

Αξιοποίηση Φυσικών Αντιοξειδωτικών στην Εκτροφή των Αγροτικών Ζώων για Παραγωγή Προϊόντων Ποιότητας

Γεωπονικό Πανεπιστήμιο Αθηνών

Εργαστήριο Ζωοτεχνίας

MIS 380231

Δράση 6^η : Ποιότητα αυγών ωοπαραγωγών ορνίθων

Παραδοτέα: D6_P1

ΠΡΑΓΜΑΤΟΠΟΙΗΣΗ ΠΕΙΡΑΜΑΤΟΣ
ΣΥΛΛΟΓΗ ΔΕΙΓΜΑΤΩΝ
ΜΕΤΡΗΣΗ ΠΟΙΟΤΗΤΑΣ ΤΩΝ ΑΥΓΩΝ
ΜΕΤΡΗΣΗ ΑΝΤΙΟΞΕΙΔΩΤΙΚΗΣ ΙΚΑΝΟΤΗΤΑΣ
ΜΕΤΡΗΣΗ ΧΟΛΗΣΤΕΡΟΛΗΣ



Ευρωπαϊκή Ένωση
Ευρωπαϊκό Κοινωνικό Ταμείο



ΥΠΟΥΡΓΕΙΟ ΠΑΙΔΕΙΑΣ & ΘΡΗΣΚΕΥΜΑΤΩΝ, ΠΟΛΙΤΙΣΜΟΥ & ΑΘΛΗΤΙΣΜΟΥ
ΕΙΔΙΚΗ ΥΠΗΡΕΣΙΑ ΔΙΑΧΕΙΡΙΣΗΣ

Με τη συγχρηματοδότηση της Ελλάδας και της Ευρωπαϊκής Ένωσης



ΕΥΡΩΠΑΪΚΟ ΚΟΙΝΩΝΙΚΟ ΤΑΜΕΙΟ

Πείραμα. Επίδραση της χορήγησης των φλαβονοειδών σε ωοπαραγωγές όρνιθες

Σκοπός της εργασίας ήταν η διερεύνηση της διατροφικής χορήγησης των φλαβονοειδών εσπεριδίνης και ναρινγίνης στα παραγωγικά χαρακτηριστικά, στην ποιότητα και αντιοξειδωτική ικανότητα του αυγού καθώς και σε βιοχημικές παραμέτρους ορνίθων ωοπαραγωγής.

Για την υλοποίηση του πειράματος χρησιμοποιήθηκαν 72 όρνιθες ωοπαραγωγής (Lohmann brown), ηλικίας 54 εβδομάδων, οι οποίες χωρίστηκαν τυχαία και ισομερώς σε έξι πειραματικές ομάδες των 12 ορνίθων. Πιο συγκεκριμένα οι πειραματικές ομάδες-επεμβάσεις ήταν οι ακόλουθες: E1 και E2 στις οποίες χορηγήθηκε 0,75g και 1,5g εσπεριδίνης ανά kg τροφής, αντίστοιχα, οι ομάδες N1 και N2 στις οποίες χορηγήθηκε 0,75g και 1,5g ναρινγίνης ανά kg τροφής, αντίστοιχα, η ομάδα M στην οποία δεν έγινε χορήγηση οποιασδήποτε επιπρόσθετης ουσίας, που αποτελούσε τη ομάδα του αρνητικού μάρτυρα, και η ομάδα VE στις όρνιθες της οποίας χορηγήθηκε 0,2g α-τοκοφερόλης (βιταμίνη E)/kg τροφής που αποτελούσε τον θετικό μάρτυρα.

Η χορήγηση των ουσιών έγινε για χρονικό διάστημα 9 εβδομάδων.

Η εκτροφή των ορνίθων έγινε σύμφωνα με τις συνιστώμενες ορθές ζωοτεχνικές πρακτικές για την πλήρη έκπτυξη του παραγωγικού δυναμικού των ζώων ενώ μέριμνα λήφθηκε για την εξασφάλιση της ευζωίας σύμφωνα με την κείμενη νομοθεσία.

Κατά τη διάρκεια της εκτροφής γινόταν ημερήσια καταμέτρηση του αριθμού και του βάρους των παραγόμενων αυγών ανά όρνιθα για την εκτίμηση του ποσοστού ωοτοκίας και εβδομαδιαίος προσδιορισμός της κατανάλωσης τροφής για τον προσδιορισμό του συντελεστή μετατρεψιμότητας της τροφής σε αυγό. Κατά την έναρξη, την 5^η και την 9^η εβδομάδα έγινε λήψη αίματος από τη βραγχίονια φλέβα κάθε όρνιθας για τον προσδιορισμό της χοληστερόλης στο πλάσμα.

Κατά την έναρξη, την 1^η, 5^η και 9^η εβδομάδα του πειράματος έγινε λήψη των γεννηθέντων αυγών και εκτιμήθηκε η ποιότητά τους. Πιο συγκεκριμένα προσδιορίστηκαν: το βάρος, ο δείκτης σχήματος, οι μονάδες Haugh, το πάχος και η αντοχή του κελύφους, το βάρος και το pH του λευκού, το βάρος το χρώμα και η χοληστερόλη του κρόκου. Στα παραπάνω



χρονικά διαστήματα λήφθηκαν επίσης 8 αυγά ανά επέμβαση και έγινε λυοφιλίωση του κρόκου για να ακολουθήσει προσδιορισμός των μεταβολιτών των ουσιών που χορηγήθηκαν καθώς και του προφίλ των λιπαρών οξέων. Σε 8 από τα αυγά στα οποία έγινε εκτίμηση της ποιότητάς τους, ανά επέμβαση, και σε 8 αυγά, ανά επέμβαση, που λήφθηκαν κατά την 4^η ημέρα του πειράματος έγινε προσδιορισμός της αντιοξειδωτικής ικανότητας του κρόκου μέσω προσδιορισμού την μηλονικής διαλδεϋδης (MDA). Επιπρόσθετα, σε 8 αυγά ανά επέμβαση που λήφθηκαν κατά την τελευταία εβδομάδα του πειράματος έγινε προσδιορισμός της αντιοξειδωτικής ικανότητας (MDA) κατά τη συντήρησή τους για 15 και 30 ημέρες στους 4° C και για 2 και 4 μήνες στους -20° C.

Περιγραφή των μεθόδων που εφαρμόστηκαν

- **Ποσοστό ωοτοκίας**

Το ποσοστό ωοτοκίας ανά όρνιθα προσδιορίστηκε ως ο αριθμός των αυγών που γέννησε κάθε όρνιθα προς της ημέρες του πειράματος (63).

- **Συντελεστής μετατρεψιμότητας**

Ο συντελεστής μετατρεψιμότητας της τροφής σε αυγό προσδιορίστηκε από το λόγο της καταναλωθείσας τροφής ανά όρνιθα προς το βάρος των αυγών που γέννησε κατά τη διάρκεια του πειράματος.

- **Δείκτης σχήματος αυγού**

Ο υπολογισμός του δείκτη σχήματος του αυγού έγινε μετά από μέτρηση του εγκάρσιου και του επιμήκη άξονα του αυγού με παχύμετρο. Ο δείκτης σχήματος του αυγού υπολογίστηκε με την σχέση: Δείκτης σχήματος αυγού = [εγκάρσιος άξονας (cm) *100]/ επιμήκης άξονας (cm).

- **Αντοχή κελύφους**

Η αντοχή του κελύφους στη θραύση προσδιορίστηκε με τη μέτρηση της δύναμης (Newton) που εφαρμόστηκε στον ισημερινό του αυγού και που απαιτήθηκε για τη θραύση του με τη χρήση ειδικής συσκευής (Zwick Testing Machine, Model Z2.5/TNIS, Zwick GmbH & Co,



Germany). Η μέτρηση διεξήχθη επί των αυγών, με το μεγάλο άξονα κάθετο προς τις επιφάνειες συμπίεσως. Η ταχύτητα ορίστηκε στα 60 mm/min, με μία προγραμματισμένη, αυτόματη ρύθμιση τερματισμού, όταν σημειώθηκε μείωση κατά 40 % του μέγιστου φορτίου. Σημειώνεται ότι καμία απώλεια του περιεχομένου του αυγού δεν παρατηρήθηκε, δεδομένου ότι η εσωτερική μεμβράνη του κελύφους παρέμεινε ανέγγιχτη.

- **Πάχος κελύφους**

Το πάχος του κελύφους μετρήθηκε με παχύμετρο σκανδάλης σε τρία σημεία, δύο στους πόλους και ένα στον ισημερινό μετά την απομάκρυνση των υποκελύφινων μεμβρανών. Από τις τρεις τιμές προέκυψε ο μέσος όρος που αποτελούσε την τελική μέτρηση ανά αυγό.

- **Μονάδες Haugh αλβουμίνης**

Η μέτρηση των μονάδων Haugh της αλβουμίνης, για την εκτίμηση της ποιότητάς της, έγινε με έναν μετρητή Haugh (Model S-8400, B.C. Ames Inc, USA) αμέσως μετά την θραύση του αυγού. Το όργανο μέτρησης που αποτελούταν από ειδικό μικρομετρικό κοχλία ενσωματωμένο σε τρίποδα τοποθετήθηκε πάνω από το πυκνό στρώμα του λευκόματος σε σημείο που βρισκόταν στο μέσο της απόστασης μεταξύ της λεκίθου και του απώτερου άκρου του πυκνού στρώματος του λευκόματος.

- **Χρώμα κρόκου**

Η εκτίμηση του χρώματος του ωχρού έγινε με τη βοήθεια μιας κλίμακας χρωμάτων με διάφορες αποχρώσεις, γνωστή ως ριπίδιο Roche. Η κλίμακα αφορά χρώματα τα οποία μεταβάλλονται βαθμιαία από το χρυσοκίτρινο μέχρι το βαθύ πορτοκαλί. Τα φύλλα του ριπιδίου τοποθετήθηκαν ακριβώς πάνω από τη λέκιθο και παρατηρήθηκε πιο από αυτά ταίριαζε στο χρώμα της λεκίθου του αυγού.

- **Βάρος κρόκου και λευκού**

Ο προσδιορισμός του βάρους του κρόκου και του λευκού έγινε μετά από το διαχωρισμό του κρόκου από το λευκό και ζύγισή τους με τη βοήθεια του ηλεκτρονικού ζυγού (εικόνα 15).

- **pH αλβουμίνης**



Το pH της αλβουμίνης μετρήθηκε ύστερα από το διαχωρισμό της από τον κρόκο. Συγκεκριμένα, 5 gr της αλβουμίνης τοποθετήθηκαν σε ποτήρι ζέσεως των 100 ml. Στη συνέχεια, προστέθηκαν 45 ml απεσταγμένου νερού και αναμίχθηκαν επιμελώς. Η μέτρηση του pH έγινε με εισαγωγή του ηλεκτροδίου του πεχάμετρου (pHM120, MeterLab) στο μίγμα που προέκυψε, μετά από ρύθμιση του μηχανήματος σε ρυθμιστικά διαλύματα με pH 4 και pH 7. Το pH μετρήθηκε εις διπλούν.

- **Χοληστερόλη στον κρόκο**

Η χοληστερόλη του κρόκου προσδιορίστηκε ακολουθώντας τη μέθοδο που περιγράφηκε από τους Pasin et al. (1988). Αναλυτικότερα, 3 gr από τον κρόκο του αυγού αραιώθηκαν με 27 ml NaCl (20gr/kg) και αναδεύτηκε περιστροφικά για 2 ώρες. Κατόπιν, 1 ml του ανωτέρου διαλύματος αραιώθηκε περαιτέρω με 9 ml NaCl. Η χοληστερόλη στο παραπάνω διάλυμα μετρήθηκε φωτομετρικά στα 540 nm με τη βοήθεια ενός φασματοφωτόμετρου (Hitachi U3010 Spectrophotometer), χρησιμοποιώντας ένα εμπορικό κιτ αντιδραστηρίου (Biosis commercial kits, Athens, Greece).

- **Αντιοξειδωτική ικανότητα του κρόκου**

Ο προσδιορισμός της οξειδωτικής ικανότητας των λιπιδίων πραγματοποιήθηκε με τη βοήθεια ενός δείκτη οξείδωσης των λιπών, της μηλονικής διαλδεϋδης (MDA).

Κατά τη διαδικασία προσδιορισμού λαμβάνονταν 2 gr δείγματος κρόκου από κάθε αυγό. Σε κάθε δείγμα προστίθεντο 8 ml διαλύματος τριχλωροξικού οξέος (TCA 5%) και 5 ml διαλύματος βουτυλο-υδροξυτολουόλιου (BHT 0,8%) σε εξάνιο. Στη συνέχεια, γινόταν ομογενοποίηση του μίγματος (Edmund Buehler 7400 Tuebingen/H04, Germany) και φυγοκέντρηση στις 3000 στροφές ανά λεπτό για 3 λεπτά, δημιουργώντας εν τέλει δύο στιβάδες. Η επιφανειακή στιβάδα που περιείχε εξάνιο απορρίφθηκε ενώ η εναπομείνασα (κατώτερη στιβάδα) διηθούνταν σε δοκιμαστικό σωλήνα. Έτσι, λαμβάνονταν 2,5 ml από το σχηματιζόμενο διάλυμα, αναμιγνύονταν με 1,5 ml διαλύματος 2-θειοβαρβιτουρικού οξέος (TBA 0,8%) σε φιαλίδιο. Το διάλυμα που προέκυψε, τοποθετήθηκε σε υδατόλουτρο στους 70°C για 30 λεπτά. Μετά το πέρας των 30 λεπτών, τοποθετούνταν κάτω από τρεχούμενο νερό για να κρυώσουν και



να σταθεροποιηθεί η θερμοκρασία τους και μεταφέρονταν για μετρήσεις στο φωτόμετρο (Hitachi U3010 Spectrophotometer), σε μήκος κύματος που οριζόταν στο εύρος 500-550 nm, προκειμένου να μετρηθεί η τιμή της μέγιστης απορρόφησης φωτός έναντι τυφλού δείγματος που δεν περιείχε δείγμα κρόκου (20 μl H₂O).

Ο προσδιορισμός της παραγόμενης MDA (ng/ml κρόκου) στα αναλυθέντα δείγματα πραγματοποιήθηκε με βάση την κλίση και τη διαφορά ύψους της πρότυπης καμπύλης που σχηματίστηκε χρησιμοποιώντας το τετρααιθοξυπροπάνιο (TEP), την πρόδρομη ουσία της MDA. Πραγματοποιήθηκε διπλή ανάλυση σε κάθε δείγμα.

- **Χοληστερόλη στο πλάσμα του αίματος**

Δύο ml αίματος από κάθε δείγμα τοποθετήθηκαν σε δοκιμαστικούς σωλήνες που περιείχαν αντιπηκτικό EDTA (2 ml EDTA/ml αίματος), φυγοκεντρήθηκαν σε 800 στροφές για 20 λεπτά και συλλέχθηκε το υπερκείμενο υγρό που αποτελούσε το πλάσμα του αίματος. Η χοληστερόλη στο πλάσμα μετρήθηκε φωτομετρικά στα 540 nm με τη βοήθεια ενός φασματοφωτόμετρου (Hitachi U3010 Spectrophotometer), χρησιμοποιώντας ένα εμπορικό κιτ αντιδραστηρίου (Biosis commercial kits, Athens, Greece).

Βιβλιογραφία

Botsoglou N.A., Fletouris D.J., Papageorgiou G.E., Vassilopoulos V.N., Mantis A.J. and Trakatellis A.G., 1994. A rapid, sensitive and specific thiobarbituric acid method for measuring lipid peroxidation in animal tissues, food and feedstuff samples. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 42, 1931-1937.

Guard-Bouldin J. and Buhr R.J., 2006. Evaluation of eggshell quality of hens infected with *Salmonella enteritidis* by application of compression. *Poultry Science* 85, 129-135.

Pasin G., Smith G.M. and Mahony M.O., 1998. Rapid determination of total cholesterol in egg yolk using commercial diagnostic cholesterol reagent. *Food Chemistry* 61, 255-259.



Η Επιτροπή Πιστοποίησης Παραδοτέων

Α. Κομινάκης
Αν. Καθηγητής

Μ. Χαρισμιάδου
Λέκτορας

Π. Ζουμπουλάκης
Ερευνητής

