

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

Γεωπονικό Πανεπιστήμιο Αθηνών

Εργαστήριο Ζωοτεχνίας

MIS 380231

Δράση 4^η : Ποιότητα σφαγίου και κρέατος αμνών

Παραδοτέα: D4_P1

ΠΕΙΡΑΜΑ. ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΤΗΣ ΧΟΡΗΓΗΣΗΣ ΤΩΝ ΦΛΑΒΟΝΟΕΙΔΩΝ ΣΕ ΑΜΝΟΥΣ



Πείραμα. Επίδραση της χορήγησης των φλαβονοειδών στην ποιότητα του πρόβειου κρέατος

Σκοπός της παρούσας δράσης ήταν η διερεύνηση της διατροφικής χορήγησης των φλαβονοειδών εσπεριδίνης και ναρινγίνης στα παραγωγικά χαρακτηριστικά, στην ποιότητα και αντιοξειδωτική ικανότητα του πρόβειου κρέατος.

Για την υλοποίηση του πειράματος χρησιμοποιήθηκαν 48 αμνοί της φυλής Χίου, ηλικίας 3 μηνών, οι οποίοι χωρίστηκαν τυχαία και ισομερώς σε τέσσερις πειραματικές ομάδες των 12 ατόμων. Πιο συγκεκριμένα οι πειραματικές ομάδες/επεμβάσεις ήταν οι ακόλουθες: η ομάδα E1, στην οποία χορηγήθηκαν 2,5g εσπεριδίνης ανά kg τροφής, η ομάδα N1, στην οποία χορηγήθηκαν 2,5g ναρινγίνης ανά kg τροφής, η ομάδα M, στην οποία δεν έγινε χορήγηση οποιασδήποτε επιπρόσθετης ουσίας, που αποτέλεσε την ομάδα του αρνητικού μάρτυρα, και η ομάδα VE στις προβατίνες της οποίας χορηγήθηκε 0,2g α-τοκοφερόλης (βιταμίνη E)/kg τροφής που αποτελούσε τον θετικό μάρτυρα.

Η χορήγηση των ουσιών πραγματοποιήθηκε για 35 ημέρες και η εκτροφή των αμνών 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. Η τροφή χορηγήθηκε σε δύο γεύματα, πρωί και απόγευμα, σε επίπεδο ανάλογο των αναγκών των ζώων.

Κατά τη διάρκεια της εκτροφής πραγματοποιούταν ατομικός εβδομαδιαίος προσδιορισμός του σωματικού βάρους, ενώ καταγραφόταν και η ημερήσια κατανάλωση τροφής ανά ομάδα. Μία ημέρα πριν τη χορήγηση των ουσιών, την 18η και κατά τη σφαγή των αμνών την 35η ημέρα του πειράματος ελήφθησαν δείγματα αίματος, από τη σφαγίτιδα φλέβα σε όλα τα ζώα για τον προσδιορισμό του επιπέδου της μηλονικής διαλδεύδης (δείκτης οξειδωτικού stress) στο αίμα.

Την 35η ημέρα έγινε η σφαγή των 48 αμνών (12 ανά επέμβαση) για τον προσδιορισμό των χαρακτηριστικών του σφάγιου (βάρος και απόδοση σε σφάγιο, βάρη εσωτερικών οργάνων). Την επόμενη ημέρα έγινε προσδιορισμός των παραμέτρων της ποιότητας του κρέατος, στον επιμήκη ραχιαίο μυ μεταξύ 6ης-13ης θωρακικής πλευράς. Πιο συγκεκριμένα μετρήθηκαν: το pH, το χρώμα (L, a*, b*), η απώλεια οπού κατά το μαγείρεμα, η ικανότητα συγκράτησης νερού, η



δύναμη διάτμησης και η περιεκτικότητα σε ενδομυϊκό λίπος. Η αντιοξειδωτική ικανότητα του κρέατος μετρήθηκε στον επιμήκη ραχιαίο μυ μετά από συντήρηση 1, 3, 6 και 8 ημερών στους 40 C και 60, 90 και 120 ημερών στους -20o C. Επίσης μετρήθηκε το προφίλ των λιπαρών οξέων σε δείγματα περινεφρικού λιπώδους ιστού και του επιμήκη ραχιαίου μυ.

Περιγραφή των μεθόδων που εφαρμόστηκαν:

1. Τα επίπεδα οξειδωτικού stress στο αίμα. Για την εκτίμηση του οξειδωτικού stress στο πλάσμα του αίματος χρησιμοποιήθηκε η μέθοδος των Ohkawa et al. (1979). Συγκεκριμένα, σε κάθε δοκιμαστικό σωλήνα προστέθηκαν 0,5 ml πλάσματος, 0,5 ml φυσιολογικού ορού (0,9% διάλυμα NaCl), 1 ml of 20% TCA and 0,25 ml διαλύματος TBA (200 mg TBA διαλυμένα σε 30 απιονισμένου νερού και 30 ml οξικού οξέος). Μετά την ανάμειξη τους, το διάλυμα παρέμεινε σε υδατόλουτρο (95 °C) για 1 h. Στη συνέχεια, σε κάθε δοκιμαστικό σωλήνα, προστέθηκαν 3 ml βουτανόλης και μετά την καλή ανάμειξή τους, φυγοκεντρήθηκαν στα 3000 rpm για 10 min. Το διαχωρισμένο στρώμα της βουτανόλης συλλέχθηκε και μετρήθηκε σε σπεκτροφωτόμετρο, χρησιμοποιώντας το αρχικό διάλυμα του TBA ως τυφλό στα 535 nm. Το επίπεδο των TBARS εκφράστηκε ως nmol MDA ανά ml πλάσματος.
2. Το pH. Η μέτρηση έγινε απευθείας στο μυ εις διπλούν, με τη βοήθεια φορητού pH-μέτρου (HI 99163 Meat pH Temperature Meter, Hanna Instruments, Romania) 24 ώρες μετά τη σφαγή, σε τομή του μυός και προσθήκη μίας σταγόνας απεσταγμένου νερού. Η ρύθμιση του pH-μέτρου έγινε με ρυθμιστικά διαλύματα pH 4 και 7.
3. Οι παράμετροι του χρώματος (L^* , a^* , b^*). Η μέτρηση πραγματοποιήθηκε με τη βοήθεια φορητού χρωματόμετρου (Hunter Lab Miniscan XE D65/10) 24 ώρες μετά τη σφαγή. Το χρωματόμετρο ρυθμίστηκε στην αρχή της διαδικασίας με τη βοήθεια λευκού και μαύρου πλακιδίου. Για κάθε δείγμα έγιναν τρεις μετρήσεις για τη φωτεινότητα (L), την ένταση του κόκκινου χρώματος (a^*) και την ένταση του κίτρινου χρώματος (b^*), σύμφωνα με την κλίμακα της CIELAB.



4. Η ικανότητα συγκράτησης νερού (ΙΣΝ). Για τον προσδιορισμό της ικανότητας συγκράτησης νερού αρχικά κόπηκαν και ζυγίσθηκαν από τον επιμήκη ραχιαίο μυ 5g ιστού και τεμαχίσθηκαν με νυστέρι σε μικρότερα κομμάτια. Έπειτα τοποθετήθηκαν ανάμεσα σε 2 φύλλα διηθητικού χαρτιού και τοποθετήθηκε βάρος 2,5kg για 5 λεπτά. Μετά το πέρας των 5 λεπτών, το βάρος μετακινήθηκε και τα τεμάχια κρέατος ανάμεσα στα διηθητικά χαρτιά αφαιρέθηκαν με λαβίδα και επαναζυγίστηκαν. Η ΙΣΝ υπολογίσθηκε ως η επί τοις εκατό απώλεια υγρού της ποσότητας του ιστού μυός, έναντι της αρχικής ποσότητας (Siera, 1973).
5. Η απώλεια οπού κατά το μαγείρεμα. Οι μύες αφαιρέθηκαν από το σφάγιο 24 ώρες μετά τη σφαγή, καθαρίστηκαν από το ορατό λίπος και ζυγίστηκαν. Στη συνέχεια, τοποθετήθηκαν σε πλαστικές θερμοανθεκτικές σακούλες μιας χρήσεως και εμβαπτίστηκαν σε υδατόλουτρο θερμοκρασίας 80oC, όπου και παρέμειναν για 60 λεπτά. Κατόπιν εξάχθηκαν από το υδατόλουτρο, ψύχθηκαν για 15 λεπτά υπό τρεχούμενο νερό βρύσης και αφέθηκαν ώστε να αποκτήσουν θερμοκρασία δωματίου. Μετά το πέρας των 15 λεπτών, η επιφάνειά τους σκουπίστηκε προσεκτικά με απορροφητικό χαρτί για την απομάκρυνση της οποιασδήποτε υγρασίας και ζυγίστηκαν εκ νέου. Η απώλεια κατά το μαγείρεμα υπολογίσθηκε από τη διαφορά του βάρους των μυών πριν και μετά το μαγείρεμα.
6. Η τρυφερότητα, μέσω υπολογισμού της δύναμης διάτμησης. Η μέτρηση πραγματοποιήθηκε με τρυφερόμετρο και τη λεπίδα Warner Bratzler. Οι μύες μετά την αφαίρεσή τους από το σφάγιο τοποθετήθηκαν σε πλαστικές θερμοανθεκτικές σακούλες μιας χρήσεως και εμβαπτίστηκαν σε υδατόλουτρο (βλέπε μέτρηση ικανότητας συγκράτησης νερού (ΙΣΝ) μέσω της απώλειας οπού κατά το μαγείρεμα). Κατόπιν εξάχθηκαν από το υδατόλουτρο, ψύχθηκαν για 30 λεπτά υπό τρεχούμενο νερό βρύσης και τοποθετήθηκαν σε θερμοκρασία συντήρησης (4°C) για 24 ώρες. Από κάθε ζώο ελήφθησαν τρία δείγματα σε σχήμα λουρίδας (από το κέντρο του μυός) και πραγματοποιήθηκαν τρεις τομές κάθετα προς την κατεύθυνση των μυϊκών ινών. Το τρυφερόμετρο ήταν συνδεδεμένο με ηλεκτρονικό υπολογιστή, στον οποίο και



μεταφέρθηκαν τα δεδομένα της κάθε τομής, από τα οποία και καταγράφηκε η μέγιστη δύναμη (N) που απαιτήθηκε για τη διενέργεια της τομής.

7. Η περιεκτικότητα σε ενδομυϊκό λίπος. Η μέτρηση έγινε σύμφωνα με την μέθοδο των Folch et al. (1957). Τα δείγματα ομογενοποιήθηκαν σε διάλυμα 2:1 χλωροφόρμιου:μεθανόλης, σε 20πλάσιο όγκο από αυτό του αρχικού δείγματος, έως ότου και πραγματοποιήθηκε διάλυση του δείγματος. Το ομογενοποιημένο διάλυμα παρέμεινε για 60 λεπτά σε θερμοκρασία δωματίου και στη συνέχεια αναδεύθηκε με απεσταγμένο νερό σε αναλογία 5:1 για 20 λεπτά. Το παραγόμενο διάλυμα διαχωρίστηκε σε δύο φάσεις, αφού παρέμεινε σε προχοΐδα για 10 ώρες. Το ενδομυϊκό λίπος παρελήφθη από την κατώτερη στιβάδα, σε προζυγισμένο ποτηράκι ζέσεως, το οποίο τοποθετήθηκε σε κλίβανο (70°C), ώστε να εξατμιστεί το χλωροφόρμιο. Το ποτηράκι ζυγίστηκε και πάλι και το λίπος υπολογίστηκε βάσει της διαφοράς του βάρους του ποτηριού πριν και μετά την εξάτμιση.
8. Η αντιοξειδωτική ικανότητα του κρέατος. Η μέτρηση της αντιοξειδωτικής ικανότητας του κρέατος επιτεύχθηκε μέσω του υπολογισμού της συγκέντρωσης της μηλονικής διαλδεΐδης (MDA), που αποτελεί τον πλέον συνήθη χρησιμοποιούμενο δείκτη οξείδωσης των λιπών. Η παραγόμενη ποσότητα MDA υπολογίστηκε με τη βοήθεια φασματοφωτομετρικής μεθόδου (Botsoglou et al., 1994). Συγκεκριμένα 2 g δείγματος μύος (εις διπλούν) ομογενοποιήθηκαν (Edmund Buehler 7400 Tuebingen/H04, Germany) με 8 ml υδατικού διαλύματος τριχλωροξικού οξέος 50 g/l και 5 ml βουτυλο-υδροξυτολουολίου σε εξάνιο 8 g/l. Κατόπιν, το μίγμα φυγοκεντρήθηκε για 3 λεπτά στα 3000 g. Στη συνέχεια, η επιφανειακή στιβάδα που περιείχε το εξάνιο, απορρίφθηκε, και 2,5 ml από το εναπομείναν διάλυμα αναμίχθηκαν με 1,5 ml υδατικού διαλύματος 2-θειοβαρβιτουρικού οξέος (8 g/l). Το διάλυμα που προέκυψε, επώαστηκε για 30 λεπτά στους 70°C και στη συνέχεια ψύχθηκε με νερό βρύσης, πριν τη φωτομέτρησή του (3η παράγωγος), σε μήκος κύματος 500-550 nm, σε φωτόμετρο (μοντέλο Hitachi U3010 Spectrophotometer). Η συγκέντρωση της MDA (ng/g ιστού) στα δείγματα υπολογίστηκε με βάση το ύψος της κορυφής (3ης παραγωγού) στα 521,5 nm με σημείο αναφοράς την κλίση και τη διαφορά ύψους της πρότυπης καμπύλης που σχηματίστηκε,



χρησιμοποιώντας το τετρααιθοξυπροπάνιο (TEP), την πρόδρομη ουσία της MDA. Η παραγωγική έναντι της συμβατικής φασματοφωτομετρικής μεθόδου επιλέχθηκε επειδή εξασφαλίζει αξιοπιστία, ακρίβεια και έχει μεγαλύτερη ευαισθησία μετρήσεων, αφού δε λαμβάνει υπόψη τις παρεμβολές άλλων παρόμοιων ενεργών συστατικών.

Η Επιτροπή Πιστοποίησης Παραδοτέων

Π. Σιμιτζής
Λέκτορας

Μ. Χαρισμάδου
Λέκτορας

Π. Ζουμπουλάκης
Ερευνητής

