



ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΚΟ
ΕΚΠΑΙΔΕΥΤΙΚΟ
ΙΔΡΥΜΑ

ΤΕΙ ΗΠΕΙΡΟΥ

Σχολή: Τεχνολογία Γεωπονία & Τεχνολογία
Τροφίμων & Διατροφής

Τμήμα: Τεχνολόγων Γεωπόνων

Κατεύθυνση: Ζωικής Παραγωγής



Θέμα: Ανάλυση ζωοτροφών με την μέθοδο Weende Άρτα 2015

Πτυχιακή Διατριβή: Κωνσταντίνα Σκουτέλη
Ιωάννης Κατάκης

Επιβλέπων: καθ. Σωτήριος Σ. Κανδρέλης

Περιεχόμενα

1. Πρόλογος.....	1
2.Εισαγωγή.....	3
3. Ανασκόπηση βιβλιογραφίας.....	4
3.1 Γενικά.....	4
3.2 Διάκριση ζωοτροφών.....	7
3.3 Σχέση ζωοτροφών και πρωτεϊνών.....	9
3.4 Χημική σύσταση του σώματος των ζώων.....	10
3.5 Υγρασία.....	10
3.6 Ξηρή ουσία.....	11
3.7 Τέφρα.....	11
3.8 Οργανική ουσία.....	12
3.8.1 Υδατάνθρακες.....	12
3.9.2 Πρωτεΐνες.....	13
3.8.3 Λίπη.....	14
4. Εργαστηριακές αναλύσεις.....	16
4.1 Αναλυτική Μέθοδος Weende.....	16
4.1.1 Προσδιορισμός Υγρασίας-Ξηρής ουσίας.....	17
4.1.2 Προσδιορισμός Οργανικής και Ανόργανης ουσίας (τέφρα).....	19
4.1.3 Προσδιορισμός Αζωτούχων ουσιών.....	20
4.1.4 Προσδιορισμός λιπαρών ουσιών.....	29
4.1.5 Προσδιορισμός ινωδών ουσιών με τη κλασική μέθοδο Weende.....	32
4.1.6 Προσδιορισμός ελεύθερων αζώτου εκχυλισματικών ουσιών.....	34
4.1.7 Προσδιορισμός ινωδών ουσιών.....	35
4.2 Προετοιμασία δειγμάτων προς ανάλυση.....	44
Βιβλιογραφία.....	48

1. Πρόλογος

Η κτηνοτροφία είναι από τις πιο αρχαίες δραστηριότητες του ανθρώπου. Ο άνθρωπος στην προσπάθεια του να εξασφαλίσει την απαραίτητη ποσότητα τροφής συμπέρανε ότι ήταν δυνατό μερικά ζώα να μην τα σκοτώνει αλλά να τα αιχμαλωτίζει, ιδιαίτερα την εποχή που ήταν πολλά, να τα εκτρέφει και να τα σκοτώνει όταν τα είχε ανάγκη. Έτσι, ο πρωτόγονος άνθρωπος ξεκίνησε να εξοικειώνεται με την έννοια της κτηνοτροφίας (Βικιπαίδεια 2015).

Σήμερα η κτηνοτροφία αποτελεί έναν από τους πιο δυναμικούς παραγωγικούς τομείς της χώρας. Επίσης, η άσκηση της κτηνοτροφίας, απαιτεί διαρκή και άμεση υποστήριξη από επιστήμονες (γεωπόνους ζωικής παραγωγής και κτηνιάτρους). Η σημερινή κτηνοτροφική παραγωγή βασίζεται τόσο στην αύξηση του αριθμού των ζώων όσο και στην αύξηση της παραγωγικότητας και της απόδοσης τους. Για το λόγο αυτό η ζωοτεχνία, σαν επιστήμη, βασίζεται, χρησιμοποιεί και αξιοποιεί τις γνώσεις που τις παρέχουν η βιολογία, η γενετική, η κτηνιατρική, η διαιτολογία καθώς και πολλές άλλες επιστήμες. Με τη συνεχή βελτίωση της εκτροφής των ζώων καθώς και με την ορθολογική κατάρτιση και αξιοποίηση του σιτηρεσίου, η παραγωγικότητα των ζώων έχει ανέβει σε μεγάλο βαθμό (Βικιπαίδεια 2015).

Η διατροφή είναι από τους πλέον σημαντικούς παράγοντες στη ζωική παραγωγή, γιατί πέραν της υγείας και της παραγωγικότητας των ζώων επηρεάζει σημαντικά τόσο το κόστος παραγωγής των κτηνοτροφικών προϊόντων όσο και την ποσότητα αυτών (Ζέρβας 2007). Επίσης, Η διατροφή των ζώων αποτελεί το 45-65% του κόστους παραγωγής των ζωικών προϊόντων (Buxton 1996). Τις τελευταίες δεκαετίες που οι απαιτήσεις εκ μέρους των καταναλωτών για περισσότερα και ποιοτικώς καλύτερα τρόφιμα χαμηλού κόστους είναι αυξημένες, η συμβολή της διατροφής ήταν και παραμένει καθοριστικής σημασίας (Ζέρβας 2007).

Συμπεραίνουμε λοιπόν, λαμβάνοντας υπ'όψιν την απaráμιλλα ευεργετική επιρροή της στην υγεία και την παραγωγικότητα των ζώων, ότι η διατροφή είναι ο πλέον καθοριστικός παράγοντας στην ζωική παραγωγή. Γι' αυτό η επιλογή των ζωοτροφών και η γνώση της θρεπτικής τους αξίας, ώστε να καλύπτονται επαρκώς οι ανάγκες των ζώων, πρέπει να συνδυάζεται με τη συμπίεση του κόστους παραγωγής στο ελάχιστο δυνατό (Ζέρβας και συν. 2004).

Οι διαρκώς αυξανόμενες απαιτήσεις του ανθρώπου για περισσότερα και ποιοτικώς καλύτερα τρόφιμα σε συνδυασμό με την επιδίωξη της μείωσης του κόστους παραγωγής τους, αποτέλεσαν τις κινητήριες δυνάμεις για την εξέλιξη της διατροφής των ζώων στο σημερινό επιστημονικό επίπεδο. Η παρούσα πτυχιακή πραγματεύεται την μέθοδο Weende, μία από τις σημαντικότερες τεχνικές που γεννήθηκαν ως αποτέλεσμα της επιστημονικής εξέλιξης, της διατροφής των ζώων.

Θα θέλαμε να ευχαριστήσουμε όλους όσους μας βοήθησαν στην πραγματοποίηση της πτυχιακής διατριβής και ειδικότερα τον επιβλέποντα

καθηγητή κ. Σωτήριο Κανδρέλη του τμήματος Τεχνολόγων Γεωπόνων του Τ.Ε.Ι Ηπείρου, για την ανάθεση του θέματος και την καθοδήγηση που μας πρόσφερε και την ευκαιρία να εργαστούμε στο εργαστήριο Διατροφής αγροτικών ζώων του τμήματος. Επίσης, θα θέλαμε να ευχαριστήσουμε τον κ. Χαράλαμπο Κουτσούκη, Τεχνολόγο Γεωπόνο M.Sc, Ε.Δ.Ι.Π και εργαστηριακό συνεργάτη του τμήματος Τεχνολόγων Γεωπόνων του Τ.Ε.Ι Ηπείρου, για την συνεχή καθοδήγηση και βοήθεια κατά την διάρκεια της πτυχιακής διατριβής αλλά και την συνεχή παρουσία του στον εργαστηριακό χώρο με σκοπό την βοήθεια σε οποιοδήποτε πρόβλημα ή απορία προέκυπτε.

2.Εισαγωγή

Η παραγωγή κτηνοτροφικών προϊόντων όπως το γάλα, το κρέας και τα αυγά, τα οποία είναι απαραίτητα για τον άνθρωπο, εξαρτάται από τον συνδυασμό ενός συνόλου παραγόντων που επηρεάζονται από τον γονότυπο του ζώου, την υγεία του ζώου, τις περιβαλλοντικές συνθήκες και φυσικά την διατροφή του ζώου.

Η διατροφή είναι ο πιο καθοριστικός παράγοντας στον κλάδο της ζωικής παραγωγής τόσο για την υγεία των ζώων και την παραγωγικότητα, όσο και για το κόστος παράγωγης των κτηνοτροφικών προϊόντων (Κανδρέλης και συν. 2009). Αυτό καθιστά απαραίτητη την ορθή επιλογή των ζωοτροφών που συνεπάγεται με την γνώση της θρεπτικής τους αξίας, ώστε να καλύπτονται οι ανάγκες των ζώων συνδυάζοντας παράλληλα την συμπίεση του κόστους παράγωγης στο ελάχιστο δυνατό (Ζέρβας και συν. 2004).

Η μετατροπή των θρεπτικών συστατικών σε τελικό προϊόν δεν θα μπορέσει να είναι πλήρης διότι μέρος αυτών διατίθεται για τη λειτουργία των διαφόρων οργάνων του ζώου. Η διαρκής μεταβολή κατάστασης και δομή της ύλης είναι διεργασίες που λαμβάνουν χώρα στο ζωικό οργανισμό και είναι φαινόμενα που χαρακτηρίζουν την ζωή. Η ύλη που φθείρεται κατά τις μεταβολές αυτές αντικαθιστάται με τη πρόσληψη τροφής. Τα συστατικά της τροφής από χημικής άποψης ανήκουν στις ίδιες κατηγορίες ενώσεων όπως τα συστατικά του σώματος των ζώων. Όπως προκύπτει, η εξέταση της χημικής σύνθεσης των τροφών σε σχέση με τη χημική σύνθεση του ζωικού σώματος, είναι αναγκαία για να επέλθει η πλήρης κατανόηση όλων όσων αφορούν τις λειτουργίες θρέψης και την κάλυψη αναγκών των ζωικών οργανισμών (Κανδρέλης και συν. 2009).

Σκοπός της παρούσας πτυχιακής διατριβής ήταν η εξοικείωση μας με τη χρήση εργαστηριακών οργάνων και με τη διεξαγωγή πειρατικών αναλύσεων σε ζωοτροφές με την μέθοδο Weende.

3. Ανασκόπηση βιβλιογραφίας

3.1 Γενικά

Α) Τροφή

Γενικά ως τροφή χαρακτηρίζεται κάθε ύλη ζωικής, φυτικής ή και ανόργανης προέλευσης η οποία χωρίς να επιφέρει επιβλαβείς συνέπειες στον οργανισμό του ζώου, υφίσταται ορισμένες διεργασίες μετά την πρόσληψη της. Αυτές είναι οι εξής:

- Η διαδικασία πέψης
- Η διαδικασία απορρόφησης
- Η χρησιμοποίηση των θρεπτικών συστατικών

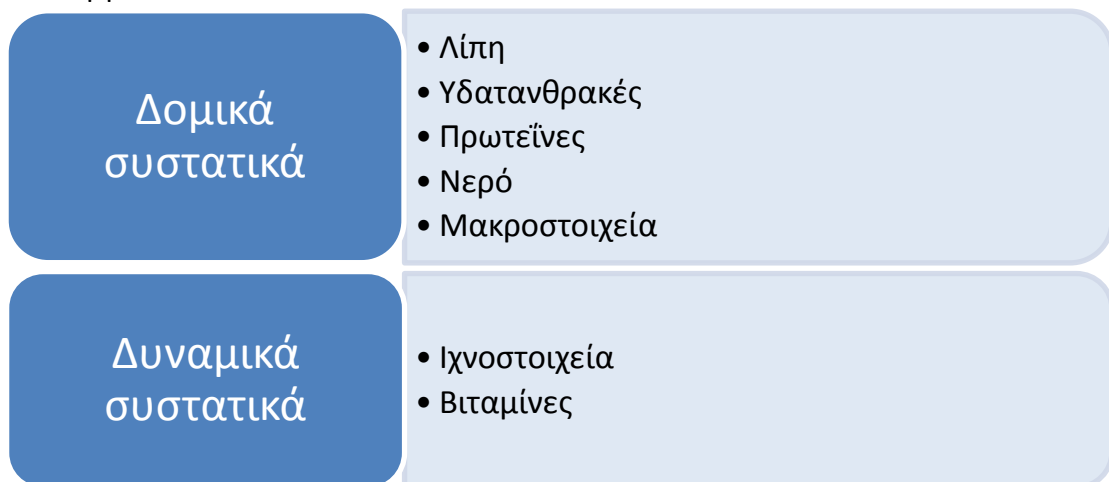
Φυσικά με τον παραπάνω γενικό όρο εννοούμε το βρώσιμο υλικό, διότι πολλές φορές κάποια συστατικά των τροφών δεν πέπτονται.

Β) Σιτηρέσιο

Το σιτηρέσιο χαρακτηρίζεται από ένα σύνολο ζωοτροφών που καταναλώνει ένας ζωικός οργανισμός για την συνολική κάλυψη των αναγκών του σε ενέργεια αλλά και θρεπτικά συστατικά. Συνήθως, τα σιτηρέσια των αγροτικών ζώων αποτελούνται από ζωοτροφές φυτικής προέλευσης, φυσικά κάποιες φορές ένα μικρό μέρος αυτών μπορεί να είναι ζωικής προέλευσης (γάλα, ιχθυάλευρο) ή ανόργανης προέλευσης (αλάτι, ιχνοστοιχεία) (Ζέρβας 2005).

Γ) Θρεπτικά συστατικά

Είναι ουσίες που συμμετέχουν στα μεταβολικά φαινόμενα του ζωικού οργανισμού, επιτρέποντας την εκδήλωση μιας ή περισσότερων φυσιολογικών λειτουργιών.



Σχήμα 3.1: Διάκριση θρεπτικών συστατικών

Αδρανή συστατικά είναι ουσίες που μπορεί να περιέχονται στη ζωοτροφή αλλά δεν συμμετέχουν στα φαινόμενα της πέψης του ζωικού οργανισμού. Δεδομένου των συνθηκών αυτών δεν έχουν ούτε θετική ούτε αρνητική επίδραση στο ζωικό οργανισμό (Ζέρβας και συν. 2004).

Τα νουκλεϊνικά οξέα, όπως και οι πρωτεΐνες, ανήκουν στην κατηγορία των αζωτούχων ενώσεων και είναι βασικό κομμάτι της σύνθεσης των πρωτεϊνών των ζωικών οργανισμών (Βικιπαίδεια 2015).

Οι βιταμίνες βρίσκονται στα φυτά και στα ζώα σε μικρές ποσότητες και πολλές από αυτές είναι σημαντικές ως συστατικά ενδημικών συστημάτων. Σημαντική διαφορά που εμφανίζεται μεταξύ των φυτών και των ζώων είναι ότι, τα μεν φυτά μπορούν και συνθέτουν όλες τις βιταμίνες που είναι απαραίτητες για τον μεταβολισμό τους, τα δε ζώα ή δεν μπορούν ή δεν συνθέτουν επαρκείς ποσότητες και ως εκ τούτου εξαρτώνται από εξωτερική χορήγηση (Ζέρβας και συν 2004).

Δ) Θρεπτική αξία ζωοτροφών

Ο όρος θρεπτική αξία αναφέρεται, πάντοτε, σ' ένα συγκεκριμένο είδος βοσκήσιμης ύλης, ενώ χρησιμοποιείται για να σχολιάσουμε τις σχέσεις μεταξύ όλων των παραγόντων. Άλλωστε, ο όρος θρεπτική αξία είναι μια αρκετά ευρεία έννοια, η οποία ομαδοποιεί το ζώο, το φυτό και τα κριτήρια που έχουν ως βάση το χώρο του λιβαδιού. Έτσι, για την περίπτωση της θρεπτικής αξίας της βοσκήσιμης ύλης θεωρούμε ότι αυτή δεν είναι απόλυτα σταθερή, καθώς εξαρτάται από την ποσότητα που καταναλώνει ένα αγροτικό ζώο, η οποία με τη σειρά της διαφοροποιεί στη συνέχεια τις ποσότητες και τις σχετικές αναλογίες των θρεπτικών συστατικών που απορροφούνται (Κανδρέλης 2000). Ένας πιο κατάλληλος ορισμός λέει ότι η θρεπτική αξία αποτελεί τη συγκέντρωση των θρεπτικών συστατικών στη βοσκήσιμη ύλη ή καλύτερα την ανταποδιδόμενη ζωική παραγωγή ανά μονάδα πρόσληψης (Kellaway και συν 1993).

Ε) Ποιότητα ζωοτροφών

Με τον όρο ποιότητα αποδίδουμε την χημική σύνθεσή και τη δομή της προσλαμβανόμενης τροφής. Είναι με άλλα λόγια και αναλυτικότερα, το αποτέλεσμα της χημείας και της ανατομίας της λιβαδικής βλάστησης, των λοιπών φυσικών ιδιοτήτων, βλαβερών ουσιών, παραγόντων ευαισθησίας και του περιεχομένου ύδατος (Κανδρέλης 2000).

ΣΤ) Πεπτικότητα

Υπολογίζεται συνήθως σε ολόκληρη την ποσότητα της ξηρής ουσίας που καταναλώνεται από το ζώο. Στην περίπτωση αυτή μάλιστα ονομάζεται πεπτικότητα της ξηρής ουσίας. Με αυτόν τον τρόπο έχουμε την πεπτικότητα της οργανικής ουσίας δηλαδή την πεπτικότητα που αναφέρεται μόνο στην οργανική ουσία, ενώ υπάρχει και η πεπτικότητα της στάχτης, δεδομένου ότι, για ιστορικούς και μόνο λόγους, όλα τα ανόργανα στοιχεία που περιλαμβάνονται στην τροφή ονομάζονται στάχτη. Τέλος, όταν η πεπτικότητα αναφέρεται σε οποιοδήποτε ιδιαίτερο συστατικό της τροφής έχουμε την αντίστοιχη πεπτικότητα, όπως για παράδειγμα η πεπτικότητα των τοιχωμάτων (Κανδρέλης 2000).

Z) Σημασία ινωδών ουσιών στις ζωοτροφές

Με τον όρο «ινώδεις ουσίες» εννοούμε τα συστατικά των κυτταρικών τοιχωμάτων των φυτών, δηλαδή κυτταρίνη, ημικυτταρίνη και λιγνίνη:

1. Κυτταρίνη: προέρχεται από τον πολυμερισμό της β-D-γλυκόζης, το μόριο των οποίων αποτελείται από μακριές και μη διακλαδισμένες αλυσίδες που σχηματίζονται από 200 έως και 2000 ρίζες β-D-γλυκόζης. Η διάσπαση της στο πεπτικό σύστημα γίνεται με ένζυμα που παράγουν οι μικροοργανισμοί που βρίσκονται στους προστομάχους των μηρυκαστικών. Η μικροβιακή διάσπαση της δίνει ως τελικά προϊόντα τα αέρια μεθανίου (CH₄) και διοξείδιο του άνθρακα (CO₂) καθώς και πτητικά λιπαρά οξέα.
2. Ημικυτταρίνες: με υδρόλυση από αραιά οξέα και αλκάλια αποδίδουν εξόζες, πεντόζες και συχνά ουρανικά οξέα, τα οποία χρησιμεύουν ως αποτοξινωτικοί παράγοντες για τον οργανισμό. Δεν προσβάλλονται από τα πεπτικά ένζυμα παρά μόνο από τα ένζυμα των μικροοργανισμών των προστομάχων των μηρυκαστικών.
3. Η λιγνίνη: είναι ένα άμορφο υλικό το οποίο παρέχει χημική και βιολογική αντοχή στα φυτικά κυτταρικά τοιχώματα καθώς και μηχανική σταθερότητα στο φυτό. Είναι μια άκρως αδρανής ουσία, έχει μεγάλη ανθεκτικότητα στη χημική διάσπαση και επομένως είναι ανθεκτική στη δράση των πεπτικών ενζύμων. Ουσιαστικά θεωρείται εντελώς άπεπτη για όλα τα είδη ζώων (Ζέρβας 2004).

Είναι σημαντικό να επισημανθεί ότι το κλάσμα ινωδών ουσιών δεν περιέχει όλη την ποσότητα της κυτταρίνης, των ημικυτταρινών και της λιγνίνης της ζωοτροφής. Μια ποσότητα των παραπάνω συστατικών, η οποία εξαρτάται από το είδος και το στάδιο ανάπτυξης του φυτού, περιέχεται τελικά στο κλάσμα των ελεύθερων αζώτου εκχυλισματικών ουσιών (ΕΝΕΟ). Άρα οι ινώδεις ουσίες:

- Αρχικά προορίζονται να αποτελέσουν ένα ενδεικτικό μέσο άπεπτου, σχετικά, μέρους της τροφής με τη διαφορά ότι ένα μεγάλο μέρος αυτών μπορεί να πεφθεί από μηρυκαστικά ζώα.
- Μια μικρής έκτασης πέψη της κυτταρίνης και άλλων ανώτερων πολυσακχαριτών ορισμένων τροφών λαμβάνει χώρα στο τυφλό τμήμα του παχέους εντέρου των μονογαστρικών ζώων μετά από μικροβιακή δραστηριότητα.

Η πεπτικότητα των ινωδών ουσιών μια ζωοτροφής εξαρτάται από:

1. Την περιεκτικότητα της τροφής σε λιγνίνη
2. Την επίδραση της στο ρυθμό διόδου του σιτηρεσίου μέσω του πεπτικού σωλήνα.

Η πεπτικότητα σχετίζεται αρνητικά με το ποσοστό των ινωδών ουσιών, κυρίως στη περίπτωση των μονογαστρικών ζώων. Στα μηρυκαστικά περισσότερο σχετίζεται με την περιεκτικότητα σε λιγνίνη η οποία είναι πρακτικά άπεπτη (Ζέρβας 2004).

3.2 Διάκριση ζωοτροφών

Οι ζωοτροφές προκειμένου να εκπληρώσουν τον φυσιολογικό τους ρόλο, ο οποίος είναι να πεφθεί και να χρησιμοποιηθεί από τον οργανισμό του ζώου χωρίς να προκαλεί προβλήματα στην υγεία του, θα πρέπει να περιέχουν θρεπτικά συστατικά. Φυσικά, σημαντικό είναι να μην εμπεριέχονται βλαπτικοί παράγοντες για τον ζωικό οργανισμό· μπορούν όμως να περιέχουν αδρανή συστατικά.

Κατηγορίες ζωοτροφών:

1. Οι χονδροειδείς ζωοτροφές
2. Οι συμπυκνωμένες ζωοτροφές
3. Οι πλήρεις ζωοτροφές
4. Τα προμίγματα – συμπληρώματα ζωοτροφών
5. Τα βιομηχανικά υπολείμματα
6. Οι ειδικές ζωοτροφές

Οι **χονδροειδείς ζωοτροφές** είναι οι τροφές που η μονάδα βάρους τους έχει μεγάλο όγκο και μικρή περιεκτικότητα σε θρεπτικά συστατικά και έχουν αποκλειστικά φυτική προέλευση. Τα πιο σημαντικά χαρακτηριστικά τους είναι τα εξής:

1. Χαρακτηρίζονται από υψηλή περιεκτικότητα σε ινώδεις ουσίες. Ανάλογα με τον τρόπο συντήρησης τους διακρίνονται σε ενσιρωμένες, χλωρές και ξηρές έπειτα από φυσική ή τεχνητή αποξήρανση.
2. Αποτελούνται από διάφορα τμήματα καλλιεργούμενων ή αυτοφυών φυτών (όπως φύλλα, στελέχη και άνθη), κόνδυλοι, αποθησαυριστικές ρίζες, χυμώδες καρποί δένδρων κτλ.
3. Έχουν χαμηλό κόστος, όμως δεν μπορούν να αξιοποιηθούν από όλα τα αγροτικά ζώα παρά μόνο από τα μηρυκαστικά, διότι διαθέτουν τους προστόμαχους όπου εκεί γίνεται η διάσπαση των κυτταρινών και ημικυτταρινών των κυτταρικών τοιχωμάτων με την βοήθεια των μικροοργανισμών.
4. Η συμμετοχή των χονδροειδών είναι απαραίτητη στο σιτηρέσιο, για την καλή λειτουργία του πεπτικού συστήματος, σε ποσοστά που κυμαίνονται από 10 μέχρι 100% της ξηράς ουσίας ανάλογα πάντα με την διατροφή.

Οι **συμπυκνωμένες ζωοτροφές** είναι οι τροφές που η μονάδα βάρους τους έχει μικρό όγκο και μεγάλη περιεκτικότητα σε θρεπτικά συστατικά. Μπορούν να έχουν φυτική, ζωική ή και ανόργανη προέλευση.

- i. Φυτικής προέλευσης μπορούν να είναι οι δημητριακοί καρποί, όπως για παράδειγμα ο αραβόσιτος, το σιτάρι, το κριθάρι και η βρώμη, οι οποίοι καλλιεργούνται για τους σπόρους τους. Η περιεκτικότητά τους σε υδατάνθρακες είναι υψηλή, περίπου 45-70%, ενώ παράλληλα έχουν σχετικά μικρή σε αζωτούχες, περίπου 8-14%. Τα σπέρματα προέρχονται από ψυχανθή τα οποία είτε χαρακτηρίζονται από υψηλή περιεκτικότητα σε

αζωτούχες και λιπαρές ουσίες (π.χ σπέρματα σόγιας), είτε από υψηλή περιεκτικότητα αζωτούχες ουσίες και υδατάνθρακες (π.χ σπέρματα βίκου, κουκιών, κτλ).

- ii. Ζωικής προέλευσης μπορεί να είναι το γάλα και τα υποπροϊόντα επεξεργασίας του, το οποίο μπορεί να είναι νωπό είτε μετά την αφαίρεση λίπους είτε ως τυρόγαλα. Επίσης ζωικής προέλευσης είναι και τα κρεατάλευρα και τα οστεοκρεατάλευρα, τα οποία παράγονται μετά από βρασμό υπό πίεση του σώματος των ζώων ή μερών αυτού και την αφαίρεση του περισσοτέρου λίπους, και υποβάλλονται σε αφυδάτωση και άλεση. Επίσης, δεν περιέχουν δέρμα ζώων, τρίχες, φτερά ή το περιεχόμενο του πεπτικού σωλήνα. Τα ιχθυάλευρα και τα ζωικά λίπη και έλαια κατατάσσονται και αυτά στις ζωοτροφές ζωικής προέλευσης (Κανδρέλης και συν. 2009).

Οι **πλήρεις ζωοτροφές** είναι τα προϊόντα της ομογενούς ανάμιξης δύο ή και περισσότερων τροφών με ή χωρίς πρόσθετες ύλες και ταυτόχρονα ισορροπημένα σε θρεπτικά συστατικά.

Τα **προμίγματα-συμπληρώματα** είναι τα μίγματα των πρόσθετων υλών, τα οποία προορίζονται να καλύψουν τις ανάγκες του ζώου ως προς μία ή περισσότερες κατηγορίες θρεπτικών συστατικών.

Τα **βιομηχανικά υπολείμματα** είναι τροφές που προέρχονται ως υποπροϊόντα επεξεργασίας φυτικών ή ζωικών προϊόντων (Κανδρέλης 2013).

3.3 Σχέση ζωοτροφών και πρωτεϊνών

Το μόριο των πρωτεϊνών αποτελείται από αμινοξέα τα οποία συνδέονται μεταξύ τους με ορισμένη αλληλουχία με πεπτικούς δεσμούς. Ανάλογα τον αριθμό των αμινοξέων που ενώνονται, σχηματίζονται διπεπτίδια, τριπεπτίδια και πολυπεπτίδια. Οι πεπτιδικοί δεσμοί και η αλληλουχία αμινοξέων στο πολυπεπτιδικό μόριο συνιστούν την πρωτοταγή δομή των πρωτεϊνών, η πτύχωση του πολυπεπτιδίου τη δευτεροταγή, και η παράπλευρη τοποθέτηση των πτυχωτών ή ελικοειδών πεπτιδικών αλυσίδων, καθώς και ο τρόπος με τον οποίο τα μονομερή αυτά μόρια σχηματίζουν μορφές ανώτερης τάξης, συνιστούν την τριτοταγή δομή.

Η διαλυτότητα των πρωτεϊνών επηρεάζεται από:

1. Την θερμοκρασία
2. Το pH
3. Τη διηλεκτρική σταθερά του διαλυτικού μέσου
4. Την ιοντική ισχύ του διαλύματος
5. Τη συγκέντρωση της τριτοταγούς δομής του μορίου της πρωτεΐνης

Οι σπουδαιότερες λειτουργίες που επιτελούν οι πρωτεΐνες στο ζωικό οργανισμό:

1. Αποτελούν θεμελιώδη συστατικό των κυττάρων, του αίματος, της λέμφου, κ.α
2. Υπάρχουν στο γενετικό υλικό και συμβάλουν στην κανονική αναπαραγωγική λειτουργία του οργανισμού
3. Είναι συστατικό των διαφόρων ενζύμων και ορισμένων ορμονών
4. Είναι απαραίτητες για την σύνθεση νέων ιστών που σχηματίζονται στα αναπτυσσόμενα ζώα και επιδρούν ευνοϊκά στη σωματική αύξηση και διάπλαση
5. Συμμετέχουν στη δόμηση των παραγόμενων κτηνοτροφικών προϊόντων, όπως είναι το γάλα, το κρέας και τα αυγά
6. Είναι σημαντικές για την προάσπιση του οργανισμού εναντίον διαφόρων λοιμώξεων και την επούλωση τραυμάτων
7. Όταν η ενεργεία που λαμβάνουν τα ζώα από τα λίπη είναι ανεπαρκείς, τότε προσφέρουν ενέργεια στον οργανισμό (1 gr πρωτεΐνης ισοδυναμεί περίπου με 4,1 Kcal ενέργειας)

Οι αζωτούχες ουσίες της τροφής διακρίνονται σε λευκωματοειδείς και μη, οι λευκωματοειδείς ουσίες αποτελούν συνήθως το 95-98% των αζωτούχων ουσιών της τροφής ενώ στις μη λευκωματοειδείς ανήκουν οι αμίνες, τα πεπτίδια, κ.α. (Σ. Κανδρέλης και συν. 2009).

3.4 Χημική σύσταση του σώματος των ζώων

Οι διαφορές ως προς την χημική σύσταση του ζωικού σώματος ανάμεσα στα διάφορα είδη των ανεπτυγμένων αγροτικών ζώων, είναι σχετικά μικρές και αφορούν κυρίως το λίπος και το νερό. Η παραλλακτικότητα που υπάρχει ως προς την περιεκτικότητα σε νερό και λίπος, μέσα στο ίδιο είδος, είναι σημαντική και εξαρτάται από την ηλικία και την θρεπτική κατάσταση του ζώου. Αυτό φυσικά έχει ως αποτέλεσμα τα παχύτερα ζώα, εκτός από περισσότερο λίπος να έχουν λιγότερο νερό, ενώ τα νεαρά ζώα περιέχουν περισσότερο νερό και πρωτεΐνη αλλά και λιγότερο λίπος σε σχέση με τα μεγαλύτερα ζώα (Κανδρέλης και συν. 2009).

Με την αύξηση της λιποπεριεκτικότητας του σώματος μειώνεται η περιεκτικότητα σε νερό.

Γενικά όσο αυξάνεται το λίπος μειώνεται η περιεκτικότητα σε νερό και πρωτεΐνη. Για το λόγο αυτό, η χημική σύνθεσή του ζωικού σώματος εκφράζεται σε «ελεύθερη λίπους βάση». Έτσι, η περιεκτικότητα στα άλλα συστατικά παραλλάσει ελάχιστα με τη θρεπτική κατάστασή του ζώου ως εξής:

- Νερό 75%
- Πρωτεΐνες 20%
- Ανόργανες ουσίες 5 %

Αν μια μέτρηση πραγματοποιηθεί με βάση την «ελεύθερη λίπους ξηρά ουσία» η σύνθεση του σώματος του ζώου διαμορφώνεται ως εξής:

- Πρωτεΐνες 80%
- Ανόργανες ουσίες 20%

3.5 Υγρασία

Το νερό είναι από τα πιο βασικά συστατικά του σώματος. Είναι ζωτικής σημασίας για την επιβίωση κάθε οργανισμού και γι' αυτό η περιεκτικότητα του σώματος σε νερό πρέπει να διατηρείται σταθερή. Αυτός είναι και ο λόγος που ένας οργανισμός μπορεί να πεθάνει γρηγορότερα από έλλειψη νερού παρά από έλλειψη τροφής (Ζέρβας 2005).

Μια από τις σημαντικότερες λειτουργίες του νερού είναι η διάλυση των ανόργανων καθώς και των μικροβιακών οργανικών ενώσεων, δρώντας επίσης και ως μεσάζων στοιχείο διασποράς διαφόρων κολλοειδών συστατικών του σώματος όπως και μεταφοράς των συστατικών στους ιστούς, βοηθώντας παράλληλα στην αποβολή των προς απέκκριση άχρηστων, για τον οργανισμό, συστατικών. Οι αλλαγές στη θερμοκρασία στον οργανισμό των ζώων είναι μικρές λόγω της υψηλής θερμοχωρητικότητας του νερού. Επίσης, η εξάτμιση του νερού από το δέρμα και τους πνεύμονες βοηθάει στη ρύθμιση της θερμοκρασίας του σώματος. Ο ζωικός οργανισμός λαμβάνει νερό κυρίως από:

- Το πόσιμο νερό

- Το νερό που περιέχεται στις τροφές
- Το μεταβολικό, το οποίο σχηματίζεται κατά το μεταβολισμό

Η περιεκτικότητα σε νερό στο σώμα των αγροτικών ζώων υπολογίζεται μεταξύ 40% και 80%, η περιεκτικότητα είναι μεγαλύτερη στα νεογέννητα ζώα (μεταξύ 75-80%) και μειώνεται ανάλογα με τη ηλικία του ζώου και την παχυντική του κατάσταση (~50%) (Ζέρβας 2005).

3.6 Ξηρή ουσία

Το κυριότερο συστατικό της ξηράς ουσίας των φυτικής προέλευσης ζωοτροφών είναι υδατάνθρακες, με εξαίρεση τα ελαιούχα σπέρματα, η περιεκτικότητα των οποίων στο σώμα των ζώων είναι πολύ χαμηλή. Η ξηρή ουσία των ζωοτροφών διακρίνεται σε δύο μέρη, την οργανική ουσία και την ολική τέφρα, που είναι η ανόργανη ύλη (Ζέρβας 2004).

3.7 Τέφρα

Η ολική τέφρα περιέχει όλα τα ανόργανα στοιχεία που περιέχονται στα ζώα και τα φυτά, με τη διάφορα ότι το ασβέστιο (Ca) και ο φωσφόρος (P) είναι τα κυριότερα συστατικά της τέφρας των ζώων, ενώ το κάλλιο (K) και το πυρίτιο (Si) τα κυριότερα συστατικά της τέφρας των φυτών (Ζέρβας 2005).

Η περιεκτικότητα του ζωικού σώματος σε τέφρα κυμαίνεται μεταξύ 2-5% ανάλογα:

1. Με τη φυλή
2. Το είδος του ζώου
3. Την ατομικότητα
4. Την ηλικία
5. Την παχυντική κατάσταση του ζώου

Ανόργανα άλατα είναι τα στοιχεία που βρίσκονται στον οργανισμό με τη μορφή ανόργανων αλάτων ή τα στοιχεία που λαμβάνονται με τη μορφή αυτή κατά την αποτέφρωση του εξεταζόμενου δείγματος τροφής (Ζέρβας και συν. 2004).

3.8 Οργανική ουσία

3.8.1 Υδατάνθρακες

Οι υδατάνθρακες αποθηκεύονται στον ζωικό οργανισμό με τη μορφή γλυκογόνου, το οποίο βρίσκεται σε όλα τα κύτταρα, αλλά κυρίως στα κύτταρα του ήπατος (2-8%) και των μυών (0,5-1%). Το γλυκογόνο του ήπατος χρησιμεύει ως αποταμιευτική ουσία και ενώνεται με πρωτεΐνες, ενώ παράλληλα η περιεκτικότητα του αυξάνεται με άφθονη διατροφή και μπορεί σχεδόν να μηδενιστεί μετά από ασιτία 24 ωρών. Το γλυκογόνο που βρίσκεται στους μύες χρησιμεύει ως πηγή ενέργειας κατά την μυϊκή συστολή· η περιεκτικότητά του αυξάνεται με την άσκηση των μυών (Ζέρβας 2005).

Η γλυκόζη είναι το πιο διαδεδομένο σάκχαρο στο σώμα των ζώων και αποτελεί πηγή ενέργειας που είναι άμεσα χρησιμοποιήσιμη. Η γλυκόζη βρίσκεται στο αίμα, στη λέμφο, στο υγρό των ιστών και σε όλα τα κύτταρα. Στο αίμα η συγκέντρωσή της πρέπει να διατηρείται εντός στενών ορίων σε σταθερό επίπεδο, που διαφέρει όμως ανάλογα με το είδος του ζώου. Στο σώμα των ζώων υπάρχουν και άλλες εξόζες σε μικρές ποσότητες (γαλακτόζη, λακτόζη, μαννόζη, φρουκτόζη, ριβόζη και δεσοξυριβόζη) (Βικιπαίδεια 2015).

Στις ζωοτροφές οι υδατάνθρακες αποτελούν σημαντικό ποσοστό της ξηράς ουσίας. Σχεδόν όλα τα απλά σάκχαρα συναντώνται στις φυτικές ζωοτροφές και η περιεκτικότητά τους σε ορισμένα σάκχαρα είναι ιδιαίτερα υψηλή. Εκτός όμως από τις εξόζες (γλυκόζη, μαννόζη, φρουκτόζη) στις φυτικές ζωοτροφές βρίσκονται:

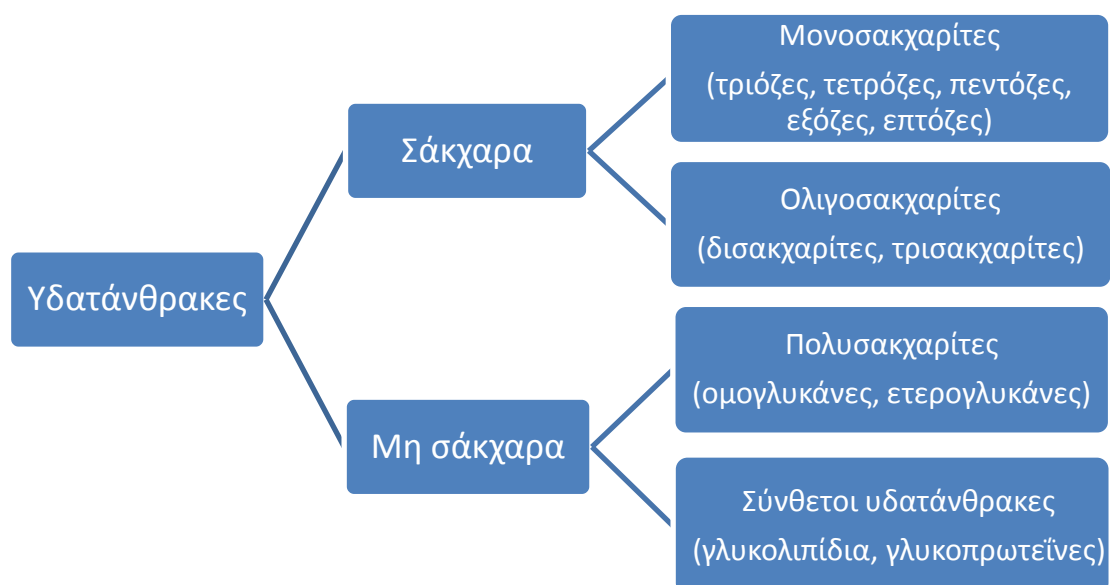
- Ξυλόζη
- Αραβινόζη
- Σακχαρόζη
- Ραφινώζη
- Μαλτόζη
- Κελλοβιόζη
- Βικιανόζη
- Λακτόζη (γαλακτοκομικά προϊόντα)

Στους πολυσακχαρίτες στις φυτικές ζωοτροφές συναντώνται:

- Κυτταρίνη
- Ημικυτταρίνες
- Πηκτινικές ύλες
- Άμυλο
- Ινουλίνη (μερικές φορές)

Σημαντικό κομμάτι του φαινομένου της θρέψης των ζώων είναι η κυτταρίνη, οι ημικυτταρίνες και οι πηκτινικές ύλες, διότι αποτελούν συστατικά του τοιχώματος των φυτικών κυττάρων και κατά συνέπεια περιέχονται σε μεγαλύτερο ή μικρότερο

ποσοστό σε όλες τις φυτικής προέλευσης ζωοτροφές. Για να παραλάβει το ζώο τα θρεπτικά συστατικά που εγκλείονται μέσα στα κύτταρα των ζωοτροφών θα πρέπει να καταστρέψει το κυτταρικό τοίχωμα. Επειδή η περιεκτικότητα των νεαρών βλαστών, των φύλλων, των ενδοκαρπίων και των ενδοσπερμίων είναι μικρή σε κυτταρίνη και μεγαλύτερη σε ημικυτταρίνες και πηκτινικές ύλες, η αποσάθρωση του κυτταρικού τοιχώματος είναι εύκολη και έχουν σχετικά υψηλή περιεκτικότητα. Η αυξανόμενη περιεκτικότητα του κυτταρικού τοιχώματος σε λιγνίνη, η οποία δεν έχει καμία θρεπτική αξία, περιορίζει την δυνατότητα αποσάθρωσης του κατά την πέψη και κατά συνέπεια την απόληψη των θρεπτικών συστατικών που εγκλείονται στα κύτταρα (Ζέρβας 2005).



Σχήμα 3.1: Διάκριση υδατανθράκων

3.9.2 Πρωτεΐνες

Τόσο στα φυτά όσο και στους ζωικούς οργανισμούς, αποτελούν το σημαντικότερο τμήμα των αζωτούχων ουσιών. Στα ζώα, το δέρμα, οι μύες, και τα δερματικά παράγωγα, όπως οι τρίχες, τα νύχια, τα πτερά, αποτελούνται κυρίως από πρωτεΐνες. Στα φυτά, όπου το μεγαλύτερο μέρος των πρωτεϊνών βρίσκεται υπό την μορφή ενζύμων, η περιεκτικότητα σε πρωτεΐνες είναι υψηλή κατά την ανάπτυξη τους και μειώνεται κατά την ωρίμανση τους.

Για τα βόσκοντα αγροτικά ζώα οι απαιτήσεις σε τροφική πρωτεΐνη προέρχονται κυρίως από δυο πηγές:

1. Η πρώτη πηγή είναι πρωτεΐνη που διασπάται στη μεγάλη κοιλία των μηρυκαστικών (κοιλιακά υποβαθμιζόμενη πρωτεΐνη). Αρχικά η πρωτεΐνη αυτή χρησιμοποιείται από τους μικροοργανισμούς της

μεγάλης κοιλίας, οι οποίοι στη συνέχεια χρησιμοποιούνται με τη σειρά τους από το ζώο. Ονομάζεται και πεπτή μικροβιακή πρωτεΐνη, επειδή συντίθεται από την πρωτεΐνη που σχηματίζεται στη μεγάλη κοιλία των μηρυκαστικών.

2. Η δεύτερη πηγή είναι η πρωτεΐνη που δεν μεταβολίζεται κατά τη διατροφή (μη διατροφικά υποβαθμιζόμενη πρωτεΐνη), δηλαδή η πρωτεΐνη που δεν αποσυντίθεται στη μεγάλη κοιλία. Είναι δηλαδή πρωτεΐνη μη διαθέσιμη στους μικροοργανισμούς της μεγάλης κοιλίας. Μερικές φορές ονομάζεται και ως by-pass πρωτεΐνη. Η πρωτεΐνη αυτή μπορεί να υδρολυθεί και να απορροφηθεί από το λεπτό έντερο (Κανδρέλης 2000)

Τα οργανικά οξέα που συναντάμε στα φυτά αλλά και στα ζώα, αν και βρίσκονται σε μικρές ποσότητες, συμβάλουν σημαντικά ως ενδιάμεσοι μεταβολίτες στον γενικό μεταβολισμό του κυττάρου. Άλλα οργανικά οξέα όπως το οξικό, προπιονικό, βουτυρικό και γαλακτικό οξύ, ανευρίσκονται ως προϊόντα ζύμωσης τόσο στη μεγάλη κοιλία όσο και στο ενσίρωμα (Ζέρβας και συν. 2004).

3.8.3 Λίπη

Τα λίπη και τα λιποειδή αποτελούν ομάδα θρεπτικών ουσιών που συναντάμε στους φυτικούς οργανισμούς αλλά και τους ζωικούς ιστούς. Κατέχουν σπουδαίο ρόλο στον οργανισμό, ενώ βρίσκονται σε όλα τα κύτταρα του. Οι λιπαρές ουσίες έχουν κοινή ιδιότητα: είναι διαλυτές στους οργανικούς διαλύτες και αδιάλυτες στο νερό. Από λειτουργική πλευρά το λίπος διακρίνεται σε αποταμιευτικό και οργανωτικό (Ζέρβας 2005).

Το αποταμιευτικό λίπος αποτελείται σχεδόν αποκλειστικά από ουδέτερα λίπη και εκπροσωπεί την κινητή μορφή λίπους εντός του οργανισμού. Όταν ο ζωικός οργανισμός διατρέφεται πλούσια αυξάνεται ιδιαίτερα από την ενηλικίωση του και πέρα, ενώ ελαττώνεται όταν ο ζωικός οργανισμός διατρέφεται ανεπαρκώς. Η σύσταση του αποταμιευτικού λίπους δεν είναι σταθερή, αλλά επηρεάζεται από τη σύσταση του λίπους της τροφής. Βρίσκεται σε όλα τα κύτταρα, αλλά ιδιαίτερα στον υποδόριο συνδετικό ιστό, την κοιλιακή κοιλότητα, στον μεταξύ των μυών συνδετικό ιστό και τον μυελό των οστών (Κανδρέλης και συν. 2009).

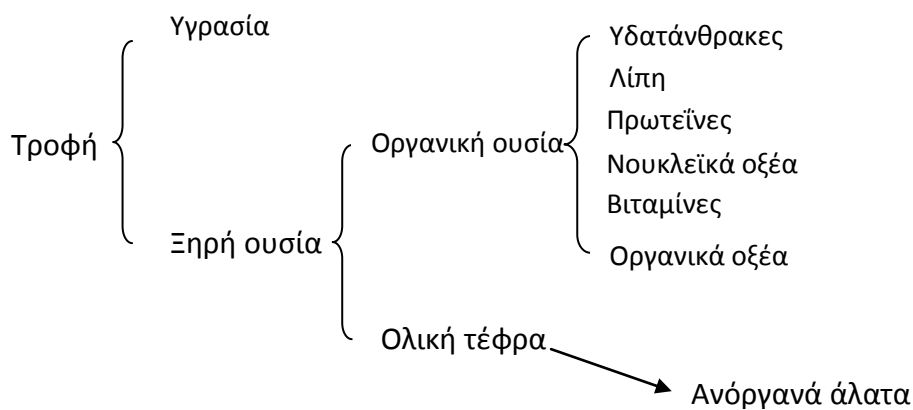
Το οργανωτικό λίπος αποτελείται σχεδόν αποκλειστικά από λιποειδή και εκπροσωπεί τη μη κινητή μορφή λίπους στον ζωικό οργανισμό. Έχει σταθερή σύσταση η οποία διαφέρει μεταξύ των ειδών των ζώων και μεταξύ οργάνων, χωρίς να επηρεάζεται σημαντικά από τη σύσταση του λίπους της τροφής. Συμμετέχει στη δομή των κυττάρων μεμβρανών και η ποσότητα του είναι σταθερή.

Από τις ζωοτροφές πλούσια σε λίπος είναι τα ελαιούχα σπέρματα, τα έμβρυα των δημητριακών καρπών, τα ιχθυάλευρα, τα ηπατάλευρα, μερικά κρεατάλευρα και βέβαια τα αυτούσια λίπη και έλαια είτε φυτικής είτε ζωικής

προέλευσης, που χρησιμοποιούνται στην διατροφή των ζώων. Τα έλαια είναι πλούσια σε λινοελαϊκό και ελαϊκό οξύ και πτωχά σε κεκορεσμένα λιπαρά οξέα (Σ. Κανδρέλης και συν. 2009).

Η μακρά ή η κακή συντήρηση των πλουσίων σε λίπη ή έλαια ζωοτροφών έχει ως αποτέλεσμα τη τάγγιση, η οποία τα καθιστά μη καταναλώσιμα και επιβλαβή για την υγεία του ζωικού οργανισμού και εκδηλώνεται με μια δυσάρεστη οσμή και γεύση. Αυτή η αλλοίωση συνήθως οφείλεται:

- Στην οξειδωτική τάγγιση, η οποία ονομάζεται αλλιώς και αυτοοξειδωση, από τα συστατικά των λιπών και των ελαίων που είναι περισσότερο επιδεκτικά, όπως τα ακόρεστα λιπαρά οξέα, ενώ τα κορεσμένα αυτοοξειδώνονται ουσιαστικά σε θερμοκρασίες πάνω από τους 100°C.
- Στην υδρολυτική τάγγιση, όταν αυτά, κάτω από την επίδραση ενζύμων που προέρχονται από βακτήρια, μύκητες και ζύμες, υφίστανται υδρόλυση (Κανδρέλης 2013).



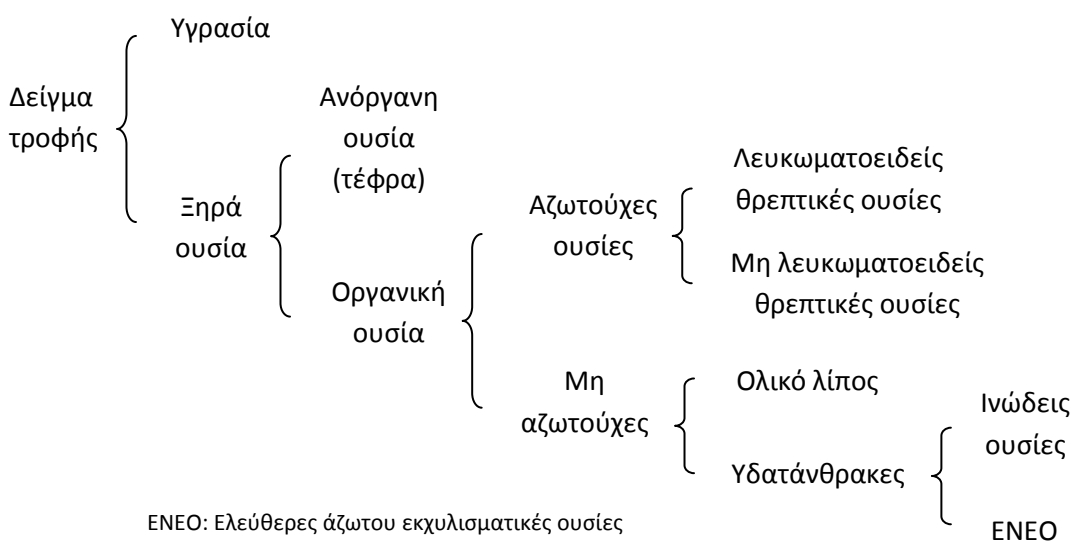
Σχήμα 3.8: Σχηματική απεικόνιση των κυριότερων συστατικών του σώματος και των τροφών κατά τη μέθοδο Weende

4. Εργαστηριακές αναλύσεις

4.1 Αναλυτική Μέθοδος Weende

Η γνώση της χημικής σύνθεσης των ζωοτροφών είναι απαραίτητη για την καλύτερη κατανόηση των λειτουργιών πέψης. Επομένως, είναι αναγκαία η κατανόηση και η γνώση των μεθόδων με τις οποίες πραγματοποιείται η χημική ανάλυση τους. Τα περισσότερα στοιχεία που υπάρχουν για την σύσταση των τροφών στηρίζονται σε μια αναλυτική τεχνική που επινοήθηκε από τους γερμανούς Hennenberg και Stohman το 1865 στον πειραματικό σταθμό Weende της Γερμανίας. Η μέθοδος αυτή, είναι γνωστή ως “αναλυτική μέθοδος Weende”, η οποία διαχωρίζει τα βιολογικά υλικά (τροφές, ούρα, κόπρανα, σωματικά υγρά, σωματικοί ιστοί) σε βασικές ομάδες θρεπτικών ουσιών, οι οποίες σαν πηγές ενέργειας για τον ζωικό οργανισμό καθορίζουν το ενεργειακό περιεχόμενο της τροφής με το οποίο εκφράζεται η θρεπτική της αξία (Zέρβας 2004).

Στο πρώτο στάδιο της αναλύσεως κατά την μέθοδο Weende γίνεται ο προσδιορισμός της περιεκτικότητας των τροφών ή άλλων βιολογικών υλικών σε υγρασία που επιτρέπει τον προσδιορισμό της ξηράς ουσίας της τροφής. Η ξηρά ουσία αποτελεί το μέτρο κορεσμού των ζώων, δηλαδή είναι το μέτρο χωρητικότητας του στομάχου τους. Σε δεύτερο στάδιο, η μέθοδος διαχωρίζει την ξηρά ουσία σε οργανική και ανόργανη. Έπειτα, γίνεται διαχωρισμός της οργανικής ουσίας σε αζωτούχες και μη αζωτούχες θρεπτικές ουσίες. Οι αζωτούχες ουσίες υποδιαιρούνται σε λευκωματοειδείς και μη λευκωματοειδείς θρεπτικές ουσίες, ενώ οι μη αζωτούχες ουσίες σε λίπη και υδατάνθρακες. Οι υδατάνθρακες διακρίνονται σε ινώδεις ουσίες και ελεύθερες αζώτου εκχυλισματικές ουσίες (Κανδρέλης και συν. 2009).



Σχήμα 4.1: Ανάλυση τροφών κατά την μέθοδο Weende

Οι αδυναμίες της μεθόδου Weende

Ο κλασικός τρόπος ανάλυσης ζωοτροφών κατά τη μέθοδο Weende, συνέβαλε, εδώ και 150 περίπου έτη, στην εκτίμηση της θρεπτικής τους αξίας. Η μέθοδος Weende είναι απλή και μπορεί να χρησιμοποιηθεί ευρέως και είναι σχετικά μη δαπανηρή, παράλληλα όμως υπάρχουν ορισμένες αδυναμίες στη μέθοδο αυτή.

Οι αδυναμίες αυτές μπορούν να εντοπιστούν στα σφάλματα κατά τις μετρήσεις που έχουν σχέση με τον προσδιορισμό των κυτταρινούχων ουσιών, της λιγνίνης και των ελεύθερων αζώτου εκχυλισματικών ουσιών.

Το κυριότερο μειονέκτημα της μεθόδου είναι ότι ένα μέρος της κυτταρίνης, της ημικυτταρίνης και της λιγνίνης υπολογίζεται στις ινώδεις ουσίες και ένα σημαντικό μέρος των ουσιών αυτών μετريέται ως ελεύθερες αζώτου εκχυλισματικές ουσίες (ΕΝΕΟ) (Κανδρέλης και συν 2009).

Στην περίπτωση της λιγνίνης, η οποία αν και είναι άπεπτη από όλα τα αγροτικά ζώα, με την κατεργασία με καυστικό νάτριο (NaOH) διαλύεται μια μικρή ποσότητα την οποία μετράμε στις ελεύθερες αζώτου εκχυλισματικές ουσίες. Κατά συνέπεια στον βαθμό κατά τον οποίο η ημικυτταρίνη και η λιγνίνη εμφανίζονται σαν συστατικά των ελεύθερων αζώτου εκχυλισματικών ουσιών, η περιεκτικότητα της τροφής σε ελεύθερες αζώτου εκχυλισματικές ουσίες εμφανίζεται υψηλότερη λανθασμένα. Παράλληλα η θρεπτική αξία τους είναι μικρότερη από αυτή που θα ήταν αν αποτελούνταν μόνο από άμυλο ή σάκχαρα. Επίσης το κλάσμα των ινωδών ουσιών δεν ανταποκρίνεται στην πραγματική περιεκτικότητα της ζωοτροφής σε λιγνίνη και ημικυτταρίνη (Ζέρβας και συν. 2004).

4.1.1 Προσδιορισμός Υγρασίας-Ξηρής ουσίας

Ο ακριβής προσδιορισμός της ξηρής ουσίας είναι απαραίτητο κριτήριο για τον ισόρροπο καταρτισμό σιτηρεσίων στα μηρυκαστικά ζώα. Για τον προσδιορισμό χρησιμοποιείται συνήθως η ξήρανση σε πυριαντήριο, όταν η θερμοκρασία ξήρανσης είναι στους 100°C, το μηχανικά παγιδευμένο νερό εξατμίζεται αφήνοντας πίσω το χημικά δεσμευμένο νερό.

Το ποσό του νερού που εξατμίστηκε από το δείγμα της εξεταζόμενης τροφής εξαρτάται από την θερμοκρασία ξήρανσης, ένα ποσό χημικά δεσμευμένου νερού παραμένει στο δείγμα τροφής και ξηραίνεται σε θερμοκρασία των 135°C (Κανδρέλης και συν. 2009).

Πορεία εργασίας

Τοποθετούνται στο πυριαντήριο, σε θερμοκρασία της τάξεως των 100°C για μία ώρα, καθαρές κάψες πορσελάνης διαμέτρου 6 εκατοστών για την απομάκρυνση της υγρασίας

1. Μετά το πέρας της μίας ώρας οι κάψες απομακρύνονται , με την βοήθεια πυράγρας, από το πυριαντήριο και μεταφέρονται σε υάλινο ξηραντήρα μέχρι να αποκτήσουν θερμοκρασία περιβάλλοντος
2. Αφού οι κάψες αποκτήσουν θερμοκρασία περιβάλλοντος, με την βοήθεια πυράγρας, τις τοποθετούμε στην ζυγαριά και αφού ζυγίσουμε την κάθε μία καταγράφουμε το βάρος της κάψας.
3. Έπειτα, προσθέτουμε ανάλογα με το είδος της προς εξέτασης τροφής 2-10 γραμμάρια δείγματος σε κάθε κάψα, καταγράφουμε το βάρος τροφής που τελικά βάλουμε
4. Τοποθετούμε τις κάψες στο πυριαντήριο. Η ξήρανση που ακολουθεί μπορεί να πραγματοποιηθεί με 2 μεθόδους:
 - Ταχεία ξήρανση: σε θερμοκρασία 105°C για 5 ώρες ή στους 135°C για 3 ώρες
 - Ήπια ξήρανση: στους 60-65°C για 48 ώρες
5. Οι κάψες απομακρύνονται από το πυριαντήριο και μεταφέρονται στον υάλινο ξηραντήρα με την βοήθεια πυράγρας μέχρι να αποκτήσουν θερμοκρασία περιβάλλοντος. Εν συνεχεία, γίνεται ζύγιση δειγμάτων και καταγραφή του βάρους τους
6. Για μεγαλύτερη ακρίβεια αποτελεσμάτων επανατοποθετούνται οι κάψες στο πυριαντήριο για μια ώρα και πραγματοποιείται πάλι ζύγιση
7. Στην περίπτωση που το δεύτερο ζύγισμα διαφέρει κατά μεγάλο ποσοστό από το πρώτο, επανατοποθετούνται οι κάψες στο πυριαντήριο για ακόμη μια ώρα και έπειτα ζυγίζουμε.
8. Η ξήρανση μπορεί να θεωρηθεί ολοκληρωμένη όταν το αποτέλεσμα των δύο διαδοχικών ζυγίσεων είναι το ίδιο, με διαφορά μικρότερη των 2mg

Η απώλεια βάρους του δείγματος που επήλθε κατά την ξήρανση εκφράζει την ποσότητα νερού που περιείχε, και η αναγωγή της επί τοις εκατό εκφράζει την περιεκτικότητα της τροφής σε νερό:

Όπου:

B_A: Αρχικό βάρος δείγματος

B_T: Τελικό βάρος δείγματος

$$\frac{B_A - B_T}{B_A} \times 100 = \% \text{ Υγρασία}$$

Για τον υπολογισμό της περιεκτικότητας επί τοις εκατό της τροφής σε ξηρή ουσία χρησιμοποιείται ο τύπος:

Όπου:

B_A: Αρχικό βάρος δείγματος

B_T: Τελικό βάρος δείγματος

$$\frac{B_T}{B_A} \times 100 = \% \text{ Ξηρή ουσία}$$

4.1.2 Προσδιορισμός Οργανικής και Ανόργανης ουσίας (τέφρα)

Για τον προσδιορισμό της περιεκτικότητας σε ανόργανη ουσία στο δείγμα της τροφής που προορίζεται για ανάλυση, πρέπει το δείγμα να υποβληθεί σε υψηλές θερμοκρασίες της τάξεως των 550-600 °C. Αυτό γίνεται ώστε να επέλθει η πλήρης καύση της οργανικής ουσίας και στην συνέχεια ακολουθεί η ζύγιση στο υπόλειμμα τροφής.

Πορεία εργασίας

1. Τοποθετούμε καθαρά χωνευτήρια πορσελάνης, διαμέτρου 3-5 cm και βάθος όχι μεγαλύτερο των 5 cm, στο πυριαντήριο σε θερμοκρασία 100 °C
2. Απομακρύνουμε τα χωνευτήρια με τη βοήθεια πυράγρας, μεταφέροντας τα σε υάλινο ξηραντήρα μέχρι να αποκτήσουν θερμοκρασία περιβάλλοντος
3. Ζυγίζουμε τα χωνευτήρια και καταγράφουμε το βάρος. Έπειτα, προσθέτουμε ανάλογα το είδος της εξεταζόμενης τροφής 2-5 gr δείγματος στο καθένα
4. Τοποθετούμε τα χωνευτήρια στον κλίβανο αποτέφρωσης στους 600 °C για 2 ώρες ή στους 500-550 °C για 12-16 ώρες (Petterson 1999)
5. Τα χωνευτήρια, μετά την πάροδο των ωρών ανάλογα την μέθοδο αποτέφρωσης που χρησιμοποιείται, μεταφέρονται με τη βοήθεια πυράγρας σε υάλινο ξηραντήρα μέχρι να φτάσουν θερμοκρασία περιβάλλοντος. Στην συνέχεια, ζυγίζονται και γίνεται καταγραφή του βάρους.

Αξίζει να σημειωθεί ότι η αποτέφρωση θεωρείται πλήρης όταν το υπόλειμμα έχει χρώμα γκριζο ή λευκό.

$$\frac{(Βάρος χωνευτηρίου + Τέφρα) - Βάρος χωνευτηρίου}{Βάρος δείγματος τροφής} \times 100 = \% \text{ Τέφρα}$$



Εικόνα 4.1.2.1: Κλίβανος για την τοποθέτηση καψών στους 500-600° C



Εικόνα 4.1.2.2: Κλίβανος

4.1.3 Προσδιορισμός Αζωτούχων ουσιών

Μέθοδος Kjeldahl

Το ολικό άζωτο προσδιορίζεται με τη κλασική μέθοδο Kjeldahl, η οποία οφείλεται στο Δανό Johan Kjeldahl, ο οποίος το Μάρτιο του 1883 παρουσίασε μια μέθοδο προσδιορισμού του αζώτου στη Danish Chemical Society. Η μέθοδος μέχρι σήμερα έχει μελετηθεί εκτενώς και έχει τροποποιηθεί με αποτέλεσμα να βελτιωθεί. Έτσι λοιπόν, σήμερα η μέθοδος Kjeldahl είναι η πλέον διαδεδομένη μέθοδος για το προσδιορισμό του οργανικού αζώτου των πρωτεϊνών στις τροφές που προσδιορίζονται για κατανάλωση τόσο από τους ανθρώπους όσο και για τα αγροτικά ζώα.

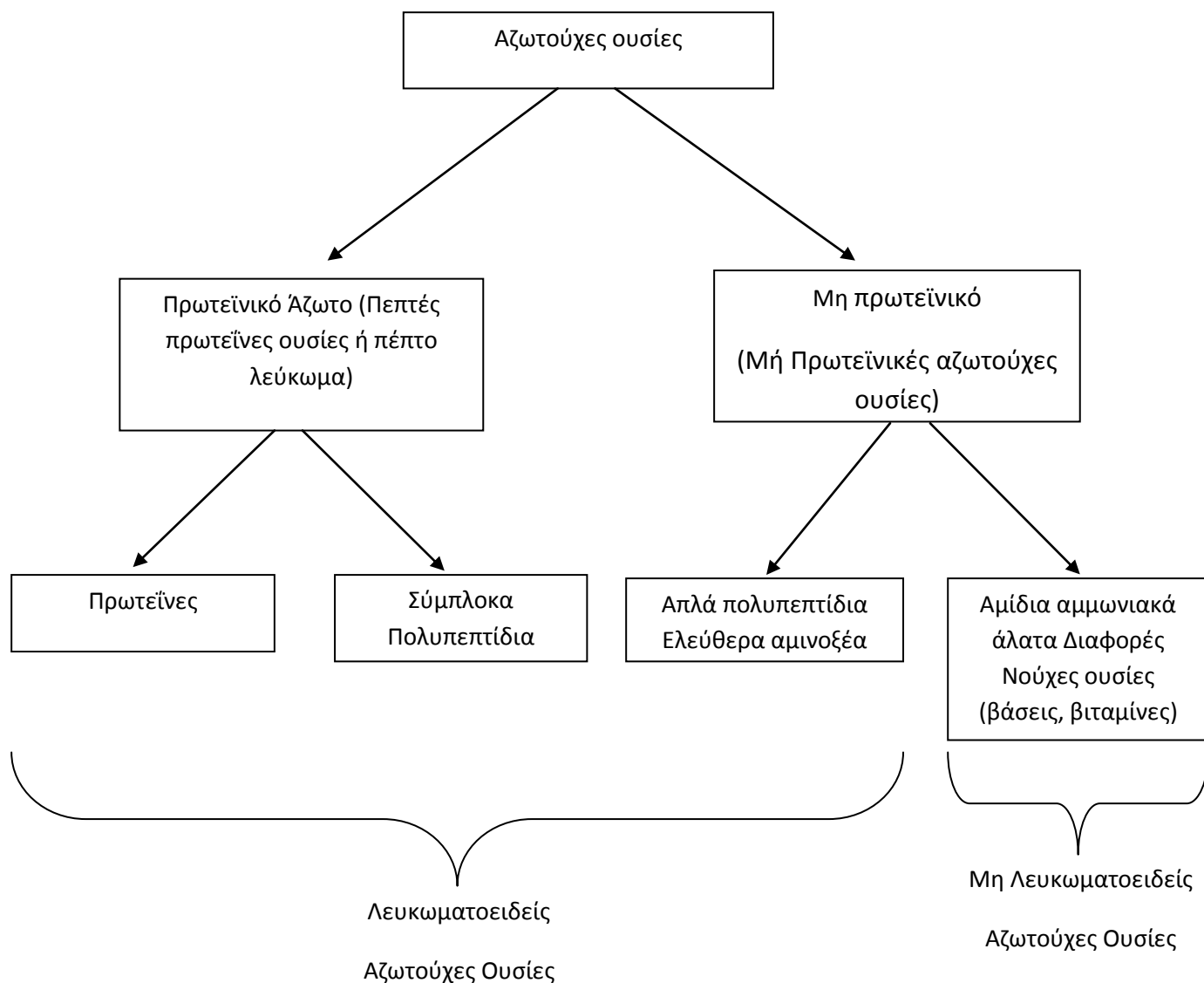
Κατά την μέθοδο Kjeldahl ο προσδιορισμός των αζωτούχων ουσιών που περιέχει μια τροφή, πραγματοποιείται από την μέτρηση του ολικού αζώτου της τροφής και κατόπιν με το πολλαπλασιασμό του με τον συντελεστή 6,25.

$$\text{Αζωτούχες ουσίες} = (\text{Ολικό άζωτο τροφής}) \times 6,25$$

Το ποσοστό του αζώτου, δηλαδή η τιμή που βρίσκεται με την μέθοδο Kjeldahl όταν πολλαπλασιαστεί επί τον συντελεστή 6,25 έχει ως αποτέλεσμα τις αζωτούχες ουσίες της τροφής, φυσικά ο συντελεστής αυτός δεν είναι τυχαίος αριθμός αλλά προκύπτει από το πηλίκο $100/16 = 6,25$. Πιο συγκεκριμένα, η τιμή του συντελεστή 6,25 προκύπτει κάνοντας αποδεκτές τις εξής παραδοχές:

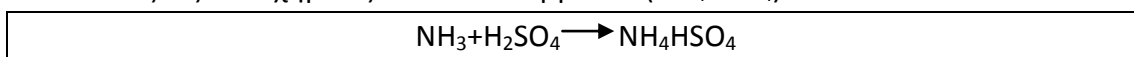
- 1^η παραδοχή: θεωρείται ότι όλο το άζωτο της τροφής απαντάνται υπό πρωτεϊνική μορφή
- 2^η παραδοχή: οι πρωτεΐνες της τροφής περιέχουν κατά μέσο όρο 16 % άζωτο, δηλαδή στα 100 gr μιας πρωτεΐνης τα 16 gr είναι άζωτο.

Στην πράξη οι παραπάνω παραδοχές δεν είναι ορθές απόλυτα διότι ορισμένες ζωοτροφές περιέχουν ικανό ποσοστό μη πρωτεϊνικού αζώτου, επίσης στην πράξη μας ενδιαφέρει η βιολογική αξία της πρωτεΐνης του σιτηρεσίου, η οποία εξαρτάται από το οριακό αμινοξύ. Αυτό είχε ως αποτέλεσμα η έρευνα να στραφεί στην εκτίμηση της ποιότητας των πρωτεϊνών και ειδικότερα στο προσδιορισμό των αμινοξέων μιας τροφής ή γενικά ενός σιτηρεσίου (Κανδρέλης και συν 2009).

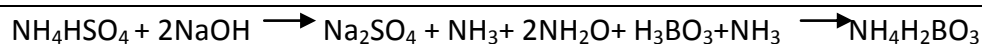


Σχήμα 4.1.3: Διάφορες μορφές αζώτου στις ζωοτροφές

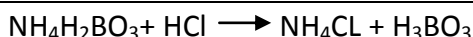
Η μέθοδος Kjeldahl στηρίζεται στη μετατροπή οποιασδήποτε μορφής οργανικού αζώτου σε ανόργανο άζωτο. Ορισμένη ποσότητα τροφής, συνήθως 0,9-1 gr, θερμαίνεται για αρκετό χρονικό διάστημα μέσα σε ειδική φιάλη Kjeldahl με πυκνό θειικό οξύ (H_2SO_4). Κατά την διάρκεια της θέρμανσης ο άνθρακας και το υδρογόνο των οργανικών ουσιών της εξεταζόμενης τροφής οξειδώνεται προς διοξείδιο του ανθρακά (CO_2) και νερό (H_2O), αντίστοιχα, ενώ το άζωτο ανάγεται προς αμμωνία (NH_3). Η αμμωνία δεσμεύεται από το περίσσειμα του πυκνού θειικού οξέος και σχηματίζεται θειικό αμμώνιο (NH_4HSO_4).



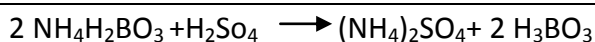
Μετά την προσθήκη πυκνού διαλύματος υδροξειδίου του νατρίου (NaOH) λαμβάνει χώρα η απελευθέρωση της δεσμευμένης αμμωνίας, η οποία παραλαμβάνεται ποσοτικά με απόσταξη μέσα σε διάλυμα βορικού οξέος (H₃BO₃), οπότε και σχηματίζεται δισόξινο βορικό αμμώνιο (NH₄H₂BO₃):



Το σχηματιζόμενο δισόξινο βορικό αμμώνιο, η ποσότητα του οποίου είναι ανάλογη της αμμωνίας που αποστάχθηκε και δεσμευτική, ογκομετρείται μετά το πέρας της απόσταξης με πρότυπο διάλυμα (κανονικότητας 0,1N) υδροχλωρικού οξέος ή θειικού οξέος:



ή



Από την ποσότητα των ml που καταναλώθηκαν από το διάλυμα υδροχλωρικού ή θειικού οξέος υπολογίζεται η επί τοις εκατό περιεκτικότητα τροφής σε ολικό άζωτο (Κανδρέλης και συν. 2009).

Αντιδραστήρια

1. Θειικό κάλιο (K₂SO₄)
2. Θειικός χαλκός (CuSO₄·5H₂O)
3. Πυκνό θειικό οξύ (H₂SO₄) 95-97%, ειδικό βάρος 1,84
4. Διάλυμα υδροξειδίου του νατρίου: Παρασκευάζεται με διάλυση 500 gr υδροξειδίου του νατρίου (NaOH) και 12 gr θειούχου νατρίου (Na₂S·9H₂O) σε 1000 ml απεσταγμένου νερού
5. Διάλυμα βορικού οξέος: Παρασκευάζεται με διάλυση 40 gr βορικού οξέος (H₃BO₃) σε 1000 ml απεσταγμένου νερού
6. Διάλυμα δείκτη: Παρασκευάζεται με διάλυση 0,2 gr ερυθρού του μεθυλίου και 0,1 gr κυανού του μεθυλενίου σε 100 ml αιθανόλης (96% κ.ο.)
7. Διάλυμα δεκατοκανονικό υδροχλωρικού ή θειικού οξέος 0,1 N: Μία αμπούλα N/10 HCL διαλύεται σε ογκομετρική φιάλη η οποία γεμίζεται με απεσταγμένο νερό μέχρι της ενδείξεως των 1000 ml

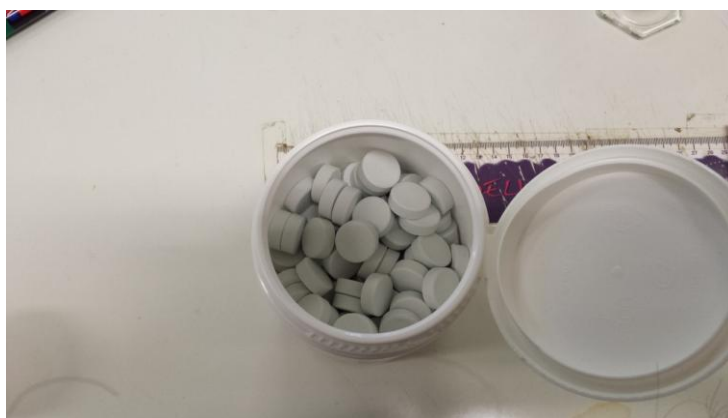
Πορεία εργασίας

Τοποθετούμε σε κάθε φιάλη Kjeldahl (εικόνα 4.1.3.2) 0,9- 1 gr δείγματος εξεταζόμενης τροφής μέσα σε διηθητικό χαρτί, και προσθέτουμε καταλύτη σε μορφή ταμπλέτας (εικόνα 4.1.3.1).

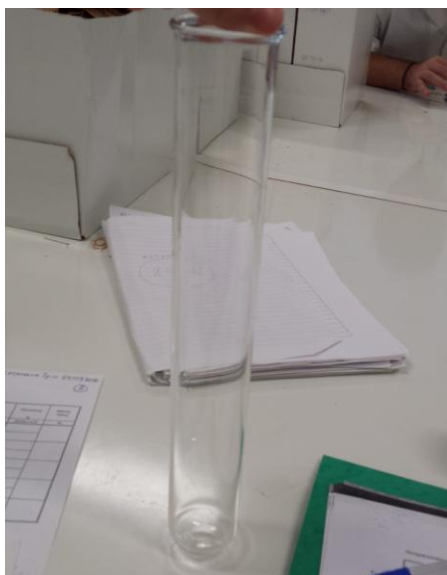
1. Προσθέτουμε 20-25 ml πυκνού θειικού οξέος σε κάθε φιάλη
2. Σε μια φιάλη προσθέτουμε όλα τα αντιδραστήρια και το διηθητικό χαρτί χωρίς τροφή(λευκός προσδιορισμός)
3. Τοποθετούμε της φιάλες στο μηχάνημα Gerhardt kjeldatherm (εικόνα 4.1.3.3) και ξεκινάμε ρυθμίζοντας την πρώτη θερμοκρασία και ανοίγοντας

πάντα την παροχή νερού. Οι χρόνοι και οι αντίστοιχη θερμοκρασία σε κάθε χρόνο είναι οι εξής:

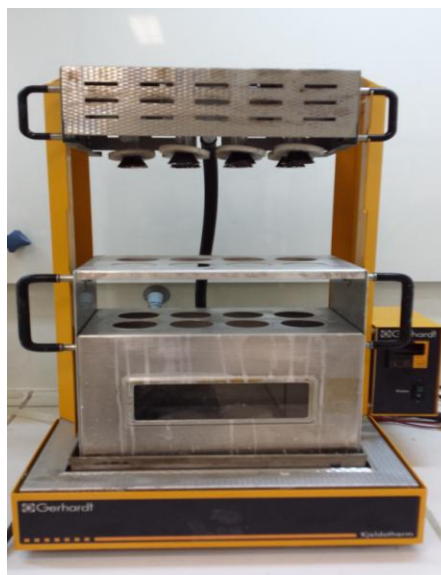
- 1^{ος} χρόνος: 10 λεπτά στους 180° C
 - 2^{ος} χρόνος: 5 λεπτά στους 210° C
 - 3^{ος} χρόνος: 10 λεπτά στους 250° C
 - 4^{ος} χρόνος: 5 λεπτά στους 290° C
 - 5^{ος} χρόνος: 15 λεπτά στους 320° C
 - 6^{ος} χρόνος: 5 λεπτά στους 370° C
 - 7^{ος} χρόνος: 25-30 λεπτά στους 400°
4. Μετά το πέρας των χρόνων του μηχανήματος οι φιάλες παραμένουν μέχρι να κρυώσουν και έπειτα τοποθετούνται στο μηχάνημα Varodest 40 για την διαδικασία απόσταξης.



Εικόνα 4.1.3.1: Καταλύτες σε μορφή ταμπλέτας (Kjeldahl tablets)



Εικόνα 4.1.3.2: Φιάλη Kjeldahl



Εικόνα 4.1.3.3: Μηχάνημα Gerhardt kjeldatherm

Διαδικασία απόσταξης με τη συσκευή Varodest 40

Προετοιμασία χημικών ουσιών που είναι απαραίτητες για την διαδικασία απόσταξης

Απιονισμένο νερό:

Για τις χημικές αντιδράσεις και διεργασίες που λαμβάνουν χώρα στο εργαστήριο χρησιμοποιείται πάντα χημικά καθαρό νερό. Το κοινό πόσιμο νερό περιέχει:

- Διάλυμα σε αυτό αέρια
- Αρκετές ενώσεις κυρίως ασβεστίου και μαγνησίου στη μορφή όξινων ανθρακικών αλάτων και ιόντα νατρίου, χλωρίου, σιδήρου, θειικά κ.α

Όλα τα παραπάνω προκαλούν ανεπιθύμητες παρεμβολές στην εκτέλεση των χημικών αντιδράσεων και διεργασιών του εργαστηρίου. Το απιονισμένο νερό μπορεί να ληφθεί:

- Με απόσταξη
- Με απιονισμό, δηλαδή με την απομάκρυνση των αλάτων που περιέχονται στο νερό, που επιτυγχάνεται με τη δίοδο του νερού σε ειδικές ρητίνες ή ειδικές μεμβράνες

Βορικό οξύ H_3BO_3 :

1. Σε ένα ποτήρι ζέσεως βάζουμε απιονισμένο νερό και τοποθετούμε μέσα ένα μαγνήτη ανάδευσης
2. Ζυγίζουμε 32 gr βορικού οξέος (H_3BO_3) και το ρίχνουμε μέσα στο ποτήρι ζέσεως
3. Τοποθετούμε το ποτήρι ζέσεως στο μαγνητικό αναδευτήρα, ρυθμίζουμε τις στροφές που θέλουμε για την ανάδευση και την θερμοκρασία στους $100^{\circ}C$
4. Αρχικά το διάλυμα είναι θολό, για να ολοκληρωθεί η διαδικασία το διάλυμα θα πρέπει να είναι διάφανο
5. Απομακρύνουμε το ποτήρι ζέσεως από το μαγνητικό αναδευτήρα, βγάζουμε τον μαγνήτη και αφήνουμε το διάλυμα να αποκτήσει θερμοκρασία δωματίου πριν μπει στην συσκευή

Καυστικό νάτριο (NaOH)

1. Σε 2 Ltr απιονισμένο νερό βάζουμε 1Kg καυστικό νάτριο
2. Αναδεύουμε το διάλυμα με μια ράβδο ανάδευσης μέχρι να διαλυθεί το καυστικό νάτριο
3. Αφήνουμε το διάλυμα να αποκτήσει θερμοκρασία δωματίου πριν εισέλθει στην συσκευή



Εικόνα 4.1.3.4: Καυστικό νάτριο (NaOH)



Εικόνα 4.1.3.5: Πρόσθεση καυστικού νατρίου σε απιονισμένο νερό



Εικόνα 4.1.3.6: Ανάδευση καυστικού νατρίου

Διαδικασία απόσταξης

1. Τοποθετούμε τη φιάλη Kjeldahl ώστε να εφάπτεται κανονικά στην υποδοχή της συσκευής
2. Τοποθετούμε και μια κωνική φιάλη 250 ml στην θέση από την οποία θα βγει το διάλυμα απόσταξης
3. Προγραμματίζουμε τη συσκευή στο πρόγραμμα απόσταξης

4. Όσο η συσκευή βρίσκεται σε λειτουργία πρέπει να υπάρχει ανοιχτή η παροχή νερού
5. Αφού γίνει η απόσταξη με ειδικό γάντι μεταφέρουμε τη φιάλη στην ειδική βάση προσθέτοντας νερό για τον μετέπειτα καθαρισμό
6. Η διαδικασία είναι η ίδια και για τις υπόλοιπες 7 φιάλες
7. Έπειτα γίνεται η τιτλομέτρηση του περιεχομένου της κωνικής φιάλης με διάλυμα υδροχλωρικού οξέος κανονικότητας 0,1 N:
 - Παίρνουμε την κωνική φιάλη και προσθέτουμε 3-4 σταγόνες διαλύματος δείκτη και ανακινούμε. Το περιεχόμενο της φιάλης αποκτά πράσινο χρώμα (εικόνα 4.1.3.10)
 - Ο λευκός προσδιορισμός αποκτά σκούρο μωβ χρώμα
 - Τοποθετούμε τη φιάλη στο στόμιο της προχοϊδας και σημειώνουμε την ένδειξη της στάθμης του HCL (εικόνα 4.1.3.11)
 - Στο σημείο όπου αλλάζει το χρώμα (μωβ χρώμα, εικόνα 4.1.3.12), σημειώνουμε την ένδειξη, από την διαφορά που θα υπάρχει από την τελική και την αρχική ένδειξη υπολογίζουμε τα ml του HCL που καταναλώθηκαν

Όπου:

N: Η κανονικότητα του υδροχλωρικού ή θειικού οξέος

V_1 : Τα καταναλωθέντα ml υδροχλωρικού ή θειικού οξέος κατά των προσδιορισμό του αζώτου στο δείγμα της εξεταζόμενης τροφής

P: Το βάρος του δείγματος σε γραμμάρια

$$\text{Ολικό άζωτο (\%)} = \frac{1,40 \chi N \chi V_1}{P}$$



Εικόνα 4.1.3.7: Δοχεία εισαγωγής χημικών ουσιών και αποθήκευσης των λυμάτων της συσκευής Varodest 40

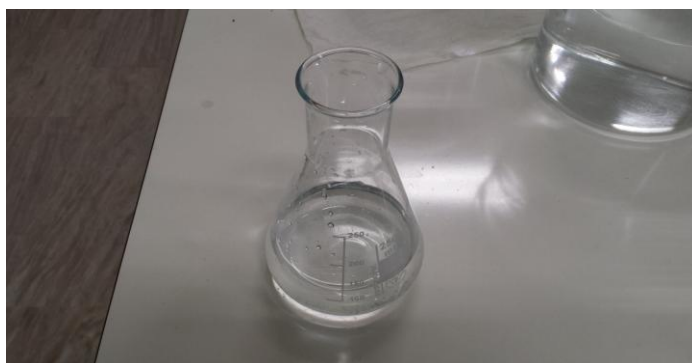


1: Θέση φιάλης Kjeldahl

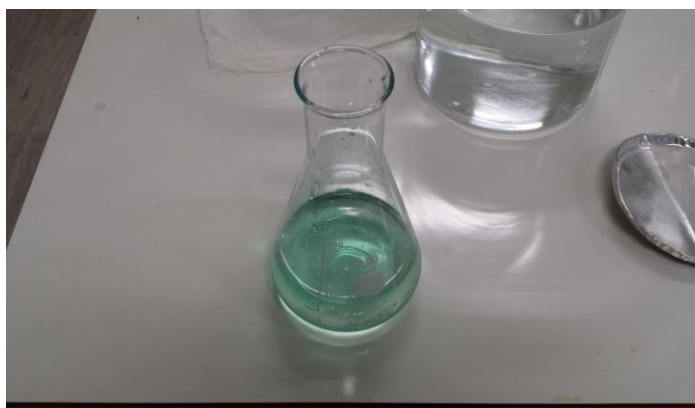
2: Θέση κωνικής φιάλης 250 ml

3: Πόρτα ασφαλείας

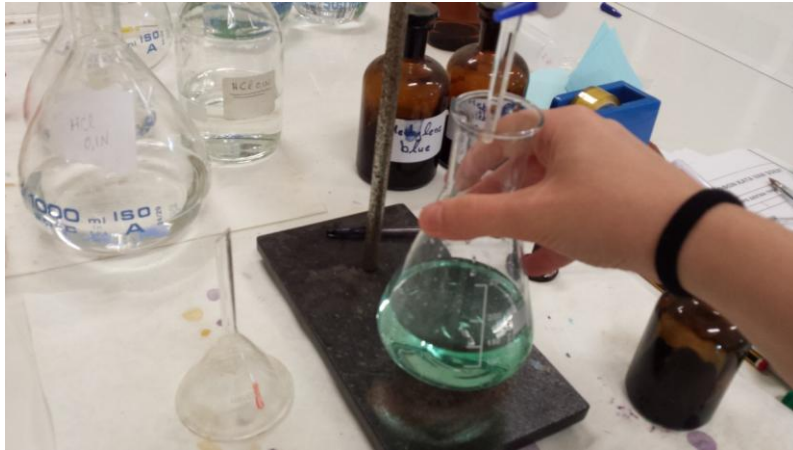
Εικόνα 4.1.3.8: Μέρη συσκευής VaroDest 40



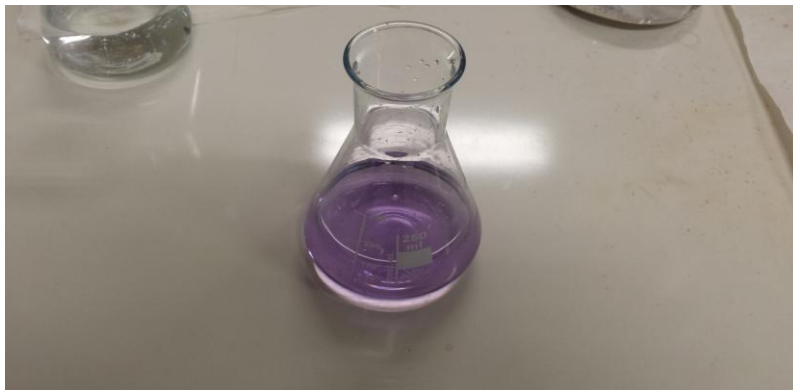
Εικόνα 4.1.3.9: Περιεχόμενο κωνικής φιάλης πριν την πρόσθεση διαλύματος δείκτη



Εικόνα 4.1.3.10: Περιεχόμενο κωνικής φιάλης μετά την πρόσθεση διαλύματος δείκτη



Εικόνα 4.1.3.11: Τοποθέτηση τη φιάλης στο στόμιο της προχοΐδας



Εικόνα 4.1.3.12: Περιεχόμενο φιάλης μετά την πρόσθεση υδροχλωρικού οξέος 0,1 N



Εικόνα 4.1.3.13: Προχοΐδα χωρητικότητας 50 ml

4.1.4 Προσδιορισμός λιπαρών ουσιών

Ο προσδιορισμός λιπαρών ουσιών, σχεδόν σε όλες τις ζωοτροφές, γίνεται στη συσκευή Soxhlet, το δείγμα της εξεταζόμενης τροφής εκχυλίζεται με οργανικό διαλύτη για χρονικό διάστημα 16 -18 ωρών. Εν συνεχεία, ο διαλύτης αποστάζεται και το υπόλειμμα ξηραίνεται και έπειτα ζυγίζεται. Το υπόλειμμα αυτό ονομάζεται "αιθέριο εκχύλισμα" ή ολικό λίπος.

Η ονομασία "αιθέριο εκχύλισμα" έχει δοθεί διότι το κλάσμα των λιπών και των ελαίων εκχυλίζονται με:

- Αιθέρα
- Κηροί
- Οργανικά οξέα
- Αλκοόλες
- Βιταμίνες
- Χρωστικές

Οργανικοί διαλύτες

Στον προσδιορισμό του ολικού λίπους μπορεί να χρησιμοποιηθεί οποιοσδήποτε οργανικός διαλύτης όπως:

1. Πετρελαϊκός αιθέρας
2. Αιθανόλη
3. Ακετόνη
4. Διαιθυλικός αιθέρας
5. Μεθανόλη
6. Χλωροφόρμιο κτλ.

Κάθε ένας από τους οργανικούς διαλύτες έχει διαφορετικά χαρακτηριστικά που αφορούν την διαλυτότητα και αυτό ασκεί επιρροή σε ορισμένο βαθμό στη ποσότητα του λίπους που εκχυλίζεται από το δείγμα της τροφής.

Τελευταία έχει υιοθετηθεί η χρήση του πετρελαϊκού αιθέρα αντί του διαιθυλικού αιθέρα διότι έχει υψηλότερο σημείο ζέσεως και επομένως είναι λιγότερο επικίνδυνος κατά τη χρήση.

Πορεία εργασίας

Τοποθετούμε τα ειδικά ποτήρια ζέσεως της συσκευής Soxtherm (εικόνα 9.1.4.1) στον κλίβανο για 1 ώρα στους 100 °C

1. Μετά το πέρας της 1 ώρας, με μία λαβίδα τοποθετούμε τα ποτήρια σε ένα γυάλινο ξηραντήρα για να αποκτήσουν θερμοκρασία δωματίου, το χρονικό διάστημα κυμαίνεται περίπου στα 20 – 25 λεπτά
2. Ζυγίζουμε 1 γραμμάριο τροφής για κάθε ποτήρι
3. Τοποθετούμε την προς εξέταση τροφή σε κάθε ένα από τα κύπελλα – ηθμούς μέσα σε διηθητικό χαρτί

4. Σε κάθε ποτήρι ζέσεως τοποθετούμε μερικά χαλίκια και αμέσως ζυγίζουμε
5. Τοποθετούμε τα κύπελλα – ηθμούς στους μεταλλικούς υποδοχής και έπειτα εντός του ποτηριού ζέσεως
6. Προσθέτουμε σε κάθε ποτήρι ζέσεως ποσότητα οργανικού διαλύτη (πετρελαϊκού αιθέρα), τόση ώστε να καλυφθεί ελαφρώς η εξεταζόμενη τροφή
7. Έπειτα γίνεται με προσοχή η τοποθέτηση των ποτηριών στους υποδοχείς της συσκευής
8. Ξεκινάμε το κατάλληλο πρόγραμμα εκχύλισης στη συσκευή
9. Με το πέρας της διαδικασίας της εκχύλισης, όπου σε αυτό το σημείο ανοίγει αυτόματα το γυάλινο προστατευτικό της συσκευής, αφαιρούμε με προσοχή τα ποτήρια ζέσεως από τους υποδοχείς της συσκευής
10. Τοποθετούμε τα ποτήρια ζέσεως στο πυριαντήριο για 30 λεπτά στους 100 °C
11. Μετά το πέρας των 30 λεπτών, τοποθετούμε τα ποτήρια ζέσεως στο γυάλινο ξηραντήριο για να αποκτήσουν θερμοκρασία περιβάλλοντος και έπειτα ζυγίζουμε (Κανδρέλης και συν 2009).

Όπου:

W_1 : Αρχικό βάρος τροφής όταν ζυγίζεται και τοποθετείται στα κύπελλα – ηθμούς (βήμα 3 και βήμα 4)

W_2 : Ποτήρι ζέσεως μετά την τοποθέτηση χαλικιών (βήμα 5)

W_3 : Τελικό βάρος μετά το πέρας όλων των διαδικασιών (βήμα 12)

$$\text{Ολικό λίπος (\%)} = \frac{(W_3 - W_2)}{W_1} \times 100$$

Το πρόγραμμα εκχύλισης της συσκευής Soxtherm περιλαμβάνει 5 στάδια τα οποία είναι:

1. **Θερμή εκχύλιση:** Το δείγμα της εξεταζόμενης τροφής βυθίζεται στον υπό βρασμό οργανικό διαλύτη και το λίπος αρχίζει να ελευθερώνεται από την τροφή.
2. **Εξάτμιση:** Το επίπεδο του διαλύτη μειώνεται σταδιακά κάτω από το κύπελλο εκχύλισης και ο διαλύτης που περισσεύει συλλέγεται στην δεξαμενή ανάκτησης στο πίσω μέρος της συσκευής.
3. **Εκχύλιση:** Το λίπος εκχυλίζεται από την επανυγροποίηση και τη συμπύκνωση των ατμών του διαλύτη και συλλέγεται στο διαλύτη από το γυάλινο ποτήρι ζέσεως.
4. **Εξάτμιση Β:** Ο επιπλέον όγκος του διαλύτη αποστάζεται στη δεξαμενή αποθήκευσης για μελλοντικές χρήσης.
5. **Εξάτμιση Γ:** Τα ποτήρια ζέσεως ανυψώνονται από τις εστίες θέρμανσης αυτόματα. Μια μικρή ποσότητα διαλύτη παραμένει στα ποτήρια και μπορεί να απομακρυνθεί με θέρμανση στον κλίβανό. (Σ. Κανδρέλης και συν. 2009)



Εικόνα 4.1.4.1: Ειδικά ποτήρια ζέσεως της συσκευής Soxtherm



Εικόνα 4.1.4.2: Συσκευή Soxtherm

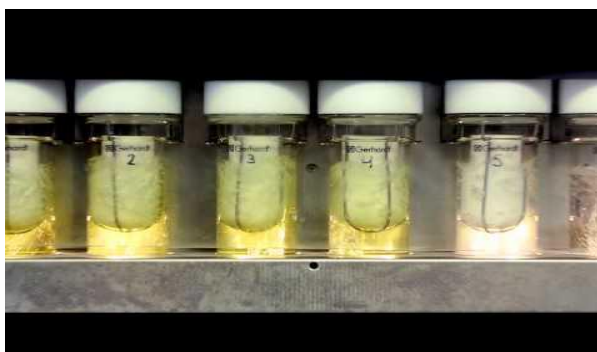
Επεξήγηση εικόνας 30:

Σημείο (1): Προστατευτικό τζάμι που ανοίγει αυτόματα με το πέρας των διαδικασιών

Σημείο (2): Εστίες θέρμανσής

Σημείο (3): Μεταλλικοί υποδοχείς για τα ειδικά ποτήρια ζέσεως

Σημείο (4): έξοδος οργανικού διαλύτη που επαναυγροποιηθéké κατά την χρήση της συσκευής και προορίζεται για μετέπειτα χρήση.



Εικόνα 4.1.4.3: Συσκευή Soxtherm σε λειτουργία



Εικόνα 4.1.4.4: Αφαίρεση ποτηριών μετά το τέλος της εκχύλισης

4.1.5 Προσδιορισμός ινώδων ουσιών με τη κλασσική μέθοδο Weende

Σήμερα στα σύγχρονα εργαστήρια ο προσδιορισμός των ινώδων ουσιών με τη κλασσική μέθοδο Weende δεν χρησιμοποιείται λόγω της επικινδυνότητας από τη χρήση του αμianto. Η κλασσική μέθοδος βασίζεται στη διαλυτοποίηση και την απομάκρυνση των μη κυτταρινούχων συστατικών της εξεταζόμενης τροφής με τη βοήθεια αιραίων διαλυμάτων θειικού οξέος (H_2SO_4) και υδροξειδίου του νατρίου ($NaOH$).

Η εξεταζόμενη τροφή σε πρώτο στάδιο υπόκειται σε βρασμό με διάλυμα θειικού οξέος και έπειτα, σε δεύτερο στάδιο, υπόκειται σε βρασμό σε διάλυμα $NaOH$, κατά απομίμηση της πεπτικής δράσης των γαστρικών εκκρίσεων.

Η μέθοδος που χρησιμοποιείται σήμερα σε σύγχρονες εγκαταστάσεις εργαστηρίων, βασίζεται στη διαλυτοποίηση και απομάκρυνση των μη κυτταρινούχων συστατικών της εξεταζόμενης ζωοτροφής με την βοήθεια αιραίων διαλυμάτων θειικού οξέος και υδροξειδίου του καλίου (KOH) αντί του υδροξειδίου του νατρίου. Το υπόλειμμα που μένει μετά από τους 2 βρασμούς, διηθείται, εκπλύνεται με ζεστό νερό και με οινόπνευμα, έπειτα ζυγίζεται και τέλος αποτεφρώνεται. Η διαφορά που υπάρχει στο βάρος του υπολείμματος πριν και μετά την αποτέφρωση εκφράζει την ποσότητα των ινώδων ουσιών που περιέχονται στο δείγμα της εξεταζόμενης τροφής (Κανδρέλης και συν 2009).

Όπου:

W_1 : Το βάρος των ποτηριών μετά την κατεργασία με H_2SO_4 και KOH

W_2 : Το βάρος των ποτηριών μετά την αποτέφρωση

W_0 : Το βάρος του δείγματος της ζωοτροφής σε gr

$$\text{Ινώδεις ουσίες (\%)} = \frac{W_1 - W_2}{W_0} \times 100$$

Το αδιάλυτο, σε όξινο και αλκαλικό μέσο, υπόλειμμα που απομένει περιέχει ολόκληρη την ποσότητα της κυτταρίνης και το σημαντικότερο μέρος των ημικυτταρινών και της λιγνίνης.

Το κλάσμα που προορίζεται με τη μέθοδο αυτή είναι η ελεύθερη λίπους οργανική ουσία που είναι αδιάλυτη σε όξινο και αλκαλικό μέσο και περιγράφεται ως ινώδεις ουσίες.

Πορεία εργασίας για τον προσδιορισμό ινώδων ουσιών κατά Weende με τη συσκευή Fibertec

Η μέθοδος βασίζεται στη διαλυτοποίηση και απομάκρυνση των μη κυτταρινούχων συστατικών της προς ανάλυση ζωοτροφής με βοήθεια αιραίων διαλυμάτων θειικού οξέος και υδροξειδίου του καλίου (KOH).

1. Ζυγίζουμε 1 gr δείγματος τροφής και μεταφέρουμε σε κάθε ένα από τα έξι ειδικά, με πορώδη πάτο, ποτήρια που είναι ήδη τοποθετημένα στον ειδικό υποδοχέα
2. Με τη βοήθεια του υποδοχέα μεταφέρουμε τα ποτήρια στη συσκευή εκχύλισης και τα σταθεροποιούμε στη σωστή θέση
3. Μέσω της ειδικής βαλβίδας προσθέτουμε σε κάθε ποτήρι 150 ml προθερμασμένου θειικού οξέος
4. Προσθέτουμε 4 με 5 σταγόνες οκτανόλης για να παρεμποδιστεί ο σχηματισμός υπερβολικής ποσότητας αφρού και ρυθμίζουμε τη θερμοκρασία έτσι ώστε να έχουμε έναν συνεχή και ήπιο βρασμό
5. Αφήνουμε το δείγμα να βράσει για 30 λεπτά
6. Με τη βοήθεια του συστήματος κενού που φέρει η συσκευή απομακρύνουμε το θειικό οξύ μαζί με τα διαλελυμένα, μη κυτταρινούχα, συστατικά του δείγματος
7. Ξεπλύνουμε το δείγμα με ζεστό απεσταγμένο νερό, 3 φορές
8. Προσθέτουμε σε κάθε ποτήρι 150 ml προθερμασμένου διαλύματος υδροξειδίου του καλίου
9. Προσθέτουμε 4 με 5 σταγόνες οκτανόλη και επαναλαμβάνουμε το βρασμό του δείγματος για ακόμα 30 λεπτά
10. Απομακρύνουμε το υδροξείδιο του καλίου μαζί με τα εν αυτό διαλελυμένα συστατικά του δείγματος και ξεπλύνουμε το δείγμα 3 φορές με ζεστό νερό
11. Με τη βοήθεια του υποδοχέα μεταφέρουμε τα ποτήρια στη συσκευή ψυχρής εκχύλισης και ξεπλύνουμε τα δείγματα με ακετόνη 3 φορές, ενεργοποιώντας ταυτόχρονα το σύστημα απορρόφησης υπό κενό που φέρει η συσκευή
12. Μεταφέρουμε τα ποτήρια σε ειδικό υποδοχέα και τα τοποθετούμε στον κλίβανο ξήρανσης στους 100 °C για 12 ώρες ή στους 130 °C για το διάστημα των 2 ωρών
13. Μετά την εξαγωγή τους από τον κλίβανο ξήρανσης τοποθετούμε τα ποτήρια σε γυάλινο ξηραντήρα για 20 λεπτά και εν συνεχεία τα ζυγίζουμε σε ζυγαριά ακριβείας
14. Τοποθετούμε τα ποτήρια στον κλίβανο αποτέφρωσης στους 500 °C για 3 ώρες
15. Αφού τα ποτήρια κρυώσουν μέχρι τους 100 °C τα τοποθετούμε στο γυάλινο ξηραντήρα για 20 λεπτά και στη συνέχεια τα ζυγίζουμε (Κανδρέλης και συν. 2009).



Εικόνα 4.1.5.1: Α μέρος συσκευής



Εικόνα 4.1.5.2: Β μέρος συσκευής

4.1.6 Προσδιορισμός ελεύθερων αζώτου εκχυλισματικών ουσιών

Οι ελεύθερες αζώτου εκχυλισματικές ουσίες (ΕΝΕΟ) αντιπροσωπεύουν ένα σύνολο οργανικών ουσιών για το οποίο δεν υπάρχει ειδική ανάλυση και ο προσδιορισμός τους πραγματοποιείται από τον υπολογισμό του παρακάτω τύπου:

$$\text{ΕΝΕΟ} = 100 - (\text{Υγρασία \%} + \text{Τέφρα \%} + \text{Ολική πρωτεΐνη \%} + \text{Ολικό λιπος \%} + \text{Ολικές ινώδεις ουσίες \%})$$

Οι ελεύθερες αζώτου εκχυλισματικές ουσίες θεωρείται ότι αποτελούν το πλέον εύπεπτο από τα μη αζωτούχα συστατικά της τροφής. Αυτό δεν είναι αληθές διότι η ομάδα αυτών των ουσιών περιέχει κάποια ποσοστά λιγνίνης και ημικυτταρίνης. Στη πραγματικότητα, οι ελεύθερες αζώτου εκχυλισματικές ουσίες αποτελούνται από:

- Άμυλο
- Σάκχαρα
- Οργανικά οξέα (π.χ γαλακτικό και οξικό οξύ)
- Κάποιους υδατάνθρακες
- Ένα μικρό ποσοστό κυτταρίνης

Ο βαθμός πεπτικότητας των ελεύθερων αζώτου εκχυλισματικών ουσιών είναι γενικά σε υψηλό βαθμό, όμως η παρουσία κάποιων ποσοστών λιγνίνης και ημικυτταρίνης καθιστά τις ελεύθερες αζώτου εκχυλισματικές ουσίες ένα κλάσμα της τροφής με το συντελεστή πεπτικότητας να κυμαίνεται ανάλογα με τα ποσοστά της λιγνίνης και της ημικυτταρίνης που υπάρχουν.

Η σχέση των μη αζωτούχων ουσιών στις ζωοτροφές

Προκειμένου να κατανοήσουμε τη σύσταση και τη σημασία του κλάσματος της τροφής των ελεύθερων αζώτου εκχυλισματικών ουσιών, μπορούν να θεωρηθούν ως ομάδα των υδατανθράκων. Οι υδατάνθρακες σχηματίζονται, μέσω της φωτοσύνθεσης, από τα φυτά. Η ονομασία τους οφείλεται στο γεγονός ότι περιέχουν, εκτός από άνθρακα, υδρογόνο και οξυγόνο στην ίδια αναλογία με την οποία τα δύο αυτά στοιχεία συμμετέχουν στη δομή του μορίου του ύδατος, όμως υπάρχουν και εξαιρέσεις (Ζέρβας 2005).

Οι υδατάνθρακες αποτελούν κύρια πηγή ενέργειας στα διάφορα είδη ζωοτροφών. Τα διάφορα μέλη της ομάδας διαφέρουν ως προς την ικανότητα τους να προσάγουν καθαρή ενέργεια στον οργανισμό, λόγω διαφόρων παραγόντων στο βαθμό πεπτικότητας τους και λόγω των διαφορετικών προϊόντων που προκύπτουν από τη διάσπαση τους στο πεπτικό σύστημα.

Οι ημικυτταρίνες, μαζί με την κυτταρίνη αποτελούν κυρία μέρη των φυτικών τοιχωμάτων. Άρα, οι τροφές φυτικής προέλευσης περιέχουν τις περισσότερες φορές έναν συνδυασμό ενώσεων των τεσσάρων αυτών κατηγοριών υδατανθράκων.

Ο συντελεστής πεπτικότητας των ελεύθερων αζώτου εκχυλισματικών ουσιών αν και παρουσιάζει κάποια παραλλακτικότητα είναι συνήθως υψηλότερος αυτών της πρωτεΐνης, του λίπους και των ινωδών ουσιών της ίδιας τροφής. Τέλος, αξίζει να σημειωθεί ότι η σημασία των ελεύθερων αζώτου εκχυλισματικών ουσιών ως πηγή ενέργειας για κάθε ζώο έγκειται στο γεγονός ότι το κλάσμα αυτό της εξεταζόμενης τροφής αποτελεί περίπου το 70% της ξηράς ουσίας των συμπυκνωμένων ζωοτροφών και περίπου το 40% της ξηράς ουσίας των χονδροειδών ζωοτροφών (Κανδρέλης και συν. 2009).

4.1.7 Προσδιορισμός ινωδών ουσιών

Συμπερασματικά, ο προσδιορισμός των ινωδών ουσιών δεν αντιπροσωπεύει ικανοποιητικά το λιγότερο εύπεπτο μέρος των ινωδών ουσιών της τροφής σε πολλές περιπτώσεις.

Το κλάσμα των ελεύθερων αζώτου εκχυλισματικών ουσιών δεν είναι πάντα μια σωστή εκτίμηση των πολύ πέπτων υδατανθράκων. Ακόμα, η πεπτικότητα των ινωδών ουσιών υπερβαίνει αυτή των ελεύθερων αζώτου εκχυλισματικών ουσιών στο 30% των ζωοτροφών (Van Soest 1994). Είναι σημαντικό να σημειωθεί ότι, η χρησιμοποίηση αιθέρα κατά τον προσδιορισμό ολικού λίπους, έχει ως αποτέλεσμα την αφαίρεση των κηρών και μερικών άλλων ενώσεων που δεν θεωρούνται εύπεπτες. Επίσης, ο προσδιορισμός αζωτούχων ουσιών στηρίζεται στην υπόθεση ότι το άζωτο συναντιέται υπό τη μορφή πρωτεΐνης με περιεκτικότητα 16%, που ως γεγονός είναι ανακριβές.

Τέλος, για όλους τους παραπάνω λόγους, το κλάσμα των ελεύθερων αζώτου εκχυλισματικών ουσιών (ENEO) και οι ινώδεις ουσίες δεν θα πρέπει να χρησιμοποιούνται ευρέως. Αντίθετα, οι αζωτούχες ουσίες αποτελούν τη βάση για την αξιολόγηση της πρωτεϊνικής αξίας μια ζωοτροφής και είναι ακόμα αποδεκτή μέθοδος (Κανδρέλης και συν. 2009).

4.1.7.1 Μέθοδος Van Soest and Moore

Ο Van Soest και οι συνεργάτες του ανέπτυξαν την ομώνυμη μέθοδο στο πανεπιστήμιο “Cornell” της Νέας Υόρκης, με σκοπό την εξάλειψη όλων το σφαλμάτων που συναντάμε στη μέθοδο Weende κατά τον προσδιορισμό των κυτταρινούχων ουσιών μιας εξεταζόμενης τροφής.

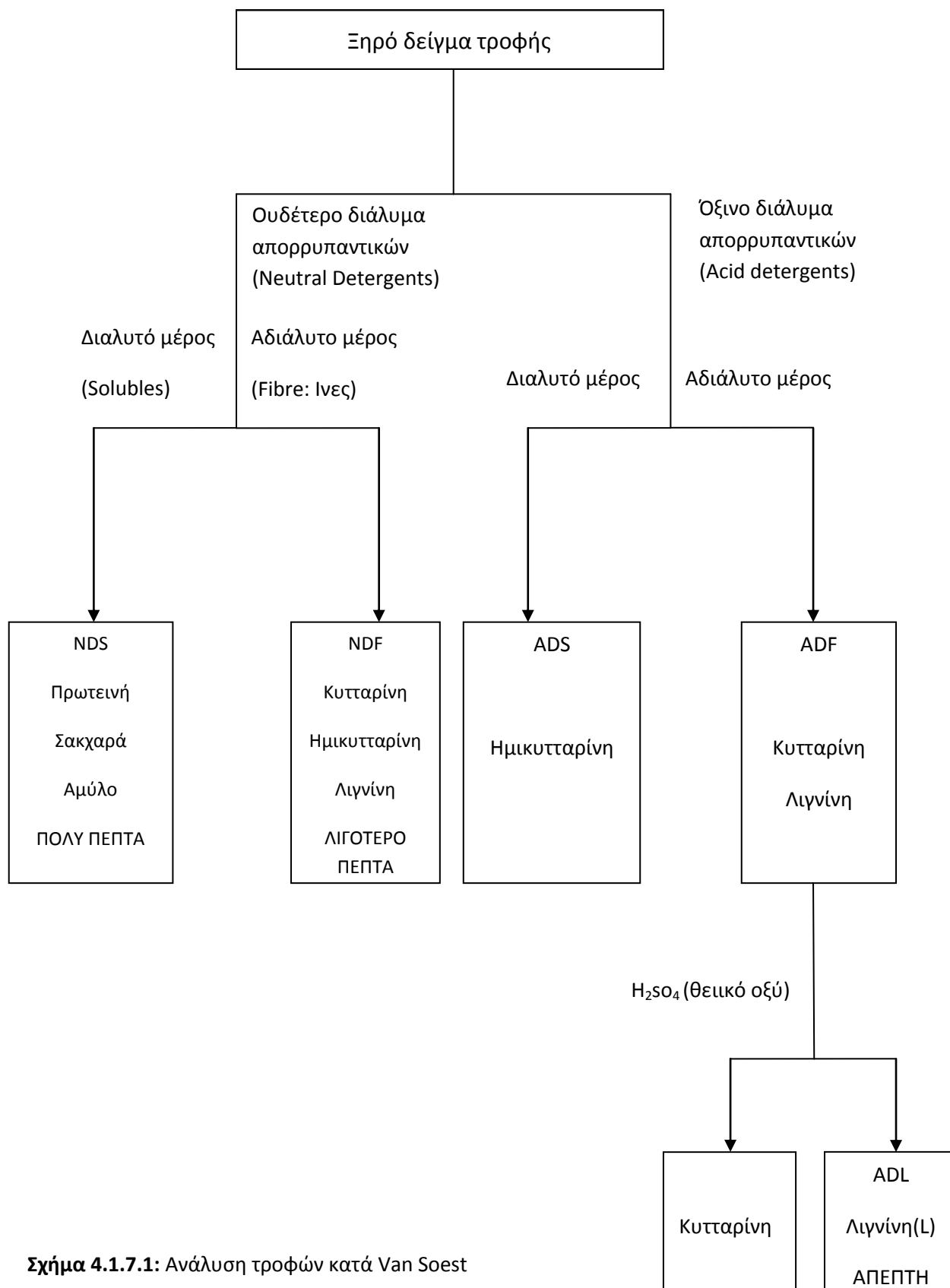
Κατά την μέθοδο Van Soest, η ξηρά ουσία της εξεταζόμενης τροφής διαχωρίζεται σε δύο μέρη:

1. Υψηλής θρεπτικής αξίας
2. Χαμηλότερης θρεπτικής αξίας

Έπειτα το δείγμα της εξεταζόμενης τροφής υποβάλλεται σε βρασμό μέσα σε ουδέτερο διάλυμα απορρυπαντικών. Με τη μέθοδο αυτή ουσιαστικά όλη η ημικυτταρίνη και η λιγνίνη της εξεταζόμενης τροφής συμπεριλαμβάνεται στο κλάσμα NDF.

Ο Van Soest θεώρησε απαραίτητο να προσδιορίσει και το ποσοστό λιγνίνης που υπάρχει στο κλάσμα NDF και αυτό διότι η θρεπτική αξία των ουσιών που απαρτίζουν το κλάσμα NDF επηρεάζονται σε μεγάλο βαθμό από το ποσοστό λιγνίνης που υπάρχει σε αυτό.

Για να προσδιορίσουμε την λιγνίνη στην εξεταζόμενη τροφή, το δείγμα της τροφής υποβάλλεται μέσα σε όξινο διάλυμα απορρυπαντικών γνωστό ως ADS και αυτό είναι το διαλυτό μέρος. Το μη διαλυτό μέρος του δείγματος, γνωστό ως ADF, αποτελείται κατά κύριο λόγο από τη λιγνίνη την κυτταρίνη και διοξείδιο του πυριτίου. Η διαφορά που υπάρχει μεταξύ του ADF και του NDF είναι στο ότι το NDF περιέχει όλη την ημικυτταρίνη του δείγματος και ελάχιστο ποσό πρωτεΐνης. Συμπερασματικά, η διάφορα μεταξύ του ποσοστού NDF και ADF εκφράζει το ποσοστό της ημικυτταρίνης (Κανδρέλης και συν. 2009).



Σχήμα 4.1.7.1: Ανάλυση τροφών κατά Van Soest

Ινώδεις ουσίες ουδέτερου διαλύματος απορρυπαντικών (NDF)

Βασίζεται στη διαλυτοποίηση (μέσω του διαλύματος απορρυπαντικών) και το διαχωρισμό της τροφής στα εξής κλάσματα:

1. Διαλυτό μέρος (NDS : Neutral Detergent Solubles): Είναι το πολύ πεπτό μέρος της τροφής και αποτελείται από:
 - Λίπη
 - Πρωτεΐνες
 - Διαλυτούς υδατάνθρακες (σάκχαρα, άμυλο)
 - Άλλα διαλυτά συστατικά
2. Αδιάλυτο μέρος (NDF: Neutral Detergent Fiber): Είναι τα λιγότερα πεπτά κλάσματα της τροφής και αποτελείται κυρίως από τα φυτικά κυτταρικά τοιχώματα:
 - Κυτταρίνη
 - Ημικυτταρίνη
 - Λιγνίνη

Ινώδεις ουσίες όξινου διαλύματος απορρυπαντικών (ADF)

Βασίζεται στη διαλυτοποίηση (μέσω διαλύματος απορρυπαντικών) και το διαχωρισμό της τροφής στα εξής κλάσματα:

1. Διαλυτό μέρος (ADS: Acid Detergent Solubles): Περιλαμβάνει την ημικυτταρίνη
2. Αδιάλυτο μέρος (ADF: Acid Detergent Fiber): Περιλαμβάνει το λιγότερο πεπτό μέρος της τροφής το οποίο αποτελείται από κυτταρίνη και λιγνίνη.

Η διαφορά NDF και ADF αντιπροσωπεύει την ημικυτταρίνη
--

Αδιάλυτη Λιγνίνη (ADL)

Μετά την εφαρμογή όξινου διαλύματος απορρυπαντικών ουσιών ADF στο δείγμα της εξεταζόμενης τροφής, το ίδιο δείγμα κατεργάζεται με θειικό οξύ (H_2SO_4) το οποίο διαχωρίζει το ADF στα εξής κλάσματα:

1. Διαλυτό μέρος: Κυτταρίνη
2. Αδιάλυτο μέρος: Λιγνίνη

Διαδικασία προσδιορισμού αδιάλυτων σε ουδέτερο διάλυμα απορρυπαντικών ουσιών (NDF) της τροφής

Η μέθοδος αυτή βασίζεται στη διαλυτοποίηση, μέσω ενός ουδέτερου διαλύματος απορρυπαντικών δηλαδή:

1. Των διαλυτών υδατανθράκων, συμπεριλαμβανομένης της και της πεκτίνης
2. Σχεδόν όλου του συνόλου των πρωτεϊνών
3. Των διαλυτών ανόργανων αλάτων και μέρους του διοξειδίου του πυριτίου

4. Των λιπών

Τα μη διαλυτά μέρη του δείγματος είναι ουσίες αδιάλυτες σε ουδέτερο διάλυμα απορρυπαντικών και αποτελούνται από:

1. Ημικυτταρίνη
2. Κυτταρίνη
3. Λιγνίνη
4. Κουτίνη
5. Ελάχιστη πρωτεΐνη
6. Αδιάλυτα ανόργανα άλατα (Κανδρέλης συν.2009)

Αντιδραστήρια που χρησιμοποιούνται:

- Ουδέτερο διάλυμα απορρυπαντικών:
 1. Ένυδρο τετρατομικό νάτριο ($\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7 \cdot 10\text{H}_2\text{O}$), 6,81 gr
 2. Δινάτριο άλας του αιθυλενοδιαμινοτετραοξικού οξέος ή δινάτριο άλας του EDTA ($\text{C}_{10}\text{H}_{14}\text{N}_2\text{Na}_2\text{O}_8$), 18,610 gr
 3. Δωδεκυκλοθειικό νάτριο ($\text{C}_{12}\text{H}_{25}\text{NaO}_4\text{S}$), 30 gr
 4. 2-αιθοξύ-αιθανόλη ($\text{C}_4\text{H}_{10}\text{O}_2$), 10 ml
 5. Μονόξινο φωσφορικό νάτριο (Na_2HPO_4), 5,46 gr
 6. Απεσταγμένο νερό (H_2O), 1000 ml
- Οκτανόλη ($\text{C}_8\text{H}_{18}\text{O}$)
- Άνυδρο θειώδες νάτριο (Na_2SO_3), 4 gr
- Ακετόνη

Για την δημιουργία του ουδέτερου διαλύματος απορρυπαντικών (NDF) χρησιμοποιούμε κατά σειρά:

Σε ένα λίτρο απεσταγμένο νερό (H_2O) προσθέτουμε:

1. Σε ένα ποτήρι ζέσεως με τα πρώτα 400 ml νερού ρίχνουμε 30 gr δωδεκυκλοθειικό νάτριο ($\text{C}_{12}\text{H}_{25}\text{NaO}_4\text{S}$) (Dodecyl sulfate sodium salt) και κάνουμε ανάδευση στο μαγνητικό αναδευτήρα στους 30 με 35 °C
2. Έπειτα ρίχνουμε 18,610 gr δινάτριο άλας του EDTA ($\text{C}_{10}\text{H}_{14}\text{N}_2\text{Na}_2\text{O}_8$) (Tritrilex)
3. Ρίχνουμε 6,81 gr ένυδρο τετρατομικό νάτριο ($\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7 \cdot 10\text{H}_2\text{O}$) (Di-sodium tetraborate decahydrate) και συνεχίζουμε την ανάδευση ενώ παράλληλα προσθέτουμε άλλα 200 ml απεσταγμένου νερού (H_2O)
4. Έπειτα ρίχνουμε 5,46 gr μονόξινο φωσφορικό νάτριο (Na_2HPO_4) (Di-sodium hydrogen phosphate)
5. Τέλος, ρίχνουμε 10 ml 2-αιθοξύ-αιθανόλη ($\text{C}_4\text{H}_{10}\text{O}_2$) και συμπληρώνουμε το υπόλοιπο νερό

Αφού γίνει η ανάδευση ελέγχουμε το pH το οποίο θα πρέπει να είναι 6,9 – 7,1

Πορεία εργασίας

Κάνουμε άλεση το δείγμα της τροφής χρησιμοποιώντας κόσκινο με οπές του 1 χιλιοστού

1. Μέσα σε ειδικό ποτηράκι ζυγίζουμε περίπου 1 γραμμάριο εξεταζόμενης τροφής
2. Σε κάθε ένα από τα ποτηράκια, τα οποία έχουν τοποθετηθεί στον υποδοχέα της συσκευής, προσθέτουμε 100 ml διαλύματος, 0,5 γραμμάρια θειώδους νατρίου και 4-5 σταγόνες οκτανόλης
3. Ρυθμίζουμε το πρόγραμμα της συσκευής με σκοπό να επιτύχουμε έναν ήπιο βρασμό και βράζουμε το δείγμα για 60 λεπτά
4. Απομακρύνουμε το υγρό με τα εν αυτό διαλελυμένα συστατικά και στη συνέχεια ξεπλένουμε το υπόλειμμα 3 φορές με ζεστό απεσταγμένο νερό και 2 φορές με κρύα ακετόνη
5. Τοποθετούμε τα ποτηράκια στο πυριαντήριο για 8 ώρες στους 105 °C
6. Μετά το πέρας των 8 ωρών τοποθετούμε τα ποτήρια στο γυάλινο ξηραντήριο για να αποκτήσουν θερμοκρασία περιβάλλοντος
7. Αφού αποκτήσουν θερμοκρασία περιβάλλοντος ζυγίζουμε (B₁)

Τύπος υπολογισμού αδιάλυτων ουσιών σε ουδέτερο διάλυμα απορρυπαντικών(NDF):

$$\text{NDF \%} = \frac{(\text{βάρους ποτηριού} + \text{βάρους υπολείματος}) - \text{βάρους ποτηριού}}{\text{βάρους αρχικού δείγματος}} \times 100$$

Υπολογισμός της αδιάλυτης τέφρας σε ουδέτερο διάλυμα απορρυπαντικών:

- Τοποθετούμε τα ποτηράκια στον κλίβανο αποτέφρωσης για 3 ώρες στους 550 °C , μετά το πέρας των 3 ωρών αφήνουμε να αποκτήσουν θερμοκρασία δωματίου στο γυάλινο ξηραντήριο
- Έπειτα ζυγίζουμε (B₂)

$$\text{Τεφρα \%} = \frac{B_1 - B_2}{\text{βάρους αρχικού δείγματος}} \times 100$$

Προσδιορισμός των αδιάλυτων σε όξινο διάλυμα απορρυπαντικών ουσιών της τροφής (ADF)

Η συγκεκριμένη μέθοδος βασίζεται στη διαλυτοποίηση μέσω όξινου διαλύματος απορρυπαντικών:

1. Των διαλυτών υδατανθράκων , συμπεριλαμβανομένης και της πεκτίνης
2. Σχεδόν όλο το σύνολο των πρωτεϊνών
3. Των διαλυτών ανόργανων αλάτων

Τα μη διαλυτά συστατικά του δείγματος αποτελούνται από:

- Κυτταρίνη
- Λιγνίνη
- Ανόργανα άλατα, κυρίως διοξείδιο του πυριτίου

Και χαρακτηρίζονται σαν ουσίες αδιάλυτες σε όξινο διάλυμα απορρυπαντικών. Η διαφορά μεταξύ NDF και ADF αντιπροσωπεύει κατά κύριο λόγο η ημικυτταρίνη (Κανδρέλης 2009).

Αντιδραστήρια που χρησιμοποιούνται:

1. Όξινο διάλυμα απορρυπαντικών
 - Δεκαεξυλο-τριμέθυλιο-αμμωνιοβρωμίδιο ($C_{19}H_{46}BrN$) 20 gr
 - Θεϊκό οξύ 1N (H_2SO_4 49,04 gr/1000 ml H_2O) 1000 ml
2. Οκτανόλη ($C_8H_{18}O$)
3. Ακετόνη

Για την δημιουργία του όξινου διαλύματος απορρυπαντικών ουσιών της τροφής (ADF) χρησιμοποιούμε κατά σειρά:

Σε ένα λίτρο απεσταγμένο νερό (H_2O) προσθέτουμε:

1. Προσθέτουμε 28 ml θεϊκό οξύ (H_2SO_4)
2. Έπειτα προσθέτουμε 20 gr δεκαεξυλο-τριμέθυλιο-αμμωνιοβρωμίδιο ($C_{19}H_{46}BrN$) (Trimethyl)
3. Τοποθετούμε στον μαγνητικό αναδευτήρα στους 200 °C οπού γίνεται και η ανάδευση

Πορεία εργασίας

Κάνουμε άλεση το δείγμα της τροφής χρησιμοποιώντας κόσκινο με οπές του 1 χιλιοστού

1. Μέσα σε ειδικό ποτηράκι ζυγίζουμε περίπου 1 γραμμάριο εξεταζόμενης τροφής
2. Σε κάθε ένα από τα ποτηράκια, τα οποία έχουν τοποθετηθεί στον υποδοχέα της συσκευής, προσθέτουμε 100 ml διαλύματος και 4-5 σταγόνες οκτανόλης
3. Ρυθμίζουμε το πρόγραμμα της συσκευής με σκοπό να επιτύχουμε έναν ήπιο βρασμό και βράζουμε το δείγμα για 60 λεπτά
4. Απομακρύνουμε το υγρό με τα εν αυτό διαλελυμένα συστατικά και στη συνέχεια ξεπλένουμε το υπόλειμμα 3 φορές με ζεστό απεσταγμένο νερό και 2 φορές με κρύα ακετόνη
5. Τοποθετούμε τα ποτηράκια στο πυριαντήριο για 8 ώρες στους 105 °C
6. Μετά το πέρας των 8 ωρών τοποθετούμε τα ποτήρια στο γυάλινο ξηραντήριο για να αποκτήσουν θερμοκρασία περιβάλλοντος
7. Ζυγίζουμε (B_1)

$$ADF \% = \frac{(\text{βάρους ποτηριού} + \text{βάρους υπολείμματος}) - \text{βάρους ποτηριού}}{\text{βάρους αρχικού δείγματος}} \times 100$$

Υπολογισμός αδιάλυτης τέφρας σε όξινο διάλυμα απορρυπαντικών

- Τοποθετούμε τα ποτηράκια στον κλίβανο αποτέφρωσης για 3 ώρες στους 550 °C , μετά το πέρας των 3 ωρών αφήνουμε να αποκτήσουν θερμοκρασία δωματίου στο γυάλινο ξηραντήριο
- Έπειτα ζυγίζουμε (B_2)

$$\text{Τεφρα \%} = \frac{B_1 - B_2}{\text{βάρους αρχικού δείγματος}} \times 100$$

Προσδιορισμός Λιγνίνης

Η συγκεκριμένη μέθοδος βασίζεται στη διαλυτοποίηση, μέσω 72% θειικού οξέος της κυτταρίνης που απομένει μετά τη διαδικασία του προσδιορισμού του ADF στην εξεταζόμενη τροφή. (Κανδρέλης και συν. 2009) Το μη διαλυτό μέρος του δείγματος αποτελείται από:

- Λιγνίνη
- Κουτίνη
- Ανοργάνα άλατα, κυρίως διοξείδιο του πυριτίου (SiO₂)

Αντιδραστήρια που χρησιμοποιούνται:

1. Θειικό οξύ (H₂SO₄) κανονικότητας 24N με πυκνότητα 1,634 στους 20 °C

Για την παρασκευή του διαλύματος, τοποθετούμε σε μια ογκομετρική φιάλη των 1000 ml, 1200 gr πυκνού θειικού οξέος H₂SO₄ (98%, πυκνότητα 1,84) σε 440 ml απεσταγμένο νερό αφού προηγουμένως έχουμε εμβαπτίσει την φιάλη σε μια λεκάνη με κρύο νερό.

Πορεία εργασίας

Εάν θέλουμε να προσδιορίσουμε την αδιάλυτη λιγνίνη σε δείγμα τροφής το οποίο δεν έχει υποβληθεί σε καμία επεξεργασία, θα πρέπει να επαναλάβουμε με την ίδια σειρά τις ενέργειες τις οποίες είχαμε κάνει για τον προσδιορισμό του ADF από το βήμα 1 έως το βήμα 5

Αν το δείγμα τις εξεταζόμενης τροφής έχει υποβληθεί στην διαδικασία προσδιορισμού του ADF ξεκινάμε την διαδικασία

1. Προσθέτουμε 25 ml θειικού οξέος 72% σε κάθε ένα από τα ειδικά ποτηράκια και αφήνουμε το οξύ να δράσει επί του υπολείμματος για 3 ώρες σε θερμοκρασία περιβάλλοντος
2. Κάθε μια ώρα ανακατεύουμε με γυάλινη ράβδο ελαφρά
3. Με τη βοήθεια φιάλης κενού απομακρύνουμε το οξύ και τα εν αυτό διαλυμένα συστατικά του δείγματος και ξεπλένουμε το υπόλειμμα 3-4 φορές με ζεστό απεσταγμένο νερό
4. Τοποθετούμε τα ποτηράκια στο πυριαντήριο για 8 ώρες στους 105 °C
5. Με το πέρας των 8 ωρών αφήνουμε τα ποτηράκια να αποκτήσουν θερμοκρασία περιβάλλοντος
6. Έπειτα ζυγίζουμε

$$ADF\% = \frac{(\text{βάρους ποτηριού} + \text{βάρους υπολείμματος}) - \text{βάρους ποτηριού}}{\text{βάρους αρχικού δείγματος}} \times 100$$

Υπολογισμός αδιάλυτων ανόργανων αλάτων και διοξείδιο του πυριτίου (SiO₂) σε 72% θειικό οξύ:

7. Τοποθετούμε τα ποτηράκια στον κλίβανο αποτέφρωσης για 3 ώρες στους 550 °C

8. Στη συνέχεια τα αφήνουμε να αποκτήσουν θερμοκρασία περιβάλλοντος στον γυάλινο ξηραντήρα
9. Έπειτα ζυγίζουμε

$$\text{Ανόργανα άλατα} + \text{SiO}_2\% = \frac{(\text{βάρους ποτηριού} + \text{βάρους υπολείμματος}) - \text{βάρους ποτηριού}}{\text{βάρους αρχικού δείγματος}} \times 100$$

Για τον προσδιορισμό του διοξειδίου του πυριτίου (SiO_2), ο οποίος σε ελάχιστες περιπτώσεις είναι επιθυμητός, μετά την τελευταία ενέργεια της παραπάνω πορείας εργασίας κάνουμε τα εξής:

1. Τοποθετούμε σε ποτηράκι 4 ml υδροβρωμικού οξέος 48% κατά βάρος και αφήνουμε το οξύ να δράσει επί της τέφρας για 90 λεπτά.
2. Εν συνεχεία απομακρύνουμε το οξύ, ξεπλένουμε μια φορά με ακετόνη
3. Τοποθετούμε τα ειδικά ποτηράκια στο κλίβανο στους 550°C για 3 ώρες.
4. Με το πέρας των 3 ωρών αφήνουμε τα ποτηράκια να έρθουν σε θερμοκρασία περιβάλλοντος στον γυάλινο ξηραντήρα
5. Έπειτα ζυγίζουμε

$$\text{SiO}_2\% = \frac{(\text{βάρους ποτηριού} + \text{βάρους τέφρας}) - \text{βάρους ποτηριού}}{\text{βάρους αρχικού δείγματος}} \times 100$$



Εικόνα 4.1.7.1: Συσκευή ANKOM για τον προσδιορισμό ADF, NDF και λιγνίνης

4.2 Προετοιμασία δειγμάτων προς ανάλυση

Μια ανάλυση για να είναι ακριβής, θα πρέπει πρώτα απ όλα τα δείγματα να προέρχονται από το σύνολο της ποσότητας της υπό εξέτασης τροφής και η μεταφορά στο εργαστήριο για ξήρανση και άλεση, να γίνει με τέτοιο τρόπο ώστε να εξασφαλίζεται η ακεραιότητά τους. Ιδιαίτερη προσοχή θα πρέπει να δοθεί στα εξής:

- Στον τρόπο δειγματοληψίας
- Στην ξήρανση
- Στην άλεση

Προκειμένου, να μην υπάρξει απώλεια θρεπτικών συστατικών.

Η άλεση είναι η πλέον κοινή μέθοδος επεξεργασίας ζωοτροφών, η οποία οδηγεί σε μια μείωση του μεγέθους των μορίων και κατά συνέπεια, την έκθεση μεγαλύτερης επιφάνειας ζωοτροφής στη δράση χημικών ουσιών. Υπάρχουν διάφοροι τύποι μύλων άλεσης που περιλαμβάνουν μια σειρά από χειρωνακτικούς ή μηχανικούς χειρισμούς. Από τους διάφορους αυτούς τύπους, για εργαστηριακή και βιομηχανική χρήση χρησιμοποιούνται οι σφυρόμυλοι και οι κυλινδρόμυλοι. (Κανδρέλης και συν. 2009)

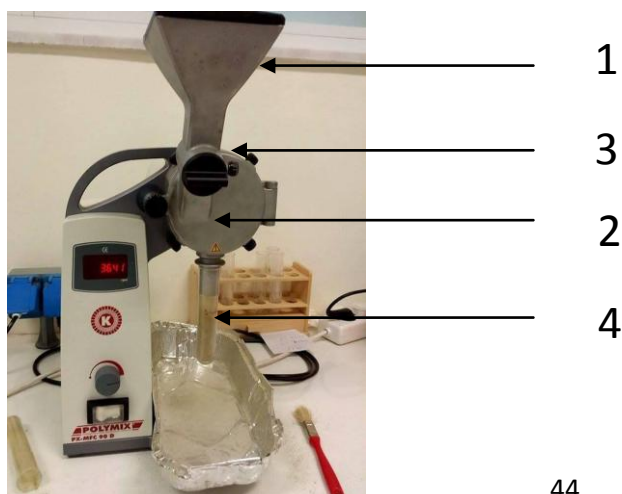
Στο εργαστήριο Βασικής διατροφής αγροτικών ζώων του τμήματος Ζωικής Παραγωγής του Τ.Ε.Ι Ηπείρου, υπάρχουν δύο μύλοι άλεσης:

1. Ο μύλος Kinematica Polymyx PX-MFC 90 D
2. Ο μύλος Knifetec 1095

Μύλος Kinematica Polymix PX-MFC 90 D

Ο μύλος αυτός μπορεί να επεξεργάζεται και ταυτόχρονα να ομογενοποιεί διάφορες χονδροειδείς ή συμπυκνωμένες ζωοτροφές, ενώ παράλληλα η ιδανική χρήση του μύλου αυτού είναι η άλεση αποξηραμένων τροφών.

Η τροφή τοποθετείται στον ειδικό υποδοχέα στο άνω μέρος της συσκευής (1) και εισέρχεται σταδιακά στον κυρίως χώρο άλεσης (2), ενώ υπάρχει και η δυνατότητα ελέγχου της ποσότητας που εισέρχεται στον κυρίως χώρο άλεσης (3). στο κάτω μέρος προσαρμίζονται ειδικά πλαστικά φιαλίδια (4) για την συλλογή του δείγματος που αλέστηκε (Σχήμα 9.2.1).



Σχήμα 4.2.1: Μύλος Kinematica Polymix

Ο μέγιστος όγκος δείγματος που θα πρέπει να τοποθετείτε στο μύλο κάθε φορά δεν θα πρέπει να υπερβαίνει τα 500 ml ενώ η ταχύτητα περιστροφής της κεφαλής θα πρέπει να κυμαίνεται 50-6000 rpm (στροφές ανά λεπτό). Η διάμετρος του αλεσμένου υλικού ρυθμίζεται από κόσκινο που χρησιμοποιείται κατά την έξοδο. Τα διαθέσιμα κόσκινα είναι διαμέτρων 0,2 mm, 0,5 mm, 1,0 mm, 1,5 mm, 2,0 mm, 3,0 mm, 4,0 mm, 5,0 mm και 6,0 mm. Φυσικά η τελική διάμετρος του αλεσμένου δείγματος προς ανάλυση πρέπει να είναι κάτω από 0,5 mm.

Ο μύλος θα πρέπει να καθαρίζεται πολύ καλά μετά από κάθε χρήση. Ο καθαρισμός πρέπει να γίνεται ώστε να αποφεύγεται η ανάμιξη υπολείμματος της προηγούμενης τροφής με την επόμενη προς άλεση τροφή, καθώς αυτό θα έχει ως αποτέλεσμα την δημιουργία σοβαρού σφάλματος στην χημική ανάλυση του δείγματος (Κανδρέλης και συν. 2009).



Εικόνα 4.2.2: Χονδροειδής ζωοτροφή μετά από ξήρανση και άλεση (μύλος kinematica polymix σχήμα 2)



Εικόνα 4.2.3 : Εσωτερικό του μύλου Kinematica Polymix



Εικόνα 4.2.4: Τοποθέτηση ζωοτροφής προς άλεση στο μύλο Kinematica Polymix

Μύλος Knifetec 1095

Ο μύλος Knifetec 1095 σχεδιαστικέ για την άλεση τροφών με υψηλή περιεκτικότητα σε λίπος, ινώδεις ουσίες και υγρασία. Ο έλεγχος των υψηλής ταχύτητας λεπίδων και η χρονομέτρηση έχουν ως αποτέλεσμα την γρήγορη προετοιμασία των δειγμάτων, προς χημική ανάλυση. Ο χρόνος προετοιμασίας συνήθως είναι 2 έως 10 δευτερόλεπτα (Κανδρέλης και συν.2009).

Τα δείγματα τροφών που περιέχουν υψηλά επίπεδα λίπους συνήθως κολλάνε στα τοιχώματα του χώρου άλεση, αυτό συμβαίνει διότι το λίπος μαλακώνει κατά την άλεση, αποτρέποντας έτσι την επίτευξη ομογενοποίησης. Τα πλεονεκτήματα του μύλου Knifetec 1095:

1. Ενιαίο σύστημα άλεσης με πλήρως μετακινούμενες λεπίδες που διευκολύνει τον καθορισμό μετά από κάθε άλεση δείγματος.
2. Η επιλογή για ψύξη του μεταλλικού χώρου άλεση μειώνει την προσκόλληση του δείγματος της τροφής στα τοιχώματα του μύλου.
3. Η θερμότητα που παράγεται από την άλεση είναι ελάχιστη, καθιστά τα δείγματα κατάλληλα για τον περαιτέρω προσδιορισμό της υγρασίας.

Τεχνικά χαρακτηριστικά :

- Μέγιστη ποσότητα δείγματος τροφής προς άλεση 100ml
- Μέγιστη ταχύτητα περιστροφής 20.000 rpm
- Χρόνος άλεσης 2-5-10 sec
- Χρονοδιακόπτης
- Ψύξη του χώρου άλεσης διατηρεί τα δείγματα σε κατάλληλη θερμοκρασία που επιτρέπει την ομογενοποίηση και μειώνει την προσκόλληση των δειγμάτων στο τοίχωμα του χώρου άλεσης
- Διακόπτης ασφαλείας που σταματάει τον στροφέα με τις λεπίδες σε λιγότερο από ένα δευτερόλεπτο
- Ο καθαρισμός είναι εύκολος από το ενιαίο σύστημα άλεσης, των αποσπώμενων λεπίδων και του μετακινούμενου καπακιού



Εικόνα 4.2.5: Μύλος Knifetec



Εικόνα 4.2.6: εσωτερικό του μύλου



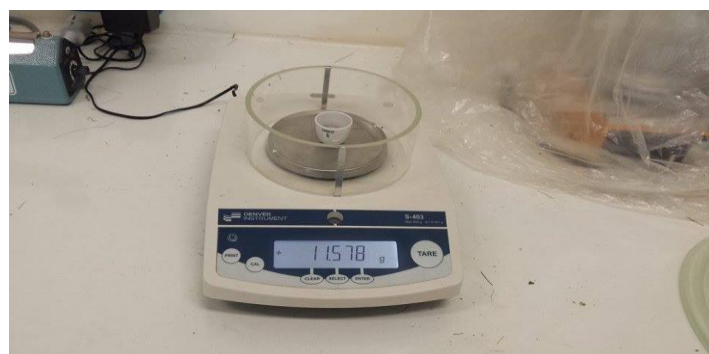
Εικόνα 4.2.7: Τοποθέτηση ζωτροφής προς άλεση στο μύλο Knifetec 1095



Εικόνα 4.2.8: Φύλλα υποφαές μετά από ξήρανση με προορισμό την άλεση



Εικόνα4.2.9: Φύλλα υποφαές μετά από άλεση



Εικόνα 4.2.10: Ζύγιση εξεταζόμενης τροφής

Βιβλιογραφία

- Σ. Κανδρέλης. 2008. Αγροοικολογία, Άρτα .
- Γ. Ζέρβας, Π. Καλαϊσάκη, Κ. Φεγγερού. 2004. Διατροφή αγροτικών ζώων έκδοση Β΄. Εργαστήριο Διατροφής ζώων, τμήμα Ζωικής Παραγωγής, Γεωπονικό Πανεπιστήμιο Αθηνών, Αθήνα.
- Σ. Κανδρέλης. 2013. Βασική Διατροφή αγροτικών ζώων, Άρτα.
- Σ. Κανδρέλης, Χ. Ρούκος , Χ. Κουτσούκης . 2008. Σημειώσεις εργαστηρίου Βασικής Διατροφής αγροτικών ζώων. Τ.Ε.Ι Ηπείρου, Άρτα.
- Γ. Ζέρβας. 2005. Φυσιολογία Θρέψης παραγωγικών ζώων, Αθήνα.
- Βικιπαίδεια. 2015. www.wikipedia.org
- Γ. Ζέρβας. 2007. Κατάρτιση σιτηρεσίων παραγωγικών ζώων, Αθήνα.
- Σ. Κανδρέλης. 2000. Τεχνολογία Λιβαδιπονικών Συστημάτων, Άρτα.
- Ι. Σίντος, Μ. Αλεξίου. 2002. Τεχνολογία Ζωοτροφών. Τ.Ε.Ι Ηπείρου, Άρτα.