

**ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΘΕΣΣΑΛΙΑΣ
ΤΜΗΜΑ ΒΙΟΧΗΜΕΙΑΣ & ΒΙΟΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑΣ**

Δ. Π. ΝΙΚΟΛΟΠΟΥΛΟΥ

**ΜΕΛΕΤΗ ΤΗΣ ΣΥΣΤΑΣΗΣ ΚΤΗΝΟΤΡΟΦΙΚΩΝ ΣΠΕΡΜΑΤΩΝ
ΨΥΧΑΝΘΩΝ ΚΑΙ ΦΥΤΡΟΥ ΣΠΕΡΜΑΤΟΣ ΧΑΡΟΥΠΙΟΥ ΚΑΙ
ΤΗΣ ΕΠΙΔΡΑΣΗΣ ΤΟΥΣ ΣΤΗ ΦΥΣΙΟΛΟΓΙΑ ΚΑΙ ΒΙΟΧΗΜΕΙΑ
ΤΗΣ ΠΕΨΗΣ ΜΕΣΟΓΕΙΑΚΩΝ ΕΙΔΩΝ ΙΧΘΥΩΝ**

2009



**ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΘΕΣΣΑΛΙΑΣ
ΥΠΗΡΕΣΙΑ ΒΙΒΛΙΟΘΗΚΗΣ & ΠΛΗΡΟΦΟΡΗΣΗΣ
ΕΙΔΙΚΗ ΣΥΛΛΟΓΗ «ΓΚΡΙΖΑ ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ»**

Αριθ. Εισ.: 6941/1

Ημερ. Εισ.: 23-01-2012

Δωρεά:

Ταξιδετικός Κωδικός: Δ

664.66

ΝΙΚ

**ΜΕΛΕΤΗ ΤΗΣ ΣΥΣΤΑΣΗΣ ΚΤΗΝΟΤΡΟΦΙΚΩΝ ΣΠΕΡΜΑΤΩΝ ΨΥΧΑΝΘΩΝ
ΚΑΙ ΦΥΤΡΟΥ ΣΠΕΡΜΑΤΟΣ ΧΑΡΟΥΠΙΟΥ ΚΑΙ ΤΗΣ ΕΠΙΔΡΑΣΗΣ ΤΟΥΣ ΣΤΗ
ΦΥΣΙΟΛΟΓΙΑ ΚΑΙ ΒΙΟΧΗΜΕΙΑ ΤΗΣ ΠΕΨΗΣ ΜΕΣΟΓΕΙΑΚΩΝ ΕΙΔΩΝ ΙΧΘΥΩΝ**

**Η ΠΑΡΟΥΣΑ ΔΙΔΑΚΤΟΡΙΚΗ ΔΙΑΤΡΙΒΗ ΧΡΗΜΑΤΟΔΟΤΗΘΗΚΕ ΑΠΟ ΤΟ ΠΡΟΓΡΑΜΜΑ, ΤΡ20
«ΧΡΗΣΙΜΟΠΟΙΗΣΗ ΚΤΗΝΟΤΡΟΦΙΚΩΝ ΣΠΕΡΜΑΤΩΝ ΨΥΧΑΝΘΩΝ ΚΑΙ ΦΥΤΡΟΥ
ΣΠΕΡΜΑΤΟΣ ΧΑΡΟΥΠΙΟΥ ΩΣ ΣΥΣΤΑΤΙΚΩΝ ΤΡΟΦΩΝ ΛΑΥΡΑΚΙΟΥ ΚΑΙ ΤΣΙΠΟΥΡΑΣ» ΣΤΑ
ΠΛΑΙΣΙΑ ΤΟΥ ΕΠΑΝ.**

ΤΡΙΜΕΛΗΣ ΣΥΜΒΟΥΛΕΥΤΙΚΗ ΕΠΙΤΡΟΠΗ

A. ΜΟΥΤΟΥ (ΕΠΙΒΛΕΠΟΥΣΑ)

Επίκουρος Καθηγήτρια Βιολογίας Σπονδυλωτών
Τμήμα Βιοχημείας & Βιοτεχνολογίας Π.Θ.

Z. ΜΑΜΟΥΡΗΣ

Καθηγητής Γενετικής Ζωικών Πληθυσμών
Τμήμα Βιοχημείας & Βιοτεχνολογίας Π.Θ.

M. ΑΛΕΞΗ

Ερευνήτρια Α' βαθμίδας
Ινστιτούτο Υδατοκαλλιεργειών ΕΛ.Κ.Θ.Ε.

ΕΠΤΑΜΕΛΗΣ ΕΞΕΤΑΣΤΙΚΗ ΕΠΙΤΡΟΠΗ

Γ. ΖΕΡΒΑΣ

Καθηγητής Φυσιολογίας Θρέψεως και Διατροφής
Τμήμα Επιστήμης Ζωικής Παραγωγής και Υδατοκαλλιεργειών, Γ.Π.Α.

Σ. ΚΛΑΟΥΔΑΤΟΣ

Καθηγητής Εκτροφής Υδρόβιων Οργανισμών
Τμήμα Γεωπονίας Ζωικής Παραγωγής και Υδάτινου Περιβάλλοντος, Π.Θ.

Z. ΜΑΜΟΥΡΗΣ

Καθηγητής Γενετικής Ζωικών Πληθυσμών
Τμήμα Βιοχημείας & Βιοτεχνολογίας, Π.Θ.

Σ. ΠΑΠΟΥΤΣΟΓΛΟΥ

Καθηγητής Εφαρμοσμένης Υδροβιολογίας
Τμήμα Επιστήμης Ζωικής Παραγωγής και Υδατοκαλλιεργειών, Γ.Π.Α.

E. ΜΗΛΙΟΥ

Επίκουρος Καθηγήτρια Εφαρμοσμένης Υδροβιολογίας
Τμήμα Επιστήμης Ζωικής Παραγωγής και Υδατοκαλλιεργειών

A. ΜΟΥΤΟΥ

Επίκουρος Καθηγήτρια Βιολογίας Σπονδυλωτών
Τμήμα Βιοχημείας & Βιοτεχνολογίας, Π.Θ.

M. ΑΛΕΞΗ

Ερευνήτρια Α' βαθμίδας
Ινστιτούτο Υδατοκαλλιεργειών, ΕΛ.Κ.Θ.Ε.

ΔΗΜΗΤΡΑ Π. ΝΙΚΟΛΟΠΟΥΛΟΥ

**ΜΕΛΕΤΗ ΤΗΣ ΣΥΣΤΑΣΗΣ ΚΤΗΝΟΤΡΟΦΙΚΩΝ ΣΠΕΡΜΑΤΩΝ ΨΥΧΑΝΘΩΝ
ΚΑΙ ΦΥΤΡΟΥ ΣΠΕΡΜΑΤΟΣ ΧΑΡΟΥΠΙΟΥ ΚΑΙ ΤΗΣ ΕΠΙΔΡΑΣΗΣ ΤΟΥΣ ΣΤΗ
ΦΥΣΙΟΛΟΓΙΑ ΚΑΙ ΒΙΟΧΗΜΕΙΑ ΤΗΣ ΠΕΨΗΣ ΜΕΣΟΓΕΙΑΚΩΝ ΕΙΔΩΝ ΙΧΘΥΩΝ**

ISBN

ΔΗΜΗΤΡΑ Π. ΝΙΚΟΛΟΠΟΥΛΟΥ

2009

**ΜΕΛΕΤΗ ΤΗΣ ΣΥΣΤΑΣΗΣ ΚΤΗΝΟΤΡΟΦΙΚΩΝ ΣΠΕΡΜΑΤΩΝ
ΨΥΧΑΝΘΩΝ ΚΑΙ ΦΥΤΡΟΥ ΣΠΕΡΜΑΤΟΣ ΧΑΡΟΥΠΙΟΥ ΚΑΙ ΤΗΣ
ΕΠΙΔΡΑΣΗΣ ΤΟΥΣ ΣΤΗ ΦΥΣΙΟΛΟΓΙΑ ΚΑΙ ΒΙΟΧΗΜΕΙΑ ΤΗΣ ΠΕΨΗΣ
ΜΕΣΟΓΕΙΑΚΩΝ ΕΙΔΩΝ ΙΧΘΥΩΝ**

**ΔΙΔΑΚΤΟΡΙΚΗ ΔΙΑΤΡΙΒΗ
ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΘΕΣΣΑΛΙΑΣ**

Αριθμός προκαταρκτικών σελίδων: XIV

Συνολικός αριθμός σελίδων: 180

Αριθμός πινάκων: 30

Αριθμός σχημάτων: 12

Αριθμός Ιστογραμμάτων - Διαγραμμάτων: 9

Αριθμός εικόνων: 12

Αριθμός παραρτημάτων: 1

Αριθμός βιβλιογραφικών αναφορών: 261

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Η παρούσα διατριβή είχε βασικό σκοπό να μελετήσει τις επιδράσεις της διατροφής με σιτηρέσια που περιείχαν φυτικές πρώτες ύλες επεξεργασμένες και μη στη φυσιολογία και βιοχημεία της πέψης της τσιπούρας (*Sparus aurata*) και του λαυρακιού (*Dicentrarchus labrax*). Η σύσταση των ποικιλιών του κτηνοτροφικού μπιζελιού και ρεβυθιού σε τρεις τοποθεσίες για δύο συναπτά έτη και τα αποτελέσματα έδειξαν ότι περιβαλλοντικοί παράγοντες επηρέασαν ορισμένα θρεπτικά και αντιθρεπτικά συστατικά των δύο ειδών σπερμάτων ψυχανθών. Η περαιτέρω επεξεργασία των σπερμάτων με αποφλοίωση δεν αύξησε την πρωτεϊνική σύσταση του ρεβυθιού και η εξώθηση δεν είχε καμία επίδραση στην ποσοστιαία περιεκτικότητα σε ταννίνες και φυτικό οξύ των δύο σπερμάτων ψυχανθών.

Στη συνέχεια, μελετήθηκε η πεπτικότητα των θρεπτικών συστατικών (πρωτεϊνών, λιπών και αμύλου) και τα χαρακτηριστικά πέψης σε σιτηρέσια που περιείχαν τα σπέρματα ψυχανθών καθώς και φύτρο σπέρματος χαρουπιού για τσιπούρες και λαυράκια. Τα δύο είδη ιχθύων πέπουν καλά τις πρωτεΐνες των παραπάνω φυτικών υλών. Η πεπτικότητα των λιπών ήταν υψηλή. Η πεπτικότητα του αμύλου των ακατέργαστων σπερμάτων ψυχανθών ήταν χαμηλή στην τσιπούρα, ενώ η εφαρμογή της εξώθησης αύξησε σημαντικά τις τιμές. Στο λαυράκι, υψηλές τιμές απορρόφησης των πρωτεϊνών βρέθηκαν ήδη στο πρόσθιο τμήμα του εντέρου, ενώ στην τσιπούρα παρατηρήθηκαν στο κυρίως έντερο. Η πεπτικότητα των πρωτεϊνών και των λιπών ήταν υψηλότερη στα λαυράκια από την τσιπούρα, ενώ του αμύλου ήταν χαμηλότερη σε συμφωνία με τις τιμές απορρόφησης του αμύλου στα τμήματα του εντέρου. Οι ενεργότητες των ενζύμων που μελετήθηκαν στο εντερικό περιεχόμενο του λαυρακιού εξαρτήθηκαν από τον χρόνο μετά την λήψη της τροφής, ενώ στον ιστό εξαρτήθηκαν από το τμήμα του εντέρου. Η προσθήκη φύτρου σπέρματος χαρουπιού στο σιτηρέσιο προκάλεσε υψηλότερη ενυδάτωση του στομάχου και στα δυο είδη ιχθύων και μόνο στο λαυράκι μείωσε τις τιμές του pH του στομάχου σε σχέση με την τροφή μάρτυρα. Το εκθετικό μοντέλο περιέγραψε καλύτερα τη γαστρική εκκένωση του στομαχικού περιεχομένου των δύο ειδών. Ο χρόνος γαστρικής εκκένωσης των σιτηρεσίων που περιείχαν τα σπέρματα ψυχανθών μειώθηκε σε σχέση με τα σιτηρέσια που περιείχαν ιχθάλευρο και σογιάλευρο. Στο λαυράκι η γαστρική εκκένωση καθυστέρησε, ανεξαρτήτως σιτηρεσίου, σε σχέση με την τσιπούρα.

Συμπερασματικά, τα χαρακτηριστικά πέψης της τσιπούρας και του λαυρακιού διαφέρουν κατά την προσθήκη φυτικών υλών στα σιτηρέσια.

ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ

Μια επίπονη και χρονοβόρα διαδικασία, όπως η εκπόνηση μιας διδακτορικής διατριβής, ολοκληρώνεται μόνο με τη συνεργασία και τη βοήθεια πολλών ατόμων, φίλων και συνεργατών. Θα ήθελα να απευθύνω ξεχωριστά τις ευχαριστίες μου σε ορισμένους χωρίς αυτό να σημαίνει ότι δεν εκτιμώ και τη συμβολή των υπολοίπων.

Ένα θερμό ευχαριστώ στην Δρ. Μαρία Αλέξη, που με καθοδηγεί εδώ και πολλά χρόνια, στα οποία εργάζομαι δίπλα της, πέρα από τη διδακτορική αυτή διατριβή. Χωρίς τη δική της έμπνευση, την πρόθυμη καθημερινή βοήθεια, την αμέριστη και πολύπλευρη συμπαράσταση, αλλά και τις εποικοδομητικές συμβουλές της, δεν θα ήταν δυνατή η ολοκλήρωση της διατριβής αυτής.

Ένα ιδιαίτερα θερμό ευχαριστώ στην Επίκουρο Καθηγήτρια Κατερίνα Μούτου που με τίμησε δεχόμενη να συνεργαστεί μαζί μου - ως Επιβλέπουσα αυτής της διδακτορικής διατριβής - για την πολύτιμη επιστημονική συμβολή της κατά τη διάρκεια εκπόνησης της διατριβής αυτής, αλλά και για τις συγγραφικές της υποδείξεις και τα εύστοχα σχόλια της.

Θερμές ευχαριστίες θα ήθελα να εκφράσω, επίσης, στον Καθηγητή Ζήση Μαμούρη, για τη συμβολή του στην περάτωση αυτής της διδακτορικής διατριβής.

Ευχαριστώ θερμά τους Καθηγητές, Σωφρόνη Παπουτοόγλου, Σπυριδώνα Κλαουδάτο, Γεώργιο Ζέρβα και την Επίκουρο Καθηγήτρια Ελένη Μήλιου, που με τίμησαν δεχόμενοι να συμμετάσχουν στην Εξεταστική Επιτροπή αυτής της διδακτορικής διατριβής και με τις εύστοχες παρατηρήσεις τους βοήθησαν στην ολοκλήρωση της.

Ιδιαίτερες ευχαριστίες νιώθω την ανάγκη να απευθύνω στους διδάκτορες-ερευνητές Γιάννη Νέγκα, Ελένη Φουντουλάκη, Κρίτωνα Γρηγοράκη και Morgane Henry που ήταν πάντα «εκεί», τόσο σε επαγγελματικό όσο και σε προσωπικό επίπεδο. Η στήριξη που μου παρείχαν ήταν σημαντική για την ολοκλήρωση της διατριβής. Επίσης, ένα θερμό ευχαριστώ στη διδάκτορα Στέλλα Αδαμίδου για τη βοήθεια που μου παρείχε πρόθυμα στις εργαστηριακές αναλύσεις και τη συναισθηματική της συμπαράσταση, όπως και στον κ. Παναγιώτη Αρβανίτη για την τεχνική του υποστήριξη.

Στον κ. Καρακώστα και την εταιρεία ιχθυοτροφών 'BIOMAR' για την παροχή των πρώτων υλών και των σιτηρεσίων, καθώς και για την πολύτιμη βοήθειά του.

Τέλος, ένα πολύ μεγάλο ευχαριστώ στο σύζυγο, στην αδερφή μου, στους γονείς και στη γιαγιά μου για την συναισθηματική τους υποστήριξη στις δύσκολες στιγμές που κατά καιρούς αντιμετώπιζα, που ποτέ δεν έπαψαν να πιστεύουν σε μένα, και να υποστηρίζουν τις προσπάθειες μου.

Στον Άρη και στην Αννουλίτα...

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

Κεφάλαιο 1 Γενική εισαγωγή	1
Κεφάλαιο 2 Υλικά και μέθοδοι	30
Κεφάλαιο 3 Επίδραση διαφόρων τεχνικών επεξεργασίας στη σύσταση των σπερμάτων ψυχανθών και στην πεπτικότητα των θρεπτικών συστατικών στη τσιπούρα	46
Κεφάλαιο 4 Προσδιορισμός δεικτών πεπτικότητας θρεπτικών συστατικών, ρυθμού γαστρικής εκκένωσης και πεπτικών ενζύμων σε άτομα λαυρακιού που διετράφησαν με σιτηρέσια που περιείχαν διαφορετικά είδη σπερμάτων ψυχανθών	66
Κεφάλαιο 5 Μελέτη της σύστασης των κτηνοτροφικών σπερμάτων ψυχανθών σε Διάφορες ποικιλίες, τοποθεσίες καλλιέργειας και έτη παραγωγής	101
Κεφάλαιο 6 Προσδιορισμός χαρακτηριστικών πέψης σε τσιπούρα και λαυράκι που διετράφησαν με σιτηρέσια που περιείχαν φύτρο σπέρματος χαρουπιού	110
Κεφάλαιο 7 Γενική συζήτηση	144
Abstract	149
Βιβλιογραφία	152
Παράρτημα	173

ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΠΙΝΑΚΩΝ

Σελίδα

Πίνακας 1.1. Ετήσια παραγωγή και κατανάλωση σπερμάτων ψυχανθών (σε τόνους) στην Ελλάδα έως το 2000.	4
Πίνακας 1.2. Θρεπτική σύσταση των κυριότερων σπερμάτων ψυχανθών (g kg ⁻¹ ξηρού βάρους)	5
Πίνακας 1.3. Σύσταση απαραίτητων αμινοξέων των κυριότερων σπερμάτων ψυχανθών (mg AA g ⁻¹ πρωτεΐνη).	6
Πίνακας 1.4. Περιεκτικότητα των σπερμάτων ψυχανθών σε αντιθρεπτικούς παράγοντες.	6
Πίνακας 1.5. Παγκόσμια παραγωγή χαρουπιού (1997).	14
Πίνακας 1.6. Παραγωγή (σε τόνους) Τσιπούρας και Λαυρακιού στην Ελλάδα, για τα έτη 2000-2006.	15
Πίνακας 1.7. Γενικά χαρακτηριστικά των κυριότερων πεπτικών ενζύμων στους ιχθύς.	28
Πίνακας 3.1. Σύνθεση και ποσοστιαία σύσταση (%) των πειραματικών σιτηρεσιών σε άτομα τσιπούρας	53
Πίνακας 3.2. Ποσοστιαία σύσταση (%) των σπερμάτων ψυχανθών, επεξεργασμένων και μη.	56
Πίνακας 4.1. Σύνθεση και ποσοστιαία σύσταση (%) των πειραματικών σιτηρεσιών.	80
Πίνακας 4.2. Ποσοστιαία σύσταση (%) των φυτικών πρώτων υλών των σιτηρεσιών του πειράματος πεπτικότητας σε άτομα λαυρακιού (100g).	81
Πίνακας 4.3. Ποσοστιαία υγρασία (%) του στομαχικού περιεχομένου των ατόμων λαυρακιού σε σχέση με τον χρόνο μετά την παροχή του γεύματος.	85
Πίνακας 4.4. Ανάλυση διακύμανσης της επίδρασης του χρόνου μετά την παροχή του γεύματος (Χ), του τύπου της διατας (Δ) και της αλληλεπίδρασης τους στην υγρασία και στο pH του στομαχικού περιεχομένου των ατόμων λαυρακιού.	86
Πίνακας 4.5. Ανάλυση διακύμανσης της επίδρασης του χρόνου μετά την παροχή του γεύματος και του τύπου της διατας στην υγρασία και στο pH του στομαχικού περιεχομένου των ατόμων λαυρακιού.	86
Πίνακας 4.6. Χρόνος γαστρικής εκκένωσης (ΧΓΕ: min) και ρυθμός γαστρικής εκκένωσης (ΡΓΕ: g/ min) των ατόμων λαυρακιού μετά την παροχή του γεύματος.	87
Πίνακας 4.7. Ολική ενεργότητα α-αμυλάσης (U/100g νωπού σωματικού βάρους) σε συνάρτηση με τον χρόνο μετά την παροχή του γεύματος των πειραματικών σιτηρεσιών στα τμήματα του εντέρου ατόμων λαυρακιού (100g).	90
Πίνακας 4.8. Ολική ενεργότητα μαλτάσης (U/ 100g νωπού σωματικού βάρους) σε συνάρτηση με τον χρόνο μετά την παροχή του γεύματος των πειραματικών σιτηρεσιών στα τμήματα του εντέρου ατόμων λαυρακιού (100g).	91
Πίνακας 4.9. Ολική ενεργότητα λιπάσης (U/ 100g νωπού σωματικού βάρους) σε συνάρτηση με τον χρόνο μετά την παροχή του γεύματος των πειραματικών σιτηρεσιών στα τμήματα του εντέρου ατόμων λαυρακιού (100g).	92
Πίνακας 4.10. Ολική ενεργότητα θρυψίνης (nmole p-νιτροανιλίνης που απελευθερώνεται/ mg πρωτεΐνης min) στις 6 ώρες μετά την παροχή του γεύματος των πειραματικών σιτηρεσιών στα τμήματα του εντέρου ατόμων λαυρακιού (100g)	92
Πίνακας 5.1. Σύσταση των ρεβυθιών (% ξηρού βάρους, ± τυπική απόκλιση), στις τρεις καλλιεργούμενες περιοχές για τα έτη 2003, 2004.	106

Πίνακας 5.2. Σύσταση των ρεβυθιών (% ξηρού βάρους, ± τυπική απόκλιση), στις τρεις καλλιεργούμενες περιοχές για τα έτη 2003, 2004.	107
Πίνακας 6.1. Ποσοστιαία κατά βάρος σύσταση (%) φύτρου σπέρματος χαρουπιού (ΦΣΧ).	112
Πίνακας 6.2. Σύνθεση και ποσοστιαία σύσταση (%) πειραματικών σιτηρεσιών.	113
Πίνακας 6.3. Ποσοστιαία συμβολή των δύο κύριων παραγόντων στην συνολική διακύμανση στην πεπτικότητα των θρεπτικών συστατικών (* $p < 0,05$, ** $p < 0,01$).	121
Πίνακας 6.4. Τιμές απορρόφησης (%) των θρεπτικών συστατικών (πρωτεϊνών και αμύλου) στα τμήματα του γαστρεντερικού σωλήνα στα άτομα τσιπούρας.	122
Πίνακας 6.5. Τιμές απορρόφησης (%) των θρεπτικών συστατικών (πρωτεϊνών και αμύλου) στα τμήματα του γαστρεντερικού σωλήνα στα άτομα λαυρακιού.	122
Πίνακας 6.6. Ποσοστιαία συμβολή των τριών κύριων παραγόντων στη συνολική διακύμανση στην απορρόφηση των πρωτεϊνών και του αμύλου στα τμήματα του γαστρεντερικού σωλήνα	122
Πίνακας 6.7. Ποσοστιαία συμβολή των τριών κύριων παραγόντων στην συνολική διακύμανση στην υγρασία και στο pH στα τμήματα του γαστροεντερικού σωλήνα.	131
Πίνακας 6.8. Ποσοστιαία συμβολή των δύο κύριων παραγόντων στην συνολική διακύμανση στην υγρασία και στο pH στα τμήματα του γαστροεντερικού περιεχομένου των ατόμων τσιπούρας και λαυρακιού	131
Πίνακας 6.9. Χρόνος γαστρικής εκκένωσης (ΧΓΕ: min) και ρυθμός γαστρικής εκκένωσης (ΡΓΕ: g/min) των ατόμων λαυρακιού και τσιπούρας μετά την παροχή του γεύματος.	132

Σχήμα 4.1. Σχηματική παράσταση των τιμών του pH του στομαχικού περιεχομένου σε συνάρτηση με τον χρόνο μετά την παροχή του γεύματος των τεσσάρων πειραματικών σιτηρεσιών σε άτομα λαυρακιού (100g).	85
Σχήμα 4.2. Σχηματική παράσταση του ξηρού βάρους στομαχικού περιεχομένου ατόμων λαυρακιού (100g) σε συνάρτηση με τον χρόνο μετά την παροχή του γεύματος των τεσσάρων πειραματικών σιτηρεσιών.	87
Σχήμα 4.3. Σχηματική παράσταση της ενεργότητας των ενζύμων α-αμυλάσης και θρυψίνης (U/100g νωπού σωματικού βάρους) σε συνάρτηση με τον χρόνο μετά την παροχή του γεύματος των τεσσάρων πειραματικών σιτηρεσιών, στα πεπτικά υγρά του εντέρου ατόμων λαυρακιού (100g).	88
Σχήμα 6.1. Υγρασία στομαχικού περιεχομένου ατόμων τσιπούρας και λαυρακιού σε σχέση με το χρόνο μετά την παροχή του γεύματος.	127
Σχήμα 6.2. Υγρασία πρόσθιου εντέρου ατόμων τσιπούρας και λαυρακιού σε σχέση με το χρόνο μετά την παροχή του γεύματος.	127
Σχήμα 6.3. Υγρασία κυρίως εντέρου ατόμων τσιπούρας και λαυρακιού σε σχέση με το χρόνο μετά την παροχή του γεύματος.	128
Σχήμα 6.4. Υγρασία οπίσθιου εντέρου ατόμων τσιπούρας και λαυρακιού σε σχέση με το χρόνο μετά την παροχή του γεύματος.	128
Σχήμα 6.5. pH στομαχικού περιεχομένου ατόμων τσιπούρας και λαυρακιού σε σχέση με το χρόνο μετά την παροχή του γεύματος.	129
Σχήμα 6.6. pH πρόσθιου εντέρου ατόμων τσιπούρας και λαυρακιού σε σχέση με το χρόνο μετά την παροχή του γεύματος.	129
Σχήμα 6.7. pH κυρίως εντέρου ατόμων τσιπούρας και λαυρακιού σε σχέση με το χρόνο μετά την παροχή του γεύματος.	130
Σχήμα 6.8. pH οπίσθιου εντέρου ατόμων τσιπούρας και λαυρακιού σε σχέση με το χρόνο μετά την παροχή του γεύματος.	130
Σχήμα 6.9. Σχηματική παράσταση του ξηρού βάρους στομαχικού περιεχομένου ατόμων λαυρακιού (90g) και τσιπούρας (130g) σε συνάρτηση με τον χρόνο μετά την παροχή του γεύματος των πειραματικών σιτηρεσιών.	132

ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΙΣΤΟΓΡΑΜΜΑΤΩΝ - ΔΙΑΓΡΑΜΜΑΤΩΝ*Σελίδα*

Ιστόγραμμα 3.1. Ιστόγραμμα των σχετικών δεικτών πεπτικότητας των πρωτεϊνών (%) των σιτηρεσίων σε άτομα τσιπούρας (200g).	57
Ιστόγραμμα 3.2. Ιστόγραμμα των σχετικών δεικτών πεπτικότητας των λιπών (%) των σιτηρεσίων σε άτομα τσιπούρας (200g).	57
Ιστόγραμμα 3.3. Ιστόγραμμα των σχετικών δεικτών πεπτικότητας	58
Ιστόγραμμα 4.1. Ιστόγραμμα των σχετικών δεικτών πεπτικότητας πρωτεϊνών, λιπών και του αμύλου των πειραματικών τροφών του Πειράματος Α, σε άτομα λαυρακιού (100g).	84
Ιστόγραμμα 4.2. Ιστόγραμμα των σχετικών δεικτών πεπτικότητας πρωτεϊνών, λιπών και του αμύλου των πειραματικών τροφών του Πειράματος Β, σε άτομα λαυρακιού (100g).	84
Ιστόγραμμα 6.1. Ιστόγραμμα των σχετικών δεικτών πεπτικότητας πρωτεϊνών, λιπών και αμύλου των πειραματικών τροφών, σε άτομα λαυρακιού (90g).	121
Ιστόγραμμα 6.2. Ιστόγραμμα των σχετικών δεικτών πεπτικότητας πρωτεϊνών, λιπών και αμύλου των πειραματικών τροφών, σε άτομα τσιπούρας (130g).	121
Διάγραμμα 6.3. Ποσοστό (%) της ποσότητας τροφής που περιέχεται σε κάθε τμήμα του πεπτικού σωλήνα των ατόμων τσιπούρας και λαυρακιού 6 ώρες μετά την παροχή γεύματος.	123
Διάγραμμα 6.4. Ποσοστό (%) της ποσότητας τροφής που περιέχεται σε κάθε τμήμα του πεπτικού σωλήνα των ατόμων τσιπούρας και λαυρακιού στις 8 ώρες μετά την παροχή γεύματος.	123

ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΕΙΚΟΝΩΝ

Σελίδα

Εικόνα 1.1. Σπέρματα κτηνοτροφικού μπιζελιού <i>Pisum sativum</i>	12
Εικόνα 1.2. Σπέρματα κτηνοτροφικού ρεβυθιού <i>Cicer arietinum</i>	12
Εικόνα 1.3. Αριστερά: Χαρουπιά, <i>Ceratonia siliqua</i> Κάτω: οι λοβοί (καρποί)	13
Εικόνα 1.4. Τσιπούρα (<i>Sparus aurata</i> L.)	15
Εικόνα 1.5. Γαστρεντερικός σωλήνας τσιπούρας	17
Εικόνα 1.6. Λαυράκι (<i>Dicentrarchus labrax</i>)	18
Εικόνα 1.7. Γαστρεντερικός σωλήνας λαυρακιού	20
Εικόνα 2.1. Συσκευή άλεσης δειγμάτων (ball-milling)	33
Εικόνα 3.1α. Σύστημα συλλογής περιττωμάτων πειραμάτων πεπτικότητας	49
Εικόνα 3.1 β. Σύστημα συλλογής περιττωμάτων με εμφύσηση σε πάγο	49
Εικόνα 4.1. Δειγματοληψία γαστρεντερικού σωλήνα λαυρακιού.	71
Εικόνα 6.1. Δειγματοληψίες τμημάτων γαστρεντερικού σωλήνα τσιπούρας και λαυρακιού, αντίστοιχα.	118

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1

1. ΓΕΝΙΚΗ ΕΙΣΑΓΩΓΗ

1.1. ΠΡΩΤΕΣ ΥΛΕΣ ΙΧΘΥΟΤΡΟΦΩΝ

1.1.1. Χρήση και παραγωγή ιχθυαλεύρου – Προοπτικές

Η διατήρηση της παραγωγής των υδατοκαλλιεργειών σε υψηλά επίπεδα παγκοσμίως εξαρτάται από τη διαθεσιμότητα συνεχώς αυξανόμενων ποσοτήτων ιχθυοτροφών (Francis et al., 2003, Stone, 2003). Η βιομηχανία παραγωγής τροφών για τα εκτρεφόμενα είδη ιχθύων έχει αναγνωριστεί ως η πλέον αυξανόμενη από όλες τις γεωργικές βιομηχανίες, με ετήσιο ρυθμό αύξησης που ξεπερνά το 30%. Το 2003 η παραγωγή ιχθυοτροφών αντιπροσώπευε το 3% της παγκόσμιας παραγωγής ζωοτροφών (Francis et al., 2003).

Το ιχθυάλευρο και το ιχθυέλαιο αποτελούν τις κύριες πηγές πρωτεΐνης και λίπους, αντίστοιχα, στις ιχθυοτροφές. Η εξάρτηση από τις δύο αυτές πηγές είναι μεγαλύτερη για τα σαρκοφάγα είδη, συμπεριλαμβανομένων της τσιπούρας και του λαυρακιού, για την εκτροφή των οποίων απαιτούνται υψηλά ποσοστά πρωτεΐνης (Fountoulaki, 2004, NRC, 1983). Το ιχθυάλευρο παρασκευάζεται από αλιεύματα που δεν προορίζονται για ανθρώπινη κατανάλωση. Κατά την επεξεργασία τους για την παραγωγή του ιχθυαλεύρου δεν καταστρέφεται η σύσταση σε πρωτεΐνες και αμινοξέα και κατά συνέπεια η υψηλή θρεπτική του αξία διατηρείται σταθερή.

Η χρήση του ιχθυαλεύρου για την παραγωγή ιχθυοτροφών αντιπροσωπεύει το 42% της ολικής παραγωγής ιχθυαλεύρου (FAO, 2004, Tacon, 2004). Το μεγαλύτερο ποσοστό καταναλώνεται για την εκτροφή των σολομοειδών (26,9%), ακολουθούμενο από τα θαλάσσια είδη ιχθύων (23,8%), τις γαρίδες (17%), τον κυπρίνο (15,4%) και τα χέλια (6,7%). Η εξαλίευση προϊόντων για την παραγωγή ιχθυαλεύρου αυξάνεται μόνο 0,8% ετησίως με σημαντική μείωση ιδιαίτερα μετά την εμφάνιση των καιρικών φαινομένων 'El Niño' (Hardy & Tacon, 2002, Tacon, 2004). Επιπλέον, για την παραγωγή 1 kg ιχθύων υδατοκαλλιέργειας απαιτούνται 2-5kg προϊόντων αλιείας, αποτελώντας ένα μη αποδοτικό τρόπο παραγωγής πρωτεϊνικών προϊόντων για ανθρώπινη κατανάλωση (Αλέξη, 2004). Η ταχεία ανάπτυξη του τομέα της υδατοκαλλιέργειας σε χώρες της Ασίας, όπως στην Κίνα, όξυνε τον ανταγωνισμό για το περιορισμένο σε ποσότητα ιχθυάλευρο και ιχθυέλαιο.

Τα παραπάνω, σε συνδυασμό με τον περιορισμένο σε αριθμό περιοχών που παράγουν ιχθυάλευρο παγκοσμίως έχουν ως αποτέλεσμα την σημαντική αύξηση στην τιμή του. Σύμφωνα με μελέτες το κόστος της διατροφής των ψαριών μπορεί να φτάσει το 50% των λειτουργικών εξόδων, ποσοστό πολύ μεγαλύτερο από αυτό της εκτροφής άλλων οργανισμών (Refstie, 2003). Η ανάγκη εύρεσης εναλλακτικών πηγών πρωτεΐνης και λίπους για την υποκατάσταση του ιχθυάλευρου και του ιχθυελαίου και την παραγωγή ιχθυοτροφών χαμηλότερου κόστους, έχει αναγνωριστεί διεθνώς ως μια επιτακτική ανάγκη για τη διατήρηση του ταχέως αναπτυσσόμενου τομέα των υδατοκαλλιεργειών (Hardy & Tacon, 2002, Tacon, 2004).

1.1.2. Εναλλακτικές πηγές ιχθυαλεύρου

Οι εναλλακτικές πηγές ιχθυαλεύρου θα πρέπει να χαρακτηρίζονται από επαρκή πρωτεϊνική σύσταση και να ικανοποιούν ορισμένα κριτήρια όπως είναι η διαθεσιμότητα τους, το σχετικό κόστος τους, η πεπτικότητα και η βιολογική τους αξία, έτσι ώστε η χρήση τους ως υποκατάστατα του ιχθυάλευρου στις τροφές να είναι αποδοτική και οικονομικά συμφέρουσα για την υδατοκαλλιέργεια (Hardy, 1997).

Κύριες εναλλακτικές πηγές πρωτεΐνης στην υδατοκαλλιέργεια αποτελούν τα ζωικά άλευρα, που προέρχονται από την επεξεργασία υποπροϊόντων χερσαίων ζώων (κρεατάλευρα, αιματάλευρα κτλ) και άλευρα από φυτικές πρώτες ύλες, όπως η σόγια και σε μικρότερο βαθμό η ελαιοκράμβη και ο ηλιανθος, δημητριακά (π.χ. αραβόσιτος, σίτος, κριθάρι, σόργο) και σπέρματα ψυχανθών (π.χ. λούπινα, μπιζέλια, ρεβύθια κ.α.).

Τα ζωικά άλευρα έχουν υψηλότερη πρωτεϊνική σύσταση από τις φυτικές πρώτες ύλες και έχουν αντικαταστήσει με επιτυχία το ιχθυάλευρο μέχρι ένα ορισμένο ποσοστό σε πολλά είδη ιχθύων (Alexis, 1997, Allan et al., 2000b, Stone, et al., 2000). Το πτηνάλευρο έχει πλήρως υποκαταστήσει το ιχθυάλευρο σε ιχθυοτροφές για τσιπούρα (Nengas, 1999). Η παγκόσμια παραγωγή των ζωικών αλεύρων ωστόσο, εμφανίζει παρόμοια προβλήματα διαθεσιμότητας με το ιχθυάλευρο, ενώ η χρήση τους στην Ευρώπη έχει απαγορευθεί λόγω της εμφάνισης της ασθένειας της σπογγώδους εγκεφαλοπάθειας (BSE, bovine spongiform encephalitis) (Αλέξη & Νέγκας, 2001).

Οι φυτικές πρώτες ύλες αποτελούν επομένως την κύρια εναλλακτική πηγή ιχθυαλεύρου. Η επιλογή των φυτικών υλών βασίζεται πρωτίστως στην πρωτεϊνική τους

σύσταση λόγω των υψηλών απαιτήσεων των ιχθύων, ιδίως των σαρκοφάγων, σε πρωτεΐνες. Η παγκόσμια παραγωγή δημητριακών, ελαιόσπορων και σπερμάτων ψυχανθών είναι εξαιρετικά υψηλή αποτελώντας μια οικονομική πηγή πρώτων υλών.

Το σογιάλευρο, έχοντας υποστεί διάφορες μορφές επεξεργασίας, έχει χρησιμοποιηθεί ως υποκατάστατο του ιχθυαλεύρου με επιτυχία σε διάφορα είδη ιχθύων (Αλέξη & Νέγκας, 2001, Kaushik et al., 2004) λόγω της υψηλής πρωτεϊνικής σύστασης (38-45%) και της ισορροπημένης περιεκτικότητας σε απαραίτητα αμινοξέα (Αλέξη & Νέγκας, 2001). Παρόλα αυτά, η καλλιέργεια της σόγιας στην Ελλάδα είναι ανπιοικονομική και η εισαγωγή του από άλλες χώρες αυξάνει σημαντικά την τιμή του. Επιπλέον, το σογιάλευρο δέχεται επιθέσεις στην Ευρώπη διότι σε μεγάλα ποσοστά είναι γενετικά τροποποιημένο. Έτσι, η μελέτη άλλων φυτικών προϊόντων ως συστατικά ιχθυοτροφών έχει καταστεί υψίστης προτεραιότητας τόσο σε Ευρωπαϊκό όσο και σε διεθνές επίπεδο.

Η προσθήκη γλουτένης αραβοσίτου και σίτου έχει επίσης υποκαταστήσει το ιχθυάλευρο σε σιτηρέσια για πολλά είδη ιχθύων. Τα μειονεκτήματα της χρήσης των προϊόντων αυτών είναι η χαμηλή περιεκτικότητα σε απαραίτητα αμινοξέα της γλουτένης αραβοσίτου και το υψηλό κόστος της γλουτένης σίτου λόγω της χαμηλής διαθεσιμότητάς του (Αλέξη και Νέγκας, 2001, Αλέξη, 2004).

Τα σπέρματα ψυχανθών είναι πολλά υποσχόμενα ως υποψήφια συστατικά καθώς περιέχουν υψηλά επίπεδα πρωτεΐνης και υδατανθράκων και αποτελούν παραδοσιακά ελληνικά προϊόντα.

Σπέρματα ψυχανθών όπως το μπιζέλι και τα λούπινα έχουν χρησιμοποιηθεί ως συστατικά σιτηρεσίων για θαλάσσια είδη ιχθύων, είδη του γλυκού νερού καθώς και γαρίδες (Allan & Booth, 2004, Burel et al., 2000, Carter & Hauler, 2000, Cruz-Suarez et al., 2001). Οι υδατάνθρακες αυτών των φυτικών προϊόντων, είναι δυνατόν να αποτελέσουν οικονομική πηγή ενέργειας για ορισμένα είδη ιχθύων. Είναι γνωστό ότι οι ιχθύες, ιδιαίτερα των σαρκοφάγων ειδών, δεν έχουν ιδιαίτερες απαιτήσεις σε υδατάνθρακες. Η ενέργεια που παρέχεται από τους υδατάνθρακες εξοικονομεί τα αμινοξέα από καταβολικές διαδικασίες για την παραγωγή ενέργειας, τα οποία χρησιμοποιούνται για την αύξηση και διατήρηση του οργανισμού. Η ικανότητα χρήσης των υδατανθράκων από τους ιχθύς ως πηγή ενέργειας ποικίλει μεταξύ των ειδών. Σε

πολλά σαρκοφάγα είδη το προτεινόμενο ποσοστό προσθήκης υδατανθράκων έχει αναφερθεί έως 20%, χαμηλότερο σε σχέση με τα φυτοφάγα είδη (40%). Η χρήση των φυτικών πρώτων υλών παρόλα αυτά είναι περιορισμένη λόγω της περιεκτικότητάς τους σε αντιθρεπτικούς παράγοντες που μειώνουν την αξιοποίηση των θρεπτικών συστατικών των ιχθυοτροφών.

1.2 ΣΠΕΡΜΑΤΑ ΨΥΧΑΝΘΩΝ

1.2.1. Θρεπτική σύσταση σπερμάτων ψυχανθών

Τα σπέρματα ψυχανθών αποτελούν σημαντικό μέρος της παραδοσιακής διατροφής σε πολλές περιοχές στον κόσμο. Στη χώρα μας, σπέρματα ψυχανθών όπως η φακή (*Lens culinaris* Medikus), το μπιζέλι (*Pisum sativum* L.), τα ρεβύθια (*Cicer arietinum* L.), η φάβα (*Lathyrus sativus* L.) και τα κουκιά (*Vicia faba* L.), καλλιεργούνται σε ξηρικά χωράφια από τους αρχαίους χρόνους και αποτελούν αναπόσπαστο μέρος της διατροφής των Ελλήνων. Τα πιο σημαντικά από άποψη κατανάλωσης για τη χώρα μας είναι κατά σειρά η φακή, τα ρεβύθια, τα κουκιά, η φάβα και το μπιζέλι. Στοιχεία για την ποσότητα παραγωγής των σπερμάτων ψυχανθών αυτών στην Ελλάδα δίνονται στον Πίνακα 1.1.

Πίνακας 1.1. Ετήσια παραγωγή σπερμάτων ψυχανθών (σε τόνους) στην Ελλάδα έως το 2000

Είδη σπερμάτων ψυχανθών	Παραγωγή (τόνοι)
Φακή (<i>Lens culinaris</i> Medikus)	1000
Ρεβύθια (<i>Cicer arietinum</i> L.)	2300
Κουκιά (<i>Vicia faba</i> L.)	6300
Φάβα (<i>Lathyrus sativus</i> L.)	411
Μπιζέλι (<i>Pisum sativum</i> L.)	350

Πηγή: Ινστιτούτο Κτηνοτροφικών Φυτών και Βοσκών, ΕΘ.Ι.ΑΓ.Ε., Λάρισα.

Τα σπέρματα ψυχανθών είναι τρόφιμα με μεγάλη διατροφική αξία γιατί ο καρπός τους αποτελεί σημαντική πηγή πρωτεϊνών, σύμπλοκων υδατανθράκων, βιταμινών όπως Α, Β1, Β2, Β6, Β12, ανόργανων στοιχείων όπως τα μακροστοιχεία ασβέστιο, μαγνήσιο, κάλιο κ.λπ. και ιχνοστοιχεία όπως σίδηρο κ.λπ. Η θρεπτική σύσταση διαφόρων ειδών σπερμάτων ψυχανθών και η σύστασή τους σε αμινοξέα όπως έχει δοθεί στη βιβλιογραφία από διάφορους συγγραφείς δίνεται στους Πίνακες 1.2. και 1.3. Η περιεκτικότητα των σπερμάτων ψυχανθών σε αμινοξέα, συγκρινόμενη με αυτή του σογιάλευρου, είναι πλούσια σε λυσίνη με εξαίρεση τα λούπινα και τα κουκιά, ενώ περιέχουν μειωμένη ποσότητα θειούχων αμινοξέων, μεθειονίνης και κυστίνης.

Τα υψηλά επίπεδα πρωτεϊνών των σπερμάτων ψυχανθών, με την προσθήκη της απαιτούμενης ποσότητας μεθειονίνης, καθιστούν τα σπέρματα ψυχανθών πολλά υποσχόμενα υποψήφια ως υποκατάστατα του ιχθυαλεύρου και του σογιάλευρου στα σιτηρέσια των ιχθύων. Επίσης, το υψηλό ποσοστό των περιεχόμενων πειπτών υδατανθράκων δύναται να υποκαταστήσει τις ήδη χρησιμοποιούμενες πηγές ενέργειας όπως το ζελατινοποιημένο άμυλο και το σίτο.

Η περιεκτικότητα τους όμως σε αντιθρεπτικούς παράγοντες, απαραίτητοι στο φυτό για την ανάπτυξη και την προστασία του (Bond & Smith, 1989), έχουν αρνητικές συνέπειες στην αξιοποίηση των θρεπτικών συστατικών του σιτηρέσιου. Είναι γνωστό ότι μειώνουν την αξιοποίηση του σιτηρέσιου επηρεάζοντας αρνητικά την αύξηση και την υγεία του ζωικού οργανισμού, περιορίζοντας έτσι τη χρήση τους ως συστατικά των σιτηρεσιών.

Πίνακας 1.2. Θρεπτική σύσταση των κυριότερων σπερμάτων ψυχανθών (g kg⁻¹ ξηρού βάρους)

	Πρωτεΐνες	Λίπη	Τέφρα	Ινώδεις	ΕΑΕ*	Ασβέστιο Ca	Φωσφόρος P
Ρεβόθια	220	40	30	90	620	1,0	4,0
Μπιζέλια	250	15	40	60	635	1,0	3,0
Κουκιά	230	20	40	70	640	1,0	3,0
Λούπινα	322	60	31	145	442	2,2	3,3
Φακές	240	10	22	44	684	1,0	3,0
Σογιάλευρο	498	7	71	53	371	2,5	8,6

* ΕΑΕ: Ελεύθερες αζώτου εκχυλισμένες ουσίες
Πηγή δεδομένων: Wiryaman, 1997; Hickling, 2003.

1.2.2. Αντιθρεπτικοί παράγοντες

Οι κυριότεροι αντιθρεπτικοί παράγοντες που περιέχονται στα σπέρματα ψυχανθών είναι οι αναστολές πρωτεασών (θρυψίνης και χυμοθρυψίνης), ολιγοσακχαρίτες (α-γαλακτοσίδια), λεκτίνες, ταννίνες και φυτικό οξύ καθώς και οι μη αμυλούχοι πολυσακχαρίτες και οι σαπωνίνες (Πίνακας 1.4) (Hickling, 2003; Wang & Daun, 2004).

Διακρίνονται σε δυο κατηγορίες με βάση την αντοχή τους σε θερμική επεξεργασία: σε αυτούς που είναι i) θερμικά σταθεροί, όπως οι μη αμυλούχοι πολυσακχαρίτες και οι σαπωνίνες, και ii) θερμικά ευαίσθητοι όπως οι αναστολές πρωτεασών, το φυτικό οξύ και οι λεκτίνες. Οι ολιγοσακχαρίτες μετά από θερμική επεξεργασία είναι πιο εύπειτοι ενώ η επίδραση της θερμοκρασίας στις ταννίνες είναι ακόμα αβέβαιη (Francis et al., 2001).

Πίνακας 1.3. Περιεκτικότητα σε απαραίτητα αμινοξέα (AA) των κυριότερων σπερμάτων ψυχανθών (mg AA g⁻¹ πρωτεΐνη)

	Ρεβύθια	Μπιζέλια	Κουκιά	Λούπινα	Φακές	Σογιάλευρο
Αμινοξέα						
Αργινίνη	88	72	86	103	80	83
Ιστιδίνη	33	26	24	26	30	29
Ισολευκίνη	44	44	44	37	43	56
Λευκίνη	74	67	64	64	79	82
Λυσίνη	74	72	62	46	70	68
Μεθειονίνη	22	14	21	20	13	24
Κυστεΐνη +Μεθειονίνη	12	8	8	6	7	14
Φαινυλαλανίνη + Τυροσίνη	95	72	77	68	68	91
Φαινυλαλανίνη	59	44	43	34	43	49
Θρεονίνη	31	40	37	34	30	28
Τρυπτοφάνη	10	9	10	9	12	14
Βαλίνη	68	49	37	38	44	46

Πηγή δεδομένων: Wiryaman, 1997.

Πίνακας 1.4. Περιεκτικότητα των σπερμάτων ψυχανθών σε αντιθρεπτικούς παράγοντες

Σπέρματα ψυχανθών	Αντιθρεπτικοί παράγοντες
Σόγια	Αναστολείς πρωτεασών, λεκτίνες (αιμογλουτινίνες), φυτικό οξύ, σαπωνίνες, γλυκοσινοειδή
Λούπινα	Αναστολείς πρωτεασών, σαπωνίνες, φυτοοιστρογόνα, αλκαλοειδή
Μπιζέλι	Αναστολείς θρυψίνης, λεκτίνες, ταννίνες, φυτικό οξύ, σαπωνίνες, κυανογόνα γλυκοζίδια, φυτοαιμαγλουτινίνες
Ρεβύθι	Αναστολείς πρωτεασών, κυανογόνα γλυκοζίδια, φυτικό οξύ, σαπωνίνες, α-γαλακτοσίδια (ολιγοσακχαρίτες)
Φακές	Αναστολείς πρωτεασών, λεκτίνες, σαπωνίνες
Δόλιχοι	Αναστολείς πρωτεασών, φυτικό οξύ, φυτοαιμαγλουτινίνες, α-γαλακτοσίδια
Φασόλια	Αναστολείς θρυψίνης, κυανογόνα γλυκοζίδια, α-γαλακτοσίδια, λεκτίνες

Πηγή δεδομένων: Francis et al., 2001, Tacon et al., 1997, Monti & Grillo, 1983

1.2.2.1. Ολιγοσακχαρίτες

Οι ολιγοσακχαρίτες ή α-γαλακτοσίδια είναι σάκχαρα μικρού μοριακού βάρους και αποτελούνται από τα σάκχαρα ραφφινόζη, σταχυόζη και βερμπασκόζη. Η ραφφινόζη είναι ένας τρισακχαρίτης, που αποτελείται από ένα μόριο γαλακτόζης, ένα γλυκόζης και

ένα φρουκτόζη. Η σταχυόζη έχει τη δομή της ραφφινόζης με ένα επιπλέον μόριο γαλακτόζη, και η βερμπασκόζη αποτελείται από τρία μόρια γαλακτόζη, ένα γλυκόζη και ένα φρουκτόζη.

Οι ολιγοσακχαρίτες αυτοί βρίσκονται σε υψηλά επίπεδα σε ορισμένα είδη σπερμάτων ψυχανθών προκαλώντας τυμπανισμό και διάρροια στα μονογαστρικά ζώα (χοίρους, πουλερικά) διότι δεν έχουν το ένζυμο α-γαλακτοσιδάση για τη διάσπασή τους στο έντερο. Τα σάκχαρα αυτά διασπώνται στο έντερο από τη βακτηριακή χλωρίδα παράγοντας αέρια. Επίσης, έχει αναφερθεί η παρεμπόδιση με άλλα θρεπτικά συστατικά και προκαλούν ωσμωτικές επιπτώσεις στο έντερο (Glencross, B.D. (Ed), 2005). Η αρνητική επίπτωση των ολιγοσακχαριτών δεν έχει επιβεβαιωθεί στα ψάρια (Αλέξη & Νέγκας, 2001, Glencross, B.D. (Ed), 2005).

1.2.2.2. Μη αμυλούχοι πολυσακχαρίτες

Στους μη αμυλούχους πολυσακχαρίτες (ΜΑΠ) ανήκουν ενώσεις όπως οι πηκτίνες, γαλακτάνες, η κυτταρίνη, λιγνίνη, αραβινάνη και αραβινογαλακτάνη (Knudsen, 1997; Francis et al., 2001). Στο μεγαλύτερο ποσοστό τους αποτελούν συστατικά των τοιχωμάτων των φυτικών κυττάρων. Στα σπέρματα ψυχανθών βρίσκονται σε σχετικά υψηλές συγκεντρώσεις. Διακρίνονται σε δύο κατηγορίες με βάση τη διαλυτότητά τους στο νερό, στους διαλυτούς και τους αδιάλυτους. Στους διαλυτούς ανήκουν οι πηκτίνες, τα υδροκολλοειδή, τα κόμμεα και ορισμένες ημικυτταρίνες, ενώ στους αδιάλυτους ανήκουν η κυτταρίνη και ορισμένες ημικυτταρίνες. Οι περιεχόμενοι μονοσακχαρίτες περιλαμβάνουν τη ξυλόζη, την αραβινόζη, τη γαλακτόζη, τη μαννόζη, τη γλυκόζη, το γλουκουρονικό και το γαλακτουρονικό οξύ (Bach-Knudsen, 2001).

Είναι πολυσακχαρίτες οι οποίοι δεν υδρολύονται από τα ένζυμα των θηλαστικών στον εντερικό σωλήνα αλλά πέπτονται (ζυμώνονται) από την μικροβιακή χλωρίδα του εντέρου. Η παρουσία τους μειώνει το ρυθμό γαστρικής εκκένωσης και αυξάνει τον χρόνο εκκένωσης των υπολειμμάτων τροφής από το μικρό έντερο. Οι πηκτίνες και τα κόμμεα αυξάνουν το ιξώδες στον εντερικό σωλήνα (Choct, 1995) με αποτέλεσμα να μειώνουν την πέψη και την απορόφηση των θρεπτικών συστατικών στον εντερικό αυλό. Στα πουλερικά έχει βρεθεί ότι αυξανόμενα επίπεδα ΜΑΠ στο σιτηρέσιο μείωσαν τη διαθεσιμότητα των θρεπτικών συστατικών. Εμφανίζονται να δρουν ως φίλτρα μορίων διότι η επίδρασή τους ποικίλει με το μέγεθος των μορίων του κάθε θρεπτικού συστατικού

(Smits & Annison, 1996, Wiryaman 1997). Ορισμένοι ΜΑΠ δεσμεύουν τα χολικά άλατα, λιπίδια και χοληστερόλη προκαλώντας αύξηση της σύνθεσης των χολικών οξέων από το ήπαρ, πιθανώς επηρεάζοντας την απορρόφηση λιπών και χοληστερόλης από το έντερο (Choct & Kocher, 2000).

Στους ιχθύς, η αρνητική επίδραση των ΜΑΠ αποδίδεται είτε στη δέσμευση των χολικών οξέων είτε στην παρεμπόδιση της δράσης των πεπτικών ενζύμων και στην κινητικότητα του εντερικού περιεχομένου (Francis et al., 2001). Υψηλά επίπεδα ΜΑΠ στα σιτηρέσια έχει αναφερθεί ότι δεσμεύουν ιχνοστοιχεία στο έντερο και μειώνουν την πεπτικότητα των λιπών (Storebakken et al., 1998). Μελέτες που πραγματοποιήθηκαν σε ιχθύς όπως *Morone saxatilis* x *M. Chrysops* (Gallagher, 1994) και ιριδιζουσα πέστροφα (*Salmo gairdneri*, de la Higuera et al., 1988 - *Onchorhynchus mykiss*, Sanz et al., 1994), τα οποία διετράφησαν με σιτηρέσια που περιείχαν σόγια, λούπινα και ηλιάλευρο, έδειξαν μειωμένη λήψη τροφής και μειωμένη πεπτικότητα. Η μείωση οφειλόταν στην παρουσία ΜΑΠ όπως οι πηκτίνες, γαλακτάνες, η κυτταρίνη και λιγνίνη. Στην ωσμωτική δράση ορισμένων ΜΑΠ αποδόθηκε και η αυξημένη υγρασία στα περιττώματα σε σολομοειδή που διετράφησαν με σόγια.

1.2.2.3. Ταννίνες

Οι ταννίνες είναι πολυφαινόλες ευρύτατα διαδεδομένες στο φυτικό βασίλειο και χωρίζονται στις υδρολυόμενες και στις συμποκνωμένες ταννίνες (Tacon, 1997, Francis et al., 2001). Οι ταννίνες αποτελούν την άμυνα του φυτού έναντι των φυτοφάγων-θηρευτών (Becker & Makkar, 1999).

Ο όρος ταννίνες είναι γενικός και περιλαμβάνει τις κατεχίνες, τις λευκοανθοκυανίνες και ορισμένα υδροξυοξέα (Μπόσκου, 1992) Οι υδρολυόμενες ταννίνες είναι πολυεστέρες των φαινολικών οξέων όπως γαλλικό οξύ, εξα-υδροξυδιφαινικό οξύ και τα παράγωγά τους και κινικό οξύ. Οι συμποκνωμένες είναι πολυμερή των φλαβαν-3-ολών και φλαβαν-3,4-διολών (Becker & Makkar, 1999). Η αντιθρεπτική τους δράση συνίσταται στην παρεμβολή τους στη διαδικασία της πέψης είτε δεσμεύοντας ένζυμα είτε δεσμεύοντας συστατικά των τροφών όπως πρωτεΐνες ή ιχνοστοιχεία (Francis et al., 2001). Μειώνουν επίσης την απορρόφηση της βιταμίνης Β₁₂. Οι υδρολυόμενες ταννίνες σε αντίθεση με τις συμποκνωμένες διασπώνται ευκολότερα σε μικρότερου μοριακού βάρους ενώσεις, οι οποίες εισέρχονται στη ροή του αίματος

προκαλώντας έπειτα από κάποιο διάστημα χρόνιες βλάβες σε όργανα όπως ήπαρ και νεφρά. Οι συμπυκνωμένες ταννίνες καθιζάνουν τις πρωτεΐνες και ειδικά τα πεπτικά ένζυμα. Οι ταννίνες σχηματίζουν σύμπλοκα με πρωτεΐνες και άλλα μακρομόρια καθιστώντας αυτές μη διαθέσιμες για πέψη (Glencross, B.D. (Ed), 2005, Pusztai et al., 2004).

Μελέτες έδειξαν ότι σιτηρέσια που περιείχαν σημαντική ποσότητα ταννινών μείωσαν την ημερήσια αύξηση βάρους και την αξιοποίηση της τροφής σε ποντίκια (Wiryaman, 1997), κοτόπουλα (Santidrian & Marzo, 1989) και χοίρους (Jansman et al., 1993), γεγονός που οφειλόταν στη μείωση της πεπτικότητας των πρωτεϊνών. Τα σχηματιζόμενα σύμπλοκα ταννινών-πρωτεϊνών είναι εξαιρετικά υδρόφοβα και ευθύνονται μερικώς για τη μειωμένη πεπτικότητα πρωτεϊνών και βιοδιαθεσιμότητα των αμινοξέων στα ποντίκια και στα κοτόπουλα (Ortiz et al., 1993). Οι ταννίνες μπορεί να δεσμεύουν επίσης ενζυμικές πρωτεΐνες. Οι ενεργότητες της θρυψίνης, α-αμυλάσης και λιπάσης μειώθηκαν έπειτα από προσθήκη φλοιού κουκιών υψηλής περιεκτικότητας σε ταννίνες στα σιτηρέσια κοτόπουλων (Jansman et al., 1994, Wiryaman, 1997).

Μελέτες στους ιχθύς *Sarotherodon mossambicus* και *Labeo rohita* έδειξαν ότι η μειωμένη αύξηση των ιχθύων οφειλόταν ενδεχομένως στην παρουσία συμπυκνωμένων ταννινών σε επίπεδο 2,4% στα σιτηρέσια (Francis et al., 2001). Σε διάφορα είδη ιχθύων έχει αναφερθεί ανεκτικότητα σε ορισμένα επίπεδα ταννινών σε σιτηρέσια που περιείχαν φυτικές πρώτες ύλες όπως ελαιοκράμβη και μπιζέλι (Gomes et al., 1993). Η ανεκτικότητα εξαρτάται από το είδος του ιχθύος και τη δομή των ταννινών ή την αλληλεπίδρασή τους με άλλα συστατικά του σιτηρεσιού. Έτσι, προσθήκη έως 2% συμπυκνωμένων ταννινών σε σιτηρέσιο για τον κυπρίνο δεν είχε καμία επίδραση στην αύξηση σε αντίθεση με το ίδιο ποσοστό υδρολυόμενων ταννινών το οποίο προκάλεσε απόρριψη της ιχθυοτροφής (Becker & Makkar, 1999).

1.2.2.4. Φυτικό οξύ

Το φυτικό οξύ ή εξαφωσφορική μυο-ινοσιτόλη, απαντάται πολύ συχνά στο φυτικό βασίλειο, σε σημαντικές ποσότητες σε αρκετά σπέρματα ψυχανθών και ελαιόσπορους. Βρίσκεται κυρίως συγκεντρωμένο στις κοτυληδόνες του σπέρματος (Champ, 2002). Έως 85% του ολικού φωσφόρου των σπερμάτων ψυχανθών και των δημητριακών

αποθηκεύεται με τη μορφή φυτικού οξέος στους ιστούς (Oatway et al., 2001, Ravindran et al., 1994).

Η αντιθρεπτική του δράση οφείλεται στο γεγονός ότι οι έξι ανιονικές φωσφορικές ομάδες του μορίου σχηματίζουν χηλικές ενώσεις με δισθενή και τρισθενή κατιόντα όπως Ca^{2+} , Mg^{2+} , Zn^{2+} , Cu^{2+} και Fe^{3+} με αποτέλεσμα την εξαιρετικά χαμηλή διαθεσιμότητα αυτών των ιόντων στους ανθρώπους που τα καταναλίσκουν (Lajolo et al., 2004). Επίσης, στους ζωικούς οργανισμούς σχηματίζει σύμπλοκες ενώσεις με τις πρωτεΐνες μειώνοντας τη βιοδιαθεσιμότητά τους. Μεγάλο ποσοστό του φωσφόρου δεσμευμένου υπό τη μορφή φυτικού οξέος μειώνει τη διαθεσιμότητα του στα μονογαστρικά ζώα καθώς δε διαθέτουν το ένζυμο φυτάση στο εντερικό σωλήνα (Francis et al., 2001, Tacon, 1997).

Μελέτες σε διάφορα είδη ιχθύων, όπως πέστορφα (*Salmo gairdneri*), (Spinelli, 1983), σολομό του Ειρηνικού (*Chinook, Oncorhynchus tshawytscha*) (Richardson, 1985) και κυπρίνο (*Cyprinus carpio* L.) (Hossain & Jauncey, 1993), στα σιτηρέσια των οποίων είχε προστεθεί συνθετικό φυτικό οξύ, είχε ως αποτέλεσμα τη μείωση της αύξησης των ιχθύων και της διαθεσιμότητας του ψευδαργύρου, αντίστοιχα. Το φυτικό οξύ σχηματίζει σύμπλοκα με τις πρωτεΐνες σε όξινο pH ενώ σε συνθήκες pH εντέρου σχηματίζει σύμπλοκα με πολυσθενή ιόντα όπως Zn (Glencross, B.D. (Ed), 2005). Στη μελέτη με τον σολομό βρέθηκε επίσης υπερτροφία των πυλωρικών τυφλών καθώς και βλαβερή επίδραση στην ανώτερη επιθηλιακή στιβάδα (Francis et al., 2001). Άλλες επιδράσεις που έχουν αναφερθεί είναι η μείωση στη λήψη τροφής, καταστολή θυροειδή (Glencross, B.D. (Ed), 2005) και καταστολή της απορρόφησης των θρεπτικών συστατικών λόγω βλάβης της περιοχής των πυλωρικών τυφλών (Francis et al., 2001).

1.2.3. Ποικιλίες σπερμάτων ψυχανθών

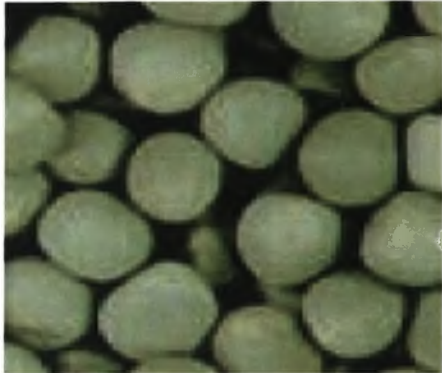
Η σύσταση των σπερμάτων ψυχανθών σε θρεπτικά και αντιθρεπτικά συστατικά ποικίλει και εξαρτάται από γενετικούς και περιβαλλοντικούς παράγοντες, όπως οι κλιματολογικές συνθήκες (θερμοκρασία, διαθεσιμότητα νερού και ηλιοφάνεια) και τα εδαφολογικά χαρακτηριστικά, που κυριαρχούν κατά την περίοδο ανάπτυξης του σπέρματος. Έχουν αναφερθεί διαφορές στη σύσταση ποικιλιών μπιζελιού με διαφορετικό σχήμα σπέρματος (ανώμαλη ή λεία επιφάνεια), μεταξύ εαρινών και χειμερινών ποικιλιών (Castell, et al., 1996, Kosson et al., 1994a) καθώς και μεταξύ ποικιλιών από διαφορετικά έτη συγκομιδής (Al-Karaki et al., 1999, Castell et al., 1996).

Υπάρχουν επίσης αναφορές που συσχετίζουν τη θρεπτική και αντιθρεπτική αξία των ρεβυθιών με τον βιότυπο ή την ποικιλία (Kaur & Singh, 2005, Rincon et.al., 1998, Saini & Knights, 1984). Τα εδαφολογικά χαρακτηριστικά έχουν αναφερθεί να επηρεάζουν τη σύσταση άλλων σπερμάτων ψυχανθών, όπως σε διάφορες ποικιλίες του γένους *Vicia* και στα φασόλια (*Phaseolus vulgaris*) (Berger et.al., 1999, Kigel, 1999). Η τοποθεσία και η εποχή σοριάς και ανάπτυξης σπερμάτων, καθώς και η αλληλεπίδρασή τους, επηρέασαν τη πρωτεϊνική σύσταση του ρεβυθιού (Singh et al, 1990). Επίσης, έχει μελετηθεί η συσχέτιση μεταξύ της πρωτεϊνικής σύστασης των κτηνοτροφικών μπιζελιών με άλλα συστατικά καθώς και της συνδυασμένης επίδρασης της ποικιλίας με την πρωτεΐνη του σπέρματος στη σύσταση του μπιζελιού και της φακής (Reichert et. al., 1982, Wang et.al., 2000, 2004). Η επιλογή ποικιλιών σπερμάτων ψυχανθών, με υψηλή περιεκτικότητα σε πρωτεΐνη θα βελτιώσει τη θρεπτική αξία των σπερμάτων ψυχανθών για μελλοντική χρήση στις βιομηχανίες παραγωγής τροφών.

Ενδιαφέροντα είδη για συστατικά ιχθυοτροφών αποτελούν το κτηνοτροφικό μπιζέλι (*Pisum sativum*) και ρεβύθι (*Cicer arietinum*) (Εικ. 1. 1. και 1. 2.), για τα οποία έχουν αναπτυχθεί στην Ελλάδα ποικιλίες με χαμηλή περιεκτικότητα σε ορισμένους αναστολείς και χαρακτηριστικά που ανταποκρίνονται στις Ελληνικές συνθήκες παραγωγής.

Το κτηνοτροφικό μπιζέλι και ρεβύθι ανήκουν στην οικογένεια Fabaceae, υποοικογένεια Faboideae. Η μέση περιεκτικότητά τους σε πρωτεΐνη είναι 23%, μικρότερη από τη σόγια, ενώ η περιεκτικότητά τους σε άμυλο υψηλότερη. Η περιεκτικότητά τους σε λυσίνη είναι μεγαλύτερη από αυτή της σόγιας, ενώ τα επίπεδα της μεθειονίνης και της κυστίνης είναι μειωμένα. Κάθε ποικιλία των σπερμάτων ψυχανθών αυτών χαρακτηρίζεται από σπέρματα ορισμένου σχήματος, μεγέθους και χρώματος. Υπάρχουν διάφορες ποικιλίες μπιζελιού, χειμερινές και εαρινές, με ποικίλο χρώμα σπέρματος (κίτρινο, πράσινο, καστανό), με χρώμα άνθους λευκά ή σκουρόχρωμα. Οι σημαντικότερες ποικιλίες ρεβυθιού που καλλιεργούνται είναι δύο τύπων, Desi και Kabuli. Τα ρεβύθια τύπου Desi χαρακτηρίζονται από μικρά, σκουρόχρωμα σπέρματα με ανώμαλο περίβλημα (φλοιό). Ο τύπος αυτός του ρεβυθιού καλλιεργείται κυριώς στην Ινδία, την Αιθιοπία, το Μεξικό και το Ιράν. Τα ρεβύθια τύπου Kabuli έχουν ανοιχτόχρωμα σπέρματα, μεγαλύτερου μεγέθους και λείο

περίβλημα. Καλλιεργούνται κυρίως στις χώρες της Μεσογείου (Νότια Ευρώπη), στην Αφρική, στο Αφγανιστάν και στη Χιλή (Wikipedia, 2007).



Εικόνα 1. 1. Σπέρματα κτηνοτροφικού υπιζελιού *Pisum sativum*



Εικόνα 1. 2. Σπέρματα κτηνοτροφικού σεβυθιού *Cicer arietinum*

Η χρήση αυτών των σπερμάτων ψυχανθών, πέραν της μείωσης της εισαγωγής σόγιας, θα προσφέρει το πλεονέκτημα της αναζωογόνησης των καλλιεργούμενων επί πολλά χρόνια με σιτηρά εδαφών, της μείωσης της νιτρορύπανσης των εδαφών αυτών και θα συμβάλλει στην αύξηση των αποδόσεων άλλων καλλιεργειών λόγω της αμειψισποράς. Συγκεκριμένα το κτηνοτροφικό ρεβύθι μπορεί να καλλιεργηθεί ευκολότερα από άλλα ψυχανθή στην Ελλάδα και τα πλεονεκτήματά του έναντι των άλλων σπερμάτων ψυχανθών όπως η σόγια, το κτηνοτροφικό μπιζέλι, το κουκί, τα φασόλια και τη φακή είναι ότι αντέχει πιο πολύ στην ξηρασία και έχει ελάχιστες εδαφικές απαιτήσεις (μπορεί να καλλιεργηθεί σε μεγάλη ποικιλία εδαφών από τα ελαφρά αμμώδη μέχρι τα βαριά αργιλώδη εδάφη). Στο Ινστιτούτο Κτηνοτροφικών Φυτών και Βοσκών (Λάρισα) έχουν αναπτυχθεί ποικιλίες ρεβυθιών με αντοχή στο ψύχος και στην ασθένεια 'Ασχόχυτα' (Κουτής, 2004).

1.2.4. Χαρούπι

Το χαρούπι, *Ceratonia siliqua*, ανήκει στην οικογένεια Fabaceae, υποοικογένεια Caesalpinioideae (Wikipedia, 2007). Η χαρουπιά είναι ένα αειθαλές δένδρο, το ύψος του οποίου φθάνει και τα 10m με λείο γκριζο κορμό (A.F.R.I.S., 2004). Οι καρποί του είναι λοβοί χρώματος καστανού και μήκος 10-20cm (Εικ.1.3). Απαντάται στις χώρες της Μεσογείου αλλά σήμερα μπορεί να βρεθεί και σε πολλές άνυδρες υποτροπικές περιοχές.

Το χαρούπι καλλιεργείται για την πληθώρα των λοβών του, που στην ώριμη φάση τους είναι πλούσιοι σε σάκχαρα, και χρησιμοποιούνται είτε για την παραγωγή αλκοόλης, είτε αλέθονται με τους σπόρους για την παραγωγή αλεύρου (carob bean) που χρησιμοποιείται ως ζωοτροφή. Στοιχεία για την παραγωγή του χαρουπιού σε διάφορες χώρες δίνονται στον Πίνακα 1.5.



Εικόνα 1.3. Αριστερά: Χαρουπιά, *Ceratonia siliqua*
Κάτω: οι λοβοί (καρποί)



Ο λοβός του χαρουπιού αποτελείται από δύο κύρια συστατικά, το περικάρπιο (90%) και το σπέρμα (10%). Το περικάρπιο έχει υψηλή περιεκτικότητα σε σάκχαρα (48-56%). Τα σάκχαρα αυτά είναι κυρίως σουκρόζη, γλυκόζη, φρουκτόζη και μαλτόζη. Επίσης περιέχει μη αμυλούχους πολυσακχαρίτες, κυρίως κυτταρίνη και ημικυτταρίνη, σε ποσοστό 18% καθώς και τα ανόργανα στοιχεία Ca, Mg, Na, Cu, Fe, Mn, και Zn. Το προφίλ των λιπαρών οξέων περιλαμβάνει κορεσμένα και ακόρεστα σε ίση περίπου αναλογία και η σύσταση των αμινοξέων αποτελείται από αλανίνη, γλυκίνη, λευκίνη, προλίνη και βαλίνη, καθώς και τυροσίνη και φαινυλαλανίνη (Zografakis & Dasenakis, 2002).

Λόγω του ομοίου μεγέθους των σπερμάτων, χρησιμοποιούνταν ως μονάδα βάρους στις ανατολικές χώρες της Μεσογείου. Η λέξη 'καράτι' προέρχεται από την Αραβική ονομασία των σπερμάτων του χαρουπιού (A.F.R.I.S., 2004). Τα σπέρματα κατεργάζονται για την παραγωγή γαλακτομαννάνης, η οποία προέρχεται από το ενδοσπέρμιο του σπόρου, αποτελεί το 1/3 του βάρους και λαμβάνεται από το σπέρμα έπειτα από απομάκρυνση του φλοιού και άλεση. Χρησιμοποιείται ως πρόσθετο τροφίμων, γνωστό ως E410 και έχει ευρεία εφαρμογή στα φαρμακευτικά καλλυντικά, χαρτικά, χημικά κτλ. (Zografakis & Dasenakis, 2002). Το φύτρο σπέρματος χαρουπιού αποτελεί το

παραπροϊόν αυτής της διαδικασίας, έχει υψηλή πρωτεϊνική σύσταση και βιολογική αξία όμοια με αυτή του σογιάλεουρου σε μελέτη που πραγματοποιήθηκε σε ποντίκια (Drouliskos & Malefaki, 1980), ενώ είναι αρκετά πιο οικονομικό από τη σόγια. Η περιεκτικότητα του σε ταννίνες ωστόσο μειώνει την πεπτικότητα των πρωτεϊνών.

Το χαρουπάλευρο έχει προστεθεί μέχρι 10% στα σιτηρέσια των μηρυκαστικών. Στους χοίρους μπορεί να προστεθεί σε επίπεδα μέχρι 20%, ενώ στα πουλερικά μπορεί να προστεθεί έως το 20% με την προσθήκη ελαίων ως πηγή ενέργειας (A.F.R.I.S., 2004). Λιγосτές έρευνες έχουν πραγματοποιηθεί για την προσθήκη φύτρου σπέρματος χαρουπιού (ΦΣΧ) σε ιχθυοτροφές. Προσθήκη ΦΣΧ έως ποσοστού 50% σε σιτηρέσια για την πέστροφα που παρουσίασε μείωση της αύξησης του βάρους οφειλόταν στην παρουσία ταννινών (Alexis et al., 1986).

Πίνακας 1.5. Παγκόσμια παραγωγή χαρουπιού (1997)

Χώρες	Παραγωγή λοβού		Παραγωγή σπόρου	
	τόνους	%	τόνους	%
Ισπανία	135000	43,5	12000	37,5
Ιταλία	45000	14,5	4000	12,5
Πορτογαλία	30000	9,7	3600	11,3
Μαρόκο	26000	8,4	4800	15
Ελλάδα	20000	6,5	1800	5,6
Κύπρος	17000	5,5	1700	5,3
Τουρκία	15000	4,8	1800	5,6

Πηγή: Zografakis & Dasenakis, 2002

1.3. ΜΕΣΟΓΕΙΑΚΑ ΕΙΔΗ ΙΧΘΥΩΝ ΥΔΑΤΟΚΑΛΛΙΕΡΓΕΙΩΝ

1.3.1. Η παραγωγή των υδατοκαλλιεργειών

Η βιομηχανία της υδατοκαλλιέργειας αποτελεί μια από τις πλέον αναπτυσσόμενες βιομηχανίες στον κόσμο με ετήσιο ρυθμό αύξησης της παραγωγής 10%, σε σύγκριση με 1,4% για την αλιεία και 2,8% για προϊόντα αγροτικής προέλευσης (FAO, 2004, Francis et al., 2003). Η συνεισφορά της υδατοκαλλιέργειας στην παγκόσμια παραγωγή ιχθύων για ανθρώπινη κατανάλωση αναμένεται να αυξηθεί από 29% το 1996 στο 38% το 2010 (Francis et al., 2003). Η Ελλάδα, στον τομέα των ιχθυοκαλλιεργειών, παρουσιάζει αλματώδη ανάπτυξη, συγκριτικά με τις χώρες της Ευρωπαϊκής Ένωσης.

Το λαυράκι και η τσιπούρα αποτελούν τα κύρια παράγωγα είδη για την Ελλάδα, καλύπτοντας το 50% περίπου της ολικής παραγωγής ανάμεσα στις χώρες της Μεσογείου.

Ακολουθεί η Τουρκία (20%), η Ιταλία (12%) και η Ισπανία (10%) (FEAP, 2007). Σε μικρότερο ποσοστό παράγονται και άλλα είδη όπως το μυτάκι, το φαγκρί, ο σαργός, η συναγρίδα και το λυθρίνι (Michelakakis & Tzoumas, 1998). Στοιχεία για την παραγωγή τσιπούρας και λαυρακιού στην Ελλάδα για τα έτη 2000-2006 δίνονται στον Πίνακα 1.6.

Πίνακας 1.6. Παραγωγή (σε τόνους) Τσιπούρας και Λαυρακιού στην Ελλάδα, για τα έτη 2000-2006

Είδη	2000	2001	2002	2003	2004	2005	2006
Τσιπούρα	36,000	37,000	42,000	49,000	49,000	44000	49000
Λαυράκι	23,000	24,000	28,000	26,000	27,000	36100	34000

Πηγή: www.aquamedia.org

1.3.2. Τσιπούρα (*Sparus aurata* L.)

Η τσιπούρα (Εικ.1.4) ανήκει στην κλάση των Ακτινοπερυγίων, στην υπερτάξη των Ακανθοπερυγίων, στην τάξη Perciformes, και στην οικογένεια των Sparidae.



Εικόνα 1.4. Τσιπούρα (*Sparus aurata* L.)

Το είδος συναντάται ευρέως στην περιοχή της Μεσογείου και πιο σπάνια στη Μαύρη θάλασσα, ενώ στον Ατλαντικό ωκεανό η γεωγραφική κατανομή του είδους εκτείνεται από τα Βρετανικά νησιά μέχρι το Πράσινο Ακρωτήριο και τα Κανάρια νησιά (Whitehead et al., 1986). Στην Ελλάδα συναντάται κυρίως στο Αιγαίο, από το Πόρτο Λαγός έως τα Δωδεκάνησα καθώς και σε κόλπους όπως στον Θερμαϊκό, Σαρωνικό, Αμβρακικό, Πατραϊκό και Κορινθιακό και στη λιμνοθάλασσα του Μεσολογίου (Parakonstantinou, 1988).

Είναι είδος ευρύαλο και ευρύθερμο με αντοχές σε αλατότητα μεταξύ 4-44‰ και θερμοκρασίες μεταξύ 5-35°C, άριστη μεταξύ 20-22°C (Olesan, 1986). Τα νεαρά άτομα μπορούν να φθάσουν σε βάθη έως 30m και τα ενήλικα έως και 150m.

Η τσιπούρα χαρακτηρίζεται από πρωτανδρικό ερμαφροδιτισμό. Ο πληθυσμός μέχρι το τέλος του 2^{ου} έτους, λειτουργεί σαν ένα σύνολο αρσενικών ατόμων, μετά λαμβάνει χώρα αλλαγή του φύλου και εμφανίζονται θηλυκά άτομα στο τέλος του 2^{ου} και αρχή του 3^{ου} έτους.

Οι διατροφικές του συνήθειες εξαρτώνται από το μέγεθος του (και κατ'επέκταση από την ηλικία του) καθώς και τη διαθεσιμότητα της τροφής (Wassef & Eisawy, 1985). Τα νεαρά άτομα προτιμούν κατά βάση πολυχάιτους, μικρά καρκινοειδή και ιχθύδια ενώ τα μεγαλύτερα δίθυρα μαλάκια, γαστερόποδα, καρκινοειδή και περιστασιακά ιχθύδια τελεόστεων, έντομα και φύκη (New, 1986). Το σύνολο των μορφολογικών και ανατομικών χαρακτηριστικών της τσιπούρας, αλλά κυρίως ο τύπος της οδοντοστοιχίας και η δομή του πεπτικού σωλήνα, αποτελούν ενδείξεις της ευρείας προσαρμοστικότητας του είδους σε διαφορετικά περιβάλλοντα και διατροφικές συνήθειες.

Η ανατομία του γαστρεντερικού σωλήνα της τσιπούρας (Εικ.1.5), ακολουθεί το τυπικό πρότυπο των σαρκοφάγων ιχθύων με καλά διαμορφωμένο στομάχι, σχήματος Υ, εφοδιασμένο με γαστρικούς αδένες. Ο ρόλος του οισοφάγου είναι η ωσφωρύθμιση μειώνοντας τη σκληρότητα του θαλασσινού νερού. Η πυλωρική περιοχή χαρακτηρίζεται από την ύπαρξη τεσσάρων πυλωρικών τυφλών, ενώ το έντερο είναι κοντό με σχετικό μήκος 0,5-0,6 ως προς το συνολικό μήκος του πεπτικού σωλήνα. Τα παγκρεατικά κύτταρα είναι διάχυτα τοποθετημένα σε νησίδια μέσα στο ήπαρ και γύρω από την πυλωρική περιοχή (Cataldi et al., 1987). Κατά μήκος του εντέρου διακρίνονται δύο περισφιξεις, χωρίζοντας το σε τρία ευκρινή τμήματα. Εσωτερικά καλύπτεται από βλεννογόνο που τον συνιστούν επιθηλικά κύτταρα, καθώς και κύτταρα που εκκρίνουν βλέννα (Cataldi et al., 1987).

Η ανάπτυξη του πεπτικού σωλήνα της τσιπούρας διακρίνεται σε 5 κυρίως φάσεις. Στη φάση I (από την εκκόλαψη έως την 1^η ημέρα) ο λεκιθικός σάκος εμφανίζεται μεγάλος και ο πεπτικός σωλήνας αδιαφοροποίητος. Στη φάση II (2-3^η ημέρα), ανοίγει η έδρα και διαφοροποιούνται τρεις περιοχές του πεπτικού σωλήνα, ο οισοφάγος, το στομάχι και το έντερο. Στη φάση III (4-7^η ημέρα), ανοίγει το στόμα, απορροφάται ο λεκιθικός σάκος και το έντερο διαφοροποιείται σε δυο επιμέρους περιοχές. Στη φάση IV ο λεκιθικός σάκος έχει απορροφηθεί και η τροφοληψία είναι εξωγενής.



Εικόνα 1.5. Γαστρεντερικός σωλήνας τσιπούρας

Κατά την τελευταία φάση V διαφοροποιούνται τα τέσσερα πυλωρικά τυφλά και οι γαστρικοί αδένες. Οι γαστρικοί αδένες και τα βλεννώδη κύτταρα εμφανίζονται μετά την 30^η ημέρα (Elbal, 2004, Sarasquete et al., 1995). Η διαφοροποίηση του πεπτικού σωλήνα της τσιπούρας ξεκινά πριν την έναρξη της εξωγενούς σίτησης (Elbal, 2004).

Στην τσιπούρα έχουν καταγραφεί όλα τα κύρια πεπτικά ένζυμα, όπως η αμυλάση (Alarcon et al., 2001, Deguara et al., 2003, Munilla-Morán & Sabonino-Rey, 1996b), η πεψίνη (Alarcón et al., 1998, Deguara et al., 2003), η θρυψίνη (Alarcón et al., 1998, Deguara et al., 2003), η χυμοθρυψίνη (Alarcón et al., 1998, Deguara et al., 2003), η ελαστάση (Psohiou et al., 2007) η καρβοξυπεπτιδάση A (Deguara et al., 2003) και η καρβοξυπεπτιδάση B (Deguara et al., 2003). Οι ενεργότητες των ενζύμων φωσφατάση, θρυψίνη, ΑΤΡάση παρατηρούνται 3-4 ημέρες μετά την εκκόλαψη. Οι αμινοπεπτιδάσες υπάρχουν ήδη στο λεκιθικό σάκο και παρατηρούνται από την 5-6^η ημέρα στον πεπτικό σωλήνα. Οι αλκαλικές πρωτεάσες στην τσιπούρα είναι ενεργές από την 4^η ημέρα και σταδιακά αυξάνονται. Από την ημέρα 40 όπου το στομάχι έχει διαμορφωθεί παρατηρείται χαμηλή ενεργότητα πεψίνης. Ενεργότητα α-αμυλάσης έχει ανιχνευθεί από την 3^η ημέρα (Moyano et al., 1996).

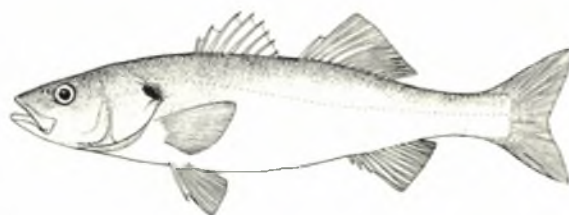
Στο έντερο της τσιπούρας η ιδανική ενεργότητα των πρωτεολυτικών ενζύμων ανιχνεύεται σε υψηλό pH (10,0) (Alarcon et al., 1998). Η θερμοκρασία στον πεπτικό σωλήνα είναι στενά συνδεδεμένη με αυτή που επικρατεί στο περιβάλλον ασκώντας

ισχυρή επίδραση στη διαδικασία της πέψης του ιχθύος. Φαίνεται δε ότι η τσιπούρα πέπτει αποτελεσματικότερα τις πρωτεΐνες σε υψηλή θερμοκρασία περιβάλλοντος απ' ό τι σε χαμηλή. Αλλαγές στη συγκέντρωση της αλατότητας έχουν βρεθεί να μην επηρεάζουν τη δράση των πρωτεασών στο έντερο (Munilla-Moran & Saborido-Rey, 1996a).

Η υδρόλυση των σακχάρων στην τσιπούρα λαμβάνει χώρα κατ' εξοχή στο έντερο, καθώς μέγιστη ενεργότητα αμυλάσης παρατηρήθηκε σε pH 7-8,5 (συνθήκες pH εντέρου) και αποτελεσματική ενεργότητα σε εύρος θερμοκρασιών παρόμοιο με αυτό της φυσιολογικής της δραστηριότητας (Alarcon et al., 2001, Munilla-Moran & Saborido-Rey, 1996a). Βέβαια το ένζυμο παρουσιάζει μέγιστη ενεργότητα σε υψηλότερες θερμοκρασίες (40-45°C) στις οποίες είναι αδύνατο να αντέξουν οι ιχθύες. Η ενεργότητα της αμυλάσης έχει βρεθεί να παρεμποδίζεται σε συνθήκες αυξημένης αλατότητας καθώς και απουσία ιόντων ασβεστίου (Munilla-Moran & Saborido-Rey, 1996b).

1.3.3. Λαυράκι (*Dicentrarchus labrax*)

Το λαβράκι (Εικ.1.6) ανήκει στην κλάση των Ακτινοπετερόγιων, στην υπερτάξη των Ακανθοπετερόγιων, στην τάξη Perciformes και στην οικογένεια των Serranidae. Το είδος παρουσιάζει ευρεία εξάπλωση. Εκτείνεται στον Ατλαντικό ωκεανό από τις ακτές του Μαρόκου έως τη Βαλτική Θάλασσα. Συναντάται σε κάθε περιοχή της Μεσογείου και των γύρω θαλασσών, εισχωρώντας στις εκβολές των ποταμών και στις λιμνοθάλασσες (Χώτος & Ρογδάκης, 1992).



Εικόνα 1.6. Λαυράκι (*Dicentrarchus labrax*)

Είναι κατ'εξοχήν ευρύαλο και ευρύθερμο είδος. Προσαρμόζεται και αναπτύσσεται εύκολα ακόμη και σε σχεδόν γλυκά νερά. Απαντάται σε νερά με αλατότητα από 0,5‰ έως και 37‰ ενώ οι ιδανικές συνθήκες αλατότητας για άριστη ανάπτυξη είναι μεταξύ

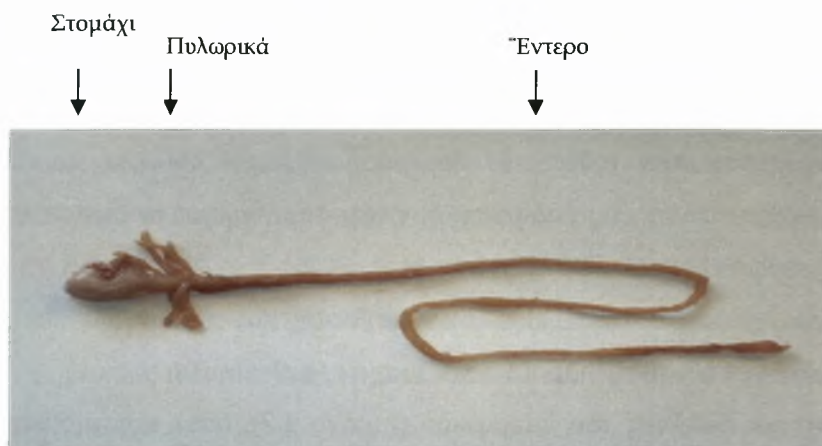
20‰ - 30‰. Η θερμοκρασία στην οποία εκτρέφεται είναι 7-30°C, με άριστες 14-28°C. Όσον αφορά στο είδος του βιότοπου, απαντάται τόσο σε βραχώδεις, όσο και σε αμμώδεις περιοχές ή σε φυκιάδες. Όλα τα στάδια του είδους μπορούν να συναντηθούν σε μικρά βάθη μόλις από 0,10m. Μεγάλα άτομα του είδους αλιεύονται και σε βάθη μέχρι 90m (Χώτος & Ρογδάκης, 1992).

Το λαυράκι είναι είδος γονοχωριστικό. Τα αρσενικά άτομα έχει παρατηρηθεί ότι ωριμάζουν νωρίτερα γεννητικά από τα θηλυκά. Ανήκει στην κατηγορία των σαρκοφάγων και αρπακτικών ιχθύων. Η δομή του πεπτικού σωλήνα, τα είδη των ενζύμων που εκκρίνονται και ο τύπος των δοντιών ερμηνεύουν απόλυτα αυτόν το χαρακτηρισμό (Eshel et al., 1993, Gliffard-Mena et al., 2006). Έχει διαπιστωθεί ότι η βάση της διατροφής του ιχθύος αποτελείται από καρκινοειδή και μικρού μεγέθους ιχθύς, κυρίως αφρόψαρα όπως αθερίνες, σαρδέλες και μικρά κεφαλόπουλα.

Ο γαστρεντερικός σωλήνας του λαυρακιού (Εικόνα 1.7), όπως και της τσιπούρας χαρακτηρίζεται από καλά διαμορφωμένο στομάχι. Στα προνυμφικά στάδια λαυρακιών σε αντίθεση με την τσιπούρα, δεν έχουν βρεθεί θεμέλια και εμβόλιμα κύτταρα που παράγουν πεψινογόνο και οξύ, αντίστοιχα. Αντιθέτως, όλα τα κύτταρα των γαστρικών αδένων συμμετέχουν στην παραγωγή υδροχλωρικού οξέος και κοκκίων ζυμογόνων.

Η ανάπτυξη του πεπτικού σωλήνα του λαυρακιού διακρίνεται σε τέσσερις κυρίως φάσεις (García-Hernández et al., 2001). Στη φάση I (από την εκκόλαψη έως την 6-7^η ημέρα) ο λεκιθικός σάκος εμφανίζεται μεγάλος και ο πεπτικός σωλήνας αρχικά αδιαφοροποίητος. Την 2^η ημέρα αρχίζει να αναπτύσσεται το στομάχι (Gliffard-Mena, 2006). Στο τέλος της φάσης αυτής ανοίγει η έδρα και το στόμα. Παράλληλα με το άνοιγμα του στόματος διαφοροποιούνται δύο περιοχές στο έντερο όπως έχει παρατηρηθεί και στην τσιπούρα (Elbal, 2004). Στη φάση II (6-7 έως 13-15^η ημέρα) απορροφάται ο λεκιθικός σάκος και διακρίνονται ο οισοφάγος, η γαστρική περιοχή, το έντερο και το οπίσθιο τμήμα (García-Hernández et al., 2001, Gliffard-Mena et al., 2006). Η απορρόφηση του λεκιθικού σάκου γίνεται σταδιακά όπως και στην τσιπούρα (Elbal, 2004, García-Hernández et al., 2001). Στη φάση III (13-15^η – 55^η ημέρα) εμφανίζονται 2 ή 3 πυλωρικά τυφλά. Η διαφοροποίηση του εντέρου ολοκληρώνεται με την εμφάνιση των εντερικών αναδιπλώσεων και των κυπελλοειδών κυττάρων και τα πρώτα πυλωρικά τυφλά. Στη φάση αυτή η εμφάνιση ουδέτερων βλενωδών εκκρίσεων στον πεπτικό

σωλήνα συσχετίζονται με την απορρόφηση ουσιών όπως δισακχαρίτες και χαμηλού μοριακού βάρους λιπαρών οξέων. Τέλος, στη φάση IV (55^η ημέρα-) ολοκληρώνεται ο σχηματισμός του εντέρου με την οριστική διαφοροποίηση του στομάχου και τον σχηματισμό δύο εντερικών περισφιξεων.



Εικόνα 1.7. Γαστρεντερικός σωλήνας λαυρακιού

Στην ένωση του στομάχου με το έντερο, το επιθήλιο είναι πιο παχύ σχηματίζοντας αναδιπλώσεις που διαιρούν τον αυλό (García-Hernández et al., 2001). Το κυρίως έντερο του λαυρακιού χωρίζεται από το οπίσθιο με μια βαλβίδα, η οποία σχηματίζεται από συνδετικό ιστό καλυμμένο με κυλινδρικό επιθήλιο. Τα τέσσερα ή πέντε πυλωρικά τυφλά αυξάνονται σε διάμετρο. Στις νύμφες η ανάπτυξη των πυλωρικών τυφλών αποτελεί προσαρμογή στην επιφανειακή αύξηση του εντέρου και δεν έχει κανέναν ειδικό ρόλο στην πέψη (García-Hernández et al., 2001). Ο οισοφάγος συμμετέχει στην ωσμωρύθμιση. Η διαφοροποίηση του στομάχου και των πυλωρικών τυφλών λαμβάνει χώρα κατά τη μεταμόρφωση και τη μετάβαση από λεκιθοφόρο ιχθύδιο σε ιχθύδιο (García-Hernández et al., 2001). Κατά τη μετάβαση αυτή παρατηρείται αύξηση της ωσμωρυθμιστικής ικανότητας (Gliffard-Mena et al., 2006). Από την 72^η ημέρα εμφανίζονται οι γαστρικοί αδένες, οι οποίοι αυξάνονται σε μέγεθος. Στο λαυράκι τα πρώτα πυλωρικά τυφλά υπάρχουν πριν από την εμφάνιση των γαστρικών αδένων, ενώ στην τσιπούρα η διαφοροποίηση των γαστρικών αδένων γίνεται παράλληλα με τη ανάπτυξη των πυλωρικών τυφλών (Elbal, 2004; Garcia-Hernandez et al., 2001).

Τα πρωτεολυτικά ένζυμα που έχουν βρεθεί στο λαυράκι είναι: θρυψίνη, χυμοθρυψίνη, κολλαγενάση, αμινοπεπτιδάση, ελαστάση, καρβοξυπεπτιδάση-A, -B

(Alliot et al., 1974). Το εύρος των ενεργιοτήτων των παραπάνω ενζύμων αποτελεί απόδειξη της ικανότητας του λαυρακού να πέψει ποικιλία τροφών. Από τα παραπάνω ένζυμα η θρυψίνη παίζει τον μέγιστο ρόλο και η αμινοπεπτιδάση μη σημαντικό.

Τα ένζυμα θρυψίνη, α-αμυλάση, αλκαλική φωσφατάση και λευκίνη-αμινοπεπτιδάση εμφανίζονται από την 4^η ημέρα με σημαντική αύξηση της ενεργότητας τους ως την 6^η ημέρα οπότε και ανοίγει το στόμα των προνυμφών λαυρακιού (Zambonino Infante & Cahu, 1994). Μετά την 10^η ημέρα η ενεργότητα των ενζύμων σταθεροποιείται, εκτός από τη θρυψίνη όπου παρατηρείται αύξηση, έως την 23^η ημέρα. Στη συνέχεια τα επίπεδα μειώνονται και παραμένουν σταθερά έως την 40^η ημέρα όπου θα ξεκινήσει το στάδιο της μεταμόρφωσης σε ιχθύδια. Επίσης, από την 15^η ημέρα είναι δυνατή η ανίχνευση της λιπάσης και της φωσφολιπάσης (Cahu & Zambonino Infante, 1994). Την 30^η ημέρα υψηλότερη ενεργότητα θρυψίνης παρατηρείται στην τσιπούρα από το λαυράκι.

Βέλτιστη πρωτεολυτική ενεργότητα στο λαυράκι έχει βρεθεί σε pH 9-10. Στην αλκαλική αυτή περιοχή μέγιστη ενεργότητα έχει παρατηρηθεί στα πυλωρικά τυφλά σε σχέση με τα τμήματα του εντέρου. Από το προφίλ του pH του στομάχου υπάρχουν δύο μέγιστα ένα σε pH 2,85 και ένα στο 3,45. Το μεγάλο εύρος του pH στο στομάχι εξηγείται από την παρουσία ορισμένων πρωτεασών και μη πρωεολυτικών ενζύμων όπως αμυλάση, λιπάση, εστεράση, τα οποία μοιράζονται ένα βέλτιστο pH περίπου στο 5,3 (Eshel et al., 2003).

Στην πρώτη φάση της ζωής τους έως 6-7 ημερών, έχει παρατηρηθεί πέψη λιπών στα κύτταρα του πεπτικού σωλήνα. Τα επιθηλιακά κύτταρα του εντέρου φαίνονται ικανά να συνθέτουν και να μεταφέρουν λιποπρωτεΐνες πριν την εξωγενή τροφοληψία όπως έχει βρεθεί και στην τσιπούρα (Calzada et al., 1998). Στους περισσότερους τελεόστεους, όπως στο λαυράκι και στην τσιπούρα, το πρώτο τμήμα του εντέρου συμμετέχει στην απορρόφηση των λιπών με καθυστέρηση στην τσιπούρα (από την 15^η ημέρα) (Kolkovski, 2004). Στα επιθηλιακά κύτταρα του εντέρου δεν έχει παρατηρηθεί απορρόφηση πρωτεϊνών πριν την εξωγενή σίτηση, το οποίο συμφωνεί με την άποψη ότι τα λιπίδια είναι απαραίτητη πηγή ενέργειας στην αρχή της ανάπτυξης των ιχθυδίων λαυρακιού (García-Hernández et al., 2001). Η πέψη και απορρόφηση των πρωτεϊνών, μέσω πνοκύτωσης, παρατηρείται κυρίως μετά την απορρόφηση του λεκιθικού σάκου (μετά τη

10^η ημέρα) στο δεύτερο τμήμα του εντέρου (García-Hernández et al., 2001, Zambonino Infante & Cahu, 1994). Η δράση της πεψίνης και θρυψίνης-χυμοθρυψίνης εμφανίζονται στο μέσο και οπίσθιο τμήμα του εντέρου (García-Hernández et al., 2001).

1.3.4. Φυσιολογία πέψης ιχθύων

Η διαδικασία της πέψης αποτελεί ένα συντονισμένο συνδυασμό φυσικών, χημικών και ενζυμικών δραστηριοτήτων και ξεκινά όταν η τροφή εισέρχεται στη στοματική κοιλότητα και λήγει μόλις τα περιττώματα απεκκρίνονται από την έδρα, στο οπίσθιο τμήμα του εντέρου (Rust, 2002).

Τα όργανα στα οποία πραγματοποιείται η πέψη είναι ο οισοφάγος, το στομάχι (στα είδη που διαθέτουν), στα πυλωρικά τυφλά, το πρόσθιο και οπίσθιο έντερο. Υποστηρικτικά λειτουργούν το πάγκρεας, η χολή και το ήπαρ. Η διαδικασία διάσπασης της τροφής ξεκινά από το στομάχι όπου εκκρίνεται γαστρικό υγρό. Στα είδη των ιχθύων που διαθέτουν στομάχι, όπως η τσιπούρα και το λαυράκι, αρχικά λαμβάνει χώρα η όξινη φάση της πέψης, κατά την οποία εκκρίνεται πεψινογόνο και υδροχλωρικό οξύ από τα κύτταρα του στομάχου, ενώ ο έλεγχος των εκκρίσεων είναι νευρολογικής και ορμονικής φύσης. Η πέψη υποβοηθάται από τις περισταλτικές κινήσεις των τοιχωμάτων του στομάχου, ενώ ολοκληρώνεται στην περιοχή των πυλωρικών τυφλών και του εντέρου κυρίως μέσω της ενζυμικής διαδικασίας (Rust, 2002). Στον Πίνακα 1.7., παρουσιάζονται τα ένζυμα που έχουν καταγραφεί στους τελεόστεους, τα όργανα παραγωγής καθώς και η δράση τους (de Silva & Anderson, 1995). Αποτελούνται από τις πρωτεάσες ικανές να υδρολύσουν τις πρωτεΐνες σε μικρότερα πεπτιδία και ελεύθερα αμινοξέα, τις καρβοϋδράσες ικανές να υδρολύουν τους υδατάνθρακες σε απλούστερα σάκχαρα και μονοσακχαρίτες και τις λιπάσες που υδρολύουν τις τριακυλογλυκερόλες σε γλυκερόλη και λιπαρά οξέα.

Μετά το στομάχι το όξινο περιεχόμενο περνά μέσω του πυλωρικού σφικτήρα, ο ρόλος του οποίου είναι να ρυθμίζει το ρυθμό γαστρικής εκκένωσης, στον πυλωρό. Εκκρίσεις από το πάγκρεας και τη χολή εισέρχονται στον εντερικό σωλήνα μετά τον πυλωρό. Το πάγκρεας είναι είτε ένα διακριτό όργανο είτε τα κύτταρα του διαχέονται στο ήπαρ, τη χολή, στα πυλωρικά τυφλά ή στο έντερο. Τα παγκρεατικά κύτταρα παράγουν πεπτικά ένζυμα και δικαρβονικά ιόντα τα οποία σε συνεργασία με τα χολικά

υγρά, δρουν προς εξουδετέρωση των οξέων που προέρχονται από το στομάχι (Karoor et al., 1975, Rust, 2002). Τα χολικά άλατα όπως, ταυροχολίνη, ταυροχενοδοεοξυχολίνη, χολικό οξύ και αλλοχολικά οξέα, εκκρίνονται στον εντερικό σωλήνα όταν εισέρχεται η τροφή στο έντερο από το στομάχι και βοηθούν στην αποικοδόμηση των λιπιδίων σε χυλομικρά ώστε να απορροφηθούν από τα κύτταρα του εντέρου (Rust, 2002).

Με τον τρόπο αυτό αυξάνεται το pH του εντέρου από 2-3 στο στομάχι σε 7-8 και δρουν τα πεπτικά ένζυμα που έχουν υψηλή ενεργότητα στην ουδέτερη περιοχή του pH. Η εξουδετέρωση του pH προστατεύει τις λάχνες των επιθηλιακών κυττάρων από το υδροχλωρικό οξύ (Rust, 2002).

Μετά τον πυλωρό, στην άκρη του εντέρου βρίσκονται μικρά πυλωρικά τυφλά, στη βάση των οποίων απελευθερώνονται οι εκκρίσεις του ηπατικού και παγκρεατικού αγωγού (Cataldi et al., 1987). Ο αριθμός και το μέγεθος διαφέρει μεταξύ των ειδών (Karoor et al., 1975, Rust, 2002). Οι κυριότεροι ρόλοι των πυλωρικών τυφλών, που έχουν αναφερθεί είναι: i) η αποθήκευση της τροφής, μέχρι την εξουδετέρωση μέσω των παγκρεατικών εκκρίσεων του προερχόμενου από τη στομαχική πέψη όξινου pH, ii) η πέψη θρεπτικών συστατικών, λειτουργώντας συμπληρωματικά με αυτή του στομάχου, iii) η απορρόφηση των θρεπτικών συστατικών, iv) συμμετοχή στη διαδικασία της ωσμωρύθμισης, v) αύξηση ή συμπλήρωση της λειτουργίας του πεπτικού σωλήνα καθώς και vi) αύξηση της επιφάνειας του εντέρου (Alarcón et al., 1998, Karoor et al., 1975).

Το μεγαλύτερο μέρος της ενζυμικής πέψης πραγματοποιείται καθώς η τροφή περνά από τα πυλωρικά τυφλά και κατά μήκος του εντέρου. Ο ρόλος του εντέρου των τελεόστεων είναι η πέψη, η απορρόφηση των θρεπτικών συστατικών, η έκκριση ορμονών, ανοσοπροστασία και μεταφορά νερού και αλάτων για διατήρηση της ομοιόστασης νερού και αλάτων (ή οξεοβασική ισορροπία). Η δομή του ποικίλει ανάλογα με τη φύση της τροφής (Gliffard-Mena et al., 2006). Οι σαρκοφάγοι ιχθύες χαρακτηρίζονται από μικρότερο μήκος εντέρου (20%) σε σχέση με το σωματικό τους μήκος συγκριτικά με τα φυτοφάγα, των οποίων το μεγαλύτερο μήκος (20/σιο του σωματικού τους μήκους), απαραίτητο για την καλύτερη αξιοποίηση των φυτικών τροφών που καταναλώνουν (Gliffard-Mena et al., 2006, Hidalgo et al., 1999, Karoor et al., 1975).

Το επιθήλιο του εντέρου παίζει ρόλο εκτός από την απορρόφηση των θρεπτικών συστατικών αλλά και σε λειτουργίες ωσμωρύθμισης (Rust, 2002). Το έντερο των ιχθύων βρίσκεται ακόμη στο εξελικτικό στάδιο όπου στα επιμέρους τμήματα του εκφράζονται όλα τα κύρια πεπτικά ένζυμα και δεν εμφανίζουν κάποια εξειδίκευση όπως αυτή συναντάται στα ανώτερα θηλαστικά (Chakrabarti et al., 1995, Deguara et al., 2003). Η παραπάνω έλλειψη συγκεκριμένης ζώνωσης είναι πιθανό να απορρέει από την προσαρμοστικότητα των ιχθύων σε μια μεγάλη ποικιλία τροφών που καταναλώνουν στο φυσικό τους περιβάλλον, επιτρέποντας έτσι την αποτελεσματικότερη αξιοποίηση των διατιθέμενων διατροφικών πηγών (Chakrabarti et al., 1995, Deguara et al., 2003). Η μεταφορά των θρεπτικών συστατικών από τον εντερικό αυλό στα κύτταρα του εντέρου πραγματοποιείται μέσω: πνοκώτωσης, διάχυσης, ιοντοανταλλαγής (στην περίπτωση ορισμένων μετάλλων) ή ενεργητικής μεταφοράς (Rust, 2002).

Στους περισσότερους τελεόστεους το πρώτο τμήμα του εντέρου έχει βρεθεί να παίζει ρόλο στην απορρόφηση των λιπών. Η παρουσία λιπάσης και εστεράσης στο πεπτικό σύστημα των σαρκοφάγων ιχθύων δικαιολογείται, καθώς οι ιχθύες καταναλώνουν τροφές πλούσιες σε λιπαρά (εστέρες κηρών και τρυγλυκερίδια) (Chakrabarti et al., 1995; Perez-Casanova et al., 2004). Τα διαιτητικά λιπίδια χρησιμοποιούνται ως πηγές ενέργειας, καθώς η διαθεσιμότητα των υδατανθράκων στο φυσικό τους περιβάλλον είναι πολύ χαμηλή. Στο πρώτο τμήμα του εντέρου έχουν βρεθεί λιπίδια, τα οποία πιθανώς είναι αποτέλεσμα εξωκυτταρικής πέψης λιπών. Η πέψη των πρωτεϊνών γίνεται στα αρχικά στάδια μέσω πνοκώτωσης. Βασίζεται αρχικά στις αλκαλικές πρωτεάσες (Moyano et al., 1996, Yufera et al., 2004). Στα προνυμφικά στάδια των ιχθύων είναι συχνή η απορρόφηση από το εντερικό επιθήλιο άθικτων πρωτεϊνικών μορίων, προκειμένου να αντισταθμιστεί η μειωμένη πρωτεολυτική δραστηριότητα εξαιτίας της απουσίας πεψίνης (Elbal, 2004). Η ανάπτυξη της γαστρικής λειτουργίας αντιπροσωπεύει την αλλαγή στον μηχανισμό της πέψης των πρωτεϊνών και την ενεργοποίηση της πεψίνης (Sarasquete et al., 1995).

Η κατανομή και η ένταση της δράσης των πεπτικών ενζύμων στο έντερο ποικίλει με τις διατροφικές συνθήκες και τη μορφολογία του εντέρου (Lunstedt et al., 2004). Έχει αναφερθεί ότι το χαρακτηριστικό των σαρκοφάγων ιχθύων στην ενζυμική σύνθεση είναι η υψηλότερη ενεργότητα θρυψίνης από χυμοθρυψίνη (Eshel et al., 1993), υψηλότερη

αμύλαση στα φυτοφάγα και στα παμφάγα σε σχέση με τα σαρκοφάγα (Hidalgo et al., 1999, Hofer et al., 82, Munilla-Moran et al., 1996) και υψηλότερη ενεργότητα λιπάσης στα σαρκοφάγα (Chakrabarti, et al., 1995; Oruzynski et al., 1995; Tengejaroenku et al., 2000).

Η πέψη είναι εξωκυτταρική λειτουργία και πραγματοποιείται στον αυλό του εντερικού σωλήνα, καθώς και στην μεμβράνη του εντέρου, καθότι στην επιφάνειά των μικρολαχνών του εντερικού σωλήνα βρίσκονται ακινητοποιημένα ένζυμα, όπως μαλτάση, σουκράση, γ-γλυταμυλτρανσφεράση και λευκίνη-αμινοπεπτιδάση (Harraz, 2005). Γνωρίζοντας τη λειτουργία των ενζύμων στον εντερικό αυλό και στις μικρολάχνες του εντερικού σωλήνα μπορεί να εξηγηθεί η πεπτικότητα των θρεπτικών συστατικών, καθώς και να προβλεφθεί η ικανότητα ενός είδους να χρησιμοποιεί τα διάφορα θρεπτικά συστατικά (Furue et al., 2005). Αλλαγή του τύπου, πηγής ή ποσότητας των θρεπτικών στα σιτηρέσια δύναται να μεταβάλλει τη συγκέντρωση των πεπτικών ενζύμων, επηρεάζοντας τελικά την πέψη και απορρόφηση των θρεπτικών συστατικών. Επομένως, απαιτείται να προσδιορισθούν οι επιδράσεις των διαφόρων σιτηρεσίων στην πεπτικότητα των θρεπτικών συστατικών, η οποία αποτελεί πρώτο δείκτη στην εκτίμηση της θρεπτικής αξίας των σιτηρεσίων και του επιπέδου ανεκτικότητας από τους ιχθύς. Επιπλέον, η γνώση της επίδρασης των σιτηρεσίων στην ενεργότητα των ενζύμων θα προσφέρει σημαντικές πληροφορίες στη βιομηχανία ιχθυοτροφών ώστε ο σχεδιασμός των σιτηρεσίων να επιτρέπει την καλύτερη αξιοποίηση των θρεπτικών συστατικών από τα πεπτικά ένζυμα (Deguara et al., 2003).

1.4. Πεπτικότητα σιτηρεσίων/ιχθυοτροφών

Ο όρος πεπτικότητα χρησιμοποιείται για τον προσδιορισμό του ποσοστού απορρόφησης των θρεπτικών συστατικών στον οργανισμό και ορίζεται ως το ποσοστό των θρεπτικών συστατικών της τροφής που δεν αποβάλλονται με τα περιττώματα. Η πεπτικότητα των πρωτεϊνών και των λιπών στα περισσότερα είδη ιχθύων είναι υψηλή. Διαφορές κυρίως παρατηρούνται όσον αφορά στην πηγή των υδατανθράκων (Oliva-Teles, 2000). Η πεπτικότητα των υδατανθράκων επηρεάζεται από i) τη δομή του μορίου, ii) τη συγκέντρωση στο σιτηρέσιο, iii) την προσλαμβανόμενη ποσότητα και iv) τις μεθόδους επεξεργασίας (Oliva-Teles, 2000). Χαμηλές τιμές πεπτικότητας υδατανθράκων έχουν αναφερθεί σε ιχθύς που διεδράφησαν με σιτηρέσια που περιείχαν ακατέργαστο

άμυλο σπερμάτων ψυχανθών. Αυτό οφείλεται στο γεγονός ότι το μόριο του αμύλου των σπερμάτων ψυχανθών διαφέρει από το άμυλο των δημητριακών διότι αποτελείται από μεγαλύτερη αναλογία αμυλόζης/αμυλοπηκτινής και διαφορετικές φυσικές ιδιότητες όπως διαφορετική κρυσταλλική δομή (Fredriksson et al., 1998; Stone et al., 2003). Τα χαρακτηριστικά αυτά δεν επιτρέπουν την υδρόλυση του μορίου από την αμυλάση, καθώς το ένζυμο προσροφάται από το μόριο του αμύλου (Huang et al., 2007, McCallum, 2004). Η πεπτικότητα των υδατανθράκων βελτιώνεται με θερμικές επεξεργασίες όπως την εξώθηση καθώς προκαλούνται αλλαγές στους κόκκους του αμύλου. Το άμυλο ζελατινοποιείται, διογκώνεται δηλαδή καθώς μόρια νερού δεσμεύονται με δεσμούς υδρογόνου με τα μόρια του. Ως αποτέλεσμα διευκολύνεται η δράση της α-αμυλάσης που υπάρχει στο έντερο των ιχθύων και αυξάνεται η πεπτικότητα του αμύλου (Pongmaneerat & Watanabe, 1993).

Η διαδικασία της πέψης, όπως και κάθε μεταβολική διαδικασία, επηρεάζεται από πληθώρα βιολογικών και περιβαλλοντικών παραγόντων. Ιδιαίτερη σημασία μεταξύ των περιβαλλοντικών παραμέτρων έχει δοθεί στην επίδραση της θερμοκρασίας (Fange & Grove, 1979). Άλλοι παράγοντες είναι το επίπεδο διατροφής, η ποσότητα της καταναλωθείσας τροφής (Fernandez et al., 1998, Henkel et al., 1985), το μέγεθος του ιχθύος (Fange & Grove, 1979), αλλά και το είδος του δείκτη που χρησιμοποιείται (Tacon & Rodrigues, 1984). Επιπλέον, το επίπεδο των θρεπτικών συστατικών (πρωτεϊνών, λιπών και υδατανθράκων) των πρώτων υλών (Bergot & Breque, 1983), και η πηγή προέλευσης τους (φυτικά, ζωικά) (Smith, 1979) επηρεάζουν σημαντικά την πεπτικότητα.

Η επίδραση των αντιθρεπτικών παραγόντων των φυτικών πρώτων υλών στην πεπτικότητα έχει αποδειχθεί ότι μειώνεται με επεξεργασία της πρώτης ύλης ή του σιτηρεσίου. Εφαρμόζονται μηχανικές ή θερμικές επεξεργασίες με σκοπό την μερική έως ολική απομάκρυνση ή απενεργοποίηση τους, αντίστοιχα. Τέτοιου είδους επεξεργασίες αποτελούν η αποφλοιώση (Booth et al., 2001), η εξώθηση (Allan & Booth, 2004), εμβάπτιση σε νερό για ορισμένο χρόνο (Abd El-Hady & Habiba, 2003), η υγρή ή θερμική επεξεργασία (El-Adawy, 2002) και η εφαρμογή υπέρυθρης ακτινοβολίας (El-Neily, 2007). Η εφαρμογή θερμικών τεχνικών όπως η εξώθηση, έχει ως αποτέλεσμα την απενεργοποίηση των θερμικά ευαίσθητων αντιθρεπτικών συστατικών όπως των αναστολέων θρυψίνης, βελτιώνοντας την πεπτικότητα των πρωτεϊνών στους ιχθύς

(Αλέξη & Νέγκας, 2001, Allan & Booth, 2004, Engin & Carter, 2005). Η εξώθηση χρησιμοποιείται ευρύτατα στις βιομηχανίες παραγωγής τροφών και είναι ενεργειακά περισσότερο αποδοτική σε σχέση με άλλες θερμικές μεθόδους επεξεργασίας. Προσοχή πρέπει να δίνεται ωστόσο λόγω των υψηλών θερμοκρασιών, ώστε να αποφευχθεί η καταστροφή ευαίσθητων θρεπτικών συστατικών όπως, τα ανόργανα συστατικά, οι βιταμίνες και τα αμινοξέα, μειώνοντας τη διαθεσιμότητά τους στους οργανισμούς (Rogmaneerat & Watanabe, 1992, 1993).

Ο χρόνος εκκένωσης του πεπτικού σωλήνα είναι επίσης σημαντικός παράγοντας που πρέπει να μελετάται επειδή καθορίζει την ανώτατη ποσότητα τροφής που καταναλώνεται και διατίθεται στον οργανισμό (Χατζηφώτης, 1999). Επιπλέον, ο χρόνος παραμονής της τροφής στον πεπτικό σωλήνα καθορίζει τη βιοδιαθεσιμότητα των θρεπτικών συστατικών στους ιχθύς και τελικά την αξιοποίηση της τροφής. Εξαρτάται από την ποσότητα και ποιότητα της τροφής, το ρυθμό εκκένωσης του γαστρικού υγρού, την κινητικότητα του γαστρικού τμήματος και την ικανότητα του εντέρου να δέχεται γαστικό υγρό. Επίσης, επηρεάζεται από τη θερμοκρασία μέσω επιμέρους διαδικασιών που εξαρτώνται από αυτήν και είναι i) ο ρυθμός παροχής τροφής, ii) ο ρυθμός έκκρισης και η ενεργότητα των πεπτικών ενζύμων καθώς και iii) ο ρυθμός εντερικής απορρόφησης (Karoor, et al., 1975).

Το κάθε είδος ιχθύς ακόμα και συγγενικά είδη, ανταποκρίνονται διαφορετικά στην προσθήκη φυτικών υλών στα σιτηρέσια (Αλέξη & Νέγκας, 2001, Refstie, 2000). Επομένως, απαιτείται η θρεπτική αξία ενός συστατικού να εκτιμάται για κάθε μελετούμενο είδος και τα αποτελέσματα μιας μελέτης να μην αποτελούν γενίκευση.

Πίνακας 1.7. Γενικά χαρακτηριστικά των κυριότερων πεπτικών ενζύμων στους ιχθύς

	Περιοχή σύνθεσης	Περιοχή δράσης	Βέλτιστο pH	Υπόστρωμα	Τελικό προϊόν
Πεψίνη	στομάχι	στομάχι	όξινο	πρωτεΐνες	πεπτίδια
Θρουψίνη	πάγκρεας	Εντερικό περιεχόμενο και πλωρικά τυφλά	ουδέτερο	πρωτεΐνες/ πεπτίδια	πεπτίδια
Χυμοθρουψίνη	πάγκρεας	Εντερικό περιεχόμενο και πλωρικά τυφλά	ουδέτερο	πρωτεΐνες/ πεπτίδια	πεπτίδια
Αμινοπεπτιδάση	Στομάχι, πάγκρεας και έντερο	Στομάχι, περιεχόμενο και λάχνες εντέρου και πλωρικά τυφλά	Όξινο ή ουδέτερο	πρωτεΐνες/ πεπτίδια	Πεπτίδια και αμινοξέα
Καρβοξυπεπτιδάση	Πάγκρεας και έντερο	περιεχόμενο και λάχνες εντέρου και πλωρικά τυφλά	ουδέτερο	πρωτεΐνες/ πεπτίδια	Πεπτίδια και αμινοξέα
Μη παγκρεατική λιπάση	Γαστρικούς αδένες στομάχου	στομάχι	όξινο	Τριακυλο- γλυκερόλη	Μονογλυκερίδια/ λιπαρά οξέα
Παγκρεατική λιπάση	πάγκρεας	Εντερικό περιεχόμενο και πλωρικά τυφλά	ουδέτερο	Τριακυλο- γλυκερόλη	Μονογλυκερίδια/ λιπαρά οξέα
Φωσφολιπάση	πάγκρεας	Εντερικό περιεχόμενο και πλωρικά τυφλά	ουδέτερο	φωσφολιπίδια	Λιπαρά οξέα
Αμυλάση	πάγκρεας	έντερο	ουδέτερο	άμυλο	Ολιγοσακχαρίτες και σάκχαρα
Κυταρρινάση	εντερική χλωρίδα	έντερο	ουδέτερο	κυταρίνη	γλυκόζη
Χιτινάση	πάγκρεας εντερική χλωρίδα	Στομάχι, έντερο και πλωρικά τυφλά	Όξινο ή ουδέτερο	χιτίνη (N-ακετυλ- γλυκοσαμίνη)	Πολυσακχαρίτες μικρότερου M.B. και σάκχαρα

(Πηγή: Rust, 2002)

1.5. Ερευνητικοί στόχοι της παρούσας εργασίας

Ο σκοπός της παρούσας έρευνας ήταν:

- Η εκτίμηση της επίδρασης διαφόρων τύπων επεξεργασίας στη μείωση των επιπέδων των αντιθρεπτικών παραγόντων των υπό μελέτη σπερμάτων ψυχανθών και περαιτέρω μελέτη της επίδρασής τους στην πέψη των θρεπτικών συστατικών στην τσιπούρα *in vivo*.
- Ο προσδιορισμός της επίδρασης εμπορικών και πειραματικών σιτηρεσίων που περιέχουν σπέρματα ψυχανθών στη φυσιολογία πέψης του λαυρακιού.
- Η μελέτη της σύστασης ποικιλιών μπιζελιού και ρεβυθιού με σκοπό την επιλογή ποικιλιών με υψηλότερο πρωτεϊνικό περιεχόμενο από αυτών που ήδη παράγονται παραδοσιακά ως συστατικά ζωοτροφών. Επιπλέον, μελετήθηκε η περιεκτικότητά τους και σε άλλα θρεπτικά και αντιθρεπτικά συστατικά σε τρεις περιοχές καλλιέργειας για δύο συναπτά έτη παραγωγής, ώστε να βρεθεί αν η περιεκτικότητά τους επηρεάζεται από το χρόνο.
- Η εκτίμηση της επίδρασης της προσθήκης φύτρου σπέρματος χαρουπιού σε σιτηρέσια για την τσιπούρα και το λαυράκι στην πεπτικότητα των θρεπτικών συστατικών, καθώς και σε χαρακτηριστικά πέψης. Επιπλέον, τα δύο είδη, λαυράκι και τσιπούρα, συγκρίνονται ως προς την ανταπόκρισή τους σε διαφορετικά σιτηρέσια.

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2

2. ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ

2.1. ΣΧΕΔΙΑΣΜΟΣ ΠΕΙΡΑΜΑΤΩΝ

2.1.1. Προσθήκη σπερμάτων ψυχανθών και φύτρου σπέρματος χαρουπιού σε ιχθυοτροφές και μελέτη της επίδρασης τους στην πεπτικότητα των θρεπτικών συστατικών στην τσιπούρα και στο λαυράκι

Η διατροφική αξία ενός σιτηρεσίου που περιέχει την υπό εξέταση φυτική πρώτη ύλη αξιολογήθηκε σε πρώτη φάση με δοκιμές πεπτικότητας, ώστε να προσδιορισθεί η ικανότητα πέψης και απορρόφησης των θρεπτικών συστατικών του σιτηρεσίου από τα δύο πλέον εμπορικά είδη ιχθύων. Έτσι, πραγματοποιήθηκαν πειράματα πεπτικότητας σε τσιπούρα και λαυράκι με την προσθήκη επεξεργασμένων ή μη φυτικών πρώτων υλών. Η εφαρμογή διαφόρων τύπων επεξεργασίας στα σπέρματα ψυχανθών πραγματοποιήθηκε με σκοπό την αύξηση της περιεκτικότητάς τους σε θρεπτικά συστατικά με ταυτόχρονη μείωση της ποσότητας των αντιθρεπτικών παραγόντων που περιέχουν.

Αρχικά εξετάστηκε η επίδραση της αποφλοιώσης και της εξώθησης στην περιεκτικότητα των θρεπτικών και αντιθρεπτικών συστατικών των σπερμάτων ψυχανθών. Η εξώθηση των πρώτων υλών στο πείραμα αυτό δοκιμάστηκε σε πειραματικό εξωθητή αντί του βιομηχανικού διότι απαιτείται μια πρώτη γνώση της συμπεριφοράς των υλικών κατά την εξώθηση πριν τη χρήση του βιομηχανικού εξωθητή. Στη συνέχεια, παρασκευάστηκαν στο εργαστήριο, πειραματικά σιτηρέσια που περιείχαν τα κατεργασμένα και μη σπέρματα ψυχανθών και μελετήθηκε η επίδρασή τους στην πεπτικότητα των πρωτεϊνών, των λιπών και του αμύλου στην τσιπούρα.

Στο επόμενο πείραμα πεπτικότητας πραγματοποιήθηκε μελέτη πεπτικότητας σε λαυράκια με πειραματικά σιτηρέσια που περιείχαν μπιζέλι και ρεβύθι σε ποσοστό 30% και επεξεργάστηκαν με εξώθηση σε μικρού μεγέθους εξωθητή (της εταιρείας 'BIOMAR', Δανία) με συνθήκες παραπλήσιες με αυτές που χρησιμοποιούνται στη βιομηχανία παρασκευής ιχθυοτροφών. Επίσης, στο πείραμα αυτό συμπεριλήφθησαν εμπορικά σιτηρέσια που περιείχαν σπέρματα ψυχανθών σε ποσοστό 15 και 20% αλλά και ηλιάλευρο σε ποσοστό 15%, με σκοπό τη μελέτη πιθανών αλληλεπιδράσεων στην πεπτικότητα των θρεπτικών συστατικών.

Τέλος, αξιολογήθηκε η διατροφική αξία των σιτηρεσιών που περιείχαν φύτρο σπέρματος χαρουπιού (ΦΣΧ) με διεξαγωγή πειράματος πεπτικότητας και για τα δύο Μεσογειακά είδη ιχθύων. Η δυνατότητα χρήσης του φύτρου σπέρματος χαρουπιού σε ιχθυοτροφές έχει ενδιαφέρον, καθώς το επίπεδο της πρωτεΐνης του είναι υψηλότερο από αυτό του μπιζελιού και ρεβυθιού και διατίθεται σε χαμηλότερη τιμή από το ιχθυάλευρο και το σογιάλευρο. Επίσης, συγκρίνονται και τα δύο είδη, λαυράκι και τσιπούρα για πιθανές διαφοροποιήσεις στην πεπτικότητα των θρεπτικών συστατικών.

Επιπρόσθετη γνώση αποκτήθηκε με μελέτη της επίδρασής τους στη φυσιολογία και βιοχημεία πέψης των Μεσογειακών ειδών ιχθύων.

2.1.2. Μελέτη της επίδρασης της χρήσης σιτηρεσιών που περιέχουν σπέρματα ψυχανθών στα χαρακτηριστικά πέψης και στην ενζυμική ενεργότητα στο λαυράκι

Στα πλαίσια του πειράματος μελετήθηκε η επίδραση της προσθήκης μπιζελιού και ρεβυθιού σε ποσοστό 30% στα χαρακτηριστικά πέψης του λαυρακιού. Επίσης, προσδιορίστηκαν οι ενεργότητες ενζύμων που υδρολύουν τα θρεπτικά συστατικά (πρωτεΐνες, λίπη και άμυλο) στο εντερικό περιεχόμενο, καθώς και στα τρία τμήματα του εντερικού ιστού: πυλωρικά τυφλά, κυρίως και οπίσθιο έντερο. Το πείραμα αυτό αποτέλεσε συνέχεια του πειράματος πεπτικότητας στα άτομα λαυρακιού.

2.1.3. Μελέτη της απορρόφησης θρεπτικών συστατικών και των χαρακτηριστικών πέψης με χρήση ιχθυοτροφών που περιείχαν φύτρο σπέρματος χαρουπιού (ΦΣΧ)

Η διατροφική αξία των σιτηρεσιών που περιείχαν ΦΣΧ του τελευταίου πειράματος που αναφέρεται στην παράγραφο 2.1.2. μελετήθηκε εκτενέστερα στο παρόν πείραμα με προσδιορισμό της απορρόφησης των θρεπτικών συστατικών στα τρία τμήματα του εντέρου (πρόσθιο, κυρίως και οπίσθιο) της τσιπούρας και του λαυρακιού. Επιπλέον, μελετήθηκε η επίδραση στα χαρακτηριστικά πέψης με σκοπό την παροχή επιπλέον πληροφοριών για τη δυνατότητα χρήσης ΦΣΧ σε σιτηρέσια για την τσιπούρα και το λαυράκι στις ιχθυοκαλλιέργειες.

2.1.4. Σύσταση κτηνοτροφικών σπερμάτων ψυχανθών

Η σύσταση των σπερμάτων ψυχανθών είναι γνωστό ότι επηρεάζεται από τον τύπο της ποικιλίας και από περιβαλλοντικούς παράγοντες που κυριαρχούν στην τοποθεσία της περιοχής καλλιέργειας. Έτσι, συλλέχθηκαν μικρές ποσότητες

ποικιλιών κτηνοτροφικού ρεβυθιού και κτηνοτροφικού μπιζελιού που είχαν καλλιεργηθεί από το Ινστιτούτο Κτηνοτροφικών Φυτών και Βοοκών (ΕΘΙΑΓΕ, Λάρισα) σε τρεις διαφορετικές τοποθεσίες για δύο συναπτά έτη. Η περιεκτικότητά τους σε θρεπτικά και αντιθρεπτικά συστατικά συγκρίθηκε με αυτή των ποικιλιών μπιζελιού και ρεβυθιού, που ήδη παράγονται παραδοσιακά με μεγάλες αποδόσεις ως συστατικά ζωοτροφών και που χρησιμοποιήθηκαν ως συστατικά ιχθυοτροφών στην παρούσα διατριβή.

2.2. ΑΝΑΛΥΤΙΚΕΣ ΤΕΧΝΙΚΕΣ

2.2.1. Κατεργασία σπερμάτων ψυχανθών

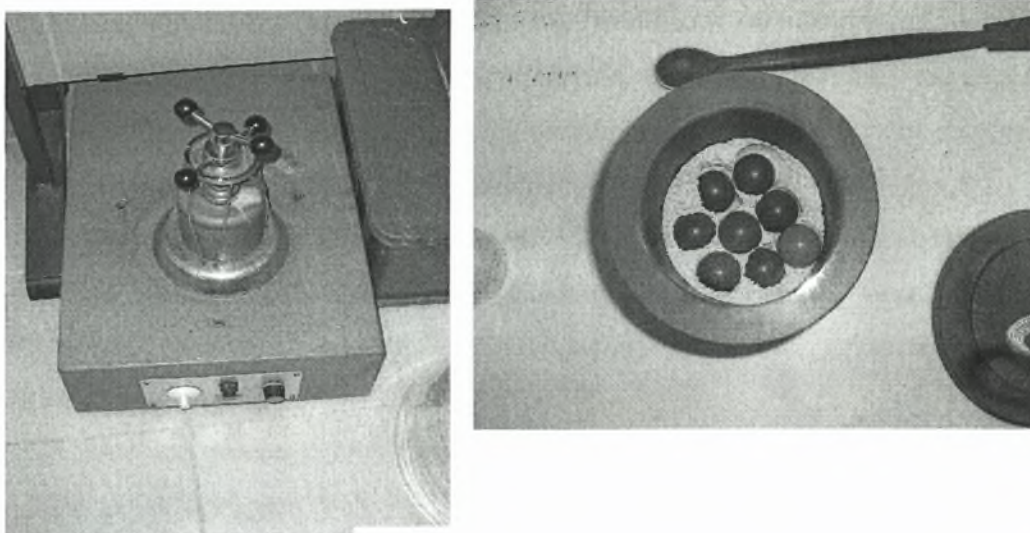
Για τον προσδιορισμό της σύστασης τους, απαραίτητη ήταν η κατεργασία των σπερμάτων του μπιζελιού και ρεβυθιού, ώστε να αλεστούν στο κατάλληλο μέγεθος κόκκου.

Το φυτό σπέρματος χαρουπιού προήλθε από την εταιρεία 'LBG Sicilia' (Ιταλία) το οποίο είχε υποστεί μηχανική αποφλοιώση και παράλληλα είχε ήδη αλεστεί.

Για τον προσδιορισμό των θρεπτικών και αντιθρεπτικών συστατικών των σπερμάτων ψυχανθών ήταν απαραίτητο το μέγεθος κόκκου του δείγματος να ήταν <0,5mm (Englyst et al., 1994, McCleary et al., 1992). Η άλεση των σπερμάτων για αυτό το μέγεθος κόκκου πραγματοποιήθηκε σε συσκευή άλεσης δειγμάτων (ball-milling), που διαθέτει το Ινστιτούτο Ωκεανογραφίας του ΕΛ.ΚΕ.Θ.Ε, και παρουσιάζεται στην Εικόνα 2.1. Η συσκευή είναι κατάλληλη για μικρές ποσότητες δείγματος. Στο μύλο άλεσης τοποθετούνταν κάθε φορά 15g δείγματος σπερμάτων ψυχανθών και η διαδικασία άλεσης διαρκούσε 30min.

2.2.2. Χημικές Μέθοδοι

Οι χημικές μέθοδοι που χρησιμοποιήθηκαν για τον προσδιορισμό των θρεπτικών και μη θρεπτικών συστατικών περιγράφονται παρακάτω:



Εικόνα 2.1. Συσκευή άλεσης δειγμάτων (ball-milling)

2.2.2.1 Προσδιορισμός ολικής σύστασης

Ο όρος «ολική σύσταση» χρησιμοποιείται συχνά και αφορά στον προσδιορισμό της περιεχόμενης υγρασίας, τέφρας πρωτεΐνης και λίπους. Οι λεπτομερείς διαδικασίες που χρησιμοποιήθηκαν για τον προσδιορισμό της περιγράφονται από τον AOAC (1998) και συνοψίζονται παρακάτω:

- **Υγρασία.**

Το περιεχόμενο σε νερό κάθε σιτηρεσίου προσδιορίστηκε ύστερα από ξήρανση 1,5g δειγματος για 24 ώρες στους 105° C έως σταθερού βάρους. Η διαφορά μεταξύ αρχικού βάρους δειγματος και αυτού μετά από τη ξήρανση είναι το βάρος της υγρασίας του δειγματος.

- **Τέφρα**

Τα ανόργανα στοιχεία που παρέμειναν έπειτα από καύση 1,5 g δειγματος στους 600° C για 12 ώρες υπολογίστηκαν σαν τέφρα.

- **Πρωτεΐνες**

Η πρωτεΐνη κάθε δειγματος προσδιορίστηκε με την μέθοδο Kjeldahl κατά την οποία μετράται το συνολικό αζωτούχο περιεχόμενο του δειγματος και στη συνέχεια μετατρέπεται σε πρωτεϊνικό περιεχόμενο χρησιμοποιώντας τον συντελεστή 6,25. Η μέθοδος βασίζεται στην πέψη των πρωτεϊνών με πυκνό θειικό οξύ (H_2SO_4 , 96% w/w) στους 410°C για 1h. Κατά την πέψη το πρωτεϊνικό άζωτο μετατρέπεται σε αμμωνία με τη μορφή όξινου θειικού αμμωνίου (NH_4HSO_4).

Στη συνέχεια προστίθεται πυκνό υδροξείδιο του νατρίου (NaOH, 60% w/v) που οδηγεί σε απελευθέρωση της αμμωνίας (NH_3), η οποία με απόσταξη συλλέγεται σε

κορεσμένο διάλυμα βορικού οξέος (H_3BO_3) και ακολουθεί τιτλοδότηση με διάλυμα υδροχλωρικού οξέος (HCl) 0,1N.

- **Λίπη**

Η ολική περιεκτικότητα λιπών στα σιτηρέσια προσδιορίστηκε ύστερα από εκχύλιση 3g δείγματος με 50ml πετρελαϊκού αιθέρα στους 40^o-60^o σε ειδική συσκευή Soxhlet. Στη συνέχεια, ο αιθέρας εξατμίζοταν και το λίπος προσδιοριζόταν σταθμικά.

Για τον προσδιορισμό του σχετικού δείκτη πεπτικότητας των λιπών, η μέθοδος προσδιορισμού του λίπους που χρησιμοποιήθηκε διαφέρει λόγω της περιορισμένης ποσότητας του υλικού των περιπτώσεων και περιγράφεται παρακάτω:

Ποσότητα δείγματος (σιτηρεσίου ή περιττωμάτων) 70mg, ζυγίζονταν σε αναλυτικό ζυγό με ακρίβεια 0,0001g, και ομογενοποιούνταν υπό ψύξη με 1,5ml μίγματος χλωροφορμίου/μεθανόλης 2:1, χρησιμοποιώντας ομογενοποιητή Ultra-Turrax T-25 (IKA). Μετά από φυγοκέντρηση του δείγματος για 10 min στις 3000 rpm λαμβάνονταν 1ml υπερκείμενου, το οποίο στη συνέχεια εξατμίζονταν έως τελικού όγκου 50μl, μέσα σε υδατόλουτρο. Ακολουθούσε προσθήκη 2,5ml πυκνού θειικού οξέ (96%w/w) και επώαση σε υδατόλουτρο σε θερμοκρασία βρασμού για 10min. Σε 100μl δείγματος προστίθεντο 2,5ml διάλυμα φωσφοβανιλίνης, το οποίο παρασκευάστηκε προσθέτοντας 396mg βανιλίνης σε 189ml διαλύματος ορθοφωσφορικού οξέος 85% και 11ml νερού. Ο τελικός σχηματισμός έγχρωμου παράγωγου μετρήθηκε φασματοφωτομετρικά στα 530nm.

Η συγκέντρωση του συνολικού λίπους στο δείγμα υπολογίζονταν με βάση πρότυπο διάλυμα ιχθυελαίου σε χλωροφόρμιο, γνωστής συγκέντρωσης.

2.2.2.2 Προσδιορισμός υδατανθράκων

Οι υδατάνθρακες χωρίζονται σε κατηγορίες με βάση τον αριθμό των μονομερών σακχάρων που περιέχουν και διακρίνονται σε α) μονοσακχαρίτες, β) ολιγοσακχαρίτες και γ) πολυσακχαρίτες. Στην παρούσα διατριβή προσδιορίστηκαν οι εξής υδατάνθρακες: ο μονοσακχαρίτης γλυκόζη, ο δισακχαρίτης σακχαρόζη, η ολική ποσότητα των ολιγοσακχαριτών ραφφινόζης, σταχυόζης και βερμπασκόζης (ΟΣ) και οι πολυσακχαρίτες, άμυλο και μη αμυλούχοι πολυσακχαρίτες (ΜΑΠ).

Οι μέθοδοι που ακολουθήθηκαν περιγράφονται παρακάτω:

- **Προσδιορισμός ολιγοσακχαριτών (ραφφινόζης, σταχυόζης, βερμπασκόζης), σακχαρόζης και γλυκόζης.**

Η μέθοδος αυτή βασίζεται στον ολικό προσδιορισμό των τριών ολιγοσακχαριτών, της σακχαρόζης και της γλυκόζης σύμφωνα με το εμπορικό προϊόν Megazyme Raffinose/D-Glucose Assay Kit (Megazyme International, Ireland).

Αρχή Μεθόδου

Η αρχή της μεθόδου στηρίζεται στην υδρόλυση των τριών ολιγοσακχαριτών στα μονομερή σάκχαρα από τα οποία αποτελούνται: γαλακτόζη, γλυκόζη και φρουκτόζη χρησιμοποιώντας τα ένζυμα α-γαλακτοσιδάση και ιμβερτάση. Η γλυκόζη που απελευθερώνεται προσδιορίζεται φασματοφωτομετρικά με την προσθήκη αντιδραστηρίου οξειδωσης της γλυκόζης. Η ελεύθερη γλυκόζη και η σακχαρόζη που συνυπάρχουν στο δείγμα μετρούνται παράλληλα και αφαιρούνται.

Μέθοδος

Το δείγμα επώασθη αρχικά με 5ml διαλύματος αιθανόλης 95% για να απενεργοποιηθούν τα ενδογενή ένζυμα (α-γαλακτοσιδάση και ιμβερτάση) σε γυάλινους σωλήνες (18x150mm). Στη συνέχεια το περιεχόμενο των σωλήνων μεταφέρθηκε σε ογκομετρική φιάλη των 50ml και προστέθηκε ρυθμιστικό διάλυμα οξικού νατρίου έως τελικού όγκου (50mM, pH 4,5) και το δείγμα επώασθη για 30min για την εκχύλιση των ολιγοσακχαριτών. Σε αντιπροσωπευτική ποσότητα δείγματος (περίπου 5ml) από το παραπάνω διάλυμα προστέθηκαν 2ml χλωροφόρμιο για την εκχύλιση των λιπών και φυγοκεντρήθηκε στις 3000 rpm για 10min. Τρεις ισοποσότητες (0,2ml) από την υδατική (υπερκείμενη) φάση επώασθηκαν στη συνέχεια στους 50°C για 20min, η κάθε μια ξεχωριστά, με:

- (α) 0,2ml ρυθμιστικού διαλύματος οξικού νατρίου (για τον προσδιορισμό της ελεύθερης γλυκόζης)
- (β) 0,2ml ιμβερτάσης (100U/ml) (για τον προσδιορισμό της σακχαρόζης)
- (γ) 0,2ml διαλύματος α-γαλακτοσιδάσης και ιμβερτάσης (για τον προσδιορισμό των ολιγοσακχαριτών ραφφινόζη, σταχυόζη, βερμπασκόζη και της σακχαρόζης). Το παραπάνω διάλυμα παρασκευάζεται με προσθήκη 2ml α-γαλακτοσιδάσης (500U/ml) σε 21ml ρυθμιστικού διαλύματος. Στη συνέχεια προστίθενται 2ml ιμβερτάσης (100U/ml) και το τελικό διάλυμα αναδεύεται.

Ακολούθησε δεύτερη επώαση στην ίδια θερμοκρασία και χρόνο, με προσθήκη 3ml του αντιδραστηρίου οξειδωσης της γλυκόζης. Στο τέλος μετρήθηκε φασματοφωτομετρικά η απορρόφηση του κάθε διαλύματος στα 510nm.

Υπολογισμοί

Με την μέθοδο αυτή προσδιορίζεται η συγκέντρωση των τριών ολιγοσακχαριτών στο δείγμα με αφαίρεση της απορρόφησης της σακχαρόζης και της ελεύθερης γλυκόζης, καθώς και η συγκέντρωση της σακχαρόζης και της ελεύθερης γλυκόζης ξεχωριστά στο κάθε δείγμα.

- D-Γλυκόζη (mmole/100g) = $\Delta A \times \Pi \times 50$
- Σακχαρόζη (mmole/100g) = $(\Delta B - \Delta A) \times \Pi \times 50$
- Ολιγοσακχαρίτες (mmole/100g) = $(\Delta \Gamma - \Delta A) \times \Pi \times 50$

Όπου,

ΔA = Απορρόφηση του διαλύματος (α),

ΔB = Απορρόφηση του διαλύματος (β),

$\Delta \Gamma$ = Απορρόφηση του διαλύματος (γ),

Π = Παράγοντας μετατροπής της απορρόφησης σε μmole γλυκόζης
0,556 (μmole γλυκόζης) / OD των 0,556 μmole γλυκόζης.

Η μετατροπή των αποτελεσμάτων σε g/100g δείγματος υπολογίζεται ως εξής :

- D-Γλυκόζη (g/100g) = D-Γλυκόζη (mmole)/100g \times 0,1799
- Σακχαρόζη (g /100g) = Σακχαρόζη (mmole)/100g \times 0,3425
- Ολιγοσακχαρίτες (ΟΣ)(g /100g) = ΟΣ 100g \times M/1000

Όπου, 0,1799 = 180(M.B. γλυκόζης)/1000mg,

0,3425 = 342(M.B.σακχαρόζης) /1000mg, και

M = το μέσο μοριακό βάρος των ολιγοσακχαριτών ή το μοριακό βάρος του ολιγοσακχαρίτη που βρίσκεται στη μεγαλύτερη αναλογία στο δείγμα.

- **Προσδιορισμός αμύλου.**

Η ολική ποσότητα αμύλου προσδιορίστηκε με ενζυμική υδρόλυση με βάση τις οδηγίες του εμπορικού προϊόντος Megazyme Total Starch Assay kit (AA / AMG) (Megazyme International, Ireland).

Αρχή Μεθόδου

Σύμφωνα με τη μέθοδο, η υδρόλυση του αμύλου γίνεται σε δύο φάσεις. Στην φάση I, το άμυλο υδρολύεται μερικώς από την αμυλάση και διαλυτοποιείται συνολικά. Στη φάση II, οι δεξτρίνες αμύλου υδρολύονται σε γλυκόζη από την αμυλογλυκοσιδάση.

Μέθοδος

Η διαδικασία που ακολουθήθηκε αφορούσε στην τροποποιημένη μέθοδο που αναφέρεται για δείγματα που περιέχουν ανθεκτικό άμυλο (resistant starch) και περιγράφεται παρακάτω:

A. Στο δείγμα προστέθηκαν διάλυμα αιθανόλης (80%) και διμέθυλοσουλφοξειδίου (DMSO).

B. Το δείγμα επώασθη σε υδατόλουτρο σε θερμοκρασία βρασμού. Στο σημείο αυτό, η μέθοδος τροποποιήθηκε για τα δείγματα των σπερμάτων ψυχανθών για να επιτευχθεί καλύτερη διαλυτοποίηση και δεξτρινοποίηση του αμύλου των δειγμάτων. Το δείγμα επώασθη για 15-20min με ταυτόχρονη ανάδευση σε μαγνητικό αναδευτήρα.

Γ. Προστέθηκαν αμέσως 3ml διαλύματος α-αμυλάσης σε ρυθμιστικό διάλυμα MOPS-άλας νατρίου (4-morpholinepropanesulfonic acid sodium salt, Sigma Cat. No. M9381), 50mM, pH 7. Το παραπάνω διάλυμα παρασκευάζεται με προσθήκη 1ml α-αμυλάσης (3000U/ml) και συμπλήρωση έως όγκου 30ml με το ρυθμιστικό διάλυμα. Το δείγμα στη συνέχεια επώασθη σε υδατόλουτρο σε θερμοκρασία βρασμού για 6 min.

Δ. Το δείγμα στη συνέχεια τοποθετήθηκε σε υδατόλουτρο στους 50°C και προστέθηκαν 4ml ρυθμιστικού διαλύματος οξικού νατρίου pH 4,5 και 0,1ml (20U) αμυλογλυκοσιδάσης. Επώασθη για 30 min.

Ε. Το δείγμα μετά από κατάλληλη αραιώση φυγοκεντρήθηκε στις 3000 rpm για 10min, και σε 0,1ml από το υπερκείμενο προστέθηκε διάλυμα οξείδωσης της γλυκόζης. Στο τέλος μετρήθηκε η απορρόφηση στα 510nm.

Υπολογισμοί

$$AMYLO = \Delta_E \times A \times \text{αραιώση} \times 1/1000 \times 100/B \times 162/180 =$$

Όπου,

Δ_E = Απορρόφηση (OD),

A = 100(μg γλυκόζης) / OD των 100μg γλυκόζης,

B = Βάρος δείγματος,

162/180 = διόρθωση από την ελεύθερη γλυκόζη στην άνυδρη γλυκόζη.

Το άμυλο των σιτηρεσίων και των περιττωμάτων προσδιορίστηκε όπως περιγράφεται παραπάνω με την παρακάτω τροποποίηση:

Στο δείγμα μετά την προσθήκη της αιθανόλης δεν προστέθηκε DMSO. Έτσι τα δείγματα ακολούθησαν τη διαδικασία από το στάδιο Γ. Την ίδια διαδικασία ακολούθησαν και τα δείγματα των περιπτώσεων.

- **Προσδιορισμός ολικών μη αμυλούχων πολυσακχαριτών (ΜΑΠ)**

Οι μη αμυλούχοι πολυσακχαρίτες προσδιορίστηκαν φασματοφωτομετρικά με βάση την μέθοδο των Englyst, Quinley & Hudson (1994) με τροποποίηση της μεθόδου.

Αρχή μεθόδου

Το άμυλο, που υπάρχει μέσα στο δείγμα, απομακρύνεται ενζυματικά και οι ΜΑΠ, έπειτα από όξινη υδρόλυση, διασπώνται στα περιέχοντα μονομερή σάκχαρα τα οποία τελικά προσδιορίζονται χρωματομετρικά ως ολικά σάκχαρα.

Μέθοδος

A. Προετοιμασία του δείγματος

Ζυγίστηκε ποσότητα δείγματος ανάλογα με το ποσοστό υγρασίας του δείγματος αλλά και το ποσοστό των ΜΑΠ που αναμένονταν να βρεθεί και τοποθετήθηκαν σε σωλήνες των 50-60ml με πόμα. Σε κάθε σωλήνα προστέθηκαν 100 (± 20)mg άμμου (όξινης-έκπλυσης, 50-100mesh, BDH) και περίπου 7-8 γυάλινες σφαίρες βρασμού (διαμέτρου 2,5-3,5 mm, BDH).

B. Διασπορά και ενζυματική υδρόλυση

1. Αρχικά τοποθετήθηκε κατάλληλη ποσότητα ρυθμιστικού διαλύματος οξικού νατρίου (0,1M, pH 5,2) σε υδατόλουρο στους 50°C για εξισορρόπηση (απαιτούνται 2,8ml για κάθε δείγμα)

2. Στο κάθε δείγμα προστέθηκαν 0,7ml διμεθυλοσουλφοξειδίου (DMSO, 99,9%) και αμέσως αναδεύθηκε. Είναι σημαντικό να διαλυτοποιηθεί πλήρως το δείγμα και μην υπάρχουν συσσωματώματα ή ποσότητα δείγματος πάνω στα τοιχώματα του σωλήνα. Μετά την προσθήκη του DMSO σε όλους τους σωλήνες, τα δείγματα αναδεύθηκαν πάλι 3-4 φορές για 5min. Οι σωλήνες στη συνέχεια αμέσως τοποθετήθηκαν ανά δυο για 20sec μέσα σε υδατόλουτρο σε θερμοκρασία βρασμού και αναδεύθηκαν. Η διαδικασία συνεχίστηκε για όλα τα δείγματα τα οποία παρέμειναν στο υδατόλουτρο για 30min.

Σε αυτό το χρόνο ετοιμάστηκαν τα παρακάτω ενζυματικά διαλύματα I και II: Οι ποσότητες αναφέρονται για 16 δείγματα.

Ενζυμικό διάλυμα I: Αραιώθηκαν 0,625ml θερμοάντοχης αμυλάσης (Termamyl 120L Type L, Novozyme) σε 50ml ρυθμιστικού διαλύματος οξικού νατρίου (βήμα 1) και το διάλυμα διατηρήθηκε στους 50°C ως τη χρήση.

Ενζυμικό διάλυμα II: Σε σωλήνα φυγοκέντρωσης προστέθηκαν 0,3g παγκρεατικής (Sigma, Cat.Nº.P-1750) σε 3ml αποιονισμένου νερού, και αναδεύθηκαν για 10min σε μαγνητική πλάκα. Στη συνέχεια φυγοκεντρήθηκαν στις 4000rpm για 10min. Τέλος, σε 2,5ml υπερκείμενου, προστέθηκαν 0,625ml pullulanase (Promozyme 400L, Novozyme). Το διάλυμα διατηρήθηκε σε θερμοκρασία περιβάλλοντος ως τη χρήση.

3. Στο δείγμα έπειτα από έντονη ανάδευση προστέθηκαν αμέσως 2,8ml από το ενζυματικό διάλυμα I και αφού αναδεύθηκε επανατοποθετήθηκε στο υδατόλουτρο βρασμού για 10min. Στη συνέχεια μεταφέρθηκε σε υδατόλουτρο στους 50°C, το οποίο είχε τοποθετηθεί πάνω σε μαγνητικό αναδευτήρα. Έπειτα από 3min, προστέθηκαν 0.175ml από το ενζυματικό διάλυμα II και επώασθη για 30min με συνεχή ανάδευση ώστε να δράσει το ένζυμο. Τέλος, μεταφέρθηκαν για άλλα 10min στο υδατόλουτρο βρασμού.

Γ. Καθίζηση και έκπλυση του στερεού υπολείματος για τη μέτρηση των συνολικών ΜΑΠ

1. Το δείγμα εμβαπτίσθηκε σε παγωμένο νερό και προστέθηκαν 52,5ml διαλύματος HCl 5M και αναδεύθηκε 2-3 φορές. Στη συνέχεια προστέθηκαν 14ml οξινομένης απόλυτης αιθανόλης, η οποία παρασκευάζεται με την προσθήκη 1ml HCl 5M σε 1 λίτρο απόλυτης αιθανόλης, και παρέμεινε στο παγωμένο νερό για 45min. Στο στάδιο αυτό επιτυγχάνεται η καθίζηση των ΜΑΠ.
2. Το δείγμα φυγοκεντρήθηκε στις 2800rpm για 10min και όσο το δυνατόν περισσότερη ποσότητα υπερκείμενου απομακρύνθηκε με αναρρόφηση υπό κενό, χωρίς ανακίνηση του ιζήματος.
3. Ογκομετρήθηκαν στη συνέχεια 17,5ml διαλύματος οξινομένης αιθανόλης 85% v/v. Αρχικά προστέθηκαν 5ml του παραπάνω διαλύματος στο στερεό υπόλειμμα και το δείγμα αναδεύθηκε. Συμπληρώθηκε στη συνέχεια το υπόλοιπο διάλυμα και αναδεύθηκε με συνεχή ανακίνηση του σωλήνα.
4. Το δείγμα φυγοκεντρήθηκε και το υπερκείμενο απομακρύνθηκε όπως περιγράφηκε παραπάνω στο σταδιο Γ2.
5. Ακολουθήθηκε η ίδια διαδικασία χρησιμοποιώντας 17,5ml απόλυτης αιθανόλης.
6. Προστέθηκαν 10,5ml ακετόνης και ακολουθήθηκε η ίδια διαδικασία.

7. Χρησιμοποιώντας αέριο άζωτο για την εξάτμιση της ακετόνης από το στερεό υπόλειμμα καθώς και τοποθέτηση στη συνέχεια σε φούρνο στους 80°C για 15min, εξατμίσθηκαν πλήρως τα υπολείμματα της ακετόνης. Η πλήρης εξάτμιση της ακετόνης είναι σημαντική για την επαναληψιμότητα μεταξύ των δειγμάτων.

Δ. Ώξινη υδρόλυση του στερεού υπολείμματος της ενζυματικής πέψης

1. Στο δείγμα προστέθηκε διάλυμα H_2SO_4 12M και παρέμεινε σε υδατόλουτρο στους 35°C για 30min με ταυτόχρονη συνεχή ανάδευση σε μαγνητικό αναδευτήρα.
2. Προστέθηκε κατάλληλη ποσότητα απιονισμένου νερού ώστε η τελική συγκέντρωση του διαλύματος H_2SO_4 να είναι 2M και το δείγμα τοποθετήθηκε σε υδατόλουτρο βρασμού για 1h. Το δείγμα αναδεύθηκε έπειτα από τα πρώτα 10min.

Ε. Προσδιορισμός των ολικών αναγώντων σακχάρων

1. Προετοιμασία του πρότυπου διαλύματος σακχάρων:
Το πρότυπο διάλυμα σακχάρων αποτελείται από διάφορες συγκεντρώσεις των σακχάρων, γλυκόζης, αραβινόζης και γαλακτουρονικού οξέος σε 50% κορεσμένου διαλύματος βενζοϊκού οξέος. Σε αυτό το στάδιο οι συγκεντρώσεις των παραπάνω συστατικών στο πρότυπο διάλυμα τροποποιήθηκαν και υπολογίσθηκαν με βάση την περιεκτικότητα τους στο κάθε είδος σπέρματος ψυχανθούς όπως αναφέρεται στη βιβλιογραφία (Bach-Knudsen, 1997), διότι η μη τροποποίηση παρουσίαζε μειωμένες τιμές όσον αφορά την περιεκτικότητα των ολικών μη αμυλούχων πολυσακχαριτών. Στη συνέχεια προετοιμάστηκαν τέσσερις διαφορετικές συγκεντρώσεις του πρότυπου διαλύματος. Παράλληλα προετοιμάσθηκε και τυφλό δείγμα με διάλυμα H_2SO_4 2M.
2. Σε 0,5ml υδρολυμένου δείγματος καθώς και στο τυφλό και στα πρότυπα διαλύματα προστέθηκε 0,5ml διαλύματος διμεθυλγλουταρικού οξέος (DMG). Το διάλυμα αυτό παρασκευάζεται με την προσθήκη 98,5g NaOH 5M σε 8g DMG και αραιώση μέχρις όγκου 100ml με απιονισμένο νερό. Πριν προστεθεί στο δείγμα το διάλυμα του DMG ελέγχονταν το pH των διαλυμάτων DMG και H_2SO_4 2M (1:1). Το pH των διαλυμάτων πρέπει να κυμαίνεται μεταξύ 3,4-4,0. Εάν διέφερε γινόταν έλεγχος των διαλυμάτων H_2SO_4 και DMG.
3. Προστέθηκε διάλυμα ηηκτινάσης (Sigma, Cat. No. P4716-10KU) και τα διαλύματα επώασθηκαν σε υδατόλουτρο στους 50°C για 20min.
4. Προστέθηκε διάλυμα NaOH 3M ώστε το pH των διαλυμάτων να αυξηθεί στα επίπεδα 7-8.

5. Διάλυμα δινιτροσαλικυλικού οξέος προστέθηκε σε κάθε σωλήνα και τα διαλύματα τοποθετήθηκαν σε υδατόλουτρο βρασμού για 5min. Το διάλυμα αυτό παρασκευάζεται ως εξής:

Σε κωνική φιάλη των 250ml προστίθενται 60ml H₂O, 80ml NaOH 1M και 2g 3,5-δινιτρο-σαλικυλικού οξέος ((O₂N)₂C₆H₂-2-(OH)CO₂H) και αναδεύονται. Στη συνέχεια προστίθονται τρυγικοκαλιονάτριο (KOCOCH(OH)CH(OH)COONa.4H₂O) 60g και το διάλυμα αναδεύεται για 16ώρες. Αραιώνεται μέχρις όγκου 200ml με απιονισμένο νερό και εμφυσάται με άζωτο. Αποθηκεύεται σε σκουρόχρωμη φιάλη. Πριν τη πρώτη χρήση παραμένει 2 ημέρες κλειστό.

6. Τα διαλύματα αραιώθηκαν με κατάλληλη ποσότητα απιονισμένου νερού και μετρήθηκε η απορρόφηση τους στα 530nm.

Υπολογισμοί

Η συγκέντρωση των ολικών σακχάρων που υπήρχαν στο δείγμα υπολογίσθηκε με βάση την πρότυπη καμπύλη αναφοράς. Στη συνέχεια το ποσοστό (%) των ολικών ΜΑΠ υπολογίσθηκαν σύμφωνα με την εξίσωση:

$$\text{ΜΑΠ} = \frac{O \cdot A \cdot \Pi \cdot \Sigma \cdot 100 \cdot 0,89}{B}$$

Όπου,

O : ο συνολικός όγκος του δείγματος σε ml

A : η αραιώση του διαλύματος του δείγματος (χωρίς αραιώση A=1)

Π : ο διορθωτικός παράγοντας για 2-4% απώλειες λόγω υδρόλυσης. Εδώ Π=1,05.

B : το αρχικό βάρος σε mg του δείγματος που χρησιμοποιήθηκε για την ανάλυση

0,89 : ο παράγοντας, που έχει υπολογιστεί πειραματικά, για τη μετατροπή των μονοσακχαριτών σε πολυσακχαρίτες.

Σ : Η τιμή που δίνεται από την εξίσωση της πρότυπης καμπύλης.

- **Προσδιορισμός αδιάλυτων και διαλυτών ΜΑΠ**

Για τον προσδιορισμό των αδιάλυτων ΜΑΠ ακολουθήθηκε η ίδια διαδικασία με αυτή που περιγράφηκε για τον προσδιορισμό των ολικών ΜΑΠ με την παρακάτω τροποποίηση του σταδίου Γ:

1. Μετά το στάδιο Β3, στο δείγμα προστέθηκαν 14ml ρυθμιστικού διαλύματος φωσφορικού νατρίου (0,2M, pH 7) και τοποθετήθηκε σε υδατόλουτρο βρασμού για 30min. Στο διάστημα αυτό το δείγμα αναδεύτηκε τουλάχιστον τρεις φορές.

2. Μετά το πέρας των 30min το δείγμα αφέθηκε να ισορροπήσει σε θερμοκρασία δωματίου και στη συνέχεια φυγοκεντρήθηκε και απομακρύνθηκε το υπερκείμενο όπως περιγράφεται στο στάδιο Γ2.

3. Ογκομετρήθηκαν στη συνέχεια 17,5ml απιονισμένου νερού. Αρχικά προστέθηκαν 5ml στο στερεό υπόλειμμα και το δείγμα αναδεύθηκε. Συμπληρώθηκε στη συνέχεια το υπόλοιπο διάλυμα και αναδεύθηκε με συνεχή ανακίνηση του σωλήνα. Το δείγμα φυγοκεντρήθηκε και το υπερκείμενο απομακρύνθηκε όπως περιγράφηκε στο στάδιο Γ2.

4. Το δείγμα ακολούθησε την ίδια διαδικασία από το στάδιο Γ6.

Ο υπολογισμός των αδιάλυτων ΜΑΠ έγινε όπως και των ολικών.

Οι διαλυτοί ΜΑΠ προσδιορίστηκαν υπολογιστικά από τη διαφορά των αδιάλυτων ΜΑΠ από τους ολικούς.

- *Προσδιορισμός ολικών ΜΑΠ στα σιτηρέσια*

Οι μη αμυλούχοι πολυσακχαρίτες στα σιτηρέσια προσδιορίστηκαν με την παρεμβολή ενός σταδίου απολίπωσης μετά το βήμα Α, διότι είναι απαραίτητη η απομάκρυνση του λίπους σε δείγματα που περιέχουν >10% λίπος. Κατά το στάδιο αυτό (Α2) προστέθηκαν 14ml ακετόνης στο δείγμα το οποίο αναδεύονταν συνεχώς σε μαγνητική πλάκα για 30min. Ακολούθησε φυγοκέντρηση στις 2800rpm για 10min. Το υπερκείμενο απομακρύνθηκε με αναρρόφηση υπό κενό, ενώ τα υπολείμματα εξατμίστηκαν με εμφύση αερίου άζωτου στο ίζημα. Τελικά τοποθετήθηκαν σε φούρνο στους 80°C για 15min. Στη συνέχεια τα δείγματα ακολούθησαν την διαδικασία από το στάδιο Β.

2.2.2.3 Προσδιορισμός οξειδίου του χρωμίου (Cr_2O_3) στα σιτηρέσια και τα περιττώματα

Η μέθοδος (Bolin et al., 1952) στηρίζεται στην οξείδωση του Cr_2O_3 στους 220°C με οξειδωτικό διάλυμα το οποίο παρασκευάζεται ως εξής: 10g μολυβδαινικού νατρίου (NaMoO_3) σε 150ml απιονισμένο νερό. Στο διάλυμα προστίθενται στη συνέχεια 150ml πυκνού θεικού οξέος (H_2SO_4 , 96%w/w) και 200ml υπερχλωρικό οξύ (HClO_4 , 70-72%) και αναδεύεται μέχρι να επανέλθει σε θερμοκρασία περιβάλλοντος. Φυλάσσεται σε σκουρόχρωμη φιάλη στο σκοτάδι.

Ζυγίζονται 50-70mg δείγματος σε ειδικούς σωλήνες των 100ml (ανθεκτικούς σε υψηλές θερμοκρασίες) και προστίθονται 2,5ml οξειδωτικού διαλύματος.

Θερμαίνεται στους 220°C. Μόλις παρατηρηθεί αλλαγή του χρώματος του διαλύματος (από πράσινο σε διαυγές πορτοκαλί) αφήνεται για ακόμα 5min στους 220°C.

Στη συνέχεια, το δείγμα αφήνεται να επανέλθει σε θερμοκρασία περιβάλλοντος και προστίθονται 1ml υπερχλωρικού οξέος και θερμαίνονται για 5min στους 220°C.

Μόλις ψυχθεί το δείγμα αραιώνεται σε 25ml απιονισμένου νερού και μετράται η απορρόφηση στα 410nm.

Τα δείγματα, έπειτα από την οξείδωση τους, αραιώθηκαν με απιονισμένο νερό έως τελικού όγκου 25ml και μετρήθηκε η απορρόφηση τους. Ο υπολογισμός έγινε βάση πρότυπης καμπύλης, η οποία κατασκευάζεται από πρότυπο διάλυμα (Cr_2O_3) με γνωστές συγκεντρώσεις.

2.2.2.4 Προσδιορισμός ταννινών

Αρχή Μεθόδου

Η μέθοδος που ακολουθήθηκε βασίζεται σε πρώτη φάση στην εκχύλιση των ταννινών με τροποποίηση της μεθόδου των Budini et. al. (1980) και σε δεύτερη φάση στον χρωματομετρικό προσδιορισμό τους με βάση τη μέθοδο του Grahsm (1992).

Μέθοδος

Η διαδικασία που ακολουθήθηκε ήταν η παρακάτω:

A. Στο δείγμα προστέθηκαν 20ml διαλύματος HCl 2N και το μίγμα ομογενοποιήθηκε για 2min. Στη συνέχεια το μίγμα μεταφέρθηκε σε σφαιρική φιάλη με προσθήκη επιπλέον 30ml διαλύματος HCl 2N. Η εκχύλιση των ταννινών πραγματοποιήθηκε σε σύστημα κάθετων ψυκτήρων με θέρμανση σε θερμοκρασία φωλιά (ήπιος βρασμός για 35min).

Ακολούθως το δείγμα διηθήθηκε όσο ήταν ακόμα σε θερμοκρασία βρασμού εκπλένοντας με βραστό νερό. Το διήθημα συλλεγόταν σε ογκομετρική φιάλη των 250ml και συμπληρωνόταν μέχρις όγκου με απεσταγμένο νερό.

B. Σε 1,5 ml εκχυλίσματος προστέθηκε 1ml διαλύματος $\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$ 0,016M και 1ml διαλύματος FeCl_3 0,02M σε HCl 0,1N και το διάλυμα αναδεύονταν και παρέμενε σε υδατόλουτρο στους 24 °C για 15 λεπτά. Σε αυτό το στάδιο σχηματιζόταν ασταθές μπλέ χρώμα.

Στη συνέχεια η αντίδραση τερματιζόταν με την προσθήκη 3ml διαλύματος H_3PO_4 6M και το διάλυμα αναδεύονταν στο υδατόλουτρο για 2min. Έπειτα, προστέθηκαν 2ml διαλύματος κόμμι ακάκιας 1 % με σκοπό τον παρεμπόδιση της καθίζησης. Τέλος μετρήθηκε η απορρόφηση στα 700nm.

Υπολογισμοί

Ο υπολογισμός της ποσότητας των ταννινών έγινε βάση πρότυπης καμπύλης η οποία κατασκευάστηκε με πρότυπο διάλυμα κατεχίνης.

2.2.2.5 Προσδιορισμός φυτικού οξέος

Αρχή Μεθόδου

Για την εκχύλιση και τον ποσοτικό προσδιορισμό του φυτικού οξέος ακολουθήθηκε η μέθοδος του AOAC (1998) με μικρή τροποποίηση. Η αρχή της μεθόδου βασίζεται στην εκχύλιση του φυτικού οξέος με διάλυμα HCl και με στήλη ιονταλλαγής το φυτικό οξύ διασπάται πλήρως σε φώσφορο (P), ο οποίος μετράται χρωματομετρικά.

Μέθοδος

Η διαδικασία περιλάμβανε τα παρακάτω στάδια:

A. Εκχύλιση Φυτικού οξέος

Στο δείγμα προστέθηκαν 20ml διαλύματος HCl 2,4% και το μίγμα αναδεύονταν έντονα για 3 ώρες σε μαγνητική πλάκα σε θερμοκρασία περιβάλλοντος. Ακολούθησε διήθηση υπό κενό με τη χρήση φίλτρου τύπου Whatman no.1.

Προκειμένου το δείγμα να επεξεργασθεί από τη στήλη ιονταλλαγής, σε 1ml διηθήματος προστέθηκε 1ml διαλύματος $Na_2EDTA - NaOH$ (10,23g Na_2EDTA (0,11N) και 7,4g NaOH (0,75N) σε απιονισμένο νερό έως όγκου 250ml) και το δείγμα αραιώθηκε έως όγκου 25ml με H_2O . Παράλληλα προετοιμάστηκε και τυφλό δείγμα που περιείχε 1ml HCl 2,4% και 1ml του παραπάνω διαλύματος $Na_2EDTA-NaOH$.

B. Διαδικασία Ιονταλλαγής

Αρχικά προετοιμάστηκαν οι στήλες ως ακολούθως:

Σε άδεια προχοϊδα τοποθετήθηκαν βαμβάκι και 3ml H_2O . Έπειτα προστέθηκε η ιονταλλακτική ρητίνη AGI-X4 (100-200 mesh chloride form, Bio-Rad Laboratories) σαν υδατικό εναιώρημα στην προχοϊδα και η στήλη αφέθηκε να στρωματοποιηθεί.

Από τη στήλη περνούσαν διαδοχικά 15ml των εξής διαλυμάτων: NaCl 0,7 M, H_2O , δείγματος (25ml), H_2O , NaCl 0,1 M με απόρριψη των κλασμάτων που προέκυπταν. Στο τέλος, το κλάσμα συλλέχθηκε με προσθήκη 15ml NaCl 0,7 M.

Γ. Χρωματομετρικός προσδιορισμός

Στο κλάσμα του φυτικού οξέος που είχε συλλεχθεί, προστέθηκαν μερικές γυάλινες σφαίρες, 0,5ml πυκνό H_2SO_4 (96%w/w) και 3ml πυκνό HNO_3 (65%). Τοποθετήθηκε στη συνέχεια σε θερμαντικές φωλιές και θερμάνθηκε σταδιακά σε μέτρια θερμοκρασία μέχρι να εμφανιστούν ενεργός βρασμός και πυκνοί κίτρινοι ατμοί στους σωλήνες. Η θέρμανση παρατινόταν μετά την εμφάνιση των κίτρινων ατμών για άλλα 5 λεπτά σε μέτρια θερμοκρασία και άλλα 5 λεπτά σε χαμηλή θερμοκρασία.

Μόλις το δείγμα είχε ψυχθεί προστέθηκαν 10ml απεσταγμένου νερού για να διαλυθεί το άλας που είχε σχηματισθεί. Στο τέλος, στο δείγμα προστέθηκαν 2ml διαλύματος μολυβδούχου αμμωνίου, $(NH_4)Mo_7O_{24} \cdot 4H_2O$ (2,5% σε H_2SO_4 1N) και 1ml διαλύματος σουλφονικού οξέος (0,16g 1-αμινο-2-ναφθο-σουλφονικό οξύ $C_{10}H_9NO_4S$, 1,92g Na_2SO_3 και 9,60g $NaHSO_3$ σε 100ml H_2O). Τα δείγματα αραιώθηκαν κατάλληλα και μετά από παραμονή 15min σε θερμοκρασία περιβάλλοντος μετρήθηκε η απορρόφηση στα 640nm.

Υπολογισμοί

$$Mg \text{ φυτικού οξέος / g δείγματος} = K \cdot A \cdot 20 / (0,282 \cdot 1000)$$

Όπου K: η κλίση της καμπύλης

A: η απορρόφηση του δείγματος και

0,282: ο συντελεστής μετατροπής του φωσφόρου σε φυτικό οξύ, καθώς είναι γνωστό ότι το φυτικό οξύ περιέχει 28,2% P.

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 3

ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΔΙΑΦΟΡΩΝ ΤΕΧΝΙΚΩΝ ΕΠΕΞΕΡΓΑΣΙΑΣ ΣΤΗ ΣΥΣΤΑΣΗ ΤΩΝ ΣΠΕΡΜΑΤΩΝ ΨΥΧΑΝΘΩΝ ΚΑΙ ΣΤΗΝ ΠΕΠΤΙΚΟΤΗΤΑ ΤΩΝ ΘΡΕΠΤΙΚΩΝ ΣΥΣΤΑΤΙΚΩΝ ΣΤΗΝ ΤΣΙΠΟΥΡΑ

3.1. ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Η χρήση φυτικών πρώτων υλών ως συστατικά ιχθυοτροφών περιορίζεται λόγω της παρουσίας αντιθρεπτικών παραγόντων. Οι παράγοντες αυτοί έχουν θεωρηθεί ότι επηρεάζουν την πεπτική λειτουργία και απορρόφηση των θρεπτικών συστατικών στο έντερο των ιχθύων μειώνοντας την αξιοποίηση των πρωτεϊνών και το ρυθμό αύξησης των ιχθύων (Booth et al., 2001, Francis et al., 2001, Krodahl, 1989, Tacon, 1997).

Στη βιβλιογραφία αναφέρονται διάφορες τεχνικές βελτίωσης της θρεπτικής αξίας των σπερμάτων ψυχανθών με την απομάκρυνση ή απενεργοποίηση των αντιθρεπτικών αυτών συστατικών. Έτσι έχουν αναφερθεί τεχνικές όπως η υγρή θερμική κατεργασία (cooking), η ξηρή θερμική κατεργασία (roasting), η θερμική κατεργασία σε αυτόκαυστο, η αποφλοιώση, η ζύμωση, η εξώθηση, η εφαρμογή υπέρυθρης ακτινοβολίας και ο μικροϊονισμός (Alonso et al., 1998, Costa et al., 2006, Marconi et al., 2000, Nestares et al., 1996, Padmashri et al., 1995, Reyes-Moreno et al., 2004).

Με την αποφλοιώση επιδιώκεται η απομάκρυνση ενός ποσοστού των αντιθρεπτικών παραγόντων που βρίσκονται στον φλοιό των σπερμάτων ψυχανθών. Τέτοιοι αντιθρεπτικοί παράγοντες είναι οι μη αμυλούχοι πολυσακχαρίτες (ΜΑΠ) και οι ταννίνες (Alonso et al., 2000a, Champ et al., 1986, Singh & Jambunathan, 1981). Οι ιχθύες δεν έχουν τα ένζυμα για τη διάσπαση των υδατανθράκων αυτών και δεν είναι γνωστό αν διασπώνται από τη μικροβιακή χλωρίδα όπως συμβαίνει σε άλλα είδη ζώων (McCallum, 2004).

Η εξώθηση είναι μια διαδικασία κατά την οποία εφαρμόζονται υψηλά επίπεδα θερμοκρασίας και πίεσης στο επεξεργαζόμενο μίγμα. Το κόστος είναι χαμηλότερο από άλλες θερμικές επεξεργασίες όπως η υγρή και ξηρή θερμική επεξεργασία γιατί είναι αποτελεσματικότερη η χρήση ενέργειας και ο έλεγχος της διαδικασίας (Alonso et al., 2000a). Με τη θερμική αυτή επεξεργασία επιδιώκεται η καταστροφή ή απενεργοποίηση των θερμοευαίσθητων αντιθρεπτικών παραγόντων, όπως είναι ο αναστολέας της θρυψίνης και οι λεκτίνες (Αλέξη & Νέγκας, 2001). Επίσης, ο χρόνος διέλευσης της τροφής από τον πεπτικό σωλήνα αυξάνεται μετά την εξώθησή της,

δίνοντας τη δυνατότητα στα πεπτικά ένζυμα να δράσουν για περισσότερο χρόνο βελτιώνοντας την αξιοποίηση των θρεπτικών συστατικών (Smith, 1989, Tacon & Jackson, 1985).

Ο σκοπός της παρούσας μελέτης ήταν σε πρώτη φάση, η μελέτη της επίδρασης δύο τύπων επεξεργασίας, της εξώθησης και της αποφλοιώσης, στη σύσταση των θρεπτικών και αντιθρεπτικών συστατικών του μπιζελιού και του ρεβυθιού. Σε δεύτερη φάση αξιολογήθηκε η επίδραση των επεξεργασμένων σπερμάτων ψυχανθών, ως συστατικά ιχθυοτροφών, στην πεπτικότητα των θρεπτικών συστατικών στην τοπιούρα. Τα αποτελέσματα μπορούν να συμβάλουν στην προσπάθεια αύξησης του ποσοστού των θρεπτικών συστατικών των σπερμάτων ψυχανθών για την προσθήκη τους στις ιχθυοτροφές και στη μείωση των αρνητικών συνεπειών των αντιθρεπτικών παραγόντων στην απορρόφηση των θρεπτικών συστατικών από τους ιχθύς.

3.2. ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ

3.2.1. Πρώτες Ύλες

Οι ποικιλίες των κτηνοτροφικών σπερμάτων ψυχανθών, που χρησιμοποιήθηκαν στα σιτηρέσια της παρούσας μελέτης, ήταν η ποικιλία ρεβυθιού 'Σέριφος' και η ποικιλία μπιζελιού 'Όλυμπος'. Χρησιμοποιήθηκαν οι συγκεκριμένες ποικιλίες διότι έχουν μεγάλες αποδόσεις και καλλιεργούνται παραδοσιακά ως συστατικά ζωοτροφών.

Επεξεργασία φυτικών πρώτων υλών

Τα σπέρματα των ρεβυθιών μιας συγκεκριμένης παρτίδας χρησιμοποιήθηκαν είτε ολόκληρα είτε αποφλοιωμένα. Η αποφλοιώση πραγματοποιήθηκε σε τοπική επιχείρηση τυποποίησης σπερμάτων ψυχανθών (Βιομηχανία ΣΕΦ, Χαλιβέρας Α.Ε., Τύρναβος, Λάρισα) με κλασικές τεχνικές που χρησιμοποιούνται στην Ελλάδα για τον σκοπό αυτό (εξωτερική τριβή σπερμάτων). Μειονέκτημα της αποφλοιώσης κατά αυτόν τον τρόπο ήταν η αφαίρεση και τμήματος της εξωτερικής στοιβάδας του σπέρματος (περίπου 1/3 του σπέρματος). Λόγω μεγάλης απώλειας σπέρματος η επεξεργασία αυτή δεν εκτιμήθηκε ως οικονομική και δεν εφαρμόστηκε στο μπιζέλι. Ποσότητα της παρτίδας των ολόκληρων σπερμάτων του μπιζελιού και ρεβυθιού καθώς και των αποφλοιωμένων ρεβυθιών επεξεργάστηκαν και θερμικά με τη διαδικασία της εξώθησης. Επιπλέον, με εξώθηση επεξεργάστηκαν το σογιάλευρο και το άλευρο σίτου που προστέθηκαν στα σιτηρέσια. Η εξώθηση έγινε σε πειραματικό εξωθητή της Σχολής Τεχνολογίας Τροφίμων και Διατροφής (Τμήμα Τεχνολογίας

Τροφίμων, ΤΕΙ Αθηνών) με τη συνεργασία της Σχολής Χημικών Μηχανικών, Εργαστήριο Χημείας και Τεχνολογίας Τροφίμων (ΕΜΠ). Ο πειραματικός εξωθητής χρησιμοποιήθηκε αντί του βιομηχανικού εξωθητή σε πρώτη φάση γιατί ήταν καταλληλότερος για τις απαιτούμενες μικρές ποσότητες των σπερμάτων ψυχανθών και για τη μελέτη της συμπεριφοράς των πρώτων υλών κατά την εξώθηση, πριν χρησιμοποιηθεί ο βιομηχανικός εξωθητής. Ο εξωθητής ήταν μετρίου μεγέθους, τύπου CLEXTRAL (BC 45), διπλού κοχλία με τρία μόνο στελέχη (modules) στον κοχλία (60 εκ. μήκος), χωρίς τμήμα επεξεργασίας ατμού. Για τον λόγο αυτό προστέθηκε ζεστό νερό στην μάζα του υλικού, σε ποσοστά παρόμοια με αυτά που θα προσέθετε ο εξωθητής, πριν από την επεξεργασία του υλικού. Μετά την επεξεργασία όλα τα υλικά ξηράνθηκαν.

Κατεργασία φυτικών πρώτων υλών

Μικρή ποσότητα των φυτικών πρώτων υλών, επεξεργασμένων και μη, που χρησιμοποιήθηκαν για τη σύνθεση των ιχθυοτροφών, αλέστηκαν, στη συνέχεια, σε συσκευή άλεσης δειγμάτων (ball milling) όπως περιγράφεται στην παράγραφο 2.2.1. Οι απαιτούμενες ποσότητες των φυτικών πρώτων υλών που χρησιμοποιήθηκαν ως πρώτες ύλες στα σιτηρέσια, ήταν πολύ μεγαλύτερες και για το λόγο αυτό κατεργάστηκαν σε σφαιρόμυλο που διαθέτει το Εργαστήριο Διατροφής του ΕΛ.ΚΕ.Θ.Ε. Το μέγεθος κόκκου των σπερμάτων ψυχανθών στην περίπτωση αυτή ήταν 0,8-1mm.

3.2.2. Πειραματικές εγκαταστάσεις – Συλλογή Περιττωμάτων

Τα πειράματα προσδιορισμού της πεπτικότητας των θρεπτικών συστατικών διεξήχθησαν στις πειραματικές εγκαταστάσεις του ΕΛ.ΚΕ.Θ.Ε.

Πρόκειται για μια πειραματική διάταξη κυλινδροκωνικών δεξαμενών, συνολικού όγκου 120 λίτρων, η κάθε μία με ειδικές εφαρμογές (παγίδες) στο κάτω μέρος τους, για τη συλλογή των περιττωμάτων των ιχθύων. Το σύστημα στηρίζεται στην γρήγορη καθίζηση του περιττωματικού υλικού στις ειδικές παγίδες (σωλήνες από σιλικόνη), οι οποίες είναι προσαρμοσμένες στο κάτω μέρος των παγίδων, έτσι ώστε να περιορίζεται η επιφάνεια επαφής με το νερό και να αποφεύγεται η έκπλυση (leaching) των θρεπτικών συστατικών, το οποίο θα οδηγούσε σε υπερεκτίμηση της πεπτικότητας των θρεπτικών συστατικών (Windell et al., 1978). Στην Εικόνα 3.1α παρουσιάζεται η ειδική αυτή κατασκευή.

Για την καλύτερη συντήρηση των θρεπτικών συστατικών των περιττωμάτων και την περαιτέρω μείωση της έκπλυσης τους, προσαρμόστηκαν επιπλέον μικρά δοχεία με πάγο στα οποία είχαν εμβαπτισθεί οι ειδικές παγίδες (Εικόνα 3.1β). Με τον τρόπο αυτό τα περιττώματα διατηρούνταν σε χαμηλές θερμοκρασίες μέχρι τη συλλογή τους το επόμενο πρωί.

Αμέσως μετά τη συλλογή τους, τα περιττώματα φυγοκεντρούνταν για την απομάκρυνση της περίσσειας του θαλασσινού νερού στις 2300rpm για 5min. Στη συνέχεια διατηρούνταν στους -20°C μέχρι τη λυοφιλίωσή τους.



Εικόνα 3.1α. Σύστημα συλλογής περιττωμάτων πειραμάτων πεπτικότητας



Εικόνα 3.1β. Σύστημα συλλογής περιττωμάτων με εμβαπτιση σε πάγο

3.2.3. Πειραματικός Σχεδιασμός- Πειραματικές Συνθήκες

Άτομα τσιπούρας μέσου βάρους 200g μοιράστηκαν τυχαία σε οκτώ (8) κυλινδρικές δεξαμενές, σε ομάδες των 11 ιχθύων. Παρασκευάστηκαν οκτώ (8) πειραματικά σιτηρέσια και σε πρώτη φάση οι ιχθύες ταΐζονταν ένα σιτηρέσιο ανά δεξαμενή. Οι ομάδες εγκλιματίστηκαν με τα υπό εξέταση σιτηρέσια για διάστημα επτά ημερών. Όλα τα σιτηρέσια προσφέρθηκαν σε ποσοστό 1,5% του σωματικού βάρους και χορηγούνταν με το χέρι σε δύο γεύματα την ημέρα. Η θερμοκρασία του νερού ήταν $27^{\circ}\text{C}\pm 1$. Η παροχή νερού ήταν συνεχής (4 L/min) και η φωτοπερίοδος ήταν 10 ώρες ημέρα, 14 ώρες νύχτα. Μετά το πέρας του εγκλιματισμού ξεκίνησε η συλλογή των περιττωμάτων για χρονικό διάστημα επτά ημερών.

Προκειμένου το πείραμα να πραγματοποιηθεί εις διπλούν μετά το τέλος της πρώτης φάσης πραγματοποιήθηκε ανακατανομή των σιτηρεσίων σε διαφορετικές δεξαμενές. Οι ιχθύες στη συνέχεια εγκλιματίστηκαν στα νέα σιτηρέσια για διάστημα επτά ημερών και η συλλογή των περιττωμάτων έγινε όπως περιγράφηκε στην πρώτη φάση.

3.2.4. Πειραματικά Σιτηρέσια

Παρασκευή Πειραματικών Σιτηρεσίων

Η διαδικασία παρασκευής που ακολουθήθηκε συνίσταται στο άλεσμα των πρώτων υλών, στην ανάμιξη τους στις επιθυμητές αναλογίες και τελικά στην σύμψηξη τους. Αυτή πραγματοποιήθηκε στις εγκαταστάσεις του ΕΛ.ΚΕ.Θ.Ε.

Για την καλύτερη ανάμιξη των πρώτων υλών με τον δείκτη, οξειδίο του χρωμίου (Cr_2O_3), χρησιμοποιήθηκαν μικροί αναμίκτες (mixer). Στη συνέχεια αναδεύθηκε όλη η ποσότητα των πρώτων υλών σε αναμίκτη με στρόβιλο. Ακολούθησε η προσθήκη κατάλληλης ποσότητας νερού προκειμένου να είναι δυνατή η σύμψηξη. Η τελευταία συνίσταται στην συμπίεση των υγρών μιγμάτων σε ειδικό μύλο (Hombart, A210) και την έξοδό τους με τη μορφή «μακαρονιού», επιθυμητής διαμέτρου ανάλογα με την ηλικία των ιχθύων. Τα παραγόμενα σύμπηκτα ξηράθηκαν σε φούρνο με αέρα σε θερμοκρασία μέχρι 38°C , για την αποφυγή καταστροφής θερμοευαίσθητων θρεπτικών συστατικών όπως των πρωτεϊνών, βιταμινών αλλά και προς αποφυγήν οξείδωσης λιπαρών οξέων. Στο τελικό στάδιο παρασκευής, τα σύμπηκτα κόπηκαν με το χέρι σε μέγεθος ανάλογο της ηλικίας των ιχθύων και διατηρήθηκαν στους 4°C ως τη χρήση τους.

Σύνθεση και Σύσταση Πειραματικών Σιτηρεσίων

Η σύνθεση και η σύσταση των οκτώ πειραματικών σιτηρεσίων που χρησιμοποιήθηκαν στην παρούσα μελέτη δίνονται στον Πίνακα 1. Τα σιτηρέσια σχεδιάστηκαν ώστε να είναι ισοπρωτεϊνικά και ισοενεργειακά. Χρησιμοποιήθηκαν δύο σιτηρέσια μάρτυρες. Το ένα σιτηρέσιο (CB) περιείχε μόνο ιχθυάλευρο ως πηγή πρωτεϊνών και άλευρο σίτου ως πηγή υδατανθράκων. Στο δεύτερο σιτηρέσιο μάρτυρα (CA) μέρος του ιχθυάλευρου και του σίτου υποκαταστάθηκε από 20% σογιάλευρο εξωθημένο. Τα υπόλοιπα έξι σιτηρέσια περιείχαν τα σπέρματα ψυχανθών επεξεργασμένα ή μη, που υποκαθιστούσαν μερικώς το ιχθυάλευρο και πλήρως το αλεύρι σίτου. Σε όλα τα σιτηρέσια προστέθηκαν, ιχθυέλαιο ως πηγή λιπών και μονοφωσφορικό ασβέστιο (MCP) με σκοπό να καλυφθούν οι απαιτήσεις των ιχθύων σε ασβέστιο και φωσφόρο. Επίσης, προστέθηκε το ακόλουθο εμπορικό μείγμα βιταμινών και ιχνοστοιχείων (Biomar Hellenic) ανά κιλό σιτηρεσίου:

Βιταμίνες

Βιταμίνη A: 12330 IU , βιταμίνη D3: 900 IU, βιταμίνη K3: 18mg, βιταμίνη B1: 36mg, βιταμίνη B2: 40,5mg, βιταμίνη B3: 117mg, βιταμίνη B5: 64,8mg, βιταμίνη B6: 22,5mg, βιταμίνη B8: 0,9mg, βιταμίνη B12: 0,054mg, φυλλικό οξύ: 6,3mg.

Ιχνοστοιχεία

Κοβάλτιο: 0,8mg, Χαλκός: 3,2mg, Ιώδιο: 2,18mg, Μαγγάνιο: 99,2mg, Σελήνιο: 0,29mg, Ψευδάργυρος :128mg.

Εκτός αυτών προστέθηκε βιταμίνη C 600mg, βιταμίνη E 50mg, χολίνη 3000mg, ινοσιτόλη 500mg και FeSO₄ 100mg.

Τέλος, προστέθηκε και ο δείκτης οξειδίου του χρωμίου σε ποσοστό 1%.

3.2.5. Χημικές αναλύσεις

Οι χημικές αναλύσεις περιελάμβαναν τον προσδιορισμό της ολικής σύστασης, των υδατανθράκων, των ταννινών και του φυτικού οξέος των σπερμάτων ψυχανθών, επεξεργασμένων και μη, καθώς και του εξωθημένου σογιάλευρου, που χρησιμοποιήθηκαν για την παρασκευή των σιτηρεσίων. Οι μεθοδολογίες που ακολουθήθηκαν περιγράφονται στην παράγραφο 2.2.2. του κεφαλαίου 2 με την παρακάτω τροποποίηση στον προσδιορισμό των λιπών των εξωθημένων πρώτων υλών: Πριν τον προσδιορισμό στην ειδική συσκευή Soxhlet δείγματα των πρώτων υλών υδrolύθηκαν στη συσκευή υδρόλυσης (Foss Tecator) με διάλυμα HCl 3N για αποτελεσματικότερη εκχύλιση των λιπών.

Η ολική σύσταση των σιτηρεσίων, το περιεχόμενο άμυλο και οι μη αμυλούχοι πολυσακχαρίτες (ΜΑΠ) προσδιορίστηκαν σύμφωνα με την παράγραφο 2.2.2.

3.2.6. Προσδιορισμός δεικτών πεπτικότητας

Ο σχετικός δείκτης % πεπτικότητας του κάθε θρεπτικού συστατικού (πρωτεΐνης, λίπους, άμυλο) υπολογίστηκε, μέσω της διαφοράς της συγκέντρωσης του δείκτη στην τροφή και του δείκτη στα περιττώματα, χρησιμοποιώντας την εξίσωση (Hardy, 1989, Maynard et al., 1981) :

$$(\%) \Sigma. \Delta. \Pi. \Theta \rho. = 100 - [\{ (\% \text{Cr}_2\text{O}_3 \text{ σιτηρεσίου} \div \% \text{Cr}_2\text{O}_3 \text{ περιττωμάτων}) * (\% \Theta \Sigma \text{ περιττωμάτων}) \div (\% \Theta \Sigma \text{ σιτηρεσίου}) \} * 100]$$

Όπου, ΘΣ: θρεπτικό συστατικό και

(%) Σ.Δ.Π. Θρ. : σχετικός δείκτης πεπτικότητας για κάθε θρεπτικό συστατικό (πρωτεΐνη, λίπος, άμυλο)

3.2.7. Στατιστική επεξεργασία των αποτελεσμάτων του πειράματος πεπτικότητας

Για τη στατιστική επεξεργασία των αποτελεσμάτων χρησιμοποιήθηκε το στατιστικό υπολογιστικό πρόγραμμα Statgraphics για Windows 98 και εφαρμόστηκε η ανάλυση διακύμανσης των τιμών (ANOVA). Οι συγκρίσεις των μέσων όρων έγιναν με το κριτήριο Tukey σε επίπεδο σημαντικότητας 95% ($P < 0.05$). Οι τιμές παρουσιάζονται μαζί με την τυπική απόκλιση ($\pm \text{T.A}$) από το μέσο όρο.

Πίνακας 3.1. Σύνθεση και ποσοστιαία σύσταση (%) των πεφραματικών συτηρεσίων σε άτομα τυπούρας.

	CA	CB	ChP	ChPx	ChPD	ChPDx	P	Px
Ιχθυάλευρο	48,2	60,5	50,7	51,7	52,7	52,4	53,5	54,5
Σογιάλευρο εξωθ	20							
Άλευρο σίτου εξωθ	18,28	27,08						
MCP*	1,1	1,1	1,1	1,1	1,1	1,1	1,1	1,1
Ιχθυέλαιο	11,19	10,2	9,5	9,9	9,3	9,8	10,6	10,7
Βιταμίνες/ Ιχνοστοιχεία	1,12	1,12	1,12	1,12	1,12	1,12	1,12	1,12
Ρεβυθι/ Ρεβυθι εξωθ			37,48	36,08				
Ρεβυθι αποφ/ Ρεβ. αποφ.εξωθ.					35,68	35,48		
Μπιζέλι/ Μπιζέλι εξωθ							33,58	32,48
C ₂ O ₃	1	1	1	1	1	1	1	1
Ολική σύσταση επι ξηρού (%)								
Ξηρό υλικό	92,46	92,05	90,03	91,74	90,23	92,54	91,39	92,57
Πρωτεΐνη	48,92	48,20	48,09	48,21	49,16	48,77	48,21	48,20
Λιπος	16,96	15,73	17,27	16,76	16,41	16,86	16,25	15,64
Άμυλο	14,71	20,80	15,80	16,00	16,36	16,72	16,53	16,64
Τέφρα	10,80	10,97	10,37	10,64	10,72	10,76	10,76	10,74
Ολικοί ΜΑΠ**	6,50	4,43	5,12	4,00	4,11	4,00	5,40	5,30

* MCP: Μονοφωσφορικό ασβέστιο

**ΜΑΠ:Μη αμυλούχοι πολυσακχαρίτες

3.3. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

- **Σύσταση Πρώτων Υλών**

Οι τιμές της σύστασης (% ξηρού βάρους) των σπερμάτων ψυχανθών επεξεργασμένων και μη, σε θρεπτικούς και αντιθρεπτικούς παράγοντες δίνονται στον Πίνακα 3.2.

Οι τιμές της τέφρας ήταν παρόμοιες για τα επεξεργασμένα ή μη σπέρματα ρεβυθιού και μπιζελιού. Οι τιμές του λίπους για το ρεβύθι ήταν μεγαλύτερες από το μπιζέλι. Η αποφλοιώση δεν επηρέασε το ποσοστό του λίπους, ενώ μόνο στο μπιζέλι επηρεάστηκε από την εξώθηση.

Η σύσταση των σπερμάτων σε πρωτεΐνη κυμάνθηκε σε 25-28%. Τα ολόκληρα σπέρματα ρεβυθιού είχαν και στις δύο περιπτώσεις (εξωθημένα και μη) 2-3% περισσότερη πρωτεΐνη (σε απόλυτες μονάδες) από τα μπιζέλια. Το ποσοστό της πρωτεΐνης των αποφλοιωμένων σπερμάτων του κτηνοτροφικού ρεβυθιού δε διέφερε στατιστικά με τα ολόκληρα σπέρματα. Παρόμοια αποτελέσματα έδειξε και η εξώθηση είτε των ολόκληρων είτε των αποφλοιωμένων σπερμάτων.

Όσον αφορά τους πεπτούς υδατάνθρακες, οι τιμές της σακχαρόζης κυμάνθηκαν σε 0,8-2%, ενώ επηρεάστηκαν από την αποφλοιώση και την εξώθηση και στα δύο σπέρματα ψυχανθών. Το ποσοστό του περιεχόμενου αμύλου κυμάνθηκε σε 38-48%. Το μπιζέλι είχε υψηλότερη περιεκτικότητα σε άμυλο από το ολόκληρο ρεβύθι. Σε αντίθεση με την εξώθηση, η αποφλοιώση αύξησε το ποσοστό του αμύλου των ρεβυθιών κατά 8-9% (σε απόλυτες μονάδες). Οι τιμές των ολιγοσακχαριτών (α-γαλακτοσίδια), κυμάνθηκαν από 3 έως 7%, ενώ αυξημένη περιεκτικότητα παρατηρήθηκε στο μπιζέλι σε σχέση με το ρεβύθι. Από τους δύο τύπους επεξεργασίας που εφαρμόστηκαν μόνο η εξώθηση επηρέασε στατιστικά σημαντικά το ποσοστό των ολιγοσακχαριτών.

Οι τιμές των μη αμυλούχων πολυσακχαριτών (ΜΑΠ) στα μη επεξεργασμένα σπέρματα του μπιζελιού και ρεβυθιού κυμάνθηκαν 12-14%. Η αποφλοιώση μείωσε στατιστικά σημαντικά την περιεκτικότητα των ΜΑΠ κατά 23 και 34% στο ακατέργαστο και στο κατεργασμένο με εξώθηση ρεβύθι, αντίστοιχα. Η εξώθηση αύξησε σημαντικά τους ΜΑΠ μόνο στην περίπτωση του μπιζελιού.

Οι τιμές των ολικών ταννινών στο ρεβύθι ήταν 0,27-0,32% και στο μπιζέλι 0,6%. Το ποσοστό του φυτικού οξέος βρέθηκε 0,9-1,2%. Η εξώθηση δε φάνηκε να επηρεάζει το ποσοστό των ταννινών και του φυτικού οξέος. Η αποφλοιώση αύξησε στατιστικά σημαντικά το ποσοστό του φυτικού οξέος κατά 32-33%.

- **Πεπτικότητα**

Οι συντελεστές πεπτικότητας των θρεπτικών συστατικών για όλα τα πειραματικά σιτηρέσια δίνονται στα Ιστογράμματα 3.1, 3.2 και 3.3.

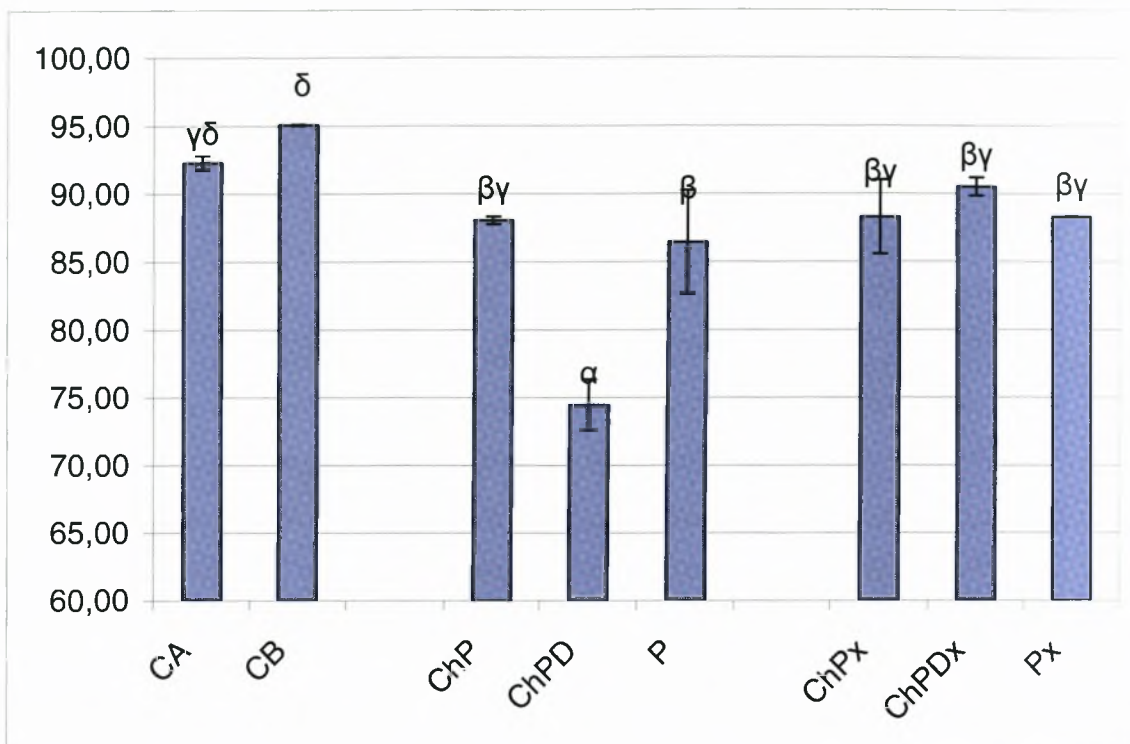
Οι τιμές του συντελεστή πεπτικότητας των πρωτεϊνών κυμάνθηκαν από 86,4% έως 95,1% με εξαίρεση το αποφλοιωμένο κτηνοτροφικό ρεβύθι που έδειξε χαμηλότερη πεπτικότητα. Η υψηλότερη τιμή μετρήθηκε για το σιτηρέσιο μάρτυρα CB, που περιείχε ιχθυάλευρο και ήταν σημαντικά υψηλότερο από τα σιτηρέσια που περιείχαν κτηνοτροφικά όσπρια. Το σιτηρέσιο που περιείχε σόγια, CA, έδωσε ενδιάμεσες τιμές. Τα σιτηρέσια που περιείχαν εξωθημένες πρώτες ύλες δε διέφεραν στατιστικά από τις μη εξωθημένες με εξαίρεση τα σιτηρέσια που περιείχαν ρεβύθι αποφλοιωμένο. Η τιμή του συντελεστή πεπτικότητας αυξήθηκε από 74,4% στο σιτηρέσιο ChPD σε 90,5% στο σιτηρέσιο ChPDx.

Η πεπτικότητα των λιπών ήταν υψηλή και κυμάνθηκε από 89% έως 97,2% με εξαίρεση και πάλι το σιτηρέσιο ChPD, που παρουσίασε χαμηλότερη τιμή. Τα δύο σιτηρέσια μάρτυρες (CA, CB), καθώς και το σιτηρέσιο ChPDx που περιείχε ρεβύθι αποφλοιωμένο και εξωθημένο, έδωσαν τις υψηλότερες τιμές πεπτικότητας των λιπών. Γενικά, η πεπτικότητα των λιπών των σιτηρεσίων που περιείχαν εξωθημένα σπέρματα ψυχανθών ήταν μεγαλύτερη από αυτή των αντίστοιχων μη εξωθημένων και ιδιαίτερα αυτή του σιτηρεσίου, που περιείχε αποφλοιωμένο ρεβύθι.

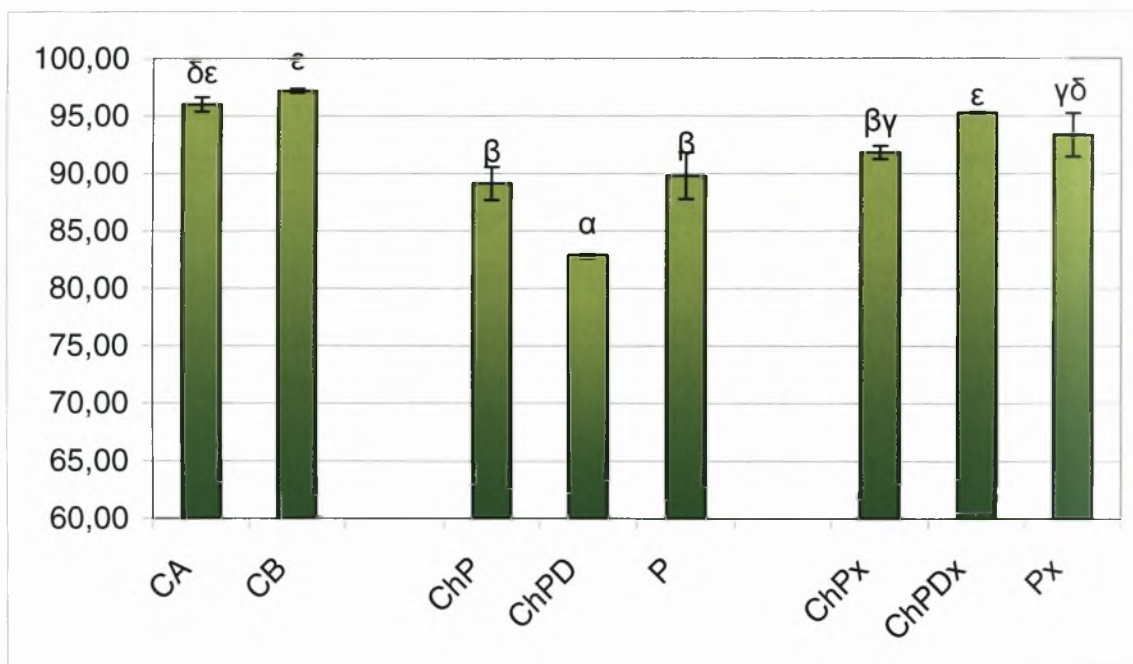
Οι τιμές του συντελεστή πεπτικότητας του αμύλου ήταν υψηλές για τα σιτηρέσια μάρτυρες και για τα σιτηρέσια που περιείχαν τις εξωθημένες πρώτες ύλες. Αυτές οι τιμές κυμάνθηκαν από 93,6 έως 99,7%. Οι τιμές για τα σιτηρέσια με τα μη εξωθημένα σπέρματα ψυχανθών ήταν σημαντικά χαμηλότερες (38,4 και 44,5%). Η τιμή πεπτικότητας του αμύλου του σιτηρεσίου ChPD δεν εμφανίζεται στον πίνακα λόγω απώλειας του δείγματος των περιττωμάτων.

Πίνακας 3.2. Ποσοστιαία ύδαση επί ξηρού (%) των σπερμάτων μυχχανθών, επεξεργασμένων και μη. Οι τιμές παρουσιάζονται ως το μέσο όρο± τυπική απόκλιση (n= 2). Οι εκθέτες αναφέρονται σε στατιστικές διαφορές στην ίδια στήλη.

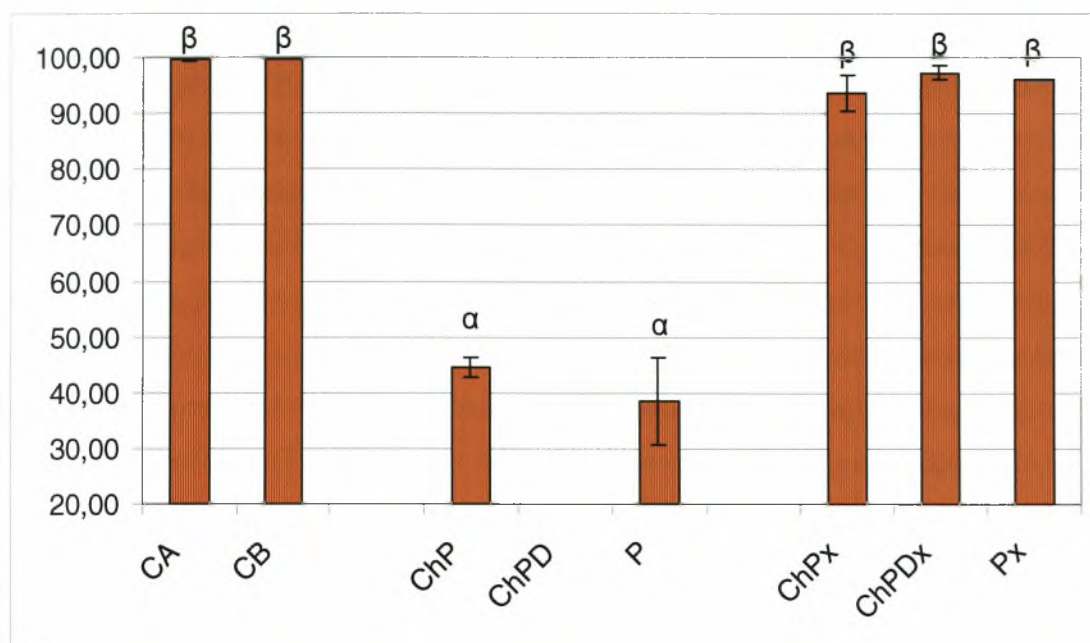
Δείγμα	Τέφρα	Πρωτεΐνη	Λίπος	Άμυλο	Σουκρόζη	ΟΣ	ΜΑΠ	Ταννίνες	Φυτικό Οξύ
Σόγια εξωθήμενη	6,85 0,02 ^ε	51,43 0,03 ^δ	4,89 0,20 ^{νδ}	1,12 0,03 ^α	5,58 0,06 ^δ	6,81 0,12 ^δ	17,89 0,35 ^ε	0,77 0,08 ^γ	2,01 ± 0,09 ^γ
Ρεβύθι ολοκλήρο	3,02 0,02 ^γ	28,32 0,15 ^γ	4,87 0,11 ^γ	38,50 0,23 ^β	1,96 0,02 ^γ	3,39 0,05 ^α	13,43 0,22 ^δ	0,27 0,02 ^α	0,92 0,02 ^α
Ρεβύθι αποφλοιωμ.	2,63 0,01 ^{αβ}	27,35 0,07 ^{αγ}	5,17 0,1 ^{νδ}	46,44 0,18 ^γ	1,77 0,10 ^β	3,46 0,07 ^α	10,41 0,02 ^β	0,28 0,02 ^α	1,21 0,02 ^β
Ρεβύθι ολοκλήρο- εξωθήμενο	3,29 0,00 ^δ	28,17 0,75 ^γ	4,81 0,09 ^γ	38,36 0,25 ^β	1,19 0,05 ^β	5,15 0,04 ^γ	13,42 0,27 ^δ	0,28 0,03 ^α	0,91 0,02 ^α
Ρεβύθι αποφλοιωμ.- εξωθήμενο	2,81 0,03 ^γ	26,80 0,31 ^{αβγ}	5,35 0,08 ^δ	47,69 0,20 ^{νδ}	1,77 0,04 ^γ	4,41 0,06 ^β	8,86 0,05 ^α	0,32 0,00 ^α	1,21 0,02 ^β
Μπιζέλι ολοκλήρο	2,53 0,01 ^α	25,59 0,03 ^{αβ}	1,20 0,01 ^α	48,29 0,36 ^δ	1,20 0,02 ^β	6,75 0,11 ^δ	12,40 0,22 ^γ	0,62 0,03 ^β	1,22 0,02 ^β
Μπιζέλι Ολοκλήρο- εξωθήμενο	2,73 0,02 ^{αβ}	24,95 0,82 ^α	1,78 0,04 ^β	47,44 0,32 ^{νδ}	0,80 0,02 ^α	5,47 0,09 ^γ	14,40 0,16 ^δ	0,59 0,00 ^β	1,20 0,00 ^β



Ιστόγραμμα 3.1. Ιστόγραμμα των σχετικών δεικτών πεπτικότητας των πρωτεϊνών (%) των σιτηρεσίων σε άτομα τσιπούρας (200g). Διαφορετικά γράμματα αναφέρονται σε στατιστικές διαφορές μεταξύ των μέσων όρων (n=2).



Ιστόγραμμα 3.2. Ιστόγραμμα των σχετικών δεικτών πεπτικότητας των λιπών (%) των σιτηρεσίων σε άτομα τσιπούρας (200g). Διαφορετικά γράμματα αναφέρονται σε στατιστικές διαφορές μεταξύ των μέσων όρων (n=2).



Ιστόγραμμα 3.3. Ιστόγραμμα των σχετικών δεικτών πεπτικότητας του αμύλου (%) των σιτηρεσιών σε άτομα τσιπούρας (200g). Διαφορετικά γράμματα αναφέρονται σε στατιστικές διαφορές μεταξύ των μέσων όρων (n=2).

3.4. ΣΥΖΗΤΗΣΗ

Σύσταση σπερμάτων ψυχανθών

Η σύσταση των ακατέργαστων σπερμάτων του μπιζελιού και ρεβυθιού σε θρεπτικούς και αντιθρεπτικούς παράγοντες κυμάνθηκε στο εύρος των τιμών που έχουν αναφερθεί στη βιβλιογραφία (Castell et al., 1996, Knudsen, 1997, Perez-Maldonado et al., 1999, Rehman & Shah, 2005, Saini & Knights, 1984, Wang & Daun, 2004).

Το ποσοστό του βάρους του φλοιού σε σχέση με ολόκληρο το σπέρμα διαφέρει από είδος σε είδος και οι επιδράσεις της αποφλοιώσης στη σύσταση των σπερμάτων είναι σημαντικότερες όσο μεγαλύτερο ποσοστό καταλαμβάνει ο φλοιός. Το ποσοστό που καταλαμβάνει ο φλοιός σε ποικιλίες σπερμάτων ψυχανθών έχει αναφερθεί σε προηγούμενη μελέτη σε ποικιλία ρεβυθιού να είναι 4,4%, παρόμοιο με το ποσοστό στις φακές (4,5%) αλλά χαμηλότερο από αυτό στα φασόλια (kidney beans) (6,2%) (Champ et al., 1986). Επίσης, το ποσοστό διαφέρει μεταξύ ποικιλιών του ίδιου είδους. Έτσι τα ρεβύθια τύπου desi έχουν διπλάσιο ή τριπλάσιο ποσοστό φλοιού %κ.β. σπέρματος (12-17%), σε σχέση με ποικιλίες τύπου-kabuli (4,5-7%) (Attia et al., 1994, Saini & Knights, 1984).

Το εξωτερικό περιβλήμα των σπερμάτων ψυχανθών αποτελείται κυρίως από μη αμυλούχους πολυσακχαρίτες (ΜΑΠ). Στο ρεβύθι έχει αναφερθεί ότι 73% του φλοιού

αποτελείται από ΜΑΠ (Champ et al., 1986) ενώ στο μπιζέλι 80,5% (Brillouet et al., 1988). Οι κύριοι πολυσακχαρίτες είναι η κυτταρίνη, οι ημικυτταρίνες και η πηκτινή. Η λιγνίνη υπάρχει σε χαμηλά ποσοστά (1,2-1,4% στο ρεβύθι και στο μπιζέλι) μερικώς συνδεδεμένη με την κυτταρίνη και τις ημικυτταρίνες των τοιχωμάτων (Champ et al., 1986, Knudsen, 1997). Οι κύριοι μονοσακχαρίτες των ΜΑΠ που έχουν βρεθεί στο ρεβύθι είναι η αραβινόζη (πεντόζη), η γλυκόζη (εξόζη) και τα ουρονικά οξέα (γλυκουρονικά και γαλακτουρονικά) (Brillouet et al., 1988, Champ et al., 1986). Η αποφλοιώση επομένως ήταν αναμενόμενο να οδηγήσει σε μείωση του ποσοστού των ΜΑΠ, αυξάνοντας κατά συνέπεια το ποσοστό του αμύλου. Το άμυλο βρίσκεται στις κοτυληδόνες των σπερμάτων ψυχανθών και η αφαίρεση του φλοιού αυξάνει τη συμβολή του στην επί τοις εκατό κατά βάρος σύσταση του σπέρματος. Τα αποτελέσματα συμφωνούν με προηγούμενη μελέτη (Attia et al., 1994), όπου η αποφλοιώση αύξησε την ποσότητα του αμύλου και μείωσε την ποσότητα των διαιτητικών ινωδών σε άλλες ποικιλίες ρεβυθιού τύπου kabuli. Στην ίδια μελέτη δεν μεταβλήθηκε η σύσταση της σακχαρόζης και των ΟΣ.

Η αποφλοιώση δεν αύξησε την πρωτεϊνική σύσταση του ρεβυθιού (σε σχέση με το ολόκληρο ρεβύθι), σε αντίθεση με άλλες μελέτες σε ρεβύθια, μπιζέλια, κουκιά και φασόλια (Alonso et al., 1998, 2000b, Attia et al., 1994) παρόλο που οι πρωτεΐνες βρίσκονται όπως και το άμυλο στις κοτυληδόνες. Στην παρούσα μελέτη, ο τρόπος αποφλοιώσης είχε ως αποτέλεσμα την απώλεια τμήματος της εξωτερικής στοιβάδας του σπέρματος (περίπου το 30% του σπέρματος), γεγονός που πιθανώς απομάκρυνε και ποσοστό των πρωτεϊνών των κοτυληδόνων και δε συνέβαλλε τελικά στην αύξηση της πρωτεϊνικής σύστασης του ρεβυθιού σε σχέση με το ολόκληρο ρεβύθι. Ανάλογο αποτέλεσμα σχετικά με το πρωτεϊνικό περιεχόμενο ρεβυθιού και μπιζελιού μετά από αποφλοιώση έχει αναφερθεί και στο παρελθόν και αποδόθηκε σε απομάκρυνση μέρους της εξωτερικής στιβάδας της κοτυληδόνας (Klameczynska et al., 2001). Μελέτη κλασμάτων της κοτυληδόνας σπερμάτων μπιζελιού έδειξε ότι η κατανομή του πρωτεϊνικού περιεχομένου είναι ανομοιόμορφη και μεγαλύτερο ποσοστό πρωτεϊνών περιέχεται στο εξωτερικό κλάσμα που αποτελεί το 10% κ.β. της κοτυληδόνας (Kosson et al., 1994b).

Μελέτες της σύστασης των ρεβυθιών τύπου desi και kabuli σε πολυφαινόλες, έχουν δείξει ότι τα desi έχουν διπλάσιο ποσοστό πολυφαινολών από τα kabuli. Με την αποφλοιώση η ποσότητα τους μειώθηκε, δείχνοντας ότι ο φλοιός περιέχει επίσης και ένα ποσοστό ταννινών (Singh & Jambunathan, 1981). Μείωση των πολυφαινολών

με την αποφλοιώση παρατηρήθηκε και σε άλλη εργασία (Attia et al., 1994), ενώ οι Alonso et al. (1998) δεν παρατήρησαν αλλαγή στο επίπεδο των πολυφαινολών σε ποικιλίες του μπιζελιού με την αποφλοιώση, αποδίδοντας το στο γεγονός ότι το μεγαλύτερο ποσοστό των πολυφαινολών στις παραπάνω ποικιλίες δεν περιέχονταν στο φλοιό. Τα αποτελέσματα της παρούσας μελέτης στο ρεβύθι συμφωνούν με την τελευταία αναφορά. Αναφορικά με το φυτικό οξύ, η αποφλοιώση αύξησε την περιεκτικότητά του, σε συμφωνία με προηγούμενη μελέτη σε κουκιά και φασόλια (Alonso et al., 2000b) δείχνοντας αυξημένη παρουσία του στις κοτυληδόνες του σπέρματος.

Γενικότερα, η κατεργασία των σπερμάτων ψυχανθών με εξώθηση δεν αναμένεται να δημιουργεί αλλαγές στη σύστασή τους πλην των περιπτώσεων στις οποίες επφέρονται αλλαγές, που επιδρούν στον χημικό προσδιορισμό κάποιου θρεπτικού συστατικού. Έτσι, η μικρή τάση αύξησης του αμύλου και μείωσης των ΜΑΠ στο αποφλοιωμένο ρεβύθι μετά από εξώθηση θα μπορούσε να αποδοθεί στην ευκολότερη διάσπαση των κόκκων του αμύλου από την αμυλάση που χρησιμοποιείται στην μέθοδο προσδιορισμού του μετά από την κατεργασία του με εξώθηση. Αυτό συνδέεται άμεσα με την μείωση των ΜΑΠ, καθώς το άπειπτο άμυλο (hydrolysis resistant starch), βάσει της μεθόδου που χρησιμοποιείται, προσδιορίζεται σαν ΜΑΠ. Μείωση της ποσότητας του αμύλου και των ΜΑΠ έχει αναφερθεί κατά την εξώθηση μπιζελιών (Alonso et al., 2000a). Οι συγγραφείς το αποδίδουν στην υδρόλυση που πραγματοποιείται κατά τη διάρκεια της εξώθησης, αυξάνοντας τα ολικά ελεύθερα σάκχαρα. Αντίθετα παρατηρήθηκαν στο μπιζέλι. Γενικότερα, στο αποφλοιωμένο ρεβύθι και στο μπιζέλι, παρατηρήθηκε ότι μετά από εξώθηση μεταβλήθηκε η ποσοστιαία σύσταση των υδατανθράκων που προσδιορίστηκαν (άμυλο, σακχαρόζη, ΟΣ και ΜΑΠ). Το συνολικό τους άθροισμα όμως παρέμεινε σταθερό, πριν και μετά την εξώθηση, δείχνοντας ότι η θερμική κατεργασία με εξώθηση έχει διαφορετική επίδραση στα διάφορα είδη σπερμάτων ψυχανθών. Το αποτέλεσμα της εξώθησης εξαρτάται από τη σύσταση των υδατανθράκων που περιέχεται στο κάθε είδος ή στα αποφλοιωμένα σπέρματα (Knudsen, 1997).

Η εξώθηση στην παρούσα μελέτη δε μείωσε τους αντιθρεπτικούς παράγοντες, ταννίνες και φυτικό οξύ. Ελάχιστη μείωση των ταννινών έχουν αναφερθεί σε διάφορα είδη σπερμάτων ψυχανθών μετά από εξώθηση. Η μείωση έχει αποδοθεί στη θερμική αποικοδόμηση των μορίων των ταννινών, στο σχηματισμός αδιάλυτων συμπλόκων, ή στην αλλαγή της χημικής τους δραστηριότητας (Abd El-Hady &

Habiba, 2003, Alonso et al., 1998, 2000a, 2000b). Στις μελέτες αυτές, η ανάλυση με υγρή χρωματογραφία έδειξε ότι μετά από εξώθηση τα μόρια του φυτικού οξέος (εξαφωσφορική ινοσιτόλη) μετατρέπονται σε πέντα-, τέτρα-, και τριφωσφορικά. Αυξημένη ποσότητα των χαμηλότερων μορφών φωσφορικών της ινοσιτόλης έχει βρεθεί στα ρεβύθια, τα φασόλια, τους δόλιχους και τις φακές μετά από εξώθηση σε σχέση με τα ακατέργαστα (Padmashri et al., 1995). Στην παρούσα μελέτη η ποσότητα του φυτικού οξέος δεν μειώθηκε με την εξώθηση των σπερμάτων ψυχανθών, καθώς η μέθοδος προσδιορισμού του φυτικού οξέος με ιονταλλαγή δε διαχωρίζει το φυτικό οξύ (IP₆-εξαφωσφορική μυο-ινοσιτόλη) από τις χαμηλότερες μορφές φωσφορικών της ινοσιτόλης (IP₅-IP₁) (Oatway et al., 2001).

- Πεπτικότητα

Πεπτικότητα πρωτεϊνών

Στην παρούσα μελέτη η προσθήκη 35% περίπου ακατέργαστων σπερμάτων ρεβυθιού και μπιζελιού στα σιτηρέσια διατήρησε την πεπτικότητα πρωτεϊνών σε υψηλά επίπεδα (>85%). Οι τιμές παρόλα αυτά ήταν στατιστικά χαμηλότερες από το σιτηρέσιο CB που περιείχε ιχθυάλευρο. Προσθήκη ακατέργαστων σπερμάτων μπιζελιού, σε ποσοστό 50%, έχει αναφερθεί σε σιτηρέσια για την πέρκα (*Bidyanus bidyanus*) όπου η πεπτικότητα των πρωτεϊνών βρέθηκε επίσης υψηλή (84%) (Allan & Booth, 2004).

Η επίδραση της αποφλοιώσης σπερμάτων ψυχανθών, όπως μπιζέλι, ρεβύθι, κουκιά, κτηνοτροφικό βίκο και λούπινα, στην πεπτικότητα των πρωτεϊνών έχει μελετηθεί σε σιτηρέσια για την πέρκα (*Bidyanus bidyanus*) (παμφάγο είδος του γλυκού νερού), τα αποτελέσματα των οποίων έδειξαν ότι η απομάκρυνση του φλοιού αύξησε την πεπτικότητα των πρωτεϊνών για όλα τα σιτηρέσια εκτός από αυτά που περιείχαν ρεβύθι και λούπινα, στα οποία η πεπτικότητα παρέμεινε σταθερή (Allan & Booth, 2004, Booth et al., 2001). Σε άλλη μελέτη (Thiessen et al., 2003) ανέφεραν ότι η αποφλοιώση στο μπιζέλι δε βελτίωσε την πεπτικότητα των πρωτεϊνών, παρόλο που μειώθηκε η ποσότητα των περιεχόμενων ινωδών του μπιζελιού.

Η προσθήκη αποφλοιωμένου ρεβυθιού στο σιτηρέσιο είχε ως αποτέλεσμα τη μείωση της πεπτικότητας των πρωτεϊνών. Με την αποφλοιώση έχει αναφερθεί να αυξάνεται το ποσοστό (%κ.β. σπόρου) των αναστολέων θρυψίνης σε ορισμένες ποικιλίες μπιζελιού (Alonso et al., 1998), οι οποίοι δεσμεύουν τη θρυψίνη καθιστώντας το ένζυμο ανενεργό για υδρόλυση. Η εξώθηση αύξησε σημαντικά την

πεπτικότητα των πρωτεϊνών για το σιτηρέσιο ChPDx και μάλιστα στο επίπεδο του σιτηρεσίου με το εξωθημένο σογιάλευρο, όπου οι αναστολές θρυψίνης είχαν απενεργοποιηθεί. Τα αποτελέσματα του προσδιορισμού των αναστολών θρυψίνης στα σπέρματα μπιζελιού και ρεβυθιού, που πραγματοποιήθηκε στο Εργαστήριο Γενετικής, Συγκριτικής και Εξελικτικής Βιολογίας του Τμήματος Βιοχημείας και Βιοτεχνολογίας του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας, επιβεβαιώνουν τη μείωση των αναστολών θρυψίνης μετά από εξώθηση. Αντιθέτως, η αποφλοιώση των σπερμάτων ρεβυθιού δεν είχε επίδραση στους αναστολές θρυψίνης. Δεν υπάρχουν βιβλιογραφικές αναφορές που να εξηγούν τη παρατηρούμενη μείωση. Η απομάκρυνση μέρους των πρωτεϊνών της εξωτερικής στοιβάδας με την αποφλοιώση, στην παρούσα μελέτη, σε συνδυασμό με την παρουσία των αναστολών θρυψίνης πιθανώς οδήγησαν στη μείωση της πεπτικότητας των πρωτεϊνών. Για την εύρεση των αιτιών αυτής της μείωσης χρειάζεται περισσότερη διερεύνηση.

Η αύξηση της πεπτικότητας των πρωτεϊνών μετά από εξώθηση για τα μη αποφλοιωμένα σπέρματα ψυχανθών ήταν πολύ μικρή και όχι στατιστικά σημαντική. Επίσης, η πεπτικότητα των πρωτεϊνών του σιτηρεσίου που περιείχε εξωθημένο και αποφλοιωμένο ρεβύθι δε διέφερε από αυτή του σιτηρεσίου που περιείχε εξωθημένο και ολόκληρο ρεβύθι. Αντιθέτως, σημαντική αύξηση της πεπτικότητας των πρωτεϊνών έχει παρατηρηθεί σε σιτηρέσια που περιείχαν εξωθημένα και αποφλοιωμένα μπιζέλια σε σχέση με τα ολόκληρα και εξωθημένα για την πέρκα *Bidyanus bidyanus* (Mitchell) (Allan & Booth, 2004) και σε σχέση με ολόκληρα μπιζέλια που είχαν επεξεργασθεί με ξηρή θέρμανση (υπέρυθρη ακτινοβολία) για τουπούρες νεαρής ηλικίας (Pereira & Oliva-Teles, 2002).

Τα εξωθημένα σιτηρέσια που περιείχαν σπέρματα ψυχανθών είτε ολόκληρα είτε αποφλοιωμένα, στην παρούσα μελέτη, είχαν στατιστικά χαμηλότερη πεπτικότητα πρωτεϊνών σε σχέση με το σιτηρέσιο που περιείχε ιχθυάλευρο (CB). Στη βιβλιογραφία τα αποτελέσματα που μελετούν την επίδραση της εξώθησης στην πεπτικότητα των πρωτεϊνών δε συμφωνούν μεταξύ τους. Έτσι, σε άτομα τουπούρας βάρους 100g, η προσθήκη εξωθημένου και αποφλοιωμένου μπιζελιού μείωσε στατιστικά σημαντικά την πεπτικότητα των πρωτεϊνών σε σχέση με το σιτηρέσιο μάρτυρα που περιείχε ιχθυάλευρο, σε συμφωνία με την παρούσα μελέτη. Αντιθέτως, η προσθήκη μπιζελιού, εξωθημένου και αποφλοιωμένου, σε επίπεδο 30% σε σιτηρέσια για νεαρά άτομα λαυρακιού δεν επηρέασε την πεπτικότητα των πρωτεϊνών σε σχέση με το σιτηρέσιο

μάρτυρα που περιείχε ιχθυάλευρο και παρέμεινε στα ίδια επίπεδα με την παρούσα μελέτη (95%) (Gouveia & Davies, 2000).

Πεπτικότητα λιπών

Οι τιμές της πεπτικότητας των λιπών ήταν υψηλές σε όλα τα σιτηρέσια. Αυτό οφείλεται στο γεγονός ότι η πηγή λιπών στα σιτηρέσια ήταν το ιχθυέλαιο, το οποίο είναι γνωστό ότι έχει υψηλή πεπτικότητα.

Τα αίτια της μειωμένης πεπτικότητας του σιτηρεσίου που περιείχε το αποφλοιωμένο ρεβύθι δεν είναι αποσαφηνισμένα. Στη βιβλιογραφία, υπάρχουν μελέτες που αναφέρονται σε μείωση της πεπτικότητας των λιπών σε ιχθύς που διητράφησαν με σιτηρέσια που περιείχαν σογιάλευρο. Οι λόγοι όμως στους οποίους οφείλεται η μείωση δεν ταυτίζονται. Έτσι, μείωση της πεπτικότητας των θρεπτικών συστατικών και ιδιαίτερα των λιπών σε σαρκοφάγα είδη όπως στο σολομό (*Salmo salar*, Refstie et al., 1999) και στην πέστροφα (*Oncorhynchus mykiss*, Romarheim et al., 2006) που διητράφησαν με σογιάλευρο αποδόθηκε στην υψηλή περιεκτικότητα της σόγιας σε ΜΑΠ. Η δυνατότητά τους να σχηματίζουν κολλώδεις μάζες προκαλεί αύξηση του ιξώδους των εντερικών περιεχομένων, το οποίο τελικά οδηγεί σε παρεμπόδιση της ενεργότητας των πεπτικών ενζύμων και μείωση της πεπτικότητας (Francis, 2001, Storebakken et al., 1998). Μείωση της πεπτικότητας των θρεπτικών συστατικών στο African catfish (*Clarias gariepinus*) συσχετίστηκε με μειωμένη κατανομή των πεπτικών ενζύμων στο ιξώδες εντερικό περιεχόμενο (Leenhowers et al., 2006). Πρόσφατες όμως έρευνες σε σολομό (*Salmo salar*) έδειξαν ότι οι ΜΑΠ δεν προκάλεσαν αύξηση του ιξώδους του εντερικού περιεχομένου σε σιτηρέσια που περιείχαν διάφορες φυτικές πρώτες ύλες όπως, σπέρματα ψυχανθών, ελαιόσπορους, κυτταρίνη και ΜΑΠ από σόγια (Aslaksen et al., 2007, Kraugerud et al., 2007). Μελέτη σε πέστροφες (*Oncorhynchus mykiss*) που διητράφησαν με σιτηρέσια που περιείχαν σογιάλευρο έδειξαν μειωμένη πεπτικότητα λιπών, την οποία οι συγγραφείς απέδωσαν στα χαμηλά επίπεδα χολικών οξέων στο εντερικό περιεχόμενο (Romarheim et al., 2006). Τα χολικά οξέα είναι απαραίτητα για την γαλακτωματοποίηση των λιπών και τη δημιουργία μυκηλίων και η περιορισμένη διαθεσιμότητά τους είναι δυνατό να διαταράξουν την πέψη των λιπιδίων και την απορρόφησή τους. Ορισμένα συστατικά της σόγιας όπως ινώδεις ουσίες, πρωτεΐνες και οι διαλυτές σε αλκοόλη σαπωνίνες και ισοφλαβίνες, μπορούν να δεσμευθούν με τα χολικά οξέα εμποδίζοντας τους να επαναπορροφηθούν από το οπίσθιο έντερο.

Επίσης, η επίδραση των αδιάλυτων ΜΑΠ σε σχέση με τους διαλυτούς διαφέρει στα διάφορα είδη ιχθύων. Μελέτη με προσθήκη κυτταρίνης (αδιάλυτη μορφή ΜΑΠ) σε ποσοστό 8% σε σιτηρέσια για την τιλάπια (*Oreochromis niloticus* (L.)) δεν επηρέασε την πεπτικότητα των λιπών σε αντίθεση με τη μείωση που παρατηρήθηκε στο σιτηρέσιο που περιείχε κόμμι guar (διαλυτή μορφή ΜΑΠ) στο ίδιο ποσοστό (Amirkolaie et al., 2005). Αντιθέτως, στο σολομό (*Salmo salar*) η πεπτικότητα των λιπών μειώθηκε με την αύξηση του ποσοστού της κυτταρίνης στα σιτηρέσια (Aslaksen et al., 2007). Τα αποτελέσματα της προηγούμενης μελέτης έδειξαν ότι η κυτταρίνη είχε στατιστικά σημαντική αρνητική επίδραση στην πεπτικότητα των λιπών όταν επεξεργάζεται μαζί με άλλα συστατικά του σιτηρεσίου με εξώθηση για το σολομό.

Στην παρούσα μελέτη, η μειωμένη πεπτικότητα των λιπών πιθανώς οφείλεται στην αυξημένη περιεκτικότητα του σιτηρεσίου που περιείχε αποφλοιωμένο ρεβύθι σε άπειπο άμυλο όπως παρατηρήθηκε και στα αποτελέσματα της πεπτικότητας του αμύλου (Ιστόγραμμα 3.3). Προηγούμενη μελέτη σε τσιπούρες (*Sparus aurata*) έδειξε ότι η αύξηση του ποσοστού του άπειπου αμύλου από 10 σε 16% σε σιτηρέσια που περιείχαν 10% λίπος είχε ως αποτέλεσμα τη μείωση της πεπτικότητας των λιπών (Fountoulaki et al., 2005). Επιπλέον, με την εξώθηση αυξήθηκε η πεπτικότητα του αμύλου αυξάνοντας κατά συνέπεια και την πεπτικότητα των λιπών των σιτηρεσίων που περιείχαν τα εξωθημένα σπέρματα ψυχανθών. Η ζελατινοποίηση του αμύλου αύξησε την πεπτικότητα των λιπών σε σιτηρέσια για την τιλάπια (Amirolaie et al., 2006).

Πεπτικότητα υδατανθράκων

Η ικανότητα των ιχθύων να πέψουν το άμυλο διαφορετικής προέλευσης ποικίλει σημαντικά (Stone et al., 2003). Στα σιτηρέσια μάρτυρες πηγή αμύλου ήταν το άλευρο σίτου, το οποίο, όπως και η σόγια, είχε υποστεί εξώθηση κάτω από τις ίδιες συνθήκες με αυτές των σπερμάτων ψυχανθών. Το σογιάλευρο που περιέχεται στο σιτηρέσιο CA περιέχει ελάχιστο άμυλο. Στα σιτηρέσια που περιείχαν σπέρματα ψυχανθών το άλευρο σίτου είχε αντικατασταθεί πλήρως και η μόνη πηγή υδατανθράκων ήταν το άμυλο των σπερμάτων ψυχανθών. Η πεπτικότητα του αμύλου στα σιτηρέσια που περιείχαν τα ακατέργαστα σπέρματα ψυχανθών ήταν πολύ χαμηλή. Αυτό οφείλεται στο γεγονός ότι το άμυλο των σπερμάτων ψυχανθών διαφέρει από το άμυλο των δημητριακών διότι αποτελείται από μεγαλύτερη αναλογία αμυλόζης/αμυλοπηκτίνης και έχει άλλες φυσικές ιδιότητες όπως διαφορετική

κρυσταλλική δομή. Το άμυλο του σίτου έχει περίπου 25% αμυλόζη και κρυσταλλική δομή τύπου A, ενώ το μπιζέλι και το ρεβύθι περιέχουν περίπου 35% αμυλόζη και κρυσταλλική δομή τύπου C. Τα χαρακτηριστικά αυτά δεν επιτρέπουν την υδρόλυση του μορίου από την αμυλάση (Fredriksson et al., 1998, Huang et al., 2007, Stone et al., 2003). Η πεπτικότητα των υδατανθράκων σε σιτηρέσιο που περιείχε ακατέργαστο μπιζέλι σε ποσοστό 40% για μικρά λαυράκια βρέθηκε σημαντικά χαμηλότερη από το σιτηρέσιο μάρτυρα που περιείχε άμυλο αραβοσίτου και δεξτρίνη (Gouveia & Davies, 1998). Επίσης, το προζελατινοποιημένο και ακατέργαστο άμυλο από αλεύρι σίτου ήταν περισσότερο πεπτό από το ακατέργαστο άμυλο μπιζελιού στην πέρκα (Stone et al., 2003). Η υψηλή πεπτικότητα του αλεύρου σίτου ακόμη και σε ακατέργαστη μορφή, έχει επίσης παρατηρηθεί σε άλλη αναφορά και αποδόθηκε στον τύπο αμύλου που περιέχει (Venou et al., 2003).

Οι λόγοι της μειωμένης πεπτικότητας ακατέργαστου αμύλου πατάτας από την πέστροφα μελετήθηκαν από τους Spannhof και Plantikow (1983). Στην μελέτη αυτή βρέθηκε πως η χαμηλή ενεργότητα της α-αμυλάσης στα πεπτικά υγρά δεν οφειλόταν σε μειωμένη έκκριση του ενζύμου, αλλά σε προσρόφησή του στο ακατέργαστο άμυλο παρεμποδίζοντας με αυτό τον τρόπο την υδρόλυση του (McCallum, 2004). Η θέρμανση των συστατικών και σε χαμηλότερο βαθμό η δύναμη τριβής κατά τη διαδικασία της εξώθησης προκαλεί αλλαγές στους κόκκους του αμύλου. Το άμυλο ζελατινοποιείται, διογκώνεται δηλαδή καθώς μόρια νερού δεσμεύονται με δεσμούς υδρογόνου με τα μόρια του. Ως αποτέλεσμα διευκολύνεται η δράση της α-αμυλάσης που υπάρχει στο έντερο των ιχθύων και αυξάνεται η πεπτικότητα του αμύλου (Pongmaneerat & Watanabe, 1993).

Η εξώθηση των σπερμάτων ψυχανθών στην παρούσα μελέτη αύξησε σημαντικά τις τιμές της πεπτικότητας των σιτηρεσίων που περιείχαν το μπιζέλι και ρεβύθι και διέφεραν στατιστικά με τα σιτηρέσια μάρτυρες. Παρόμοια, η εξώθηση βελτίωσε σημαντικά την πεπτικότητα του αμύλου σε σιτηρέσια που περιείχαν μπιζέλι για πέστροφες, νεαρά άτομα λαυρακιού και γαρίδες (Allan & Booth, 2004, Davis et al., 2002, Gouveia & Davies, 2000, Thiessen et al., 2003).

Συμπερασματικά, η αποφλοιώση των σπερμάτων ψυχανθών και η προσθήκη τους στα σιτηρέσια για τσιπούρες σε ποσοστό 30% χωρίς την εφαρμογή θερμικής κατεργασίας με εξώθηση οδήγησε σε μείωση της πεπτικότητας των θρεπτικών συστατικών. Επίσης, εφόσον η επεξεργασία του σιτηρεσίου περιλαμβάνει εξώθηση, η επιπλέον επεξεργασία του με αποφλοιώση δεν ενδείκνυται.

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 4

ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ ΔΕΙΚΤΩΝ ΠΕΠΤΙΚΟΤΗΤΑΣ ΘΡΕΠΤΙΚΩΝ ΣΥΣΤΑΤΙΚΩΝ, ΡΥΘΜΟΥ ΓΑΣΤΡΙΚΗΣ ΕΚΚΕΝΩΣΗΣ ΚΑΙ ΠΕΠΤΙΚΩΝ ΕΝΖΥΜΩΝ ΣΕ ΑΤΟΜΑ ΛΑΥΡΑΚΙΟΥ ΠΟΥ ΔΙΕΤΡΑΦΗΣΑΝ ΜΕ ΣΙΤΗΡΕΣΙΑ ΠΟΥ ΠΕΡΙΕΙΧΑΝ ΔΙΑΦΟΡΕΤΙΚΑ ΕΙΔΗ ΣΠΕΡΜΑΤΩΝ ΨΥΧΑΝΘΩΝ

4.1 ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Το λαυράκι είναι σημαντικό σαρκοφάγο είδος για τις ιχθυοκαλλιέργειες της Μεσογείου και η παραγωγή πιο οικονομικών ιχθυοτροφών είναι πολύ σημαντικός οικονομικός παράγοντας. Στη συνέχεια συνεπώς του πειραματισμού με την τσιπούρα ο πειραματισμός επεκτάθηκε και στο λαυράκι. Χρησιμοποιήθηκαν δύο ομάδες σιτηρεσιών με κοινό χαρακτηριστικό ότι ολόκληρο το σιτηρέσιο επεξεργάστηκε με τη διαδικασία της εξώθησης σε αντίθεση με το προηγούμενο πείραμα όπου μόνο οι φυτικές πρώτες ύλες ήταν εξωθημένες. Στην πρώτη ομάδα σιτηρεσιών οι συστάσεις των σιτηρεσιών ήταν παρόμοιες με αυτές που χρησιμοποιήθηκαν στην τσιπούρα. Με τον τρόπο αυτό μπορούσε να γίνει και μία κατ' αρχήν συγκριτική εκτίμηση της ανταπόκρισης των δύο αυτών ειδών στην εισαγωγή σπερμάτων ψυχανθών στα σιτηρέσια. Οι συστάσεις της δεύτερης ομάδας σιτηρεσιών είχαν παραπλήσια σύσταση με εμπορικά σιτηρέσια και περιελάμβαναν μεγαλύτερα επίπεδα φυτικών πρώτων υλών και χαμηλότερα ιχθυαλεύρου. Η μελέτη αυτή έγινε με κύριο σκοπό την διερεύνηση τυχόν διαφοροποιήσεων στις αποδόσεις των σπερμάτων ψυχανθών σε σιτηρέσια που περιλαμβάνουν και άλλες φυτικές πρώτες ύλες.

Η πρώτη ομάδα σιτηρεσιών χρησιμοποιήθηκε επίσης για την μελέτη και ορισμένων άλλων χαρακτηριστικών πέψης όπως του χρόνου γαστρικής εκκένωσης και της ενεργότητας των πεπτικών ενζύμων.

Η διαδικασία της πέψης και της απορρόφησης συμπεριλαμβανομένων των τελικών σταδίων που πραγματοποιούνται στις μικρολάχνες του εντερικού σωλήνα είναι αποτέλεσμα της ολικής ενεργότητας των πεπτικών ενζύμων (Harraz et al, 2005). Η ενεργότητα των πεπτικών ενζύμων μπορεί να συνδεθεί με την πεπτικότητα των θρεπτικών συστατικών και με την ικανότητα ενός είδους να χρησιμοποιεί τα διάφορα θρεπτικά συστατικά (Furne et al., 2005).

Η σχετική ενεργότητα των διαφορετικών ενζύμων αντικατοπτρίζει τις διατροφικές συνήθειες των ιχθύων (σαρκοφάγα, φυτοφάγα, παμφάγα, νεκροφάγα)

και την πεπτική τους ικανότητα. Αλλαγή του τύπου, της πηγής και της ποσότητας των θρεπτικών συστατικών μπορεί να μεταβάλλει είτε των ενζύμων είτε τη σχετική συγκέντρωση των ενζύμων στο έντερο (Lunstedt et al., 2004). Επομένως, είναι απαραίτητο να μελετώνται τυχόν επιδράσεις των διαφόρων σιτηρεσίων στην ενεργότητά τους και τη σχετική τους σύνθεση.

Το λαυράκι ως σαρκοφάγο είδος έχει χαμηλή ενεργότητα αμυλάσης (Munilla-Morán & Saborido-Rey, 1996, Hidalgo et al., 1999). Λιγότερες αναφορές υπάρχουν για την ενεργότητα της λιπάσης στους ιχθύς, αλλά έχει παρατηρηθεί ότι τα σαρκοφάγα έχουν υψηλότερη ενεργότητα λιπάσης από τα φυτοφάγα και τα παμφάγα (Chakrabarti, 1995, Oruzynski, 1995, Tengjaroenku, 2000). Τα διαιτητικά λιπίδια παίζουν σημαντικό ρόλο ως πηγή ενέργειας για τα σαρκοφάγα είδη όπου η διαθεσιμότητα των υδατανθράκων για ενέργεια είναι χαμηλή (Iijima, 1998). Αντίθετα, οι πρωτεάσες δεν παρουσιάζουν παρόμοιες συσχετίσεις με τις διατροφικές συνήθειες του ιχθύος (Furne et al., 2005).

Ο τύπος του σιτηρεσίου έχει αναφερθεί ότι επηρεάζει όχι μόνο τη δράση των πεπτικών ενζύμων αλλά και το χρόνο και το ρυθμό γαστρικής εκκένωσης (De Silva & Owoyemi, 1983). Είναι αποδεδειγμένο ότι η ποσότητα του διαθέσιμου σιτηρεσίου που καταναλώνει ο ιχθύς εξαρτάται από την πληρότητα του στομάχου και τα διαστήματα μεταξύ των γευμάτων εξαρτώνται από το ρυθμό εκκένωσης (Riche et al., 2004). Ο ρυθμός γαστρικής εκκένωσης, έχει αποδειχθεί σημαντική παράμετρος ρύθμισης της ημερήσιας ποσότητας τροφής στις ιχθυοκαλλιέργειες (Jobling, 1981).

Σκοπός της μελέτης ήταν συνεπώς η εκτίμηση της επίδρασης της προσθήκης διαφόρων ειδών σπερμάτων ψυχανθών στην ενεργότητα πεπτικών ενζύμων που υδρολύουν τα θρεπτικά συστατικά και σε συγκεκριμένα χαρακτηριστικά πέψης του λαυρακιού. Τα αποτελέσματα μπορούν να προσφέρουν μια εκτενέστερη γνώση των επιδράσεων των σπερμάτων ψυχανθών στη φυσιολογία πέψης του λαυρακιού ώστε να χρησιμοποιηθούν μελλοντικά στις ιχθυοκαλλιέργειες.

4.2. ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ

Τα σπέρματα ψυχανθών που χρησιμοποιήθηκαν στην παρούσα μελέτη ήταν διαφορετικές παρτίδες παραγωγής ολόκληρων σπερμάτων των ποικιλιών μπιζέλι 'Όλυμπος' και ρεβύθι 'Σέριφος' που είχαν χρησιμοποιηθεί στο πείραμα του 4^{ου} κεφαλαίου. Οι απαιτούμενες ποσότητες των σπερμάτων ψυχανθών που χρησιμοποιήθηκαν για τον προσδιορισμό των θρεπτικών και αντιθρεπτικών

συστατικών, αλέστηκαν, στη συνέχεια, με τη συσκευή ball milling όπως περιγράφεται στην παράγραφο 2.2.1.

4.2.1. Πειραματικά Σιτηρέσια

Παρασκευάστηκαν δύο ομάδες σιτηρεσιών. Οι συστάσεις της πρώτης ομάδας (σιτηρέσια σειράς Α) ήταν κατ' ουσία ίδιες με αυτές που χρησιμοποιήθηκαν στο πείραμα με την τσιπούρα. Τα σιτηρέσια παρασκευάστηκαν με χρήση πειραματικού εξωθητή της εταιρείας 'BIOMAR', Δανία. Η δεύτερη ομάδα (σιτηρέσια σειράς Β) είχε συστάσεις παρόμοιες με αυτές που χρησιμοποιούνται σε εμπορικά σιτηρέσια με μικρότερα επίπεδα ιχθυαλεύρου και μεγαλύτερα επίπεδα φυτικών πρώτων υλών και παρασκευάστηκε με χρήση βιομηχανικού εξωθητή της βιομηχανίας παραγωγής ιχθυοτροφών, 'BIOMAR HELLENIC'.

Παρασκευή Σιτηρεσιών

Επειδή τα σιτηρέσια που παραλήφθησαν για την μέτρηση της πεπτικότητας ήταν ήδη υπό μορφή συμπήκτων και ο δείκτης, το οξείδιο του χρωμίου (Cr_2O_3), δεν είχε συμπεριληφθεί, λόγω των μεγάλων ποσοτήτων που θα απαιτούνταν, ήταν απαραίτητη η άλεση και η εκ νέου παρασκευή συμπήκτων ορισμένης ποσότητας του σιτηρεσιού. Η ανάμιξη τους με το δείκτη πραγματοποιήθηκε στο εργαστήριο του ΕΛ.ΚΕ.Θ.Ε. με τη χρήση των μικρών αναμικτών. Ακολουθήθηκε η προσθήκη κατάλληλης ποσότητας νερού προκειμένου να είναι δυνατή η σύμψηξη τους στον ειδικό μύλο (Hombart, A210). Στη συνέχεια, τα παραγόμενα σύμψηκτα ξηράνθηκαν σε φούρνο με αέρα σε θερμοκρασία μέχρι $38^{\circ}C$, για την αποφυγή καταστροφής θερμοευαίσθητων θρεπτικών συστατικών και διατηρήθηκαν στους $4^{\circ}C$ ως τη χρήση τους.

Σύνθεση και Σύσταση Σιτηρεσιών

Η σύνθεση και η σύσταση των οκτώ σιτηρεσιών που χρησιμοποιήθηκαν στην παρούσα μελέτη δίνονται στον Πίνακα 4.1. και η ποσοστιαία σύσταση (%) των φυτικών πρώτων υλών των σιτηρεσιών δίνονται στον Πίνακα 4.2. Τα σιτηρέσια σχεδιάστηκαν ώστε να είναι ισοπρωτεϊνικά και ισοενεργειακά. Στα σιτηρέσια προστέθηκε δείκτης Cr_2O_3 σε ποσοστό 1%.

Στο Πείραμα 1Α χρησιμοποιήθηκαν δύο σιτηρέσια μάρτυρες, η FM και η Sa₂₀, που περιείχε 20% σογιάλευρο ως υποκατάστατο του ιχθυαλεύρου. Ως πηγή

υδατανθράκων περιείχαν άλευρο σίτου. Τα σιτηρέσια CP₃₀ και P₃₀ περιείχαν 30% ρεβύθι και μπιζέλι, αντίστοιχα. Στα σιτηρέσια αυτά αντικαταστάθηκε πλήρως το σογιάλευρο και το άλευρο σίτου και μικρό ποσοστό ιχθυαλεύρου. Προστέθηκε ιχθυέλαιο σε ποσοστό 10%, καθώς και το ακόλουθο εμπορικό μίγμα βιταμινών και ιχνοστοιχείων (ανά kg σιτηρεσίου) ('BIOMAR HELLENIC').

Βιταμίνες

Βιταμίνη A: 5000 IU , βιταμίνη D3: 1000 IU, βιταμίνη C 100mg, βιταμίνη E 175mg
βιταμίνη K3: 10mg, βιταμίνη B1: 10mg, βιταμίνη B2: 20mg, βιταμίνη B3: 50mg,
βιταμίνη B5: 40mg, βιταμίνη B6: 10mg, βιταμίνη B8: 0,8mg, βιταμίνη B12: 0,03mg,
φυλλικό οξύ: 10mg.

Ιχνοστοιχεία

Κοβάλτιο: 1mg, Χαλκός: 5mg, Ιώδιο: 1,2mg, Μαγγάνιο: 30mg, Σελήνιο: 0,2mg,
Ψευδάργυρος : 100mg.

Σε όλα τα σιτηρέσια προστέθηκε διφωσφορικό ασβέστιο ως πηγή ασβεστίου και ιχθυέλαιο ως πηγή λιπών.

Στο Πείραμα 1B χρησιμοποιήθηκε ένα σιτηρέσιο μάρτυρας (Sb₂₀) που περιείχε ως υποκατάστατα του ιχθυαλεύρου περίπου 20% σογιάλευρο και 15% ηλιάλευρο. Ως πηγή υδατανθράκων περιείχε άλευρο σίτου. Μέρος του σογιάλευρου και όλο το άλευρο σίτου αντικαταστάθηκε από 15% μπιζέλι και 15% ρεβύθι στα σιτηρέσια P₁₅, CP₁₅ αντίστοιχα. Στο σιτηρέσιο CP₂₀, προστέθηκε 20% ρεβύθι το οποίο αντικατέστησε πλήρως το σογιάλευρο και το άλευρο σίτου. Το μίγμα βιταμινών και ιχνοστοιχείων ήταν όμοιο με αυτό του πειράματος 1A. Σε όλα τα σιτηρέσια προστέθηκε διφωσφορικό ασβέστιο ως πηγή ασβεστίου και ιχθυέλαιο ως πηγή λιπών.

4.2.2. Πείραμα I- Προσδιορισμός πεπτικότητας θρεπτικών συστατικών

Οι πειραματικές εγκαταστάσεις που χρησιμοποιήθηκαν περιγράφονται στην παράγραφο 3.2.2. Στην παρούσα μελέτη χρησιμοποιήθηκαν άτομα λαυρακιού μέσου βάρους 105g ± 20g. Χρησιμοποιήθηκε αυτό το βάρος των ιχθύων διότι λαυράκια με βάρος άνω των 150g υπόκεινται σε στρεσογόνους παράγοντες στις διαθέσιμες δεξαμενές πεπτικότητας, ενώ άτομα με μικρότερο σωματικό βάρος (κάτω από 80g) δίνουν επαρκή δείγματα για τις χημικές αναλύσεις. Οι ιχθύες κατανεμήθηκαν τυχαία σε δώδεκα (12) κυλινδρικών δεξαμενές των 250 L, τρεις δεξαμενές ανά σιτηρέσιο, με 17 άτομα ανά δεξαμενή. Το πείραμα πραγματοποιήθηκε εις τριπλούν για καλύτερη στατιστική ανάλυση, καθώς και για να υπάρχει επαρκής αριθμός ιχθύων

για τις ανάγκες του πειράματος. Η παροχή του νερού ήταν συνεχής (4 L/ min) και η θερμοκρασία $28^{\circ}\text{C} \pm 1$. Η φωτοπερίοδος ήταν 10 ώρες ημέρα, 14 ώρες νύχτα.

Για το πείραμα της πεπτικότητας οι ιχθύες εγκλιματίστηκαν με παροχή των συγκεκριμένων σιτηρεσιών για διάστημα 7 ημερών. Το σιτηρέσιο χορηγούνταν με το χέρι σε δύο γεύματα την ημέρα σε ποσοστό 1,2% του σωματικού τους βάρους. Μετά το πέρας του εγκλιματισμού ξεκίνησε η συλλογή των περιττωμάτων για χρονικό διάστημα επτά ημερών όπως περιγράφεται στην παράγραφο 4.2.2.

Σε πρώτη φάση ο πειραματισμός έγινε με τη Β σειρά σιτηρεσιών και στη συνέχεια με την Α σειρά σιτηρεσιών, κάθε φορά μετά από εγκλιματισμό των ιχθύων στα εκάστοτε σιτηρέσια.

4.2.3. Πείραμα ΙΙ – Προσδιορισμός ενζυμικής ενεργότητας και ρυθμού γαστρικής εκκένωσης

Στη συνέχεια του πειράματος πεπτικότητας 1Α, οι ιχθύες διετράφησαν με τα τέσσερα πειραματικά σιτηρέσια σε ποσοστό 1% του σωματικού τους βάρους, σε ένα γεύμα κάθε πρωί και αφέθηκαν να εγκλιματισθούν για μια εβδομάδα. Μετά το πέρας του εγκλιματισμού πραγματοποιήθηκαν οι δειγματοληψίες σε συγκεκριμένους χρόνους μετά το γεύμα : 0,5, 2, 4, 6, 8, 10, 12, 24 ώρες.

Τα δείγματα συλλέχθηκαν μετά από θανάτωση τεσσάρων (4) ιχθύων ανά δεξαμενή με χρήση χαμηλής δόσης αναισθητικού και εμβάπτιση σε πάγο. Οι ιχθύες ανοίγονταν κοιλιακά και ο πεπτικός σωλήνας κλεινόταν με ειδικά χειρουργικά ψαλίδια στον οισοφάγο, τον πυλωρό και την έδρα, όπως φαίνεται στην εικόνα 5.1. Πριν τη συλλογή των δειγμάτων, ο πεπτικός σωλήνας καθαριζόταν προσεκτικά από τους περιφερειακούς ιστούς (λιπώδη και συνδετικό) ώστε να αποφευχθεί η επιμόλυνση.



Εικόνα 4.1. Δειγματοληψία γαστρεντερικού σωλήνα λαυρακιού.

Ακολούθησαν τα εξής στάδια και προσδιορισμοί:

- Το στομαχικό και το εντερικό περιεχόμενο κάθε ιχθύος συλλέγονταν σε προζυγισμένους σωλήνες, χωριστά για κάθε τμήμα του πεπτικού σωλήνα, και το μικτό βάρος ζυγίζοταν σε ζυγό ακριβείας (0,0001g). Το καθαρό βάρος κάθε σωλήνα αποτελούσε το ολικό περιεχόμενο υλικό (g) για κάθε εντερικό τμήμα και του στομάχου.
- Το εντερικό περιεχόμενο, στη συνέχεια, φυγοκεντρήθηκε στις 6500rpm για 12min υπό ψύξη (4°C) σε φυγόκεντρο Sorval, Superspeed RC2-B. Το υπερκείμενο από κάθε σωλήνα ογκομετρήθηκε και ζυγίστηκε. Τέλος, αποθηκεύθηκε σε νέους σωλήνες στους -70°C για τον προσδιορισμό των ενεργοτήτων των πεπτικών ενζύμων α-αμυλάσης και θρυψίνης.
- Ο εντερικός σωλήνας διαιρέθηκε σε τρία τμήματα: Στα πυλωρικά τυφλά, στο κυρίως και στο οπίσθιο τμήμα. Αμέσως μετά, τα δείγματα εμβαιπίστηκαν σε υγρό άζωτο και τοποθετήθηκαν στους -70°C έως τον προσδιορισμό των πεπτικών ενζύμων: α-αμυλάσης, θρυψίνης, μαλτάσης και λιπάσης.
- Στο υλικό του στομάχου μετρήθηκε το pH με πεχάμετρο PHM210 (Radiometer) με χρήση μικροηλεκτροδίου (MI-410/415, Radiometer).
- Το στομαχικό περιεχόμενο λυοφιλώθηκε και ζυγίστηκε. Το καθαρό βάρος αποτελεί το ξηρό βάρος του στομάχου, ενώ από τη διαφορά του βάρους πριν και μετά τη λυοφιλίωση προσδιορίστηκε η περιεχόμενη υγρασία του στομαχικού υλικού.

4.2.4. Προσδιορισμός του χρόνου και του ρυθμού γαστρικής εκκένωσης

Καθώς η πρόσληψη της τροφής εξαρτάται άμεσα από το βάρος του ιχθύος, κρίθηκε καταλληλότερος ο υπολογισμός του ξηρού υλικού του στομαχικού περιεχομένου ως ποσοστού (%) του υγρού βάρους ιχθύος. Οι τιμές των ξηρών υλικών (% βάρους ιχθύος) υποβλήθηκαν σε ανάλυση παλινδρόμησης σε σχέση με το χρόνο δειγματοληψίας, ώστε να διερευνηθεί πιθανό μαθηματικό μοντέλο που εκφράζει την εκκένωση της τροφής από το στομάχι του λαυρακιού. Στην περίπτωση της παρούσας έρευνας, τα δεδομένα ακολουθούν το εκθετικό μοντέλο με καλούς συντελεστές συσχέτισης.

Κατά συνέπεια εφαρμόστηκε η ακόλουθη εξίσωση, σύμφωνα με τον Elliot (1972) :

$$B_x = Ae^{-px} \quad (1)$$

Όπου,

B_x = ο γεωμετρικός μέσος του ξηρού βάρους του στομαχικού περιεχομένου στο χρόνο x

A = σταθερά που υπολογίζεται από την ανάλυση παλινδρόμησης

ρ = ο ρυθμός γαστρικής εκκένωσης

x = ο χρόνος μετά την παροχή του σιτηρεσίου

Η εξίσωση (1) λογαριθμείται και εκφράζεται γραμμικά :

$$\ln B_x = \ln A - \rho x \quad (2)$$

- Από την εξίσωση (2) υπολογίζεται ο ρυθμός γαστρικής εκκένωσης για όλους τους χρόνους δειγματοληψίας από την κλίση της καμπύλης. Οι τιμές παρουσιάζονται σε g/min.
- Ο χρόνος γαστρικής εκκένωσης (ΧΓΕ) υπολογίζεται ως το χρονικό διάστημα που απαιτείται ώστε να αδειάσει το περιεχόμενο του στομάχου στο μισό της αρχικής ποσότητας (ΧΓΕ = $\frac{1}{2} B_{x0}$, όπου B_{x0} το ξηρό βάρος στομάχου %υγρού βάρους ιχθός στον αρχικό χρόνο x_0).

4.2.5. Προσδιορισμός ενεργότητας πεπτικών ενζύμων

Πριν από την έναρξη των προσδιορισμών πραγματοποιήθηκαν προκαταρκτικοί έλεγχοι για κάθε ενζυμική ανάλυση με σκοπό τον καθορισμό (i) της συγκέντρωσης του υποστρώματος, (ii) του όγκου του μικτού ενζυμικού εκχυλίσματος, (iii) της χρονικής διάρκειας της αντίδρασης για κάθε ένζυμο και τμήμα του πεπτικού σωλήνα. Όσον αφορά στον προσδιορισμό της μαλτάσης, διενεργήθηκαν προκαταρκτικές μετρήσεις και για τον προσδιορισμό των αραιώσεων που ήταν αναγκαίες προκειμένου οι συγκεντρώσεις να βρίσκονται στα προεπιλεγμένα όρια των προτύπων. Για τις αραιώσεις χρησιμοποιήθηκε διάλυμα NaCl 0,9%.

Το σύνολο των μετρήσεων ενζυμικής δραστηριότητας πραγματοποιήθηκε σε τρεις επαναλήψεις, στους 25°C εκτός από τη μαλτάση που μετρήθηκε στους 37°C. Η ειδική ενζυμική ενεργότητα εκφράστηκε ως U/100g ιχθός.

Προσδιορισμοί στο εντερικό περιεχόμενο

Στο ολικό εντερικό περιεχόμενο (μετά τη φυγοκέντρηση) προσδιορίστηκαν οι ενεργότητες των παρακάτω πεπτικών ενζύμων: α) α-αμυλάσης και β) θρυψίνης.

- **Προσδιορισμός ενεργότητας α-αμυλάσης**

Η μέτρηση της ενεργότητας της α-αμυλάσης πραγματοποιήθηκε χρωματομετρικά στους 25°C σύμφωνα με το εμπορικό προϊόν Kit cat no. 12018 της Human. Το αντιδραστήριο, που χρησιμοποιήθηκε ως υπόστρωμα, περιείχε 2-χλωρο-4-νιτροφαινυλ-μαλτοτριόζη.

Σε 20μl ενζυμικού εκχυλίσματος προστέθηκε 1ml αντιδραστηρίου. Η αύξηση της απορρόφησης (OD)/min στα 405nm προσδιορίστηκε για συνολικό χρόνο 3 min μετά το πρώτο λεπτό της αντίδρασης. Οι μετρήσεις της απορρόφησης πραγματοποιήθηκαν σε φασματοφωτόμετρο Genius Pro multi-reader (Tecan, Αυστρία). Η μονάδα (unit) ενζυμικής ενεργότητας, ορίστηκε ως το ποσό του ενζύμου που απελευθερώνει 1 μmol 2-χλώρο-4-νιτροφαινόλης / min.

Η ενεργότητα της α-αμυλάσης υπολογίστηκε σύμφωνα με την παρακάτω εξίσωση:

$$EA = \Delta A / \text{min} * 9864 * AP * (V / 1000) * (100 / B) \quad \text{όπου :}$$

EA : ενεργότητα αμυλάσης

9864 : συντελεστής όπως δίνεται από το εμπορικό προϊόν για 20μl δείγματος, θερμοκρασία (25°C) και ειδικό συντελεστή απορρόφησης 14,58 M⁻¹cm⁻¹.

AP : η αραιώση

V : ο συνολικός όγκος του εντερικού περιεχομένου (ml) και

B : βάρους ιχθύος (g)

- **Προσδιορισμός ενεργότητας θρυψίνης**

Η ενεργότητα της θρυψίνης μετρήθηκε σύμφωνα με τη μέθοδο των Erlanger et al. (1961). Ως υπόστρωμα χρησιμοποιήθηκε Na-Benzoyl-L-arginine-4-nitroanilide (DL-BapNA, Sigma B4875) 2mM (μητρικό διάλυμα 5mM σε DMSO (διμεθυλοσουλφοξειδίο)) σε ρυθμιστικό διάλυμα 50 mM Tris-HCl, pH=8,2 που περιείχε 10 mM CaCl₂. Σε 20μl ενζυμικού εκχυλίσματος προστέθηκαν 1ml διαλύματος υποστρώματος. Έπειτα από την παρέλευση 2min μετρήθηκε η αύξηση της απορρόφησης ανά 30sec για 6min στα 405nm, σε φασματοφωτόμετρο Genius Pro multi-reader (Tecan, Αυστρία). Η μονάδα (unit) ενζυμικής ενεργότητας, ορίστηκε ως το ποσό του ενζύμου που απελευθερώνει 1 μmol p-νιτροανιλίνης / min. Τα δείγματα

αραιώνονταν ώστε η $\Delta A/\text{min}$ να μην ξεπερνά τις 0,1 μονάδες. Ο ειδικός συντελεστής απορρόφησης της p-νιτροανιλίνης είναι $8800 \text{ M}^{-1}\text{cm}^{-1}$. Η ενεργότητα της θρυψίνης υπολογίστηκε σύμφωνα με την παρακάτω εξίσωση:

$$E\Theta = ((\Delta A/\text{min}) * AP * V_1 / (8,8 * V_2)) * 100/B$$

όπου:

$E\Theta$: ενεργότητα θρυψίνης

AP : η αραιώση

V_1 : ο συνολικός όγκος του εντερικού περιεχομένου (ml)

V_2 : όγκος (ml) του ενζυμικού εκχυλίσματος και

B : βάρος ιχθύος (g)

Προσδιορισμοί στον εντερικό ιστό

Στα πλαίσια της πειραματικής διαδικασίας ελήφθησαν δείγματα:

- πυλωρικών τυφλών
- κυρίως εντέρου (από τη βάση των πυλωρικών τυφλών μέχρι το σημείο ένωσης με το οπίσθιο έντερο όπως διακρίνεται λόγω της αυξημένης διαμέτρου)
- οπίσθιου εντέρου

και προσδιορίστηκαν η ενεργότητα των ενζύμων: i) α-αμυλάση, ii) θρυψίνη, iii) λιπάση και iv) μαλτάση

Πριν τον προσδιορισμό της ενζυμικής ενεργότητας τα δείγματα ξεπάγωσαν και ομογενοποιήθηκαν (Ultra-Turrax, IKA ομογενοποιητή) με 1:10 w/v σε απιονισμένο H_2O υπό ψύξη (4°C). Κατά τη διάρκεια των ομογενοποιήσεων οι γυάλινοι σωλήνες φυγοκέντρησης που περιείχαν τους ιστούς είχαν εμβαπτισθεί σε πάγο. Το υπερκείμενο στρώμα απομονώθηκε μετά από φυγοκέντρηση στις 9000 rpm για 50 min στους 4°C και στη συνέχεια πραγματοποιήθηκαν οι προσδιορισμοί των ενζυμικών ενεργοτήτων.

Η συγκέντρωση ολικής διαλυτής πρωτεΐνης των ενζυμικών εκχυλισμάτων, προσδιορίστηκε με τη μέθοδο Bradford, που στηρίζεται στο σχεδιασμό πρότυπης καμπύλης με τη χρήση αλβουμίνης από ορό βοδινού (BSA) (Bradford, 1976).

- **Προσδιορισμός ενεργότητας αμυλάσης**

Για τον προσδιορισμό της ενεργότητας της αμυλάσης στα τμήματα του εντέρου ακολουθήθηκε η ίδια διαδικασία όπως και με εντερικό περιεχόμενο με την παρακάτω τροποποίηση :

Χρησιμοποιήθηκαν 40ml ενζυμικού εκχυλίσματος και το δείγμα επώασθηκε για 4min. Η μονάδα (unit) ενζυμικής ενεργότητας, ορίστηκε ως το ποσό του ενζύμου που απελευθερώνει 1 μmol 2-χλώρο-4-νιτροφαινόλης / min.

Η ενεργότητα της α-αμυλάσης υπολογίστηκε σύμφωνα με την παρακάτω εξίσωση:

$$EA = \Delta A / \text{min} * 4932 * (V / 1000) * (100 / B)$$

όπου :

EA : ενεργότητα αμυλάσης

4932 : προκύπτει από το μισό του συντελεστή 9864 που δίνεται από το εμπορικό προϊόν για θερμοκρασία (25°C), γιατί χρησιμοποιήθηκε διπλάσια ποσότητα δείγματος (40ml)

V : ο συνολικός όγκος του ενζυμικού εκχυλίσματος μετά την ομογενοποίηση (ml) και

B : βάρος ιχθύος (g)

- **Προσδιορισμός ενεργότητας θρυψίνης**

Ο προσδιορισμός της ενεργότητας της θρυψίνης στα τμήματα του εντερικού ιστού έγινε με τον ίδιο τρόπο όπως και στο εντερικό περιεχόμενο με τις παρακάτω τροποποιήσεις:

Για τα πυλωρικά:

Εκχύλισμα ενζύμου: 40ml

Υπόστρωμα: 2mM BAPNA

Για το κυρίως τμήμα του εντέρου:

Εκχύλισμα ενζύμου: 50ml

Υπόστρωμα: 3mM BAPNA

Για το οπίσθιο έντερο:

Εκχύλισμα ενζύμου: 50ml

Υπόστρωμα: 2mM BAPNA

Ο χρόνος αναμονής των δειγμάτων ήταν 8min. Η ενεργότητα της θρυψίνης υπολογίστηκε σύμφωνα με την παρακάτω εξίσωση:

$$E\Theta_{ιστό} = ((\Delta A / \text{min}) * V_1 * / (8,8 * V_2)) * 100 / B$$

όπου

EΘ: ενεργότητα θρυψίνης

V₁ : ο συνολικός όγκος του ενζυμικού εκχυλίσματος μετά την ομογενοποίηση (ml)

V₂ : όγκος(ml) του δείγματος και

B : βάρος ιχθύος (g)

Η ενεργότητα της θρυψίνης στα τμήματα του εντέρου μετρήθηκε στις 6hrs μετά την παροχή του γεύματος για όλα τα σιτηρέσια και τα αποτελέσματα εκφράστηκαν σε U/100g ψαριού καθώς και σε nmole p-νιτροανιλίνης που απελευθερώνεται/mg πρωτεΐνης min. Η μονάδα (unit) ενζυμικής ενεργότητας, ορίστηκε ως το ποσό του ενζύμου που απελευθερώνει 1 μmol p-νιτροανιλίνης /min.

- **Προσδιορισμός ενεργότητας λιπάσης (BAL)**

Η ενεργότητα της μη ειδικής λιπάσης (που ενεργοποιείται από τα χολικά άλατα, bile-salt activated-BAL) μετρήθηκε σύμφωνα με τροποποιημένη μέθοδο των Albro et al., 1985.

Ο συντελεστής απορρόφησης της p-νιτροφαινόλης προσδιορίστηκε σύμφωνα με τις συνθήκες του πειράματος από πρότυπη καμπύλη των απορροφήσεων διαφόρων συγκεντρώσεων του πρότυπου διαλύματος p-νιτροφαινόλης στον ίδιο όγκο και ρυθμιστικό διάλυμα με τα δείγματα.

Τα διαλύματα που χρησιμοποιήθηκαν για τον προσδιορισμό της ενεργότητας της λιπάσης ήταν :

1. Υπόστρωμα: 10 mM p-nitrophenyl myristate σε απόλυτη αιθανόλη
2. Ρυθμιστικό Διάλυμα: 100 mM όξινο ανθρακικό αμμώνιο, pH 8
3. Διάλυμα απορρυπαντικού: 0,025M χολικό νάτριο

Ποσότητα δείγματος για τον προσδιορισμό της λιπάσης επαναφυγοκεντρήθηκε στις 9000rpm για 10min. Στη συνέχεια, σε 25ml ενζυμικού εκχυλίσματος προστέθηκαν 25ml ρυθμιστικού διαλύματος και 50ml απορρυπαντικού. Έπειτα από καλή ανάδευση το δείγμα επώασθη για 15min σε θερμοκρασία δωματίου. Κατόπιν, προστέθηκαν 4ml του υποστρώματος με καλή ανάδευση του δείγματος και μετρήθηκε η απορρόφηση στα 405nm για 5min κάθε 30sec.

Η μονάδα (unit) ενζυμικής ενεργότητας, ορίστηκε ως το ποσό του ενζύμου που απελευθερώνει 1 μmol p-νιτροφαινυλίου ανά λεπτό. Ο ειδικός συντελεστής απορρόφησης ήταν $10,17 \text{ M}^{-1}\text{cm}^{-1}$.

Η ενεργότητα της λιπάσης υπολογίσθηκε σύμφωνα με την παρακάτω εξίσωση:

$$E\Lambda = ((\Delta A / \text{min}) * AP * V_1 / (10,17/2)) * V_2 \text{ όπου,}$$

EΛ: ενεργότητα λιπάσης

AP: η αραίωση

V_1 : ο συνολικός όγκος του ενζυμικού εκχυλίσματος μετά την ομογενοποίηση (ml)

V_2 : όγκος(ml) του δείγματος και

B : βάρος ιχθύος (g)

- **Προσδιορισμός ενεργότητας μαλτάσης**

Η ενεργότητα της μαλτάσης προσδιορίστηκε σύμφωνα με τροποποιημένη μέθοδο του Dahlqvist, 1970. Τα διαλύματα που χρησιμοποιήθηκαν για τον προσδιορισμό της ενεργότητας της μαλτάσης ήταν :

1. Αντιδραστήριο TGO

- 100ml αντιδραστήριο οξειδωσης της γλυκόζης (εμπορικό προϊόν για τον προσδιορισμό γλυκόζης Γλυκόζη Liquid-Fast, Cat. No. 3101, Ζαφειρόπουλος)
- 1ml απορρυπαντικό

Αναδεύεται καλά και φυλάσσεται στο ψυγείο. Το αντιδραστήριο είναι σταθερό για 2-3 ημέρες.

2. Απορρυπαντικό

2 g Triton x-100

8 g 95% EtOH.

Αναδεύεται καλά. Το αντιδραστήριο είναι σταθερό για αρκετές εβδομάδες.

3. Υπόστρωμα

Ως υπόστρωμα χρησιμοποιήθηκε διάλυμα 0,056 M μαλτόζης, το οποίο παρασκευάζεται με προσθήκη 1,008 g μαλτόζης σε 0,1 M ρυθμιστικού διαλύματος μηλεϊνικού νατρίου έως όγκου 50 ml.

Το ρυθμιστικό διάλυμα 0,1 M μηλεϊνικού νατρίου (pH 6) παρασκευάζεται με προσθήκη 1,16 g μηλεϊνικού οξέος σε 15,3 ml 1M NaOH και αραιώση έως όγκου 100ml με απιονισμένο νερό. Το pH ρυθμίζεται στο 6 με 1M NaOH.

4. Πρότυπα διαλύματα

Αρχικό διάλυμα: 5mg/ml γλυκόζης: 50mg γλυκόζης σε 10 ml απιονισμένου H₂O

Παρασκευάστηκαν τα παρακάτω πρότυπα διαλύματα:

Συγκέντρωση διαλυμάτων γλυκόζης (μg/ml)	Αρχικό Διάλυμα (5mg/ml) (μl)	ddH ₂ O (μl)
0	0	2000
50	20	1980
100	40	1960
200	80	1920
300	120	1880
400	160	1840
500	200	1800

Ανάλυση

Αρχικά, για κάθε δείγμα προετοιμάστηκε και τυφλό δείγμα για διόρθωση της απορρόφησης ως εξής:

Σε δοκιμαστικούς σωλήνες προστέθηκαν 900μl αντιδραστηρίου TGO και επώασθηκαν στους 37°C για μερικά λεπτά. Κατά τη διάρκεια της επώασης στους δοκιμαστικούς σωλήνες προστέθηκαν 30μl ενζυμικού εκχυλίσματος.

Στη συνέχεια στα δείγματα και στα τυφλά προστέθηκαν 30μl από το διάλυμα του υποστρώματος (κάθε 15sec) και μετά από ανάδευση επώασθηκαν στους 37 °C για 60min. Μετά το πέρας της επώασης τα τυφλά δείγματα ήταν έτοιμα για μέτρηση της απορρόφησης ενώ στα δείγματα προστέθηκαν 900μl αντιδραστηρίου TGO (κάθε 15sec) και επώασθηκαν για 60min στους 37°C.

Η απορρόφηση μετρήθηκε ανά 15sec για το κάθε δείγμα στα 510nm. Η ενεργότητα της μαλτάσης προσδιορίστηκε με βάση πρότυπη καμπύλη. Η πρότυπη καμπύλη παρασκευάστηκε με την προσθήκη 60μl των πρότυπων διαλυμάτων και

900μl TGO (κάθε 15sec) σε δοκιμαστικούς σωλήνες. Μετά από ανάδευση επωάστηκαν στους 37°C για 60min και μετρήθηκε η απορρόφηση.

Υπολογισμοί

Τα μg γλυκόζης των πρότυπων διαλυμάτων μετατρέπονται σε mol γλυκόζης γνωρίζοντας ότι το MBγλυκόζης = 180,2 και στη συνέχεια σε nmol μαλτόζης γνωρίζοντας ότι 1mol μαλτόζης = 2mol γλυκόζης.

Στη συνέχεια η ποσότητα της μαλτόζης που υδρολύθηκε /100g ιχθύος/hr υπολογίστηκε ως εξής: $EM = M * AP * V_1/V_2 * (100/B)$ όπου:

EM: η ενεργότητα της μαλτόζης

M: nmol μαλτόζης απο την πρότυπη καμπύλη

AP: η αραιώση

V_1 : ο συνολικός όγκος του ενζυμικού εκχυλίσματος μετά την ομογενοποίηση (ml)

V_2 : όγκος (ml) του δείγματος και

B : βάρος ιχθύος

4.2.6. Χημικές Αναλύσεις

Οι μέθοδοι προσδιορισμού της σύστασης των πρώτων υλών, των σιτηρεσίων και των περιττωμάτων έγιναν σύμφωνα με την ενότητα 2.2.2. Οι δείκτες πεπτικότητας προσδιορίστηκαν σύμφωνα με την παράγραφο 3.2.6.

Πίνακας 4.1: Σύνθεση και ποσοστιαία σύσταση (%) των πειραματικών σιτηρεσιών

	Σειρά σιτηρεσιών Α				Σειρά σιτηρεσιών Β			
	Sa ₂₀	FM	CP ₃₀	P ₃₀	Sb ₂₀	P ₁₅	CP ₁₅	CP ₂₀
Σογιάλευρο εξωθημένο	19,8	-	-	-	19,4	7,4	7,4	-
Άλευρο Σίτου	16,1	24,8	-	-	5,2	-	-	-
Ρεβύθι	-	-	33,4	-	-	-	15,0	20,2
Μπιζέλι	-	-	-	30,1	-	14,8	-	-
Ιχθυάλευρο 70%	-	-	-	-	25,7	25,7	25,7	25,7
Ιχθυάλευρο 72% DK	45,9	57,8	49,5	51,8	8,9	8,9	8,9	8,9
Φωσφορικό διασβέστιο	1,0	1,0	1,6	1,6	-	-	-	-
Ιχθυέλαιο	15,4	14,8	14,0	14,9	10,3	9,9	9,9	9,9
Βιταμίνες/ Ιχνοστοιχεία	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3
Νερό	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3
Ηλιάλευρο	-	-	-	-	14,9	14,9	14,9	14,9
Γλουτένη καλαμποκιού	-	-	-	-	7,4	6,9	6,9	6,9
Γλουτένη σίτου	-	-	-	-	-	3,8	3,4	6,0
Σογιέλαιο	-	-	-	-	6,5	6,1	6,1	5,9
Cr ₂ O ₃	1	1	1	1	1	1	1	1
Σύσταση (% ξηρού βάρους)								
Ξηρό Υλικό	90,86	91,04	89,08	92,24	92,00	92,29	92,38	92,07
Τέφρα	10,82	11,54	11,34	11,53	10,01	9,61	9,47	8,97
Πρωτεΐνες	46,03	46,81	46,59	45,63	46,00	46,96	48,17	47,63
Λίπος	22,46	22,19	23,34	20,70	24,84	22,97	25,12	25,20
Άμυλο	12,09	17,56	12,57	14,01	4,54	8,23	4,36	7,25
Ολικοί ΜΑΠ*	6,53	4,44	6,07	6,39	9,50	8,71	8,80	8,23
Αδιάλυτοι ΜΑΠ	5,24	3,11	4,59	4,43	6,67	6,96	7,53	7,29
Διαλυτοί ΜΑΠ	1,29	1,33	1,48	1,96	2,83	1,74	1,27	0,95

*ΜΑΠ: Μη αμυλούχοι πολυσακχαρίτες

Πίνακας 4.2. Ποσοστιαία σύσταση (% ξηρού βάρους) των φυτικών πρώτων υλών των σιτηρεσιών του πειράματος πεπτικότητας σε άτομα λαυρακιού (100g)

<i>Δείγματα</i>	<i>Μπιζέλι</i>	<i>Ρεβύθι</i>	<i>Ηλιόλευρο</i>	<i>Σογιάλευρο</i>
Τέφρα	6,94	4,17	9,92	6,85
Πρωτεΐνη	24,48	26,36	37,59	51,43
Λίπος	1,04	5,33	1,27	4,89
Άμυλο	44,35	40,32	1,25	1,12
Σουκρόζη	1,23	2,38	3,67	5,58
ΟΣ*	5,93	3,20	1,70	6,81
Ολικοί ΜΑΠ**	14,46	14,32	33,63	17,89
Αδιάλυτοι ΜΑΠ	11,46	10,20	28,34	14,74
Διαλυτοί ΜΑΠ	2,99	4,11	4,45	3,15
Ταννίνες	0,65	0,28	ΔΜ	0,77
Φυτικό οξύ	1,18	0,97	ΔΜ	2,01

* ΟΣ: ολιγοσακχαρίτες, ** ΜΑΠ: μη αμυλούχοι πολυσακχαρίτες, ΔΜ: Δεν μετρήθηκε

4.2.7. Στατιστική Επεξεργασία

Η στατιστική επεξεργασία των αποτελεσμάτων των πειραμάτων πεπτικότητας έγινε σύμφωνα με τη μέθοδο που περιγράφεται στην παράγραφο 3.2.7.

Τα αποτελέσματα του πειράματος ΙΙ επεξεργάστηκαν χρησιμοποιώντας το στατιστικό υπολογιστικό πρόγραμμα SPSS 11.0 για Windows. Αρχικά για κάθε παράμετρο εφαρμόστηκε η ανάλυση Kolmogorov-Smirnov για να εξετασθεί αν τα δεδομένα ακολουθούν κανονική κατανομή. Στην περίπτωση που δεν ακολουθούσαν κανονική κατανομή έγινε μετατροπή των δεδομένων. Στη συνέχεια εφαρμόστηκε η ανάλυση διακύμανσης (ANOVA) και οι συγκρίσεις των μέσων όρων με το κριτήριο SNK σε επίπεδο σημαντικότητας 95% ($P < 0,05$) όταν το δείγμα ήταν ομοιογενές ενώ στην περίπτωση που ήταν μη ομοιογενές εφαρμόστηκε η ανάλυση Kruskal-Wallis και το κριτήριο Dunnett. Οι τιμές παρουσιάζονται μαζί με την τυπική απόκλιση \pm ΤΑ από το μέσο όρο.

Η ανάλυση διακύμανσης πολλαπλών μεταβλητών (two-way ANOVA) εφαρμόστηκε με το χρόνο και το σιτηρέσιο ως ανεξάρτητες μεταβλητές. Οι

συγκρίσεις των μέσων όρων έγιναν με το κριτήριο Tukey σε επίπεδο σημαντικότητας 95% ($P < 0,05$) όταν το δείγμα ήταν ομοιογενές, ενώ στην περίπτωση που ήταν μη ομοιογενές εφαρμόστηκε το κριτήριο Dunnett.

Όπου απαιτήθηκε εφαρμόστηκε η ανάλυση παλινδρόμησης για τον προσδιορισμό των συντελεστών συσχέτισης και των συγκρίσεων των κλίσεων των γραφικών παραστάσεων.

4.3. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

- Πείραμα Ι- Πεπτικότητα θρεπτικών

Σειρά σιτηρεσιών Α

Οι συντελεστές πεπτικότητας των θρεπτικών συστατικών για όλα τα πειραματικά σιτηρέσια του παρουσιάζονται στο Ιστόγραμμα 4.1.

Η πεπτικότητα των πρωτεϊνών ήταν υψηλή (95-96%). Το σιτηρέσιο CP₃₀ παρουσίασε σημαντικά μειωμένη πεπτικότητα πρωτεΐνης από τα υπόλοιπα σιτηρέσια.

Η ποσοστιαία πεπτικότητα λιπών ήταν 98% για όλες τα σιτηρέσια. Καμία στατιστικά σημαντική διαφορά δεν παρατηρήθηκε μεταξύ των σιτηρεσιών.

Η πεπτικότητα του αμύλου κυμάνθηκε από 95,5-99,4%. Τα δύο σιτηρέσια μάρτυρες, FM και Sa₂₀, είχαν στατιστικά σημαντικά υψηλότερες τιμές από τα άλλα δύο σιτηρέσια, CP₃₀ και P₃₀, που περιείχαν τα υπό εξέταση σπέρματα ψυχανθών.

Σειρά σιτηρεσιών Β

Οι συντελεστές πεπτικότητας των θρεπτικών συστατικών παρουσιάζονται στο Ιστόγραμμα 4.2.

Οι τιμές του συντελεστή πεπτικότητας των πρωτεϊνών ήταν υψηλές για όλα τα σιτηρέσια και κυμάνθηκαν από 94 -96%. Η ποσοστιαία πεπτικότητα πρωτεϊνών δε διέφερε στατιστικώς σημαντικά ανάμεσα στα σιτηρέσια Sb₂₀ και CP₁₅, ενώ ήταν στατιστικά χαμηλότερη από ότι στα σιτηρέσια P₁₅ και CP₂₀. Η υψηλότερη πεπτικότητα πρωτεϊνών παρατηρήθηκε στο σιτηρέσιο P₁₅ που περιείχε 15% κτηνοτροφικό μπιζέλι και είχε στατιστικά σημαντική διαφορά από τα υπόλοιπα.

Όσον αφορά στην πεπτικότητα των λιπών, οι τιμές ήταν υψηλές (98%) και δεν παρατηρήθηκαν στατιστικά σημαντικές διαφορές μεταξύ των σιτηρεσιών.

Ο συντελεστής πεπτικότητας του αμύλου κυμάνθηκε από 91,5 - 97,4%, με σημαντικές διαφορές μεταξύ των σιτηρεσιών. Τα σιτηρέσια CP₁₅ και CP₂₀ που περιείχαν ρεβύθι σε ποσοστό 15 και 20% είχαν την χαμηλότερη πεπτικότητα με

στατιστικώς σημαντική διαφορά από το σιτηρέσιο που περιείχε 20% σογιάλευρο. Η πεπτικότητα του αμύλου στο σιτηρέσιο P₁₅ δεν διέφερε σημαντικά από αυτή στην S_{b20}, ενώ βρέθηκε σημαντικά υψηλότερη από ότι στο σιτηρέσιο CP₂₀.

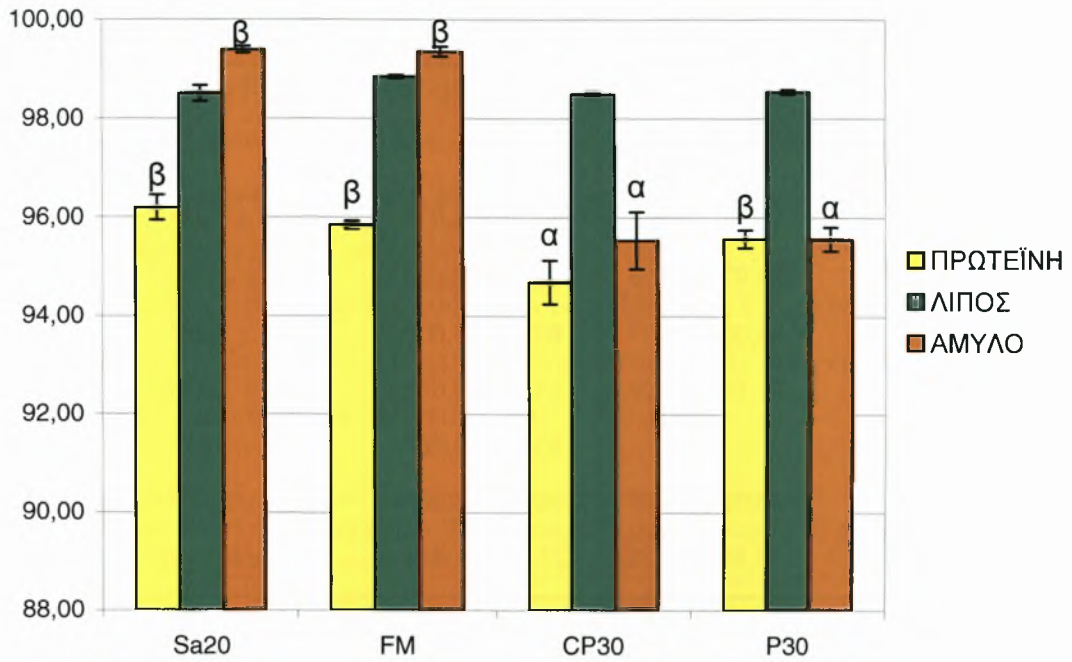
- Πείραμα II

Στομαχικό Περιεχόμενο

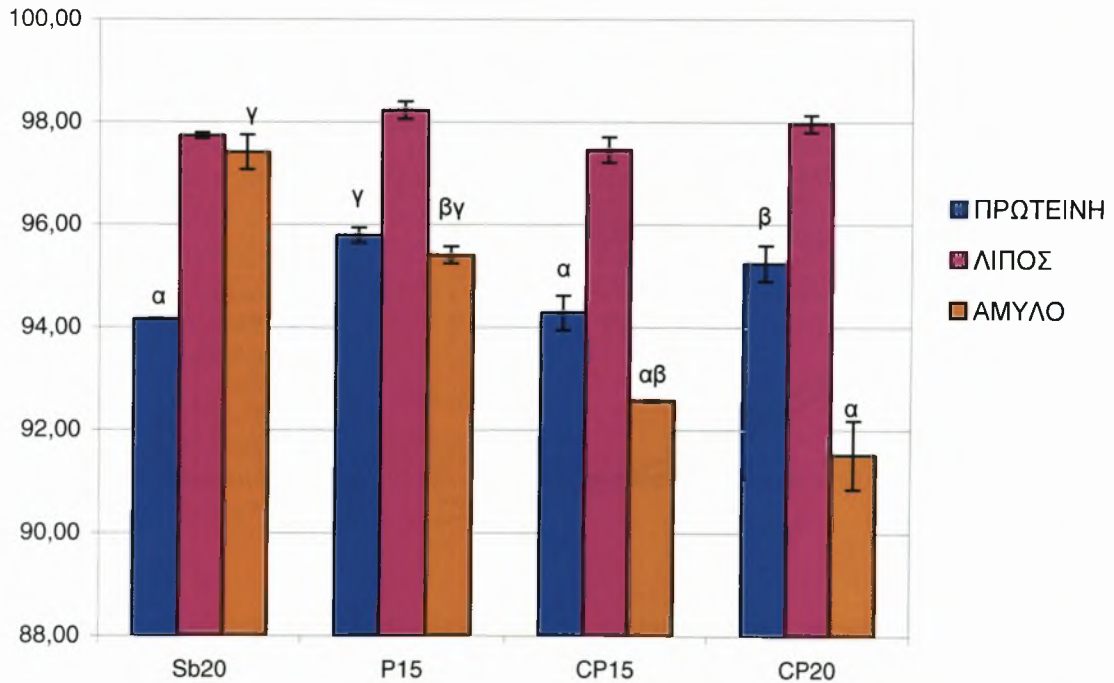
Τα αποτελέσματα της ποσοστιαίας (%) υγρασίας και των τιμών του pH του στομαχικού περιεχομένου σε συνάρτηση με το χρόνο μετά την παροχή του γεύματος δίνονται παρακάτω:

Υγρασία στομαχικού περιεχομένου

Οι τιμές της υγρασίας του στομαχικού περιεχομένου παρουσιάζονται στον Πίνακα 4.3. Μισή ώρα μετά την παροχή του γεύματος παρατηρήθηκε υψηλή ενυδάτωση του στομαχικού περιεχομένου η οποία κυμάνθηκε από 63-70%. Η τιμή της υγρασίας στη 0,5 ώρα ήταν στατιστικά χαμηλότερη σε σχέση με τις υπόλοιπες ώρες στα σιτηρέσια μάρτυρες. Μέγιστη ενυδάτωση παρατηρήθηκε 2 ώρες μετά το γεύμα, η οποία παρέμεινε σταθερή έως τις 12 ώρες. Παρόλο που τα σιτηρέσια CP₃₀ και P₃₀ έδειξαν μεγαλύτερη διακύμανση τιμών μετά τις 2 ώρες, σε σχέση με τα FM και S_{a20}, είχαν παρόμοια τάση αύξησης. Μεταξύ των σιτηρεσίων δεν βρέθηκαν στατιστικές διαφορές για κάθε χρόνο.



Ιστόγραμμα 4.1. Ιστόγραμμα των σχετικών δεικτών πεπτικότητας πρωτεϊνών, λιπών και του αμύλου των πειραματικών σιτηρεσιών του Πειράματος 1Α, σε άτομα λαυρακιού (100g). Διαφορετικά γράμματα αναφέρονται σε στατιστικές διαφορές μεταξύ των μέσων όρων (n=6).



Ιστόγραμμα 4.2. Ιστόγραμμα των σχετικών δεικτών πεπτικότητας πρωτεϊνών, λιπών και του αμύλου των πειραματικών σιτηρεσιών του Πειράματος 1Β, σε άτομα λαυρακιού (100g). Διαφορετικά γράμματα αναφέρονται σε στατιστικές διαφορές μεταξύ των μέσων όρων (n=6).

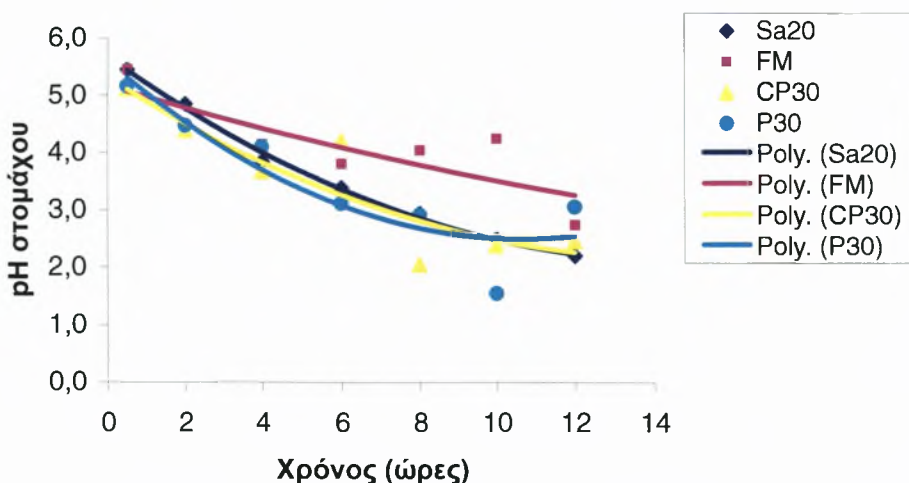
Πίνακας 4.3. Ποσοστιαία υγρασία (%) του στομαχικού περιεχομένου των ατόμων λαυρακίου σε σχέση με τον χρόνο μετά την παροχή του γεύματος. Οι τιμές δίνονται μέσος όρος ± τυπική απόκλιση (n=4)

Σιτηρέσιο	Sa ₂₀	FM	CP ₃₀	P ₃₀
Χρόνος (ώρες)				
0,5	65,77 ± 6,36 ^α	63,36 ± 4,91 ^α	67,28 ± 7,22 ^α	70,24 ± 5,17 ^α
2	82,97 ± 8,57 ^β	80,73 ± 8,03 ^β	81,31 ± 4,65 ^{αβ}	84,30 ± 4,44 ^{αβ}
4	84,00 ± 4,11 ^β	82,88 ± 6,07 ^β	85,38 ± 3,24 ^β	84,09 ± 4,01 ^{αβ}
6	81,15 ± 3,40 ^β	84,93 ± 3,05 ^β	79,06 ± 3,35 ^{αβ}	81,15 ± 4,26 ^{αβ}
8		85,01 ± 5,96 ^β	84,01 ± 3,68 ^β	85,85 ± 6,00 ^β
10	88,01 ± 5,00 ^β	80,40 ± 2,20 ^β	81,49 ± 1,77 ^{αβ}	84,86 ± 9,75 ^β
12	83,48 ± 3,63 ^β	77,42 ± 7,99 ^{αβ}	77,11 ± 15,60 ^{αβ}	80,02 ± 2,69 ^{αβ}

Οι εκθέτες αναφέρονται σε συγκρίσεις στην ίδια στήλη

pH στομαχικού περιεχομένου

Οι τιμές του pH στο στομάχι ήταν αρχικά υψηλές σε όλα τα σιτηρέσια 5,0-5,5% ενώ μειώθηκαν έως 2,9 στις 12 ώρες μετά την παροχή του σιτηρεσίου. Η μεταβολή των τιμών του pH με το χρόνο προσεγγίστηκε με πολυωνυμική εξίσωση 2^{ου} βαθμού. Η μείωση ήταν ταχύτερη αρχικά (Σχήμα 4.1.) ενώ στη συνέχεια φάνηκε μια σταθεροποίηση σε χαμηλή τιμή pH (2-3) καθώς μειώθηκε η πληρότητα του στομάχου. Στο σιτηρέσιο FM οι τιμές μειώθηκαν με χαμηλότερο ρυθμό από τα υπόλοιπα σιτηρέσια που περιείχαν τις φυτικές πρώτες ύλες.



Σχήμα 4.1. Σχηματική παράσταση των τιμών του pH του στομαχικού περιεχομένου σε συνάρτηση με το χρόνο μετά την παροχή του γεύματος των τεσσάρων πειραματικών σιτηρεσίων σε άτομα λαυρακίου (100g) (n=4)

Στον Πίνακα 4.4. δίνονται τα αποτελέσματα της ανάλυσης διακύμανσης two-way ANOVA της επίδρασης του χρόνου μετά την παροχή του γεύματος (X), του τύπου του σιτηρεσίου (Σ) και της αλληλεπίδρασης τους στην υγρασία και στο pH του στομαχικού περιεχομένου των ατόμων λαυρακιού. Ο χρόνος είχε επίδραση και στις δύο παραμέτρους που μελετήθηκαν. Η υγρασία του στομαχικού περιεχομένου ήταν στατιστικά χαμηλότερη στη μισή ώρα μετά την παροχή του γεύματος από τις υπόλοιπες ώρες δειγματοληψίας σε κάθε σιτηρέσιο (Πίνακας 4.5). Ο τύπος σιτηρεσίου επηρέασε μόνο το pH του στομαχικού περιεχομένου με το σιτηρέσιο FM να έχει υψηλότερες τιμές από τα υπόλοιπα σιτηρέσια σε κάθε χρόνο.

Πίνακας 4.4. Ανάλυση διακύμανσης της επίδρασης του χρόνου μετά την παροχή του γεύματος (X), του τύπου του σιτηρεσίου (Σ) και της αλληλεπίδρασης τους στην υγρασία και στο pH του στομαχικού περιεχομένου των ατόμων λαυρακιού

	Χρόνος	Σιτηρέσιο	X*Σ
Υγρασία	***	-	-
pH	***	***	***

*** = διαφέρουν στατιστικά σε επίπεδο σημαντικότητας $P < 0,001$, αντίστοιχα.

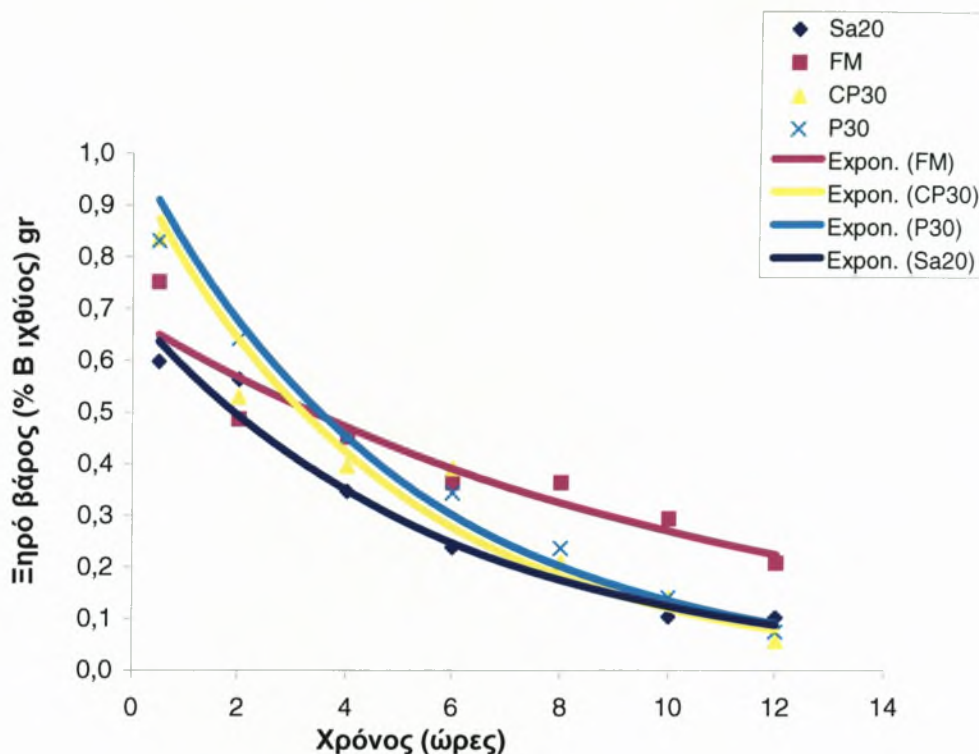
Πίνακας 4.5. Ανάλυση διακύμανσης της επίδρασης του χρόνου μετά την παροχή του γεύματος και του τύπου του σιτηρεσίου στην υγρασία και στο pH του στομαχικού περιεχομένου των ατόμων λαυρακιού

Χρόνος (ώρες)	Υγρασία	pH	Σιτηρέσιο	Υγρασία	pH
0,5	67,21 α	5,28 δ	Sa ₂₀	81,49	3,62 α
2	82,43 β	4,55 γ	FM	79,21	4,34 β
4	84,12 β	3,95 β	CP ₃₀	78,91	3,48 α
6	81,67 β	3,57 β	P ₃₀	81,82	3,67 α
8	84,57 β	2,96 α			
10	83,51 β	2,85 α			
12	80,20 β	2,63 α			

Διαφορετικά γράμματα αναφέρονται σε στατιστικές διαφορές στην ίδια στήλη

Γαστρική Εκκένωση

Το ξηρό υλικό του στομάχου μειωνόταν με το χρόνο όπως φαίνεται στο σχήμα 4.2. Στον Πίνακα 4.6 δίνεται ο χρόνος και ο ρυθμός γαστρικής εκκένωσης για κάθε σιτηρέσιο. Ο συντελεστής συσχέτισης μετρήθηκε από ανάλυση παλινδρόμησης και οι υψηλές τιμές αποδεικνύουν ότι οι γεωμετρικοί μέσοι των στομαχικών περιεχομένων σε σχέση με τον χρόνο ακολουθούν το εκθετικό μοντέλο. Η αρνητική τιμή του συντελεστή υποδηλώνει ότι οι τιμές του γεωμετρικού μέσου του στομαχικού περιεχομένου μειώνονται με τον χρόνο.



Σχήμα 4.2. Σχηματική παράσταση του ξηρού βάρους στομαχικού περιεχομένου ατόμων λαυρακιού (100g) σε συνάρτηση με τον χρόνο μετά την παροχή του γεύματος των τεσσάρων πειραματικών σιτηρεσίων (n= 4)

Πίνακας 4.6. Χρόνος γαστρικής εκκένωσης (ΧΓΕ: min) και ρυθμός γαστρικής εκκένωσης (ΡΓΕ: g/min) των ατόμων λαυρακιού μετά την παροχή του γεύματος

Γαστρική εκκένωση	ΧΓΕ	ΡΓΕ (x 10 ⁻³)	Συντελεστής συσχέτισης εκθετικού μοντέλου για τον ΧΓΕ
Sa ₂₀	295	2,86	-0,99
FM	387	1,54	-0,96
CP ₃₀	243	3,47	-0,97
P ₃₀	280	3,34	-0,99

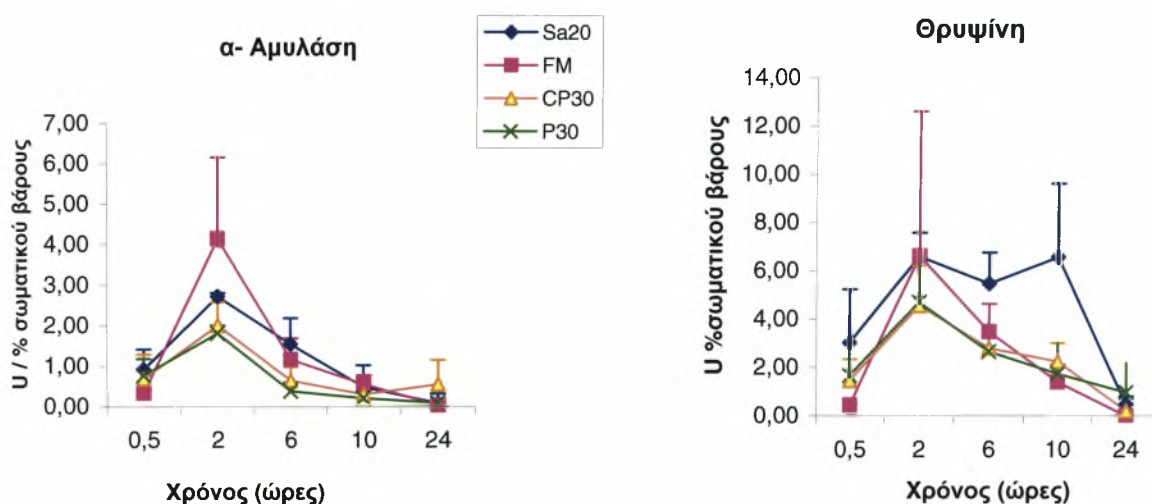
Ο χρόνος γαστρικής εκκένωσης ήταν μεγαλύτερος για το σιτηρέσιο FM, και μειωνόταν κατά τη σειρά FM>Sa₂₀>P₃₀>CP₃₀. Το στομάχι είχε ουσιαστικά εκκενωθεί μεταξύ 12-24 ώρες μετά την παροχή του γεύματος. Ανάλογα, ο μεγαλύτερος ρυθμός γαστρικής εκκένωσης παρατηρήθηκε στο σιτηρέσιο CP₃₀. Ο ρυθμός γαστρικής εκκένωσης του σιτηρεσίου FM ήταν χαμηλότερος σχεδόν κατά το ήμισυ από τα υπόλοιπα σιτηρέσια. Η κλίση της γραμμικής γραφικής παράστασης (εξίσωση (2), (παράγραφος 4.2.4.) του σιτηρεσίου FM διέφερε σημαντικά από τα υπόλοιπα σιτηρέσια που περιείχαν τις φυτικές πρώτες ύλες. Αντιθέτως, οι κλίσεις των υπόλοιπων σιτηρεσίων δεν διέφεραν σημαντικά μεταξύ τους.

Ενεργότητες ενζύμων εντερικού περιεχομένου*α-Αμυλάση*

Η ενεργότητα της α-αμυλάσης ήταν μέγιστη 2 ώρες μετά την παροχή του γεύματος σε όλα τα σιτηρέσια ενώ μειώθηκε σημαντικά στη συνέχεια με το χρόνο (Σχήμα 4.3). Στατιστική επεξεργασία μεταξύ των σιτηρεσίων στις 2 ώρες έδειξε ότι η ενεργότητα της αμυλάσης δε διέφερε.

Θρυψίνη

Οι τιμές ήταν αρχικά χαμηλές 30min μετά το γεύμα ενώ αυξήθηκε στις 2 ώρες με σημαντική αύξηση στα σιτηρέσια Sa₂₀ και P₃₀. Στο σιτηρέσιο Sa₂₀, που περιείχε σογιάλευρο η ενεργότητα της θρυψίνης παρέμεινε σε υψηλές τιμές στις 6 και 10 ώρες μετά το γεύμα με σημαντική διαφορά από τα υπόλοιπα σιτηρέσια.



Σχήμα 4.3. Σχηματική παράσταση της ενεργότητας των ενζύμων α-αμυλάσης και θρυψίνης (U/100g νεπού σωματικού βάρους) σε συνάρτηση με τον χρόνο μετά την παροχή του γεύματος των τεσσάρων πειραματικών σιτηρεσίων, στα πεπτικά υγρά του εντέρου από μων λαυρακιού (100g) (n=4)

Ενεργότητα ενζύμων στα τμήματα του εντερικού ιστού*α-Αμυλάση*

Ενεργότητα α-αμυλάσης παρατηρήθηκε σε όλα τα τμήματα του εντέρου (Πίνακας 4.7). Στατιστική επεξεργασία των αποτελεσμάτων έδειξε ότι οι τιμές δε διέφεραν με το χρόνο και μεταξύ των σιτηρεσίων, ενώ σημαντική διαφορά παρατηρήθηκε μεταξύ των τμημάτων του εντέρου. Σε όλα τα σιτηρέσια η ενεργότητα

α-αμυλάσης ήταν υψηλότερη στο κυρίως έντερο, ενώ η χαμηλότερη ενεργότητα παρατηρήθηκε στο οπίσθιο τμήμα του εντέρου.

Μαλτάση

Ενεργότητα μαλτάσης παρατηρήθηκε σε όλα τα τμήματα του εντέρου (Πίνακα 4.8). Δεν παρατηρήθηκαν διαφορές μεταξύ των σιτηρεσιών ή του χρόνου μετά την παροχή του γεύματος. Υψηλότερες τιμές παρατηρήθηκαν στο κυρίως έντερο με σημαντικές διαφορές από τα δύο άλλα τμήματα, ενώ στο οπίσθιο η ενεργότητα ήταν σημαντικά μειωμένη, όμοια με την αμυλάση.

Λιπάση

Η ενεργότητα της λιπάσης, όπως και της αμυλάσης και της μαλτάσης, δεν διέφερε στατιστικά σημαντικά με το χρόνο ή το σιτηρέσιο. Σημαντικές διαφορές παρατηρήθηκαν μεταξύ των εντερικών τμημάτων (Πίνακας 4.9). Η τιμή της ενεργότητας της λιπάσης στο οπίσθιο ήταν στατιστικά χαμηλότερη σε σχέση με τα πολωρικά τυφλά και το κυρίως τμήμα του εντέρου, στα οποία δεν παρατηρήθηκαν σημαντικές διαφορές στην ενεργότητα.

Θρυψίνη

Η ενεργότητα της θρυψίνης, 6 ώρες μετά την παροχή του γεύματος, σε όλα τα εντερικά τμήματα για τις τέσσερις τροφές ήταν αρκετά χαμηλές, 0,01-0,1U/100g νωπού σωματικού βάρους ιχθύος, και δε διέφεραν μεταξύ τους (δεν παρουσιάζονται). Οι τιμές ενεργότητας εκφρασμένες σε nmole/mg πρωτεΐνης min δίνονται στον Πίνακα 4.10. Η διακόμανση των τιμών ήταν πολύ μεγάλη και δεν παρατηρήθηκαν επίσης διαφορές μεταξύ των εντερικών τμημάτων και των σιτηρεσιών.

Πίνακας 4.7. Ολική ενεργότητα α-αμυλάσης (U/100g νωπού σωματικού βάρους ιχθύος) σε συνάρτηση με τον χρόνο μετά την παροχή του γεύματος των πειραματικών σιτηρεσιών στα τμήματα του εντέρου ατόμων λαυρακιού (100g). Οι τιμές δίνονται μέσος όρος \pm τυπική απόκλιση (n=4)

α - Αμυλάση				
Σιτηρέσιο	Sa ₂₀	FM	CP ₃₀	P ₃₀
Τμήματα εντέρου				
2 ώρες				
Πυλωρικά τυφλά	0,39 \pm 0,13β	0,23 \pm 0,14β	0,25 \pm 0,08β	0,21 \pm 0,05β
Κυρίως	0,44 \pm 0,28γ	0,31 \pm 0,07γ	0,48 \pm 0,27γ	0,27 \pm 0,13γ
Οπίσθιο	0,08 \pm 0,01α	0,04 \pm 0,03α	0,03 \pm 0,00α	0,03 \pm 0,00α
6 ώρες				
Πυλωρικά τυφλά	0,23 \pm 0,05β	0,28 \pm 0,14β	0,26 \pm 0,03β	0,41 \pm 0,22γ
Κυρίως	0,46 \pm 0,15γ	0,48 \pm 0,09γ	0,39 \pm 0,10γ	0,29 \pm 0,09γ
Οπίσθιο	0,03 \pm 0,01α	0,05 \pm 0,04α	0,11 \pm 0,07α	0,04 \pm 0,02α
24 ώρες				
Πυλωρικά τυφλά	0,25 \pm 0,24β	0,24 \pm 0,09β	0,52 \pm 0,23β	0,34 \pm 0,18β
Κυρίως	0,38 \pm 0,27γ	0,23 \pm 0,18γ	0,43 \pm 0,32γ	0,31 \pm 0,28γ
Οπίσθιο	0,01 \pm 0,00α	0,04 \pm 0,03α	0,12 \pm 0,01α	0,03 \pm 0,02α

Τα γράμματα α,β,γ, αναφέρονται σε στατιστικές διαφορές $P < 0,05$ στην ίδια στήλη έπειτα από μετατροπή των δεδομένων στον φυσικό λογάριθμο (ln).

Πίνακας 4.8. Ολική ενεργότητα μαλτάσης (U/ 100g νωπού σωματικού βάρους) σε συνάρτηση με τον χρόνο μετά την παροχή του γεύματος των πειραματικών σιτηρεσιών στα τμήματα του εντέρου ατόμων λαυρακιού (100g). Οι τιμές δίνονται μέσος όρος \pm τυπική απόκλιση (n=4)

Μαλτάση				
Σιτηρέσιο	Sa₂₀	FM	CP₃₀	P₃₀
Τμήματα εντέρου				
2 ώρες				
<i>Πυλωρικά τυφλά</i>	10,71 \pm 0,88β	10,74 \pm 3,23β	13,01 \pm 4,59β	13,53 \pm 2,14β
<i>Κυρίως</i>	30,88 \pm 4,50γ	45,77 \pm 10,86γ	23,38 \pm 8,41γ	32,33 \pm 11,54γ
<i>Οπίσθιο</i>	7,13 \pm 2,52α	9,62 \pm 2,82α	2,58 \pm 1,20α	9,78 \pm 2,32α
6 ώρες				
<i>Πυλωρικά τυφλά</i>	10,92 \pm 4,81β	8,96 \pm 2,09β	12,94 \pm 3,72β	10,20 \pm 1,74β
<i>Κυρίως</i>	42,56 \pm 5,09γ	38,39 \pm 8,03γ	32,76 \pm 4,34γ	35,82 \pm 11,68γ
<i>Οπίσθιο</i>	6,15 \pm 3,93α	7,27 \pm 2,89α	7,79 \pm 0,94α	8,34 \pm 5,16α
24 ώρες				
<i>Πυλωρικά τυφλά</i>	10,43 \pm 0,74β	10,91 \pm 8,50β	7,11 \pm 1,33β	8,12 \pm 3,17β
<i>Κυρίως</i>	21,32 \pm 4,89γ	23,30 \pm 3,18γ	28,23 \pm 5,39γ	24,49 \pm 5,06γ
<i>Οπίσθιο</i>	4,87 \pm 2,71α	2,36 \pm 1,85α	3,05 \pm 0,10α	6,04 \pm 1,43α

Τα γράμματα α,β,γ, αναφέρονται σε στατιστικές διαφορές $P < 0,05$ στην ίδια στήλη έπειτα από μετατροπή των δεδομένων στον φυσικό λογάριθμο (ln).

Πίνακας 4.9. Ολική ενεργότητα λιπάσης (U/100g νωπού σωματικού βάρους) σε συνάρτηση με τον χρόνο μετά την παροχή του γεύματος των πειραματικών σιτηρεσιών στα τμήματα του εντέρου ατόμων λαυρακιού (100g). Οι τιμές δίνονται μέσος όρος \pm τυπική απόκλιση (n=4)

Λιπάση				
Σιτηρέσιο	Sa ₂₀	FM	CP ₃₀	P ₃₀
<i>Τμήματα εντέρου</i>				
2 ώρες				
Πυλωρικά τυφλά	2,46 \pm 1,25β	0,59 \pm 0,39β	0,52 \pm 0,20β	0,26 \pm 0,02β
Κυρίως	0,95 \pm 0,26β	1,47 \pm 1,06 β	1,19 \pm 0,46β	0,60 \pm 0,12β
Οπίσθιο	0,22 \pm 0,09α	0,19 \pm 0,15α	0,11 \pm 0,04α	0,12 \pm 0,08α
6 ώρες				
Πυλωρικά τυφλά	1,02 \pm 0,69β	0,49 \pm 0,18β	0,54 \pm 0,07β	1,35 \pm 0,80β
Κυρίως	2,07 \pm 2,14β	0,74 \pm 0,13β	0,56 \pm 0,22β	0,89 \pm 0,58β
Οπίσθιο	0,24 \pm 0,10α	0,16 \pm 0,04α	0,25 \pm 0,11α	0,24 \pm 0,20α
24 ώρες				
Πυλωρικά τυφλά	0,20 \pm 0,08β	0,22 \pm 0,05β	0,41 \pm 0,33 β	0,36 \pm 0,01β
Κυρίως	0,56 \pm 0,10β	0,58 \pm 0,01β	0,71 \pm 0,29β	0,79 \pm 0,10β
Οπίσθιο	0,06 \pm 0,01α	0,08 \pm 0,06α	0,11 \pm 0,33α	0,32 \pm 0,21α

Τα γράμματα α,β,γ, αναφέρονται σε στατιστικές διαφορές $P < 0,05$ στην ίδια στήλη έπειτα από μετατροπή των δεδομένων στον φυσικό λογάριθμο (ln).

Πίνακας 4.10. Ολική ενεργότητα θρυψίνης (nmole p-νιτροανιλίνης που απελευθερώνεται/mg πρωτεΐνης min) στις 6 ώρες μετά την παροχή του γεύματος των πειραματικών σιτηρεσιών στα τμήματα του εντέρου ατόμων λαυρακιού (100g). Οι τιμές δίνονται μέσος όρος \pm τυπική απόκλιση (n=4)

Θρυψίνη				
Σιτηρέσιο	Sa ₂₀	FM	CP ₃₀	P ₃₀
<i>Τμήματα εντέρου</i>				
Πυλωρικά τυφλά	3,25 \pm 2,34	12,50 \pm 19,16	11,79 \pm 22,57	13,16 \pm 11,41
Κυρίως	7,14 \pm 7,70	5,24 \pm 5,54	8,27 \pm 9,52	10,50 \pm 9,34
Οπίσθιο	14,80 \pm 16,05	40,76 \pm 17,04	23,44 \pm 23,93	11,00 \pm 12,17

4.4. ΣΥΖΗΤΗΣΗ

Πεπτικότητα πρωτεϊνών

Η πεπτικότητα των πρωτεϊνών για τα σιτηρέσια που περιείχαν μπιζέλι και στα δύο πειράματα ήταν υψηλότερη σε σχέση με αυτά που περιείχαν ρεβύθι. Είναι προφανές ότι η πρωτεΐνη του μπιζελιού είχε καλύτερη πεπτικότητα στο λαυράκι από την πρωτεΐνη του ρεβυθιού. Επίσης, οι τιμές πεπτικότητας των πρωτεϊνών των σιτηρεσίων P₁₅ και P₃₀ ήταν υψηλές και δε διέφεραν στατιστικά μεταξύ τους.

Το μπιζέλι έχει χρησιμοποιηθεί με ανάλογα αποτελέσματα και σε άλλα υδρόβια είδη. Μελέτες σε γαρίδες *Litopenaeus stylirostris* και *Penaeus monodon* έχουν δείξει ότι η μερική υποκατάσταση του ιχθυαλεύρου από μπιζέλια σε εμπορικά σιτηρέσια δίνει υψηλή πεπτικότητα (Cruz-Suarez et al., 2001, Bautista-Teruel et al., 2003). Προϊόντα συμπύκνωσης πρωτεΐνης μπιζελιού έχουν επίσης μελετηθεί με θετικά αποτελέσματα σε εξωθημένα σιτηρέσια για σαρκοφάγα είδη όπως στο σολομό *Salmo salar* L. (Carter & Hauler, 2000) και στο βακαλάο *Gadus morhua* L. (Tibbets, 2006). Οι ερευνητές αυτοί επισημαίνουν ωστόσο ότι η παραγωγή πρωτεϊνικών συμπυκνωμάτων από τα μπιζέλια είναι ακόμα οικονομικά απαγορευτική.

Δυστυχώς δεν υπάρχουν αντίστοιχες μελέτες εκτίμησης των ρεβυθιών ως συστατικά εξωθημένων ιχθυοτροφών. Χαμηλότερη πεπτικότητα πρωτεϊνών για σιτηρέσια που περιείχαν θερμικά επεξεργασμένο (σε αυτόκαυστο) ρεβύθι σε σχέση με σιτηρέσιο μάρτυρα που περιείχε σογιάλευρο έχει αναφερθεί σε χοίρους (Mustafa et al., 2000). Οι συγκεκριμένοι ερευνητές απέδωσαν τη μείωση της πεπτικότητας στην πολύπλοκη δομή των πρωτεϊνικών μορίων των ρεβυθιών που εμποδίζει την υδρόλυση της πρωτεΐνης. Μειωμένη πεπτικότητα πρωτεϊνών έχει αναφερθεί, επίσης, σε ποντίκια που διεδράφησαν με ρεβύθια θερμικά επεξεργασμένα (Nestares et al., 1996). Παρόλο που η θέρμανση μείωσε τους αναστολείς θρυψίνης που υπάρχουν στα ακατέργαστα ρεβύθια, η μειωμένη πεπτικότητα που παρατηρήθηκε οφειλόταν κατά τους συγγραφείς στη μετουσίωση της πρωτεΐνης και επομένως στη μείωση της βιοδιαθεσιμότητας μερικών αμινοξέων.

Οι τιμές πεπτικότητας πρωτεϊνών των σιτηρεσίων CP₁₅ και CP₃₀ των σιτηρεσίων της σειράς Β και Α αντίστοιχα, είχαν παρόμοιες τιμές και στατιστική επεξεργασία των αποτελεσμάτων έδειξε ότι δε διέφεραν μεταξύ τους. Η πεπτικότητα των πρωτεϊνών του σιτηρεσίου CP₁₅ της σειράς Β, ήταν χαμηλότερη από αυτήν του σιτηρεσίου CP₂₀ της ίδιας σειράς, αλλά όχι στατιστικά σημαντική.

Στο σιτηρέσιο Sa₂₀ παρατηρήθηκε υψηλότερη τιμή πεπτικότητας πρωτεϊνών σε σχέση με το Sb₂₀. Το γεγονός αυτό μπορεί να οφείλεται στο γεγονός ότι το σιτηρέσιο Sa₂₀ περιείχε περισσότερο ποσοστό ιχθυαλεύρου, καθώς και στη διαφορετική παρτίδα σογιάλευρου που προστέθηκε στο κάθε σιτηρέσιο.

Συγκρίνοντας τα σιτηρέσια της σειράς A, η σύσταση των οποίων ήταν παρόμοια με αυτών που χρησιμοποιήθηκαν στην τσιπούρα, οι τιμές πεπτικότητας των πρωτεϊνών των σιτηρεσίων που περιείχαν σπέρματα ψυχανθών ήταν υψηλότερες στο λαυράκι. Το γεγονός αυτό υποδεικνύει μεγαλύτερη ευαισθησία της τσιπούρας, συγκριτικά με το λαυράκι, σε αντιθρεπτικούς παράγοντες που επηρεάζουν την πεπτικότητα.

Πεπτικότητα λιπών

Η πεπτικότητα των λιπών δεν επηρεάστηκε από την προσθήκη των σπερμάτων ψυχανθών και ήταν υψηλή. Στην σειρά των σιτηρεσίων A οι τιμές ήταν μεγαλύτερες από 98% και στη σειρά των σιτηρεσίων B ίση ή ελάχιστα μικρότερη του 98%. Το έλαιο που περιείχαν τα σιτηρέσια ήταν κυρίως ιχθυέλαιο που γενικά έχει πολύ καλή πεπτικότητα και για το λόγο αυτό δεν υπήρχαν διαφοροποιήσεις ανάμεσα στα σιτηρέσια. Καμία διαφορά στην πεπτικότητα των λιπών δεν παρατηρήθηκε και σε σιτηρέσια που περιείχαν εξωθημένα και αποφλοιωμένα μπιζέλια για ιχθύδια λαυρακιού (*Dicentrarchus labrax*, Gouveia & Davies, 2000) και πέστροφας (*Oncorhynchus mykiss*, Thiessen et al., 2003).

Οι τιμές της πεπτικότητας των λιπών που παρατηρήθηκαν στη σειρά των σιτηρεσίων A, η σύσταση των οποίων ήταν παρόμοια με αυτών που χρησιμοποιήθηκαν στην τσιπούρα, ήταν γενικά υψηλότερες από αυτές που παρατηρήθηκαν στην τσιπούρα και ιδιαίτερος στα σιτηρέσια που περιείχαν σπέρματα ψυχανθών. Αυτό υποδεικνύει μεγαλύτερη ευαισθησία της τσιπούρας, συγκριτικά με το λαυράκι όπως και στην περίπτωση των πρωτεϊνών, σε αντιθρεπτικούς παράγοντες που επηρεάζουν την πεπτικότητα των λιπών. Επιπλέον, η διαδικασία της εξώθησης που ήταν διαφορετική στην περίπτωση των σιτηρεσίων που χρησιμοποιήθηκαν στο λαυράκι μπορεί να είχε θετική επίδραση στην πεπτικότητα.

Πεπτικότητα αμύλου

Η πεπτικότητα του αμύλου συνδέεται αρνητικά με την περιεκτικότητά του στο σιτηρέσιο, όπως έχει καταδειχθεί για διάφορα είδη ιχθύων (Fountoulaki et al., 2005, Herme et al., 1989, Stone et al., 2003). Βάσει αυτού, τα σιτηρέσια της σειράς Α, που περιέχουν υψηλότερα ποσοστά αμύλου (12,09-17,56%) σε σύγκριση με τα σιτηρέσια της σειράς Β (4,36-7,25%) θα αναμενόταν να χαρακτηρίζονται από χαμηλότερες πεπτικότητες. Παρατηρείται εν τούτοις το αντίθετο, καταδεικνύοντας την ύπαρξη αντιθρεπτικών παραγόντων στα σιτηρέσια της Β σειράς, που επηρεάζουν την πεπτικότητα του αμύλου. Τα σιτηρέσια της σειράς Β περιέχουν 15% ηλιαλεύρο, αυξάνοντας την περιεκτικότητα των σιτηρεσίων σε ΜΑΠ. Η χαμηλή πεπτικότητα αμύλου έχει αποδοθεί στην υψηλή περιεκτικότητα του ηλιαλεύρου σε ΜΑΠ. Οι τελευταίοι είτε μειώνουν τη διαθεσιμότητα του υποστρώματος στο ένζυμο είτε αλληλεπιδρούν με τις διαδικασίες μεταβολισμού (Skan et al., 2004).

Στις δύο σειρές των σιτηρεσίων, η πεπτικότητα του αμύλου των σπερμάτων ψυχανθών ήταν χαμηλότερη από αυτή του σίτου, με πλέον έντονες διαφορές στην περίπτωση των εμπορικών σιτηρεσίων. Αυτά τα αποτελέσματα συμφωνούν με προηγούμενες μελέτες στις οποίες είχε παρατηρηθεί ότι τα χαρακτηριστικά του αμύλου των σπερμάτων ψυχανθών δεν επιτρέπουν την υδρόλυση του αμύλου από την αμυλάση. Ακόμα και μετά την εξώθηση, όπου αυξάνεται η πεπτικότητα του αμύλου των σπερμάτων ψυχανθών, παραμένει χαμηλότερη από την πεπτικότητα του αμύλου του σίτου (Fredriksson et al., 1998, Huang et al., 2007, Stone et al., 2003). Δεν είναι γνωστοί οι λόγοι στους οποίους οφείλεται η παρατηρούμενη μείωση της πεπτικότητας για τα σιτηρέσια ChP₁₅ και ChP₂₀. Έχουν αναφερθεί ότι ορισμένοι αντιθρεπτικοί παράγοντες που περιέχονται σε κάποιο συστατικό δύνανται να αλληλεπιδρούν μεταξύ τους (Francis et al., 2001). Δεν υπάρχουν πολλές μελέτες για τις αλληλεπιδράσεις και τα αποτελέσματά τους, ιδιαίτερα στους ιχθύς. Στην αλληλεπίδραση αυτή ίσως οφείλεται η μείωση της πεπτικότητας στα σιτηρέσια που περιέχουν ρεβύθι.

Στομαχικό Περιεχόμενο

- *pH στομαχικού περιεχομένου*

Η οξύτητα του στομάχου επηρεάζεται από διάφορους παράγοντες. Οι διαφοροποιήσεις μεταξύ των ατόμων, η ηλικία των ιχθύων, η σύσταση του σιτηρεσίου, η θερμοκρασία και η αλατότητα του νερού μπορούν να παίξουν

σημαντικό ρόλο στη διαμόρφωση της τιμής του pH του στομαχικού περιεχομένου (Getachew, 1989).

Στην παρούσα μελέτη οι αρχικές τιμές του pH ήταν παρόμοιες για όλα τα σιτηρέσια. Αρχικά οι τιμές ήταν υψηλές λόγω της παρουσίας της τροφής και του νερού στο στομάχι. Στη συνέχεια μειώθηκαν προφανώς λόγω της έκκρισης υδροχλωρικού οξέος και έδειξαν μία τάση σταθεροποίησης μετά τις 8 ώρες με την κένωση του στομάχου. Παρόμοιες τιμές pH στομαχικού περιεχομένου 5,5-2,5 έως τις 12 ώρες μετά την λήψη του σιτηρεσίου βρέθηκαν και στην τσιπούρα, *Sparus aurata* (Deguara et al., 2003).

Ο τύπος του σιτηρεσίου επηρέασε σημαντικά τις τιμές του pH. Στο σιτηρέσιο FM που περιείχε περισσότερο ιχθυάλευρο, η μείωση των τιμών του pH ήταν μικρότερη με τον χρόνο. Το γεγονός αυτό πιθανώς οφείλεται στη μεγαλύτερη ρυθμιστική ικανότητα του ιχθυάλευρου έναντι των φυτικών πρώτων υλών (Taylor and Grossell, 2006). Εν τούτοις πρέπει να ληφθεί υπόψη και ο μεγαλύτερος χρόνος γαστρικής εκκένωσης που παρατηρήθηκε στο σιτηρέσιο FM (επόμενη ενότητα) που προφανώς συνέβαλε στην διατήρηση του υψηλού pH για μεγαλύτερο χρόνο.

- *Γαστρική εκκένωση*

Ο χρόνος γαστρικής εκκένωσης του στομαχικού περιεχομένου εξαρτάται από το είδος και την ηλικία των ιχθύων, το είδος, το μέγεθος και την κατεργασία του σιτηρεσίου, και τη θερμοκρασία του νερού (Dos Santos & Jobling, 1991, Hilton et al., 1981, Jobling et al., 1977, Sveier et al., 1999). Ένα μεγάλο εύρος μοντέλων έχουν εφαρμοστεί προκειμένου να περιγράψουν τη γαστρική εκκένωση των ιχθύων (Bromley, 1994, Persson, 1986). Τα τρία πιο συχνά χρησιμοποιούμενα μοντέλα είναι το γραμμικό, της τετραγωνικής ρίζας και το εκθετικό (Bromely 1994, Jobling 1986).

Στην παρούσα μελέτη τα δεδομένα τοποθετήθηκαν σε γραφική παράσταση σε σχέση με τον χρόνο μετά την παροχή του σιτηρεσίου. Το εκθετικό μοντέλο περιέγραψε καλύτερα τη γαστρική εκκένωση δίνοντας υψηλές τιμές του συντελεστή συσχέτισης. Το μοντέλο αυτό δείχνει ότι η γαστρική εκκένωση είναι ταχύτερη αρχικά ενώ στη συνέχεια επιβραδύνεται καθώς μειώνεται η πληρότητα του στομάχου (Bromley, 1987, Riche et al., 2004).

Κατά τον Persson (1986), το εκθετικό μοντέλο περιγράφει καλύτερα τον τρόπο εκκένωσης του στομαχικού περιεχομένου των ιχθύων στις περισσότερες μελέτες. Ο Jobling (1986) θεωρεί ότι το μοντέλο αυτό είναι το πιο κατάλληλο για την περιγραφή

της εκκένωσης μικρών, εύκολα πεπτών τεμαχίων τροφής χαμηλού ενεργειακού περιεχομένου από το στομάχι. Εκθετικά μοντέλα έχουν αναφερθεί και για άλλα είδη ιχθύων όπως τιλάρια *Oreochromis niloticus* L. (Riche et al., 2004), σολομό *Salmo salar* L. (Sveier et al., 1999), τσιπούρα *Sparus aurata* L. (Venou, 2003). Σε άλλη μελέτη με λαυράκια χαμηλότερου βάρους χρησιμοποιήθηκε το γραμμικό μοντέλο για την περιγραφή της γαστρικής εκκένωσης, η οποία αυξήθηκε με την αύξηση της θερμοκρασίας του νερού (Santulli, et al., 1993).

Στην παρούσα μελέτη ο χρόνος γαστρικής εκκένωσης (ΧΓΕ) των σιτηρεσίων που περιείχαν φυτικές πρώτες ύλες ήταν αρκετά μικρότερος από το σιτηρέσιο FM που περιείχε το μεγαλύτερο ποσοστό αλεύρου σίτου. Το εξωθημένο άλευρο σίτου βρέθηκε ότι πέπεται πιο αργά, σε συμφωνία με προηγούμενη μελέτη σε τσιπούρες που διετράφησαν με σιτηρέσιο που περιείχε εξωθημένο άλευρο σίτου, όπου βρέθηκε ότι είχε το μεγαλύτερο χρόνο γαστρικής εκκένωσης (513min) και παρόμοιο ρυθμό (1,45 g/min) (Venou et al., 2003).

Έχει αναφερθεί ότι χημικές διαφορές μεταξύ των σιτηρεσίων επηρεάζουν τον ΧΓΕ, παρόλα αυτά ελάχιστες είναι οι γνώσεις της επίδρασης των φυσικών ιδιοτήτων των σιτηρεσίων στη γαστρική εκκένωση (De Silva & Owoyemi, 1983). Αυξημένη ποσότητα λίπους στο σιτηρέσιο έχει αναφερθεί ότι αυξάνει τον ΧΓΕ (Bromley, 1987, De Silva & Owoyemi, 1983). Αντιθέτως, η εξώθηση των σιτηρεσίων και των πρώτων υλών αυξάνουν το ΧΓΕ (De Silva & Owoyemi, 1983, Hilton, 1983, Venou et al., 2003).

Συγκρίνοντας τις κλίσεις των γραμμικών γραφικών παραστάσεων των λογαριθμημένων εξισώσεων βρέθηκε ότι το σιτηρέσιο FM είχε την μικρότερη κλίση και διέφερε στατιστικά σημαντικά από τα υπόλοιπα σιτηρέσια, ενώ μεταξύ των σιτηρεσίων Sa₂₀, CP₃₀ και P₃₀ δε βρέθηκαν στατιστικά σημαντικές διαφορές. Οι άπειτοι υδατάνθρακες έχουν αναφερθεί να επιταχύνουν την εκκένωση του πεπτικού σωλήνα της πέστροφας (Spannhof & Plantikow, 1983). Σύμφωνα και με τα αποτελέσματα της πεπτικότητας τα σιτηρέσια που περιείχαν μπιζέλι και ρεβύθι περιείχαν μεγαλύτερη ποσότητα άπειπου αμύλου. Επίσης, το σιτηρέσιο που περιείχε σογιάλευρο χαρακτηριζόταν από υψηλή περιεκτικότητα άπειπων υδατανθράκων λόγω της περιεκτικότητάς του σε αδιάλυτους ΜΑΠ. Είναι συνεπώς εμφανές ότι ο κύριος λόγος της επιτάχυνσης της πέψης στα σιτηρέσια αυτά οφειλόταν κατά κύριο λόγο στους άπειπους υδατάνθρακες που αυτά περιείχαν.

Ενεργότητες πεπτικών ενζύμων

- Εντερικό περιεχόμενο

Οι ενεργότητες της θρυψίνης και της α-αμυλάσης στην παρούσα μελέτη μεταβλήθηκαν με το χρόνο μετά τη λήψη του σιτηρεσίου. Παρόμοια εξάρτηση έχει παρατηρηθεί και σε άλλα σαρκοφάγα είδη όπως στην τσιπούρα (*Sparus aurata*) (Venou et al., 2003), στο *Anguilla japonica* (Takii et al., 1985), στο *Clarias gariepinus* (Uys et al., 1987) και στην πέστροφα *Salmo gairdneri* (Fal'ge & Spannkhof, 1976). Η μέγιστη ενεργότητα της θρυψίνης που παρατηρήθηκε στο χέλι (*Anguilla japonica*) και στο *Clarias gariepinus*, παρατηρήθηκε 5 ώρες μετά την κατάποση του σιτηρεσίου (Takii et al., 1985, Uys et al., 1987), ενώ ταχύτερη έκκριση που συμφωνεί με τα αποτελέσματα της παρούσας μελέτης, βρέθηκε για την τσιπούρα (Venou et al., 2003). Δεν παρατηρήθηκαν στατιστικά σημαντικές διαφορές στο μέγιστο της ενεργότητας της θρυψίνης μεταξύ των πειραματικών σιτηρεσίων. Το γεγονός αυτό ήταν αναμενόμενο διότι όλα τα σιτηρέσια είχαν σχεδιασθεί ώστε να είναι ισοπρωτεϊνικά. Παρόλο που η πεπτικότητα των πρωτεϊνών του σιτηρεσίου CP₃₀ ήταν χαμηλότερη από τα υπόλοιπα σιτηρέσια, αυτό δεν αντικατοπτρίστηκε στις τιμές της ενεργότητας της θρυψίνης. Τα επίπεδα της θρυψίνης στις 6 και 10 ώρες μετά το γεύμα για το σιτηρέσιο Sa₂₀ ήταν σημαντικά υψηλότερα από τα υπόλοιπα σιτηρέσια. Αυτό πρέπει να οφείλεται στην ύπαρξη της σόγιας και στις μικρές ποσότητες αναστολέων θρυψίνης που αυτή περιέχει (El-Adawy, 2002, Pisulewska & Pisulewski, 2000). Προσθήκη 20-25% σογιάλευρου σε εξωθημένα σιτηρέσια για σολομό (*Salmo salar*) αύξησε την έκκριση θρυψίνης από το πάγκρεας (Krogdahl et al., 2003).

Η μεταβολή της ενεργότητας της α-αμυλάσης με το χρόνο στο εντερικό περιεχόμενο ακολούθησε παρόμοιες αλλαγές με αυτές της θρυψίνης, εμφανίζοντας μέγιστη ενεργότητα 2 ώρες μετά την παροχή του γεύματος με μείωση έως τις αρχικές τιμές στις 10 ώρες σε όλα τα σιτηρέσια. Έχουν αναφερθεί έρευνες στις οποίες οι τιμές της ενεργότητας της αμυλάσης επηρεάστηκαν από τον χρόνο λήψης του σιτηρεσίου (Fal'ge & Spannkhof, 1976, Fountoulaki et al., 2005, Takii et al., 1985, Uys et al., 1987, Venou et al., 2003). Σε αντίθεση με τα αποτελέσματα της παρούσας μελέτης, στα είδη *Clarias gariepinus* και *Anguilla japonica* η ενεργότητα της αμυλάσης αυξανόταν αρχικά ενώ στη συνέχεια παρέμενε σταθερή (Takii et al., 1985, Uys et al., 1987). Αντιθέτως, οι τιμές ήταν αρκετά χαμηλότερες σε σχέση με τις τιμές που έχουν αναφερθεί για την τσιπούρα (Venou et al., 2003) όπου τα σιτηρέσια περιείχαν διπλάσια ποσότητα αμύλου, δείχνοντας ότι η ενεργότητα της αμυλάσης αυξάνεται καθώς αυξάνεται το

ποσοστό του αμύλου στα σιτηρέσια για τα σαρκοφάγα είδη. Στην παρούσα μελέτη, το σιτηρέσιο FM περιείχε ελάχιστα υψηλότερο ποσοστό αμύλου σε σχέση με τα άλλα τρία σιτηρέσια, αύξηση μη σημαντική ώστε να επηρεάσει την ενεργότητα της αμύλασης. Παρόλο που οι διαφορές της δομής του αμύλου του σίτου και των σπερμάτων ψυχανθών επηρέασαν σημαντικά την πεπτικότητα του αμύλου, δεν παρατηρήθηκαν σημαντικές διαφορές στην ενεργότητα της αμύλασης του εντερικού περιεχομένου.

- *Εντερικός ιστός*

Ενεργότητα αμύλασης παρατηρήθηκε σε όλα τα τμήματα του εντερικού ιστού της παρούσας μελέτης. Μεταξύ των εντερικών τμημάτων υψηλότερες τιμές ενεργότητας παρατηρήθηκαν στο κυρίως έντερο, ενώ οι χαμηλότερες τιμές στο οπίσθιο τμήμα. Παρόμοια αποτελέσματα βρέθηκαν και όταν τα αποτελέσματα εκφράστηκαν σε U/g ιστού. Τα αποτελέσματα αυτά συμφωνούν με προηγούμενη μελέτη, όπου η ενεργότητα της αμύλασης ήταν μεγαλύτερη στα πυλωρικά τυφλά και στο κυρίως έντερο του Ασιατικού λαυρακιού (*Lates calcarifer*) (Sabarathy & Teo, 1993). Η παρουσία της στο λαυράκι εξηγείται, κατά τους συγγραφείς, από το γεγονός ότι είναι απαραίτητη στα σαρκοφάγα για την υδρόλυση του γλυκογόνου, που υπάρχει στους ζωικούς ιστούς (Sabarathy & Teo, 1993). Στην ίδια μελέτη βρέθηκε ότι η ενεργότητα της αμύλασης ήταν μικρότερη σε σύγκριση με το παμφάγο *Siganus canaliculatus*. Ενεργότητα αμύλασης έχει βρεθεί στα περισσότερα είδη ιχθύων, παμφάγα, φυτοφάγα καθώς και σαρκοφάγα, με τα φυτοφάγα και τα παμφάγα είδη να έχουν υψηλότερες τιμές ενεργότητας από τα σαρκοφάγα (Cakrabarti et al., 1995, Fernandes et al., 2001, Hidalgo et al., 1999). Ενεργότητα αμύλασης στον εντερικό ιστό έχει βρεθεί σε σαρκοφάγα είδη, όπως στην τσιπούρα (*Sparus aurata*) (Alarcon et al., 2001), στον οξύρυγχο (*Acipenser naccarii*), στην πέστροφα (*Oncorhynchus mykiss*) (Furne et al., 2005), στο *Diplodus annularis* (Fernandes et al., 2001). Στο σαρκοφάγο είδος του γλυκού νερού *Pseudoplatystoma corruscans* η ενεργότητα της αμύλασης δεν διέφερε μεταξύ των εντερικών τμημάτων (Lunstedt et al., 2004). Οι τιμές της ενεργότητας της αμύλασης επηρεάζονται εκτός από τις διατροφικές συνθήκες και από τη θερμοκρασία και την εποχή (Kuz'mina et al., 1996).

Η μαλάση ανήκει στα ένζυμα των εντερικών μικρολαχνών. Τα ένζυμα αυτά δρουν κατά τη διάρκεια των τελευταίων σταδίων της πέψης και απορρόφησης. Ο ρόλος τους είναι να μεταφέρουν τα συστατικά της τροφής μέσω της μεμβράνης του

εντερικού επιθηλίου. Στην παρούσα μελέτη, η ενεργότητα της μαλτάσης δεν επηρεάστηκε από το χρόνο μετά τη λήψη του σιτηρεσίου, καθώς και από τη διαφορετική σύσταση των πειραματικών σιτηρεσίων. Αντιθέτως, οι υψηλότερες τιμές παρατηρήθηκαν στο κύριο τμήμα του εντέρου σε όλα τα σιτηρέσια (και όταν εκφράστηκαν σε U/g ιστού) δείχνοντας ότι το τμήμα αυτό του εντέρου αποτελεί την κύρια περιοχή σχηματισμού γλυκόζης. Παρόμοια αποτελέσματα παρατηρήθηκαν και στο σολομό που διετράφει με σιτηρέσιο που περιείχε σόγια 20% (Krogdahl et al., 2003). Στην ίδια μελέτη, η ενεργότητα της μαλτάσης ήταν υψηλότερη στο κυρίως έντερο σε σχέση με το οπίσθιο δείχνοντας ότι η απορρόφηση των προϊόντων υδρόλυσης του αμύλου έχει ολοκληρωθεί πριν φθάσουν στο οπίσθιο τμήμα του εντέρου. Υψηλότερη ενεργότητα στο κυρίως έντερο έχει αναφερθεί για το παμφάγο είδος τιλάπιας (*Oreochromis niloticus*) (Tengjaroenkul et al., 2000).

Οι τιμές της ενεργότητας της μαλτάσης, στην παρούσα μελέτη, ήταν υψηλότερες στα τμήματα του εντέρου όπου ήταν υψηλότερες και οι τιμές της αμυλάσης, καθώς η αμυλάση παράγει το υπόστρωμα για την δράση της μαλτάσης, σε συμφωνία με τα ευρήματα μελέτης στο Ασιατικό λαυράκι (*Lates calcarifer*) (Sabarathy & Teo, 1993) και στην τιλάπια (*Oreochromis niloticus*) (Tengjaroenkul et al., 2000). Αντιθέτως, η υψηλότερη τιμή ενεργότητας της μαλτάσης παρατηρήθηκε στα πυλωρικά τυφλά στο Ασιατικό λαυράκι (*Lates calcarifer*) (Harpaz et al., 2005) καθώς και σε λαυράκια (*Dicentrarchus labrax*) που διετράφονταν με σιτηρέσια που περιείχαν διάφορους τύπους σογιάλευρου (Tibaldi et al., 2006).

Οι τιμές ενεργότητας της θρυψίνης στις 6 ώρες μετά την παροχή του γεύματος εκφρασμένες σε U/100g ιχθύος δε διέφεραν μεταξύ των εντερικών τμημάτων και μεταξύ των σιτηρεσίων για κάθε τμήμα του εντέρου. Η έκφραση των αποτελεσμάτων σε nmole/mg πρωτεΐνης min δεν άλλαξε την εξαγωγή των συμπερασμάτων. Μη σημαντικά στατιστικές διαφορές των τιμών ενεργότητας θρυψίνης μεταξύ των εντερικών τμημάτων έχουν παρατηρηθεί στην τοιπούρα (Deguara et al., 2003). Στην παρούσα μελέτη οι τιμές ενεργότητας της θρυψίνης στον εντερικό ιστό ήταν αρκετά χαμηλότερες σε σχέση με αυτές στο εντερικό περιεχόμενο υποδεικνύοντας ότι στο λαυράκι η υδρόλυση των πρωτεϊνών από τη θρυψίνη λαμβάνει χώρα κυρίως στον εντερικό αυλό.

Οι τιμές ενεργότητας της λιπάσης (BAL) δε διέφεραν μεταξύ των σιτηρεσίων στην παρούσα μελέτη, σε συμφωνία με την πεπτικότητα των λιπών. Ενεργότητα λιπάσης παρατηρήθηκε σε όλα τα εντερικά τμήματα, με σημαντικά χαμηλότερες

τιμές στο οπίσθιο έντερο. Παρουσία λιπάσης και φωσφολιπάσης A2 έχει αναφερθεί σε ιχθύδια λαυρακιού (*Dicentrarchus labrax*) (Zambonino Infante & Cahu, 1999).

Στο πεπτικό σύστημα διαφόρων ειδών ιχθύων έχουν ανιχνευτεί διάφορες λιπάσες, η φωσφολιπάση A2, η παγκρεατική λιπάση και η μη ειδική λιπάση που ενεργοποιείται από τα χολικά άλατα (BAL) (Iijima et al., 1998, Izquierdo et al., 2000, Perez-Casanova et al., 2004). Η παρουσία τους είναι αυξημένη στα σαρκοφάγα σε σύγκριση με τα φυτοφάγα ή τα παμφάγα είδη, καθώς τα πρώτα καταναλώνουν τροφές πλούσιες σε λιπαρά (Chakrabarti et al., 1995, Tengjaroenkul et al., 2000). Τα λιπίδια του σιτηρεσίου παίζουν σημαντικό ρόλο ως πηγές ενέργειας των σαρκοφάγων ειδών, στα οποία η διαθεσιμότητα των υδατανθράκων για ενέργεια είναι πολύ χαμηλή. Η διατροφή τους στο φυσικό τους περιβάλλον περιλαμβάνει εστέρες κηρών και τριγλυκερίδια, υψηλά σε πολυακόρεστα λιπαρά οξέα, τα οποία αντιστέκονται στην υδρόλυση από την παγκρεατική λιπάση. Η ενεργότητα της BAL εξαρτάται από την παρουσία χολικών αλάτων για την υδρόλυση των ακυλογλυκερολών, των εστέρων χοληστερόλης και των εστέρων λιποδιαλυτών βιταμινών (Perez-Casanova et al., 2004). Ενεργότητα του τύπου αυτού λιπάσης έχει αναφερθεί και για άλλα είδη ιχθύων όπως *Pagrus major* (Iijima et al., 1998), *Melanogrammus aeglefinus* (Perez-Casanova et al., 2004), στον βακαλάο (*Gadus morrhua*) (Gjellesvik et al., 1989, Lie & Lambersten, 1985). Ιδιαίτερα υψηλή ενεργότητα λιπάσης έχει βρεθεί στα πυλωρικά στην πέστροφα (*Salmo gairdneri*) (Tocher & Sargent, 1984).

Συμπερασματικά, ορισμένα πεπτικά χαρακτηριστικά του λαυρακιού επηρεάστηκαν από τον τύπο του σιτηρεσίου που χρησιμοποιήθηκε. Η ενεργότητα των ενζύμων στο εντερικό περιεχόμενο επηρεάστηκε από τον χρόνο μετά την παροχή του γεύματος σε αντίθεση με τον ιστό όπου οι διαφορές παρατηρήθηκαν κυρίως μεταξύ των τμημάτων του ιστού.

Οι γνώσεις της επίδρασης της προσθήκης σπερμάτων ψυχανθών στις ιχθυοτροφές, στη γαστρική εκκένωση και στα πεπτικά ένζυμα θα παρέχει επιπλέον πληροφορίες στη βιομηχανία στην προσπάθεια σύνθεσης πιο οικονομικών ιχθυοτροφών και ταυτόχρονα στη μέγιστη δυνατή αξιοποίηση τους από τα άτομα λαυρακιού.

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 5

ΜΕΛΕΤΗ ΤΗΣ ΣΥΣΤΑΣΗΣ ΤΩΝ ΚΤΗΝΟΤΡΟΦΙΚΩΝ ΣΠΕΡΜΑΤΩΝ ΨΥΧΑΝΘΩΝ ΣΕ ΔΙΑΦΟΡΕΣ ΠΟΙΚΙΛΙΕΣ, ΤΟΠΟΘΕΣΙΕΣ ΚΑΛΛΙΕΡΓΕΙΑΣ ΚΑΙ ΕΤΗ ΠΑΡΑΓΩΓΗΣ

5.1. ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Η επιλογή των φυτικών υλών για την προσθήκη τους σε ιχθυοτροφές, βασίζεται πρωτίστως στην πρωτεϊνική τους σύσταση λόγω των υψηλών απαιτήσεων των ιχθύων, ιδίως των σαρκοφάγων, σε πρωτεΐνες.

Μελέτες ωστόσο έχουν δείξει ότι η περιεκτικότητα των σπερμάτων ψυχανθών σε πρωτεΐνες και σε άλλα θρεπτικά, καθώς και αντιθρεπτικά συστατικά διαφέρει μεταξύ ποικιλιών ενός είδους. Διαφορές σε θρεπτικά συστατικά έχουν βρεθεί μεταξύ ποικιλιών κτηνοτροφικού μπιζελιού με διαφορετικό χρώμα σπόρου (πράσινο ή κίτρινο), διαφορετικό σχήμα (λεία ή ανώμαλη επιφάνεια) αλλά και διαφορετικής εποχής σποράς (χειμώνα ή άνοιξη) (Kosson et al., 1994; Castell et al., 1996; Bishnoi et al., 1993; Wang & Daun, 2004). Αναφέρονται επιπλέον διαφορές μεταξύ ποικιλιών μπιζελιού από τη συγκομιδή δύο συναπών ετών (Castell et al., 1996; Al-Karaki & Ereifej, 1999). Ανάλογες μελέτες έχουν δείξει ότι η σύσταση του ρεβυθιού διαφέρει σε ποικιλίες των δύο τύπων *desi* και *kabuli* (Saini et al., 1984; Rincon et al., 1998), ενώ υπάρχουν αναφορές και για άλλα είδη σπερμάτων ψυχανθών, όπως ποικιλίες της φακής (*Lens culinaris*) (Wang & Daun, 2006) και των λούπινων (Ruiz & Sotelo, 2001).

Αποτελέσματα μιας σειράς ερευνών έχουν δείξει ότι η σύσταση των διαφόρων ειδών σπερμάτων ψυχανθών δεν εξαρτάται μόνο από την ποικιλία, αλλά και από περιβαλλοντικούς παράγοντες, όπως οι κλιματολογικές συνθήκες που κυριαρχούν κατά τη χρονιά παραγωγής. Η επίδραση των περιβαλλοντικών συνθηκών έχει μελετηθεί στη σύσταση των μπιζελιών (Al Karaki & Ereifej, 1999), των ρεβυθιών (Singh et al., 1990), των φασολιών (*Phaseolus vulgaris*, Kigel, 1999), των δολίχων (*Vigna unguiculata*, Oluwatosin, 1999) και σε διάφορα είδη σπερμάτων ψυχανθών του γένους *Vicia* (Berger et al., 1999).

Έτσι, στην παρούσα μελέτη, μελετάται η σύσταση ποικιλιών μπιζελιού και ρεβυθιού με σκοπό την εύρεση ποικιλιών με υψηλότερο πρωτεϊνικό περιεχόμενο από αυτών που ήδη παράγονται παραδοσιακά για ζωοτροφή και που χρησιμοποιήθηκαν ως συστατικά ιχθυοτροφών στα προηγούμενα κεφάλαια. Επιπλέον, μελετήθηκε η περιεκτικότητά τους και σε άλλα θρεπτικά συστατικά για δύο συναπτά έτη παραγωγής, ώστε να βρεθεί αν η περιεκτικότητά τους επηρεάζεται από το χρόνο.

Συγχρόνως, μελετήθηκε και σε άλλες δύο τοποθεσίες καλλιέργειας, ώστε να συγκριθούν με αυτές που παράγονται σε μεγάλες ποσότητες στο κεντρικό αγρόκτημα του Ινστιτούτου Κτηνοτροφικών Φυτών και Βοσκών (ΙΚΦ). Τα αποτελέσματα θα χρησιμεύσουν στην προσπάθεια βελτίωσης της ποιότητας των κτηνοτροφικών σπερμάτων ψυχανθών στην Ελλάδα για χρήση τους ως συστατικά των ιχθυοτροφών.

5.2. ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ

Σπέρματα από τέσσερις ποικιλίες ρεβυθιού και τέσσερις μπιζελιού παραλήφθηκαν σε μικρές ποσότητες από το Ινστιτούτο Κτηνοτροφικών Φυτών και Βοσκών (Λάρισα). Είχαν καλλιεργηθεί από το Ινστιτούτο Κτηνοτροφικών Φυτών και Βοσκών σε τρεις διαφορετικές περιοχές, για δύο συναπτά καλλιεργητικά έτη, 2002-2003 και 2003-2004. Οι ακριβείς τοποθεσίες των καλλιεργειών ήταν: Παλαμάς (39°27'43''N, 22°04'22''E), Φυτόριο (Αμπέλου) (39°45'15''N, 22°51'40''E), ΙΚΦ (Κεντρικό Αγρόκτημα) (39°45'15''N, 22°51'45''E) και οι ολικές διαστάσεις των χωραφιών ήταν 15, 43, και 53 εκτάρια αντίστοιχα. Οι διαστάσεις των αγροτεμαχίων ήταν 2m x 10m.

Ολόκληρα τα σπέρματα επεξεργάστηκαν με τη συσκευή άλεσης (ball-milling) όπως περιγράφεται στην παράγραφο 2.1.1.

5.3. ΧΗΜΙΚΕΣ ΑΝΑΛΥΣΕΙΣ

Στις ποικιλίες ρεβυθιού και μπιζελιού προσδιορίστηκαν τα παρακάτω σύμφωνα με τις μεθόδους που περιγράφονται στο Κεφάλαιο 2, παράγραφο 2.2.2.: υγρασία, τέφρα, πρωτεΐνη, λίπος, άμυλο και μη αμυλούχοι πολυσακχαρίτες με την εξής τροποποίηση στον προσδιορισμό των μη αμυλούχων πολυσακχαριτών (ΜΑΠ):

Στον υπολογισμό των ΜΑΠ χρησιμοποιήθηκε πρότυπο διάλυμα σακχάρων που περιείχε 7,612g/l αραβινόζης, 6g/l γλυκόζης και 3,878g/l γαλακτουρονικού οξέος βάση της σύστασης των ΜΑΠ των ρεβυθιών στα μονομερή αυτά σάκχαρα (Knudsen, 1997), ενώ για την περίπτωση των μπιζελιών το πρότυπο διάλυμα περιείχε 4,01g/l αραβινόζης, 9,92g/l γλυκόζης και 3,56g/l γαλακτουρονικού οξέος (Knudsen, 1997).

5.4. ΣΤΑΤΙΣΤΙΚΗ ΑΝΑΛΥΣΗ

Για τη στατιστική ανάλυση των αποτελεσμάτων χρησιμοποιήθηκε το στατιστικό υπολογιστικό πρόγραμμα SPSS 11.0 για Windows. Εφαρμόστηκε η ανάλυση διακύμανσης one-way ANOVA με την ποικιλία και την τοποθεσία καλλιέργειας ως ανεξάρτητες μεταβλητές και t-τεστ για τη σύγκριση των μέσων τιμών των δύο ετών παραγωγής. Οι συγκρίσεις των μέσων όρων έγιναν με το κριτήριο Tukey σε επίπεδο

σημαντικότητας 95% ($P < 0,05$). Οι τιμές παρουσιάζονται ως μέσος όρος \pm τυπική απόκλιση (\pm SD).

5.5. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

Ρεβύθια

Η περιεκτικότητα (%ξηρού βάρους) σε πρωτεΐνες, λίπος και τέφρα των ρεβυθιών που μελετήθηκαν, παρουσιάζεται στον Πίνακα 5.1. Η περιεκτικότητα σε πρωτεΐνες κυμάνθηκε από 19,8-27,8% και σε λίπος από 4,4-7,3%. Η σύσταση σε τέφρα ήταν παρόμοια για όλες τις περιοχές και για τα δύο έτη. Η ποικιλία 'Σέριφος' εμφάνισε την υψηλότερη περιεκτικότητα σε πρωτεΐνες στις τοποθεσίες 'Παλαμάς' και 'Φυτώριο' και για τα δύο έτη, ενώ οι ποικιλίες 'Έβρος' και 'Σέριφος' είχαν στατιστικά σημαντικά ($P=0,007$) την υψηλότερη περιεκτικότητα στην τοποθεσία 'ΙΚΦ' μόνο για το έτος 2003. Συγκρίνοντας τις ποικιλίες, η ανάλυση διακύμανσης έδειξε ότι η υψηλότερη περιεκτικότητα πρωτεϊνών παρατηρήθηκε στην ποικιλία 'Σέριφος' και στα δύο έτη. Όμοια συγκρίνοντας τις τοποθεσίες καλλιέργειας οι υψηλότερες περιεκτικότητες πρωτεϊνών παρατηρήθηκαν για την τοποθεσία 'Παλαμάς' στα δύο έτη. Οι περιεκτικότητες πρωτεϊνών των ποικιλιών των ρεβυθιών επηρεάστηκαν σημαντικά ($P < 0,05$) από τη χρονιά παραγωγής στην ίδια τοποθεσία καλλιέργειας, εκτός από την ποικιλία 'Σέριφος' στην τοποθεσία 'ΙΚΦ' και τις ποικιλίες 'Έβρος' και 'Τραβιά' στην τοποθεσία 'Παλαμάς'.

Από τους περιεχόμενους πολυσακχαρίτες, το ποσοστό του αμύλου κυμάνθηκε από ένα ελάχιστο 42,7% σε ένα μέγιστο 50,8%, ενώ των ΜΑΠ από 9,8% έως 13,4%. Η περιεκτικότητα σε άμυλο και ΜΑΠ της ποικιλίας 'Σέριφος' δε μετρήθηκε για τις τοποθεσίες 'Φυτώριο' και 'Παλαμάς' λόγω βλάβης της συσκευής άλεσης. Μεταξύ των καλλιεργούμενων περιοχών, τα ρεβύθια που προήλθαν από την περιοχή 'Παλαμάς' είχαν τη χαμηλότερη περιεκτικότητα αμύλου το 2004 και το υψηλότερο ποσοστό σε ΜΑΠ.

Μπιζέλια

Τα αποτελέσματα του ποσοστού περιεκτικότητας (% ξηρού βάρους) σε πρωτεΐνες, λίπος, τέφρα άμυλο και ΜΑΠ των μπιζελιών στις τρεις διαφορετικές τοποθεσίες καλλιέργειας και για τις δύο χρονιές παραγωγής παρουσιάζονται στον Πίνακα 5.2. Το πρωτεϊνικό περιεχόμενο των μπιζελιών κυμάνθηκε από 24,3 - 32,6% ενώ το εύρος των τιμών του λίπους ήταν 0,8-4,0%. Η περιεκτικότητα σε τέφρα ήταν παρόμοια για

όλες τις περιοχές και για τα δυο έτη. Οι υψηλότερες περιεκτικότητες πρωτεϊνών παρατηρήθηκαν στις ποικιλίες μπιζελιού K268 και K270 που είχαν καλλιεργηθεί στην τοποθεσία 'Παλαμάς' για το έτος 2003. Η ανάλυση διακύμανσης με την ποικιλία ως ανεξάρτητη μεταβλητή έδειξε ότι το 2003 το υψηλότερο ποσοστό πρωτεϊνών παρατηρήθηκε στην τοποθεσία 'Παλαμάς' ($P=0,001$), ενώ με την τοποθεσία ως ανεξάρτητη μεταβλητή οι ποικιλίες K268 και K270 είχαν στατιστικά σημαντικά την υψηλότερη περιεκτικότητα σε πρωτεΐνες ($P=0,001$). Όμοια το 2004 η ποικιλία K299 είχε στατιστικά σημαντικά ($P=0,001$) τη μεγαλύτερη περιεκτικότητα πρωτεϊνών από τις υπόλοιπες ποικιλίες και η υψηλότερη τιμή παρατηρήθηκε στην τοποθεσία 'Φυτόριο'. Οι περιεκτικότητες πρωτεϊνών των ποικιλιών μπιζελιού επηρεάστηκαν σημαντικά ($P=0,004$) από τη χρονιά παραγωγής στην ίδια τοποθεσία καλλιέργειας.

Η περιεκτικότητα σε άμυλο κυμάνθηκε από 34,2 - 47,5%. Οι τιμές των ολικών ΜΑΠ για τα έτη 2003, 2004 κυμάνθηκαν από 14,4 - 19,5%, αντίστοιχα. Η περιεκτικότητα σε άμυλο και ΜΑΠ της ποικιλίας 'Όλυμπος' δε μετρήθηκε για τις τοποθεσίες 'Φυτόριο' και 'Παλαμάς' λόγω βλάβης της συσκευής άλεσης. Οι χαμηλότερες περιεκτικότητες σε ΜΑΠ παρατηρήθηκαν για τις ποικιλίες που είχαν καλλιεργηθεί στην τοποθεσία 'ΙΚΦ' και για τα δύο έτη παραγωγής.

Πίνακας 5.1. Ποσοστιαία σύσταση των ρεβυθίων (% ξηρού βάρους, \pm τυπική απόκλιση), στις τρεις καλλιεργούμενες περιοχές για τα έτη 2003, 2004 (n=3)

Έτος	Τοποθεσία	Ποικιλία	Πρωτεΐνη %	Λίπος %	Τέφρα %	Άμυλο %	ΜΑΠ ^α %
2003	Παλαμάς	Έβρος	24,38 \pm 0,31	5,70 \pm 0,04	2,95 \pm 0,04	42,96 \pm 0,21	11,90 \pm 0,22
		Αμοργός	22,84 \pm 0,28	5,61 \pm 0,14	2,93 \pm 0,01	46,19 \pm 0,20	10,67 \pm 0,14
		Γραβιά	23,23 \pm 0,02	6,49 \pm 0,06	2,77 \pm 0,02	48,43 \pm 0,22	11,04 \pm 0,11
		Σέριφος	26,74 \pm 0,63	5,32 \pm 0,07	3,15 \pm 0,03	-	-
2004	Παλαμάς	Έβρος	24,16 \pm 0,02	4,85 \pm 0,36	2,86 \pm 0,01	42,67 \pm 0,12	13,28 \pm 0,04
		Αμοργός	23,50 \pm 0,21	5,03 \pm 0,45	3,14 \pm 0,01	42,90 \pm 0,34	12,81 \pm 0,02
		Γραβιά	22,90 \pm 0,34	5,26 \pm 0,19	2,78 \pm 0,15	42,43 \pm 0,25	12,74 \pm 0,03
		Σέριφος	27,76 \pm 0,08	5,27 \pm 0,03	2,88 \pm 0,01	-	-
2003	Φυτόριο	Έβρος	22,12 \pm 0,03	6,55 \pm 0,10	3,25 \pm 0,03	45,13 \pm 0,31	12,24 \pm 0,11
		Αμοργός	21,24 \pm 0,10	5,84 \pm 0,02	3,10 \pm 0,01	50,84 \pm 0,23	11,22 \pm 0,04
		Γραβιά	20,69 \pm 0,12	6,22 \pm 0,46	2,92 \pm 0,01	45,17 \pm 0,20	10,42 \pm 0,03
		Σέριφος	23,42 \pm 0,41	5,56 \pm 0,05	3,21 \pm 0,02	-	-
2004	Φυτόριο	Έβρος	24,34 \pm 0,04	4,40 \pm 0,28	3,15 \pm 0,02	44,14 \pm 0,10	13,40 \pm 0,12
		Αμοργός	22,76 \pm 0,03	5,25 \pm 0,09	3,15 \pm 0,03	47,24 \pm 0,12	11,94 \pm 0,08
		Γραβιά	22,70 \pm 0,02	5,46 \pm 0,14	2,94 \pm 0,04	47,73 \pm 0,19	10,58 \pm 0,07
		Σέριφος	24,71 \pm 0,32	4,90 \pm 0,04	3,01 \pm 0,00	-	-
2003	ΙΚΦ	Έβρος	23,40 \pm 0,22	5,90 \pm 0,08	3,04 \pm 0,02	45,22 \pm 0,08	10,65 \pm 0,28
		Αμοργός	22,02 \pm 0,13	6,47 \pm 0,05	2,92 \pm 0,02	43,73 \pm 0,12	10,70 \pm 0,17
		Γραβιά	19,79 \pm 0,02	7,33 \pm 0,19	2,64 \pm 0,03	45,15 \pm 0,23	9,82 \pm 0,11
		Σέριφος	22,91 \pm 0,10	5,72 \pm 0,09	3,13 \pm 0,03	45,10 \pm 0,26	11,95 \pm 0,16
2004	ΙΚΦ	Έβρος	22,93 \pm 0,20	4,72 \pm 0,06	3,30 \pm 0,18	42,81 \pm 0,11	12,08 \pm 0,04
		Αμοργός	22,44 \pm 0,02	4,98 \pm 0,09	3,16 \pm 0,03	45,64 \pm 0,57	11,17 \pm 0,16
		Γραβιά	20,61 \pm 0,03	5,33 \pm 0,19	3,05 \pm 0,02	46,86 \pm 0,39	12,27 \pm 0,05
		Σέριφος	22,80 \pm 0,16	4,56 \pm 0,05	3,10 \pm 0,03	46,22 \pm 0,42	13,21 \pm 0,10

^α ΜΑΠ: Μη αμυλούχοι πολυσακχαρίτες

Πίνακας 5.3. Ποσοστιαία σύσταση των μπιζελιών (% ξηρού βάρους, ± τοπική απόκλιση), στις τρεις καλλιεργούμενες περιοχές για τα έτη 2003, 2004 (n=3)

Έτος	Τοποθεσία	Ποικιλία	Πρωτεΐνη %	Λίπος %	Τέφρα %	Αμυλο %	ΜΑΠ ^α %
2003	Παλαμάς	K-268	32,48± 0,18	3,91± 0,04	4,06± 0,01	34,24± 0,23	18,04± 0,53
		K-270	32,58± 0,22	3,92± 0,28	3,85± 0,01	35,90± 0,03	18,43± 0,18
		K-299	30,97± 0,03	3,95± 0,23	3,81± 0,02	33,38± 0,09	17,46± 0,04
		Όλυμπος	29,79 ± 0,28	2,44± 0,31	3,30± 0,05	-	-
2004	Παλαμάς	K-268	26,73± 0,03	2,63± 0,01	3,55± 0,01	41,71± 0,51	18,00± 0,01
		K-270	27,20± 0,15	2,22± 0,33	3,38± 0,02	41,27± 0,10	16,25± 0,34
		K-299	29,05± 0,14	2,76± 0,03	3,43± 0,00	42,93± 0,20	17,17± 0,03
		Όλυμπος	28,52 ± 0,04	2,60± 0,03	3,37± 0,02	-	-
2003	Φυτώριο	K-268	24,84± 0,12	2,05± 0,14	3,39± 0,01	45,51± 0,17	15,02± 0,07
		K-270	24,34± 0,12	2,20± 0,42	3,29± 0,02	46,26± 0,16	14,84± 0,16
		K-299	24,39± 0,18	2,13± 0,22	3,34± 0,02	43,27± 0,04	15,40± 0,22
		Όλυμπος	26,26 ± 0,14	1,05± 0,05	3,03± 0,05	-	-
2004	Φυτώριο	K-268	29,62± 0,51	2,67± 0,23	3,56± 0,02	39,63± 0,22	17,01± 0,40
		K-270	31,06± 0,16	2,69± 0,03	3,50± 0,00	38,90± 0,00	18,02± 0,50
		K-299	31,00± 0,01	2,42± 0,27	3,47± 0,05	36,33± 0,54	19,46± 0,53
		Όλυμπος	29,27 ± 0,23	1,29± 0,00	3,13± 0,00	-	-
2003	ΙΚΦ	K-268	25,57± 0,23	1,78± 0,06	3,10 ± 0,02	47,53± 0,08	14,77± 0,26
		K-270	25,77± 0,12	1,78± 0,08	3,05± 0,01	47,32± 0,02	14,78± 0,32
		K-299	26,30± 0,01	1,74± 0,07	3,06± 0,01	45,81± 0,23	14,44± 0,20
		Όλυμπος	24,61 ± 0,21	1,31± 0,16	2,78± 0,02	47,50± 0,14	14,73± 0,22
2004	ΙΚΦ	K-268	30,39± 0,35	0,76± 0,14	3,81± 0,04	41,08± 0,31	14,53± 0,14
		K-270	27,51± 0,03	1,80± 0,13	3,63± 0,01	40,81± 0,40	16,11± 0,17
		K-299	29,30± 0,43	0,95± 0,08	3,74± 0,03	40,33± 0,29	15,73± 0,02
		Όλυμπος	28,50 ± 0,20	1,09± 0,07	3,40± 0,01	42,76± 0,08	15,22± 0,07

^α ΜΑΠ: Μη αμυλούχοι πολυσακχαρίτες

5.6. ΣΥΖΗΤΗΣΗ

Οι τιμές της ολικής σύστασης των ποικιλιών ρεβυθιού και μπιζελιού της παρούσας εργασίας είναι σε συμφωνία με τις τιμές που έχουν αναφερθεί στο παρελθόν, όπου το πρωτεϊνικό περιεχόμενο κυμαινόταν από 16,6% (Perez Maldonado et al., 1999) έως 26 % (Black et al., 1998, Saini & Knights, 1984, Wang & Daun, 2004). Οι ποικιλίες των ρεβυθιών και μπιζελιών που μελετήθηκαν δεν περιείχαν υψηλότερο ποσοστό πρωτεϊνών σε σχέση με αυτές που παράγονται παραδοσιακά σε μεγάλες ποσότητες ('Σέριφος' και 'Όλυμπος'), σε τέτοιο βαθμό ώστε να θεωρηθούν υποψήφιες για χρήση σε σιτηρέσια για τσιπούρα και λαυράκι.

Οι διακυμάνσεις του πρωτεϊνικού περιεχομένου που παρατηρήθηκαν στα μπιζέλια ίσως οφείλονται στο συνδυασμό γενετικών και περιβαλλοντικών παραγόντων κατά τη διάρκεια της εποχής καλλιέργειας (Monti & Grillo, 1983, Reichert & MacKenzie, 1982, Vidal-Valverde et al., 2003). Ο μέσος όρος της περιεκτικότητας σε πρωτεΐνες της τοποθεσίας 'Παλαμάς' ήταν 19% υψηλότερος από το μέσο όρο των δύο άλλων περιοχών καλλιέργειας το 2003. Αυτό μπορεί να αποδοθεί στη μειωμένη βροχόπτωση στην περιοχή 'Παλαμά' κατά το έτος 2003 (Nikolopoulou et al., 2006). Έχει αναφερθεί ότι η λειψυδρία σε συνδυασμό με υψηλές θερμοκρασίες είναι συχνά υπεθύνες για την αυξημένη περιεκτικότητα σε πρωτεΐνη των σπερμάτων μπιζελιού (Al-Karaki & Egreifej, 1999, Nikolopoulou et al., 2006). Αυτό επιβεβαιώνεται από τη μείωση της περιεκτικότητας πρωτεΐνης των μπιζελιών της περιοχής 'Παλαμά' την επόμενη χρονιά καλλιέργειας (2004) κατά τη διάρκεια της οποίας η βροχόπτωση ήταν αυξημένη (Nikolopoulou et al., 2006). Κάτω από τις ίδιες συνθήκες, δεν παρατηρήθηκαν τόσο μεγάλες διακυμάνσεις στο πρωτεϊνικό περιεχόμενο των ρεβυθιών.

Η περιεκτικότητα λίπους και τέφρας των μπιζελιών ήταν σε συμφωνία με δεδομένα που έχουν παρουσιασθεί σε προηγούμενες μελέτες (Perez-Maldonado et al., 1999; Costa et al., 2006). Παρόμοια ποσοστά λίπους και τέφρας έχουν επίσης αναφερθεί και για άλλα σπέρματα ψυχανθών όπως τα κουκιά (*Vicia faba*), οι δόλχοι (*Vigna unguiculata*) και ο βίκος (*Vicia sativa*) (Allan et al., 2000, Hickling, 2003). Στα ρεβύθια η περιεκτικότητα του λίπους ήταν υψηλότερη και κυμάνθηκε από 3,0 - 4,6% (Rincon et al., 1998).

Η ποσοστιαία περιεκτικότητα σε άμυλο των ποικιλιών ρεβυθιού και τα επίπεδα των ΜΑΠ είναι παρόμοια με αυτά που έχουν αναφερθεί στη βιβλιογραφία (Farrell &

Mannion, 1997, Rehman & Shah, 2005, Rubio et al., 1998, Saini & Knights, 1984). Η περιεκτικότητα των σπερμάτων μπιζελιού σε άμυλο βρίσκεται στο εύρος των τιμών που έχει αναφερθεί για ποικιλίες μπιζελιού (Knudsen, 1997, Kosson et al., 1994a). Η περιεκτικότητα του αμύλου συσχετίζεται αρνητικά με το πρωτεϊνικό περιεχόμενο, διότι το άμυλο και η πρωτεΐνη αποτελούν τα κύρια συστατικά σε αντίστροφες αναλογίες στο μέγιστο τμήμα της μάζας του μπιζελιού (Castell et al., 1996, Black et al., 1998) όπως παρατηρήθηκε και στις ποικιλίες της παρούσας μελέτης (Nikolopoulou et al., 2006).

Το ποσοστό των ολικών ΜΑΠ στα μπιζέλια για τα έτη 2003, 2004 συμφωνούν με τα αποτελέσματα προηγούμενων ερευνών σε κτηνοτροφικά μπιζέλια (Englyst et al., 1994 Englyst & Cummings, 1984, Knudsen, 1997). Στην τοποθεσία 'ΙΚΦ', παρατηρήθηκαν τα χαμηλότερα ποσοστά των ΜΑΠ και για τα δύο έτη καλλιέργειας και παραγωγής των μπιζελιών. Αντιθέτως, παρόμοιο ήταν το ποσοστό των ΜΑΠ στις ποικιλίες ρεβυθιού στις τοποθεσίες των τριών καλλιεργούμενων περιοχών.

Από την παρούσα μελέτη συμπεραίνεται ότι το πρωτεϊνικό περιεχόμενο μιας ποικιλίας επηρεάζεται από την ποικιλία και από το χρόνο, δηλαδή από τους περιβαλλοντικούς παράγοντες που επικρατούν στις περιοχές καλλιέργειας. Επομένως, η επιλογή συγκεκριμένης ποικιλίας κτηνοτροφικού μπιζελιού και ρεβυθιού, η περιεκτικότητα της οποίας να είναι υψηλή σε πρωτεΐνη πρέπει να λαμβάνει υπόψη όχι μόνο τους γενετικούς παράγοντες (ποικιλία) αλλά και τους περιβαλλοντικούς παράγοντες που κυριαρχούν κατά την περίοδο ανάπτυξης του σπέρματος. Η παραγωγή ποικιλιών με υψηλή περιεκτικότητα πρωτεϊνών με σκοπό την υποκατάσταση του ιχθυαλεύρου για χρήση σε ιχθυοτροφές χρήζει περαιτέρω διερεύνησης.

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 6

ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΩΝ ΠΕΨΗΣ ΣΕ ΤΣΙΠΟΥΡΑ ΚΑΙ ΛΑΥΡΑΚΙ ΠΟΥ ΔΙΕΤΡΑΦΗΣΑΝ ΜΕ ΣΙΤΗΡΕΣΙΑ ΠΟΥ ΠΕΡΙΕΙΧΑΝ ΦΥΤΡΟ ΣΠΕΡΜΑΤΟΣ ΧΑΡΟΥΠΙΟΥ

6.1. ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Ένα άλλο ψυχανθές, του οποίου τμήμα του καρπού μπορεί να χρησιμοποιηθεί σε ιχθυοτροφές και το οποίο καλλιεργείται ευρέως σε χώρες της Μεσογείου είναι το χαρούπι. Τα σπέρματά του χρησιμοποιούνται σε διάφορες εφαρμογές, μεταξύ των οποίων είναι η παρασκευή γαλακτομαννάνης. Το φυτό του σπέρματος του χαρουπιού (ΦΣΧ) που αποτελεί το 23-25% του σπέρματος (Batlle & Tous, 1997) αποτελεί παραπροϊόν της διαδικασίας αυτής. Το επίπεδο της πρωτεΐνης του είναι υψηλότερο από αυτό του μπιζελιού και ρεβυθιού και κυμαίνεται ανάλογα με τον βαθμό απομάκρυνσης των άλλων συστατικών του σπέρματος σε 38-50% (Alexis, 1990, Bengoechea et al., 2008, Dakia et al., 2006, Del Re-Jimenez & Amado, 1989, Maza et al., 1989). Η περιεκτικότητά του σε αργινίνη και γλουταμινικό οξύ είναι υψηλή, ενώ είναι μειωμένη στα θειούχα αμινοξέα μεθειονίνη και κυστεΐνη σε σύγκριση με το πρότυπο FAO/WHO (1991) (Bengoechea et al., 2008, Drouliskos & Malefaki, 1980). Έχει χρησιμοποιηθεί ως τροφή σε χερσαία ζώα (A.F.R.I.S, 2004, Drouliskos & Malefaki, 1980). Στους ιχθύς έχει χρησιμοποιηθεί σε σιτηρέσια για πέστροφα (*Oncorhynchus mykiss*) (Alexis, 1988, 1990, Alexis et al., 1988). Η δυνατότητα χρήσης του φυτού σπέρματος χαρουπιού σε ιχθυοτροφές έχει ενδιαφέρον, καθώς διατίθεται σε χαμηλότερη τιμή από το ιχθυάλευρο.

Εκτός των ανωτέρω, ο καρπός περιέχει μη αμυλούχους πολυσακχαρίτες (ΜΑΠ) και ιδιαίτερα διαλυτούς. Οι διαλυτοί ΜΑΠ επιδρούν στην φυσιολογία του εντέρου και διαφοροποιούν τα χαρακτηριστικά της πέψης (Choct, 1995, Choct & Kocher, 2000, Wiryaman 1997) σε χερσαία ζώα. Καθαρές μορφές διαλυτών ΜΑΠ όπως το guar gum έχει βρεθεί να αυξάνουν την υγρασία των περιττωμάτων και το ιξώδες του εντερικού περιεχομένου ενώ μειώνουν τη πεπτικότητα των θρεπτικών συστατικών στην τιλάπια (*Oreochromis niloticus* L., Amirkolaie et al., 2005), στο African catfish (*Clarias gariepinus*, Leenhowers et al., 2006) και στην πέστροφα (*Salmo gairdneri*, Storebakken et al., 1985). Χρησιμοποίηση σόγιας εντούτοις με υψηλά ποσοστά διαλυτών ΜΑΠ δεν αύξησε το ιξώδες του εντερικού περιεχομένου αλλά αύξησε την υγρασία των περιττωμάτων στο σολομό (Aslaken et al., 2007, Refstie et al., 1999). Το ΦΣΧ αποτελεί συνεπώς μια ενδιαφέρουσα πρώτη ύλη για την μελέτη των επιπτώσεων φυτικών πρώτων υλών, που

περιέχουν διαλυτούς ΜΑΠ στην φυσιολογία της πέψης. Λιγότες είναι επίσης οι αναφορές για την πέψη και απορρόφηση των θρεπτικών συστατικών κατά μήκος του εντερικού σωλήνα των ιχθύων, καθώς και διαφορές στα φυσικοχημικά χαρακτηριστικά των εντερικών περιεχομένων σε σχέση με τα σιτηρέσια που περιέχουν φυτικές πρώτες ύλες ή συστατικά τους (Amirkolaie et al., 2005, 2006, Førde-Skjærnik et al., 2006, Krogdahl et al., 1999, Leenhouders et al., 2006, 2007, Refstie et al., 1999, Storebakken, 1985). Επιπλέον συγκριτικές μελέτες πάνω στα χαρακτηριστικά πέψης και στην πεπτικότητα των θρεπτικών συστατικών στα είδη τσιπούρα και λαυράκι δεν έχουν πραγματοποιηθεί έως σήμερα. Κάποιες πρώτες διαφοροποιήσεις μεταξύ των δύο ειδών, όσον αφορά την πεπτικότητα των βασικών θρεπτικών συστατικών του σιτηρεσίου επισημάνθηκαν στα προηγούμενα κεφάλαια. Πρέπει όμως να επισημανθεί ότι τα πειράματα και τα σιτηρέσια που χρησιμοποιήθηκαν διέφεραν. Στο παρόν κεφάλαιο μελετάται η πεπτικότητα σιτηρεσίων που περιέχουν ΦΣΧ και η επίδρασή του στη φυσιολογία της πέψης αλλά επίσης συγκρίνονται και τα δύο είδη, λαυράκι και τσιπούρα ως προς την ανταπόκρισή τους σε διαφορετικά σιτηρέσια.

6.2. ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ

Το φύτρο σπέρματος χαρουπιού (ΦΣΧ) που χρησιμοποιήθηκε στην παρούσα μελέτη προήλθε από την εταιρεία 'LBG Sicilia' (Ιταλία) και αποτελεί το παραπροϊόν της διαδικασίας παραγωγής γαλακτομαννάνης, που χρησιμοποιείται ως πρόσθετο σε τροφές για ανθρώπινη κατανάλωση. Το ΦΣΧ υπεβλήθη επιπλέον, από την ίδια εταιρεία, σε μηχανική αποφλοιώση προκειμένου να αυξηθεί το πρωτεϊνικό του περιεχόμενο και να μειωθεί η περιεκτικότητά του σε μη αμυλούχους πολυσακχαρίτες. Η μηχανική αποφλοιώση κρίθηκε αναγκαία διότι προηγούμενη παρτίδα ΦΣΧ η οποία είχε αναλυθεί περιείχε αρκετά χαμηλότερη περιεκτικότητα σε πρωτεΐνη. Η σύσταση του φύτρου σπέρματος χαρουπιού σε θρεπτικούς και αντιθρεπτικούς παράγοντες δίνεται στον Πίνακα 6.1.

6.2.1. Πειραματικά σιτηρέσια

Τα πειραματικά σιτηρέσια που χρησιμοποιήθηκαν στην παρούσα μελέτη παρασκευάστηκαν όπως περιγράφηκε στην παράγραφο 4.2.4 στις εγκαταστάσεις του ΕΛ.ΚΕ.Θ.Ε. Η σύνθεση και η σύσταση των σιτηρεσίων δίνονται στον Πίνακα 6.2. Χρησιμοποιήθηκε ένα σιτηρέσιο μάρτυρας (C) που περιείχε ιχθυάλευρο ως πηγή πρωτεϊνών και άλευρο σίτου ως πηγή υδατανθράκων. Ποσοστό 30% από το μείγμα

ιχθυαλεύρου, αλεύρου σίτου και ιχθυελαίου αντικαταστάθηκε από ΦΣΧ στο σιτηρέσιο (Χ), προκειμένου να προσδιορισθεί η πεπτικότητα της φυτικής πρώτης ύλης. Το σιτηρέσιο Χ παρασκευάστηκε με τον παραπάνω τρόπο προκειμένου να προσδιορισθεί και η πεπτικότητα της πρωτεΐνης της υπό εξέταση φυτικής πρώτης ύλης, του ΦΣΧ (Burel et al., 2000, Cho et al., 1989, Forster, 1999).

Η ποσότητα του δείκτη Cr_2O_3 και το μίγμα βιταμινών και ιχνοστοιχείων (όμοιο με το αυτό που χρησιμοποιήθηκε στο πείραμα 4.2) διατηρήθηκε σταθερή. Για το Πείραμα ΙΙ παρασκευάστηκε δεύτερη παρτίδα σιτηρεσίων και η ποσοστιαία (%) σύστασή τους δίνεται στον Πίνακα 6.2.

Πίνακας 6.1. Ποσοστιαία σύσταση (% ξηρού βάρους) φύτρου σπέρματος χαρουπιού (ΦΣΧ)

<i>Συστατικό</i>	<i>ΦΣΧ</i>
Τέφρα	6,83
Πρωτεΐνη	37,90
Λίπος	3,89
Άμυλο	0,96
Σουκρόζη	2,84
Ολιγοσακχαρίτες	3,87
Ολικοί ΜΑΠ*	34,09
Αδιάλυτοι ΜΑΠ	21,50
Διαλυτοί ΜΑΠ	12,58
Ταννίνες	0,90

* ΜΑΠ: μη αμυλούχοι πολυσακχαρίτες

Πίνακας 6.2. Σύνθεση και ποσοστιαία σύσταση (%) πειραματικών σιτηρεσιών
 Σιτηρέσιο (C) Σιτηρέσιο (X)

Άλευρο Σίτου	27,3	19,1
Ιχθυάλευρο	61,0	42,7
Χαρούπι (CSGM)		29,6
Ιχθυέλαιο	10,4	7,3
Βιταμίνες/ Ιχνοστοιχεία	0,3	0,3
Cr ₂ O ₃	1,0	1,0
Σύσταση % ξηρού βάρους		
<i>1^{ης} Παρτίδας</i>		
Ξηρό Υλικό	84,64	82,87
Τέφρα	12,54	11,20
Πρωτεΐνες	47,76	44,83
Λίπος	17,43	11,84
Άμυλο	20,05	14,93
ΜΑΠ*	1,88	12,47
Αδιάλυτοι ΜΑΠ	1,25	7,10
Διαλυτοί ΜΑΠ	0,63	5,37
<i>2^{ης} Παρτίδας</i>		
Ξηρό Υλικό	84,96	87,26
Τέφρα	11,06	12,43
Πρωτεΐνες	49,80	44,60
Λίπος	17,28	12,39
Άμυλο	20,89	13,61
ΜΑΠ	1,51	11,08
Αδιάλυτοι ΜΑΠ	1,03	6,27
Διαλυτοί ΜΑΠ	0,48	4,81

*ΜΑΠ: μη αμυλούχοι πολυσακχαρίτες

6.2.2. Πείραμα I : Πειραματικοί Πληθυσμοί - Συνθήκες - Πρωτόκολλο εκτροφής

Οι πειραματικές εγκαταστάσεις που χρησιμοποιήθηκαν περιγράφονται στην παράγραφο 4.2.2. Για την πραγματοποίηση του πειράματος χρησιμοποιήθηκαν άτομα λαυρακιού μέσου βάρους 90g και άτομα τσιπούρας μέσου βάρους 130g. Τα λαυράκια μοιράστηκαν τυχαία σε έξι κυλινδροκωνικές δεξαμενές των 250 lt, 30 άτομα ανά δεξαμενή, τρεις δεξαμενές ανά πειραματικό σιτηρέσιο. Παρόμοια μοιράστηκαν και οι τσιπούρες, 20 άτομα ανά δεξαμενή. Η παροχή του νερού ήταν συνεχής (5 l/min) και η θερμοκρασία $26^{\circ}\text{C} \pm 1$. Η φωτοπερίοδος ήταν 10 ώρες ημέρα, 14 ώρες νύχτα. Οι ιχθύες εγκλιματίστηκαν με τα πειραματικά σιτηρέσια για διάστημα 7 ημερών. Το σιτηρέσιο χορηγούνταν με το χέρι σε δύο γεύματα ανά ημέρα σε ποσοστό 2% του σωματικού βάρους. Μετά το πέρας του εγκλιματισμού ξεκίνησε η συλλογή των περιττωμάτων για χρονικό διάστημα επτά ημερών όπως περιγράφεται στην παράγραφο 4.2.2.

6.2.3. Πείραμα II: Πειραματικός σχεδιασμός - Δειγματοληψίες- Προσδιορισμοί

Στη συνέχεια του πειράματος I, οι ιχθύες διεισπύησαν με τα παραπάνω σιτηρέσια σε ποσοστό 1,5% του σωματικού τους βάρους σε ένα γεύμα κάθε πρωί και αφέθηκαν να εγκλιματισθούν για μια εβδομάδα. Η θερμοκρασία του νερού ήταν 25°C . Στη συνέχεια πραγματοποιήθηκαν οι δειγματοληψίες σε συγκεκριμένους χρόνους μετά το γεύμα και έως την εκκένωση του γαστρικού περιεχομένου : 2, 4, 6, 8, 10, 12, 24 ώρες για τα άτομα τσιπούρας και επιπλέον στις 26, 29 και 32 ώρες για τα άτομα λαυρακιού. Τα δείγματα συλλέγονταν μετά από τη θανάτωση τεσσάρων (4) ατόμων τσιπούρας και πέντε (5) λαυρακιού ανά δεξαμενή με χρήση ελαφριάς δόσης αναισθητικού και εμβάπτιση σε πάγο.

Πριν τη δειγματοληψία του πεπτικού σωλήνα, εξασφαλιζόταν η απομόνωση των διάφορων τμημάτων του με την τοποθέτηση ειδικών χειρουργικών ψαλιδιών στον οισοφάγο, τον πλωρό, στο κυρίως τμήμα του εντέρου και την έδρα, και καθαρίζονταν προσεκτικά οι περιφερειακοί ιστοί (λιπώδης και συνδετικός) ώστε να αποφευχθεί η επιμόλυνση (Εικόνα 6.1).

Ακολούθησαν τα εξής στάδια και προσδιορισμοί:

- Το στομαχικό και εντερικό περιεχόμενο των τριών τμημάτων του εντερικού σωλήνα (πρόσθιο, κυρίως και οπίσθιο τμήμα) κάθε ιχθύος συλλεγόταν σε προζυγισμένους σωλήνες και το μικτό βάρος ζυγίζόταν σε ζυγό ακριβείας (0,0001 g). Το καθαρό βάρος κάθε σωλήνα αποτελεί το ολικό περιεχόμενο υλικό (g) για κάθε τμήμα ιστού.

- Στο υλικό του στομάχου και των εντερικών τμημάτων μετρήθηκε το pH με πεχάμετρο pHM210 (Radiometer) χρησιμοποιώντας ένα μικροηλεκτρόδιο (MI-410/415, Radiometer).
- Το στομαχικό περιεχόμενο και το περιεχόμενο των εντερικών τμημάτων λυοφιλώθηκαν και ζυγίστηκαν. Το καθαρό βάρος αποτελεί το ξηρό βάρος ενώ από τη διαφορά του βάρους πριν και μετά τη λυοφιλίωση προσδιορίστηκε η περιεχόμενη υγρασία του στομαχικού υλικού και του υλικού των εντερικών τμημάτων.

6.2.4. Προσδιορισμός χρόνου και ρυθμού γαστρικής εκκένωσης

Καθώς η πρόσληψη της τροφής εξαρτάται άμεσα από το βάρος του ιχθύος, κρίθηκε καταλληλότερος ο υπολογισμός του ξηρού υλικού του στομαχικού περιεχομένου ως ποσοστού (%) του υγρού βάρους ιχθύος. Οι τιμές των ξηρών υλικών (% βάρους ιχθύος) υφίστανται ανάλυση παλινδρόμησης σε σχέση με το χρόνο δειγματοληψίας ώστε να ερευνηθεί πιθανό μαθηματικό μοντέλο που ακολουθείται κατά την εκκένωση της τροφής από το στομάχι των δύο ειδών. Στην παρούσα έρευνα, τα δεδομένα εμπίπτουν στο εκθετικό μοντέλο με ικανοποιητικούς συντελεστές συσχέτισης.

Κατά συνέπεια εφαρμόστηκε η ακόλουθη εξίσωση, σύμφωνα με τον Elliot (1972) :

$$B_x = A e^{-Px} \quad (1)$$

Όπου,

B_x = ο γεωμετρικός μέσος του ξηρού βάρους του στομαχικού περιεχομένου στο χρόνο x

A = σταθερά που υπολογίζεται από την ανάλυση παλινδρόμησης

P = ο ρυθμός γαστρικής εκκένωσης

x = ο χρόνος μετά την παροχή του σιτηρεσίου

Η εξίσωση (1) λογαριθμείται και εκφράζεται γραμμικά :

$$\ln B_x = \ln A - Px \quad (2)$$

- Από την εξίσωση (2) υπολογίζεται ο ρυθμός γαστρικής εκκένωσης για όλους τους χρόνους δειγματοληψίας από την κλίση της καμπύλης. Οι τιμές παρουσιάζονται σε g/min.

- Ο χρόνος γαστρικής εκκένωσης (ΧΓΕ) υπολογίζεται ως το χρονικό διάστημα που απαιτείται ώστε να αδειάσει το περιεχόμενο του στομάχου στο μισό της αρχικής ποσότητας (όταν $B_x = \frac{1}{2} B_{x0}$ όπου B_{x0} το ξηρό βάρος στομάχου %υγρού βάρους ψαριού στον αρχικό χρόνο $x=0$).

6.2.5 Προσδιορισμός απορρόφησης θρεπτικών συστατικών εντερικών τμημάτων

Προκειμένου να προσδιορισθεί ο ρυθμός απορρόφησης θρεπτικών συστατικών, συλλέχθηκαν δείγματα στομαχικού και εντερικού περιεχομένου 6 και 8 ώρες μετά τη λήψη της τροφής από 7 άτομα τσιπούρας και 10 άτομα λαυρακιού. Από κάθε ιχθύ απομονώθηκε το στομαχικό περιεχόμενο και το περιεχόμενο τριών τμημάτων του εντέρου (πρόσθιο, κυρίως και οπίσθιο), τα οποία, μετά τη λυοφιλίωση τους και τον προσδιορισμό της υγρασίας και του pH, ομαδοποιήθηκαν σε ένα δείγμα και προσδιορίστηκε η απορρόφηση των θρεπτικών συστατικών, πρωτεϊνών και αμύλου, στο στομάχι και στο κάθε εντερικό τμήμα.

6.2.6. Προσδιορισμός της ποσότητας τροφής που περιέχεται σε κάθε τμήμα του γαστρεντερικού σωλήνα

Αρχικά υπολογίστηκε το ποσοστό του δείκτη που είχε αρχικά προστεθεί στο κάθε σιτηρέσιο (όπως βρέθηκε από τον χημικό προσδιορισμό του δείκτη) καθώς και το ποσοστό του δείκτη στο κάθε τμήμα του γαστρεντερικού σωλήνα. Στη συνέχεια βάσει της ποσότητας του ξηρού βάρους και της ποσότητας του δείκτη σε κάθε τμήμα υπολογίστηκε η ποσότητα τροφής 6 και 8 ώρες μετά την παροχή του γεύματος. Τα αποτελέσματα εκφράστηκαν ως %βάρος ιχθύος και υπολογίστηκε ο μέσος όρος 7 ατόμων τσιπούρας και 10 λαυρακιού για κάθε τμήμα ιστού.

Η ακόλουθη εξίσωση εφαρμόστηκε :

$$(\%) \text{ της ποσότητας τροφής} = [B \text{ ξηρό}_{(γ.τμ)} \times \% \text{ Cr}_2\text{O}_3_{(γ.τμ)} \times 100] / [\% \text{ Cr}_2\text{O}_3_{(σιτηρέσιο)} \times B_{\text{ιχθύος}}]$$

όπου $B \text{ ξηρό}_{(γ.τμ)}$: το ξηρό βάρος του κάθε γαστρεντερικού τμήματος (στομάχι, πρόσθιο έντερο, κυρίως έντερο και οπίσθιο έντερο),

$\% \text{ Cr}_2\text{O}_3_{(γ.τμ)}$: το ποσοστό του δείκτη σε κάθε γαστρεντερικό τμήμα και

$B_{\text{ιχθύος}}$: βάρος του ιχθύος

6.2.7. Χημικές Αναλύσεις

Οι μέθοδοι προσδιορισμού της σύστασης των πρώτων υλών, των σιτηρεσίων και των περιττωμάτων έγιναν σύμφωνα με την ενότητα 2.2.

Οι δείκτες πεπτικότητας και απορρόφησης των θρεπτικών συστατικών προσδιορίστηκαν σύμφωνα με την παράγραφο 3.2.6. Οι δείκτες πεπτικότητας των θρεπτικών συστατικών του φύτρου σπέρματος χαρουπιού υπολογίστηκαν ως εξής (Forster et al., 1999):

$$(\%) \Sigma.\Delta.\Pi.(\Theta P.\Sigma.)_{\text{Π.Υ.}} = [(\alpha + \beta) \times \Sigma.\Delta.\Pi.(\Theta P.\Sigma.)_{(X)} - (\alpha) \times \Sigma.\Delta.\Pi.(\Theta P.\Sigma.)_{(C)}] / b^{-1}$$

Όπου, Π.Υ. = η υπό εξέταση πρώτη ύλη,

(%) $\Sigma.\Delta.\Pi.(\Theta P.\Sigma.)_{\text{Π.Υ.}}$: σχετικός δείκτης πεπτικότητας για κάθε θρεπτικό συστατικό (πρωτεΐνη, λίπος, άμυλο) της πρώτης ύλης,

$\Sigma.\Delta.\Pi.(\Theta P.\Sigma.)_{(X)}$: σχετικός δείκτης πεπτικότητας για κάθε θρεπτικό συστατικό (πρωτεΐνη, λίπος, άμυλο) στο υπό εξέταση σιτηρέσιο,

$\Sigma.\Delta.\Pi.(\Theta P.\Sigma.)_{(C)}$: σχετικός δείκτης πεπτικότητας για κάθε θρεπτικό συστατικό (πρωτεΐνη, λίπος, άμυλο) στο σιτηρέσιο αναφοράς,

α = η συνεισφορά του θρεπτικού συστατικού του σιτηρεσίου αναφοράς (C) στην περιεκτικότητα του θρεπτικού συστατικού στο υπό εξέταση σιτηρέσιο (X), δηλαδή (% θρεπτικό συστατικό στο σιτηρέσιο αναφοράς) \times (100- γ),

β = η συνεισφορά του θρεπτικού συστατικού της υπό εξέταση πρώτης ύλης στην περιεκτικότητα του θρεπτικού συστατικού στο υπό εξέταση σιτηρέσιο (X), δηλαδή (% θρεπτικό συστατικό στο σιτηρέσιο (X)) $\times \gamma$,

γ = το ποσοστό της πρώτης ύλης στο υπό εξέταση σιτηρέσιο,

6.2.8. Στατιστική Επεξεργασία

Η στατιστική επεξεργασία των αποτελεσμάτων πεπτικότητας έγιναν σύμφωνα με τη παράγραφο 3.3.7. Επίσης, εφαρμόστηκε η διπαραγοντική ανάλυση διακύμανσης (two-way ANOVA) με το σιτηρέσιο και το είδος ιχθύος ως ανεξάρτητες μεταβλητές.

Τα αποτελέσματα της υγρασίας και του pH επεξεργάστηκαν χρησιμοποιώντας το στατιστικό υπολογιστικό πρόγραμμα SPSS 11.0 για Windows. Στη συνέχεια εφαρμόστηκε η ανάλυση διακύμανσης (ANOVA) και οι συγκρίσεις των μέσων όρων με το κριτήριο Tukey σε επίπεδο σημαντικότητας 95% ($P < 0,05$) όταν το δείγμα ήταν ομοιογενές, ενώ στην περίπτωση που ήταν μη ομοιογενές εφαρμόστηκε η ανάλυση Kruskal-Wallis και το κριτήριο Dunnett. Οι τιμές παρουσιάζονται μαζί με την τυπική απόκλιση (\pm TA) από το μέσο όρο. Η διπαραγοντική ανάλυση διακύμανσης (two-way ANOVA) εφαρμόστηκε με το χρόνο και το σιτηρέσιο ως ανεξάρτητες μεταβλητές. Επίσης, εφαρμόστηκε η ανάλυση διακύμανσης πολλαπλών μεταβλητών (MANOVA) πρώτα με ανεξάρτητες μεταβλητές το είδος του ιχθύος, τα τμήματα του εντέρου

(πρόσθιο, κυρίως και οπίσθιο έντερο), και το σιτηρέσιο στην απορρόφηση των θρεπτικών συστατικών (πρωτεϊνών και αμύλου). Δεύτερον, εφαρμόστηκε στην ενυδάτωση και το pH για κάθε τμήμα του γαστρεντερικού σωλήνα, με ανεξάρτητες μεταβλητές το χρόνο μετά την παροχή του γεύματος, το σιτηρέσιο και το είδος ιχθύος.

Όπου απαιτήθηκε εφαρμόστηκε η ανάλυση παλινδρόμησης για τον προσδιορισμό των συντελεστών συσχέτισης καθώς και για τη σύγκριση των κλίσεων των ευθειών παλινδρόμησης.



Εικόνα 6.1. Δειγματοληψίες τμημάτων γαστρεντερικού σωλήνα τσιπούρας και λαυρακιού, αντίστοιχα.

6.3. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

Πεπτικότητα στο Λαυράκι

Οι τιμές των σχετικών δεικτών πεπτικότητας των θρεπτικών συστατικών για τα άτομα λαυρακιού παρουσιάζονται στο Ιστόγραμμα 6.1.

Οι τιμές του συντελεστή πεπτικότητας των πρωτεϊνών ήταν υψηλές και για τα δύο σιτηρέσια, 96 και 92% για τα σιτηρέσια C και X, αντίστοιχα. Η πεπτικότητα των πρωτεϊνών του σιτηρεσίου X ωστόσο, ήταν χαμηλότερη και είχε στατιστικά σημαντική διαφορά από το σιτηρέσιο C.

Η πεπτικότητα των λιπών ήταν υψηλή και για τα δύο σιτηρέσια. Η τιμή της πεπτικότητας του σιτηρεσίου X ήταν χαμηλότερη (95%) και είχε στατιστικά σημαντική διαφορά από το σιτηρέσιο μάρτυρα (C, 98%).

Οι τιμές του συντελεστή πεπτικότητας του αμύλου ήταν χαμηλές με σημαντικές διαφορές μεταξύ των σιτηρεσίων. Το σιτηρέσιο X έδωσε τη χαμηλότερη τιμή πεπτικότητας αμύλου (57%) με στατιστικώς σημαντική διαφορά από εκείνη του C (71%).

Η τιμή της πεπτικότητας των πρωτεϊνών του ΦΣΧ βρέθηκε 80,15% (Δεν εμφανίζεται σε πίνακα).

Πεπτικότητα στην Τσιπούρα

Στο Ιστόγραμμα 6.2. δίνονται τα αποτελέσματα της πεπτικότητας για όλα τα θρεπτικά συστατικά στα άτομα τσιπούρας.

Οι τιμές της πεπτικότητας των πρωτεϊνών (> 88%) και των λιπών (> 91%) ήταν υψηλές και για τα δύο σιτηρέσια με μία, μη σημαντική, τάση μείωσης του σιτηρεσίου Χ. Η πεπτικότητα του αμύλου ήταν γενικά υψηλή (> 88%). Στο σιτηρέσιο (Χ) που περιείχε 30% ΦΣΧ ήταν στατιστικά χαμηλότερη από εκείνη του σιτηρεσίου C.

Η στατιστική επεξεργασία των αποτελεσμάτων με ανάλυση διακόμανσης πολλαπλών μεταβλητών (Πίνακα 6.3.) έδειξε ότι ο τύπος του σιτηρεσίου καθώς και το είδος του ιχθύος είχαν σημαντική επίδραση ($P < 0,05$) στην πεπτικότητα των θρεπτικών συστατικών. Σε όλες τις περιπτώσεις μεγαλύτερη ήταν η συμβολή του είδους του ιχθύος από το σιτηρέσιο.

Η τιμή της πεπτικότητας των πρωτεϊνών του ΦΣΧ στην τσιπούρα βρέθηκε 84,36% (Δεν εμφανίζεται σε πίνακα).

Απορρόφηση θρεπτικών συστατικών κατά μήκος του πεπτικού σωλήνα

Οι τιμές απορρόφησης πρωτεϊνών και αμύλου στο γαστρικό περιεχόμενο και στα τμήματα του εντέρου 6 και 8 ώρες μετά την παροχή του γεύματος για την τσιπούρα και το λαυράκι δίνονται στους Πίνακες 6.4 και 6.5 αντίστοιχα.

Στην τσιπούρα οι τιμές απορρόφησης των θρεπτικών συστατικών (πρωτεϊνών και αμύλου) στο στομάχι ήταν αρνητικές και για τα δύο σιτηρέσια. Αρνητικές τιμές επίσης παρατηρήθηκαν στο πρόσθιο τμήμα του εντέρου για το σιτηρέσιο μάρτυρα C. Στο οπίσθιο τμήμα οι τιμές κυμάνθηκαν από 81-88% απορρόφησης με εξαίρεση την τιμή του αμύλου στις 6 ώρες για το σιτηρέσιο Χ (65%).

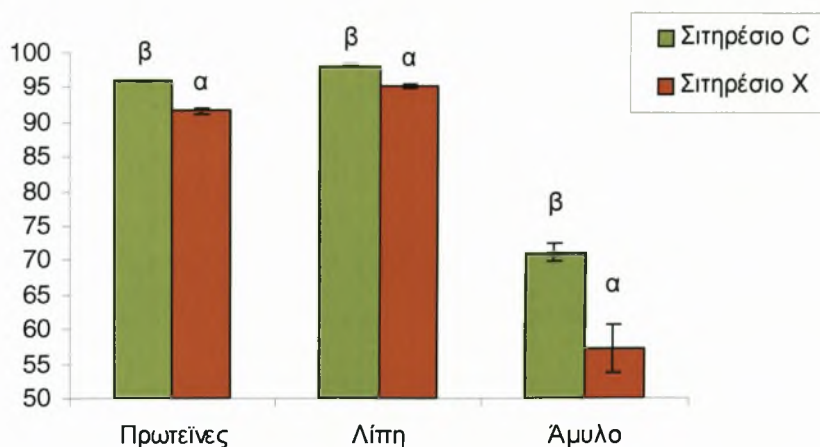
Χαμηλές τιμές απορρόφησης παρατηρήθηκαν στο περιεχόμενο του στομάχου του λαυρακιού και η αρνητική τιμή μπορεί να οφείλεται σε πειραματικό σφάλμα. Η ποσότητα του δείγματος που συλλέχθηκε από το οπίσθιο έντερο δεν ήταν αρκετή για ανάλυση πρωτεϊνών. Στο λαυράκι οι τιμές ήταν υψηλές (>64%) ήδη από το πρόσθιο τμήμα και παρέμεινε στα ίδια επίπεδα στο κυρίως και στο οπίσθιο. Οι τιμές απορρόφησης του αμύλου ήταν χαμηλές και κυμάνθηκαν από 13-37% με εξαίρεση την τιμή 75% στις 8hrs μόνο για το σιτηρέσιο C.

Η απορρόφηση των πρωτεϊνών ήταν υψηλή στο οπίσθιο τμήμα και στα δύο είδη. Στο πρόσθιο και στο κυρίως έντερο οι τιμές ήταν υψηλότερες στο λαυράκι ενώ στο οπίσθιο οι υψηλότερες τιμές παρατηρήθηκαν στην τσιπούρα.

Μεγάλες διαφορές μεταξύ των ειδών παρατηρήθηκαν στις τιμές απορρόφησης του αμύλου. Στο λαυράκι οι τιμές ήταν σημαντικά χαμηλότερες σε όλα σχεδόν τα τμήματα του εντέρου και στα δύο σιτηρέσια. Συγκρίνοντας την επίδραση των σιτηρεσίων και στα δύο είδη υψηλότερες τιμές απορρόφησης του αμύλου παρατηρήθηκαν στο πρόσθιο και στο οπίσθιο έντερο για το σιτηρέσιο C ενώ στο κυρίως οι τιμές ήταν υψηλότερες για τους ιχθύς που διετράφησαν με το σιτηρέσιο X.

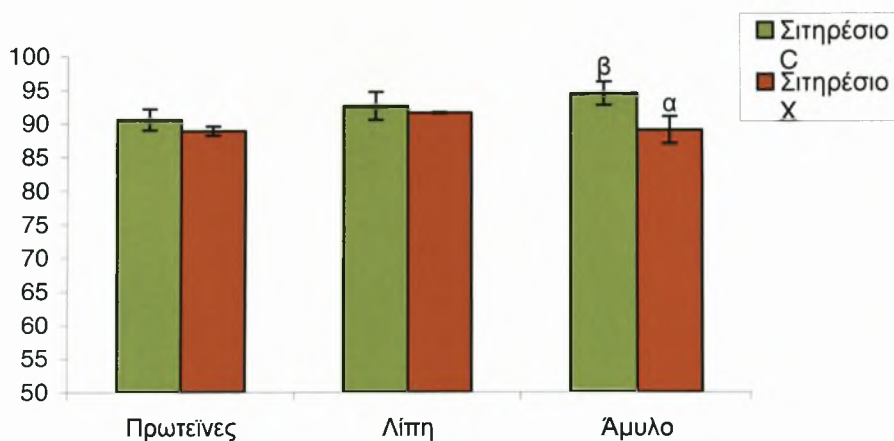
Η ανάλυση διακύμανσης της επίδρασης του είδους του ιχθύος, του σιτηρεσίου και του τμήματος του εντέρου (Πίνακας 6.6) έδειξε ότι το είδος του ιχθύος και το τμήμα του εντέρου είχε ισχυρή επίδραση στην απορρόφηση των πρωτεϊνών και του αμύλου ($P < 0,001$), ενώ ο τύπος του σιτηρεσίου επηρέασε μόνο την απορρόφηση του αμύλου. Το υψηλότερο ποσοστό της ολικής διακύμανσης στην απορρόφηση των πρωτεϊνών οφειλόταν στο τμήμα του εντέρου, ενώ στην απορρόφηση του αμύλου παρόμοιο ήταν το ποσοστό που οφειλόταν στο είδος του ιχθύος και το τμήμα του εντέρου. Η αλληλεπίδραση ήταν εμφανής μεταξύ του είδους του ιχθύος και του τμήματος του εντέρου για την απορρόφηση των πρωτεϊνών. Αλληλεπίδραση παρατηρήθηκε επίσης, μεταξύ του σιτηρεσίου και του τμήματος του εντέρου μόνο για το άμυλο.

Στα Διαγράμματα 6.3 και 6.4. παρουσιάζεται το ποσοστό της τροφής που περιέχεται σε κάθε τμήμα του πεπτικού σωλήνα της τσιπούρας και του λαυρακιού 6 και 8 ώρες μετά την παροχή του γεύματος, αντίστοιχα. Στην τσιπούρα το μεγαλύτερο ποσοστό τροφής και των δυο πειραματικών σιτηρεσίων παρατηρήθηκε στο κυρίως τμήμα του εντέρου, τόσο στις 6 όσο και στις 8 ώρες. Χαμηλό ποσοστό (έως 34%) βρέθηκε στο στομάχι, ενώ χαμηλότερο ποσοστό, 6,5-14% της τροφής, βρέθηκε στο πρόσθιο και οπίσθιο τμήμα. Στο λαυράκι, το μεγαλύτερο ποσοστό της τροφής στις 6 και 8 ώρες εντοπίζεται ακόμα στο στομάχι. Στο σιτηρέσιο C κυμάνθηκε από 66 έως 76%, και Στο σιτηρέσιο X από 53% σε 71%. Η μεγαλύτερη ποσότητα τροφής που παρατηρείται στις 8 ώρες σε σχέση με τις 6 ώρες για το σιτηρέσιο C είναι μη στατιστικά σημαντική και μπορεί να οφείλεται σε πειραματικό σφάλμα. Χαμηλότερο από 12% ήταν το ποσοστό που βρέθηκε στο πρόσθιο έντερο, με αυξημένες τιμές (13 - 29%) στο κυρίως ενώ το χαμηλότερο (3-6%) βρέθηκε στο οπίσθιο τμήμα.



Ιστόγραμμα 6.1. Ιστόγραμμα των σχετικών δεικτών πεπτικότητας πρωτεϊνών, λιπών και αμύλου των πειραματικών σιτηρεσίων, σε άτομα λαυρακιού (90g).

Διαφορετικά γράμματα αναφέρονται σε στατιστικές διαφορές μεταξύ των μέσων όρων (n=6)



Ιστόγραμμα 6.2. Ιστόγραμμα των σχετικών δεικτών πεπτικότητας πρωτεϊνών, λιπών και αμύλου των πειραματικών τροφών, σε άτομα τσιπούρας (130g).

Διαφορετικά γράμματα αναφέρονται σε στατιστικές διαφορές μεταξύ των μέσων όρων (n=6).

Πίνακας 6.3. Ποσοστιαία συμβολή των δύο κύριων παραγόντων – του σιτηρεσίου και του είδους ιχθύος – στη συνολική διακύμανση στην πεπτικότητα των θρεπτικών συστατικών (* $p < 0,05$, ** $p < 0,01$)

	Σιτηρέσιο (Σ)	Είδος Ιχθύος (Ε)	Σ*Ε
Πεπτικότητα Πρωτεϊνών	30,89**	56,63**	5,85*
Πεπτικότητα Λιπών	13,30**	70,87**	3,28
Πεπτικότητα Αμύλου	10,38*	84,08**	1,99

Πίνακας 6.4. Τιμές απορρόφησης (%) των θρεπτικών συστατικών (πρωτεϊνών και αμύλου) στα τμήματα του γαστρεντερικού σωλήνα στα άτομα τσιπούρας (n=2)

<i>Τσιπούρα</i>	Πρωτεΐνες		Άμυλο	
	6 ώρες	8 ώρες	6 ώρες	8 ώρες
<i>Σιτηρέσιο C</i>				
Στομάχι	-10,14	-44,77	-36,31	-103,05
Πρόσθιο έντερο	-16,13	-4,26	-6,14	-41,71
Κυρίως έντερο	66,84	73,77	56,44	67,65
Οπίσθιο έντερο	88,11	86,18	82,50	85,82
<i>Σιτηρέσιο X</i>				
Στομάχι	-10,42	-9,25	-49,20	-79,62
Πρόσθιο έντερο	25,94	42,99	47,37	26,20
Κυρίως έντερο	67,31	76,73	61,73	72,85
Οπίσθιο έντερο	81,56	83,99	64,91	81,39

Πίνακας 6.5. Τιμές απορρόφησης (%) των θρεπτικών συστατικών (πρωτεϊνών και αμύλου) στα τμήματα του γαστρεντερικού σωλήνα στα άτομα λαυρακιού (n=2)

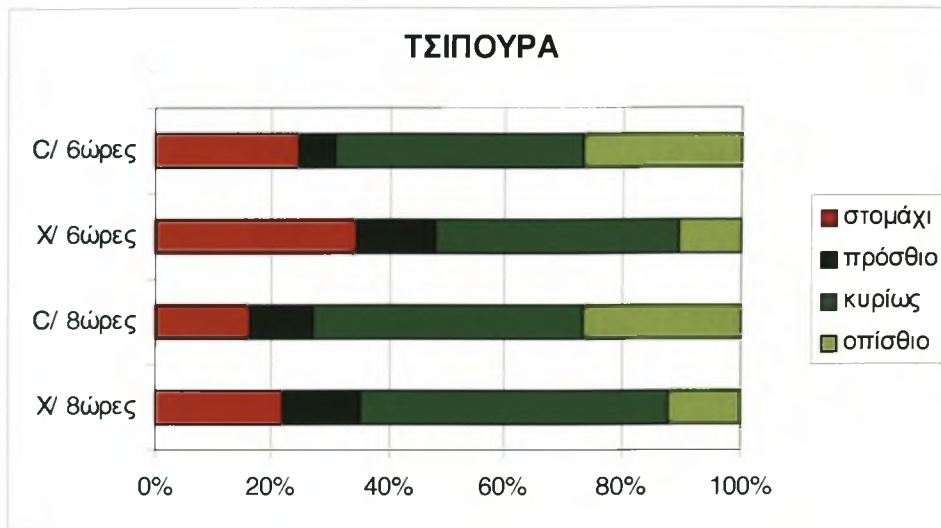
<i>Λαυράκι</i>	Πρωτεΐνες		Άμυλο	
	6 ώρες	8 ώρες	6 ώρες	8 ώρες
<i>Σιτηρέσιο C</i>				
Στομάχι	- 6,08	1,17	-4,79	11,32
Πρόσθιο έντερο	72,62	65,63	32,54	31,52
Κυρίως έντερο	86,21	84,94	23,02	29,59
Οπίσθιο έντερο	Δ.Μ. ^α	80,56	13,14	75,43
<i>Σιτηρέσιο X</i>				
Στομάχι	14,84	3,68	5,86	1,60
Πρόσθιο έντερο	71,87	64,14	20,39	17,62
Κυρίως έντερο	82,66	84,07	26,64	35,35
Οπίσθιο έντερο	76,01	81,36	15,99	37,45

^αΔ.Μ. Δεν μετρήθηκε

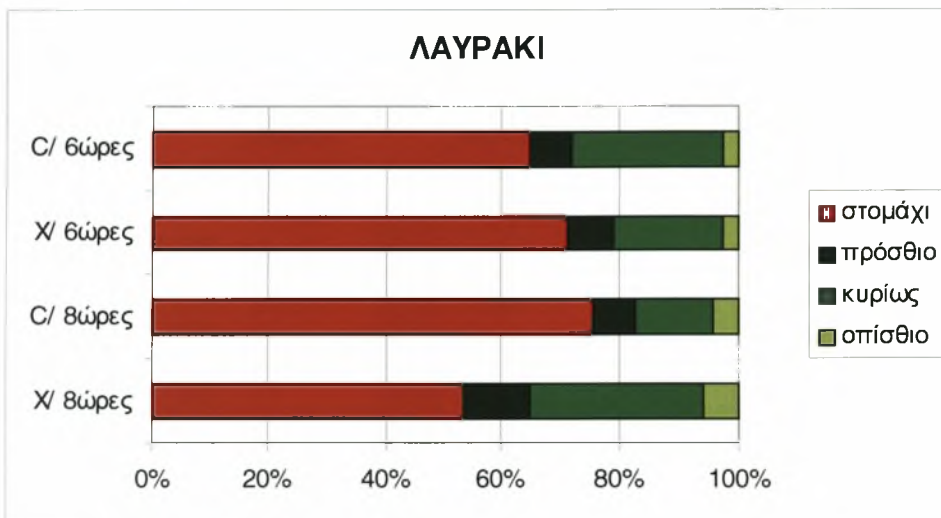
Πίνακας 6.6. Ποσοστιαία συμβολή των τριών κύριων παραγόντων στη συνολική διακύμανση στην απορρόφηση των πρωτεϊνών και του αμύλου στα τμήματα του εντέρου

	Είδος (E)	Σιτηρέσιο (Σ)	Τμήμα* (Τ)	E*Σ	E*Τ	Σ*Τ	E*Σ*Τ
<i>Πρωτεΐνες</i>	12,42***	0,21	48,66***	0	19,71***	0,16	0,20
<i>Άμυλο</i>	26,01***	4,75*	24,10***	2,85	3,80	9,60*	2,70

* (εκτός από το πρόσθιο τμήμα της τσιπούρας για το σιτηρέσιο C)



Διάγραμμα 6.3. Ποσοστό (%) της ποσότητας τροφής που περιέχεται σε κάθε τμήμα του πεπτικού σωλήνα των ατόμων τσιπούρας 6 και 8 ώρες μετά την παροχή γεύματος.



Διάγραμμα 6.4. Ποσοστό (%) της ποσότητας τροφής που περιέχεται σε κάθε τμήμα του πεπτικού σωλήνα των ατόμων λαυρακιού στις 6 και 8 ώρες μετά την παροχή γεύματος.

Χαρακτηριστικά πέψης

Τα επίπεδα ενυδάτωσης του γαστρεντερικού σωλήνα της τσιπούρας και του λαυρακιού φαίνονται στα Σχήματα 6.5-6.12, τα δε αποτελέσματα της στατιστικής επεξεργασίας, βάσει της οποίας εκτιμήθηκαν σημαντικές διαφοροποιήσεις, παρουσιάζονται στον Πίνακα 6.7, όπου εξετάζονται και οι τρεις παράμετροι, χρόνος, σιτηρέσιο, είδος ιχθύος και στον Πίνακα 6.8, όπου εξετάζονται οι παράγοντες χρόνος, και σιτηρέσιο για κάθε είδος χωριστά.

Από την ανάλυση διακύμανσης βρέθηκε ότι τα επίπεδα ενυδάτωσης διέφεραν σημαντικά ($P < 0,001$) μεταξύ των τμημάτων του γαστρεντερικού σωλήνα και στα δύο είδη. Η ενυδάτωση του στομαχικού περιεχομένου της τσιπούρας ήταν χαμηλότερη από

του λαυρακιού (Σχήμα 6.1, Πίνακας 6.7). Καθώς μετακινείται η τροφή από το στομάχι στο πρόσθιο τμήμα του εντέρου οι τιμές ενυδάτωσης αυξάνονται ανεξαρτήτως σιτηρεσίου και στα δύο είδη ιχθύων, με ελάχιστα υψηλότερες κατά μέσο όρο τιμές στο λαυράκι (Σχήμα 6.2, Πίνακας 6.7). Στο κυρίως και οπίσθιο τμήμα του εντέρου υψηλότερες τιμές ενυδάτωσης βρέθηκαν για την τσιπούρα από το λαυράκι (Σχήματα 6.3, 6.4, Πίνακας 6.7). Το σιτηρέσιο Χ αύξησε σημαντικά ($P < 0,05$) την ενυδάτωση του στομαχικού περιεχομένου της τσιπούρας σε σχέση με το σιτηρέσιο C (Σχήμα 6.1, Πίνακας 6.8), ενώ μεταξύ των σιτηρεσίων δεν παρατηρήθηκαν διαφορές στα τμήματα του εντέρου (Σχήματα 6.2-6.4, Πίνακας 6.8). Παρομοίως το σιτηρέσιο Χ αύξησε σημαντικά την ενυδάτωση του στομαχικού περιεχομένου του λαυρακιού (Σχήμα 6.1, Πίνακας 6.8). Όσον αφορά στα τμήματα του εντέρου διαφορές παρατηρήθηκαν μόνο στο κυρίως τμήμα με υψηλότερη την ενυδάτωση για το σιτηρέσιο Χ (Σχήματα 6.2-6.4, Πίνακας 6.8).

Το pH του στομάχου ήταν σημαντικά πιο όξινο στο λαυράκι από την τσιπούρα (Σχήμα 6.5, Πίνακας 6.7). Αντιθέτως, στο πρόσθιο και στο κυρίως έντερο η τσιπούρα τείνει να έχει λιγότερο αλκαλικό pH, ενώ μικρότερες διαφορές και διακυμάνσεις παρατηρήθηκαν στο οπίσθιο τμήμα (Σχήματα 6.6-6.8, Πίνακας 6.7).

Στην τσιπούρα το σιτηρέσιο Χ αύξησε σημαντικά τις τιμές του pH στο πρόσθιο και στο κυρίως τμήμα του εντέρου. Στο λαυράκι ο τύπος του σιτηρεσίου επηρέασε τις τιμές του στομαχικού περιεχομένου με λιγότερο όξινες, κατά μέσο όρο, τιμές για το σιτηρέσιο C (Σχήματα 6.5-6.7, Πίνακας 6.8).

Η ανάλυση διακύμανσης της επίδρασης του χρόνου, του σιτηρεσίου και του είδους του ιχθύος στην ενυδάτωση και στο pH των διαφορετικών τμημάτων του γαστρεντερικού σωλήνα (Πίνακας 6.7) έδειξε επίσης, ότι ο χρόνος έχει ισχυρή επίδραση ($P < 0,01$) μόνο στην ενυδάτωση του οπίσθιου τμήματος και η συμβολή του στο ποσοστό της ολικής διακύμανσης ήταν 11,4%. Οι τιμές του pH επηρεάστηκαν σημαντικά ($P < 0,001$) από το χρόνο σε όλα τα τμήματα εκτός από το οπίσθιο με υψηλότερο ποσοστό να παρατηρήθηκε στο κυρίως έντερο. Το υψηλότερο ποσοστό της ολικής διακύμανσης στην ενυδάτωση του στομαχικού περιεχομένου οφειλόταν στον παράγοντα σιτηρέσιο (21,3%, $P < 0,001$). Σε όλα τα τμήματα του γαστρεντερικού σωλήνα οι τιμές του pH επηρεάστηκαν σημαντικά από τον τύπο του σιτηρεσίου και για τα δυο είδη με χαμηλό το ποσοστό της ολικής διακύμανσης (2-6%). Σε όλες τις περιπτώσεις σημαντικές διακυμάνσεις οφειλόταν στο είδος του ιχθύος, εκτός από το pH του οπίσθιου εντέρου (Πίνακας 6.7). Συγκεκριμένα, στον παράγοντα είδος ιχθύος

οφειλόταν σημαντικό ποσοστό της ολικής διακύμανσης στην ενυδάτωση του στομαχικού περιεχομένου ενώ στην ενυδάτωση του κυρίως και οπίσθιου εντέρου οφειλόταν το υψηλότερο ποσοστό (17,9 και 30,5% αντίστοιχα). Όσον αφορά την επίδραση του είδος του ιχθύος στο pH των γαστρεντερικών τμημάτων, ήταν στατιστικά σημαντική ($P < 0,001$) εκτός από το pH του οπίσθιου τμήματος (Πίνακας 6.7) ενώ στο πρόσθιο και κυρίως έντερο παρατηρήθηκε το υψηλότερο ποσοστό της ολικής διακύμανσης (33,3 και 31,7, αντίστοιχα). Έτσι, σημαντικές διαφοροποιήσεις αποκαλύφθηκαν όταν η ανάλυση διακύμανσης έγινε κατά είδος (Πίνακας 6.8).

Για την τσιπούρα, η επίδραση του χρόνου ήταν εμφανής μόνο στην ενυδάτωση του στομαχικού περιεχομένου, με τάση αύξησης με το χρόνο (Πίνακας 6.8). Αντιθέτως, στο λαυράκι η επίδραση του χρόνου ήταν εμφανής στην ενυδάτωση των τριών τμημάτων του εντέρου, ενώ καμία επίδραση δεν βρέθηκε στην ενυδάτωση του γαστρικού περιεχομένου. Η ενυδάτωση του στομάχου έδειξε να εξαρτάται από τη σύνθεση του σιτηρέσιου και για τα δύο είδη (Πίνακας 6.8) με υψηλότερη την ενυδάτωση για τους ιχθύες που διεισέλασαν με το σιτηρέσιο Χ.

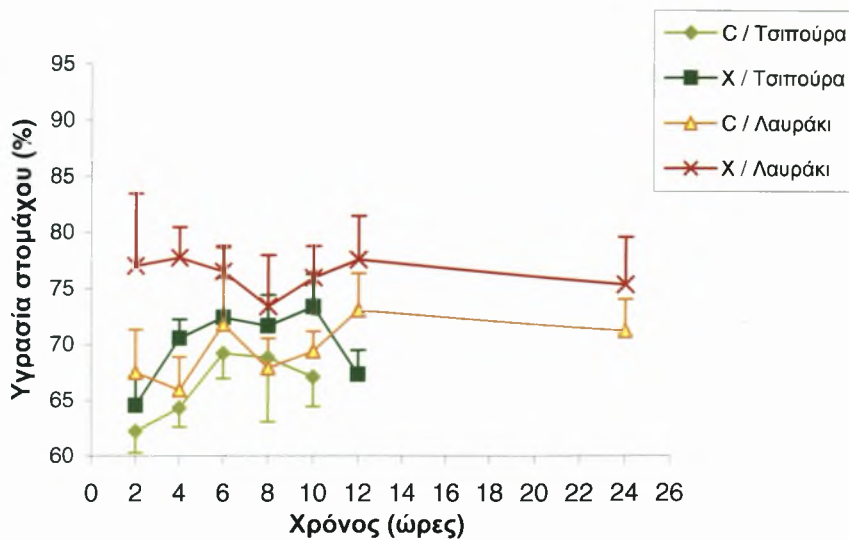
Μεγάλο ποσοστό της ολικής διακύμανσης της επίδρασης στις τιμές του pH του στομάχου και στα δύο είδη ιχθύων οφείλονται στον παράγοντα χρόνο (Πίνακας 6.8). Ο τύπος του σιτηρέσιου είχε σημαντική επίδραση στη διαμόρφωση του pH στο πρόσθιο και κυρίως έντερο της τσιπούρας, ενώ στο λαυράκι η επίδραση αυτή περιορίστηκε μόνο στο στομάχι (Πίνακας 6.8).

Γαστρική Εκκένωση

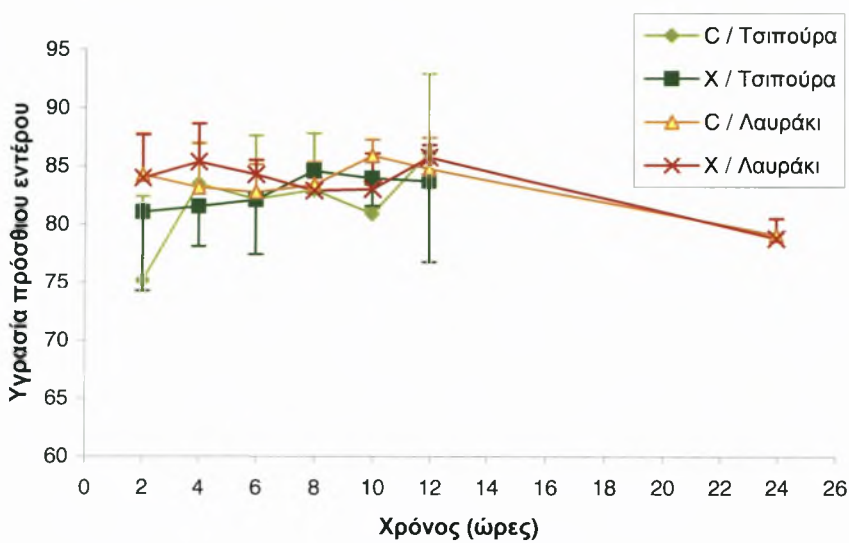
Το ξηρό υλικό του στομάχου μειωνόταν με το χρόνο όπως φαίνεται στο Σχήμα 6.9. Οι γεωμετρικοί μέσοι των στομαχικών περιεχομένων μειώνονταν με το χρόνο κατά το εκθετικό μοντέλο, όπως αποδεικνύεται από τις υψηλές τιμές του συντελεστή συσχέτισης που μετρήθηκαν από την ανάλυση παλινδρόμησης (Πίνακας 6.9).

Η προσθήκη 30% ΦΣΧ στο σιτηρέσιο διπλασίασε το χρόνο γαστρικής εκκένωσης στην τσιπούρα. Τα αποτελέσματα της ανάλυση παλινδρόμησης για τη σύγκριση των κλίσεων των ευθειών παλινδρόμησης έδειξε μη σημαντικά στατιστική διαφορά μεταξύ των κλίσεων των γραφικών παραστάσεων των δύο σιτηρεσιών ($P=0,3$) Καμία διαφορά μεταξύ των κλίσεων ($P=0,7$) δεν βρέθηκε για το λαυράκι, του οποίου ο χρόνος γαστρικής εκκένωσης ήταν αρκετά μεγαλύτερος από την τσιπούρα. Ο ρυθμός γαστρικής εκκένωσης ανεξαρτήτως σιτηρεσιού ήταν χαμηλότερος σχεδόν κατά το ήμισυ στα άτομα λαυρακιού σε σχέση με την τσιπούρα (Πίνακας 5.9). Η διαφορά των

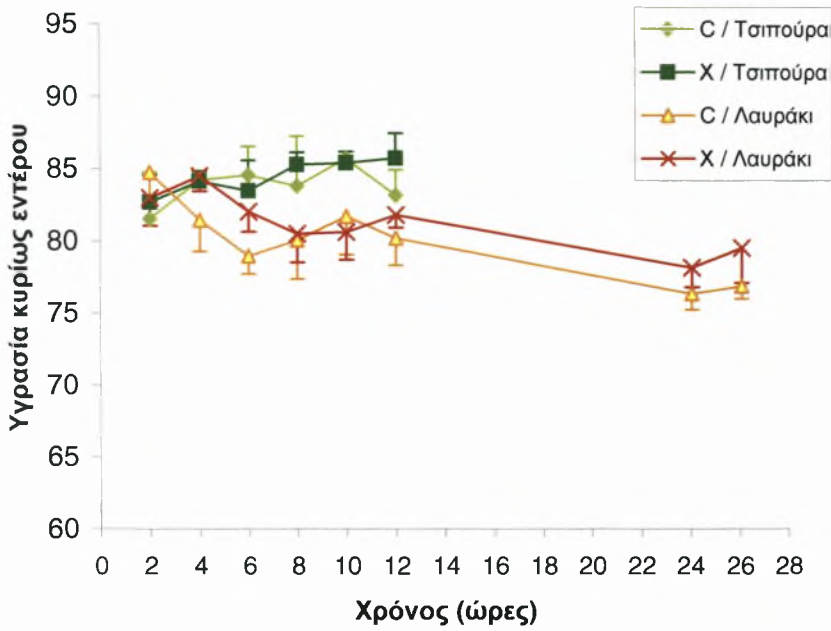
κλίσεων ήταν στατιστικά σημαντικά διαφορετική ($P < 0,01$) μεταξύ των δύο ειδών ανεξαρτήτως τύπου σιτηρεσίου.



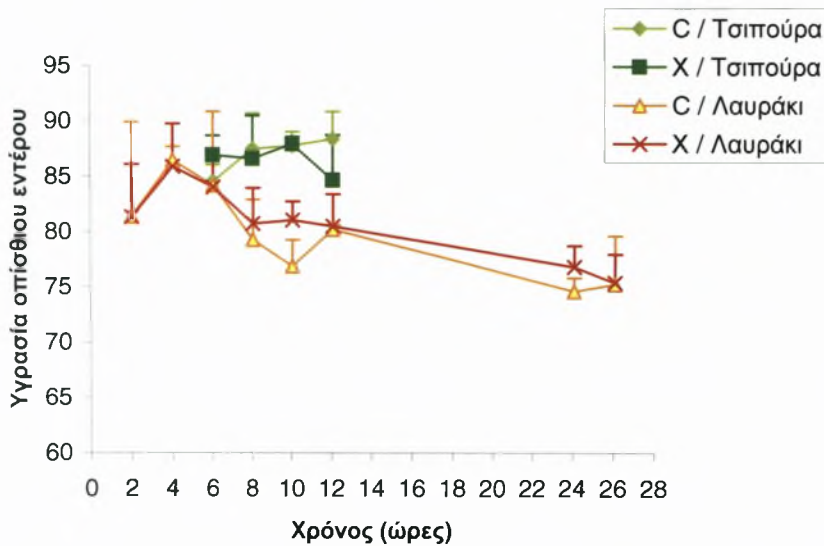
Σχήμα 6.1. Υγρασία στομαχικού περιεχομένου ατόμων τσιπούρας και λαυρακιού σε σχέση με το χρόνο μετά την παροχή του γεύματος.



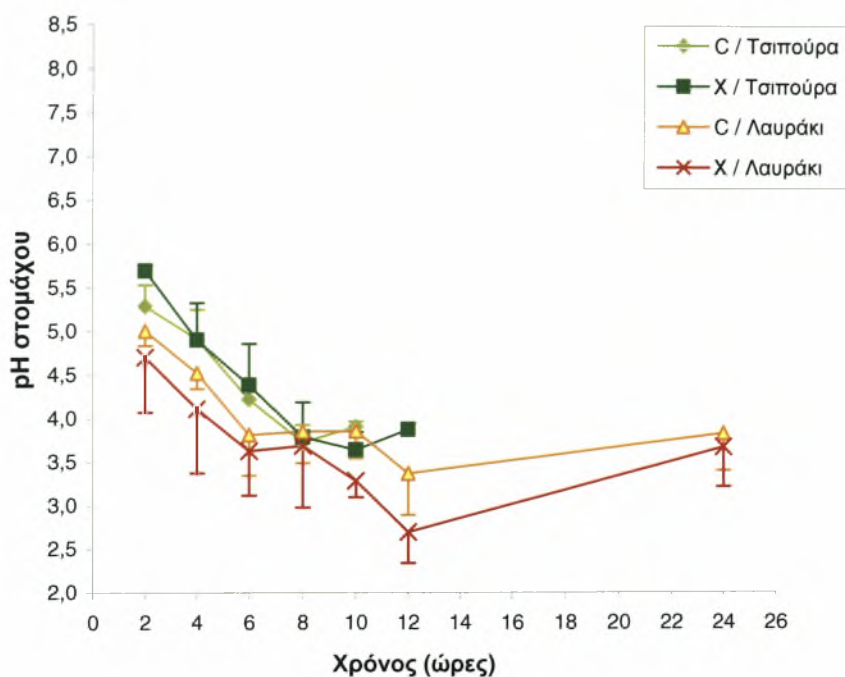
Σχήμα 6.2. Υγρασία πρόσθιου εντέρου ατόμων τσιπούρας και λαυρακιού σε σχέση με το χρόνο μετά την παροχή του γεύματος.



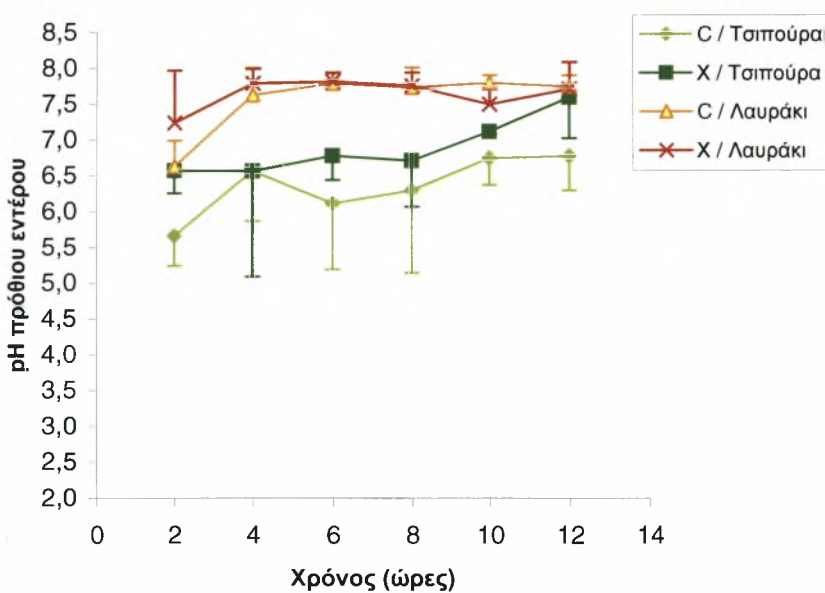
Σχήμα 6.3. Υγρασία κυρίως εντέρου ατόμων τσιπούρας και λαυρακιού σε σχέση με το χρόνο μετά την παροχή του γεύματος.



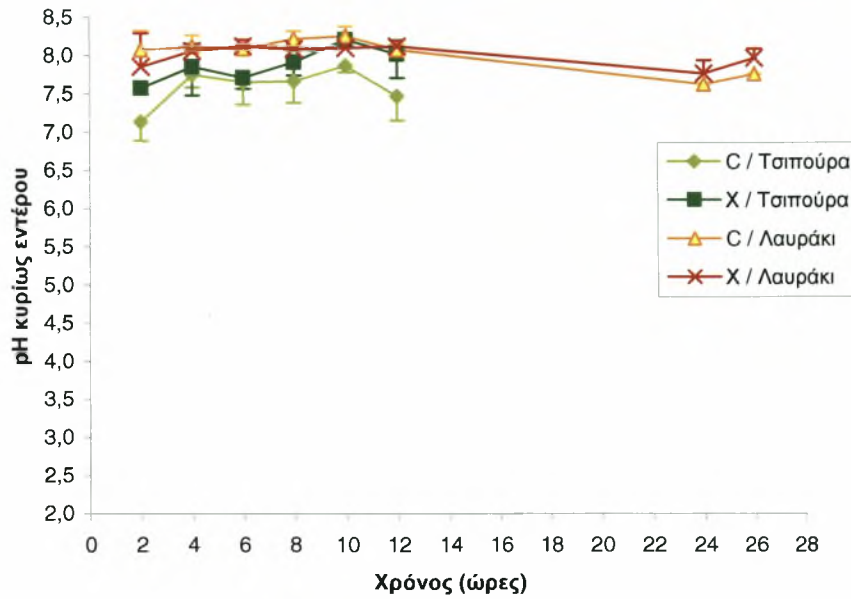
Σχήμα 6.4. Υγρασία οπίσθιου εντέρου ατόμων τσιπούρας και λαυρακιού σε σχέση με το χρόνο μετά την παροχή του γεύματος



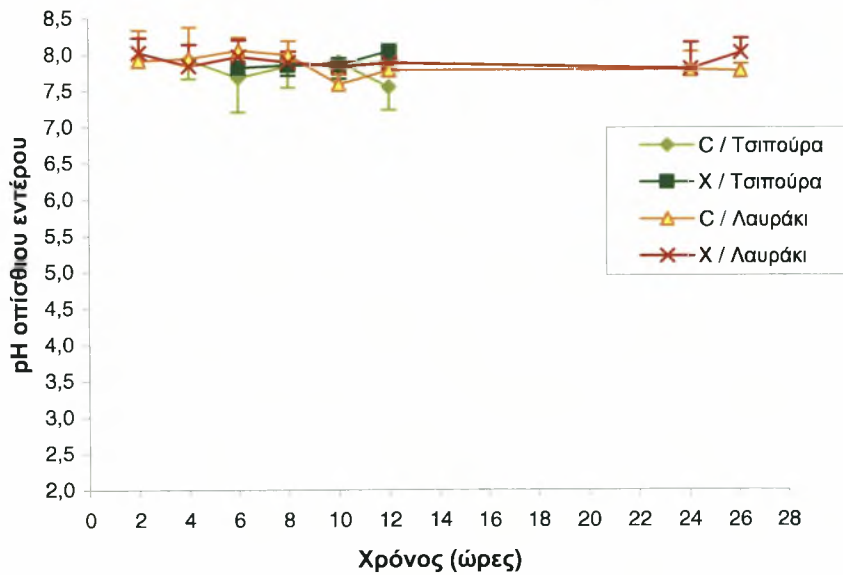
Σχήμα 6.5. pH στομαχικού περιεχομένου ατόμων τσιπούρας και λαυρακιού σε σχέση με το χρόνο μετά την παροχή του γεύματος.



Σχήμα 6.6. pH πρόσθιου εντέρου ατόμων τσιπούρας και λαυρακιού σε σχέση με το χρόνο μετά την παροχή του γεύματος.



Σχήμα 6.7. pH κυρίως εντέρου ατόμων τσιπούρας και λαυρακιού σε σχέση με το χρόνο μετά την παροχή του γεύματος.



Σχήμα 6.8. pH οπίσθιου εντέρου ατόμων τσιπούρας και λαυρακιού σε σχέση με το χρόνο μετά την παροχή του γεύματος.

Πίνακας 6.7. Ποσοστιαία συμβολή των τριών κύριων παραγόντων στη συνολική διακύμανση στην υγρασία και στο pH στα τμήματα του γαστρεντερικού σωλήνα.

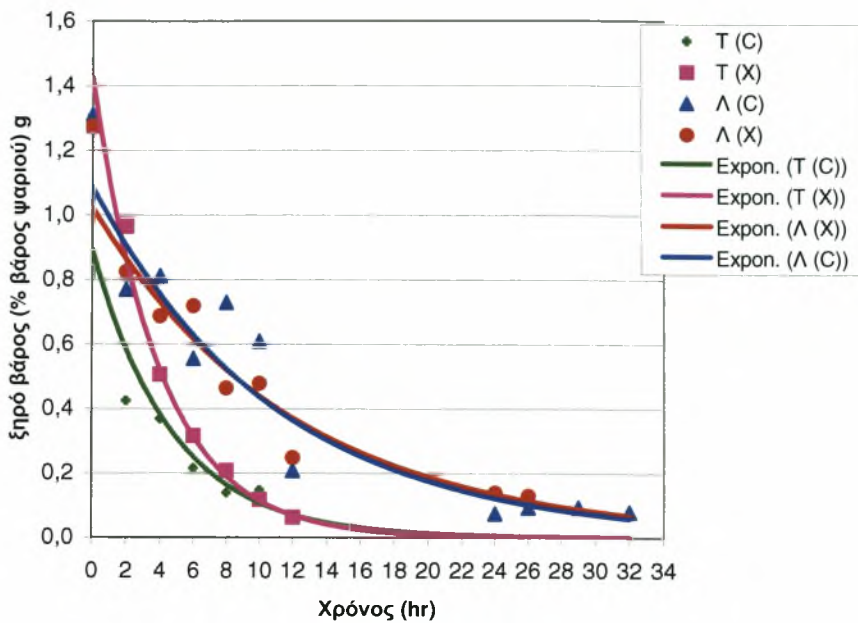
	Χρόνος (X)	Σιτηρέσιο (Σ)	Είδος (Ε)	Χ*Σ	Χ*Ε	Σ*Ε	Χ*Σ*Ε
Στομάχι							
Υγρασία	4,71	21,32***	12,16***	3,38	5,93*	2,65*	0,58
pH	3,51***	1,97*	9,58***	0,70	2,59	0,45	0,64
Πρόσθιο Έντερο							
Υγρασία	7,35	0,56	5,26*	1,44	5,90	0,28	6,09
pH	9,06***	3,66**	33,29***	1,49	3,45	1,88*	0,77
Κυρίως Έντερο							
Υγρασία	3,23	1,30	17,88***	2,32	13,18***	0,00	4,77
pH	14,53***	2,82**	31,70***	1,99	4,04*	8,22***	3,21
Οπίσθιο Έντερο							
Υγρασία	11,44**	0,00	30,50***	2,48	7,62**	6,23**	5,32*
pH	7,20	6,04**	0,00	7,36	14,97***	2,97	0,00

*, **, *** = διαφέρουν στατιστικά σε επίπεδο σημαντικότητας $P = 0,05$, $P = 0,01$ και $P < 0,001$, αντίστοιχα.

Πίνακας 6.8. Ποσοστιαία συμβολή των δύο κύριων παραγόντων στη συνολική διακύμανση στην υγρασία και στο pH στα τμήματα του γαστρεντερικού περιεχομένου των ατόμων τοπιούρας και λαυρακιού

Τσιπούρα				Λαυράκι			
	Χρόνος	Σιτηρέσιο	Χ*Σ		Χρόνος	Σιτηρέσιο	Χ*Σ
Στομάχι				Στομάχι			
Υγρασία	38,73**	10,96*	3,12	Υγρασία	8,58	29,72***	5,45
pH	69,62***	0,00	1,91	pH	50,42***	5,54***	1,28
Πρόσθιο έντερο				Πρόσθιο έντερο			
Υγρασία	13,87	1,00	6,65	Υγρασία	26,68**	0,13	6,55
pH	14,95	10,27*	2,66	pH	59,55***	0,27	3,25
Κυρίως έντερο				Κυρίως έντερο			
Υγρασία	17,29	1,28	12,31	Υγρασία	38,78***	3,19**	9,85
pH	31,33***	17,48***	9,94	pH	36,95***	0,00	12,81
Οπίσθιο έντερο				Οπίσθιο έντερο			
Υγρασία	19,76	1,76	1,71	Υγρασία	47,90***	0,70	2,58
pH	21,20	6,88	8,40	pH	27,53	4,49	12,71

*, **, *** = διαφέρουν στατιστικά σε επίπεδο σημαντικότητας $P = 0,05$, $P = 0,01$ και $P < 0,001$, αντίστοιχα



Σχήμα 6.9. Σχηματική παράσταση του ξηρού βάρους στομαχικού περιεχομένου ατόμων λαυρακιού (90g) και τσιπούρας (130g) σε συνάρτηση με το χρόνο μετά την παροχή του γεύματος των πειραματικών σιτηρεσιών.

Πίνακας 6.9. Χρόνος γαστρικής εκκένωσης (ΧΓΕ: min) και ρυθμός γαστρικής εκκένωσης (ΡΓΕ: g/min) των ατόμων τσιπούρας και λαυρακιού μετά την παροχή του γεύματος.

Γαστρική εκκένωση	ΧΓΕ	ΡΓΕ ($\times 10^{-3}$)	Συντελεστής συσχέτισης εκθετικού μοντέλου για τον ΧΓΕ
Τσιπούρα			
Σιτηρέσιο C	89	3,52	-0,94
Σιτηρέσιο X	192	4,19	-0,99
Λαυράκι			
Σιτηρέσιο C	334	1,52	-0,96
Σιτηρέσιο X	337	1,41	-0,97

6.4. Συζήτηση

Τα βασικά αποτελέσματα αυτού του κεφαλαίου δείχνουν πως τα δύο είδη παρουσιάζουν σημαντικές διαφοροποιήσεις στα χαρακτηριστικά πέψης των σιτηρεσιών, όπως στην ενυδάτωση και στις τιμές του pH των γαστρεντερικών τμημάτων, καθώς και στο χρόνο γαστρικής εκκένωσης. Ο τύπος του σιτηρεσίου διαφοροποιεί επίσης ορισμένα χαρακτηριστικά αλλά η επίδρασή του είναι μικρότερη

από αυτή του είδους των ιχθύων. Διαφοροποιήσεις επίσης υπάρχουν ανάμεσα στα δύο είδη όσον αφορά την πεπτικότητα των θρεπτικών συστατικών ενώ ο τύπος του σιτηρεσίου είναι επίσης ένας παράγοντας που επηρεάζει την πεπτικότητα κυρίως του αμύλου.

Πεπτικότητα πρωτεϊνών

Η πεπτικότητα των πρωτεϊνών του σιτηρεσίου που περιείχε ΦΣΧ ήταν υψηλή (>88%) και στα δύο είδη ιχθύων. Στα λαυράκια, η πεπτικότητα των πρωτεϊνών του σιτηρεσίου Χ ήταν στατιστικά χαμηλότερη από το σιτηρέσιο C σε αντίθεση με την τσιπούρα στην οποία η διαφορά ήταν μη σημαντική. Παρόλα αυτά η τιμή της πεπτικότητας των πρωτεϊνών ήταν υψηλότερη στα λαυράκια από αυτήν στην τσιπούρα.

Σε προηγούμενη αναφορά η πεπτικότητα των πρωτεϊνών σε σιτηρέσια που περιείχαν ΦΣΧ για την πέστροφα, *Oncorhynchus mykiss*, ίδιου βάρους και παροχή τροφής στο ίδιο ποσοστό με την παρούσα μελέτη, ήταν αρκετά χαμηλότερη (48%) και μειωμένη κατά 42% σε σχέση με το σιτηρέσιο που περιείχε ιχθυάλευρο (Αλέξη et al., 1988). Η μεγαλύτερη διαφορά πεπτικότητας συγκριτικά με τα αποτελέσματα της παρούσας μελέτης πιθανόν να οφείλεται στη διαφορετική μέθοδο συλλογής των περιττωμάτων, η οποία πραγματοποιήθηκε με πίεση της κοιλιάς (stripping) στην περίπτωση της πέστροφας και με καθίζηση στην παρούσα εργασία. Εντούτοις, η διαφοροποίηση της μετρούμενης πεπτικότητας των πρωτεϊνών μεταξύ μεθόδων stripping και καθίζησης έχει βρεθεί να είναι 8-13% (Vandenberg & de la Noüe, 2001), μικρότερη από την παρατηρούμενη διαφορά μεταξύ της πεπτικότητας στην πέστροφα και στην παρούσα μελέτη. Συνεπώς, η πεπτικότητα των πρωτεϊνών διαφέρει ανάλογα με το είδος του ιχθύος και δείχνει πως η πέστροφα είναι πιο ευαίσθητη στους αντιθρεπτικούς παράγοντες που περιέχονται στο ΦΣΧ. Το λαυράκι φαίνεται επίσης να είναι πιο ευαίσθητο από την τσιπούρα. Το ΦΣΧ περιέχει ταννίνες, που μειώνουν την πεπτικότητα των πρωτεϊνών, είτε με το σχηματισμό συμπλόκων με τις πρωτεΐνες, είτε μέσω μη συναγωνιστικής αναστολής των πρωτεασών (Krogdahl, 1989, Francis et al., 2001). Έχει αναφερθεί ότι οι ταννίνες δεσμεύονται σε υδροφοβικά τμήματα των πρωτεϊνικών μορίων (Mitaru et al., 1984), σε υδροφοβικά αμινοξέα όπως ιστιδίνη, ισολευκίνη και βαλίνη, προκαλώντας πιθανώς ελλείψεις των αμινοξέων. Σε άλλη μελέτη, η μείωση της αύξησης σε πέστροφες (βάρους 1g) με τη συμμετοχή ΦΣΧ στο σιτηρέσιο αποδόθηκε κυρίως στην παρουσία ταννινών (Alexis et al., 1986). Εντούτοις η αύξηση της πεπτικότητας από την πέστροφα μετά από θερμική

κατεργασία του ΦΣΧ με αυτόκαυστο (Αλέξη et al., 1988) δείχνει και την παρουσία θερμοευαίσθητων αναστολέων των πρωτεασών.

Η πεπτικότητα των πρωτεϊνών του ΦΣΧ βρέθηκε υψηλή (80-85%) υποδεικνύοντας ότι και τα δύο είδη ιχθύων είναι ικανά να πέπτουν την πρωτεΐνη του ΦΣΧ.

Πεπτικότητα λιπών

Η κύρια πηγή λιπών στα υπό εξέταση σιτηρέσια ήταν το ιχθυέλαιο καθώς το ΦΣΧ έχει χαμηλή περιεκτικότητα λίπους (περίπου 4%) και η συμμετοχή του στην ποσότητα του λίπους στο σιτηρέσιο ήταν αμελητέα (1%). Στην τσιπούρα, η πεπτικότητα του λίπους δεν επηρεάστηκε από την προσθήκη του ΦΣΧ, σε αντίθεση με το λαυράκι, στο οποίο η τιμή της πεπτικότητας ήταν στατιστικά χαμηλότερη από το σιτηρέσιο μάρτυρα. Τα λαυράκι φαίνεται, όπως αναφέρθηκε και παραπάνω, πιο ευαίσθητο στους αντιθρεπτικούς παράγοντες που περιέχονται στο ΦΣΧ, σε σχέση με την τσιπούρα. Παρόλα αυτά, η τιμή της πεπτικότητας των λιπών ήταν υψηλότερη στα λαυράκια από αυτή στην τσιπούρα, όπως παρατηρήθηκε και στην πεπτικότητα των πρωτεϊνών.

Όπως έχει αναφερθεί στην παράγραφο 3.4 ένας παράγοντας, ο οποίος αναμένεται να συμβάλλει στην μείωση της πεπτικότητας των λιπών είναι οι ΜΑΠ. Οι ΜΑΠ έχουν αναφερθεί ότι δεσμεύουν χολικά οξέα μειώνοντας τη διαθεσιμότητα τους και προκαλώντας αύξηση της έκκρισης τους από το ήπαρ και τη χολή (Krogdahl, 1989, Choct, 2000, Romarheim et. al., 2006, Storebakken, 1985). Έχει αναφερθεί ότι οι διαλυτοί ΜΑΠ στο σιτηρέσιο προκαλούν μεγαλύτερη μείωση της πεπτικότητας των λιπών στα σαρκοφάγα είδη, όπως στην πέστροφα (*Salmo gairdneri*, Storebakken, 1985) και στο African catfish (*Clarias gariepinus*, Leenhowers et al., 2004) σε σχέση με τα φυτοφάγα, όπως στην τιλάπια (*Oreochromis niloticus* L., Amirkolaie et al., 2005).

Είναι γνωστό ότι μικρότερος χρόνος εκκένωσης της τροφής από το γαστρεντερικό σωλήνα μειώνει το χρόνο για την πέψη και απορρόφηση των θρεπτικών συστατικών. Αυτός είναι ένας λόγος της παρατηρούμενης μείωσης των τιμών πεπτικότητας των πρωτεϊνών και των λιπών που παρατηρήθηκαν στην τσιπούρα σε σχέση με το λαυράκι, αν και οι διαφορές στις τιμές πεπτικότητας είναι πολύ μικρότερες από τη διαφορά στους χρόνους γαστρικής εκκένωσης.

Πεπτικότητα αμύλου

Η πεπτικότητα του αμύλου διέφερε σημαντικά όχι μόνο μεταξύ των σιτηρεσιών αλλά και μεταξύ των ειδών των ιχθύων. Πολύ χαμηλή τιμή πεπτικότητας του αμύλου του σιτηρεσίου Χ παρατηρήθηκε στο λαυράκι. Στην τσιπούρα η τιμή ήταν στατιστικά χαμηλότερη από το σιτηρέσιο C, παρέμεινε ωστόσο υψηλή (89%).

Η περιεκτικότητα αμύλου του ΦΣΧ ήταν αμελητέα και η πηγή υδατανθράκων στο σιτηρέσιο Χ προήλθε από το άλευρο σίτου, δείχνοντας ότι η χαμηλή τιμή πεπτικότητας δεν οφείλεται στη δομή ή στη μη επεξεργασία του αμύλου του ΦΣΧ. Η μείωση οφείλεται επομένως στις αλληλεπιδράσεις άλλων συστατικών του ΦΣΧ με το άμυλο του σιτηρεσίου Χ μειώνοντας την πεπτικότητά του.

Επιπλέον, στην παρούσα μελέτη, ούτε τα σιτηρέσια ούτε οι πρώτες ύλες είχαν επεξεργασθεί με εξώθηση. Επομένως, μειωμένη πεπτικότητα του αμύλου σε σχέση με τις τιμές πεπτικότητας αμύλου των σιτηρεσιών που περιείχαν άλευρο σίτου στην τσιπούρα και το λαυράκι των προηγούμενων πειραμάτων ήταν αναμενόμενη. Οι υψηλές εντούτοις τιμές επιβεβαιώνουν την υψηλή πεπτικότητα του αμύλου του σίτου στην τσιπούρα ακόμα και χωρίς την εφαρμογή εξώθησης (Venou et al., 2003).

Πειράματα *in vitro* έδειξαν ότι οι ταννίνες που περιέχονται στο χαρούπι παρεμποδίζουν τη δράση των πεπτικών ενζύμων (Tamir & Alumot, 1969). Ειδικότερα βρέθηκε ότι η παρεμπόδιση της δράσης της αμυλάσης είναι μεγαλύτερη σε σχέση με τη θρυψίνη και τη λιπάση. Μελέτη στην πέστροφα έδειξε ότι η προσθήκη ΦΣΧ σε σιτηρέσια σε ποσοστά από 20-60%, μείωσε στο μισό την ενεργότητα της θρυψίνης ήδη από το πρόσθιο τμήμα του εντέρου, ενώ η ενεργότητα της αμυλάσης μειώθηκε στα σιτηρέσια που περιείχαν 40-60% ΦΣΧ (Filioglou & Alexis, 1989).

Οι διαλυτοί ΜΑΠ που περιέχονται στο σιτηρέσιο Χ μπορούν επίσης να συμβάλλουν στην παρατηρούμενη μειωμένη πεπτικότητα του αμύλου. Η αύξηση του ιξώδους λόγω των ΜΑΠ περιορίζει τη διάχυση των υδρολυόμενων προϊόντων, με αποτέλεσμα οι συνθήκες στο έντερο να μην είναι ευνοϊκές για τη δέσμευση των θρεπτικών συστατικών στις επιφάνειες απορρόφησης του εντέρου (Krogdahl, 1989; Leenhowers et al., 2006; Amirkolaie et al., 2005). Αντιθέτως, σε άλλη αναφορά το ιξώδες του εντερικού περιεχομένου που οφείλεται στους διαλυτούς ΜΑΠ των σιτηρεσιών δε συσχετίστηκε με την πεπτικότητα (Leenhowers et al., 2007). Κατά τους συγγραφείς, οι διαφορές που βρέθηκαν στην πεπτικότητα του αμύλου οφείλονταν στη διαφορετική δομή των κυτταρικών τοιχωμάτων που περικλείουν το άμυλο των

φυτικών πρώτων υλών, στο λόγο αμυλόζης/αμυλοπηκτινής ή στην παρουσία αναστολέων α-αμυλάσης.

Στην παρούσα μελέτη η πεπτικότητα των πρωτεϊνών και λιπών και των δύο σιτηρεσίων ήταν υψηλότερη στα λαυράκια από την τσιπούρα. Αντιθέτως, η πεπτικότητα του αμύλου βρέθηκε να έχει υψηλότερες τιμές στην τσιπούρα. Τα αποτελέσματα αυτά συμφωνούν με αυτά άλλης μελέτης που πραγματοποιήθηκε στο Εργαστήριο Πειραματικής Διατροφής του ΕΛ.ΚΕ.Θ.Ε. (μη δημοσιευμένα αποτελέσματα) κατά την οποία μελετήθηκε η πεπτικότητα των θρεπτικών συστατικών σε λαυράκια και τσιπούρες που είχαν εκτραφεί με σιτηρέσιο στην οποία είχε προστεθεί 30% ελαιοκράμβη. Επίσης, συμφωνεί και με τις διαφοροποιήσεις της πεπτικότητας μεταξύ των δύο ειδών που επισημάνθηκαν στα προηγούμενα κεφάλαια. Σύμφωνα με τα αποτελέσματα της μελέτης, η πεπτικότητα των πρωτεϊνών και των λιπών ήταν υψηλότερη στα λαυράκια από ότι στην τσιπούρα σε αντίθεση με την πεπτικότητα του αμύλου, όπου η τσιπούρα είχε καλύτερη επίδοση, καταδεικνύοντας διαφορετική ικανότητα αξιοποίησης των θρεπτικών συστατικών από τα δύο είδη ιχθύων. Οι διατροφικές συνήθειες των δύο ειδών που μελετήθηκαν, παρουσιάζουν ορισμένες διαφορές εξηγώντας τη μειωμένη δυνατότητα αξιοποίησης του αμύλου από το λαυράκι. Οι διατροφικές συνήθειες του λαυρακιού περιορίζονται κυρίως σε καρκινοειδή και τελεόστεους (Costa, 1988, Leaute, 1986) σε σχέση με την τσιπούρα στη διατροφή της οποίας περιλαμβάνονται και μαλάκια, ενώ έχουν αναφερθεί και φύκια (Arias, 1976, Rosocchi, 1987, Wassef & Eisawy, 1985).

Απορρόφηση εντερικών τμημάτων

Οι τιμές απορρόφησης κατά μήκος του πεπτικού σωλήνα μετρήθηκαν με βάση την σχετική ποσότητα ενός άπειπτου δείκτη και του υπό εξέταση θρεπτικού συστατικού. Οι διαθέσιμες ποσότητες ήταν σχετικά μικρές, παρά την συνένωση δειγμάτων που ελήφθησαν από ένα αριθμό ιχθύων και ορισμένες φορές ανεπαρκείς για επαναληπτικό προσδιορισμό. Παρόλα αυτά έδειξαν στις περισσότερες περιπτώσεις τις βασικές τάσεις που χαρακτηρίζουν την απορρόφηση των θρεπτικών συστατικών στα διαφορετικά τμήματα του πεπτικού σωλήνα.

Το στομάχι καθώς και το πρόσθιο τμήμα του εντέρου παρουσίασαν την ιδιαιτερότητα των αρνητικών τιμών για την τσιπούρα. Αυτό μπορεί να οφείλεται σε δύο λόγους: στην επιμόλυνση των δειγμάτων με πεπτικό ιστό ή/και την διαφορετική ταχύτητα μετατόπισης του δείκτη σχετικά με τα προσδιοριζόμενα θρεπτικά

συστατικά. Συγχρόνως αυτή η ιδιαιτερότητα δεν παρουσιάστηκε στο λαυράκι και οι δύο αρνητικές τιμές που βρέθηκαν στο στομάχι είναι στα όρια του πειραματικού σφάλματος. Στην πρώτη περίπτωση, πρέπει να σημειωθεί πως το στομάχι της τσιπούρας καθώς και το πρόσθιο τμήμα του εντέρου παρουσίαζαν μεγαλύτερο σχετικό μέγεθος από αυτά του λαυρακιού. Επομένως, επειδή και η ποσότητα τροφής στο στομάχι των ατόμων τσιπούρας ήταν, κατά τον χρόνο της δειγματοληψίας, μικρότερη από αυτή του λαυρακιού είναι πιθανή μεγαλύτερη επιμόλυνση στην τσιπούρα. Το γεγονός ότι στα δείγματα του στομαχικού περιεχομένου της τσιπούρας οι μεγαλύτερες αρνητικές τιμές μετρήθηκαν στις 8 σχετικά με τις 6 ώρες, όπου η ποσότητα της τροφής ήταν μικρότερη υποστηρίζει την τελευταία άποψη. Όσον αφορά στη μετατόπιση του δείκτη, οι Vandenberg & de la Noüe (2001) αναφέρουν πως μερικοί δείκτες διαχωρίζονται από τα υπόλοιπα συστατικά του σιτηρεσίου και δε βρίσκονται ομοιόμορφα αναμιγμένοι στο εντερικό περιεχόμενο λόγω της διαφορετικής πυκνότητας τους από το πειραματικό σιτηρέσιο. Αυτό ίσως επιτρέπει πιο γρήγορη μετατόπιση του δείκτη σε σχέση με τα υπόλοιπα συστατικά του σιτηρεσίου οδηγώντας σε αρνητικές τιμές. Ο διαχωρισμός αναμένεται να εξαρτάται και από την συνεκτικότητα του σύμπηκτου. Και τα δύο σιτηρέσια ήταν πειραματικά και παρασκευάστηκαν στο εργαστήριο αλλά η συνεκτικότητα του σιτηρεσίου με ΦΣΧ ήταν πολύ καλύτερη λόγω και της παρουσίας των γαλακτομαννανών. Από τα αποτελέσματα του σιτηρεσίου Χ φαίνεται πως οι αρνητικές τιμές περιορίζονται στο στομάχι συνηγορώντας στην άποψη ότι στην εμφάνιση αρνητικών τιμών συνέβαλε και η διαφορετική ταχύτητα μετατόπισης του δείκτη.

Οι χαμηλές τιμές απορρόφησης των πρωτεϊνών και του αμύλου στο στομάχι οδηγεί στο συμπέρασμα ότι η απορρόφηση των θρεπτικών συστατικών πραγματοποιείται στο έντερο των σαρκοφάγων αυτών ειδών. Χαμηλή ενζυμική ενεργότητα και επομένως χαμηλές τιμές απορρόφησης αμύλου έχουν βρεθεί και στο στομάχι του σολομού (*Salmo salar* L., Krogdahl et al., 1999) και στην πέστροφα *Salmo gairdneri* (Austreng, 1978).

Οι τιμές απορρόφησης των πρωτεϊνών στο λαυράκι ήταν υψηλές (65-72%) ήδη από το πρόσθιο τμήμα ανεξαρτήτως τύπου σιτηρεσίου με αυξανόμενη τιμή στο κυρίως τμήμα του εντέρου, έχοντας παρόμοια τιμή στο οπίσθιο. Αντιθέτως, στην τσιπούρα το μέγιστο της απορρόφησης των πρωτεϊνών παρατηρήθηκε στο κυρίως και οπίσθιο τμήμα του εντέρου, αυτό όμως χρήζει επιβεβαίωσης λόγω ανεπαρκούς ποσότητας του υλικού. Επίσης, οι υψηλότερες τιμές απορρόφησης πρωτεϊνών στο

λαυράκι υποδεικνύουν μεγαλύτερη δράση των πρωτεασών στο πρόσθιο τμήμα του λαυρακιού σε σχέση με την τσιπούρα. Οι τιμές του pH του πρόσθιου τμήματος στο λαυράκι ήταν σε κάθε χρόνο δειγματοληψίας μεγαλύτερες από του pH της τσιπούρας. Στην τσιπούρα, η βέλτιστη ενεργότητα των πρωτεασών βρίσκεται στην αλκαλική περιοχή του pH (9,5-10) (Alarcon et al., 1998, Munilla-Moran & Saborido-Rey, 1996). Η αυξημένη τιμή του pH στο πρόσθιο τμήμα του λαυρακιού είχε ως συνέπεια την αυξημένη ενεργότητα των πρωτεασών. Η μειωμένη ενεργότητα των πρωτεασών λόγω της τιμής του pH στο πρόσθιο τμήμα του εντέρου τσιπούρας έχει ήδη αναφερθεί σε άλλη μελέτη (Deguara et al., 2003).

Στην παρούσα μελέτη στο λαυράκι, το μέγιστο της απορρόφησης σε σχέση με το συνολικό ποσοστό της τροφής που απορροφήθηκε, λαμβάνει μέρος στο πρόσθιο τμήμα του εντέρου σε συμφωνία με μελέτη σε ιχθύσδια τσιπούρας (Fernández et al., 1998) και το βακαλάο (*Gadus morhua*, Førde-Skjærviik et al., 2006). Στο κυρίως τμήμα του εντέρου οι τιμές απορρόφησης των πρωτεϊνών του σιτηρεσίου C και στα δύο είδη συμφωνούν με τις τιμές που βρέθηκαν στο βακαλάο της παραπάνω μελέτης που διατρέφει με σιτηρέσιο παρόμοιας σύστασης.

Το οπίσθιο τμήμα του εντέρου της τσιπούρας είχε τη χαμηλότερη συμμετοχή στην απορρόφηση των θρεπτικών συστατικών σε σχέση με τα προηγούμενα τμήματα, σε συμφωνία με προηγούμενες μελέτες, όσον αφορά το οπίσθιο τμήμα του εντέρου ιχθυδίων τσιπούρας (*Sparus aurata*) και σολομού (*Salmo salar*), αντίστοιχα (Fernández et al., 1998 και Krogdahl et al., 2003).

Η προσθήκη του ΦΣΧ και στα δύο είδη δεν έδειξε να επηρεάζει την απορρόφηση των πρωτεϊνών. Παρόλα αυτά οι τελικές τιμές και στα δύο είδη ήταν μειωμένες σε σχέση με αυτές που βρέθηκαν με τη μέθοδο της φαινόμενης πεπτικότητας. Το γεγονός αυτό είναι πιθανό διότι στη μέθοδο της φαινόμενης πεπτικότητας υπάρχει έκπλυση των θρεπτικών συστατικών αυξάνοντας τις τιμές. Επιπλέον, στο αποτέλεσμα της μέτρησης της απορρόφησης μπορεί να προσμετρηθεί η πρωτεΐνη των εντερικών εκκρίσεων ως άπεπτη μειώνοντας το αποτέλεσμα.

Η απορρόφηση του αμύλου στην τσιπούρα ήταν στο κυρίως και το οπίσθιο τμήμα του εντέρου υψηλότερη σε σχέση με το λαυράκι, σε συμφωνία με τα αποτελέσματα του προηγούμενου πειράματος πεπτικότητας. Μέγιστη τιμή απορρόφησης του αμύλου στην τσιπούρα παρατηρήθηκε στο οπίσθιο τμήμα. Στο κυρίως και στο οπίσθιο τμήμα της τσιπούρας, όπου οι τιμές του pH ήταν 7-8, παρατηρήθηκαν υψηλότερες τιμές απορρόφησης σε σχέση με το στομάχι και το

πρόσθιο τμήμα. Στη συγκεκριμένη περιοχή του pH, έχει αναφερθεί η βέλτιστη ενεργότητα της αμυλάσης στην τσιπούρα (pH 7-8) (Alarcon et al., 2001, Deguara et al., 2003, Munilla-Moran & Saborido-Rey, 1996a).

Συγκρίνοντας τις τιμές της απορρόφησης στις 8 ώρες σε σχέση με τις 6 ώρες παρατηρήθηκε ότι η απορρόφηση είχε τάση αύξησης με το χρόνο μετά την παροχή του γεύματος στο κυρίως τμήμα του εντέρου της τσιπούρας. Έχει αναφερθεί αύξηση της πεπτικότητας αμύλου με το χρόνο μετά τη λήψη του σιτηρεσίου στο ίδιο τμήμα του εντέρου στον κυπρίνο, *Cyprinus carpio* (Hernandez et al., 1994).

Στο λαυράκι υψηλή τιμή απορρόφησης παρατηρήθηκε μόνο στο οπίσθιο τμήμα του εντέρου των ιχθύων που διετράφησαν με το σιτηρέσιο μάρτυρα, 8 ώρες μετά την παροχή του γεύματος. Παρόλο που οι τιμές του pH στο κυρίως και οπίσθιο τμήμα ήταν παρόμοιες με την τσιπούρα, εντούτοις οι τιμές απορρόφησης του αμύλου ήταν αρκετά μειωμένες. Στις 6 και 8 ώρες δειγματοληψίας βρέθηκε η μισή περίπου ποσότητα τροφής στο μεσαίο τμήμα του λαυρακιού σε σχέση με την τσιπούρα, ενώ στο οπίσθιο η ποσότητα ήταν αρκετά χαμηλότερη (δεν ξεπερνούσε το 6%). Το γεγονός αυτό εξηγεί και τις πολύ χαμηλές τιμές απορρόφησης αμύλου στο λαυράκι (πολύ χαμηλότερες από αυτές που μετρήθηκαν στο πείραμα της πεπτικότητας). Λόγω της ελάχιστης ποσότητας τροφής στο οπίσθιο τμήμα, η σχετική συμμετοχή ενδογενών εκκρίσεων που μειώνουν τη φαινόμενη πεπτικότητα ήταν σημαντικά αυξημένη. Δειγματοληψία σε μεταγενέστερο χρόνο ήταν συνεπώς αναγκαία για την ακριβή μέτρηση της απορρόφησης στο οπίσθιο τμήμα του εντέρου.

Χαρακτηριστικά πέψης

Οι περισσότερες ιχθυοτροφές περιέχουν σημαντικά χαμηλότερη ποσότητα νερού σε σύγκριση με τις φυσικές τροφές (10% με 70-80% αντίστοιχα) (Jobling, 1986, Kristiansen & Rankin, 2001). Ως αποτέλεσμα, η κατανάλωση ξηρών τροφών ενδέχεται να προκαλέσει φυσιολογική καταπόνηση στο γαστρεντερικό σωλήνα, καθώς έχει προσαρμοστεί εξελικτικά στην αντιμετώπιση μεγάλων ποσοτήτων νερού στις φυσικές τροφές (Bucking & Wood, 2006, Buddington et al., 1997). Επομένως, το στομάχι των ιχθύων συγκρατεί το περιεχόμενό του έως το 'φυσικό βαθμό υγροποίησης' με καθυστέρηση στη γαστρική εκκένωση, όπου παρατηρείται κατανάλωση νερού κατά τη διάρκεια καθώς και μετά τη λήψη τροφής (Bucking & Wood, 2006, Kristiansen & Rankin, 2001, Ruohonen et al., 1997). Σύμφωνα με τους Kristiansen & Rankin, (2001), η τροφή παρέμεινε στο στομάχι έως 1 ώρα μετά τη λήψη του σιτηρεσίου στην

πέστροφα *Oncorhynchus mykiss* πιθανώς για την απαραίτητη υγροποίησή της. Στην παρούσα μελέτη, δεν πραγματοποιήθηκε δειγματοληψία νωρίτερα από τις 2 ώρες όπου η γαστρική εκκένωση είχε ήδη ξεκινήσει. Η υγρασία του στομάχου και στα δύο είδη της παρούσας μελέτης στις 2 ώρες ήταν τετραπλάσια της υγρασίας του σιτηρεσίου και το μέγιστο ποσοστό της υγρασίας του στομάχου έφθασε το 71-77% έως τις 6 ώρες μετά το γεύμα. Κατά τους Kristiansen & Rankin, (2001), από το παραπάνω ποσοστό το 35% περίπου προέρχεται από κατάποση νερού, ενώ το υπόλοιπο (~45%) οφείλεται σε γαστρικές εκκρίσεις. Παρόμοια τιμή (65%) περιεκτικότητας του νερού βρέθηκε και σε πέστροφα (*Oncorhynchus mykiss* Walbaum) έπειτα από την κατανάλωση ενός γεύματος εμπορικού σιτηρεσίου (Bucking & Wood, 2006).

Η προσθήκη ΦΣΧ στο σιτηρέσιο προκάλεσε υψηλότερη ενυδάτωση του στομάχου και στα δύο είδη ιχθύων, με υψηλότερη στο λαυράκι. Εργαστηριακές μετρήσεις έδειξαν ότι μετά από μία ώρα εμβάπτισης στο θαλασσινό νερό το ποσοστό της υγρασίας ενώ ήταν μεγαλύτερο στο σιτηρέσιο Χ, 47% έναντι 42% στο σιτηρέσιο C, στις δύο ώρες το ποσοστό δεν διέφερε μεταξύ των σιτηρεσίων και έφτασε το 50%. Συνεπώς, η υψηλότερη ενυδάτωση δεν οφείλεται στη διαφορετική σύνθεση των σιτηρεσίων. Όλα τα τμήματα του εντέρου και στα δύο είδη περιείχαν 80-85% υγρασία, σε συμφωνία με τα αποτελέσματα των Bucking & Wood (2006), στα εντερικά τμήματα της πέστροφας (*Oncorhynchus mykiss*). Επίσης, σε κάθε χρόνο η ενυδάτωση του εντέρου ήταν μεγαλύτερη από αυτή του στομάχου, σε συμφωνία με την παραπάνω μελέτη.

Ο χρόνος δεν επηρέασε την ενυδάτωση των εντερικών τμημάτων της τσιπούρας. Στα λαυράκια η επίδραση του χρόνου στο πρόσθιο τμήμα οφείλεται στη μείωση της τιμής στις 24 ώρες. Έως τις 12 ώρες ο χρόνος δεν είχε καμία επίδραση. Η ενυδάτωση στο κυρίως και οπίσθιο τμήμα ήταν υψηλότερη στην τσιπούρα σε σχέση με το λαυράκι δείχνοντας ότι δεν είναι όμοιο το ποσοστό ενυδάτωσης των εντερικών τμημάτων στα δύο είδη. Στο οπίσθιο τμήμα η ενυδάτωση στις 10 ώρες μετά την παροχή του γεύματος ήταν 87-88% στην τσιπούρα, ενώ στο λαυράκι έφθανε το 74-82%, γεγονός που εξηγεί την παρατηρούμενη ευθραυστότητα των περιττωμάτων τσιπούρας που συλλέγονται με τη μέθοδο της φαινόμενης πεπτικότητας.

Οι τιμές του pH του στομάχου των δύο ειδών στην παρούσα μελέτη ήταν παρόμοιες με τις τιμές που έχουν ήδη αναφερθεί για την τσιπούρα (Deguara et al., 2003) και το λαυράκι (Eshel et al., 1993). Οι υψηλές αρχικές τιμές οφείλονται στην κατάποση νερού και τροφής, η οποία συνήθως είναι αλκαλική (Alarcon et al., 1998)

με σκοπό την αραιώση ή ρύθμιση των μικρών ποσοτήτων γαστρικών υγρών που υπάρχουν στο στομάχι (Papastamatiou et al., 2007). Οι τιμές αυτές είναι υψηλότερες του βέλτιστου για τη δράση της πεψίνης και χαμηλότερες για τη δράση της θρυψίνης και αμυλάσης, επιβεβαιώνοντας ότι η βασική πέψη και απορρόφηση πραγματοποιείται στο έντερο. Το pH του στομάχου κατά τη διάρκεια της πέψης μειώνεται ελαφρώς με το χρόνο καθώς εκκρίνεται υδροχλωρικό οξύ (Alarcon et al., 1998, Deguara et al., 2003). Στο λαυράκι, η προσθήκη ΦΣΧ μείωσε τις τιμές του pH του στομάχου (έως τις 12 ώρες) με στατιστικά σημαντική διαφορά σε σχέση με το σιτηρέσιο μάρτυρα για κάθε χρόνο μετά την λήψη του σιτηρεσίου παρόλο που οι τιμές του pH των σιτηρεσίων ήταν παρόμοιες (6,50 για το σιτηρέσιο C και 6,35 για το σιτηρέσιο X). Συγκρίνοντας την κλίση των γραμμικών γραφικών παραστάσεων έως τις 12 ώρες μετά την λήψη του σιτηρεσίου παρατηρήθηκε ότι και στα δύο είδη δεν υπήρξε στατιστικά σημαντική διαφορά μεταξύ των κλίσεων. Το γεγονός αυτό οδηγεί στο συμπέρασμα ότι πιθανώς η ρυθμιστική ικανότητα του φύτρου σπέρματος χαρουπιού δε διαφέρει από αυτήν του τμήματος του σιτηρεσίου που αντικατέστησε.

Οι τιμές του pH των τμημάτων του εντέρου και στα δύο είδη αυξάνονταν καθώς προχωρούσε η τροφή από το στομάχι στο έντερο. Στο πρόσθιο τμήμα οι τιμές από όξινες που ήταν στο στομάχι εξουδετερώνονται φθάνοντας στην τιμή 7,0-7,8. Καθώς το εντερικό περιεχόμενο προχωρά στο κυρίως τμήμα το pH αυξάνεται στην τιμή 8,0-8,2 και παρέμεινε σταθερό στο οπίσθιο τμήμα. Έχει αναφερθεί ότι καθώς το όξινο στομαχικό περιεχόμενο εισέρχεται στο πρόσθιο τμήμα, το pH αυξάνεται λόγω των καρβονικών αλάτων (Alarcon et al., 1998, Deguara et al., 2003, Munilla-Moran & Saborido-Rey, 1996b) που εκκρίνονται στο εντερικό περιεχόμενο. Ο ρόλος των πυλωρικών τυφλών έχει αναφερθεί να σχετίζεται με την ανάγκη να συγκρατηθεί η τροφή για την εξουδετέρωση της όξινης έκκρισης (Alarcon et al., 1998). Παρόμοιες τιμές στα τμήματα του εντέρου έχουν αναφερθεί για την τσιπούρα (Deguara et al., 2003).

Το σιτηρέσιο που περιείχε ΦΣΧ αύξησε την τιμή του pH του πρόσθιου τμήματος και στα δύο είδη με ισχυρότερη την επίδραση στην τσιπούρα, ενώ και τα δύο σιτηρέσια είχαν υψηλότερες τιμές στο λαυράκι. Από τα αποτελέσματα παρατηρείται ότι ενώ οι τιμές του pH στο γαστρικό περιεχόμενο του λαυρακιού ήταν πιο όξινες από την τσιπούρα, στο έντερο βρέθηκε ότι το pH ήταν πιο αλκαλικό. Αυτό υποδεικνύει ότι στο λαυράκι εκκρίνονται μεγαλύτερες ποσότητες όξινων ανθρακικών ιόντων. Η έκκριση των όξινων ανθρακικών ιόντων συνοδεύεται και με

απορρόφηση του νερού από το έντερο (Wilson & Grosell, 2003), γεγονός στο οποίο πιθανώς να οφείλεται η μειωμένη υγρασία και το πιο αλκαλικό εντερικό περιεχόμενο του λαυρακιού σε σχέση με την τσιπούρα.

Χρόνος γαστρικής εκκένωσης

Οι παράγοντες από τους οποίους εξαρτάται ο χρόνος γαστρικής εκκένωσης των ιχθύων καθώς και τα μοντέλα που περιγράφουν τη γαστρική εκκένωση σε σχέση με τον χρόνο μετά το γεύμα, έχουν αναφερθεί στο προηγούμενο κεφάλαιο (4.4).

Στην παρούσα μελέτη το μοντέλο που περιέγραψε καλύτερα τη γαστρική εκκένωση και στα δύο είδη, δίνοντας υψηλές τιμές του συντελεστή συσχέτισης ήταν το εκθετικό. Το μοντέλο αυτό δείχνει ότι η γαστρική εκκένωση είναι ταχύτερη αρχικά ενώ στη συνέχεια επιβραδύνεται καθώς μειώνεται η πληρότητα του στομάχου (Bromley, 1987, Persson, 1986, Riche et al., 2004). Το εκθετικό μοντέλο έχει αναφερθεί ότι περιγράφει καλύτερα τον ΧΓΕ στην τσιπούρα που διατράφηκε με εμπορικό σιτηρέσιο σε μορφή συμπιέκτων (Andrade et al., 1996).

Σημαντικές διαφορές στο χρόνο γαστρικής εκκένωσης παρατηρήθηκαν μεταξύ των δύο ειδών και για τα δύο σιτηρέσια. Η αιτία αυτής της διαφοράς δεν είναι γνωστή. Πιθανόν, η μεγαλύτερη ενυδάτωση του εντερικού περιεχομένου της τσιπούρας διευκόλυνε την εκκένωση από το γαστρεντερικό σωλήνα. Ο ρυθμός γαστρικής εκκένωσης επηρεάζει την πέψη και απορρόφηση των θρεπτικών συστατικών από το έντερο, καθώς ταχύτερος χρόνος εκκένωσης μειώνει το χρόνο υδρόλυσης των θρεπτικών συστατικών από τα πεπτικά ένζυμα και επομένως μειώνει την απορρόφησή τους. Παρόλα αυτά οι τιμές πεπτικότητας των θρεπτικών συστατικών που βρέθηκαν στην τσιπούρα υποδεικνύουν αυξημένη ενεργότητα των πεπτικών ενζύμων στην τσιπούρα από το λαυράκι. Έχουν αναφερθεί διαφορές στην ενεργότητα πεπτικών ενζύμων μεταξύ σαρκοφάγων ειδών. Μεγαλύτερες τιμές ενεργότητας πρωτεασών και λιπάσης έχει βρεθεί για την πέστροφα (*Oncorhynchus mykiss*) σε σχέση με τον Αδριατικό οξύρυγχο (*Acipenser naccarii*) (Furnè et al., 2005). Ο μεγαλύτερος όμως χρόνος γαστρικής εκκένωσης στον οξύρυγχο, στην παραπάνω μελέτη, είχε ως αποτέλεσμα τον περισσότερο χρόνο επαφής με τα πεπτικά ένζυμα αντισταθμίζοντας τη μειωμένη ενεργότητα των ενζύμων.

Έχει αναφερθεί ότι χημικές διαφορές μεταξύ των σιτηρεσίων επηρεάζουν τον ΧΓΕ (De Silva & Owoyemi, 1983). Στην τσιπούρα η ταχύτερη εκκένωση του στομάχου από το σιτηρέσιο C σε σχέση με το σιτηρέσιο X μπορεί να οφείλεται στο γεγονός ότι

τα σιτηρέσια είχαν παρασκευασθεί στο εργαστήριο και δεν ήταν εξωθημένα. Επίσης, η συνεκτικότητα του σιτηρεσίου Χ λόγω της προσθήκης ΦΣΧ, αύξησε το χρόνο γαστρικής εκκένωσης. Θα είχαμε περισσότερες πληροφορίες αν είχε πραγματοποιηθεί δειγματοληψία μεταξύ 0-2 ώρες μετά την παροχή του γεύματος, καθώς μεγάλο ποσοστό του σιτηρεσίου C είχε ήδη απομακρυνθεί από το στομάχι έως τις 2 ώρες. Περαιτέρω διερεύνηση θα βοηθούσε για τη διεξαγωγή ασφαλών συμπερασμάτων.

Συμπερασματικά, η επίδραση της χρήσης ΦΣΧ στην πεπτικότητα των θρεπτικών συστατικών διέφερε μεταξύ τσιπούρας και λαυρακιού. Τα αποτελέσματα της παρούσας έρευνας δείχνουν ότι ακόμα και συγγενή είδη ιχθύων ανταποκρίνονται διαφορετικά στην προσθήκη φυτικών πρώτων υλών στα σιτηρέσια. Επομένως, η δυνατότητα χρήσης φυτικών υλών στις ιχθυοτροφές πρέπει να εκτιμάται για κάθε ενδιαφερόμενο είδος και όχι για όλα τα είδη ιχθύων γενικότερα.

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 7

ΓΕΝΙΚΗ ΣΥΖΗΤΗΣΗ

Αντικείμενο της παρούσας εργασίας ήταν να μελετήσει την επίδραση στην πεπτικότητα των θρεπτικών συστατικών και στα χαρακτηριστικά πέψης, της χρήσης κτηνοτροφικού μπιζελιού και ρεβυθιού, καθώς και του φύτρου σπέρματος χαρουπιού ως συστατικά σιτηρεσιών για την τσιπούρα (*Sparus aurata*) και το λαυράκι (*Dicentrarchus labrax*).

Η περιεκτικότητα των σπερμάτων μπιζελιού και ρεβυθιού σε πρωτεΐνη δεν είναι υψηλή σε σχέση με τις διατροφικές απαιτήσεις των ιχθύων. Εντούτοις, είναι πολλά υποσχόμενα ως υποψήφια υποκατάστατα του ιχθυαλεύρου και του σογιάλευρου, καθώς τα τελευταία αποτελούν μη συμφέρουσες πρώτες ύλες ιχθυοτροφών. Επίσης, το υψηλό ποσοστό των περιεχόμενων πεπτών υδατανθράκων δύναται να υποκαταστήσει τις ήδη χρησιμοποιούμενες πηγές ενέργειας όπως το ζελατινοποιημένο άμυλο και το σίτο, του οποίου η τιμή παρουσιάζει διακυμάνσεις.

Εκτός από το κτηνοτροφικό μπιζέλι και ρεβύθι χρησιμοποιήθηκε και το φύτρο σπέρματος χαρουπιού, του οποίου η καλλιέργεια είναι εκτεταμένη στις Μεσογειακές χώρες. Το προϊόν αυτό έχει υψηλότερη περιεκτικότητα πρωτεϊνών, από το κτηνοτροφικό μπιζέλι και ρεβύθι. Υπάρχει όμως περιορισμένη έρευνα για την κατάλληλότητα του ως συστατικό ιχθυοτροφών.

Πεπτικότητα θρεπτικών συστατικών

Η πεπτικότητα αποτελεί την πρώτη παράμετρο που μελετάται για τον χαρακτηρισμό της καταλληλότητας μιας πρώτης ύλης ως συστατικό ιχθυοτροφών. Η πεπτικότητα των πρωτεϊνών και των λιπών στην τσιπούρα που διατράφηκε με σιτηρέσια που περιείχαν επεξεργασμένα και μη σπέρματα κτηνοτροφικού μπιζελιού και ρεβυθιού ήταν υψηλή. Σημαντικές διαφορές παρατηρήθηκαν στην πεπτικότητα του αμύλου όπου τα μη επεξεργασμένα σπέρματα ψυχανθών είχαν σημαντικά χαμηλότερη πεπτικότητα αμύλου από τα εξωθημένα. Αυτό οφείλεται στη δομή του αμύλου των σπερμάτων ψυχανθών, όπως αναφέρθηκε στο κεφάλαιο 3 (Fredriksson et al., 1998, Huang et al., 2007, Stone et al., 2003). Η αποφλοιώση μείωσε την πεπτικότητα των πρωτεϊνών και των λιπών. Η πεπτικότητα των λιπών βρέθηκε ότι μειώνεται με την αύξηση του ποσοστού του άπεπτου αμύλου (Fountoulaki et al., 2005). Αντιθέτως, η εξώθηση βελτίωσε την πεπτικότητα των θρεπτικών συστατικών και ιδιαίτερα του αμύλου. Επομένως, εφόσον η επεξεργασία του σιτηρεσιού

περιλαμβάνει εξώθηση, η επεξεργασία των σπερμάτων ψυχανθών με αποφλοιώση δεν ενδείκνυται (Davis et al., 2002).

Τα σιτηρέσια που χρησιμοποιήθηκαν για τον προσδιορισμό της πεπτικότητας των θρεπτικών συστατικών στο λαυράκι περιείχαν παρόμοιο ποσοστό σπερμάτων ψυχανθών με αυτά της τσιπούρας. Η επεξεργασία τους όμως διέφερε καθώς ολόκληρο το σιτηρέσιο είχε επεξεργασθεί με εξώθηση και όχι μόνο οι πρώτες ύλες. Οι τιμές πεπτικότητας των θρεπτικών συστατικών ήταν υψηλές. Επίσης, η προσθήκη και άλλης φυτικής πρώτης ύλης (του ηλιαλεύρου) σε εμπορικά σιτηρέσια που περιείχαν σπέρματα ψυχανθών έδωσε υψηλές τιμές πεπτικότητας των θρεπτικών συστατικών. Συγκρίνοντας τα πειράματα στην τσιπούρα και στο λαυράκι παρατηρήθηκε διαφορετική ικανότητα πέψης των θρεπτικών συστατικών μεταξύ των δύο ειδών.

Οι τιμές πεπτικότητας των πρωτεϊνών και των λιπών στο λαυράκι, με την προσθήκη φύτρου σπέρματος χαρουπιού στο σιτηρέσιο ήταν υψηλές. Σε σύγκριση με την τσιπούρα, το λαυράκι φαίνεται πιο ευαίσθητο στους αντιθρεπτικούς παράγοντες που περιέχονται στο φύτρο σπέρματος χαρουπιού. Επίσης, οι πολύ χαμηλές τιμές πεπτικότητας του αμύλου στο λαυράκι επιβεβαιώνουν την διαφορετική ικανότητα πέψης του αμύλου μεταξύ των δύο ειδών που παρατηρήθηκε και στα δύο προηγούμενα πειράματα πεπτικότητας.

Γενικότερα, η προσθήκη κτηνοτροφικών σπερμάτων μπιζελιού και ρεβυθιού, καθώς και φύτρου σπέρματος χαρουπιού δε διαφοροποίησε σημαντικά την πεπτικότητα των θρεπτικών συστατικών. Συγκρίνοντας όμως τα δύο είδη ιχθύων, παρατηρήθηκαν σημαντικές διαφορές στην πεπτικότητα των θρεπτικών συστατικών και τα χαρακτηριστικά πέψης. Το λαυράκι έδειξε να πέπει καλύτερα τις πρωτεΐνες και τα λίπη από την τσιπούρα. Αντιθέτως, η τσιπούρα έδειξε μεγαλύτερη ικανότητα πέψης του αμύλου. Το γεγονός αυτό εξηγείται, καθώς τα δύο είδη παρουσιάζουν διαφορετικές διατροφικές συνήθειες (Costa, 1988, Leaute, 1986, Rosecchi, 1987, Wassef & Eisawy, 1985), όπως αναφέρθηκε στο Κεφάλαιο 6. Μελλοντικά πειράματα αύξησης στα δύο αυτά είδη θα έδειχναν αν η παρουσία των αντιθρεπτικών παραγόντων που περιέχονται στις φυτικές πρώτες ύλες έχει επίδραση στην αύξηση.

Ενζυμική ενεργότητα

Η ενεργότητα των πεπτικών ενζύμων, α-αμυλάσης και θρυψίνης, στο εντερικό περιεχόμενο του λαυρακιού έδειξε ότι επηρεάζεται από το χρόνο μετά την παροχή του γεύματος, όπως έχει παρατηρηθεί και σε άλλα είδη ιχθύων (Venou et al., 2003, Takii et al., 1985, Uys et al., 1987). Αντιθέτως, η ενεργότητα των πεπτικών ενζύμων

(αμυλάσης, θρυψίνης, λιπάσης και μαλτάσης) στον εντερικό ιστό δεν επηρεάστηκε από το χρόνο. Κύρια περιοχή δράσης της αμυλάσης και της μαλτάσης ήταν το κυρίως τμήμα του εντέρου (Krogdahl et al., 2003, Sabarathy & Teo, 1993). Η ενεργότητα της λιπάσης στο λαυράκι βρέθηκε υψηλή στην περιοχή των πυλωρικών τυφλών και στο κύριως τμήμα του εντέρου. Οι χαμηλές τιμές ενεργότητας της θρυψίνης που μετρήθηκαν στην περιοχή των πυλωρικών τυφλών, σε σχέση με αυτές στο εντερικό περιεχόμενο υποδεικνύουν, όπως αναφέρθηκε στο Κεφάλαιο 4, ότι στο λαυράκι η υδρόλυση των πρωτεϊνών από τη θρυψίνη λαμβάνει χώρα κυρίως στον εντερικό αυλό. Επιπλέον, πιθανώς στις 6 ώρες μετά την παροχή του γεύματος, όπου μετρήθηκε η ενεργότητα της θρυψίνης, να είχε ήδη εκκριθεί στο εντερικό περιεχόμενο (Murashita et al., 2007). Μελέτη της ενεργότητας της θρυψίνης στα τμήματα του εντερικού ιστού του λαυρακιού σε περισσότερες ώρες πριν και μετά την παροχή του γεύματος σε μελλοντική εργασία, θα προσφέρει περισσότερες πληροφορίες για τον τρόπο δράσης της θρυψίνης στο λαυράκι.

Τέλος, πιθανή επίδραση των ταννινών στα πεπτικά ένζυμα θα μπορούσε να μελετηθεί με σιτηρέσια που περιέχουν φύτρο σπέρματος χαρουπιού στην τσιπούρα και στο λαυράκι.

Γαστρική εκκένωση

Το εκθετικό μοντέλο περιέγραψε καλύτερα τη γαστρική εκκένωση για όλα τα σιτηρέσια που μελετήθηκαν στην παρούσα μελέτη και στα δύο είδη ιχθύων. Το μοντέλο αυτό δείχνει ότι η γαστρική εκκένωση είναι ταχύτερη αρχικά ενώ στη συνέχεια επιβραδύνεται καθώς μειώνεται η πληρότητα του στομάχου (Bromley, 1987, Riche et al., 2004). Η προσθήκη σπερμάτων ψυχανθών στα εξωθημένα σιτηρέσια στο λαυράκι μείωσε το χρόνο γαστρικής εκκένωσης σε σχέση με το σιτηρέσιο που περιείχε το μεγαλύτερο ποσοστό άλευρο σίτου. Το εξωθημένο άλευρο σίτου βρέθηκε ότι πέπτεται πιο αργά στο λαυράκι, όπως έχει βρεθεί και στην τσιπούρα (Venou et al., 2003). Επίσης, όπως αναφέρθηκε στο Κεφάλαιο 4, ο κύριος λόγος επιτάχυνσης της πέψης στα σιτηρέσια αυτά οφειλόταν κατά κύριο λόγο στους άπειπους υδατάνθρακες που αυτά περιείχαν (Spannhof & Plantikow, 1983, Storebakken, 1985).

Σημαντικές διαφορές στο χρόνο γαστρικής εκκένωσης παρατηρήθηκαν μεταξύ της τσιπούρας και του λαυρακιού όταν διετράφησαν με μη εξωθημένα σιτηρέσια. Αξιοσημείωτο είναι το γεγονός ότι, παρόλο που ο χρόνος για την εκκένωση από το γαστρεντερικό σωλήνα της τσιπούρας ήταν πολύ πιο σύντομος από αυτή του λαυρακιού, δεν παρατηρήθηκαν σημαντικές διαφορές στην πεπτικότητα των

θρεπτικών συστατικών. Όπως αναφέρθηκε στο Κεφάλαιο 6, αυτό υποδεικνύει ότι στην τσιπούρα η αυξημένη ενεργότητα των πεπτικών ενζύμων αντισταθμίζει το μειωμένο χρόνο παραμονής στο γαστρεντερικό σωλήνα. Σε αυτό συνηγορεί το ότι έχουν αναφερθεί διαφορές στις τιμές ενεργότητας πεπτικών ενζύμων μεταξύ σαρκοφάγων ειδών (Furne et al., 2005). Πιο αξιόπιστη απάντηση θα έδιναν συγκριτικές μελέτες της ενεργότητας των πεπτικών ενζύμων στα δύο είδη.

Χαρακτηριστικά πέψης

Οι διαθέσιμες ποσότητες δειγμάτων για τον προσδιορισμό της απορρόφησης των θρεπτικών συστατικών από τα τμήματα του εντέρου ήταν σχετικά μικρές και χρειάζεται περισσότερη μελέτη για τη διεξαγωγή πιο αξιόπιστων συμπερασμάτων. Η απορρόφηση των πρωτεϊνών βρέθηκε υψηλή στο οπίσθιο τμήμα και στα δύο είδη. Αντιθέτως, παρατηρήθηκαν σημαντικές διαφορές στην απορρόφηση του αμύλου. Στο λαυράκι οι τιμές ήταν σημαντικά χαμηλότερες σε όλα σχεδόν τα τμήματα του εντέρου και στα δύο σιτηρέσια σε σχέση με την τσιπούρα. Οι διαφορές αυτές οφείλονταν στο μικρότερο ποσοστό των υπολειμμάτων τροφής που περιείχονταν στα τμήματα του εντέρου του λαυρακιού στις ώρες που πραγματοποιήθηκε η δειγματοληψία. Για πιο αξιόπιστα αποτελέσματα, περαιτέρω μελέτη είναι απαραίτητη με την πραγματοποίηση δειγματοληψίας σε μεταγενέστερο χρόνο στο λαυράκι ώστε να περιέχεται μεγαλύτερο ποσοστό υπολειμμάτων τροφής στον εντερικό σωλήνα.

Η προσθήκη κτηνοτροφικού μπιζελιού και ρεβυθιού δεν επηρέασε την ενυδάτωση του στομαχικού περιεχομένου. Αντίθετα, η προσθήκη φύτρου σπέρματος χαρουπιού αύξησε την ενυδάτωση του στομάχου και στα δύο είδη ιχθύων. Το γεγονός αυτό δεν οφείλεται στη διαφορετική ενυδάτωση των σύμψηκτων του σιτηρεσίου που περιείχε φύτρο σπέρματος χαρουπιού σε σχέση με το σιτηρέσιο μάρτυρα. Ο λόγος δεν είναι γνωστός και περαιτέρω διερεύνηση είναι απαραίτητη. Στο οπίσθιο τμήμα της τσιπούρας η ενυδάτωση ήταν υψηλότερη από αυτή του λαυρακιού εξηγώντας και την μεγαλύτερη ευθραυστότητα των περιττωμάτων της τσιπούρας.

Το pH του στομαχικού περιεχομένου επηρεάστηκε από την προσθήκη των κτηνοτροφικών σπερμάτων ψυχανθών σε σχέση με τα σιτηρέσια που περιείχαν ιχθυάλευρο. Το γεγονός αυτό οφείλεται στη μεγαλύτερη ρυθμιστική ικανότητα του ιχθυαλεύρου (Taylor & Grossell, 2006). Η προσθήκη φύτρου σπέρματος χαρουπιού αύξησε τις τιμές του pH του στομαχικού περιεχομένου στο λαυράκι, ενώ αύξησε τις τιμές του pH στο πρόσθιο και στο κυρίως τμήμα του εντέρου στην τσιπούρα.

Αξιοσημείωτο είναι το γεγονός ότι ενώ τιμές του pH στο γαστρικό περιεχόμενο του λαυρακιού ήταν πιο όξινες από την τσιπούρα, στο έντερο βρέθηκε το pH πιο αλκαλικό. Αυτό πιθανώς δείχνει ότι στο λαυράκι εκκρίνονται μεγαλύτερες ποσότητες όξινων ανθρακικών ιόντων (Taylor and Grosell, 2006). Περαιτέρω μελέτη της συμμετοχής του εντέρου στους μηχανισμούς ωσμορύθμισης των δύο ειδών θα παρουσίαζε ιδιαίτερο ενδιαφέρον.

Όλα τα παραπάνω οδηγούν στο συμπέρασμα, ότι είναι δυνατή η χρήση φυτικών υλών στα επίπεδα που προστέθηκαν στα σιτηρέσια για τσιπούρα και λαυράκι. Η επεξεργασία των σιτηρεσίων με εξώθηση καθίσταται αναγκαία, καθώς βελτιώνει την πεπτικότητα των θρεπτικών συστατικών. Η αύξηση της διαθεσιμότητας των υδατανθράκων έπειτα από εξώθηση, καθιστά τους υδατάνθρακες των φυτικών πρώτων υλών οικονομική πηγή ενέργειας εξοικονομώντας έτσι τα αμινοξέα από καταβολικές διαδικασίες για την παραγωγή ενέργειας τα οποία χρησιμοποιούνται για την αύξηση και διατήρηση του οργανισμού. Επιπλέον, κατεργασίες βελτίωσης της πεπτικότητας των πρωτεϊνών όπως με την προσθήκη ενζύμων με σκοπό τη μείωση των μη αμυλούχων πολυσακχαριτών, θα έδινε χρήσιμες πληροφορίες.

Σημαντική θα ήταν η μελλοντική προσθήκη σε σιτηρέσια για σαρκοφάγα είδη ιχθύων, σπερμάτων ψυχανθών με υψηλότερο πρωτεϊνικό περιεχόμενο από τις ποικιλίες που χρησιμοποιήθηκαν στην παρούσα διατριβή. Η δυνατότητα παραγωγής στο μέλλον οικονομικότερων προϊόντων συμπυκνωμάτων πρωτεΐνης από τα σπέρματα μπιζελιού και ρεβυθιού θα έδινε πρώτες ύλες με υψηλότερο πρωτεϊνικό περιεχόμενο.

Κατά την προσθήκη φυτικών υλών στα σιτηρέσια ο προσδιορισμός του ιξώδους του εντερικού περιεχομένου και της περιεκτικότητας των χολικών οξέων θα έδινε σημαντικές πληροφορίες όσον αφορά την πεπτικότητα των θρεπτικών συστατικών και ιδιαίτερα των λιπών στα δύο αυτά είδη. Επίσης, η απορρόφηση των θρεπτικών συστατικών κατά μήκος του γαστρεντερικού σωλήνα στα δύο είδη σε συνδυασμό με το χρόνο μετά την παροχή του γεύματος χρήζει περαιτέρω έρευνας καθώς δεν προκύπτουν επαρκή συμπεράσματα. Παράλληλα, οι μεταβολές στα επίπεδα των αποθηκευμένων πεπτικών ενζύμων στο πρόσθιο τμήμα του εντέρου (πυλωρικά τυφλά) σε συνάρτηση με τον χρόνο μετά την παροχή του γεύματος στα δύο είδη θα παρουσίαζε ιδιαίτερο ενδιαφέρον.

D. Nikolopoulou, 2009.

Studies on the composition of legumes and carob seed germ meal and their effect on physiology and biochemistry of digestion of Mediterranean fish species.

ABSTRACT

A series of experiments were conducted in order to evaluate the effects of feeding sea bream (*Sparus aurata*) and sea bass (*Dicentrarchus labrax*) with diets containing grain legumes crude or processed and carob seed germ meal on the physiology and biochemistry of digestion. The use of plant meals as alternative ingredients in the production of cost-effective aquafeeds has been recognised worldwide as a need for sustainable aquaculture industry.

The nutritional and antinutritional composition of three varieties of field pea and chickpea in three locations for two years were firstly evaluated in order to obtain information on the effects of genetic and environmental factors. The effects of processing techniques, dehulling and extrusion, on their antinutritional composition were further estimated. The nutritional value of the crude or processed aforementioned legumes was initially evaluated with the determination of the apparent digestibility coefficients for protein, fat and starch in diets for sea bream. Furthermore, digestibility of nutrients, digestive enzyme activities (trypsin, amylase, lipase, maltase), gastric evacuation time, as well as stomach moisture content and pH, of extruded, experimental, semi-purified feeds containing different levels of the grain legumes for sea bass were evaluated. The nutritional value of carob seed germ meal inclusion in diets for sea bream and sea bass was also estimated by digestibility studies and digestive characteristics such as gastric evacuation time, moisture and pH of gastrointestinal segments.

The analysed nutrient and antinutrient composition of field peas and chickpeas indicated that environmental factors dominant on the cultivation areas during the two years had an effect on the protein content of these legumes. Dehulling did not increase the protein composition of chickpeas while extrusion had no effect on the antinutritional factors, tannins and phytic acid in both legumes.

Protein from the plant raw materials was well digested in both sea bream and sea bass and did not differ significantly from the control diets that contained fishmeal and soybeanmeal. Pea protein was more digestible than that of chickpea in sea bass. Lipid digestibility was not affected by the inclusion of plant ingredients and

had high values for all diets. Starch digestibility of the experimental diets that contained crude field peas and chickpeas was significantly lower than the control diets in sea bream, but with extrusion processing digestibility was significantly improved and did not differ from the control diets. In sea bass, the apparent digestibility values of starch were significantly lower for the diets containing field pea and chickpea in relation to the diets containing fishmeal and soybean meal even after extrusion with the exception of the diet containing field pea 15% which indicated slightly lower values.

Comparing the two species, apparent digestibility coefficients for protein and lipids were higher in sea bass than in sea bream, whereas starch was more digestible by sea bream.

Activities of α -amylase and trypsin in the intestinal content of sea bass were highest 2hrs after feeding for all diets and decreased thereafter as the stomach content decreased. However fish fed the diet containing 20% soybean meal retained higher trypsin activity values at 6 and 10hrs after feeding. Concerning digestive enzyme activities in the tissue of all intestinal segments, α -amylase and maltase exhibited highest values in the midgut and lowest in the rectum. Lipase activity was highest in the pyloric caeca and mid gut. Trypsin activity was only a small proportion compared to that found in the digestive fluid.

The addition of carob seed germ meal increased the stomach moisture content in both species, the highest being found in sea bass. No differences were found in the moisture content of the intestinal segments in both species except in the mid gut of sea bass. The moisture content in the rectum of sea bream was higher than that of sea bass.

The values of protein and starch absorption in the stomach of both species had negative values. In sea bass high values of protein absorption were observed from the anterior part of the intestine independent of diet composition whereas in sea bream the highest values were found in the midgut and rectum. Starch absorption was higher in sea bream than in sea bass in all three intestinal segments. At 6 and 8hrs after feeding about half of the digesta was found in the midgut of sea bass as compared to that of sea bream.

Fishmeal exhibited a better buffering capacity than field peas and chickpeas in diets fed to sea bass. Carob seed germ meal inclusion in the diet of the above species reduced the pH values in the stomach content at all post-prandial times in relation to

the control diet, which contained fishmeal. This was not observed in sea bream. The buffering capacity of carob seed germ meal did not differ from that of fishmeal in both species. As the digesta passed from the stomach to the anterior and middle intestine the pH increased and remained constant in the rectum.

The exponential model described best the gastric evacuation in sea bream and sea bass for all diets. Gastric evacuation time for the diets containing 30% field peas and chickpeas was lower than the diets containing fishmeal and soybean meal. Carob seed germ meal inclusion did not affect the gastric evacuation time when compared to the fishmeal diet but was different in each species. In sea bass, gastric emptying was significantly slower than in sea bream for both diets.

In conclusion, the digestive characteristics of sea bream and sea bass differed in their response to the inclusion of plant raw materials showing that the nutritional value of each tested ingredient must be evaluated for every species of interest.

- Abd El-Hady, E.A. and Habiba, R.A. (2003): Effect of soaking and extrusion conditions on antinutrients and protein digestibility of legume seeds. *Lebensm.-Wiss. U.-Technol.* 36, 285-293.
- Alarcon , F.J., Díaz, M., Moyano, F.J. and Abellán, E. (1998). Characterization and functional properties of digestive proteases in two sparids; gilthead sea bream (*Sparus aurata*) and common dentex (*Dentex dentex*). *Fish Physiology and Biochemistry*, 19, 257-267.
- Alarcon , F.J., Martínez, T.F., Díaz, M. and Moyano, F.J. (2001). Characterization of digestive carbohydrase activity in the gilthead sea bream (*Sparus aurata*). *Hydrobiologia*, 445, 199-204.
- Albro, P.W., Hall, R.D., Corbett, J.T. and Shroeder, J. (1985). Activation of non-specific lipase (EC 3.1.1. -) by bile salts. *Biochimica et Biophysica Acta*, 477-490.
- Alexis, M.A., Theochari, V. and Papaparaskeva-Papoutsoglou E. (1986): Effect of diet composition and protein level on growth, body composition, haematological characteristics and cost of production of rainbow trout (*Salmo gairdneri*), 58, 75-85.
- Alexis, M.A., Filioglou, M. and Theochari, V. (1988): Apparent digestibility measurements of feedsuffs having potential for use in rainbow trout diets. *Thalassographica*, 11/1, 19-26.
- Alexis, M.N. (1997). Fish meal and fish oil replacers in Mediterranean marine fish diets. *Cahiers Options Méditerranéennes*, Volume 22, pp. 183-201.
- Alexis, M.N. (2004). Protein and lipid sources. Workshop on "Recent advances on Mediterranean marine fish nutrition. Athens, 5-6 October.
- Αλέξη Μ. and Νέγκας, Ι. (2001). Χρησιμοποίηση προϊόντων σόγιας στη διατροφή τσιπούρας και λαυρακιού. Σημερινό επίπεδο γνώσης και ανάγκες για περαιτέρω μελέτη. American Soybean Association, Rue Du Luxenburg, 16b 1000 Brussels- Belgium, 32p.
- Al-Karaki, G.N., and Ereifej, K.I. (1999). Relationships between seed yield and chemical composition of field peas grown under semi-arid mediterranean conditions. *Journal of Agronomy & Crop Science*, 182, 279-284.
- Allan, G.L., Parkinson, S., Booth, M.A., Stone D.A.J., Rowland, S.J., Frances, J., Warner-Smith, R. (2000). Replacement of fish meal in diets for Australian silver perch, *Bidyanus bidyanus* I. Digestibility of alternative ingredients. *Aquaculture*, 186, 293-310.
- Allan, G.L. and Booth, M.A. (2004). Effects of extrusion processing on digestibility of peas, lupins, canola meal and soybean meal in silver perch *Bidyanus bidyanus* (Mitchell) diets. *Aquaculture Research*, 35, 981-991.
- Alliot, E. Febvre, A. and Metailler, R. (1974). Digestive proteases in a carnivorous teleost, *Dicentrarchus labrax*. *Ann. Biol. Anim. Biochem. Biophys.*, 14 (2), 229-237.

- Alonso, R., Orúe, E. and Marzo F. (1998): Effects of extrusion and conventional processing methods on protein and antinutritional factor contents in pea seeds. *Food Chemistry*, 63, No.4, 505-512.
- Alonso, R., Grant, G., Dewey, P. and Marzo, F. (2000a). Nutritional assessment in vitro and in vivo of raw and extruded peas (*Pisum sativum* L.). *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 48, 2286-2290.
- Alonso, R., Aguirre, A. and Marzo F. (2000b): Effects of extrusion and traditional processing methods on antinutrients and in vitro digestibility of protein and starch in faba and kidney beans. *Food Chemistry*, 68, 159-165.
- Amirkolaie, A.K., Leenhovens, J.I., Verreth, J.A.J. and Schrama, J. (2005). Type of dietary fibre (soluble versus insoluble) influences digestion, faeces characteristics and faecal waste production in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus* L.). *Aquaculture Research*, 36, 1157-1166.
- Amirkolaie, A.K., Verreth, J.A.J. and Schrama, J. (2006). Effect of gelatinization degree and inclusion level of dietary starch on the characteristics of digesta and faeces in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus* (L.)). *Aquaculture*, 260, 194-205.
- Anderson, R.L. and Wolf, W.J. (1995). Compositional changes in trypsin inhibitors, phytic acid, saponins and isoflavones related to soybean processing. *Journal of Nutrition*, 125, 581S-588S.
- Andrade, J.P., Erzini, K. and Palma, J. (1996). Gastric evacuation and feeding in the gilthead sea bream reared under semi-intensive conditions. *Aquaculture International*, 4, 129-141.
- A.F.R.I.S. (2004). Animal feed resources information system.
<http://www.fao.org/ag/aga/agap/frg/afri/afri/Data/214.htm>
- AOAC, (1998). Official methods of Analysis of AOAC international., 16th edition CD-ROM 3rd revision.
- Aquamedia (2007). <http://www.aquamedia.org>
- Arias A. (1976). Sobre la biología de la dorada, *Sparus aurata*, L., de Los esteros de la provincia de Cadiz. *Investigacion Pesquera*, 40, 201-222.
- Aslaksen, M.A., Kraugerud, O.F., Penn, M., Svinhus, B., Denstadli, V., Jørgensen, H.Y., Hillestad, M., Krogdahl, Å. And Storebakken, T. (2007). Screening of nutrient and intestinal pathologies in Atlantic salmon, *Salmo salar*, fed diets with legumes, oilseeds, or cereals. *Aquaculture*, 272, 541-555.
- Attia, R.S., El-Tabey-Shehata, A.M., Aman, M. E. and Hamza, M. A. (1994). Effect of cooking and decortication on the physical properties, the chemical composition and the nutritive value of chickpea (*Cicer arietinum* L.) *Food Chemistry*, 50(2), 125-131.

- Austreng, E. (1978). Digestibility determination in fish using chromic oxide marking and analysis of contents from different segments of the gastrointestinal tract. *Aquaculture*, 13, 265-272.
- Avallone, R., Plessi, M., Baraldi, M., and Monzani, A. (1997). Determination of Chemical Composition of Carob (*Ceratonia siliqua*): Protein, Fat, Carbohydrates, and Tannins. *Journal of Food Composition and Analysis*, 10, 166-172.
- Bach Knudsen, K.E. (1997). Carbohydrate and lignin contents of plant materials used in animal feeding. *Animal Feed Science and Technology*, 67, 319-338.
- Battle, I. and Tous, J. (1997). Carob Tree *Ceratonia siliqua* L. In. Promoting the conservation and use of underutilized and neglected crops. 17. International Plant Genetic Resources Institute.
- Bautista-Teruel, M.N., Eusebio, P.S. and Welsh, T. (2003). Utilisation of feed pea, *Pisum sativum* meal as a protein source in practical diets for juvenile shrimp, *Penaeus monodon*. *Aquaculture*, 225, 121-131.
- Becker, K. and Makkar, H.P.S. (1999). Effects of dietary tannic acid and quebracho tannin on growth performance and metabolic rates of common carp (*Cyprinus carp* L.). *Aquaculture*, 175, 327-335.
- Bengoechea C., Romero, A., Villanueva, A., Moreno, G., Alaiz, M., Millan, F., Guerrero, A. and Puppo, M.C. (2008). Composition and structure of carob (*Ceratonia siliqua* L.) germ proteins. *Food Chemistry*, 107, 675-683.
- Berger, J.D., Loss, S.P. and Siddique, K.H.M. (1999). Cool season grain legumes for Mediterranean environments: species x environment interaction in seed quality traits and anti-nutritional factors in the genus *Vicia*. *Australian Journal of Agricultural Research*, 50(3), 389-402.
- Bergot, F. and Breque, J. (1983). Digestibility of starch by rainbow trout: Effects of the physical state of starch and the intake level. *Aquaculture*, 34, 203-212.
- Bishnoi, S. and Khetarpaul, N. (1993). Variability in physico-chemical properties and nutrient composition of different pea cultivars. *Food Chemistry*, 47, 371-373.
- Black, R.G., Brouwer, J.B., Meares, C. and Iyer, L. (1998). Variation in physical-chemical properties of field peas (*Pisum sativum*). *Food Research International*, 31, No. 2, 81-86.
- Bolin, D.W., King, R.P. and Klosterman, W.W. (1952). A simplified method for the determination of chromic oxide (Cr_2O_3) when used as an inert substance. *Science*, 116, 634-635.
- Bond, D.A. and Smith, D.B. (1989). Possibilities for the reduction of antinutritional factors in grain legumes by breeding. In: *Recent Advances of Research in Antinutritional Factors in Grain Legume Seeds*, pp. 379-396. EAAP Publication No. 70. Wageningen Press, The Netherlands.

- Booth, M.A., Allan, G.L., Frances, J. and Parkinson, S. (2001). Replacement of fish meal in diets for Australian silver perch, *Bidyanus bidyanus* IV. Effects of dehulling and protein concentration on digestibility of grain legumes. *Aquaculture*, 196, 67-85.
- Borlongan I.G., Eusebio, P.S., Welsh, T. (2003). Potential of feed pea (*Pisum sativum*) meal as a protein source in practical diets for milkfish (*Chanos chanos* Forsskal). *Aquaculture*, 225, 89-98.
- Bowen, S.H. (1978). Chromic oxide in assimilation studies-a caution. *Transactions of the American Fisheries Society*, 107, 755-756.
- Brillouet, J.M., Rouau, X., Barry, J.L., Carré, B., Lorta, E. (1988): A new method for determination of insoluble cell walls and soluble non starchy polysaccharides from plant materials. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 36, 969-979.
- Bromley, P. J. and Adkins, T.C. (1984). The influence of cellulose filler on feeding, growth and utilization of protein and energy in rainbow trout, *Salmo gairdnerii* Richardson. *Journal of Fish Biology*, 24, 235-244.
- Bromley, P.J. (1987). The effect of food type, meal size and body weight on digestion and gastric evacuation in turbot, *Scophthalmus maximus* L. *Journal of Fish Biology*, 30, 501-512.
- Bromley, P.J. (1994). The role of gastric evacuation experiments in quantifying the feeding rates of predatory fish. *Reviews in Fish Biology and Fisheries*, 4, 36-66.
- Bucking, C. and Wood, C. M. (2006). Water dynamics in the digestive tract of the freshwater rainbow trout during the processing of a single meal. *The Journal of Experimental Biology*, 209, 1883-1893.
- Buddington, R.K., Krogdahl, A. and Bakke-Mckellep, A.M. (1997). The intestines of carnivorous fish: structure and functions and the relations with diet. *Acta Physiologica Scand Suppl.* 638, 67-80.
- Budini, R., Tonelli, D. and Girotti, S. (1980). Analysis of total phenols using the Prussian blue method. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 28, 1236-1238.
- Burel, C., Boujard T., Tulli F. and Kaushik S.J. (2000). Digestibility of extruded peas, extruded lupin, and rapessed meal in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) and turbot (*Psetta maxima*). *Aquaculture* 188, 285-298.
- Cahu, C.L. and Zambonino Infante, J.L. (1994). Early weaning of sea bass (*Dicentrarchus labrax*) larvae with a compound diet: effect of digestive enzymes. *Comp. Biochem. Physiol.*, 109A, No2, 213-222.
- Carter, C.G. and Hauler, R.C. (2000). Fish meal replacement by plant meals in extruded feeds for Atlantic salmon, *Salmo salar* L. *Aquaculture* 185, 299-311.
- Castell, A.G., Guenter, W. and Igbasan, F.A. (1996). Nutritive value of peas for nonruminant diets. *Animal Feed Science Technology*, 60, 209-227.

- Cataldi, E., Cataudella, S., Monaco, G., Rossi, A. and Tacioni, L. (1987). A study of the histology and morphology of the digestive tract of the sea-bream, *Sparus aurata* L. *Journal of Fish Biology*, 30, 135-145.
- Chakrabarti, I., Gani, Md.A., Chaki, K.K., Sur, R. and Misra, K.K., (1995). Digestive enzymes in 11 freshwater teleost fish species in relation to food habit and niche segregation. *Comparative Biochemistry and Physiology*, 112A, 167-177.
- Champ, M., Brillouet, J.M. and Rouau, X. (1986): Nonstarchy Polysaccharides of *Phaseolus vulgaris*, *Lens esculenta*, and *Cicer arietinum* seeds. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 34, 326-329.
- Cho, C.Y., Slinger, S.J. and Bayley, H.S. (1989). Bioenergetics of salmonid fishes: Energy intake, expenditure and productivity. *Comparative Biochemistry and Physiology*, 73B, no. 1, 25-41.
- Choct, M., Hughes, R.J., Wang, J., Bedford, M.R., Morgane, A.J. and Annison, G. (1995). Feed enzymes eliminate antinutritive effects of non-starch polysaccharides and modify fermentation in broilers. *Proceedings of the Australian Poultry Science Symposium*, 7, 121-125.
- Choct, M. and Kocher, A. (2000). Non-starch carbohydrates: Digestion and its secondary effects in monogastrics. 24th Annual Meeting of the Nutrition Society of Australia, 24, 31-38. <http://www.personal.une.edu.au>
- Cordesse, R., 1990. Value of chickpea as animal feed. *CIHEAM- Options Mediterraneennes*, 127-131.
- Coskuner Y. and Karababa E. (2003). Effect of location and soaking treatments on the cooking quality of some chickpea breeding lines. *International Journal of Food Science and Technology*, 38: 751-757.
- Costa, M.J. (1988). Ecologie alimentaire des poissons de l' estuaire de Tage. *Cybium*, 12, 301-320.
- Costa, G.E., Queiroz-Monici, K.S., Reis, S.M.P.M., Oliviera, A.C. (2006). Chemical composition, dietary fibre and resistant starch contents of raw and cooked pea, common bean, chickpea and lentil legumes. *Food Chemistry*, 94, 327-330.
- Cruz-Suarez, E.L., Ricque-Marie, D., Tapia-Salazar, M., McCallum, I.M. and Hickling, D. (2001). Assessment of differently processed feed pea (*Pisum sativum*) meals and canola meal (*Brassica* sp.) in diets for blue shrimp (*Litopenaeus stylirostris*). *Aquaculture* 196 (2001) 87-104.
- da Silva, J.G. and Olivia-Teles, A. (1998). Apparent digestibility coefficients of feedstuffs in sea bass (*Dicentrarchus labrax*) juveniles. *Aquatic Living Resources* 11(3), 187-191.
- Dabrowski K. and Dabrowska K. (1981): Digestion of protein by rainbow trout (*Salmo gairdneri* Rich.) and absorption of amino acids within the alimentary tract. *Comparative Biochemistry and Physiology*, Vol 69A, 99-111.

- Dakia, P.A., Wathelet, B and Paquot, M. (2007). Isolation and chemical evaluation of carob (*Ceratonia siliqua* L.) seed germ. *Food Chemistry*, 102, 1368-1374.
- Davis, D.A., Arnold, C.R., McCallum, I., 2002. Nutritional value of feed peas (*Pisum sativum*) in practical diet formulations for *Litopenaeus vannamei*. *Aquaculture Nutrition*, 8, 87-94.
- de la Higuera, M., Garcia-Gallego, M., Cardenete, G., Suarez, M.D., Moyano, F.J. (1988). Evaluation of lupin seed meals as an alternative protein source in feeding of rainbow trout (*Salmo gairdneri*). *Aquaculture*, 71, 37-50.
- De Silva, S.S. and Anderson, R.A. (1995). *Fish nutrition in Aquaculture*. 1st edition, Chapman and Hall Aquaculture. Series 1, Chapman and Hall, New York, NY (USA), pp. 338.
- De Silva, S.S. and Owoyemi, A.A. (1983). Effect of dietary quality on the gastric evacuation and intestinal passage in *Sarotherodon mossambicus* (Peters) fry. *Journal of Fish Biology*, 23, 347-355.
- Deguara, S., Jauncey, K. and Agiuss, C. (2003). Enzyme activities and pH variations in the digestive tract of gilthead sea bream. *Journal of Fish Biology*, 62, 1033-1043.
- Dos Santos, J. and Jobling, M. (1991). Factors affecting gastric evacuation in cod, *Gadus morhua* L., fed single-meals of natural prey. *Journal of Fish Biology*, 38, 697-713.
- Drouliskos, N.J. and Malefaki, V. (1980). Nutritional evaluation of the germ meal and its protein isolate obtained from the carob seed (*Ceratonia siliqua*) in the rat. *British Journal of Nutrition*, 43, 115-123.
- Duhan, A., Chauhan B.M., Darshan P. and Kapoor A.C. (1989). Phytic acid content of chickpea (*Cicer arietinum*) and Black Gram (*Vigna mungo*): Varietal differences and effect of domestic processing and cooking methods. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 49(4), 449-455.
- El-Adawy. (2002). Nutritional composition and antinutritional factors of chickpeas (*Cicer arietinum* L.) undergoing different cooking methods and germination. *Plant Foods for Human Nutrition* 57, 83-97.
- El-Neily, H.F.G. (2007). Effect of radiation processing on antinutrients, in-vitro protein digestibility and protein efficiency ratio bioassay of legume seeds. *Radiation Physics and Chemistry*, 76, 1050-1057.
- Elbal, M.T., García-Hernández, M.P., Lozano, M.T. and Agulleiro, B. (2004). Development of the digestive tract of gilthead sea bream (*Spaurs aurata* L.). Light and electron microscopic studies. *Aquaculture*, 234, 215-238.
- Engin, K. and Carter, C.G. (2005). Fish meal replacement by plant and animal by-products in diets for the Australian short-finned eel, *Anguilla australis australis* (Richardson). *Aquaculture Research*, 36, 445-454.

- Englyst, H.N. and Cummings, J.H. (1984) Simplified method for the measurement of total non-starch polysaccharides by gas-liquid chromatography of constituent sugars as alditol acetates. *Analyst*, 109, 937-942.
- Englyst, H.N., Quigley, M.E. and Hudson, G.J. (1994). Determination of dietary fibre as non-starch polysaccharides with gas-liquid chromatographic, high-performance liquid chromatographic or spectrophotometric measurement of constituent sugars. *Analyst*, 119, 1497-1507.
- Eshel, A., Lindner, P., Smirnoff, P., Newton, S. and Harpaz, S. (1993). Comparative study of proteolytic enzymes in the digestive tracts of the European sea bass and hybrid striped bass reared in freshwater. *Comparative Biochemistry and Physiology*, Vol. 106A., No.4, 627-634.
- Estevez A. M., Castillo E., Figuerola F., Yanez E. (1991). Effect of processing on some chemical and nutritional characteristics of pre-cooked and dehydrated legumes. *Plant Foods for Human Nutrition*, 41(3), 193-201.
- Fal'ge, R. and Shpankhof, L. (1976). Amylase, esterase and protease activity in the gut contents of the rainbow trout *Salmo gairdneri* after feeding. *Journal of Ichthyology*, 16, 672-677.
- Fange, R. and Grove, D. (1979). Digestion. In: Hoar, W.S., Randall, D.J. and rett, J.R. (Eds). *Fish Physiology*. Vol. VIII. Academic Press, New York, San Francisco, London, 161-260.
- FAO. (2004). Food and Agriculture Organization of the United Nations. FAOSTAT Agriculture database. <http://www.fao.org>
- Farrell D.J. and Mannion P.F. (1997). Final Report to Rural Industry RAD Council Egg Industry and Chicken Meat Programs, <http://www.rirdc.gov.au/reports/CME/DAQ-28E.doc>
- FEAP. (2007). The Federation of European Aquaculture Producers, <http://www.feap.info/feap>
- Fernandez, F., Miquel, A.G., Guinea, J. and Martinea, R. (1998). Digestion and digestibility in gilthead sea bream (*Sparus aurata*): the effect of diet composition and ration size. *Aquaculture*, 166, 67-84.
- Fernández, I., Moyano, F.J., Díaz, M. and Martínez, T. (2001). Characterization of α -amylase activity in five species of Mediterranean sparid fishes (Sparidae, Teleostei). *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 262, 1-12.
- Filioglou, M.D., Alexis, M.N. (1989). Protein digestibility and enzyme activity in the digestive tract of rainbow trout fed diets containing increasing levels of carob-seed germ meal. *Aquaculture-A Biotechnology in progress*. N. De Pauw, E. Jaspers, H. Ackefors, N. Wilkins (Eds). European Aquaculture Society, Bredene, Belgium, 839-843.

- Fontainhas-Fernandes, A., Gomes, E., Reis-Henriques, M.A. and Coimbra, J. (1999). Replacement of fish meal by plant proteins in the diet of Nile tilapia: digestibility and growth performance. *Aquaculture International*, 7, 57-67.
- Forster, I. (1999). A note on the method of calculating digestibility coefficients of nutrients provided by single ingredients to feeds of aquatic animals. *Aquaculture Nutrition*, 5, 143-145.
- Førde-Skjærvik, O., Refstie, S. Aslaksen, M. A. and Skrede A. (2006): Digestibility on diets containing different soybean meals in Atlantic cod (*Gadus morhua*), comparison of collection methods and mapping of digestibility in different sections of the gastrointestinal tract. *Aquaculture*, 241-258.
- Fountoulaki, E. (2004). Nutritional requirements of Mediterranean marine fish. Workshop on 'Recent advances on Mediterranean marine fish nutrition'. Athens, 5-6 October.
- Fountoulaki, E., Alexis, M.N., Nengas, I. and Venou, B. (2005). Effect of diet composition on nutrient digestibility and digestive enzyme levels of gilthead sea bream (*Sparus aurata* L.)
- 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.
- Fredriksson, H., Silverio, J., Andersson, R., Eliasson, A.C. and Aman P. (1998). The influence of amylase and amylopectin characteristics on gelatinization and retrogradation properties of different starches. *Carbohydrate Polymers* 35, 119-134.
- Furné, M., Hidalgo, M.C., López, A., García-Galego, M., Morales, A.E., Domezain, A., Domezainé, J. and Sanz, A. (2005). Digestive enzyme activities in Adriatic sturgeon *Acipenser nacarii* and rainbow trout *Oncorhynchus mykiss*. A comparative study *Aquaculture*, 250, 391-398.
- Gallagher, M.L. (1994). The use of soybean meal as a replacement of fishmeal in diets for hybrid striped bass (*Morone saxatilis* x *M. chrysops*). *Aquaculture*, 126, 119-127.
- García-Hernández, M.P., Lozano, M.T., Elbal, M.T. and Agulleiro, B. (2001). Development of the digestive tract of sea bass (*Dicentrarchus labrax* L.). Light and electron microscopic studies. *Anatomy and Embryology*, 204, 39-57.
- Getachew, T. (1989). Stomach pH, feeding rhythm and ingestion rate in *Oreochromis niloticus* L. (Pisces: Cichlidae) in Lake Awasa, Ethiopia. *Hydrobiologia*. 174, 43-48.
- Giger-Reverdin, S., Duvaux-Ponter, C., Sauvant, D., Martin, O., do Prado, I.N. and Muller, R. (2002). Intrinsic buffering capacity of feedstuffs. *Animal Feed Science and Technology*, 96, 83-102.
- Gil, J., Nadal, S., Luna, D., Moreno, M.T. and De Haro, A. (1996). Variability of some physivo-chemical characters in Desi and Kabuli chickpea Types. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 71, 179-184.

- Gjellesvik, D.R., Raae, A.J. and Walther, B.T.H. (1989). Partial purification and characterization of a tryglyceride lipase from cod (*Gadus morhua*). *Aquaculture*, 79, 177-184.
- Glencross, B.D. (Ed), 2005. "Seeding a future for grains in aquaculture feeds". Proceeding of the first workshop. Published by the Department of Fisheries, Perth, Western Australia.
- Gliffard-Mena, I., Charmantier, G., Grousset, E., Aujoulat, F. and Castille, R. (2006). Digestive tract ontogeny of *Dicentrarchus labrax*: Implication in osmoregulation. *Developmet Growth and Differentiation*, 48, 139-151.
- Gomes, E.F., Corraze, G. and Kaushik, S. (1993). Effects of dietary incorporation of a co-extruded plant protein (rapeseed and peas) on growth, nutrient utilization and muscle fatty acid composition of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Aquaculture*, 339-353.
- Gomes, E.F., Rema, P. and Kaushik, S.J. (1995). Replacement of fish meal by plant proteins in the diet of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) : digestibility and growth performance. *Aquaculture*, 130, 177-186.
- Gouveia, A. and Davies, S.J. (1998). Preliminary nutritional evaluation of pea seed meal (*Pisum sativum*)for juvenile European sea bass (*Dicentrarchus labrax*). *Aquaculture*, 166, 311-320.
- Gouveia, A. and Davies, S.J. (2000). Inclusion of an extruded dehulled pea seed meal in diets for juvenile European sea bass (*Dicentrarchus labrax*). *Aquaculture*, 182, 183-193.
- Grahsm H.D. (1992) Stabilization of the Prussian blue color in the determination of polyphenols. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 40, 801-805.
- Halver, J.E. and Hardy, R. (2002). *Nutritional Physiology*. In: *Fish Nutrition*, 3rd Edition, Academic Press, London, pp 398.
- Hardy, R. (1989). *Diet Preparation*. In: J.E. Halver (Editor), *Fish Nutrition*, 2nd Edition, Academic Press, London, pp 475-547.
- Hardy, R. (1997). Sustainable aquaculture and aquatic feeds. *Aquaculture Magazine*, 23, 72-77.
- Hardy, R.W. and Tacon, A.G.J. (2002). Fishmeal: Historical uses, production trends and future outlook for sustainable supplies. In: *Responsible Marine Aquaculture*. Edited by R.R. Stickney and J.P. McVey. pp.311-327.
- Harpaz S., Hakim, Y., Barki, A., Karplus, I., Slosman, T. and Eroldogan, O.T. (2005). Effect of different feeding levels during day and/or night on growth and brush-border enzyme activity in juvenile *Lates calcarifer* reared in freshwater re-circulating tanks. *Aquaculture*, 248, 325-335.

- Henkel, A.M., Kleingeld, D.W. and Tijssen, P.A.T. (1985). The effects of feeding level on apparent digestibility of dietary dry matter, crude protein and gross energy in the African catfish, *Clarias gariepinus* (Burchell, 1822). *Aquaculture*, 51, 1-11.
- Hemre, G.-I., Lie, Ø., Lied, E., Lambertsen, G. (1989). Starch as an energy source in feed for cod (*Gadus morhua*): digestibility and retention. *Aquaculture*, 80, 261-270.
- Hernández, M., Takeuchi, T. and Watanabe, T. (1994). Effect of gelatinized corn meal as a carbohydrate source on growth performance, intestinal evacuation, and starch digestion in common carp. *Fish Science*, 60, 579-582.
- Hickling, D. (2003). *Canadian Feed Peas Industry Guide*. Pulse Canada, Winnipeg, Manitoba, www.pulsecanada.com/pdf/Feed%20Peas%20English.pdf
- Hidalgo, M.C., Urea, E., and Sanz, A. (1999). Comparative study of digestive enzymes in fish with different nutritional habits. Proteolytic and amylase activities. *Aquaculture*, 170, 267-283.
- Hilton, J.W., Cho, C.Y. and Slinger, S.J. (1981). Effect of extrusion processing and stream pelleting diets on pellet durability, pellet water absorption and physiological response of rainbow trout (*Salmo gairdneri*). *Aquaculture*, 25, 185-194.
- Hilton, J.W. and Slinger, S. J. (1983). Effect of wheat bran replacement of wheat middlings in extrusion processed (floating) diets on the growth of juvenile rainbow trout (*Salmo gairdneri*). *Aquaculture*, 35, 201-210.
- Hossain, M.A. and Jauncey, K. (1993). The effect of varying dietary phytic acid, calcium and magnesium levels on the nutrition of common carp, *Cyprinus carpio*. In: Kaushik, S.J., Luquent, P. (Eds), *Fish Nutrition in Practice*. Proceedings of International Conference, Biarritz, France, June 24-27, 705-715.
- Hossain, M.A.R., Haylor, G.S. and Beveridge, M.C.M. (1998). Quantitative estimation of maximum daily feed intake of African catfish, *Clarias gariepinus* Burchell, fingerlings using radiography. *Aquaculture Nutrition*, 4, 175-182.
- Huang, J., Schols, H.A., van Soest, J.J.G., Jin, Z., Sulmann, E. and Voragen, A.G.J. (2007). Physicochemical properties and amylopectin chain profiles of cowpea, chickpea and yellow pea starches. *Food Chemistry* 101, 1355-1362.
- Iijima, N., Tanaka, S., Ota, Y. (1998). Purification and characterization of bile salt- activated lipase from the hepatopancreas of red sea bream, *Pagrus major*. *Fish Physiology and Biochemistry*, 18, 59-69.
- Izquierdo, M.S., Socorro, J., Arantzamendi, L. and Hernandez-Cruz, C.M. (2000). Recent advances in fish nutrition. *Fish Physiology and Biochemistry*, 22, 97-107.
- Jansman, A.J.M., Huisman, J. and van der Poel, A.F.B. 1993. Ileal and faecal digestibility in piglets of field beans (*Vicia faba* L.) varying in tannin content. *Animal Feed Science and Technology*, 42, 83-86.

- Jansman, A.J.M., Enting, H., Verstegen, M.W.A and Huisman, J. (1994). Effect of condensed tannins in hulls of faba beans (*Vicia faba* L.) on the activities of trypsin and chymotrypsin in digesta collected from the small intestine of pigs. *British Journal of Nutrition* 71, 627-641.
- Jobling, M. (1986). Mythical models of gastric emptying and implications for food consumption studies. *Environmental Biology of Fishes*, 16, No. 1-3, 35-50.
- Jobling, M. (1987). Influences of food particle size and dietary energy content on patterns of gastric evacuation in fish: test of a physiological model of gastric emptying. *Journal of Fish Biology*, 30, 299-314.
- Jobling, M. Gwyther, D. and Grove, D.J. (1997). Some effects of temperature, meal size and body weight on gastric evacuation time in the dab *Limanda limanda* (L). *Journal of Fish Biology*, 10, 291-298.
- Kapoor, B.G., Smit, H. and Verighina, I.A. (1975). The alimentary canal and digestion in teleosts. *Advances in Marine Biology*, 109-239.
- Kaur M. and Singh N. (2005). Studies on functional, thermal and pasting properties of flours from different chickpea (*Cicer arietinum* L.) cultivars. *Food Chemistry*, 91, 403-411.
- Kaushik, S.J., Coves, D., Dutto, G. and Blanc, D. (2004): Almost total replacement of fish meal by plant protein sources in the diet of a marine teleost, the European seabass, *Dicentrarchus labrax*. *Aquaculture*, 230, 391-404.
- Kawai, S. and Ikeda S. (1972). Studies on digestive enzymes of fishes-II. Effect of dietary change on the activities of digestive enzymes in carp intestine. *Bulletin of the Japanese Society of Scientific Fisheries*, 38, No 3, 265-270.
- Kigel, J. (1999). Culinary and nutritional quality of *Phaseolus vulgaris* seeds as affected by environmental factors. *Biotechnologie Agronomie, Societe et Environnement*, 3 (4), 205-209.
- Klamczynzka, B., Czuchajowska, Z. and Baik, B.K. (2001). Composition, soaking, cooking properties and thermal characteristics of starch of chickpeas, wrinkled peas and smooth peas. *International Journal of Food Science and Technology*, 36, 563-572.
- Knudsen, K.E.B. (1997). Carbohydrate and lignin contents of plant materials used in animal feeding. *Animal Feed Science and Technology*, 67, 319-338.
- Kolkovski, S. (2001). Digestive enzymes in fish larvae and juveniles-implications and applications to formulated diets. *Aquaculture*, 200, 181-201.
- Kosson, R., Czuchajowska, Z. and Pomeranz, Y. (1994a). Smooth and wrinkled peas. 1. General physical and chemical characteristics. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 42, 91-95.
- Kosson, R., Czuchajowska, Z. and Pomeranz, Y. (1994b). Smooth and wrinkled peas. 2. Distribution of protein, lipid and fatty acids in seed and milling fractions. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 42, 96-99.

- Κούτης, Κ. (2004). Κτηνοτροφικό ρεβύθι: Η καλύτερη και ασφαλέστερη απάντηση γεωργών και καταναλωτών στην γενετικά τροποποιημένη σόγια. <http://gmostop.org/keimena/0406.doc>
- Kraugerud, O. F., Penn, M., Storebakken, T., Refstie, S., Krogdahl, Å. and Svihus, B. (2007). Nutrient digestibilities and gut function in Atlantic salmon (*Salmo salar*) fed diets with cellulose or non-starch polysaccharides from soy. *Aquaculture*, 273, 96-107.
- Kristiansen H., R. and Rankin, J.C. (2001): Discrimination between endogenous and exogenous water sources in juvenile rainbow trout fed extruded dry feed. *Aquatic Living Resources*, 14, 359-366.
- Krogdahl, Å. (1989). Alternative protein sources from plants contain antinutrients affecting digestion in salmonids. *Proceedings of the Third International Symposium On Feeding and Nutrition in Fish*, 253-261.
- Krogdahl, Å., Lea, T.B. and Olli, J.J. (1994). Soybean proteinase inhibitors affect intestinal trypsin activities and amino acid digestibilities in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Comparative Biochemistry and Physiology*, 107A, No.1, 215-219.
- Krogdahl, Å, Nordrum, S., Sorensen, M., Brudeseth, L. and Rosjo, C. (1999). Effects of diet composition on apparent nutrient absorption along the intestinal tract and of subsequent fasting on mucosal disaccharidase activities and plasma nutrient concentration in Atlantic salmon *Salmo salar* L. *Aquaculture Nutrition*, 5, 121-133.
- Krogdahl, Å., Bakke-McKellep, A.M. and Baeverfjord, G. (2003). Effects of graded levels of standard soybean meal on intestinal structure, mucosal enzyme activities and pancreatic response in Atlantic salmon (*Salmo salar* L.). *Aquaculture Nutrition*, 9, 361-371.
- Kuz'mina, V.V. (1996) Influence of age on digestive enzyme activity in freshwater teleosts. *Aquaculture*, 148, 25-37.
- Lajolo, F.M., Genovese, M.I., Pryme, I.F. and Dale, T.M. (2004). Beneficial (antiproliferative) effects of different substances. Recent advances of research in antinutritional factors in legume seeds and oilseeds. EAAP publication No.110. Toledo, Spain. 8-10 March 2004, 123-135.
- Leaute, J. P. (1986). Approche du regime alimentaire de juveniles de bars et de limandes en baie de Somme. *Rev. Trav. Inst. Peches marit.*, 48, 55-63.
- Leavitt, D.F. (1985). An evaluation of gravimetric and inert marker techniques to measure digestibility in the American lobster. *Aquaculture*, 47, 131-142.
- Leenhouwers, J.I., Schrama, J.W., Adjei-Boateng, D. and Verreth, J.A.J. (2004). Effects of different levels of guar gum on digesta viscosity and performance of African catfish (*Clarias gariepinus*) (abstract). In: 11th International Symposium on Nutrition and Feeding in Fish (ISNFF), 2-7 May 2004, Phuket, Thailand.

- Leenhouwers, J.I., Adjei-Boateng, D., Verreth, J.A.J. and Schrama, J.W. (2006). Digesta viscosity, nutrient digestibility and organ weights in African catfish (*Clarias gariepinus*) fed diets supplemented with different levels of a soluble non-starch polysaccharide. *Aquaculture Nutrition*, 12, 111-116.
- Leenhouwers, J.I., ter Veld, M., Verreth, J.A.J. and Schrama, J.W. (2007). Digesta characteristics and performance of African catfish (*Clarias gariepinus*) fed cereal grains that differ in viscosity. *Aquaculture*, 264, 330-341.
- Lie, O. and Lambersten, G. (1985). Digestive lipolytic enzymes in cod (*Gadus morrhua*): Fatty acid specificity. *Comparative Biochemistry and Physiology*, 80B, No3, 447-450.
- Liu Z., Cheng F. and Zhang G. (2005). Grain phytic acid content in japonica rice as affected by cultivar and environment and its relation to protein content. *Food Chemistry*, 89, 49-52.
- Lunstedt, L.M., Melo, J.F.B. and Moraes, G. (2004). Digestive enzymes and metabolic profile of *Pseudoplatystoma corruscans* (Teleostei: Siluriformes) in response to diet composition. *Comparative Biochemistry and Physiology*, 137B, No3, 331-339.
- Marconi, E., Ruggeri, S., Capelloni, M., Leonardi, D. and Carnovale, E. (2000). Physicochemical, nutritional, and microstructural characteristics of chickpeas (*Cicer arietinum* L.) and common beans (*Phaseolus vulgaris* L.) following microwave cooking. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 48, 5986-5994.
- Maynard L.A., Loosli, J.K., Hintz, H.F. and Warner, R.G. (1981). *Animal Nutrition*. McGraw-Hill, New York, NY, USA, 4th ed., pp 484.
- McCallum, M. 2004. The Use of Peas in Aquafeeds. <http://www.infoharvest.ca/pulse-canola-db/summ2004/sect05.html>
- McCleary, B.V., Gibson, T.S. and Mugford, D.C. (1992) Measurement of Total starch in cereal products by amyloglucosidase- α - Amylase method: collaborative study. *Journal of AOAC International*, 80, 571-579.
- Michelakakis, A. and Tzoumas, A.S. (1998). Integrated fish farming in the Mediterranean: Case study of NIREUS, Chiow Aquaculture in Greece. *Charting the future of Ocean Farming*, 251-256.
- Mitaru, B.N., Reichert, R.D. and Blair, R. (1984). The binding of dietary protein by sorghum tannins in the digestive tract of pigs. *Journal of Nutrition*, 114, 1787-1796.
- Monti, L.M. and Grillo, S. (1983) Legume seed improvement for protein content and quality. *Plant Foods for Human Nutrition*, 32, 253-266.
- Moyano, F.J., Díaz, M., Alarcon, F.J. and Sarasquete, M.C. (1996). Characterization of digestive enzyme activity during larval development of gilthead seabream (*Sparus aurata*). *Fish physiology and biochemistry*, 15 (2), 121-130.
- Munilla-Morán, R. and Saborido-Rey, F. (1996a). Digestive enzymes in marine species. I. Proteinase activities in gut from redfish (*Sebastes mentella*), seabream (*Sparus aurata*),

- turbot (*Scophthalmus maximus*). *Comparative Biochemistry and Physiology*, 113B, No 2, 395-402.
- Munilla-Morán, R. and Saborido-Rey, F. (1996b). Digestive enzymes in marine species. II. Amylase activities in gut from seabream (*Sparus aurata*), turbot (*Scophthalmus maximus*) and redfish (*Sebastes mentella*). *Comparative Biochemistry and Physiology*, 113B, No 4, 827-834.
- Murashita, K., Fukada, H., Hasokova, H. and Masumoto, T. (2007). Changes in cholecystokinin and peptide Y gene expression with feeding in yellowtail (*Seriola quinquerdiata*): Relation to pancreatic exocrine regulation. *Comparative Biochemistry and Physiology, Part B* 146, 318-325.
- Mustafa, A.F., Thacker, P.A., McKinnon, J.J., Christensen, D.A. and Racz, V.J. (2000). Nutritional value of feed grade chickpeas for ruminants and pigs. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 80, 1581-1588.
- Μπόσκου, Δ. (1992). Χημεία Τροφίμων με Στοιχεία Τεχνολογίας Τροφίμων. Μέρος 1ο. Εκδόσεις Γαρταγάνη. Θεσσαλονίκη.
- Nengas, I., Alexis, M.N., Davies, S.J. and Petichakis, G. (1995). Investigation to determine digestibility coefficients of various raw materials in diets for gilthead sea bream, *Sparus aurata* L. *Aquaculture Research*, 26, 185-194.
- Nengas, I., Alexis, M.N. and Davies, S.J. (1999). High inclusion levels of poultry meal and related byproducts in diets for gilthead seabream *Sparus aurata* L. *Aquaculture*, 179, 13-23.
- Nestares, T., Lopez-Frias, M., Barrionuevo, M. and Urbano, G. (1996). Nutritional assessment of raw and processed chickpea (*Cicer arietinum* L.) protein in growing rats. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 44, 2760-2765.
- New, M.B. (1986). Aquaculture diets of postlarval marine fish of the super family percoidae, with special reference to sea bass, sea breams, groupers and yellowtail: A Review. *Kuwait Bulletin of Marine Science*, 7, 75-148.
- Nikolopoulou, D., Grigorakis, K., Stasini, M., Alexis, M. and Iliadis, K. (2007). Differences in chemical composition of field pea (*Pisum sativum*) cultivars: Effects of cultivation area and year. *Food Chemistry*, 103, 847-852.
- NRC (National Research Council). (1983). Nutrient requirements of warmwater fishes and shellfishes. National Academy Press, Washington, D.C., pp. 102.
- Oatway, L., Vasanthan. T. and Helm, J.H. (2001). Phytic acid. *Food Reviews International*, 17(4), 419-431.
- Olesan, J. (1986). Will sea bass and gilthead share turbot's potential? *Fishfarmer*, 9, 18-20.
- Oliva-Teles, A. (2000). Recent advances in European sea bass and gilthead sea bream nutrition. *Aquaculture International*, 8, 477-492.

- Oluwatosin, O. B. (1999). Genotype x environment influence on cowpea (*Vigna unguiculata* (L) Walp) antinutritional factors: 1-Trypsin inhibitors, tannins, phytic acid and haemagglutinin. *Journal of Science of Food and Agriculture*, 79: 265-272.
- Opuzynski, K., Shireman, J.V. (1995). Digestive mechanisms. In: Opuzynski, K., Shireman, J.V. (Eds.), *Herbivorous Fishes: Culture and use for weed management*. CRC Press, Boca Raton, FL, 21-31.
- Ortiz, L.T., Centeno, C. and Trevino, J. (1993). Tannins in faba beans seeds; effects on the digestibility of protein and amino acids in growing chicks. *Animal Feed Science and Technology*, 41, 271-278.
- Padmashri, U., Chenoweth, W.L. and Uebersax, M.A. (1995). The influence of extrusion processing on iron dialyzability, phytates and tannins in legumes. *Journal of food processing and preservation*, 19, No.2, 119-131.
- Papaconstantinou, C. (1988). *Fauna Graecia*. National Centre for Marine Research. Hellenic Zoological Society, pp. 257-289.
- Papastamatiou Y.P., Purkis S.J. and Holland K.N. (2007): The response of gastric pH to fasting and feeding in free swimming blacktip reef sharks, *Carcharinus melanopterus*. *Journal of Experimental Marine Biology*, 345, 129-140.
- Pereira, T.G. and Oliva-Teles, A. (2002). Preliminary evaluation of pea seed meal in diets for gilthead sea bream (*Sparus aurata*) juveniles. *Aquaculture Research*, 33, 1183-1189.
- Perez-Casanova, J.C., Murray, H.M., Gallant, J.W., Ross, S.E. and Johnson, S.C. (2004). Bile salt-activated lipase expression during larval development in the haddock (*Melanogrammus aeglefinus*). *Aquaculture*, 235, 601-617.
- Perez-Maldonado, R.A., Mannion, P.F. and Farrell, D.J. (1999). Optimum inclusion of field peas, faba beans, chickpeas and sweet lupins in poultry diets. I. Chemical composition and layer experiments. *British Poultry Science*, 40, 667-673.
- Persson, L. (1986). Patterns of food evacuation in fishes: a critical review. *Environmental Biology of Fishes*, 16, No1-3, 51-58.
- Pongmaneerat, J. and Watanabe, T. (1993). Effect of extrusion processing on the utilization of soybean meal diets for rainbow trout. *Nippon Suisan Gakkaishi*, 59(8), 1407-1414.
- Psohiou, E., Mamuris, Z., Panagiotaki, P., Kouretas, D. and Moutou, K.A. (2007). The response of digestive proteases to abrupt salinity decrease in the euryhaline sparid *Sparus aurata* L. *Comparative Biochemistry and Physiology, Part B*, 147, 156-163.
- Pustai, A., Bardocz, S. and Martin-Cabrejas, M.A. (2004). The mode of action of ANFs on the gastrointestinal tract and its microflora. Recent advances of research in antinutritional factors in legume seeds and oilseeds. EAAP publication No.110. Toledo, Spain, 8-10 March 2004, 87-100.
- Refstie, S., Svihus, B., Shearer, K.D. and Storebakken, T. (1999). Nutrient digestibility in Atlantic salmon and broiler chickens related to viscosity and non-starch

polysaccharide content in different soybean products. *Animal Feed Science and Technology*, 79, 331-345.

- Refstie, S., Korsøen, Ø.J., Storebakken, T., Baeverfjord, G., Lein, I., and Roem, A.J. (2000). Differing nutritional responses to dietary soybean meal in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) and Atlantic salmon (*Salmo salar*). *Aquaculture*, 190, 49-63.
- Rehman, Z.U. and Shah, W.H. (2005). Thermal heat processing effects on antinutrients, protein and starch digestibility of food legumes. *Food Chemistry*, 91, 327-331.
- Reichert, R.D. and MacKenzie, S.L. (1982). Composition of peas (*Pisum sativum*) varying widely in protein content. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 30, 312-317.
- Reyes Moreno C., Milan-Carrillo J., Amienta Rodelo E. and Okamura-Esparza J. (2000). Influence of storage at high temperature and high relative humidity on seed quality of chickpea (*Cicer arietinum* L.) *Food Science and Technology International*, 6(6), 473-482.
- Reyes-Moreno, C., Cuevas-Rodriguez, E.O., Milán-Carrillo, J., Cárdenas-Valenzuela, O.G. and Barrón-Hoyos, J. (2004). Solid state fermentation process for producing chickpea (*Cicer arietinum* L) tempeh flour. Physicochemical and nutritional characteristics of the product. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 84, 271-278.
- Richardson, N.L., Higgs, D.A., Beames, R.M. and McBride, J.R. (1985). Influence of dietary calcium, phosphorous, zinc and sodium phytate level on cataract incidence, growth and histopathology in juvenile Chinook salmon (*Oncorhynchus tshawytscha*). *Journal of Nutrition*, 115, 553-567.
- Riche, M., Haley, M. O., Garbrecht, S. and Garling, D.L. (2004). Effect of feeding frequency on gastric evacuation and the return of appetite in tilapia *Oreochromis niloticus* (L.). *Aquaculture*, 274, 657-673.
- Rincon F., Martinez B. and Ibanez M.V. (1998) Proximate composition and antinutritive substances in chickpea (*Cicer arietinum* L) as affected by the biotype factor. *Journal of Science of Food and Agriculture*, 78: 382-388.
- Romarheim, O.H., Skrede, A., Gao, Y., Krogdahl, Å., Denstadli, V., Lilleeng, E. and Storebakken, T. (2006). Comparison of white flakes and toasted soybean meal partly replacing fish meal as protein source in extruded feed for rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Aquaculture*, 256, 354-364.
- Rosecchi, E. (1987). L' alimentation de *Diplodus annularis*, *Diplodus sargus*, *Diplodus vulgaris* et *Sparus aurata* (Pisces, Sparidae) dans le golfe du Lion et les lagunes littorales. *Rev. Trav. Inst. Peches marit.*, 49, 125-141.
- Rubio L. A., Grant G., Dewey P., Brown D., Annand M., Bardocz S. and Pusztai A. (1998). Nutritional utilization by rats of chickpea (*Cicer arietinum*) meal and its isolated globulin proteins is poorer than that of defatted soybean or lactalbumin. *Journal of Nutrition*, 128(6), 1042-1047.

- Ruggerone, G.T. (1989). Gastric evacuation of single and multiple meals by piscivorous coho salmon, *Oncorhynchus kisutch*. *Environmental Biology of Fishes*, 26, 143-147.
- Ruiz, M.A. and Sotelo, A. (2001). Chemical composition, Nutritive value, and Toxicology Evaluation of Mexican Wild Lupins. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 49, 5336-5339.
- Ruohonen K., Grove D.J. and McIlroy J.T. (1997). The amount of food ingested in a single meal by rainbow trout offered chopped herring, dry and wet diets. *Journal of Fish Biology*, 51, 93-105.
- Rust, M.B. (2002). Nutritional Physiology. In *Fish Nutrition*, Third Edition, Edited by Halver, J.E. and Hardy, R.W. Academic Press, An Imprint of Elsevier Science. USA.
- Sabapathy, U. and Teo, L.H. (1993). A quantitative study of some digestive enzymes in the rabbitfish, *Siganus canaliculatus* and the sea bass, *Lates calcarifer*. *Journal of Fish Biology*, 42, 595-602.
- Saini H. S. and Knights E. J. (1984). Chemical constitution of starch and oligosaccharides components of "Desi" and "Kabuli" chickpea (*Cicer arietinum*) seed types. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 32: 940-944.
- Santidrian, S. and Marzo, F. (1989). Effect of tannic acid and kidney bean (*Phaseolus vulgaris*) on the intestinal absorption of d-galactose and l-leucine in chickens. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 47, 435-442.
- Santulli, A., Modica, A., Cusenza, L., Curatolo, A. and D'Amelio, V. (1993). Effects of temperature on gastric evacuation rate and absorption and transport of dietary lipids in sea bass (*Dicentrarchus Labrax*, L.). *Comparative Biochemistry and Physiology*, 105A, No2, 363-367.
- Sanz, A., Morales, A.E., de la Higuera, M., Cardenete, G. (1994). Sunflower meal compared with soybean meal as partial substitutes for fishmeal in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) diets: protein and energy utilization. *Aquaculture*, 128, 287-300.
- Sarasquete, M.C., Polo, A. and Yúfera, M. (1995). Histology and histochemistry of the development of the digestive system of larval gilthead seabream, *Sparus aurata* L. *Aquaculture*, 130, 79-92.
- Singh K.B., Williams P.C. and Nakkoul H. (1990) Influence of growing season, location and planting time on some quality parameters of kabuli chickpea. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 53: 429-441.
- Singh, U., and Jambunathan, R., (1981): Studies on desi and kabuli chickpea (*Cicer arietinum* L.) cultivars: levels of protease inhibitors, levels of polyphenolic compounds and in vitro protein digestibility. *Journal of Food Science*, 46 (5), 1364-1367.
- Smith, R.R. (1979). Methods for determination of digestibility and metabolizable energy of feedstuffs for finfish. In: Halver, J.E. and Tiews, R. (Eds.), *Finfish Nutrition and*

- Fishfeed Technology. Proceedings of a World Symposium, Hamburg, June, 1978, Berlin 2, 453-459.
- Smith, L.S. (1989) Digestive functions in teleost fishes. In: J.E. Halver (Ed.), Fish Nutrition. Academic Press, London, 331-421.
- Smits, C.H.M. and Annison, G. (1996). Non-starch polysaccharides in broiler nutrition-towards a physiologically valid approach to their determination. World's Poultry Science Journal 52, 203-221.
- Sosulski F.W. and Gadan H.M. (1988). Variations in lipid composition among chickpea cultivars. Journal of American Oil Chemists' Society, 65, 369-372.
- Spannhof, L. and Plantikow, H. (1983). Studies on carbohydrate digestion in rainbow trout. Aquaculture, 30, 95-108.
- Spinelli, J., Houle, C.R. and Wekell, J.C. (1983). The effect of phytates on the growth of rainbow trout (*Salmo gairdneri*) fed purified diets containing various quantities of calcium and magnesium. Aquaculture, 30: 71-83.
- Stone, D. A.J., Allan, G.L. and Anderson A.J. (2003): Carbohydrate utilization by juvenile silver perch, *Bidyanus bidyanus* (Mitchell). II. Digestibility and utilization of starch and its breakdown products. Aquaculture Research, 34, 109-121.
- Stone, D.A.J. (2003). Dietary carbohydrate utilization by fish. Reviews in Fisheries Science, 11 (4), 337-369.
- Storebakken, T. (1985). Binders in fish feeds I. Effect of alginate and guar gum on growth, digestibility, feed intake and passage through the gastrointestinal tract of rainbow trout. Aquaculture, 47, 11-26.
- Storebakken, T., Shearer, K.D. and Roem, A.J. (1998). Availability of protein, phosphorus and other elements in fishmeal, soy protein concentrate and phytase-treated soy protein-concentrate-based diets to Atlantic salmon, *Salmo salar*. Aquaculture, 161, 365-379.
- Storebakken, T., Kvien, I.S., Shearer, K.D., Grisdale-Helland, B. and Helland, S.J. (1999). Estimation of gastrointestinal evacuation rate in Atlantic salmon (*Salmo salar*) using inert markers and collection of faeces by sieving: evacuation of diets with fish meal, soybean meal or bacterial meal. Aquaculture, 172, 291-299.
- Sveier, H., Wathne, E. and Lied, E. (1999). Growth, feed and nutrient utilization and gastrointestinal evacuation time in Atlantic salmon (*Salmo salar* L.): the effect of dietary fish meal particle size and protein concentration. Aquaculture, 180, 265-282.
- Tacon, A.G.J. and Rodrigues, A.M.P, (1984). Comparison of chromic acid, crude fibre, polyethylene and acid-insoluble ash as dietary markers for the estimation of apparent digestibility coefficients in rainbow trout. Aquaculture, 43, 391-399.

- Tacon, A.G.J. and Jackson, A.J. (1985). Utilization of conventional and unconventional protein sources in practical fish feeds. In: C.B. Cowey, A.M. Mackie and J.G. Bell (Editors), *Nutrition and Feeding in Fish*, Academic Press, London, 119-146.
- Tacon, A.G.J. (1997). Fishmeal replacers: Review of antinutrients within oilseeds and pulses - A limiting factor for the aquafeed *Green Revolution?* *Cahiers Options Méditerranéennes*, Volume 22, pp. 153-182.
- Tacon, A.G.J. (2004). Use of fish meal and fish oil in aquaculture: a global perspective. *Aquatic Resources, Culture and Development* 1(1), 3-14.
- Takii, K., Shimeno, S. and Takeda, M. (1985). Changes in digestive enzyme activities in eel after feeding. *Bulletin of the Japanese Society of Scientific Fisheries*, 51(12), 2027-2031.
- Tamir, M. and Alumot, E. (1969). Inhibition of digestive enzymes by condensed tannins from green and ripe carobs. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 20, 199-202.
- Taylor J.R. and Grossell, M. (2006). Evolutionary aspects of intestinal bicarbonate secretion in fish. *Comparative Biochemistry and Physiology*, 143A, 523-529.
- Tengjaroenkul, B., Smith, B.J., Caceci, T. and Smith, S.A. (2000). Distribution of intestinal enzyme activities along the intestinal tract of cultured Nile tilapia, *Oreochromis niloticus* L. *Aquaculture*, 182, 317-327.
- Thiessen, D.L., Campell, G.L. and Adelizi, P.D. (2003). Digestibility and growth performance of juvenile rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) fed with pea and canola products. *Aquaculture Nutrition*, 9, 67-75.
- Tibbetts, S.M., Milley, J.E. and Lall, S.P. (2006). Apparent protein and energy digestibility of common and alternative feed ingredients by Atlantic cod, *Gadus morhua* (Linnaeus, 1758). *Aquaculture*, 261, 1314-1327.
- Tocher, D.R. and Sargent, J.R. (1984). Studies on triacylglycerol, wax ester and sterol ester hydrolases in intestinal caeca of rainbow trout (*Salmo gairdneri*) fed diets rich in triacylglycerols and wax esters. *Comparative Biochemistry and Physiology*, 77B, No3, 561-571.
- Uys, W., Hecht, T. and Walters, M. (1987). Changes in digestive enzyme activities of *Clarias gariepinus* (Pisces: Claridae) after feeding. *Aquaculture*, 63, 243-250.
- Vandenberg, G.W. and de la Noüe, J. (2001). Apparent digestibility comparison in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) assessed using three methods of faeces collection and three digestibility markers. *Aquaculture Nutrition*, 7, 237-245.
- Venou, B., Alexis, M.N., Fountoulaki, E., Nengas, I., Apostolopoulou, M. and Castrisi-Cathariou, I. (2003). Effect of extrusion of wheat and corn on gilthead sea bream (*Sparus aurata*) growth, nutrient utilization efficiency, rates of gastric evacuation and digestive enzymes activities. *Aquaculture*, 225, 07-223.
- Vidal-Valverde, C., Frias, J., Hernandez, A., Martin-Alvarez, P.J., Sierra, I., Rodriguez, C., Blazquez, I. and Vicente, G. (2003). Assessment of nutritional compounds and

- antinutritional factors in pea (*Pisum sativum*) seeds. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 83, 298-306.
- Wang, N. and Daun, J.K. (2004). Effect of variety and crude protein content on nutrients and certain antinutrients in field peas (*Pisum sativum*). *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 84, 1021-1029.
- Wang, N. and Daun, J.K. (2006). Effects of variety and crude protein content on nutrients and anti-nutrients in lentils (*Lens culinaris*). *Food Chemistry*, 95, 493-502.
- Wassef, E. and Eisawy, A. (1985). Food and feeding habits of wild and reared gilthead bream *Sparus aurata* L. *Cybium*, 9, 233-242.
- Whitehead, P.J., Bauchot, J.C., Hureau, J. and Tortonese, E. (1986). *Fishes of the North-Eastern Atlantic and the Mediterranean*, UNESCO, Vol. 1, 1-510.
- Wikipedia. (2007). http://en.wikipedia.org/wiki/Main_Page
- Wilson, R.W. and Grosell, M. (2003). Intestinal bicarbonate secretion in marine teleost fish—source of bicarbonate, pH sensitivity, and consequences for whole animal acid-base and calcium homeostasis. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Biomembranes*, 1618(2), 163-174.
- Windell J.T., Foltz, W. and Sarokon, J.A. (1978). Methods of fecal collection and nutrient leaching in digestibility studies. *Prog. Fish Culture*, 40, 51-55.
- Wiryawan, K.G. (1997). New vegetable protein for layers. (Thesis). Department of Animal Production. The University of Queensland, Australia.
- Yúfera, M., Fernández-Díaz, C., Vidauretta, A., Cara, J.B. and Moyano, F.J. (2004). Gastrointestinal pH and development of the acid digestion in larva and early juveniles of *Sparus aurata* (Pisces: Teleostei). *Marine Biology*, 144, 863-869.
- Zambonino Infante, J.L. and Cahu, C. (1994). Development and response to a diet change of some digestive enzymes in sea bass (*Dicentrarchus labrax*) larvae. *Fish Physiology and Biochemistry*, 12 (5), 399-408.
- Zambonino Infante, J.L. and Cahu, C.L. (1999). High dietary lipid levels enhance digestive tract maturation and improve *Dicentrarchus labrax* larval development. *Journal of Nutrition*, 129, 1195-1200.
- Zografakis, N. and Dasenakis, D. (2002). Altener Programme Contract No.4.1030/C/00-022/200. "Biomass in Mediterranean". Project No 238: "Studies on the exploitation of carob for bioethanol production". <http://www.crete-region.gr/greek/energy/interim%20report.htm>
- Χατζηφώτης, Σ. (1999). Σημειώσεις διατροφής εκτρεφόμενων ψαριών. Ανέκδοτες σημειώσεις στη διατροφή των ψαριών. Ινστιτούτο Θαλάσσιας Βιολογίας Κρήτης. Ηράκλειο, Κρήτης.

Χώτος Γ. και Ρογδάκης, Ι. (1992). Υδατοκαλλιέργειες ευρύαλων ψαριών. Λαβράκι & Τσιπούρα. Τεχνικές της αναπαραγωγής και πάχυνσης. Εκδόσεις 'ΙΩΝ'.

ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ

Πίνακας I. (%) Σχετικοί δείκτες πεπτικότητας θρεπτικών συστατικών των πειραματικών σιτηρεσιών σε άτομα τσιπούρας (200g) (Ιστογράμματα 3.1, 3.2, 3.3).

Οι τιμές δίνονται ως δίνονται μέσος όρος \pm τυπική απόκλιση

	Πρωτεΐνες	Λίπη	Άμυλο
CA	92,3 \pm 0,5 $\gamma\delta$	96,0 \pm 0,6 $\delta\epsilon$	99,6 \pm 0,1 β
CB	95,1 \pm 0,1 δ	97,2 \pm 0,2 ϵ	99,7 \pm 0,1 β
ChP	88,0 \pm 0,3 $\beta\gamma$	89,1 \pm 1,4 β	44,5 \pm 1,8 α
ChPD	74,4 \pm 3,8 α	82,9 \pm 2,0 α	-
P	86,4 \pm 1,9 β	89,8 \pm 0,3 β	38,4 \pm 7,8 α
ChPx	88,3 \pm 2,7 $\beta\gamma$	91,8 \pm 0,6 $\beta\gamma$	93,6 \pm 3,2 β
ChPDx	90,5 \pm 0,1 $\beta\gamma$	95,3 \pm 1,9 ϵ	97,3 \pm 0,1 β
Px	88,3 \pm 0,7 $\beta\gamma$	93,3 \pm 0,2 $\gamma\delta$	96,1 \pm 1,2 β

Τα γράμματα αναφέρονται σε συγκρίσεις στην ίδια στήλη

Πίνακας II. (%) Σχετικοί δείκτες πεπτικότητας θρεπτικών συστατικών των πειραματικών σιτηρεσιών σε άτομα λαυρακιού (100g) (Πειράματος Α) (Ιστογράμματα 4.1).

Οι τιμές δίνονται ως δίνονται μέσος όρος \pm τυπική απόκλιση

Σιτηρέσια	Πρωτεΐνες	Λίπη	Άμυλο
Sb ₂₀	94,15 \pm 0,02 α	97,73 \pm 0,06	97,41 \pm 0,34 γ
P ₁₅	95,79 \pm 0,15 γ	98,22 \pm 0,17	95,40 \pm 0,16 $\beta\gamma$
CP ₁₅	94,28 \pm 0,33 α	97,46 \pm 0,25	92,58 \pm 0,01 $\alpha\beta$
CP ₂₀	95,24 \pm 0,35 β	97,96 \pm 0,17	91,52 \pm 0,67 α

Τα γράμματα αναφέρονται σε συγκρίσεις στην ίδια στήλη

Πίνακας III. (%) Σχετικοί δείκτες πεπτικότητας θρεπτικών συστατικών των πειραματικών σιτηρεσιών σε άτομα λαυρακιού (100g) (Πειράματος Β) (Ιστογράμματα 4.2).

Οι τιμές δίνονται ως δίνονται μέσος όρος \pm τυπική απόκλιση

Σιτηρέσια	Πρωτεΐνες	Λίπη	Άμυλο
FM	96,20 \pm 0,26 β	98,50 \pm 0,16	99,39 \pm 0,07 β
S α_{20}	95,85 \pm 0,08 β	98,84 \pm 0,03	99,35 \pm 0,10 β
CP ₃₀	94,68 \pm 0,44 α	98,49 \pm 0,06	95,54 \pm 0,58 α
P ₃₀	95,57 \pm 0,18 β	98,53 \pm 0,04	95,56 \pm 0,24 α

Τα γράμματα αναφέρονται σε συγκρίσεις στην ίδια στήλη

Πίνακας IV. Τιμές pH του στομαχικού περιεχομένου των ατόμων λαυρακιού σε συνάρτηση με τον χρόνο μετά την παροχή του γεύματος των τεσσάρων πειραματικών σιτηρεσιών σε άτομα λαυρακιού (100g) (Σχήμα 5.3). Οι τιμές δίνονται ως δίνονται μέσος όρος \pm τυπική απόκλιση

Σιτηρέσια Χρόνος (ώρες)	Sa ₂₀	FM	CP ₃₀	P ₃₀
0,5	5,44 \pm 0,29	5,46 \pm 0,18	5,11 \pm 0,28	5,16 \pm 0,11
2	4,84 \pm 0,29	4,48 \pm 0,46	4,39 \pm 0,40	4,47 \pm 0,33
4	3,84 \pm 0,38	4,15 \pm 0,39	3,66 \pm 0,69	4,10 \pm 0,27
6	3,39 \pm 0,72	3,80 \pm 0,70	4,20 \pm 0,26	3,11 \pm 0,53
8	2,94 \pm 0,47	4,04 \pm 0,41	2,05 \pm 0,16	2,91 \pm 0,67
10	2,49 \pm 0,51	4,24 \pm 0,45	2,38 \pm 0,53	1,55 \pm 0,01
12	2,20 \pm 0,68	2,74 \pm 0,01	2,45 \pm 0,41	3,05 \pm 0,64

Πίνακας V. Ξηρό βάρος στομαχικού περιεχομένου ατόμων λαυρακιού (100g) σε συνάρτηση με τον χρόνο μετά την παροχή του γεύματος των τεσσάρων πειραματικών σιτηρεσιών (Σχήμα 5.4). Οι τιμές δίνονται ως δίνονται μέσος όρος \pm τυπική απόκλιση

Σιτηρέσια Χρόνος (ώρες)	Sa ₂₀	FM	CP ₃₀	P ₃₀
0,5	0,60 \pm 0,36	0,75 \pm 0,32	0,84 \pm 0,09	0,83 \pm 0,02
2	0,56 \pm 0,21	0,49 \pm 0,24	0,53 \pm 0,33	0,64 \pm 0,23
4	0,35 \pm 0,48	0,45 \pm 0,21	0,40 \pm 0,28	0,45 \pm 0,04
6	0,24 \pm 0,24	0,37 \pm 0,25	0,39 \pm 0,35	0,35 \pm 0,09
8		0,37 \pm 0,04	0,21 \pm 0,18	0,24 \pm 0,14
10	0,10 \pm 0,10	0,30 \pm 0,31	0,14 \pm 0,14	0,14 \pm 0,28
12	0,10 \pm 0,15	0,21 \pm 0,10	0,06 \pm 0,10	0,08 \pm 0,10

Πίνακας VI. Ολική ενεργότητα α-αμυλάσης και θρυψίνης (U/100g νωπού σωματικού βάρους) σε συνάρτηση με τον χρόνο μετά την παροχή του γεύματος των τεσσάρων πειραματικών σιτηρεσίων, στα πεπτικά υγρά του εντέρου ατόμων λαυρακιού (100g) (Σχήμα 5.5). Οι τιμές δίνονται ως δίνονται μέσος όρος ± τυπική απόκλιση

Σιτηρέσια	Sa ₂₀	FM	CP ₃₀	P ₃₀
<i>a - Αμυλάση</i>				
Χρόνος (ώρες)				
0,5	0,91 ± 0,50 ^{αβ}	0,33 ± 0,11 ^α	0,68 ± 0,60 ^α	0,77 ± 0,41 ^β
2	2,72 ± 0,09 ^γ	4,15 ± 2,01 ^β	2,01 ± 0,57 ^β	1,81 ± 0,20 ^γ
6	1,55 ± 0,64 ^β	1,17 ± 0,53 ^α	0,65 ± 0,33 ^α	0,38 ± 0,22 ^{αβ}
10	0,49 ± 0,53 ^α	0,56 ± 0,22 ^α	0,31 ± 0,21 ^α	0,21 ± 0,17 ^α
24	0,09 ± 0,24 ^α	0,04 ± 0,02 ^α	0,55 ± 0,60 ^α	0,10 ± 0,04 ^α
<i>Θρυψίνη</i>				
0,5	3,01 ± 2,21 ^{αβ}	0,44 ± 0,08 ^α	1,46 ± 0,88 ^α	1,66 ± 1,08 ^α
2	6,59 ± 0,97 ^β	6,61 ± 5,99 ^α	4,57 ± 1,64 ^α	4,69 ± 1,52 ^β
6	5,46 ± 1,29 ^β	3,48 ± 1,14 ^α	2,79 ± 0,45 ^α	2,65 ± 1,22 ^{αβ}
10	6,57 ± 2,29 ^β	1,39 ± 0,72 ^α	2,25 ± 0,75 ^α	1,73 ± 1,27 ^{αβ}
24	0,47 ± 0,33 ^α	0,01 ± 0,00 ^α	0,21 ± 0,29 ^α	0,97 ± 1,22 ^α

Οι εκθέτες αναφέρονται σε συγκρίσεις στην ίδια στήλη

Πίνακας VII. (%) Σχετικοί δείκτες πεπτικότητας θρεπτικών συστατικών των πειραματικών σιτηρεσίων σε άτομα λαυρακιού (90g) (Ιστογράμμο 6.1). Οι τιμές δίνονται ως δίνονται μέσος όρος ± τυπική απόκλιση

Σιτηρέσια	Πρωτεΐνες	Λίπη	Άμυλο
Σιτηρέσιο C	95,87 ± 0,11 ^β	98,07 ± 0,16 ^β	71,12 ± 1,35 ^β
Σιτηρέσιο X	91,60 ± 0,48 ^α	95,13 ± 0,37 ^α	57,22 ± 3,39 ^α

Τα γράμματα αναφέρονται σε συγκρίσεις στην ίδια στήλη

Πίνακας VIII. (%) Σχετικοί δείκτες πεπτικότητας θρεπτικών συστατικών των πειραματικών σιτηρεσίων σε άτομα τσιπούρας (130g) (Ιστογράμμο 6.2). Οι τιμές δίνονται ως δίνονται μέσος όρος ± τυπική απόκλιση

Σιτηρέσια	Πρωτεΐνες	Λίπη	Άμυλο
Σιτηρέσιο C	90,55 ± 1,58	92,56 ± 2,08	94,38 ± 1,73 ^β
Σιτηρέσιο X	88,87 ± 0,67	91,57 ± 0,09	88,95 ± 2,02 ^α

Τα γράμματα αναφέρονται σε συγκρίσεις στην ίδια στήλη

Πίνακας ΙΧ. Ποσοστό (%) της ποσότητας τροφής που περιέχεται σε κάθε τμήμα του πεπτικού σωλήνα των ατόμων τσιπούρας 6 και 8hrs μετά την παροχή γεύματος (Διάγραμμα 6.3). Οι τιμές δίνονται ως δίνονται μέσος όρος ± τυπική απόκλιση

	Σιτηρέσιο C	Σιτηρέσιο Χ	Σιτηρέσιο C	Σιτηρέσιο Χ
	6 ώρες		8 ώρες	
Στομάχι	25,50 ± 11,51	34,29 ± 16,20	17,57 ± 6,83	23,16 ± 12,10
Πρόσθιο	6,49 ± 2,79	13,48 ± 6,09	11,83 ± 2,79	13,84 ± 4,98
Κυρίως	43,88 ± 8,85	41,46 ± 9,41	49,74 ± 16,32	55,18 ± 8,46
Οπίσθιο	27,78 ± 12,34	10,77 ± 6,13	28,93 ± 22,46	13,11 ± 9,72

Πίνακας Χ. Ποσοστό (%) της ποσότητας τροφής που περιέχεται σε κάθε τμήμα του πεπτικού σωλήνα των ατόμων λαυρακιού στις 6 και 8 ώρες μετά την παροχή γεύματος (Διάγραμμα 6.4). Οι τιμές δίνονται ως δίνονται μέσος όρος ± τυπική απόκλιση

	Σιτηρέσιο C	Σιτηρέσιο Χ	Σιτηρέσιο C	Σιτηρέσιο Χ
	6 ώρες		8 ώρες	
Στομάχι	65,52 ± 7,53	71,36 ± 6,69	75,86 ± 9,40	52,53 ± 15,24
Πρόσθιο	6,97 ± 2,98	7,94 ± 3,01	7,23 ± 2,60	11,13 ± 5,76
Κυρίως	25,65 ± 5,44	18,23 ± 4,50	13,08 ± 7,42	28,87 ± 11,79
Οπίσθιο	2,60 ± 3,41	2,77 ± 1,42	4,26 ± 2,70	5,78 ± 4,14

Πίνακας ΧΙ. (%)Υγρασία στομαχικού περιεχομένου ατόμων τσιπούρας και λαυρακιού σε σχέση με το χρόνο μετά την παροχή του γεύματος (Σχήμα 6.1) Οι τιμές δίνονται ως δίνονται μέσος όρος ± τυπική απόκλιση

	Τσιπούρα		Λαυράκι	
Χρόνος (ώρες)	Σιτηρέσιο C	Σιτηρέσιο Χ	Σιτηρέσιο C	Σιτηρέσιο Χ
2	62,17 ± 1,93	64,50 ± 2,56	67,48 ± 3,82	77,01 ± 6,44
4	64,28 ± 1,70	70,52 ± 1,70	65,90 ± 2,95	77,74 ± 2,72
6	71,07 ± 5,76	72,37 ± 3,58	71,77 ± 6,84	76,50 ± 2,25
8	68,76 ± 5,73	71,60 ± 2,76	67,85 ± 2,64	73,36 ± 4,57
10	68,27 ± 2,84	73,31 ± 2,88	69,36 ± 1,76	75,92 ± 2,81
12	-	67,25 ± 2,16	72,88 ± 2,95	78,59 ± 3,21
24	-	-	71,14 ± 2,84	75,27 ± 4,23

Πίνακας XII. (%) Υγρασία πρόσθιου εντέρου ατόμων τσιπούρας και λαυρακιού σε σχέση με το χρόνο μετά την παροχή του γεύματος (Σχήμα 6.2).

Οι τιμές δίνονται ως δίνονται μέσος όρος \pm τυπική απόκλιση

Χρόνος (ώρες)	Τσιπούρα		Λαυράκι	
	Σιτηρέσιο C	Σιτηρέσιο X	Σιτηρέσιο C	Σιτηρέσιο X
2	75,13 \pm 7,24	81,03 \pm 6,79	84,25 \pm 3,52	83,98 \pm 3,70
4	83,46 \pm 3,43	81,52 \pm 3,44	83,15 \pm 3,83	85,34 \pm 3,29
6	82,11 \pm 5,47	82,04 \pm 4,67	82,72 \pm 2,38	84,25 \pm 1,23
8	82,91 \pm 4,87	84,55 \pm 1,93	83,35 \pm 1,95	82,85 \pm 1,12
10	80,82 \pm 0,47	83,90 \pm 2,39	85,85 \pm 1,38	82,97 \pm 3,06
12	86,08 \pm 6,78	83,64 \pm 6,95	84,71 \pm 2,68	85,70 \pm 1,05
24	-	-	78,98 \pm 0,15	78,69 \pm 1,71

Πίνακας XIII. (%) Υγρασία κυρίως εντέρου ατόμων τσιπούρας και λαυρακιού σε σχέση με το χρόνο μετά την παροχή του γεύματος (Σχήμα 6.3).

Οι τιμές δίνονται ως δίνονται μέσος όρος \pm τυπική απόκλιση

Χρόνος (ώρες)	Τσιπούρα		Λαυράκι	
	Σιτηρέσιο C	Σιτηρέσιο X	Σιτηρέσιο C	Σιτηρέσιο X
2	81,51 \pm 3,25	82,65 \pm 1,90	84,73 \pm 1,59	82,98 \pm 1,92
4	84,21 \pm 0,42	84,13 \pm 0,69	81,43 \pm 2,18	84,49 \pm 1,06
6	84,55 \pm 1,97	83,45 \pm 2,11	78,96 \pm 1,25	82,03 \pm 1,40
8	83,79 \pm 3,45	85,28 \pm 0,83	80,06 \pm 2,68	80,50 \pm 1,98
10	85,66 \pm 0,20	85,37 \pm 0,78	81,70 \pm 2,65	80,62 \pm 1,92
12	83,15 \pm 1,74	85,70 \pm 1,72	80,19 \pm 1,87	81,80 \pm 0,88
24	-	-	76,35 \pm 1,10	78,16 \pm 1,35
26	-	-	76,88 \pm 0,88	79,52 \pm 2,42

Πίνακας XIV. (%) Υγρασία οπίσθιου εντέρου ατόμων τσιπούρας και λαυρακιού σε σχέση με το χρόνο μετά την παροχή του γεύματος (Σχήμα 6.4). Οι τιμές δίνονται ως δίνονται μέσος όρος \pm τυπική απόκλιση

Χρόνος (ώρες)	Τσιπούρα		Λαυράκι	
	Σιτηρέσιο C	Σιτηρέσιο X	Σιτηρέσιο C	Σιτηρέσιο X
2	-	-	81,36 \pm 8,56	81,32 \pm 4,77
4	-	-	86,46 \pm 1,22	85,89 \pm 3,87
6	84,50 \pm 1,53	86,88 \pm 1,77	84,18 \pm 6,67	84,00 \pm 2,61
8	87,44 \pm 3,24	86,57 \pm 3,88	79,26 \pm 3,60	80,71 \pm 3,21
10	87,74 \pm 1,24	87,87 \pm 0,65	76,87 \pm 2,36	81,01 \pm 1,70
12	88,33 \pm 2,49	84,61 \pm 4,06	80,16 \pm 0,40	80,45 \pm 2,90
24	-	-	74,55 \pm 1,19	76,74 \pm 1,91
26	-	-	75,19 \pm 4,34	75,33 \pm 2,56

Πίνακας XV. pH στομαχικού περιεχομένου ατόμων τσιπούρας και λαυρακιού σε σχέση με το χρόνο μετά την παροχή του γεύματος (Σχήμα 6.5).

Οι τιμές δίνονται ως δίνονται μέσος όρος \pm τυπική απόκλιση

Χρόνος (ώρες)	Τσιπούρα		Λαυράκι	
	Σιτηρέσιο C	Σιτηρέσιο X	Σιτηρέσιο C	Σιτηρέσιο X
2	5,28 \pm 0,25	5,69 \pm 0,06	5,00 \pm 0,17	4,70 \pm 0,63
4	4,91 \pm 0,33	4,90 \pm 0,42	4,52 \pm 0,18	4,11 \pm 0,74
6	4,22 \pm 0,19	4,38 \pm 0,47	3,81 \pm 0,47	3,63 \pm 0,51
8	3,72 \pm 0,20	3,79 \pm 0,39	3,85 \pm 0,36	3,69 \pm 0,71
10	3,90 \pm 0,06	3,64 \pm 0,21	3,85 \pm 0,31	3,28 \pm 0,19
12		3,87 \pm 0,08	3,37 \pm 0,47	2,69 \pm 0,36
24			3,82 \pm 0,42	3,66 \pm 0,45

Πίνακας XVI. pH πρόσθιου εντέρου ατόμων τσιπούρας και λαυρακιού σε σχέση με το χρόνο μετά την παροχή του γεύματος (Σχήμα 6.6). Οι τιμές δίνονται ως δίνονται μέσος όρος

\pm τυπική απόκλιση

Χρόνος (ώρες)	Τσιπούρα		Λαυράκι	
	Σιτηρέσιο C	Σιτηρέσιο X	Σιτηρέσιο C	Σιτηρέσιο X
2	5,66 \pm 0,42	6,57 \pm 0,32	6,63 \pm 0,36	7,24 \pm 0,73
4	6,56 \pm 0,70	6,56 \pm 1,48	7,62 \pm 0,38	7,79 \pm 0,20
6	6,11 \pm 0,92	6,77 \pm 0,34	7,78 \pm 0,15	7,81 \pm 0,12
8	6,29 \pm 1,15	6,70 \pm 0,64	7,73 \pm 0,28	7,75 \pm 0,19
10	6,73 \pm 0,37	7,10 \pm 0,03	7,79 \pm 0,10	7,49 \pm 0,20
12	6,76 \pm 0,48	7,58 \pm 0,57	7,73 \pm 0,15	7,70 \pm 0,38
24	-	-	7,12 \pm 0,02	7,14 \pm 0,16

Πίνακας XVII. pH κυρίως εντέρου ατόμων τσιπούρας και λαυρακιού σε σχέση με το χρόνο μετά την παροχή του γεύματος (Σχήμα 6.7). Οι τιμές δίνονται ως δίνονται μέσος όρος

\pm τυπική απόκλιση

Χρόνος (ώρες)	Τσιπούρα		Λαυράκι	
	Σιτηρέσιο C	Σιτηρέσιο X	Σιτηρέσιο C	Σιτηρέσιο X
2	7,13 \pm 0,25	7,57 \pm 0,08	8,08 \pm 0,25	7,85 \pm 0,44
4	7,75 \pm 0,17	7,85 \pm 0,38	8,12 \pm 0,15	8,06 \pm 0,09
6	7,65 \pm 0,29	7,71 \pm 0,15	8,09 \pm 0,04	8,13 \pm 0,08
8	7,66 \pm 0,28	7,91 \pm 0,17	8,22 \pm 0,10	8,09 \pm 0,10
10	7,87 \pm 0,09	8,21 \pm 0,09	8,26 \pm 0,13	8,10 \pm 0,07
12	7,47 \pm 0,32	8,03 \pm 0,31	8,08 \pm 0,07	8,13 \pm 0,08
24	-	-	7,63 \pm 0,00	7,77 \pm 0,17
26	-	-	7,76 \pm 0,00	7,97 \pm 0,12

Πίνακας XVIII. pH οπίσθιου εντέρου ατόμων τσιπούρας και λαυρακιού σε σχέση με το χρόνο μετά την παροχή του γεύματος (Σχήμα 6.8). Οι τιμές δίνονται ως δίνονται μέσος όρος \pm τυπική απόκλιση

Χρόνος (ώρες)	Τσιπούρα		Λαυράκι	
	Σιτηρέσιο C	Σιτηρέσιο X	Σιτηρέσιο C	Σιτηρέσιο X
2	-	-	7,92 \pm 0,42	8,03 \pm 0,20
4	7,93 \pm 0,27	-	7,95 \pm 0,43	7,84 \pm 0,30
6	7,68 \pm 0,48	7,81 \pm 0,10	8,06 \pm 0,17	7,97 \pm 0,23
8	7,84 \pm 0,30	7,85 \pm 0,15	8,00 \pm 0,19	7,90 \pm 0,14
10	7,89 \pm 0,15	7,86 \pm 0,20	7,59 \pm 0,13	7,84 \pm 0,09
12	7,55 \pm 0,31	8,06 \pm 0,22	7,79 \pm 0,01	7,89 \pm 0,05
24	-	-	7,79 \pm 0,25	7,80 \pm 0,36
26	-	-	7,77 \pm 0,10	8,03 \pm 0,19

Πίνακας XIX. Ξηρό βάρος στομαχικού περιεχομένου ατόμων λαυρακιού (90g) και τσιπούρας (130g) σε συνάρτηση με το χρόνο μετά την παροχή του γεύματος των πειραματικών σιτηρεσίων (Σχήμα 6.9). Οι τιμές δίνονται ως δίνονται μέσος όρος \pm τυπική απόκλιση

Χρόνος (ώρες)	Τσιπούρα		Λαυράκι	
	Σιτηρέσιο C	Σιτηρέσιο X	Σιτηρέσιο C	Σιτηρέσιο X
0	1,31 \pm 0,00	1,27 \pm 0,00	1,31 \pm 0,00	1,27 \pm 0,00
2	0,43 \pm 0,06	0,96 \pm 0,19	0,77 \pm 0,26	0,83 \pm 0,32
4	0,37 \pm 0,01	0,51 \pm 0,05	0,81 \pm 0,33	0,69 \pm 0,41
6	0,22 \pm 0,15	0,32 \pm 0,27	0,56 \pm 0,26	0,72 \pm 0,29
8	0,14 \pm 0,12	0,21 \pm 0,14	0,73 \pm 0,38	0,46 \pm 0,33
10	0,15 \pm 0,11	0,12 \pm 0,17	0,61 \pm 0,13	0,48 \pm 0,10
12	-	0,06 \pm 0,07	0,21 \pm 0,01	0,25 \pm 0,07
24	-	-	0,07 \pm 0,03	0,14 \pm 0,25
26	-	-	0,09 \pm 0,03	0,13 \pm 0,14
29	-	-	0,09 \pm 0,03	-
32	-	-	0,08 \pm 0,00	-