

ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΘΕΣΣΑΛΙΑΣ
ΣΧΟΛΗ ΓΕΩΠΟΝΙΚΩΝ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ
ΤΜΗΜΑ ΓΕΩΠΟΝΙΑΣ ΙΧΘΥΟΛΟΓΙΑΣ ΚΑΙ ΥΔΑΤΙΝΟΥ
ΠΕΡΙΒΑΛΛΟΝΤΟΣ



ΠΡΟΠΤΥΧΙΑΚΗ ΔΙΠΛΩΜΑΤΙΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ



«Η επίδραση της αντικατάστασης του ιχθυαλεύρου και ιχθυελαίου της τροφής με άλευρα μικροφυκών στη θρεπτική σύσταση της τσιπούρας (*Sparus aurata*)»

Γιαννούκκος Αντώνης
Κυριακίδης Κωνσταντίνος

ΒΟΛΟΣ 2019

«Η επίδραση της αντικατάστασης του ιχθυαλεύρου και ιχθυελαίου της τροφής με άλευρα μικροφυκών στη θρεπτική σύσταση της τσιπούρας (*Sparus aurata*)»

Τριμελής εξεταστική επιτροπή:

- 1) **Ιωάννης Καραπαναγιωτίδης**, Επίκουρος καθηγητής, Διατροφή Υδρόβιων Ζωικών Οργανισμών, Τμήμα Γεωπονίας Ιχθυολογίας και Υδάτινου Περιβάλλοντος, Σχολή Γεωπονικών Επιστημών, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας, ***Επιβλέπων***,
- 2) **Έλενα Μεντέ**, Αναπληρώτρια καθηγήτρια, Φυσιολογία Θρέψης Υδρόβιων Ζωικών Οργανισμών, Τμήμα Γεωπονίας Ιχθυολογίας και Υδάτινου Περιβάλλοντος, Σχολή Γεωπονικών Επιστημών, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας, ***Μέλος***,
- 3) **Νικόλαος Κατσούλας**, Αναπληρωτής Καθηγητής, Κατασκευές με έμφαση στα θερμοκήπια, Τμήμα Γεωπονίας Φυτικής Παραγωγής και Αγροτικού Περιβάλλοντος, Σχολή Γεωπονικών Επιστημών, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας, ***Μέλος***,

ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ

Θα θέλαμε να εκφράσουμε τις ειλικρινείς μας ευχαριστίες σε όλους όσους συνέλαβαν στο να φέρουμε εις πέρας την παρούσα Διπλωματική Εργασία. Ιδιαίτερα θα θέλαμε να ευχαριστήσουμε θερμά τον Επιβλέποντα της εργασίας αυτής κ. Ιωάννη Καραπαναγιωτίδη για την πολύτιμη βοήθεια του και την διαρκή υποστήριξη του, τόσο κατά την διεξαγωγή του πειράματος, όσο και κατά την συγγραφή της παρούσας εργασίας, καθώς και τα μέλη της εξεταστικής μας επιτροπής

Ακόμη θα θέλαμε να ευχαριστήσουμε την κα. Μαρία Μετσοβίτη υποψήφια διδάκτορα για την πολύτιμη βοήθεια της και την άψογη συνεργασία κατά την διάρκεια του πειράματος

Τέλος θα θέλαμε να ευχαριστήσουμε τους δικούς μας ανθρώπους για τη συνεχή στήριξη, συμπαράσταση και βοήθεια σε όλη τη διάρκεια των σπουδών μας.

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Η αντικατάσταση του ιχθυαλεύρου και του ιχθυελαίου στη διατροφή των ψαριών εξακολουθεί να αποτελεί ένα μεγάλο πρόβλημα για τις ιχθυοκαλλιέργειες. Τα μικροφύκη εμφανίζονται ως οι πλέον υποσχόμενες εναλλακτικές λύσεις για το ιχθυάλευρο και το ιχθυέλαιο στη διατροφή των εκτρεφόμενων ειδών. Η παρούσα μελέτη πραγματοποιήθηκε προκειμένου να αξιολογηθεί η επίδραση της αντικατάστασης του ιχθυαλεύρου από *Chlorella vulgaris* σε 10%, 20%, 30% και του ιχθυελαίου με μίγμα *N. gaditana* και *Schizochytrium sp.* σε ποσοστά 50% και 100% σε ολόκληρο το σώμα και στους μυϊκούς ιστούς των νεαρών ιχθυδίων τσιπούρας (*Sparus aurata*). Διαπιστώθηκε ότι η μερική αντικαταστάτη της πρωτεΐνης του ιχθυαλεύρου από *Chlorella vulgaris* έως και 30% και η ολική αντικατάσταση του ιχθυελαίου από το μίγμα *N. gaditana* και *Schizochytrium sp.* δεν επηρέασε τη θρεπτική αξία του ολικού σώματος και του μυϊκού ιστού των νεαρών ιχθυδίων τσιπούρας (*S. aurata*).

Λέξεις κλειδιά: τσιπούρα, μικροφύκη, αντικατάσταση ιχθυαλεύρων, αντικατάσταση ιχθυελαίων

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

1. ΕΙΣΑΓΩΓΗ.....	8
1.1 Εκτροφή της τσιπούρας (<i>Sparus aurata</i>)	8
1.2 Θρεπτικές απαιτήσεις του είδους.....	9
1.3 Θρεπτική αξία των ιχθύων και παράγοντες που την επηρεάζουν.....	10
1.3.1 Θρεπτική αξία ιχθύων	10
1.3.2 Παράγοντες που επηρεάζουν τη θρεπτική αξία των ιχθύων	11
1.4 Η χρήση των ιχθυαλεύρων και ιχθυελαίων στις ιχθυοτροφές	15
1.4.1 Τα ιχθυάλευρα	15
1.4.2 Τα ιχθυελαία	16
1.5 Προβληματισμοί χρήσης του ιχθυαλεύρου και του ιχθυελαίου στις ιχθυοτροφές	18
1.6 Αντικατάσταση ιχθυαλεύρου και ιχθυελαίου με προϊόντα χερσαίας φυτικής και ζωικής προέλευσης	19
1.7 Τα μικροφύκη ως πηγές θρεπτικών συστατικών στις ιχθυοτροφές	22
1.8 Σκοπός της εργασίας.....	23
2. ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ.....	24
2.1 Δειγματοληψίες.....	24
2.2 Χημικές αναλύσεις.....	26
2.2.1 Προσδιορισμός υγρασίας/ ξηρής ουσίας	26
2.2.2 Προσδιορισμός ολικών λιπαρών ουσιών	26
2.2.3 Προσδιορισμός αζωτούχων ενώσεων	27
2.2.4 Προσδιορισμός τέφρας	29
2.2.5 Προσδιορισμός ολικής ενέργειας.....	29
2.3 Στατιστική ανάλυση.....	29
3 ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ.....	31
3.1 Θρεπτική αξία ολικού σώματος τσιπούρας.....	31
3.1.1 Περιεκτικότητα σε υγρασία	31
3.1.2 Περιεκτικότητα σε ολικές αζωτούχες ουσίες.....	31
3.1.3 Περιεκτικότητα σε ολικές λιπαρές ουσίες	32
3.1.4 Περιεκτικότητα σε τέφρα.....	32
3.1.5 Περιεκτικότητα σε ενέργεια.....	32
3.2 Θρεπτική αξία μυϊκού ιστού τσιπούρας.....	33

3.2.1 Περιεκτικότητα σε υγρασία	33
3.2.2 Περιεκτικότητα σε ολικές αζωτούχες ουσίες.....	33
3.2.3 Περιεκτικότητα σε ολικές λιπαρές ουσίες	34
3.2.4 Περιεκτικότητα σε τέφρα.....	34
3.2.5 Περιεκτικότητα σε ενέργεια.....	35
4. ΣΥΖΗΤΗΣΗ	36
ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ	38

1.ΕΙΣΑΓΩΓΗ

1.1 Εκτροφή της τσιπούρας (*Sparus aurata*)

Η τσιπούρα *Sparus aurata* (Linnaeus 1758) είναι είδος της μεσογείου και ένα από τα δύο κυριότερα εκτρεφόμενα είδη στις μεσογειακές και ελληνικές θαλάσσιες υδατοκαλλιέργειες (Κλαουδάτος, 2012).

Χαρακτηρίζεται από ένα υψηλό και πλευρικά συμπιεσμένο σώμα, υψηλή και καμπυλωτή ράχη, λεπτό μίσχο της ουράς, μεγάλα κτενοειδή λέπια, ένα ραχιαίο πτερύγιο με 11 σκληρές και 13 μαλακές άκανθες, μια καστανόμαυρη κηλίδα στο βραγχιακό επικάλυμμα και μια πλατιά χρυσή κοντυλιά στο μάτι. Το ρύγχος είναι ελαφρώς μεγαλύτερο από το διπλάσιο της διαμέτρου του ματιού, ο αριθμός των λεπιών κατά το μήκος της πλευρικής γραμμής κυμαίνεται από 75-85. Το μήκος της φτάνει τα 70cm και το βάρος τα 17,2 kg (FAO Fishbase 2005). Το είδος είναι σαρκοφάγο (Froese & Pauly, 2006), με στόμα ελαφρά προτεταμένο, εφοδιασμένο με δόντια προσαρμοσμένα στη σύνθλιψη των κελυφών των δίθυρων μαλακίων που αποτελούν την αγαπημένη τους τροφή.

Στο φυσικό περιβάλλον συχνά συναντάται σε υφάλμυρα νερά και θαλασσινά νερά, σε περιοχές με θαλάσσια λιβάδια Ποσειδωνίας, υφάλους και αμμώδη βεδικά υποστρώματα, σε βάθος που φτάνει μέχρι και τα 150 μέτρα (Morretti *et al.*, 1999).

Εμφανίζεται μεμονωμένα ή σε σχηματισμούς μικρού αριθμού ατόμων (Κλαουδάτος, 2012). Η τσιπούρα είναι ένα πελαγικό ευρύθερμο και ευρύαλο είδος όπου αντέχει σε θερμοκρασίες από 4 έως 32 °C. Ο μέγιστος ρυθμός ανάπτυξης επιτυγχάνεται μεταξύ των 22 έως 24 °C (Κλαουδάτος & Αποστολόπουλος, 1986). Η ανθεκτικότητα της στα όρια αλατότητας είναι μέχρι 40%, με μέγιστη ανάπτυξη σε νερά αλατότητας από 28‰ έως 32‰..

Η τσιπούρα αποτελεί είδος που προσαρμόζεται εύκολα σε συνθήκες αιχμαλωσίας, με γρήγορη ανάπτυξη, ανθεκτικότητα στις μεταβολές των φυσικοχημικών παραμέτρων των

υδάτινων μαζών και έχει εξαιρετική ποιότητα σάρκας (φιλέτο ψαριού). Λόγω των παραπάνω ιδιοτήτων ελκύει το μεγάλο οικονομικό ενδιαφέρον και την επιλογή της για εντατική εκτροφή.

Οι τσιπούρες εκτρέφονται σε εκτατικά συστήματα εκτροφής σε λιμνοθάλασσες ή εντατικά σε δεξαμενές ή θαλάσσιους κλωβούς. Το μεγαλύτερο μέρος της παραγωγής προέρχεται από την εντατική εκτροφή, με μέση πυκνότητα 10-15 kg/m³ και FCR 1 – 1,3 (FAO 2019). Η εκτατική εκτροφή παραμένει μια παραδοσιακή δραστηριότητα σε ορισμένες περιοχές, αλλά με πολύ χαμηλό αντίκτυπο στην αγορά (Sola *et al.*, 2006). Το 2014, η παγκόσμια παραγωγή της υδατοκαλλιέργειας ήταν περίπου 158.000 τόνοι με την Ελλάδα, την Τουρκία, την Ισπανία και την Ιταλία, να αποτελούν τους κύριους παραγωγούς τσιπούρας στη Μεσόγειο (FAO 2018).

1.2 Θρεπτικές απαιτήσεις του είδους

Σύμφωνα με έρευνες που διεξήχθησαν μέχρι σήμερα η θρεπτική αξία της τροφής καθώς και τα απαραίτητα αμινοξέα που πρέπει να προσλαμβάνει η τσιπούρα ανάλογα με την ηλικία του είδους δίνονται στους Πίνακες 1.1 και 1.2 αντίστοιχα.

Πίνακας 1.1: Διατροφικές απαιτήσεις της τσιπούρας *S.aurata* (Παπουτσόγλου 2008, FAO 2018).

Ποσοστιαία αναλογία (%)	Στάδιο ζωής	
	Ιχθύδια	Ενήλικα άτομα
Πρωτεΐνη	50-60	45-50
Λίπος	12-25	12-25
Ινώδεις ουσίες	3	3
Υδατάνθρακες	20	20

Πρωτεΐνη/Ενέργεια (mg/Kj)	20,8/22,4	21,5/28,1
Φώσφορος	0,65	-

Πίνακας 1.2: Απαραίτητα αμινοξέα που απαιτούνται στη διατροφή της τσιπούρας *S.aurata* (Παπουτσόγλου 2008, FAO 2018)

Αμινοξέα (ποσοστιαία αναλογία (%) επί της πρωτεΐνης)	Στάδιο ζωής	
	Ιχθύδια	Ενήλικα άτομα
Αργινίνη	5,4	5,4
Ιστιδίνη	1,7	1,7
Ισολευκίνη	2,6	2,6
Λευκίνη	4,5	4,5
Λυσίνη	5,0	5,0
Μεθειονίνη	2,4	2,4
Φαινυλαλανίνη	2,9	2,9
Θρεονίνη	2,8	2,8
Τρυπτοφάνη	0,6	0,6
Βαλίνη	3,0	3,0

1.3 Θρεπτική αξία των ιχθύων και παράγοντες που την επηρεάζουν

1.3.1 Θρεπτική αξία ιχθύων

Οι ιχθύες ανέκαθεν αποτελούσαν ένα σημαντικό μέρος της ανθρώπινης διατροφής. Η κατανάλωσή τους παρουσιάζει σημαντική αύξηση τα τελευταία χρόνια λόγω του ότι έχει ευρέως αναγνωριστεί η υψηλή θρεπτική τους αξία, ενώ επικρατεί μια γενικότερη τάση προς την υγιεινή διατροφή (Alasalvar & Taylor 2002).

Ο μυϊκός ιστός των ιχθύων χαρακτηρίζεται από υψηλή περιεκτικότητα σε πρωτεΐνες υψηλής βιολογικής αξίας, εξαιρετικά ποικίλλουσα περιεκτικότητα σε λίπη και πολύ μικρή

περιεκτικότητα σε υδατάνθρακες (Πίνακας 1.4). Η κύρια ιδιαιτερότητα των ιχθύων συνίσταται στην ποιότητα του λιπιδικού περιεχομένου τους, καθώς αποτελούν πολύτιμη πηγή ω-3 πολυακόρεστων λιπαρών οξέων, ενώ έχουν μικρές ποσότητες κορεσμένων λιπιδίων και χοληστερόλης. Επίσης, αποτελούν πλούσια πηγή βιταμινών και ανόργανων στοιχείων (Arino *et al.*, 2005).

Πίνακας 1.4 Διακύμανση της περιεκτικότητας (ποσοστό % επί του υγρού βάρους σώματος) των θρεπτικών συστατικών στον εδωδιμο μυϊκό ιστό των ιχθύων.

	Ελάχιστο	Συνήθης διακύμανση	Μέγιστο
Πρωτεΐνη (%)	6	16-21	28
Λίπος (%)	0,1	0,2-25	67
Υδατάνθρακες (%)		<0,5	
Τέφρα (%)	0,4	1,2-1,5	1,5
Υγρασία (%)	28	66-81	96

Πηγή: Love 1980, Huss 1998.

1.3.2 Παράγοντες που επηρεάζουν τη θρεπτική αξία των ιχθύων

Η χημική σύσταση των ιχθύων επηρεάζεται από πολλούς παράγοντες, οι οποίοι μπορούν να διαχωριστούν σε δυο κατηγορίες: τους **ενδογενείς** και τους **εξωγενείς** παράγοντες (Love 1980, Shearer 1994).

Ενδογενείς παράγοντες

- **Είδος**

Η χημική σύσταση των ιχθύων ποικίλλει σημαντικά στα διάφορα είδη (Love 1980, Shearer 1994, Huss 1998). Οι μεγαλύτερες μεταβολές παρατηρούνται στη λιποπεριεκτικότητα. Τα διάφορα είδη ιχθύων διακρίνονται σε τέσσερις κατηγορίες σύμφωνα με την περιεκτικότητα του σώματος τους σε λίπος: λιπαρά, ημιλιπαρά χαμηλά λιπαρά και

άπαχα (Hui *et al.*, 2006). Η υγρασία έχει και αυτή διακυμάνσεις ανάμεσα στα διάφορα είδη αφού εξαρτάται σε μεγάλο βαθμό από τη λιποπεριεκτικότητα.

Τέλος, σημαντικές διαφορές παρατηρούνται στην περιεκτικότητα των βιταμινών στα διάφορα είδη και ιδίως των λιποδιαλυτών βιταμινών, των οποίων η συγκέντρωση εξαρτάται άμεσα από την λιποπεριεκτικότητα (Lall & Parazzo 1995).

- **Στάδιο ανάπτυξης**

Πολλοί ερευνητές έχουν μελετήσει τις μεταβολές της χημικής σύστασης των ιχθύων σε σχέση με το στάδιο ανάπτυξής τους (Dumas *et al.*, 2007) και τον ειδικό ρυθμό ανάπτυξης (Holdway & Beamish 1984). Γενικά, το επίπεδο της υγρασίας και η περιεκτικότητα στις σωματικές πρωτεΐνες των ιχθύων μειώνεται με την αύξηση της ηλικίας-μεγέθους τους (Παπουτσόγλου 2008), ενώ παράλληλα αυξάνεται το επίπεδο των λιπών (Love 1980, Griffiths & Kirkwood 1995).

- **Αναπαραγωγικό στάδιο**

Οι θρεπτικές και ενεργειακές ανάγκες των ιχθύων μεταβάλλονται σύμφωνα με το στάδιο γεννητικής ωριμότητας (Love 1980, Zaboukas *e tal.*, 2006). Η κάλυψη των ενεργειακών τους αναγκών, επιτυγχάνεται κυρίως μέσω της κατανάλωσης των αποθεμάτων λίπους του οργανισμού (Henderson & Tocher 1987).

- **Ιστοί και όργανα του σώματος**

Η παραλλακτικότητα της χημικής σύστασης ανάμεσα στους διάφορους ιστούς του σώματος των ιχθύων, όπως ο μυϊκός ιστός, το ηπατοπάγκρεας και οι γονάδες, έχει μελετηθεί αρκετά και παρουσιάζει διαφορές (Dawson & Grimm 1980, Eliasson & Vahl 1982).

Γενικά, στους περισσότερους ιχθύες, το περιπλαχνικό-περιεντερικό λίπος (λιπώδης ιστός) είναι το κύριο μέρος αποθήκευσης του λίπους. Ακολουθεί κατά σειρά το ήπαρ (κύριο όργανο μεταβολισμού των λιπών) και ο ερυθρός μυϊκός ιστός (Sheridan 1988). Η πρωτεϊνοσύνθεση λαμβάνει χώρα αρχικά στο ήπαρ ακολούθως στα βράγχια, τον πεπτικό σωλήνα, τον ερυθρό μυϊκό και τέλος στο λευκό μυϊκό ιστό, όπου πραγματοποιείται κυρίως η εναπόθεση των σωματικών πρωτεϊνών (Guillaume et al. 2001).

- **Φύλο**

Διαφορές στη λιποπεριεκτικότητα ανάμεσα στα δύο φύλα έχουν βρεθεί σε αρκετά είδη τόσο στο μυϊκό ιστό όσο και στο ήπαρ και τις γονάδες (Larson 1991, Robards *et al.*, 1999).

Εξωγενείς παράγοντες

- **Εποχικότητα**

Η χημική σύσταση των ιχθύων, λόγω της μεταβολής των ενεργειακών αποθεμάτων και των ενεργειακών απαιτήσεων τους κατά τη διάρκεια ενός ετήσιου κύκλου, παρουσιάζει εποχιακές διακυμάνσεις. Βασικοί συσχετιζόμενοι παράγοντες είναι ο αναπαραγωγικός κύκλος (ενδογενής παράγοντας), η διαθεσιμότητα της τροφής και η μεταβολή της θερμοκρασίας (εξωγενείς παράγοντες) (Chellapa *et al.*, 1989).

Γενικά, την άνοιξη και το φθινόπωρο η λιποπεριεκτικότητα φτάνει τις μέγιστες τιμές και αυτό συσχετίζεται με τη διατροφή, λόγω της αυξημένης αφθονίας φυτοπλαγκτού (Παπαναστασίου 1990). Επίσης, η περιεκτικότητα σε υδατάνθρακες είναι μεγαλύτερη το χειμώνα και μικρότερη το καλοκαίρι.

- **Διατροφή**

Διατροφικοί παράγοντες που επηρεάζουν τη χημική σύσταση του σώματος των ιχθύων είναι η διαθεσιμότητα και το είδος της τροφής, η συχνότητα σίτισης, το πρωτεϊνικό και ενεργειακό επίπεδο της τροφής και η περίοδος ασιτίας (Shearer 1994). Σε συνθήκες ιχθυοκαλλιέργειας, η χημική σύσταση του σώματος των εκτρεφόμενων ιχθύων επηρεάζεται από τη σύσταση της ιχθυοτροφής τους (Haard 1992, Shearer 1994, Turchini *et al.*, 2003, 2007). Σε περιόδους στέρησης τροφής, τα αποθέματα του λίπους είναι τα πρώτα που εξαντλούνται (Shearer 1994, Cui & Wang 2007).

- **Υδάτινο περιβάλλον**

Συνήθως, τα θαλάσσια είδη ιχθύων έχουν υψηλότερη περιεκτικότητα σε πρωτεΐνες συγκριτικά με τα είδη του γλυκού νερού (Παπαναστασίου 1990). Αναφορικά με τη λιποπεριεκτικότητα, τα είδη των θαλάσσιων υδάτων έχουν μεγαλύτερες συγκεντρώσεις λίπους στο ήπαρ συγκριτικά με τα είδη του γλυκού νερού. Επίσης, τα πρώτα αποτελούν πλουσιότερη πηγή ω-3 πολυακόρεστων λιπαρών οξέων (ΠΛΟ) από τα δεύτερα. Τέλος, διαφορές υπάρχουν και στην περιεκτικότητα των ανόργανων στοιχείων (Henderson & Tocher 1987). Τα θαλάσσια είδη ιχθύων περιέχουν μεγαλύτερη ποσότητα χλωριούχου

νατρίου και ασβεστίου, ενώ τα είδη του γλυκού νερούέχουν μεγαλύτερη ποσότητα φωσφορικού καλίου (Παπαναστασίου 1990).

Το βάθος της υδάτινης στήλης που διαβιεί ένα είδος αποτελεί, επίσης, παράγοντα επηρεασμού της χημικής σύστασης του σώματος του. Σύμφωνα με τους Childress *et al.*, (1990) και Drazen (2007) τα ψάρια που διαβιούν σε μεγαλύτερα βάθη παρουσιάζουν μειωμένη λιποπεριεκτικότητα.

1.4 Η χρήση των ιχθυαλεύρων και ιχθυελαίων στις ιχθυοτροφές

1.4.1 Τα ιχθυάλευρα

Στην κατηγορία των πρωτεϊνικών πηγών που προέρχονται από ζωικά υποπροϊόντα ανήκουν τα ιχθυάλευρα. Αυτά τα άλευρα παρασκευάζονται από διάφορα είδη ψαριών ή από υπολείμματα της βιομηχανικής επεξεργασίας τους τα οποία υποβάλλονται σε αποστείρωση και στη συνέχεια σε αφιδάτωση (Ε. Χριστάκη & Π. Φλώρου-Πανέρη 2015). Οι ιχθυοτροφές των εκτρεφόμενων ειδών στην Ευρώπη εμπεριέχουν μεγάλες ποσότητες ιχθυαλεύρων (Tacon & Metian 2008). Το ιχθυάλευρο είναι η κύρια πηγή πρωτεϊνών που περιλαμβάνεται στις ιχθυοτροφές και είναι πολύ εύπεπτο για τα ψάρια και γαρίδες. Τα ιχθυάλευρα μεταφέρουν μεγάλες ποσότητες ενέργειας ανά μονάδα βάρους και είναι μια εξαιρετική πηγή πρωτεΐνης, λιπιδίων, ανόργανων στοιχείων και βιταμινών. Παράγεται μετά από τη θέρμανση ψαριών, στη συνέχεια εφαρμόζεται πίεση για να αφαιρεθεί η υγρασία και το έλαιο και στο τελικό στάδιο υποβάλλεται σε ξήρανση. Μπορεί να προέρχεται από ένα και μόνο είδος ψαριού (κυρίως πελαγικά ψάρια), αλλά και από μείγμα διαφόρων ψαριών.

Σημαντικό ρόλο στα ιχθυάλευρα παίζει η περιεκτικότητα της πρωτεΐνης και πιο συγκεκριμένα των απαραίτητων αμινοξέων τους. Αμινοξέα τα οποία δεν μπορεί να συνθέσει ο ίδιος ο οργανισμός ή έχει μερική ικανότητα συνθέσης από τον ιχθύ. Τα ιχθυάλευρα περιέχουν υψηλά επίπεδα πρωτεϊνών (55-75% επί της ξηράς ουσίας) και είναι ίσως η

καλύτερη επιλογή όσον αφορά τα αμινοξέα αυτά. Επίσης μέσω των ιχθυαλεύρων αυξάνεται η θρεπτική αξία των ψαριών εκτροφής, αφού βελτιώνεται το ποσοστό των θρεπτικών στην τροφή, η πέψη καθώς και η εντερική απορρόφηση. Χαρακτηριστικά τα ιχθυάλευρα περιέχουν ολικές πρωτεΐνες από 55,5% έως 72,5%, λιπαρές ουσίες από 3,5% έως 12%, τέφρα από 10% έως 22,5% και υγρασία από 7% έως 13%. Τα πιο κοινά άλευρα που χρησιμοποιούνται είναι το ρεγγάλευρο, το αντσουγιάλευρο, το σαρδελλάλευρο, το σκουμπριάλευρο, άλευρο φρίσσας και άλευρο καπελάνου, και άλλα (Ε. Χριστάκη & Π. Φλώρου-Πανέρη 2015). Παράλληλα τα ιχθυάλευρα υψηλής ποιότητας παρέχουν μια ισορροπημένη ποσότητα, όχι μόνο αμινοξέων αλλά και φωσφολιπιδίων και λιπαρών οξέων που βοηθούν στη βέλτιστη ανάπτυξη, αύξηση και αναπαραγωγή, κυρίως των προνυμφών και των γεννητόρων.

Επιπλέον, έχουν υψηλή διατροφική αξία για τους ιχθείς λόγω της περιεκτικότητας τους σε βιταμίνη Β12, D, E, καροτενοειδή, ιώδιο και σελήνιο. Η απουσία αντι-διατροφικών παραγόντων καθώς και άπεπτων υδατανθράκων κατατάσσει το ιχθυάλευρο ως τη σημαντικότερη πρωτεϊνική πηγή που περιλαμβάνεται στις ιχθυοτροφές. Σημαντικό είναι επίσης πως το ιχθυάλευρο είναι άμεσα διαθέσιμο για τους παραγωγούς (Jackson, 2009). Βασικό ρόλο παίζει και η προτίμηση των ψαριών, όπως και άλλων εκτρεφόμενων και μη, ζωντανών οργανισμών που δείχνουν σε κάποιες τροφές από κάποιες άλλες. Στις ιχθυοκαλλιέργειες λαμβάνεται υπ' όψιν και για το λόγο αυτό γίνεται ευρεία χρήση των ιχθυαλεύρων. Όταν η τροφή είναι εύγευστη και οικεία σε ένα είδος, τότε μειώνεται ο χρόνος σύλληψης της τροφής και έτσι μειώνονται τυχόν απώλειες στο υδάτινο περιβάλλον. Λόγω τούτου, η ενσωμάτωση ιχθυαλεύρων στο σιτηρέσιο των εκτρεφόμενων θαλάσσιων ειδών μειώνει το ποσοστό οργανικής ρύπανσης, επειδή γίνεται καλύτερη απορρόφηση της τροφής.

1.4.2 Τα ιχθυέλαια

Τα ιχθυέλαια αποτελούν τα έλαια που πααράγονται κατά την επεξεργασία ιχθύων όπως ο σολομός, η ρέγγα, το σκουμπρί, κλυπέα, σαρδέλα και πέστροφα, έπειτα από συμπίεση και χημική επεξεργασία. Είναι ιδιαίτερα πλούσια σε ω-3 λιπαρά οξέα EPA (εικοσιπεντανοϊκό οξύ) και DHA (δοκοσαεξανοϊκό οξύ). Τα ιχθυέλαια χρησιμοποιούνται ευρέως στην διατροφή των ψαριών, καθώς είναι υψηλής βιολογικής αξίας με άριστη σύνθεση απαραίτητων λιπαρών οξέων. Γενικά τα είδη των λιπών και των ελαίων που χρησιμοποιούνται στις ιχθυοτροφές επηρεάζουν αισθητά των ποιότητα των ψαριού και κυρίως τη σύνθεση του λίπους του που προσδίδει την χαρακτηριστική κάθε φορά οσμή (Νέγκας & Αδαμίδου, 2012). Ένας λόγος προσθήκης τους στις ιχθυοτροφές είναι για να αυξήσουν το ενεργειακό περιεχόμενο της ιχθυοτροφής, αφού τα έλαια και τα λίπη αποτελούν τις πιο πλούσιες ενεργειακά θρεπτικές ουσίες. Άλλος σημαντικός λόγος είναι για να ικανοποιήσουν τις διατροφικές απαιτήσεις των ψαριών σε πολυακόρεστα λιπαρά οξέα και κυρίως στα ω-3 ΠΛΟ.

Η ποιότητα τους εξαρτάται από τη νωπότητα τους, την περιεκτικότητα τους σε ω-3 και ω-6 λιπαρά οξέα καθώς και από την εποχή, την διατροφή του ψαριού, την ηλικία, το μέγεθος και την επεξεργασία που υφίσταται. Αξιόπιστο δείκτη της ποιότητας του ιχθυελαίου αποτελούν τα ελεύθερα αμινοξέα του.

Τα έλαια που θα χρησιμοποιηθούν στις ιχθυοτροφές επιλέγονται με τα ίδια κριτήρια με εκείνα που χρησιμοποιούνται για άλλα συστατικά όπως η τιμή, διαθεσιμότητα, θρεπτική αξία και ποιότητα που καθορίζονται με χημικούς ελέγχους. Καθώς τα έλαια είναι ευαίσθητα σε οξειδωτική και υδρολυτική αποικοδόμηση, υπάρχουν προδιαγραφές για το ποσοστό των ελεύθερων λιπαρών οξέων και άλλων προϊόντων της οξείδωσης, όπως είναι η μαλοναλδεύδη και τα υπεροξειδία (Jauncey, 1998). Σήμερα η χρήση τους περιορίζεται λόγω της ολοένα και μειούμενης διαθεσιμότητας και αυξανόμενης τιμής τους, για αυτό και γίνεται προσπάθεια

να χρησιμοποιούνται στο τελευταίο στάδιο της παραγωγικής διαδικασίας, ώστε το ψάρι να βγει στην αγορά με τα επιθυμητά χαρακτηριστικά.

1.5 Προβληματισμοί χρήσης του ιχθυαλεύρου και του ιχθυελαίου στις ιχθυοτροφές

Κατά περιόδους έχει εκφραστεί η άποψη ότι οι ιχθυοκαλλιέργειες συμβάλουν στην καταστροφή των ιχθυοαποθεμάτων σε παγκόσμια κλίμακα (Naylor *et al.*, 2000). Πιο συγκεκριμένα γίνεται λόγος για όλο και αυξανόμενη χρήση μικρών πελαγικών ψαριών, που προορίζονται για παρασκευή ιχθυοτροφών, ώστε να καλυφθούν οι διατροφικές ανάγκες των εκτρεφόμενων ψαριών. Η παγκόσμια αλιευτική παραγωγή ανέρχεται σε εκατομμύρια τόνους ετησίως (για το 2016), ενώ η θαλάσσια αλιεία σε 79 εκατομμύρια τόνους (FAO 2018). Με βάση την αξιολόγηση των αποθεμάτων, το 28% παγκοσμίως βρίσκεται σε εξάντληση λόγω της υπεραλίευσης, το 52% υπόκειται σε πλήρη εκμετάλλευση, με αποτέλεσμα να μην αποδίδει περισσότερο, ενώ το 20% των αποθεμάτων πιθανότατα να αποδώσει περισσότερο μελλοντικά (Tacon & Metian 2008). Σύμφωνα με τα πιο πάνω δεδομένα, αυξάνεται και η ζήτηση των ψαριών στην αγορά λόγω του αυξανόμενου πληθυσμού, κυρίως στις αναπτυσσόμενες χώρες. Στην προσπάθεια τους να καλύψουν αυτή την αυξανόμενη ζήτηση, η παγκόσμια παραγωγή ιχθυοκαλλιεργειών αυξήθηκε ραγδαία, αυξάνοντας όμως και τη ζήτηση των ιχθυοτροφών.

Δεδομένου του γεγονότος ότι η διαθεσιμότητα του ιχθυαλεύρου παραμένει στο ίδιο επίπεδο (6,5 εκατομμύρια τόνους ετησίως), για περίπου 25 χρόνια, η συνεχιζόμενη αύξηση της ζήτησης του για την ιχθυοκαλλιέργεια δεν είναι πλέον βιώσιμη (Tacon 2004). Επιπλέον, η τιμή τους συνεχώς αυξάνεται με αποτέλεσμα το ολοένα και υψηλότερο κόστος παραγωγής των ιχθυοκαλλιεργειών λόγω της στασιμότητας της παγκόσμιας παραγωγής των ιχθυαλεύρων (Alan 2006). Επίσης τα υψηλά επίπεδα των πολυχλωριωμένων διφαινυλίων (PCBs) και διοξινών που έχουν ανιχνευτεί κατά καιρούς σε διάφορα ιχθυοαποθέματα, εκτός

από περιβαλλοντικοί ρύποι, έχουν βλαβερές επιδράσεις στα ζώα, αλλά και στον άνθρωπο, οπότε κρίνονται ακατάλληλα για τις ιχθυοτροφές (Easton *et al.*, 2002). Εκτός αυτού, έχει διατυπωθεί για το πόσο ηθολογικά είναι σωστό αυτά τα ψάρια να πηγαίνουν για την παρασκευή των ιχθυοτροφών αντί για απευθείας κατανάλωση από τον άνθρωπο (Goldburg & Naylor 2005).

Η υπερβολική πρόσληψη λιπιδίων των ιχθυελαίων μειώνει τον ρυθμό απορρόφησης τους από τον οργανισμό με συνέπεια την έντονη εμφάνιση περιπλαχτικού λίπους στους εκτρεφόμενους ιχθύες. Ταυτόχρονα τα προϊόντα της οξείδωσης των λιπιδίων είναι δυνατό να αντιδράσουν με τα άλλα θρεπτικά συστατικά της τροφής, όπως πρωτεΐνες και βιταμίνες. Σε περίπτωση κατανάλωσης οξειδωμένων λιπιδίων οι ιχθύς παρουσιάζουν τα παρακάτω συμπτώματα: μειωμένο αριθμό ανάπτυξης, ανορεξία, μειωμένο συντελεστή μετατρεψιμότητας της τροφής και αυξημένα ποσοστά θνησιμότητας (Καραπαναγιωτίδης, 2011). Εν συνεχεία παρατηρείται συνεχής μείωση των ιχθυοαποθεμάτων, καθώς χρειάζονται 4-5 κιλά ψαριού για να παραχθεί 1 κιλό ιχθυελαίου. Η ποσότητα των ψαριών εξαρτάται από το είδος και την ηλικία τους. Τέλος το κόστος της παραγωγής ιχθυελαίου είναι αρκετά υψηλό.

Με βάση τα πιο πάνω προβλήματα που αντιμετωπίζει η παγκόσμια παράγωγή ιχθυοτροφών και λόγω έλλειψης εμπιστοσύνης στους συγκεκριμένους θαλάσσιους πόρους, οι τεχνητές ιχθυοτροφές εδώ και τουλάχιστον μια δεκαετία παρασκευάζονται με τη χρησιμοποίηση ολόενα και περισσότερων υποκατάστατων των ιχθυαλεύρων πρωτεϊνικών πηγών κυρίως χερσαίων φυτικών αλλά και ζωικών προϊόντων και ο κλάδος βρίσκεται σε μια διαρκή αναζήτηση νέων υποκατάστατων (Tacon 1997).

1.6 Αντικατάσταση ιχθυαλεύρου και ιχθυελαίου με προϊόντα χερσαίας φυτικής και ζωικής προέλευσης

Προσπάθειες μέσω διαφόρων ερευνών πραγματοποιήθηκαν προκειμένου να γίνει εφικτή η υποκατάσταση ή ακόμα και η πλήρης αντικατάσταση των ιχθυαλεύρων και ιχθυελαίων στις ιχθυοτροφές με προϊόντα φυτικής και ζωικής προέλευσης για την κάλυψη των διατροφικών αναγκών των ιχθύων σε πρωτεΐνες. Για να γίνει αυτό εφικτό, πρέπει πρώτα να εξετάζεται η καταλληλότητα τους με κύριο γνώμονα την ανάπτυξη που προσφέρουν στους εκτρεφόμενους ιχθύς σε συνδυασμό με την διαθεσιμότητα και την τιμή διάθεσης τους στο εμπόριο (Hartviksen *et al.*, 2014).

Τέτοια φυτικά άλευρα είναι το σογιάλευρο, το κραμβάλευρο, το φοινικάλευρο, το βαμβακάλευρο, το φυστικάλευρο, το ηλιάλευρο, το σουσαμάλευρο, το καρυδάλευρο, η γλουτένη αραβόσιτου, η γλουτένη σιταριού κ.ά. (Μεντέ & Νέγκας 2011). Βασικό μειονέκτημα για τα φυτικά άλευρα είναι η χαμηλή τους περιεκτικότητα σε πρωτεΐνες και σε ορισμένα απαραίτητα αμινοξέα. Επίσης, χρειάζονται την κατάλληλη επεξεργασία για να αποφευχθούν τοξικότητες, μείωση της ανάπτυξης και προβλήματα υγείας στους εκτρεφόμενους ιχθύς. Αυτό συμβαίνει επειδή περιέχουν διάφορες αντιδιατροφικές ουσίες και κρίνεται αναγκαία η αδρανοποίηση τους (Francis *et al.*, 2001).

Σύμφωνα με μελέτες που διεξήχθησαν με την απουσία ιχθυαλεύρου στις δίαιτες των ιχθύων, είχαν ως αποτέλεσμα την απώλεια των αναπτυξιακών τους επιδόσεων (Kaushik *et al.*, 1995, Watanabe *et al.*, 1998). Η υποκατάσταση ιχθυαλεύρου από τα φυτικά άλευρα μπορεί να επιτευχθεί μέχρι και 75% χωρίς να υπάρχει μείωση της ανάπτυξης των ιχθυδίων της τσιπούρας (Sitja-Bobadilla *et al.*, 2005).

Εκτός από τις φυτικές πρωτεΐνες, υπάρχουν και τα αλευρά ζωικής προέλευσης όπως είναι το αιματάλευρο, το κρεατάλευρο, το πτηνάλευρο κ.ά. Αυτές οι ζωικές πρωτεΐνες είναι αρκετά πολύτιμες στον τομέα αντικατάστασης των ιχθυαλεύρων. Για θέματα ασφάλειας των τροφίμων, καθώς και για λόγους περιορισμένων εισαγωγών και εξαγωγών, η χρήση των

ζωικών υποπροϊόντων στις ιχθυοτροφές είναι περιορισμένοι (Serwata 2007). Λόγω κακής ποιότητας και τη μεταβλητή τους πεπτικότητα, η χρήση τους είχε περιοριστεί αλλά μετά από αρκετές μελέτες διαπιστώθηκε ότι η ποιότητα των συστατικών αυτών έχει βελτιωθεί αρκετά (Nogueira et al., 2012).

Τα άλευρα ζωικής προέλευσης περιέχουν ένα υψηλό επίπεδο πρωτεϊνών και ένα πολύ καλό προφίλ αμινοξέων. Εκτός από την πολύ καλή τους γευστικότητα και πεπτικότητα, είναι πλούσια σε βιταμίνη Α και δεν περιέχουν αντι-διατροφικούς παράγοντες. Στο παρελθόν έχουν γίνει επιτυχημένες προσπάθειες για μερική αντικατάσταση του ιχθυαλεύρου από κρεατάλευρα και οστεάλευρα στα σιτηρέσια αρκετών εκτρεφόμενων ειδών ιχθύων (Allan *et al.*, 2000, Kikuchi *et al.*, 1997) χωρίς την παρουσία δυσμενών επιπτώσεων στην ανάπτυξη τους. Μια άλλη έρευνα που έγινε στο σολομό έδειξε ότι η αντικατάσταση ιχθυαλεύρου από ζωικές πρωτεΐνες μπορεί να γίνει αποτελεσματικά μέχρι και σε ποσοστό 20% χωρίς να παρουσιαστούν δυσμενείς επιπτώσεις στην ανάπτυξη και στην βιωσιμότητα των εκτρεφόμενων ιχθύων (Hartviksen *et al.*, 2014).

Συμπερασματικά η αντικατάσταση ιχθυαλεύρου από ζωικές πρωτεΐνες μπορεί να αποδώσει καλύτερα και ταχύτερα στην ανάπτυξη των ψαριών σε σχέση με άλλες φυτικές πρωτεΐνες, μιας και το κόστος τους είναι χαμηλό αφού αποτελούν υποπροϊόντα των αντίστοιχων βιομηχανιών.

Λαμβάνοντας υπόψη την άφθονη και συνεχώς αυξανόμενη παραγωγή φυτών, τα φυτικά έλαια αποτελούν την πιο πιθανή βιώσιμη λύση που υπάρχει σήμερα. Μερικά φυτικά έλαια είναι το λινέλαιο, ελαιόλαδο, φοινικέλαιο, ηλέλαιο, σογιέλαιο και λάδι καρύδας κανόλα (ελαιοκράμβη) (Μεντέ & Νέγκας 2011). Τα περισσότερα φυτικά έλαια είναι σχετικά φτωχές πηγές των ω-3 λιπαρών οξέων σε σύγκριση με το ιχθυέλαιο. Τα απαραίτητα ω-3

HUFA για την ανάπτυξη και την υγεία των ψαριών απουσιάζουν από όλα τα φυτικά έλαια αλλά είναι πλούσια σε ω-6 και ω-9 οξέα.

Συγκεκριμένη έρευνα έχει δείξει ότι τα φυτικά έλαια εύκολα καταβολίζονται από τα ψάρια σαν πηγές ενέργειας για την ανάπτυξη (Bell *et al.*, 2001). Επομένως, μεγάλη ποσότητα ιχθυελαίου που χρησιμοποιείται στις ιχθυοτροφές μπορεί να αντικατασταθεί με φυτικά έλαια χωρίς να επηρεάσει την ανάπτυξη των εκτρεφόμενων ιχθύων.

Έλαια από τα υποπροϊόντα χερσαίων ζώων αποτελούν φθινή διαθέσιμη πηγή για τη βιομηχανία των ιχθυοτροφών. Όμως η χρήση τους στις ιχθυοτροφές έχει απαγορευθεί από την ευρωπαϊκή ένωση.

1.7 Τα μικροφύκη ως πηγές θρεπτικών συστατικών στις ιχθυοτροφές

Η ανάγκη για ασφαλέστερες καλύψεις των θρεπτικών αναγκών από τα ζωικά προϊόντα, έστρεψε το ενδιαφέρον και στα μικροφύκη (Hemaiswarya *et al.*, 2010). Τα μικροφύκη θα μπορούσαν να αποτελέσουν μια υποσχόμενη εναλλακτική λύση για την ολική ή μερική αντικατάσταση του ιχθυαλεύρου, αλλά και του ιχθυελαίου για τις ανάγκες των εκτρεφόμενων ειδών. Για να γίνει αυτό εφικτό όμως, δεν θα πρέπει να επηρεάσει αρνητικά την ανάπτυξη και την ποιότητα της σάρκας των εκτρεφόμενων ειδών.

Τα μικροφύκη περιέχουν μια ικανοποιητική ποσότητα φυτικής πρωτεΐνης της τάξεως από 30-55%. Επίσης περιέχουν 13-33% ολικά λιπίδια, με σημαντικές ποσότητες πολυακόρεστων λιπαρών οξέων, τα οποία είναι απαραίτητα για τη διατροφή των ψαριών. Είναι πλούσια σε βιταμίνες και σε χρωστικές όπως η χλωροφύλλη, καροτενοειδών και φυκοδιπεπτινών (Vizcaino *et al.*, 2014). Τα μικροφύκη αποτελούν μια σημαντική πηγή τροφής για τα πρώιμα αναπτυξιακά στάδια των εκτρεφόμενων ιχθύων (Shields & Lupatsch 2012). Σύμφωνα με μια παλαιότερη έρευνα που έγινε στις δίαιτες για τη διατροφή νεαρών

ιχθύων τσιπούρας (*Sparus aurata*) και κράτησε για 45 μέρες, με αντικατάσταση 20% του ιχθυαλεύρου παρατηρήθηκε σημαντική αύξηση της απορροφητικής ικανότητας του εντερικού βλεννογόνου τόσο στην πρόσθια όσο και στην οπίσθια εντερική περιοχή (Vizcaino *et al.*, 2014).

Παρόλα αυτά, η υψηλή τιμή προμήθειας των μικροφυκών σε σύγκριση με άλλα άλευρα περιορίζει επί του παρόντος την εμπορική χρήση τους σε εξειδικευμένες ζωοτροφές. Ωστόσο η μελλοντική εμπορική βιωσιμότητα θα εξαρτηθεί από τη διαθέσιμη ποιότητα, ποσότητα και το κόστος σε σχέση με τα άλευρα που χρησιμοποιούνται σήμερα (Shields & Lupatsch 2012).

1.8 Σκοπός της εργασίας

Λόγω της πολύ καλής θρεπτικής τους αξίας, τα ιχθυάλευρα και τα ιχθυέλαια μελλοντικά θα συνεχίσουν να αποτελούν κύριο παράγοντα στις υδατοκαλλιέργειες. Ωστόσο θα χρησιμοποιούνται με σύνεση λόγω της αυξημένης ζήτησης τους και της καταστροφικής μείωσης των αλιευτικών αποθεμάτων (Tacon & Metian 2008). Καλούμαστε λοιπόν να αναζητήσουμε και να υλοποιήσουμε νέες εναλλακτικές διατροφικές πηγές για τα εκτρεφόμενα θαλάσσια είδη, οι οποίες πρέπει να είναι οικονομικά βιώσιμες και φιλικές προς το περιβάλλον.

Η παρούσα μελέτη είχε σκοπό τη διερεύνηση της καταλληλότητας των μικροφυκών, υποκαθιστώντας το ιχθυάλευρο και το ιχθυέλαιο, στη διατροφή της εκτρεφόμενης τσιπούρας (*S. aurata*). Συγκεκριμένα σκοπός της εργασίας ήταν η μελέτη της επίδρασης σιτηρέσιων που περιείχαν είτε άλευρο του μικροφύκου *Chlorella vulgaris*, είτε άλευρα των ειδών *Schizocitrium sp.* και *Nannocloropsis sp.* στη χημική σύσταση ολόκληρου του σώματος και του εδωδίου μυϊκού ιστού της τσιπούρας (*S. aurata*) για να αξιολογηθεί η θρεπτική της αξία.

2. ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ

2.1 Δειγματοληψίες

Για τις ανάγκες της παρούσας μελέτης συλλέχθηκαν ιχθύς του είδους *S. aurata* (τσιπούρα), σωματικού βάρους 15-20g, οι οποίοι προέρχονταν από διατροφικό πείραμα που πραγματοποιήθηκε στον Πειραματικό Σταθμό Υδατοκαλλιεργειών του Τμήματος Γεωπονίας Ιχθυολογίας και Υδάτινου Περιβάλλοντος. Στο διατροφικό πείραμα 12 εβδομάδων τα ιχθύδια του είδους *S. aurata* με αρχικό μέσο βάρος $1,10 \pm 0,01g$ προήλθαν από τον ιχθυογεννητικό σταθμό της εταιρίας ΣΕΛΟΝΤΑ (Πελασγία Φθιώτιδος).

Τα ιχθύδια ήταν διαχωρισμένα σε 6 διατροφικές ομάδες, όπου η κάθε μια λάμβανε και διαφορετικό σιτηρέσιο. Οι ιχθύες της ομάδας μάρτυρα (FM) διατράφηκαν αποκλειστικά με 100% ιχθυάλευρο ως ζωική πηγή πρωτεΐνης και ιχθυέλαιο ως πηγή ω-3 λιπαρών οξέων στην τροφή τους, ενώ 3 ομάδες ιχθύων διατράφηκαν με άλευρο *Chlorella vulgaris* (CM) όπου αντικατέστησε την πρωτεΐνη του ιχθυαλεύρου κατά 10% (CM10), 20% (CM20) και 30% (CM30) αντίστοιχα, ενώ άλλες δυο ομάδες ιχθύων διατράφηκαν με μίγμα αλεύρων *Schizocitrium sp.* και *Nannocloropsis sp.* (SN) που αντικατέστησε το ιχθυέλαιο κατά 50% (SN50) και 100% (SN100). Τα σιτηρέσια ήταν μεταξύ τους ισοενεργειακά (21 MJ/Kg τροφής) και ισοπρωτεϊνικά (52% CP της τροφής) (Πιν. 2.1).

Πίνακας 2.1: Σύσταση σιτηρεσιών σε πρώτες ύλες και χημική σύσταση

Συστατικά/τροφές	FM	CM10	CM20	CM30	SN50	SN100
Σύσταση σε πρώτες ύλες (%)						
Chlorella, άλευρο	0,00	6,35	12,70	19,00	0,00	0,00
Ιχθυάλευρο	53,70	48,35	42,95	37,60	53,70	52,95
Σιτάρι	10,40	10,44	10,54	10,67	8,67	6,60
Γλουτένη καλαμποκιού	24,50	24,30	24,10	23,90	20,10	16,75
Ιχθυέλαιο	10,60	9,60	8,60	7,55	5,30	0,00
Σογιέλαιο	0,00	0,00	0,00	0,00	2,80	5,65
Nannocloropsis άλευρο	0,00	0,00	0,00	0,00	5,50	11,00
Schizocitrium άλευρο	0,00	0,00	0,00	0,00	3,13	6,25
Βιταμίνες & ανόργανα στοιχεία	0,30	0,30	0,30	0,30	0,30	0,30
Φωσφορικό μονοασβέστιο	0,30	0,30	0,30	0,30	0,30	0,30
Βιταμίνη C	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10
Βιταμίνη E	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10
Λυσίνη	0,00	0,12	0,23	0,35	0,00	0,00
Μεθειονίνη	0,00	0,04	0,08	0,13	0,00	0,00
Χημική σύσταση						
Υγρασία (%)	6,63	6,63	6,64	6,65	6,51	6,39
Ξηρά ουσία (%)	93,37	93,37	93,36	93,35	93,49	93,61
Ολικές πρωτεΐνες (%)	52,01	52,02	52,01	52,02	52,02	52,15
Ολικά λίπη (%)	16,02	15,32	14,61	13,86	16,01	16,04
Υδατάνθρακες (%)	13,62	14,98	16,39	17,81	13,13	12,61
Ινώδεις Ουσίες (%)	0,38	1,15	1,92	2,68	0,32	0,26
Τέφρα (%)	11,48	10,76	10,04	9,32	12,09	12,58
Ενέργεια (KJ/g)	21,05	21,07	21,09	21,10	20,96	20,92
EPA (%)	0,74				0,74	0,74
DHA (%)	1,31				1,31	1,31

Στο τέλος του διατροφικού πειράματος, οι ιχθύες θανατώθηκαν με ισχυρή αναισθητοποίηση με φαινοξυαιθανόλη και άμεσης τοποθέτησης σε πάγο. Από κάθε διατροφική ομάδα συλλέχθηκαν δώδεκα (9) άτομα για τις αναλύσεις της θρεπτικής σύστασης ολόκληρου του σώματος και επιπρόσθετα πέντε (3) άτομα για τις αναλύσεις του μυϊκού τους ιστού. Οι ιστοί αποθηκεύτηκαν στους -20 °C μέχρι το πέρας των αναλύσεων τους.

2.2 Χημικές αναλύσεις

2.2.1 Προσδιορισμός υγρασίας/ ξηρής ουσίας

Ο προσδιορισμός υγρασίας/ ξηρής ουσίας σε ολόκληρο το σώμα των και στον μυϊκό ιστό των ψαριών πραγματοποιήθηκε με τη συλλογή δειγμάτων, αντίστοιχα βάρους 1.5g και ακολουθώντας την ξήρανση των δειγμάτων σε φούρνο για 24 ώρες στους 105 °C (AOAC 1995). Στη συνέχεια αφού πέρασε ο χρόνος ξήρανσης, τα δείγματα βγήκαν από το φούρνο και τοποθετήθηκαν σε θερμοκρασία δωματίου για 5min ώστε να ψυχθούν. Το ποσοστό υγρασίας/ ξηρής ουσίας υπολογίζεται ως εξής:

$W_{\text{ξηρής ουσίας}} = (W_{\text{δει/τος μετά την ξήρανση μαζί με το δισκίο}} - W_{\text{δισκίου}})$

$\text{Ξηρή ουσία \%} = (W_{\text{ξηρής ουσίας}} \times 100) / W_{\text{δει/τος}}$

Όμοια

$W_{\text{υγρασία}} = W_{\text{δει/τος}} - (W_{\text{δει/τος μετά την ξήρανση}} - W_{\text{δισκίου}})$

$\text{Υγρασία \%} = (W_{\text{υγρασία}} \times 100) / W_{\text{δει/τος}}$

2.2.2 Προσδιορισμός ολικών λιπαρών ουσιών

Ο προσδιορισμός των ολικών λιπαρών ουσιών σε ολόκληρο το σώμα και στο μυϊκό ιστό των ψαριών έγινε με την μέθοδο Soxhlet (AOAC 1995). Σε γυάλινα δοχεία εκχύλισης προστέθηκαν 3 πέτρες βρασμού και καταγράφηκε το βάρος τους σε ζυγό ακριβείας 4 δεκαδικών ψηφίων. Στην συνέχεια εφαρμόστηκαν στα δοχεία χάρτινοι ηθμοί. Ζυγίστηκε ποσότητα δείγματος βάρους 2g και μεταφέρθηκε στο χάρτινο δοχείου ηθμού. Το δείγμα του ιστού, και της τροφής σε κάποιες περιπτώσεις, πρέπει να είναι ξηραμένη και αλεσμένη. Η ξήρανση πραγματοποιείται σε φούρνο στους 105°C για περίπου 24h (μέχρι σταθεροποίησης του βάρους του δείγματος). Στο γυάλινο δοχείο εκχύλισης προστέθηκαν 150ml πετρελαϊκού

αιθέρα, στον οποίο εμβαπτίστηκαν τα χάρτινα δοχεία ηθμού με το δείγμα. Τα γυάλινα δοχεία εκχύλισης μαζί με τους χάρτινους ηθμούς μεταφέρθηκαν σε ειδική συσκευή εκχύλισης λιπαρών ουσιών (συσκευή Soxhlet). Κατά τη διαδικασία της εκχύλισης, τα δείγματα θερμάνθηκαν στους 150 °C υπό την παρουσία του οργανικού διαλύτη, όπου έλαβε χώρα το πρώτο στάδιο της εκχύλισης. Έπειτα, ο οργανικός διαλύτης απορροφήθηκε και εκπλύθηκε στο δείγμα για 1,5h, όπου έλαβε χώρα το δεύτερο στάδιο της εκχύλισης. Κατόπιν, απορροφήθηκε ο διαλύτης για 15min με αποτέλεσμα τα ολικά λιπίδια του δείγματος να παραμείνουν στον πάτο του δοχείου εκχύλισης. Για την απομάκρυνση των υπολειμμάτων πετρελαϊκού αιθέρα τα δοχεία (χωρίς τους χάρτινους ηθμούς) μεταφέρθηκαν στο φούρνο για 15min στους 105°C. Στην συνέχεια τοποθετήθηκαν σε αφυγραντήρα για 1h το λιγότερο και πάρθηκαν οι μετρήσεις βάρους. Το καθαρό βάρος των λιπαρών ουσιών δίνεται από τον τύπο:

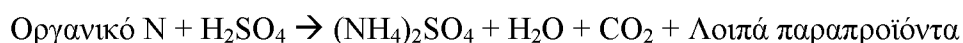
$$\text{Ολικά λιπίδια \%} = (W(\text{g})_{\text{τελικό δοχείο εκχύλισης}} - W(\text{g})_{\text{αρχικό δοχείο εκχύλισης}}) * 100$$

2.2.3 Προσδιορισμός αζωτούχων ενώσεων

Ο προσδιορισμός των ολικών αζωτούχων ουσιών σε ολόκληρο το σώμα και στον μυϊκό ιστό των ψαριών πραγματοποιήθηκε με τη μέθοδο Kjeldahl (AOAC 1995) Η διαδικασία προσδιορισμού των αζωτούχων ενώσεων έχει ως εξής:

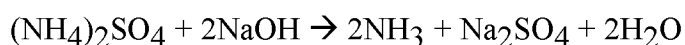
Σε ζυγό ακριβείας τεσσάρων δεκαδικών ψηφίων ζυγίστηκαν δείγματα τροφών - μυϊκών ιστών βάρους 0,2g (3 επαναλήψεις για κάθε δείγμα) και μεταφέρθηκαν σε δοκιμαστικούς σωλήνες πέψης. Προστέθηκαν 2 ταμπλέτες καταλύτη Kjeltabs (5g Potassium Sulphate K_2SO_4 και 5g copper (II) Sulphate $CuSO_4 \cdot 5H_2O$) για να επιταχυνθεί η αντίδραση της πέψης. Στην συνέχεια, προστέθηκαν στα δείγματα 15ml πυκνού θειικού οξέως (H_2SO_4) και τοποθετούνται στην συσκευή πέψης Kjeltec 2000. Η διαδικασία της πέψης πραγματοποιείται στους 150°C για 85min. Με την συσκευή πέψης επιτυγχάνεται το βράσιμο των δειγμάτων και με την βοήθεια του πυκνού θειικού οξέως πραγματοποιείται διάσπαση

των αζωτούχων ενώσεων. Το αδέσμευτο άζωτο (N) δεσμεύεται με την μορφή θεικού αμμωνίου (άλας), με την εξής αντίδραση:



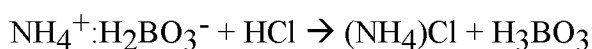
Αφού ολοκληρωθεί η διαδικασία της πέψης τα δείγματα αφήνονται να κρυώσουν για 15 min

Κατόπιν, τα δείγματα τοποθετούνται σε συσκευή απόσταξης, στην οποία προστίθενται 100 ml αποσταγμένου H₂O, 80 ml NaOH και 50 ml H₃BO₃. Η διαδικασία διαρκεί 6min. Το θεικό αμμώνιο, που είχε παραχθεί κατά την διαδικασία της πέψης, αντιδρά με υδροξείδιο του νατρίου (NaOH) και αποδεσμεύεται αμμωνία (σε αέρια μορφή) και θεικό νάτριο (Na₂SO₄). Η αμμωνία (NH₄) έπειτα αντιδρά με βορικό οξύ (H₃BO₄) και το άζωτο του δείγματος δεσμεύεται σε μορφή βορικού αμμωνίου, σύμφωνα με τις εξής αντιδράσεις:



Το βορικό αμμώνιο συγκεντρώνεται σε κωνική φιάλη που περιείχε 4 σταγόνες ερυθρού του μεθυλενίου (δείκτη pH).

Το τελικό στάδιο της διαδικασίας αποτελεί η τιτλοδότησης του διαλύματος βορικού αμμωνίου με αραιό διάλυμα υδροχλωρικού οξέως (0,1N) υπό καθεστώς συνεχής κίνησης σύμφωνα με την αντίδραση:



Η συγκέντρωση (σε moles) των ιόντων υδρογόνου που απαιτούνται για να καταλύσουν την αντίδραση έως το τελικό σημείο, ισοδυναμεί με τη συγκέντρωση του αζώτου που περιέχει το δείγμα. Η αλλαγή του χρώματος του δείκτη, από κίτρινο σε φούξια, καταδεικνύει το τελικό σημείο της αντίδρασης. Η περιεκτικότητα του δείγματος σε άζωτο (N %) υπολογίστηκε από τη σχέση:

$$\text{N \%} = [(\text{ml HCl} - \text{ml τυφλού}) \times 0,8754] / W_{\text{δειγ/τος}}$$

2.2.4 Προσδιορισμός τέφρας

Σε πυρίμαχα δοχεία ζυγίζουμε δείγμα μυϊκού ιστού – τροφής βάρους 1,5g, σε ζυγαριά ακρίβειας 4 δεκαδικών ψηφίων. Στην συνέχεια τοποθετούνται τα δείγματα στον αποτεφρωτήρα, η διαδικασία πραγματοποιείται στους 600°C για 24h. (AOAC 1990). Μετά το πέρας του εικοσιτετραώρου τα δείγματα μένουν για 1h ώστε να κρυσώσουν. Στην συνέχεια πάρθηκαν μετρήσεις βάρους των δειγμάτων. Η περιεκτικότητα των δειγμάτων σε τέφρα (%) υπολογίζεται με τον εξής τύπο:

$$\text{Τέφρα (\%)} = (W_{\text{τέφρας}} (\text{g}) \times 100) / W_{\text{δείγματος}} (\text{g})$$

2.2.5 Προσδιορισμός ολικής ενέργειας

Ο προσδιορισμός της ενέργειας των δειγμάτων έγινε με τη βοήθεια θερμιδόμετρου. Κατά την πλήρη καύση ενός δείγματος εκλύεται θερμότητα, η οποία αποτελεί τη θερμιδική αξία (ολική ενέργεια του δείγματος). Η καύση πραγματοποιείται μέσα σε ένα κλειστό ανοξείδωτο δοχείο τύπου οβίδας. Η θερμότητα που εκλύεται θερμαίνει το νερό, το οποίο με τη σειρά του θερμαίνει ένα εξωτερικό δοχείο γνωστής θερμοκρασίας. Η αύξηση της θερμοκρασίας του εξωτερικού δοχείου καταγράφεται από ένα θερμόμετρο και έπειτα υπολογίζεται η θερμιδική αξία στο περιεχόμενο του δείγματος που κάηκε. Τα αποτελέσματα δίνονται ηλεκτρονικά σε Kcal/g.

2.3 Στατιστική ανάλυση

Τα δεδομένα των αναλύσεων επεξεργάστηκαν με τη μέθοδο της Ανάλυσης της Διακύμανσης Μονής Κατεύθυνσης (one-way ANOVA) και οι διαφορές κρίθηκαν στατιστικά σημαντικές για τιμές $P < 0,05$. Στις περιπτώσεις όπου η ANOVA έδειξε στατιστικά

σημαντικές διαφορές, τα δεδομένα υποβλήθηκαν στο Tukey's test για τον εντοπισμό των διαφορών μεταξύ των διαφορετικών μεταχειρίσεων (Zar 1999).

3 ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

3.1 Θρεπτική αξία ολικού σώματος τσιπούρας

3.1.1 Περιεκτικότητα σε υγρασία

Η περιεκτικότητα των ολικών σωμάτων της τσιπούρας σε υγρασία (Πιν. 3.1) για τα ψάρια FM μεταχείρισης ήταν $68,76 \pm 1,33$ g/Kg για την CM10 μεταχείρισης ήταν $68,90 \pm 2,02$ g/Kg για την CM20 μεταχείρισης ήταν $67,23 \pm 2,08$ g/Kg και τέλος για την μεταχείριση CM30 ήταν $67,26 \pm 1,70$ g/Kg. Για την διατροφική μεταχείριση SN50 ήταν $67,75 \pm 0,87$ g/Kg και για τη μεταχείριση SN100 ήταν $68,35 \pm 1,18$ g/Kg. Η περιεκτικότητα σε υγρασία στο σώμα της τσιπούρας δεν επηρεάστηκε σημαντικά ($P > 0,05$) από την βαθμιαία μείωση του ιχθυαλεύρου και του ιχθυελαίου στα σιτηρέσια. Τα μεγαλύτερα ποσοστά περιεκτικότητας σε υγρασία καταγράφηκαν για τα ψάρια της CM10 μεταχείρισης και SN100 ομάδες, ενώ τα μικρότερα ποσοστά για την CM20 και SN50 ομάδες χωρίς όμως να υπάρχουν σημαντικές διαφορές μεταξύ των τιμών.

3.1.2 Περιεκτικότητα σε ολικές αζωτούχες ουσίες

Ο μέσος όρος περιεκτικότητας σε αζωτούχες ενώσεις των ολικών σωμάτων της τσιπούρας (Πιν. 3.1) ήταν $51,55 \pm 1,84$ g/Kg για την FM ομάδα ψαριών, $51,81 \pm 1,48$ g/Kg για την CM10, $52,80 \pm 3,11$ g/Kg για την CM20 και $52,51 \pm 1,66$ g/Kg για την CM30. Για την διατροφική μεταχείριση SN50 ήταν $51,70 \pm 0,57$ g/Kg και για τη μεταχείριση SN100 ήταν $53,34 \pm 2,09$ g/Kg. Με βάση την στατιστική επεξεργασία, παρατηρήθηκε ότι η CM20 είχε την μεγαλύτερη περιεκτικότητα σε πρωτεΐνη και SN100, ενώ την χαμηλότερη τα ψάρια των ομάδων FM και SN50. Ωστόσο, αυτές οι διαφορές ήταν στατιστικά μη σημαντικές ($P > 0,05$).

3.1.3 Περιεκτικότητα σε ολικές λιπαρές ουσίες

Η μέση περιεκτικότητα λίπους σε ολόκληρο το σώμα της τσιπούρας (Πιν. 3.1) για την FM μεταχείριση ήταν $36,54 \pm 3,23$ g/Kg για τα ψάρια της μεταχείρισης CM10 ήταν $35,78 \pm 0,77$ g/Kg, για την μεταχείριση CM20 ήταν $35,21 \pm 4,57$ g/Kg και για την CM30 μεταχείριση το ποσοστό καταγράφηκε $36,59 \pm 1,74$ g/Kg. Για την διατροφική μεταχείριση SN50 ήταν $36,36 \pm 2,77$ g/Kg και για τη μεταχείριση SN100 ήταν $34,69 \pm 1,00$ g/Kg. Οι τιμές του λίπους για τα σώματα του τελικού πληθυσμού δεν παρουσίασαν σημαντικές διαφορές ($P > 0,05$) μεταξύ των διαφορετικών διατροφικών ομάδων.

3.1.4 Περιεκτικότητα σε τέφρα

Η μέση περιεκτικότητα τέφρας σε ολόκληρο το σώμα της τσιπούρας (Πιν. 3.1) για την FM μεταχείριση ήταν $10,93 \pm 0,73$ g/Kg, για τα ψάρια της μεταχείρισης CM10 ήταν $10,94 \pm 0,50$ g/Kg, για την μεταχείριση CM20 ήταν $11,38 \pm 0,12$ g/Kg και για την CM30 μεταχείριση το ποσοστό καταγράφηκε $10,64 \pm 0,71$ g/Kg. Για την διατροφική μεταχείριση SN50 ήταν $10,66 \pm 0,91$ g/Kg και για τη μεταχείριση SN100 ήταν $11,25 \pm 0,82$ g/Kg. Οι τιμές της τέφρας για τα σώματα του τελικού πληθυσμού δεν παρουσίασαν σημαντικές διαφορές ($P > 0,05$) μεταξύ των διαφορετικών διατροφικών ομάδων.

3.1.5 Περιεκτικότητα σε ενέργεια

Η μέση περιεκτικότητα ενέργειας σε ολόκληρο το σώμα της τσιπούρας (Πιν. 3.1) για την FM μεταχείριση ήταν $25967,50 \pm 765,16$ MJ/Kg, για τα ψάρια της μεταχείρισης CM10 ήταν $25536,00 \pm 311,13$ MJ/Kg, για την μεταχείριση CM20 ήταν $25967,67 \pm 299,84$ MJ/Kg και για την CM30 μεταχείριση το ποσοστό καταγράφηκε $25894,83 \pm 1019,99$ MJ/Kg. Για την διατροφική μεταχείριση SN50 ήταν $25631,83 \pm 460,34$ MJ/Kg και για τη μεταχείριση SN100 ήταν $25350,83 \pm 309,40$ MJ/Kg.

Πίνακας 3.1: Θρεπτική αξία (g/Kg της ξηρής ουσίας) και ολική ενέργεια (MJ/Kg) των ολικών σωμάτων των διατροφικών ομάδων (9 ιχθείς ανά διατροφική μεταχείριση).

	FM	CM10	CM20	CM30	SN50	SN100
Υγρασία (g/Kg επί νωπού)	68,76±1,33	68,90±2,02	67,23±2,08	67,26±1,70	67,75±0,87	68,35±1,18
Πρωτεΐνη (g/Kg)	51,55±1,84	51,81±1,48	52,80±3,11	52,51±1,66	51,70±0,57	53,34±2,09
Λίπος (g/Kg)	36,54±3,23	35,78±0,77	35,21±4,57	36,59±1,74	36,36±2,77	34,69±1,00
Τέφρα (g/Kg)	10,93±0,73	10,94±0,50	11,38±0,12	10,64±0,71	10,66±0,91	11,25±0,82
Ενέργεια (MJ/Kg)	25967,50±76 5,16	25536,00±31 1,13	25967,67±29 9,84	25894,83±10 19,99	25631,83±46 0,34	25350,83±30 9,40

Σημ.: Τιμές που δεν αντιπροσωπεύονται από τον ίδιο εκθέτη οριζόντια ανά γραμμή δείχνουν στατιστικώς σημαντική διαφορά ($P < 0,05$) μεταξύ των διατροφικών ομάδων.

3.2 Θρεπτική αξία μυϊκού ιστού τσιπούρας

3.2.1 Περιεκτικότητα σε υγρασία

Η περιεκτικότητα του μυϊκού ιστού της τσιπούρας σε υγρασία (Πιν. 3.2) για τα ψάρια της FM μεταχείρισης ήταν 73,63±0,61 g/Kg, για την CM10 μεταχείριση ήταν 73,37±0,92 g/Kg, για την CM20 ήταν 73,95±1,02 g/Kg και τέλος για την μεταχείριση CM30 ήταν 72,75±0,59 g/Kg. Για την διατροφική μεταχείριση SN50 ήταν 72,53±0,66 g/Kg και για τη μεταχείριση SN100 ήταν 73,57±0,46 g/Kg. Οι τιμές της υγρασίας για τα σώματα του τελικού πληθυσμού δεν παρουσίασαν σημαντικές διαφορές ($P > 0,05$) μεταξύ των διαφορετικών διατροφικών ομάδων.

3.2.2 Περιεκτικότητα σε ολικές αζωτούχες ουσίες

Ο μέσος όρος περιεκτικότητας σε αζωτούχες ενώσεις του μυϊκού ιστού της τσιπούρας (Πιν. 3.2) ήταν 71,08±3,99 g/Kg για την FM ομάδα ψαριών, 71,24±1,97 g/Kg για την CM10, για την CM20 71,87±4,92 g/Kg και για την CM30 70,11±0,87 g/Kg. Για την διατροφική

μεταχείριση SN50 ήταν $69,50 \pm 1,98$ g/Kg και για τη μεταχείριση SN100 ήταν $73,34 \pm 2,60$ g/Kg. Οι τιμές σε αζωτούχες ενώσεις για τα σώματα του τελικού πληθυσμού δεν παρουσίασαν σημαντικές διαφορές ($P > 0,05$) μεταξύ των διαφορετικών διατροφικών ομάδων.

3.2.3 Περιεκτικότητα σε ολικές λιπαρές ουσίες

Η μέση περιεκτικότητα λίπους στον μυϊκό ιστό της τσιπούρας (Πιν. 3.2) για την FM μεταχείριση ήταν $20,31 \pm 0,82$ g/Kg, για τα ψάρια της μεταχείρισης CM10 ήταν $22,23 \pm 2,69$ g/Kg, για την μεταχείριση CM20 ήταν $21,83 \pm 4,68$ g/Kg και για την CM30 μεταχείριση το ποσοστό καταγράφηκε $24,61 \pm 2,19$ g/Kg. Για την διατροφική μεταχείριση SN50 ήταν $24,66 \pm 2,79$ g/Kg και για τη μεταχείριση SN100 ήταν $21,89 \pm 2,08$ g/Kg. Η στατιστική ανάλυση έδειξε ότι ο μέσος όρος περιεκτικότητας λίπους στο μυϊκό ιστό ήταν μειωμένο στα ψάρια που διατράφηκαν με το FM σιτηρέσιο.

3.2.4 Περιεκτικότητα σε τέφρα

Η μέση περιεκτικότητα τέφρας στο μυϊκό ιστό της τσιπούρας (Πιν. 3.2) για την FM μεταχείριση ήταν $4,72 \pm 0,25$ g/Kg, για τα ψάρια της μεταχείρισης CM10 ήταν $4,93 \pm 0,08$ g/Kg, για την μεταχείριση CM20 ήταν $4,83 \pm 0,31$ g/Kg και για την CM30 μεταχείριση το καταγράφηκε $4,44 \pm 0,03$ g/Kg. Για την διατροφική μεταχείριση SN50 ήταν $4,61 \pm 0,18$ g/Kg και για τη μεταχείριση SN100 ήταν $4,80 \pm 0,08$ g/Kg. Οι τιμές της τέφρας για τα σώματα του τελικού πληθυσμού δεν παρουσίασαν σημαντικές διαφορές ($P > 0,05$) μεταξύ των διαφορετικών διατροφικών ομάδων.

3.2.5 Περιεκτικότητα σε ενέργεια

Η μέση περιεκτικότητα ενέργειας στο μυϊκό ιστό της τσιπούρας (Πιν. 3.2) για την FM μεταχείριση ήταν $25474,67 \pm 818,77$ MJ/Kg, για τα ψάρια της μεταχείρισης CM10 ήταν $25695,67 \pm 196,89$ MJ/Kg, για την μεταχείριση CM20 ήταν $25325,33 \pm 742,81$ MJ/Kg και για την CM30 μεταχείριση το καταγράφηκε $25850,67 \pm 339,90$ MJ/Kg. Για την διατροφική μεταχείριση SN50 ήταν $26098,00 \pm 508,73$ MJ/Kg και για τη μεταχείριση SN100 ήταν $25641,00 \pm 298,71$ MJ/Kg. Η στατιστική ανάλυση έδειξε ότι η μέση περιεκτικότητα ενέργειας στο μυϊκό ιστό ήταν περίπου η ίδια σε όλες τις διατροφικές μεταχειρίσεις.

Πίνακας 3.2: Θρεπτική αξία (g/Kg της ξηρής ουσίας) και ολική ενέργεια (MJ/Kg) των μυϊκών ιστών των διατροφικών ομάδων (9 ιχθείς ανά διατροφική μεταχείριση).

	FM	CM10	CM20	CM30	SN50	SN100
Υγρασία (g/Kg επί νωπού)	$73,63 \pm 0,61$	$73,37 \pm 0,92$	$73,95 \pm 1,02$	$72,75 \pm 0,59$	$72,53 \pm 0,66$	$73,57 \pm 0,46$
Πρωτεΐνη (g/Kg)	$71,08 \pm 3,99$	$71,24 \pm 1,97$	$71,87 \pm 4,92$	$70,11 \pm 0,87$	$69,50 \pm 1,98$	$73,34 \pm 2,60$
Λίπος (g/Kg)	$20,31 \pm 0,82$	$22,23 \pm 2,69$	$21,83 \pm 4,68$	$24,61 \pm 2,19$	$24,66 \pm 2,79$	$21,89 \pm 2,08$
Τέφρα (%g/Kg)	$4,72 \pm 0,25$	$4,93 \pm 0,08$	$4,83 \pm 0,31$	$4,44 \pm 0,03$	$4,61 \pm 0,18$	$4,80 \pm 0,08$
Ενέργεια (MJ/Kg)	$25474,67 \pm 818,77$	$25695,67 \pm 196,89$	$25325,33 \pm 742,81$	$25850,67 \pm 339,90$	$26098,00 \pm 508,73$	$25641,00 \pm 298,71$

Σημ.: Τιμές που δεν αντιπροσωπεύονται από τον ίδιο εκθέτη οριζόντια ανά γραμμή δείχνουν στατιστικώς σημαντική διαφορά ($P < 0,05$) μεταξύ των διατροφικών ομάδων

4. ΣΥΖΗΤΗΣΗ

Στη παρούσα μελέτη όλες οι ομάδες αντικατάστασης του ιχθυαλεύρου CM είχαν παρόμοια θρεπτική σύσταση ολόκληρου του σώματος και του μυϊκού ιστού σε σύγκριση με τα ψάρια-μάρτυρες (FM). Δεδομένου ότι όλες οι ομάδες ψαριών είχαν παρόμοια ανάπτυξη, πρόσληψη τροφής και μεταρτεψιμότητας τροφής (τα αποτελέσματα δεν παρουσιάζονται), τα αποτελέσματα αυτά δείχνουν ότι η μερική αντικατάσταση της πρωτεΐνης ιχθυαλεύρου από το άλευρο *Chlorella vulgaris* έως και 30% δεν επηρέασε τη σύνθεση ολόκληρου του σώματος και του μυϊκού ιστού της τσιπούρας (*S. aurata*).

Παρόμοια αποτελέσματα για την επίδραση του αλεύρου *Chlorella vulgaris* που αντικατέστησε το ιχθυάλευρο έχουν αναφερθεί και σε άλλα είδη ιχθύων (Badwy *et al.*, 2008, Rahimnejad *et al.*, 2016). Ωστόσο, η διατροφική συμπερίληψη των μικροφυκών είναι γνωστό ότι επηρεάζει σημαντικά τη σύνθεση του σώματος των ψαριών (Rahimnejad *et al.*, 2016). Με 50% ή περισσότερο αντικατάστασης του ιχθυαλεύρου από άλευρο *C. vulgaris* παρατηρήθηκε μείωση της υγρασίας, των λιπιδίων και της ενέργειας ενώ αυξήθηκε η περιεκτικότητα πρωτεϊνών σε δίαιτες που έγιναν στην τυλάπια (*Nile tilapia*) (Badwy *et al.*, 2008).

Όσον αφορά την αντικατάσταση ιχθυελαίου από το μείγμα ελαίου *N. gaditana* και *Schizochytrium sp.* στα ψάρια, γενικά δεν είχε σημαντική επίδραση σε ολόκληρο το σώμα και στη μυϊκή σύνθεση των ιστών της τσιπούρας (*S. aurata*). Τα ψάρια SN100 είχαν μειωμένα επίπεδα λιπιδίων και ενέργειας σε σύγκριση με τα ψάρια-μάρτυρες, τα οποία υποδηλώνουν ότι τα λιπίδια των μικροφυκών μεταβολίζονται με διαφορετικό τρόπο σε σύγκριση με το ιχθυέλαιο. Άλλες μελέτες που έγιναν στη τσιπούρα έδειξαν ότι η συνολική αντικατάσταση ιχθυελαίου από *Schizochytrium sp.* ή *Cryptocodinium cohnii* δεν επηρέασαν τις πρωτεΐνες των προνυμφών και το περιεχόμενο των λιπιδίων με διατροφικές δίαιτες (Ganuza *et al.*, 2008).

Σύμφωνα με τα παραπάνω, η έρευνα αυτή δηλώνει ότι η αντικατάσταση ιχθυαλεύρου μεχρι και 30% από *Chlorella vulgaris* και η ολική αντικατάσταση ιχθυελαίου από *Schizochytrium sp.* και *N. gaditana* δεν μεταβάλλει την θρεπτική αξία του σώματος της τσιπούρας (*S. aurata*).

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

Ξένη βιβλιογραφία

A.J. Vizcaíno · G. López · M.I. Sáez · J.A. Jiménez · F.J. Alarcón (2014) Effects of the microalga *Scenedesmus almeriensis* as fishmeal alternative in diets for gilthead sea bream, *Sparus aurata*, juveniles

Alasalvar C., Taylor K.D. (2002) Sea foods- Quality, Technology and Nutraceutical Applications. Springer, Germany, p. 3-8.

Allan G.L., Rowland S.J., Mifsud C., Glendenning D., Stone D.A.J. and Ford A. (2000) Replacement of fish meal in diets for Australian silver perch, *Bidyanus bidyanus*: V. Least-cost formulation of practical diets. *Aquaculture*, 186: 327 – 340.

Allan G. (2006) The growing fishmeal shortage. *Aquaculture*, 14: 28.

Antonio Vizcaíno, María Isabel Sáez, Tomás Martínez and Javier Alarcón (2014) Inclusion of microalgae in diets for gilthead sea bream (*Sparus aurata* L.) juveniles and the effect on intestinal functionality

AOAC (Association of Official Analytical Chemists), 1995. Official Methods of Analysis, 16th edn. AOAC, Washington, DC.

Arino A., Beltran J.A., Herrera A., Roncales P. (2005) Fish. In: Caballero B., Allen L., Prentice P. (eds) *Encyclopedia of Human Nutrition*, 2nd ed., Vol. 2, Oxford: Elsevier Science Ltd, p. 247-256.

Badwy T.M., Ibrahim E. M., Zeinhom M. M. (2008). Partial replacement of fish meal with dried microalga (*Chlorella* spp and *Scenedesmus* spp) in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) diets. 8th International Symposium on Tilapia in Aquaculture 2008.

Bell JG, McEvoy J, Tocher DR, McGhee F, Campbell PJ, Sargent JR (2001) Replacement of fish oil with rapeseed oil in diets of Atlantic salmon (*Salmo salar*) affects tissue lipid compositions and hepatocyte fatty acid metabolism. *Journal of Nutrition* 131: 1535–1543

Chellapa S., Huntingford F., Strang R.H., Thompson R.Y. (1989) Annual variation in energy reserves in male three-spined stickleback, *Gasterosteus aculeatus* L. (Pisces, Gasterosteidae). *Journal of Fish Biology* 35:275-286.

Childress J.J., Price M.H., Favuzzi J., Cowles D. (1990) Chemical composition of midwater fishes as a function of depth of occurrence off the Hawaiian Islands: food availability as a selective factor? *Marine Biology* 105:235-246.

Cui Z., Wang Y. (2007) Temporal changes in body mass, body composition and metabolism of gibel carp *Carassius auratus gibelio* during food deprivation. *Journal of Fish Biology* 23:215-220.

Dawson A.S., Grimm A.S. (1980) Quantitative seasonal changes in the protein, lipid and liver of adult female plaice, *Pleuronectes platessa* L. *Journal of Fish Biology* 16:493-504.

Drazen J.C. (2007) Depth related trends in proximate composition of demersal fishes in the eastern North Pacific. *Deep-Sea Research I* 54: 203-219.

Dumas A., Lange C.F.M., France J., Bureau D.P. (2007) Quantitative description of body composition and rates of nutrient deposition in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Aquaculture* 273:165-181.

Easton M.D.L., Luszniak D. and Von der Geest E. (2002) Preliminary examination of contaminant loadings in farmed salmon, wild salmon and commercial salmon feed. *Chemosphere*, 46: 1053 – 1074.

Eliasson J.E., Vahl O. (1982) Seasonal variation in biochemical composition and energy content of liver, gonad, and muscle of mature and immature cod, *Gadus morhua*, from Balsfjoren, northern Norway. *Journal of Fish Biology* 20:707-716.

FAO (2018) The state of the world fisheries and aquaculture. Food and Agriculture Organization of the United Nations, Rome.

FAO (2019) The state of the world fisheries and aquaculture. Food and Agriculture Organization of the United Nations, Rome.

Francis G., Makkar H.P.S. and Becker K. (2001) Antinutritional factors present in plant derived alternate fish feed ingredients and their effects in fish. *Aquaculture*, 199: 197 – 227.

Froese, R. and Pauly, D., Eds. (2006) Family Belontiidae-Needlefishes. FishBase.

Ganuza E., Benítez-Santana T., Atalah E., Vega-Orellana O., Ganga R., Izquierdo M.S. (2008). *Cryptosporidium* *cohnii* and *Schizosporidium* sp. as potential substitutes to fisheries-derived oils from seabream (*Sparus aurata*) microdiets. *Aquaculture* 277, 109–116.

Goldburg R. and Naylor R. (2005) Future escapes, fishing, and fish farming. *Frontiers in Ecology and the Environment*, 3: 21–28

Griffiths D., Krikwood R.C. (1995) Seasonal variation in growth, mortality and fat stores of roach and perch in Lough Neagh, northern Ireland. *Journal of Fish Biology* 47:537-554.

Guillaume J., Kaushik S., Bergot P., Metailler R. (2001) Nutrition and feeding of fish and crustaceans. Praxis Pub., UK, pp. 403

Haard N. (1992) Control of chemical composition and food quality attributes of cultured fish. *Food Research International* 25:289-307.

Hartviksen M., Vecino J.G., Bakke A.M., Ringo E. and Krogdahl A. (2014). Evaluation of the effect of commercially available plant and animal protein sources in diets for Atlantic salmon (*Salmo salar* L.): digestive and metabolic investigations. *Fish Physiol Biochem*, 40: pp 1621–1637.

Hemaiswarya, S., Raja, R., Ravi Kumar, World J Microbiol Biotechnol (2010) Microalgae: a sustainable feed source for aquaculture

Henderson R.J., Tocher D.R. (1987) The lipid composition and biochemistry of freshwater fish. *Prog. Lipid Res* 26:281-347.

Holdway D.A., Beamish F.W.H. (1984) Specific growth rate and proximate body composition of Atlantic cod (*Gadus morhua* L.). *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* 81(2):147-170.

Hui H.H., Gross N., Kristinsson H.G., Lin M.H., Nip W.K., Siow L.F., Stanfield P.S. (2006) Biochemistry of Sea Food Processing. In: Hui Y.H. (ed) *Food biochemistry and food processing*, Blackwell Publishers, USA, pp. 351-366.

Huss H.H. (1998) *Quality and Quality Changes in Fresh Fish*, FAO fisheries technical paper 358, Rome, Italy, p. 20.

Jackson, A. 2009. The continuing demand for sustainable fishmeal and fish oil in aquaculture diets. *International Aquafeed*, 12(5): 32–36

Jauncey K. (1998), *Tilapia Feeds and Feeding*, 2nd Edition. Pisces Press LTD, Stirling Scotland p. 235.

Karapanagiotidis I.T. (2017). Nutrient profiles of tilapia. In: *Tilapia in Intensive Co-culture* (P. W. Perschbacher & R.R. Stickney, Eds). World Aquaculture Society Book series, John Wiley & Sons, pp. 261-305.

Kaushik S.J., Cravedi J.P., Lalles J.P., Sumpter J., Fauconneau B. and Laroche M. (1995) Partial or total replacement of fishmeal by soybean protein on growth, protein utilisation, potential estrogenic or antigentic effects, cholesterolemia and flesh quality in rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*. *Aquaculture*, 133: 257 – 274.

Kikuchi K., Sato T., Furuta T., Sakaguchi I. and Deguchi Y. (1997) Use of meat and bone meal as a protein source in the diet of juvenile Japanese flounder. *Fisheries Science*, 63: 29 – 32.

Lall S.P., Parazzo M.P. (1995) Vitamins in fish and shellfish. In: Ruiter (ed) Fish and fishery products, composition, nutritive properties and stability. Cab International, Wallingford, United Kingdom pp. 157-186.

Larson R.G. (1991) Seasonal cycles of reserves in relation to reproduction in *Sebastes*. *Environmental Biology of fishes* 30:57-70

Love R.M. (1980) *The Chemical Biology of Fishes*. Advances 1968–1977, vol. 2, Academic Press, London, pp. 943.

Moretti A., M. Pedini, G. Citolin, & R. Guidastrì, 1999. *Manual of Hatchery production of sea-bass and giltseabream* Vol. 1 FAO, Rome 194 p.

Nogueira N., Cordeiro N., Andrade C., and Aires T. (2012) Inclusion of low levels of blood and feathermeal in practical diets for gilthead seabream (*Sparus aurata*). *Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciences* 12: 641 – 650.

Naylor, R.L., Hardy, R.W., Bureau, D.P., Chiu, A., Elliot, M., Farrell, A.P., Forster, I., Gatlin, D.M., Goldberg, R.J., Hua, K. & Nichols, P.D. 2009. Feeding aquaculture in an era of finite resources. *Proceedings of National Academy of Sciences USA*, 106 (36): 15103–15110.

Rahimnejad S, Lee S.M., Park H.G., Choi J. (2016). Effects of Dietary Inclusion of *Chlorella vulgaris* on Growth, Blood Biochemical Parameters, and Antioxidant Enzyme Activity in Olive Flounder, *Paralichthys olivaceus*. *Journal of the world aquaculture society*

Robin J. Shields and Ingrid Lupatsch, (2012) *Algae for Aquaculture and Animal Feeds*, Swansea University, UK

Serwata R.D. (2007) Nutritional evaluation of rendered animal by-products and blends as a suitable partial alternatives for fish meal in diets for rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). MSc Thesis, UK: Stirling University, pp. 150.

Shearer K.D. (1994) Factors affecting the proximate composition of culture fish with emphasis on salmonids. *Aquaculture* 119:63-88.

Sheridan M.A. (1988) Lipid dynamics in fish: aspects of absorption, transportation, deposition and mobilization. *Comp. Biochemistry and Physiology* 90(4): 679-690.

Shields, R. J. ; Lupatsch, I., 2012. Algae for aquaculture and animal feeds.

Sitja-Bobadilla A., Pena-Llopis S., Gomez-Requeni P., Medale F., Kaushik S. and Perez Sanchez J. (2005) Effect of fishmeal replacement by plant protein sources on non specific defence mechanisms and oxidative stress in gilthead seabream (*Sparus aurata*). *Aquaculture*, 249: 387 – 400.

Sola L., Moretti A., Crosetti D., Karaiskou N., Magoulas A., Rossi A.R., Rye M., Triantafyllidis A. and Tsigenopoulos C.S. (2006) Gilthead seabream - *Sparus aurata*. In: “Genetic effects of domestication, culture and breeding of fish and shellfish, and their impacts on wild populations.” D. Crosetti,

Tacon A.G.J. (1997) Feeding tomorrow's fish: keys for sustainability. In: Tacon A.G.J., Basurco B. (eds.), *Feeding tomorrow's fish. Cahiers options Mediterraneennes*, Zaragoza, Spain, 22: pp. 11 – 33.

Tacon A.G.J. (2004) Use of fish meal and fish oil in aquaculture: a global perspective. *Aquatic Resources, Culture & Development*, 1: 3–14.

Tacon, A.G.J. & Metian, M. 2008a. Global overview on the use of fish meal and fish oil in industrially compounded aquafeeds: trends and future prospects. *Aquaculture*, 285: 146–158.

Turchini G.M., Mentasti T., Froyland L., Orban E., Caprino F., Moretti V.M., Valfre F. (2003) Effects of alternative dietary lipid sources on performance, tissue chemical composition, mitochondrial fatty acid oxidation capabilities and sensory characteristics in brown trout (*Salmo trutta* L.). *Aquaculture* 225:251–267.

Watanabe T., Verakunpiriya V., Watanabe K., Viswanath K. and Satoh S. (1998) Feeding rainbow trout with non-fishmeal diets. *Fisheries Science*, 63: 258 – 266.

Zaboukas N., Miliou H., Megalofonou P., Moraitou- Apostolopoulou M. (2006) Biochemical composition of the Atlantic bonito *Sardasarda* from the Aegean Sea (eastern Mediterranean Sea) in different stages of sexual maturity. *Journal of Fish Biology* 69: 347–362.

Zar J.H. (1999) *Biostatistical analysis*, 4th edition. Prentice Hall, Englewood Cliffs. pp 663.

Ελληνική βιβλιογραφία

Ε. Χριστάκη και Π.Φλώρου-Πανέρη (2015). Ζωοτροφές και καταρτισμός σιτηρέσιων παραγωγικών ζώων. Εκδόσεις Τζιόλα, Θεσσαλονίκη, σελ.69

Ζέρβας, Γ.Π (2007). Κατάρτιση σιτηρεσίων παραγωγικών ζώων, Σταμούλης, Α. Αθήνα

Σ. Κλαουδάτος & Δ. Κλαουδάτος (2012). Καλλιέργειες φυτικών και εκτροφές υδρόβιων οργανισμών. Προπομπός, Αθήνα. Σελ229.

Καραπαναγιωτίδης Ι. (2011) Τεχνολογία Ιχθυοτροφών. Σημειώσεις μαθήματος, σελ 39 – 40.

Μεντέ Ε. και Νέγκας Ι. (2011) Στοιχεία φυσιολογίας θρέψεως και εφαρμοσμένη διατροφή ιχθύων και καρκινοειδών. Εκδόσεις Παπαζήση, Αθήνα, σελ. 224 – 228.

Νέγκας Ι. & Αδαμίδου Σ. (2012). Κεφάλαιο 9°. Συστατικά ιχθυοτροφών (Ε. Μεντέ & Ι. Νέγκας). Εκδόσεις Παπαζήση, σελ 377-461.

Παπαναστασίου Δ.Π. (1990) Τεχνολογία και ποιοτικός έλεγχος αλιευμάτων. Ιων, Αθήνα, σελ. 180-315.

Παπουτσόγλου Σ.Ε. (2008) Διατροφή ιχθύων. Εκδόσεις Σταμούλη, Αθήνα, σελ. 846 – 863.

Σπάης Α. Β., Φλωρου-Πανέρη, Π. Χρηστάκη, Ε. (2002). Ζωοτροφές και σιτηρέσια. Σύγχρονη Παιδεία, Θεσσαλονίκη.

Ηλεκτρονική βιβλιογραφία

<http://www.fao.org/fishery/affris/species-profiles/gilthead-seabream/faqs/en/>