

ΓΕΩΠΟΝΙΚΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΑΘΗΝΩΝ  
ΣΧΟΛΗ ΑΓΡΟΤΙΚΗΣ ΠΑΡΑΓΩΓΗΣ ΥΠΟΔΟΜΩΝ ΚΑΙ  
ΠΕΡΙΒΑΛΛΟΝΤΟΣ  
ΤΜΗΜΑ ΕΠΙΣΤΗΜΗΣ ΖΩΙΚΗΣ ΠΑΡΑΓΩΓΗΣ ΚΑΙ  
ΥΔΑΤΟΚΑΛΛΙΕΡΓΕΙΩΝ

ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟ ΦΥΣΙΟΛΟΓΙΑΣ ΘΡΕΨΕΩΣ ΚΑΙ ΔΙΑΤΡΟΦΗΣ

**ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΤΗΣ ΠΡΟΣΘΗΚΗΣ ΔΥΟ ΦΛΑΒΟΝΟΕΙΔΩΝ  
(ΕΣΠΕΡΙΔΙΝΗ, ΝΑΡΙΝΓΙΝΗ) ΣΤΟ ΣΙΤΗΡΕΣΙΟ  
ΩΟΤΟΚΩΝ ΟΡΝΙΘΩΝ ΣΤΗ ΣΥΓΚΕΝΤΡΩΣΗ  
ΟΡΙΣΜΕΝΩΝ ΙΧΝΟΣΤΟΙΧΕΙΩΝ ΣΤΟ ΑΥΓΟ**

ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΗ ΜΕΛΕΤΗ  
ΝΙΚΗΤΑΣ ΧΡΗΣΤΟΣ

ΑΘΗΝΑ 2015

ΓΕΩΠΟΝΙΚΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΑΘΗΝΩΝ  
ΣΧΟΛΗ ΑΓΡΟΤΙΚΗΣ ΠΑΡΑΓΩΓΗΣ ΥΠΟΔΟΜΩΝ ΚΑΙ  
ΠΕΡΙΒΑΛΛΟΝΤΟΣ  
ΤΜΗΜΑ ΕΠΙΣΤΗΜΗΣ ΖΩΙΚΗΣ ΠΑΡΑΓΩΓΗΣ ΚΑΙ  
ΥΔΑΤΟΚΑΛΛΙΕΡΓΕΙΩΝ

ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟ ΦΥΣΙΟΛΟΓΙΑΣ ΘΡΕΨΕΩΣ ΚΑΙ ΔΙΑΤΡΟΦΗΣ

**ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΤΗΣ ΠΡΟΣΘΗΚΗΣ ΔΥΟ ΦΛΑΒΟΝΟΕΙΔΩΝ  
(ΕΣΠΕΡΙΔΙΝΗ, ΝΑΡΙΝΓΙΝΗ) ΣΤΟ ΣΙΤΗΡΕΣΙΟ  
ΩΟΤΟΚΩΝ ΟΡΝΙΘΩΝ ΣΤΗ ΣΥΓΚΕΝΤΡΩΣΗ  
ΟΡΙΣΜΕΝΩΝ ΙΧΝΟΣΤΟΙΧΕΙΩΝ ΣΤΟ ΑΥΓΟ**

ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΗ ΜΕΛΕΤΗ  
ΝΙΚΗΤΑΣ ΧΡΗΣΤΟΣ

ΤΡΙΜΕΛΗΣ ΕΠΙΤΡΟΠΗ

Παππάς Αθανάσιος, Λέκτορας (επιβλέπων)

Ζωίδης Ευάγγελος, Λέκτορας

Γκολιομύτης Μιχαήλ, Λέκτορας

ΑΘΗΝΑ 2015

**ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΤΗΣ ΠΡΟΣΘΗΚΗΣ ΔΥΟ ΦΛΑΒΟΝΟΕΙΔΩΝ (ΕΣΠΕΡΙΔΙΝΗ,  
ΝΑΡΙΝΓΙΝΗ) ΣΤΟ ΣΙΤΗΡΕΣΙΟ ΩΟΤΟΚΩΝ ΟΡΝΙΘΩΝ ΣΤΗ  
ΣΥΓΚΕΝΤΡΩΣΗ ΟΡΙΣΜΕΝΩΝ ΙΧΝΟΣΤΟΙΧΕΙΩΝ ΣΤΟ ΑΥΓΟ**

**ΝΙΚΗΤΑΣ ΧΡΗΣΤΟΣ**

*Τμήμα Επιστήμης Ζωικής Παραγωγής και Υδατοκαλλιέργειών,  
Εργαστήριο Φυσιολογίας Θρέψεως και Διατροφής,  
Ιερά Οδός 75, Αθήνα, 118 55  
Email: [arappas@aua.gr](mailto:arappas@aua.gr)*

**Περίληψη**

Σκοπός της παρούσας μεταπτυχιακής μελέτης ήταν η διερεύνηση της επίδρασης του εμπλουτισμού της τροφής με δύο φλαβονοειδή, την εσπεριδίνη και την ναρινγίνη επί της συγκέντρωσης ορισμένων ιχνοστοιχείων στο αυγό. Η παρουσία των φλαβονοειδών με γνωστή αντιοξειδωτική δράση ίσως να οδηγεί τον οργανισμό να χρησιμοποιήσει με φειδώ τα υπόλοιπα ιχνοστοιχεία που εμπλέκονται στο αντιοξειδωτικό σύστημα και αυτό ίσως αντικατοπτρίζεται στο αυγό (πχ αυξημένη συγκέντρωση Se).

Για τις ανάγκες του πειράματος, το οποίο διήρκησε 63 ημέρες, χρησιμοποιήθηκαν 72 όρνιθες ωοπαραγωγής του υβριδίου Lohmann Brown (ηλικίας 54 εβδομάδων). Οι όρνιθες κατανεμήθηκαν σε έξι ομάδες: την ομάδα του μάρτυρα (M) (χωρίς τη χορήγηση κανενός πρόσθετου), την ομάδα E1 (χορήγηση 750 mg εσπεριδίνης/ kg σιτηρεσίου), την ομάδα E2 (χορήγηση 1500 mg εσπεριδίνης/ kg σιτηρεσίου), την ομάδα N1 (χορήγηση 750 mg ναρινγίνης/ kg σιτηρεσίου), την ομάδα N2 (χορήγηση 1500 mg ναρινγίνης/ kg σιτηρεσίου) και την ομάδα VE (χορήγηση 200 mg βιταμίνης E / kg σιτηρεσίου), ενώ ακόμη συλλέχθηκαν οχτώ αυγά ανά επέμβαση για περαιτέρω ανάλυση.

Από τα ιχνοστοιχεία, επιλέχθηκαν να μελετηθούν τα ιχνοστοιχεία εκείνα που εμπλέκονται στο αντιοξειδωτικό σύστημα μέσω ενζύμων, διάφορα τοξικά και ορισμένα

πλαστικά. Η συγκέντρωση των στοιχείων As, Ca, Cd, Co, Cr, Cu, Fe, Mg, Mn, Mo, Ni, Pb, Sb, Se, Sr, V και Zn από δείγματα λεκίθου και ασπράδιού του αυγού, προσδιορίστηκαν με τη μέθοδο της φασματομετρίας μαζών επαγωγικά συνδεδεμένου πλάσματος (ICP-MS).

Όπως παρατηρήθηκε, η χορήγηση στο σιτηρέσιο των ωοπαραγωγών ορνίθων των δύο φλαβονοειδών, σε οποιαδήποτε συγκέντρωση δεν επηρέασε σημαντικά το βάρος του αυγού, του ασπράδιού και της λεκίθου. Η προσθήκη εσπεριδίνης σε συγκέντρωση των 750 mg/kg σιτηρεσίου, αύξησε τη συγκέντρωση των ιχνοστοιχείων Ca, Cr, Cu, Fe, Mg, Ni, Pb, Sr και Zn σε σχέση με την επέμβαση του μάρτυρα στη λεκίθο του αυγού ενώ στο ασπράδι μείωσε τη συγκέντρωση του Co και αύξησε αυτή του Ni. Η προσθήκη εσπεριδίνης σε συγκέντρωση των 1500 mg/kg σιτηρεσίου, αύξησε τη συγκέντρωση του Pb σε σχέση με την επέμβαση του μάρτυρα στη λεκίθο του αυγού και μείωσε τη συγκέντρωση του Sb ενώ στο ασπράδι μείωσε τη συγκέντρωση του Co και αύξησε αυτή των Pb και Sr. Η προσθήκη ναρινγίνης σε συγκέντρωση των 750 mg/kg σιτηρεσίου, αύξησε τις συγκεντρώσεις των ιχνοστοιχείων Ca, Cr, Fe, Ni ενώ ακόμη μείωσε τις συγκεντρώσεις των ιχνοστοιχείων του Co και Sb στη λεκίθο του αυγού πάντα σε σχέση με την επέμβαση του μάρτυρα. Στο ασπράδι επέφερε μείωση των Ca, Co, Mn και Sb και αύξηση των Cd, και Ni. Η προσθήκη ναρινγίνης σε συγκέντρωση των 1500 mg/kg σιτηρεσίου μείωσε, σε σχέση με την επέμβαση του μάρτυρα, τη συγκέντρωση του Sb αλλά μετέβαλλε θετικά τις συγκεντρώσεις των ιχνοστοιχείων Cd, Cr, Cu, Ni και V στη λεκίθο του αυγού. Στο ασπράδι επέφερε μείωση των Ca, Co, Mn και Sb και αύξηση των Cd, Cr, Cu, Ni και V. Η προσθήκη βιταμίνης E σε συγκέντρωση 200 mg/kg, σε σχέση με την επέμβαση του μάρτυρα, μείωσε τη συγκέντρωση του Co τόσο στο ασπράδι όσο και στη λεκίθο του αυγού ενώ επίσης παρατηρήθηκε αύξηση του Sb στο ασπράδι του αυγού. Επίσης, αξίζει να τονιστεί ότι στο στοιχείο Se διαπιστώθηκε διαφοροποίηση μόνο μεταξύ των επεμβάσεων με τις υψηλές συγκεντρώσεις φλαβονοειδών (E2, N2). Δεν διέφεραν στατιστικώς οι επεμβάσεις σε σχέση με το μάρτυρα παρότι κατά 6% υψηλότερη η συγκέντρωσή του στην επέμβαση E2 και κατά 23 % χαμηλότερη στη N2. Η συγκέντρωσή του στη λεκίθο δεν φάνηκε να επηρεάζεται σε καμία επέμβαση, ανεξαρτήτως επιπέδου χορήγησης των δύο φλαβονοειδών.

Η ενσωμάτωση εσπεριδίνης και ναρινγίνης οδήγησε σε αύξηση της συγκέντρωσης στη λέκιθο και το ασπράδι αρκετών ιχνοστοιχείων τόσο απαραίτητων όσο και τοξικών. Ο μηχανισμός δράσης ίσως να σχετίζεται με το φαινόμενο δημιουργίας χηλικών ενώσεων. Οι διαφορετικές τιμές συγκέντρωσης μεταξύ του ίδιου ιχνοστοιχείου στη λέκιθο και το ασπράδι που κατά κανόνα είναι υψηλότερες στη λέκιθο ίσως οφείλονται στο φυσιολογικό ρόλο της λεκίθου καθώς εκεί βρίσκονται τα περισσότερα στοιχεία με σκοπό να μεταφερθούν αποτελεσματικά μέσω του λεκιθικού σάκου στο αναπτυσσόμενο έμβρυο. Συμπερασματικά, η παρουσία των φλαβονοειδών οδήγησε σε διαφοροποίηση της εναπόθεσης ορισμένων ιχνοστοιχείων στη λέκιθο και το ασπράδι.

# **EFFECTS OF ADDITION OF TWO FLAVONOIDS (HESPERIDIN, NARINGIN) TO LAYING HEN'S DIET ON THE CONCENTRATION OF CERTAIN TRACE ELEMENTS IN THE EGG**

**NIKITAS CHRISTOS**

*Faculty of Animal Science and Aquaculture,  
Department of Nutritional Physiology and Feeding,  
Iera Odos 75, Athens, 11855  
Email: apappas@aua.gr*

## **Abstract**

The purpose of this graduate study was to investigate the effect of addition of two flavonoids, namely hesperidin and naringin on the concentration of certain trace elements in the egg. The presence of flavonoids with known antioxidant activity may lead the body to use sparingly the other trace elements involved in the antioxidant system and this may be reflected in the egg (eg increased concentration of Se).

For the purposes of the experiment, which lasted 63 days, 72 Lohmann Brown hens (54 weeks old) were used. The hens were divided into six groups: the control group (M) (fed a basal diet) group E1 (hesperidin at 750mg / kg diet), group E2 (at 1500 mg hesperidin / kg diet), group N1 (naringin at 750mg / kg diet), group N2 (naringin at 1500mg / kg diet) and group VE (200 mg vitamin E / kg diet). Additionally, eight eggs per group were collected for further analysis.

Several trace elements were selected to be investigated including those involved in the antioxidant system and some toxic ones. The concentration of elements As, Ca, Cd, Co, Cr, Cu, Fe, Mg, Mn, Mo, Ni, Pb, Sb, Se, Sr, V and Zn in yolk and egg white samples were determined by the method of mass spectroscopy inductively coupled plasma (ICP-MS).

As observed, administration of the two flavonoids in feed, at any concentration, did not to significantly affect the weight of the egg, the egg white and yolk. Addition of

hesperidin at a concentration of 750 mg / kg diet, increased the concentration of trace elements Ca, Cr, Cu, Fe, Mg, Ni, Pb, Sr and Zn in egg yolk, compared to control treatment while in egg white reduced the concentration of Co and increased that of Ni. Addition of hesperidin at 1500 mg / kg diet, compared to control, increased the concentration of Pb and reduced the concentration of Sb in egg yolk while in albumen reduced the concentration of Co and increased that of Pb and Sr. Addition of naringin at a concentration of 750 mg / kg diet, increased compared to control, the concentration of Ca, Cr, Fe, Ni and reduced the concentrations of trace elements Co and Sb in egg yolk while in albumen reduced Ca, Co, Mn and Sb and increased Cd and Ni. Addition of naringin at a concentration of 1500 mg / kg diet lowered, in comparison to the control, the concentration of Sb but positively altered the concentrations of Cd, Cr, Cu, Ni and V in the egg yolk. In the white reduced Ca, Co, Mn and Sb and increased Cd, Cr, Cu, Ni and V. Addition of vitamin E at 200 mg per kg diet, compared to the control, reduced the concentration of Co in both the egg white and the yolk and also increase of Sb concentration in egg white. Also, it is worth highlighting that Se concentration differed only between the two treatments with the high concentrations of flavonoids (E2, N2). No statistically significant differences were noted compared to the control although the concentration was of 6% higher in E2 and 23% lower in N2. Se concentration in the yolk was not influenced by any level of administration of the two flavonoids.

The incorporation of hesperidin and naringin led to increased concentration in the yolk and the white of several trace elements both essential and toxic. The mechanism of action may be related to the chelation of elements. The difference in concentration between the same trace element in yolk and egg white, typically higher in yolk, perhaps is due to the physiological role of yolk where most elements are deposited in order to be transported through the yolk sac to the developing embryo. In conclusion, the presence of flavonoids has led to differentiation of the deposition of certain trace minerals in the yolk and albumen.

Ο κάτωθι υπογεγραμμένος, ΧΡΗΣΤΟΣ ΝΙΚΗΤΑΣ δηλώνω ότι το κείμενο της μελέτης αποτελεί δικό μου, μη υποβοηθούμενο πόνημα. Υποβάλλεται σε μερική εκπλήρωση των απαιτήσεων για την απόκτηση του Μεταπτυχιακού Διπλώματος Ειδίκευσης στην (ΔΙΑΤΡΟΦΗ ΚΑΙ ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑ ΖΩΟΤΡΟΦΩΝ) του Τμήματος Επιστήμης Ζωικής Παραγωγής και Υδατοκαλλιεργειών, του Γεωπονικού Πανεπιστημίου Αθηνών. Δεν έχει υποβληθεί ποτέ πριν για οιοδήποτε λόγο ή για εξέταση σε οποιοδήποτε άλλο πανεπιστήμιο ή εκπαιδευτικό ίδρυμα της χώρας ή του εξωτερικού.

.....  
(ΟΝΟΜΑΤΕΠΩΝΥΜΟ)

.....  
(ΗΜΕΡΟΜΗΝΙΑ )

( Ημέρα, μήνας, έτος)



*Η μελέτη αυτή  
αφιερώνεται στους γονείς μου  
Σπύρο και Φωτεινή και  
στον αδερφό μου  
Γιάννη*

## ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ

Στο σημείο αυτό, θέλω και οφείλω να ευχαριστήσω θερμά τους ανθρώπους οι οποίοι συνέβαλλαν, με διαφορετικό τρόπο ο καθένας, στην προσπάθειά μου να ολοκληρώσω την παρούσα μελέτη.

Θέλω να ευχαριστήσω τον επιβλέποντα Καθηγητή κ. Παππά Αθανάσιο για την ανάθεση του θέματος της πτυχιακής μου διατριβής, για την άψογη συνεργασία μας, καθώς και για την πολύτιμη βοήθεια και ενθάρρυνση που μου παρείχε καθ' όλη τη διάρκεια εκπόνησης της παρούσας διατριβής.

Επιπρόσθετα, θέλω να ευχαριστώ τα μέλη της εξεταστικής επιτροπής κ.κ. Παππά Αθανάσιο, Λέκτορα, κ. Ζωΐδη Ευάγγελο, Λέκτορα και το κ. Γκολιομύτη Μιχάλη, Λέκτορα, που δέχτηκαν να αξιολογήσουν και να βαθμολογήσουν την παρούσα εργασία.

Ακόμη, θέλω να ευχαριστήσω τον κ. Ζωΐδη Ευάγγελο, Λέκτορα, του Εργαστηρίου Φυσιολογίας Θρέψεως και Διατροφής, για τις υποδείξεις του και τις συμβουλές του σε διάφορα στάδια της μελέτης.

Επιπλέον, θέλω να ευχαριστήσω την κα. Σωτηράκογλου Κυριακή, Αναπληρώτρια Καθηγήτρια του Εργαστηρίου Μαθηματικών και Στατιστικής, για την στατιστική επεξεργασία και την επιμέλεια των στατιστικών διαγραμμάτων.

Επίσης, ευχαριστώ τον κ. Γεωργίου Κωνσταντίνο, Καθηγητή του Εργαστηρίου Χημείας, του Τομέα Χημικών και Φυσικών Επιστημών για την παραχώρηση των εργαστηριακών χώρων, τον υποψήφιο διδάκτορα κ. Δανέζη Γιώργο του Εργαστηρίου Χημείας, του Τομέα Χημικών και Φυσικών Επιστημών για τις υποδείξεις του και την ουσιαστική βοήθειά του στις πειραματικές αναλύσεις καθώς και τους προπτυχιακούς φοιτητές, Τεκτονίδη Νικόλαο, του Τμήματος Ζωικής Παραγωγής & Υδατοκαλλιεργειών, τον Κωνσταντίνο Παπαχρηστίδη, του Τμήματος Επιστήμης Τροφίμων και Διατροφής του Ανθρώπου και τον Τσάγκαρη Άρη, του Τμήματος Επιστήμης Τροφίμων και Διατροφής του Ανθρώπου για τη βοήθεια τους στο πειραματικό στάδιο της μελέτης.

Τέλος, ευχαριστώ και όλους εκείνους που η κατά καιρούς συναναστροφή μου μαζί τους με έμαθε να εργάζομαι, να συνεργάζομαι και να σκέφτομαι θετικά. Ιδιαίτερα μάλιστα, τους ανθρώπους που καθ' όλη τη διάρκεια των σπουδών μου υπήρξαν πολύτιμοι υποστηρικτές μου τόσο ηθικά όσο και οικονομικά, τους γονείς μου και τον αδερφό μου, στους οποίους οφείλω απεριόριστη ευγνωμοσύνη για όσα μου έχουν προσφέρει όλα αυτά τα χρόνια.

# Περιεχόμενα

A. Θεωρητικό Μέρος	2
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1. ΕΙΣΑΓΩΓΗ	2
1.1 ΟΡΝΙΘΟΤΡΟΦΙΑ .....	3
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2. ΦΛΑΒΟΝΟΕΙΔΗ	6
2.1 ΙΣΤΟΡΙΚΗ ΑΝΑΔΡΟΜΗ .....	6
2.2 ΔΟΜΗ ΚΑΙ ΟΝΟΜΑΤΟΛΟΓΙΑ ΦΛΑΒΟΝΟΕΙΔΩΝ.....	10
2.2.1 Χαρακτηριστικά φλαβονοειδών.....	16
2.2.2. Μέθοδοι παραλαβής φλαβονοειδών.....	20
2.2 ΦΑΡΜΟΚΙΝΗΤΙΚΗ .....	21
2.3 ΒΙΟΛΟΓΙΚΕΣ ΔΡΑΣΕΙΣ ΤΩΝ ΦΛΑΒΟΝΟΕΙΔΩΝ .....	22
2.4 ΕΣΠΕΡΙΔΙΝΗ.....	24
2.4.1 Πηγές της εσπεριδίνης.....	25
2.4.2 Μεταβολισμός.....	26
2.5 ΝΑΡΙΝΓΙΝΗ .....	27
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 3: ΙΧΝΟΣΤΟΙΧΕΙΑ	30
3.1 ΕΙΣΑΓΩΓΗ .....	30
3.2 ΙΧΝΟΣΤΟΙΧΕΙΑ .....	32
3.3 ΑΝΤΙΟΞΕΙΔΩΤΙΚΑ.....	34
B. Πειραματικό Μέρος	39
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 4: ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ	40
4.1 ΣΚΟΠΟΣ ΤΟΥ ΠΕΙΡΑΜΑΤΟΣ.....	40
4.2 ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ .....	40
4.2.1 Ζωικό υλικό και πειραματικός σχεδιασμός	40
4.2.2 Συνθήκες εκτροφής	42
4.2.3 Διατροφή ορνίθων	42
4.2.4 Μέθοδοι εργαστηριακών αναλύσεων	45
4.3 Στατιστική Ανάλυση	58

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 5: ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ	59
5.1.1 Ασπράδι αυγού	59
5.1.2 Λέκιθος αυγού	69
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 6: ΣΧΟΛΙΑΣΜΟΣ ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΩΝ	79
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 7: ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ ΚΑΙ ΣΥΣΤΑΣΕΙΣ	88
ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ	90
Ξένη.....	90
Ελληνική.....	98

## ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΠΙΝΑΚΩΝ

Πίνακας 2.1 - Μερικές φυσικές πηγές φλαβονοειδών.....	9
Πίνακας 2.2 - Βιολογικές δράσεις των φλαβονοειδών.....	24
Πίνακας 3.1 - Ταξινόμηση των ανόργανων στοιχείων με βάση τη φυσιολογική τους σημασία .....	31
Πίνακας 3.2 - Βέλτιστα, ελάχιστα ( πενία ) και μέγιστα ( τοξικότητα ) διαιτητικά όρια των κυριότερων ιχνοστοιχείων για τη διατροφή των πτηνών.....	33
Πίνακας 3.2.1 - Ανάγκες σε ιχνοστοιχεία μεταξύ των υβριδίων Hy-line W36, Hy-line Brown, Isa Brown, Isa White, Lohmann Brown .....	34
Πίνακας 3.3.1 - Χρήση της βιταμίνης E με φειδώ.....	38
Πίνακας 3.3.2 - Ένζυμα τα οποίο έχουν ως βασικό συστατικό το Se.....	38
Πίνακας 4.1 - Σύσταση του σιτηρεσίου.....	43
Πίνακας 4.2 - Χημική σύσταση σιτηρεσίου.....	44
Πίνακας 5.1 - Επίδραση της χορήγησης εσπεριδίνης και ναρινγίνης στη συγκέντρωση 17 ιχνοστοιχείων στο ασπράδι του αυγού.....	62
Πίνακας 5.2 - Ιδιοτιμές και ποσοστά διακύμανσης που εξηγούνται με την επιλογή συγκεκριμένου αριθμού συνιστωσών.....	64
Πίνακας 5.3 - Κύριες συνιστώσες που προκύπτουν από την ανάλυση.....	65
Πίνακας 5.4 - Επίδραση της χορήγησης εσπεριδίνης και ναρινγίνης στη συγκέντρωση 17 ιχνοστοιχείων στη λέκιθο του αυγού.....	72
Πίνακας 5.5 - Ιδιοτιμές και ποσοστά διακύμανσης που εξηγούνται με την επιλογή συγκεκριμένου αριθμού συνιστωσών.....	74
Πίνακας 5.6 - Κύριες συνιστώσες που προκύπτουν από την ανάλυση.....	75

## ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΔΙΑΓΡΑΜΜΑΤΩΝ

Διάγραμμα 5.1 - Διάγραμμα διασποράς μεταβλητών .....	67
Διάγραμμα 5.2: Διάγραμμα διακριτικής ανάλυσης.....	68
Διάγραμμα 5.3: Διάγραμμα διασποράς μεταβλητών.....	76
Διάγραμμα 5.4: Διάγραμμα διακριτικής ανάλυσης.....	77

## ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΕΙΚΟΝΩΝ

Εικόνα 2.2.1 - Δομή της βενζο-γ-πυρόνης.....	10
Εικόνα 2.2.2 - Δομή, ταυτοποίηση και μεσομέρεια των ανθοκυανινών.....	10
Εικόνα 2.2.3 - Δομή των φλαβονολών.....	11
Εικόνα 2.2.4 - Δομή των ισοφλαβονολών.....	11
Εικόνα 2.2.5 - Δομή των φλαβόνων.....	11
Εικόνα 2.2.6 - Δομή των ισοφλαβόνων.....	12
Εικόνα 2.2.7 - Δομή των φλαβανόνων.....	12
Εικόνα 2.2.8 - Δομή των ισοφλαβανονών.....	12
Εικόνα 2.2.9 - Δομή των φλαβανολών.....	13
Εικόνα 2.2.10 - Δομή των ισοφλαβανόλων.....	13
Εικόνα 2.2.11 - Δομή των φλαβάνων.....	13
Εικόνα 2.2.12 - Δομή των ισοφλαβανών.....	14
Εικόνα 2.2.13 - Δομή των αουρόνων.....	14
Εικόνα 2.2.14 - Δομή των κουμαρινών.....	14
Εικόνα 2.2.15 - Δομή των χαλκονών.....	15
Εικόνα 2.2.16 - Δομή των διϋδροχαλκονών.....	15
Εικόνα 2.2.17 - Δομή των ξανθονών.....	15
Εικόνα 2.2.18 - Δομή ανθοκυανιδών.....	16
Εικόνα 2.2.19 - Δομή βιοχανίνη.....	17
Εικόνα 2.2.20 – Ισοφλαβόνες.....	17
Εικόνα 2.2.21 - Γενικός τύπος πτεροκαρπανών.....	18
Εικόνα 2.2.22 - Δύο ισοφλαβόνες: η γενιστεΐνη και φορμονονετίνη.....	18
Εικόνα 2.2.23 - Δομή της ξανθόνης ψωροσπερίνης.....	19
Εικόνα 2.2.24 - Ξανθόνες που απομονώθηκαν από τα φυτά <i>Gareinia mangostana</i> και <i>Callophyllum inophyllum</i> .....	19
Εικόνα 2.4 - Χημική δομή της εσπεριδίνης.....	25
Εικόνα 2.5 - Στερεοχημική δομή της ναρινγίνης.....	28
Εικόνα 4.2.3.1 – Σκεύασμα εσπεριδίνης.....	45
Εικόνα 4.2.3.2 – Σκεύασμα ναρινγίνης.....	45
Εικόνα 4.2.4.1 - Συλλογή δείγματος λεκίθου και ασπραδιού.....	46
Εικόνα 4.2.4.2 - Προχώνευση των δειγμάτων.....	46



Εικόνα 4.2.4.3 - Τοποθέτηση των δειγμάτων στον ειδικά διαμορφωμένο υποδοχέα του Mars X-Press.....	47
Εικόνα 4.2.4.4 - CEM, Mars X-Press, NC, Η.Π.Α.....	48
Εικόνα 4.2.4.5 - Τα φίλτρα Chromafil, Macherey-Nagel, Duren.....	49
Εικόνα 4.2.4.6 - Τα φίλτρα προσαρμοσμένα σε σύριγγες.....	49
Εικόνα 4.2.4.7 - ICP – MS φασματογράφος –Elan 9000 – Perkin Elmer.....	50
Εικόνα 4.2.4.8 - Σύζευξη επαγωγικά συζευγμένου πλάσματος.....	52
Εικόνα 4.2.4.9 - Πυρσός ICP πλάσματος.....	53
Εικόνα 4.2.4.10 - Μέρη ενός πυρσού ICP πλάσματος.....	54
Εικόνα 4.2.4.11 - Δειγματολήπτης και αποκορυφωτής κώνος από ICP - MS Elan 9000 - Perkin Elmer.....	55
Εικόνα 4.2.4.12 - Τα βασικά μέρη ενός φασματόμετρου μαζών.....	56
Εικόνα 4.2.4.13 - Το εσωτερικό μέρος ενός ICP – MS φασματογράφου.....	57
Εικόνα 4.2.4.14 - Αντλίες κενού ενός ICP – MS φασματογράφου.....	57
Εικόνα 4.2.4.15 - Φιάλες αργού ενός ICP – MS φασματογράφου.....	58
Εικόνα 6.1 - Πολυδοντικοί υποκαταστάτες.....	81
Εικόνα 6.2 - Παράδειγμα χηλικού συμπλόκου.....	81
Εικόνα 6.3 – Δομή της αίμης.....	84



# **A. Θεωρητικό Μέρος**

# ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1. ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Η ραγδαία αύξηση του παγκόσμιου πληθυσμού, η συσσώρευσή του στα μεγάλα αστικά κέντρα καθώς και οι αλλαγές στο τρόπο ζωής των ανθρώπων, οδήγησαν στην ανάγκη για μεγαλύτερη παραγωγή αυγών και κρέατος πουλερικών καθώς και στη βελτίωση της ποιότητάς τους (Γιαννακόπουλος & Τσερβένη-Γούση, 2009). Επιπλέον αντίθετα με ότι συνέβαινε παλαιότερα, οι καταναλωτές έχουν πλέον τη δυνατότητα να επιλέξουν από μία πληθώρα επιλογών, δηλαδή, μπορούν να αγοράζουν τα τεμάχια του κοτόπουλου που επιθυμούν καθώς και προϊόντα έτοιμα ή προ-μαγειρεμένα όπως π.χ. σουβλάκια, λουκάνικα, μπιφτέκια, σαλάμια κτλ. αντί να αγοράζουν κοτόπουλα ολόκληρα ή μόνο αυγά όπως συνηθίζονταν παλαιότερα (Γιαννακόπουλος & Τσερβένη - Γούση, 2009).

Για να αντιμετωπιστεί όμως η ανάγκη για μεγαλύτερη παραγωγή θα έπρεπε να γίνουν σημαντικές αλλαγές προκειμένου να καλυφθεί η αυξανόμενη ζήτηση αυγών και κρέατος πουλερικών. Συνεπώς, η παραγωγή των αυγών και του κρέατος επεκτάθηκε σε όλο το χρόνο από εποχική που ήταν αρχικά, ενώ επιπρόσθετα εφαρμόστηκαν νέες μέθοδοι εκτροφής και εμπορίας. Ο σπόρος του καλαμποκιού έγινε πολυσύνθετο μείγμα τροφών και διαφόρων πρόσθετων, η απλή ποτίστρα έγινε αυτοματοποιημένη ενώ με τη χρησιμοποίηση γενετικά βελτιωμένων υβριδίων ορνίθων κατέστη δυνατή η παραγωγή 300 αυγών περίπου το χρόνο από μία όρνιθα, όταν παλαιότερα γεννούσε μερικές δεκάδες αυγά (Γιαννακόπουλος & Τσερβένη - Γούση, 2009).

Ωστόσο, παρά την αλματώδη ανάπτυξη της ορνιθοτροφίας και την αύξηση της παραγωγής δημιουργήθηκαν νέα σημαντικά προβλήματα που έπρεπε να αντιμετωπισθούν. Στα προβλήματα αυτά περιλαμβάνονταν το πρόβλημα της μεταφοράς, της διατήρησης των προϊόντων σε μία κατάσταση που δε θα προκαλούσε προβλήματα υγείας στο καταναλωτή, το πρόβλημα του σπασίματος των αυγών κατά τη μεταφορά από την κτηνοτροφική μονάδα στα ράφια των καταστημάτων, το σημαντικό πρόβλημα της ασφάλειας και της ποιότητας των προϊόντων καθώς και η αύξηση του χρόνου συντήρησης αυτών ώστε να παρουσιάζουν μικρότερη αλλοίωση σε συνάρτηση με το χρόνο.

Ως εκ τούτου και μετά τη λήξη του Β' Παγκοσμίου πολέμου, προκειμένου να αντιμετωπιστεί το πρόβλημα της ασφάλειας και της συντήρησης των προϊόντων της ορνιθοτροφίας ξεκίνησε μία προσπάθεια εξεύρεσης πιθανών ουσιών τα οποία θα παρείχαν ισχυρή αντιοξειδωτική δράση έναντι της οξειδωσης των λιπών. Για το λόγο αυτό, δημιουργήθηκαν συνθετικά αντιοξειδωτικά αλλά ελάχιστα έγιναν αποδεκτά από τον Οργανισμό Τροφίμων. Στη συνέχεια, το ενδιαφέρον μετατοπίστηκε στην ανεύρεση φυσικών αντιοξειδωτικών προερχόμενα από το φυτά. Η πρώτη παρατήρηση έγινε αρχικά από τους Shrader και Johnson (1934) όπου εντόπισαν διάφορες ουσίες που είχαν αντιοξειδωτικές ικανότητες στη φλούδα και το χυμό των εσπεριδοειδών, στα πέταλα αλλά και σε άλλα φυτικά προϊόντα. Κατόπιν, οι Svirbely και Szent-Gyorgyi (1932) απέδωσαν μέρος της αντιοξειδωτικής ικανότητας του χυμού πορτοκαλιού στα φαινολικά συστατικά του. Αυτά τα φαινολικά συστατικά αργότερα προσδιορίστηκαν ως φλαβονόλες (Beecher et al., 2003).

Εξαιτίας αυτής της αντιοξειδωτικής ικανότητας που παρουσιάζουν οι φλαβονόλες, δημιουργήθηκε το ενδιαφέρον αφενός για το αν και κατά πόσο θα μπορούσαν να χρησιμοποιηθούν ως προσθετικά τροφίμων και αφετέρου για το αν θα είχαν ευεργετική επίδραση στα αγροτικά ζώα. Μερικές από αυτές τις ουσίες είναι η εσπεριδίνη, η ναρινγίνη, η κουερκيتينή και η ρουτίνη.

Σκοπός της παρούσας εργασίας είναι η μελέτη της σχέσης ορισμένων ιχνοστοιχείων στο αυγό ωοτόκων ορνίθων, οι οποίες κατανάλωσαν σιτηρέσιο έπειτα από ενσωμάτωση δύο φλαβονοειδών (εσπεριδίνης, ναρινγίνης). Συγκεκριμένα, καταγράφηκε η κατανομή των ιχνοστοιχείων στη λέκιθο και στο ασπράδι του αυγού.

## **1.1 ΟΡΝΙΘΟΤΡΟΦΙΑ**

Πριν το Β' Παγκόσμιο πόλεμο, κάθε οικογένεια που ζούσε στην επαρχία διατηρούσε 10 - 35 όρνιθες, έπαιρνε τα αυγά και όσα περίσσευαν, μετά από την κάλυψη των αναγκών της οικογένειας, τα αντάλλαζε με άλλα προϊόντα όπως ζάχαρη, καφέ, αλεύρι, τσιγάρα κτλ. (Γιαννακόπουλος & Τσερβένη - Γούση, 2009).

Ωστόσο, μετά το Β' Παγκόσμιο πόλεμο αυτός ο τρόπος συναλλαγής προϊόντων άλλαξε. Μία από τις κυριότερες αλλαγές που συνέβησαν, αφορούσε την εκμηχάνιση

της αγροτικής εκμετάλλευσης και του πτηνοτροφείου. Επιπλέον, σημαντικά βήματα προόδου πραγματοποιήθηκαν και στην διατροφή εξαιτίας της τεχνολογικής προόδου όπως ακόμη και στη γενετική βελτίωση κτλ.. Αποτέλεσμα των αλλαγών αυτών, ήταν η ορنيθοτροφία να καταστεί ως ένας πολύ σημαντικός κλάδος της αγροτικής παραγωγής (Γιαννακόπουλος & Τσερβένη - Γούση, 2009).

Μεγάλος σταθμός στην εξέλιξη της ορنيθοτροφίας αποτέλεσε η κατασκευή και η ευρεία χρήση των επωαστικών μηχανών, δίνοντας με τον τρόπο αυτό τη δυνατότητα μαζικής παραγωγής νεοσσών αλλά και τη δημιουργία σμηνών από πτηνά μιας ηλικίας τα οποία είχαν τις ίδιες ανάγκες διατροφής, περιποίησης και υγιεινής (Γιαννακόπουλος & Τσερβένη - Γούση, 2009).

Στη συνέχεια, σημαντική στιγμή ήταν η ανακάλυψη των βιταμινών καθώς και η μετέπειτα ευρεία χρήση τους στα σιτηρέσια των ορνιθίων. Εξαιτίας αυτών, έγινε δυνατή η εκτροφή ορνιθίων σε μικρούς χώρους (ορνιθώνες), μακριά από τους αγρούς και ανεξάρτητα από τον παράγοντα γη (Γιαννακόπουλος & Τσερβένη - Γούση, 2009).

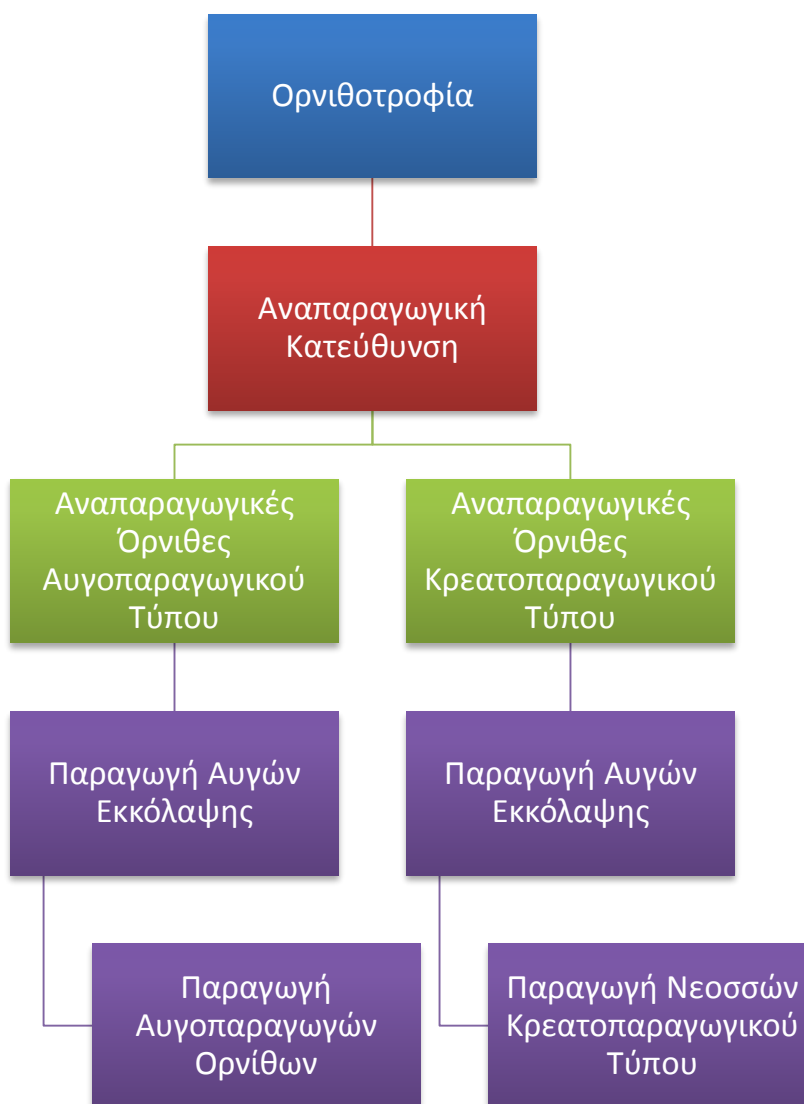
Αποτέλεσμα των παραπάνω αλλαγών στο κλάδο της ορنيθοτροφίας ήταν η αύξηση του μεγέθους των μονάδων καθώς και η εξειδίκευση της παραγωγής. Σημαντικό ρόλο στην εξειδίκευση της παραγωγής διαδραμάτισε η εφαρμογή της μεθόδου διαχωρισμού των νεοσσών ανάλογα με το φύλο (σεξάρισμα) μία μέθοδο η οποία είναι γνωστή στους Ιάπωνες από το 1927 (Γιαννακόπουλος & Τσερβένη - Γούση, 2009).

Επιπρόσθετα, σπουδαίο ρόλο για την ορنيθοτροφία ήταν η χρησιμοποίηση των κλωβοστοιχιών στις αυγοπαραγωγικές όρνιθες, η κατασκευή θαλάμων με πλήρως ελεγχόμενο περιβάλλον μέσω του ελέγχου του μικροκλίματος όπως η θερμοκρασία, η υγρασία, η ροή του αέρα και η φωτοπερίοδος. Όλα αυτά συνέβαλαν στην δημιουργία κατάλληλων συνθηκών εκτροφής ορνιθίων και παραγωγής κτηνοτροφικών προϊόντων σε όλες τις περιοχές της Γης (Γιαννακόπουλος & Τσερβένη - Γούση, 2009).

Ο σκοπός της εκτροφής των ορνιθίων είναι η παραγωγή βρώσιμων αυγών και κρέατος. Για την επίτευξη του πρώτου στόχου εκτρέφονται σμήνη ωοπαραγωγών ορνιθίων, που είναι προϊόντα συστηματικής γενετικής επιλογής και διασταυρώσεων, με ικανότητα παραγωγής μεγάλου αριθμού αυγών. Οι όρνιθες αυτές είναι μικρού σωματικού βάρους (1,7-2,0 kg) και ανήκουν σε δύο τύπους, τον λευκό και τον καστανό. Για την επίτευξη του δεύτερου στόχου εκτρέφονται τα παχυνόμενα ορνιθία κρεατοπαραγωγής. Αυτά

προέρχονται από εκκόλαψη αυγών παραγόμενων από όρνιθες κρεατοπαραγωγικού τύπου. Οι όρνιθες αυτού του τύπου έχουν μεγάλο σωματικό βάρος (περίπου 3.5 kg) και αποτελούν προϊόντα γενετικής επιλογής και διασταυρώσεων.

Στην παρακάτω σελίδα στο Σχήμα 1.1 παρουσιάζονται οι παραγωγικές κατευθύνσεις της ορνιθοτροφίας καθώς και η παραγωγική διαδικασία ανά κατεύθυνση.



**Σχήμα 1.1**

Παραγωγικές κατευθύνσεις της ορνιθοτροφίας  
(Προσαρμογή από Ζέρβας 2004, 283)

Προκειμένου να διατηρηθεί το υψηλό επίπεδο αποδόσεων των ζώων θα πρέπει να διασφαλίζονται άριστες περιβαλλοντικές συνθήκες, κατάλληλες σταβλικές εγκαταστάσεις και η διαχείριση των ζώων να είναι η ενδεδειγμένη. Από τους παράγοντες αυτούς, η διατροφή αποτελεί τον πιο ουσιώδη παράγοντα στη ζωική παραγωγή, γιατί εκτός της υγείας και της παραγωγικότητας που προάγει, αποτελεί το μεγαλύτερο μέρος του κόστους παραγωγής των κτηνοτροφικών προϊόντων. Εξαιτίας αυτού, η επιλογή των ζωοτροφών καθώς και η γνώση της θρεπτικής αξίας τους, πρέπει να βρίσκεται σε συνάρτηση με το συνολικό κόστος προκειμένου αυτό να είναι το ελάχιστο δυνατό. Συνεπώς, σημεία κλειδιά για μία σύγχρονη και ανταγωνιστική επιχείρηση, η οποία παράγει αφενός προϊόντα ποιότητας αφετέρου σέβεται το περιβάλλον, αποτελούν η ισόρροπη και οικονομική διατροφή, η σωστή διαχείριση των ζώων καθώς και οι άριστες συνθήκες εκτροφής (Ζέρβας, 2004).

## **ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2. ΦΛΑΒΟΝΟΕΙΔΗ**

### **2.1 ΙΣΤΟΡΙΚΗ ΑΝΑΔΡΟΜΗ**

Τα φλαβονοειδή αποτελούν μία κατηγορία φαινολικών ενώσεων η οποία είναι ευρύτατα διαδεδομένη στο φυτικό βασίλειο. Ωστόσο, αν και αποτελούσαν μέρος των συστατικών της διατροφής του ανθρώπου μέσω της κατανάλωσης φρούτων, λαχανικών και καρπών, η χρησιμοποίησή τους καθορίστηκε εξαιτίας του γεγονότος ότι αποτελούν έγχρωμες ενώσεις. Επιπλέον, οι άνθρωποι από αρχαιοτάτων χρόνων τα χρησιμοποιούσαν ως χρωστικές. Οι Ρωμαίοι παραδείγματος χάριν, χρησιμοποιούσαν τον κόκκινο χυμό των βατόμουρων προκειμένου να τροποποιήσουν το χρώμα του κρασιού (Τσιμογιάννης, 2008).

Εξαιτίας του ότι ένας αρκετά μεγάλος αριθμός φλαβονοειδών φέρει κίτρινο χρώμα δεν επικράτησε ποτέ στα χρονικά μία συγκεκριμένη φυτική πηγή για την εξαγωγή κίτρινων χρωστικών (Ferreira et al., 2004). Ανάλογα με τη διαθεσιμότητα, υπήρξαν πολλά είδη φυτών που χρησιμοποιήθηκαν ως πηγές κίτρινων χρωστικών στην Ευρώπη, όπως π.χ. τα *Reseda luteola L.*, *Ginista tinctoria L.*, χλωροφόρος η βαφική (*Cotinus coggyria L.*) (Gilbert & Cooke, 2001; Ferreira et al., 2004). Στη Β. Αμερική αντίστοιχες κίτρινες



χρωστικές λαμβάνονταν από το φλοιό της δρυός *Quercus tinctoria*. Ο κίτρινος φλοιός της δρυός, κονιοποιημένος και ακατέργαστος ονομαζόταν «quercitron» ενώ το ίζημα που πρόκυπτε μετά από κατεργασία του με θειικό οξύ αποτελούσε την «δρουοκίτρινη» (flavin). Η βαφική αυτή ύλη πρωτοκυκλοφόρησε το 1775 στις Η.Π.Α. υπό την εμπορική ονομασία «t yellow dye», ως εφεύρεση του Dr. Edward Bancroft (Τσιμογιάννης, 2008).

Το 17<sup>ο</sup> αιώνα πραγματοποιείται η πρώτη επιστημονική αναφορά που αναφέρεται στα φλαβονοειδή. Εκεί, ο Nehemiah Grew σε αναφορές του προς τη Royal Society στο Λονδίνο το 1682 ασχολήθηκε με τις διαφορές της διαλυτότητας των χρωστικών από διάφορα φυτά. Κάποιες από αυτές ήταν διαλυτές σε έλαια, άλλες ήταν διαλυτές στο νερό ενώ ακόμη είχαν διαφορετική συμπεριφορά σε οξέα και βάσεις. Ο Marquart το 1835 χρησιμοποίησε για πρώτη φορά τον όρο «ανθοκυανίνη» για να περιγράψει τις κόκκινες και ιώδεις υδατοδιαλυτές χρωστικές των φυτών τις οποίες θεώρησε ότι παράγονται ύστερα από αφυδάτωση της χλωροφύλλης. Ωστόσο, λίγα χρόνια αργότερα, το 1962 ο Wigand ανακάλυψε ότι οι ανθοκυανίνες δεν παράγονται από τη χλωροφύλλη, αλλά από κάποια άλλη άχρωμη ουσία που ονόμασε «ταννίνη» (tannin), θέτοντας με τον τρόπο αυτό τη βάση για την μελέτη των χρωμογόνων ενώσεων (Bohm, 1998). Γενικά, ως ταννίνες ονομάζονται όλες οι άχρωμες ουσίες οι οποίες είναι ικανές να μετατρέψουν το δέρμα των ζώων σε βύρσα (κατεργασμένο δέρμα) (Bohm 1998a). Η ίδια η λέξη ταννίνη προέρχεται από αρχαία κέλτικη λέξη που σήμαινε δρυς, δέντρο το οποίο αποτελούσε τυπική πηγή δεσικών υλών (Hagerman, 2002; Τσιμογιάννης, 2008).

Οι πρόδρομες ενώσεις αυτές των ανθοκυανινών ονομάστηκαν αργότερα «προανθοκυανίδες» (proanthocyanidins) ή «λευκοανθοκυανιδίνες» (leukoanthocyanidins). Ο Rosenheim το 1920 εισήγαγε το τελευταίο όρο προκειμένου να χαρακτηρίσει ουσίες τις οποίες απομόνωσε από πρώιμα φύλλα αμπέλου και οι οποίες κατεργαζόμενες με οξέα μετατρέπονταν σε ανθοκυανίνες. Παρόλα αυτά, οι Willstatter και οι συνεργάτες τους οδήγησαν με τις μελέτες τους στον οριστικό προσδιορισμό της δομής των ανθοκυανινών (Bohm, 1998). Αξίζει να σημειωθεί, ότι σημαντική προανθοκυανιδίνη αποτελεί η κατεχίνη (catechin), την οποία απομόνωσε ο van Esenbeck το 1832 από το συτπτικό εκχύλισμα (catechu) του *Uncaria gambier* το οποία χρησιμοποιούνταν στη βυρσοδεψία και τη βαφική (Whiting, 2001, Τσιμογιάννης, 2008).

Ο όρος «φλαβόνη» (flavone) εμφανίστηκε πρώτη φορά σε ένα κείμενο των von Konstantecki και Tambor το 1895 (Bohm, 1998). Η ρίζα της λέξης είναι ο λατινικός όρος «flavus» ο οποίος σημαίνει κίτρινος. Επιπρόσθετα, ο von Konstantecki πραγματοποίησε τη σύνθεση της «φισετίνης» (fisetin) το 1904 ενώ ακόμη εξίσου σημαντικά φλαβονοειδή απομονώθηκαν ύστερα όπως η «ταξιφολίνη» (taxifolin), η οποία ταυτοποιήθηκε για πρώτη φορά ως συστατικό του *Distylium racemosum* το 1951 και για το λόγο αυτό ονομάστηκε ως «distylin» (Kondo, 1951; Bohm, 1998a; Τσιμογιάννης, 2008).

Στην επόμενη σελίδα παρουσιάζονται στο Πίνακα 2.1 μερικές φυσικές πηγές φλαβονοειδών.

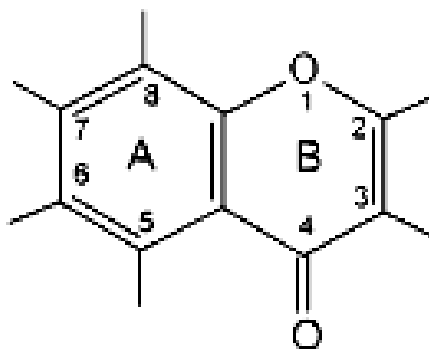
**Πίνακας 2.1:** Μερικές φυσικές πηγές φλαβονοειδών

<b>Φλαβονοειδή</b>	<b>Διαιτητικά προϊόντα και θεραπευτικά φυτά</b>
<b>Φλαβόνες</b>	
Απιγενίνη	<i>Petroselinum sativum, Apium graveolens</i>
<b>Γλυκοζίτες Φλαβονών</b>	
Βαϊκαλίνη	<i>Scutellaria baicalensis</i>
<b>Φλαβονόλες</b>	
Κερσετίνη	<i>Allium cepa, Solanum lycopersicum, Vaccinium macrocarpon Vitis vinifera, Olea europea, Thea sinensis, Crataegus cuneata, Glycirriza glabra, Pueraria thumbergiana, Moruus alba</i>
Καμφερόλη	<i>Cichorea endivia, Vitis vinifera, Thea sinensis, Raphanus sativus</i>
Μυρικετίνη	<i>Vaccinium macrocarpon, Thea sinensis, Vitis vinifera</i>
<b>Γλυκοζίτες Φλαβονολών</b>	
Ρουτίνη	<i>Sophora japonica, Fagopyrum esculentum, Eucalyptus macrohyncha, Stellaria media</i>
<b>Φλαβάνες</b>	
Κατεχίνες	<i>Thea sinensis, Vitis vinifera</i>
<b>Φλαβανόνες</b>	
Ναρινγίνη	<i>Eucalyptus globulus</i>
<b>Φλαβανονόλες</b>	
Ταξιφολίνη	<i>Citrus fruits sp. (aurantium, limon, κ.α.)</i>
<b>Ισοφλαβόνες</b>	
Γενιστεΐνη	<i>Soya hispida, Stellaria media, Pueraria lobata, Sophora japonica</i>

Πηγή: Di Carlo et al., (1999)

## 2.2 ΔΟΜΗ ΚΑΙ ΟΝΟΜΑΤΟΛΟΓΙΑ ΦΛΑΒΟΝΟΕΙΔΩΝ

Όπως αναφέραμε και παραπάνω ο όρος φλαβονοειδή προέρχεται από τις χρωστικές των φυτών οι περισσότερες από τις οποίες προέρχονται από τη βενζο-γ-πυρόνη, συνώνυμο της χρωμόνης (Μόσχου, 2010).

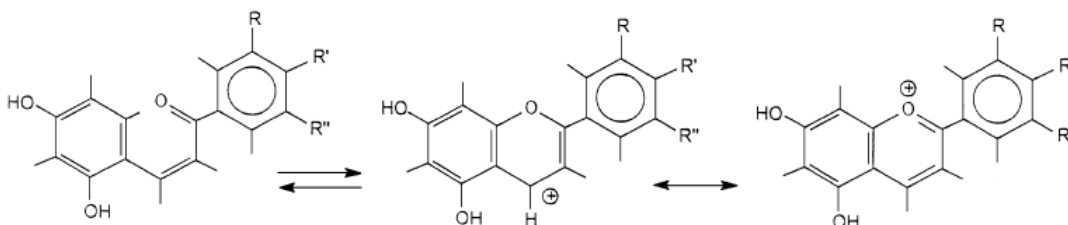


**Εικόνα 2.2.1**

Δομή της βενζο-γ-πυρόνης  
(Μόσχου, 2010)

Τα φλαβονοειδή κατηγοριοποιούνται στις παρακάτω κατηγορίες:

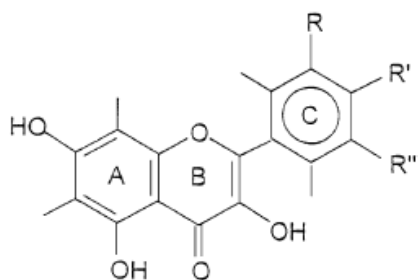
### 1. Στις ανθοκυανίδες, γλυκοζίτες των ανθοκυανιδών



**Εικόνα 2.2.2**

Δομή, ταυτοποίηση και μεσομέρεια των  
ανθοκυανινών (Μόσχου, 2010)

2. Στις φλαβονόλες, 2-φαινύλ-3-υδροξυ-χρωμόνες



**Εικόνα 2.2.3**

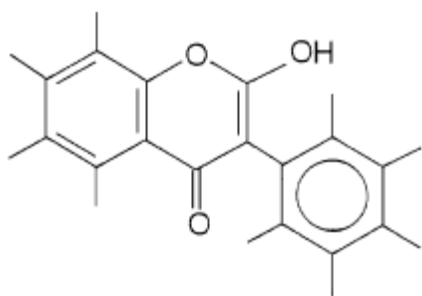
Δομή των φλαβονολών. Παραδείγματα:

καμφερόλη, R = H· R' = OH·

κουερκετίνη, R = OH· R' = OH.

(Μόσχου, 2010)

3. Στις ισο-φλαβόνες, 3-φαινύλ-2-υδροξυ-χρωμόνες

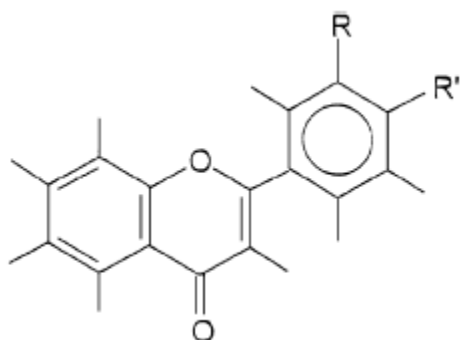


**Εικόνα 2.2.4**

Δομή των ισοφλαβονολών

(Μόσχου, 2010)

4. Στις φλαβόνες, 2-φαινύλ-χρωμόνες

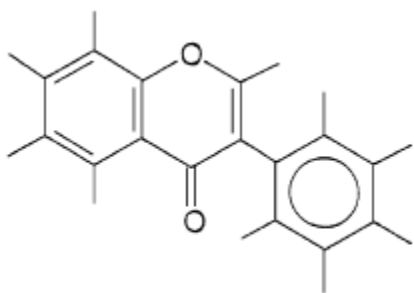


**Εικόνα 2.2.5**

Δομή των φλαβόνων.

(Μόσχου, 2010)

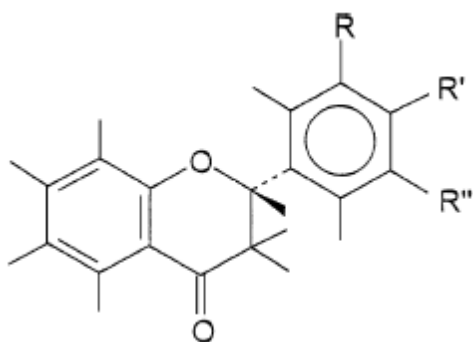
5. Στις ισο-φλαβόνες, 3-φαινύλ-χρωμόνες



**Εικόνα 2.2.6**

Δομή των ισοφλαβόνων.  
(Μόσχου, 2010)

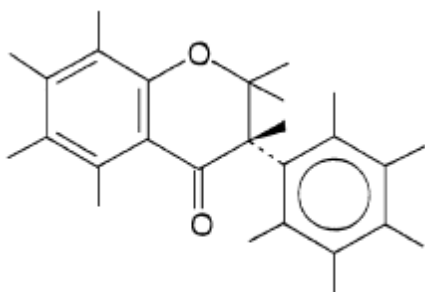
6. Στις φλαβάνες, 2-φαινύλ-3-διϋδρο-χρωμόνες, 2-φαινύλ-φλαβανόνες



**Εικόνα 2.2.7**

Δομή των φλαβανόνων.  
(Μόσχου, 2010)

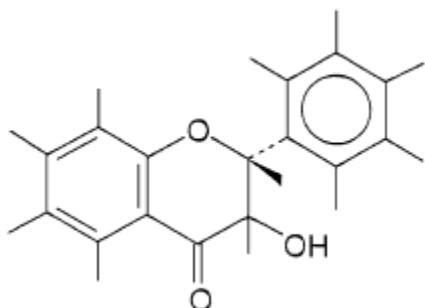
7. Στις ισοφλαβονόνες, 3-φαινύλ-2-διϋδρο-χρωμόνες



**Εικόνα 2.2.8**

Δομή των ισοφλαβανονών  
(Μόσχου, 2010)

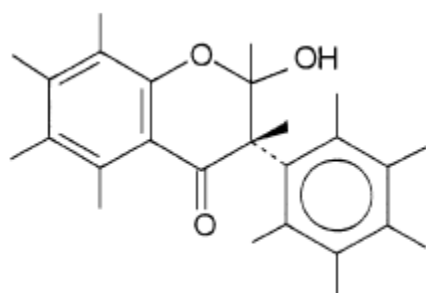
8. Στις φλαβανόλες, 2-φαινύλ-3-υδρο-3-υδροξυ-χρωμόνες (κατεχίνες)



**Εικόνα 2.2.9**

Δομή των φλαβανολών  
(Μόσχου, 2010)

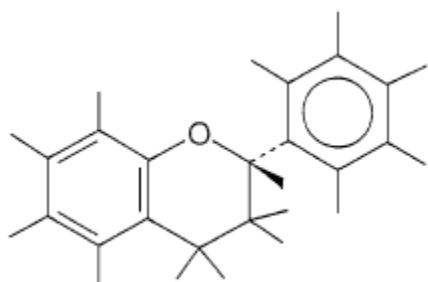
9. Στις ισό-φλαβανόλες, 2-υδρο-2-υδροξύ-3-φαινύλ-χρωμόνες



**Εικόνα 2.2.10**

Δομή των ισοφλαβανόλων  
(Μόσχου, 2010)

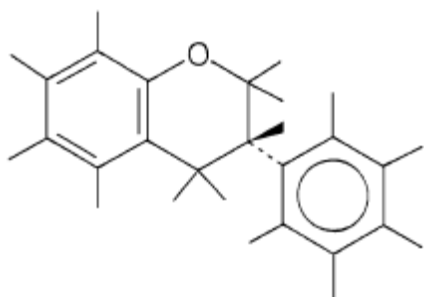
10. Στις φλαβάνες, 2-φαινύλ-δι-υδρο-βενζο-γ-πυράνες



**Εικόνα 2.2.11**

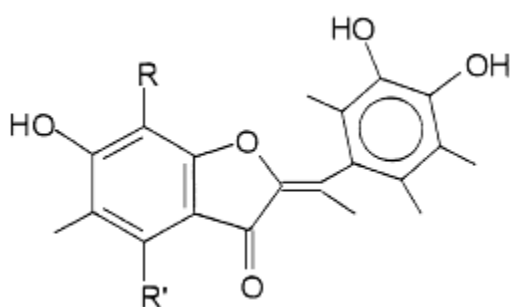
Δομή των φλαβάνων  
(Μόσχου, 2010)

11. Στις ισό-φλαβάνες, 3-φαινύλ-δι-υδρο-γ-βενζο-πυράνες



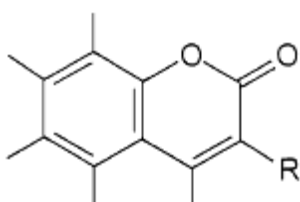
**Εικόνα 2.2.12**  
Δομή των ισοφλαβανών  
(Μόσχου, 2010)

12. Στις σουρόνες, βενζό-φουρόνες



**Εικόνα 2.2.13**  
Δομή των σουρόνων.  
(Μόσχου, 2010)

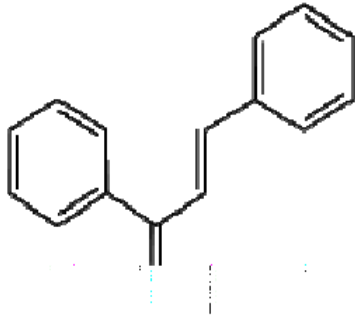
13. Στις κουμαρίνες, παράγωγα της βενζό-γ-πυρόνης



**Εικόνα 2.2.14**  
Δομή των κουμαρινών  
(Μόσχου, 2010)



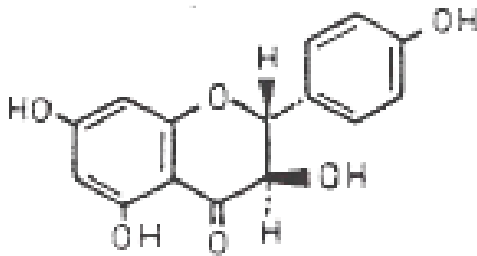
14. Στις χαλκόνες 1,3 διφαινυλ-2-προπεν-1-όνη



**Εικόνα 2.2.15**

Δομή των χαλκονών  
(Μόσχου, 2010)

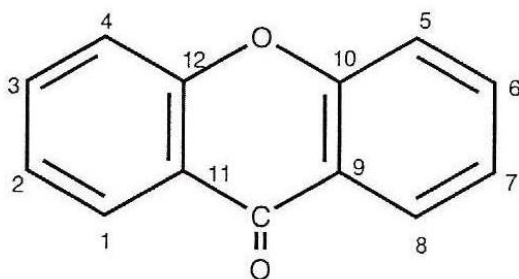
15. Στις διϋδροχαλκόνες (παράγωγα της 2-φαινυλοχρωμανόνης)



**Εικόνα 2.2.16**

Δομή των διϋδροχαλκονών  
(Μόσχου, 2010)

16. Στις ξανθόνες (παράγωγα της 2-φαινυλοχρωμανόνης)



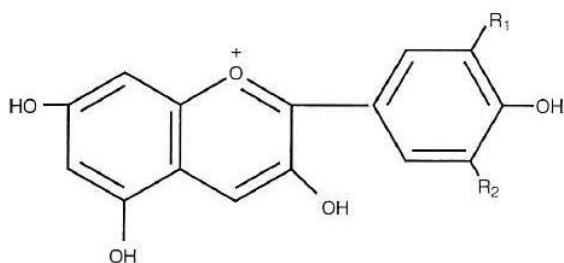
**Εικόνα 2.2.17**

Δομή των ξανθονών  
(Μόσχου, 2010)

## 2.2.1 Χαρακτηριστικά φλαβονοειδών

### Ανθοκυάνες

Η ονομασία ανθοκυάνη χρησιμοποιείται σε ενώσεις οι οποίες είναι υδατοδιαλυτές ενώ χαρακτηρίζονται κυρίως από κόκκινο, μωβ, μπλε ή βιολετί χρώμα. Τις ανθοκυάνες τις συναντούμε σε όλα τα αγγειόσπερμα ενώ προέρχονται από το κατιόν 2-φαιτυλοβενζοπυρίλιο, κοινός ως κατιόν φλαβίλιο. Γενικά, χαρακτηρίζουν το χρώμα των ανθέων και των καρπών ενώ ακόμη έχουν εντοπιστεί σε βράκτια φύλλα και σε ρίζες (Μόσχου, 2010).



**Εικόνα 2.2.18**  
Δομή ανθοκυανινών  
(Μόσχου, 2010)

Από βιολογικές μελέτες που έχουν πραγματοποιηθεί έχει δείχθει ότι οι ανθοκυάνες μειώνουν την διαπερατότητα καθώς και την ευθραυστότητα των τριχοειδών αγγείων. Πιθανολογείται ότι η δράση αυτή οφείλεται στο δεσμό που δημιουργούν αυτές με το κολλαγόνο των τοιχωμάτων των τριχοειδών αιμοφόρων αγγείων. Ως εκ τούτου, γίνεται παύση της δράσης των πρωτεολυτικών ενζύμων ελασάση και κολλαγενάση. Η ιδιότητα αυτή των ανθοκυανών, έχει ως αποτέλεσμα τη χρήση τους στη θεραπεία συμπτωμάτων, όπως της φλεβικής ανεπάρκειας και για την προστασία των τριχοειδών αιμοφόρων αγγείων από την ευθραυστότητά τους (Μόσχου, 2010).

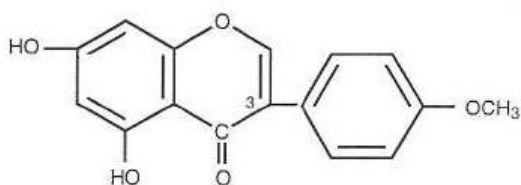
### Χαλκόνες, ουρόνες, διϋδροχαλκόνες

Χαρακτηρίζονται από κίτρινο χρώμα ενώ σε αλκαλικό περιβάλλον μετατρέπονται σε κόκκινες. Τις συναντούμε κυρίως στα άνθη των φυτών. Οι διϋδροχαλκόνες είναι υδρογονωμένα παράγωγα των χαλκονών και είναι άχρωμες. Οι χαλκόνες

χαρακτηρίζονται από την παρουσία μιας γέφυρας με τρία άτομα άνθρακος με ένα ακόρεστο (α,β) δεσμό, οι δε αυρόνες από την παρουσία του δακτυλίου της βενζιλιδίνης. Απαντούν π.χ. στα δέντρα του είδους *Prunus* όπως (η αμυγδαλιά, η βερικοκιά, η κερασιά), στο πιπέρι (*Piper methysticum*), στο λυκίσκο και άλλα φυτά (Μόσχου, 2010).

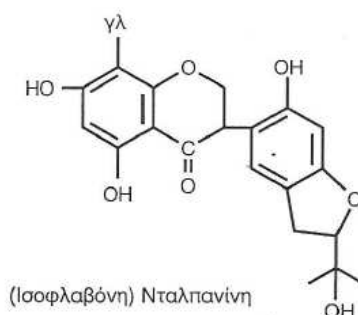
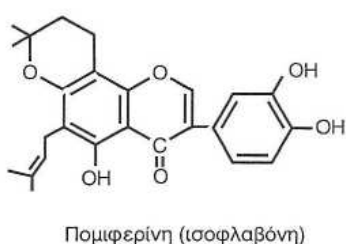
### Ισοφλαβόνες – Ισοφλαβανόλες

Μία διαφορά τους από τις υπόλοιπες κατηγορίες φλαβονοειδών είναι ότι είναι 3-φαιτυλοχρωμόνες Π.χ. η βιοχανίνη.



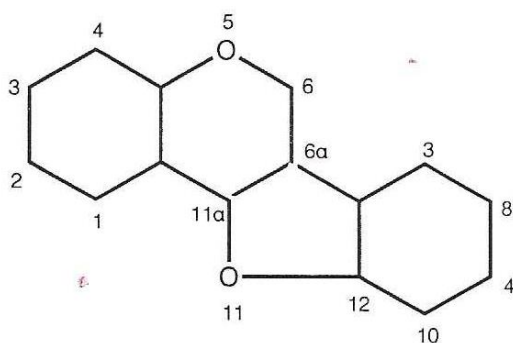
**Εικόνα 2.2.19**  
Δομή βιοχανίνη  
(Μόσχου, 2010)

Γενικότερα, με σκελετό ισοφλαβόνη είναι γνωστές περίπου 600 ενώσεις ενώ ακόμη μπορούν να διαιρεθούν σε 12 τάξεις ανάλογα με τα επίπεδα οξειδωσης και το είδος του δακτυλίου που μπορεί να είναι ενωμένος στο βασικό σκελετό της ισοφλαβόνης.



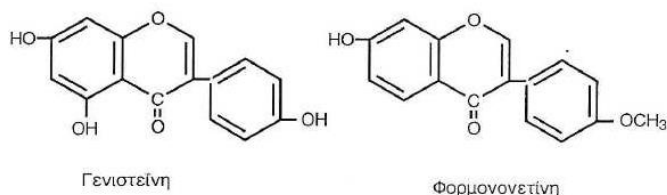
**Εικόνα 2.2.20**  
Ισοφλαβόνες  
(Μόσχου, 2010)

Οι περοκαρπάνες που έχουν τέσσερεις δακτυλίους είναι μια από τις μεγαλύτερες τάξεις των ισοφλαβονών και έχουν τον γενικό τύπο που παρουσιάζεται παρακάτω στην Εικόνα 2.2.21.



**Εικόνα 2.2.21**  
Γενικός τύπος πτεροκαρπανών  
(Μόσχου, 2010)

Χαρακτηριστικό των ενώσεων αυτών είναι η ισχυρή αντιμυκητιακή και αντιμικροβιακή δράση. Επιπλέον, από έρευνες που έχουν διεξαχθεί, όπως αναφέρει η Μόσχου (2010), πρόβατα που βόσκουν σε λιβάδια που είναι πλούσια στο φυτό *Trifolium sulterraneum*, για μακρά περίοδο, παρουσιάζουν συμπτώματα δράσης οιστρογόνων. Δύο ισοφλαβόνες, η γενιστεΐνη και φορμονονεΐνη, απομονώθηκαν από το ως άνω φυτό.



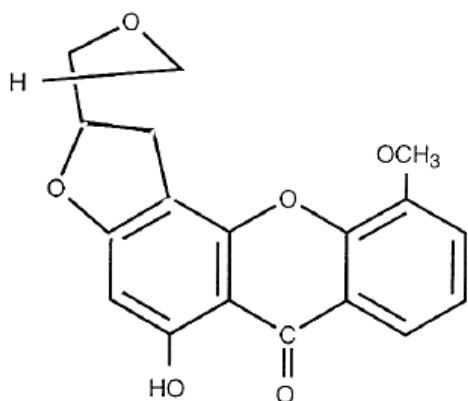
**Εικόνα 2.2.22**  
Δύο ισοφλαβόνες: η γενιστεΐνη και  
φορμονονεΐνη  
(Μόσχου, 2010)

Απαντούν είτε ως άγλυκα είτε σε μορφή γλυκοσιδών. Σπουδαιότερες από αυτές είναι η απιγενίνη, η λουτεολίνη και οι γλυκοσίδες τους. Οι φυσικές φλαβόνες είναι συνήθως ολιγοϋδροξυλιωμένα παράγωγα. Ο βαθμός κυμαίνεται από 0 έως 7. Ο βαθμός υδροξυλίωσης μπορεί να έχει βιογενετική σημασία διότι σε χαμηλό βαθμό υδροξυλίωσης επικρατούν οι φλαβόνες (3-θέση ελεύθερη), ενώ οι πολυϋδροξυλιωμένες συνήθως είναι φλαβονόλες (με OH στη θέση C-3). Σπουδαιότερες είναι: κουερκετίνη, καμφερόλη, μυρικετίνη, ισοραμνετίνη και οι γλυκοσίδες τους. Η ύπαρξη ή όχι OH στη θέση C-3 έχει σημαντική βιοσυνθετική, φυσιολογική, φαρμακολογική και αναλυτική σημασία. (Μόσχου, 2010).

### Ξανθόνες

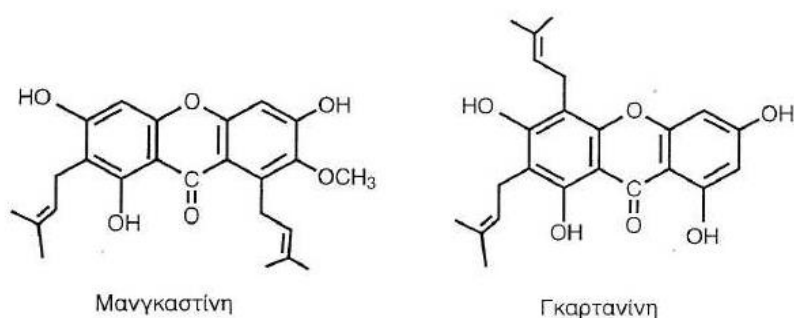
Η διαφορά των ενώσεων αυτών από τις φλαβόνες και φλαβονόλες είναι ότι ο φαινολικός δακτύλιος είναι ενωμένος με το βενζοπυράνιο στη θέση 9,10.

Απαντούν σε περιορισμένο αριθμό οικογενειών όπως στις Gentianaceae, Polygonaceae, Leguminosae, Phamnaceae. Έχουν βρεθεί επίσης σε φτέρες και σε μερικούς μύκητες. Οι ξανθόνες παρουσιάζουν κυτταροτοξικές και αντικαρκινικές ιδιότητες. Από το φυτό *Psorospermum tetrifugum* (Cruciferae), φυτό της τροπικής Αφρικής, απομονώθηκε η ξανθόνη ψωροσπερίνη με αντιλευχαιμικές ιδιότητες *in vivo* στην P388 λεμφοκυτταρική λευχαιμία στα ποντίκια (Μόσχου, 2010) .



**Εικόνα 2.2.23**  
Δομή της ξανθόνης ψωροσπερίνης  
(Μόσχου, 2010)

Επιπρόσθετα, έχουν βρεθεί διάφοροι μικροοργανισμοί που παράγουν ξανθόνες, οι οποίες έχουν αντιμικροβιακή δράση. Παρόμοια δράση φαίνεται να παρουσιάζουν οι ξανθόνες που απομονώθηκαν από τα φυτά *Gareinia mangostana* και *Callophyllum inophyllum* (Gruciferae) (Μόσχου, 2010).



Μανγκαστίνη

Γκάρτανίνη

**Εικόνα 2.2.24**  
Ξανθόνες που  
απομονώθηκαν από τα  
φυτά *Gareinia mangostana*  
και  
*Callophyllum inophyllum*  
(Μόσχου, 2010)

## 2.2.2. Μέθοδοι παραλαβής φλαβονοειδών

Σκοπός της παραλαβής των φλαβονοειδών είναι η απελευθέρωση τους από τους ιστούς των φυτών καθώς και η συλλογή τους. Η διεργασία αυτή μπορεί να είναι εκχύλιση στερεάς φάσης, εκχύλιση με διαλύτες ή εκχύλιση με υπερκρίσιμο ρευστό. Ωστόσο, πριν τη δειγματοληψία το δείγμα υφίσταται συνήθως προκατεργασία (Τσιμογιάννης, 2008).

Στις τεχνικές της εκχύλισης με διαλυτές καθώς και στην εκχύλιση με υπερκρίσιμο ρευστό η προκατεργασία περιλαμβάνει την ξήρανση, την άλεση και τη δημιουργία ομοιογενών σωματιδίων φυτικού υλικού. Στόχος είναι η αύξηση της επιφάνειας επαφής με το διαλύτη, έτσι ώστε να αυξηθεί η απόδοση της εκχύλισης. Σε περίπτωση που έχουμε δείγματα με αιθέρια έλαια ή με υψηλό φορτίο σε λιπαρά, πραγματοποιείται προκαταρκτική εκχύλιση με μη πολικό διαλύτη για την απομάκρυνσή τους. Η εκχύλιση στερεάς φάσης χρησιμοποιείται στην ανάλυση των φλαβονοειδών και εφαρμόζεται σε δείγματα τα οποία είναι σε υγρή φάση. Κατά την προκατεργασία το δείγμα υφίσταται φυγοκέντρηση ή διήθηση για την απομάκρυνση των αιωρούμενων σωματιδίων ενώ σε κάποιες περιπτώσεις εφαρμόζεται και συμπύκνωση. Σε υδροαλκοολικά διαλύματα η αιθανόλη απομακρύνεται με εξάτμιση υπό κενό (Τσιμογιάννης, 2008).

Επιπρόσθετα, ο περισσότερο πολικός οξικός αιθυλεστέρας (MeCOOEt) ( $\epsilon=6,02$ ) σε πειράματα των Vekiarí et al. (1993a) σε φύλλα ρίγανης αλλά και σε τμήματα του υπέργιου τμήματος του φυτού σιδερίτη, έχει χρησιμοποιηθεί προκειμένου να παραληφθούν φλαβονοειδή. Επιπλέον, οι Branco et al. (2001) σε πείραμα που διεξήγαγαν απομόνωσαν λιπόφιλες ισοπρενοειδείς φλαβονόλες χρησιμοποιώντας MeCOOEt από το είδος *Vellozia graminifolia*. Ακόμη οι de Pascual-Teresa et al. (1998) σε πείραμα που πραγματοποίησαν χρησιμοποίησαν μεθανόλη με οξικό αιθυλεστέρα σε ανώριμους καρπούς αμυγδάλου (*Prunus amygdalus*). Η μεθανόλη χρησιμοποιήθηκε για την εκχύλιση του ολικού φαινολικού κλάσματος από τα αμύγδαλα ενώ στη συνέχεια με προσθήκη νερού, απομάκρυνσης της μεθανόλης το υδατικό αιώρημα εκχυλίστηκε με MeCOOEt. Το τελικό κλάσματα περιείχε κυρίως μονομερείς και ολιγομερείς φλαβαν-3-όλες (Τσιμογιάννης, 2008).

Τέλος, ένας ακόμη διαλύτης χαμηλής τοξικότητας με υψηλότερη όμως διηλεκτρική σταθερά ( $\epsilon=20.70$ ) είναι η ακετόνη. Η ακετόνη έχει χρησιμοποιηθεί με επιτυχία σε πείραμα των Garcia-Viguera et al. (1998) για την εκχύλιση ανθοκυανινών (γλυκοζίτες ανθοκυανιδινών) από μαρμελάδα και από σμέουρα (raspberries).

## 2.2 ΦΑΡΜΟΚΙΝΗΤΙΚΗ

Τα φλαβονοειδή μπορεί να διαχωριστούν σε εκείνα που σχετίζονται με τη θρέψη και σε εκείνα τα οποία παρουσιάζουν θεραπευτικές ιδιότητες. Τα μεν πρώτα, έχουν το χαρακτηριστικό ότι απορροφώνται κατά μήκος του γαστρεντερικού σωλήνα ενώ εκείνα που διαθέτουν θεραπευτικές ιδιότητες χορηγούνται απευθείας στο μολυσμένο ιστό (Hollman & Katan, 1997; Hollman & Katan, 1998; Bourne et al., 1999; Di Carlo et al., 1999; Chen et al., 2005; Chen et al., 2006; Bock et al., 2008). Από μελέτες σε ζώα, διαφαίνεται ότι τα φλαβονοειδή στα τρόφιμα θα πρέπει να θεωρούνται ως μη απορροφήσιμα διότι συνδέονται με σάκχαρα, όπως οι β-γλυκοζίτες με εξαίρεση τις κατεχίνες. Ωστόσο, στην πραγματικότητα μόνο τα ελεύθερα φλαβονοειδή, δηλαδή χωρίς ένα μόριο σακχάρου (λεγόμενες αγλυκόνες), πιστεύεται ότι είναι σε θέση να διεισδύσουν από τα εντερικά τοιχώματα. Η υδρόλυση του β-γλυκοσιδικού δεσμού συμβαίνει μόνο στο παχύ έντερο από μικροοργανισμούς αλλά ταυτόχρονα υποβαθμίζεται η διαιτητική αξία των φλαβονοειδών (Di Carlo et al., 1999). Περίπου το 15% της αγλυκόνης των φλαβονοειδών απορροφάται από τις μικέλλες της χολής και μέσω των επιθηλιακών κυττάρων περνάει στην λέμφο (Spence et al., 1999). Σε πείραμα που πραγματοποίησαν οι Hollman et al. (1999) κατέληξαν ότι οι γλυκοζίτες της κουερκετίνης απορροφώνται καλύτερα σε σχέση με την καθαρή αγλυκόνη της.

Τα προϊόντα του μεταβολισμού των φλαβονοειδών αποβάλλονται είτε με τα κόπρανα είτε με τα ούρα (Choudhury et al., 1999). Επιπλέον, τα φλαβονοειδή μεταφέρονται με τη λέμφο όπου και εισέρχονται στην κεντρική αρτηρία κοντά στο ήπαρ (Μόσχου, 2010). Ακόμη, σημαντικό ρόλο στην αντιοξειδωτική δράση των φλαβονοειδών διαδραματίζει ο μεταβολισμός τους από το πεπτικό σύστημα. Το πιο κοινό στάδιο του μεταβολισμού των φλαβονοειδών αποτελεί η σύζευξη με το γλυκουρονικό οξύ ή με θειικά άλατα (Bourne et al., 1999). Σύμφωνα με τους Bourne et al. (1999), από έναν αριθμό μελετών

έχει υποτεθεί ότι τα φλαβονοειδή δεν θα εισέλθουν στην κυκλοφορία του αίματος με την μορφή γλυκοζιτών ή με τη μορφή αγλυκόνων αλλά θα διασπαστούν πρώτα από τα ένζυμα του πεπτικού συστήματος, παράγοντας προϊόντα τα οποία δεν έχουν αντιοξειδωτική δράση. Ακόμη, σύμφωνα με τους ίδιους ερευνητές έχει προταθεί ότι οι γλυκοσιδικοί δεσμοί ενδέχεται να μην αντέχουν το όξινο pH του στομάχου. Σύμφωνα με τη Μόσχου (2010), τα ηπατοκύτταρα μεταφέρουν τα φλαβονοειδή στη συσκευή Golgi τους, ίσως και στα υπεροξυσωμάτια, όπου μέσω της οξειδωσης αποδομούνται. Ωστόσο, οξειδωτική αποδόμηση των αγλυκονών των φλαβονοειδών υφίσταται και στο λεπτό έντερο, αφού η ύπαρξη ορισμένων ενζύμων στο τμήμα αυτό του εντερικού σωλήνα βοηθάει στην διάνοιξη του σκελετού του άνθρακα των φλαβονοειδών (Winter et al., 1989).

Αν και δεν υπάρχουν σαφή ακριβή δεδομένα, έχει υπολογιστεί ότι ο χρόνος ημιζωής ενός φλαβονοειδούς στον οργανισμό είναι περίπου μία με δύο ώρες αλλά εξαιτίας του ότι υπάρχουν ελάχιστες πληροφορίες σχετικές με το ρυθμό μεταφοράς των φλαβονοειδών καθώς και με τα προϊόντα της αποδόμησής τους, η πρόταση ενός ολοκληρωμένου και ρεαλιστικού μοντέλου θα ήταν ελλιπής (Honcha et al., 1995).

Επιπλέον, αξίζει να σημειωθεί ότι τα φλαβονοειδή που μεταβολίζονται από την εντερική μικροχλωρίδα μετατρέπονται σε ορμονικές ενώσεις με ασθενή οιστρογονική δράση. Επιπρόσθετα, οι μικροοργανισμοί που βρίσκονται στο κόλον τμήμα του παχέος εντέρου μπορούν να υδρολύσουν τα γλυκουρονίδια και τα θειικά άλατα τα οποία στη συνέχεια επιτρέπουν την απορρόφηση των απελευθερωμένων αγλυκονών (Di Carlo et al., 1999).

## **2.3 ΒΙΟΛΟΓΙΚΕΣ ΔΡΑΣΕΙΣ ΤΩΝ ΦΛΑΒΟΝΟΕΙΔΩΝ**

Τα φλαβονοειδή εμφανίστηκαν στη φύση, σύμφωνα με ορισμένες εκτιμήσεις πριν από τουλάχιστον ένα δισεκατομμύριο χρόνια και εξαιτίας των ιδιαίτερων φυσικοχημικών ιδιοτήτων τους, η φύση με τις εξελικτικές διαδικασίες της ευνόησε τη συνέχιση της σύνθεσή τους από τα φυτά. Οι ζωικοί οργανισμοί μέσω της τροφικής αλυσίδας λαμβάνουν τα φλαβονοειδή, γεγονός που ίσως αποτελεί το βασικό λόγο για το μεγάλο εύρος των βιολογικών δράσεων στις οποίες συμμετέχουν. Υπολογίζεται ότι στις



δυτικού τύπου κοινωνίες η μέση πρόσληψη φλαβονοειδών κατ' άτομο από τις τροφές φτάνει το 1 g/ημέρα (Middleton & Kandaswami, 1994; Madhavi & Salunke, 1996; Di Carlo et al., 1999; Mojzisoa & Kuchta, 2001; Τσιμογιάννης, 2008).

Μερικές από τις ιδιότητες που είναι γνωστό ότι φέρουν τα φλαβονοειδή είναι αντιοξειδωτικές, αντιφλεγμονώδεις, αντιτοξικές, αντικαρκινικές και αντιϊκές ενώ υπό ορισμένες συνθήκες επηρεάζουν το μεταβολισμό των θηλαστικών. Στο παρελθόν υπήρχε η ιδέα ότι ένα μίγμα φλαβονοειδών που ονομαζόταν «κιτρίνη» (citrin, εριοδικτυόλη-εσπεριδίνη) έφερε βιταμινική δράση. Έτσι η «κιτρίνη» ονομάστηκε «βιταμίνη Ρ», όρος που απέδιδε την ιδιότητά της να μειώνει τη διαπερατότητα των τροχοειδών αιμοφόρων αγγείων και έτσι να μειώνει την ευθραυστότητά τους. Με τον τρόπο αυτό παράτεινε τη διάρκεια ζωής ετοιμοθάνατων σκορβουτικών ινδικών χοιριδίων, περιορίζοντας τα συμπτώματα έλλειψης της βιταμίνης C. Ωστόσο, σήμερα, έχει διαπιστωθεί ότι η κιτρίνη δεν πληροί τις προϋποθέσεις για να χαρακτηριστεί ως βιταμίνη (Garg et al., 2001; Nijveldt et al., 2001; Τσιμογιάννης, 2008).

Σε πολλές περιπτώσεις, η βιολογική δράση των φλαβονοειδών οφείλεται στο ότι διάφορα μέλη τους συνιστούν αποτελεσματικούς αναστολείς ή ενεργοποιητές συγκεκριμένων ενζύμων τα οποία σχετίζονται άμεσα με την προώθηση ή παρεμπόδιση ασθενειών. Για παράδειγμα το ένζυμο ρεδοκτάση της αλδόζης (aldose reductase) εμπλέκεται στην παθογένεση του καταρράκτη σε διαβητικά και γαλακτοζαιμικά άτομα, καταλύοντας την αναγωγή της γλυκόζης και γαλακτόζης στις αντίστοιχες πολυόλες τους, οι οποίες συσσωρεύονται στους φακούς των ματιών (Middleton & Kandaswami, 1994; Τσιμογιάννης, 2008).

Η αναστολή της χημικής καρκινογένεσης αποτελεί μία από τις σημαντικότερες βιολογικές δράσεις των φλαβονοειδών με ενζυμική επίδραση. Τα περισσότερα χημικά καρκινογόνα, όπως οι πολυαρωματικοί υδρογονάνθρακες (poly aromatic hydrocarbons, PAH), απαιτούν μεταβολική ενεργοποίηση προς δραστικά έναντι του DNA ενδιάμεσα. Τα φλαβονοειδή ενδέχεται να δρουν κατά τρεις τρόπους είτε παρεμποδίζοντας την ενεργοποίηση της καρκινογόνου ουσίας προς τις ενεργές μορφές της, είτε ενεργοποιώντας ένζυμα που συμβάλλουν στην διάσπαση της καρκινογόνου ουσίας, είτε τέλος σχηματίζοντας δεσμούς με τις ενεργές μορφές των καρκινογόνων ουσιών, εμποδίζοντας με τον τρόπο αυτό την περαιτέρω αλληλεπίδρασή τους με κρίσιμους κυτταρικούς στόχους όπως το DNA, το RNA και τις

διάφορες πρωτεΐνες των κυττάρων (Middleton & Kandaswami, 1994; Τσιμογιάννης, 2008).

Στην παρακάτω σελίδα παρουσιάζεται στο Πίνακα 2.2 μερικές από τις βιολογικές δράσεις των φλαβονοειδών.

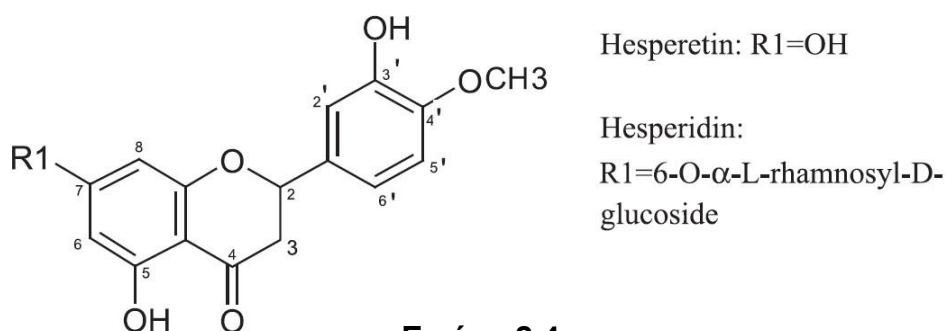
**Πίνακας 2.2:** Βιολογικές δράσεις των φλαβονοειδών

<b>Βιολογική Δράση</b>	<b>Μελέτη</b>
<b>Αντιφλεγμονώδης</b>	Di Carlo et al., 1999; Guardia et al., 2001; Nijveldt et al., 2001; Narayana et al., 2001; Tripoli et al., 2007; Vauzour et al., 2012
<b>Αντικαρκινική</b>	Di Carlo et al., 1999; Nijveldt et al., 2001; Narayana et al., 2001; Le Marchand, 2002; Tripoli et al., 2007
<b>Αντιϊκή</b>	Veckenstedt & Pusztai, 1981; Nagai et al., 1994; Aruoma et al., 1996; Kujumgiev et al., 1999; Nijveldt et al., 2001; Yin et al., 2014
<b>Αντιοξειδωτική</b>	Husain et al., 1987; Yuting et al., 1990; Saija et al., 1994 ; Cook & Samman, 1996; Ohshima et al., 1998; Cao et al., 1999; Narayana et al., 2001; Williams et al., 2004 ; Masella et al., 2005; Watjen et al., 2005; Ignarro et al., 2006; Tripoli et al., 2007; Pourmorad et al., 2006; Galeano et al., 2010

## 2.4 ΕΣΠΕΡΙΔΙΝΗ

Ανακαλύφθηκε το 1827 από τον Lebreton αλλά όχι σε καθαρή μορφή και έκτοτε υπάρχει σημαντική έρευνα γύρω από αυτή (Garg et al., 2001). Η εσπεριδίνη αποτελεί ένα από τα πιο σημαντικά φλαβονοειδή. Έχει χαμηλό μοριακό βάρος (610,57 Da) και χημικό τύπο  $C_{28}H_{34}O_{15}$  ενώ ακόμη, ανήκει στην ομάδα των φλαβονονών. Χημικά αποτελείται από την αγλυκόνη (έλλειψη μονάδων σακχάρου), εσπεριτίνη και τη γλυκοζιλιωμένη μορφή της την εσπεριδίνη. Είναι γενικά άοσμη και άγευστη (Garg et al., 2001).

Στη παρακάτω Εικόνα 2.4 παρουσιάζεται η χημική δομή της εσπεριδίνης



**Εικόνα 2.4**

Χημική δομή της εσπεριδίνης  
(Erlund, 2004)

### 2.4.1 Πηγές της εσπεριδίνης

Η εσπεριδίνη αποτελεί το κυρίαρχο φλαβονοειδές το οποίο ανευρίσκεται στα εσπεριδοειδή φρούτα, κυρίως στο χυμό του πορτοκαλιού (σε ανώριμους καρπούς αντιπροσωπεύει το 14% του νωπού βάρους του καρπού) και του λεμονιού ενώ η συγκέντρωσή της σε αυτούς αυξάνεται με την αύξηση του χρόνου αποθήκευσης (Barthe et al., 1988; Garg et al., 2001). Η φλούδα και τα μεμβρανώδη τμήματα των φρούτων αυτών έχουν την υψηλότερη συγκέντρωση εσπεριδίνης και συνεπώς στύψιμο με το χέρι δίδει χυμούς με μη ανιχνεύσιμη συγκέντρωση εσπεριδίνης. Ωστόσο, από την άλλη πλευρά, οι εμπορικοί χυμοί είναι πλούσιοι σε εσπεριδίνη διότι η βιομηχανική επεξεργασία των χυμών αυτών εμπλουτίζει τους χυμούς αυτούς με τμήματα από τη φλούδα των φρούτων αυτών. Σύμφωνα με τον κώδικα ορθής πρακτικής και αξιολόγησης της ποιότητας και της γνησιότητας των χυμών που προέρχονται από φρούτα και λαχανικά και ο οποίος έχει δημοσιευτεί από την AIJN - European Fruit Juice Association, θα πρέπει οι χυμοί των εσπεριδοειδών με βάση τα πορτοκάλια, λεμόνια και γκρέιπφρουτ να περιέχουν 250-700 mg/L εσπεριδίνης (Kuntic et al., 2014).

## 2.4.2 Μεταβολισμός

Προκειμένου να μελετηθεί η απορρόφηση της εσπεριδίνης σε πείραμα των Ameer et al., 2006 χορηγήθηκε από το στόμα σε υγιείς εθελοντές άντρες ηλικίας 25 ετών, 500mg εσπεριδίνης σε νερό και ισοδύναμη ποσότητα χυμού από γκρέιπφρουτ και πορτοκάλια. Η εσπεριδίνη απορροφήθηκε από τον γαστρεντερικό σωλήνα αλλά η συγκέντρωση της στα ούρα αποδεικνύει μικρή βιοδιαθεσιμότητα (<25%). Η αγλυκόνη, εσπεριτίνη, ανιχνεύθηκε τόσο στα ούρα όσο και στο αίμα. Τα απορροφημένα φλαβονοειδή των υποπροϊόντων εσπεριδοειδών πιστεύεται ότι υφίστανται γλυκουρονίδωση πριν την απέκκρισή τους με τα ούρα.

Σε αντίστοιχο πείραμα των Manach et al. (2003) χορηγήθηκε σε πέντε υγιείς εθελοντές εμπορικό σκεύασμα χυμού πορτοκαλιού το οποίο περιείχε 444 mg/L εσπεριδίνης και 96,4 mg ναριρουτίνης. Η εσπεριδίνη απορροφήθηκε από τον εντερικό σωλήνα χωρίς καμία αλλαγή ως γλυκοζιδάση. Ωστόσο, στη μορφή της αγλυκόνης, η εσπεριτίνη εμφανίστηκε στο πλάσμα του αίματος 3 ώρες μετά τη πέψη, φτάνοντας ένα μέγιστο μεταξύ των 5 και 7 ωρών. Επιπλέον, η απέκκριση με τα ούρα για την εσπεριδίνη ήταν σχεδόν πλήρης 24 ώρες μετά την κατανάλωση του χυμού από τη χορηγούμενη δόση.

Επιπλέον, σε πειράματα που πραγματοποιήθηκαν από τους Booth et al., 1958 όπως αναφέρουν οι Garg et al. (2001) σε ποντίκια, το κύριο προϊόν μεταβολισμού της εσπεριδίνης και εσπερετίνης που ανιχνεύτηκε στα ούρα με χορήγηση από το στόμα, ήταν το m-υδροξυφαινυλοπροπιονικό οξύ, το m-κουμαρικό οξύ καθώς και αγλυκόνες, οι οποίες βρέθηκαν τόσο σε ελεύθερη μορφή όσο και συζευγμένες με γλυκουρονικό οξύ. Η απορρόφηση πραγματοποιήθηκε στον γαστρεντερικό σωλήνα ακολουθούμενη από αφυδροξυλίωση και απομεθυλίωση με σκοπό την παραγωγή m-υδροξυφαινυλοπροπιονικού οξέος και βρέθηκε ότι η εσπερετίνη είναι πιο εύκολα απορροφήσιμη σε σχέση με την εσπεριδίνη.

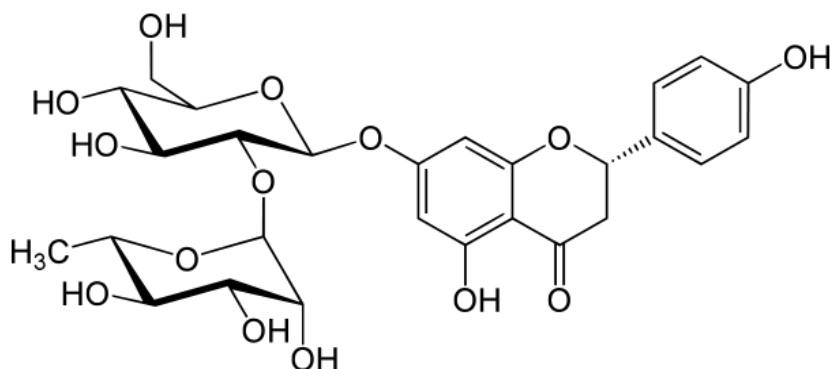
Επιπρόσθετα, σύμφωνα με τους Garg et al. (2001) σε πείραμα των Erlund et al. (2001) ερευνήθηκε η απέκκριση της εσπερετίνης και της ναρινγενίνης στο πλάσμα και στα ούρα. Για τον σκοπό του πειράματος, 47 υγιείς εθελοντές κατανάλωσαν χυμό από

γκρέιπφρουτ και πορτοκάλια. Δείγματα αίματος και ούρων συλλέχθηκαν και αναλύθηκαν με την μέθοδο της HPLC όπου και παρατηρήθηκε η βιοδιαθεσιμότητα της εσπερετίνης. Επίσης, οι ίδιοι ερευνητές αναφέρουν ότι σε άλλο πείραμα του Meyer (1994), πραγματοποιήθηκε έρευνα σε ποντίκια και ανθρώπους η οποία έχει δείξει την πλήρη απέκκριση σκευάσματος εσπεριδίνης Daflon-500 mg® (εσπεριδίνη 50 mg και διοσμίνη 450 mg) (Servier, Ελβετία), 96 ώρες μετά τη χορήγησή του, χωρίς καμία ένδειξη συσσώρευσής του σε κάποιο ζωτικό όργανο.

## 2.5 ΝΑΡΙΝΓΙΝΗ

Η ναρινγίνη (4', 5, 6 τριϋδροξυφλαβανόνη) αποτελεί έναν γλυκοζίτη, ανήκει στην κατηγορία των φλαβονών και απαντάται μαζί με τον μεταβολίτη της την ναρινγενίνη (άγλυκο μέρος) στους καρπούς των φυτών του γένους *Citrus* (Li et al., 2014, Singh et al., 2004). Ανακαλύφθηκε για πρώτη φορά το 1857 από τους De Vry στα άνθη δένδρων γκρέιπφρουτ (Bharti et al., 2014). Σύμφωνα με τους Jagetia et al. (2003) η ναρινγίνη ανευρίσκεται κυρίως στα είδη *Citrus paradisi*, *Citrus sinensis*, *Citrus unshiu*, *Citrus nobilis*, *Citrus tachibana*, *Citrus junos* καθώς και σε συγγενικά με το είδος *Citrus* φυτά ενώ σύμφωνα με τους Peterson και Dwyer, (1998) η ναρινγίνη συμβάλλει στην απόκτηση πικρής γεύσης των προϊόντων των εσπεριδοειδών. Αντίθετα με την εσπεριδίνη η οποία συναντάται στους καρπούς των πορτοκαλιών και των λεμονιών, η ναρινγίνη εντοπίζεται κυρίως στους καρπούς του γκρέιπφρουτ (Horowitz & Gentilli, 1969). Στο χυμό από γκρέιπφρουτ βρίσκεται σε συγκεντρώσεις μεγαλύτερες των 800 mg/L (Bharti et al., 2014). Επιπλέον, η ναρινγίνη έχει μοριακό τύπο  $C_{27}H_{32}O_{14}$  με μοριακό βάρος 580,53 g/mol, σημείο τήξης τους 83°C και πυκνότητα 1,66g/cm<sup>3</sup> ενώ ακόμη είναι ελαφρά διαλυτή στο νερό και ελεύθερα διαλυτή σε αιθανόλη (EFSA Panel on Additives and Products or Substances used in Animal Feed, 2011).

Στην επόμενη σελίδα παρουσιάζεται στην Εικόνα 2.5 η στερεοχημική δομή της ναρινγίνης.



**Εικόνα 2.5**

Στερεοχημική δομή της ναρινγίνης

(EFSA Panel on Additives and Products or Substances used in Animal Feed, 2011)

Από πειράματα που έχουν πραγματοποιηθεί διαπιστώνεται το ευρύ φάσμα των ευεργετικών δράσεων τα οποία έχουν αποδοθεί στην ναρινγίνη. Σε αυτά περιλαμβάνονται καρδιαγγειακή δράση, αντιδιαβητική, ηπατοπροστατευτική, αντιλιπιδική, αντιμικροβιακή, αντιοξειδωτική και πολλές άλλες (Bharti et al., 2014).

Σε μελέτη των Jeon et al. (2004) που πραγματοποίησαν χρησιμοποιώντας 50 αρσενικά κουνέλια και τα οποία διατράφηκαν με σιτηρέσιο το οποίο είχε εμπλουτιστεί με 0,05 % ναρινγίνη για περίοδο 8 εβδομάδων διαπιστώθηκε ότι η ναρινγίνη συνεισφέρει στη μείωση της συνολικής χοληστερόλης καθώς και της LDL χοληστερόλης του πλάσματος του αίματος. Αντίστοιχα αποτελέσματα είχαν και οι Kim et al. (2004) σε πείραμα που πραγματοποίησαν χρησιμοποιώντας επίμυες οι οποίοι υπολείπονταν του LDL υποδοχέα (LDLR-KO). Οι επίμυες διατράφηκαν με 0,1 g/100g χοληστερόλης ενώ στο σιτηρέσιο τους προστέθηκε 0,02 g/100g ναρινγίνης για διάστημα 6 εβδομάδων. Παρατηρήθηκε ότι η επέμβαση της ναρινγίνης παρουσίασε χαμηλότερες τιμές ολικής χοληστερόλης στο πλάσμα του αίματος σε σχέση με την επέμβαση του μάρτυρα. Μία άλλη δράση της ναρινγίνης είναι η βελτίωση των διαβητικών επιπλοκών καθώς και των προβλημάτων που προκύπτουν σε άτομα που είναι παχύσαρκα. Σύμφωνα με τους Alam et al. (2013) από το πείραμα που πραγματοποίησαν χρησιμοποιώντας σιτηρέσιο με υψηλά επίπεδα υδατανθράκων και λιπαρών ουσιών σε επίμυες, διαπίστωσαν ότι η διαιτητική συμπλήρωση με ναρινγίνη (100 mg/kg/ημέρα) βελτίωσε τα επίπεδα της γλυκόζης, μείωσε τις συγκεντρώσεις των λιπιδίων στο πλάσμα ενώ ακόμη βελτίωσε τη λειτουργία της καρδιάς και του ήπατος χωρίς να συμβεί μείωση σωματικού βάρους. Επιπλέον σύμφωνα με τους ερευνητές,

οι ευεργετικές επιδράσεις της ναρινγίνης μπορεί να οφείλονται στο μειωμένο οξειδωτικό στρες εξαιτίας της αντιοξειδωτικής δράσης της ναρινγίνης καθώς και στη βελτιωμένη λειτουργία του ήπατος των επίμυων.

Επιπρόσθετα, από μελέτες που έχουν διεξαχθεί, έχει βρεθεί ότι η ναρινγίνη κατέχει αντικαρκινικές ιδιότητες. Σε πείραμα των So et al. (1996) σε θηλυκούς αρουραίους διαπιστώθηκε ότι η προσθήκη ναρινγίνης στο σιτηρέσιο αναστέλλει το σχηματισμό καρκινικών κυττάρων στους αρουραίους ενώ *in vitro* αναστέλλει το πολλαπλασιασμό των MDA-MB-435 καρκινικών κυττάρων ανθρώπου της περιοχής του στήθους. Επιπρόσθετα, οι προσθήκη 1 - 300  $\mu$ M έχει δείχθει ότι συμβάλλει στην αποφυγή μεταλλάξεων των επιθηλιακών κυττάρων του κόλον τμήματος του παχέος εντέρου σε επίμυες (Fenton & Hord, 1994). Επιπρόσθετα, σε πείραμα των Galati et al. (1998) σε αρουραίους διαπιστώθηκε ότι η χορήγηση 200 mg/kg μία φορά ημερησίως για 7 ημέρες συνέβαλε στην ιστολογική αναγέννηση του βλεννογόνου του γαστρεντερικού σωλήνα καθώς και στη βελτίωση του δείκτη του έλκους. Ακόμη, αξίζει να σημειωθεί ότι σε πείραμα των Jagetia et al. (2003) βρέθηκε ότι η προσθήκη 2 mg/kg σε επίμυες ενδέχεται να μειώνει τη βλάβη που προκαλείται από ακτινοβολία  $\gamma$  εξαιτίας της αντιοξειδωτικής δράσης της ναρινγίνης και της αδρανοποίησης των ελεύθερων ριζών που δημιουργούνται, αφού όπως τονίζουν οι ερευνητές, η ακτινοβολία  $\gamma$  επάγει τη δημιουργία ελεύθερων ριζών και προκαλεί βλάβες στο DNA των κυττάρων.

## ΚΕΦΑΛΑΙΟ 3: ΙΧΝΟΣΤΟΙΧΕΙΑ

### 3.1 ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Ως ανόργανα στοιχεία νοούνται τα στοιχεία εκείνα τα οποία είναι δυνατόν να βρεθούν στον οργανισμό με την μορφή των ανόργανων αλάτων ή ακόμα είναι εκείνα τα στοιχεία τα οποία λαμβάνονται με τη μορφή αυτή κατά την αποτέφρωση του υπό ανάλυση δείγματος. Ωστόσο, αν και ο αριθμός τους είναι αρκετά μεγάλος, πολλά από αυτά θεωρούνται από φυσιολογικής πλευράς ως μη απαραίτητα. Ως απαραίτητα για τη ζωή σήμερα θεωρούνται τα: ασβέστιο (Ca), μαγνήσιο (Mg), κάλιο (K), φώσφορος (P), χλώριο (Cl), νάτριο (Na) και θείο (S) τα οποία τα συναντούμε σε υψηλές συγκεντρώσεις στον οργανισμό και καλούνται πλαστικά στοιχεία, καθώς και τα: σίδηρος (Fe), ψευδάργυρος (Zn), χαλκός (Cu), σελήνιο (Se), μαγγάνιο (Mn), κοβάλτιο (Co), φθόριο (F), ιώδιο (I), χρώμιο (Cr), νικέλιο (Ni), βανάδιο (V) και μολυβδαίνιο (Mo) τα οποία βρίσκονται σε ίχνη στον οργανισμό και για αυτό καλούνται ιχνοστοιχεία (Ζέρβας, 2005).

Ωστόσο, επειδή η ταξινόμηση των στοιχείων σε πλαστικά ή μακροστοιχεία και σε ιχνοστοιχεία δεν θεωρείται ικανοποιητική, έχει επικράτηση η ταξινόμηση των στοιχείων που τα εντάσσει σε τρεις κατηγορίες ανάλογα με τη φυσιολογική τους σημασία.

Στο παρακάτω Πίνακα 3.1 παρουσιάζεται η ταξινόμηση των ανόργανων στοιχείων με βάση τη φυσιολογική τους σημασία.



**Πίνακας 3.1:** Ταξινόμηση των ανόργανων στοιχείων με βάση τη φυσιολογική τους σημασία.

Απαραίτητα		Πιθανώς απαραίτητα		Μη απαραίτητα
Ca	Cu	Si	Pb	Cs
P	Zn	Ti	Sn	Ba
Mg	Co	V	Al	Hg
K	Se	Cr	Ga	Ra
Cl	I	As	Rb	Th
S	Mo	Br	Sn	Bi
Fe	F	Cd	Ag	Sc

Πηγή: Ζέρβας (2000)

Παρά του ότι τα ανόργανα στοιχεία αποτελούν ένα μικρό ποσοστό (4 %) του συνολικού σωματικού βάρους, διαδραματίζουν σημαντικό ρόλο τόσο στη διατροφή όσο και στο μεταβολισμό. Μεταξύ των πολλών λειτουργιών, είναι απαραίτητα για τη φυσιολογική κυτταρική δραστηριότητα, καθορίζουν τις ωσμωτικές ιδιότητες των υγρών του σώματος, παρέχουν ανθεκτικότητα στα οστά και στα δόντια και ακόμα λειτουργούν ως απαραίτητοι συμπαραγόντες στη λειτουργία των μεταλλοενζύμων (Groppe, 2007).

Ωστόσο, παρόλο που τα περισσότερα από τα ανόργανα στοιχεία που βρίσκονται στη φύση, είναι δυνατόν να βρεθούν σε ιστούς ζώων, πολλοί ερευνητές πιστεύουν ότι αυτό οφείλεται μερικώς εξαιτίας της σύστασης των σιτηρεσίων και όχι απαραίτητα στο ότι το στοιχείο αυτό έχει κάποια ουσιώδη λειτουργία στο μεταβολισμό του ζώου. Ο όρος απαραίτητο ανόργανο στοιχείο περιορίζεται στο στοιχείο εκείνο το οποίο έχει αποδειχθεί ότι συμβάλει στις λειτουργίες του μεταβολισμού του οργανισμού του ζώου. Για να γίνει αυτό, προηγείται πείραμα διατροφής στο οποίο χορηγείται σιτηρέσιο το οποίο είναι πλήρως ισορροπημένο από άποψη θρεπτικών συστατικών και σύμφωνο με τις ανάγκες του ζώου αλλά δεν έχει το μελετώμενο ανόργανο στοιχείο (πειράματα ισολογισμού και ανάπτυξης). Η απουσία του μελετώμενου στοιχείου προκαλεί συμπτώματα πενίας του στοιχείου στον οργανισμό του ζώου τα οποία σε πρώτη φάση καταγράφονται. Αργότερα, μελετάται η αντίδραση του οργανισμού καθώς προστίθενται το ανόργανο στοιχείο το οποίο απουσίαζε κατά τη πρώτη φάση του πειράματος και καταγράφεται η αντίδραση του οργανισμού και η εξάλειψη των συμπτωμάτων πενίας τα οποία δημιουργήθηκαν κατά τη πρώτη φάση. Συνεπώς, τα περισσότερα πειράματα

αλλά και η έρευνα η οποία έχει πραγματοποιηθεί αλλά και πραγματοποιείται γύρω από αυτά γίνεται με το παραπάνω τρόπο. Ακόμη, αξίζει να αναφερθεί, ότι μερικά ανόργανα στοιχεία είναι απολύτως απαραίτητα για την ανάπτυξη και την υγεία του ζώου και απαιτούνται σε τόσο μικρές ποσότητες που είναι δύσκολο να καταρτιστεί το σιτηρέσιο των ζώων αυτών. Επιπρόσθετα, αρκετές φορές είναι δύσκολο να προσδιοριστούν και οι μεταξύ των στοιχείων σχέσεις που υπάρχουν. Συγκεκριμένα σε πειράματα που έχουν πραγματοποιηθεί έχει δειχθεί ότι μεταβάλλοντας ένα ιχνοστοιχείο όπως π.χ. το κάδμιο (Cd), δεν μεταβάλλεται μόνο η συγκέντρωση του ιδίου, αλλά και άλλων τα οποία όμως δεν είχαν μεταβληθεί στο σιτηρέσιο. Για παράδειγμα, η αύξηση του Cd στο σιτηρέσιο (τοξικό) αύξησε όχι μόνο την συγκέντρωση του ιδίου (όπως ήταν αναμενόμενο) αλλά και των Cu, αντιμόνιο (Sb) και V και μείωσε εκείνη του Se, Mn και Fe (Pappas et al., 2012).

Οι απαιτήσεις των ζώων στα ανόργανα στοιχεία προκύπτουν κυρίως από παραγοντικά πειράματα στα οποία γίνεται προσπάθεια προσδιορισμού των αναγκών του οργανισμού του ζώου. Οι ανάγκες αυτές αφορούν τις ενδογενείς απώλειες αλλά και τις απώλειες των ανόργανων στοιχείων μέσω των προϊόντων των παραγωγικών ζώων. Το βασικό πρόβλημα που προκύπτει κατά τον προσδιορισμό των αναγκών των ανόργανων στοιχείων είναι ο προσδιορισμός της επάρκειας τους ιδίως εάν κάποιο στοιχείο συνδράμει σε περισσότερες της μία λειτουργίας του οργανισμού του ζώου. Ένα επίπεδο ενός ανόργανου στοιχείου μπορεί να είναι επαρκές για μία λειτουργία αλλά ανεπαρκές για μία άλλη. Επιπλέον, η επάρκεια ενός στοιχείου μπορεί να είναι αρκετή για την περίοδο της ανάπτυξης και μέχρι τη σφαγή του ζώου αλλά ανεπαρκή για μακρύτερες χρονικά περιόδους όπως π.χ. σε πατρογονικά σμήνη.

### **3.2 ΙΧΝΟΣΤΟΙΧΕΙΑ**

Ιχνοστοιχεία είναι μέταλλα που απαιτούνται σε μικρές ποσότητες στο σιτηρέσιο των πτηνών. Το ενδιαφέρον από άποψη ιχνοστοιχείων για τη διατροφή των πτηνών εντοπίζεται στα Cu, Fe, I, Mn, Se και Zn (Ensminger, 1992; Larbier & Leclercq, 1992).

Επειδή τα περισσότερα καλλιεργούμενα εδάφη ξεπλένονται εξαιτίας της έντονης γεωργικής δραστηριότητας, οι ζωοτροφές που παράγονται από αυτά τείνουν συνεχώς να έχουν μικρότερη περιεκτικότητα στα παραπάνω ιχνοστοιχεία. Τα γεγονός αυτό

καθιστά αναγκαία την προσθήκη ορισμένων ιχνοστοιχείων στα σιτηρέσια των πτηνών προκειμένου αυτά να είναι σύμφωνα με τις εκάστοτε ανάγκες σε κάθε παραγωγικό στάδιο. Επιπρόσθετα, υπάρχουν αρκετές αλληλεπιδράσεις μεταξύ των στοιχείων αυτών π.χ. ο χαλκός αντιδρά με το μολυβδαίνιο, το σελήνιο με τον υδράργυρο, το ασβέστιο με τον ψευδάργυρο ή το ασβέστιο με το μαγγάνιο. Ακόμη, το σελήνιο συνδέεται μεταβολικά με το αρσενικό και τη βιταμίνη D (Ensminger, 1992).

Στο παρακάτω Πίνακα 3.2 παρουσιάζονται τα βέλτιστα, ελάχιστα (πενία) και μέγιστα (τοξικότητα) διαιτητικά όρια των κυριότερων ιχνοστοιχείων για τη διατροφή των πτηνών.

**Πίνακας 3.2:** Βέλτιστα, ελάχιστα (πενία) και μέγιστα (τοξικότητα) διαιτητικά όρια των κυριότερων ιχνοστοιχείων για τη διατροφή των πτηνών.

		Βέλτιστα (mg/kg)	Ελάχιστα (mg/kg)	Μέγιστα (mg/kg)
<b>Σίδηρος</b>	Ανάπτυξη	45	35	1000
	Ωοτοκία	60	45	500
<b>Χαλκός</b>	Ανάπτυξη	10	4	250
	Ωοτοκία	10	4	250
<b>Ψευδάργυρος</b>	Ανάπτυξη	50	40	800
	Ωοτοκία	50	40	800
<b>Μαγγάνιο</b>	Ανάπτυξη	60	45	600
	Ωοτοκία	40	30	1000
<b>Ιώδιο</b>	Ανάπτυξη	0.35	0.10	1000
	Ωοτοκία	0.30	0.10	1000
<b>Σελήνιο</b>	Ανάπτυξη	0.10	0.05	4
	Ωοτοκία	0.10	0.05	4

Προσαρμογή από Larbier και Leclercq (1994)

Στο παρακάτω Πίνακα 3.2.1 παρουσιάζονται οι ανάγκες σε ιχνοστοιχεία μεταξύ των υβριδίων Hy-line W36, Hy-line Brown, Isa Brown, Isa White, Lohmann Brown στη περίοδο ωτοκίας.

**Πίνακας 3.2.1:** Ανάγκες σε ιχνοστοιχεία μεταξύ των υβριδίων Hy-line W36, Hy-line Brown, Isa Brown, Isa White, Lohmann Brown

	Hy-Line W36 (g per tonne)	Hy-Line Brown (g per tonne)	Isa Brown (g per tonne)	Isa White (g per tonne)	Lohmann Brown (g per tonne)
<b>Μαγγάνιο</b>	88	88	70	70	100
<b>Ψευδάργυρος</b>	88	88	60	60	80
<b>Σίδηρος</b>	55	55	60	60	25
<b>Χαλκός</b>	5.5	5,5	8	8	5
<b>Ιώδιο</b>	1.7	1,7	1	1	0,5
<b>Σελήνιο</b>	0.30	0.30	0.25	0.25	0.20

Πηγή: Performance Standards Manual.Hy-line W-36, Performance Standards Manual.Hy-line Brown, Nutrition Management Guide. Isa Brown, Nutrition Management Guide. Isa White, Management Guide. Lohmann Brown Classic.

### 3.3 ANΤΙΟΞΕΙΔΩΤΙΚΑ

Τα αντιοξειδωτικά χρησιμοποιούνται ευρέως σαν συντηρητικά τροφίμων παρέχοντας προστασία έναντι της οξειδωσης των τροφίμων. Από την αρχαιότητα χρησιμοποιήθηκαν διάφορων τύπων καρυκεύματα στα τρόφιμα όχι μόνο για τη βελτίωση της γεύση αλλά και για την αντιοξειδωτική ικανότητα που προσέφεραν. Τα αντιοξειδωτικά διαδραματίζουν σημαντικό ρόλο, διότι εξασφαλίζουν ότι τα τρόφιμα θα διατηρήσουν τη γεύση και το χρώμα τους και θα παραμένουν κατάλληλα για κατανάλωση μετά από μεγάλο χρονικό διάστημα. Η χρήση τους είναι σημαντική για την αποτροπή της οξειδωσης των λιπών και των προϊόντων που περιέχουν λίπος. Κατά καιρούς η βιομηχανία τροφίμων προκειμένου να εξασφαλίσει τη σταθερότητα των τροφίμων έχει χρησιμοποιήσει συνθετικά αντιοξειδωτικά. Μερικά από τα πιο γνωστά συνθετικά αντιοξειδωτικά είναι το βουτυλικό υδροξυτολουόλιο (E 321, BHT) και η βουτυλική υδροξυανισόλη (E 320, BHA). Ωστόσο, τα τελευταία χρόνια εκφράζονται επιφυλάξεις ως προς τη χρήση των συνθετικών αντιοξειδωτικών ουσιών. Ακόμα, οι σύγχρονοι καταναλωτές αρχίζουν να αποστασιοποιούνται από οποιαδήποτε προϊόν χρησιμοποιεί συνθετική ουσία και αρχίζουν να στρέφουν τις προτιμήσεις τους σε

προϊόντα τα οποία έχουν πιο «φυσικά» συστατικά. Έτσι, έχει δημιουργηθεί μεγάλο ενδιαφέρον από τις εταιρείες παραγωγής τροφίμων εξεύρεσης πιθανών φυσικών αντιοξειδωτικών ουσιών (Brenes & Roura, 2010).

Σύμφωνα με τον Κάρτσωνα (2014), τα φυσικά αντιοξειδωτικά αποτελούν ουσίες τις οποίες μπορούμε να τις παραλάβουμε από διάφορα φυτά, μύκητες, ζωικούς ιστούς καθώς και διάφορους μικροοργανισμούς. Επιπλέον, σύμφωνα τους Pourmorad et al. (2006), τα τελευταία χρόνια παρατηρείται αυξημένο ενδιαφέρον για τις θεραπευτικές ιδιότητες που έχουν διάφορα φαρμακευτικά φυτά και τα οποία δρουν ως φυσικά αντιοξειδωτικά μειώνοντας το σχηματισμό ελεύθερων ριζών που δημιουργούνται στους διάφορους ιστούς. Το τσάι, τα φρούτα, το κρασί, τα λαχανικά, οι βιταμίνες A, C και E καθώς και τα καρυκεύματα αποτελούν μερικά από τα ευρέως χρησιμοποιούμενα φυσικά αντιοξειδωτικά ενώ πρόσφατα το ενδιαφέρον έχει στραφεί και στα φυτικά εκχυλίσματα από τα φυτά της ρίγανης, του θυμαριού, του άνηθου, των εσπεριδοειδών, του δενδρολίβανου και άλλων προκειμένου να αξιοποιηθούν εμπορικά ως διατροφικό συμπλήρωμα κατά τη διατροφή των παραγωγικών ζώων (Fegeros et al., 1995; Mountzouris et al., 2011; Νικήτας, 2012; Goliomytis et al., 2014). Επιπρόσθετα, σύμφωνα με τους Cook και Samman (1996) η αντιοξειδωτική δράση των ουσιών που προέρχονται από τα φυτά ενδέχεται να οφείλεται στις φαινολικές ενώσεις τους. Ωστόσο, αξίζει να αναφερθεί ότι εκτός των παραπάνω φυσικών αντιοξειδωτικών το ενδιαφέρον έχει μεταφερθεί και σε άλλα, λιγότερο γνωστά όπως το ανόργανο στοιχείο σελήνιο, τα φλαβονοειδή και το καροτενοειδές λυκοπένιο προκειμένου να μελετηθεί η δράση τους και τα οφέλη από τη χορήγησή τους στα παραγωγικά ζώα.

Κατά τη διαδικασία της οξείδωσης των λιπών πραγματοποιούνται πολύπλοκες βιοχημικές αντιδράσεις, που έχουν ως αποτέλεσμα την υποβάθμιση της ποιότητας του παραγόμενου προϊόντος. Μερικά από τα χαρακτηριστικά των προϊόντων που αλλοιώνονται κατά τη διαδικασία της οξείδωσης είναι η ποιότητα των πρωτεϊνών, η ποσότητα των βιταμινών που περιέχονται και οι οργανοληπτικές ιδιότητες όπως η γεύση και το χρώμα.

Ένα χαρακτηριστικό παράδειγμα βιολογικού αντιοξειδωτικού είναι και η βιταμίνη E. Όλες οι μορφές της βιταμίνης E (4 τοκοφερόλες και 4 τοκοτριενόλες) αποτελούν ισχυρά αντιοξειδωτικά αφού σύμφωνα με τον Jiang (2014) συλλέγουν τις ρίζες των υπεροξειδίων δωρίζοντας ένα άτομο υδρογόνου από το φαινολικό δακτύλιο του

χρωμανίου. Γενικότερα, τα λιποειδή παίζουν ιδιαίτερα σημαντικό ρόλο ως συστατικά των κυττάρων και κυρίως της κυτταρικής μεμβράνης, η οποία δύναται να παραμένει ακέραιη παρουσιάζοντας παράλληλα μία ευλυγισία και ρευστότητα. Όταν οι ανθρακικές αλυσίδες των λιπαρών οξέων υποστούν βλάβη από ελεύθερες ρίζες αρχίζουν να αλληλοεπιδρούν μεταξύ τους σχηματίζοντας σταυροδεσμούς (crosslinking) συμβάλλοντας με τον τρόπο αυτό στη δημιουργία δυσκαμψίας της κυτταρικής μεμβράνης.

Ωστόσο, εκτός από τη βιταμίνη E και το σελήνιο αποτελεί στοιχείο το οποίο διαδραματίζει σπουδαίο ρόλο τόσο στη διατροφή των παραγωγικών ζώων όσο και στη διατροφή του ανθρώπου εξαιτίας της αντιοξειδωτικής δράσης που παρουσιάζει (Zoidis et al., 2014). Το σελήνιο βρίσκεται στο έδαφος και εισέρχεται στην τροφική αλυσίδα διαμέσου των φυτών με τη μορφή της σεληνιομεθειονίνης (SeMet) (Zoidis et al., 2014). Επιπλέον, το σελήνιο βρίσκεται στα δημητριακά, το ψωμί, το κρέας και στα προϊόντα των πουλερικών. Γενικά, η περιεκτικότητα του εδάφους σε σελήνιο στην ευρύτερη περιοχή της Ευρώπης είναι χαμηλή ενώ η βιοδιαθεσιμότητά του εξαρτάται σε μεγάλο βαθμό από την αύξηση των όξινων βροχών καθώς και από τη χρήση λιπασμάτων (Brown & Arthur, 2001).

Στα παραγωγικά ζώα και κυρίως στα ορνίθια, προκειμένου να διατηρήσουμε υψηλή την παραγωγή καθώς και την αναπαραγωγική ικανότητα προχωρούμε σε προσθήκη σεληνίου κατά την κατάρτιση των σιτηρεσίων. Η προσθήκη αυτή αποτελεί ένα σπουδαίο τρόπο με τον οποίο εμποδίζουμε την εμφάνιση συμπτωμάτων πενίας σεληνίου. Επιπρόσθετα, σε περίπτωση που υπάρχει και πενία βιταμίνης E τότε ενδέχεται να παρουσιαστούν συμπτώματα όπως εγκεφαλική μαλάκυνση, ατροφία του παγκρέατος και εξιδρωματική προδιάθεση (Zoidis et al., 2014). Ακόμη, αξίζει να αναφερθεί ότι το σελήνιο προστίθεται συνήθως είτε ως ανόργανο άλας (σεληνιώδες νάτριο, σεληνιώδες ασβέστιο, σεληνιακό νάτριο) είτε ως οργανική ουσία συνήθως διαμέσου ζυμών (Zoidis et al., 2014). Άλλες μορφές με τις οποίες το σελήνιο προστίθεται με την οργανική μορφή σύμφωνα με τους ερευνητές Zoidis et al. (2014) είναι η βύνη ή με τη μορφή διατροφικών πρόσθετων όπως π.χ. το B – Traxim. Επιπλέον, το σελήνιο μετά τη διαδικασία της πέψης αποθηκεύεται στους ζωικούς ιστούς και συγκεκριμένα στις πρωτεΐνες αυτών στη θέση της μεθειονίνης ενώ ακόμη, μεταβολίζεται στο ήπαρ και χρησιμοποιείται στη συνέχεια για τη δημιουργία νέων ουσιών (Zoidis et al., 2014).

Το σελήνιο αποτελεί το κύριο μέρος του ενζύμου υπεροξειδάση της γλουταθειόνης (glutathione peroxidase GSH-Px) το οποίο λαμβάνει ενεργό ρόλο στις οξειδοαναγωγικές αντιδράσεις που πραγματοποιούνται κατά το κυτταρικό μεταβολισμό. Συμμετέχει στην υπεροξειδάση της γλουταθειόνης μέσω της σεληνοκυστεΐνης η οποία είναι ένα αμινοξύ το οποίο αποτελεί μέρος πολλών σεληνοπρωτεϊνών με σημαντικές ενζυμικές δράσεις (Rayman, 2000). Βασική δράση της υπεροξειδάσης της γλουταθειόνης είναι ο τερματισμός της δημιουργίας ελεύθερων ριζών από υδροξυπεροξειδία μαζί με τη συνεργική δράση της δισμουτάσης του υπεροξειδίου (superoxide dismutase-SOD), την καταλάση, τη βιταμίνη E, τη β-καροτίνη καθώς και άλλες ουσίες (Rayman, 2000; Ζέρβας, 2005; Chung et al., 2007). Με τη λειτουργία αυτή βοηθάει στη διατήρηση της κυτταρικής μεμβράνης ενώ ακόμη μειώνεται η περαιτέρω οξειδωτική βλάβη σε λιπίδια, λιποπρωτεΐνες καθώς και στο DNA των κυττάρων (Rayman, 2000).

Προηγούμενες μελέτες έδειξαν ότι προσθήκη Se, γνωστό για την αντιοξειδωτική δράση μέσω της συμμετοχής του στα αντιοξειδωτικά ένζυμα, οδηγεί σε χρήση της βιταμίνης E από τον οργανισμό με φειδώ (sparing effect). Πιο συγκεκριμένα, σε πείραμα του Surai, 2010, προσθήκη Se στο σιτηρέσιο αναπαραγωγών ορνίθων αύξησε σημαντικά το επίπεδο βιταμίνης E στη λέκιθο σε σχέση με το μάρτυρα που δεν ελάμβανε Se. Στην επόμενη σελίδα παρουσιάζονται στον Πίνακα 2.6 τα ευρήματα του πειράματος του Surai (2010).

**Πίνακας 3.3.1:** Χρήση της βιταμίνης E με φειδώ

Ομάδα	Βιταμίνη E που έλαβαν οι ομάδες διαμέσου του σιτηρεσίου (mg/kg)	Σελήνιο που έλαβαν οι ομάδες διαμέσου του σιτηρεσίου (mg/kg)	Συγκέντρωση βιταμίνης E στη λέκιθο του αυγού (µg/g)
1	Όχι	Όχι	13.26±1.04
2	Όχι	Όχι	19.57±0.97
3	Όχι	0,2	32.20±2.09
4	Όχι	0,4	45.51±4.0
5	40	Όχι	153.32±15.15
6	100	Όχι	298.97±13.01
7	200	Όχι	538.50±28.82
8	40	0,2	188.22±17.40
9	100	0,4	309.93±18.44

Πηγή: Surai (2000)

Πιστεύεται ότι το Se, σαν συστατικό της υπεροξειδάσης γλουταθειόνης ενεργά συμμετέχει στην απομάκρυνση των υπεροξειδίων από το κύτταρο και ως εκ τούτου λιγότερη βιταμίνη E χρησιμοποιείται για ένα παρόμοιο σκοπό.

Στο παρακάτω Πίνακα 3.3.2 παρουσιάζονται τα ένζυμα τα οποία έχουν ως βασικό συστατικό το Se καθώς η τοποθεσία τους

**Πίνακας 3.3.2:** Ένζυμα τα οποία έχουν ως βασικό συστατικό το Se

Ένζυμο	Τοποθεσία
Υπεροξειδάση της γλουταθειόνης (GSH-Px)	Πλάσμα, θυρεοειδής αδένας, κυτταρόπλασμα
Γαστρεντερική GSH-Px	Εντερικός σωλήνας
Υπεροξειδάση της γλουταθειόνης (σπέρμα)	Πυρήνες σπερματοζωαρίων
Δειϊοδινάση της ιωδοθυρονίνης (ID)	Νεφρά, ήπαρ, εγκέφαλος, θυρεοειδής αδένας
Αναγωγάση της θειορεδοξίνης (TRxR)	Ήπαρ, νεφρά, καρδιά, μιτοχόνδρια, κυτταρόπλασμα
Σεληνιοφωσφορική συνθετάση (SPS2)	Όρχεις καθώς και σε άλλους ιστούς
Σεληνιοπρωτεΐνη W (SelW)	Καρδιά καθώς και σε άλλους ιστούς
Σεληνιοπρωτεΐνη P (SelP)	Αίμα, θυρεοειδής αδένας
Σεληνιοπρωτεΐνη K (SelK)	Μυοκαρδιοκύτταρα

Πηγή: Προσαρμογή από Patrick (2004), Pappas et al., (2008)



# **B. Πειραματικό Μέρος**

## **ΚΕΦΑΛΑΙΟ 4: ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ**

### **4.1 ΣΚΟΠΟΣ ΤΟΥ ΠΕΙΡΑΜΑΤΟΣ**

Σκοπός της παρούσας μεταπτυχιακής μελέτης ήταν η διερεύνηση της επίδρασης του εμπλουτισμού της τροφής με δύο φλαβονοειδή, την εσπεριδίνη και την ναρινγίνη στη συγκέντρωση ορισμένων ιχνοστοιχείων στο αυγό. Η παρουσία των φλαβονοειδών με γνωστή αντιοξειδωτική δράση ίσως να οδηγούσε τον οργανισμό να χρησιμοποιήσει με φειδώ τα υπόλοιπα ιχνοστοιχεία που εμπλέκονται στο αντιοξειδωτικό σύστημα και αυτό ίσως αντικατοπτρίζονταν στο αυγό (πχ αυξημένη συγκέντρωση σεληνίου). Επιλέχτηκαν να μελετηθούν ιχνοστοιχεία που εμπλέκονται στο αντιοξειδωτικό σύστημα μέσω ενζύμων, διάφορα τοξικά και ορισμένα πλαστικά. Η συγκέντρωση των στοιχείων As, Ca, Cd, Co, Cr, Cu, Fe, Mg, Mn, Mo, Ni, Pb, Sb, Se, Sr, V και Zn από δείγματα λεκίθου και ασπραδιού του αυγού, προσδιορίστηκαν με τη μέθοδο της φασματομετρίας μαζών επαγωγικά συνδεδεμένου πλάσματος (ICP-MS) (Perkin Elmer, Elan 9000, Perkin Elmer Life and Analytical Sciences Inc, Waltham, MA, Η.Π.Α.).

### **4.2 ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ**

#### **4.2.1 Ζωικό υλικό και πειραματικός σχεδιασμός**

Το πείραμα πραγματοποιήθηκε στις πειραματικές εγκαταστάσεις του Εργαστηρίου Γενικής και Ειδικής Ζωοτεχνίας του Τμήματος Επιστήμης Ζωικής Παραγωγής και Υδατοκαλλιεργειών του Γεωπονικού Πανεπιστημίου Αθηνών και διήρκησε εννέα εβδομάδες (63 ημέρες).

Για τη διενέργεια του πειράματος χρησιμοποιήθηκαν 72 καστανές όρνιθες ωοπαραγωγής του υβριδίου Lohmann ηλικίας 54 εβδομάδων, που κατανεμήθηκαν

τυχαία σε 6 πειραματικές ομάδες με δώδεκα (12) επαναλήψεις όπως φαίνεται παρακάτω:

- Ομάδα M (μάρτυρας), χορήγηση τροφής χωρίς κανένα με πρόσθετο
- Ομάδα E1, χορήγηση τροφής εμπλουτισμένης εσπεριδίνη (hesperidin) (Sigma-Aldrich, Co., USA), σε συγκέντρωση 750 mg/kg σιτηρεσίου.
- Ομάδα E2, χορήγηση τροφής εμπλουτισμένης με εσπεριδίνη (hesperidin), σε συγκέντρωση 1500 mg/kg σιτηρεσίου
- Ομάδα VE, χορήγηση τροφής εμπλουτισμένης με 200 mg/kg βιταμίνης E
- Ομάδα N1, χορήγηση τροφής εμπλουτισμένης με ναρινγίνη (naringin) (Alfa Aesar GmbH & Co KG, Germany) σε συγκέντρωση 750 mg/kg σιτηρεσίου.
- Ομάδα N2, χορήγηση τροφής εμπλουτισμένης με ναρινγίνη (naringin) σε συγκέντρωση 1500 mg/kg σιτηρεσίου.

ενώ ακόμη, συλλέχθηκαν οχτώ (8) αυγά ανά επέμβαση για περαιτέρω ανάλυση. Όλες οι επεμβάσεις είχαν την ίδια αρχική συγκέντρωση βιταμίνης E, μέσω του ισορροπιστή του σιτηρεσίου, στα 30 mg/kg.

Ο τύπος των πολυώροφων κλωβοστοιχιών κατακόρυφης διάταξης εξυπηρέτησε πλήρως τις ανάγκες του πειράματος. Οι ταΐστρες και οι ποτίστρες (τύπου πιπίλας) ήταν ενσωματωμένες στις κλωβοστοιχίες. Η τροφοδοσία και η συλλογή των αυγών γινόταν χειρωνακτικά ενώ η παροχή νερού (συνεχής) και η αποκομιδή των περιττωμάτων με μηχανικό τρόπο.

Το πρόγραμμα των εργασιών από την πρώτη ημέρα έως το τέλος του πειράματος συνοπτικά ήταν:

1. Καθημερινή συλλογή και ζύγιση αυγών.
2. Διανομή σιτηρεσίου 2 φορές την εβδομάδα.
3. Συλλογή αυγών για την μέτρηση της συγκέντρωσης ορισμένων ιχνοστοιχείων στη λέκιθο και στο ασπράδι του αυγού της 9<sup>η</sup> εβδομάδας.

### **4.2.2 Συνθήκες εκτροφής**

Ο στόχος της εκτροφής ήταν να επιτευχθούν στο μέγιστο καλές συνθήκες για την ευζωία και παραγωγικότητα των ορνίθων. Τοποθετήθηκαν 2 θερμομέτρα μέγιστου - ελαχίστου στο επίπεδο των κλωβοστοιχιών για τον έλεγχο της θερμοκρασίας εντός του θαλάμου. Το πρόγραμμα φωτισμού ήταν 16 ώρες συνεχόμενο φως από λάμπες φθορισμού που διαχέονταν ομοιόμορφα σε όλους τους ορόφους. Τέλος, η συνεχής λειτουργία ανεμιστήρων ενίσχυσε την ανανέωση και την ομοιόμορφη κίνηση του αέρα στο χώρο.

### **4.2.3 Διατροφή ορνίθων**

Η παροχή τροφής και νερού ήταν κατά βούληση. Το σιτηρέσιο ήταν ισόρροπο ως προς τα θρεπτικά συστατικά, τις βιταμίνες και τα ιχνοστοιχεία. Η ανάμιξη των υπό μελέτη προσθέτων γινόταν κάθε 15 ημέρες. Η αλλαγή μεταξύ των σιτηρεσίων έγινε σταδιακά, ξεκινώντας 3 μέρες πριν την έναρξη του πειράματος. Το νέο σιτηρέσιο δόθηκε με σκοπό την εξοικείωση των ορνίθων, πάντα συμφώνα με της αρχές της θρέψης των ζώων. Η διανομή του σιτηρεσίου πραγματοποιούνταν δύο φορές την εβδομάδα (Τρίτη - Παρασκευή) αφού πρώτα ζυγίζονταν το υπόλοιπο κάθε ταΐστρας.

Η σύσταση του σιτηρεσίου παρουσιάζεται στο Πίνακα 4.1.

**Πίνακας 4.1:** Σύσταση του σιτηρεσίου

Συστατικά	Ποσότητα (g /kg)
<b>Σίτος</b>	<b>50</b>
<b>Καλαμπόκι</b>	<b>540</b>
<b>Πίτυρα σίτου</b>	<b>46</b>
<b>Σογιάλευρο (47%)</b>	<b>246</b>
<b>Σογιέλαιο</b>	<b>12</b>
<b>Μαρμαρόσκονη</b>	<b>89</b>
<b>Αλάτι (NaCl)</b>	<b>2,4</b>
<b>Σόδα (διττανθρακικό νάτριο)</b>	<b>2,7</b>
<b>Φωσφορος* 22%</b>	<b>9</b>
<b>Μεθειονίνη</b>	<b>1,1</b>
<b>Φυτάση, Natuphos ®</b>	<b>0.06</b>
<b>Αντιοξειδωτικό</b>	<b>0,1</b>
<b>Χρωστική (carofyl red ®)</b>	<b>0.04</b>
<b>Χλωριούχος Χολίνη 70%</b>	<b>0,6</b>
<b>Ισορροπιστής Βιταμινών και Ιχνοστοιχείων</b>	<b>1</b>

Οι βιταμίνες και τα ανόργανα στοιχεία που παρέχονταν ανά κιλό τροφής: 10.000 I.U. ρετινόλης (βιταμίνη Α), 2.500 I.U. χοληκαλσιφερόλης (βιταμίνη D3), 30 mg τοκοφερόλη (βιταμίνη Ε), 5 mg μεναδιόνη (βιταμίνη Κ3), 1 mg θειαμίνη (βιταμίνη Β1), 5 mg ριβοφλαβίνη (βιταμίνη Β2), 3 mg πυριδοξίνη (βιταμίνη Β6), 20 μg κοβαλαμίνη (βιταμίνη Β12), 30 mg νικοτινικό οξύ, 10 mg παντοθενικό οξύ, 0,8 mg φολικό οξύ, 100 μg βιοτίνη, 10 mg ασκορβικό οξύ (βιταμίνη C), 450 mg χλωριούχος χολίνη, 0,2 mg Co, 0,5 mg I, 0,3 mg Se, 25 mg Fe, 120 mg Mn, 10 mg Cu και 100 mg Zn.

Η χημική σύσταση του σιτηρεσίου παρουσιάζεται στο Πίνακα 4.2.

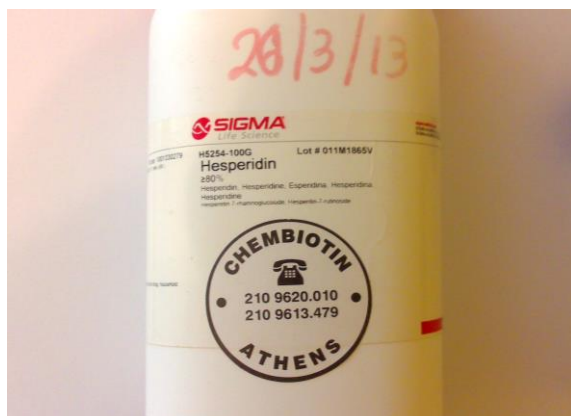
**Πίνακας 4.2:** Χημική σύσταση σιτηρεσίου

Ανάλυση	%
<b>Ξηρά ουσία</b>	88,6
<b>Μεταβολιστέα ενέργεια</b>	11,48 (MJ/kg)
<b>Ολικές αζωτούχες</b>	17,50
<b>Λυσίνη</b>	0,90
<b>Μεθειονίνη</b>	0,38
<b>Μεθειονίνη και Κυστεΐνη</b>	0,68
<b>Θρεονίνη</b>	0,67
<b>Τρυπτοφάνη</b>	0,19
<b>Αργινίνη</b>	1,18
<b>Πεπτόμενη λυσίνη</b>	0,80
<b>Πεπτόμενη μεθειονίνη</b>	0,35
<b>Πεπτόμενη μεθ. &amp; κυστ.</b>	0,60
<b>Πεπτόμενη θρεονίνη</b>	0,56
<b>Πεπτόμενη τρυπτοφάνη</b>	0,18
<b>Ινώδεις ουσίες</b>	2,47
<b>Άμυλο</b>	38,48
<b>Σάκχαρα</b>	40,86
<b>Ολικές λιπαρές</b>	3,79
<b>CLA-συζευγμένο λινολεϊκό οξύ</b>	1,88
<b>Τέφρα</b>	12,42
<b>Ασβέστιο</b>	3,75
<b>Νάτριο</b>	0,18
<b>Χλώριο</b>	0,20
<b>Κάλιο</b>	0,75
<b>Συνολικός φώσφορος</b>	0,70
<b>Διαθέσιμος φώσφορος</b>	0,36

Οι άλλες δύο ομάδες E1, E2 κατανάλωναν το ίδιο σιτηρέσιο με τον μάρτυρα, εμπλουτισμένο βέβαια με εσπεριδίνη (Sigma-Aldrich, Co., USA) σε συγκεντρώσεις 750 mg και 1500 mg ανά kg ζωοτροφής, αντίστοιχα. Επιπλέον, οι ομάδες N1, N2

κατανάλωναν το ίδιο σιτηρέσιο με τον μάρτυρα, εμπλουτισμένο βέβαια με ναρινγίνη (Alfa Aesar GmbH & Co KG, Germany) σε συγκεντρώσεις 750 mg και 1500 mg ανά kg ζωοτροφής, αντίστοιχα. Η ομάδα VE (βιταμίνη E) επίσης κατανάλωνε το βασικό σιτηρέσιο όπως και οι παραπάνω ομάδες, εμπλουτισμένο όμως με βιταμίνη E. Η εσπεριδίνη (Sigma-Aldrich, Co., USA), η ναρινγίνη (Alfa Aesar GmbH & Co KG, Germany) και η βιταμίνη E (DSM Nutritional Products, Greece) ήταν σκευάσματα σε μορφή σκόνης, τα οποία διατηρούνταν σε συνθήκες ψύξης (4°C).

Στις παρακάτω Εικόνες 4.2.3.1 και 4.2.3.2 παρουσιάζονται τα δοχεία των σκευασμάτων της εσπεριδίνης και ναρινγίνης



**Εικόνα 4.2.3.1**

Σκεύασμα εσπεριδίνης



**Εικόνα 4.2.4.2**

Σκεύασμα ναρινγίνης

## 4.2.4 Μέθοδοι εργαστηριακών αναλύσεων

### 4.2.4.1 Προσδιορισμός ορισμένων ιχνοστοιχείων

Επιλέχτηκαν να μελετηθούν ιχνοστοιχεία που εμπλέκονται στο αντιοξειδωτικό σύστημα μέσω ενζύμων, διάφορα τοξικά και ορισμένα πλαστικά. Η συγκέντρωση των ιχνοστοιχείων As, Ca, Cd, Co, Cr, Cu, Fe, Mg, Mn, Mo, Ni, Pb, Sb, Se, Sr, V και Zn από δείγματα λεκίθου και ασπραδιού του αυγού, προσδιορίστηκαν με τη μέθοδο της

φασματομετρίας μαζών επαγωγικά συνδεδεμένου πλάσματος (ICP-MS) (Perkin Elmer, Elan 9000, Perkin Elmer Life and Analytical Sciences Inc, Waltham, MA, Η.Π.Α.).

Τα δείγματα από τη λέκιθο (1g) και του ασπραδιού (1g) εμποτίστηκαν σε διάλυμα 10 ml  $\text{HNO}_3$  (65% w/v, Suprapur, Merck, Darmstadt, Γερμανία), όπου και παρέμεναν 30 λεπτά με σκοπό να γίνει η προχώνευση των δειγμάτων.



**Εικόνα 4.2.4.1**  
Συλλογή δείγματος λεκίθου  
και ασπραδιού



**Εικόνα 4.2.4.2**  
Προχώνευση των δειγμάτων



Κατόπιν, πραγματοποιήθηκε τεχνητή πέψη της δειγμάτων με τη χρήση ενός συστήματος πέψης μικροκυμάτων (CEM, Mars X-Press, NC, Η.Π.Α.). Τα δείγματα θερμάνθηκαν στο σύστημα επιταχυνόμενης πέψης μικροκυμάτων σύμφωνα με το ακόλουθο πρόγραμμα: η ισχύς αυξανόταν σταδιακά για 20 λεπτά από 100W στα 1200W, όπου παρέμεινε για 15 λεπτά. Το μέγιστο όριο που έφτασε η θερμοκρασία ήταν 200°C και ακολούθησε ψύξη από κύκλωμα κρύου αέρα για 15 λεπτά. Απώλειες πτητικών στοιχείων δεν λάμβαναν χώρα, καθώς οι σωλήνες ήταν σφραγισμένοι κατά τη διάρκεια της θέρμανσης.



**Εικόνα 4.2.4.3**

Τοποθέτηση των δειγμάτων στον ειδικά διαμορφωμένο υποδοχέα του Mars X-Press



**Εικόνα 4.2.4.4**

CEM, Mars X-Press, NC, Η.Π.Α.

Στη συνέχεια, τα νέα δείγματα που προέκυψαν αραιώθηκαν 50 φορές με υπερκάρθο νερό αντίστροφης ώσμωσης (Milli-Q Water Purification Systems, Billerica, MA, Η.Π.Α.) και ακολούθως φιλτραρίστηκαν με φίλτρα προσαρμοσμένα σε σύριγγες μίας χρήσης (Chromafil, Macherey-Nagel, Duren, Γερμανία) προκειμένου να ετοιμαστούν για την εισαγωγή τους στο φασματογράφο ICP-MS.



**Εικόνα 4.2.4.5**

Τα φίλτρα Chromafil, Macherey-Nagel, Duren



**Εικόνα 4.2.4.6**

Τα φίλτρα προσαρμοσμένα σε σύριγγες

Τα πρότυπα διαλύματα που χρησιμοποιήθηκαν για τις καμπύλες βαθμονόμησης συντάχθηκαν από πολυστοιχειακά πρότυπα υψηλής καθαρότητας (Multi-element standard solution XVI, Merck, KGaA, Darmstadt, Γερμανία). Η αναλυτική διαδικασία επικυρώθηκε με τη χρήση τυποποιημένων υλικών αναφοράς (NIST-RM 8414) βόειος μυϊκός ιστός σε σκόνη, (NIST-RM 1577c) βόειο ήπαρ σε σκόνη, (NIST-RM 8415) αυγό σε μορφή σκόνης – LGC Standards; Promochem, Wesel, Γερμανία).

Στην παρακάτω Εικόνα 4.2.4.7 παρουσιάζεται ο ICP – MS φασματογράφος Elan 9000 – Perkin Elmer που χρησιμοποιήθηκε για τις αναλύσεις.



**Εικόνα 4.2.4.7**

ICP – MS φασματογράφος –Elan  
9000 – Perkin Elmer

Συνοπτικά, οι παράμετροι των οργάνων που χρησιμοποιήθηκαν είναι οι ακόλουθες: ροή νεφελοποιητή 0,775 L/min, κενό πίεσης  $1,5 \times 10^{-5}$  torr, τάση 950 W, αναλογικό στάδιο τάσης 1900 V, παλμικό στάδιο τάσης 950 V, 20 σαρώματα/ανάγνωση, 1 ανάγνωση/αντιγραφή, 3 αριθμός επαναλήψεων, ώρα ανά δείγμα: 150 δευτερόλεπτα.

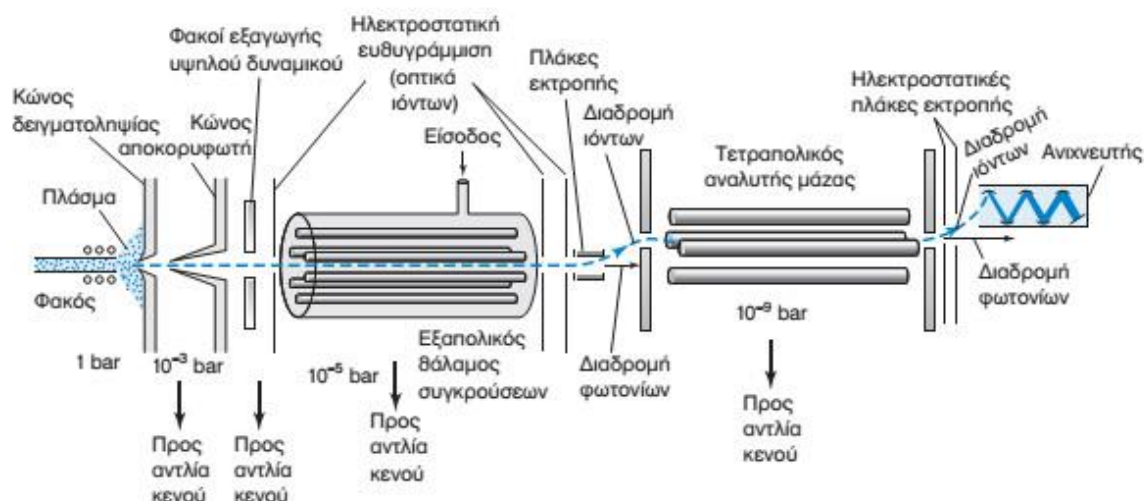
#### **4.2.4.2 Προσδιορισμός ορισμένων ιχνοστοιχείων με τη χρήση φασματομετρίας μαζών επαγωγικά συζευγμένου πλάσματος**

Η φασματομετρία μαζών επαγωγικά συζευγμένου πλάσματος αποτελεί σήμερα την ταχύτερα αναπτυσσόμενη τεχνική στοιχειακής ανάλυσης. Οι λόγοι που συνέβαλλαν σε αυτό είναι η υψηλή ακρίβεια που παρουσιάζει, η υψηλή ταχύτητα ανάλυσης, η δυνατότητά της να ανιχνεύει πολλά στοιχεία ταυτόχρονα, τόσο ποσοτικά όσο και ποιοτικά, καθώς και τα χαμηλά όρια ανίχνευσης. Από το 1983 όπου ξεκίνησε και η εμπορευματοποίηση της, 5000 συστήματα έχουν εγκατασταθεί σε ολόκληρο τον κόσμο. Μερικοί τομείς όπου χρησιμοποιούνται τα συστήματα αυτά είναι στην γεωλογία, στις μελέτες που αφορούν το περιβάλλον, στη βιολογία, στην ιατρική, στην κατασκευή ημιαγωγών καθώς και σε εφαρμογές πυρηνικής φυσικής (Thomas 2004).

Αν και υπάρχουν σήμερα αρκετά διαφορετικά σχέδια ICP – MS όλα μοιράζονται τα ίδια βασικά μέρη όπως ο νεφελοποιητής ή εκνεφωτής, ο θάλαμος ψεκασμού, ο πυρσός επαγωγικά συζευγμένου πλάσματος και ο αναλυτής. Ωστόσο, ενδέχεται να διαφέρουν στο σχεδιασμό του interface, στο σύστημα εστίασης των ιόντων, στη συσκευή διαχωρισμού μάζας καθώς και στο θάλαμο του κενού (Thomas 2004). Για την εισαγωγή του προς ανάλυση δείγματος χρησιμοποιείται ένας εκνεφωτής είτε συμβατικός είτε υπερηχητικός όταν το δείγμα είναι με τη μορφή διαλύματος. Σε αντίθετη περίπτωση, όταν το δείγμα είναι σε στερεή κατάσταση εφαρμόζεται η αποσύνθεση του δείγματος με σπινθήρα ή λέιζερ ή εκκένωση λάμπης. Κατόπιν, τα θετικά μεταλλικά ιόντα τα οποία δημιουργούνται στο πυρσό εισάγονται με τη βοήθεια μιας διαφορικής αντλίας στο τετραπολικό φασματομέτρο μαζών. Ως εκ τούτου, τα φάσματα που δημιουργούνται αποτελούνται από σειρές κορυφών που αντιστοιχούν στα ισότοπα των στοιχείων τα οποία υφίστανται στο δείγμα. Οι κορυφές αυτές χρησιμεύουν τόσο για το ποσοτικό προσδιορισμό των στοιχείων όσο και για τον ποιοτικό προσδιορισμό τους. Επιπρόσθετα, για τον ποσοτικό προσδιορισμό χρησιμοποιούνται συνήθως καμπύλες βαθμονόμησης, οι οποίες αναπαριστούν το λόγο του σήματος των ιόντων του αναλυτή προς το σήμα των ιόντων ενός εσωτερικού πρότυπου, ως συνάρτηση της συγκέντρωσης. Με τον τρόπο αυτό είμαστε σε θέση όχι

μόνο να προσδιορίσουμε τα στοιχεία τα οποία βρίσκονται στο δείγμα αλλά και να υπολογίσουμε την ακριβή συγκέντρωσή τους σε αυτό (Μηνιώτη 2009).

Παρακάτω παρουσιάζονται στη Εικόνα 4.2.4.8 τα κυρίως τμήματα που απαρτίζουν ένα ICP – MS σύστημα.



**Εικόνα 4.2.4.8**

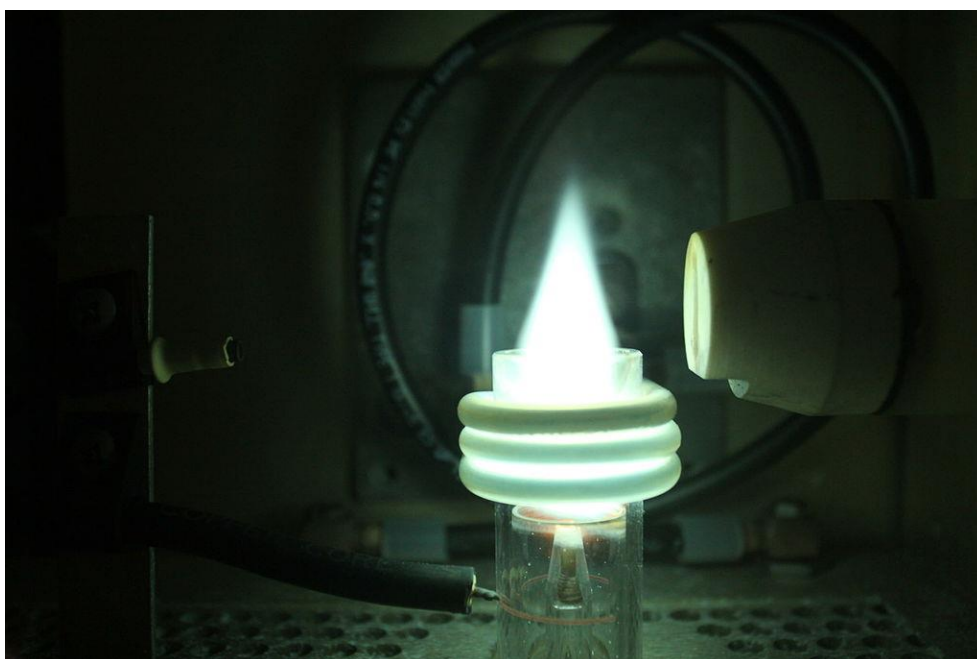
Σύζευξη επαγωγικά συζευγμένου πλάσματος

(Harris, 2011)

## Πλάσμα

Με τον όρο πλάσμα ονομάζουμε το αέριο, ηλεκτρικά αγώγιμο μίγμα το οποίο περιέχει σημαντικές συγκεντρώσεις κατιόντων και ηλεκτρονίων ώστε το σύνολο να εμφανίζεται ηλεκτρικά ουδέτερο. Στο πλάσμα αργού, το οποίο χρησιμοποιείται συνήθως στο ICP – MS τα ιόντα αργού και τα ηλεκτρόνια αποτελούν τους κύριους φορείς ηλεκτρικού φορτίου. Ωστόσο, σε μικρότερες ποσότητες μπορούν να βρεθούν και κατιόντα τα οποία προέρχονται από το δείγμα. Οι θερμοκρασίες δε του πλάσματος φτάνουν έως και τους 10.000 K (Μηνιώτη, 2009).

Στην παρακάτω Εικόνα 4.2.4.9 παρουσιάζεται ένας πυρσός ICP πλάσματος.



**Εικόνα 4.2.4.9**

Πυρσός ICP πλάσματος

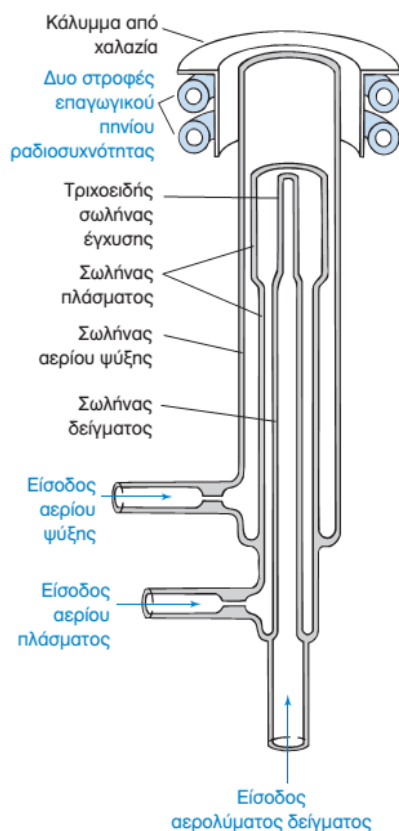
[http://en.wikipedia.org/wiki/Inductively\\_coupled\\_plasma](http://en.wikipedia.org/wiki/Inductively_coupled_plasma)

## **Πυρσός ICP πλάσματος**

Αποτελεί τη καρδιά ενός ICP μηχανήματος. Αποτελείται από ομόκεντρους σωλήνες χαλαζία μέσα από τους οποίους ρέει αέριο αργό με ρυθμό που κυμαίνεται από 5 έως 20 L/min. Περιμετρικά του εξωτερικού σωλήνα υπάρχει ένα επαγωγικό πηνίο το οποίο τροφοδοτείται με σήματα συχνότητας 27 ή 41 MHz και ισχύος 0,2 έως 2 KW από μία γεννήτρια RF ραδιοσυχνοτήτων. Για να ανάψει ο πυρσός του ICP και να ξεκινήσει η διαδικασία του ιοντισμού απαιτείται η εισαγωγή αερίου αργού (Ar) υψηλής καθαρότητας ενώ στη συνέχεια χρειάζεται μία σπίθα, η οποία παράγεται από ένα πηνίο Tesla που ιοντίζει το Ar. Τα ιόντα που σχηματίζονται καθώς και τα ελεύθερα ηλεκτρόνια επιταχύνονται με το παραγόμενο μαγνητικό πεδίο που υπάρχει από το επαγωγικό πηνίο και εντός αυτού αναγκάζονται να κινηθούν σε κλειστές δακτυλιοειδείς διαδρομές. Εξαιτίας της κίνησης αυτής, αλλά και των συγκρούσεων μεταξύ των ηλεκτρονίων και των ατόμων, δημιουργείται ωμική θέρμανση που έχει ως αποτέλεσμα

την έναρξη της λειτουργίας του πυρσού πλάσματος σε θερμοκρασίες που κυμαίνονται μεταξύ των 6000K και 10.000K. Επιπλέον, εξαιτίας της πολύ υψηλής θερμοκρασίας του πλάσματος απαιτείται θερμική μόνωση του εξωτερικού κυλίνδρου χαλαζία η οποία επιτυγχάνεται με ροή αργού γύρω από τα τοιχώματα του σωλήνα. Έτσι, με τον τρόπο αυτό ψύχονται τα εσωτερικά τοιχώματα του κεντρικού σωλήνα και το πλάσμα επικεντρώνεται ακτινωτά. Ακόμη, αξίζει να αναφερθεί ότι πρόσφατα μία καινούργια καινοτομία δίνει τη δυνατότητα για περιστροφή του πυρσού κατά 90° έτσι ώστε να προσανατολισθεί σε παράλληλη θέση με τον αναλυτή με αποτέλεσμα να βελτιώνονται τα όρια ανίχνευσης κατά τέσσερις με δέκα φορές (Harris, 2011, Μηνιώτη, 2009).

Στην παρακάτω Εικόνα 4.2.4.10 παρουσιάζονται τμηματικά τα μέρη από τα οποία αποτελείται ένας πυρσός ICP πλάσματος.



**Εικόνα 4.2.4.10**  
Μέρη ενός πυρσού ICP  
πλάσματος  
(Harris, 2011)



## Αναλυτής μάζας

Μόλις παραχθούν τα ιόντα στο πλάσμα, κατευθύνονται στη συνέχεια στο φασματόμετρο μάζας διαμέσου μιας περιοχής στην οποία επικρατούν πιέσεις 1 - 2 Torr με τη βοήθεια μηχανικών αντλιών. Η περιοχή αυτή που μεσολαβεί μεταξύ του πυρσού του πλάσματος και του φασματόμετρου αποτελείται από δύο κώνους κατασκευασμένους από νίκελ συνήθως. Οι κώνοι αυτοί καλούνται κώνος δειγματοληψίας (sampler) και κώνος αποκορυφωτής (skimmer) και έχουν στην κορυφή τους μία μικρή οπή διαμέτρου 0,6 – 1,2 mm προκειμένου να κατευθύνουν τα ιόντα να περάσουν από τη περιοχή των οπτικών φακών που οι οποίοι στη συνέχεια θα κατευθύνουν τα ιόντα στο φασματόμετρο μάζας (Thomas, 2004; Μηνιώτη, 2009).

Στην παρακάτω Εικόνα 4.2.4.11 παρουσιάζονται οι δύο κώνοι.



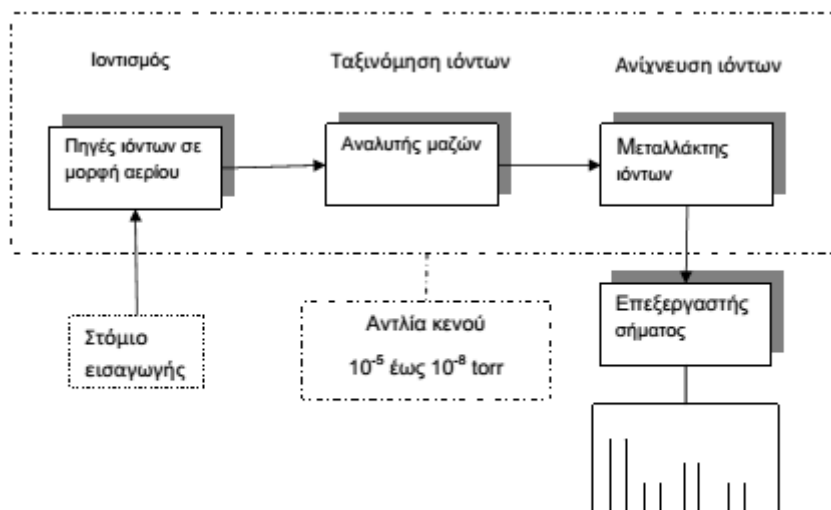
**Εικόνα 4.2.4.11**

Δειγματολήπτης και αποκορυφωτής κώνος από ICP - MS Elan  
9000 - Perkin Elmer

Στη φασματομετρία ατομικών μαζών ο πιο συνήθης τύπος φασματόμετρου που χρησιμοποιείται είναι ο τετραπολικός αναλυτής μαζών (quadrupole mass analyzer). Τα βασικά μέρη του είναι οι τέσσερις κυλινδρικοί παράλληλοι μεταξύ τους ράβδοι ίδιου μήκους και διαμέτρου οι οποίες παίζουν το ρόλο των ηλεκτροδίων. Είναι

κατασκευασμένοι από ανοξείδωτο χάλυβα ή μολυβδένιο και συνήθως φέρουν κεραμική επίστρωση προκειμένου να αποφευχθεί η οξειδωσή τους. Οι τετραπολικοί αναλυτές μαζών που χρησιμοποιούνται στα ICP – MS έχουν μήκος που ποικίλλει από 15 – 20 cm και περίπου 1 cm διάμετρο ενώ ακόμη λειτουργούν σε συχνότητα των 2 – 3 MHz. Ο τετραπολικός αναλυτής μάζας λειτουργεί με την εφαρμογή ενός ηλεκτρικού πεδίου που δημιουργείται από συνεχές ρεύμα (DC) στο ένα ζεύγος ράβδων και εναλλασσόμενο ρεύμα στο άλλο ζεύγος των ράβδων, αλλά αντίθετα μεταξύ τους. Συνεπώς, με την επιλογή του βέλτιστου λόγου AC/DC σε κάθε ζεύγος ράβδων, τα ιόντα με την επιθυμητή μάζα επιτρέπεται να περάσουν διαμέσου των ράβδων και να μεταβούν στον αναλυτή ενώ τα υπόλοιπα ιόντα τα οποία είναι ασταθή απομακρύνονται από το ηλεκτρικό πεδίο που δημιουργούν τα δύο ζευγάρια των ράβδων. Ο αναλυτής στη συνέχεια θα μετατρέψει τα ιόντα αυτά σε ηλεκτρικό παλμό όπου και θα καταγραφεί από το καταγραφικό μηχάνημα. Ακόμη αξίζει να σημειωθεί ότι ο αναλυτής είναι συνήθως πολυκάναλος με περισσότερα από είκοσι (20) κανάλια προκειμένου να μπορεί να ανταποκριθεί σε πολυστοιχειακά δείγματα (Harris, 2011; Thomas, 2004; Μηνιώτη, 2009).

Παρακάτω παρουσιάζεται στην Εικόνα 4.2.4.12 τα βασικά μέρη ενός φασματομέτρου μαζών



**Εικόνα 4.2.4.12**

Τα βασικά μέρη ενός φασματομέτρου μαζών  
(Μηνιώτη, 2009)

Στην παρακάτω Εικόνα 4.2.4.13 παρουσιάζεται το εσωτερικό μέρος ενός ICP – MS φασματογράφου Elan 9000 Elan 9000 - Perkin Elmer



**Εικόνα 4.2.4.13**

Το εσωτερικό μέρος ενός ICP – MS φασματογράφου  
Elan 9000 - Perkin Elmer

Στην παρακάτω Εικόνα 4.2.4.14 παρουσιάζονται οι αντλίες κενού ενός ICP – MS φασματογράφου Elan 9000 - Perkin Elmer.



**Εικόνα 4.2.4.14**

Αντλίες κενού ενός ICP – MS  
φασματογράφου  
Elan 9000 - Perkin Elmer

Στην παρακάτω Εικόνα 4.2.4.15 παρουσιάζονται οι φιάλες αργού (Ar) που τροφοδοτούν με αργό έναν ICP – MS φασματογράφο Elan 9000 Perkin Elmer.



**Εικόνα 4.2.4.15**

Φιάλες αργού ενός ICP – MS φασματογράφου  
Elan 9000 - Perkin Elmer

### **4.3 Στατιστική Ανάλυση**

Τα δεδομένα αναλύθηκαν με τη χρήση του στατιστικού πακέτου Statgraphics (έκδοση 15.2.11, Statpoint Technologies, Inc. Warrenton, Virginia, USA). Τα δεδομένα του πειράματος παρουσιάζονται ως μέσοι όροι  $\pm$  τυπικό σφάλμα. Η ανάλυση των δεδομένων πραγματοποιήθηκε με ανάλυση διακύμανσης κατά ένα παράγοντα (ANOVA). Επιπλέον, πραγματοποιήθηκε ανάλυση κυρίων συνιστωσών (Principal Component Analysis) αλλά και διαχωριστική ανάλυση (Discriminant Analysis).

## ΚΕΦΑΛΑΙΟ 5: ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

### 5.1.1 Ασπράδι αυγού

#### A) Αποτελέσματα ανάλυσης διακύμανσης (ANOVA)

Στον Πίνακα 5.1 παρουσιάζεται η επίδραση της χορήγησης εσπεριδίνης και ναρινγίνης στο σιτηρέσιο ωοπαραγωγών ορνιθίων, στη συγκέντρωση 17 ιχνοστοιχείων στο ασπράδι του αυγού αλλά και στο βάρος του αυγού καθώς και του ασπραδιού (Μέσος όρος  $\pm$  Τυπικό σφάλμα).

Συνοπτικά παρατηρείται ότι καμία διατροφική επέμβαση δεν επηρέασε στατιστικώς το βάρος του αυγού και του ασπραδιού. Όσον αφορά τη συγκέντρωση των ιχνοστοιχείων βρέθηκε ότι η συγκέντρωση των στοιχείων που μετρήθηκαν επηρεάστηκε από τις διατροφικές επεμβάσεις εκτός των ιχνοστοιχείων As, Mg, Mo και Zn που δεν επηρεάστηκαν από καμία διατροφική επέμβαση. Πιο συγκεκριμένα :

α) Η προσθήκη βιταμίνης E στο σιτηρέσιο μετέβαλε τη συγκέντρωση δυο στοιχείων στο ασπράδι του αυγού σε σχέση με τη συγκέντρωση της επέμβασης του μάρτυρα. Πιο συγκεκριμένα, η συγκέντρωση του Co μειώθηκε και του Sb αυξήθηκε σε σχέση με αυτές του μάρτυρα.

β) Η προσθήκη εσπεριδίνης, ανεξαρτήτως επιπέδου ενσωμάτωσης στο σιτηρέσιο E1, E2, μείωσε τη συγκέντρωση του Co, και αύξησε αυτές του Pb και του Sr. Για την E1 παρατηρήθηκε και αύξηση της συγκέντρωσης του Ni.

γ) Η προσθήκη ναρινγίνης (και στα δυο επίπεδα ενσωμάτωσης) μετέβαλλε τη συγκέντρωση όλων των ιχνοστοιχείων (πλην των τεσσάρων που αναφέρθηκαν πιο πριν) στο ασπράδι σε σχέση με τη συγκέντρωση του μάρτυρα πλην του Pb και του Sr.

Από τις μετρήσεις, διαπιστώνουμε ότι η συγκέντρωση του Ca μειώθηκε στις επεμβάσεις που προστέθηκε η ναρινγίνη σε σχέση με την επέμβαση του μάρτυρα αλλά και της βιταμίνης E ( $P < 0.05$ ). Πιο συγκεκριμένα, ενώ η συγκέντρωση του ασβεστίου στο ασπράδι των αυγών ορνιθίων που ελάμβαναν το σιτηρέσιο του μάρτυρα

ήταν 170000 ppb και σε αυτό με τη βιταμίνη E ήταν 162672, στις επεμβάσεις που χορηγήθηκε η ναρινγίνη N1 και N2 ήταν 100415 και 95117 ppb αντίστοιχα. Παρατηρήθηκε αύξηση κατά 12% στη συγκέντρωση του Cd στην επέμβαση N1 ενώ στην επέμβαση N2 της ναρινγίνης η αύξηση έφτασε το 27% σε σχέση με της επέμβαση του μάρτυρα. Επίσης, αξίζει να αναφερθεί ότι στην περίπτωση του Co σε όλες οι επεμβάσεις παρατηρείται μείωση της συγκέντρωσής του σε σχέση με την επέμβαση του μάρτυρα. Για το Cr παρατηρήθηκε αύξηση της συγκέντρωσής του σε σχέση με την επέμβαση του μάρτυρα (που ήταν 94 ppb) στις επεμβάσεις N1 και N2 κατά περίπου 8 και 29 ppb αντίστοιχα. Στην επέμβαση N2 παρατηρήθηκε αύξηση της συγκέντρωσης του Cu στο ασπράδι του αυγού κατά 280 % σε σχέση με την επέμβαση του μάρτυρα. Μικρότερη ήταν η αύξηση στο ασπράδι της επέμβασης N1 σε σχέση με το μάρτυρα. Στο σίδηρο διαφορές παρατηρήθηκαν μόνο για τη N2 σε σχέση με τη N1. Χρειάζεται επίσης να αναφερθεί ότι διαφορές παρατηρήθηκαν και στις επεμβάσεις της ναρινγίνης N1 και N2 για το στοιχείο Mn. Πιο συγκεκριμένα, στην επέμβαση N1 διαπιστώθηκε μείωση της συγκέντρωσης του Mn κατά σχεδόν 86 ppb ενώ στην επέμβαση N2 η μείωση έφτασε τα 113 ppb αντίστοιχα σε σχέση με την επέμβαση του μάρτυρα η συγκέντρωση του οποίου ήταν 169 ppb. Αντίθετα, στο στοιχείο Ni διαπιστώθηκε αντίθετη συμπεριφορά αφού στις επεμβάσεις N1 και N2 παρατηρήθηκε αύξηση των συγκεντρώσεων Ni κατά σχεδόν 84 και 91 ppb αντίστοιχα σε σχέση με την επέμβαση του μάρτυρα (34 ppb) ενώ επίσης παρατηρήθηκε αύξηση της συγκέντρωσης του Ni μόνο στην επέμβαση E1. Στην περίπτωση του στοιχείου Pb διαπιστώθηκε αύξηση της συγκέντρωσής του της τάξης του 60 % στην επέμβαση E2 σε σχέση με το μάρτυρα. Επιπλέον, σημαντική μείωση παρατηρήθηκε για το στοιχείο Sb στις επεμβάσεις E2, N1 και N2 πάντα σε σχέση με το μάρτυρα. Επίσης, αξίζει να τονιστεί ότι στο στοιχείο Se διαπιστώθηκε διαφοροποίηση μόνο μεταξύ των επεμβάσεων E2 και N2. Δεν διέφεραν στατιστικώς οι επεμβάσεις σε σχέση με το μάρτυρα παρότι κατά 6% υψηλότερη η συγκέντρωσής του στην επέμβαση E2 και κατά 23 % χαμηλότερη στη N2. Τέλος, για τα στοιχεία Sr, V και Zn, παρατηρείται αύξηση της συγκέντρωσης του Sr στην επέμβαση E2, αύξηση της συγκέντρωσης του V στην επέμβαση N2 ενώ ακόμη στην περίπτωση του Zn δεν υπάρχουν διαφορές στη συγκέντρωση μεταξύ των επεμβάσεων.

Στην επόμενη σελίδα, παρουσιάζεται ο Πίνακας 5.1 με την επίδραση της χορήγησης της εσπεριδίνης και της ναρινγίνης στη συγκέντρωση 17 ιχνοστοιχείων στο ασπράδι του αυγού.

## Πίνακας 5.1:

Επίδραση της χορήγησης εσπεριδίνης και ναρινγίνης στη συγκέντρωση 17 ιχνοστοιχείων στο ασπράδι του αυγού

	Επέμβαση (ppb)					
	M	E1	E2	N1	N2	VE
Βάρ. Αυγού (γρ)	65.63 ± 1.91	63.88 ± 1.95	67.13 ± 2.21	65.75 ± 1.62	68.00 ± 1.67	64.63 ± 1.93
Βάρ. Ασπρ. (γρ)	40.96 ± 1.37	39.90 ± 1.57	42.06 ± 1.89	41.49 ± 1.81	43.13 ± 1.37	40.16 ± 1.42
As	4.26 ± 0.21	4.39 ± 0.23	4.58 ± 0.29	4.55 ± 0.18	4.56 ± 0.28	4.01 ± 0.15
Ca	178715.00 ± 9576.50 <sup>b</sup>	170556.00 ± 24635.00 <sup>b</sup>	209284.00 ± 27185.00 <sup>b</sup>	100415 ± 3436.2 <sup>a</sup>	95117 ± 4750.3 <sup>a</sup>	162672 ± 15442.0 <sup>b</sup>
Cd	2.45 ± 0.05 <sup>a</sup>	2.65 ± 0.04 <sup>ab</sup>	2.56 ± 0.09 <sup>ab</sup>	2.76 ± 0.07 <sup>b</sup>	3.15 ± 0.12 <sup>c</sup>	2.41 ± 0.02 <sup>a</sup>
Co	24.95 ± 2.25 <sup>b</sup>	2.85 ± 0.22 <sup>a</sup>	2.50 ± 0.32 <sup>a</sup>	3.46 ± 0.37 <sup>a</sup>	4.09 ± 0.38 <sup>a</sup>	8.15 ± 3.27 <sup>a</sup>
Cr	93.78 ± 6.17 <sup>a</sup>	96.90 ± 4.50 <sup>a</sup>	94.66 ± 4.91 <sup>a</sup>	101.48 ± 3.43 <sup>ab</sup>	122.85 ± 8.27 <sup>b</sup>	84.63 ± 2.07 <sup>a</sup>
Cu	326.48 ± 17.64 <sup>a</sup>	570.76 ± 39.14 <sup>ab</sup>	511.90 ± 65.59 <sup>ab</sup>	698.76 ± 86.09 <sup>b</sup>	1241.14 ± 171.38 <sup>c</sup>	311.84 ± 9.18 <sup>a</sup>
Fe	17202.90 ± 295.40 <sup>abc</sup>	18630.00 ± 838.76 <sup>abc</sup>	18981.00 ± 1308.80 <sup>bc</sup>	19461.30 ± 976.40 <sup>c</sup>	16256.10 ± 482.51 <sup>a</sup>	16433.40 ± 778.53 <sup>ab</sup>
Mg	83029.00 ± 1578.60	95439.00 ± 2563.20	94702.00 ± 3475.20	93771.80 ± 3276.10	84495.70 ± 7048.40	87567.8 ± 3919.5
Mn	168.85 ± 19.66 <sup>b</sup>	111.56 ± 25.08 <sup>ab</sup>	104.18 ± 19.95 <sup>ab</sup>	82.89 ± 15.79 <sup>a</sup>	55.41 ± 6.23 <sup>a</sup>	112.03 ± 19.46 <sup>ab</sup>
Mo	115.74 ± 22.24	147.27 ± 18.11	128.29 ± 29.81	176.34 ± 31.05	134.06 ± 37.57	117.04 ± 31.25
Ni	33.88 ± 3.63 <sup>a</sup>	78.78 ± 9.95 <sup>b</sup>	60.31 ± 9.66 <sup>ab</sup>	117.51 ± 10.44 <sup>c</sup>	125.11 ± 13.03 <sup>c</sup>	33.83 ± 4.26 <sup>a</sup>
Pb	19.21 ± 2.10 <sup>a</sup>	22.55 ± 1.95 <sup>ab</sup>	30.84 ± 5.61 <sup>b</sup>	25.00 ± 1.32 <sup>ab</sup>	25.41 ± 1.25 <sup>ab</sup>	16.39 ± 0.42 <sup>a</sup>
Sb	3.19 ± 0.26 <sup>b</sup>	1.21 ± 0.80 <sup>ab</sup>	0.0175 ± 0.003 <sup>a</sup>	0.0125 ± 0.002 <sup>a</sup>	0.0325 ± 0.003 <sup>a</sup>	5.52 ± 1.04 <sup>c</sup>
Se	118.68 ± 7.05 <sup>ab</sup>	110.53 ± 7.14 <sup>ab</sup>	125.99 ± 9.64 <sup>b</sup>	99.73 ± 3.22 <sup>ab</sup>	91.69 ± 9.85 <sup>a</sup>	118.98 ± 6.32 <sup>ab</sup>
Sr	116.84 ± 6.90 <sup>a</sup>	120.24 ± 11.88 <sup>ab</sup>	157.49 ± 12.54 <sup>b</sup>	115.59 ± 6.72 <sup>a</sup>	108.05 ± 7.18 <sup>a</sup>	107.60 ± 5.71 <sup>a</sup>
V	103.46 ± 1.58 <sup>a</sup>	106.80 ± 2.00 <sup>ab</sup>	108.19 ± 3.67 <sup>ab</sup>	111.09 ± 0.78 <sup>ab</sup>	113.66 ± 3.01 <sup>b</sup>	101.88 ± 1.03 <sup>a</sup>
Zn	3459.20 ± 248.25	9730.30 ± 3449.0	4185.90 ± 935.80	18533.70 ± 8362.00	2713.90 ± 232.90	3276.40 ± 510.49

\*M: Μάρτυρας, E1: 750mg/kg τροφής, E2: 1500mg/kg τροφής, N1: 750mg/kg τροφής, N2: 1500mg/kg τροφής, VE: 200mg βιταμίνη E/kg τροφής.

a, b, c, d, σε κάθε γραμμή, μέσοι όροι με διαφορετικό εκθέτη διαφέρουν μεταξύ τους.



## **B) Αποτελέσματα ανάλυσης κυρίων συνιστωσών**

Πραγματοποιήθηκε ανάλυση κυρίων συνιστωσών (Principal Components Analysis, PCA) στο σύνολο των μεταβλητών. Η ανάλυση κυρίων συνιστωσών είναι ένας μαθηματικός μετασχηματισμός των δεδομένων, που αποσκοπεί στην εύρεση γραμμικών μετασχηματισμών των αρχικών μεταβλητών, έτσι ώστε η πληροφορία να μη χάνεται, αλλά οι νέες μεταβλητές, που ονομάζουμε συνιστώσες, να είναι ασυσχέτιστες μεταξύ τους.

Στην επόμενη σελίδα παρουσιάζεται στον Πίνακα 5.2 οι ιδιοτιμές (Eigenvalue) και τα ποσοστά διακύμανσης που εξηγούνται με την επιλογή συγκεκριμένου αριθμού συνιστωσών. Παρατηρώντας τις ιδιοτιμές στον πίνακα διαπιστώνουμε πως οι τρεις πρώτες συνιστώσες εξηγούν το 58,0% της συνολικής μεταβλητότητας. Σύμφωνα με την ανάλυση επιλέγονται 6 συνιστώσες οι οποίες ερμηνεύουν το 78,3% της συνολικής μεταβλητότητας (με τιμή ιδιοτιμών  $> 1,000$ ). Πιο αναλυτικά, η κύρια συνιστώσα 1 επεξηγεί το 26,53 % της συνολικής διακύμανσης, η κύρια συνιστώσα 2 επεξηγεί το 19,97 % της συνολικής διακύμανσης, η συνιστώσα 3 επεξηγεί το 11,51 % της συνολικής διακύμανσης, η συνιστώσα 4 επεξηγεί το 7,98 % της συνολικής διακύμανσης, η συνιστώσα 5 επεξηγεί το 6,47 % της συνολικής μεταβλητότητας και τέλος η συνιστώσα 6 επεξηγεί το 5,87 % της συνολικής μεταβλητότητας.

**Πίνακας 5.2:**

Ιδιοτιμές και ποσοστά διακύμανσης που εξηγούνται με την επιλογή συγκεκριμένου αριθμού συνιστωσών

<b>ΑΝΑΛΥΣΗ ΚΥΡΙΩΝ ΣΥΝΙΣΤΩΣΩΝ</b>			
<b>A/α</b>	<b>Ιδιοτιμή</b>	<b>Ποσοστό Διακύμανσης</b>	<b>Αθροιστικό ποσό διακύμανσης</b>
1	5,04	<b>26,53</b>	26,53
2	3,80	<b>19,97</b>	46,50
3	2,19	<b>11,52</b>	58,02
4	1,52	<b>7,98</b>	66,00
5	1,23	<b>6,47</b>	72,46
6	<b>1,12</b>	<b>5,87</b>	<b>78,33</b>
7	0,85	4,45	82,79
8	0,68	3,58	86,36
9	0,54	2,82	89,18
10	0,51	2,67	91,85
11	0,42	2,20	94,05
12	0,29	1,50	95,55
13	0,25	1,31	96,86
14	0,21	1,10	97,96
15	0,14	0,75	98,71
16	0,10	0,54	99,24
17	0,06	0,33	99,58
18	0,04	0,24	99,81
19	0,04	0,19	100,00

Στον πίνακα 5.3 περιέχονται οι συντελεστές των 19 μεταβλητών για τις 6 κύριες συνιστώσες. Οι μεταβλητές περιλαμβάνουν τα 17 ανόργανα στοιχεία που μελετήθηκαν αλλά και τα βάρη του ασπραδιού και του αυγού. Οι τιμές των μεταβλητών στην εξίσωση έχουν κανονικοποιηθεί, αφαιρώντας τις μέσες τιμές και διαιρώντας με τις τυπικές αποκλίσεις.

**Πίνακας 5.3:** Κύριες συνιστώσες που προκύπτουν από την ανάλυση

Μεταβλητές	Κύριες Συνιστώσες					
	Κ.Σ. 1	Κ.Σ. 2	Κ.Σ. 3	Κ.Σ. 4	Κ.Σ. 5	Κ.Σ. 6
Βάρ. Αυγού	0,14	-0,06	<b>-0,55</b>	0,31	0,12	0,14
Βάρ. Ασπρ.	0,15	-0,07	<b>-0,56</b>	0,29	0,08	0,14
As	0,23	0,22	-0,19	-0,42	-0,09	-0,04
Ca	-0,17	<b>0,41</b>	0,08	0,17	-0,02	-0,16
Cd	<b>0,36</b>	-0,06	0,10	-0,04	0,21	-0,18
Co	-0,23	0,06	-0,15	-0,10	<b>0,65</b>	-0,10
Cr	<b>0,33</b>	0,06	-0,02	-0,18	0,24	-0,32
Cu	<b>0,33</b>	-0,07	0,13	0,03	0,11	-0,22
Fe	0,05	<b>0,37</b>	0,30	0,21	0,03	0,14
Mg	0,14	<b>0,31</b>	-0,17	-0,13	-0,31	0,25
Mn	-0,22	0,31	0,00	0,04	<b>0,44</b>	-0,08
Mo	0,16	0,17	0,05	-0,22	0,24	<b>0,51</b>
Ni	<b>0,34</b>	-0,15	0,20	0,19	0,06	-0,05
Pb	0,22	0,18	0,02	<b>0,41</b>	0,07	0,00
Sb	<b>-0,29</b>	-0,05	-0,18	-0,21	-0,02	0,00
Se	-0,08	<b>0,41</b>	-0,13	-0,14	-0,04	-0,05
Sr	0,09	<b>0,40</b>	-0,03	0,28	-0,18	-0,21
V	<b>0,34</b>	0,14	-0,16	-0,34	-0,02	-0,09
Zn	0,13	0,01	0,24	0,01	0,21	<b>0,58</b>

Με έντονη γραφή συμβολίζονται τα στοιχεία με τις μεγαλύτερες απόλυτες τιμές, οι οποίες έχουν και τη μεγαλύτερη επίδραση μεταξύ των εξισώσεων των κυρίων συνιστωσών.

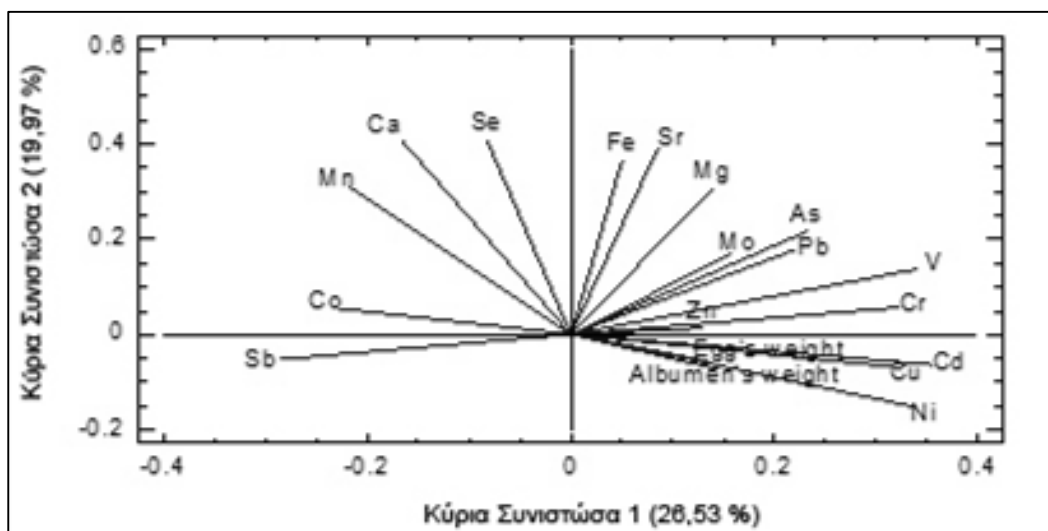
Κάθε μια από τις 6 συνιστώσες μπορεί να σχηματιστεί από τις 19 μεταβλητές λαμβάνοντας υπόψη την κάθετη στήλη του πίνακα. Επομένως, οι δύο κύριες συνιστώσες είναι οι:

$$Y_1 = 0,14 \cdot \text{Βάρ. Αυγού} + 0,15 \cdot \text{Βάρ. Ασπρ.} + 0,23 \cdot \text{As} - 0,17 \cdot \text{Ca} + 0,36 \cdot \text{Cd} - 0,23 \cdot \text{Co} + 0,33 \cdot \text{Cr} + 0,33 \cdot \text{Cu} + 0,05 \cdot \text{Fe} + 0,14 \cdot \text{Mg} - 0,22 \cdot \text{Mn} + 0,16 \cdot \text{Mo} + 0,34 \cdot \text{Ni} + 0,22 \cdot \text{Pb} - 0,29 \cdot \text{Sb} - 0,08 \cdot \text{Se} + 0,09 \cdot \text{Sr} + 0,34 \cdot \text{V} + 0,13 \cdot \text{Zn}$$

$$Y_2 = - 0,06 \cdot \text{Βάρ. Αυγού} - 0,07 \cdot \text{Βάρ. Ασπρ.} + 0,22 \cdot \text{As} + 0,41 \cdot \text{Ca} - 0,06 \cdot \text{Cd} + 0,06 \cdot \text{Co} + 0,06 \cdot \text{Cr} - 0,07 \cdot \text{Cu} + 0,37 \cdot \text{Fe} + 0,31 \cdot \text{Mg} + 0,31 \cdot \text{Mn} + 0,17 \cdot \text{Mo} - 0,15 \cdot \text{Ni} + 0,18 \cdot \text{Pb} - 0,05 \cdot \text{Sb} + 0,41 \cdot \text{Se} + 0,40 \cdot \text{Sr} + 0,14 \cdot \text{V} + 0,01 \cdot \text{Zn}$$

Συνδυαστικά από τους δυο προηγούμενους πίνακες μπορούμε να συμπεράνουμε ότι η κύρια συνιστώσα 1 επεξηγεί το 26,53 % της συνολικής διακύμανσης και ορίζεται κυρίως από την συγκέντρωση των στοιχείων Cd, Cr, Cu, Ni, Sb και V. Η συνιστώσα 2 επεξηγεί το 19,97 % της συνολικής διακύμανσης και ορίζεται κυρίως από την συγκέντρωση των στοιχείων Ca, Fe, Mg, Se και Sr. Η κύρια συνιστώσα 3 επεξηγεί το 11,51 % της συνολικής διακύμανσης και ορίζεται κυρίως από τις μεταβλητές του βάρους του αυγού καθώς και του βάρους του ασπραδιού. Η κύρια συνιστώσα 4 επεξηγεί το 7,97 % της συνολικής διακύμανσης και ορίζεται κυρίως από την συγκέντρωση των στοιχείων As και Pb. Η κύρια συνιστώσα 5 επεξηγεί το 6,47 % της συνολικής διακύμανσης και ορίζεται κυρίως από την συγκέντρωση των στοιχείων Co και Mn. Η κύρια συνιστώσα 6 επεξηγεί το 5,87 % της συνολικής διακύμανσης και ορίζεται κυρίως από την συγκέντρωση των στοιχείων Mo και Zn.

Στην επόμενη σελίδα παρουσιάζεται το Διάγραμμα 5.1 με την διασπορά των μεταβλητών.



**Διάγραμμα 5.1:** Διάγραμμα διασποράς μεταβλητών

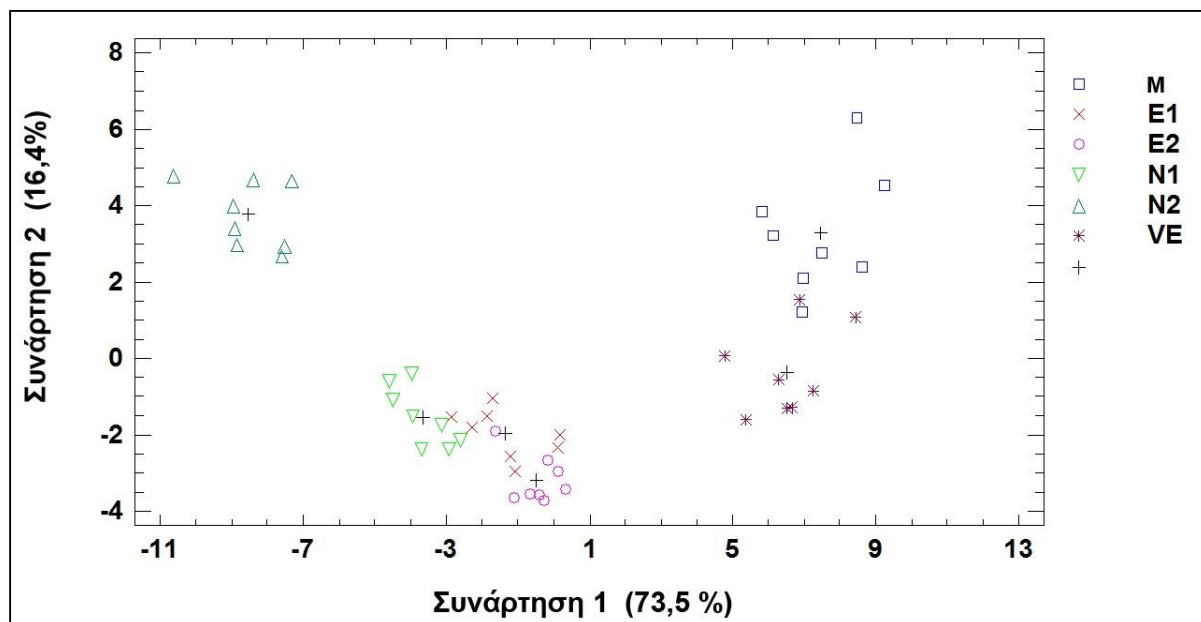
Στο Διάγραμμα 5.1 παρουσιάζονται οι 2 πρώτες κύριες συνιστώσες. Η κύρια συνιστώσα 1 επεξηγεί το 26,53 % της συνολικής διακύμανσης και ορίζεται κυρίως από την συγκέντρωση των στοιχείων Cd, Cr, Cu, Ni, Sb και V. Παρατηρώντας το διάγραμμα διαπιστώνουμε ότι τα στοιχεία αυτά Cd, Cr, Cu, Ni, και V βρίσκονται πολύ κοντά μεταξύ τους και συνεπώς υπάρχει υψηλή θετική συσχέτιση μεταξύ των στοιχείων αυτών. Αντίθετα, το στοιχείο Sb παρουσιάζει αρνητική συσχέτιση με τα υπόλοιπα στοιχεία Cr και V. Η κύρια συνιστώσα 2 επεξηγεί το 19,97 % της συνολικής διακύμανσης και ορίζεται κυρίως από την συγκέντρωση των στοιχείων Ca, Fe, Mg, Se και Sr. Τα στοιχεία αυτά Ca και Se βρίσκονται αρκετά κοντά μεταξύ τους και διαπιστώνουμε ότι υπάρχει θετική συσχέτιση μεταξύ των στοιχείων αυτών.

## Γ) Αποτελέσματα διακριτικής ανάλυσης

Στη συνέχεια, πραγματοποιήθηκε διακριτική ανάλυση. Η διακριτική ανάλυση έχει σκοπό να δημιουργήσει κανόνες από ήδη υπάρχοντα δεδομένα, ώστε να είναι σε θέση κανείς να κατατάξει μελλοντικές παρατηρήσεις σε έναν από τους υπό εξέταση πληθυσμούς. Ένα ποσοστό 95,83 % των μετρήσεων ομαδοποιήθηκαν επιτυχώς, δηλαδή, 46 στα 48 δείγματα. Για τα δεδομένα από το ασπράδι του αυγού, τρεις στατιστικώς σημαντικές διακριτικές συναρτήσεις σχηματίστηκαν.

Τα στοιχεία Cd, Sb, Se, Sr και V διαπιστώθηκε ότι έχουν υψηλή βαρύτητα στη διακριτική συνάρτηση 1 η οποία εκφράζει το 73,5 % της μεταβλητότητας του συνόλου των μετρήσεων ενώ τα στοιχεία Co, Cr, Cu, Mn και Zn έχουν σημαντική επιρροή στη διακριτή συνάρτηση 2 η οποία εκφράζει το 16,4 % της μεταβλητότητας του συνόλου των μετρήσεων ενώ τέλος το βάρος του αυγού, της αλβουμίνης, και τα στοιχεία As, Ca και Ni τα οποία έχουν σημαντική επιρροή στη συνάρτηση 3.

Στην συνέχεια, παρουσιάζεται το διάγραμμα διακριτικής ανάλυσης με τις δυο κύριες διακριτικές συναρτήσεις.



Διάγραμμα 5.2: Διάγραμμα διακριτικής ανάλυσης

Επιθεωρώντας το Διάγραμμα 5.2, μπορούμε να παρατηρήσουμε ότι στο δεξιό τμήμα του γραφήματος τα αποτελέσματα της συγκέντρωσης των ιχνοστοιχείων των επεμβάσεων του μάρτυρα (M) και της επέμβασης με τη βιταμίνη E (VE) τα οποία διαχωρίζονται κανονικά αλλά έχουν παραπλήσια συμπεριφορά.

Ακόμη, μπορούμε να παρατηρήσουμε ότι τα σημεία που σχηματίζονται από τις επεμβάσεις E1, E2 και N1 είναι αρκετά κοντά μεταξύ τους. Για το λόγο αυτό, μπορεί να ειπωθεί ότι υπάρχει παραπλήσια συμπεριφορά μεταξύ των τριών επεμβάσεων στις συγκεντρώσεις των στοιχείων στο ασπράδι του αυγού.

Τα στοιχεία Cd, Sb, Se, Sr και V, που καθορίζουν τη διακριτική συνάρτηση 1, φαίνεται να έχουν παρεμφερείς συγκεντρώσεις και να μην επηρεάζονται από τη χορήγηση είτε 750 mg ναρινγίνης/kg σιτηρεσίου (N1) είτε 750 mg εσπεριδίνης/kg σιτηρεσίου (E1). Το αντίθετο ισχύει για τα στοιχεία μεταξύ των επεμβάσεων του μάρτυρα (M) και της επέμβασης N2 που βρίσκονται αντιδιαμετρικά στο διάγραμμα.

### **5.1.2 Λέκιθος αυγού**

#### **A) Αποτελέσματα ανάλυσης διακύμανσης (ANOVA)**

Στον Πίνακα 5.4 παρουσιάζεται η επίδραση της χορήγησης εσπεριδίνης και ναρινγίνης στο σιτηρέσιο ωοπαραγωγών ορνιθίων, στη συγκέντρωση 17 ιχνοστοιχείων στη λέκιθο του αυγού αλλά και στο βάρος του αυγού καθώς και της λέκιθου (Μέσος όρος  $\pm$  Τυπικό σφάλμα).

Συνοπτικά παρατηρείται ότι καμία διατροφική επέμβαση δεν επηρέασε στατιστικώς το βάρος του αυγού και της λέκιθου. Όσον αφορά τη συγκέντρωση των ιχνοστοιχείων βρέθηκε ότι η συγκέντρωση των στοιχείων που μετρήθηκαν επηρεάστηκε από τις διατροφικές επεμβάσεις εκτός των ιχνοστοιχείων Mn, Mo και Se. Πιο συγκεκριμένα:

α) Η προσθήκη βιταμίνης E στο σιτηρέσιο μετέβαλε τη συγκέντρωση ενός στοιχείου στη λέκιθο του αυγού σε σχέση με τη συγκέντρωση της επέμβασης του μάρτυρα. Πιο συγκεκριμένα, η συγκέντρωση του Co μειώθηκε σε σχέση με αυτή του μάρτυρα.

β) Η προσθήκη εσπεριδίνης σε συγκέντρωση των 750 mg/kg σιτηρεσίου, αύξησε τη συγκέντρωση των ιχνοστοιχείων Ca, Cr, Cu, Fe, Mg, Ni, Pb, Sr και Zn σε σχέση με την επέμβαση του μάρτυρα.

γ) Η προσθήκη εσπεριδίνης σε συγκέντρωση των 1500 mg/kg σιτηρεσίου, αύξησε τη συγκέντρωση των ιχνοστοιχείων As και Pb σε σχέση με την επέμβαση του μάρτυρα. Επιπλέον, αξίζει να τονιστεί ότι τα ιχνοστοιχεία Co και Sb παρουσίασαν μείωση των συγκεντρώσεών τους.

δ) Η προσθήκη ναρινγίνης σε συγκέντρωση των 750 mg/kg σιτηρεσίου, αύξησε τις συγκεντρώσεις των ιχνοστοιχείων Ca, Cr, Fe, Ni ενώ μείωσε αυτές του Co και Sb.

ε) Η προσθήκη ναρινγίνης σε συγκέντρωση των 1500 mg/kg σιτηρεσίου μείωσε τη συγκέντρωση του Sb αλλά μετέβαλλε θετικά τις συγκεντρώσεις των ιχνοστοιχείων Cd, Cr, Cu, Ni και V.

Από τις μετρήσεις παρατηρείται ότι στο στοιχείο Ca διαπιστώνεται αύξηση της συγκέντρωσής του στη λέκιθο του αυγού στις επεμβάσεις E1 και N1 κατά 19 και 14 % αντίστοιχα σε σχέση με την επέμβαση του μάρτυρα. Αντίστοιχη συμπεριφορά παρατηρούμε και στο στοιχείο Cd στο οποίο διαπιστώνεται αύξηση των συγκεντρώσεων Cd στις επεμβάσεις E1 που ήταν 3,78 ppb και N2 που ήταν 3,94 σε σχέση με την επέμβαση του μάρτυρα που ήταν 3,06 ppb. Αντίθετα, στο στοιχείο Co παρατηρείται μείωση στις συγκεντρώσεις του στις επεμβάσεις E2, N1 και N2 κατά 19, 22 και 21 ppb αντίστοιχα σε σχέση με την επέμβαση του μάρτυρα που ήταν 30 ppb. Ακόμη, στο στοιχείο Cr παρατηρείται αύξηση στις συγκεντρώσεις του στοιχείου στη λέκιθο του αυγού στις επεμβάσεις E1, N1 και N2 σε σχέση με την επέμβαση του μάρτυρα. Για το Cu παρατηρήθηκε αύξηση στις συγκεντρώσεις του στοιχείου στις επεμβάσεις E1 και N2 κατά 34 και 65 % αντίστοιχα σε σχέση με την επέμβαση του μάρτυρα. Ωστόσο, αξίζει να σημειωθεί ότι η αύξηση της συγκέντρωσης δεν συνεχίζεται στην επέμβαση E2, όπου η χορηγούμενη ποσότητα εσπεριδίνης που χορηγείται διαμέσου του σιτηρεσίου είναι διπλάσια σε σχέση με την επέμβαση E1. Επιπλέον, στο στοιχείο Fe παρατηρείται αύξηση στις συγκεντρώσεις του στοιχείου στις επεμβάσεις E1 και N1 κατά 17307 και 14101 ppb αντίστοιχα σε σχέση με την επέμβαση του μάρτυρα (που ήταν 76446 ppb). Ωστόσο αξίζει να αναφερθεί ότι ο Fe παρουσιάζει μείωση της συγκέντρωσης του στις επεμβάσεις E2 και N2, μία συμπεριφορά την οποία παρατηρούμε και στο στοιχείο Cu όσο διπλασιάζεται η χορηγούμενη δόση των δύο φλαβονοειδών. Επιπρόσθετα, στο στοιχείο Mg διαπιστώνεται αύξηση στη μετρούμενη



συγκέντρωση του στοιχείου στην επέμβαση E1. Ακολούθως, στο στοιχείο Ni παρατηρείται αύξηση της συγκέντρωσης του στοιχείου στις επεμβάσεις E1, N1 και N2 κατά 85, 106 και 158,25 % σε σχέση με την επέμβαση του μάρτυρα. Επιπρόσθετα, στο στοιχείο Pb διαπιστώνεται αύξηση της συγκέντρωσης του στοιχείου κατά περίπου 18 ppm τόσο στην E1 επέμβαση όσο και στην E2 σε σχέση με την επέμβαση του μάρτυρα (που ήταν 20,85 ppm). Επίσης, στο στοιχείο Sb διαπιστώνεται ιδιαίτερη μείωση της συγκέντρωσής του σε όλες τις επεμβάσεις φτάνοντας την μικρότερη τιμή στην επέμβαση N1. Επιπλέον, αξίζει να τονιστεί ότι για το στοιχείο Se δεν παρατηρήθηκε διαφοροποίηση στη συγκέντρωσή του μεταξύ των επεμβάσεων με σημαντικά στατιστική διαφορά σε σχέση με την επέμβαση του μάρτυρα. Ωστόσο, είναι αξιοπρόσεκτο πως στην επέμβαση E1 όπου χορηγήθηκαν 750mg εσπεριδίνης ανά kg σιτηρεσίου παρουσιάστηκε αύξηση της συγκέντρωσης του Se κατά σχεδόν 14 %. Τέλος, για τα στοιχεία Sr, V και Zn, παρατηρείται αύξηση της συγκέντρωσης του Sr στην επέμβαση E1, αύξηση της συγκέντρωσης του V στην επέμβαση N2 ενώ ακόμη στην περίπτωση του Zn διαπιστώθηκε αύξηση της συγκέντρωσής του στην επέμβαση E1.

Στην επόμενη σελίδα, παρουσιάζεται ο Πίνακας 5.4 με την επίδραση της χορήγησης της εσπεριδίνης και της ναρινγίνης στη συγκέντρωση 17 ιχνοστοιχείων στη λέκιθο του αυγού.

### Πίνακας 5.4:

Επίδραση της χορήγησης εσπεριδίνης και ναρινγίνης στη συγκέντρωση 17 ιχνοστοιχείων στη λέκιθο του αυγού

	Επέμβαση (ppb)					
	M	E1	E2	N1	N2	VE
Βάρ. Αυγού (γρ)	65.63 ± 1.92	63.88 ± 1.95	67.13 ± 2.21	65.75 ± 1.62	68.00 ± 1.67	64.63 ± 1.93
Βάρ. Λεκίθ. (γρ)	17.63 ± 0.52	16.67 ± 0.52	18.00 ± 0.29	17.00 ± 0.44	17.13 ± 0.52	17.05 ± 0.56
As	4.59 ± 0.20 <sup>ab</sup>	5.06 ± 0.26 <sup>ab</sup>	5.19 ± 0.32 <sup>b</sup>	4.75 ± 0.26 <sup>ab</sup>	5.31 ± 0.22 <sup>b</sup>	4.38 ± 0.17 <sup>a</sup>
Ca	1.452x10 <sup>6</sup> ± 38245.5 <sup>a</sup>	1.728x10 <sup>6</sup> ± 42757.7 <sup>b</sup>	1.592x10 <sup>6</sup> ± 41252.70 <sup>ab</sup>	1.653x10 <sup>6</sup> ± 76720.8 <sup>b</sup>	1.592x10 <sup>6</sup> ± 41734.80 <sup>ab</sup>	1.402x10 <sup>6</sup> ± 30993.30 <sup>a</sup>
Cd	3.06 ± 0.10 <sup>a</sup>	3.78 ± 0.21 <sup>b</sup>	3.35 ± 0.17 <sup>ab</sup>	3.35 ± 0.15 <sup>ab</sup>	3.94 ± 0.20 <sup>b</sup>	2.90 ± 0.14 <sup>a</sup>
Co	30.44 ± 4.60 <sup>b</sup>	18.43 ± 6.97 <sup>ab</sup>	11.21 ± 3.07 <sup>a</sup>	7.98 ± 0.49 <sup>a</sup>	9.85 ± 0.24 <sup>a</sup>	12.44 ± 3.21 <sup>a</sup>
Cr	144.70 ± 1.68 <sup>a</sup>	188.11 ± 10.37 <sup>b</sup>	160.81 ± 3.94 <sup>ab</sup>	185.79 ± 10.72 <sup>b</sup>	192.93 ± 9.30 <sup>b</sup>	131.88 ± 8.43 <sup>a</sup>
Cu	1485.97 ± 47.90 <sup>a</sup>	1993.15 ± 123.85 <sup>b</sup>	1755.32 ± 139.61 <sup>ab</sup>	1883.93 ± 67.66 <sup>ab</sup>	2444.86 ± 153.59 <sup>c</sup>	1477.16 ± 40.16 <sup>a</sup>
Fe	76446.90 ± 2166.95 <sup>a</sup>	93753.8 ± 4111.74 <sup>b</sup>	83928.6 ± 3649.24 <sup>ab</sup>	90547.80 ± 5191.74 <sup>b</sup>	86095.70 ± 2128.95 <sup>ab</sup>	76851.9 ± 3911.22 <sup>a</sup>
Mg	98988.30 ± 1283.61 <sup>a</sup>	112877 ± 3259.71 <sup>b</sup>	106972 ± 2207.79 <sup>ab</sup>	107764.00 ± 3810.44 <sup>ab</sup>	102809 ± 2192.09 <sup>ab</sup>	95459.3 ± 2547.38 <sup>a</sup>
Mn	1132.21 ± 124.54	1222.97 ± 126.56	1093.19 ± 38.61	1207.33 ± 130.51	1173.03 ± 86.70	1193.88 ± 80.06
Mo	843.21 ± 124.74	1509.76 ± 349.69	832.99 ± 190.57	1203.24 ± 261.43	1360.28 ± 377.83	735.24 ± 87.83
Ni	56.41 ± 2.68 <sup>ab</sup>	104.49 ± 7.60 <sup>c</sup>	86.83 ± 6.74 <sup>bc</sup>	116.43 ± 8.08 <sup>cd</sup>	145.68 ± 13.71 <sup>d</sup>	52.91 ± 2.37 <sup>a</sup>
Pb	20.85 ± 1.43 <sup>a</sup>	38.40 ± 9.82 <sup>b</sup>	38.21 ± 5.82 <sup>b</sup>	23.30 ± 2.39 <sup>ab</sup>	27.84 ± 1.89 <sup>ab</sup>	21.41 ± 2.72 <sup>a</sup>
Sb	2.88 ± 0.52 <sup>bc</sup>	1.13 ± 0.74 <sup>ab</sup>	0.05 ± 0.03 <sup>a</sup>	0.013 ± 0.003 <sup>a</sup>	0.041 ± 0.008 <sup>a</sup>	4.45 ± 0.77 <sup>c</sup>
Se	457.38 ± 15.27	520.91 ± 24.67	466.48 ± 12.08	483.38 ± 17.66	472.84 ± 16.11	466.58 ± 25.75
Sr	534.76 ± 9.90 <sup>a</sup>	665.54 ± 46.32 <sup>b</sup>	584.34 ± 20.59 <sup>ab</sup>	600.43 ± 37.14 <sup>ab</sup>	585.64 ± 17.53 <sup>ab</sup>	525.85 ± 22.05 <sup>a</sup>
V	105.29 ± 1.64 <sup>ab</sup>	114.51 ± 3.72 <sup>bc</sup>	114.33 ± 3.06 <sup>bc</sup>	114.33 ± 1.93 <sup>bc</sup>	119.26 ± 2.27 <sup>c</sup>	102.84 ± 2.02 <sup>a</sup>
Zn	43526.70 ± 1649.6 <sup>a</sup>	55172.80 ± 3247.20 <sup>b</sup>	48275.00 ± 1908.10 <sup>ab</sup>	48697.40 ± 2298.20 <sup>ab</sup>	47815.20 ± 1439.10 <sup>ab</sup>	44298.00 ± 1639.60 <sup>a</sup>

\*M: Μάρτυρας, E1: 750mg/kg τροφής, E2: 1500mg/kg τροφής, N1: 750mg/kg τροφής, N2: 1500mg/kg τροφής, VE: 200mg βιταμίνη E/kg τροφής.

a, b, c, d, σε κάθε γραμμή, μέσοι όροι με διαφορετικό εκθέτη διαφέρουν μεταξύ τους.

## **B) Αποτελέσματα ανάλυσης κυρίων συνιστωσών**

Έγινε ανάλυση κυρίων συνιστωσών (Principal Components Analysis, PCA) η οποία πραγματοποιήθηκε στο σύνολο των μεταβλητών με σκοπό τη δημιουργία γραμμικών συνδυασμών των αρχικών μεταβλητών (συνιστώσες) ασυσχέτιστων μεταξύ τους οι οποίες να περιέχουν όσο γίνεται μεγαλύτερο μέρος της διακύμανσης αυτών των μεταβλητών.

Στην επόμενη σελίδα παρουσιάζεται στον Πίνακα 5.5 οι ιδιοτιμές (Eigenvalue) και τα ποσοστά διακύμανσης που εξηγούνται με την επιλογή συγκεκριμένου αριθμού συνιστωσών. Παρατηρώντας τις ιδιοτιμές στον πίνακα διαπιστώνουμε πως οι τρεις πρώτες συνιστώσες εξηγούν το 61,47% της συνολικής διακύμανσης. Σύμφωνα με την ανάλυση επιλέγονται 5 συνιστώσες οι οποίες ερμηνεύουν το 76,8% της συνολικής διακύμανσης (με τιμή ιδιοτιμών  $> 1,000$ ). Πιο αναλυτικά, η κύρια συνιστώσα 1 επεξηγεί το 39,70 % της συνολικής διακύμανσης, η κύρια συνιστώσα 2 επεξηγεί το 12,58 % της συνολικής διακύμανσης, η συνιστώσα 3 επεξηγεί το 9,20 % της συνολικής διακύμανσης, η συνιστώσα 4 επεξηγεί το 8,54 % της συνολικής διακύμανσης και τέλος η συνιστώσα 5 επεξηγεί το 6,78 % της ολικής μεταβλητότητας.

**Πίνακας 5.5:** Ιδιοτιμές και ποσοστά διακύμανσης που εξηγούνται με την επιλογή συγκεκριμένου αριθμού συνιστωσών

<b>ΑΝΑΛΥΣΗ ΚΥΡΙΩΝ ΣΥΝΙΣΤΩΣΩΝ</b>			
<b>A/α</b>	<b>Ιδιοτιμή</b>	<b>Ποσοστό Διακύμανσης</b>	<b>Αθροιστικό ποσό διακύμανσης</b>
<b>1</b>	7,54	<b>39,70</b>	39,70
<b>2</b>	2,39	<b>12,58</b>	52,28
<b>3</b>	1,75	<b>9,20</b>	61,47
<b>4</b>	1,6	<b>8,54</b>	70,01
<b>5</b>	<b>1,29</b>	<b>6,78</b>	<b>76,79</b>
<b>6</b>	0,84	4,41	81,20
<b>7</b>	0,77	4,03	85,23
<b>8</b>	0,55	2,90	88,13
<b>9</b>	0,50	2,61	90,75
<b>10</b>	0,40	2,12	92,87
<b>11</b>	0,38	1,99	94,86
<b>12</b>	0,29	1,51	96,37
<b>13</b>	0,21	1,11	97,47
<b>14</b>	0,18	0,93	98,40
<b>15</b>	0,09	0,47	98,87
<b>16</b>	0,07	0,39	99,25
<b>17</b>	0,05	0,29	99,54
<b>18</b>	0,05	0,28	99,82
<b>19</b>	0,03	0,18	100,00

Στον πίνακα 5.6 παρουσιάζονται οι συντελεστές των 19 μεταβλητών που απαρτίζουν τις 5 κύριες συνιστώσες. Οι μεταβλητές περιλαμβάνουν τα 17 ανόργανα στοιχεία που μελετήθηκαν αλλά και τα βάρη της λεκίθου και του αυγού. Οι τιμές των μεταβλητών στην εξίσωση έχουν κανονικοποιηθεί, αφαιρώντας τις μέσες τιμές και διαιρώντας με τις τυπικές αποκλίσεις.

**Πίνακας 5.6:** Κύριες συνιστώσες που προκύπτουν από την ανάλυση

Μεταβλητές	Κύριες Συνιστώσες				
	Κ.Σ. 1	Κ.Σ. 2	Κ.Σ. 3	Κ.Σ. 4	Κ.Σ. 5
Βάρ. Αυγού	0,09	0,23	<b>0,44</b>	-0,37	-0,12
Βάρ. Λεκίθ.	0,11	0,09	0,40	<b>-0,44</b>	-0,12
As	-0,17	0,19	0,13	0,05	<b>0,69</b>
Ca	<b>-0,33</b>	-0,08	-0,13	-0,05	-0,15
Cd	-0,24	0,20	0,27	<b>0,34</b>	-0,21
Co	0,00	-0,34	<b>0,48</b>	0,14	0,23
Cr	<b>-0,24</b>	0,20	0,12	-0,12	-0,21
Cu	<b>-0,26</b>	0,17	-0,05	-0,13	0,01
Fe	<b>-0,30</b>	-0,10	-0,21	-0,08	-0,04
Mg	<b>-0,31</b>	-0,12	-0,06	-0,03	0,07
Mn	-0,15	-0,39	0,10	<b>-0,40</b>	-0,03
Mo	-0,15	0,09	0,33	<b>0,49</b>	-0,27
Ni	-0,23	<b>0,28</b>	-0,02	-0,23	-0,12
Pb	-0,15	0,00	<b>0,21</b>	0,15	-0,10
Sb	0,16	<b>-0,44</b>	0,26	0,05	0,04
Se	-0,24	<b>-0,29</b>	0,02	-0,04	0,02
Sr	<b>-0,32</b>	-0,20	0,04	-0,10	-0,09
V	-0,26	0,23	0,13	-0,05	<b>0,46</b>
Zn	<b>-0,31</b>	-0,20	0,00	0,05	-0,02

Με έντονη γραφή συμβολίζονται τα στοιχεία με τις μεγαλύτερες απόλυτες τιμές, οι οποίες έχουν και τη μεγαλύτερη επίδραση μεταξύ των εξισώσεων των κυρίων συνιστωσών.

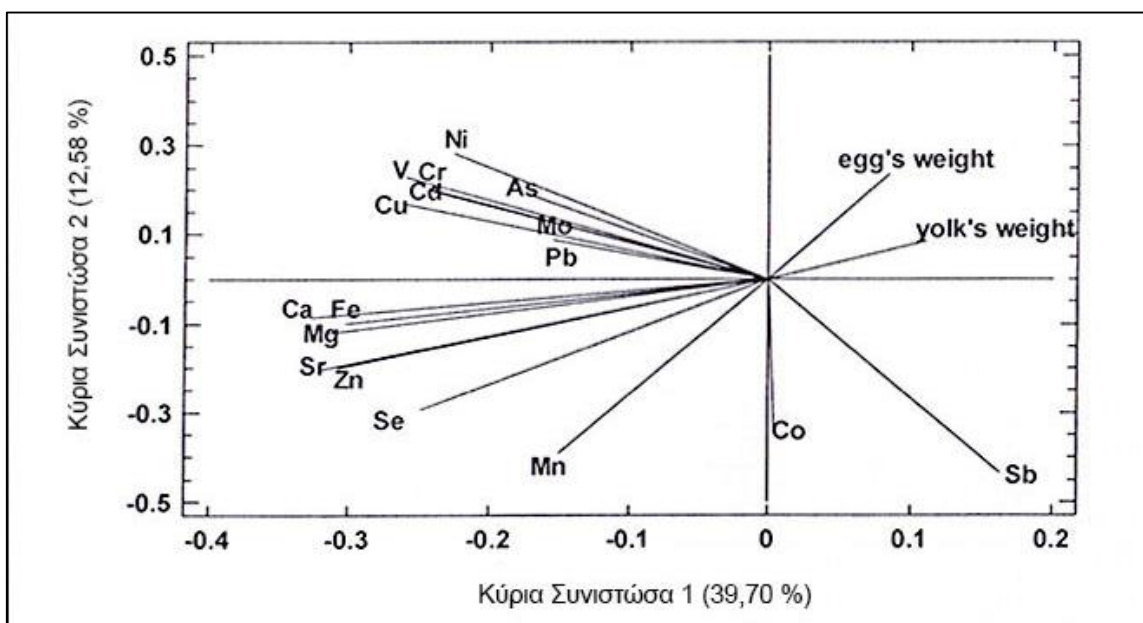
Κάθε μια από τις 5 συνιστώσες μπορεί να σχηματιστεί από τις 19 μεταβλητές λαμβάνοντας υπόψη την κάθετη στήλη του πίνακα. Επομένως, οι δύο κύριες συνιστώσες είναι οι:

$$Y_1 = 0,09 \cdot \text{Βάρ. Αυγού} + 0,11 \cdot \text{Βάρ. Λεκίθ.} - 0,17 \cdot \text{As} - 0,33 \cdot \text{Ca} - 0,24 \cdot \text{Cd} + 0,00 \cdot \text{Co} - 0,24 \cdot \text{Cr} - 0,26 \cdot \text{Cu} - 0,30 \cdot \text{Fe} - 0,31 \cdot \text{Mg} - 0,15 \cdot \text{Mn} - 0,15 \cdot \text{Mo} - 0,23 \cdot \text{Ni} - 0,15 \cdot \text{Pb} + 0,16 \cdot \text{Sb} - 0,25 \cdot \text{Se} - 0,32 \cdot \text{Sr} - 0,26 \cdot \text{V} - 0,31 \cdot \text{Zn}$$

$$Y_2 = 0,23 \cdot \text{Βάρ. Αυγού} + 0,09 \cdot \text{Βάρ. Λεκίθ.} + 0,19 \cdot \text{As} - 0,08 \cdot \text{Ca} + 0,20 \cdot \text{Cd} - 0,34 \cdot \text{Co} + 0,20 \cdot \text{Cr} + 0,17 \cdot \text{Cu} - 0,10 \cdot \text{Fe} - 0,12 \cdot \text{Mg} - 0,39 \cdot \text{Mn} + 0,09 \cdot \text{Mo} + 0,28 \cdot \text{Ni} + 0,00 \cdot \text{Pb} - 0,44 \cdot \text{Sb} - 0,29 \cdot \text{Se} - 0,20 \cdot \text{Sr} + 0,23 \cdot \text{V} - 0,20 \cdot \text{Zn}$$

Συνδυαστικά από τους δυο προηγούμενους πίνακες μπορούμε να συμπεράνουμε ότι η κύρια συνιστώσα 1 επεξηγεί το 39,70 % της συνολικής διακύμανσης και ορίζεται κυρίως από τη συγκέντρωση των στοιχείων Ca, Cr, Cu, Fe, Mg, Sr και Zn. Η συνιστώσα 2 επεξηγεί το 12,58 % της συνολικής διακύμανσης και ορίζεται κυρίως από τη συγκέντρωση των στοιχείων Ni, Sb και Se. Η κύρια συνιστώσα 3 επεξηγεί το 9,20 % της συνολικής διακύμανσης και ορίζεται κυρίως από τη μεταβλητή του βάρους του αυγού καθώς και από τη συγκέντρωση του στοιχείου Pb. Η κύρια συνιστώσα 4 επεξηγεί το 8,54 % της συνολικής διακύμανσης και ορίζεται κυρίως από το βάρος της λεκίθου του αυγού καθώς και τη συγκέντρωση των στοιχείων Cd, Mn και Mo. Η κύρια συνιστώσα 5 επεξηγεί το 6,78 % της συνολικής διακύμανσης και ορίζεται κυρίως από την συγκέντρωση των στοιχείων As και V.

Παρακάτω παρουσιάζεται το Διάγραμμα 5.3 με την διασπορά των μεταβλητών.



**Διάγραμμα 5.3:** Διάγραμμα διασποράς μεταβλητών

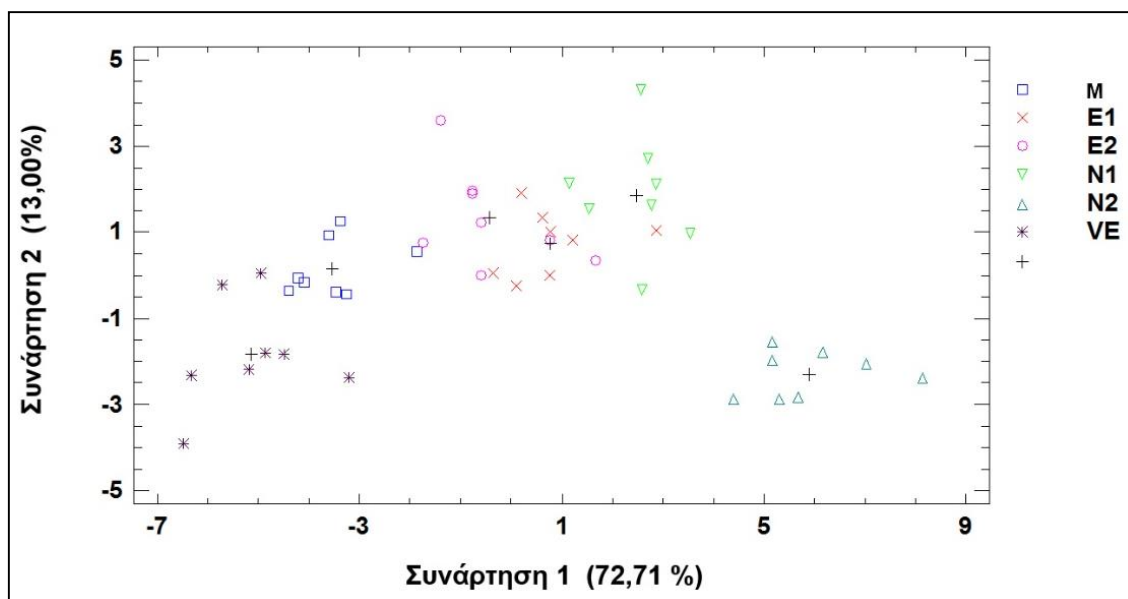
Στο Διάγραμμα 5.3 παρουσιάζονται οι 2 κύριες συνιστώσες. Η κύρια συνιστώσα 1 επεξηγεί το 39.70 % της συνολικής διακύμανσης και ορίζεται κυρίως από την συγκέντρωση των στοιχείων Ca, Cr, Cu, Fe, Mg, Sr και Zn. Παρατηρώντας το διάγραμμα διαπιστώνουμε ότι τα στοιχεία Ca, Fe, Mg, Sr και Zn βρίσκονται πολύ κοντά μεταξύ τους και συνεπώς υπάρχει υψηλή θετική συσχέτιση μεταξύ των στοιχείων αυτών. Επίσης παρατηρούμε τη συσχέτιση λεκίθου και βάρους αυγού.

### Γ) Αποτελέσματα διακριτικής ανάλυσης

Όλες οι μετρήσεις των δειγμάτων ομαδοποιήθηκαν επιτυχώς σε όλες τις περιπτώσεις σε ποσοστό 91,67 %. Για τα δεδομένα από την λέκιθο του αυγού, τρεις στατιστικώς σημαντικές διακριτικές συναρτήσεις σχηματίστηκαν για την ομαδοποίηση των μετρήσεων ανάλογα με τις επεμβάσεις.

Από τα στοιχεία των μετρήσεων, τα στοιχεία Cr, Cu, Ni και Sr διαπιστώθηκε ότι επηρεάζουν τη διακριτική συνάρτηση 1 κοντά σε ποσοστό 73 % ενώ τα στοιχεία Cd, Mg, Mo και Sb καθώς και το βάρος της λέκιθου έχουν σημαντική επιρροή στη διακριτή συνάρτηση 2 η οποία εκφράζει το 13,00 % της μεταβλητότητας των δεδομένων και τέλος το βάρος του αυγού και στοιχεία τα As, Ca, Pb, V και Zn την συνάρτηση 3.

Στην συνέχεια παρουσιάζεται το διάγραμμα διακριτικής ανάλυσης με τις δυο κύριες διακριτικές συναρτήσεις



**Διάγραμμα 5.4:** Διάγραμμα διακριτικής ανάλυσης

Επιθεωρώντας το Διάγραμμα 5.4, μπορούμε να παρατηρήσουμε ότι στο αριστερό τμήμα του γραφήματος υπάρχει συνάφεια μεταξύ των επεμβάσεων του μάρτυρα (M) και της επέμβασης με τη βιταμίνη E (VE).

Επιπλέον, μπορούμε να παρατηρήσουμε ότι τα σημεία που σχηματίζονται από τις επεμβάσεις E1, E2 και N1 είναι κοντά μεταξύ τους. Για το λόγο αυτό, μπορεί να ειπωθεί ότι υπάρχει συσχέτιση μεταξύ των τριών επεμβάσεων στις συγκεντρώσεις των

στοιχείων στη λέκιθο του αυγού. Τα στοιχεία Cr, Cu, Ni και Sr, που καθορίζουν τη διακριτική συνάρτηση 1, φαίνεται να έχουν παρεμφερείς συγκεντρώσεις και να μην επηρεάζονται από τη χορήγηση είτε 750 mg ναρινγίνης/kg σιτηρεσίου (N1) είτε 750 mg εσπεριδίνης/kg σιτηρεσίου (E1). Το αντίθετο ισχύει για την συσχέτιση μεταξύ των επεμβάσεων του μάρτυρα (M) και της επέμβασης N2 που βρίσκονται αντιδιαμετρικά στο διάγραμμα.



## ΚΕΦΑΛΑΙΟ 6: ΣΧΟΛΙΑΣΜΟΣ ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΩΝ

Τα φλαβονοειδή είναι υπό διερεύνηση ως μία από τις εναλλακτικές λύσεις, που φαίνεται να προάγουν την παραγωγικότητα των ζώων και βελτιώνουν την απόδοση της εκμετάλλευσης εξαιτίας των σημαντικών ιδιοτήτων τους, με κυριότερη την αντιοξειδωτική τους ικανότητα. Επιπλέον, εκτός από τη σημαντική αντιοξειδωτική δράση που προσφέρει στον οργανισμό η χορήγησή τους, οι ιδιότητες τους επεκτείνονται σε δράσεις όπως αντιφλεγμονώδης, αντικαρκινική, αντιϊική, αντιβακτηριακή, αντιμυκητιακή και σπασμολυτική δράση. Ωστόσο, παρά την εκτεταμένη έρευνα που πραγματοποιείται γύρω από τα φλαβονοειδή, κυρίως για τον άνθρωπο και τη διατροφή του, δεν υπάρχουν αντίστοιχες μελέτες που να εξετάζουν την επίδραση τους στις όρνιθες αυγοπαραγωγής και στα προϊόντα τους, δηλαδή, τα αυγά.

Σκοπός της παρούσας μεταπτυχιακής μελέτης ήταν η διερεύνηση της επίδρασης του εμπλουτισμού της τροφής με δύο φλαβονοειδή, την εσπεριδίνη και την ναρινγίνη στη συγκέντρωση ορισμένων ιχνοστοιχείων στο αυγό. Η παρουσία των φλαβονοειδών με γνωστή αντιοξειδωτική δράση ίσως να οδηγούσε τον οργανισμό να χρησιμοποιήσει με φειδώ τα υπόλοιπα ιχνοστοιχεία που εμπλέκονται στο αντιοξειδωτικό σύστημα και αυτό ίσως αντικατοπτρίζονταν στο αυγό (πχ αυξημένη συγκέντρωση Se).

Όπως παρατηρήθηκε, η χορήγηση στο σιτηρέσιο των ωοπαραγωγών ορνίθων των δύο φλαβονοειδών, σε οποιαδήποτε συγκέντρωση δεν επηρέασε σημαντικά το βάρος του αυγού, του ασπραδιού και της λεκίθου. Η προσθήκη εσπεριδίνης σε συγκέντρωση των 750 mg/kg σιτηρεσίου, αύξησε τη συγκέντρωση των ιχνοστοιχείων Ca, Cr, Cu, Fe, Mg, Ni, Pb, Sr και Zn σε σχέση με την επέμβαση του μάρτυρα στη λεκίθο του αυγού ενώ στο ασπράδι μείωσε τη συγκέντρωση του Co και αύξησε αυτή του Ni. Η προσθήκη εσπεριδίνης σε συγκέντρωση των 1500 mg/kg σιτηρεσίου, αύξησε τη συγκέντρωση του Pb σε σχέση με την επέμβαση του μάρτυρα στη λεκίθο του αυγού και μείωσε τη συγκέντρωση του Sb ενώ στο ασπράδι μείωσε τη συγκέντρωση του Co και αύξησε αυτή των Pb και Sr. Η προσθήκη ναρινγίνης σε συγκέντρωση των 750 mg/kg σιτηρεσίου, αύξησε τις συγκεντρώσεις των ιχνοστοιχείων Ca, Cr, Fe, Ni ενώ ακόμη μείωσε τις συγκεντρώσεις των ιχνοστοιχείων του Co και Sb στη λεκίθο του αυγού πάντα σε σχέση με την επέμβαση του μάρτυρα. Στο ασπράδι επέφερε μείωση των Ca,

Co, Mn και Sb και αύξηση των Cd, και Ni. Η προσθήκη ναρινγίνης σε συγκέντρωση των 1500 mg/kg σιτηρεσίου μείωσε, σε σχέση με την επέμβαση του μάρτυρα, τη συγκέντρωση του Sb αλλά μετέβαλλε θετικά τις συγκεντρώσεις των ιχνοστοιχείων Cd, Cr, Cu, Ni και V στη λέκιθο του αυγού. Στο ασπράδι επέφερε μείωση των Ca, Co, Mn και Sb και αύξηση των Cd, Cr, Cu, Ni και V. Η προσθήκη βιταμίνης E σε συγκέντρωση 200 mg/kg, σε σχέση με την επέμβαση του μάρτυρα, μείωσε τη συγκέντρωση του Co τόσο στο ασπράδι όσο και στη λέκιθο του αυγού ενώ επίσης παρατηρήθηκε αύξηση του Sb στο ασπράδι του αυγού. Επίσης, αξίζει να τονιστεί ότι στο στοιχείο Se διαπιστώθηκε διαφοροποίηση μόνο μεταξύ των επεμβάσεων με τις υψηλές συγκεντρώσεις φλαβονοειδών (E2, N2). Δεν διέφεραν στατιστικώς οι επεμβάσεις σε σχέση με το μάρτυρα παρότι κατά 6% υψηλότερη η συγκέντρωσή του στην επέμβαση E2 και κατά 23 % χαμηλότερη στη N2. Η συγκέντρωσή του στη λέκιθο δεν φάνηκε να επηρεάζεται σε καμία επέμβαση, ανεξαρτήτως επιπέδου χορήγησης των δύο φλαβονοειδών.

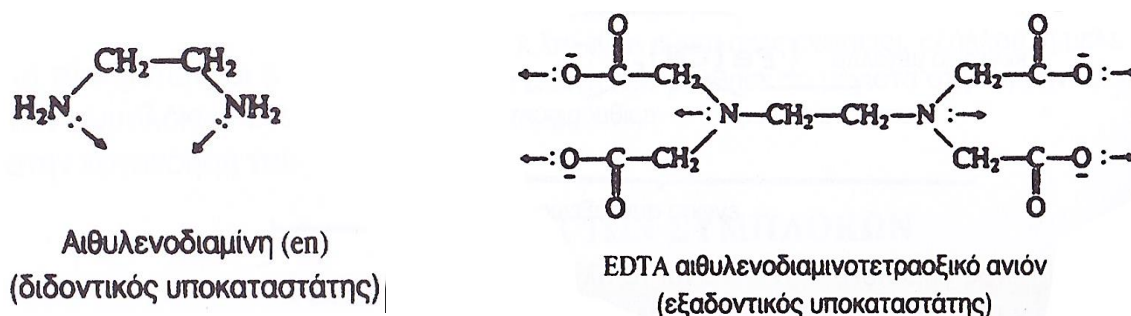
Στη παρούσα μελέτη δεν διαπιστώθηκε διαφοροποίηση στο βάρος του αυγού σε όλες τις επεμβάσεις. Αυτό βρίσκεται σε συμφωνία με τους Goliomytis et al. (2014) οι οποίοι χορήγησαν 1 και 3 g/kg σιτηρεσίου, σκεύασματος εσπεριδίνης, σε 24 λευκές και 24 καστανές όρνιθες Lohmann ηλικίας 26 εβδομάδων και δεν διαπίστωσαν διαφοροποίηση στο βάρος των αυγών. Επιπλέον, σε ανάλογο συμπέρασμα κατέληξαν και οι Ting et al. (2011) καθώς και οι Lien et al. (2008), οι οποίοι χορήγησαν σκεύασμα εσπεριτίνης (η αγλυκόνη μορφή της εσπεριδίνης) σε συγκεντρώσεις από 0.5 έως 4 g/kg σιτηρεσίου. Επιπλέον και οι Ni et al. (2007), οι οποίοι χορήγησαν το φλαβονοειδές δαϊδζεΐνη σε συγκέντρωση των 10 mg/kg σιτηρεσίου διαπίστωσαν ότι δεν προέκυψε μεταβολή στο βάρος των αυγών αυγοπαραγωγών ορνίθων. Ακόμη, αξίζει να σημειωθεί, ότι σε παλαιότερες μελέτες στις οποίες πραγματοποιήθηκε προσθήκη βιταμίνης E σε συγκέντρωση μέχρι των 200 mg/kg σιτηρεσίου, δεν διαπιστώθηκε μεταβολή του βάρους των αυγών (Jiang et al, 1997; Qi & Sim, 1998). Τα αποτελέσματα δείχνουν ότι τα φλαβονοειδή ή και η βιταμίνη E δεν φαίνεται να σχετίζονται με το βάρος του αυγού παρότι θα μπορούσαν εν δυνάμει να προστατέψουν το λιπαρό οξύ λινολεϊκό το οποίο σχετίζεται με το βάρος του αυγού.

Η ενσωμάτωση εσπεριδίνης και ναρινγίνης οδήγησε σε αύξηση της συγκέντρωσης στη λέκιθο και το ασπράδι αρκετών ιχνοστοιχείων τόσο απαραίτητων όσο και τοξικών. Ο

μηχανισμός δράσης ίσως να σχετίζεται με το φαινόμενο δημιουργίας χηλικών ενώσεων (χηλίωση), αφού τα περισσότερα ιχνοστοιχεία είναι μέταλλα και μεταλλικά ιόντα.

Όταν ένας υποκαταστάτης συνδέεται με το κεντρικό άτομο με ένα δεσμό (καταλαμβάνει μια θέση σύνταξης), τότε λέγεται μονοδοντικός ή μονοσχιδής. Όταν όμως καταλαμβάνει περισσότερες από μία θέσεις σύνταξης ονομάζεται πολυδοντικός ή πολυσχιδής.

Στην παρακάτω Εικόνα 6.1 παρουσιάζονται δύο πολυδοντικοί υποκαταστάτες.



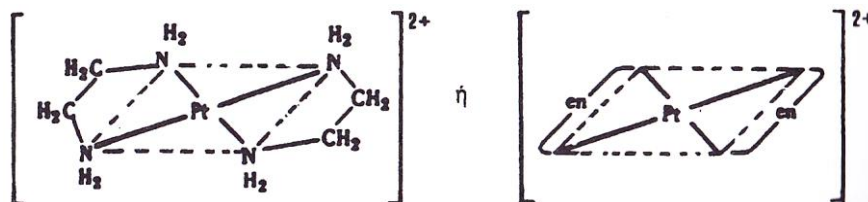
**Εικόνα 6.1**

Πολυδοντικοί υποκαταστάτες

Κλουράς 2002, 582

Όταν η σύνταξη πολυδοντικών υποκαταστατών γύρω από το κεντρικό ιόν οδηγεί σε σχηματισμό δακτυλίου, το σύμπλοκο ονομάζεται χηλικό (χηλικός δακτύλιος όπως η χηλή-οπλή των ζώων). Τα χηλικά σύμπλοκα είναι συνήθως πολύ σταθερά, δεν επηρεάζονται από pH, θερμοκρασία και είναι διαθέσιμα για απορρόφηση από τον οργανισμό.

Στην παρακάτω Εικόνα 6.2 παρουσιάζεται ένα παράδειγμα χηλικού συμπλόκου, του κατιόντος δισ (αιθυνολενοδιαμίνη) λευκόχρυσου (II),  $[Pt(en)_2]^{2+}$ .



**Εικόνα 6.2**

Παράδειγμα χηλικού συμπλόκου

Κλουράς 2002, 582

Σε διάφορες μελέτες, όπως των Flora (2009), των Grazul και Budzisz (2009) και των Mladenka et al. (2011) εξετάζεται η πιθανότητα, τα φλαβονοειδή να παρουσιάζουν ιδιότητες χηλίωσης ή δέσμευσης των μετάλλων όταν χορηγούνται διαμέσου της τροφής σε έναν ζωικό οργανικό. Πιο συγκεκριμένα, ο Flora (2009) αναφέρει ο η κερσετίνη έχει τη δυνατότητα να κάνει χηλικές ενώσεις με μεταλλικά ιόντα και επιπλέον περιέχει πολλούς διπλούς δεσμούς και ομάδες υδροξυλίου που μπορούν να δώσουν ηλεκτρόνια μέσω συντονισμού για τη σταθεροποίηση των ελεύθερων ριζών. Σύμφωνα με τους Mladenka et al. (2011), σε *in vitro* δοκιμή 26 φλαβονοειδών για την ικανότητα σχηματισμού χηλικών συμπλόκων με το σίδηρο (Fe) η κερσετίνη βρέθηκε να έχει υψηλή ικανότητα μέσω συγκεκριμένων θέσεων πρόσδεσης. Οι ίδιοι συγγραφείς αναφέρουν ότι τα φαινόμενα χηλίωσης που εμφανίζουν τα φλαβονοειδή ενδέχεται να είναι υπεύθυνα μερικώς για την αποδεδειγμένη αντιοξειδωτική ικανότητα που προσφέρει στον οργανισμό η χορήγησή τους. Επιπλέον, σύμφωνα με τους Grazul και Budzisz (2009), τα μεταλλικά ιόντα μπορεί να κατέχουν οξειδοαναγωγική δράση, να δρουν ως συμπαράγοντες σε έναν αριθμό ενζύμων, αλλά και να είναι επίσης κυτταροτοξικά, καθώς παράγουν ελεύθερες ρίζες οξυγόνου. Για παράδειγμα ο Fe είναι ένα απαραίτητο στοιχείο που συμμετέχει σε πολλές μεταβολικές δραστηριότητες των κυττάρων αλλά περίσσεια του μπορεί να προκαλεί οξειδωτικό στρες και πολλές ασθένειες στον άνθρωπο (Jagetia and Reddy, 2011). Οι ίδιοι συγγραφείς μελέτησαν την προστατευτική δράση της ναρινγίνης από γκρέιπφρουτ σε μιτοχόνδρια ήπατος ποντικίου υπερφορτωμένα με Fe και έδειξαν ότι μπορεί να συμπεριφερθεί ως καλό αντιοξειδωτικό.

Επίσης, σύμφωνα με τον Flora (2009), η οξειδωση είναι η χημική αντίδραση κατά την οποία μεταφέρονται ηλεκτρόνια από πλούσια σε ηλεκτρόνια μόρια σε ελλειματικά. Ένα μόριο το οποίο έχει έλλειμμα ηλεκτρονίων ονομάζεται οξειδωτής ή οξειδωτικός παράγοντας. Τα βαρέα μέταλλα εξαιτίας της παρουσίας κενών στα d- τροχιακά τους συμπεριφέρονται ως ισχυρά οξειδωτικοί παράγοντες. Ως εκ τούτου, όπως αναφέρουν οι ερευνητές, η χηλίωση θεωρείται ότι αποτελεί έναν ακόμη μηχανισμό αντιοξειδωτικής δράσης των φλαβονοειδών μαζί με τις αρκετές βιολογικές δράσεις που παρουσιάζουν. Διαμέσου της χηλίωσης, τα φλαβονοειδή δημιουργούν πολύπλοκες ενώσεις, δεσμεύοντας με τον τρόπο αυτό μεταλλικά ιόντα όπως ο δισθενής και τρισθενής Fe καθώς και ο μονοθενής Cu, τα οποία συμμετέχουν στην δημιουργία ελευθέρων ριζών. Συνεπώς, τα φλαβονοειδή προσφέρουν δύο επίπεδα αντιοξειδωτικής προστασίας

στον οργανισμό. Με το πρώτο επίπεδο προστασίας τον προστατεύουν από τις άμεσες αντιδράσεις δημιουργίας ελευθέρων ριζών και με το δεύτερο επίπεδο προστασίας δεσμεύουν τα μεταλλικά ιόντα τα οποία συμμετέχουν στη δημιουργία δραστικών μορφών οξυγόνου. Σύμφωνα με τους Grazul και Budzisz (2009), όλες οι κατηγορίες των φλαβονοειδών έχουν την ιδιότητα της χηλίωσης, η οποία εμφανίζεται να οφείλεται στη παρουσία του δεύτερου και του τρίτου δακτυλίου που κατέχουν στο μόριό τους.

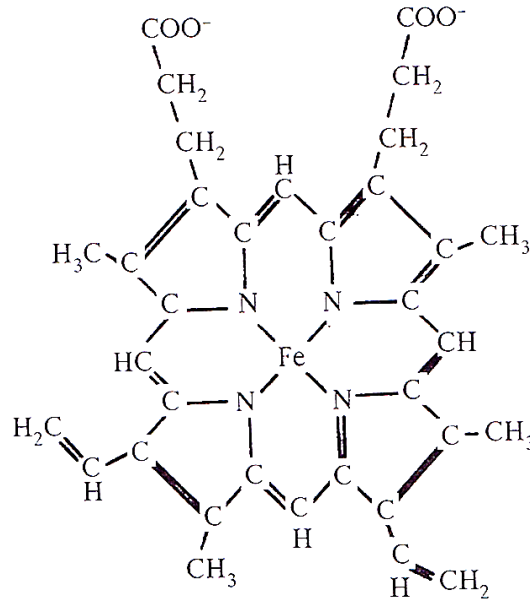
Αυτή η διπλή αντιοξειδωτική δράση που προσφέρουν τα φλαβονοειδή είναι ακριβώς και η ουσιαστική διαφορά τους από το κατεχοχίνη πρότυπο αντιοξειδωτικό, την βιταμίνη E. Σύμφωνα, με τον Flora (2009), κατά τη διάρκεια της αντιοξειδωτικής αντίδρασης, η α-τοκοφερόλη μετατρέπεται σε ρίζα α-τοκοφερόλης δωρίζοντας ένα υδρογόνο σε ένα λιπίδιο ή μία λιπιδική υπεροξυλική ρίζα. Η ρίζα της α-τοκοφερόλης μπορεί να επανέλθει στην αρχική της κατάσταση με τη βοήθεια του ασκορβικού οξέος. Συνεπώς, η βιταμίνη E διακόπτει τις αντιδράσεις δημιουργίας ελεύθερων ριζών αποτρέποντας με τον τρόπο αυτό τη δημιουργία τους. Η ελεύθερη ομάδα υδροξυλίου στον αρωματικό δακτύλιο της είναι υπεύθυνη για αυτές τις αντιοξειδωτικές ικανότητες. Ακόμη, όπως σημειώνουν οι ερευνητές, από διάφορες μελέτες έχει αναφερθεί, ότι η βιταμίνη E παρέχει προστασία σε καταστάσεις τοξικότητας τόσο από As όσο και από Pb. Στη πρώτη περίπτωση, οι ερευνητές σημειώνουν ότι η προστατευτική δράση της βιταμίνης E οφείλεται κυρίως στην αντιοξειδωτική της ικανότητα ή στην τοποθεσία της στην κυτταρική μεμβράνη και στην ιδιότητά της να σταθεροποιεί την κυτταρική μεμβράνη μέσω της αντιδράσής της με τα λιπαρά οξέα ενώ στην περίπτωση του Pb εκτός της αντιοξειδωτικής της δράση αναφέρουν ενδεχόμενη συμμετοχή της στο ενζυμικό σύστημα (Flora, 2009).

Τα δεδομένα της μελέτης θα μπορούσαν να αξιοποιηθούν και στη διατροφή του ανθρώπου. Σύμφωνα με τον Nielsen (1998), ως ιχνοστοιχεία καλούνται να ανόργανα στοιχεία τα οποία ευρίσκονται στο σώμα σε συγκέντρωση των mg/kg σωματικού βάρους και απαιτούνται στη διατροφή του ανθρώπου σε ποσότητες των mg/ημέρα. Προκειμένου ένα ανόργανο στοιχείο να χαρακτηριστεί ως απαραίτητο για την διατροφή θα πρέπει να ικανοποιεί ορισμένες συνθήκες. Από αυτές οι πιο σημαντικές είναι, ότι η έλλειψή του θα πρέπει να οδηγεί σε αλλαγή των βιολογικών λειτουργιών, των δομών του σώματος ή της σύνθεσης των ιστών και μπορεί οι αλλαγές αυτές να είναι αντιστρέψιμες από ενδεχόμενη χορήγηση του υπολοίπου ανόργανου στοιχείου ενώ ακόμη θα πρέπει να αποτελεί συστατικό σημαντικών μορίων που διαδραματίζουν σημαντικό ρόλο για την ομαλή λειτουργία του ζωικού οργανισμού.

Στη συνέχεια αναλύεται ο φυσιολογικός ρόλος ορισμένων ιχνοστοιχείων που επηρεάστηκαν από την παρουσία της εσπεριδίνης και της ναρινγίνης για τον άνθρωπο.

Ο Fe σχηματίζει χηλικό σύμπλοκο (όταν η σύνταξη πολυδοντικών υποκαταστατών γύρω από μεταλλικό κατιόν οδηγεί σε σχηματισμό δακτυλίου, το σύμπλοκο ονομάζεται χηλικό) μεταξύ της αίμης με τη πορφυρίνη.

Στην παρακάτω Εικόνα 6.3 παρουσιάζεται η δομή της αίμης.



**Εικόνα 6.3**

Δομή της αίμης

Κλουράς 2002, 607

Επιπλέον, παίζει σημαντικό ρόλο στο μεταβολισμό του οργανισμού, αφού δεσμεύει και μεταφέρει το  $O_2$  στους πνεύμονες. Η απορρόφησή του εξαρτάται από την επάρκεια του οργανισμού σε αυτό και κυμαίνεται από 5 % έως 20 % ενώ η βιοδιαθεσιμότητά του επηρεάζεται σε σημαντικό βαθμό από τη βιταμίνη C η οποία μπορεί να τριπλασιάζει την απορρόφησή του. Σε περιπτώσεις πενίας εμφανίζονται συμπτώματα αναιμίας (Κλουράς, 2002; Ζέρβας, 2005; Τσαπτσάκα, 2007).

Πενία Cr μπορεί να προκαλέσει άμεση αύξηση της γλυκόζης στο αίμα και εμφάνισής της στα ούρα. Βρίσκεται στο ενεργό τμήμα του παράγοντα ανοχής GTF (Glucose Tolerance Factor) ο οποίος μαζί με την ινσουλίνη ρυθμίζει το επίπεδο της γλυκόζης στο αίμα, αφού ενώνεται τόσο με το μόριο της ινσουλίνης όσο και με τους υποδοχείς της και ενεργοποιεί τη δράση της. Επιπλέον, όπως αναφέρει η Τσαπτσάκα (2007),

ερευνάται ο πιθανός σημαντικός ρόλος του Cr στον έλεγχο της χοληστερόλης και των λιπιδίων (Ζέρβας, 2005; Τσαπτσάκα, 2007).

Ο Cu είναι απαραίτητος για το μεταβολισμό των κυττάρων και την παραγωγή συνδετικού ιστού. Λειτουργεί επικουρικά στην αποθήκευση και στο μεταβολισμό του Fe σε μορφή αιμοσφαιρίνης καθώς και στο σχηματισμό ερυθροκυττάρων ενώ ακόμη συμβάλλει στην δημιουργία της μυελίνης, βοηθάει την καταπολέμηση των μολύνσεων και συμμετέχει στον ορθό σχηματισμό των οστών. Αποτελεί κρίσιμο λειτουργικό συστατικό διαφόρων ενζύμων τα οποία παρουσιάζουν σημαντική αντιοξειδωτική δράση (Ζέρβας, 2005; Τσαπτσάκα, 2007).

Το Se παρουσιάζει δράση που ομοιάζει με τη δράση της βιταμίνης E, δηλαδή ισχυρά αντιοξειδωτική. Συμβάλλει στην καταπολέμηση των ελευθέρων ριζών, βοηθάει στη πρόληψη πολλών μορφών καρκίνου ενώ ακόμη συμβάλλει στη προστασία της καρδιάς. Απορροφάται στο λεπτό έντερο ενώ σε καταστάσεις πενίας η απορρόφησή του από τον οργανισμό αυξάνεται. Αποτελεί αναπόσπαστο κομμάτι της υπεροξειδάσης της γλουταθειόνης και της αναγωγάσης της θυρεοειδοξίνης. Το Se πιθανώς αντιδρά με κάθε θρεπτικό συστατικό το οποίο επηρεάζει την αντιοξειδωτική ισορροπία του κυττάρου. Έρευνες δείχνουν ότι το σελήνιο και η βιταμίνη E τείνουν να υποκαθιστούν το ένα το άλλο ενώ ενδέχεται το Se να είναι σε θέση να αποτρέψει κάποιες από τις βλάβες που προκαλούνται από πενία βιταμίνης E σε περιπτώσεις οξειδωτικού στρες (Ζέρβας, 2005; Τσαπτσάκα, 2007).

Το Mn ελέγχει την σωματική ανάπτυξη, βοηθάει στην αξιοποίηση των βιταμινών A, B, C και E, διατηρεί σε καλή λειτουργική κατάσταση το νευρικό σύστημα ενώ συμβάλλει στο σχηματισμό των χόνδρων των οστών. Πενία του ανεφέρεται σε συνδυασμό με πενία βιταμίνης K ενώ η περίσσειά του είναι γενικά σπάνια (Ζέρβας, 2005; Τσαπτσάκα, 2007).

Το Co αποτελεί απαραίτητο συστατικό για τη σύνθεση της βιταμίνης B12 η οποία συμβάλλει στη σύνθεση DNA και στο σχηματισμό ερυθρών αιμοσφαιρίων. Ακόμη, η βιταμίνη B12 αποτελεί σημαντικό συμπάραγοντα διαφόρων σημαντικών ενζύμων ενώ σε καταστάσεις πενίας προκαλούνται μεγαλοβλαστική αναιμία, απομυελίνωση του νωτιαίου μυελού και περιφερειακή νευροπάθεια. Επιπλέον, προκαλεί διαστολή των

αγγείων ενώ επίσης απομακρύνει κυανιούχες ενώσεις (Nielsen, 1998; Ζέρβας, 2005; Τσαπτσάκα, 2007).

Το Mo αποτελεί συστατικό των αδαμαντίνης των δοντιών και πιθανολογείται ότι προστατεύει ή μειώνει τη συχνότητα εμφάνισης τερηδόνας των δοντιών. Αποτελεί ακόμη, σημαντικό συμπράγοντα πολλών ενζύμων, όπου οξειδώνουν και αποτοξινώνουν τον οργανισμό από διάφορες πυριμιδίνες, πουρίνες οι οποίες εμπλέκονται στο μεταβολισμό του DNA και του S ενώ ακόμη καταλύει τη δημιουργία ουρικού οξέος (Nielsen, 1998; Ζέρβας, 2005; Τσαπτσάκα, 2007).

Ο Zn αποτελεί ίσως ένα από τα πιο σημαντικά ιχνοστοιχεία. Λαμβάνει μέρος στην απορρόφηση και τη δράση των βιταμινών και αποτελεί απαραίτητο στοιχείο αρκετών ενζύμων. Επιπλέον, συμβάλλει στη σύνθεση της ινσουλίνης, των νουκλεϊκών οξέων και της τεστοστερόνης. Είναι απαραίτητο στοιχείο στο γεννητικό σύστημα των αρρένων ενώ βοηθάει στη γρήγορη επούλωση των τραυμάτων. Παίζει σημαντικό ρόλο στο σχηματισμό και στην καλή κατάσταση των νυχιών, δοντιών και μαλλιών. Επιπρόσθετα, συμμετέχει ενεργά σε διάφορα μεταλλοένζυμα και επηρεάζει το μεταβολισμό των υδατανθράκων (Ζέρβας, 2005; Τσαπτσάκα, 2007).

Το V αν και θεωρείται σημαντικό ιχνοστοιχείο δεν υπάρχουν σημαντικά στοιχεία με συμπτώματα της πενίας του. Ενδεχόμενη πενία του ίσως να σχετίζεται με μείωση του αριθμού των ερυθρών αιμοσφαιρίων, εμφάνιση αναιμίας, ανωμαλίες στο μεταβολισμό των λιπών, καθυστέρηση δημιουργίας δοντιών και οστών, προβλήματα στο μεταβολισμό του Fe (Ζέρβας, 2005; Τσαπτσάκα, 2007).

Το As αποτελεί ένα ιδιαίτερα τοξικό στοιχείο και δύναται σε μικρές ποσότητες να προκαλέσει ακόμη και το θάνατο. Αποβάλλεται γρήγορα από τον οργανισμό αλλά ωστόσο ορισμένες ποσότητες μεταφέρονται τόσο στο ήπαρ όσο και στους μύες (Ζέρβας, 2005; Τσαπτσάκα, 2007).

Όπως αναφέρει ο Nielsen (1998), σε αρκετές μελέτες τα συμπτώματα πενίας Ni περιλαμβάνουν αυξημένη πίεση του αίματος, νεφρική ανεπάρκεια, μείωση του αριθμού και της κινητικότητας των σπαρματοζωαρίων, αλλοίωση του μεταβολισμού της κοβαλαμίνης (βιταμίνης B12), της γλυκόζης, των τριγλυκεριδίων και των θειούχων αμινοξέων. Επιπλέον, όπως τονίζει ο ερευνητής, η σοβαρότητα των συμπτωμάτων



πενίας Ni επηρεάζεται σε σημαντικό βαθμό από στρεσογόνους παράγοντες καθώς και από το επίπεδο και την ποιότητα της διατροφής.

Ο Pb ανήκει στα ιχνοστοιχεία τα οποία θεωρούνται τοξικά. Σε περιπτώσεις τοξικότητας Pb ενδέχεται να παρατηρηθούν συμπτώματα αναιμίας, μειωμένη παραγωγή κυτοχρωμάτων, κακή λειτουργία νεφρών, προβλήματα του κυκλοφορικού συστήματος, μειωμένη παραγωγή αντισωμάτων και υψηλή θνησιμότητα νεογνών ή μειωμένη βιωσιμότητα νεογνών. Επιπλέον, επιδράει στο νευρικό σύστημα προκαλώντας μυϊκό τρόμο, ατροφία των οφθαλμών, παραλύσεις και εγκεφαλοπάθειες (Ζερβας, 2005).

Το Cd δεν βρίσκεται στο σώμα των νεογέννητων αλλά συσσωρεύεται σταδιακά προσλαμβανόμενο κυρίως από το περιβάλλον. Ο μέσος χρόνος ζωής του στοιχείου στον άνθρωπο υπολογίζεται ότι είναι 15 – 35 έτη. Σε υψηλές δόσεις διαπιστώνονται συμπτώματα όπως μείωση της αναπαραγωγικής ικανότητας, νέκρωση των όρχεων, του πλακούντα και του ήπατος, αναιμία, υπέρταση, οστεομαλακία και περιορισμένη παραγωγή αντισωμάτων. Αξίζει επιπλέον να σημειωθεί ότι θεωρείται καρκινογόνο (Nielsen, 1998; Ζέρβας, 2005; Pappas, 2010).

## ΚΕΦΑΛΑΙΟ 7: ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ ΚΑΙ ΣΥΣΤΑΣΕΙΣ

Η παρούσα μελέτη ανέδειξε τα κάτωθι συμπεράσματα:

- Η προσθήκη στο σιτηρέσιο αυγοπαραγωγών ορνιθίων των δύο φλαβονοειδών, της εσπεριδίνης και της ναρινγίνης σε οποιαδήποτε συγκέντρωση φαίνεται ότι δεν επηρέασε στατιστικώς σημαντικά το βάρος του αυγού, του ασπράδιου και της λεκίθου.
- Η προσθήκη βιταμίνης E σε συγκέντρωση 200 mg/kg, σε σχέση με την επέμβαση του μάρτυρα, μείωσε τη συγκέντρωση του Co τόσο στο ασπράδι όσο και στη λέκιθο του αυγού ενώ επίσης παρατηρήθηκε αύξηση του Sb στο ασπράδι του αυγού.
- Η προσθήκη εσπεριδίνης σε συγκέντρωση των 750 mg/kg σιτηρεσίου, αύξησε τη συγκέντρωση των ιχνοστοιχείων Ca, Cr, Cu, Fe, Mg, Ni, Pb, Sr και Zn σε σχέση με την επέμβαση του μάρτυρα στη λέκιθο του αυγού ενώ στο ασπράδι μείωσε τη συγκέντρωση του Co και αύξησε αυτή του Ni.
- Η προσθήκη εσπεριδίνης σε συγκέντρωση των 1500mg/kg σιτηρεσίου, αύξησε τη συγκέντρωση του Pb σε σχέση με την επέμβαση του μάρτυρα στη λέκιθο του αυγού και μείωσε τη συγκέντρωση του Sb ενώ στο ασπράδι μείωσε τη συγκέντρωση του Co και αύξησε αυτή των Pb και Sr.
- Η προσθήκη ναρινγίνης σε συγκέντρωση των 750 mg/kg σιτηρεσίου, αύξησε τις συγκεντρώσεις των ιχνοστοιχείων Ca, Cr, Fe, Ni ενώ ακόμη μείωσε τις συγκεντρώσεις των ιχνοστοιχείων του Co και Sb στη λέκιθο του αυγού πάντα σε σχέση με την επέμβαση του μάρτυρα. Στο ασπράδι επέφερε μείωση των Ca, Co, Mn και Sb και αύξηση των Cd, και Ni.
- Η προσθήκη ναρινγίνης σε συγκέντρωση των 1500 mg/kg σιτηρεσίου μείωσε, σε σχέση με την επέμβαση του μάρτυρα, τη συγκέντρωση του Sb αλλά μετέβαλλε θετικά τις συγκεντρώσεις των ιχνοστοιχείων Cd, Cr, Cu, Ni και V στη λέκιθο του αυγού. Στο ασπράδι επέφερε μείωση των Ca, Co, Mn και Sb και αύξηση των Cd, Cr, Cu, Ni και V.
- Επίσης, αξίζει να τονιστεί ότι στο στοιχείο Se διαπιστώθηκε διαφοροποίηση μόνο μεταξύ των επεμβάσεων με τις υψηλές συγκεντρώσεις φλαβονοειδών (E2, N2). Δεν διέφεραν στατιστικώς σημαντικά οι επεμβάσεις σε σχέση με το

μάρτυρα παρότι κατά 6% υψηλότερη η συγκέντρωσή του στην επέμβαση E2 και κατά 23 % χαμηλότερη στη N2. Η συγκέντρωσή του στη λέκιθο δεν φάνηκε να επηρεάζεται σε καμία επέμβαση, ανεξαρτήτως επιπέδου χορήγησης των δύο φλαβονοειδών.

- Μεταξύ όλων των επεμβάσεων παρατηρήθηκε ότι υπάρχει υψηλή θετική συσχέτιση μεταξύ του βάρους του αυγού, του βάρους του ασπράδιου καθώς και της λεκίθου.
- Οι πιο σημαντικές θετικές συσχετίσεις μεταξύ των ιχνοστοιχείων, στο ασπράδι του αυγού παρουσιάζουν τα στοιχεία Cd, Cr, Cu, Ni και V καθώς και τα ιχνοστοιχεία Ca και Se.
- Αντίστοιχα στη λέκιθο του αυγού διαπιστώθηκε υψηλή θετική συσχέτιση μεταξύ των ιχνοστοιχείων Ca, Fe, Mg, Sr και Zn.

Επιπλέον, τα δεδομένα της μελέτης θα μπορούσαν να αξιοποιηθούν στη διατροφή πατρογονικών ορνίθων αναπαραγωγής αφού τα ανόργανα στοιχεία είναι απαραίτητα για τη θρέψη του εμβρύου. Υπό αυτό το πρίσμα μπορεί να εξηγηθούν και οι διαφορετικές τιμές συγκέντρωσης μεταξύ του ίδιου ιχνοστοιχείου στη λέκιθο και το ασπράδι που κατά κανόνα είναι υψηλότερες στη λέκιθο (κρόκο). Στον κρόκο βρίσκονται τα περισσότερα μέταλλα στο αυγό και αποθηκεύονται εκεί για να μπορούν να μεταφερθούν αποτελεσματικά μέσω του λεκιθικού σάκου στο αναπτυσσόμενο έμβρυο. Μόνο όταν τα επίπεδα ενός ιχνοστοιχείου είναι υψηλά στη διατροφή η περίσσεια μπορεί να αποθεθεί στο ασπράδι το οποίο αξιοποιείται στα πρώτα στάδια της εμβρυογένεσης (Richards, 1997; Miles, 2000; Pappas et al., 2005).

Ως τελικό συμπέρασμα, φαίνεται να εκπληρώθηκε ο σκοπός της μελέτης καθώς πράγματι η παρουσία των φλαβονοειδών με γνωστή αντιοξειδωτική δράση οδήγησε τον οργανισμό της όρνιθας να εναποθέσει περισσότερα ιχνοστοιχεία στη λέκιθο και το ασπράδι είτε μέσω καλύτερης δέσμησης, απορρόφησης (χηλικές ενώσεις) είτε μέσω άλλων μηχανισμών όπως του αντιοξειδωτικού συστήματος.

# ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

## Ξένη

Alam, M. A., Kauter, K., & Brown, L. (2013). Naringin improves diet-induced cardiovascular dysfunction and obesity in high carbohydrate, high fat diet-fed rats. *Nutrients*, 5(3), 637-650

Al-Waeli, A., Pappas, A. C., Zoidis, E., Georgiou, C. A., Fegeros, K., & Zervas, G. (2012). The role of selenium in cadmium toxicity: interactions with essential and toxic elements. *British poultry science*, 53(6), 817-827

Ameer, B., Weintraub, R. A., Johnson, J. V., Yost, R. A., & Rouseff, R. L. (1996). Flavanone absorption after naringin, hesperidin, and citrus administration\*. *Clinical Pharmacology & Therapeutics*, 60(1), 34-40

Aruoma, O. I., Spencer, J. P. E., Rossi, R., Aeschbach, R., Khan, A., Mahmood, N., ... & Halliwell, B. (1996). An evaluation of the antioxidant and antiviral action of extracts of rosemary and Provençal herbs. *Food and Chemical Toxicology*, 34(5), 449-456

Barthe, G. A., Jourdan, P. S., McIntosh, C. A., & Mansell, R. L. (1988). Radioimmunoassay for the quantitative determination of hesperidin and analysis of its distribution in *Citrus sinensis*. *Phytochemistry*, 27(1), 249-254

Beecher, G.R., 2003. Overview of dietary flavonoids: nomenclature, occurrence and intake. *J. Nutr.* 133, 3248S–3254S

Bharti, S., Rani, N., Krishnamurthy, B., & Arya, D. S. (2014). Preclinical Evidence for the Pharmacological Actions of Naringin: A Review. *Planta medica*, 80(06), 437-451

Bock, C., Waldmann, K. H., & Ternes, W. (2008). Mangiferin and hesperidin metabolites are absorbed from the gastrointestinal tract of pigs after oral ingestion of a *Cyclopia genistoides* (honeybush tea) extract. *Nutrition research*, 28(12), 879-891

Bock, C., Waldmann, K. H., & Ternes, W. (2008). Mangiferin and hesperidin metabolites are absorbed from the gastrointestinal tract of pigs after oral ingestion of a *Cyclopia genistoides* (honeybush tea) extract. *Nutrition research*, 28(12), 879-891

Bohm, B. A. (1998). Introduction and historical perspective in the *Introduction to flavonoids* edited by B. Ravindranath. Harwood academic publishers, Amsterdam, The Netherlands, pp 1-4

Booth, A. N., & Jones, F. T. (1958). Metabolic fate of hesperidin, eriodictyol, homoeriodictyol, and diosmin. *Journal of Biological Chemistry*, 230(2), 661-668

- Bourne, L. C., & Rice-Evans, C. A. (1999). [9] Detecting and measuring bioavailability of phenolics and flavonoids in humans: Pharmacokinetics of urinary excretion of dietary ferulic acid. *Methods in enzymology*, 299, 91-106
- Branco, A., Pereira, A. D. S., Cardoso, J. N., Neto, F. R. D. A., Pinto, A. C., & Braz-Filho, R. (2001). Further lipophilic flavonols in *Vellozia graminifolia* (Velloziaceae) by high temperature gas chromatography: quick detection of new compounds. *Phytochemical Analysis*, 12(4), 266-270
- Brenes, A., & Roura, E. (2010). Essential oils in poultry nutrition: Main effects and modes of action. *Animal Feed Science and Technology*, 158(1), 1-14
- Brown, K. M., & Arthur, J. R. (2001). Selenium, selenoproteins and human health: a review. *Public health nutrition*, 4(2b), 593-599
- Cao, G., Sofic, E., & Prior, R. L. (1997). Antioxidant and prooxidant behavior of flavonoids: structure-activity relationships. *Free Radical Biology and Medicine*, 22(5), 749-760
- Chen, C. Y., Milbury, P. E., Lapsley, K., & Blumberg, J. B. (2005). Flavonoids from almond skins are bioavailable and act synergistically with vitamins C and E to enhance hamster and human LDL resistance to oxidation. *The Journal of nutrition*, 135(6), 1366-1373
- Chen, X., Cui, L., Duan, X., Ma, B., & Zhong, D. (2006). Pharmacokinetics and metabolism of the flavonoid scutellarin in humans after a single oral administration. *Drug metabolism and disposition*, 34(8), 1345-1352
- Choudhury, R., Srail, S. K., Debnam, E., & Rice-Evans, C. A. (1999). Urinary excretion of hydroxycinnamates and flavonoids after oral and intravenous administration. *Free Radical Biology and Medicine*, 27(3), 278-286
- Chung, J. Y., Kim, J. H., Ko, Y. H., & Jang, I. S. (2007). Effects of dietary supplemented inorganic and organic selenium on antioxidant defense systems in the intestine, serum, liver and muscle of Korean native goats. *ASIAN AUSTRALASIAN JOURNAL OF ANIMAL SCIENCES*, 20(1), 52
- Cook, N. C., & Samman, S. (1996). Flavonoids—chemistry, metabolism, cardioprotective effects, and dietary sources. *The Journal of nutritional biochemistry*, 7(2), 66-76
- de Pascual-Teresa, S., Gutiérrez-Fernández, Y., Rivas-Gonzalo, J. C., & Santos-Buelga, C. (1998). Characterization of monomeric and oligomeric flavan-3-ols from unripe almond fruits. *Phytochemical Analysis*, 9(1), 21-27
- Di Carlo, G., Mascolo, N., Izzo, A. A., & Capasso, F. (1999). Flavonoids: old and new aspects of a class of natural therapeutic drugs. *Life sciences*, 65(4), 337-353
- Echeverry, C., Arredondo, F., Abin-Carriquiry, J. A., Midiwo, J. O., Ochieng, C., Kerubo, L., & Dajas, F. (2010). Pretreatment with natural flavones and neuronal cell survival after oxidative stress: a structure-activity relationship study. *Journal of agricultural and food chemistry*, 58(4), 2111-2115

- Ensminger M. E. (1992) Poultry Science. Interstate Publishers. 130 – 135
- Erlund, I. (2004). Review of the flavonoids quercetin, hesperetin, and naringenin. Dietary sources, bioactivities, bioavailability, and epidemiology. *Nutrition Research*, 24(10), 851-874
- Erlund, I., Meririnne, E., Alfthan, G., & Aro, A. (2001). Plasma kinetics and urinary excretion of the flavanones naringenin and hesperetin in humans after ingestion of orange juice and grapefruit juice. *The Journal of nutrition*, 131(2), 235-241
- Fegeros, K., Zervas, G., Stamouli, S., & Apostolaki, E. (1995). Nutritive value of dried citrus pulp and its effect on milk yield and milk composition of lactating ewes. *Journal of Dairy Science*, 78(5), 1116-1121
- Ferreira, E. S., Hulme, A. N., McNab, H., & Quye, A. (2004). The natural constituents of historical textile dyes. *Chemical Society reviews*, 33(6), 329-336
- Flora, S. J. (2009). Structural, chemical and biological aspects of antioxidants for strategies against metal and metalloid exposure. *Oxidative medicine and cellular longevity*, 2(4), 191-206
- FSA Panel on Additives and Products or Substances used in Animal Feed (FEEDAP). Scientific Opinion on the safety and efficacy of naringin when used as a sensory additive for all animal species. EFSA Journal 2011;9(11):2416 [12 pp.]. doi:10.2903/j.efsa.2011.2416; Available online: [www.efsa.europa.eu/efsajournal](http://www.efsa.europa.eu/efsajournal)
- Galati, E. M., Monforte, M. T., d'Aquino, A., Miceli, N., Di Mauro, D., & Sanogo, R. (1998). Effects of naringin on experimental ulcer in rats. *Phytomedicine*, 5(5), 361-366
- Galleano, M., Verstraeten, S. V., Oteiza, P. I., & Fraga, C. G. (2010). Antioxidant actions of flavonoids: thermodynamic and kinetic analysis. *Archives of biochemistry and biophysics*, 501(1), 23-30
- García-Viguera, C., Zafrilla, P., Artés, F., Romero, F., Abellán, P., & Tomás-Barberán, F. A. (1998). Colour and anthocyanin stability of red raspberry jam. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 78(4), 565-573
- Garg, A., Garg, S., Zaneveld, L. J. D., & Singla, A. K. (2001). Chemistry and pharmacology of the citrus bioflavonoid hesperidin. *Phytotherapy Research*, 15(8), 655-669
- Gilbert, K. G., & Cooke, D. T. (2001). Dyes from plants: past usage, present understanding and potential. *Plant growth regulation*, 34(1), 57-69
- Goliomytis, M., Orfanou, H., Petrou, E., Charismiadou, M. A., Simitzis, P. E., & Deligeorgis, S. G. (2014). Effect of hesperidin dietary supplementation on hen performance, egg quality and yolk oxidative stability. *British poultry science*, 55(1), 98-104
- Grazul, M., & Budzisz, E. (2009). Biological activity of metal ions complexes of chromones, coumarins and flavones. *Coordination Chemistry Reviews*, 253(21-22), 2588-2598
- Guardia, T., Rotelli, A. E., Juarez, A. O., & Pelzer, L. E. (2001). Anti-inflammatory properties of plant flavonoids. Effects of rutin, quercetin and hesperidin on adjuvant arthritis in rat. *Il farmaco*, 56(9), 683-687

- Hagerman A.E. Tannin Chemistry PDF File. <http://www.users.muohio.edu/hagermae/>, Department of Chemistry and Biochemistry Miami University, U.S.A., 2002
- Harris, D.C. (2011) Ποσοτική Χημική Ανάλυση. Πανεπιστημιακές Εκδόσεις Κρήτης, 2(21),515-534
- Hollman, P. C. H., & Katan, M. B. (1997). Absorption, metabolism and health effects of dietary flavonoids in man. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 51(8), 305-310
- Hollman, P. C., & Katan, M. B. (1998). Bioavailability and health effects of dietary flavonols in man. In *Diversification in Toxicology—Man and Environment*(pp. 237-248). Springer Berlin Heidelberg
- Hollman, P. C., Bijsman, M. N., van Gameren, Y., Cnossen, E. P., de Vries, J. H., & Katan, M. B. (1999). The sugar moiety is a major determinant of the absorption of dietary flavonoid glycosides in man. *Free radical research*, 31(6), 569-573
- Honscha, W., Platte, H. D., Oesch, F., & Friedberg, T. (1995). Relationship between the microsomal epoxide hydrolase and the hepatocellular transport of bile acids and xenobiotics. *Biochem. J*, 311, 975-979
- Horowitz, R. M., & Gentili, B. (1969). Taste and structure in phenolic glycosides. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 17(4), 696-700
- Ignarro, L. J., Byrns, R. E., Sumi, D., de Nigris, F., & Napoli, C. (2006). Pomegranate juice protects nitric oxide against oxidative destruction and enhances the biological actions of nitric oxide. *Nitric oxide*, 15(2), 93-102
- Jagetia, G. C., Venkatesha, V. A., & Reddy, T. K. (2003). Naringin, a citrus flavonone, protects against radiation-induced chromosome damage in mouse bone marrow. *Mutagenesis*, 18(4), 337-343
- Jagetia, G.C Reddy T.K. (2011). Alleviation of iron induced oxidative stress by the grape fruit flavanone naringin in vitro. *Chemico-Biological Interactions* 190 (2011) 121–128
- Jeon, S. M., Park, Y. B., & Choi, M. S. (2004). Antihypercholesterolemic property of naringin alters plasma and tissue lipids, cholesterol-regulating enzymes, fecal sterol and tissue morphology in rabbits. *Clinical nutrition*, 23(5), 1025-1034
- Jiang, Q. (2014). Natural forms of vitamin E: metabolism, antioxidant, and anti-inflammatory activities and their role in disease prevention and therapy. *Free Radical Biology and Medicine*, 72, 76-90.
- Jiang, Y.H., Mcgeachin, R.B. & Bailey, C.A. (1994). Alpha-tocopherol, beta-carotene, and retinal enrichment of chicken eggs. *Poultry Science*, 73, 1137–1143
- Kujumgiev, A., Tsvetkova, I., Serkedjieva, Y., Bankova, V., Christov, R., & Popov, S. (1999). Antibacterial, antifungal and antiviral activity of propolis of different geographic origin. *Journal of ethnopharmacology*, 64(3), 235-240

- Kuntić, V., Brborić, J., Holclajtner-Antunović, I., & Uskoković-Marković, S. (2014). Evaluating the bioactive effects of flavonoid hesperidin: A new literature data survey. *Vojnosanitetski pregled*, 71(1), 60-65
- Kuntić, V., Brborić, J., Holclajtner-Antunović, I., & Uskoković-Marković, S. (2014). Evaluating the bioactive effects of flavonoid hesperidin: A new literature data survey. *Vojnosanitetski pregled*, 71(1), 60-65
- Larbier M., Leclercq B. (1994) Nutrition and Feeding of Poultry. Ed. Wiseman J. Nottingham University Press, 105 – 118
- Le Marchand, L. (2002). Cancer preventive effects of flavonoids - a review. *Biomedicine & pharmacotherapy*, 56(6), 296-301
- Li, P., Wang, S., Guan, X., Cen, X., Hu, C., Peng, W., ... & Su, W. (2014). Six months chronic toxicological evaluation of naringin in Sprague–Dawley rats. *Food and Chemical Toxicology*, 66, 65-75
- Lien, T. F., Yeh, H. S., & Su, W. T. (2008). Effect of adding extracted hesperetin, naringenin and pectin on egg cholesterol, serum traits and antioxidant activity in laying hens. *Archives of animal nutrition*, 62(1), 33-43
- Madhavi, D. L., Deshpande, S. S., & Salunkhe, D. K. (1995). *Food Antioxidants: Technological: Toxicological and Health Perspectives*. CRC Press, 267 – 359
- Manach, C. 1., Morand, C., Gil-Izquierdo, A., Bouteloup-Demange, C., & Remesy, C. (2003). Bioavailability in humans of the flavanones hesperidin and narirutin after the ingestion of two doses of orange juice. *European Journal of Clinical Nutrition*, 57(2), 235-242.
- Manach, C., Morand, C., Crespy, V., Demigné, C., Texier, O., Régéat, F., & Rémésy, C. (1998). Quercetin is recovered in human plasma as conjugated derivatives which retain antioxidant properties. *FEBS letters*, 426(3), 331-336
- Masella, R., Di Benedetto, R., Vari, R., Filesi, C., & Giovannini, C. (2005). Novel mechanisms of natural antioxidant compounds in biological systems: involvement of glutathione and glutathione-related enzymes. *The Journal of nutritional biochemistry*, 16(10), 577-586
- Meyer, O. C. (1994). Safety and security of Daflon 500 mg in venous insufficiency and in hemorrhoidal disease. *Angiology*, 45(6 Pt 2), 579-584
- Middleton, E., Kandaswami, C., & Theoharides, T. C. (2000). The effects of plant flavonoids on mammalian cells: implications for inflammation, heart disease, and cancer. *Pharmacological reviews*, 52(4), 673-751
- Miles, R. D. 2000. Trace minerals and avian embryo development.. *Ciencia Animal Brasileira* 2:1–10
- Mladěnka, Přemysl, et al. "In vitro analysis of iron chelating activity of flavonoids." *Journal of inorganic biochemistry* 105.5 (2011): 693-701.



- MOJŠIČLOVĚ, G., & Kuchta, M. (2001). Dietary flavonoids and risk of coronary heart disease. *Physiol. Res*, 50, 529-535
- Mountzouris, K. C., Paraskevas, V., Tsirtsikos, P., Palamidi, I., Steiner, T., Schatzmayr, G., & Fegeros, K. (2011). Assessment of a phytogetic feed additive effect on broiler growth performance, nutrient digestibility and caecal microflora composition. *Animal Feed Science and Technology*, 168(3), 223-231
- Nagai, T., Moriguchi, R., Suzuki, Y., Tomimori, T., & Yamada, H. (1995). Mode of action of the anti-influenza virus activity of plant flavonoid, 5, 7, 4'-trihydroxy-8-methoxyflavone, from the roots of *Scutellaria baicalensis*. *Antiviral research*, 26(1), 11-25
- Narayana, K. R., Reddy, M. S., Chaluvadi, M. R., & Krishna, D. R. (2001). Bioflavonoids classification, pharmacological, biochemical effects and therapeutic potential. *Indian Journal of pharmacology*, 33(1), 2-16
- Ni, Y.D., Zhu, Q., Zhou, Z.L., Grossmann, R., Chen, J. & Zhao, R.Q. (2007). Effect of dietary daidzein on egg production, shell quality, and gene expression of ER- $\alpha$ , GH-R, and IGFIR in shell glands of laying hens. *Agricultural and Food Chemistry*, 55, 6997–7001
- Nielsen, F. H. (1998). Ultratrace elements in nutrition: Current knowledge and speculation. *The Journal of Trace Elements in Experimental Medicine*, 11(2-3), 251-274
- Nijveldt, R. J., Van Nood, E. L. S., Van Hoorn, D. E., Boelens, P. G., Van Norren, K., & Van Leeuwen, P. A. (2001). Flavonoids: a review of probable mechanisms of action and potential applications. *The American journal of clinical nutrition*, 74(4), 418-425
- Nijveldt, R. J., Van Nood, E. L. S., Van Hoorn, D. E., Boelens, P. G., Van Norren, K., & Van Leeuwen, P. A. (2001). Flavonoids: a review of probable mechanisms of action and potential applications. *The American journal of clinical nutrition*, 74(4), 418-425
- Ohshima, H., Yoshie, Y., Auriol, S., & Gilibert, I. (1998). Antioxidant and pro-oxidant actions of flavonoids: effects on DNA damage induced by nitric oxide, peroxynitrite and nitroxyl anion. *Free Radical Biology and Medicine*, 25(9), 1057-1065
- Pappas, A. C., Acamovic, T., Sparks, N. H. C., Surai, P. F., & McDevitt, R. M. (2005). Effects of supplementing broiler breeder diets with organic selenium and polyunsaturated fatty acids on egg quality during storage. *Poultry science*, 84(6), 865-874.
- Pappas, A. C., Zoidis, E., Surai, P. F., & Zervas, G. (2008). Selenoproteins and maternal nutrition. *Comparative Biochemistry and Physiology Part B: Biochemistry and Molecular Biology*, 151(4), 361-372.
- Pappas, A.C., Zoidis, E., Fegeros, K., Surai, P.F. and Zervas, G. (2010). Cadmium toxicity and the antioxidant system. Nova Science Publishers, New York, USA.
- Patrick, L. (2004). Selenium biochemistry and cancer: a review of the literature. *Alternative medicine review: a journal of clinical therapeutic*, 9(3), 239-258

- Peterson, J., & Dwyer, J. (1998). Flavonoids: dietary occurrence and biochemical activity. *Nutrition Research*, 18(12), 1995-2018
- Pourmorad, F., Hosseinimehr, S. J., & Shahabimajd, N. (2006). Antioxidant activity, phenol and flavonoid contents of some selected Iranian medicinal plants. *African journal of biotechnology*, 5(11)
- Qi, G. H., & Sim, J. S. (1998). Natural tocopherol enrichment and its effect in n-3 fatty acid modified chicken eggs. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 46(5), 1920-1926
- Rafat Husain, S., Cillard, J., & Cillard, P. (1987). Hydroxyl radical scavenging activity of flavonoids. *Phytochemistry*, 26(9), 2489-2491
- Rayman, M. P. (2000). The importance of selenium to human health. *The lancet*, 356(9225), 233-241
- Richards, M. P. 1997. Trace mineral metabolism in the avian embryo. *Poult. Sci.* 76:152–164
- Saija, A., Scalese, M., Lanza, M., Marzullo, D., Bonina, F., & Castelli, F. (1995). Flavonoids as antioxidant agents: importance of their interaction with biomembranes. *Free Radical Biology and Medicine*, 19(4), 481-486
- Shrader, J. H., and Johnson, A. H., 1934. Freezing orange juice. *Ind. Eng. Chem.* 26 (8), 869-874.
- Singh, D., Chander, V., & Chopra, K. (2004). Protective effect of naringin, a bioflavonoid on glycerol-induced acute renal failure in rat kidney. *Toxicology*, 201(1), 143-151
- So, F. V., Guthrie, N., Chambers, A. F., Moussa, M., & Carroll, K. K. (1996). Inhibition of human breast cancer cell proliferation and delay of mammary tumorigenesis by flavonoids and citrus juices
- Spencer, J. P., Chowrimootoo, G., Choudhury, R., Debnam, E. S., Srail, S. K., & Rice-Evans, C. (1999). The small intestine can both absorb and glucuronidate luminal flavonoids. *FEBS letters*, 458(2), 224-230
- Surai, P. F. (2000). Effect of selenium and vitamin E content of the maternal diet on the antioxidant system of the yolk and the developing chick. *British poultry science*, 41(2), 235-243
- Svirbely JL and Svent-GyoÈrgi A, The chemical nature of vitamin C. *Biochem J* 26:865-870 (1932)
- Thomas, R. (2004) *Practical Guide to ICP-MS: A Tutorial for Beginners*, (2nd edn), Marcel Dekker, 1-60
- Ting, S., Yeh, H. S., & Lien, T. F. (2011). Effects of supplemental levels of hesperetin and naringenin on egg quality, serum traits and antioxidant activity of laying hens. *Animal feed science and technology*, 163(1), 59-66
- Tripoli, E., Guardia, M. L., Giammanco, S., Majo, D. D., & Giammanco, M. (2007). Citrus flavonoids: Molecular structure, biological activity and nutritional properties: A review. *Food chemistry*, 104(2), 466-479.

Vauzour, D. (2012). Dietary polyphenols as modulators of brain functions: biological actions and molecular mechanisms underpinning their beneficial effects. *Oxidative medicine and cellular longevity*, 2012

Veckenstedt, A., & Pusztai, R. (1981). Mechanism of antiviral action of quercetin against cardiovirus infection in mice. *Antiviral research*, 1(4), 249-261

Vekiari, S. A., Oreopoulou, V., Tzia, C., & Thomopoulos, C. D. (1993). Oregano flavonoids as lipid antioxidants. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 70(5), 483-487

Winter, J. E. A. N. E. T. T. E., Moore, L. H., Dowell, V. R., & Bokkenheuser, V. D. (1989). C-ring cleavage of flavonoids by human intestinal bacteria. *Applied and environmental microbiology*, 55(5), 1203-1208

Yin, D., Li, J., Lei, X., Liu, Y., Yang, Z., & Chen, K. (2014). Antiviral Activity of Total Flavonoid Extracts from *Selaginella moellendorffii* Hieron against Coxsackie Virus B3 In Vitro and In Vivo. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 2014

Yuting, C., Rongliang, Z., Zhongjian, J., & Yong, J. (1990). Flavonoids as superoxide scavengers and antioxidants. *Free Radical Biology and Medicine*, 9(1), 19-21

Zoidis, E., Demiris, N., Kominakis, A., & Pappas, A. C. (2014). Meta-analysis of selenium accumulation and expression of antioxidant enzymes in chicken tissues. *Animal*, 8(04), 542-554

Performance Standards Manual.Hy-line W-36. Διαθέσιμο στο <http://www.hyline.com> [ανάκτηση 20/10/2014]

Performance Standards Manual.Hy-line Brown. Διαθέσιμο στο <http://www.hyline.com> [ανάκτηση 20/10/2014]

Nutrition Management Guide. Isa Brown. Διαθέσιμο στο <http://www.isapoultry.com> [ανάκτηση 20/10/2014]

Nutrition Management Guide. Isa White. Διαθέσιμο στο <http://www.isapoultry.com> [ανάκτηση 20/10/2014]

Management Guide. Lohmann Brown Classic. Διαθέσιμο στο <http://www.lohmanngb.co.uk> [ανάκτηση 20/10/2014]

## Ελληνική

Γιαννακόπουλος Λ. Α., Γούση – Τσερβένη Σ. Α. (2009). Ορνιθοτροφία, Εκδόσεις Σύγχρονη Παιδεία, Θεσσαλονίκη.

Ζέρβας Γ. (2000). Τα ανόργανα στοιχεία στη διατροφή των μηρυκαστικών ζώων, Εκδόσεις Αθ. Σταμούλης.

Ζέρβας Γ. (2005). Φυσιολογία Θρέψεως Παραγωγικών Ζώων. Εκδόσεις Σταμούλης.

Ζέρβας Γ., Καλαϊσάκης Π., Φεγγερός Κ. (2004). Διατροφή Αγροτικών Ζώων. Εκδόσεις Σταμούλης.

Κάρτσωνας Ν. (2014). Η επίδραση της χορήγησης των φλαβονοειδών Ναρινγίνης και Εσπεριδίνης στην ποιότητα και στην οξειδωτική σταθερότητα του κρέατος ορνιθίων κρεοπαραγωγής. Πτυχιακή διατριβή. Γεωπονικό Πανεπιστήμιο Αθηνών.

Κλουράς Ν. Δ. (2002). Βασική Ανόργανη Χημεία. Εκδόσεις Π. Τραυλός.

Μηγιώτη Α. (2009). Ανάπτυξη νέων μεθόδων προσδιορισμού ολικής αντιοξειδωτικής ενεργότητας και εφαρμογής στο ελαιόλαδο. Διδακτορική διατριβή. Γεωπονικό Πανεπιστήμιο Αθηνών.

Μόσχου Α. (2010). Ποιότητα γάλακτος μετά από την ενσωμάτωση εσπεριδίνης στην τροφή προβατίνων. Μεταπτυχιακή διατριβή. Γεωπονικό Πανεπιστήμιο Αθηνών.

Νικήτας Χ. (2012). Ανασκόπηση της αποτελεσματικότητας χρησιμοποίησης φυτικών εκχυλισμάτων στη διατροφή των πτηνών. Πτυχιακή διατριβή. Γεωπονικό Πανεπιστήμιο Αθηνών.

Τσαππσάκα Α. (2007). Τα ιχνοστοιχεία στην διατροφή. Πτυχιακή διατριβή. Αλεξάνδρειο Τεχνολογικό Εκπαιδευτικό Ίδρυμα Θεσσαλονίκης.

Τσιμογιάννης Δ. (2008). Αντιοξειδωτική δράση φλαβονοειδών ενώσεων και εκχυλισμάτων αρωματικών φυτών: Αναγωγή ελεύθερων ριζών και προστασία φυτικών ελαίων. Διδακτορική διατριβή. Εθνικό Μετσόβιο Πολυτεχνείο.

Grooper Sarren S., Smith L. Jack, Groff L. James (2008). Διατροφή & Μεταβολισμός. Ιατρικές εκδόσεις Π.Χ. Πασχαλίδης.

