



**ΠΟΛΥΤΕΧΝΙΚΗ ΣΧΟΛΗ
ΤΜΗΜΑ ΠΟΛΙΤΙΚΩΝ ΜΗΧΑΝΙΚΩΝ
ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟ ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑΣ ΤΟΥ ΠΕΡΙΒΑΛΛΟΝΤΟΣ**

**ΤΕΧΝΙΚΗ ΕΚΘΕΣΗ
ΠΡΟΖΩΤ - Μετατροπή ελαιοπυρήνα σε πρόσθετο ζωοτροφών
ΦΟΡΕΑΣ ΧΡΗΜΑΤΟΔΟΤΗΣΗΣ: ΥΠΟΥΡΓΕΙΟ ΑΓΡΟΤΙΚΗΣ
ΑΝΑΠΤΥΞΗΣ ΚΑΙ ΤΡΟΦΙΜΩΝ
ΜΙΣ/ΚΩΔ.ΠΡΟΓΡ: Μ16ΣΥΝ2-00255, ΦΚ 82405
ΕΕ1: Ενσίρωση και ανάλυση ελαιοπυρήνα (Π1)**

Ερευνητική Ομάδα:

ΙΩΑΝΝΗΣ ΜΑΝΑΡΙΩΤΗΣ, Καθηγητής

ΣΤΥΛΙΑΝΗ ΜΠΙΛΙΑΝΗ, Υποψήφια Διδάκτωρ

Τεχνική υποστήριξη:

Αθανασοπούλου Δανάη Βασική (Acre)

ThinkSmart IKE

1. Εισαγωγή

Στην Περιφέρεια Δυτικής Ελλάδος παράγονται περίπου 25.000 tn ελαιόλαδου και 100.000 tn ελαιοπυρήνα ετησίως (300.000 και 1.200.000 tn, αντίστοιχα σε όλη τη χώρα). Η ενσωμάτωση του ελαιοπυρήνα σε δίαιτες μηρυκαστικών, προάγει την πέψη ανάλογα με τη αναλογία στη τροφή, επιπλέον παρέχει φθηνή ενέργεια και ίνες στο ζώο, ενώ βελτιώνει την ποιότητα του λίπους στα ζωικά προϊόντα. Αναμένεται ότι η αναφορά του τρέχοντος έργου θα ενθαρρύνει τη χρήση ζωοτροφών με πρόσθετα υψηλής υγρασίας όπως ο ελαιοπυρήνας, τα οποία είναι εξαιρετικά κατάλληλα για τις πεπτικές διεργασίες των μηρυκαστικών. Η επιτόπια παραγωγή μέρους των ζωοτροφών που αφορούν περίπου 2.250.000 ζώα στη Περιφέρεια Δυτικής Ελλάδος (12.000.000 σε όλη τη χώρα) θα συνεισφέρει στη διατροφή με ελάχιστο κόστος . Σήμερα ο ελαιοπυρήνας επεξεργάζεται στα πυρηνελαιουργεία όπου τα τελικά προϊόντα είναι το πυρηνέλαιο και το πυρηνόξυλο. Η επεξεργασία στα πυρηνελαιουργεία έχει περιβαλλοντικές επιπτώσεις ήτοι διαφυγή εξανίου, σωματιδίων και οργανικών πτητικών στην ατμόσφαιρα. Η προτεινόμενη διαδικασία θα έχει σαν αποτέλεσμα την συρρίκνωση του κύκλου καλλιέργειας της ελιάς (με την παράκαμψη των πυρηνελαιουργείων) σε πλέον ανανεώσιμο με μηδενικές επιπτώσεις στο περιβάλλον (ελαχιστοποίηση του αποτυπώματος άνθρακα με αντίστοιχη μεγιστοποίηση των πιστώσεων άνθρακα). Η παραγωγή του μεγάλου όγκου ελαιοπυρήνα διαρκεί για ένα τρίμηνο. Η αποθήκευση και διατήρησή του για μεγάλο χρονικό διάστημα θα επιτυγχάνεται με την μέθοδο της ενσίρωσης.

2. Μεθοδολογία

Συλλογή ελαιόκαρπου και συντήρηση

Ο ελαιόκαρπος συλλέχθηκε από ελαιοτριβείο διπλής φάσης του Βασιλείου Διονυσόπουλου, Πέτα Αχαΐας. Ο ελαιόκαρπος τοποθετήθηκε σε δοχεία πλαστικά και στη συνέχεια καταψύχθηκε στους 4°C σε θάλαμο ψύξης (Εικόνα 1). Ο ελαιόκαρπος αποψυχόταν και χρησιμοποιείτο για να γίνει ο φυσικοχημικός προσδιορισμός και να παρασκευαστούν τα δείγματα ενσίρωσης.

Παρασκευή ενσιρώματος

Στην παρούσα μελέτη εξετάστηκε η σύνθεση ενσιρώματος με χρήση ελαιόκαρπου, μελάσας, αχύρου, ουρίας και εμβολίου. Για την παρασκευή των δειγμάτων εξετάστηκαν διαφορετικές περιπτώσεις. Η υγρασία στον ελαιόκαρπο βρέθηκε ότι ήταν περίπου 80% και με αυτήν έγιναν οι υπολογισμοί της μάζας του ελαιόκαρπου σε ξηρή βάση. Η μελάσα εξετάστηκε σε περιπτώσεις 0, 1, 2 και 4% επί της ξηρής βιομάζας ελαιόκαρπου. Η ουρία εξετάστηκε σε 0, 0.5 και 1% επί της ξηρής βιομάζας ελαιόκαρπου. Σε κάθε περίπτωση η επιθυμητή υγρασία για τη σύνθεση του ενσιρώματος ήταν στο 68% ενώ η ποσότητα του αχύρου διαφοροποιείται ανάλογα με την κάθε περίπτωση. Σε όλες τις περιπτώσεις έχει προστεθεί εμβόλιο (Silage inoculant, 11A44, Pioneer, Iowa, USA) ώστε το τελικό προϊόν ενσιρώματος να έχει $5 \cdot 10^8$ cfu/mL.

Οι περιπτώσεις μελέτης αναλυτικά παρουσιάζονται στον Πίνακα 1 που ακολουθεί. Στον Πίνακα 1 και δίνονται οι ποσότητες του κάθε συστατικού που χρησιμοποιήθηκε για την παρασκευή της συνολικής ποσότητας ενσιρώματος το οποίο στη συνέχεια χωρίστηκε σε επιμέρους αεροστεγή σακουλάκια.

Αφού παρασκευάστηκε το κάθε δείγμα και τοποθετήθηκε στο κάθε σακουλάκι, αυτό σφραγίστηκε με θερμή κόλλα (reseal & save Ltd, UK) και χαρτοταινία. Στην συνέχεια κάθε σακουλάκι ζυγίστηκε σε ζυγαριά ακριβείας (AE 200-5, της εταιρείας Mettler AG, Zurich, Switzerland) προκειμένου να γνωρίζουμε πως μεταβλήθηκε η μάζα κατά την ενσίρωση. Τα σακουλάκια τοποθετήθηκαν σε κουτί σε σκιερό περιβάλλον με θερμοκρασία δωματίου 20 με 25°C όπως φαίνεται στην Εικόνα 2.



Εικόνα 1 Αποθήκευση δοχείων με ελαιόκαρπο σε θάλαμο κατάψυξης..



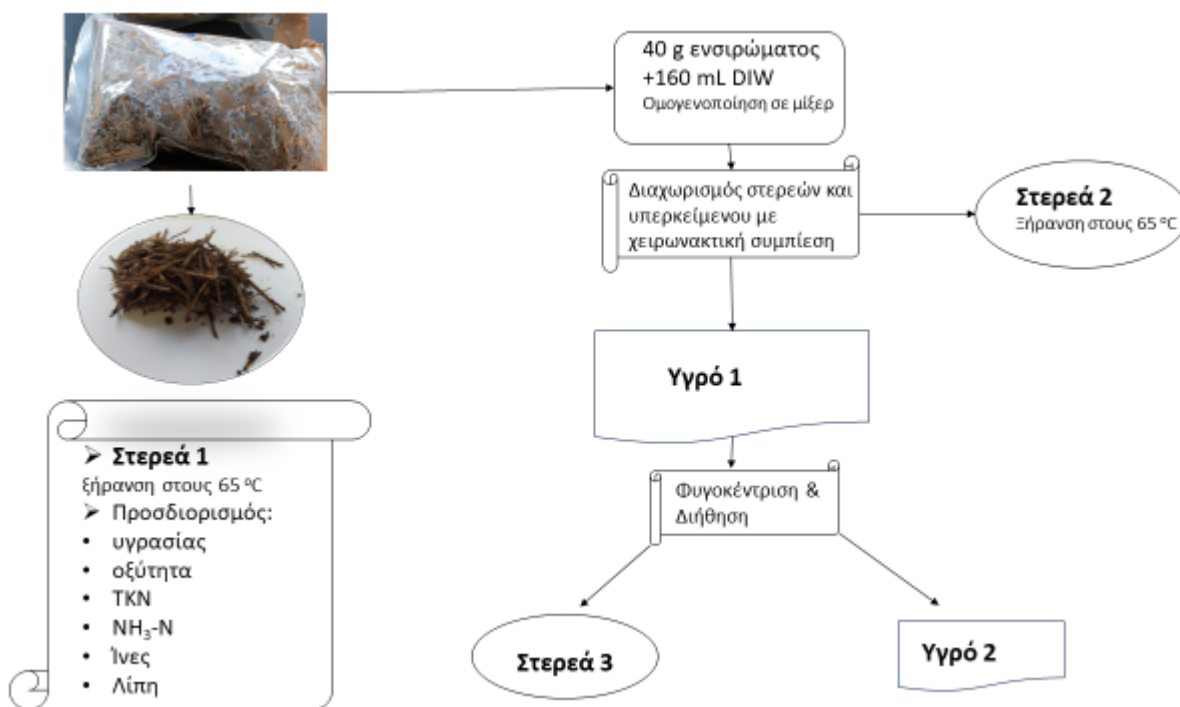
Εικόνα 2 Τα σακουλάκια ενσίρωσης τοποθετημένα σε σκιερό περιβάλλον.

Πίνακας 1 Σύνθεση ενσιρωμάτων που εξετάστηκαν

α/α ενσι- ρώματος	Συνολική μάζα Ελαιόκαρπου (g)	Ψύχα (g)	Ουρία (g)	Μελάσσα (g)	Κλάσμαπιθυ μητής υγρασίας	Άχυρο (g)	Συνολική μάζα Ενσιρωματος (g)	Περιεκτικότητα υλικών σύμφωνα με την ξηρή μάζα ελαιόκαρπου (ψίχα)				
								Ξηρή μάζα (g)	Ψύχα (%)	Ουρία (%)	Μελάσσα (%)	Άχυρο (%)
1	2000	400	0	0	0.68	352.94	2352.941	752.94	17	0.0	0	88.24
2	2000	400	0	4	0.68	348.94	2352.941	752.94	17	0.0	1	87.24
3	2000	400	0	8	0.68	344.94	2352.941	752.94	17	0.0	2	86.24
4	2000	400	0	16	0.68	336.94	2352.941	752.94	17	0.0	4	84.24
5	2000	400	2	0	0.68	350.94	2352.941	752.94	17	0.5	0	87.74
6	2000	400	2	4	0.68	346.94	2352.941	752.94	17	0.5	1	86.74
7	2000	400	2	8	0.68	342.94	2352.941	752.94	17	0.5	2	85.74
8	2000	400	2	16	0.68	334.94	2352.941	752.94	17	0.5	4	83.74
9	2000	400	4	0	0.68	348.94	2352.941	752.94	17	1.0	0	87.24
10	2000	400	4	4	0.68	344.94	2352.941	752.94	17	1.0	1	86.24
11	2000	400	4	8	0.68	340.94	2352.941	752.94	17	1.0	2	85.24
12	2000	400	4	16	0.68	332.94	2352.941	752.94	17	1.0	4	83.24

Δειγματοληψία και ανάλυση ενσιρώματος

Τα σακουλάκια ανοίγονται σε τακτά χρονικά διαστήματα στις πρώτες μέρες πιο συχνά ενώ με την πάροδο του χρόνου αραιώνει η δειγματοληψία. Έτσι ένα δείγμα από κάθε περίπτωση ενσίρωσης θα ανοιχτεί σε 0, 5, 10, 20, 30, 60, 120, 180, 240 και 300 ημέρες. Όταν ανοίγεται το κάθε σακουλάκι ορισμένη ποσότητα ενσιρώματος χρησιμοποιείται για τον προσδιορισμό της υγρασίας (Στερεά 1) και της οξύτητας, ενώ άλλη ποσότητα αναδεύεται με νερό για να ομογενοποιηθεί το δείγμα. Ακολουθεί διαχωρισμός των στερεών και του υπερκείμενου με χειρωνακτική συμπίεση. Τα στερεά ξηραίνονται (Στερεά 2) ενώ το υγρό φυγοκεντρείται και διαχωρίζεται το υγρό (Υγρό 2) από τα στερεά (Στερεά 3). Τα στάδια της διαδικασίας που ακολουθήθηκε απεικονίζεται στην Εικόνα 3.



Εικόνα 3 Σχηματική απεικόνιση δειγματοληψίας δείγματος.

Αναλυτικές Μετρήσεις

pH

Μάζα νωπού δείγματος ενσιρώματος (40 g) τοποθετείται σε ποτήρι ζέσεως και προστίθεται σε 160 mL απιονισμένου νερού και αναδεύεται για να ομογενοποιηθεί. Στο ενσίρωμα μετريέται το pH (pH 310 meter της εταιρείας Oakton Instruments, Singapore) έπειτα από καλή ανάμειξη (APHA et al. 2012).

Υγρασία

Σε προζυγισμένο δισκίο αλουμινίου που έχει ξηραθεί στους 103°C για μια ώρα, μεταφέρεται κατάλληλη ποσότητα ενσιρώματος και ακολουθεί ξήρανση στους στο φούρνο στους 65°C για 3 ημέρες.

$$\text{Υγρασία (\%)} = \frac{\text{μάζα δείγματος πριν την ξήρανση (g)} - \text{μάζα δείγματος μετά την ξήρανση (g)}}{\text{μάζα δείγματος πριν την ξήρανση (g)}} * 100$$

Ολική Οξύτητα

Ορισμένη ποσότητα ενσιρώματος (20 g) μεταφέρεται σε ποτήρι ζέσεως των 100 ml με απεσταγμένο νερό (80 ml). Στο ποτήρι προστίθεται μαγνητακι και αφήνεται σε μαγνητικό αναδευτήρα. Έχοντας το πεχάμετρο στο ποτήρι τιτλοδοτούμε με 0,1N NaOH έως ότου το pH να είναι 8,3 (APHA et al. 2012).

$$\text{Ολική οξύτητα } \left(\frac{g}{kg}\right) = \frac{10 * V(ml)}{M(g)}$$

Όπου $V (ml)$ ο όγκος τιτλοδότησης και $M (g)$ η μάζα που χρησιμοποιήθηκε για να μετρηθεί η οξύτητα

Ολικό κατά **Kjeldahl** άζωτο (TKN)

Όγκος δείγματος μεταφέρεται σε ειδική κυλινδρική φιάλη όγκου (20 mL). Προστίθενται 20 mL π. H_2SO_4 , δύο ταμπλέτες Kjeltabs CX και μία ταμπλέτα 1000 Antifoam S. Οι φιάλες τοποθετούνται σε συσκευή χώνευσης (VAPODEST VAP 20s Gerhardt, Kjeldathern, Gerhardt). Η θερμοκρασία ρυθμίζεται στους 170°C για 0,5 h, έπειτα στους 250°C για 0,5 h και τέλος στους 380 °C για 1 h. Μετά το πέρας της χώνευσης η φιάλη αφήνεται να κρυώσει και τοποθετείται σε

συσκευή χώνευσης, (Gerhardt, Kjeldathern, Gerhardt). Στη συνέχεια, επιλέγεται το κατάλληλο πρόγραμμα [120 mL NaOH (320 g/L αποσταγμένο νερό), χρόνος αντίδρασης και απόσταξης 20 s και 5 min, αντίστοιχα, και παροχή ατμού 100 %]. Το απόσταγμα συλλέγεται σε κωνική φιάλη των 250 mL κάτω από την ελεύθερη επιφάνεια 80 mL διαλύματος βορικού οξέος με δείκτη. Μετά τη λήξη του προγράμματος η φιάλη απομακρύνεται και ακολουθεί τιτλοδότηση με πρότυπο διάλυμα 0,02 N H₂SO₄. Η συγκέντρωση του ολικού Kjeldahl αζώτου (TKN) υπολογίζεται από την ακόλουθη σχέση για υγρά δείγματα:

$$TKN \frac{(mg)}{L} = \frac{(A - B)}{V_{\text{δειγματος}} (mL)} * 280$$

A: όγκος 0,02 N H₂SO₄ που απαιτήθηκε για το δείγμα (mL)

B: όγκος 0,02 N H₂SO₄ που απαιτήθηκε που απαιτήθηκε για το τυφλό (mL)

V_δ ο όγκος του δείγματος (mL).

Για τα στερεά δείγματα χρησιμοποιήθηκε η ακόλουθη σχέση:

$$TKN \frac{(mg)}{kg} = \frac{(A - B)}{M \text{ μάζα δειγματος } (g)} * 280$$

M: μάζα δειγματος (g)

Ακατέργαστες Πρωτεΐνες

Για τον υπολογισμό των ακατέργαστων πρωτεϊνών αρκεί να έχει υπολογιστεί το ολικό άζωτο κατά Kjeldahl επομένως:

$$\text{Ακατέργαστες Πρωτεΐνες} \frac{(mg)}{L} = TKN * 6,25$$

Αμμωνία

Για τον προσδιορισμό του αμμωνιακού αζώτου χρησιμοποιήθηκε η μέθοδος της απόσταξης (APHA et al. 2012) σε συσκευή απόσταξης (VAPODEST VAP 20s Gerhardt, Kjeldathern,

Gerhardt). Κατάλληλος όγκος δείγματος μεταφέρθηκε σε ειδική κυλινδρική φιάλη όγκου 150 mL. Η κυλινδρική φιάλη τοποθετήθηκε στη συσκευή απόσταξης, προστέθηκαν 5 mL NaOH (320 g/L), και επιλέχθηκε χρόνος αντίδρασης και απόσταξης 0 sec και 5 min, αντίστοιχα, και παροχή ατμού 100%. Το απόσταγμα συλλέχθηκε σε κωνική φιάλη των 250 ml κάτω από την ελεύθερη επιφάνεια των 80 mL διαλύματος βορικού οξέος [20 g H₃BO₃ και 10 mL διαλύματος δεικτών (mixed indicator solution)/L, το mixed indicator solution είναι μείγμα δύο διαλυμάτων, 200 mg ερυθρού του μεθυλίου και 100 mg μπλε του μεθυλενίου ανά 100 και 50 mL ισοπροπανόλης αντίστοιχα]. Μετά το τέλος του προγράμματος η φιάλη απομακρύνεται από τη συσκευή. Τέλος, ακολούθησε τιτλοδότηση με πρότυπο διάλυμα 0,02 N H₂SO₄. Η συγκέντρωση του αμμωνιακού αζώτου υπολογίστηκε ως εξής:

$$(\text{NH}_3 - \text{N}) \frac{\text{mg}}{\text{L}} = \frac{(\text{A} - \text{B})}{V_{\text{δείγματος}}} * 280$$

A: όγκος 0,02 N H₂SO₄ που απαιτήθηκε για το δείγμα (mL)

B: όγκος 0,02 N H₂SO₄ που απαιτήθηκε για το τυφλό (mL)

Προσδιορισμός λιπαρών ουσιών

Ο προσδιορισμός των λιπαρών ουσιών σε στερεό δείγμα πραγματοποιείται με εκχύλιση των ελαίων σε διάταξη Soxhlet (Soxhlet, ev16 all/16, Gerhardt, Kjeldathern, Gerhardt), με χρήση πετρελαϊκού αιθέρα (AOAC 1990). Για τον προσδιορισμό των ελαίων χρησιμοποιείται το αποξηραμένο δείγμα που έχει προκύψει από την διαδικασία προσδιορισμού της υγρασίας. Δηλαδή, ζυγίζονται περίπου 1 ως 2 g ξηρού δείγματος και τοποθετούνται σε προζυγισμένο φίλτρο (Folden Filters, 240mm, Gerhardt, Kjeldathern, Gerhardt). Το φίλτρο τοποθετείται σε κυλινδρική δακτυλήθρα (Extraction thimble, 33x80mm, Gerhardt, Kjeldathern, Gerhardt) και η δακτυλήθρα τοποθετείται στον ψυκτήρα επαναροής και προστίθενται 200 mL πετρελαϊκού αιθέρα. Επίσης, ζυγίζεται μία κυκλική φιάλη, με 3 έως 4 σφαιρίδια βρασμού. Ακολουθεί το άνοιγμα του νερού βρύσης και της διάταξης θέρμανσης. Η εκχύλιση διαρκεί 4 έως 6 h. Στο τέλος, το φίλτρο με τη δακτυλήθρα τοποθετούνται σε φούρνο στους 103°C, ώστε να εξατμιστεί ο πετρελαϊκός αιθέρας και μετά από 2 έως 24 h ξήρανσης ζυγίζεται. Ο προσδιορισμός των λιπαρών ουσιών με βάση το ξηρό δείγμα προκύπτει με βάση την αρχική και τελική μάζα του στερεού στο φίλτρο:

$$\text{Λιπαρές ουσίες (\%)} = \frac{m_f}{m_i} \cdot 100$$

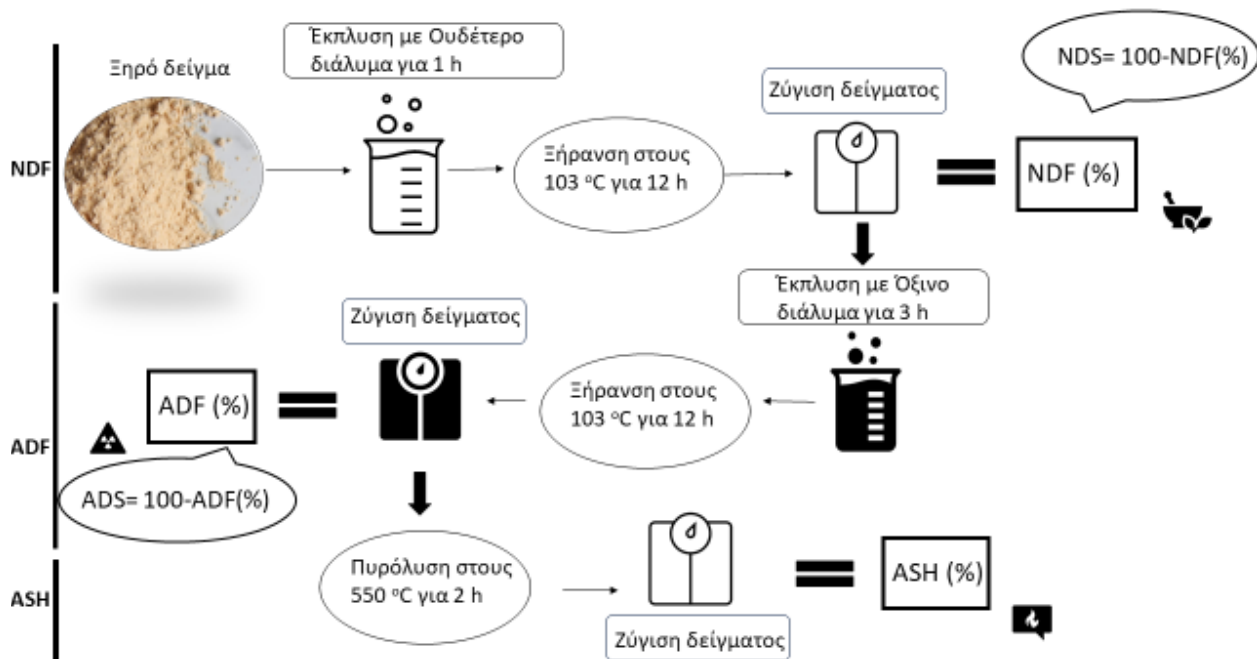
όπου:

m_f : η τελική μάζα του στερεού στο φίλτρο

m_i : η αρχική μάζα του στερεού στο φίλτρο

Ινώδεις ενώσεις

Για τον προσδιορισμό των ινωδών ενώσεων χρησιμοποιείται η μέθοδος Van Soest (Van Soest et al. 1991). Αρχικά, ζυγίζεται ο σωλήνας τοποθέτησης από χαλαζία, ο σωλήνας χαλαζία και το φίλτρο ξεχωριστά. Τοποθετείται ο σωλήνας τοποθέτησης μέσα στο φίλτρο και ζυγίζεται. Προσθέτουμε το αποξηραμένο δείγμα (0,5 έως 1 g) (Στερεά 1, Εικόνα 2) στο σωλήνα χαλαζία με το φίλτρο και ζυγίζεται. Ακολουθεί ο βρασμός του δείγματος στη συσκευή (Fibrebag System 6 -Fsb 6, Gerhardt, Kjeldathern.,Gerhardt). Η διαδικασία που ακολουθήθηκε για τον προσδιορισμό των ουδέτερων και όξινων ινωδών ενώσεων παρουσιάζονται στην Εικόνα 4.



Εικόνα 4 Σχηματική ανάλυση διαδικασίας μέτρησης ινώδη ενώσεων

Αδιάλυτες Ινώδεις Ενώσεις σε Ουδέτερο Διάλυμα Απορρυπαντικών ουσιών [Neutral Detergent Fiber (NDF)]

Σε ποτήρι ζέσεως (1 L) προστίθενται 360 mL ουδέτερου διαλύματος απορρυπαντικού (6,81 g Sodium borate decahydrate ($\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7 \cdot 10 \text{H}_2\text{O}$), 18.61 g Disodium ethylenediaminetetraacetate (EDTA, $\text{C}_{10}\text{H}_{14}\text{N}_2\text{Na}_2\text{O}_8$), 30 g Sodium lauryl sulfate neutral ($\text{C}_{12}\text{H}_{25}\text{NaO}_4\text{S}$), 10 ml 2-ethoxyethanol (Ethylene glycol monoethyl ether, Cellosolve, $\text{C}_4\text{H}_{10}\text{O}_2$), 4,56 g Disodium phosphate anhydrous (Na_2HPO_4)/L απ. νερού) σε θερμοκρασία δωματίου και 1,8 g θειώδους νατρίου (Na_2SO_3) και 2 έως 3 σταγόνες n-οκτανόλης. Τα δείγματα θερμαίνονται και ακολουθεί βρασμός με επαναρροή για 60 min από την έναρξη του βρασμού. Τα φίλτρα ξεπλένονται με αποσταγμένο νερό και μετά με ακετόνη. Τα δείγματα ξηραίνονται για 24 h στους 103 °C και στη συνέχεια ζυγίζονται. Οι ουδέτερες ινώδεις ενώσεις υπολογίζονται από την παρακάτω εξίσωση:

$$\% \text{ NDF} = \frac{\text{μάζα δοχείου} - \text{δείγματος μετά την ξήρανση (g)} - \text{μάζα δοχείου} - \text{δείγματος πριν την ξήρανση (g)}}{\text{μάζα δείγματος (g)}} * 100$$

Το διαλυτό μέρος (NDS) υπολογίζεται από την παρακάτω σχέση:

$$\% \text{ NDS} = 100 - \text{NDF} \%$$

Αδιάλυτες Ινώδεις Ενώσεις σε Όξινο Απορρυπαντικό (Acid Detergent Fiber (ADF))

Στο ποτήρι ζέσεως προστίθενται 360 mL οξινου διαλύματος (20gr $\text{C}_{19}\text{H}_{42}\text{BrN}$ σε 1 L Sulfuric acid 1 N (H_2SO_4 , 49.04 g/L) σε θερμοκρασία δωματίου και 2 έως 3 σταγόνες n-οκτανόλης. Τα δείγματα θερμαίνονται και προκαλείται βρασμός με επαναρροή για 180 λεπτά από την έναρξη του βρασμού. Τα φίλτρα ξεπλένονται με απεσταγμένο νερό και μετά με ακετόνη. Τα δείγματα ξηραίνονται η για μια νύχτα στους 103 °C και στη συνέχεια ζυγίζονται.

$$\% \text{ ADF} = \frac{\text{μάζα δοχείου} - \text{δείγματος μετά την ξήρανση (g)} - \text{μάζα δοχείου} - \text{δείγματος πριν την ξήρανση (g)}}{\text{βάρος δείγματος (g)}} * 100$$

Το διαλυτό μέρος (ADS) υπολογίζεται από την παρακάτω σχέση:

$$\% \text{ ADS} = 100 - \text{ADF} \%$$

Τα φίλτρα μαζί με το σωλήνα χαλαζία το τοποθετούνται στους 550 °C για 2 h και αφήνουμε να κρυώσει σε ξηραντήρα και ζυγίζονται. Η αδιάλυτη τέφρα σε όξινο απορρυπαντικό υπολογίζεται από την ακόλουθη σχέση:

$$\% \text{ αδιαλυτη τεφρα} = \frac{\text{απώλεια μάζας λόγω ADF (g)}}{\text{βάρος δείγματος (g)}} * 100$$

Μικροβιολογικά

Κατά τη διάρκεια της ζύμωσης των διαφορετικών υποστρωμάτων έγινε ποσοτική εκτίμηση των εξής μικροβιακών πληθυσμών: 1. Ολικής μεσόφιλης χλωρίδας (OMX), 2. Ζυμών, 3. Λακτοβάκιλλων. Η μέτρηση των μικροβιολογικών πραγματοποιήθηκε σε υγρό ενσίρωμα (Υγρό 2).

Ολική μεσόφιλη χλωρίδα (OMX)

Για τον υπολογισμό της OMX παρασκευάστηκε το θρεπτικό υλικό Plate Count Agar (PCA). Σε 500ml απιονισμένο νερό γίνεται προσθήκη 10,25 g PCA (BIOKAR DIAGNOSTICS) και 2g άγαρ. Υπό συνεχή θέρμανση και ανάδευση πραγματοποιείται διάλυση των στερεών μέχρι πλήρους ομογενοποίησης και αποστείρωση στους 121°C για 20min. Το θρεπτικό μέσο στη συνέχεια κατανέμεται σε αποστειρωμένα στα τρυβλία petri υπό ασηπτικές συνθήκες. Τα δείγματα αραιώνονται με τη μέθοδο των διαδοχικών αραιώσεων. 0,1 ml δείγματος από κάθε αραιώση τοποθετείται στο κέντρο του τρυβλίου. Μετά την πλήρη στερεοποίηση ακολουθεί και επώαση των ανεστραμμένων τρυβλίων στους 30 °C για 3 ημέρες. Ο επιθυμητός αριθμός τους κυμαίνονταν από 25-350. Ο τελικός υπολογισμός των πληθυσμών έγινε βάσει της εξίσωσης:

$$N \text{ (CFU/ml)} = \frac{n}{d}$$

όπου N είναι ο αριθμός των αποικιών στο αρχικό δείγμα (cfu/mL), n είναι ο αριθμός των αποικιών που μετρήθηκαν σε κάθε τρυβλίο και d είναι η τελική αραιώση κάθε δείγματος.

Ζύμες

Για τον υπολογισμό των πληθυσμών ζυμών παρασκευάστηκε το θρεπτικό υλικό Potato Dextroze Agar (PDA). Σε 500 mL απιονισμένο νερό γίνεται προσθήκη 19,5 g PDA (CONDA) και πραγματοποιείται διάλυση υπό συνεχή θέρμανση και ανάδευση μέχρι πλήρους ομογενοποίησης. Ακολουθεί αποστείρωση στους 121°C για 20 min. Στη συνέχεια γίνεται προσθήκη 3 ml κιτρικό οξύ (10% w/v) (αποστειρωμένο μέσω διήθησης σε αποστειρωμένο ηθμό μεμβράνης Millipore,

0,22μm) για ρύθμιση του pH στο 3,5 και ακολουθεί κατανομή σε αποστειρωμένα στα τριβλία petri υπό ασηπτικές συνθήκες, δηλαδή στο θάλαμο νηματικής ροής, όπου παραμένει μέχρι να στερεοποιηθεί. Τα δείγματα αραιώνονται με τη μέθοδο των διαδοχικών αραιώσεων. 0,1 mL δείγματος από κάθε αραιώση τοποθετούνται στο κέντρο του τρυβλίου. Μετά την πλήρη στερεοποίηση ακολουθεί και επώαση των ανεστραμμένων τρυβλίων στους 27°C για 3 ημέρες. Ο επιθυμητός αριθμός τους κυμαίνονταν από 25-350. Ο τελικός υπολογισμός του πληθυσμού έγινε βάσει της ίδια εξίσωσης που χρησιμοποιήθηκε για την ολική μεσόφιλη χλωρίδα.

Λακτοβάκιλλοι

Για τον υπολογισμό των πληθυσμών λακτοβάκκων παρασκευάστηκε το θρεπτικό υλικό de Man, Rogosa, Sharpe (MRS). Σε 500 mL απιονισμένο νερό γίνεται προσθήκη 23,125 g MRS (CONDA) και 2% άγαρ και πραγματοποιείται διάλυση υπό συνεχή θέρμανση και ανάδευση μέχρι πλήρους ομογενοποίησης. Κατόπιν, γίνεται προσθήκη διαλύματος οξικού οξέος 10% για ρύθμιση του pH στο 5,7. Ακολουθεί αποστείρωση στους 121°C για 20 min. Το δείγμα μεταφέρεται στα τρυβλία γίνεται υπό ασηπτικές συνθήκες με τη μέθοδο της ενσωμάτωσης. Τα δείγματα αραιώνονται με τη μέθοδο των διαδοχικών αραιώσεων. Όγκος δείγματος 0,1 mL από κάθε αραιώση τοποθετείται στο κέντρο του τρυβλίου και ακολουθεί προσθήκη του θρεπτικού υλικού, που είναι σε θερμοκρασία 42 έως 45°C (ρευστή κατάσταση). Μετά την πλήρη στερεοποίηση ακολουθεί και επώαση των ανεστραμμένων τρυβλίων στους 30°C για 3 ημέρες. Ο επιθυμητός αριθμός των αποικιών κυμαίνεται από 30 έως 300. Ο τελικός υπολογισμός του πληθυσμού έγινε βάσει της ίδια εξίσωσης που χρησιμοποιήθηκε για την ολική μεσόφιλη χλωρίδα.

Αποτελέσματα

Άζωτο, λίπη και Ινώδεις ενώσεις

Ο ελαιόκαρπος είναι ένα στοιχείο πλούσιο σε άζωτο όπως φαίνεται και από τον Πίνακα 2 όπου παρατίθενται στοιχεία για τη σύσταση του ελαιόκαρπου τα οποία μπορούν να βοηθήσουν στην ανάλυση των αποτελεσμάτων. Η υγρασία του είναι ιδιαιτέρως υψηλή (σχεδόν 80%) και όλοι οι υπολογισμοί σχετικά με τη σύσταση των περιπτώσεων ενσίρωσης στον Πίνακα 1 έχουν γίνει με βάση αυτό το δεδομένο.

Πίνακας 2 Σύσταση ελαιόκαρπου

Συστατικό	Μέση τιμή	Τυπική απόκλιση
Lipids (%)	15.30	1.03
NDF (%)	12.02	1.04
NDS (%)	87.98	1.04
ADF (%)	30.09	0.83
ADS (%)	69.91	0.83
ASH(%)	7.37	0.07
TKN (mg/L)	3871	105
TKN (g/kg)	12.11	0.28
NH3-N (g/kg)	2.75	0.08
pH	5.67	0.09
Υγρασία (%)	80.13	0.28

pH

Το αρχικό pH όπως φαίνεται και από τον Πίνακα 3 ήταν σχεδόν 5,5 σε όλες τις περιπτώσεις μελέτης. Με την πάροδο των ημερών, το pH μειώνεται με μεγαλύτερη μείωση να απαντάται όπου είναι μεγαλύτερη συγκέντρωση μελάσας. Στις περιπτώσεις, 5 και 9 μετά την ημέρα 5 η τιμή του pH αυξάνεται. Σε αυτές τις περιπτώσεις υπάρχει ουρία κατά τη σύνθεση των δειγμάτων αλλά δεν έχει μελάσα όπως φαίνεται και από τον Πίνακα 1. Ως αποτέλεσμα, η αύξηση του pH οφείλεται στην ύπαρξη της ουρίας και στην απουσία ζύμωσης.

Πίνακας 3 Μεταβολή του pH με το χρόνο

α/α ενσιρώματος	pH					
	Ημέρα					
	1	5	10	20	30	60
1	5.49	5.29	5.2	5.09	4.85	4.73
2	5.47	5.13	5.11	5.07	5	4.97
3	5.46	5.07	5.04	5.03	4.97	4.9
4	5.46	4.9	4.6	4.36	4.22	4.13
5	5.51	7.27	7.37	7.57	7.66	7.98
6	5.66	5.63	5.27	5.08	5.01	5
7	5.63	5.6	5.2	4.98	4.9	4.81
8	5.6	5.13	5.03	4.97	4.67	4.51
9	5.58	7.26	7.27	7.27	7.33	8.06
10	5.51	5.11	4.9	4.82	4.8	4.66
11	5.47	5.3	5.2	5.08	4.78	4.6
12	5.5	4.98	4.6	4.53	4.36	4.1

Υγρασία

Η επιθυμητή υγρασία για την ενσίρωση είναι 67 έως 73%. Στην παρούσα μελέτη, είχε οριστεί η αρχική υγρασία να είναι 68% προκειμένου να είναι εντός του εύρους τιμών σε περίπτωση που η υγρασία αυξηθεί με την πάροδο του χρόνου. Όπως παρατηρείται και από τον Πίνακα 4 η αρχική υγρασία ήταν σχεδόν 68% σε όλες τις περιπτώσεις. Παρατηρείται μερική αύξηση του ποσοστού της υγρασίας με την πάροδο του χρόνου. Οι διαφοροποιήσεις που παρατηρούνται μεταξύ των περιπτώσεων που εξετάστηκαν πιθανό να οφείλονται στην σύνθεση του ενσιρώματος αλλά και στο πειραματικό σφάλμα κατά την σύνθεση του κάθε δείγματος.

Πίνακας 4 Μεταβολή της Υγρασίας του ενσιρώματος με το χρόνο

α/α ενσιρώματος	Υγρασία					
	Ημέρα					
Ημέρα	1	5	10	20	30	60
1	67.87	67.66	67.31	68.12	68.56	69.32
2	67.90	67.61	67.61	60.18	60.62	68.45
3	68.40	67.28	67.71	67.48	67.92	67.98
4	68.02	68.36	68.55	68.53	68.97	68.15
5	68.13	67.10	67.20	68.55	68.99	69.22
6	68.28	67.05	67.42	68.28	68.72	68.55
7	67.76	66.87	66.27	67.56	68.01	69.12
8	67.47	67.43	67.73	68.48	68.92	68.56
9	67.65	67.92	67.99	68.68	69.13	68.12
10	68.14	67.81	67.86	67.55	67.99	68.15
11	67.68	67.93	68.00	68.86	69.31	68.80
12	68.21	68.53	68.55	68.52	68.96	69.54

Μάζα μετά την απομάκρυνση υγρών -Στερεά 2+3 (Εικόνα 3)

Σε κάθε δειγματοληψία ορισμένη ποσότητα ενσιρώματος συλλέγεται και αραιώνεται κατάλληλα (1:4) για να πραγματοποιηθούν επιμέρους μετρήσεις στο υγρό διάλυμα. Τα στερεά 2+3 (Εικόνα 3) που προκύπτουν δίνονται στον Πίνακα 5.

Πίνακας 5 Μάζα μετά την απομάκρυνση υγρών μετά την ομογενοποίηση (Στερεά 2+3)

Ημέρα	1		5		10		20		30		60	
	Στερ εά 2+3	% κ.β στερ εα	Στερ εά 2+3	% κ.β στερ εα	Στερ εά 2+3	% κ.β στερ εα	Στερ εά 2+3	% κ.β στερ εα	Στερ εά 2+3	% κ.β στερ εα	Στερ εά 2+3	% κ.β στερ εα
1	8.96	22.41	12.58	31.44	10.57	26.42	14.50	36.25	14.72	36.80	13.71	34.27
2	7.56	18.91	12.16	30.40	10.80	27.00	12.62	31.55	12.35	30.88	14.24	35.60
3	7.88	19.70	15.87	39.69	13.51	33.77	15.96	39.89	18.62	46.56	24.48	61.21
4	3.61	9.03	10.30	25.76	8.88	22.20	14.99	37.47	10.83	27.07	14.28	35.70
5	4.16	10.40	18.22	45.56	9.93	24.83	18.26	45.65	12.55	31.38	14.11	35.28
6	4.65	11.62	11.48	28.69	8.89	22.23	8.06	20.14	13.52	33.80	13.45	33.62
7	6.23	15.58	15.75	39.38	14.54	36.36	24.46	61.15	14.31	35.79	21.86	54.66
8	6.69	16.73	12.68	31.69	20.33	50.82	19.46	48.66	23.34	58.35	16.73	41.83
9	5.51	13.77	20.43	51.08	7.35	18.38	13.09	32.72	10.64	26.59	14.06	35.15
10	4.73	11.82	12.57	31.43	9.90	24.75	24.23	60.58	18.96	47.40	12.55	31.38
11	5.05	12.62	19.86	49.64	12.97	32.43	22.23	55.58	18.60	46.50	11.35	28.38
12	5.14	12.85	13.73	34.34	7.48	18.70	16.39	40.97	9.83	24.57	13.24	33.11

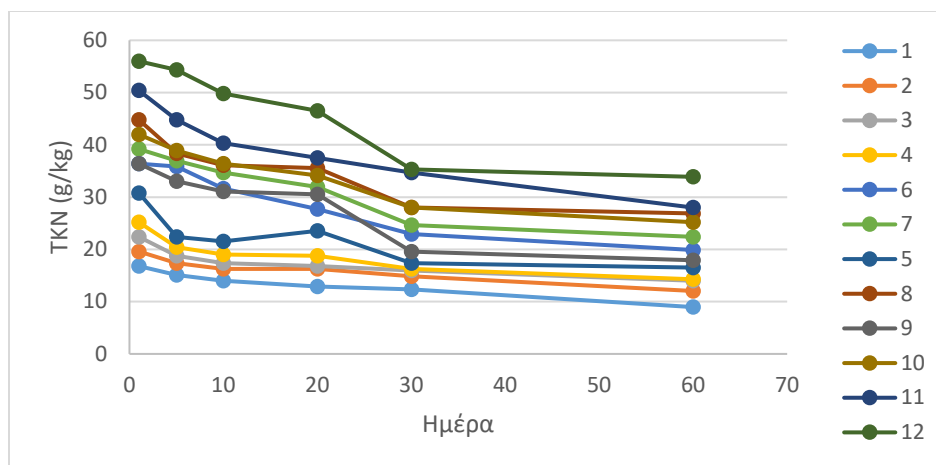
TKN

Τα δείγματα αναλύονται για τον προσδιορισμό του αζώτου που υπάρχει στην διάρκεια της ενσίρωσης. Όπως φαίνεται και από τον Πίνακα 1 ορισμένα δείγματα είχαν ουρία ενώ άλλα όχι. Για την δημιουργία όλων των συνθέσεων ενσίρωσης χρησιμοποιήθηκε ελαιόκαρπος στην ίδια συγκέντρωση σχεδόν 85% του συνολικού ενσιρώματος. Στην περίπτωση 1 όπου δεν υπάρχει ουρία και μελάσσα η συγκέντρωση TKN του ενσιρώματος οφείλεται αποκλειστικά στον ελαιόκαρπο και το άχυρο. Παρατηρείται ότι όσο αυξάνεται η συγκέντρωση της ουρίας και της μελάσσας αυξάνεται και η συγκέντρωση του TKN στα δείγματα. Η συγκέντρωση του οργανικού αζώτου μειώνεται με το χρόνο σε όλες τις περιπτώσεις όπως φαίνεται και από τον Πίνακα 6 και Σχήμα 1.

Πίνακας 6 Μεταβολή TKN ξηρού ενσιρώματος (Στερεά 1) δείγματος που είχε πάει για ζήρανση στο χρόνο τη μέρα 1 το δείγμα ήταν 0.01 g ενώ στις 5,10,20,30 d και 60d το δείγμα είναι 0.1g

α/α	TKN (g/kg)					
	Ημέρα					
ενσιρώματος	1	5	10	20	30	60
1	16.8	15.12	14	12.88	12.32	8.96
2	19.6	17.36	16.24	16.24	14.84	12.04
3	22.4	18.76	17.36	16.8	15.96	14.00
4	25.2	20.44	19.04	18.76	16.24	14.28
5	30.8	22.4	21.56	23.52	17.36	16.52
6	36.4	35.84	31.64	27.72	22.96	19.88
7	39.2	36.96	34.72	31.92	24.64	22.40
8	44.8	38.36	36.12	35.56	28	26.88
9	36.4	33.04	31.08	30.52	19.6	17.92
10	42	38.92	36.4	34.16	28	25.20
11	50.4	44.8	40.32	37.52	34.72	28.00
12	56	54.32	49.84	46.48	35.28	33.88

Σημείωση : Την μέρα 1 το δείγμα ήταν 0.01 g ενώ στις 5,10,20,30 d και 60d το δείγμα είναι 0.1g.



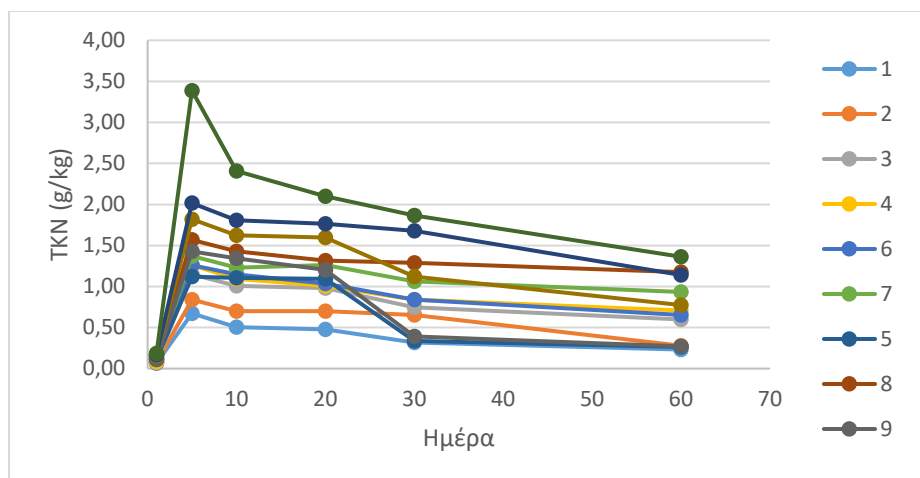
Σχήμα 1 Μεταβολή συγκέντρωσης TKN ξηρού ενσιρώματος (Στερεά 1)

Η συγκέντρωση του TKN των Στερεών 2 (Πίνακας 7 και Σχήμα 2) μειώνεται με το χρόνο ωστόσο παρατηρείται ότι στα στερεά δεν έχουν έχει προσροφηθεί η σε μεγάλο βαθμό το οργανικό άζωτο ειδικά την πρώτη ημέρα η συγκέντρωση του TKN είναι μικρότερη από 0,2 g/kg σε όλες τις περιπτώσεις μελέτης.

Πίνακας 7 Μεταβολή TKN ξηρού ενσιρώματος -Στερεά 2

a/a	TKN (g/kg)					
	Ημέρα					
	1	5	10	20	30	60
ενσιρώματος						
1	0.07	0.67	0.50	0.48	0.32	0.23
2	0.07	0.84	0.70	0.70	0.65	0.28
3	0.07	1.15	1.01	0.98	0.75	0.60
4	0.08	1.26	1.09	1.01	0.84	0.71
5	0.11	1.12	1.11	1.09	0.34	0.26
6	0.12	1.26	1.15	1.04	0.84	0.65
7	0.12	1.37	1.23	1.26	1.06	0.93
8	0.16	1.57	1.43	1.32	1.29	1.18
9	0.11	1.43	1.34	1.20	0.39	0.27
10	0.16	1.82	1.62	1.60	1.12	0.77
11	0.17	2.02	1.81	1.76	1.68	1.14
12	0.19	3.39	2.41	2.10	1.87	1.36

Σημείωση : Τη μέρα 1 το δείγμα ήταν 3 g ενώ στις 5d ήταν 1g και 10,20 d και 30 d το δείγμα είναι 2.



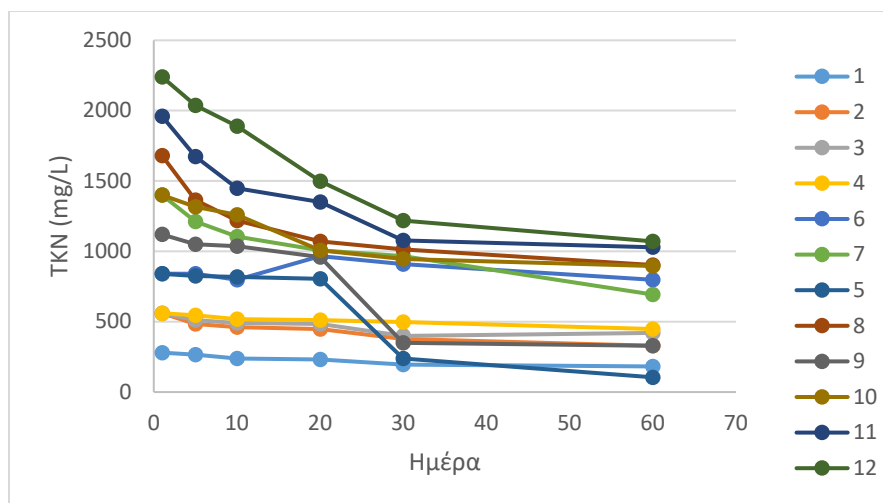
Σχήμα 2 Μεταβολή συγκέντρωσης TKN ξηρού ενσιρώματος-(Στερεά 2)

Η συγκέντρωση του TKN στο Υγρό 2 μειώνεται με το χρόνο σε όλες τις περιπτώσεις όπως φαίνεται και από τον Πίνακα 8 και το Σχήμα 3. Στην περίπτωση 1 όπου δεν υπάρχει ούτε ουρία ούτε μελάσα η συγκέντρωση TKN του ενσιρώματος οφείλεται αποκλειστικά στον ελαιόκαρπο και το άχυρο. Παρατηρείται ότι όσο αυξάνεται η συγκέντρωση της ουρίας και της μελάσας αυξάνεται και η συγκέντρωση του TKN στα δείγματα. Η συγκέντρωση του TKN είναι κατά 8 φορές περισσότερη συγκρίνοντας το δείγμα 12 και 1 την πρώτη ημέρα, ωστόσο μετά από 30 ημέρες είναι 6,2 φορές υψηλότερη.

Πίνακας 8 Μεταβολή TKN υγρού ενσιρώματος

α/α	TKN (mg/L)					
	Ημέρα					
ενσιρώματος	1	5	10	20	30	60
1	280	266	238	231	196	182
2	560	483	462	448	378	329
3	560	511	490	483	399	420
4	560	546	518	511	497	448
5	840	826	819	805	238	105
6	840	840	798	966	910	798
7	1400	1211	1106	1008	966	693
8	1680	1365	1218	1071	1015	903
9	1120	1050	1036	959	350	329
10	1400	1316	1260	1008	945	896
11	1960	1673	1449	1351	1078	1029
12	2240	2037	1890	1498	1218	1071

Σημείωση : Το δείγμα σε όλες τις περιπτώσεις είναι 20 mL και αραιώση 1:200 τη μερα 0 και 1:5 τις υπόλοιπες ημέρες.



Σχήμα 3 Μεταβολή συγκέντρωσης TKN υγρού ενσιρώματος-(Υγρό 2)

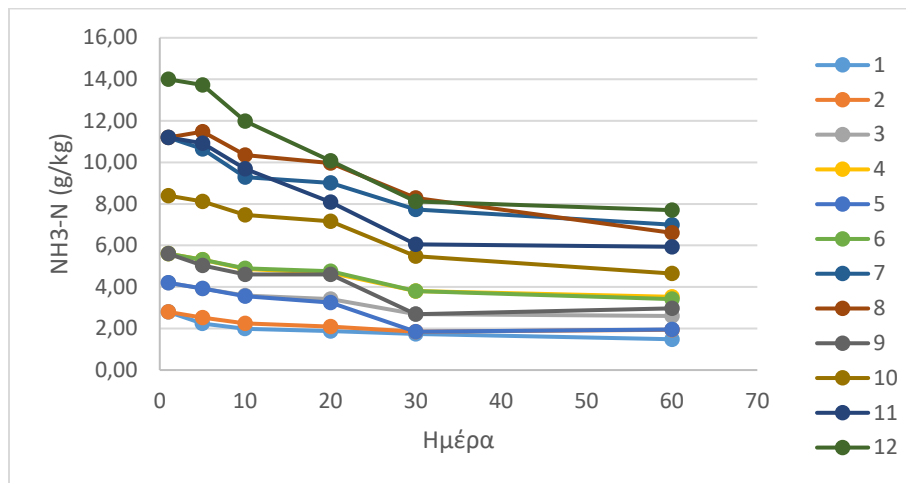
NH₃-N

Τα δείγματα αναλύονται για την ανεύρεση του αζώτου που υπάρχει στην διάρκεια της ενσίρωσης. Παρατηρείται ότι όσο αυξάνεται η συγκέντρωση της ουρίας και της μελάσας αυξάνεται και η συγκέντρωση της αμμωνίας ως άζωτο στα δείγματα. Η συγκέντρωση της αμμωνίας ως άζωτο μειώνεται με το χρόνο σε όλες τις περιπτώσεις όπως φαίνεται και από τον Πίνακα 9 και Σχήμα 4. Από την πρώτη ημέρα της ενσίρωσης έως και την 30^η, η συγκέντρωση της αμμωνίας είναι κατά 5 φορές υψηλότερη στην περίπτωση 12 από ότι στην περίπτωση 1 όπου δεν υπάρχει ούτε ουρία ούτε μελάσα.

Πίνακας 9 Μεταβολή NH₃-N ξηρού ενσιρώματος δείγματος (Στερεά 1)

a/a	NH ₃ -N (g/kg)					
	Ημέρα					
	1	5	10	20	30	60
ενσιρώματος						
1	2.80	2.24	1.99	1.88	1.74	1.48
2	2.80	2.52	2.24	2.10	1.85	1.93
3	4.20	3.92	3.58	3.42	2.69	2.60
4	5.60	5.32	4.87	4.68	3.81	3.53
5	4.20	3.92	3.56	3.25	1.85	1.96
6	5.60	5.32	4.90	4.76	3.81	3.42
7	11.20	10.64	9.30	9.02	7.73	7.00
8	11.20	11.48	10.36	9.97	8.29	6.61
9	5.60	5.04	4.61	4.61	2.69	2.97
10	8.40	8.12	7.48	7.17	5.49	4.65
11	2.80	2.24	1.99	1.88	1.74	1.48
12	2.80	2.52	2.24	2.10	1.85	1.93

Σημείωση : Τη μέρα 1 το δείγμα ήταν 0.01 g ενώ στις 5,10,20,30 d και 60d το δείγμα είναι 0.1g.



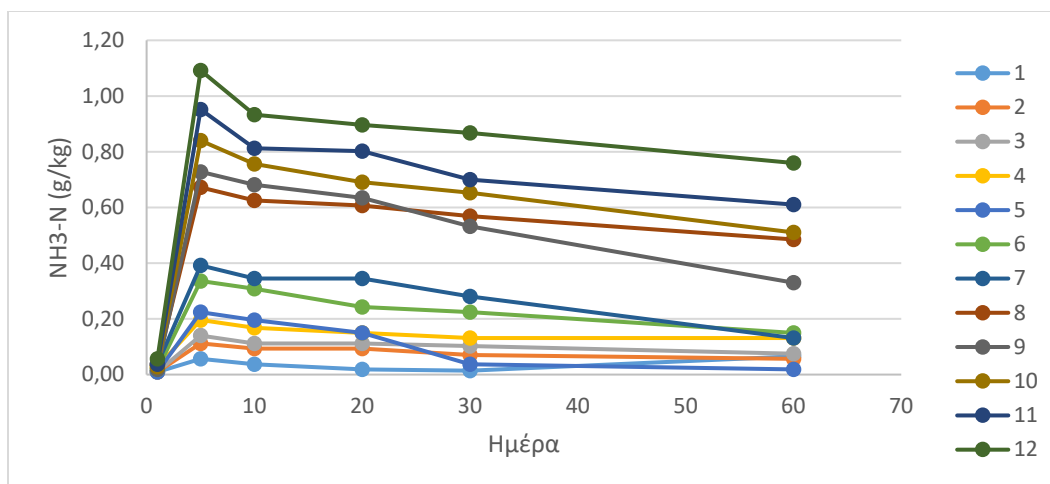
Σχήμα 4 Μεταβολή συγκέντρωσης $\text{NH}_3\text{-N}$ ξηρού ενσιρώματος-(Στερεά 1)

Η συγκέντρωση του αμμωνιακού αζώτου των Στερεών 2 μειώνεται με το χρόνο ωστόσο παρατηρείται ότι στα στερεά δεν έχουν έχει προσροφηθεί σε μεγάλο βαθμό η αμμωνία. Ειδικά την πρώτη ημέρα η συγκέντρωση του αζώτου είναι μικρότερη από 0,1 g/kg σε όλες τις περιπτώσεις μελέτης (Πίνακας 10 και Σχήμα 5).

Πίνακας 10 Μεταβολή $\text{NH}_3\text{-N}$ ξηρού ενσιρώματος (Στερεά 2)

a/a	$\text{NH}_3\text{-N}$ (g/kg)					
	Ημέρα					
	1	5	10	20	30	60
ενσιρώματος						
1	0.01	0.06	0.04	0.02	0.01	0.07
2	0.01	0.11	0.09	0.09	0.07	0.06
3	0.01	0.14	0.11	0.11	0.10	0.07
4	0.03	0.20	0.17	0.15	0.13	0.13
5	0.01	0.22	0.20	0.15	0.04	0.02
6	0.02	0.34	0.31	0.24	0.22	0.15
7	0.04	0.39	0.35	0.35	0.28	0.13
8	0.04	0.67	0.63	0.61	0.57	0.49
9	0.02	0.73	0.68	0.63	0.53	0.33
10	0.03	0.84	0.76	0.69	0.65	0.51
11	0.04	0.95	0.81	0.80	0.70	0.61
12	0.06	1.09	0.93	0.90	0.87	0.76

Σημείωση : Τη μέρα 1 το δείγμα ήταν 3 g ενώ στις 5d ήταν 1g και 10d, 20d το δείγμα είναι 3 g.



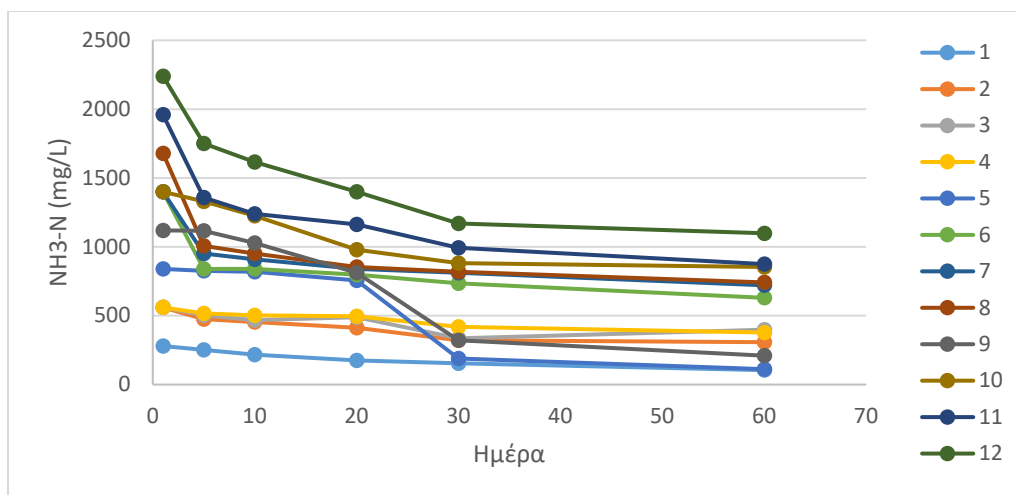
Σχήμα 5 Μεταβολή συγκέντρωσης $\text{NH}_3\text{-N}$ ξηρού ενσιρώματος-(Στερεά 2)

Η συγκέντρωση του αμμωνιακού αζώτου μειώνεται με το χρόνο σε όλες τις περιπτώσεις όπως φαίνεται και από τον Πίνακα 11 και το Σχήμα 6. Στην περίπτωση 1 όπου δεν υπάρχει ούτε ουρία ούτε μελάσα η συγκέντρωση αμμωνίας ως άζωτο του ενσιρώματος οφείλεται αποκλειστικά στον ελαιόκαρπο και το άχυρο. Παρατηρείται ότι όσο αυξάνεται η συγκέντρωση της ουρίας και της μελάσας αυξάνεται και η συγκέντρωση της αμμωνίας στα δείγματα.

Πίνακας 11 Μεταβολή υγρού ενσιρώματος με το χρόνο (Υγρό 2)

α/α	$\text{NH}_3\text{-N}$ (mg/L)					
	Ημέρα					
	1	5	10	20	30	60
ενσιρώματος						
1	280	252	217	175	154	105
2	560	476	455	413	322	308
3	560	504	469	490	336	399
4	560	518	504	497	420	378
5	840	826	819	756	189	112
6	1400	840	840	798	735	630
7	1400	952	910	840	812	721
8	1680	1008	952	854	819	742
9	1120	1116	1029	812	322	210
10	1400	1330	1225	980	882	854
11	1960	1358	1239	1162	994	875
12	2240	1750	1617	1400	1169	1099

Σημείωση :Το δείγμα σε όλες τις περιπτώσεις ήταν 20 mL και αραιώση 1:200 τη μέρα 0 και 1:5 τις υπόλοιπες ημέρες.



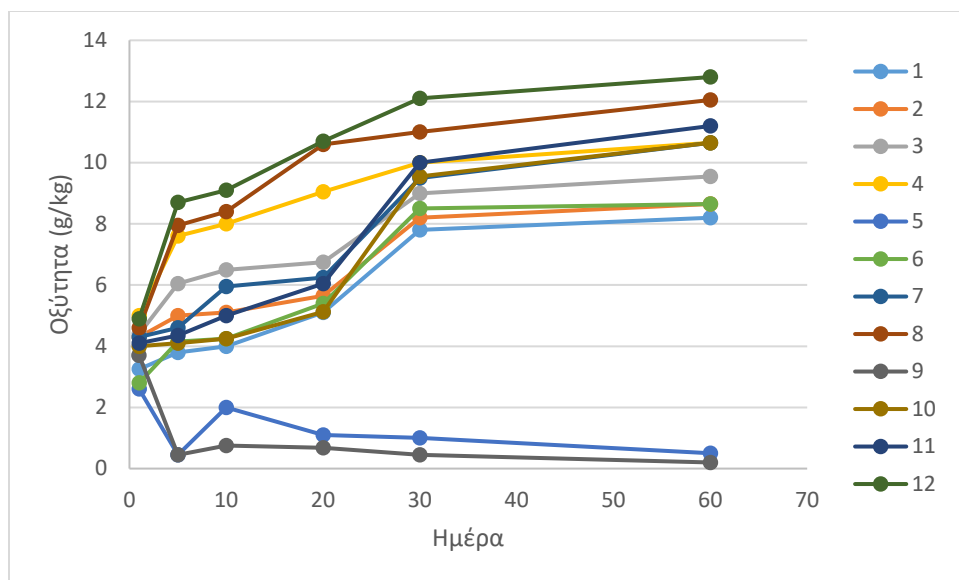
Σχήμα 6 Μεταβολή συγκέντρωσης $\text{NH}_3\text{-N}$ υγρού ενσιρώματος-(Υγρό 2)

Οξύτητα

Η οξύτητα των δειγμάτων επηρεάζεται από τη σύσταση κάθε δείγματος. Τα δείγματα που έχουν περισσότερη μελάσα τείνουν να έχουν υψηλότερη οξύτητα. Η οξύτητα των δειγμάτων αυξάνεται με την πάροδο του χρόνου εκτός από τις περιπτώσεις 5 και 9. Στις περιπτώσεις αυτές (5 και 9) η οξύτητα έφτασε στο 1 και 0,45 g/kg μετά από 30 ημέρες ενσίρωσης. Στις περιπτώσεις αυτές παρατηρείται και αύξηση του pH παρά τη γενικότερη τάση μείωσης που απαντάται στις υπόλοιπες περιπτώσεις.

Πίνακας 12 Μεταβολή οξύτητας με το χρόνο όπου η μάζα του ενσιρώματος είναι 20 g και προστίθενται 80 g απιονισμένου νερού.

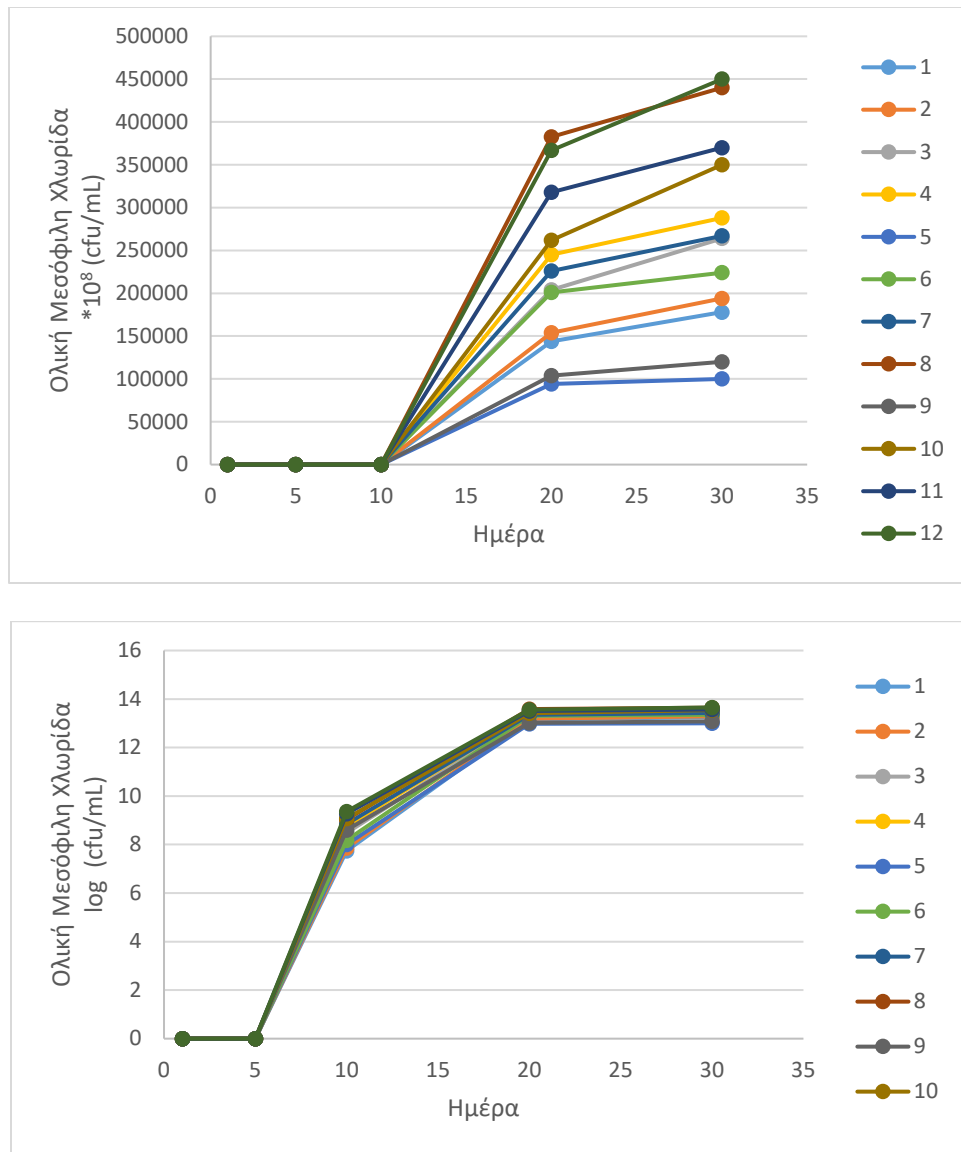
a/a	Οξύτητα (g/kg)					
	Ημέρα					
	1	5	10	20	30	60
ενσιρώματος						
1	3.25	3.8	4	5.1	7.8	8.2
2	4.3	5	5.1	5.7	8.2	8.65
3	4.4	6.05	6.5	6.8	9	9.55
4	5	7.6	8	9.1	10	10.65
5	2.6	0.45	2	1.1	1	0.5
6	2.8	4.15	4.25	5.4	8.5	8.65
7	4.3	4.6	5.95	6.3	9.5	10.65
8	4.6	7.95	8.4	10.6	11	12.05
9	3.7	0.45	0.75	0.7	0.45	0.2
10	4	4.1	4.25	5.1	9.55	10.65
11	4.1	4.35	5	6.1	10	11.2
12	4.9	8.7	9.1	10.7	12.1	12.8



Σχήμα 7 Μεταβολή συγκέντρωσης οξύτητας ενσίρωματος

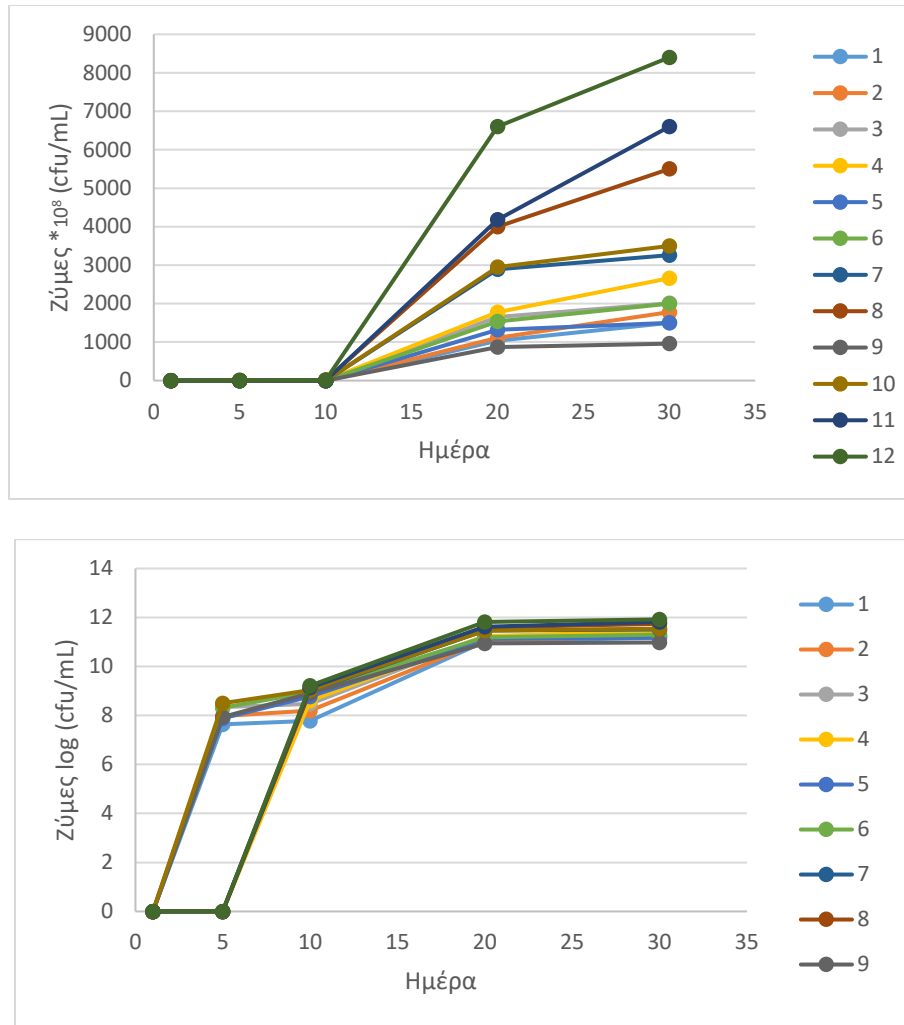
Μικροβιολογικά χαρακτηριστικά

Ο πληθυσμός των μικροοργανισμών αυξάνεται με την πάροδο των ημερών. Σε όλες τις περιπτώσεις παρατηρείται ότι ο πληθυσμός έχει απότομη αύξηση μετά τη 10^η ημέρα της ενσίρωσης. Στο Σχήμα 8 παρουσιάζεται ο πληθυσμός της ολικής μεσόφιλης χλωρίδας, στο Σχήμα 9 η συγκέντρωση των ζυμών και στο Σχήμα 10 η συγκέντρωση των λακτοβάκιλλων.



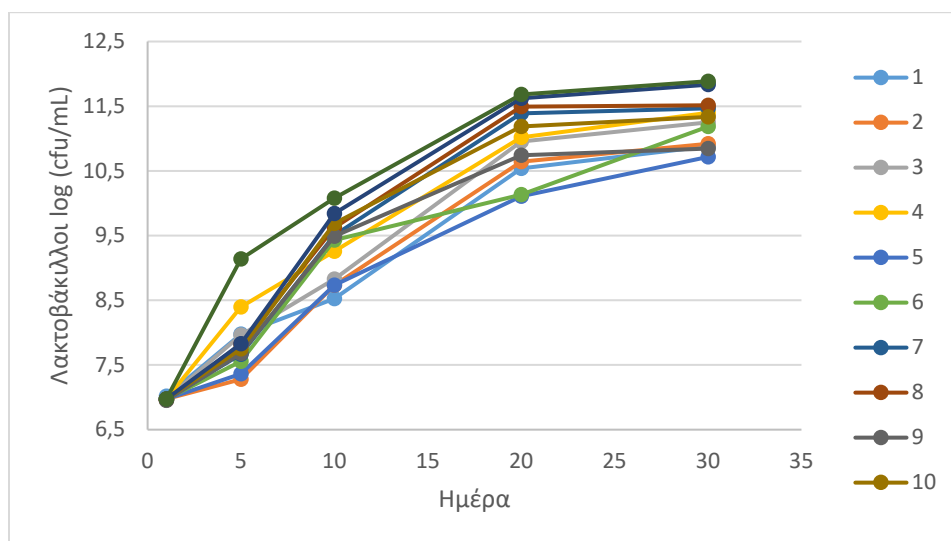
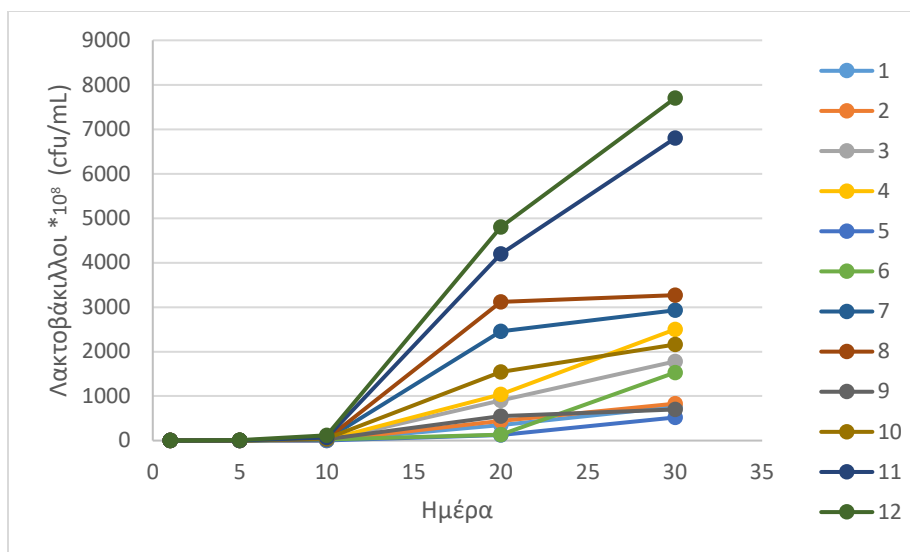
Σχήμα 8 Μεταβολή πληθυσμού Ολικής Μεσόφιλης Χλωρίδας στα ενσίρωματα σε γραμμική και λογαριθμική κλίμακα

Υψηλότερη αύξηση στον πληθυσμό των λακτοβάκιλλων και των ζυμών παρατηρείται στις καλλιέργειες 11 και 12, ενώ ο πληθυσμός της ολικής μεσόφιλης χλωρίδας είναι υψηλότερος στις καλλιέργειες 8 και 12. Σε όλες τις περιπτώσεις χαμηλότερος πληθυσμός απαντάται στις περιπτώσεις ενσίρωσης 5 και 9.



Σχήμα 9 Μεταβολή πληθυσμού ζυμών στα ενσιρώματα σε γραμμική και λογαριθμική κλίμακα

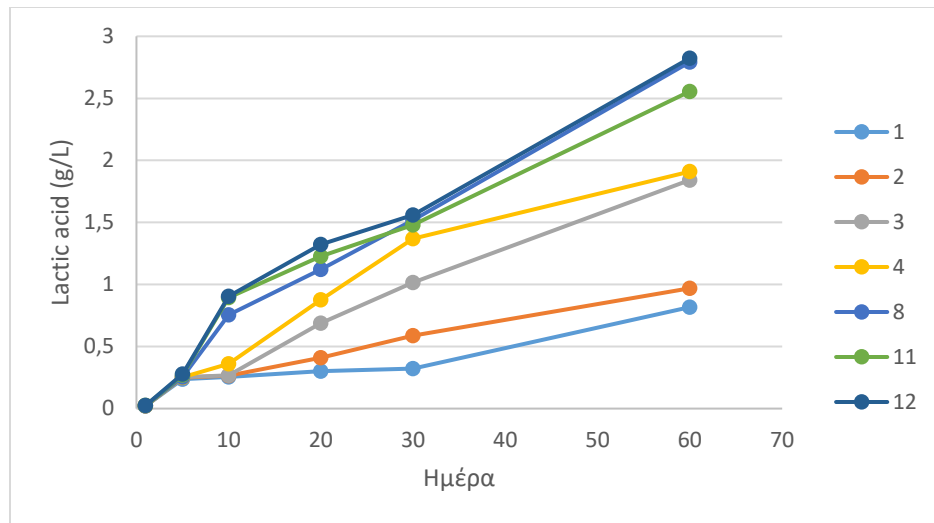
Σε σύγκριση μεταξύ του υψηλότερου και του χαμηλότερου πληθυσμού παρατηρείται ότι η περίπτωση 12 είναι κατά 90% περισσότερος στους λακτοβάκιλλους και τις ζύμες ενώ η ολική μεσόφιλη χλωρίδα είναι κατά 77% υψηλότερη.



Σχήμα 10 Μεταβολή πληθυσμού λακτοβάκιλλων στα ενσιρώματα σε γραμμική και λογαριθμική κλίμακα

Γαλακτικό οξύ

Η συγκέντρωση του γαλακτικού οξέος αυξάνεται με την αύξηση της συγκέντρωσης της μελάσσας. Ενδεικτικά όπως φαίνεται στο Σχήμα 11 η συγκέντρωση του γαλακτικού οξέος είναι κατά 4 φορές υψηλότερη όπου η συγκέντρωση της μελάσσας είναι κατά 4% υψηλότερη. Με την αύξηση της ουρίας αυξάνεται παράλληλα και η συγκέντρωση του γαλακτικού οξέος. Παρόλο που η συγκέντρωση του γαλακτικού αυξάνεται κατά 12% από την περίπτωση 12 και 4, ωστόσο η συγκέντρωση του γαλακτικού είναι κατά 2% υψηλότερη στην περίπτωση 12 από ότι στην 8.



Σχήμα 11 Μεταβολή συγκέντρωσης γαλακτικού οξέος με το χρόνο.

Συμπεράσματα

Ο σκοπός της παρούσας έκθεσης είναι η διερεύνηση της επίδρασης της σύνθεσης του ενσιρώματος στα ποιοτικά χαρακτηριστικά του παραγόμενου ενσιρώματος. Στην παρούσα μελέτη εξετάστηκαν διαφορετικές συνθέσεις ενσίρωσης για την ανεύρεση της κατάλληλης συγκέντρωσης ουρίας και μελάσας παρουσία ελαιόκαρπου και αχύρου.

Με βάση τα αρχικά αποτελέσματα, παρατηρείται ότι, η αύξηση της συγκέντρωσης της μελάσας και της ουρίας οδηγεί σε καλύτερα ποιοτικά χαρακτηριστικά σε οξύτητα, pH και μικροβιακό πληθυσμό. Οι περιπτώσεις ενσίρωσης 4, 8 και 12 παρουσιάζουν μεγαλύτερη μείωση στο pH και υψηλότερη συγκέντρωση αζώτου, μικροβιολογικού φορτίου και γαλακτικού οξέος. Ωστόσο στις περιπτώσεις ενσίρωσης 5 και 9 όπου δεν προστέθηκε μελάσα παρατηρήθηκε ότι από την 5^η ημέρα αύξηση του pH που αποτελεί ένδειξη διακοπής της διεργασίας της ενσίρωσης. Στην περίπτωση 1, όπου δεν προστέθηκε μελάσα κατά την παρασκευή του ενσιρώματος δεν παρατηρείται αύξηση του pH και με βάση τα πειραματικά αποτελέσματα η ενσίρωση είναι ενεργή, βεβαια σε μικρότερο βαθμό από τις υπόλοιπες περιπτώσεις που είχε προστεθεί μελάσα. Η προσθήκη ουρίας απουσίας μελάσας φαίνεται ότι είναι ανασταλτική για την ενσίρωση.

Γενικότερα, η περίπτωση 12 (4% μελάσα και 1,5% ουρία) φαίνεται να έχει την καλύτερη απόδοση ενσίρωσης. Ωστόσο και οι περιπτώσεις ενσίρωσης 8 (4% μελάσα και 1% ουρία) και 11 (2% μελάσα και 1,5% ουρία) φαίνεται να έχουν υψηλή απόδοση με μικρές διαφοροποιήσεις από την περίπτωση 12. Η περίπτωση 1 όπου δεν υπάρχει ούτε ουρία ούτε μελάσα κατά την παρασκευή φαίνεται να έχει επίσης καλή απόδοση. Για την επιλογή της κατάλληλης περίπτωσης ενσίρωσης θα πρέπει να ληφθούν υπόψη και οικονομικά κριτήρια. Ωστόσο, βασικό στοιχείο είναι η απόδοση της ενσίρωσης, προκειμένου να παρασκευαστεί το κατάλληλο υλικό για την διατροφή των προβάτων και την καλύτερη ανάπτυξη τους.