



Ευρωπαϊκή Ένωση
Ευρωπαϊκό Ταμείο
Περιφερειακής Ανάπτυξης

ΕΠΑΝΕΚ 2014-2020
ΕΠΙΧΕΙΡΗΣΙΑΚΟ ΠΡΟΓΡΑΜΜΑ
ΑΝΤΑΓΩΝΙΣΤΙΚΟΤΗΤΑ
ΕΠΙΧΕΙΡΗΜΑΤΙΚΟΤΗΤΑ
ΚΑΙΝΟΤΟΜΙΑ



Με τη συγχρηματοδότηση της Ελλάδας και της Ευρωπαϊκής Ένωσης

**ΔΡΑΣΗ ΕΘΝΙΚΗΣ ΕΜΒΕΛΕΙΑΣ:
«ΕΡΕΥΝΩ-ΔΗΜΙΟΥΡΓΩ-ΚΑΙΝΟΤΟΜΩ»**



**Αξιοποίηση υγρών αποβλήτων για καλλιέργεια μικροφυκών και
χρησιμοποίηση αυτών προς παραγωγή βιοντίζελ και συμπληρωμάτων
ιχθυοτροφών**

«Alga4Fuel&Aqua»

**Παραδοτέο 20: Έκθεση καταρτισμού ιχθυοτροφών & αναλύσεων
ποιότητας τους**

Έκδοση 2.0: 08/12/2021

*Αυτό το έργο χρηματοδοτήθηκε από το Επιχειρησιακό Πρόγραμμα
«Ανταγωνιστικότητα – Επιχειρηματικότητα - Καινοτομία (ΕΠΑνΕΚ) 2014-2020,
Δράση Εθνικής Εμβέλειας «Ερευνώ-Δημιουργώ-Καινοτομώ», με Κωδικό Έργου
Τ1ΕΔΚ-01580*

Λεπτομέρειες Έργου:

Πρόγραμμα: **ΕΠΙΧΕΙΡΗΣΙΑΚΟ ΠΡΟΓΡΑΜΜΑ «ΑΝΤΑΓΩΝΙΣΤΙΚΟΤΗΤΑ – ΕΠΙΧΕΙΡΗΜΑΤΙΚΟΤΗΤΑ – ΚΑΙΝΟΤΟΜΙΑ (ΕΠΑνΕΚ) 2014-2020**

Τίτλος Έργου: **Αξιοποίηση υγρών αποβλήτων για καλλιέργεια μικροφυκών και χρησιμοποίηση αυτών προς παραγωγή βιοντήζελ και συμπληρωμάτων ιχθυοτροφών**

Ακρωνύμιο Έργου: **Alga4Fuel&Aqua**

Αριθμός Πρότασης: **Τ1ΕΔΚ-01580**

Συντονιστής: **Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας**

Διάρκεια: **09/07/2018 – 08/10/2022**

Λεπτομέρειες Παραδοτέου

ΕΕ5: Δοκιμή ΜΦ για διατροφή ιχθύων

Εργασία ΥΕ 5.1.: Σχεδιασμός, παρασκευή και ανάλυση ιχθυοτροφών

Τίτλος Παραδοτέου: Έκθεση καταρτισμού ιχθυοτροφών & αναλύσεων ποιότητας τους

Υπεύθυνος Φορέας: BIOMAR

Συμμετέχων Εταίρος: Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας

Προθεσμία Παράδοσης: Μήνας 40

Ημέρα Παράδοσης έκδοσης 2.0: 08/12/2021

Περιεχόμενα

1.	ΠΕΡΙΛΗΨΗ	1
2.	ΕΙΣΑΓΩΓΗ	5
3.	ΧΗΜΙΚΕΣ ΑΝΑΛΥΣΕΙΣ ΘΡΕΠΤΙΚΗΣ ΣΥΣΤΑΣΗΣ ΙΧΘΥΟΤΡΟΦΩΝ	8
3.1	Προσδιορισμός υγρασίας-ξηρής ουσίας	8
3.2	Προσδιορισμός ολικών αζωτούχων ουσιών	9
3.3	Προσδιορισμός ολικών λιπών με τη μέθοδο Soxhlet	11
3.4	Προσδιορισμός ολικών λιπών με τη μέθοδο Folch et al. (1957)	12
3.5	Προσδιορισμός τέφρας	13
3.6	Προσδιορισμός ολικής ενέργειας	14
3.7	Προσδιορισμός ολικών λιπαρών οξέων	15
3.8	Προσδιορισμός αμινοξέων	16
4.	ΚΑΤΑΡΤΙΣΜΟΣ ΙΧΘΥΟΤΡΟΦΩΝ ΚΑΙ ΑΝΑΛΥΣΗ ΤΗΣ ΠΟΙΟΤΗΤΑΣ ΤΟΥΣ	17
4.1	Ιχθυοτροφές τσιπούρας με εμπορικά μικροφύκη (1ο διατροφικό πείραμα)	17
4.2	Ιχθυοτροφές λαβρακιού με εμπορικά μικροφύκη (2ο διατροφικό πείραμα)	23
4.3	Ιχθυοτροφές τσιπούρας με μικροφύκη υγρών αποβλήτων (3ο διατροφικό πείραμα)	29
4.4	Ιχθυοτροφές λαβρακιού με μικροφύκη υγρών αποβλήτων (4ο διατροφικό πείραμα)	34
	ΕΝΔΕΙΚΤΙΚΗ ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ	38

Κατάλογος Εικόνων

Εικόνα 1	Φούρνος σταθερής θερμοκρασίας	9
Εικόνα 2	Συσκευή πέψης	10
Εικόνα 3	Συσκευή απόσταξης	10
Εικόνα 4	Συσκευή εκχύλισης λιπών	12

Εικόνα 5	Κλίβανος αποτέφρωσης	14
Εικόνα 6	Αδιαβατικό θερμιδόμετρο	15
Εικόνα 7	Αέριος χρωματογράφος	16

Κατάλογος Πινάκων

Πίνακας 1	Θρεπτική σύσταση (%), προφίλ αμινοξέων (g/100g πρωτεΐνης) και συγκεκριμένων λιπαρών οξέων (g/100g ολικών λιπαρών οξέων) των πρώτων υλών (ιχθυάλευρο, ιχθυέλαιο, <i>Chlorella vulgaris</i> , <i>Schizochytrium sp.</i> , <i>Nannochloropsis sp.</i>), που χρησιμοποιήθηκαν για το κατάρτισμό των ιχθυοτροφών τσιπούρας με εμπορικά μικροφύκη (1 ^ο διατροφικό πείραμα)	19
Πίνακας 2	Κατάρτισμός ιχθυοτροφών τσιπούρας με εμπορικά μικροφύκη (1 ^ο διατροφικό πείραμα)	20
Πίνακας 3	Θρεπτική σύσταση (%), προφίλ αμινοξέων (g/100g πρωτεΐνης) και λιπαρών οξέων (g/100g ολικών λιπαρών οξέων) των πειραματικών ιχθυοτροφών της τσιπούρας με εμπορικά μικροφύκη (1 ^ο διατροφικό πείραμα)	21
Πίνακας 4	Θρεπτική σύσταση (%), προφίλ αμινοξέων (g/100g πρωτεΐνης) και συγκεκριμένων λιπαρών οξέων (g/100g ολικών λιπαρών οξέων) των πρώτων υλών (ιχθυάλευρο, ιχθυέλαιο, <i>Chlorella vulgaris</i> , <i>Schizochytrium sp.</i> , <i>Nannochloropsis sp.</i>), που χρησιμοποιήθηκαν για το κατάρτισμό των ιχθυοτροφών του λαβρακιού με εμπορικά μικροφύκη (2 ^ο διατροφικό πείραμα)	24
Πίνακας 5	Κατάρτισμός ιχθυοτροφών λαβρακιού με εμπορικά μικροφύκη (2 ^ο διατροφικό πείραμα)	26
Πίνακας 6	Θρεπτική σύσταση (g/Kg), προφίλ αμινοξέων (g/100g πρωτεΐνης) και λιπαρών οξέων (g/100g ολικών λιπαρών οξέων) των ιχθυοτροφών λαβρακιού με εμπορικά μικροφύκη (2 ^ο διατροφικό πείραμα)	27

Πίνακας 7	Θρεπτική σύσταση (%) και προφίλ συγκεκριμένων λιπαρών οξέων (g/100g ολικών λιπαρών οξέων) των πρώτων υλών: ιχθυάλευρο, ιχθυέλαιο, <i>Schizochytrium sp.</i> (υγρών αποβλήτων), <i>Schizochytrium sp.</i> (εμπορικό), <i>Nannochloropsis sp.</i> (υγρών αποβλήτων), <i>Nannochloropsis sp.</i> (εμπορικό), που χρησιμοποιήθηκαν για το καταρτισμό των ιχθυοτροφών τσιπούρας (3 ^ο διατροφικό πείραμα)	31
Πίνακας 8	Καταρτισμός ιχθυοτροφών τσιπούρας με μικροφύκη υγρών αποβλήτων (3ο διατροφικό πείραμα)	32
Πίνακας 9	Θρεπτική σύσταση (%) και συγκεκριμένων λιπαρών οξέων (g/100g ολικών λιπαρών οξέων) των πρώτων υλών (ιχθυέλαιο, <i>Schizochytrium sp.</i> , <i>Nannochloropsis sp.</i>), που χρησιμοποιήθηκαν για το καταρτισμό των ιχθυοτροφών του λαβρακιού με μικροφύκη υγρών αποβλήτων (3 ^ο διατροφικό πείραμα)	33
Πίνακας 10	Καταρτισμός και θρεπτική σύσταση ιχθυοτροφών λαβρακιού με μικροφύκη υγρών αποβλήτων (4ο διατροφικό πείραμα)	36
Πίνακας 11	Θρεπτική σύσταση (%) και συγκεκριμένων λιπαρών οξέων (g/100g ολικών λιπαρών οξέων) των πρώτων υλών (ιχθυέλαιο, <i>Schizochytrium sp.</i> , <i>Nannochloropsis sp.</i>), που χρησιμοποιήθηκαν για το καταρτισμό των ιχθυοτροφών του λαβρακιού με μικροφύκη υγρών αποβλήτων (4 ^ο διατροφικό πείραμα)	37

1. ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Το Παραδοτέο Π20 «Έκθεση καταρτισμού ιχθυοτροφών & αναλύσεων ποιότητας τους» εντάσσεται στην Υποενότητα Εργασίας ΥΕ5.1 «Σχεδιασμός, παρασκευή & ανάλυση ποιότητας ιχθυοτροφών». Οι πειραματικές ιχθυοτροφές χρησιμοποιήθηκαν στα συνολικά τέσσερα (4) διατροφικά πειράματα ιχθύων της ΥΕ5.2 «Πειραματικές εκτροφές τσιπούρας και λαβρακιού με χρήση μικροφυκών στις ιχθυοτροφές», προκειμένου να διερευνηθεί η καταλληλότητα των μικροφυκών ως πρώτες ύλες στα σιτηρέσια των δύο ειδών ιχθύων. Τα μικροφύκη που χρησιμοποιήθηκαν ήταν των ειδών *Schizochytrium sp.* και *Nannochloropsis sp.*, ως πηγές ω-3 λιπαρών οξέων και το *Chlorella vulgaris* ως πηγή πρωτεΐνης και προήλθαν από α) εμπορικά σκευάσματα (εμπορικά μικροφύκη) και β) από πιλοτική καλλιέργεια κατά τη διάρκεια του έργου με χρήση υγρών αποβλήτων της βιομηχανίας βιοκαυσίμων (μικροφύκη υγρών αποβλήτων). Συγκεκριμένα, χρησιμοποιήθηκαν οι παρακάτω ιχθυοτροφές:

- 1^ο διατροφικό πείραμα: ιχθυοτροφές με εμπορικά μικροφύκη στη διατροφή της τσιπούρας
- 2^ο διατροφικό πείραμα: ιχθυοτροφές με εμπορικά μικροφύκη στη διατροφή του λαβρακιού
- 3^ο διατροφικό πείραμα: ιχθυοτροφές με μικροφύκη υγρών αποβλήτων στη διατροφή της τσιπούρας
- 4^ο διατροφικό πείραμα: ιχθυοτροφές με μικροφύκη υγρών αποβλήτων στη διατροφή του λαβρακιού

Σκοπός του 1^{ου} διατροφικού πειράματος ήταν η διερεύνηση των επιδράσεων α) της υποκατάστασης της πρωτεΐνης του διαιτητικού ιχθυαλεύρου από πρωτεΐνη του είδους *Chlorella vulgaris* και β) της μερικής και ολικής υποκατάστασης του διαιτητικού ιχθυελαίου από μίγμα των ειδών *Schizochytrium sp.* και *Nannochloropsis sp.*, στην ανάπτυξη, τη φυσιολογία θρέψης και τη θρεπτική αξία της τσιπούρας. Συνολικά καταρτίστηκαν έξι ισοαζωτούχες (52%) και ισοενεργειακές (21 MJ/Kg) ιχθυοτροφές. Στην ιχθυοτροφή του μάρτυρα (Control) που δεν περιείχε μικροφύκη, χρησιμοποιήθηκε ιχθυάλευρο ως αποκλειστική πηγή

ζωικής πρωτεΐνης και ιχθυέλαιο ως αποκλειστική πηγή ω-3 πολυακόρεστων λιπαρών οξέων. Στις ιχθυοτροφές CM10, CM20 και CM30 η πρωτεΐνη του ιχθυαλεύρου της ιχθυοτροφής του μάρτυρα υποκαταστάθηκε από άλευρο *Chlorella vulgaris* (εμπορικό) κατά 10%, 20% και 30%, αντίστοιχα, ενώ στις ιχθυοτροφές SN50 και SN100 το ιχθυέλαιο της τροφής μάρτυρα υποκαταστάθηκε από μίγμα των μικροφυκών *Schizochytrium* sp. (εμπορικό) και *Nannochloropsis* sp. (εμπορικό) κατά 50% και 100%, αντίστοιχα. Το μίγμα των *Schizochytrium* sp. και *Nannochloropsis* sp. ήταν τέτοιο ώστε να παρέχει περίπου ίσα επίπεδα EPA (0,74% της τροφής) και DHA (1,31%) με εκείνα της τροφής του μάρτυρα. Οι ιχθυοτροφές SN50 και SN100 καταρτίστηκαν επίσης να είναι ισολιπιδικές (16%) με την τροφή Control.

Σκοπός του 2^{ου} διατροφικού πειράματος ήταν η διερεύνηση των επιδράσεων α) της υποκατάστασης της πρωτεΐνης του διαιτητικού ιχθυαλεύρου από πρωτεΐνη του είδους *Chlorella vulgaris* και β) της μερικής και ολικής υποκατάστασης του διαιτητικού ιχθυελαίου από μίγμα των ειδών *Schizochytrium* sp. και *Nannochloropsis* sp., στην ανάπτυξη, τη φυσιολογία θρέψης και τη θρεπτική αξία του λαβρακιού. Συνολικά καταρτίστηκαν έξι ισοαζωτούχες (52%) και ισοενεργειακές (21 MJ/Kg) ιχθυοτροφές. Στην ιχθυοτροφή του μάρτυρα (Control) που δεν περιείχε μικροφύκη, χρησιμοποιήθηκε ιχθυάλευρο ως αποκλειστική πηγή ζωικής πρωτεΐνης και ιχθυέλαιο ως αποκλειστική πηγή ω-3 πολυακόρεστων λιπαρών οξέων. Στις ιχθυοτροφές CM10, CM20 και CM30 η πρωτεΐνη του ιχθυαλεύρου υποκαταστάθηκε από άλευρο *Chlorella vulgaris* (εμπορικό) κατά 10%, 20% και 30%, αντίστοιχα, ενώ στις ιχθυοτροφές SN50 και SN100 το ιχθυέλαιο της τροφής μάρτυρα υποκαταστάθηκε από μίγμα των μικροφυκών *Schizochytrium* sp. (εμπορικό) και *Nannochloropsis* sp. (εμπορικό) κατά 50% και 100%, αντίστοιχα. Το μίγμα των *Schizochytrium* sp. και *Nannochloropsis* sp. ήταν τέτοιο ώστε να παρέχει ίσα επίπεδα EPA (1,62% της τροφής) και DHA (1,10%) με εκείνα της τροφής μάρτυρα.

Σκοπός του 3^{ου} διατροφικού πειράματος ήταν α) η διερεύνηση των επιδράσεων της μερικής υποκατάστασης του διαιτητικού ιχθυελαίου και του διαιτητικού ιχθυαλεύρου από μίγμα των ειδών *Schizochytrium* sp. και

Nannochloropsis sp., τα οποία προήλθαν από την πιλοτική καλλιέργεια τους με χρήση υγρών αποβλήτων, στην ανάπτυξη, τη φυσιολογία θρέψης και τη θρεπτική αξία της τσιπούρας και β) η σύγκριση της αποδοτικότητας των μικροφυκών υγρών αποβλήτων με τα εμπορικά μικροφύκη. Συνολικά καταρτίστηκαν τρεις (3) ισοαζωτούχες (49%), ισοενεργειακές (21 MJ/Kg) και ισολιπιδικές (15%) ιχθυοτροφές καταρτίστηκαν. Η ιχθυοτροφή του μάρτυρας (ControlS) δεν περιείχε μικροφύκη και χρησιμοποιήθηκε ιχθυάλευρο ως αποκλειστική πηγή ζωικής πρωτεΐνης και ιχθυέλαιο ως αποκλειστική πηγή ω-3 πολυακόρεστων λιπαρών οξέων. Το επίπεδο του ιχθυαλεύρου στην τροφή ControlS ήταν 25% και του ιχθυελαίου 7% επί της τροφής. Στην τροφή SNoS έγινε υποκατάσταση του λίπους του ιχθυελαίου της τροφής του μάρτυρα κατά 15% και της πρωτεΐνης του ιχθυαλεύρου κατά 16% από ένα μείγμα *Schizochytrium* sp. και *Nannochloropsis* sp. τα οποία καλλιεργήθηκαν με την χρήση αποβλήτων που προήλθαν από την βιομηχανία βιοκαυσίμων. Στην τροφή SNoS έγινε υποκατάσταση του λίπους του ιχθυελαίου της τροφής του μάρτυρα κατά 15% και της πρωτεΐνης του ιχθυαλεύρου κατά 7% και από ένα μείγμα εμπορικών προϊόντων *Schizochytrium* sp. και *Nannochloropsis* sp.

Σκοπός του 4^{ου} διατροφικού πειράματος ήταν α) η διερεύνηση των επιδράσεων της μερικής υποκατάστασης του διαιτητικού ιχθυελαίου και του διαιτητικού ιχθυαλεύρου από μίγμα των ειδών *Schizochytrium* sp. και *Nannochloropsis* sp., τα οποία προήλθαν από την πιλοτική καλλιέργεια τους με χρήση υγρών αποβλήτων, στην ανάπτυξη, τη φυσιολογία θρέψης και τη θρεπτική αξία του λαβρακιού και β) η σύγκριση της αποδοτικότητας των μικροφυκών υγρών αποβλήτων με τα εμπορικά μικροφύκη. Συνολικά καταρτίστηκαν τρεις (3) ισοαζωτούχες (49%), ισοενεργειακές (21 MJ/Kg) και ισολιπιδικές (15%) ιχθυοτροφές καταρτίστηκαν. Η ιχθυοτροφή του μάρτυρας (ControlD) δεν περιείχε μικροφύκη και χρησιμοποιήθηκε ιχθυάλευρο ως αποκλειστική πηγή ζωικής πρωτεΐνης και ιχθυέλαιο ως αποκλειστική πηγή ω-3 πολυακόρεστων λιπαρών οξέων. Το επίπεδο του ιχθυαλεύρου στην τροφή ControlS ήταν 25% και του ιχθυελαίου 7% επί της τροφής. Στην τροφή SNoD έγινε υποκατάσταση του λίπους του ιχθυελαίου της τροφής του μάρτυρα κατά 15% και της πρωτεΐνης του ιχθυαλεύρου κατά 16% από ένα μείγμα *Schizochytrium* sp. και *Nannochloropsis* sp. τα οποία καλλιεργήθηκαν με

την χρήση αποβλήτων που προήλθαν από την βιομηχανία βιοκαυσίμων. Στην τροφή SNcD έγινε υποκατάσταση του λίπους του ιχθυελαίου της τροφής του μάρτυρα κατά 15% και της πρωτεΐνης του ιχθυαλεύρου κατά 7% και από ένα μείγμα εμπορικών προϊόντων *Schizochytrium* sp. και *Nannochloropsis* sp.