



ΑΛΕΞΑΝΔΡΕΙΟ ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΚΟ ΕΚΠΑΙΔΕΥΤΙΚΟ ΙΔΡΥΜΑ ΘΕΣΣΑΛΟΝΙΚΗΣ

**ΣΧΟΛΗ ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑΣ ΓΕΩΠΟΝΙΑΣ & ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑΣ ΤΡΟΦΙΜΩΝ &
ΔΙΑΤΡΟΦΗΣ**

ΤΜΗΜΑ ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑΣ ΤΡΟΦΙΜΩΝ

In vitro μελέτη της διεργασίας χώνευσης γαλακτωμάτων ελαίου
σε νερό που περιέχουν ζελατίνη.

In vitro study of the digestion of gelatin – containing oil-in-
water emulsions.

ΚΑΝΔΑΡΑΚΗ ΓΕΩΡΓΙΑ

ΘΕΣΣΑΛΟΝΙΚΗ 2015

In vitro μελέτη της διεργασίας χώνευσης γαλακτωμάτων ελαίου
σε νερό που περιέχουν ζελατίνη.

Κανδαράκη Γεωργία

Αλεξάνδρειο Τεχνολογικό Εκπαιδευτικό Ίδρυμα
Θεσσαλονίκης, Τμήμα Τεχνολογίας Τροφίμων, 57400
Θεσσαλονίκη ΤΘ 141

Υποβολή Πτυχιακής διατριβής που αποτελεί μέρος των
απαιτήσεων για την απονομή του Πτυχίου του Τμήματος
Τεχνολογίας Τροφίμων του ΤΕΙ Θεσσαλονίκης.

Εισηγητής: Ριτζούλης Χρήστος
Εξεταστική επιτροπή: Καπνιστή Μαρία
Γεωργιάδης Νικόλαος

Ευχαριστίες

Θα ήθελα να ευχαριστήσω τον εισηγητή μου κ. Ριτζούλη Χρήστο για την καθοδήγηση και τις πολύτιμες συμβουλές του για την ολοκλήρωση της πτυχιακής μου εργασίας. Επίσης, θα ήθελα να ευχαριστήσω για την πολύτιμη βοήθεια του, τον κ.Φιλοθέου Ανδρέα.

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Στην παρούσα εργασία εξετάστηκε η επίδραση των συνθηκών που επικρατούν σε ένα *in vitro* ανθρώπινο πεπτικό σύστημα στη σταθερότητα ενός γαλακτώματος ελαιολάδου-σε-νερό το οποίο είναι γαλακτωματοποιημένο με Tween 20 σε pH 7. Κύριος σκοπός της μελέτης ήταν η μελέτη πτυχών της διεργασία χώνευσης του γαλακτώματος σε συνθήκες που προσομοιώνουν το στοματο-γαστρικό περιβάλλον όσον αφορά την κολλοειδή κατάσταση των . Έτσι λοιπόν δημιουργήθηκε ένα μοντέλο που προσομοιώνει τη διαδρομή που ακολουθεί ένα γαλάκτωμα μετά την είσοδο του στο στόμα και την κατάποση του. Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι η μετάβαση του γαλακτώματος από το στόμα στο στομάχι οδηγεί στην ισχυρή κροκίδωση του γαλακτώματος λόγω της μεταβολής του pH αλλά και της υψηλής ιοντικής ισχύος που επικρατεί στο γαστρικό περιβάλλον. Η χρωματογραφία μοριακού αποκλεισμού φαίνεται ότι μπορεί να χρησιμεύσει για τη μελέτη της πέψης μοντέλων τροφών.

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

	ΣΕΛΙΔΑ
1. Εισαγωγή	1
2. Βιβλιογραφική ανασκόπηση	3
2.1 Γαλακτώματα	3
2.1.1 Tween 20.....	4
2.2 Φυσικοχημικές αλλαγές των γαλακτωμάτων κατά την έκθεση τους στις στοματικές και γαστρικές συνθήκες	4
2.2.1. Στοματικές συνθήκες	4
2.2.2. Γαστρικές συνθήκες.....	7
2.2.2.1.Αποσταθεροποίηση των γαλακτωμάτων στο στομάχι.....	9
3. Σκοπός της εργασίας	10
4. Πειραματικό Μέρος	10
4.1. Υλικά και μέθοδοι	10
4.1.1. Υλικά	10
4.1.2. Όργανα	11
4.2. Μέθοδοι	11
4.2.1 Παρασκευή γαλακτώματος.....	11
4.2.2. Παρασκευή γαστρικού μοντέλου	11
5. Αποτελέσματα- Συζήτηση	14
5.1 Απλή προσομοίωση του γαστρεντερικού μοντέλου.....	14
5.2. Χρωματογραφία αποκλεισμού μεγέθους (SEC).....	16
6.Συμπεράσματα	20
7.Βιβλιογραφία.....	22

1. Εισαγωγή

Τις δύο τελευταίες δεκαετίες έχουν γίνει πολλές προσπάθειες για τη μοντελοποίηση της γαστρεντερικής οδού του ανθρώπου. Τα περισσότερα εργαστηριακά μοντέλα περιλαμβάνουν ένα περιορισμένο αριθμό παραμέτρων και αφορούν συγκεκριμένες εφαρμογές. Ωστόσο, για να προσομοιωθεί η σύνθεση των φυσιολογικών και φυσικοχημικών αντιδράσεων που συμβαίνουν εντός του ανθρώπινου πεπτικού συστήματος, είναι σημαντικό να εκτεθεί ένα γεύμα σε όλα τα στάδια της πέψης δηλαδή στον χρόνο διέλευσης, στο pH, και στις ενζυματικές συνθήκες. Τα γαστρεντερικά μοντέλα που περιγράφηκαν μέχρι τώρα παραμένουν απλοποιημένα σε σύγκριση με την *in vivo* κατάσταση.

Μέχρι σήμερα έχουν πραγματοποιηθεί πολλές μελέτες που σχετίζονται με την επίδραση διαφόρων συνθηκών που εφαρμόζονται κατά την επεξεργασία των γαλακτωμάτων (π.χ. θερμοκρασία, υψηλή πίεση κ.α.) στις ιδιότητες τους (π.χ. τις ρεολογικές τους ιδιότητες, την κατανομή μεγέθους των σταγονιδίων, τη σταθερότητα των φάσεων κ.α.) (Sarkar et al., 2009a). Πρόσφατα όμως αποδείχτηκε ότι υπάρχει περιορισμένη κατανόηση ως προς τις αλληλεπιδράσεις των γαλακτωμάτων σε φυσιολογικές συνθήκες *in vivo* (Sarkar et al., 2010). Γενικότερα, όταν καταναλώνεται ένα τρόφιμο εκτίθεται σε ένα μεγάλο εύρος φυσικών (π.χ. ανάδευση και θερμοκρασία) και βιοχημικών (π.χ. αραίωση, pH, ένζυμα, χολικά άλατα κτλ) συνθηκών καθώς διέρχεται από το στόμα στο στομάχι και από εκεί στο έντερο (Sarkar et al., 2009 (b)).

Σε μία προσπάθεια να γίνουν κατανοητές οι φυσικοχημικές αλλαγές που συμβαίνουν στα τρόφιμα κατά την κατανάλωσή τους, έχουν σχεδιαστεί λιγότερο ακριβές και χρονοβόρες *in vitro* μεθοδολογίες προκειμένου να προσομοιώσουν τις συνθήκες που επικρατούν στα διάφορα στάδια της γαστρεντερικής οδού. Αυτά τα συστήματα προσφέρουν καλύτερη κατανόηση για το πώς τα χαρακτηριστικά της επιφάνειας και η μικροδομή των κolloειδών συστημάτων επηρεάζουν την πέψη και τη βιοδιαθεσιμότητα των θρεπτικών συστατικών (Sarkar et al., 2010).

Η παρούσα μελέτη, εκτός του ενδιαφέροντος της προσομοίωσης του ανθρώπινου γαστρεντερικού συστήματος σε ένα εργαστηριακό μοντέλο αφορά και την μελέτη της απορρόφησης των θρεπτικών συστατικών από αυτό κατά την πέψη τους. Η τροφή που χρησιμοποιήθηκε ήταν ζελατίνη ψαριού.

Αυτό είναι και το κύριο αντικείμενο μελέτης της παρούσας εργασίας, στην οποία εξετάζονται οι φυσικοχημικές μεταβολές που μπορεί να υποστεί ένα γαλάκτωμα σταθεροποιημένο με Tween 20 κατά την έκθεση του σε προσομοιωμένες γαστρικές συνθήκες.

2. ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΚΗ ΑΝΑΣΚΟΠΗΣΗ

2.1 Γαλακτώματα

Ένα γαλάκτωμα αποτελείται από δυο μη αναμίξιμα υγρά (συνήθως λάδι και νερό) με ένα από τα υγρά να διασπείρεται στο άλλο υπό τη μορφή μικρών σφαιρικών σταγονιδίων. Στα περισσότερα τρόφιμα, οι διάμετροι των σταγονιδίων βρίσκονται συνήθως μεταξύ 0,1-100μm (Dickinson and Stainsby, 1982; Dickinson, 1992; Friberg and Larrison, 1997). Τα γαλακτώματα μπορούν να ταξινομηθούν ανάλογα με τη σχετική κατανομή του λαδιού και της υδατικής φάσης στο χώρο. Ένα σύστημα που αποτελείται από σταγονίδια ελαίου τα οποία διασπείρονται σε μια υδατική φάση ονομάζεται γαλάκτωμα ελαίου σε νερό (O/W), όπως γάλα κρέμα, σάλτσες, μαγιονέζα, ποτά και σούπες. Ένα σύστημα που αποτελείται από σταγονίδια νερού, τα οποία είναι διεσπαρμένα σε μια ελαιώδη φάση ονομάζεται γαλάκτωμα νερό σε λάδι (W/O), όπως μαργαρίνη και βούτυρο. Η ουσία που αποτελεί τα σταγονίδια του γαλακτώματος αναφέρεται ως διασπορά, ασυνεχής ή εσωτερική φάση, ενώ η ουσία που αποτελεί το περιβάλλον υγρό ονομάζεται συνεχής ή εξωτερική φάση. Εκτός από τα συμβατικά γαλακτώματα λαδιού σε νερό ή νερού σε λάδι που περιγράφονται παραπάνω είναι επίσης δυνατόν να παρασκευαστούν διάφοροι τύποι πολλαπλών γαλακτωμάτων όπως λάδι-σε νερό – σε λάδι (O/W/O) ή νερό – σε λάδι – σε νερό (W/O/W) (Garti, 1997; Garti and Bisperink, 1998; Garti and Benichou, 2004). Για παράδειγμα, ένα γαλάκτωμα W/O/W αποτελείται από σταγονίδια νερού διεσπαρμένα εντός μεγαλύτερων σταγονιδίων λαδιού, τα οποία είναι διεσπαρμένα σε μια συνεχή υδατική φάση (Evison et al., 1995; Benichou et al., 2002a). Τέτοιου είδους γαλακτώματα βρίσκουν αυξανόμενη χρήση στη βιομηχανία τροφίμων λόγω των πλεονεκτημάτων τους έναντι των συμβατικών γαλακτωμάτων (Garti and Benichou, 2004).

Η διαδικασία μετατροπής δυο ξεχωριστών μη αναμίξιμων υγρών σε ένα γαλάκτωμα ή μείωσης του μεγέθους των σταγονιδίων σε ένα προϋπάρχον, είναι γνωστή ως ομογενοποίηση. Στη βιομηχανία τροφίμων η μέθοδος αυτή συνήθως διεξάγεται χρησιμοποιώντας συσκευές γνωστές ως ομογενοποιητές. Οι γαλακτωματοποιητές είναι επιφανειακός δραστικά μόρια που απορροφούνται στην επιφάνεια των προσφάτως σχηματισμένων σταγονιδίων κατά τη διάρκεια της ομογενοποίησης σχηματίζοντας μια προστατευτική μεμβράνη που εμποδίζει τη συσσωμάτωση των σταγονιδίων. Οι περισσότεροι γαλακτωματοποιητές είναι αμφίφιλα μόρια, δηλαδή, έχουν πολικές και μη πολικές περιοχές στο ίδιο μόριο. Οι πιο γνωστοί γαλακτωματοποιητές που χρησιμοποιούνται στη βιομηχανία τροφίμων είναι μικρού μοριακού βάρους μορίου τασιενεργά, φωσφολιπίδια, πρωτεΐνες και πολυσακχαρίτες.

2.1.1 Tween 20

Το Tween 20 είναι ένα παράγωγο πολυοξυαιθυλενίου μονολαβρικής σορβιτάνης και διακρίνεται από άλλα πολυσορβικά από το μήκος της αλυσίδας πολυοξυαιθυλενίου και τον εστέρα του λιπαρού οξέος. Επίσης, είναι ένα μη-ιονικό επιφανειοδραστικό πολυσορβικό το οποίο είναι σταθερό και σχετική μη τοξικό και αυτό επιτρέπει τη χρησιμοποίηση του ως γαλακτωματοποιητή σε επιστημονικές και φαρμακολογικές εφαρμογές. Στα τρόφιμα χρησιμοποιείται ως παράγοντας διαβροχής σε αρωματισμένες σταγόνες που χορηγούνται από το στόμα βοηθώντας την αίσθηση εξάπλωσης των άλλων συστατικών όπως αλκοόλη και άρωμα μέντας.

Όσο αφορά στην παρούσα εργασία χρησιμοποιήθηκε μια επαρκής ποσότητα Tween 20 για να εκτοπίσει το μεγαλύτερο μέρος της πρωτεΐνης από την επιφάνεια του σταγονιδίου του γαλακτώματος, πράγμα το οποίο οδηγεί σε σχηματισμό κρέμας και ισχυρή μη νευτώνεια ρεολογική συμπεριφορά.

2.2. Φυσικοχημικές αλλαγές των γαλακτωμάτων κατά την έκθεση τους στις στοματικές και γαστρικές συνθήκες

2.2.1. Στοματικές συνθήκες

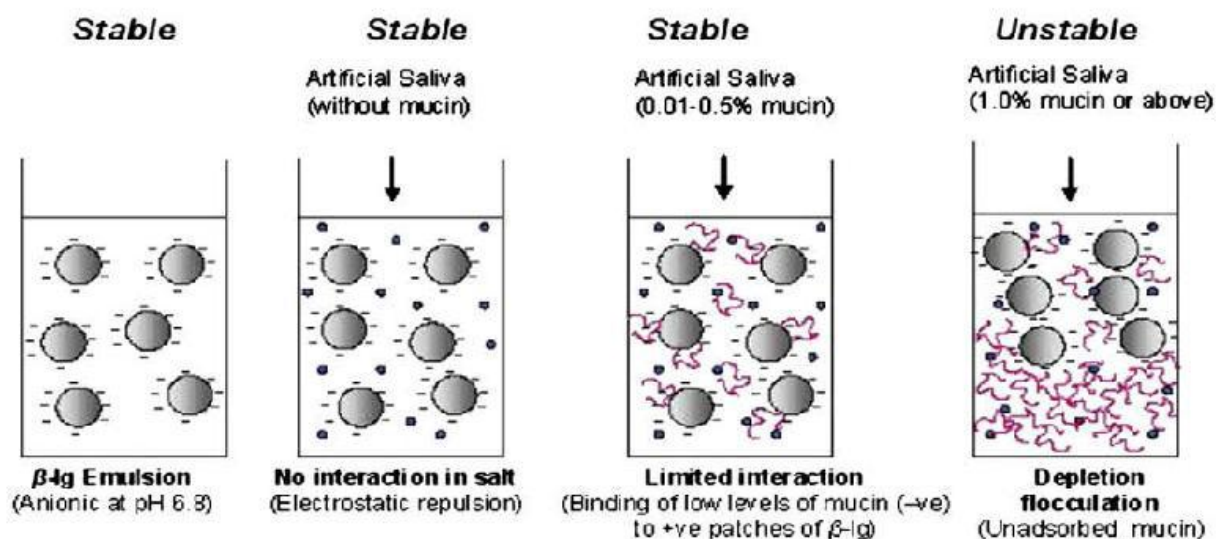
Η κατανόηση της επεξεργασίας στην οποία υποβάλλονται τα γαλακτώματα μέσα στην στοματική κοιλότητα έχει μεγάλη σημασία όσον αφορά την καλύτερη μεταχείριση των φυσικών και οργανοληπτικών ιδιοτήτων των κολλοειδών συστημάτων τροφίμων, όπως είναι η σταθερότητα των γαλακτωμάτων, η κρέμωση και η απελευθέρωση του αρώματος (Sarkar et al., 2009 (a); Singh & Sarkar., 2011). Κατά την κατανάλωση ενός γαλακτώματος το χρονικό διάστημα παραμονής του στο στόμα είναι πολύ μικρό, ωστόσο προλαβαίνει να γίνει ανάμιξη του γαλακτώματος με το σάλιο και τον αέρα, ψύξη ή θέρμανση του (37°C) και μεταβολή του pH (6-7) και της ιοντικής ισχύος (Hur et al., 2009; Sarkar et al., 2009 (a); Sarkar et al., 2010; Singh et al., 2009; Singh & Sarkar., 2011; Vingerhoeds et al., 2005). Επίσης, σε αυτό το χρονικό διάστημα τα γαλακτώματα έρχονται σε επαφή με διάφορα ενζυμα που προέρχονται από το σάλιο (αμυλάσες), πολυμερή όπως η μυξίνη, πρωτεΐνες της βλεννογόνου και άλατα διαφορετικής ιοντικής ισχύος, με αποτέλεσμα τα προφίλ ροής τους να γίνονται πολύπλοκα (Sarkar et al., 2009 (a); Sarkar et al., 2010; Singh et al., 2009; Singh & Sarkar., 2011).

Η συμπεριφορά των γαλακτωμάτων που έχουν σταθεροποιηθεί με πρωτεΐνες μελετήθηκε με την ανάμιξη ανθρώπινου ή προσομοιωμένου σιέλου με γαλακτώματα σταθεροποιημένα με

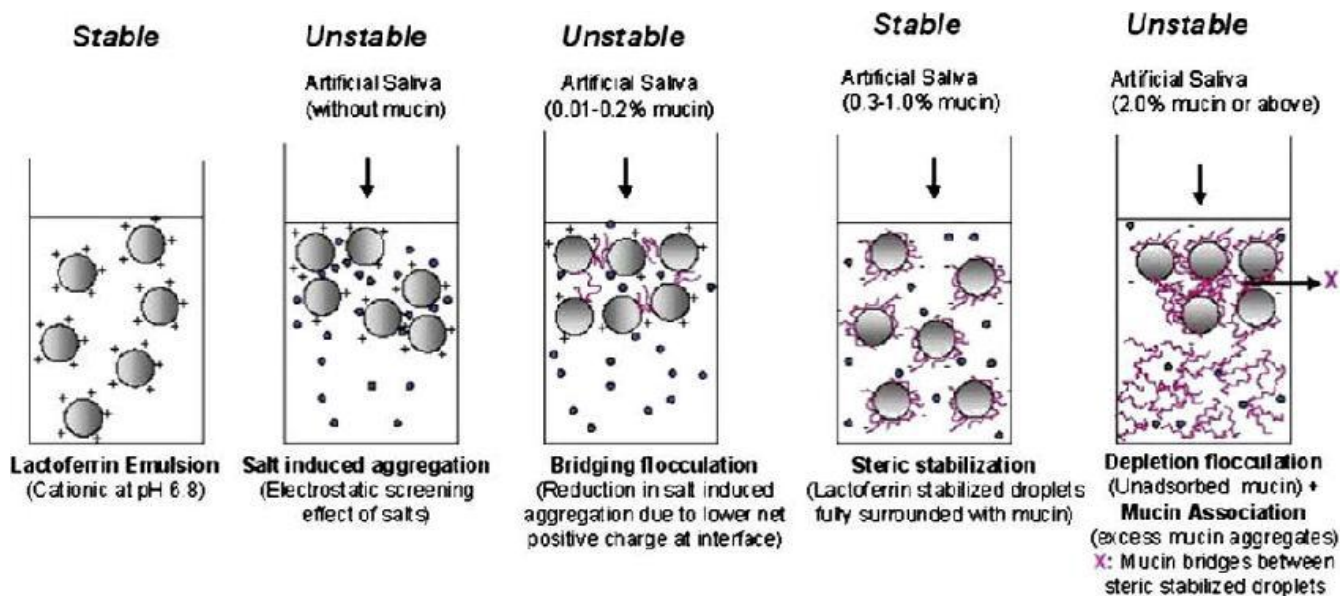
πρωτεΐνες ή τασιενεργές ουσίες. Οι υπάρχουσες μελέτες, καταλήγουν στο συμπέρασμα ότι όταν ένα γαλάκτωμα αναμιχθεί με το σάλιο διασπάται με κροκίδωση η οποία επηρεάζεται από το φορτίο των σταγονιδίων και την παρουσία αλάτων και βιοπολυμερών του σιέλου (Singh & Sarkar., 2011; Vingerhoeds et al., 2005; Sarkar et al., 2009 (a); Silletti et al., 2007 (a); Silletti et al., 2007(b)).

Η κροκίδωση των γαλακτωμάτων οφείλεται κυρίως στην μυξίνη του σιέλου. Η μυξίνη φαίνεται να είναι ύψιστης σημασίας λόγω του αρνητικού φορτίου της σε ουδέτερο περιβάλλον (Sarkar et al., 2009 (a)). Κατά την ανάμιξη σιέλου που εκκρίνεται από την παρωτίδα, στο οποίο περιέχεται ελάχιστη μυξίνη, με γαλακτώματα παρατηρήθηκε κροκίδωση γεφύρωσης, πράγμα το οποίο καταδεικνύει ότι η κροκίδωση των γαλακτωμάτων πιθανώς οφείλεται και σε άλλα συστατικά του σιέλου, όπως στα άλατα του σιέλου ή σε πρωτεΐνες πλούσιες σε προλίνη, τα οποία με την παρουσία τους ενισχύουν την κροκίδωση (Vingerhoeds et al., 2005; Singh & Sarkar., 2011; Singh., 2011). Στην κροκίδωση των γαλακτωμάτων στη στοματική κοιλότητα σημαντική θεωρείται η συμβολή των δυνάμεων εκκένωσης, δυνάμεων van der Waals και οι ηλεκτροστατικές αλληλεπιδράσεις μεταξύ του διεπιφανειακού στρώματος των σταγονιδίων και των πρωτεϊνών του σιέλου (Singh & Sarkar., 2011; Silletti et al., 2007).

Η σταθερότητα των γαλακτωμάτων κατά την ανάμιξη τους με το σάλιο εξαρτάται σε μεγάλο βαθμό από το φορτίο που φέρουν τα σταγονίδια του γαλακτώματος. Τα γαλακτώματα που έχουν υψηλή τιμή αρνητικού φορτίου δεν παρουσιάζουν κροκίδωση επειδή οι ηλεκτροστατικές απώσεις παρεμποδίζουν τα σταγονίδια να πλησιάσουν μεταξύ τους. Γαλακτώματα με ελαφρώς αρνητικό ή ουδέτερο φορτίο υπόκεινται σε αντιστρεπτή οσμωτική κροκίδωση, λόγω της παρουσίας της μυξίνης και της συγκέντρωσης στην οποία βρίσκεται στο σύστημα ή συμπλόκων που σχηματίζονται στο σάλιο. Τέλος, στα θετικά φορτισμένα γαλακτώματα συμβαίνει κροκίδωση γεφύρωσης, μέσω της ηλεκτροστατικής έλξης μεταξύ των πρωτεϊνών του σιέλου και των φορτισμένων σταγονιδίων του γαλακτώματος (Silletti et al., 2007 (b); Singh., 2011). Έτσι, η κροκίδωση των γαλακτωμάτων στο στόμα θα μπορούσε να επηρεάσει την υφή, τις ρεολογικές και τις οργανοληπτικές τους ιδιότητες (Vingerhoeds et al., 2005). Παρακάτω, στα σχήματα 1 και 2, παρουσιάζονται οι μεταβολές που υφίσταται ένα κατιονικό και ένα ιονικό γαλάκτωμα όταν βρίσκονται υπό στοματικές συνθήκες.



Σχήμα 1. Σχηματική αναπαράσταση των μεταβολών που υφίσταται ένα κατιονικό γαλάκτωμα, που είναι σταθεροποιημένο με β -λακτογλοβουλίνη, το οποίο εκτίθεται σε στοματικό περιβάλλον απουσία και παρουσία μυζίνης σε διάφορες συγκεντρώσεις (Sarkar et al., 2009a).



Σχήμα 2. Σχηματική αναπαράσταση των μεταβολών που υφίσταται ένα ανιονικό γαλάκτωμα, που είναι σταθεροποιημένο με λακτοφερίνη, το οποίο εκτίθεται σε στοματικό

περιβάλλον απουσία και παρουσία μυξίνης σε διάφορες συγκεντρώσεις (Sarkar et al., 2009a).

Μετά από μερικά δευτερόλεπτα παραμονής στο στόμα, ακολουθεί η κατάποση του γαλακτώματος. Η κατάποση περιλαμβάνει την ενσωμάτωση του γαλακτώματος στην κίνηση της γλώσσας, του φάρυγγα, του οισοφάγου και του στομάχου (Singh et al., 2009).

2.2.2. Γαστρικές συνθήκες

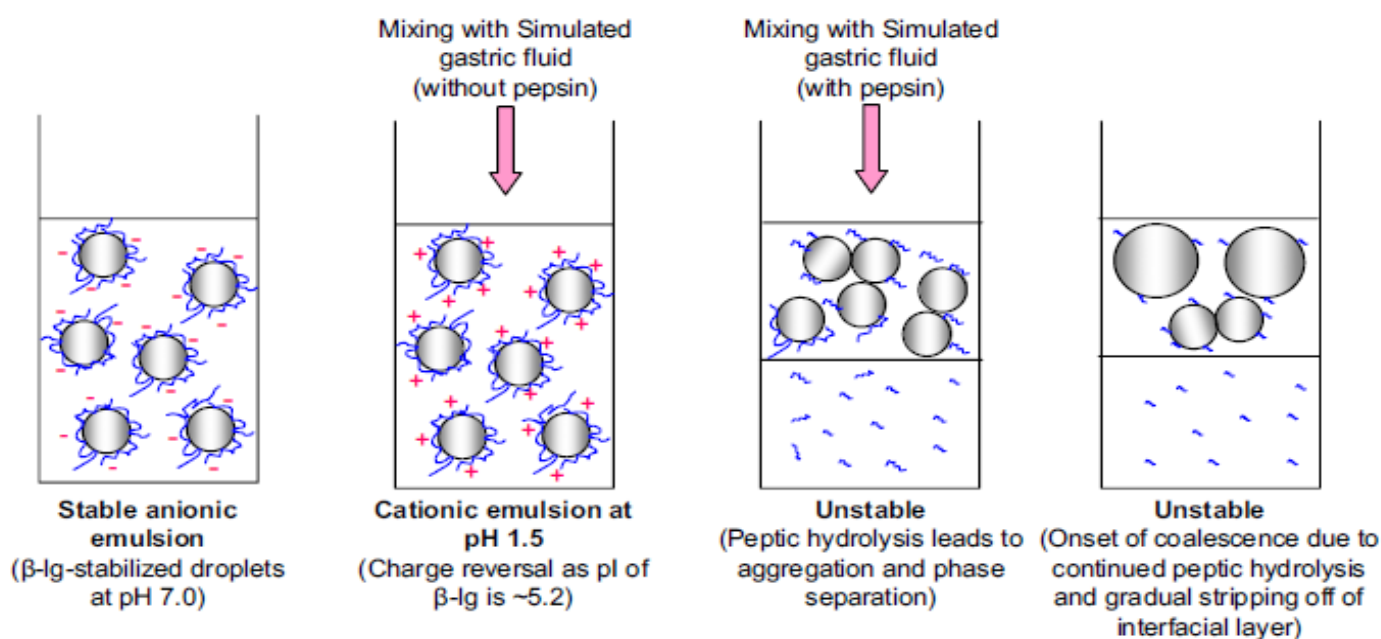
Κατά την διέλευση ενός τροφίμου από το στομάχι, αυτό παραμένει εκεί από κάποια λεπτά μέχρι κάποιες ώρες. Ο χρόνος αυτός εξαρτάται από τη φύση του τροφίμου (χημική σύνθεση, μέγεθος, σχήμα, μικροδομή, pH, ιοντική ισχύ, ρεολογικές ιδιότητες κτλ) (Sarkar et al., 2009 (b)). Στο στομάχι τα λιπίδια που βρίσκονται στο βλωμό εκτίθενται σε ισχυρά όξινο περιβάλλον (pH 1-3), υπόκεινται σε υδρόλυση από τα ένζυμα (πεψίνη και γαστρική λιπάση) και καταληγουν να έχουν πολύπλοκη ροή λόγω των διαφορετικών δομών και της περισταλτικής κίνησης του στομάχου, με αποτέλεσμα να αλλάζει η χημική και η δομική τους οργάνωση (Hur et al., 2009; Sarkar et al., 2009b; Sarkar et al., 2010; Singh et al., 2009; Singh & Sarkar., 2011).

Στο στομάχι, είναι πιθανή η ύπαρξη τασιενεργών ουσιών που προέρχονται από τα εκκρινόμενα γαστρικά υγρά (μυξίνη, ένζυμα) ή από άλλα τρόφιμα που δεν πέπτονται πλήρως (πρωτεΐνες, φωσφολιπίδια, ένζυμα) τα οποία βρίσκονται σε ανταγωνισμό και αποτελούν πιθανούς αντικαταστάτες των επιφανειοδραστικών ουσιών της επιφάνειας των λιπαρών σταγονιδίων, προκαλώντας αλλαγές στη σύνθεση και τις ιδιότητες της επιφάνειας τους (Hur et al., 2009; Singh et al., 2009). Η παρουσία τασιενεργών ουσιών επιβεβαιώνεται με τη μέτρηση της επιφανειακής τάσης των υγρών που εκκρίνονται από το ανθρώπινο στομάχι, η οποία βρέθηκε σημαντικά χαμηλότερη από εκείνη του καθαρού νερού (Singh et al., 2009).

Τα γαλακτώματα που έχουν σταθεροποιηθεί με πρωτεΐνες θα παρουσιάσουν μεγάλες αλλαγές στο στομάχι εξαιτίας της πιθανής δράσης της πεψίνης στο προσροφημένο στρώμα, την επίδραση του χαμηλού pH και της ιοντικής ισχύος στο φορτίο των σταγονιδίων και την αλληλεπίδραση της μυξίνης με την πρωτεΐνη στη διεπιφάνεια. Ο σημαντικότερος παράγοντας για τον καθορισμό της σταθερότητας των γαλακτωμάτων που είναι σταθεροποιημένα με

πρωτεΐνες κατά την έκθεση τους στο γαστρικό περιβάλλον είναι ίσως η υδρόλυση του διεπιφανειακού στρώματος από την πεψίνη (Singh., 2011). Γαλακτώματα σταθεροποιημένα με β-λακτογλοβουλίνη και λακτοφερίνη όταν εκτίθενται σε προσομοιωμένες γαστρικές συνθήκες και παρουσία πεψίνης, υφίστανται κροκίδωση και σε κάποιο βαθμό συγχώνευση.

Η αποσταθεροποίηση οφείλεται στην υδρόλυση του προσροφημένου στρώματος από την πεψίνη, που οδηγεί στην απώλεια του θετικού φορτίου της επιφάνειας των σταγονιδίων και τη μείωση του πάχους του στρώματος (Sarkar et al., 2009b; Sarkar et al., 2010). Έτσι, τα πεπτίδια που παραμένουν στη διεπιφάνεια μετά την πρωτεόλυση δεν μπορούν πλέον να παρέχουν επαρκείς ηλεκτροστατικές απώσεις και/ή στερεοχημική σταθερότητα (Sarkar et al., 2010). Επίσης, αναφέρεται ότι η υψηλή συγκέντρωση των αλάτων κάνει εντονότερη την κροκίδωση που υφίστανται τα γαλακτώματα (Sarkar et al., 2009b).



Σχήμα 3. Σχηματικό διάγραμμα της αλληλεπίδρασης του σταθεροποιημένου γαλακτώματος με β-λακτογλοβουλίνη με το προσομοιωμένο γαστρικό διάλυμα (SGF), παρουσία και απουσία πεψίνης. Οι μακριές ελικοειδείς δομές αντιπροσωπεύουν τη β-Ig, ενώ οι μικρότερες τα πεπτίδια που σχηματίστηκαν αργότερα (Sarkar et al., 2009b).

Εκτός από την πεψίνη, και άλλες επιφανειοδραστικές ουσίες επηρεάζουν την υδρόλυση των πρωτεϊνών και τις φυσικοχημικές ιδιότητες των γαλακτωμάτων κατά την πέψη. Επιπλέον, έχει αναφερθεί πως οι πρωτεΐνες που προσροφώνται στη διεπιφάνεια

αντικαθίστανται από τη φωσφατιδυλοχολίνη κατά τη διάρκεια της γαστρικής πέψης και ότι τα σύμπλοκα πρωτεΐνες – φωσφατιδυλοχολίνης που σχηματίζονται στο διάλυμα προκαλούν μεταβολές στην ευαισθησία της β-λακτογλοβουλίνης και της β-καζεΐνης στην υδρόλυση (Nik et al., 2011).

Στο στομάχι, η δράση της γαστρικής λιπάσης επιφέρει αλλαγές στο εσωτερικό των σταγονιδίων όπως επίσης στο διεπιφανειακό στρώμα στο οποίο προσροφάται (Singh et al., 2009). Έτσι, η χημική διάσπαση των λιπιδίων (τριγλυκερίδια) αρχίζει από το στομάχι, όπου τα γαλακτοποιημένα λίπη υδρολύονται μερικώς από τη γαστρική λιπάση, η οποία συνεισφέρει κατά 10-30% επί της συνολικής υδρόλυσης των πεπτόμενων τριγλυκεριδίων ενός ενήλικα (Hur et al., 2009; Sarkar et al., 2010; Singh., 2011). Η δράση της λιπάσης έχει ως αποτέλεσμα την παραγωγή επιφανειοδραστικών λιπαρών οξέων και μονογλυκεριδίων από το υδρόφοβο κέντρο των λιπιδίων. Κάποια από αυτά τα συστατικά είναι ικανά να ανταγωνιστούν και να αντικαταστήσουν, μερικώς ή πλήρως, τον αρχικό γαλακτωματοποιητή που βρίσκεται στην διεπιφάνεια των σταγονιδίων μεταβάλλοντας έτσι το μέγεθος των σταγονιδίων και κατ' επέκταση τη σταθερότητα του γαλακτώματος (Sarkar et al., 2010; Singh., 2011).

Ο ρυθμός και η έκταση της γαστρικής λιπόλυσης εξαρτάται από την περιοχή της επιφάνειας των τριγλυκεριδίων που διατίθεται για λιπόλυση, η οποία καθορίζεται κυρίως από την περιεκτικότητα σε λίπος, και το μέγεθος των σταγονιδίων. Ο τύπος του γαλακτωματοποιητή ίσως να έχει μεγάλη σημασία, καθώς μπορεί να προστατεύει την επιφάνεια των τριγλυκεριδίων από την ενζυμική λιπόλυση. Επιπλέον, είναι γνωστό ότι τα ελεύθερα λιπαρά οξέα που σχηματίζουν το προσροφημένο στρώμα, μπορούν να παρεμποδίσουν τη γαστρική λιπόλυση καθώς εμφανίζονται πρωτονιωμένα στο χαμηλό pH του στομάχου (Van Aken et al., 2011).

2.2.2.1. Αποσταθεροποίηση των γαλακτωμάτων στο στομάχι

Λόγω της μείωσης του pH στο στομάχι και της δράσης της γαστρικής λιπάσης και της πεψίνης, οι φυσικές ιδιότητες ενός γαλακτώματος μπορεί να μεταβληθούν σημαντικά κατά τη διάρκεια της πέψης. Για παράδειγμα, τα γαλακτώματα που υφίστανται αποσταθεροποίηση σε όξινο περιβάλλον παρουσιάζουν διαχωρισμό φάσεων στο στομάχι, με αποτέλεσμα ένα ασθενές ενεργειακά υδατικό στρώμα που απομακρύνεται γρήγορα από το στομάχι, μειώνοντας τη διόγκωση του και την έναρξη της αίσθησης κορεσμού κατά τη διάρκεια του γεύματος.

Κατά τη μελέτη της συμπεριφοράς γαλακτωμάτων τα οποία σταθεροποιήθηκαν με διάφορες τασιενεργές ουσίες (Tween 80, πρωτεΐνες ορού γάλακτος και πρωτεΐνες ορού γάλακτος μαζί με καζεϊνικά άλατα) σε ένα περίπλοκο γαστρικό περιβάλλον παρατηρήθηκε η κροκίδωση τους, η οποία μπορεί να επιφέρει το διαχωρισμό ενός υψηλού ενεργειακά στρώματος πλούσιο σε λιπίδια και πρωτεΐνες, το οποίο είτε κρεμοποιείται, είτε καθιζάνει. Εξηγείται, ότι in vivo, η κρέμωση ενός τέτοιου στρώματος είναι γνωστό ότι καθυστερεί τη μεταφορά των θρεπτικών συστατικών στο λεπτό έντερο, με αποτέλεσμα να μειώνεται το αίσθημα της πληρότητας κατά τη διάρκεια του γεύματος.

3. ΣΚΟΠΟΣ ΤΗΣ ΕΡΓΑΣΙΑΣ

Σκοπός της παρούσας πτυχιακής εργασίας είναι :

- ✓ Η μελέτη της συμπεριφοράς ενός γαλακτώματος λάδι-σε-νερό το οποίο σταθεροποιήθηκε με Tween 20 σε pH 7 κατά την έκθεση του σε στοματικές και γαστρικές συνθήκες.
- ✓ Η μελέτη της λήψης προκαταρκτικών αποτελεσμάτων σχετικά με την ικανότητα της χρωματογραφίας αποκλεισμού μεγέθους να ενεργεί ως ανιχνευτής σε ένα εργαστηριακό μοντέλο πέψης.

4. ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

4.1.1 Υλικά

Υπερκάθαρο νερό παράγεται από την ELGA Purelab Flex apparatus (Veolia Water Technologies, High Wycombe, United Kingdom). Υδροχλωρικό οξύ (37% AR grade) και υδροξείδιο του νατρίου αγοράστηκαν από την Carlo Erba (Rodano, Italy). Tris (υδροξιλίου – αμινομεθάνιο) (“Trizma”) αγοράστηκε από την Merck (Darmstadt, Germany), αζίδιο του νατρίου (99%) αγοράστηκε από την Riedel-de-Haën (Seelze, Germany). Το χλωριούχο νάτριο το φωσφορικό μονονάτριο, το θειοκυανιούχο κάλιο, το χλωριούχο ασβέστιο, η ουρία (urea), το χλωριούχο αμμώνιο και η γλυκόζη (D glucose) αγοράστηκαν από την Merck (Darmstadt, Germany). Οξίνο θειικό νάτριο αγοράστηκε από την Sigma – Aldrich (Schnelldorf, Germany). Το γλυκουρονικό οξύ αγοράστηκε από την Alfa Aesar (Karlsruhe, Germany). Το χλωριούχο

μαγνήσιο αγοράστηκε από την Fluka (Buchs, Switzerland). Το ταυροχολικό οξύ αγοράστηκε από την Sigma – Aldrich (Buchs, Switzerland).

4.1.2. Όργανα

- Mastersizer 2000, Malvern Instruments Ltd, Worcestershire UK
- Ομογενοποιητής υπερήχων, Hielscher UP-100H, Germany
- Φυγόκεντρος
- TA-XT αναλυτής υφής– προσομοίωση της μάσησης AI Microsystems, Godalming, UK
- Stomacher – προσομοίωση του ανθρώπινου στομάχου Stomacher 400, Seward, Worthing, UK
- Sec- χρωματογραφία αποκλεισμού μεγέθους

4.2. Μέθοδοι

4.2.1 Παρασκευή γαλακτώματος

Παρασκευάστηκε υδατικό ρυθμιστικό διάλυμα με Tris (τρις-υδροξυμέθυλο-αμινομεθάνιο) σε συγκέντρωση 3 g/L και 0,025% w/w NaN_3 , το οποίο χρησιμοποιήθηκε ως αντιμικροβιακός παράγοντας. Η ρύθμιση του διαλύματος σε pH 7 έγινε στη συνέχεια, με προσθήκη κατάλληλης ποσότητας διαλύματος HCl 0,1N ή διαλύματος NaOH 1N. Έπειτα 60 mL από το παραπάνω δείγμα μεταφέρθηκαν σε ποτήρι ζέσεως και προστέθηκαν 2 g ζελατίνης. Το οποίο τοποθετήθηκε σε υδατόλουτρο στους 40°C μέχρι να διαλυθεί πλήρως. Στη συνέχεια, ποσότητα ελαιολάδου προστέθηκε στο δείγμα έτσι ώστε το κλάσμα όγκου του ελαιολάδου στο μίγμα να είναι $\phi=0,4$ και το μίγμα αναδεύτηκε για λίγο σε μαγνητικό αναδευτήρα. Επίσης προστέθηκαν 2,0g Tween 20. Η παρασκευή του γαλακτώματος ολοκληρώθηκε με την ομογενοποίηση του μίγματος για 3 min σε ομογενοποιητή υπερήχων.

4.2.2. Παρασκευή γαστρικού μοντέλου

Για τη παρασκευή του στοματικού υγρού (SMF), του στομαχικού υγρού (SGF) και το υγρό του λεπτού εντέρου, δηλαδή του δωδεκαδάκτυλου (SDF) χρησιμοποιούνται τα χημικά αντιδραστήρια που βρίσκονται στον πίνακα 1 (Hur et al., 2009, Rousi et al., 2014).

Πίνακας 1. Σύνθεση του στοματικού υγρού, του στομαχικού υγρού, το υγρό του λεπτού εντέρου (δηλαδή του δωδεκαδάκτυλου) (Hur et al., 2009, Rousi et al., 2014).

στοματικό υγρό (SMF)	στομαχικό υγρό (SGF)	Υγρό του Δωδεκαδάκτυλου (SDF)
10 ml KCl 89,6g/l	15,7ml NaCl 175,3g/l	40 ml NaCl 175,3 g/l
10ml KSCN 20,0g/l	3,0 ml NaH ₂ PO ₄ 88,8g/l	40 ml NaHCO ₃ 84,7 g/l
10ml NaH ₂ PO ₄ 88,8g/l	9,2 ml KCl 89,6g/l	10 ml KH ₂ PO ₄ 8 g/l
10ml NaSO ₄ 57,0g/l	18,0 ml CaC ₁₂ *2H ₂ O 22,2g/l	6,3 ml KCl 89,6 g/l
1,7ml NaCl 175,3g/l	10,0 ml NH ₄ Cl 30,6g/l	10 ml MgC ₁₂ 5 g/l
20ml NaHCO ₃ 84,7g/l	3,4 ml Urea 25,0g/l	180 μl HCl 37%
8ml Urea 25,0g/l	10,0 ml Jose 65,0 g/l	4 ml urea 25 g/l
	10,0 ml Galactonic Acid 2,0g/l	9 ml CaCl ₂ *2H ₂ O 22.2 g/l

Οι τιμές pH του στόματος, του στομάχου και των υγρών του λεπτού παρουσιάζουν διακυμάνσεις, σε αυτή την περίπτωση έχουν επιλεγθεί αντιπροσωπευτικές τιμές. Το pH του ανθρώπινου στομάχου μπορεί να κυμανθεί μεταξύ ενός εύρους τιμών (1-3) και εξαρτάται από διάφορους παράγοντες όπως η διατομική διακύμανση ή αν βρίσκεται σε κατάσταση πείνας ο οργανισμός (Lindahl et al.,1997, Gardner et al.,2006). Στην παρούσα εργασία, η τιμή του pH στο στομάχι είναι 3 (SGF).

Πείραμα 1^ο: Προσδιορισμός της κατανομής του μεγέθους των σταγονιδίων στο Mastersizer.

Σε 5 g γαλακτώματος προστίθενται 20ml διαλύματος SMF, και συμπιέζεται τόσο ώστε η παραμόρφωση του να είναι στο 90% με ρυθμό 1Hz για είκοσι φορές. Για αυτή την διαδικασία χρησιμοποιήθηκε ένας TA-XT αναλυτής υφής (AI Microsystems, Godalming, UK) (Σχήμα 6). Στη συνέχεια η «μασημένη» τροφή μεταφέρεται αμέσως σε μια πλαστική σακούλα μαζί με 50

ml SGF, και υποβάλλεται σε κατεργασία συμπίεσης στο stomacher (Stomacher 400, Seward, Worthing, UK) για 30 λεπτά. Έπειτα, ακολούθησε η φυγοκέντρηση του μίγματος για 25min στις 4000 x g και ο διαχωρισμός της κρέμας από το υποκείμενο υγρό. Στη συνέχεια ο ορός μεταφέρεται σε ένα ποτήρι, όπου προστέθηκαν 20ml SDF, και αφήνεται υπό ήπια ανάδευση για 20 λεπτά σε σταθερή θερμοκρασία. Αμέσως μετά την παρασκευή του γαλακτώματος, την έκθεση του στις προσομοιωμένες στοματικές (ανάμιξη με το SMF) και γαστρικές συνθήκες (σε pH 3 και μετά την ανάμιξη με το SGF) προσδιορίστηκε η κατανομή του μεγέθους των σταγονιδίων στο Mastersizer.

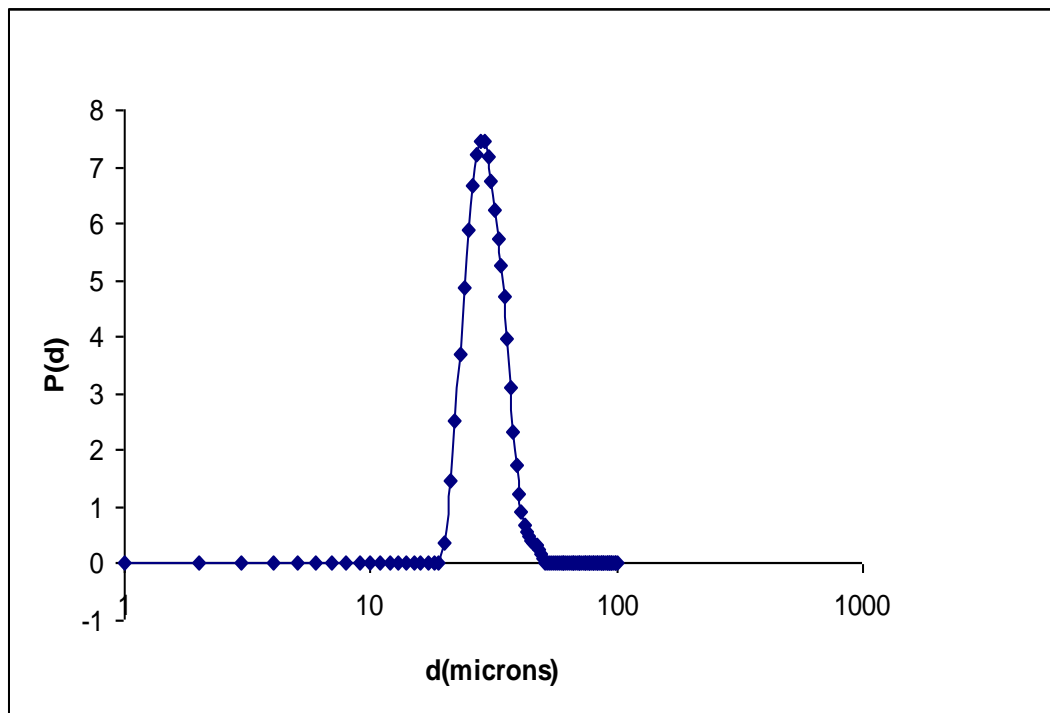
Πείραμα 2^ο : Χρωματογραφία αποκλεισμού μεγέθους (SEC)

Σε 5 g γαλακτώματος προστίθενται 20ml διαλύματος SMF, και συμπιέζεται τόσο ώστε η παραμόρφωση του να είναι στο 90% με ρυθμό 1Hz για είκοσι φορές. Για αυτή την διαδικασία χρησιμοποιήθηκε ένας TA-XT αναλυτής υφής (AI Microsystems, Godalming, UK) (Σχήμα 6). Στη συνέχεια η «μασημένη» τροφή μεταφέρεται αμέσως σε μια πλαστική σακούλα μαζί με 50 ml SGF, και υποβάλλεται σε κατεργασία συμπίεσης στο stomacher (Stomacher 400, Seward, Worthing, UK) για 30 λεπτά. Το προκύπτον μίγμα στη συνέχεια μεταφέρεται σε ένα ποτήρι, όπου προστέθηκαν 20ml SDF, και αφήνεται υπό ήπια ανάδευση για 20 λεπτά σε σταθερή θερμοκρασία. Από τα τρία στάδια ελήφθησαν δείγματα (1^ο Texture Analyzer για το στόμα, 2^ο Stomacher για το στομάχι και 3^ο ποτήρι ζέσεως για το λεπτό έντερο). Τα δείγματα αμέσως διηθήθηκαν χρησιμοποιώντας φίλτρο σύριγγας με πόρο 1 μm, και εγχύθηκαν εντός της χρωματογραφίας αποκλεισμού μεγέθους (SEC).

5. Αποτελέσματα – Συζήτηση

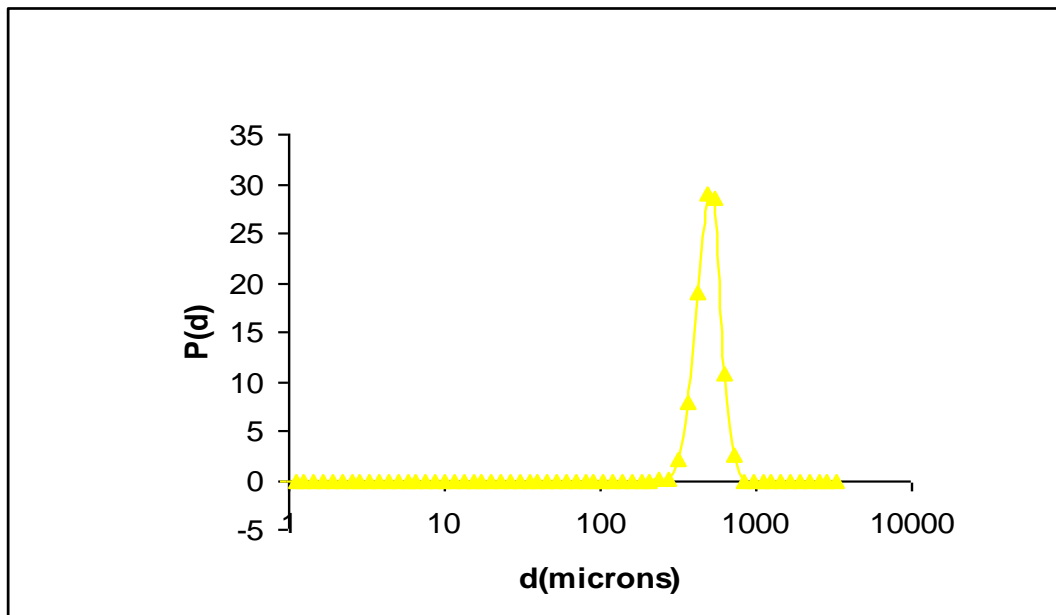
Για τη διεργασία της χώνευσης του γαλακτώματος το πείραμα στηρίχθηκε στην προσομοίωση των ρευστών σύμφωνα με τον πίνακα 1. Ωστόσο ένα πραγματικό γαστρεντερικό σύστημα περιλαμβάνει πολύ περισσότερα στοιχεία. Στην παρούσα εργασία έχει γίνει μια απλή προσέγγιση του γαστρικού μοντέλου. Μια πιο ρεαλιστική προσέγγιση που να περιέχει περισσότερα συστατικά του γαστρεντερικού συστήματος, είναι να συνεχιστεί στο άμεσο μέλλον, αλλά αφού οι σχετικές συνεισφορές των συστατικών του παρόντος συστήματος γίνουν κατανοητές ως προς την αρχή τους.

5.1 Απλή προσομοίωση του γαστρεντερικού μοντέλου



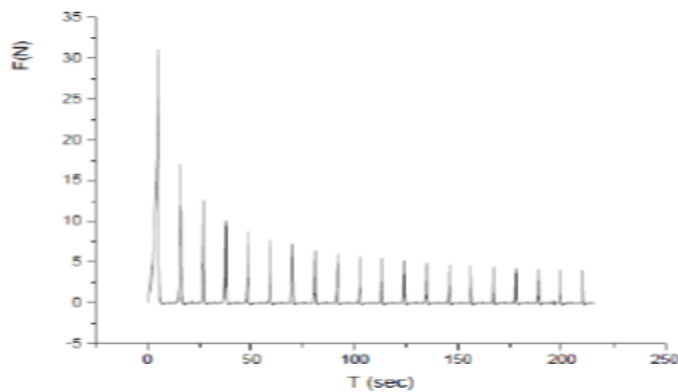
Σχήμα 4: Κατανομή μεγέθους των σταγονιδίων του γαλακτώματος που είναι σταθεροποιημένο με Tween 20 σε pH 7

Στο Σχήμα 4 παρατηρούμε ότι το μέγεθος των λιποσφαιρίων είναι ικανοποιητικό, που σημαίνει ότι η ποσότητα του Tween 20 ήταν αρκετή ώστε να δημιουργήσει ένα καλό γαλάκτωμα.



Σχήμα 5: Κατανομή μεγέθους των σταγονιδίων του γαλακτώματος που είναι σταθεροποιημένο με Tween 20 παρουσία προσομοιωμένου στοματικού διαλύματος (SMF) σε pH 3.

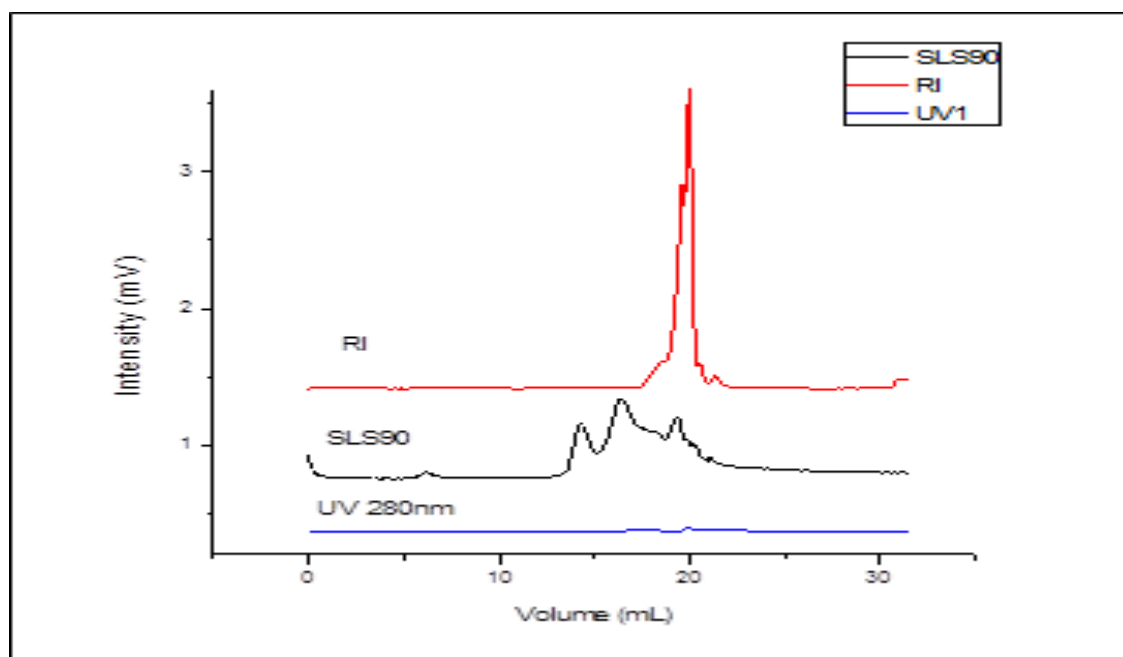
Στο Σχήμα 5 μπορούμε να παρατηρήσουμε μια ξεκάθαρη αύξηση της διαμέτρου των λιποσφαιριδίων. Φαίνεται ότι η παρουσία των αλάτων του SMF επιφέρει την μερική κατάρρευση του γαλακτώματος.



Σχήμα 6 : Διάγραμμα τάσης - χρόνου για την διαδικασία της τεχνητής μάσησης.

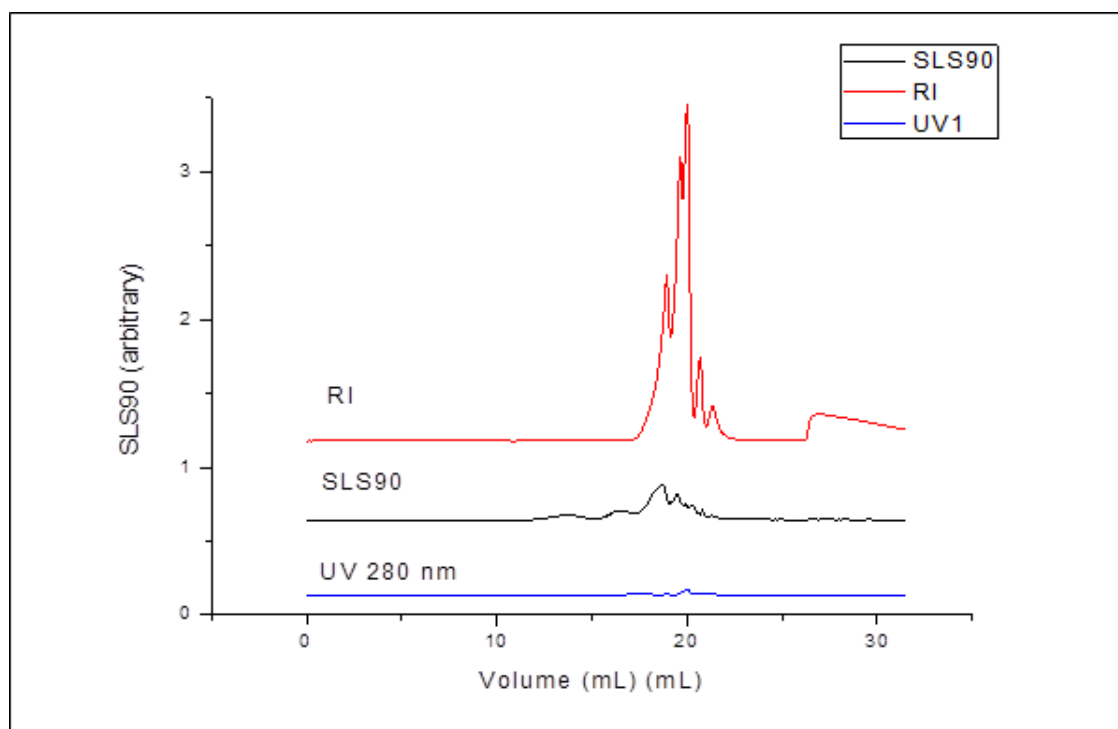
5.2. Χρωματογραφία αποκλεισμού μεγέθους (SEC)

Τα δείγματα εκλούσθηκαν με υπερκάθαρο νερό που περιέχει 0.1% αζίδιο του νατρίου σε ρυθμό ροής 0,8 mL min⁻¹. Το σύστημα SEC αποτελείται από (i) ένα SpectraSystem SCM 1000: απαερωτής (Thermo Separation Products, San Jose, CA) (ii) ένα SpectraSystem P2000: αντλία χρωματογραφίας (Thermo Separation Products, San Jose, CA) (iii) από μια στήλη με 2 μm πορώδες (I dex, Oak Harbor, Ουάσιγκτον), μια προστήλη GPC/SEC PL-Aquagel-OH 50×7.5 mm (8μm) (Varian Inc, Palo Alto, CA), (iv) δύο παράλληλες στήλες GPC/SEC PL-Aquagel-OH 300×7,5 mm (Varian Inc, Palo Alto, CA), όλες οι στήλες περιβάλλονται από ένα φούρνο στήλης Model 605 (Scientific Systems Incorporated, State College, PA) με θερμοστάτη στους 30°C (v) ένα UV ανιχνευτή ρυθμισμένο στα 280 nm και (vi) ένα BI-MwA πολυγωνικό ανιχνευτή σκέδασης φωτός με λέιζερ (Brookhaven Instruments Corporation, Brookhaven, Holtsville, NY). Τα αποτελέσματα καταγράφηκαν χρησιμοποιώντας ένα ειδικό πακέτο λογισμικού το ParSEC (Brookhaven Instruments Corporation, Brookhaven, Holtsville, NY).



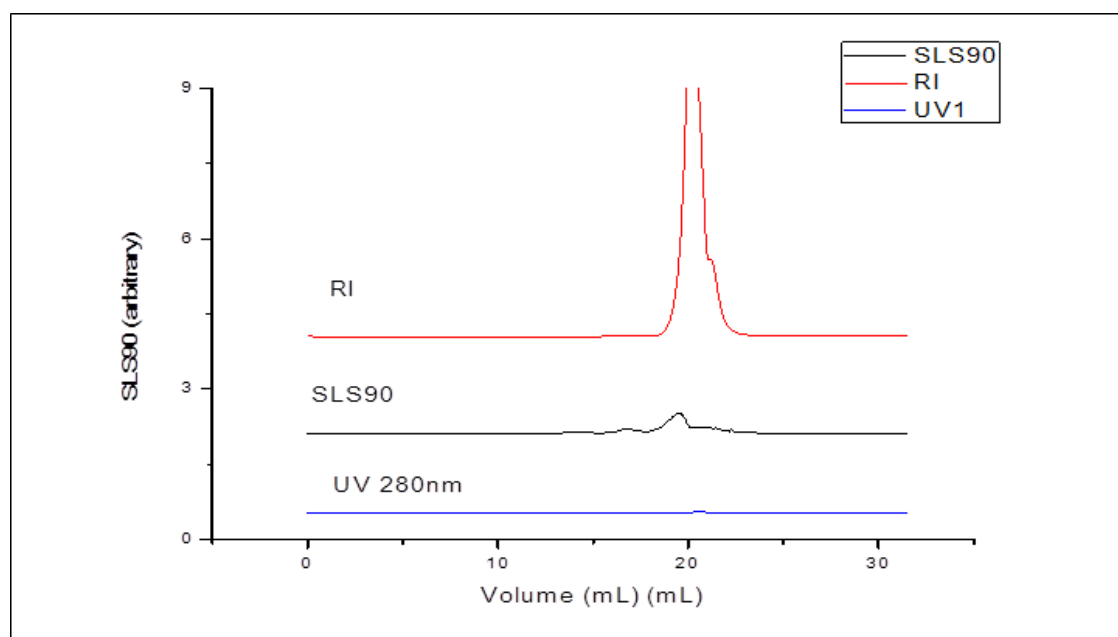
Σχήμα 7: Χρωματογραφία αποκλεισμού μεγέθους (SEC- RI /SLS) για το γαλάκτωμα που λαμβάνεται μετά το στάδιο της μύσησης (SMF).

Στο Σχήμα 7 απεικονίζονται τα αποτελέσματα της χρωματογραφίας αποκλεισμού μεγέθους (SEC), τα οποία συλλέγονται μετά το στάδιο της μύσησης (SMF). Σε αυτό το σημείο θα πρέπει να υπενθυμιστεί ότι (i) στη SEC τα μεγαλύτερα μόρια εκλούνται πρώτα (ii) ο όγκος έκλουσης του διαλύτη μπορεί να μεταφραστεί απευθείας σε χρόνο, δεδομένου ότι αυτό γίνεται με σταθερή ροή. Στο πρώτο στάδιο (SMF, "στόμα"), παρατηρείται ότι στα 14 mL εκλύεται ένας πληθυσμός από μεγάλα πολυμερή και ακολουθεί μια σειρά μικρότερων μοριακών πληθυσμών από τα 16 mL έως τα 19 mL. Για να εκτιμηθεί το μέγεθος των πληθυσμών που εκλούνται πρέπει να γίνει σύγκριση μεταξύ των κορυφών των όγκων έκλουσης, των πρότυπων καμπύλων της δεξτράνης με αυτές του πειράματος (Gaborieau et al, 2011). Στην περίπτωση αυτή, οι χρόνοι έκλουσης στα 14 mL αντιστοιχούν στον χρόνο έκλουσης της γραμμικής δεξτράνης $MW > 1,6$ MDa. (Επιπρόσθετα παρατηρείται μια μικρή απορρόφηση στα 280 nm για τα κατώτερα τμήματα της κορυφής των 15 mL.) Ο ανιχνευτής UV που λειτουργεί στα 280 nm χρησιμοποιείται για την ανίχνευση των πρωτεϊνών, λόγω του γεγονότος ότι η τυροσίνη, η τρυπτοφάνη, και σε μικρότερο βαθμό η φαινυλαλανίνη καθώς και οι δισουλφιδικοί δεσμοί προσροφούν σε αυτό το μήκος κύματος (Aitken et al., 2009). Τα παραπάνω υποδεικνύουν ότι η κορυφή στα 14 mL οφείλεται στην ζελατίνη. Η ανυπαρξία κορυφής στο UV δηλώνει ότι η ζελατίνη δεν περιέχει αρωματικά αμινοξέα.



Σχήμα 8: Χρωματογραφία αποκλεισμού μεγέθους (SEC- RI/SLS) για το γαλάκτωμα που λαμβάνεται μετά το στάδιο της επεξεργασίας στο «στομάχι» (SGF).

Στο Σχήμα 8 φαίνεται το χρωματογράφημα αποκλεισμού μεγέθους του ίδιου δείγματος μετά τη μεταφορά του από το «στόμα» στο «στομάχι» (SGF). Μεταξύ των χρωματογραφικών προφίλ παρουσιάζονται διαφορές. Οι τιμές απορρόφησης στον ανιχνευτή σκεδασμού (SLS) στο 14^ο mL, όπως και από το 16^ο mL έως το 19^ο mL μειώνονται δραστικά, καθώς η ζελατίνη έχει διασπαστεί από την επίδραση του στοματικού και στομαχικού υγρού προς στις δομικές της μονάδες. Στον ανιχνευτή RI, το σήμα του system peak φαίνεται ενισχυμένο, καθώς οι δομικές μονάδες της υδρολυμένης ζελατίνης εκλύονται σε αυτό.



Σχήμα 9: Χρωματογραφία αποκλεισμού μεγέθους (SEC-RI/SLS) για το γαλάκτωμα που λαμβάνεται μετά το στάδιο της επεξεργασίας στο λεπτό έντερο (SDF).

Το Σχήμα 9 δείχνει τα δεδομένα μετά τη μεταφορά του γαλακτώματος από το «στόμα» στο «στομάχι» και στη συνέχεια στο υγρό του λεπτού έντερου. Μετά από 30 λεπτά ελήφθη το χρωματογράφημα, στο οποίο παρατηρείται η περαιτέρω μείωση της έντασης του σήματος του

ανιχνευτή SLS στο 14⁰ mL και 16⁰ mL έως το 19⁰ mL αντίστοιχα με παράλληλη αύξηση της έντασης του σήματος του ανιχνευτή RI στο 20⁰ mL (system peak).

6. Συμπεράσματα

Η εργασία αποτελεί μια πρώτη προσέγγιση της σύζευξης ενός εργαστηριακού συστήματος πέψης, στην οποία χρησιμοποιείται η χρωματογραφία αποκλεισμού μεγέθους (SEC) ως ανιχνευτής για τη μελέτη της μεταφοράς μακρομοριακών οντοτήτων από μοντέλα ημιστερεών τροφών στο υδατικό περιβάλλον της γαστρεντερικής οδού. Υπό αυτή την ιδιότητα η SEC φαίνεται να είναι ένας αποτελεσματικός ανιχνευτής για τον εν λόγω σκοπό.

Στην παρούσα μελέτη παρατηρήθηκε ότι το γαλάκτωμα της ζελατίνης παρουσιάζει κροκίδωση μετά την εισαγωγή του στο στόμα και την επακόλουθη διασπορά του στο προσομοιωμένο στοματικό διάλυμα. Η χρωματογραφία αποκλεισμού μεγέθους που χρησιμοποιήθηκε για την *in vitro* μελέτη της πέψης του γαλακτώματος δίνει θετικά αποτελέσματα σχετικά με την επιλογή της και μπορεί να προταθεί ως μία υποσχόμενη μέθοδος παρακολούθησης της πέψης σε επίπεδο μοντέλου.

Σε αρκετές μελέτες έχουν χρησιμοποιηθεί τα εργαστηριακά μοντέλα πέψης για την εκτίμηση αλλαγών στην δομή, στην βιοδιαθεσιμότητα και στην πεπτικότητα των τροφών δείχνοντας ότι είναι χρήσιμα τόσο για την ανάλυση των τροφών όσο και των φαρμάκων. Ωστόσο εντοπίζονται αρκετές διαφορές που παρατηρούνται μεταξύ των *in vivo* και των *in vitro* μοντέλων. Ένα άλλο εργαστηριακό μοντέλο πέψης που παρουσίασε αξιόλογα αποτελέσματα ήταν αυτό της πέψης των πρωτεϊνών του γάλακτος για την χρήση σε βρεφικές τροφές. Στη μελέτη αυτή αποδείχτηκε ότι οι πρωτεΐνες δρουν ως βιοδραστικές ουσίες και έχουν ενεργό ρόλο στο λεπτό έντερο. Επίσης αναφέρεται πως μερικές από τις πρωτεΐνες δρουν ως πιθανές βιολογικές δραστικές ουσίες σε επίπεδο πεπτιδίων μετά την πέψη χρησιμοποιώντας πρωτεάσες. Λόγω της περιορισμένης μελέτης σχετικά με την σταθερότητα των πρωτεϊνών του γάλακτος το εργαστηριακό μοντέλο πέψης συμβαλλει στην κατανόηση της χρήσης των πρωτεϊνών. Τα πλεονεκτήματα αυτής της μεθόδου είναι ότι παρέχει μια εικόνα σχετικά με τον μηχανισμό δράσης της πρωτεΐνης, δηλαδή αν δρα εξ ολοκλήρου η ίδια ή μέσω των πεπτιδίων της. Επιπλέον δείχνει το βέλτιστο pH που γίνεται η υδρόλυση των πρωτεϊνών σε ποσοστό και δίνει πληροφορίες για το χρονικό διάστημα της πέψης των πρωτεϊνών. Τέλος η εργασία των Chatterto et al, δείχνει ότι τα αποτελέσματα του εργαστηριακού μοντέλου πέψης είναι όμοια με αυτά της *in vivo* πέψης.

Από τα παραπάνω εξάγεται το συμπέρασμα ότι παρά το γεγονός πως το μοντέλο πέψης δίνει τις απαραίτητες απαντήσεις σχετικά με την κίνηση των μακρομορίων, υπάρχει η ανάγκη για περισσότερη έρευνα στην συσχέτιση των *in vitro* με τα *in vivo* μοντέλα πέψης.

7. ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

- ✓ Bansil R. and Turner B.S. (2006). Mucin structure, aggregation, physiological functions and biomedical applications. *Current Opinion in Colloid & Interface Science*, **11**, 164 – 170

- ✓ Chatterton D.E.W., Rasmussen J.T., Heegaard C.W., Sorensen E.S., Petersen T.E. (2004). In vitro digestion of novel milk protein ingredients for use in infant formulas: Research on biological functions. *Trends in Food Science & Technology* **15** 373–383

- ✓ Gaborieau M., & Castignolles P. (2011) Size-exclusion chromatography (SEC) of branched polymers and polysaccharides. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 399, 1413–1423.

- ✓ Hur S. J., Decler E. A. and McClement D. J. (2009). Influence of initial emulsifier type on microstructural changes occurring in emulsified lipids during in vitro digestion. *Food Chemistry*, **114**, 253-262.

- ✓ Maleki A., Lafitte G, Kjoniksen A.L., Thuresson K. and Nystrom B. (2008). Effect of pH on the association behavior in aqueous solutions of pig gastric mucin. *Carbohydrate Research*, **343**, 328-340

- ✓ Nik A. M., Wright A. J. and Corredig M. (2011). Impact of interfacial composition on emulsion digestion and rate of lipid hydrolysis using different in vitro digestion models. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, **83**, 321–330

- ✓ Rousi Z, Ritzoulis C, Karayannakidis P.D (2014) Emulsion Flocculation

and Stability in a Simple in Vitro Gastrointestinal Model. *Food Digestion*, in press, DOI: 10.1007/s13228-013-0034-4 (2014)

- ✓ Sarkar A., Goh K.K.T. and Singh H. (2009a). Colloidal stability and interactions of milk-protein-stabilized emulsions in an artificial saliva. *Food Hydrocolloids*, **23**, 1270–1278.
- ✓ Sarkar A., Goh K.K.T., Singh R.P. and Singh H. (2009b). Behaviour of an oil-in-water emulsion stabilized by b-lactoglobulin in an in vitro gastric model, *Food Hydrocolloids*, **23**, 1563-1569.
- ✓ Sarkar A., Goh K.K.T. and Singh H. (2010). Properties of oil-in-water emulsions stabilized by b-lactoglobulin in simulated gastric fluid as influenced by ionic strength and presence of mucin. *Food Hydrocolloids*, **24**, 534-541.
- ✓ Singh H. and Sarkar A. (2011). Behaviour of protein-stabilised emulsions under various physiological conditions. *Advances in Colloid and Interface Science*, **165**, 47–57.
- ✓ Singh H., Ye A and Horne D. (2009). Structuring food emulsions in the gastrointestinal tract to modify lipid digestion. *Progress in Lipid Research*, **48**, 92-100.
- ✓ Silletti E., Vingerhoeds M.H., Norde W and van Aken G.A. (2007a). Complex formation in mixtures of lysozyme-stabilized emulsions and human saliva. *Journal of Colloid and Interface Science*, **313**, 485-493.
- ✓ Silletti E., Vingerhoeds M.H., Norde W and van Aken G.A. (2007b). The role of electrostatics in saliva-induced emulsion flocculation. *Food Hydrocolloids*, **21**, 596–606.
- ✓ Van Aken G.A., Bomhof E., Zoet F.D., Verbeek M. and Oosterveld A. (2011).

Differences in in vitro gastric behavior between homogenized milk and emulsions stabilised by Tween 80, whey protein, or whey protein and caseinate. *Food Hydrocolloids*, **25**, 781-788.

- ✓ Vingerhoeds M.H., Blijdenstein T.B.J., Zoet F.D. and van Aken G.A. (2005). Emulsion flocculation induced by saliva and mucin. *Food Hydrocolloids*, **19**, 915-922.