

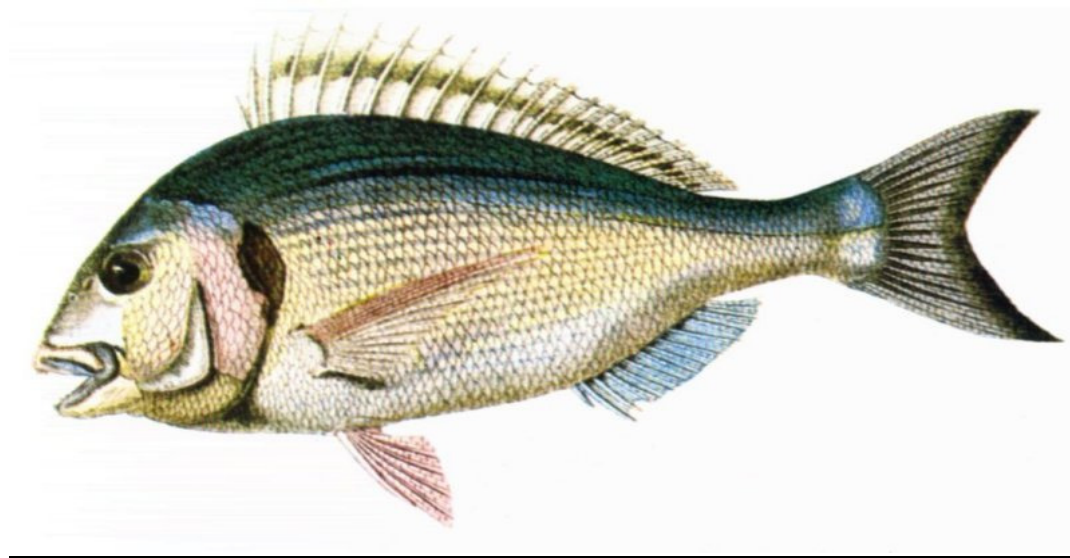
ΤΕΙ ΜΕΣΟΛΟΓΓΙΟΥ

Τμήμα Υδατοκαλλιεργειών & Αλιευτικής
Διαχείρισης (ΥΔΑΔ)

ΠΤΥΧΙΑΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ

**ΘΕΜΑ: ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΤΟΥ ΜΕΓΕΘΟΥΣ ΣΤΗΝ
ΠΕΡΙΕΚΤΙΚΟΤΗΤΑ ΣΕ ΧΟΛΗΣΤΕΡΟΛΗ ΤΟΥ ΒΡΩΣΙΜΟΥ
ΤΜΗΜΑΤΟΣ ΤΗΣ ΤΣΙΠΟΥΡΑΣ (*Sparus aurata*)
ΜΕΣΟΛΟΓΓΙΟΥ-ΑΙΤΩΛΙΚΟΥ**

Παναγιώτης Βασίλειος Κούβαρης



Επιβλέπων Καθηγητής: Δρ. ΜΑΡΙΑ ΜΑΚΡΗ (Επίκουρος Καθηγήτρια)

ΜΕΣΟΛΟΓΓΙ 2011

ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ

Θα ήθελα να ευχαριστήσω την Καθηγήτρια κα. Μακρή Μαρία για την εμπιστοσύνη που μου έδειξε δίνοντας μου τη δυνατότητα να εκπονήσω την πτυχιακή μου εργασία στον επιστημονικό τομέα που επιθυμούσα. Επίσης, θα ήθελα να την ευχαριστήσω για τη διάθεσή της να με βοηθήσει και να μου λύσει οποιαδήποτε απορία οποιαδήποτε στιγμή το χρειαζόμουν.

Επίσης θα ήθελα να ευχαριστήσω και την κα Δουβή Ξανθή για την αμέριστη βοήθεια και συνεργασία της. Ένα μεγάλο ευχαριστώ στους φίλους μου, οι οποίοι μου συμπαραστάθηκαν όλο αυτό τον καιρό. Τέλος, θέλω να ευχαριστήσω θερμά την οικογένειά μου για την ηθική και οικονομική συμπαράσταση όχι μόνο κατά τη διάρκεια της εκπόνησης της πτυχιακής μου εργασίας αλλά και καθ' όλη τη διάρκεια των σπουδών μου.

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

	Σελίδα
<u>ΠΕΡΙΛΗΨΗ</u>	4
<u>1. ΕΙΣΑΓΩΓΗ</u>	5
<u>2. Η ΧΟΛΗΣΤΕΡΟΛΗ</u>	
2.1 Γενικές Πληροφορίες	6
2.2 Διατροφικές Πηγές Χοληστερόλης	8
<u>3. ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ</u>	
3.1 Πρώτη Ύλη	13
3.2 Προεργασία Δείγματος	13
3.3 Λυοφιλίωση	14
3.4 Προσδιορισμός Υγρασίας	14
3.5 Προσδιορισμός Λίπους	15
3.6 Προσδιορισμός Χοληστερόλης με Αέρια Χρωματογραφία	17
3.6.1 Προπαρασκευή Δείγματος	17
3.6.2 Συνθήκες Αέριας Χρωματογραφίας	18
3.6.3 Υπολογισμός Χοληστερόλης	18
3.7 Στατιστική Επεξεργασία	19
<u>4. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ-ΣΥΖΗΤΗΣΗ</u>	19
<u>5.ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ</u>	28
<u>ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ</u>	29

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Η διατροφική αξία των αλιευμάτων είναι πολύ μεγάλης σημασίας και εξαρτάται από διάφορους παράγοντες μεταξύ αυτών και από την περιεκτικότητα σε χοληστερόλη των διαφόρων ειδών ψαριών. Η τσιπούρα (*Sparus aurata*) είναι ένα από τα κυριότερα αλιεύματα της Λιμνοθάλασσας Μεσολογγίου Αιτωλικού και γενικότερα αποτελεί ένα είδος ψαριού ευρείας κατανάλωσης. Το αντικείμενο της εργασίας αυτής ήταν η εκτίμηση της περιεκτικότητας σε χοληστερόλη και λίπος της τσιπούρας της λιμνοθάλασσας του Μεσολογγίου Αιτωλικού σε σχέση με το μέγεθος και τον τρόπο επεξεργασίας των φιλέτων (με ή χωρίς δέρμα). Στην παρούσα εργασία χρησιμοποιήθηκαν τσιπούρες που αλιεύτηκαν από την λιμνοθάλασσα Μεσολογγίου-Αιτωλικού. Για τον προσδιορισμό του λίπους και της χοληστερόλης χρησιμοποιήθηκαν λυοφιλιωμένα δείγματα. Ακολούθησε ο προσδιορισμός της υγρασίας, ο προσδιορισμός του λίπους και τελικά ο προσδιορισμός της χοληστερόλης με αέρια χρωματογραφία. Τα αποτελέσματα της παρούσης μελέτης δείχνουν ότι η 'φυσική' τσιπούρα της λιμνοθάλασσας Μεσολογγίου είναι ένα τρόφιμο με χαμηλή περιεκτικότητα σε χοληστερόλη που κυμαίνεται από 21,06-30,18mg ανά 100gr ψαριού και ότι η ύπαρξη δέρματος επηρεάζει την περιεκτικότητα σε νερό, λίπος και χοληστερόλη των ψαριών αυτών.

1. ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Η περιεκτικότητα των τροφών σε χοληστερόλη, αλλά και ειδικότερα των βρώσιμων ιχθύων και άλλων θαλασσινών ειδών είναι πολύ μεγάλης σημασίας για τα άτομα που επιθυμούν να προσλαμβάνουν μειωμένη ποσότητα χοληστερόλης μέσω του φαγητού τους. Αυτό μπορεί να επιτευχθεί αξιόπιστα και αποτελεσματικά όταν είναι γνωστή η μέση περιεκτικότητα σε χοληστερόλη του θαλασσινού τροφίμου. Στην διεθνή βιβλιογραφία υπάρχουν μελέτες σχετικά με την περιεκτικότητα διαφόρων υδρόβιων βρώσιμων ειδών σε χοληστερόλη (όπως Wu et al., 1997; Impre και Saglic, 1998; Mathew et al., 1999; Oehlenschlager, 2000; Piironen et al., 2002, Živković et al., 2002). Είναι, επίσης, γνωστό ότι η περιεκτικότητα σε χοληστερόλη των αλιευμάτων εξαρτάται όχι μόνο από το είδος, αλλά από την εποχή αλίευσης, τον τρόπο και τόπο αλιείας, το βαθμό ωριμότητας του ψαριού ή το μέγεθός του και τον τρόπο επεξεργασίας / μαγειρέματος. Επιπλέον, η αλληλεξάρτηση μεταξύ του περιεχομένου σε λίπος και χοληστερόλης στα αλιεύματα δεν έχει πλήρως διευκρινισθεί. Η τσιπούρα (*Sparus aurata*) είναι ένα από τα κυριότερα αλιεύματα της Λιμνοθάλασσας Μεσολογίου Αιτωλικού (Δημητρίου, 2008) και εκτιμάται ιδιαίτερα ως τρόφιμο από την τοπική κοινωνία, αλλά και ευρύτερα τον Ελληνικό πληθυσμό. Η διεθνής βιβλιογραφία για διάφορα είδη τσιπούρας και ανάλογα με την εποχή του έτους δίνει τιμές για την περιεκτικότητα σε χοληστερόλη από 13,32-44,78 mg ανά 100gr σάρκας του ψαριού (Živković et al., 2002). Όμως, λίγα είναι γνωστά για την θρεπτική αξία του είδους αυτού που προέρχονται από τη λιμνοθάλασσα Μεσολογίου Αιτωλικού συμπεριλαμβανομένης και της περιεκτικότητας του σε χοληστερόλη και λίπος. Το

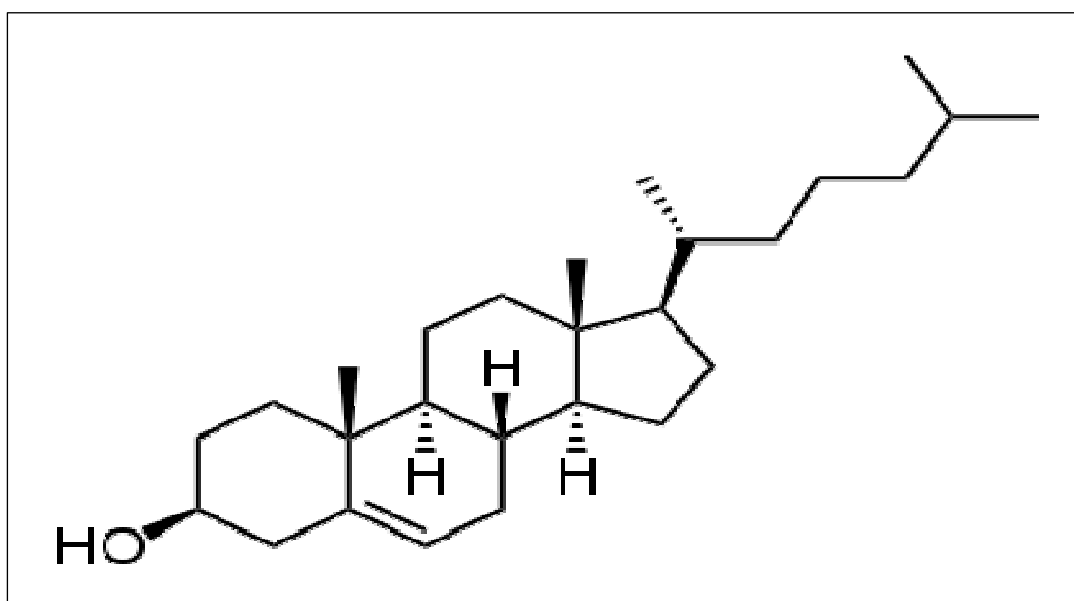
αντικείμενο της εργασίας αυτής ήταν η εκτίμηση της περιεκτικότητας σε χοληστερόλη και λίπος της τσιπούρας της λιμνοθάλασσας του Μεσολογίου Αιτωλικού σε σχέση με το μέγεθος και τον τρόπο επεξεργασίας των φιλέτων (με ή χωρίς δέρμα).

2. Η ΧΟΛΗΣΤΕΡΟΛΗ

2.1. ΓΕΝΙΚΕΣ ΠΛΗΡΟΦΟΡΙΕΣ

Το όνομα χοληστερόλη προέρχεται από τις λέξεις χολή, στέρεος και την κατάληξη -όλη που χρησιμοποιείται στη χημεία για τις αλκοόλες. Η χοληστερόλη είναι μια στερόλη, δηλαδή σύμπλεγμα στεροειδούς με αλκοόλη. Είναι βασικό συστατικό της κυτταρικής μεμβράνης όλων των θηλαστικών, συμβάλλει στην διαπερατότητα της κυτταρικής μεμβράνης και ρυθμίζει τη ρευστότητά της. Η υδροξυλική ομάδα στη δομή της χοληστερόλης (Εικόνα 2.1) αλληλεπιδρά με τις ομάδες των πολικών κεφαλών των φωσφολιπιδίων και σφιγγολιπιδίων της μεμβράνης, ενώ η ογκώδης στεροειδής και υδατανθρακική αλυσίδα ενσωματώνονται στην μεμβράνη παράλληλα με την μη πολική αλυσίδα λιπαρών οξέων των άλλων λιπιδίων. Με αυτόν το δομικό ρόλο η χοληστερόλη μειώνει τη διαπερατότητα της κυτταρικής μεμβράνης στα ιόντα υδρογόνου και νατρίου.

Εικόνα2.1 Η δομή της χοληστερόλης (από <http://en.wikipedia.org/wiki/Cholesterol>)



Η χοληστερόλη είναι η κύρια στερόλη που συνθέτεται από τα ζώα. Μικρές, όμως, ποσότητες χοληστερόλης συνθέτουν και άλλοι ευκαρυωτικοί οργανισμοί, όπως φυτά και μύκητες. Απουσιάζει σχεδόν πλήρως από τους προκαρυωτικούς οργανισμούς συμπεριλαμβανομένων και των βακτηρίων.

Παρόλο που η χοληστερόλη είναι βασική ουσία για τη ζωή του ανθρώπου, υψηλά επίπεδά της στην κυκλοφορία του αίματος συνδέονται με την αθηροσκλήρωση. Η χοληστερόλη, που υπάρχει στον ανθρώπινο οργανισμό προέρχεται από δύο πηγές: την τροφή και το ίδιο το ανθρώπινο ήπαρ (συκώτι), το οποίο έχει την ικανότητα να παρασκευάζει την δική του χοληστερόλη. Το ίδιο όργανο απομακρύνει την ουσία

αυτή από την κυκλοφορία του αίματος. (<http://en.wikipedia.org/wiki/Cholesterol>). Για ένα άτομο βάρους περίπου 68 kg η τυπική περιεκτικότητα του σώματος του σε χοληστερόλη είναι περίπου 35 g. και η τυπική ημερήσια πρόσληψη είναι περίπου 200-300 mg (Τρακατέλλης, 1997).

2.2 ΔΙΑΤΡΟΦΙΚΕΣ ΠΗΓΕΣ ΧΟΛΗΣΤΕΡΟΛΗΣ

Τα ζωικά λιπαρά είναι περίπλοκα μίγματα τριγλυκεριδίων, με μικρότερες ποσότητες φωσφολιπιδίων και χοληστερόλης. Κατά συνέπεια όλες οι τροφές που περιέχουν ζωικά λιπαρά περιέχουν χοληστερόλη σε διαφορετικά ποσοστά. Σημαντικές διατροφικές πηγές της χοληστερόλης αποτελούν το τυρί, ο κρόκος του αυγού, το μοσχάρι, τα χοιρινά, τα πουλερικά και οι γαρίδες. Επίσης το ανθρώπινο, μητρικό γάλα περιέχει σημαντικές ποσότητες χοληστερόλης. Τα τρόφιμα φυτικής προέλευσης δεν περιέχουν χοληστερόλη εκτός κι αν έχει προστεθεί κατά την προετοιμασία του φαγητού. Παρόλα αυτά φυτικά προϊόντα όπως οι σπόροι λιναριού και τα φιστίκια περιέχουν σύμπλοκα παρόμοια με τη χοληστερόλη που ονομάζονται φυτοστερόλες και οι οποίες θεωρείται ότι βοηθάνε να μειωθούν τα επίπεδα της χοληστερόλης στον ορό του αίματος του ανθρώπου, που καταναλώνει τις προαναφερόμενες φυτικές τροφές. Η συνολική πρόσληψη λιπαρών και ειδικά των κορεσμένων και trans ακόρεστων λιπαρών διαδραματίζει σημαντικό ρόλο για τα επίπεδα χοληστερόλης στο αίμα του ανθρώπου. Τα κορεσμένα λιπαρά βρίσκονται στα γαλακτοκομικά προϊόντα με πλήρη λιπαρά, στα ζωικά λιπαρά, σε διάφορα είδη ελαίων και στη σοκολάτα. Τα trans λιπαρά προέρχονται από τη μερική υδρογόνωση των ακόρεστων λιπαρών και σε αντίθεση με τα υπόλοιπα είδη λιπών δεν είναι απαραίτητα για τη ζωή. Συνιστάται τα trans λίπη να καταναλώνονται εξαιρετικά σπάνια ή και καθόλου καθώς θεωρούνται

πιο επιβλαβή από τα φυσικά έλαια. Τα trans λιπαρά βρίσκονται στα ευρείας κατανάλωσης τρόφιμα, συμπεριλαμβανομένων των φαγητών τύπου <<fast food>>, των σνακ, των τηγανιτών καθώς και των ψημένων φαγητών. Μια αλλαγή στη διατροφή μπορεί να συμβάλλει στη μείωση της χοληστερόλης του αίματος σε συνδυασμό και με άλλες αλλαγές στον τρόπο ζωής. Η μείωση της κατανάλωσης ζωικών προϊόντων μπορεί να μειώσει τα επίπεδα χοληστερόλης στο σώμα του ανθρώπου, όχι μόνο μέσω της μείωσης της διατροφικής χοληστερόλης, αλλά κυρίως μέσω της μείωσης της πρόσληψης κορεσμένων λιπαρών. Όσοι άνθρωποι επιθυμούν να μειώσουν τα επίπεδα της χοληστερόλης στο αίμα τους θα πρέπει να επιδιώκουν να καταναλώνουν λιγότερο από το 7% των ημερήσιων θερμίδων τους σε κορεσμένα λίπη και λιγότερο από 200 mg χοληστερόλη την ημέρα. Στους πίνακες που ακολουθούν δίνονται τα ποσά χοληστερόλης σε διάφορα τρόφιμα (<http://www.annecollins.com/cholesterol/cholesterol-in-fish.htm>).

ΠΙΝΑΚΑΣ 2.2.1 Χοληστερόλη σε μεταποιημένα και μαγειρευμένα ιχθυηρά

(1 ουγγιά=28,35 g)

Ψάρι (3 ουγκιές εκτός κι αν δηλώνεται διαφορετικά)	Χοληστερόλη (mg)
Γάδος, μαγειρεμένος	40mg
Πλάταξ/Γλώσσα, μαγειρεμένη	58mg
Μπακαλιάρος, μαγειρεμένος	63mg
Ψήσσα, μαγειρεμένη	35mg
Ρέγγα, τουρσί	11mg
Πέρκα, μαγειρεμένη	46mg
Πετρόψαρο, μαγειρεμένο	37mg
Ξιφίας, μαγειρεμένος	43mg
Ψάρι (3 ουγκιές εκτός κι αν δηλώνεται διαφορετικά)	Χοληστερόλη (mg)
Σολωμός, καπνιστός	20mg
Σολωμός, ροζ, κονσερβοποιημένος	47mg
Σολωμός, μαγειρεμένος	74mg
Σαρδέλες, κονσερβοποιημένες	85mg

Πέστροφα, μαγειρεμένη	58mg
Τόνος, ελαφρύς, κονσερβοποιημένος σε νερό	36mg
Τόνος, κιτρινόπτερος, μαγειρεμένος	49mg
Κροκέτες ψαριού, κατεψυγμένες (1 κροκέτα 28g)	28mg
Στρείδια, Μύδια	Χοληστερόλη (mg)
Μύδια, κονσερβοποιημένα, 3oz	57mg
Μύδια, ωμά, 3oz	29mg
Στρείδια, μαγειρεμένα, παναρισμένα, τηγανητά, 3oz	69mg
Στρείδια, άγρια, ωμά, 6 μέτρια σε μέγεθος	45mg
Χτένια, μαγειρεμένα, παναρισμένα, τηγανητά, 6 μεγάλου μεγέθους	57mg
Γαρίδες, Αστακός	Χοληστερόλη (mg)
Αστακός, βόρειος, μαγειρεμένος (3oz)	61mg
Γαρίδες, κονσερβοποιημένες (3oz)	147mg
Γαρίδες, μαγειρεμένες , παναρισμένες, τηγανιτές (3oz)	150mg
Γαρίδες, μαγειρεμένες, παναρισμένες, τηγανιτές, (6 μεγάλου μεγέθους)	80mg

ΠΙΝΑΚΑΣ 2.2.2 Χοληστερόλη σε διάφορα τρόφιμα (1 ουγγιά=28,35g)

Τρόφιμο	Μέγεθος μερίδας (σε ουγκιές)	Χοληστερόλη
Βραστό αυγό	1	225 mg
Τυρί κρέμα	1oz	27 mg
Τυρί cheddar	1oz	19 mg
Βούτυρο	3.5oz	250 mg
Αρνάκι	3.5oz	70 mg
Μοσχαρίσια μπριζόλα	3.5oz	70 mg
Κοτόπουλο	3.5oz	60 mg
Μοσχαρίσια νεφρά	3.5oz	375 mg
Μοσχαρίσιο συκώτι	3.5oz	300 mg
Παγωτό	3.5oz	45 mg
Παντεσπάνι	3.5oz	260 mg

Από τους πίνακες αυτούς είναι προφανές ότι υπάρχει μια μεγάλη διακύμανση στις τιμές χοληστερόλης των διαφόρων τροφίμων. Κατά συνέπεια η γνώση της περιεκτικότητας σε χοληστερόλη των τροφίμων, που αποτελούν την βάση της διατροφής των ατόμων διαφορετικών περιοχών του κόσμου είναι απαραίτητη.

3.ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ

3.1. ΠΡΩΤΗ ΥΛΗ

Στην παρούσα εργασία χρησιμοποιήθηκαν τσιπούρες που αλιεύτηκαν από την λιμνοθάλασσα Μεσολογγίου-Αιτωλικού. Χρησιμοποιήθηκαν τσιπούρες δυο μεγεθών, $151 \pm 8,5$ g και 434 ± 62 g, που ήταν όλες αρσενικές. Τα ψάρια μεταφέρθηκαν στο εργαστήριο στις 21/11/2008 και 26/11/2008 την ίδια μέρα της αλίευσης τους. Με τη άφιξή τους στο εργαστήριο τα ψάρια ζυγίσθηκαν, αποκεφαλίστηκαν και απεντερώθηκαν. Ακολούθως τα ψάρια συσκευάστηκαν υπό κενό και συντηρήθηκαν στους -80 °C μέχρι την ανάλυσή τους.

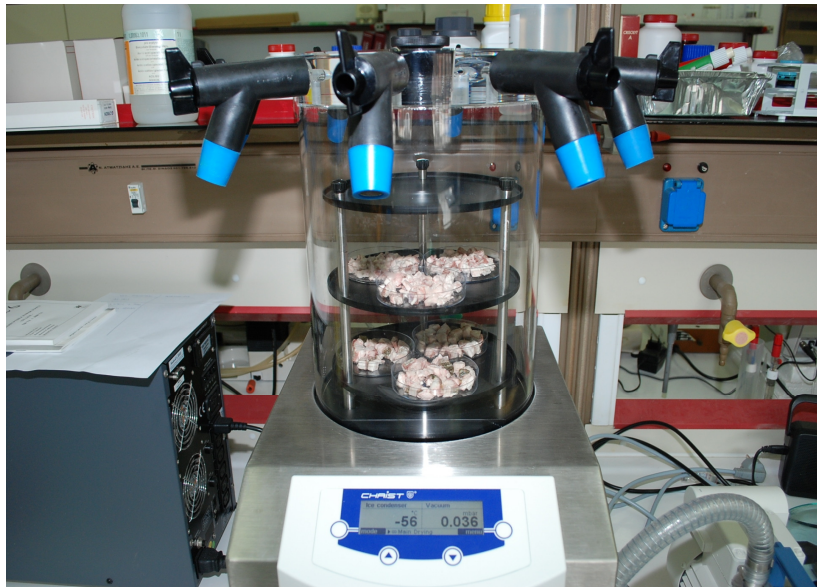
3.2. ΠΡΟΕΡΓΑΣΙΑ ΔΕΙΓΜΑΤΟΣ

Για τον προσδιορισμό τους λίπους και της χοληστερόλης χρησιμοποιήθηκαν λυοφιλωμένα δείγματα. Για το σκοπό αυτό διατηρημένες στους -80 °C τσιπούρες, αποψύχονταν μέσα σε επωαστικό κλίβανο στους 25 °C για 3 ώρες και ακολούθως τα ψάρια φιλετάρονταν, αποδερματίζονταν και τεμαχίζονταν σε μικρά κομμάτια. Ειδικά για τις τσιπούρες των 434 g το αριστερό φιλέτο χρησιμοποιήθηκε με δέρμα για τις αναλύσεις, που αναφέρονται στις παρακάτω παραγράφους. Από τα τεμαχισμένα δείγματα χρησιμοποιήθηκαν 25 g για την λυοφιλίωση, που περιγράφεται παρακάτω.

3.3. ΛΥΟΦΙΛΙΩΣΗ

Για την λυοφιλίωση των δειγμάτων χρησιμοποιήθηκε ο λυοφιλοποιητής MARTIN CHRIST, mod. ALPHA 1-2 LD plus. Για τη λυοφιλίωση χρησιμοποιήθηκε κατεψυγμένη και αλεσμένη σάρκα τσιπούρας (περίπου 25g.), η οποία διασκορπίστηκε ομοιόμορφα μέσα σε δίσκους petri, οι οποίοι στη συνέχεια τοποθετήθηκαν στον λυοφιλοποιητή στους -50°C και σε ατμοσφαιρική πίεση 1 mbar για 24 ώρες.

Εικόνα 3.3-1 Η διαδικασία της λυοφιλίωσης.



3.4. ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ ΥΓΡΑΣΙΑΣ

Ο προσδιορισμός της υγρασίας έγινε με τη ξήρανση του δείγματος στο λυοφιλοποιητή και μέτρηση της απώλειας βάρους (AOAC,1977).

Ο υπολογισμός της υγρασίας έγινε ως εξής:

$$\text{Υγρασία (\%)} = [(B_{\delta} - B_{\xi}) : B_{\delta}] \times 100$$

Όπου : B_{δ} = βάρος δείγματος

B_{ξ} = βάρος ξηρού υπολείμματος

3.5. ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ ΛΙΠΟΥΣ

Για τον προσδιορισμό του λίπους χρησιμοποιήθηκε συσκευή Soxhlet εξαγωγής λίπους. Έξι σωλήνες της συσκευής μαζί με πέτρες βρασμού στέγνωσαν σε φούρνο στους 105°C για 30 λεπτά. Στη συνέχεια οι σωλήνες τοποθετήθηκαν σε ξηραντήριο για μισή ώρα ώστε να κρυώσουν και ζυγίστηκαν σε αναλυτικό ζυγό. Για τη μέθοδο χρησιμοποιήθηκε κατεψυγμένη, λυοφιλωμένη σάρκα τσιπούρας με τη μέθοδο που αναφέρθηκε παραπάνω. Μια ποσότητα 2,5g περίπου λυοφιλωμένης τσιπούρας τοποθετήθηκε σε ειδικούς ηθμούς, οι οποίοι στη συνέχεια τοποθετήθηκαν στους σωλήνες και καλύφθηκαν με βαμβάκι. Αφού προστέθηκαν 140 ml πετρελαϊκού αιθέρα οι σωλήνες τοποθετήθηκαν στη συσκευή Soxhlet που είχε προθερμανθεί στους 300°C. Ακολούθησε η φάση του βρασμού και της έκπλυσης για 30 και 80 λεπτά αντίστοιχα. Τέλος, αφού ο διαλύτης ανακτήθηκε μέσα στη συσκευή, οι σωλήνες θερμάνθηκαν για 1 ώρα και 30 λεπτά στους 105 °C προκειμένου να εξατμιστεί τελείως ο διαλύτης και να παραμείνει το λίπος στους σωλήνες. Οι σωλήνες τοποθετήθηκαν σε ξηραντήριο ώστε να πάρουν θερμοκρασία περιβάλλοντος και στη συνέχεια ζυγίστηκαν εκ νέου σε αναλυτικό ζυγό.

Ο υπολογισμός του ολικού λίπους έγινε ως εξής:

$$\text{Λίπος (g kg}^{-1}\text{)} = (W_{f2} - W_{f1}) \times 1000 \times W_s^{-1}$$

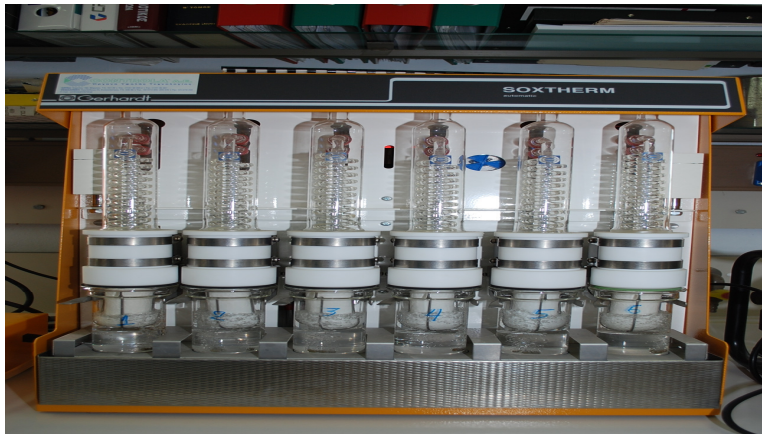
Όπου:

W_{f1}: το βάρος των άδειων σωλήνων σε g

W_{f2}: το βάρος των σωλήνων μαζί με το εξαγόμενο λίπος σε g

και W_s: το βάρος του δείγματος

Εικόνα 3.5-1 Η φάση του βρασμού στη συσκευή Soxhlet.



3.6 ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ ΧΟΛΗΣΤΕΡΟΛΗΣ ΜΕ ΑΕΡΙΑ ΧΡΩΜΑΤΟΓΡΑΦΙΑ

Για τον προσδιορισμό της χοληστερόλης στα λυοφιλιωμένα δείγματα χρησιμοποιήθηκε η μέθοδος των Naemi et al., 1995, όπως αυτή τροποποιήθηκε από τον Oehlenschlager, 2000.

3.6.1 ΠΡΟΠΑΡΑΣΚΕΥΗ ΔΕΙΓΜΑΤΟΣ

Ποσότητα λυοφιλιωμένου δείγματος (200-250 mg) ζυγίσθηκε σε υάλινο δοκιμαστικό σωλήνα με βιδωτό καπάκι και teflon. Ακολούθως, στον σωλήνα προστέθηκε 25 μl εσωτερικού πρότυπου διαλύματος (100 μg 5-α-cholestane/ ml) και 2,5 ml κορεσμένου μεθανολικού διαλύματος KOH (20 g/ 100 ml μεθανόλης). Ο σωλήνας ανακινήθηκε καλά με το χέρι και μετά τοποθετήθηκε σε υδατόλουτρο στους 80 °C για 30 λεπτά. Για την πλήρη σαπωνοποίηση του δείγματος ο σωλήνας ανακινήθηκε 2 με 3 φορές κατά την διάρκεια της θέρμανσης. Μετά το πέρας των 30 λεπτών, ο σωλήνας τοποθετήθηκε σε νερό βρύσης για να κρυώσει, και ακολούθως 0,5 ml διαλύματος χλωριούχου μαγνησίου (25,4125 g MgCl₂ *6H₂O/250 ml) και 2,5 ml κυκλοεξανίου προστέθηκε στο δείγμα.

Το περιεχόμενο του σωλήνα αναμείχθηκε καλά με την χρήση mixer τύπου vortex για 2 λεπτά και ακολούθως ο σωλήνας φυγοκεντρήθηκε για 10 λεπτά στις 2000 g. Ποσότητα του υπερκείμενου στρώματος κυκλοεξανίου (1μl) χρησιμοποιήθηκε για τον προσδιορισμό της χοληστερόλης με αέρια χρωματογραφία.

Από κάθε λυοφιλιωμένο ψάρι παρασκευάζονταν 3 δείγματα και 3 τουλάχιστον ενέσεις γίνονταν στον αέριο χρωματογράφο ανά δείγμα.

3.6.2 ΣΥΝΘΗΚΕΣ ΑΕΡΙΑΣ ΧΡΩΜΑΤΟΓΡΑΦΙΑΣ

Στην παρούσα μελέτη χρησιμοποιήθηκε ο αέριος χρωματογράφος Shimadzu Model 14-B με τις ακόλουθες συνθήκες:

1. Στήλη: fused silica capillary column (30x0,25 mm id) επενδεδυμένη με SE-30 και πάχος film 0,25μm (Supelco)
2. Φέρον αέριο: ήλιο 250 kPa
3. θερμοκρασία injector 290 °C
4. Ανιχνευτής: flame ionization στους 300 °C
5. θερμοκρασία φούρνου, ισοθερμική στους 280 °C.

3.6.3. ΥΠΟΛΟΓΙΣΜΟΣ ΧΟΛΗΣΤΕΡΟΛΗΣ

Για τον υπολογισμό της χοληστερόλης στα δείγματα ακολουθήθηκε η μέθοδος, που αναφέρεται από τους Hwang et al. (2003). Προσδιορίστηκε πρώτα ο 'παράγοντας κατακράτησης εσωτερικού προτύπου (Internal Response Factor; IRF)' από τον τύπο: $IRF = \frac{\text{επιφάνεια εσωτερικού προτύπου} \times \text{συγκέντρωση standard διαλύματος χοληστερόλης}}{\text{συγκέντρωση εσωτερικού πρότυπου} \times \text{επιφάνεια standard διαλύματος χοληστερόλης}}$,

όπου συγκέντρωση standard διαλύματος χοληστερόλης= 40μg/ml και συγκέντρωση εσωτερικού πρότυπου= 100 μg/ml.

Η περιεκτικότητα στο δείγμα (1μg/ml κυκλοεξάνιο) σε χοληστερόλη προσδιορίστηκε από τον τύπο:

Ποσότητα χοληστερόλης (μg/ ml)= (συγκέντρωση εσωτερικού πρότυπου X επιφάνεια χοληστερόλης X IRF)/ (επιφάνεια εσωτερικού προτύπου)

Η περιεκτικότητα της χοληστερόλης σε mg /100g νωπής σάρκας προσδιορίστηκε από τον τύπο:

περιεκτικότητα της χοληστερόλης σε mg /100g = ((Ποσότητα χοληστερόλης (μg/ ml) X $2,5 \times 10^{-3}$)/(Wδ/(100-Νερό%)*100))X100,

όπου Wδ: βάρος δείγματος,

Νερό% :ποσοστό υγρασίας δείγματος

3.7. ΣΤΑΤΙΣΤΙΚΗ ΕΠΕΞΕΡΓΑΣΙΑ

Τα αποτελέσματα της περιεκτικότητας σε υγρασία, λίπος και χοληστερόλη των μικρών, μεγάλων και με δέρμα ψαριών εξετάστηκαν με ανάλυση της διακύμανσης (ANOVA-Analysis of Variance) με το στατιστικό πρόγραμμα Minitab 1,4. Το Tukey test χρησιμοποιήθηκε για την εξέταση των διαφορών ανάμεσα στις πειραματικές ομάδες. Το στατιστικά σημαντικό επίπεδο καθορίστηκε στο 5%. Ο συσχετισμός ανάμεσα στις παραμέτρους, που μελετήθηκαν, έγινε με τον υπολογισμό του συντελεστή συσχετισμού Pearson (Zar, 1984).

4. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ-ΣΥΖΗΤΗΣΗ

Οι τιμές του νερού στις μικρές και μεγάλες τσιπούρες κυμάνθηκαν μεταξύ 75 και 71 g/100g σάρκας και για τα δείγματα με δέρμα μεταξύ 72 και 68 g/100 g σάρκας.

Οι τιμές του λίπους στις μικρές και μεγάλες τσιπούρες κυμάνθηκαν από 2 έως 5g/100g σάρκας και από 2 έως 6 g/100g σάρκας, αντίστοιχα. Αντίθετα για τα δείγματα με δέρμα οι τιμές του λίπους ήταν μεταξύ 5 έως 10 g/100 g σάρκας Τα

αποτελέσματα αυτά δείχνουν σχετικά μεγάλες διαφορές για τα δείγματα, που ανήκουν στην ίδια πειραματική ομάδα και μπορούν να αποδοθούν σε διαφορές ανάμεσα στα εξεταζόμενα άτομα (Lugasi et al. 2007).

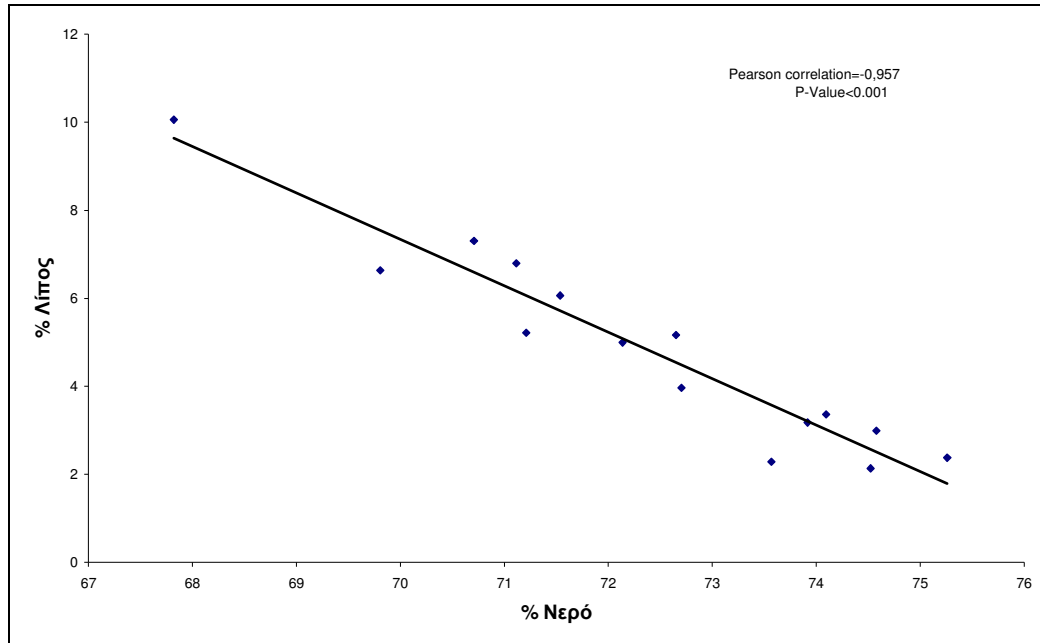
Η περιεκτικότητα σε νερό των μεγάλων ψαριών με δέρμα ήταν σημαντικά μικρότερη αυτής των μικρών και μεγάλων ψαριών χωρίς δέρμα ($P < 0,05$). Αντίθετα, η περιεκτικότητα σε λίπος ήταν σημαντικά μεγαλύτερη στα ψάρια με δέρμα σε σχέση με τις μικρές και μεγάλες τσιπούρες χωρίς δέρμα ($P < 0,05$). **Αυτό οφείλεται στο ότι στα δείγματα με δέρμα συμπεριελήφθη στις αναλύσεις και το υποδόριο λίπος (λίπος ανάμεσα στους ιστούς και το δέρμα), ενώ στις μικρές και μεγάλες αποδερματισμένες τσιπούρες συμπεριελήφθη μόνο το λίπος, που βρίσκεται μέσα στους ιστούς.** Δεν παρατηρήθηκαν σημαντικές ($P > 0,05$) διαφορές στα ποσοστά νερού και λίπους στις μικρές και μεγάλες τσιπούρες (Πίνακας 4.1). Η συσχέτιση ανάμεσα στην περιεκτικότητα σε νερό και λίπος των ψαριών όλων των πειραματικών ομάδων ήταν αρνητική και στατιστικά σημαντική ($r = -0,957$; $P < 0,001$), όπως έχει αναφερθεί και για άλλα είδη ψαριών (Merayo 1996, Lugasi et al. 2007).

Πίνακας 4.1: υγρασία, λίπος και χοληστερόλη τσιπούρας λιμνοθάλασσας Μεσολογίου- Αιτωλικού

	Νερό (g/100g)	Λίπος (g/100g)	Χοληστερόλη (mg/100g)
Μικρές	73,18 a (1,28)	3,36 b (1,27)	30,18a (5,57)
Μεγάλες	73,62 a (1,51)	3,99 b (1,56)	26,71ab (6,54)
Μεγάλες με δέρμα	70,32 b (1,63)	7,16 a (1,84)	21,06 b (2,39)

Σημειώσεις πίνακα: Οι μικρές τσιπούρες ήταν βάρους $151 \pm 8,5$ g και οι μεγάλες βάρους 434 ± 62 g. Οι τιμές είναι ο μέσος όρος από 5 άτομα και οι τιμές στις παρενθέσεις είναι οι σταθερές αποκλίσεις. Οι τιμές συγκρίνονται κατά στήλες. Τιμές που ακολουθούνται από διαφορετικό γράμμα (a, b) είναι σημαντικά διαφορετικές ($P < 0,05$)

Σχήμα 4.1: Συσχετισμός λίπους και νερού



Ο Grigorakis (2007), επισκοπώντας την διεθνή βιβλιογραφία σε σχέση με την θρεπτική αξία της τσιπούρας και του λαυρακιού, αναφέρει ως μέση περιεκτικότητα νερού και λίπους για την τσιπούρα προερχόμενη από φυσικούς πληθυσμούς ίση με 77 και 1,5 g/100 g λευκής σάρκας, αντίστοιχα. Οι διαφορές στην περιεκτικότητα σε νερό και λίπος της φυσικής τσιπούρας ανάμεσα στις αναφορές της επισκόπησης του Grigorakis (2007) και των αποτελεσμάτων της παρούσης μελέτης, μπορεί να οφείλονται στον βίτοπο αλίευσης και στην φυσιολογική κατάσταση των ψαριών σε σχέση με την γεννητική τους κατάσταση. Τα ψάρια της παρούσης μελέτης αλιεύτηκαν τον Νοέμβριο στην Λιμνοθάλασσα Μεσολογγίου και ήταν γεννητικά ώριμα (αρσενικά). Τέτοια ψάρια αναμένεται να έχουν μεγαλύτερη λιποπεριεκτικότητα και κατά συνέπεια μικρή περιεκτικότητα σε νερό σε σχέση με άτομα του ίδιου είδους, που δεν είναι γεννητικά ώριμα (Merayo 1996).

Η μέση περιεκτικότητα της χοληστερόλης για τις μικρές και μεγάλες τσιπούρες με δέρμα δίνονται στο πίνακα 4.1. Η μέση τιμή για τις μικρές και μεγάλες τσιπούρες ήταν 30,18 και 26,71 mg /100 g λευκού μυός. Δεν παρατηρηθήκαν σημαντικές ($P>0,05$) διαφορές ανάμεσα στις δυο αυτές πειραματικές ομάδες. Η μέση περιεκτικότητα σε χοληστερόλη στα ψάρια με δέρμα ήταν 21,06 mg/100 g δείγματος και ήταν σημαντικά ($P<0,05$) μικρότερη μόνον αυτής των μικρών αποδερματισμένων ψαριών.

Οι Wu et al. (1997), μελετώντας την επίδραση διαφόρων αναλυτικών μεθόδων στην περιεκτικότητα σε χοληστερόλη διαφόρων αλιευμάτων (γαρίδες, σολομό και γατόψαρο), αναφέρουν τιμές χοληστερόλης με τη χρήση GC και με απ' ευθείας σαπωνοποίηση λυοφιλιωμένων δειγμάτων (μέθοδος παρόμοια με αυτή, που

χρησιμοποιήθηκε στην παρούσα μελέτη) κυμαινόμενες από 55,7 σε 151,4 mg/100 g. Οι Impre και Saglic, 1998 μελετώντας την περιεκτικότητα σε λιπαρά οξέα και χοληστερόλη ορισμένων εμπορικών ψαριών, αναφέρουν τιμές χοληστερόλης για διάφορα πελαγικά ψάρια (σκουμπρί, σαρδέλα) κυμαινόμενες από 63,4 σε 43,4 mg/100g και για βενθικά ψάρια (λαυράκι, συναγρίδα, λυθρίνι, σαργός, μπαρμπούνι) κυμαινόμενες από 75,3 μέχρι 42,9 mg/100g . Από τα πελαγικά είδη την χαμηλότερη περιεκτικότητα σε χοληστερόλη είχε η σαρδέλα και την υψηλότερη το σκουμπρί. Ενώ για τα βενθικά είδη την υψηλότερη περιεκτικότητα σε χοληστερόλη είχε ο σαργός και την μικρότερη το λυθρίνι.

Οι Mathew et al.(1999) μελέτησαν την περιεκτικότητα σε χοληστερόλη σε 43 οικογένειες ψαριών τροπικών υδάτων και βρήκαν ότι η χοληστερόλη κυμαινόταν από 22,2 mg/100 g (*Percis pulchella*) μέχρι 148 mg/100 g (*Lethrinuw cinerius*). Κατά την ίδια μελέτη, το 55% των ψαριών, που ερευνήθηκε είχε χοληστερόλη, που κυμαινόταν μεταξύ 45 και 65 mg/100 g. Οι ίδιοι ερευνητές και στην ίδια μελέτη αναφέρουν για τις γαρίδες τιμές χοληστερόλης κυμαινόμενες από 118 σε 163 mg/100 g, ενώ για τα καβούρια από 51,5 σε 66,8 mg/100 g. Επίσης, τα καλαμάρια (188-198 mg/100 g), οι σουπιές (130 με 162 mg/100 g) όπως και τα αβγά του σκουμπριού (462 mg/100 g) περιείχαν το μεγαλύτερο ποσοστό χοληστερόλης στα είδη που μελέτησαν.

Ο Oehlenschlager (2000) μελέτησε την περιεκτικότητα σε χοληστερόλη σε διάφορα αλιεύματα και κατέληξε στα παρακάτω συμπεράσματα:

(α) Τα λιπαρά πελαγικά ψάρια (π.χ σαρδέλα, ρέγγα, παπαλίνα, σκουμπρί) είχαν χοληστερόλη περίπου 45 mg/100 g.

(β) Τα πλατειά ψάρια περιείχαν το ίδιο ποσοστό με τα άπαχα ψάρια (όπως μπακαλιάρος Ατλαντικού, μπακαλιάρος, προσφυγάκι κλπ), δηλαδή 35 mg/100 g

(γ) Το χέλι δείχνει υψηλή περιεκτικότητα σε χοληστερόλη, δηλαδή 80 mg/100 g

(δ) Τα κεφαλόποδα αλιεύματα (όπως το χταπόδι και η σουπιά) έχουν χοληστερόλη περί τα 100 με 150 mg/100 g

(ε) Η χοληστερόλη για την γαρίδα (*Crangon crangon*) είναι πολύ υψηλή (200 mg/100 g).

(στ) Όσο πιο λιπαρά είναι τα ψάρια (υψηλότερη η ξηρή ουσία του δείγματος) η περιεκτικότητά τους σε χοληστερόλη είναι μικρότερη.

(ζ) Για το σκουμπρί (mackerel) διαπιστώθηκε μια αρνητική και πολύ σημαντική ($r=-0,9232$) συσχέτιση ανάμεσα στο περιεχόμενο λίπος και στη χοληστερόλη.

Οι Osman & Law (2003) μελέτησαν την περιεκτικότητα σε χοληστερόλη, λίπος και λιπαρά οξέα διαφόρων εμπορικών ψαριών της Μαλαισίας. Σύμφωνα με τα αποτελέσματα της μελέτης αυτής, το ποσοστό του λίπους κυμαινόταν από 1,46 μέχρι 5,77% και αυτό της χοληστερόλης μεταξύ 37,1 (*Gymnura spp*) σε 49,1 mg/100 g (ινδικό σκουμπρί). Επίσης οι προαναφερόμενοι ερευνητές παρατήρησαν έναν θετικό συσχετισμό ανάμεσα στην περιεκτικότητα σε λίπος και χοληστερόλη των ειδών, που μελέτησαν.

Οι Piironen et al. (2002) μελέτησαν την περιεκτικότητα σε χοληστερόλη και λίπος διαφόρων τροφίμων συμπεριλαμβανομένων και διαφόρων αλιευμάτων νωπών, κατεψυγμένων ή μεταποιημένων. Σύμφωνα με αυτήν την μελέτη η χοληστερόλη στα αλιεύματα κυμαινόταν από 49 σε 92 mg/100 g και ήταν ελαφρά υψηλότερη αυτής του κρέατος (45 με 84 mg/100 g). Επίσης, οι ίδιοι ερευνητές δεν διαπίστωσαν συσχετισμό ανάμεσα στο περιεχόμενο λίπος και την χοληστερόλη και υπέθεσαν ότι οι παρατηρούμενες διαφορές ανάμεσα στα είδη ψαριών σε χοληστερόλη οφείλονται σε γενετικά αίτια. Στην ίδια υπόθεση κατέληξαν και οι Mathew et al.(1999) στην προαναφερόμενη μελέτη τους. Τα αποτελέσματα της μελετών αυτών και της παρούσης μελέτης δείχνουν ότι υπάρχει μια μεγάλη διακύμανση όσον αφορά τις

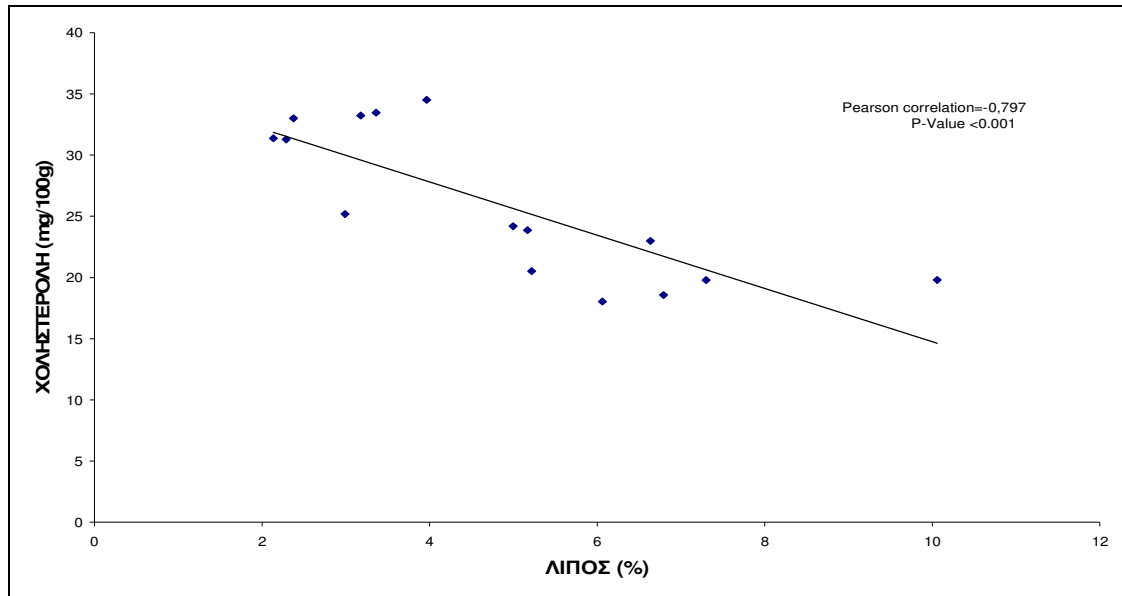
συγκεντρώσεις της χοληστερόλης στα διάφορα αλιεύματα, που εξαρτάται όχι μόνο από το αλιεύμα, αλλά και από τον βióτοπο και την μέθοδο προσδιορισμού της χοληστερόλης.

Επίσης, η χοληστερόλη της ‘φυσικής’ τσιπούρας της λιμνοθάλασσας Μεσολογγίου είναι χαμηλότερη σε σχέση με αυτή άλλων αλιευμάτων, που ενδημούν και στις Ελληνικές Θάλασσες (π.χ. λαυράκι, μπαρμπούνι, λυθρίνι, σαρδέλα κλπ)

Τέλος, η σχέση ανάμεσα στην περιεχόμενη χοληστερόλη και λίπος στα αλιεύματα δεν είναι ξεκάθαρη.

Στην παρούσα μελέτη παρατηρήθηκε μια αρνητική και αρκετά ικανοποιητική συσχέτιση ανάμεσα στην χοληστερόλη και στο λίπος ($r=-0,797$; $P<0,001$, Σχήμα 4.2). Αυτό σημαίνει ότι όσο πιο λιπαρά ήταν τα δείγματα (δείγματα με δέρμα), τόσο λιγότερη χοληστερόλη περιείχαν.

Σχήμα 4.2: Συσχετισμός λίπους και χοληστερόλης



Η παρατήρηση αυτή είναι σε συμφωνία με αυτή του Oehlenschlager (2000) για το σκουμπρί. Για την ερμηνεία της παρατήρησης αυτής, θα πρέπει να αναζητηθεί που βρισκόταν τοποθετημένο το λίπος και η χοληστερόλη στα δείγματα. Η χοληστερόλη είναι ένα συστατικό της κυτταρικής μεμβράνης. Δεδομένου ότι ο αριθμός των κυττάρων στους ιστούς των αλιευμάτων είναι περίπου σταθερός, η περιεκτικότητά της (σε mg/100 g νωπής σάρκας) στα δείγματα των διαφορετικών πειραματικών ομάδων της παρούσης μελέτης, αναμένεται να εξαρτάται από την συνολική ποσότητα των άλλων συστατικών του δείγματος (νερό, λίπος, πρωτεΐνη). Όμως, η συνολική ποσότητα σε λίπος των δειγμάτων με δέρμα ήταν σημαντικά μεγαλύτερη εξαιτίας του υποδόριου λίπους, που είχαν τα δείγματα αυτά. Αποτέλεσμα αυτού ήταν η περιεκτικότητα σε χοληστερόλη σε mg /100 g των δειγμάτων με δέρμα να εμφανίζεται μικρότερη αυτής των δειγμάτων των άλλων πειραματικών ομάδων.

5. ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Τα αποτελέσματα της παρούσης μελέτης δείχνουν ότι η ‘φυσική’ τσιπούρα της λιμνοθάλασσας Μεσολογίου είναι ένα τρόφιμο με χαμηλή περιεκτικότητα σε χοληστερόλη και ότι η ύπαρξη δέρματος επηρεάζει την περιεκτικότητα σε νερό, λίπος και χοληστερόλη των ψαριών αυτών.

BIBΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

1. Aubourg, S. P., Rodriguez, A. & Gallardo, J. M. (2005). R acidity development during frozen storage of scomber (*Scomber scombrus*): effect of catching season and commercial presentation. *European Journal of Lipid Science and Technology* 107: 316-323
2. Grigorakis, K. (2007). Compositional and organoleptic quality of farmed and wild gilthead sea bream (*Sparus aurata*) and sea bass (*Dicentrarchus labrax*) and factors affecting it: A review. *Aquaculture* 272:55-75
3. Hwang, B.S., Wang, J.T. and Choong, Y.M. (2003). A simplified method for the quantification of total cholesterol in lipids using gas chromatography. *Journal of Food Composition and Analysis* 16:169-178
4. İmre, S., Sağlık, S. (1998). Fatty Acid Composition and Cholesterol Content of some Turkish Fish Species. *Turk J. Chem.* 22:321-324
5. Iwasaki, M., Harada R. (1984). Cholesterol Content of Fish Gonads and Livers. *Bulletin of the Japanese Society of Scientific Fisheries* 50: 1623
6. Lugasi, A., Losada, V., Hóvári, J., Lebovics, V., Jakóczy, I., Aubourg, S. (2007). Effect of pre-soaking whole pelagic fish in a plant extract on sensory and biochemical changes during subsequent frozen storage. *LWT* 40: 930-936
7. Mathew, S., Ammu, K., Viswanathan Nair, P.G., Devadasan, K. (1999). Cholesterol content of Indian fish and shellfish. *Food Chemistry* 66: 455-461
8. Merayo, C.R. (1996). Seasonal changes in the biochemical composition of the muscle and liver of bib (*Trisopterus luscus* L.) (Pisces, Gadidae) from the Cantabrian Sea (N Spain). *SCI. MAR.* 60: 489-495
9. Naeemi, E.D., Ahmad, N., Al-Sharrah, T.K., Behbahani, M. (1995). Rapid and

- Simple Method for Determination of Cholesterol in Processed Food. *Journal of AOAC International* 78:1522-5.
10. Oehlenschläger, J. (2000). Cholesterol content in edible part of marine fatty pelagic fish species and other seafood. in *Proceedings of 29th WEFTA Meeting*, 107-115. Edited by S.A. Georgakis: Greek Society of Food Hygienists and Technologists, Thessaloniki, Greece.
 11. Osman, H., Suriah, A.R., Law, E.C., (2001). Fatty acid composition and cholesterol content of selected marine fish in Malaysian waters. *Food Chemistry* 73: 55-60
 12. Piironen, V., Toivo, J., Lampi, A.-M. (2002). New Data for Cholesterol Contents in Meat, Fish, Milk, Eggs and Their Products Consumed in Finland. *Journal of Food Composition and Analysis* 15: 705-713
 13. Wu, W.-H., Lillard, D. A., Akoh, C.C. (1997). Direct Saponification: A simple and rapid method for determination of total cholesterol and fatty acid composition of aquatic foods. *Journal of Food Lipids* 4: 97-107
 14. Zar, J.H. (1984). *Biostatistical analysis*. USA: Prentice Hall International.
 15. Živković, D., Perić, V., Barać, M., Perunović, M. (2002). Cholesterol Content in Meat of some *Cyprinidae*. *Journal of Agricultural Sciences* 47:179-187
 16. Τρακατέλλης, Α., (1997). Βιοχημεία. Εκδοτικός Οίκος Αδερφών Κυριακίδη Α.Ε. Τόμος Α: 560-561
 17. <http://www.annecollins.com/cholesterol/cholesterol-in-fish.htm>
 18. <http://en.wikipedia.org/wiki/Cholesterol>