολικά η συγκέντρωση γλυκόζης του αίματος. Ωστόσο, γνωρίζουμε πλέον ότι ο γλυκαιμικός δείκτης της σακχαρόζης (με το λευκό ψωμί χρησιμοποιούνται ως πρότυπα) είναι σχετικά χαμηλός περίπου 65. Ο γλυκαιμικός δείκτης της γλυκόζης είναι 97, ενώ της φρουκτόζης και της λακτόζης είναι 23 και 46 αντίστοιχα. Οι Jenkins *et al* κατέληξαν στο συμπέρασμα ότι δεν υπάρχει καμία σχέση μεταξύ της ζάχαρης που περιέχεται στα τρόφιμα και στο γλυκαιμικό δείκτη 62 κοινά καταναλισκόμενων τροφίμων (Pi-Sunyer, 2002) . Είναι επίσης γνωστό ότι η σακχαρόζη σε μέτριες ποσότητες δεν είναι απαραίτητα απαγορευτική (Jenkins *et al*, 2008).

1.3.6. Οξύτητα του τροφίμου

Ο γλυκαιμικός δείκτης ενός γεύματος ή ενός τροφίμου μπορεί να μειωθεί σημαντικά με την αύξηση της οξύτητάς του, επηρεάζοντας τη γλυκαιμική και ινσουλιναϊκή απόκριση. Η επίδραση των όξινων αλάτων ή των οργανικών οξέων στις μεταβολικές αποκρίσεις οφείλεται στην καθυστερημένη γαστρική κένωση (Pi-Sunyer, 2002, Zhang & Hamaker, 2009, Mettlera *et al*, 2009).

Η κατανάλωση ψωμιού με μαγιά (γαλακτικό οξύ που παράγεται κατά τη ζύμωση) ή ψωμιού με προστιθέμενο προπιονικό νάτριο παρουσιάζει χαμηλότερες τιμές γλυκαιμικού και

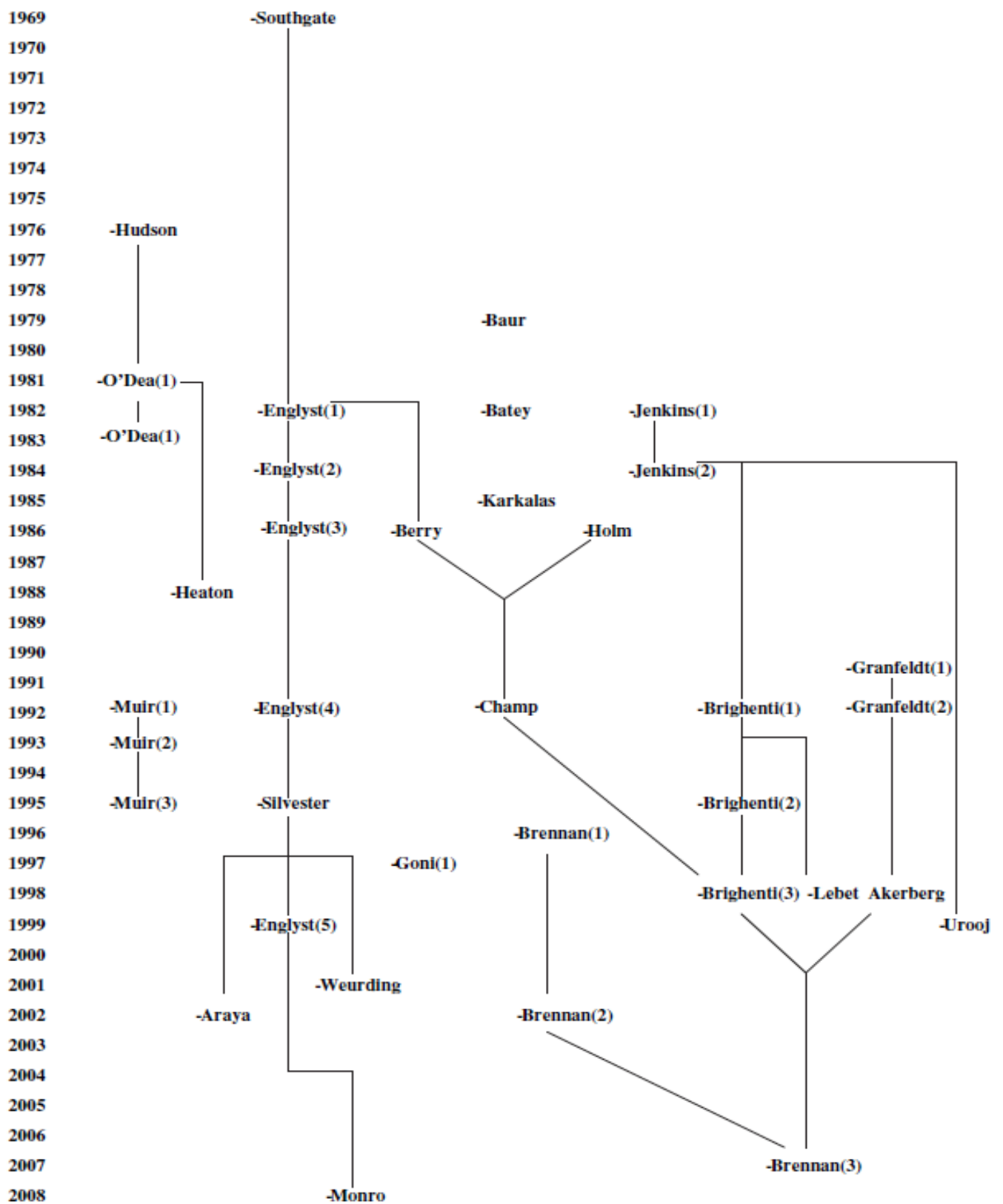
ινσουλιναϊμικού δείκτη σε σύγκριση με το ψωμί ολικής άλεσης χωρίς την παρουσία των οξέων αυτών. Η πρόσληψη ψωμιού με υψηλή συγκέντρωση προπιονικού νατρίου, πέραν της μείωσης της μεταγευματικής γλυκαιμικής απόκρισης, επιμηκύνει σημαντικά τη διάρκεια του κορεσμού σε σύγκριση με τα άλλα ψωμιά. Επίσης, σε ψωμί που περιέχει γαλακτικό οξύ έχει παρατηρηθεί *in vitro* μειωμένο ποσοστό πέψης της α-αμυλάσης (Pi-Sunyer, 2002, Zhang & Hamaker, 2009).

Η προσθήκη ξυδιού ή οξικού οξέος σε ένα γεύμα πλούσιο σε άμυλο ή τρόφιμο επηρεάζει και τη γλυκαιμική του απόκριση (Pi-Sunyer, 2002, Zhang & Hamaker, 2009, Mettlera *et al*, 2009). Συγκεκριμένα, η απλή προσθήκη ξυδιού σε ένα γεύμα υψηλού γλυκαιμικού δείκτη έχει δειχθεί ότι μειώνει τη γλυκαιμική απόκριση μία ώρα μετά την κατανάλωσή του κατά 55% (Gagne, 2008). Ωστόσο, πρέπει να εξεταστεί η δυνατότητα χρήσης διαδικασιών ή πρακτικών που περιλαμβάνουν οργανικά οξέα για τη βελτίωση των διατροφικών χαρακτηριστικών των υδατανθράκων (Zhang & Hamaker, 2009). Η διαφορετική μήτρα του τροφίμου (λευκό ψωμί, διάλυμα σουκρόζης) που καταναλώνεται μαζί με το οξικό οξύ αποτελεί τη βασική αιτία που δεν αποδίδεται σχέση δόσης-απόκρισης μεταξύ της κατανάλωσης οξικού οξέος και των μεταγευματικών επιπέδων γλυκόζης σε πληθώρα μελετών (Mettlera *et al*, 2009, Brighenti *et al*, 1995, Liljeberg & Bjorck, 1998, Ebihara & Nakajima, 1988).

1.3.7 Ωριμότητα του τροφίμου

Η ωριμότητα του καρπού ή του φρούτου επηρεάζει σημαντικά την τιμή του γλυκαιμικού του δείκτη. Κατά τη διάρκεια της ωρίμασης το άμυλο του καρπού μετατρέπεται σε σάκχαρο (ζάχαρη). Ο γλυκαιμικός δείκτης του αμύλου έχει γενικά υψηλότερη τιμή από το γλυκαιμικό δείκτη της ζάχαρης. Καθώς προχωράει η ωρίμαση ο γλυκαιμικός δείκτης του φρούτου μειώνεται (Pi-Sunyer, 2002). Χαρακτηριστικό παράδειγμα αποτελούν οι μπανάνες, με την άγουρη μπανάνα να έχει τιμή γλυκαιμικού δείκτη 43 ενώ η παραγινωμένη έχει τιμή 74. Συγκεκριμένα, στην άγουρη μπανάνα η περιεκτικότητα σε άμυλο είναι περίπου 80-90%, ενώ στην γινομένη μέρος του αμύλου σταδιακά αντικαθίσταται από ελεύθερα σάκχαρα (ΕΔΕ, 2008).

1.4. *In vitro* μέθοδοι μέτρησης της γλυκαιμικής απόκρισης



Εικόνα 1.5. Εξελικτική σχέση κάποιων σύγχρονων και συχνά αναφερόμενων μεθόδων μεθόδων *in vitro* πέψης υδατανθράκων (Woolnough, Monro, Brennan & Bird, 2008)

Οι τρέχουσες *in vitro* μέθοδοι για την ανάλυση των πιθανών γλυκαιμικών ιδιοτήτων των

Method name	Year	Oral phase	Gastric phase	Intestinal phase	Measured	Reference
Southgate	1969	Ground	–	Takadiastase (pH 4.5, 37 °C, 18 h)	AC	Southgate (1969a)
Hudson	1976	–	–	Inv., AMG (pH 5, 48 °C, 16 h) end-over-end rotation	AC	Hudson <i>et al.</i> (1976)
Baur	1979	Ground (60-mesh screen)	–	α-amylase (85 °C, 15 min), glucoamylase (60 °C, 30 min)	TS	Baur & Alexander (1979)
O'Dea(1)	1981	Desiccated	–	α-amylase, AMG (pH 5, 50 °C, 30 min) Shaking water bath	Rate of SD	O'Dea & Snow (1981)
Batey	1982	Milled (0.8 mm)	–	α-amylase (85°C, 1hr), AMG (pH 4.6, 60 °C) Manual mixing every 1min	TS	Batey (1982)
Jenkins(1)	1982	Ground	–	Human saliva (37 °C, 3 h) Dialysis bag suspended in stirred water bath	Rate of SD	Jenkins <i>et al.</i> (1982)
Englyst(1)	1982	Ball-milled/homogenised	–	α-amylase, pullulanase (pH 5.2, 42 °C, 16 h) Magnetic stirring	NSP	Englyst <i>et al.</i> (1982)
O'Dea(2)	1983	Ground	–	α-amylase, AMG (pH 5, 50 °C, 30 min)	Rate of SD	O'Dea & Wong (1983)
Jenkins(2)	1984	Crumbed/ground	–	Human saliva (37 °C, 3 h) Dialysis bag suspended in stirred water bath	Rate of SD	Jenkins <i>et al.</i> (1984)
Englyst(2)	1984	Ball-milled/homogenised	–	α-amylase, pullulanase (pH 5.2, 45 °C, 16–18 h) Magnetic stirring	NSP	Englyst & Cummings (1984)
Karkalas	1985	Sieved (0.8 mm)	–	α-amylase, (85 °C, 30 min), AMG (pH 4.6, 60 °C, 30 min) Glass beads, occasional manual shaking	TS	Karkalas (1985)
Berry	1986	Ground	–	α-amylase, pullulanase (42 °C, 16 h), AMG (pH 4.5, 65 °C, 60 min) Shaking water bath	RS	Berry (1986)
Englyst(3)	1986	Ball-milled/homogenised	–	α-amylase, pullulanase (pH 5.2, 45 °C, 16–18 h) Magnetic stirring	RS	Englyst & Cummings (1986)
Holm	1986	Milled (0.8 mm)	Pepsin (pH 1.5, 37 °C, 1 h)	Termamyl (100°C, 15 min), AMG (pH 4.75, 60 °C, 30 min) Manual mixing every 5 min	TS	Holm <i>et al.</i> (1986)
Heaton	1988	–	–	Pancreatin (pH 6.5, 37 °C, 3 h)	Rate of SD	Heaton <i>et al.</i> (1988)
Granfeldt(1)	1991	Homogenised/chewed (~15x in ~15 s)	Pepsin (pH 1.5, 37 °C, 1 h)	α-amylase (pH 6.9, 37 °C, 3 h) Dialysis bag suspended in stirred beaker	Rate of SD	Granfeldt & Bjorck (1991)
Granfeldt(2)	1992	Chewed (~15x in ~15s)	Pepsin (pH 1.5, 37 °C, 30 min)	α-amylase (pH 6.9, 37 °C, 3 h) Dialysis bag suspended in stirred beaker	Rate of SD	Granfeldt <i>et al.</i> (1992)
Champ	1992	Milled/ground/homogenised	–	α-amylase (pH 6.9, 37 °C, 16 h), AMG (pH 4.5, 65 °C, 90 min) or just AMG (pH 4.75 60 °C, 30 min) Mixing/shaking	RS	Champ (1992)
Brighenti(1)	1992	Ottawa Instron Cell (0.6 mm), sal. α-amylase (pH 6.9, 5 min)	Pepsin (pH 2, 37 °C, 1 h)	Pancreatin (pH 6.9, 37 °C, 5 h) Dialysis bag suspended in stirred water bath	Rate of SD	Brighenti <i>et al.</i> (1992)

Εικόνα 1.6. Περίληψη των *in vitro* μεθόδων (Woolnough *et al*, 2008)

τροφίμων έχουν τις εξελικτικές τους ρίζες σε προηγούμενες τεχνικές για την ανάλυση των διαιτητικών ινών, το σύνολο των υδατανθράκων και το ανθεκτικό άμυλο στα τρόφιμα. Στην Εικόνα 1.5. φαίνεται η εξελικτική σχέση κάποιων σύγχρονων και συχνά αναφερόμενων μεθόδων *in vitro* πέψης υδατανθράκων. Στις Εικόνες 1.6. και 1.7 παρουσιάζεται μια περίληψη των *in vitro* μεθοδολογιών από την πρώτη προσπάθεια *in vitro* προσέγγισης του Southgate (1969) μέχρι πολύ πρόσφατες μεθοδολογίες όπως του Monro (2008) (Woolnough *et al*, 2008).

Οι τιμές του γλυκαιμικού δείκτη των τροφίμων που προορίζονται για τη βάση των επιλογών του γλυκαιμικού ελέγχου πρέπει να βασίζεται σε κλινικές μετρήσεις της απόκρισης των

τροφίμων σε ανθρώπους. Ωστόσο, δεδομένου ότι οι κλινικές μελέτες δεν αποτελούν πρακτική μέθοδο για καθημερινή εφαρμογή, μια πολλά υποσχόμενη μέθοδος είναι η *in vitro* πέψη (Ferrer-Mairal *et al*, 2011). Οι *in vitro* μεθοδολογίες προσομοιάζουν τις φυσιολογικές συνθήκες και την ακολουθία των γεγονότων που συμβαίνουν κατά την πέψη στον γαστρεντερικό σωλήνα του ανθρώπου. Σε πρώτο στάδιο, μια *in vitro* μεθοδολογία πέψης ενός τροφίμου, αντικατοπτρίζει τις φυσικοχημικές διεργασίες που λαμβάνουν χώρα κατά τη διάρκεια της πέψης, λαμβάνοντας υπόψη τρία σημεία του ανθρώπινου πεπτικού συστήματος (το στόμα, το στομάχι και το έντερο). Κύρια χαρακτηριστικά των *in vitro* μεθόδων είναι η θερμοκρασία, η ανακίνηση ή η ανάδευση, η χημική και ενζυμική σύνθεση του σιέλου, του γαστρικού υγρού, του υγρού του δωδεκαδάκτυλου και του υγρού της χολής (Fernández-García, Carvajal-Lérida, Pérez-Gálvez, 2009). Οι Boisen και Eggum (1991) ανέφεραν ότι οι *in vitro* μεθοδολογίες μπορούν να σχεδιαστούν ώστε να χρησιμοποιηθούν ειδικά ένζυμα είτε για να δοθούν οι τιμές μέγιστης πεπτικότητας για να μετρηθεί ο αρχικός ρυθμός υδρόλυσης. Όταν δεν αναπαράγονται οι φυσικές διεργασίες που συμβαίνουν *in vivo* (ανάμιξη, ενυδάτωση, αλλαγές στις συνθήκες του χρόνου διέλευσης, ενυδάτωση, περισταλτικές κινήσεις), το *in vitro* γαστρεντερικό μοντέλο ορίζεται στατικό ή βιοχημικό μοντέλο. Τα δυναμικά μοντέλα μιμούνται τις *in vivo* φυσικές διεργασίες ώστε να λαμβάνουν υπόψη νέες μεταβλητές, όπως οι αλλαγές του ιξώδους της πεπτόμενης τροφής, η μείωση του μεγέθους των σωματιδίων, η διάχυση και ο διαχωρισμός των θρεπτικών συστατικών. Κατά την εφαρμογή ενός *in vitro* γαστρεντερικού μοντέλου, τα θρεπτικά συστατικά ή οι βιοενεργές ενώσεις μπορούν να παρακολουθούνται ώστε να προσδιοριστεί κατά πόσο επηρεάζονται από τις συνθήκες πέψης (pH, παρουσία ενζύμων) ή αν αλληλεπιδρούν με άλλα συστατικά (ίνες, πολυεστέρες σακχαρόζης, υποκατάστατα λίπους), που θα μπορούσαν να επηρεάσουν την αποτελεσματικότητα της πέψης (Fernández-García, Carvajal-Lérida, Pérez-Gálvez, 2009). Είναι πιο ρεαλιστικό λοιπόν, στα *in vitro* μοντέλα πέψης να χρησιμοποιούνται μίγματα σύνθετων ενζύμων. Η χρήση ενός καθορισμένου ενζύμου (π.χ. αμυλάση) παρουσιάζει πλεονεκτήματα στην τυποποίηση μιας *in vitro* μεθοδολογίας για την πέψη ενός μόνο θρεπτικού συστατικού (π.χ. αμύλου) (Hur *et al*, 2011).

Οι τρόποι με τους οποίους οι συνθήκες προσομοιώνονται σε κάθε μέθοδο διαφέρουν σημαντικά. Στις εικόνες 1.7 και 1.8 παρουσιάζεται μια περίληψη των *in vitro* μεθόδων από το 1969 μέχρι το 2008 (Woolnough *et al*, 2008). Οι *in vitro* μεθοδολογίες είναι οικονομικές, μη επεμβατικές και εφαρμόζονται ταυτόχρονα σε μεγάλο αριθμό δειγμάτων. Μια καθολική τυποποιημένη μέθοδος δεν έχει, μέχρι στιγμής, εγκριθεί από τις διάφορες

χρησιμοποιούμενες μεθοδολογίες και υπάρχουν μεγάλες αποκλίσεις στις συσχετίσεις μεταξύ των *in vivo* και *in vitro* μεθοδολογιών. Κατά τη διάρκεια της ανάπτυξης ενός νέου προϊόντος διατροφής, συνιστώνται *in vitro* μετρήσεις του γλυκαιμικού δυναμικού του (Ferrer-Mairal *et al*, 2011).

Method name	Year	Oral phase	Gastric phase	Intestinal phase	Measured	Reference
Englyst(4)	1992	Minced (plate 0.9 cm)	–	Pancreatin, AMG, inv. (pH 5.2, 37 °C, 2 h) Glass balls, shaking water bath	Rate of CD, RS	Englyst <i>et al.</i> (1992)
Muir(1)	1992	Chewed	Pepsin (pH 2, 37 °C, 30 min)	α -amylase, AMG (pH 5, 37 °C, 6 h) Shaking water bath	RS	Muir & O’Dea (1992)
Muir(2)	1993	Chewed	Pepsin (pH 2, 37 °C, 30 min)	α -amylase, AMG (pH 5, 37 °C, 21 h) Shaking water bath	RS	Muir & O’Dea (1993)
Muir(3)	1995	Chewed	Pepsin (pH 2, 37 °C, 30 min)	α -amylase, AMG (pH 5, 37 °C, 15 h) Shaking water bath	RS	Muir <i>et al.</i> (1995)
Silvester	1995	Milled/crumbed/mashed	Pepsin (pH 2, 37 °C, 30 min)	α -amylase, AMG, inv. (pH 5.2, 37 °C, 2 h) Glass balls, shaking water bath	RS	Silvester (1995)
Brighenti(2)	1995	Kramer Cell (3 mm), sal. α -amylase (pH 6.9, 5 min)	Pepsin (pH 2, 37 °C, 1 h)	Pancreatin (pH 6.9, 37 °C, 5 h) Glass balls, inversion every 15 min	Rate of CD	Brighenti <i>et al.</i> (1995)
Brennan(1)	1996	Domestic Food Processor (30 s)	Pepsin (pH 1.5, 37 °C, 10 min)	α -amylase (pH 6.9, 37 °C, 5 h) End-over-end rotation	Rate of SD	Brennan <i>et al.</i> (1996)
Goni	1997	Homogenised	Pepsin (pH 1.5, 40 °C, 1 h)	α -amylase (pH 6.9, 37 °C, 3 h), AMG (pH 4.75, 60 °C, 45 min) Shaking water bath	Rate of SD	Goni <i>et al.</i> (1997)
Brighenti(3)	1998	Sieved (1.5 mm)	–	α -amylase (pH 6.9, 37 °C, 16 h), AMG (pH 4.5, 65 °C, 90 min) Mixing/shaking	RS, TS	Brighenti <i>et al.</i> (1998)
Akerberg	1998	Chewed (~15x in ~15 s)	Pepsin (pH 1.5, 37 °C, 30 min)	Pancreatin, AMG (pH 5, 40 °C, 16 h) Magnetic stirring	AS, RS, DF	Akerberg <i>et al.</i> (1998)
Lebet	1998	Ground/milled (0.5 mm), sal. α -amylase (pH 6.9, 37 °C, 15 min)	Pepsin (pH 2, 37 °C, 30 min)	Pancreatin (pH 6.9, 37 °C, 26 h) Magnetic stirring	RS	Lebet <i>et al.</i> (1998)
Urooj	1999	Ground/powdered (60 mesh)	–	Pancreatin, human saliva (37 °C, 3 h) Dialysis bag suspended in stirred water bath	Rate of SD	Urooj & Puttraj (1999)
Englyst(5)	1999	Minced (plate 0.9 cm)/crushed/broken	Pepsin-guar gum (pH 2, 37 °C, 30 min)	Pancreatin, AMG, inv. (pH 5.2, 37 °C, 2 h) Shaking water bath	Rate of CD	Englyst <i>et al.</i> (1999)
Weurding	2001	Milled (1 mm)	Pepsin (37 °C, 30 min)	Pancreatin, AMG, inv. (pH 5.2, 37 °C, 6 h) Shaking water bath	Rate of CD	Weurding <i>et al.</i> (2001)
Araya	2002	Minced (<1 cm)	–	Pancreatin, AMG, inv. (pH 5.2, 37 °C, 3 h) Glass balls, shaking water bath	Rate of CD	Araya <i>et al.</i> (2002)
Brennan(2)	2002	Cut (~1 mm ³)	Pepsin (pH 1.5, 37 °C, 10 mins)	α -amylase (pH 6.9, 37 °C, 90 min) Shaking water bath	Rate of SD	Brennan <i>et al.</i> (2002)
Brennan(3)	2007	Cut (~1 cm ³)	Pepsin (pH 1.5, 37 °C, 30 min)	α -amylase (pH 6.9, 37 °C, 5 h) Manual agitation every 15 min	Rate of SD	Brennan <i>et al.</i> (2007)
Monro	2008	Sieved, α -amylase	Pepsin (pH 2.5, 37 °C, 30 min)	Pancreatin, AMG (pH 6, 37 °C, 2 h) Magnetic stirring	Rate of CD	Mishra <i>et al.</i> (2008)

Εικόνα 1.7. Περίληψη των *in vitro* μεθόδων (Woolnough *et al*, 2008)

1.4.1 Περιγραφή *in vitro* μεθοδολογίας

1.4.1.1. Στοματική φάση

Στην *in vivo* πέψη, η στοματική φάση συνεπάγεται κατά κύριο λόγο τη μηχανική αποδιοργάνωση των τροφίμων. Με τη μηχανική κατάρρευση, υπάρχει ταυτόχρονος εμποτισμός των σιελογόνων αδένων, ένας βαθμός υδρόλυσης του αμύλου από την α -

αμυλάση, και σχηματισμός μάζας πριν από την κατάποση. Αντί να προσομοιώσουν την *in vivo* στοματική διαδικασία, μερικές *in vitro* μέθοδοι περιλαμβάνουν το πραγματικό μάζημα των δειγμάτων των τροφίμων από εθελοντές. Οι Akerberg *et al* για παράδειγμα, στη μέτρηση των κύριων μορφών ανθεκτικού αμύλου στα τρόφιμα, είχαν μια σειρά από εθελοντές που, μετά από βούρτσισμα των δοντιών τους, μασούσαν μια ποσότητα δείγματος τροφής που αντιστοιχεί συνολικά σε 1g αμύλου, δεκαπέντε φορές για περίπου 15s. Παρομοίως, οι Muir *et al* χρησιμοποιούσαν εθελοντές για να μασήσουν ένα έτοιμο δείγμα τροφίμου μέχρι το στάδιο λίγο πριν την κατάποση, οπότε το τρόφιμο απομακρυνόταν από το στόμα και ένα δείγμα ζυγιζόταν ώστε να περιέχει περίπου 0,1 g υδατανθράκων. Η διαδικασία της μάζησης έχει προσομοιωθεί σε ορισμένες μεθόδους με τη χρήση κοσκίνων διαφόρων διαμετρημάτων, κρεατομηχανών ή μεταποιητών τροφίμων. Σε περιπτώσεις που το μέγεθος του τροφίμου που καταναλώνεται δεν επηρεάζει την ανάλυση, τα δείγματα μπορεί να αλεστούν ή να ομογενοποιηθούν. Η μάζηση των δειγμάτων των τροφίμων από εθελοντές πριν την *in vitro* πέψη εκθέτει τα τρόφιμα σε α-αμυλόλυση από το σάλιο. Στην προσπάθεια να προσομοιαστούν οι φυσιολογικές συνθήκες, αρκετοί αναλυτές έχουν ενσωματώσει μια σύντομη διαδικασία με α-αμυλάση στη στοματική φάση της μεθόδου τους. Ο Brighenti προσομοίωσε τη διαδικασία της μάζησης με τη διέλευση των δειγμάτων των τροφίμων μέσω μιας κυψέλης Kramer (άνοιγμα 3mm) που ακολουθούταν από μια προ-επάωση με α-αμυλάση από ανθρώπινο σάλιο σε pH 6.5 για 5 λεπτά. Λίγα χρόνια αργότερα (1998) οι Lebet *et al*, με αναφορά στη μέθοδο του Brighenti (1992) επάωζαν τα τρόφιμα με ανθρώπινη α-αμυλάση σε pH 6.9, στους 37° C για 15 λεπτά. Οι μέθοδοι των Urooj και Monro περιλαμβάνουν επίσης επάωση με ανθρώπινο σάλιο ή α-αμυλάση, αντίστοιχα (Woolnough *et al*, 2008).

1.4.1.2. Γαστρική φάση

Η πέψη του πρωτεϊνικού περιεχομένου ενός γεύματος είναι η θεμελιώδης διαδικασία που συμβαίνει εντός των όξινων ορίων του στομάχου. Η επακόλουθη περιοδική κένωση του προκύπτοντος χυμού προς το δωδεκαδάκτυλο είναι μια διαδικασία που εξαρτάται από διάφορους παράγοντες, συμπεριλαμβανομένης της ποσότητας του τροφίμου και του ιξώδους του. Ένα βήμα πρωτεόλυσης με πεψίνη άρχισε να ενσωματώνεται σε πρωτόκολλα *in vitro* ως ένας φυσιολογικός τρόπος για την πληρέστερη πέψη του αμύλου μέσω της διαταραχής της δομής των τροφίμων που εξαρτάται από τις πρωτεΐνες και των αλληλεπιδράσεων μεταξύ αμύλου και πρωτεϊνών, κυρίως σε αναλύσεις ολικού και ανθεκτικού αμύλου (Woolnough *et al*, 2008).

Η ταχεία μέθοδος του Holm για την ανάλυση του αμύλου σε δημητριακά περιελάμβανε 60 λεπτά επώασης με πεψίνη σε pH 1.5 και θερμοκρασία 37°C. Ο ίδιος είχε αποδείξει παλαιότερα μια σημαντική αύξηση της ευαισθησίας τόσο του ακατέργαστου όσο και του βρασμένου σιταριού στην α-αμυλάση όταν ακολουθούσε προεπώαση με πεψίνη. Η *in vitro* μέθοδος του Granfeldt περιελάμβανε πέψη με πεψίνη κατά την οποία μασημένα δείγματα απορρίπτονταν σε δοχεία τα οποία περιείχαν διάλυμα πεψίνης και επώαζονταν για 30 λεπτά σε pH 1.5 και θερμοκρασία 37°C. Η ένταξη ενός βήματος με πεψίνη στη μέθοδο του Granfeldt βασιζόταν στα ευρήματα ότι οι αλληλεπιδράσεις μεταξύ αμύλου και πρωτεϊνών περιόριζαν την ευαισθησία του αμύλου στην α-αμυλόλυση *in vitro*. Βασισμένοι σε αυτά τα ευρήματα, οι Brighenti *et al* οξίνισαν δείγματα μακαρονιών σε pH 2.0 με HCl και τα επώασαν με 575U ανά γραμμάριο αμύλου για 1 ώρα. Η μέθοδος των Muir & O’Dea περιέγραψε επώαση για μισή ώρα με πεψίνη σε θερμοκρασία 37°C και pH 2.0 η οποία εκτελέστηκε σε ένα ανακινούμενο υδατόλουτρο. Η μέθοδος του Englyst για τον προσδιορισμό των κλασμάτων απαραίτητου αμύλου δεν περιείχε στάδιο με πρωτόλυση της πεψίνης. Μεταγενέστερες μέθοδοι του Englyst (1995, 1999) περιείχαν ένα στάδιο επώασης των δειγμάτων με πεψίνη για 30 λεπτά σε pH 2.0 σε ανακινούμενο υδατόλουτρο. Πολλές άλλες *in vitro* μέθοδοι που αναφέρθηκαν το 1990 ενσωμάτωναν ένα στάδιο πρωτόλυσης, το οποίο εκτελείτο σε συνθήκες που προσομοίωναν την *in vivo* μέθοδο. Παρόλα αυτά σε πολλές μελέτες τα τρόφιμα υποβάλλονταν σε ένα αρχικό στάδιο μάσησης το οποίο ακολουθούσε αμέσως μια α-αμυλολυτική πέψη στην εντερική φάση (Woolnough *et al*, 2008).

1.4.1.3. Εντερική φάση

Μετά την εκκένωση μέσω του πυλωρικού άντρου από το δωδεκαδάκτυλο ο χυμός αναμειγνύεται με τις δραστικές εκκρίσεις του παγκρέατος που περιέχουν α-αμυλάση. Το άμυλο υδρολύεται καθώς ο χυμός προωθείται μέσω του λεπτού εντέρου με περισταλτικές συστολές. Τα ένζυμα που είναι ενσωματωμένα στα τείχη του λεπτού εντέρου βοηθούν στην πλήρη υδρόλυση των θραυσμάτων του αμύλου, της μαλτόζης, της φρουκτόζης και της λακτόζης στους μονοσακχαρίτες τους. Οι μονοσακχαρίτες στη συνέχεια απορροφώνται στο αίμα και έτσι συμβάλλουν στη γλυκαιμική απόκριση. Κατά τη διάρκεια της εντερικής φάσης όλων των *in vitro* συστημάτων το θεμελιώδες γεγονός είναι η υδρόλυση των δειγμάτων με α-αμυλόλυση μεταξύ των ορίων των φυσιολογικών παραμέτρων. Ανάλογα με το τι προσπαθεί η κάθε μέθοδος να μετρήσει τα δείγματα λαμβάνονται σε συγκεκριμένα χρονικά σημεία για τη μέτρηση του ρυθμού της πέψης των υδατανθράκων. Για τον προσδιορισμό των διαθέσιμων υδατανθράκων πρέπει να λαμβάνονται δείγματα στο τέλος της περιόδου

υδρόλυσης. Επίσης, για το διαχωρισμό εύπεπτων υδατανθράκων από το ανθεκτικό άμυλο και τις φυτικές ίνες δεν χρειάζεται να λαμβάνονται δείγματα σε όλη τη διάρκεια της υδρόλυσης, και στη συνέχεια ποσοτικοποιούνται. Οι Jenkins *et al* μελέτησαν της συνολική συγκέντρωση των σακχάρων που απελευθερώθηκαν από διάφορα τρόφιμα σε χρονικό διάστημα τριών ωρών. Η ποσότητα των σακχάρων εκφράστηκε ως ποσοστό σε σχέση με το λευκό ψωμί προσδίδοντας έτσι σε κάθε τρόφιμο ένα δείκτη πεπτικότητας από τον οποίο βαθμολογήθηκε. Οι Englyst *et al* πραγματοποίησαν πέψη τεμαχισμένων τροφίμων σε σωλήνες με μείγμα ενζύμων που περιείχε παγκρεατίνη, αμυλογλυκοζιδάση και ιμπερτάση. Το ιξώδες των τροφίμων έχει προσδιοριστεί με προσθήκη σκόνης κόμμεως γκουάρ και ανάμειξη. Η υδρόλυση πραγματοποιήθηκε σε pH 5.2 και θερμοκρασία 37°C για περισσότερο από 2 ώρες με 0.5 ml δείγματος να λαμβάνεται στα 20 και 120 λεπτά. Οι αρχές των μεθόδων του Englyst του 1992 είχαν ήδη περιγραφεί σε μια δημοσίευση του 1990. Τα δείγματα της υδρόλυσης που λαμβάνονται στα 20 και 120 λεπτά επέτρεψαν στον Englyst να περιγράψει τα κλάσματα του εύπεπτου αμύλου όπως αυτά καθορίστηκαν από το ρυθμό της πέψης τους, το RDS, το SDS και το RS. Οι *in vitro* τιμές για το RDS και το SDS που προέκυψαν με τη μέθοδο του Englyst αντανακλούν το ρυθμό της πέψης του αμύλου *in vivo*. Επιπλέον οι τιμές για το RS ήταν παρόμοιες με τις ποσοότητες του αμύλου που διέφυγε της πέψης στο λεπτό έντερο. Οι μέθοδοι του Englyst (1990, 1992) για τον προσδιορισμό των θρεπτικά απαραίτητων κλασμάτων αμύλου ήταν μια σημαντική συμβολή στην εξελικτική ανάπτυξη των *in vitro* μεθόδων με την ορολογία που εισήγαγαν να χρησιμοποιείται ευρέως από τότε (Woolnough *et al*, 2008).

Σε μεθόδους που περιέχουν γαστρική φάση η εντερική πέψη ξεκινάει μετά την προσθήκη διαλύματος για την αύξηση του pH. Μετά την εξουδετέρωση με 4M NaOH και την προσθήκη οξικού ρυθμιστικού διαλύματος (pH 5.0) οι Muir *et al* (1993) πραγματοποιούσαν υδρόλυση σε δείγματα γευμάτων τα οποία διέφεραν ως προς το περιεχόμενό τους σε ανθεκτικό άμυλο με ένα ενζυμικό μείγμα αποτελούμενο από 10mg α-αμυλάσης και 28U αμυλογλυκοζιδάσης. Τα δείγματα επωάζονταν σε θερμοκρασία 37°C μέχρι και 21 ώρες για να απομονωθεί το κλάσμα του ανθεκτικού αμύλου. Οι Muir *et al* πέτυχαν μια καλή *in vitro* πρόβλεψη της ποσότητας του αμύλου σε γραμμάρια που πιθανόν θα διέφευγε της πέψης του λεπτού εντέρου. Οι Goni *et al* εισήγαγαν μια εντερική φάση επώασης σε pH 6.9 με προσθήκη Tris-Malate ρυθμιστικού διαλύματος. Τα δείγματα στη συνέχεια υποβλήθηκαν σε πέψη με α-αμυλάση σε ένα ανακινούμενο υδατόλουτρο (37°C) με 1 ml δείγματος να λαμβάνεται κάθε 30 λεπτά κατά τη διάρκεια μιας πέψης 3 ωρών. Μια δεύτερη πέψη εκτελέστηκε για κάθε 1 ml διαλύματος με προσθήκη 3 ml διαλύματος οξικού νατρίου και

60 μl αμυλογλυκοζιδάσης για την υδρόλυση των κλασμάτων του αμύλου στη γλυκόζη. Όμοια, η Goni μέτρησε το ρυθμό της πέψης του αμύλου σε διάφορα τρόφιμα ευρείας κατανάλωσης. Η ποσότητα του πεπτώμενου αμύλου σε κάθε χρονικό σημείο εκφραζόταν ως ποσοστό επί του συνολικού αμύλου. Οι περιοχές κάτω από τις καμπύλες υδρόλυσης (AUC) για κάθε τρόφιμο υπολογίζονταν και συγκρίνονταν με μια καμπύλη αναφοράς λευκού ψωμιού δημιουργώντας έναν δείκτη υδρόλυσης (HI) για τα τρόφιμα. Οι Goni *et al* συνέκριναν το ποσοστό του συνολικού υδρολυόμενου αμύλου σε διαφορετικά χρονικά σημεία για τα τρόφιμα με τις GI τιμές των τροφίμων αυτών. Μια σημαντική συσχέτιση είχε βρεθεί στα 90 λεπτά της πέψης και η Goni συμπέρανε ότι η μέτρηση της γλυκόζης που απελευθερώνεται στα 90 λεπτά *in vitro* θα παρείχε μια καλή εκτίμηση του γλυκαιμικού δείκτη των τροφίμων. Οι Brigheti *et al* (1995) διερεύνησαν τον *in vitro* ρυθμό της πέψης του αμύλου σε τρόφιμα που διέφεραν ως προς τη βοτανική προέλευση και το είδος της επεξεργασίας τους. Μετά από μια ώρα γαστρικής πέψης τα δείγματα μεταφέρονταν σε σακούλες διάλυσης, το pH της επώασης προσαρμοζόταν σε 6.9 με προσθήκη 8M NaOH και 50U παγκρεατίνης χοίρων ανά γραμμάριο αμύλου. Οι περισταλτικές κινήσεις προσομοιώνονταν με εισαγωγή γυάλινων σφαιριδίων και αναστροφή των σωλήνων διάλυσης κάθε 15 λεπτά. Η υδρόλυση πραγματοποιούνταν σε θερμοκρασία 37°C για περισσότερες από 5 ώρες με λήψη 1ml δείγματος κάθε 30 λεπτά. Ο ρυθμός της πέψης του αμύλου μετρήθηκε ως το ποσό των αναγόμενων σακχάρων στα δείγματα που λήφθηκαν και εκφράστηκε ως ποσοστό των ολικών διαθέσιμων υδατανθράκων. Ένας δείκτης διάχυσης σακχάρων βασιζόμενος στο ποσοστό της διαχεόμενης μαλτόζης σε όλο το περιεχόμενο των σωλήνων είτε στο δείγμα, είτε στο δείγμα αναφοράς αποδόθηκε σε κάθε τρόφιμο και υπολογίστηκε το ποσοστό του αμύλου που απορροφήθηκε από τα τρόφιμα σε κάθε χρονική στιγμή. Για όλα τα τρόφιμα δημιουργήθηκαν ένας δείκτης αναγωγικών σακχάρων και ένας δείκτης πεπτώμενου αμύλου, βασισμένοι στη σύγκριση με ισοδύναμες τιμές αναφοράς από λευκό ψωμί. Καλές συσχετίσεις βρέθηκαν μεταξύ των GI τροφίμων και των δεικτών των αναγωγικών σακχάρων τους στα 150 λεπτά, των δεικτών διάχυσης σακχάρων τους στα 270 λεπτά και των δεικτών πέψης αμύλου τους στα 120 λεπτά. Η *in vitro* μέθοδος των Akerberg *et al* μετρούσε κυρίως το περιεχόμενο των τροφίμων σε ανθεκτικό άμυλο αλλά παράλληλα επέτρεπε τον προσδιορισμό του εν δυνάμει διαθέσιμου αμύλου, καθώς και των φυτικών ινών. Τα δείγματα τοποθετούνταν σε γυάλινα ποτήρια ζέσεως με μαγνητικούς αναδευτήρες και πραγματοποιείτο εξαντλητική πέψη σε pH 5.0 και θερμοκρασία 40°C με ένα ενζυμικό μίγμα παγκρεατίνης και αμυλογλυκοζιδάσης για μια περίοδο 16 ωρών υπό αργή συνεχή ανάδευση (100 RPM). Στο τέλος της πέψης τα δείγματα

φιλτράρονταν για το διαχωρισμό των υγρών και των στερεών συστατικών τους. Η γλυκόζη του απορροφούμενου αμύλου μετρήθηκε στο υγρό της υδρόλυσης και εκφράστηκε σε γραμμάρια ανά 100 γραμμάρια ολικού αμύλου. Η άλεση, η διαλυτοποίηση και η δευτερογενής πέψη των στερεών υπολειμμάτων επέτρεψαν την ποσοτικοποίηση του ανθεκτικού αμύλου, η οποία επίσης εκφράστηκε σε μία βάση 1g/ 100g ολικού αμύλου. Οι μετρήσεις του ανθεκτικού αμύλου συσχετίστηκαν με *in vivo* τιμές ανθεκτικού αμύλου για τα ίδια ή παρόμοια τρόφιμα που ήταν ήδη διαθέσιμες στη βιβλιογραφία και βρέθηκε μια καλή συσχέτιση (Woolnough *et al*, 2008).

1.4.2.Ανάγκη για τυποποίηση

Είναι πολύ σημαντικό να εντοπιστεί η απόκλιση που υπάρχει μεταξύ των *in vitro* πρωτοκόλλων στη μεθοδολογία. Ενώ οι μέθοδοι γενικά περιλαμβάνουν στοματική, γαστρική και εντερική φάση της πέψης που εκτελούνται εντός φυσιολογικών ορίων, ο τρόπος με τον οποίο προσομοιώνουν τις *in vivo* συνθήκες διαφέρει. Είναι πιθανό οι διαφορετικές αυτές προσομοιώσεις να οδηγούν σε διαφορετικές αντίστοιχα γλυκαιμικές εκτιμήσεις για κάθε τρόφιμο. Ως εκ τούτου, για το σκοπό της επίτευξης μιας τυποποιημένης μεθόδου κατάλληλης για ενδεχόμενη εφαρμογή στη βιομηχανία τροφίμων, στη διατροφική επισήμανση σε ετικέτες πρέπει να πραγματοποιηθεί μια συστηματική έρευνα των μεθοδολογικών παραγόντων που προκαλούν τη διακύμανση στις γλυκαιμικές εκτιμήσεις (Woolnough *et al*, 2008).

Ο χρόνος πέψης σε κάθε ένα από τα τρία στάδια είναι πολύ σημαντικός παράγοντας για το σχεδιασμό ενός κατάλληλου μοντέλου *in vitro* πέψης. Ο *in vivo* χρόνος πέψης εξαρτάται από τα ατομικά χαρακτηριστικά (ηλικία, φύλο, κατάσταση υγείας, ψυχική κατάσταση, ώρα της ημέρας) και τις ιδιότητες του τροφίμου (συνολική ποσότητα, σύνθεση, μέγεθος μερίδας μέγεθος των σωματιδίων) και μπορεί να ποικίλει σημαντικά μεταξύ των ατόμων (Hur *et al*, 2011). Στα *in vitro* μοντέλα πέψης ο χρόνος διέλευσης ή πέψης πρέπει να είναι μικρότερος σε δείγματα τροφίμων με λίπος συγκριτικά με φυτικά δείγματα τροφίμων. Οι πραγματικές ή προσομοιωμένες τεχνικές μασήματος που χρησιμοποιούνται κατά τη στοματική φάση της πέψης διαφέρουν μεταξύ των μεθόδων, με αποτέλεσμα κάθε μέθοδος να υποβάλλει τα τρόφιμα σε πέψη σε διαφορετική κατανομή του μεγέθους των σωματιδίων. Το μέγεθος των σωματιδίων του τροφίμου, ένας παράγοντας που επηρεάζει τους *in vivo* και *in vitro* προσδιορισμούς του γλυκαιμικού δυναμικού, είναι σημαντικό σε μια τυποποιημένη μέθοδο με τα δείγματα του τροφίμου να παρέχονται στο μέγεθος που καταναλώνονται. Το μάσημα αποτελεί μια υποκειμενική διαδικασία που διαφέρει μεταξύ των ατόμων αλλά και μεταξύ των τροφίμων. Μια μελέτη κοορτής μπορεί να εισάγει την έκταση και το ρυθμό

διακύμανσης του πραγματικού μασήματος των τροφίμων από ανθρώπους. Ο ρυθμός και η έκταση της απελευθέρωσης των σακχάρων διαφέρει ανάλογα με τον αν τα τρόφιμα αλέθονται, καταναλώνονται φυσικά, κοσκινίζονται ή τεμαχίζονται. Η μέθοδος πρέπει να μπορεί να παράγει καμπύλες υδρόλυσης που σχετίζονται ισχυρά με τα *in vivo* αποτελέσματα για τα ίδια τρόφιμα. Οι αναλυτές καταλήγουν σε τεχνικές προσομοίωσης του μασήματος όπως τα κόσκινα, οι μηχανές κοπής και οι κρεατομηχανές, τα οποία είναι πιο εύκολο να τυποποιηθούν και να δημιουργήσουν καμπύλες υδρόλυσης με μεγαλύτερη ακρίβεια (Woolnough *et al*, 2008).

Μερικές πρόσφατες *in vitro* μεθοδολογίες ενσωματώνουν μια γαστρική φάση με πεψίνη, ενώ άλλες όχι. Η ιδανική διάρκεια της πέψης με πεψίνη *in vitro* απαιτεί έρευνα δεδομένου ότι ο *in vivo* ρυθμός γαστρικής κένωσης διαφέρει ανάλογα με το είδος του τροφίμου, την ποσότητα και την ποιότητά του. Χρήσιμο θα ήταν, ωστόσο, να προσδιοριστεί μια χρονική διάρκεια επώασης για ένα τρόφιμο ή ομάδα τροφίμων. Είναι αναγκαία η προσθήκη ενός βήματος επώασης με πεψίνη στο τυποποιημένο πρωτόκολλο για την ευθυγράμμιση των *in vitro* μεθοδολογιών, ιδιαίτερα σε τρόφιμα με υψηλή περιεκτικότητα σε πρωτεΐνη. Επίσης, η δραστηριότητα της πεψίνης, το pH, η θερμοκρασία επώασης και ο τρόπος ανάμιξης του μίγματος (ανακινούμενο υδατόλουτρο, δοχεία επώασης με μαγνητικό αναδευτήρα) αποτελούν παραμέτρους που μπορούν να επηρεάσουν τα *in vitro* αποτελέσματα (Woolnough *et al*, 2008).

Στην εντερική φάση της *in vitro* πέψης πολλά σημεία απαιτούν τυποποίηση, όπως η επιλογή και η συγκέντρωση των υδρολυτικών ενζύμων που θα χρησιμοποιηθούν (παγκρεατίνη ή α-αμυλάση). Το pH επώασης πρέπει να προσδιορίζεται με βάση τα ένζυμα που χρησιμοποιούνται, αντανακλώντας ταυτόχρονα και τις *in vivo* συνθήκες, ώστε να λαμβάνονται αποτελέσματα ύψιστης βιολογικής σημασίας. Ο σύντομος χρόνος διέλευσης ενός τροφίμου από το λεπτό έντερο μπορεί να περιορίσει την απορρόφηση των βιοδραστικών λιποφιλικών ενώσεων, μειώνοντας έτσι τη βιοδιαθεσιμότητά τους (Hur *et al*, 2011). Οι μεθοδολογίες που χρησιμοποιούν την παγκρεατίνη θα πρέπει να ενσωματώσουν σε ένα βαθμό και την πέψη των λιπιδίων, στο στάδιο προσθήκης της λιπάσης, των χολικών αλάτων ίσως και της παγκρεατίνης, για την *in vitro* πρόβλεψη, ιδιαίτερα τροφίμων υψηλής περιεκτικότητας σε λιπίδια και υδατάνθρακες. Οι αλληλεπιδράσεις που παρατηρούνται μεταξύ λιπιδίων-αμύλου διαδραματίζουν σημαντικό ρόλο στην ευαισθησία υδρόλυσης του αμύλου (Woolnough *et al*, 2008).

Ιδιαίτερα σημαντική είναι η διάρκεια επώασης και η συγκέντρωση των χρησιμοποιούμενων υδρολυτικών ενζύμων. Η αύξηση της διαιτητικής πρόσληψη πρωτεΐνης προκαλεί αυξημένη έκκριση των παγκρεατικών πρωτεολυτικών ενζύμων, ενώ η αύξηση της πρόσληψης αμύλου ή λιπιδίων συνεπάγεται αυξημένη έκκριση αμυλάσης και λιπάσης αντίστοιχα (Boisen & Eggum, 1991). Για παράδειγμα, αν η συγκέντρωση της ουσίας-στόχου (πρωτεΐνη, λιπίδιο, υδατάνθρακας) αυξάνεται, τότε η συγκέντρωση των ενζύμων ή ο χρόνος της πέψης πρέπει να αυξηθεί. ακόμα και αν η υπόλοιπη *in vitro* διαδικασία πέψης παραμένει η ίδια (Hur *et al*, 2011). Η τυποποιημένη επομένως μέθοδος, για την προσομοίωση της *in vivo* κατάστασης, πρέπει να χρησιμοποιεί μια περίσσεια ενζύμου, ώστε να μην περιορίζεται ο ρυθμός πέψης των υδατανθράκων (Woolnough *et al*, 2008).

Η επίδραση του ιξώδους του τροφίμου, της *in vitro* μεθοδολογίας, στη γλυκαιμική απόκριση *in vivo* θα μπορούσε να ποσοτικοποιηθεί με τη χρήση συντελεστών διόρθωσης στα *in vitro* δεδομένα. Η επίδραση των τεχνικών ανάδευσης και ανακίνησης στο ρυθμό υδρόλυσης πρέπει να μελετηθούν για την ταυτοποίηση της πιο αξιόπιστης μεθόδου. Κάθε τυποποιημένη μέθοδος πρέπει να εκτιμά το γρήγορα και αργά εύπεπτο άμυλο (RDS και SDS αντίστοιχα) καθώς και τα κλάσματα του ανθεκτικού αμύλου (RS) που σχετίζονται ικανοποιητικά με τα *in vivo* δεδομένα (Woolnough *et al*, 2008).

1.4.3. Συσχέτιση *in vivo* – *in vitro*

Η συσχέτιση των *in vivo* - *in vitro* αποτελεσμάτων είναι ένα προγνωστικό μαθηματικό μοντέλο που περιγράφει τη σχέση της *in vitro* ιδιότητας μιας δόσης και της σχετικής απόκρισης *in vivo*. Γενικά, η *in vitro* ιδιότητα είναι ο ρυθμός ή η έκταση της διάλυσης ή απελευθέρωσης ενός φαρμάκου/συστατικού ενώ η *in vivo* απόκριση είναι η συγκέντρωση του φαρμάκου/συστατικού στο πλάσμα ή η ποσότητα του φαρμάκου/συστατικού που απορροφάται, όπως ορίζεται από τον Οργανισμό Τροφίμων και Φαρμάκων των Η.Π.Α. (Emami, 2006). Οι συσχετίσεις μεταξύ *in vivo* και *in vitro* αποτελεσμάτων σε μοντέλα συστήματα πέψης είναι ιδιαίτερα σημαντικές. Λίγες μελέτες έχουν αξιολογήσει τη συσχέτιση *in vivo*- *in vitro* σε δείγματα τροφίμων. Οι Brandon *et al* (2006) αναφέρουν ότι τα μοντέλα *in vitro* πέψης που αναπτύσσονται για τα τρόφιμα θα μπορούσαν να επικυρωθούν εάν συσχετιστούν με τη βιοπροσβασιμότητα από τα δεδομένα μελετών σε ανθρώπους ή σε πειραματόζωα. Η επικύρωση του ανεπτυγμένου *in vitro* μοντέλου πέψης για καταναλωτικά προϊόντα είναι δύσκολη, γιατί τα *in vivo* δεδομένα από καταναλωτικά προϊόντα είναι λιγοστά. Ακόμα μια προσπάθεια να εξεταστεί η σχέση μεταξύ των *in vitro* αποτελεσμάτων της πέψης υδατανθράκων και του γλυκαιμικού δείκτη πραγματοποιήθηκε από τους Araya *et al* (2002) που χρησιμοποίησαν την ενζυματική μέθοδο του Englyst. Τα αποτελέσματα

εκφράστηκαν ως (μέση τιμή \pm τυπική απόκλιση) και η συσχέτιση των αποτελεσμάτων πραγματοποιήθηκε με τη μέθοδο του Spearman's rho.

1.5.Επιπολασμός του Σακχαρώδη διαβήτη

Η ραγδαία αύξηση του Σακχαρώδη Διαβήτη αποτελεί ένα μείζον ζήτημα δημόσιας υγείας, λόγω της αυξημένης συχνότητας εμφάνισης της παχυσαρκίας και του καθιστικού τρόπου ζωής (Wolf *et al*, 2001). Στην Ευρώπη αποτελεί την τέταρτη κύρια αιτία θανάτου, ενώ στις Η.Π.Α. την έβδομη. Ο Σακχαρώδης Διαβήτης αποτελεί παράγοντα κινδύνου για καρδιαγγειακές παθήσεις και θεωρείται η κύρια αιτία νεφρικής ανεπάρκειας, ακρωτηριασμού των κάτω άκρων και περιστατικών τύφλωσης σε ενήλικες, μια σοβαρή διαβίου κατάσταση. Συνολικά, ο κίνδυνος θανάτου μεταξύ των ατόμων με διαβήτη είναι περίπου διπλάσιος από αυτό των ατόμων χωρίς διαβήτη παρόμοιας ηλικίας. Ο βέλτιστος έλεγχος του σακχαρώδη διαβήτη θα πρέπει να αποτελέσει ένα θέμα υψίστης σημασίας στην πολιτική της δημόσιας υγείας στα πλαίσια της Ευρώπης (Diabetes in Europe, 2004, National Diabetes Information Clearinghouse, 2011).

Ο Παγκόσμιος Οργανισμός Υγείας (WHO, 2012) εκτιμά ότι ο επιπολασμός του Σακχαρώδη Διαβήτη είναι περίπου 347 εκατομμύρια άνθρωποι παγκοσμίως και εκτιμάται ότι το 2030 θα φτάσει τα 366 εκατομμύρια. Ο επιπολασμός της νόσου σε χώρες της Δυτικής Ευρώπης (Βέλγιο, Δανία, Φιλανδία, Γαλλία, Γερμανία, Ολλανδία, Νορβηγία, Σουηδία, Ηνωμένο Βασίλειο) εκτιμήθηκε σε 17,8 εκατομμύρια ανθρώπους ή το 4,3% του πληθυσμού τους. Στην Ευρώπη γενικότερα εκτιμάται πως ο αριθμός των ασθενών ανέρχεται σε 60 εκατομμύρια ανθρώπους, πολλοί από τους οποίους (50%) αγνοούν την κατάσταση της υγείας τους (Diabetes in Europe, 2004). Συγκεκριμένα στην Ελλάδα, περίπου 900,000 πάσχουν από Σακχαρώδη Διαβήτη, με 250,000 να μην είναι σε θέση να ρυθμίσουν τα επίπεδα γλυκόζης και ινσουλίνης τους. Η Ελλάδα χαρακτηρίζεται από χαμηλά ποσοστά Σακχαρώδη Διαβήτη τύπου 1 στην Ευρώπη (Lionis *et al*, 2001) εντούτοις δεν ισχύει το ίδιο και για τον Σακχαρώδη Διαβήτη τύπου 2 που φαίνεται πως αυξάνεται με ταχύ ρυθμό τόσο σε αστικές όσο και σε αγροτικές περιοχές στην Ελλάδα. Από τη μελέτη «Αττική» που πραγματοποιήθηκε στην Αθήνα το 2001-2002 φαίνεται ότι το 7,6% των αντρών και το 5,9% των γυναικών έπασχαν από Σακχαρώδη Διαβήτη τύπου 2, ενώ ένα σημαντικό ποσοστό των ατόμων αυτών (24% των αντρών και 30% των γυναικών) δεν γνώριζαν ότι πάσχουν από τη νόσο (Panagiotakos *et al*, 2005). Το 8,3% του συνόλου του πληθυσμού στις Η.Π.Α. (25,8 εκατομμύρια παιδιά και ενήλικες) πάσχει από Σακχαρώδη Διαβήτη ενώ 79 εκατομμύρια άνθρωποι βρίσκονται ένα στάδιο πριν την εκδήλωση της νόσου. Μια σχετικά μεγάλη

μερίδα ανθρώπων (7 εκατομμύρια) φαίνεται να βρίσκεται σε άγνοια για την κατάσταση της υγείας τους (National Diabetes Information Clearinghouse, 2011). Υπάρχει επίσης, ένας αυξημένος αριθμός κρουσμάτων Σακχαρώδη Διαβήτη τύπου 2 σε παιδιά και εφήβους. Ο συνεχώς αυξανόμενος επιπολασμός της νόσου (1,9 εκατομμύρια άνθρωποι το 2010 στις Η.Π.Α.) οφείλεται σε πληθώρα παραγόντων μεταξύ των οποίων είναι η αύξηση του προσδόκιμου ζωής του πληθυσμού, η αύξηση της παχυσαρκίας και η έλλειψη σωματικής δραστηριότητας (Diabetes and Driving in Europe).

Οι ειδικοί πιστεύουν ότι είναι δυνατή η μακροχρόνια διαχείριση των επιπλοκών του σακχαρώδη διαβήτη μέσω του αυστηρού γλυκαιμικού ελέγχου. Η θεραπεία για τον έλεγχο της γλυκόζης του αίματος βελτιώνει την ποιότητα ζωής σε άτομα με σακχαρώδη διαβήτη, και οι διατροφικές επιλογές είναι πιθανό να έχουν επίδραση στο γλυκαιμικό έλεγχο (Wolf *et al*, 2001), μειώνουν τον κίνδυνο της ασθένειας καθώς και τους θανάτους από τις επιπλοκές της. Επειδή οι υδατάνθρακες της δίαιτας έχουν άμεσο αντίκτυπο στα επίπεδα γλυκόζης του αίματος, ο έλεγχος της ποσότητας των υδατανθράκων που καταναλώνονται ανά γεύμα αποτελεί το επίκεντρο της διαχείρισης του διαβήτη (Κανέλλος, 2011).

1.6. Διατροφικές Συστάσεις για το Σακχαρώδη Διαβήτη

Η Μελέτη για τον Έλεγχο και τα Επιπλοκές του Διαβήτη (Diabetes Control and Complications Trial) και η Προοπτική Μελέτη του Ηνωμένου Βασιλείου για το Διαβήτη (United Kingdom Prospective Diabetes Study) έδειξαν ότι ο γλυκαιμικός έλεγχος έχει θετικό αντίκτυπο μακροπρόθεσμα σε άτομα με διαβήτη καθυστερώντας τόσο την έναρξη όσο και τις σοβαρές επιπλοκές του διαβήτη. Η διατροφική φροντίδα αποτελεί ακρογωνιαίο λίθο για την πρόληψη ή/και την αντιμετώπιση του διαβήτη και κατευθυντήριες γραμμές έχουν θεσπιστεί από την Ευρωπαϊκή Εταιρεία για τη Μελέτη του Διαβήτη (European Association for the Study of Diabetes), την Αμερικανική Διαβητολογική Εταιρεία (ADA), την Καναδική Διαβητολογική Εταιρεία (CDA) και την Υποεπιτροπή για τη Διατροφή και το Διαβήτη του Ηνωμένου Βασιλείου (Nutrition Subcommittee of Diabetes UK) (Voss *et al*, 2008). Αν και δεν υπάρχουν συγκεκριμένες διατροφικές οδηγίες για κάθε χώρα, η βέλτιστη διατροφή διαφέρει ελάχιστα ανάμεσα στις διάφορες χώρες. Κυρίαρχος στόχος όλων των Διατροφικών οδηγιών είναι να επιτύχουν και να διατηρήσουν τα μεταγευματικά επίπεδα γλυκόζης και τα επίπεδα γλυκόζης νηστείας σε σχεδόν φυσιολογικά επίπεδα (Voss *et al*, 2008). Οι Διατροφικές Συστάσεις προτείνουν σε γενικές γραμμές αντικατάσταση των κορεσμένων λιπαρών με σύνθετους υδατάνθρακες (π.χ. άμυλο, φυτικές ίνες), αν και η γλυκαιμική απόκριση των διαφόρων υδατανθράκων δεν είναι η ίδια (Wolf *et al*, 2001, (Chung, Shin &

Lim, 2008). Είναι επίσης γνωστό ότι η σακχαρόζη σε μέτριες ποσότητες δεν είναι απαραίτητα απαγορευτική (Jenkins *et al*, 2008). Η Αμερικάνικη Διαβητολογική Εταιρεία συνιστά εξατομικευμένη διαιτητική προσέγγιση από έμπειρο κλινικό διαιτολόγο. Εκτιμάται ότι δεν υπάρχει «ιδανικός» συνδυασμός μακροθρεπτικών συστατικών, αλλά το διαιτολόγιο θα πρέπει να προσαρμόζεται στους μεταβολικούς στόχους, τις ατομικές προτιμήσεις και τις συνθήκες ζωής του ασθενούς. Η πρόσληψη των υδατανθράκων παρακολουθείται είτε με καταμέτρησή τους, είτε με τη χρήση ισοδυνάμων είτε βάσει εμπειρίας ώστε να επιτύχει ο ασθενής ευγλυκαιμία (ADA, 2011). Πιο συγκεκριμένα, τα γεύματα συνιστάται να είναι μικρά και συχνά, και να καταναλώνονται σε σταθερές ώρες καθημερινά ώστε οι ασθενείς να επωφελούνται των ευεργετικών επιδράσεων στα λιπίδια, τα μεταγευματικά επίπεδα ινσουλίνης και τη θερμογένεση (Farshchi, Taylor & Macdonald, 2005). Επιπλέον, είναι ευνοϊκότερη η ισοκατανομή των υδατανθράκων μέσα στην ημέρα, δίνοντας ιδιαίτερη σημασία στην επιλογή των υδατανθράκων (Ferrer-Mairal *et al*, 2011).

Η Διεθνής Ομοσπονδία για το Διαβήτη (International Diabetes Federation) συνιστά διαιτολόγια χαμηλού ΓΔ/ΓΦ για τον έλεγχο της μεταγευματικής γλυκόζης του αίματος και τη μείωση των καρδιαγγειακών παραγόντων κινδύνου. Η Ακαδημία Διατροφής και Διαιτολογίας (Academy of Nutrition and Dietetics) και η Αμερικανική Εταιρία Διατροφής (American Society for Nutrition) συνιστούν χαμηλού ΓΔ διαιτολόγια για παχύσαρκες γυναίκες για την πρόληψη του διαβήτη κύησης (Lin *et al*, 2012).

1.7.Δεξτρίνες

Πολλές μελέτες έχουν δείξει ότι τα διαιτολόγια που αποτελούνται κυρίως από τρόφιμα υψηλού γλυκαιμικού δείκτη έχουν συνδεθεί με αυξημένο κίνδυνο ανάπτυξης σακχαρώδη διαβήτη τύπου 2, στεφανιαίας καρδιακής νόσου, αγγειακών προβλημάτων και με ορισμένες μορφές καρκίνου (Gibson, Schonfeldt & Pretorius, 2011, Buckley *et al*, 2006, Ferrer-Mairal *et al*, 2011). Επίσης, τα τρόφιμα υψηλού γλυκαιμικού δείκτη θεωρούνται ένοχα για την αύξηση του σωματικού βάρους και την παχυσαρκία (Gibson, Schonfeldt & Pretorius, 2011). Στον αντίποδα, διαιτολόγια που βασίζονται σε τρόφιμα χαμηλού γλυκαιμικού δείκτη μειώνουν τον κίνδυνο εμφάνισης αυτών των ασθενειών και βελτιώνουν την ευαισθησία στην ινσουλίνη, τον έλεγχο της γλυκόζης του αίματος και το προφίλ των λιπιδίων του αίματος (Chung, Shin & Lim, 2008). Από μελέτες, επιπλέον, φαίνεται ότι δίαιτες χαμηλού γλυκαιμικού δείκτη μειώνουν την εναπόθεση του σωματικού λίπους (Buckley *et al*, 2006). Ο γλυκαιμικός δείκτης μπορεί να αποτελέσει ένα σημαντικό εργαλείο για την πρόληψη ή τη θεραπεία μιας ασθένειας (Ferrer-Mairal *et al*, 2011).

Η σχέση μεταξύ των αυξήσεων στη μεταγευματική γλυκαιμία και του κινδύνου εκδήλωσης ασθένειας έχει οδηγήσει τις βιομηχανίες τροφίμων στην προσπάθεια να αναπτύξουν τρόφιμα ή και συστατικά τροφίμων που ελαχιστοποιούν τις μεταγευματικές αυξήσεις τη γλυκόζης του αίματος (Buckley *et al*, 2006). Οι κυκλοδεξτρίνες (CD) είναι ένα συστατικό των τροφίμων που έχει τη δυνατότητα να αναστέλλει τη δράση της παγκρεατικής αμυλάσης, υφίστανται ελάχιστη πέψη στο λεπτό έντερο και να μειώνει τη γλυκαιμική απόκριση των σύνθετων υδατανθράκων που περιέχονται στα τρόφιμα (Buckley *et al*, 2006, Gentilcore *et al*, 2011). Οι κυκλοδεξτρίνες (CDs) είναι μεγάλου Μοριακού Βάρους μόρια (κυμαίνονται από 1000 έως 2000Da), υδρόφιλες και δεν απορροφώνται από τη γαστρεντερική οδό στην ακέραιη μορφή τους. Είναι μια ομάδα φυσικών προϊόντων, που προέρχονται από το άμυλο αραβοσίτου και παράγονται κατά τη βακτηριακή πέψη της κυτταρίνης (Magnúsdóttir, Másson & Loftsson, 2002). Είναι κυκλικοί, μη αναγωγικοί λειτουργικοί ολιγοσακχαρίτες, που αποτελούνται από μονάδες d-γλυκόζης (γλυκοκυρανόζης) συνδεδεμένες με α-(1-4) γλυκοζιτικούς δεσμούς σε σχήμα δακτυλίου. Το άνοιγμα της μπορεί να σχηματίσει σύμπλοκα εγκλεισμού με οργανικά και ανόργανα μόρια σε υδατικό διάλυμα λόγω του υδρόφοβου πυρήνα τους, ενώ το υδρόφιλο εξωτερικό τους τμήμα μπορεί να αλληλεπιδράσει με τα υδροξύλια των μορίων του αμύλου (Zhan, Tian & Tong, 2013).

Η δομή των κυκλοδεξτρινών έχει σχήμα κολουρου κώνου, και όχι τέλειου κυλίνδρου, με δύο υδρόφιλες βάσεις, εκ των οποίων η μία ευρύτερη και η άλλη στενότερη, και με υδρόφοβη κοιλότητα. Η ευρύτερη βάση σχηματίζεται από τις δευτεροταγείς ομάδες υδροξυλίων των C2 και C3 και η στενότερη βάση σχηματίζεται από τις πρωτοταγείς ομάδες υδροξυλίων των C6. Το μακροκυκλικό μόριο σταθεροποιείται μέσω δεσμών υδρογόνου μεταξύ των υδροξυλίων OH2(n)...OH3(n+1) γειτονικών γλυκοκυρανοζών. Στο εσωτερικό της κοιλότητας κατευθύνονται τα άτομα H3 και H5, τα οποία σχηματίζουν δύο νοητούς δακτυλίους, μεταξύ των οποίων βρίσκεται ο δακτύλιος των γλυκοζιτικών ατόμων O1 και O4. Η υδρόφοβη κοιλότητα, δύναται να φιλοξενήσει υδρόφοβα μόρια ή μέρος μορίων και να σχηματίσει σύμπλοκο εγκλεισμού. Τα ως άνω σύμπλοκα σχηματίζονται σε υδατικό διάλυμα, καθότι οι υδρόφοβες αλληλεπιδράσεις σε συνδυασμό με τις δυνάμεις Van der Waals, τους δεσμούς υδρογόνου, τις αλληλεπιδράσεις διπόλου-διπόλου καθώς και τυχόν ηλεκτροστατικές αλληλεπιδράσεις, αποτελούν ισχυρή κινητήρια δύναμη για το σχηματισμό και είναι υπεύθυνες για τη σταθερότητα των συμπλόκων εγκλεισμού. Η πολικότητα της κοιλότητας είναι παρόμοια με εκείνη του υδατικού αιθανολικού δείγματος (Λαμπροπούλου, 2009, Magnúsdóttir, Másson & Loftsson, 2002). Επίσης, είναι γνωστές σαν κυκλοαμυλόζες, κυκλομαλτόζες και Schardinger δεξτρίνες (Del Valle, 2003).

Υπάρχουν τρεις τύποι CDs, με διαφορετικό αριθμό γλυκοζυλιωμένων υπολειμμάτων, η α-, η β- και η γ-κυκλοδεξτρίνη που αποτελούνται από έξι, επτά και οκτώ μονάδες γλυκοπυρανόζης, αντίστοιχα. Οι παραπάνω αναφέρονται και ως πρώτης γενιάς ή μητρικές κυκλοδεξτρίνες (Del Valle, 2003). Οι φυσικές α- και β-κυκλοδεξτρίνες, εν αντιθέσει με τη γ-κυκλοδεξτρίνη, δεν μπορούν να υδρολυθούν από τα ανθρώπινα σάλια, τα οξέα και την παγκρεατική αμυλάση, και δεν αφομοιώνεται σε σημαντικό βαθμό από το λεπτό έντερο (Buckley *et al*, 2006, Magnúsdóttir, Másson & Loftsson, 2002). Ωστόσο, τόσο η α- όσο και η β-κυκλοδεξτρίνη μπορούν να ζυμωθούν από την εντερική μικροχλωρίδα. Δεδομένου ότι η α-CD δεν υφίσταται πέψη στο λεπτό έντερο, είναι εξ' ορισμού μια διαιτητική ίνα, ή ακριβέστερα, μια διαλυτή, ζυμώσιμη, διαιτητική ίνα (Wagner *et al*, 2008). Οι υδρόφιλες κυκλοδεξτρίνες είναι μη τοξικές σε χαμηλή/μέτρια δοσολογία. Τα λιπόφιλα παράγωγα κυκλοδεξτρινών, όπως οι μεθυλιωμένες κυκλοδεξτρίνες, απορροφώνται σε κάποιο βαθμό από τη γαστρεντερική οδό στη συστηματική κυκλοφορία και έχει αποδειχθεί ότι είναι τοξικά μετά από παρεντερική χορήγηση. Ωστόσο, πλήρη ζύμωση και υδρόλυση από τα μικροβιακά ένζυμα για το σχηματισμό βραχείας αλύσου λιπαρών οξέων συμβαίνει στο παχύ έντερο (Buckley *et al*, 2006, Magnúsdóttir, Másson & Loftsson, 2002).

Οι κυκλοδεξτρίνες σχηματίζουν σύμπλοκα εγκλεισμού με διάφορα μόρια. Η χρήση κυκλοδεξτρινών είναι γνωστή στον τομέα των τροφίμων επειδή τα σύμπλοκα εγκλεισμού κυκλοδεξτρινών είναι σταθερά στη θερμότητα, την οξείδωση και τη UV ακτινοβολία (Terao *et al*, 2006). Οι β-κυκλοδεξτρίνες είναι οι πιο προσιτές, λόγω της χαμηλής τιμής τους, και χρησιμοποιούνται συχνότερα σε σύγκριση με τις υπόλοιπες. Η υδατική διαλυτότητα της είναι περιορισμένη με αποτέλεσμα τις περιορισμένες εφαρμογές της. Αυτό ενδέχεται να οφείλεται στη σχετικά ισχυρή σύνδεση των μορίων της κυκλοδεξτρίνης στην κατάσταση του κρυστάλλου (σχετικά υψηλή ενέργεια κρυσταλλικού πλέγματος). Παράγωγα κυκλοδεξτρίνης παράγονται από τις φυσικές κυκλοδεξτρίνες από αμινώσεις, εστεροποιήσεις ή αιθεροποιήσεις των πρωτογενών και δευτερογενών υδροξυλομάδων των κυκλοδεξτρινών. Η διαλυτότητα των παραγώγων διαφέρει από αυτή των μητρικών, και είναι συνήθως βελτιωμένη, όπως και η σταθερότητα έναντι του φωτός. Γενικά, οι κυκλοδεξτρίνες συχνά χρησιμοποιούνται ως δομικά στοιχεία (Del Valle, 2003, Uehata *et al*, 2012, Loftsson *et al*, 2005). Οι φυσικές κυκλοδεξτρίνες και τα υδρόφιλα παράγωγα τους είναι τα μόνα ικανά να διαπερνούν τις βιολογικές λιπόφιλες μεμβράνες. Οι α-κυκλοδεξτρίνες δεσμεύουν ορισμένα λιπίδια, δεν μεταβολίζονται στο ανώτερο εντερικό σύστημα, και διασπώνται μόνο από την εντερική χλωρίδα του παχέος εντέρου (Del Valle, 2003). Έχει προταθεί ότι οι κυκλοδεξτρίνες και τα παράγωγα τους υφίσταται αποικοδόμηση

στο κόλον αφού υπάρχει τεράστια μικροχλωρίδα, η οποία μπορεί να διασπάσει τις κυκλοδεξτρίνες και τα παράγωγά τους σε μικρά σακχαρίδια και να απορροφηθούν στο παχύ έντερο (Zhang *et al*, 2010). Η α-κυκλοδεξτρίνη παρουσιάζει δομική ομοιότητα με τα ελικοειδή τμήματα του αμύλου. Ο μηχανισμός δράσης της α-κυκλοδεξτρίνης στη μείωση των μεταγευματικών επιπέδων γλυκόζης οφείλεται στην ανασταλτική της δράση στην παγκρεατική αμυλάση και μπορεί να επιβραδύνει επίσης τη γαστρική κένωση (EFSA, 2012). Η δυνητική για τις CDs αναστολή της υδρόλυσης των σύνθετων υδατανθράκων οδήγησε τους Raben *et al* να ερευνήσουν την επίδραση της β-CD στη γλυκαιμική απόκριση κατανάλωσης υδατανθράκων. Βρήκαν ότι η προσθήκη 1g β-CD σε 50g αμύλου πατάτας είχε ως αποτέλεσμα την μείωση της κλίσης της μεταγευματικής γλυκαιμικής απόκρισης συγκριτικά με ένα μη τροποποιημένο άμυλο πατάτας, που αποτελούσε το δείγμα ελέγχου, αλλά χωρίς να υπάρχει διαφορά στην περιοχή κάτω από την καμπύλη (AUC) της γλυκόζης του αίματος. Σε μια μεταγενέστερη μελέτη οι Diamantis και Bar ανέφεραν ότι η κατανάλωση 10g α-CD με 100g λευκό ψωμί, που περιέχει 50g εύπεπτους υδατάνθρακες, μείωσε σημαντικά την AUC για τη γλυκόζη του αίματος. Η μελέτη αυτή αποτελεί υποστηρικτικό στοιχείο της πρόσφατης έκθεσης για την αξιολόγηση της ασφάλειας της α-CD ως συστατικό των τροφίμων (Wagner *et al*, 2008, Buckley *et al*, 2006). Οι Wakabayashi *et al* έδειξαν ότι η ταυτόχρονη κατανάλωση μιας εδώδιμης δεξτρίνης με ένα γρήγορα εύπεπτο άμυλο (μαλτοδεξτρίνη) μειώνει τη μεταγευματική γλυκαιμική απόκριση σε αρουραίους. Τα δεδομένα αυτά αυξάνουν την πιθανότητα ότι η μη αφομοιώσιμη δεξτρίνη μπορεί να αποτελέσει ένα χρήσιμο εργαλείο στη διαχείριση της δυσανεξίας στη γλυκόζη σε ανθρώπους. Καινοτόμα συστατικά όπως η δεξτρίνη μπορούν να αποτελέσουν συμπληρωματική θεραπεία, ως μέρος της διατροφής, για άτομα με διαβήτη (Wolf *et al*, 2001). Η Ευρωπαϊκή Αρχή Ασφάλειας Τροφίμων (EFSA) κατέληξε στη διατύπωση του ισχυρισμού υγείας ότι η κατανάλωση τουλάχιστον 5g α-κυκλοδεξτρίνης ανά 50g αμύλου θα πρέπει αν καταναλώνεται ώστε να επέρχεται μείωση στα μεταγευματικά επίπεδα γλυκόζης του αίματος. Ο ισχυρισμός αφορά σε ενήλικες που επιθυμούν να μειώσουν τη μεταγευματική γλυκαιμική τους απόκριση (EFSA, 2012).

Ο Παγκόσμιος Οργανισμός Υγείας (WHO) έχει θεσπίσει στην αποδεκτή ημερήσια πρόσληψη τον χαρακτηρισμό «δεν προσδιορίζεται», και η α-κυκλοδεξτρίνη είναι γενικά αναγνωρισμένη ως ασφαλής από το Υπουργείο Γεωργίας των Ηνωμένων Πολιτειών (USDA). Στην Ιαπωνία, η α-CD έχει εγκριθεί για χρήση ως τρόφιμο. Υπάρχει επίσης, διαθέσιμη ως διαιτητικό συμπλήρωμα (Wagner *et al*, 2008, Buckley *et al*, 2006). Η β-CD θα μπορούσε να δημιουργήσει να σχηματίσει σύμπλοκα τόσο με άμυλο όσο και με λιπίδια, αμυλόζη-β-CD

και άμυλο-β-CD-λιπίδιο αντίστοιχα. Οι β-CDs μπορούν να χρησιμοποιηθούν ως μετουσιωτές κατά τη ζελατινοποίησης του αμύλου με αποτέλεσμα να παρασκευάζονται προϊόντα πλούσια σε SDS (Zhan, Tian & Tong, 2013).

1.8.Αντικείμενο Μελέτης και Στόχος

Το αντικείμενο της παρούσας μελέτης είναι η ανάπτυξη μιας *in vitro* μεθοδολογίας που προσομοιάζει τις *in vivo* συνθήκες πέψης και μπορεί να προβλέψει τη γλυκαιμική απόκριση *in vivo*. Στόχος της μελέτης είναι η αξιολόγηση της επίδρασης των δεξτρινών ως συστατικού σε μοντέλα τροφίμων στη μείωση των επιπέδων γλυκόζης μετά την υποβολή τους σε συνθήκες *in vitro* πέψης. Επίσης, στόχος της μελέτης είναι η συσχέτιση των αποτελεσμάτων της *in vitro* μεθοδολογίας με τα δεδομένα που παρουσιάζουν τα ίδια ή παρόμοιας σύστασης τρόφιμα με *in vivo* δεδομένα από τη διεθνή βιβλιογραφία, χρησιμοποιώντας τις έννοιες του γλυκαιμικού δείκτη και του γλυκαιμικού φορτίου.

Κεφάλαιο 2. Υλικά και Μέθοδοι

2.1 Υλικά

Όλα τα χημικά είναι της εταιρείας Sigma-Aldrich.

Όλα τα υαλικά (ποτήρια ζέσεως, ογκομετρικοί κύλινδροι) και σκεύη (π.χ. σπάτουλες) που χρησιμοποιούνται αφού πλυθούν με σαπούνι και νερό ξεπλένονται με απεσταγμένο νερό ώστε να επαναχρησιμοποιηθούν.

- Η πεψίνη είναι αιώρημα 4g/100mL HCl 0,1M.
- Το μείγμα παγκρεατίνης-χολικών αλάτων είναι παγκρεατίνη (0,2g) και χολικά (1,2g) διαλυμένα σε 100mL 0,1M NaHCO₃.
- Ρυθμιστικό διάλυμα PIPES 5,2g/100mL (piperazine-N,N'-bis [2-ethane-sulfonic acid] disodium salt) χρησιμοποιείται αφού προσαρμοστεί το pH=6,5 χρησιμοποιώντας διαλύματα HCl διαφόρων συγκεντρώσεων.
- Μembrάνες διάλυσης μοριακού βάρους 6-8 kDa (Spectrum Laboratories, Rancho Dominguez, CA, USA) κομμένες σε μήκος 3cm βυθίζονται σε νερό για τουλάχιστον 2 ώρες πριν τη χρήση.
- Τα πιάτα 6 θέσεων (6 well plates) και οι εισερχόμενοι μέσα σε αυτά πλαστικοί δακτύλιοι είναι από την εταιρεία Costar (Costar Corp, Cambridge, MA). Τα πιάτα 6 θέσεων και οι πλαστικοί δακτύλιοι πλένονται και επαναχρησιμοποιούνται.
- Το ρυθμιστικό διάλυμα 0,2M (pH=5,2) περιέχει 1% αμυλογλυκοζιδάση και 1% ιμβερτάση.
- Για την παρασκευή του αντιδραστηρίου DNS διαλύονται σε 1lt διαλύματος, που περιέχει 300 g Na-K ταρταρικό, 16 g NaOH και 10 g 3-5δινιτροσαλυκυλικού οξέος.
- Το διάλυμα DNS mix περιέχει σε αναλογία 1:1:5 0,5mg/ml γλυκόζη, 4M NaOH και αντιδραστήριο DNS.
- Α-κυκλοδεξτρίνη καθαρότητας ≥98%, Μοριακού Βάρους=972,84

2.2 Δείγματα

Ο διεθνής πίνακας τροφίμων και τιμών γλυκαιμικού δείκτη και φορτίου δεν περιλάμβανε τρόφιμα από την ελληνική αγορά για αυτό η τελική επιλογή των τροφίμων έγινε με γνώμονα να προσομοιάζουν σε σύσταση τα αντίστοιχα διεθνή και να ανήκουν σε διαφορετικές ομάδες: υγρά τρόφιμα, φρούτα, δημητριακά πρωινού, ψωμιά, ρύζι/μακαρόνια. Στη σειρά πειραμάτων για τη συσχέτιση των αποτελεσμάτων της *in vitro* μεθοδολογίας με το γλυκαιμικό φορτίο μελετήθηκαν 16 τρόφιμα τα οποία παρουσιάζονται στον Πίνακα 2.1.

Στον Πίνακα 2.2. παρουσιάζονται τα τρόφιμα και οι αντίστοιχες ποσότητές τους που χρησιμοποιήθηκαν στη σειρά πειραμάτων για τη συσχέτιση των αποτελεσμάτων της *in vitro* μεθοδολογίας με τον γλυκαιμικό δείκτη. Ο εκτιμώμενος *in vitro* γλυκαιμικός δείκτης υπολογίστηκε ως εξής:

$$eGI \text{ in vitro} = \frac{\text{εμβαδό επιφάνειας καμπύλης γλυκόζης τροφίμου που περιέχει 0,25 g υδατάνθρακα}}{\text{εμβαδό επιφάνειας καμπύλης γλυκόζης 0,25 g}} * 100$$

(Εξίσωση 1)

και συσχετίστηκε με την τιμή GI *in vivo* που προκύπτει από την βιβλιογραφία.

Πίνακας 2.1. Τρόφιμα που υποβλήθηκαν σε πέψη *in vitro* για τη σύγκριση των *in vitro* αποτελεσμάτων με το γλυκαιμικό φορτίο (GL), οι ποσότητες και η περιεκτικότητα σε διαθέσιμους υδατάνθρακες της αντίστοιχης ποσότητας.

Τρόφιμα	Ποσότητα ¹	Διαθέσιμοι υδατάνθρακες (g) ²
Ενεργειακό αθλητικό ποτό (Lucozade)	2,5 mL	0,35
Ανθρακούχος χυμός πορτοκαλιού (Fanta)	2,5 mL	0,32
Χυμός μήλου	2,5 mL	0,26
Coco pops	0,3 g	0,25
Corn flakes	0,3 g	0,25
Alpen Muesli	0,3 g	0,19
Ρύζι μακρύκοκκο Uncle Ben's	1,5 g	0,43
Spaghetti λευκό	1,5 g	0,48
Spaghetti ολικής άλεσης	1,5 g	0,40
Μήλο	1,2 g	0,16
Μπανάνα	1,2 g	0,24
Λευκό ψωμί	0,3 g	0,15
Ψωμί ολικής άλεσης	0,3 g	0,13
Φακές	1,5 g	0,18
Γάλα 0% λιπαρά	2,5 g	0,12
Γάλα Πρώτης βρεφικής ηλικίας Nan -1	1 g	0,08

¹Η ποσότητα αντιστοιχεί στο 1/100 της μερίδας που παρουσιάζεται από τους Foster et al (2002).

²Η περιεκτικότητα σε διαθέσιμους υδατάνθρακες υπολογίστηκε με βάση τον πίνακα θρεπτικών συστατικών στην ετικέτα του τροφίμου.

Πίνακας 2.2. Τρόφιμα που υποβλήθηκαν σε πέψη *in vitro* για τη σύγκριση των *in vitro* αποτελεσμάτων με το γλυκαιμικό δείκτη (GI). Οι ποσότητες των τροφίμων επιλέχθηκαν ώστε να περιέχουν 0,25 g υδατάνθρακα.

Τρόφιμα	g τροφίμου που περιέχουν 0,25 g υδατάνθρακα ³
Corn flakes	0,30
Coco pops	0,29
Alpen Muesli	0,39
Ρύζι μακρύκοκκο Αμερικάνικο	0,33
Spaghetti λευκό	0,35
Spaghetti ολικής άλεσης	0,44
Μπανάνα	1,25
Λευκό ψωμί	0,51
Ψωμί ολικής άλεσης	0,57

³Η περιεκτικότητα σε διαθέσιμους υδατάνθρακες υπολογίστηκε με βάση τον πίνακα θρεπτικών συστατικών στην ετικέτα του τροφίμου.

2.3 Πειραματικός σχεδιασμός

2.3.1. Γενικά

Στο παρελθόν είχε γίνει μια πρώτη προσπάθεια αξιολόγησης της προτεινόμενης *in vitro* μεθοδολογίας (Αθανασάτου, 2011), όπου μετρήθηκε η πρόβλεψη της συγκέντρωσης της γλυκόζης μετά την υποβολή σε συνθήκες *in vitro* πέψης σε τρόφιμα που απευθύνονται στο γενικό πληθυσμό και σε τρόφιμα τροποποιημένης σύστασης. Τα αποτελέσματα των παραπάνω πειραμάτων συσχετίστηκαν ικανοποιητικά με τα αποτελέσματα που προέκυψαν από κλινική μελέτη όπου καταναλώθηκαν τα ίδια ακριβώς τρόφιμα (Spearman's $\rho=0,736$) (Argyri *et al*, 2013).

Τα τρόφιμα τροποποιημένης σύστασης που εξετάστηκαν και συσχετίστηκαν με τα αποτελέσματα της κλινικής μελέτης περιείχαν δεξτρίνη. Η δεξτρίνη, σύμφωνα και με την EFSA (2012), έχει την ιδιότητα να μειώνει τα μεταγευματικά επίπεδα γλυκόζης του αίματος σε άτομα που επιθυμούν να μειώσουν τη μεταγευματική γλυκαιμική τους απόκριση. Επομένως, εάν η μέθοδος δίνει ικανοποιητικά αποτελέσματα για την πρόβλεψη της συγκέντρωσης γλυκόζης μετά την υποβολή σε συνθήκες *in vitro* πέψης τροφίμου που περιέχει ποσότητα δεξτρίνης, τότε θα πρέπει

α) να μπορεί να δείχνει αυτή τη μείωση στα μεταγευματικά επίπεδα γλυκόζης όταν προστίθεται η δεξτρίνη στο τρόφιμο

β) να συσχετίζεται με σειρά τροφίμων με γνωστές τιμές γλυκαιμικού δείκτη και γλυκαιμικού φορτίου.

Το πρωτόκολλο της μεθόδου περιλαμβάνει 4 στάδια *in vitro* πέψης του τροφίμου σε διαφορετικά pH, παρουσία ενζύμων και με χρήση μεμβράνης διάλυσης. Στο πρώτο στάδιο προσομοιάζεται η πέψη των υδατανθράκων στην στοματική κοιλότητα (15 min), στη συνέχεια η πέψη στο στομάχι (2 h), ακολουθεί ένα μεταβατικό στάδιο ρύθμισης του pH καθώς η τροφή μεταβαίνει από το στομάχι στο λεπτό έντερο (30 min) και το τελευταίο στάδιο είναι εκείνο της εντερικής πέψης (2 h). Κατά τη διάρκεια του τελευταίου σταδίου παραλαμβάνεται ανά 30 min δείγμα από το διάλυμα που περιέχεται εντός της μεμβράνης διάλυσης, το οποίο περιέχει κλάσμα ενώσεων χαμηλού μοριακού βάρους που αντιστοιχεί στο απορροφήσιμο κλάσμα *in vivo*. Στα διαλύματα αυτά γίνεται προσδιορισμός της συγκέντρωσης της γλυκόζης με τη μέθοδο του 3,5 δινιτροσαλικυλικού οξέος.

Αρχικά, σχεδιάστηκε μια σειρά πειραμάτων στην οποία μελετήθηκε η επίδραση της απόκρισης της μεθόδου στην αυξανόμενη προσθήκη δεξτρινών, και συγκεκριμένα α-κυκλοδεξτρίνης. Υπόστρωμα σε αυτή τη σειρά πειραμάτων είναι το λευκό ψωμί. Από τη βιβλιογραφία φαίνεται ότι η κατανάλωση 10g α-CD με 100g λευκό ψωμί, που περιέχει 50g εύπεπτους υδατάνθρακες, μειώνει την περιοχή κάτω από την καμπύλη (AUC) για τη γλυκόζη του αίματος (Diamantis & Bär, 2002). Το δείγμα που μελετήθηκε είναι το λευκό ψωμί σε ποσότητα που περιέχει 0,25g υδατάνθρακα. Τα δείγματα λευκού ψωμιού που περιέχουν τα 0,25g υδατάνθρακα συγκρίθηκαν με τα δείγματα που περιείχαν 0.01g, 0.025g και 0.05g α-κυκλοδεξτρίνης αντίστοιχα. Η α-κυκλοδεξτρίνη επιλέχθηκε λόγω των χαρακτηριστικών της, που φαίνεται να έχουν ευεργετική επίδραση στον έλεγχο της γλυκόζης και τη μείωση του εμβαδού της περιοχής κάτω από την καμπύλη (AUC) σε κλινικές μελέτες.

Μετά από ανασκόπηση της βιβλιογραφίας επιλέχθηκε άρθρο που περιέχει διεθνή πίνακα τιμών γλυκαιμικού δείκτη και γλυκαιμικού φορτίου τροφίμων (Foster-Powell *et al*, 2002). Στον πίνακα αυτό περιέχονται 750 είδη τροφίμων με τις αντίστοιχες τιμές γλυκαιμικού δείκτη και φορτίου καθώς και οι βιβλιογραφικές αναφορές σύμφωνα με τις οποίες προκύπτουν οι συγκεκριμένες τιμές.

Σχεδιάστηκαν ακόμη δύο σειρές πειραμάτων ώστε να γίνει συσχέτιση των αποτελεσμάτων που λαμβάνονται με την *in vitro* μεθοδολογία τόσο με το γλυκαιμικό φορτίο όσο και με τον

γλυκαιμικό δείκτη των τροφίμων. Καλή συσχέτιση μεταξύ των *in vitro* αποτελεσμάτων και του γλυκαιμικού δείκτη ή/και του γλυκαιμικού φορτίου θα υποδεικνύει και προτυποποίηση της μεθόδου. Το γλυκαιμικό φορτίο (GL) στηρίζεται στην έννοια του γλυκαιμικού δείκτη για να παρέχει ένα μέτρο της συνολικής γλυκαιμικής αντίδρασης σε ένα τρόφιμο ή γεύμα ($GL = GI/100 \times \text{γραμμάρια υδατανθράκων ανά μερίδα}$) (eufic, 2006). Επομένως, στην έννοια του γλυκαιμικού φορτίου υπεισέρχεται η μερίδα του τροφίμου. Στη σειρά πειραμάτων για σύγκριση με το γλυκαιμικό φορτίο η ποσότητα του τροφίμου που υποβλήθηκε σε πέψη *in vitro* αντιστοιχούσε στο 1/100 της μερίδας που είχε χρησιμοποιηθεί στην μελέτη *in vivo*.

Ο γλυκαιμικός δείκτης, ο οποίος εκφράζει την αύξηση της γλυκόζης στο αίμα μετά από την πρόσληψη ενός τροφίμου υπολογίζεται ως εξής:

$$GI = \frac{\text{Επίπεδα γλυκόζης στο αίμα 2 ώρες μετά την πρόσληψη τροφίμου που περιέχει 50g υδατάνθρακα} * 100}{\text{Επίπεδα γλυκόζης στο αίμα 2 ώρες μετά την πρόσληψη 50g γλυκόζης}}$$

Επομένως, στον τρίτο σχεδιασμό, όπου η συσχέτιση των *in vitro* αποτελεσμάτων γίνεται με τον γλυκαιμικό δείκτη, οι ποσότητες τροφίμου που υποβλήθηκαν σε πέψη *in vitro* αντιστοιχούσαν σε συγκεκριμένη ποσότητα υδατάνθρακα. Λόγω περιορισμών στον όγκο που μπορεί να δεχθεί η κάθε θέση στο πιάτο 6-θέσεων που χρησιμοποιείται για την *in vitro* πέψη, η ποσότητα αυτή επιλέχθηκε να είναι 0,25 g υδατάνθρακα, που αντιστοιχεί στο 1/200 της ποσότητας υδατάνθρακα που χρησιμοποιείται για τον προσδιορισμό του γλυκαιμικού δείκτη *in vivo*.

2.3.2. Προετοιμασία των δειγμάτων

Τα δείγματα που μελετήθηκαν είναι στερεά και υγρά τρόφιμα. Σε πλαστικό σωλήνα ζυγίζονταν το 1/100 ή το 1/200 της μερίδας (ανάλογα με το αν προσδιορίζονταν το γλυκαιμικό φορτίο ή ο γλυκαιμικός δείκτης του τροφίμου) από το τρόφιμο που καταναλώνονταν *in vivo* και γίνονταν ομογενοποίηση σε ομογενοποιητή ULTRA TURRAX T25 Basic αφού προηγουμένως είχε προηγηθεί αραίωση. Η αραίωση γίνεται σε διπλάσιο όγκο.

2.3.3. Διαδικασία *in vitro* πέψης

Η ομογενοποιημένη ποσότητα τροφίμου επωάζεται παρουσία α-αμυλάσης (185 U/g διαθέσιμου υδατάνθρακα) στους 37°C για 15 min σε ανακινούμενο επωαστήρα. Η αμυλάση βρίσκεται κυρίως στο στόμα και στο στομάχι και είναι υπεύθυνη για την μετατροπή του αμύλου σε ολιγοσακχαρίτες και μονοσακχαρίτες (γλυκόζη) (Hur *et al*, 2011). Ακολουθεί ρύθμιση του pH στην τιμή 2,5 και τοποθέτηση 2 mL από το κάθε δείγμα σε

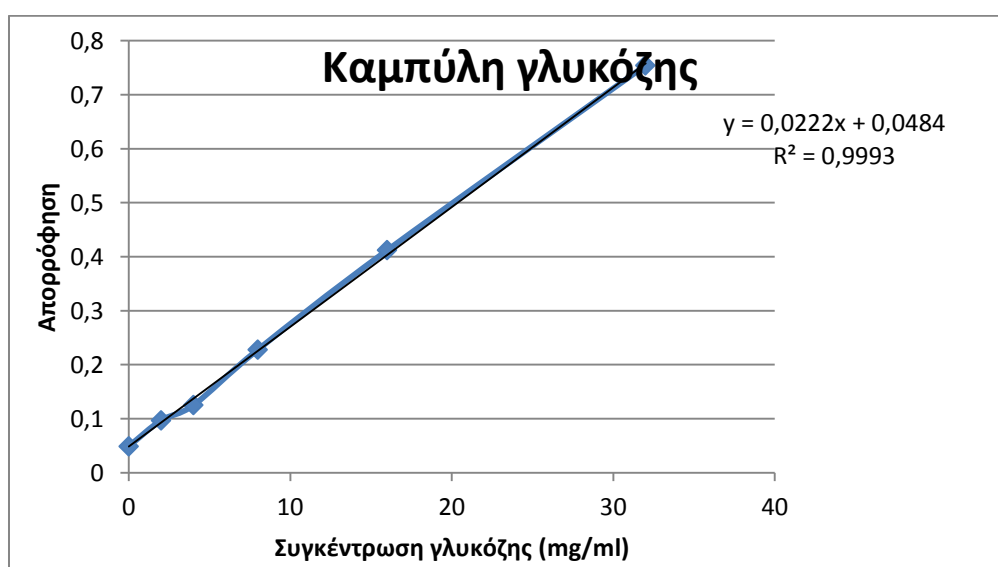
πιάτο 6 θέσεων. Προστίθεται 0,1 mL πεψίνης σε κάθε δείγμα και ακολουθεί επώαση στους 37°C για 2 ώρες. Στη συνέχεια τοποθετείται σε κάθε θέση στο πιάτο ένας πλαστικός δακτύλιος που φέρει μεμβράνη διάλυσης η οποία συγκρατείται με ένα ελαστικό πλαστικό δακτυλίδι. Σε κάθε δακτύλιο προστίθενται 2mL διαλύματος PIPES 0,1 M pH 6,5 και συνεχίζεται η επώαση για 30 min στους 37°C. Μετά το πέρας των 30 min λαμβάνουμε το πρώτο δείγμα (0,2 mL) από το υπερκείμενο της μεμβράνης διάλυμα (t=0 min). Στη συνέχεια, ο δακτύλιος απομακρύνεται προσεκτικά και σε κάθε θέση στο πιάτο προστίθενται 10μl αμυλογλυκοζιδάσης και 0,5 mL διαλύματος παγκρεατίνης-χολικών αλάτων. Ο πλαστικός δακτύλιος τοποθετείται ξανά στη θέση στο πιάτο και συνεχίζεται η επώαση σε ανακινούμενο επωαστήρα στους 37°C για άλλες 2 h λαμβάνοντας δείγματα 0,2 mL ανά 30 min (t=30 min, t=60 min, t=90 min, t=120 min) από το υπερκείμενο της μεμβράνης διάλυμα.

Η επώαση με πεψίνη αντιστοιχεί στη γαστρική φάση της πέψης. Η περαιτέρω επώαση με παγκρεατίνη και χολικά άλατα αντιστοιχεί στην εντερική φάση της πέψης. Η πεψίνη είναι υπεύθυνη για τη διάσπαση των πρωτεϊνών/ πεπτιδίων σε μικρότερα πεπτίδια και αμινοξέα. Η ημερήσια έκκριση πεψίνης σε ενήλικες είναι 20-30 kU της δραστηρότητας του ενζύμου στους 37°C, που αντιστοιχεί σε περίπου 10mg, ενώ η τυπική διαιτητική πρόσληψη ενός ενήλικα περιλαμβάνει περίπου 75g πρωτεΐνης την ημέρα, δίνοντας μια αναλογία πεψίνης/πρωτεΐνης 1:7500 (Hur *et al*, 2011). Κατά την προσομοίωση της εντερικής φάσης της πέψης, το pH ανέρχεται σταδιακά σε τιμή ~ 6 καθώς το ρυθμιστικό διάλυμα PIPES διαχέεται από την ημιπερατή μεμβράνη και οι συγκεντρώσεις των συστατικών εξισορροπούνται. Το διάλυμα που περιέχεται στην ημιπερατή μεμβράνη περιέχει χαμηλού μοριακού βάρους κλάσμα ενώσεων που αντιστοιχεί στο αντίστοιχο απορροφήσιμο κλάσμα *in vivo*. Το απομένον εξωτερικά της μεμβράνης διάλυμα περιέχει τόσο τα μεγάλα μοριακού βάρους κλάσματα ενώσεων όσο και τα χαμηλού μοριακού βάρους κλάσματα ενώσεων. Η μέση συγκέντρωση χολικών αλάτων εξαρτάται από το χρόνο κατάποσης του γεύματος, με μέγιστη τιμή τα 40mM. Η βέλτιστη δράση της παγκρεατίνης και της α-αμυλάσης παρατηρείται σε τιμές pH μεταξύ 6 και 7. Σε μεθόδους που η αμυλογλυκοζιδάση (βέλτιστο pH 4-5) προστίθεται ταυτόχρονα με την παγκρεατίνη ή την α-αμυλάση, συνιστάται μια τιμή pH περίπου 5 ώστε να ενεργοποιηθούν και τα δύο ένζυμα. Η ικανότητα της παγκρεατίνης να παραμένει ενεργή σε ένα φάσμα pH μεταξύ 5-7 δείχνει ότι έχει ανθεκτικότητα να αντιμετωπίσει το φάσμα των τιμών pH που χρησιμοποιούνται συνήθως σε *in vitro* μεθοδολογίες (Woolnough *et al*, 2008).

Δείγμα 0,2 mL τοποθετείται σε δοχείο errendorf, προστίθενται 0,8 mL αιθανόλης και ακολουθεί απευθείας ανάμιξη στο vortex. Το δείγμα αφήνεται για 30 min και ακολουθεί φυγοκέντριση στις 5000 RPM για 10 min στους 20°C. Σε γυάλινους δοκιμαστικούς σωλήνες με μεταλλικό καπάκι τοποθετούνται 0,05 mL αιθανολικού δείγματος και 0,25 mL ρυθμιστικού διαλύματος (pH=5.2). Ακολουθεί επώαση των δειγμάτων στους 37°C για 10 min. Στη συνέχεια προστίθενται 0,75 mL αντιδραστηρίου DNS mix και τα δείγματα θερμαίνονται στο υδατόλουτρο στους 97°C για 15 min. Μετά το πέρας των 15 min οι σωλήνες ψύχονται κάτω από νερό βρύσης και ακολουθεί προσθήκη 4mL υπερκάθαρου νερού σε κάθε δοκιμαστικό σωλήνα. Ποσότητα 0,3 mL από το κάθε δείγμα μεταφέρεται σε πιάτο 96 θέσεων (96-well plate) και ακολουθεί μέτρηση της απορρόφησης στα 562 nm σε plate reader για τον προσδιορισμό της γλυκόζης. Η συγκέντρωση της γλυκόζης στα δείγματα πραγματοποιείται με τη βοήθεια καμπύλης αναφοράς που προκύπτει από απορροφήσεις διαλυμάτων γλυκόζης γνωστής συγκέντρωσης.

Ο προσδιορισμός της γλυκόζης πραγματοποιείται με τη φωτομετρική μέθοδο του δινιτροσαλυκυλικού οξέος (DNS). Η μέθοδος στηρίζεται στην αναγωγή του 3,5-δινιτροσαλυκυλικού οξέος προς 3-αμινο-5-νιτροσαλυκυλικό οξύ, παρουσία NaOH και την ταυτόχρονη οξειδωση της γλυκόζης προς γλυκονικό οξύ.

Η απορρόφηση της γλυκόζης γίνεται συγκέντρωση γλυκόζης με τη βοήθεια της πρότυπης καμπύλης γλυκόζης (Εικόνα 2.1.). Η εξίσωση της πρότυπης καμπύλης είναι $y=0.0222x + 0.0484$.



Εικόνα 2.1. Πρότυπη Καμπύλη Γλυκόζης

2.4. Στατιστική Ανάλυση

Για τη μελέτη της επίδρασης της αυξανόμενης συγκέντρωσης α-κυκλοδεξτρίνης, το λευκό ψωμί υποβλήθηκε σε *in vitro* πέψη δύο φορές ενώ για κάθε δείγμα σε κάθε πείραμα έγιναν δύο μετρήσεις. Η υπόθεση της κανονικότητας των μεταβλητών ελέγχθηκε με P-P plots και Q-Q plots. Τα αποτελέσματα της επίδρασης της αυξανόμενης ποσότητας α-κυκλοδεξτρίνης στα επίπεδα γλυκόζης μετά την υποβολή σε συνθήκες *in vitro* πέψης στα δείγματα λευκού ψωμιού εξετάστηκε αν διαφέρουν στατιστικά σημαντικά με τη στατιστική δοκιμή OneWay Anova. Η Ανάλυση Μεταβλητότητας, ευρέως γνωστή ως τεστ ANOVA, μπορεί να χρησιμοποιηθεί σε περιπτώσεις όπου υπάρχουν περισσότερες από δύο ομάδες. Στη συνέχεια, εξετάστηκε σε κάθε χρονική στιγμή ποια δείγματα διαφέρουν μεταξύ τους με τη στατιστική δοκιμή LSD OneWay Anova.

Για τον προσδιορισμό του γλυκαιμικού φορτίου τα 16 εξεταζόμενα τρόφιμα υποβλήθηκαν σε *in vitro* πέψη δύο φορές ενώ για κάθε δείγμα σε κάθε πείραμα έγιναν δύο μετρήσεις. Τα αποτελέσματα της *in vitro* μέτρησης της γλυκόζης των τροφίμων συσχετίστηκαν με το γλυκαιμικό φορτίο από τη διεθνή βιβλιογραφία.

Για τον προσδιορισμό του γλυκαιμικού δείκτη τα 9 εξεταζόμενα τρόφιμα υποβλήθηκαν σε *in vitro* πέψη δύο φορές ενώ για κάθε δείγμα σε κάθε πείραμα έγιναν δύο μετρήσεις. Ταυτόχρονα σε *in vitro* πέψη υποβλήθηκε και διάλυμα που περιείχε 0,25 g γλυκόζης. Ο εκτιμώμενος *in vitro* γλυκαιμικός δείκτης υπολογίστηκε ως εξής :

$$eGI \text{ in vitro} = \frac{\text{Εμβαδό επιφάνειας καμπύλης γλυκόζης τροφίμου που περιέχει 0,25 g υδατάνθρακα}}{\text{Εμβαδό επιφάνειας καμπύλης γλυκόζης 0,25 g}} * 100$$

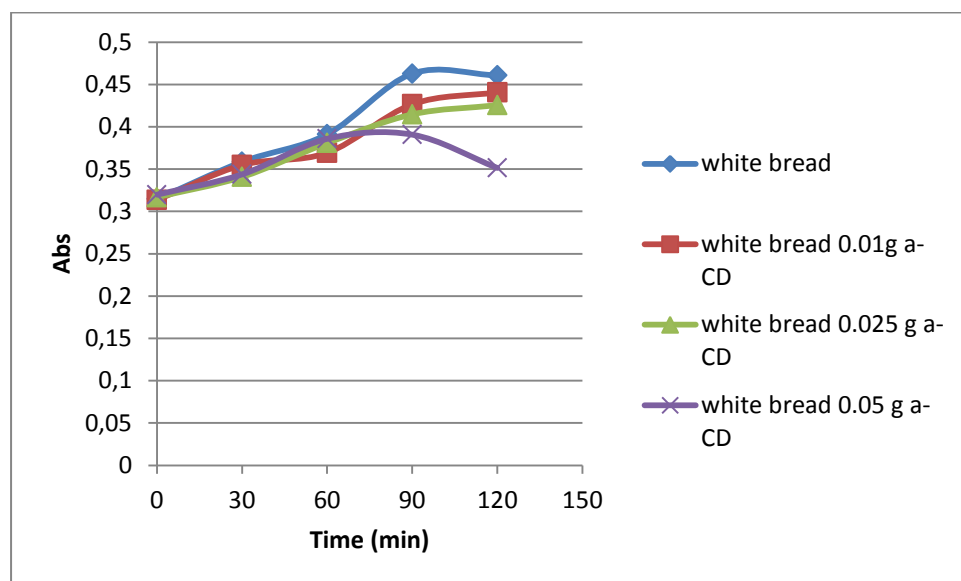
και συσχετίστηκε με την τιμή GI *in vivo* που προκύπτει από την βιβλιογραφία.

Οι συσχετίσεις μεταξύ των *in vitro* και *in vivo* δεδομένων πραγματοποιήθηκαν με χρήση του μη-παραμετρικού Spearman's Rank Correlation Test. Η υπόθεση της κανονικότητας των μεταβλητών ελέγχθηκε με P-P plots και Q-Q plots. Τιμή P<0,05 ή 0,01 θεωρήθηκε στατιστικά σημαντική. Η στατιστική ανάλυση πραγματοποιήθηκε με το PASW Statistics 18 (SPSS Inc. Chicago, K).

Κεφάλαιο 3. Αποτελέσματα

3.1. Επίδραση της α-κυκλοδεξτρίνης στα επίπεδα γλυκόζης

Στο σχήμα 3.1. απεικονίζεται γραφικά αυτή η μείωση της απορρόφησης της γλυκόζης. Από την ανάλυση ANOVA βρέθηκε ότι υπάρχουν στατιστικά σημαντικές τη χρονική στιγμή $t=120\text{min}$ μεταξύ του δείγματος ελέγχου (λευκό ψωμί) και των δειγμάτων λευκού ψωμιού με αυξανόμενες συγκεντρώσεις α-κυκλοδεξτρίνης (0.01g, 0.025g, 0.05g) [$F(3,10)=3.762$ $p=0.048$]. Στους Πίνακες 3.1.–3.5. παρουσιάζονται τα αποτελέσματα της στατιστικής ανάλυσης της στατιστικά σημαντικής διαφοράς της απορρόφησης της γλυκόζης στις αυξανόμενες συγκεντρώσεις α-κυκλοδεξτρίνης στις χρονικές στιγμές 30, 60, 90 και 120min με το λευκό ψωμί με τη ανάλυση της Ελάχιστης Σημαντικής Διαφοράς. Τη χρονική στιγμή $t=90\text{min}$ παρατηρήθηκε στατιστικά σημαντική μικρότερη απορρόφηση γλυκόζης μεταξύ του λευκού ψωμιού με 0.05g α-CD και του δείγματος ελέγχου (λευκό ψωμί) ($p=0.046$). Τη χρονική στιγμή $t=120\text{min}$ παρατηρήθηκε στατιστικά σημαντική μεγαλύτερη απορρόφηση της γλυκόζης μεταξύ του δείγματος ελέγχου (λευκό ψωμί) και του λευκού ψωμιού με 0,05g α-CD ($p=0.011$). Επίσης, την ίδια χρονική στιγμή το λευκό ψωμί με 0.05g α-CD παρουσίασε στατιστικά σημαντική μικρότερη απορρόφηση γλυκόζης από το λευκό ψωμί με 0.01g α-CD ($p=0.022$). Τέλος, παρατηρήθηκε στατιστικά σημαντική μικρότερη απορρόφηση της γλυκόζης στο λευκό ψωμί με 0,05g α-CD σε σχέση με το λευκό ψωμί με 0,025g α-CD ($p=0.048$).



Σχήμα 3.1. Απορρόφηση γλυκόζης μετά την υποβολή σε συνθήκες in vitro πέψης σε λευκό ψωμί (control), και σε λευκό ψωμί με 0.01g , 0.025g και 0.05g α-κυκλοδεξτρίνης τις χρονικές στιγμές 0, 30, 60, 90 και 120min.

Πίνακας 3.1. Στατιστική Ανάλυση με τη δοκιμή LSD OneWay ANOVA για τα *in vitro* αποτελέσματα τη χρονική στιγμή t=0min

Σύγκριση μεταξύ :		P
Λευκό ψωμί	Λευκό ψωμί με 0,01g α-CD	0.935
Λευκό ψωμί	Λευκό ψωμί με 0,025g α-CD	0.854
Λευκό ψωμί	Λευκό ψωμί με 0,05g α-CD	0.669
Λευκό ψωμί με 0,01g α-CD	Λευκό ψωμί με 0,025g α-CD	0.791
Λευκό ψωμί με 0,01g α-CD	Λευκό ψωμί με 0,05g α-CD	0.611
Λευκό ψωμί με 0,025g α-CD	Λευκό ψωμί με 0,05g α-CD	0.807

Πίνακας 3.2. Στατιστική Ανάλυση με τη δοκιμή LSD OneWay ANOVA για τα *in vitro* αποτελέσματα τη χρονική στιγμή t=30min

Σύγκριση μεταξύ :		P
Λευκό ψωμί	Λευκό ψωμί με 0,01g α-CD	0.806
Λευκό ψωμί	Λευκό ψωμί με 0,025g α-CD	0.258
Λευκό ψωμί	Λευκό ψωμί με 0,05g α-CD	0.343
Λευκό ψωμί με 0,01g α-CD	Λευκό ψωμί με 0,025g α-CD	0.367
Λευκό ψωμί με 0,01g α-CD	Λευκό ψωμί με 0,05g α-CD	0.476
Λευκό ψωμί με 0,025g α-CD	Λευκό ψωμί με 0,05g α-CD	0.844

Πίνακας 3.3. Στατιστική Ανάλυση με τη δοκιμή LSD OneWay ANOVA για τα *in vitro* αποτελέσματα τη χρονική στιγμή t=60min

Σύγκριση μεταξύ :		P
Λευκό ψωμί	Λευκό ψωμί με 0,01g α-CD	0.336
Λευκό ψωμί	Λευκό ψωμί με 0,025g α-CD	0.645
Λευκό ψωμί	Λευκό ψωμί με 0,05g α-CD	0.813
Λευκό ψωμί με 0,01g α-CD	Λευκό ψωμί με 0,025g α-CD	0.606
Λευκό ψωμί με 0,01g α-CD	Λευκό ψωμί με 0,05g α-CD	0.462
Λευκό ψωμί με 0,025g α-CD	Λευκό ψωμί με 0,05g α-CD	0.822

Πίνακας 3.4. Στατιστική Ανάλυση με τη δοκιμή LSD OneWay ANOVA για τα *in vitro* αποτελέσματα τη χρονική στιγμή t=90min

Σύγκριση μεταξύ :		P
Λευκό ψωμί	Λευκό ψωμί με 0,01g α-CD	0.245
Λευκό ψωμί	Λευκό ψωμί με 0,025g α-CD	0.160
Λευκό ψωμί	Λευκό ψωμί με 0,05g α-CD	0.046 *
Λευκό ψωμί με 0,01g α-CD	Λευκό ψωμί με 0,025g α-CD	0.717
Λευκό ψωμί με 0,01g α-CD	Λευκό ψωμί με 0,05g α-CD	0.285
Λευκό ψωμί με 0,025g α-CD	Λευκό ψωμί με 0,05g α-CD	0.495

Πίνακας 3.5. Στατιστική Ανάλυση με τη δοκιμή LSD OneWay ANOVA για τα *in vitro* αποτελέσματα τη χρονική στιγμή t=120min

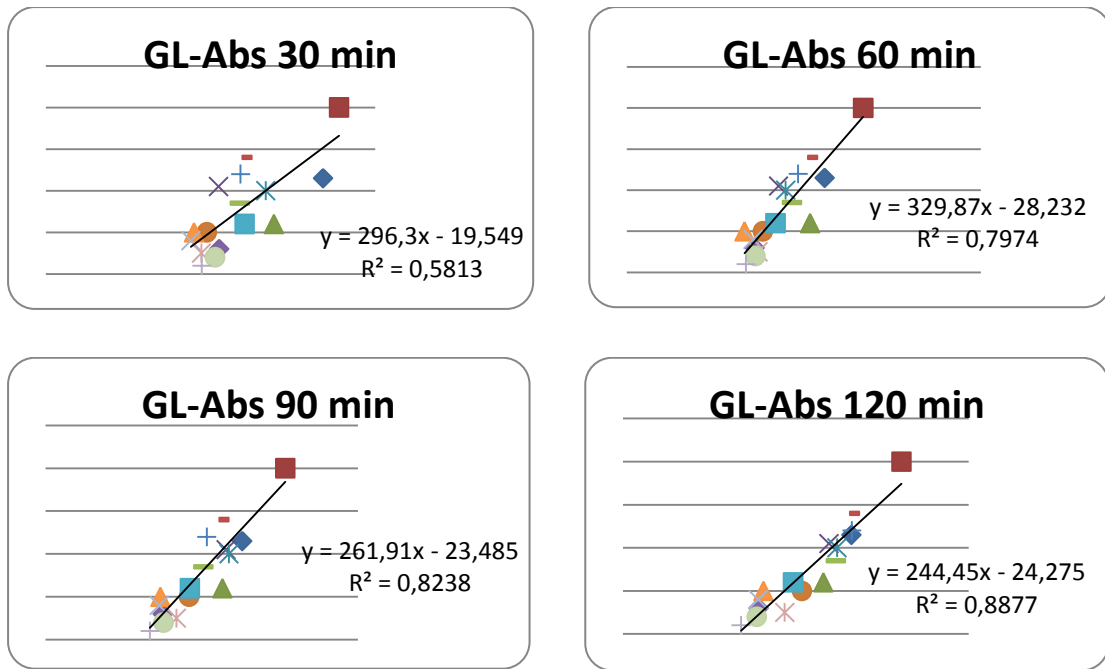
Σύγκριση μεταξύ :		P
Λευκό ψωμί	Λευκό ψωμί με 0,01g α-CD	0.558
Λευκό ψωμί	Λευκό ψωμί με 0,025g α-CD	0.310
Λευκό ψωμί	Λευκό ψωμί με 0,05g α-CD	0.011 *
Λευκό ψωμί με 0,01g α-CD	Λευκό ψωμί με 0,025g α-CD	0.627
Λευκό ψωμί με 0,01g α-CD	Λευκό ψωμί με 0,05g α-CD	0.022 *
Λευκό ψωμί με 0,025g α-CD	Λευκό ψωμί με 0,05g α-CD	0.048 *

3.2. Συσχέτιση των *in vitro* αποτελεσμάτων με το γλυκαιμικό φορτίο

Στον Πίνακα 3.6. παρουσιάζονται τα αποτελέσματα της στατιστικής ανάλυσης των συσχετίσεων της απορρόφησης γλυκόζης στα 30 min, 60 min, 90 min ή 120 min μετά την υποβολή του κάθε τροφίμου (Πίνακας 2.1.) σε *in vitro* πέψη με τις αντίστοιχες τιμές γλυκαιμικού φορτίου που προκύπτουν από τη βιβλιογραφία (Foster-Powell *et al*, 2002). Μεγαλύτερη συσχέτιση βρέθηκε μεταξύ της απορρόφησης γλυκόζης στα 120 min και του γλυκαιμικού φορτίου (Spearman's rho=0,953). Στο Σχήμα 3.2(α,β,γ,δ) απεικονίζονται γραφικά οι αντίστοιχες συσχετίσεις.

Πίνακας 3.6. Συσχετίσεις Spearman μεταξύ της απορρόφησης γλυκόζης των δειγμάτων τροφίμων στα 30 min, 60 min, 90 min και 120 min μετά την υποβολή τους σε *in vitro* διαδικασία πέψης με το γλυκαιμικό φορτίο GL. Spearman's rho είναι ο συντελεστής συσχέτισης.

Απορρόφηση /GL	Spearman's rho	P
30 min	0.723	0.002
60 min	0.842	0.000
90 min	0.854	0.000
120 min	0.953	0.000



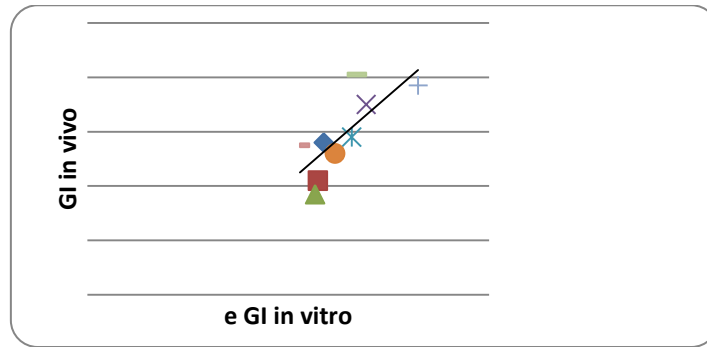
Σχήμα 3.2. Συσχέτιση της απορρόφησης γλυκόζης των δειγμάτων τροφίμων στα α. 30 min, β. 60 min, γ. 90 min και δ. 120 min μετά την υποβολή τους σε *in vitro* διαδικασία πέψης με το γλυκαιμικό φορτίο GL.

3.3. Συσχέτιση *in vitro* αποτελεσμάτων με τον γλυκαιμικό δείκτη GI

Στον Πίνακα 3.7. παρουσιάζονται τα αποτελέσματα της στατιστικής ανάλυσης της συσχέτισης μεταξύ του εκτιμώμενου γλυκαιμικού δείκτη *in vitro*, όπως αυτός υπολογίζεται για κάθε τρόφιμο του Πίνακα 2.2. σύμφωνα με την εξίσωση 1 και της αντίστοιχης τιμής *in vivo*, όπως προκύπτει από τον Πίνακα των Foster-Powell *et al* 2002. Ο συντελεστής συσχέτισης Spearman's rho βρέθηκε ίσος με 0,767. Στο Σχήμα 3.3 απεικονίζεται γραφικά η συσχέτιση του εκτιμώμενου γλυκαιμικού δείκτη *in vitro* και του γλυκαιμικού δείκτη *in vivo*.

Πίνακας 3.7. Συσχέτιση Spearman μεταξύ του γλυκαιμικού δείκτη *in vitro* με τον γλυκαιμικό δείκτη *in vivo* για τα τρόφιμα που μελετήθηκαν.

All food	Spearman's rho	P
eGI <i>in vitro</i> -GI <i>in vivo</i>	0.767	0.016

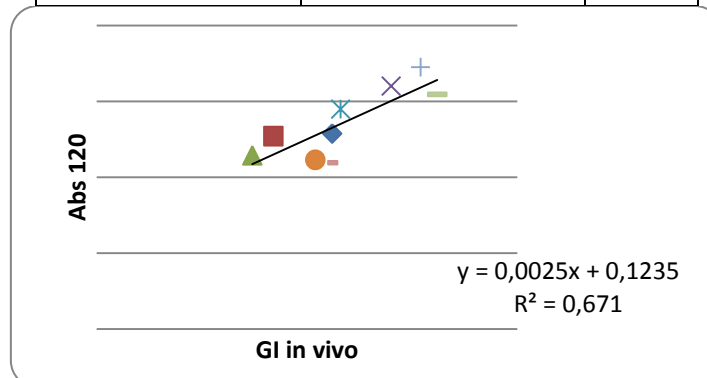


Σχήμα 3.3. Συσχέτιση του εκτιμώμενου γλυκαιμικού δείκτη *in vitro* με τον γλυκαιμικό δείκτη *in vivo* για τα τρόφιμα που μελετήθηκαν (Πίνακας 2.2).

Στη συνέχεια μελετήσαμε τη συσχέτιση μεταξύ της απορρόφησης της γλυκόζης στα 120 min μετά από την υποβολή των τροφίμων σε συνθήκες *in vitro* πέψης και του γλυκαιμικού δείκτη *GI in vivo*. Ο συντελεστής συσχέτισης βρέθηκε Spearman's rho = 0,883. (Πίνακας 3.3.). Στο Σχήμα 3.4. απεικονίζεται γραφικά η συσχέτιση της απορρόφησης της γλυκόζης στα 120 min και του γλυκαιμικού δείκτη *in vivo*.

Πίνακας 3.8. Συσχέτιση Spearman μεταξύ της απορρόφησης γλυκόζης των δειγμάτων στα 120 min μετά την υποβολή τους σε *in vitro* πέψη με τον γλυκαιμικό δείκτη *in vivo*.

All food	Spearman's rho	P
A120 - GI in vivo	0.883	0.002

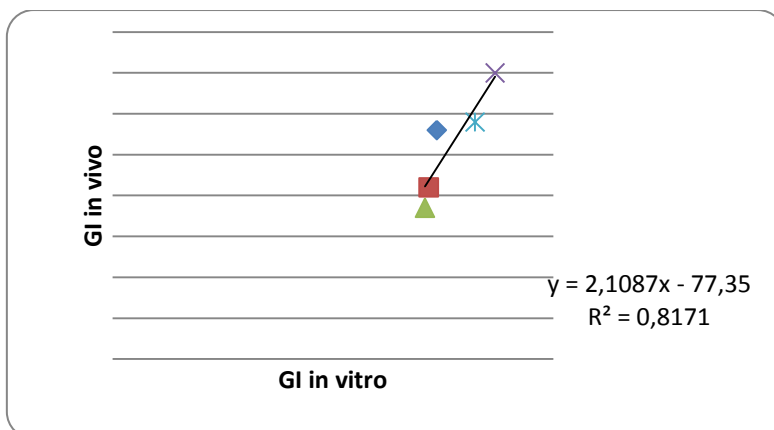


Σχήμα 3.4. Συσχέτιση της απορρόφησης γλυκόζης στα 120 min των τροφίμων (Πίνακας 2.2.) που υποβλήθηκαν σε *in vitro* πέψη με τον γλυκαιμικό δείκτη *in vivo* που προκύπτει από τη βιβλιογραφία.

Στον Πίνακα 3.9. παρουσιάζεται η συσχέτιση Spearman για το γλυκαιμικό δείκτη *in vivo* και το γλυκαιμικό δείκτη *in vitro* επιμέρους ομάδα των αμυλούχων τροφίμων (ρύζι, μακαρόνια, ψωμί). Σε αυτή την περίπτωση ο συντελεστής συσχέτισης βρέθηκε ίσος με Spearman's rho = 0,900. Στο Σχήμα 3.5. απεικονίζεται γραφικά η συσχέτιση του εκτιμώμενου *in vitro* γλυκαιμικού δείκτη για επιμέρους ομάδα τροφίμων (ρύζι, μακαρόνια, ψωμί) με τον *in vivo* γλυκαιμικό δείκτη.

Πίνακας 3.9. Συσχέτιση Spearman μεταξύ του γλυκαιμικού δείκτη *in vivo* και του γλυκαιμικού δείκτη *in vitro* για την επιμέρους ομάδα των αμυλούχων τροφίμων (ρύζι, μακαρόνια, ψωμί).

Αμυλούχα τρόφιμα	Spearman's rho	P
GI in vitro-GI in vivo	0.900	0.037



Σχήμα 3.5. Συσχέτιση του γλυκαιμικού δείκτη *in vitro* με τον γλυκαιμικό δείκτη *in vivo* για την ομάδα των αμυλούχων τροφίμων (ρύζι, μακαρόνια ολικής άλεσης και μακαρόνια λευκά, ψωμί ολικής άλεσης και ψωμί λευκό).

Κεφάλαιο 4. Συζήτηση

Ο γλυκαιμικός δείκτης αποτελεί ένα μέτρο της ικανότητας αύξησης της γλυκόζης του αίματος των διαθέσιμων υδατανθράκων σε τρόφιμα. Η συγκέντρωση της γλυκόζης του αίματος μπορεί να μειωθεί με διατροφικά μέσα και μπορεί να επηρεαστεί από πληθώρα παραγόντων όπως ο τύπος και η ποσότητα των υδατανθράκων, η φύση του αμύλου, η ποσότητα των πρωτεϊνών και των λιπαρών, η περιεκτικότητα σε διαιτητικές ίνες, η μέθοδος της επεξεργασίας του τροφίμου, η μορφή του τροφίμου και το μέγεθος των σωματιδίων (Jenkins *et al*,2008). Ο γλυκαιμικός δείκτης αποτελεί πλέον ένα πολύ χρήσιμο εργαλείο, με τους Οργανισμούς Υγείας να υποστηρίζουν το ΓΔ/ΓΦ ως ένα σημαντικό κριτήριο για το σχεδιασμό διαιτητικών παρεμβάσεων (Lin *et al*, 2012). Επίσης, έχει μετατραπεί σε κύριο παράγοντα για την πρόληψη του διαβήτη, της δυσλιπιδαιμίας, της καρδιαγγειακής νόσου, ακόμα και ορισμένων μορφών καρκίνου στο γενικό πληθυσμό (Pi-Sunyer, 2002). Η Αμερικανική Διαβητολογική Εταιρία (ADA) συνιστά τη χρήση του ΓΔ/ΓΦ για τον έλεγχο της γλυκόζης σε διαβητικούς ασθενείς, όταν λαμβάνεται υπόψη η συνολική ποσότητα των υδατανθράκων (Lin *et al*, 2012). Υπάρχουν ενδείξεις ότι οι αργά εύπεπτοι και απορροφήσιμοι υδατάνθρακες είναι ευνοϊκοί για την διαιτητική αντιμετώπιση μεταβολικών διαταραχών, όπως ο διαβήτης και η υπερλιπιδαιμία (Hu *et al*, 2004). Ο Παγκόσμιος Οργανισμός Υγείας (WHO) κατέληξε στο συμπέρασμα ότι τα διαιτολόγια χαμηλού γλυκαιμικού δείκτη αποτελούν ένα σημαντικό παράγοντα στην προσπάθεια για τη μείωση του κινδύνου εμφάνισης σακχαρώδη διαβήτη τύπου 2 και παχυσαρκίας. Επίσης, προοπτικές μελέτες έχουν δείξει ότι άτομα που υιοθετούν ένα διαιτολόγιο χαμηλού γλυκαιμικού δείκτη έχουν λιγότερες πιθανότητες να εμφανίσουν διαβήτη συγκριτικά με άτομα που ακολουθούν διαιτολόγια υψηλού γλυκαιμικού δείκτη (Jenkins *et al*,2008).

Στόχος της παρούσας μελέτης ήταν η ανάπτυξη μιας *in vitro* μεθοδολογίας για τον προσδιορισμό της συγκέντρωσης της γλυκόζης διαφόρων τροφίμων τόσο υγρών όσο και στερεών. Οι κλινικές μελέτες που πραγματοποιούνται συχνά για αντίστοιχες έρευνες χαρακτηρίζονται για το μεγάλο κόστος και το μεγάλο χρονικό διάστημα που απαιτείται για τη διεξαγωγή τους. Οι επιμέρους στόχοι της *in vitro* μεθοδολογίας που αναπτύχθηκε είναι:

1. Η ανάπτυξη μιας *in vitro* μεθοδολογίας που θα προσομοιάζει τις *in vivo* συνθήκες και προβλέπει τη γλυκαιμική απόκριση *in vivo*, και
2. Η συσχέτιση των αποτελεσμάτων της *in vitro* μεθοδολογίας με τα *in vivo* δεδομένα από τη διεθνή βιβλιογραφία .

Ένα από τα βασικά πλεονεκτήματα της προτεινόμενης μεθοδολογίας είναι ότι μπορεί να ελεγχθεί ένας μεγάλος αριθμός δειγμάτων σε σύντομο χρονικό διάστημα και σίγουρα με πολύ χαμηλότερο κόστος συγκριτικά με μια *in vivo* μεθοδολογία (Ferrer-Mairal *et al*, 2011). Οι *in vitro* δοκιμές χρησιμοποιούνται για τον έλεγχο της τιμής του γλυκαιμικού δείκτη προϊόντων διατροφής στο στάδιο ανάπτυξής τους, πριν την επιλογή των βελτιστοποιημένων προϊόντων που θα προοριστούν για *in vivo* δοκιμή γλυκαιμικού δείκτη (Germaine *et al*, 2008). Η *in vitro* μεθοδολογία μπορεί να εφαρμοστεί λαμβάνοντας υπ' όψιν τα πλεονεκτήματα που προσφέρει όσον αφορά στην αποτελεσματικότητα, το κόστος, την προσέλευση και την ευελιξία σε πειραματικούς σχεδιασμούς. Η διαδικασία της *in vitro* πέψης διαρκεί μόλις 4,5 ώρες, επομένως μετά το πέρας αυτού του χρονικού διαστήματος λαμβάνουμε τα δείγματα στα οποία θα γίνει στη συνέχεια ο προσδιορισμός της συγκέντρωσης της γλυκόζης. Η μέτρηση της συγκέντρωσης της απόκρισης γλυκόζης είναι μία διαδικασία σχετικά απλή, γρήγορη και με αξιόπιστα αποτελέσματα. Μέσα σε λίγες ώρες μπορεί να γίνει η μέτρηση ενός μεγάλου αριθμού δειγμάτων. Πιο συγκεκριμένα, ο χρόνος που απαιτείται για την μέτρηση της απορρόφησης 96 δειγμάτων είναι λιγότερο από ένα λεπτό.

Οι *in vitro* μεθοδολογίες αποτελούν ένα μεγάλο θέμα συζήτησης διότι σε ορισμένες περιπτώσεις δεν μπορούν να προβλέψουν το μέγεθος της αντίδρασης, όπως αυτή μετράται στους ανθρώπους και η πρόβλεψη μερικές φορές είναι σε λάθος κατεύθυνση. Έχουν αναπτυχθεί πολλές *in vitro* μεθοδολογίες για την πρόβλεψη της πεπτικότητας ή τις φυσιολογικές μεταβολές σε δείγματα τροφίμων. Ωστόσο, δεν έχει αναπτυχθεί καμία *in vitro* μεθοδολογία που να μπορεί να αντικαταστήσει τη μέτρηση του γλυκαιμικού δείκτη σε ανθρώπους, λόγω της πολυπλοκότητας της ανθρώπινης διαδικασίας πέψης. Παρόλα αυτά, οι *in vitro* μέθοδοι της πεπτικότητας του αμύλου είναι σχετικά επιτυχημένες στην πρόβλεψη του γλυκαιμικού δείκτη τροφίμων με υψηλή περιεκτικότητα σε άμυλο (Germaine *et al*, 2008). Ωστόσο, η πρόβλεψη της βιοδιαθεσιμότητας και της πέψης του τροφίμου είναι πολύ δύσκολη, καθώς πέραν από τη μήτρα του τροφίμου εξαρτάται και από παράγοντες που σχετίζονται με τη δομή και τη σύνθεση του τροφίμου (Hur *et al*, 2011). Για τους παραπάνω λόγους δεν υπάρχουν διεθνή πρότυπα για *in vitro* δοκιμές πεπτικότητας του αμύλου. Επιπλέον, οι δημοσιευμένες μέθοδοι περιλαμβάνουν διακυμάνσεις στην αρχική διαδικασία κατάρρευσης της δομής του τροφίμου, στον αριθμό και τον τύπο των ενζύμων που χρησιμοποιούνται και στην επώαση με ή χωρίς περιορισμούς (Germaine *et al*, 2008).

Τα αποτελέσματα των *in vitro* μεθοδολογιών θα πρέπει να υποστηρίζονται με επιπρόσθετες άμεσες *in vivo* μελέτες, προκειμένου να ελεγχθεί η αποτελεσματικότητα της σύνθεσης του τροφίμου στο συγκεκριμένο πληθυσμό στόχο για την προβλεπόμενη χρήση. Απαιτείται περισσότερη έρευνα ώστε να καθοριστούν αξιόπιστες *in vitro* μεθοδολογίες συνοδευόμενες από επικυρωμένες μελέτες για τη διασφάλιση της εκτιμώμενης τιμής της *in vitro* μεθόδου. Οι συνοδευτικές μελέτες χρησιμοποιούνται για να ελεγχθεί η συμφωνία μεταξύ των αποτελεσμάτων από *in vitro* πρωτόκολλα και των δεδομένων που λαμβάνονται από *in vivo* μελέτες (Fernández-García, Carvajal-Lérida, Pérez-Gálvez , 2009). Οι Englyst *et al* (1999) βρήκαν ότι οι *in vitro* μετρήσεις για την ποσότητα της ταχέως διαθέσιμης γλυκόζης στα τρόφιμα μπορεί να αντανάκλα τη γλυκαιμική απόκριση. Σε μια σύγκριση μεταξύ του *in vitro* προσδιορισμού του ρυθμού πέψης των υδατανθράκων και της γλυκαιμικής απόκρισης σε νεαρούς άνδρες βρέθηκε ότι ο ρυθμός πέψης των υδατανθράκων συσχετίστηκε σημαντικά με το ΓΔ των γευμάτων, υποδεικνύοντας ότι ο *in vitro* προσδιορισμός του ρυθμού πέψης των υδατανθράκων μπορεί να χρησιμοποιηθεί ως μια χρήσιμη, απλή και φθηνή μέθοδος για την εκτίμηση της βιολογικής απόκρισης γευμάτων με υψηλή περιεκτικότητα υδατανθράκων.

Η μέθοδος που τελικά αναπτύχθηκε για τη μέτρηση της μεταγευματικής απόκρισης της γλυκόζης διαφόρων τροφίμων παρουσιάζει βασικά πλεονεκτήματα, όπως είναι το μικρότερο κόστος από μια αντίστοιχη *in vivo* μελέτη, ο μικρότερος χρόνος που χρειάζεται για την ολοκλήρωσή της, ο παράλληλος έλεγχος πολλών δειγμάτων αλλά και η πολύ μικρή ποσότητα δείγματος που απαιτείται. Φυσικά, ως *in vitro* μέθοδος που είναι παρουσιάζει όλα τα μειονεκτήματα μιας *in vitro* μεθόδου, με βασικότερο το γεγονός ότι απλά προσπαθεί να προσομοιάσει ένα ανθρώπινο σύστημα, το οποίο λόγω της πολύπλοκης φυσιολογίας του δεν μπορεί ποτέ να αντιγραφεί, με αποτέλεσμα πάντα να υπάρχουν αποκλίσεις.

Το πρώτο εύρημα είναι ότι προσαρμόστηκε μια μεθοδολογία *in vitro* πρόβλεψης της βιοδιαθεσιμότητας σιδήρου και ψευδαργύρου (Argiri *et al*, 2009) και αναπτύχθηκε μία νέα *in vitro* μεθοδολογία για την πρόβλεψη της πέψης των υδατανθράκων. Τα αποτελέσματα που λαμβάνονται από την υποβολή των διαφόρων τροφίμων σε συνθήκες γαστρεντερικής πέψης *in vitro* συσχετίζονται με εκείνα που παρουσιάζονται στη βιβλιογραφία (Monro *et al*, 2010). Επίσης η *in vitro* μεθοδολογία έδωσε ικανοποιητική συσχέτιση (Spearman's $\rho=0,736$) μεταξύ των αποτελεσμάτων της *in vitro* πέψης και της αντίστοιχης κλινικής μελέτης σε τρόφιμα τροποποιημένης σύστασης και μη (Argyri *et al*, 2013).

Το δεύτερο σημαντικό εύρημα της παρούσας μελέτης είναι ότι η προσθήκη α-CD σε μια ποσότητα λευκού ψωμιού μείωσε τα επίπεδα γλυκόζης μετά την υποβολή σε συνθήκες *in vitro* πέψης. Συγκεκριμένα, η προσθήκη 0.05g α-CD σε μια μερίδα λευκού ψωμιού που περιέχει 0.25g υδατανθράκων μείωσε στατιστικά σημαντικά την απορρόφηση της γλυκόζης συγκριτικά με το απλό λευκό ψωμί (δείγμα ελέγχου) ($p=0.011$). Οι μικρότερες συγκεντρώσεις α-κυκλοδεξτρίνης (0.01g και 0.025g) μείωσαν, αλλά όχι στατιστικά σημαντικά, την απορρόφηση της γλυκόζης συγκριτικά με το δείγμα ελέγχου. Το εύρημα αυτό για την μείωση των επιπέδων γλυκόζης *in vivo* έρχεται σε συμφωνία με προηγούμενα ευρήματα των Raben *et al* (1997), που ανέφεραν ότι η προσθήκη 1g β-CD σε 50g αμύλου πατάτας οδήγησε σε μια πιο επίπεδη μεταγευματική απόκριση γλυκόζης, και των Buckley *et al* (2006), που ανέφεραν ότι η προσθήκη 2g α-CD σε 50g διαθέσιμους υδατάνθρακες προκάλεσε μια πιο επίπεδη αύξηση στα μεταγευματικά επίπεδα γλυκόζης (όχι στατιστικά σημαντική), χωρίς σημαντική μείωση στην iAUC. Στην παρούσα μελέτη φαίνεται ότι τη χρονική στιγμή $t=90\text{min}$ η απορρόφηση της γλυκόζης του δείγματος λευκού ψωμιού με 0.05g α-CD είναι στατιστικά σημαντικά μικρότερη σε σχέση με το δείγμα ελέγχου (λευκό ψωμί) ($p=0.046$). Τη χρονική στιγμή $t=120\text{min}$ παρατηρήθηκε στατιστικά σημαντική μεγαλύτερη απορρόφηση της γλυκόζης του δείγματος ελέγχου (λευκό ψωμί) σε σχέση με το λευκό ψωμί με 0,05g α-CD ($p=0.011$). Επίσης, την ίδια χρονική στιγμή το λευκό ψωμί με 0.05g α-CD παρουσίασε στατιστικά σημαντική μικρότερη απορρόφηση γλυκόζης από το λευκό ψωμί με 0.01g α-CD ($p=0.022$). Τέλος, παρατηρήθηκε στατιστικά σημαντική μικρότερη απορρόφηση της γλυκόζης στο λευκό ψωμί με 0,05g α-CD σε σχέση με το λευκό ψωμί με 0,025g α-CD ($p=0.048$). Λαμβάνοντας υπόψη και τη βιβλιογραφία φαίνεται ότι η προσθήκη είτε 1g β-CD, 2g ή 5g α-CD σε 50g υδατανθράκων δεν είναι επαρκής για να προκαλέσει σημαντική επίδραση στη μεταγευματική γλυκαιμική απόκριση. Υψηλότερες δόσεις α-CD, όπως τα 10g που χρησιμοποιήθηκαν στην παρούσα μελέτη, μείωσαν σημαντικά τα επίπεδα γλυκόζης (μείωση 50% οι Buckley *et al* και 57% μείωση οι Diamantis and Bar μετά την προσθήκη 10 g α-CD σε μια μερίδα λευκού ψωμιού που περιέχει 50g εύπεπτους υδατάνθρακες). Οι μειώσεις αυτές της Περιοχή Κάτω από την Καμπύλη (AUC) υποστηρίζουν την υπόθεση ότι η ανασταλτική επίδραση της α-CD στην παγκρεατική αμυλάση μειώνει την υδρόλυση του αμύλου στο λεπτό έντερο με αποτέλεσμα να μετριάζει τη μεταγευματική γλυκαιμική απόκριση. Η μείωση αυτή μπορεί να οφείλεται εν μέρει και στην επίδραση της α-CD στο μειωμένο χρόνο διέλευσης από το λεπτό έντερο. Συμπερασματικά, η παρούσα μελέτη δείχνει ότι η προσθήκη 0.05g α-CD σε ένα αμυλούχο γεύμα πλούσιο σε υδατάνθρακες (0.25g διαθέσιμοι υδατάνθρακες) μπορεί να μειώσει

σημαντικά τη μεταγευματική γλυκαιμική απόκριση. Απαιτείται περισσότερη έρευνα ώστε να υπάρξουν επαρκή επιστημονικά δεδομένα που να υποδεικνύουν τα οφέλη για την υγεία από την τακτική κατανάλωση τροφίμων που περιέχουν α-CD. Το όφελος είναι ιδιαίτερα σημαντικό για ομάδες ατόμων υψηλού κινδύνου για ασθένειες όπως ο σακχαρώδης διαβήτης και τα καρδιαγγειακά νοσήματα, που επιθυμούν να καταναλώσουν τρόφιμα τροποποιημένης σύστασης που προκαλούν χαμηλότερη γλυκαιμική απόκριση.

Στην συνέχεια προχωρήσαμε στη σύγκριση των αποτελεσμάτων της *in vitro* μεθοδολογίας για την πρόβλεψη της πέψης των υδατανθράκων με τα αποτελέσματα από τη διεθνή βιβλιογραφία για το γλυκαιμικό δείκτη και το γλυκαιμικό φορτίο. Η μέθοδος χρησιμοποιήθηκε για τα 16 τρόφιμα που επιλέχθηκαν από τη διεθνή βιβλιογραφία για να υποβληθούν σε διαδικασία *in vitro* πέψης υδατανθράκων. Τα αποτελέσματα, πιο συγκεκριμένα η απορρόφηση της γλυκόζης στα 120min, συσχετίστηκαν με τις τιμές του γλυκαιμικού φορτίου δίνοντας πολύ καλά αποτελέσματα (Spearman's rho=0,953). Είναι πιθανό, επομένως, υποβάλλοντας ένα τρόφιμο σε συνθήκες *in vitro* πέψης σύμφωνα με τη μεθοδολογία που περιγράφηκε και μετρώντας την απορρόφηση της γλυκόζης στα 120 min να υπολογίζεται το γλυκαιμικό φορτίο μέσω της εξίσωσης που συνδέει τα δύο μεγέθη κάνοντας την απαραίτητη αναγωγή στη μερίδα.

Ακολούθησε η συσχέτιση των *in vitro* αποτελεσμάτων με τις τιμές γλυκαιμικού δείκτη από τη διεθνή βιβλιογραφία. Σε αυτή τη σειρά πειραμάτων παρουσιάστηκαν κάποιοι περιορισμοί λόγω της ποσότητας (2 mL) που δέχεται η κάθε θέση στο πιάτο-6-θέσεων το οποίο υποβάλλεται σε συνθήκες *in vitro* πέψης. Για το λόγο αυτό αποκλείστηκαν 7 τρόφιμα (Πίνακας 2.1. & Πίνακας 2.2) για τα οποία η ποσότητα που αντιστοιχούσε σε 0.25 g υδατάνθρακα ήταν μεγαλύτερη ή περίπου ίση με 2 g τροφίμου. Η μέθοδος έδειξε ότι αποκρίνεται στη διαφορετική σύσταση που παρουσιάζουν τα τρόφιμα και στις πιθανές αλληλεπιδράσεις μεταξύ των συστατικών των τροφίμων που λαμβάνουν χώρα κατά τη διάρκεια της πέψης. Ο συντελεστής συσχέτισης των δύο δεικτών βρέθηκε καλός (Spearman's rho=0,767). Ωστόσο, σύμφωνα με τα αποτελέσματα της στατιστικής ανάλυσης καλύτερη στατιστικά σημαντική συσχέτιση με τον γλυκαιμικό δείκτη *in vivo* παρουσιάζει η απορρόφηση της γλυκόζης των δειγμάτων στα 120 min (Spearman's rho=0,883). Στη συνέχεια εξετάσαμε μία επιμέρους ομάδα αμυλούχων τροφίμων και συγκεκριμένα το ρύζι, τα λευκά μακαρόνια, τα μακαρόνια ολικής άλεσης, το λευκό ψωμί και το ψωμί ολικής άλεσης για τα οποία η συσχέτιση *in vitro/in vivo* γλυκαιμικού δείκτη βρέθηκε επίσης στατιστικά σημαντική (Spearman's rho = 0,900). Το αποτέλεσμα αυτής της στατιστικής

ανάλυσης υποδεικνύει ότι η μέθοδος είναι πιθανό να αποκρίνεται καλύτερα όταν εξετάζονται ομοιογενείς ομάδες τροφίμων. Η προτεινόμενη *in vitro* μεθοδολογία θα μπορούσε να χρησιμοποιηθεί ως ένα χρήσιμο εργαλείο για την πρόβλεψη της επίδρασης στο γλυκαιμικό δείκτη τροφίμων με τροποποιημένη ή παρεμφερή σύσταση.

Η *in vitro* μεθοδολογία που αναπτύχθηκε έδωσε ικανοποιητικά αποτελέσματα σε σχέση με τα αποτελέσματα της διεθνούς βιβλιογραφίας. Το ερώτημα που τίθεται είναι κατά πόσο η υπάρχουσα μεθοδολογία μπορεί να χρησιμοποιηθεί για τον προσδιορισμό του γλυκαιμικού φορτίου για τρόφιμα τελείως διαφορετικής σύστασης από αυτά που μελετήθηκαν στην παρούσα μελέτη. Όπως ήδη αναφέρθηκε, στη μελέτη της συσχέτισης με το γλυκαιμικό δείκτη, δεν συμπεριλήφθηκαν και τα 16 τρόφιμα λόγω περιορισμών στον όγκο που δέχεται η κάθε θέση στο πιάτο που χρησιμοποιείται για την *in vitro* πέψη. Η ποσότητα που δέχεται το κάθε plate είναι 2mL και η ποσότητα του τροφίμου που περιείχε 0,25g υδατάνθρακα στην περίπτωση του γάλακτος με 0% λιπαρά, του γάλακτος πρώτης βρεφικής ηλικίας, των φακών, του χυμού μήλου, του Lucozade, του ανθρακούχου χυμού πορτοκαλιού και του μήλου ήταν ίση ή και μεγαλύτερη των 2mL. Θα μπορούσαμε να προχωρήσουμε στην *in vitro* εκτίμηση της τιμής του γλυκαιμικού χρησιμοποιώντας ποσότητα υδατανθράκων που αντιστοιχεί στο 1/400 της μερίδας, δηλαδή 0,125 g. Σε μια τέτοια περίπτωση δεν γνωρίζουμε κατά πόσο μπορεί να ανταποκριθεί η μέθοδος σε τόσο χαμηλά όρια.

Βιβλιογραφία

1. Amelvoort J.M.M. and Weststrate J.A., 1992. Amylose-amylopectin ratio in a meal affects postprandial variables in male volunteers, *American Journal of Clinical Nutrition*, **55**, pp.712-718
2. Anderson J.W., Randles, K.M., Kendall, C.W.C. and Jenkins, D.J.A., 2004. Carbohydrate and fiber recommendations for individuals with diabetes: A quantitative assessment and meta-analysis of the evidence. *Journal of the American College of Nutrition*, **23**, pp. 5–17.
3. Araya H., Contreras P., Alvina M., Vera G. & Pak N, 2002. A comparison between an In vitro method to determine carbohydrate digestion rate and the glycemic response in young men, *European Journal of Clinical Nutrition*, **56**, pp. 735–739
4. Argyri K, Sotiropoulos A, Psarou E, Papazafiropoulou A, Zampelas A, Kapsokefalou M, 2013. Desserts formulated using sucralose and dextrins affect favorably postprandial response to glucose, insulin and c-peptide in type 2 diabetic patients. *The Review of Diabetic Studies*, accepted.
5. Argyri K., Birba A., Miller D.D., Komaitis M. & Kapsokefalou M., 2009. Predicting relative concentrations of bioavailable iron in foods using *in vitro* digestion: New developments. *Food Chemistry*, 113(2), pp.602-607
6. Bell S.J., Sears B., 2003. Low-Glycemic Load Diets: Impact on Obesity and Chronic Diseases. *Critical Review in Food Science and Nutrition*, **43**, pp. 357-377
7. Boisen, S., & Eggum, B.O., 1991. Critical evaluation of *in vitro* methods for estimating digestibility in simple-stomach animals. *Nutrition Research Reviews*, **4**, pp. 141–162
8. Brandon, E.F.A., Oomen, A.G., Rompelberg, C.J.M., Versantvoort, C.H.M., Van Engelen, J.G.M., Sips, A., *et al*, 2006. Consumer product *in vitro* digestion model: bioaccessibility of contaminants and its application in risk assessment. *Regulatory Toxicology and Pharmacology*, **44**, pp. 161–171
9. Brennan C.S., Brennan M.A., 2009. Glycemic Response Reduction in Processed Food Products. *Modern Biopolymer Science, bringing the divide between fundamental treatise and industrial application*. 1st Ed. Academic Press. London. **15**, pp.511-518
10. Brighenti F., Castellani G., Benini L., Casiraghi M.C., Leopardi E., Crovetto R., *et al*, 1995. Effect of neutralized and native vinegar on blood glucose and acetate responses to a mixed meal in healthy subjects. *European Journal of Clinical Nutrition*, **49**, pp.242-247
11. Buckley J.D., Thorp A.A., Murphy K.J., Howe P.R.C., 2006. Dose-Dependent Inhibition of the Post-Prandial Glycaemic Response to a Standard Carbohydrate Meal following Incorporation of Alpha-Cyclodextrin. *Annals of Nutrition & Metabolism*, **50**, pp.108–114, doi: 10.1159/000090498
12. Chiu C.J., Taylor A., 2011. Dietary hyperglycemia, glycemic index and metabolic retinal diseases . *Progress in Retinal and Eye Research*, **30**, pp. 18-53
13. Chung H.J., Shin D.H., Lim S.T., 2008. *In vitro* starch digestibility and estimated glycemic index of chemically modified corn starches. *Food Research International*, **41**, pp.579–585
14. Collings P., Williams C., Macdonald I., 1981. Effects of cooking on serum glucose and insulin responses to starch. *British Medical Journal*, **282**, p. 1032

15. Del Valle E.M.M., 2003. Cyclodextrins and their uses: a review. *Process Biochemistry*. doi:10.1016/S0032-9592(03)00258-9
16. Diabetes and Driving in Europe. A Report of the Second European Working Group on Diabetes and Driving, an advisory board to the Driving Licence Committee of the European Union
17. Diabetes in Europe, 2004. Towards a European framework for diabetes prevention and care. EU workshop proceedings.
18. Diamantis I, Bär A, 2002. Effect of α -Cyclodextrin on the Glycemic Index (GI) and Insulinemic Index (II) of Starch in Healthy Human Volunteers. Munich, Wacker Chemie,
19. Ebihara K. & Nakajima A., 1988. Effect of acetic acid and vinegar on blood glucose and insulin responses to orally administered sucrose and starch. *Agricultural & Biological Chemistry*, **52**, pp.1311-1312
20. EFSA, 2012. Scientific Opinion on the substantiation of health claims related to alpha cyclodextrin and reduction of post prandial glycaemic responses (ID 2926, further assessment) pursuant to Article 13(1) of Regulation (EC) No 1924/2006. *EFSA Journal*, **10**(6), pp.2713- 2730
21. Emami J, 2006. In vitro - In vivo Correlation: From Theory to Applications. *Journal of Pharmacy & Pharmaceutical Science*, (www.cspCanada.org), **9**(2), pp.31-51
22. Englyst H.N. & Cummings J.H., 1987. Digestion of polysaccharides of potato in the small intestine of man. *American Journal of Clinical Nutrition*, **45**, pp.423-431
23. Englyst, K., Englyst, H., Hudson, G., Cole, T. & Cummings, J., 1999. Rapidly available glucose in foods: an *in vitro* measurement that reflects the glycemic response. *American Journal of Clinical Nutrition*, **69**, pp. 448–454
24. Farshchi H.R., Taylor M.A., Macdonald I.A., 2005. Beneficial metabolic effects of regular meal frequency on dietary thermogenesis, insulin sensitivity, and fasting lipid profiles in healthy obese women. *American Journal of Clinical Nutrition*, **81**(1), pp. 16-24.
25. Fernández-García E., Carvajal-Lérida I. & Pérez-Gálvez A., 2009. *In vitro* bioaccessibility assessment as a prediction tool of nutritional efficiency. *Nutrition Research*, **29**, pp. 751–760
26. Ferrer-Mairal A., Penalva-Lapuente C., Iglesia I., Urtasun L., De Miguel-Etayo P., Remon S., Cortes E. & Moreno L.A., 2011. *In vitro* and *in vivo* assessment of the glycemic index of bakery products: influence of the reformulation of ingredients. *European Journal of Nutrition*, **51**(8), pp.947-954, doi: 10.1007/s00394-011-0272-6
27. Foster-Powell K., Holt S.H.A. & Brand-Miller J.C., 2002. International table of glycemic index and glycemic load values: 2002. *American Journal of Clinical Nutrition*, **76**, pp5–56.
28. Frost G & Dornhorst A, 2005. Glycemic Index, *Encyclopedia of Human Nutrition*, Academic Press , London, 2nd Ed., pp. 413-418
29. Frost G., 2003. Glucose Tolerance and the Glycemic (Glycaemic) Index. *Encyclopedia of Food Science and Nutrition*, Academic Press, London, 2nd Ed., pp. 2916-2922
30. Fuentes-Zaragoza E., Riquelme-Navarrete M.J., Sánchez-Zapata E. & Pérez-Álvarez J.A., 2010. Resistant starch as functional ingredient: A review. *Food Research International*, **43**, pp. 931–942

31. Gagne L., 2008. The Glycemic Index and glycemic load in clinical practice. *Explore*, **4**(1), pp.66-69
32. Gentilcore D., Vanis L., Teng J.C., Wishart J.M., Buckley J.D., Rayner C.K., Horowitz M. & Jones K.L., 2011. The oligosaccharide α -cyclodextrin has modest effect to slow gastric emptying and modify the glycaemic response to sucrose in healthy older adults. *British Journal of Nutrition*, **106** (04), pp. 583 - 587, doi: 10.1017/S0007114511000444
33. Giacco, R., Parillo, M., Rivellese, A. A., Lasorella, G., Giacco, A., D'Episcopo, L., & Riccardi, G., 2000. Long term dietary treatment with increased amounts of fiber-rich low glycemia index natural foods improve blood glucose control and reduce the number of hypoglycemia events in type 1diabetics patients. *Diabetes Care*, **23**, pp.1461–1466
34. Gibson N., Schönfeldt H.C. & Pretorius B., 2011. Development of a rapid assessment method for the prediction of the glycemic index. *Journal of Food Composition and Analysis*, **24**, pp. 750-54
35. Goni, I., Garcia-Alonso, A. & Saura-Calixto, F., 1997. A starch hydrolysis procedure to estimate glycemic index. *Nutrition Research*, **17**, pp. 427–437
36. Gretebeck R.J., Gretebeck K.A. & Tittelbach T.J., 2002. Glycemic index of popular sport drinks and energy foods. *Journal of the American Dietetic Association*, **102**(3), pp.415-417
37. Hermansen M.L.H., Eriksen N.M.B., Mortensen L.S., Holm L. & Hermansen K., 2006. Can the Glycemic Index (GI) be Used as a Tool in the Prevention and Management of Type 2 Diabetes?”, *The Review of Diabetic Studies*,**3**(2), pp. 61-71
38. Holub I., Gostner A., Theis S., Nosek L., Kudlich T., Melcher R. & Scheppach W., 2010. Novel findings on the metabolic effects of the low glycaemic carbohydrate isomaltulose (Palatinosee). *British Journal of Nutrition*, **103**, pp. 1730–1737
39. Hu P., Zhao H., Duan Z., Linlin Z., Wu D., 2004. Starch digestibility and the estimated glycemic score of different types of rice differing in amylose contents. *Journal of Cereal Science*, **40**, pp.231–237
40. Hur S.J., Lim B.O., Decker E.A. & Mc Clements D.J., 2011. *In vitro* human digestion models for food applications. *Food Chemistry*, **125**(1), pp. 1–12
41. Jenkins A.L., Jenkins D.J.A., Wolever T.M.S., Rogovik A.L., Jovanovski E., Božikov V., Rahelić D. & Vuksan V., 2008. Comparable Postprandial Glucose Reductions with Viscous Fiber Blend Enriched Biscuits in Healthy Subjects and Patients with Diabetes Mellitus: Acute Randomized Controlled Clinical Trial. *Croatian Medical Journal*, **49**(6), pp.772-782
42. Kalkwarf, H. J., Bell, R. C., Khoury, J. C., Gouge, A. L. & Miodovnik, M., 2001. Dietary fiber intakes and insulin requirements in pregnant women with type 1 diabetes. *Journal of the American Dietetic Association*, **101**(3), pp.305–310
43. Khondkar D., Tester R.F. & Karkalas J., 2009. Effect of cross-linking on the resistance to enzymatic hydrolysis of waxy maize starch and low-methoxy pectin. *Food Hydrocolloids*, **23**(2), pp. 387–393
44. Kumar V., Sinha A.K., Makkar H.P., de Boeck G. & Becker K., 2012. Dietary roles of non-starch polysaccharides in human nutrition: a review. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, **52**(10), pp. 899-935, doi: 10.1080/10408398.2010.512671

45. Liljeberg H., Bjorck I., 1998. Delayed gastric emptying rate may explain improved glycaemia in healthy subjects to a starchy meal with added vinegar. *European Journal of Clinical Nutrition*, **52**(5), pp.368-371
46. Lin C.S., Kimokoti R.W., Brown L.S., Kaye E.A., Nunn M.E. & Millen B.E., 2012. Methodology for Adding Glycemic Index to the National Health and Nutrition Examination Survey Nutrient Database. *Journal of the Academy of Nutrition & Dietetics*, **112**(11), pp.1843-1851
47. Lionis C., Bathianaki M., Antonakis N., Papavasiliou S. & Philalithis A., 2001. A high prevalence of diabetes mellitus in a municipality of rural Crete, Greece. *Diabetic Medicine*, **18**(9), pp.768-769.
48. Loftsson T., Jarho P., Másson M. & Järvinen T., 2005. Cyclodextrins in drug delivery. *Expert Opinion on Drug Delivery*, **2**(2), pp335-351
49. Ludwig D.S., 2003. Glycemic Load Comes of Age. *Journal of Nutrition*, **133**, pp. 2728-2732
50. Magnúsdóttir A., Másson M., Loftsson T., 2002. The conventional model of drug/cyclodextrin complex formation (salicylic acid/ β -cyclodextrin inclusion complex). *Journal of Inclusion Phenomena and Macrocyclic Chemistry*, **44**, pp. 213-218
51. Mettlera S., Schwarz I. & Colombiana P.C., 2009. Additive postprandial blood glucose-attenuating and satiety-enhancing effect of cinnamon and acetic acid. *Nutrition Research*, **29**(10), pp 723-727
52. Monro J.A., Mishra S. & Venn B., 2010. Baselines representing blood glucose clearance improve *in vitro* prediction of the glycaemic impact of customarily consumed food quantities. *British Journal of Nutrition*, **103**(2), pp.295-305
53. National Diabetes Information Clearinghouse. National Diabetes Statistics. <http://www.diabetes.niddk.nih.gov/dm/pubs/statistics/#deaths> (accessed December 2012)
54. O’Dea K., Nestel P.J. & Antonoff L., 1980. Physical factors influencing postprandial glucose and insulin responses to starch. *The American Journal of Clinical Nutrition*, **33**(4), pp. 760-765
55. Opperman A.M., Venter C.S., Oosthuizen W., Thompson R.L. & Vorster H.H., 2004. Meta-analysis of the health effects of using the glycaemic index in meal planning. *British Journal of Nutrition*, **92**(3), pp.367-381
56. Panagiotakos D.B., Pitsavos C., Chrysohoou C., Stefanadis C., 2005. The epidemiology of Type 2 diabetes mellitus in Greek adults: the ATTICA study. *Diabetic Medicine*, **22**(11), pp.1581-1588
57. Pi-Sunyer F.X., 2002. Glycemic index and disease. *American Journal of Clinical Nutrition*, **76**, pp.290S-8S
58. Raben A., Andersen K., Karberg M., Holst J.x, Astrup A., 1997. Acetylation of or beta-cyclodextrin addition to potato starch: beneficial effect on glucose metabolism and appetite sensations. *American Journal of Clinical Nutrition*, **66**, pp. 304-314
59. Schakel S., Schauer R., Himes J., Harnack L. & Van Heel N., 2008. Development of a glycemic index database for dietary assessment. *Journal of Food Composition and Analysis*, **21**, pp.S50-S55
60. Standards of Medical Care, 2011. *Diabetes Care*, **34**(1), pp.11-61
61. Terao K., Nakata D., Fukumi H., Schmid G., Arima H., Hirayama F., Uekama K., 2006. Enhancement of oral bioavailability of coenzyme Q10 by complexation with α -cyclodextrin in healthy adults. *Nutrition Research*, **26**(10), pp. 503- 508

62. Turgeon S.L. & Rioux L.E., 2011. Food matrix impact on macronutrients nutritional properties. *Food Hydrocolloids*, **25**(8), pp. 1915-1924
63. Uehata K., Anno T., Hayashida K., Higashi T., Motoyama K., Hirayama F., Uekama K. & Arima H., 2012. Peak-less hypoglycemic effect of insulin glargine by complexation with maltosyl- β -cyclodextrin. *International Journal of Pharmaceutics*, **422**(1-2), pp. 33-39
64. Venn B.J. & Green T.J., 2007. Glycemic index and Glycemic load: measurement issues and their effect on diet – disease relationships. *European Journal of Clinical Nutrition*, **61**(1), pp. S122-S131
65. Voss A.C., Maki K.C., Garvey W.T., Husted D.S., Alish C., Fix B. & Mustad V.A., 2008. Effect of two carbohydrate-modified tube-feeding formulas on metabolic responses in patients with type 2 diabetes. *Nutrition*, **24**(10), pp. 990–997
66. Wagner E.K., Jen K.L.C., Artiss J.D., Remaley A.T., 2008. Dietary α -cyclodextrin lowers low-density lipoprotein cholesterol and alters plasma fatty acid profile in low-density lipoprotein receptor knockout mice on a high-fat diet. *Metabolism Clinical and Experimental*, **57**(8), pp. 1046–1051
67. WHO, 2013. Diabetes Programme. Country and regional data on diabetes, (accessed January, 2013)
68. Wolf B.W., Wolever T.M.S., Bolognesi C., Zinker B.A., Garleb K.A., 2001. Glycemic response to a rapidly digested starch is not affected by the addition of an indigestible dextrin in humans, *Nutrition Research*, **21**(8), pp. 1099 –1106
69. Woolnough J.W., Monro J.A., Brennan C.S. & Bird A.R., 2008. Simulating human carbohydrate digestion *in vitro*: a review of methods and the need for standardization. *International Journal of Food Science and Technology*, **43**(12), pp.2245-2256
70. Wursch P. & Pi-Sunyer F.X., 1997. The Role of Viscous Soluble Fiber in the Metabolic Control of Diabetes. A review with special emphasis on cereals rich in β -glucan. *Diabetes Care*, **20**(11), pp.1774-1780
71. www.glycemicindex.com, accessed 2011
72. Zhan J., Tian Y. & Tong Q., 2013. Preparation and slowly digestible properties of β -cyclodextrins (β -CDs)-modified starches. *Carbohydrate Polymers*, **91**(2), pp. 609– 612
73. Zhang N., Li J., Jiang W., Ren C., Li J., Xin J. & Li K., 2010. Effective protection and controlled release of insulin by cationic β -cyclodextrin polymers from alginate/chitosan nanoparticles. *International Journal of Pharmaceutics*, **393**(1-2), pp. 212–218
74. Zhang G. & Hamaker B.R., 2009. Slowly Digestible Starch: Concept, Mechanism, and Proposed Extended Glycemic Index. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, **49**(10), pp. 852-867
75. Αθανασάτου Αδελαΐς, 2011. Συσχέτιση αποτελεσμάτων *in vitro* μεθοδολογίας για την πρόβλεψη του γλυκαιμικού δείκτη με απόκριση γλυκόζης σε ανθρώπους. Πτυχιακή Μελέτη, Γεωπονικό Πανεπιστήμιο Αθηνών
76. Κανέλλος Π, 2011. Επίδραση της Κορινθιακής σταφίδας σε δείκτες οξειδωτικού στρες και φλεγμονής σε ασθενείς με Σακχαρώδη Διαβήτη τύπου 2. Χαροκόπειο Πανεπιστήμιο Αθηνών
77. Οδηγός Διατροφής για τη ρύθμιση του Διαβήτη, Ελληνική Διαβητολογική Εταιρία, 2008

78. Προς τι τόσος λόγος για τον γλυκαιμικό δείκτη?, 2006. eufic , accessed 2011