

Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích
Fakulta rybnářství a ochrany vod
Výzkumný ústav rybnářský a hydrobiologický

Bakalářská práce
**Vliv alternativních krmiv na obsah omega 3 mastných
kyselin ve svalovině ryb**

Autor: Jakub Krejsa

Vedoucí bakalářské práce: Ing. Jan Mráz, Ph.D.

Konzultant bakalářské práce: Ing. Tomáš Zajíc

Studijní program a obor: B 4103 Zootechnika, Rybnářství

Forma studia: Prezenční

Ročník: 2.

České Budějovice, 2013

Prohlášení:

Prohlašuji, že svoji bakalářskou práci na téma „**Vliv alternativních krmiv na obsah omega 3 mastných kyselin ve svalovině ryb**“ jsem vypracoval samostatně pouze s použitím pramenů a literatury uvedených v seznamu citované literatury. Prohlašuji, že v souladu s § 47b zákona č. 111/1998 Sb. v platném znění, souhlasím se zveřejněním své bakalářské práce, a to v nezkrácené podobě, případně v úpravě vzniklé vypuštěním vyznačených částí archivovaných FROV JU. Zveřejnění probíhá elektronickou cestou ve veřejně přístupné části databáze STAG provozované Jihočeskou univerzitou v Českých Budějovicích na jejích internetových stránkách, a to se zachováním mého autorského práva k odevzdanému textu této kvalifikační práce. Souhlasím dále s tím, aby toutéž elektronickou cestou byly v souladu s uvedeným ustanovením zákona č. 111/1998 Sb. zveřejněny posudky školitele a oponentů práce i záznam o průběhu a výsledku obhajoby kvalifikační práce. Rovněž souhlasím s porovnáním textu mé kvalifikační práce s databází kvalifikačních prací Theses.cz provozovanou Národním registrem vysokoškolských kvalifikačních prací a systémem na odhalování plagiátů.

V Českých Budějovicích dne 30.4.2013

Podpis:

Poděkování:

Rád bych tímto poděkoval všem, kteří mi byli nápomocni s touto prací, zvláště pak vedoucímu bakalářské práce panu Ing. Janu Mrázovi, Ph.D. a konzultantovi Ing. Tomáši Zajícovi za odbornou pomoc, metodické vedení, poskytnuté rady a připomínky při vypracování této bakalářské práce. Dále bych chtěl poděkovat rodičům a přátelům, kteří mě vší silou podporovali a pomáhali mi.

ZADÁNÍ BAKALÁŘSKÉ PRÁCE (PROJEKTU, UMĚLECKÉHO DÍLA, UMĚLECKÉHO VÝKONU)

Jméno a příjmení: **Jakub KREJSA**
Osobní číslo: **V11B018P**
Studijní program: **B4103 Zootechnika**
Studijní obor: **Rybářství**
Název tématu: **Vliv alternativních krmiv na obsah omega 3 mastných kyselin ve svalovině ryb**
Zadávající katedra: **Výzkumný ústav rybářský a hydrobiologický**

Z á s a d y p r o v y p r a c o v á n í :

Cílem práce bude vypracovat literární rešerši zaměřenou na problematiku vlivu alternativních krmiv na obsah omega 3 mastných kyselin ve svalovině ryb a následně ověřit nahrazení rybího oleje za rostlinný a jeho vliv na obsah a složení tuku u sivena amerického.

V rámci vypracování bakalářské práce bude v první řadě zpracována literární rešerše zaměřená na problematiku vlivu alternativních krmiv na obsah omega 3 mastných kyselin ve svalovině ryb. Hlavní náplní práce bude krmný pokus zaměřený na nahrazení rybího oleje za rostlinný a jeho vliv na obsah a složení tuku u sivena amerického. Ideou je to, že v průběhu chovu sivena se bude používat krmivo založené na méně hodnotných, avšak dlouhodobě udržitelných rostlinných olejích a po určitou dobu před dodáním na trh se budou ryby krmit dietou obsahující rybí olej pro dosažení dávek n-3 kyselin v mase doporučených pro prevenci a léčbu kardiovaskulárních chorob.

Vlastní krmný pokus bude probíhat na pstruhařství Annín (Klatovské rybářství a.s.), analýzy a vyhodnocování dat bude probíhat ve VÚRH JU. V pokusu budou použity 2 diety. První bude běžně komerčně dostupná směs určená k výkrmu lososovitých ryb a obsahující rybí olej. Ve druhé dietě bude rybí olej z podstatné části nahrazen olejem rostlinným (řepkový). Pro pokus bude použit siven americký o hmotnosti 100 g. Ryby budou nasazeny do 8 průtočných kanálů o rozměrech 1 x 1 x 8 m. Na každý kanál bude nasazeno stejné množství ryb, které budou vybrány z jednoho odchovávaného hejna. V průběhu experimentu budou ryby krmeny buď dietou A (rostlinný olej) nebo B (rybí olej) nebo jejich kombinací. Každá varianta bude realizována v duplikátu. První skupina bude po celou dobu (150 dní) krmena dietou A, druhá skupina po celou dobu dietou B. Třetí skupina bude krmena nejprve dietou A a po 80 dnech přejde na dietu B. Čtvrtá skupina bude krmena nejprve dietou A a po 115 dnech výkrmu přejde na dietu B. Vzorčky svaloviny pro analýzy mastných kyselin budou odebírány na počátku pokusu, dále po 80 a 115 dnech a na konci experimentu. Extrakce lipidů ze vzorků masa a krmiv a jejich obsah bude stanoven podle Hara and Radin (1978). Z celkového lipidu budou připraveny metylestery mastných kyselin podle Appelqvist (1968). Kompozice mastných kyselin bude stanovena pomocí plynové chromatografie podle Eriksson and Pickova (2007). Získaná data budou statisticky vyhodnocena a porovnána s literaturou.

Práce bude podporována pilotním projektem: Praktické ověření technologie "finishing feeding" v produkci sivena amerického (*Salvelinus fontinalis*) v podmínkách českého rybářství.

Rozsah grafických prací: podle potřeby

Rozsah pracovní zprávy: 20 - 30 stran

Forma zpracování bakalářské práce: tištěná

Seznam odborné literatury:

Bell JG, Henderson RJ, Tocher DR, Sargent JR, 2003. Replacement of dietary fish oil with increasing levels of linseed oil: modification of flesh fatty acid compositions in Atlantic salmon (*Salmo salar*) using a fish oil finishing diet. *Lipids* 39: 223-232.

Izquierdo MS, Montero D, Robaina L, Caballero MJ, Rosenlund G, Ginéz R, 2005. Alterations in fillet fatty acid profile and flesh quality in gilthead seabream (*Sparus aurata*) fed vegetable oils for a long term period. Recovery of fatty acid profiles by fish oil feeding. *Aquaculture* 250: 431-444.

Jobling M, 2004. "Finishing" feeds for carnivorous fish and the fatty acid dilution model. *Aquaculture Research* 35:706-709.

Lane RL, Trushenski JT, Kohler CC, 2006. Modification of fillet composition and evidence of differential fatty acid turnover in sunshine bass *Morone chrysops* x *M. saxatilis* following change in dietary lipid source. *Lipids* 41: 1029-1038.

Pickova J, Morkore T, 2007. Alternate oils in fish feeds. *Eur J Lipid Technol* 109:256-263.

Simopoulos AP, 1999. Essential fatty acids in health and chronic disease. *American Journal of Clinical Nutrition* 70:560S-569S.

Vedoucí bakalářské práce:

Ing. Jan Mráz, Ph.D.

Výzkumný ústav rybářský a hydrobiologický


Konzultant bakalářské práce:


Ing. Tomáš Zajíc

Výzkumný ústav rybářský a hydrobiologický

Datum zadání bakalářské práce: **2. prosince 2011**

Termín odevzdání bakalářské práce: **30. dubna 2013**


prof. Ing. Otomar Linhart, DrSc.
děkan


doc. Ing. Pavel Kozák, Ph.
ředitel

V Českých Budějovicích dne 3. února 2

Obsah

1	Úvod.....	- 5 -
2	Literární přehled.....	- 7 -
2.1	Lipidy	- 7 -
2.1.1	Mastné kyseliny a lidské zdraví	- 8 -
2.1.2	Zastoupení mastných kyselin u sladkovodních a mořských ryb	- 9 -
2.2	Spotřeba ryb ve světě a v České republice	- 10 -
2.3	Akvakultura.....	- 10 -
2.3.1	Alternativy za rybí olej a rybí moučku.....	- 11 -
2.4	Finishing feeding.....	- 14 -
2.4.1	Předpověď změn v kompozici mastných kyselin.....	- 14 -
2.4.2	Využití „finishing feeding“ v praxi.....	- 16 -
3	Metodika	- 18 -
3.1	Popis odchovného zařízení.....	- 18 -
3.2	Ryby a design experimentu	- 19 -
3.3	Krmivo	- 20 -
3.4	Zahájení experimentu.....	- 20 -
3.5	Krmení ryb	- 22 -
3.6	Odběr vzorků.....	- 23 -
3.7	Chemická analýza	- 24 -
3.8	Statistické vyhodnocení	- 25 -
3.9	Model předpovědi kompozice mastných kyselin	- 26 -
4	Výsledky	- 27 -
4.1	Obsah tuku	- 27 -
4.2	Kompozice mastných kyselin	- 28 -
4.3	Zastoupení EPA a DHA.....	- 30 -
4.4	Předpověď kompozice mastných kyselin.....	- 32 -
5	Diskuze.....	- 34 -
6	Závěr	- 37 -
7	Přehled použité literatury	- 38 -
8	Abstrakt.....	- 40 -
9	Abstract	- 41 -

1 Úvod

Obliba ryb a rybích výrobků v poslední době v tzv. „západním“ světě stoupá. Jedním z důvodů je prokázáný pozitivní vliv rybího masa na lidské zdraví, především v kontextu s tzv. civilizačními chorobami, jakými jsou kardiovaskulární onemocnění nebo metabolický syndrom. Zdravotní benefity rybího masa jsou spojovány především s vysokým obsahem esenciálních omega 3 (n-3) mastných kyselin.

Vlivem růstu lidské populace a zvyšujícím se zájmem o rybí maso dochází k nárůstu poptávky, která už nemůže být pokryta pouze rybolovem. Zvýšený tlak rybolovu by totiž vedl k tzv. přelovování oceánů a likvidaci druhové diverzity. Z toho důvodu je tedy nutné zvýšenou poptávku po rybách uspokojovat rybami z umělých chovů, akvakulturou. Akvakultura je nejrychleji rostoucím potravinářským odvětvím s ročním nárůstem produkce cca 8,5 %. V současné době již tvoří podíl ryb z akvakultury cca 50 % všech celosvětově konzumovaných ryb.

Základními a tradičními surovinami pro výrobu krmných směsí pro akvakulturu jsou rybí moučka a rybí olej. Zdrojem těchto komodit jsou především mořské, pelagické druhy ryb (např. ančoveta peruánská). Tím, jak akvakultura roste, jsou požadavky na rybí moučku a olej stále vyšší, což vede k celosvětovému nedostatku těchto komodit. V průběhu dalších let se očekává, že poptávka po rybí moučce a oleji bude vyšší než produkce. Z tohoto důvodu je vyvíjen tlak na chovatele a producenty krmiv, aby rybí moučku a olej nahrazovali alternativními a udržitelnými zdroji, které zároveň neovlivní ukazatele růstu, zdravotního stavu a kvality chovaných ryb. Jednou z možností je použití rostlinných produktů. Rostlinné produkty jsou zatím nejlepší a nejvhodnější alternativou pro nahrazení rybí moučky a oleje. Jejich nevýhodou je ale to, že neobsahují zdraví prospěšné n-3 vysoce nenasycené mastné kyseliny (n-3 HUFA). Jedním z možných řešení tohoto problému je použití krmné strategie *finishing feeding*. Principem této technologie je používání krmiv obsahujících rostlinné oleje po většinu produkčního cyklu a v poslední fázi výkrmu s přechodem na krmivo s rybím oleje pro dosažení požadované kvality masa.

Tato bakalářská práce je zaměřena na problematiku alternativních krmiv v chovu ryb. Konkrétně bude posuzován vliv alternativního krmiva na obsah a složení lipidů (kompozice mastných kyselin) ve filetu sivena amerického (*Salvelinus fontinalis*).

Praktická část této práce bude testovat technologii *finishing feeding*, v chovu sivena v praktických podmínkách českého pstruhařství.

2 Literární přehled

2.1 Lipidy

Lipidy jsou heterogenní skupinou látek, jejichž společnou vlastností je to, že jsou hydrofobní a rozpouštějí se v organických rozpouštědlech. Slouží především jako zdroj energie (triacylglyceroly, mastné kyseliny), jako základní jednotka buněčných membrán (fosfolipidy), prekurzory steroidních látek (cholesterol, steroly), regulační látky (eikosanoidy) atd. (Kalač a Špička, 2006).

Mastné kyseliny jsou nejdůležitější a z hlediska výživy nejvýznamnější složkou lipidů (Velíšek, 2002). Jedná se o monokarboxylové kyseliny obvykle s alifatickým řetězcem, který může být nasycený a nenasycený.

Nasycené mastné kyseliny neobsahující ani jednu dvojnou vazbu a řetězec je rovný a nerozvětvený. Mají zkratku SFA, z anglického saturated fatty acids (Kalač a Špička, 2006).

Nenasycené mastné kyseliny obsahují jednu či více dvojných vazeb. Mastné kyseliny s jednou dvojnou vazbu jsou označovány jako mononenasycené (MUFA - monounsaturated fatty acids). Mastné kyseliny obsahující dvě a více dvojných vazeb jsou označovány jako polynenasycené (PUFA - polyunsaturated fatty acids). Pro kyseliny, které mají v řetězci minimálně tři dvojně vazby a 20 a více atomů uhlíku, se užívá označení vysoce nenasycené mastné kyseliny (HUFA - highly unsaturated fatty acids) (Kalač a Špička, 2006).

Dále se mastné kyseliny rozdělují podle prostorové konfigurace dvojných vazeb na cis neboli Z a trans neboli E (Velíšek, 2002). Důležitou charakteristikou je poloha první dvojně vazby od metylového konce. Mastné kyseliny jsou označovány zkráceným zápisem, viz obr. 1.

Vysoce nenasycené mastné kyseliny z řady n-3, především DHA a EPA se významně podílejí na stavbě a funkci biologických membrán. Nedostatek DHA u dětí může mít za následek poruchy zraku a poruchy poznávacích schopností. U dospělých lidí slouží DHA v prevenci proti poruchám zraku, zánětlivým onemocněním a také pozitivně ovlivňuje duševní schopnosti. Nízká hladina EPA v organismu může vykazovat pokročilé onemocnění jater. Z EPA jsou vytvářeny eikosanoidy pozitivní pro lidské zdraví, ale zároveň snižují nadměrnou tvorbu eikosanoidů vytvářených z arachidonové kyseliny (Burke a kol., 1999).

Nenasycené mastné kyseliny obsažené v rybím masu vytváří z rybích pokrmů dietní výživu s nízkou kalorickou hodnotou (EFSA, 2010). Správná dávka rybního masa, která působí kladně na lidský organismus, činí alespoň 1-2 porce za týden (EFSA, 2009). EFSA (2010) doporučuje pro běžnou populaci denní příjem 250 mg EPA+DHA, 2 g ALA a 10 g LA.

2.1.2 Zastoupení mastných kyselin u sladkovodních a mořských ryb

Mořské ryby jsou bohaté na n-3 PUFA především na EPA a DHA. Sladkovodní druhy ryb jsou rovněž cenným zdrojem esenciálních mastných kyselin. Obsahují větší množství 18 C PUFA, ale také značné koncentrace EPA, DHA a další, viz tabulka 1.

Tab. 1: Obsah tuku (% požitelného podílu) a zastoupení mastných kyselin v českých rybách (Kalač a Špička, 2006).

Druh ryby	Tuk	Palmitová	Stearová	Olejová	Linolová	Linolenová	EPA	DHA
Amur bílý		19,1	4,2	34,4	15,3	3,5	1,1	2,8
Bolen dravý		18,5	5,7	40	1,9	1,9	4,6	10,2
Candát obecný	0,7	21,7	6,8	13,5	1,7	1,2	6,6	30,3
Cejn velký	5	15,6	3,8	30,2	4,6	5,7	9,5	4
Kapr obecný	7	18,3	6	31,7	8,9	1,9	0,9	2,4
Lín obecný	0,8	17,9	4,5	24,3	6,9	7,3	6,1	4,4
Okoun říční	0,8	18,4	3,2	15,4	4	5,6	8,8	11,1
Síh peled'		11,4	2,7	32,5	2,8	5,9	4,5	6
Sumec velký	11	17,8	6,3	45,9	7	1,3	1	2,7
Štika obecná	0,9	16,4	5,9	22,7	3,7	4,5	5,4	20,6
Tolstolobik bílý		20,2	3	31,1	2,3	5,8	4,9	9,9

Kromě toho se složení mastných kyselin u sladkovodních ryb vyznačuje vysokým obsahem n-6 PUFA, viz tabulka 1. Proto je poměr n-3 a n-6 mastných kyselin mnohem nižší u sladkovodních ryb (Steffens, 1997).

2.2 Spotřeba ryb ve světě a v České republice

Celosvětová spotřeba rybího masa činí v průměru 16 kg rybího masa na jednoho obyvatele za rok (WHO, 2013). Lze říci, že přímořské státy mají větší spotřebu, například Finsko 34 kg, Francie 34 kg, Norsko 51,5 kg, Portugalsko 57 kg, Japonsko 58 kg a Island dokonce 91 kg rybího masa na jednoho obyvatele (FAO, 2011b). Oproti tomu je spotřeba ryb v České republice velice nízká. V roce 2012 činila spotřeba 5,6 kg rybího masa na jednoho obyvatele za rok. Z toho činila spotřeba sladkovodních ryb pouze 1,4 kg rybího masa na jednoho obyvatele (MzeČR, 2011).

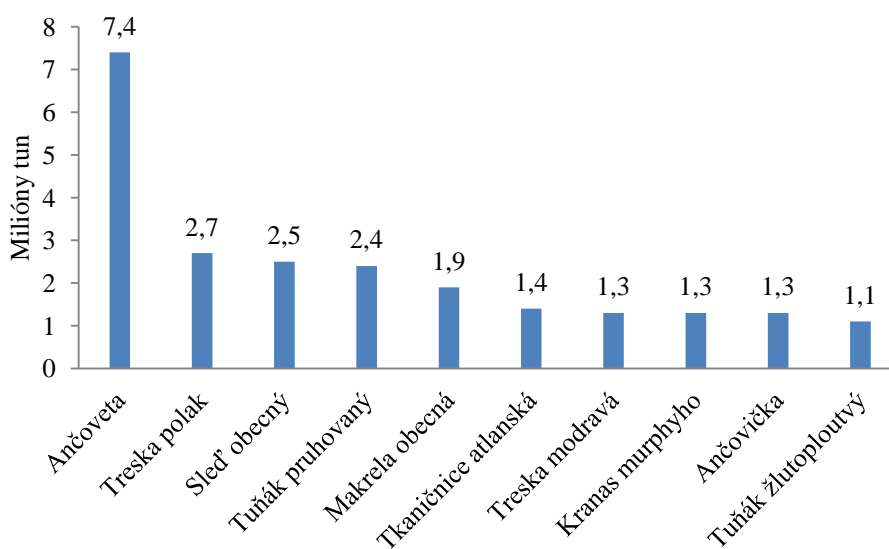
2.3 Akvakultura

Akvakultura je nejrychleji rostoucím odvětvím v chovu zvířat. Produkce tohoto odvětví se po dobu 25 let zvyšuje cca o 8,5 % za rok, což ji bezkonkurenčně řadí na první místo (OECD, 2012). V dnešní době pochází skoro 50 % ryb určených pro lidskou konzumaci z akvakulturních chovů (Turchini a kol., 2009). Tradiční krmné ingredience pro výrobu akvakulturních krmiv jsou rybí moučka a rybí olej. Ty se získávají především z mořských pelagických druhů ryb, nevhodných pro lidskou výživu (např. ančoveta peruánská – Graf 1) popř. ze zbytků po zpracování ryb (IFFO, 2006).

Rybí moučka je ceněná díky její vysoké stravitelnosti, velkému obsahu proteinů s vyváženou kompozicí aminokyselin. Rybí olej je hlavně ceněn díky velkému obsahu zdraví prospěšných n-3 HUFA, především EPA a DHA (Sargent a Tacon, 1999). Dříve byly rybí moučka a olej levné a dobře dostupné pro výrobu krmiv. V dnešní době je ale vzhledem k prudce se zvyšující produkci akvakultury těchto krmných ingrediencí nedostatek. Zvýšená poptávka po rybí moučce a oleji spolu s rostoucí konzumací mořských ryb má za následek přelovování oceánů neboli tzv. „overfishing“. To je stav, při kterém ryby už nedokáží přirozeně obnovovat své stavy a dochází tak k jejich zdecimování (Tacon a Metian, 2008). Z tohoto důvodu produkce rybí moučky a oleje

stagnuje a nepředpokládá se, že se v budoucnosti zvýší. Zároveň prudce stoupá jejich cena. Podle odhadů se v dnešní době používá přibližně 87 % celosvětové produkce rybího oleje jako zdroj lipidů v akvakultuře (Turchini a kol., 2009). V roce 2003 spotřebovaly lososovité ryby (losos obecný a pstruh duhový) 66,4 % z celkového používaného rybího oleje v akvakultuře, následovaly mořské ryby (13,8 %), mořské krevety (7,3 %), kapr (5,5 %), tilapie (2 %) a úhoř říční (1,4 %) (Turchini a kol., 2009).

Akvakultura roste a s ní i spotřeba krmiv, proto je důležité hledat alternativy, které by nahradily rybí moučku a rybí olej. Je tedy vyvíjen velký tlak na chovatele a producenty krmiv, aby nahradili rybí moučku a olej jinými dlouhodobě udržitelnými krmnými ingrediencemi.



Graf 1: Nejčastěji lovené ryby pro výrobu rybího oleje a rybí moučky v miliónech tun (FAO, 2011b).

2.3.1 Alternativy za rybí olej a rybí moučku

Předpokládá se, že cena rybího oleje a rybí moučky bude i v nadcházejících letech stoupat z důvodu jejich stagnující produkce (IFFO, 2006). Oproti tomu nízká cena rostlinných olejů a jejich zvyšující se produkce vytváří z rostlinných olejů atraktivní náhradu za olej rybí. Z ekonomického hlediska se rostlinné oleje řadí mezi velice spolehlivé náhrady. Nejzajímavější z řad rostlinných olejů jsou oleje řepkový, lněný, palmový, olivový a slunečnicový. Závažným problémem je ovšem kompozice mastných

kyselin. Většina rostlinných olejů je chudá na n-3 mastné kyseliny (viz tabulka 2), které jsou důležité pro zdraví a růst ryb.

Rostlinné oleje jsou bohatým zdrojem n-6 a n-9 mastných kyselin, především obsahují kyselinu linolovou a olejovou. Rostlinné oleje, které obsahují n-3 mastné kyseliny a mají vhodný poměr n-3/n-6 jsou především olej lněný, řepkový a konopný (viz tabulka 2). Nutno však dodat, že tyto rostlinné oleje obsahují pouze 18 uhlíkaté n-3 kyseliny (alfa linoleová) a neobsahují n-3 HUFA. Proto musí být tyto kyseliny dodány ve vyváženém poměru mezi rostlinným a rybím olejem v krmné směsi nebo speciální technologií výkrmu.

Obecně platí, že rostlinné oleje můžou nahradit olej rybí v krmných směsích pro mnoho druhů ryb bez ovlivnění růstu nebo produkční účinnosti.

Existuje ale alternativa v podobě geneticky modifikovaných rostlin, které mohou obsahovat vysoké množství n-3 HUFA. Ovšem je otázkou, jestli tyto geneticky upravené rostliny nebudou spíše na škodu životnímu prostředí.

Tab. 2: Procentuální zastoupení mastných kyselin v jednotlivých rostlinných olejích (Turchini a kol., 2009).

	SFA	MUFA	LA	ALA	EPA	DHA	n-6 PUFA	n-3 PUFA
Palmový olej	48,8	37	9,1	0,2	-	-	9,1	9,2
Sojový olej	14,2	23,2	51,1	6,8	-	-	51	6,8
Řepkový olej	4,6	62,3	20,2	12	-	-	20,2	12
Slunečnicový olej	10,4	19,5	65,7	-	-	-	65,7	-
Kukuřičný olej	12,7	24,2	58	0,7	-	-	58	0,7
Lněný olej	9,4	20,2	12,7	53,3	-	-	12,7	53,3

Jako další alternativu je nutné zmínit živočišné tuky. Na dnešním trhu jsou snad nejlevnějším a nejdostupnějším zdrojem lipidů pro potřeby akvakultury. Složení živočišných tuků se liší v závislosti na druhu, stáří a druhu podávaného krmiva zvířatům. Obecně obsahují vysoké množství SFA a vysokou úroveň MUFA. Podobně jako rostlinné oleje mají nízký obsah n-3 mastných kyselin, viz tabulka 3. Živočišné tuky lze v nahrazení za rybí olej, z ekonomického hlediska, pokládat za lepší alternativu než rostlinné oleje. Výzkumy uvádí, že 50% nahrazení rybího oleje v krmné směsi živočišným tukem nemá žádný negativní vliv na růst a reprodukci ryb. Nicméně jejich velkou nevýhodou je to, že obsahují velké množství SFA a skoro žádné n-3 mastné kyseliny, což se následně negativně promítá do nutriční hodnoty rybího masa (Turchini a kol., 2009).

Tab. 3: Procentuální zastoupení mastných kyselin v živočišných tucích (Turchini a kol., 2009)

	SFA	MUFA	LA	ALA	EPA	DHA	n-6 PUFA	n-3 PUFA
Hovězí tuk	47,5	40,5	3,1	0,6	-	-	3,1	0,6
Vepřový tuk	38,6	44	10,2	1	-	-	10,2	1
Drůbeží tuk	28,5	43,1	19,5	1	-	-	19,5	1

Další možnou alternativou jsou tzv. vedlejší produkty akvakultury. Jsou sem zařazeny vodní rostliny, odpadní produkty ze zpracování ryb, krill, bentické a pelagické organismy a jednobuněčné řasy. Všechny tyto vedlejší produkty obsahují vysoké množství n-3 HUFA. Jednotlivé druhy jednobuněčných řas jsou dobrým zdrojem DHA. Pěstování určitých kultur jednobuněčných řas ve velkém je v dnešní době dost drahá záležitost. Krill je bohatým zdrojem esenciálních mastných kyselin, fosfolipidů, cholesterolu a karotenoidů. Krill zdaleka není tak drahou alternativou jako řasy, ale přece je jeho cena dost vysoká (Turchini a kol., 2009).

Rybí odpady mají velký potenciál při výrobě rybího oleje. Vnitřnosti některých ryb mohou obsahovat až 45 % tuku. Využitím odpadních produktů z ryb lze výrazně

snížit náklady na krmivo a jsou také dobrým zdrojem n-3 HUFA (Turchini a kol., 2009).

2.4 Finishing feeding

Jeden z možných postupů při využití alternativních náhrad (rostlinných olejů) je dvoufázový výkrm. V každé z fází je použita jiná dieta.

V první fázi je rybě po většinu výkrmu předkládáno krmivo s vysokým obsahem rostlinných olejů nebo jejich směsí. Takto se provádí výkrm po většinu produkčního cyklu.

Na začátku druhé fáze dojde k výměně krmiva obsahujícího rostlinný olej za krmivo, které obsahuje rybí olej. Tuto druhou fázi označujeme jako „finishing feeding“ (konečný, finální výkrm) (Zajíc a kol., 2011). Tímto přístupem je možné produkovat ryby o definovatelné kvalitě s minimálním použitím nedostatkového rybího oleje. Jeho zdroje jsou tak efektivněji využívány.

Technologie „finishing feeding“ je důležitou fází výkrmu z důvodu navrácení sníženého obsahu n-3 HUFA, vzniklého používáním rostlinných olejů jako náhradu za rybí olej v krmné směsi.

2.4.1 Předpověď změn v kompozici mastných kyselin

Při použití rostlinných olejů jako náhradu za rybí olej a následné využití technologie „finishing feeding“ lze s vysokou přesností předpovědět změny v kompozici mastných kyselin pomocí matematického ředícího modelu. Robin a kol. (2003), Jobling (2004), Jobling a kol. (2008) a Izquierdo (2005) úspěšně testovali technologii „finishing feeding“ a použití ředícího modelu pro předpověď změn mastných kyselin u karnivorních druhů ryb.

Matematická předpověď obsahu mastných kyselin (ředící model) (Jobling 2004)

$$P_T = P_R + (P_I - P_R) / (Q_T / Q_I)$$

Příčemž:

P_T - předpověď % zastoupení mastné kyseliny v čase T

P_R - % obsah mastné kyseliny ve svalovině kontrolní ryby v čase T

P_I - počáteční % obsah mastné kyseliny před začátkem „finishing feeding“

Q_T - součinitel hmotnosti a obsahu tuku testované ryby v čase T

Q_I - součinitel hmotnosti a obsahu tuku testované ryby před začátkem „finishing feeding“

Pro vysvětlení ředícího modelu je uveden následující příklad:

Pstruh duhový byl ze začátku krměn krmivem s rostlinným olejem (75 % rybího oleje bylo nahrazeno olejem rostlinným – dieta A). Po uplynutí určité doby došlo k nahrazení krmiva za krmivo s klasickým obsahem rybího oleje (88 % rybího oleje – dieta B).

V době, kdy došlo ke změně krmné směsi, měly ryby průměrnou hmotnost 0,15 kg, obsah tuku ve filetu ryby byl 9 % a obsah EPA + DHA tvořil 1,5 % z celkového tuku. Nové krmivo se podávalo obsádce do dosažení tržní velikosti 0,3 kg. V tomto momentu byl zjištěný obsah tuku ve filetu 11 %. Kontrolní skupina krmena po celou dobu výkrmu dietou – B (88 % rybího oleje) měla obsah EPA + DHA ve svalovině 10 % z celkového tuku.

$$Q_I = 1,35 (9 \%) \times 0,15 (0,15 \text{ kg})$$

$$Q_T = 3,3 (11 \%) \times 0,3 (0,3 \text{ kg})$$

$$P_R = 10 (10 \% \text{ EPA} + \text{DHA} \text{ v kontrole})$$

$$P_I = 1,5 (1,5 \% \text{ EPA} + \text{DHA} \text{ na začátku změny})$$

Po dosazení:

$$P_T = 10 + (1,5 - 10) / (3,3 / 0,1,35)$$

$$P_T = 6,52 \% \text{ EPA} + \text{DHA}$$

Při použití tohoto ředícího modelu nám vyšlo, že pstruh duhový produkovaný s pomocí technologie „finishing feeding“ má na konci výkrmu ve svalovině 6,52 % EPA + DHA.

2.4.2 Využití „finishing feeding“ v praxi

Technologie „finishing feeding“ byla již experimentálně testována u mnoha druhů ryb např. u tresky obecné (*Gadus morhua*) Joblingem a kol. (2008), u lososa atlantského (*Salmo salar*) Bellem a kol. (2004) a Torstensenem a kol. (2004), u pstruha obecného (*Salmo trutta*) a kambaly (*Psetta maxima*) Robinem a kol. (2003), u pstruha duhového (*Oncorhynchus mykiss*) Brownem a kol. (2010), u kapra obecného (*Cyprinus carpio*) Mrázem a kol. (2012) a mnoha dalších. Ve všech provedených experimentech byl v první fázi výkrmu rybí olej z velké části nahrazen rostlinným, popř. směsí několika olejů (řepkový, lněný, olivový a sojový olej).

Důležitým zjištěním v každém uvedeném experimentu je, že částečné nahrazení rybího oleje olejem rostlinným nemá negativní vliv na růst ryb (Jobling, 2008, Bell a kol., 2004, Torstensen a kol., 2004, Robin a kol., 2003, Brown a kol., 2010, Mráz a kol., 2012).

V experimentu s treskou obecnou byl nahrazen rybí olej olejem řepkovým nebo palmovým. Celkový obsah lipidů ve svalovině se u tresky obecné mezi jednotlivými skupinami nelišil. Ovšem byly nalezeny signifikantní rozdíly v kompozici mastných kyselin. Ryby krmené rostlinnými oleji měly prokazatelně vyšší obsah 18 C mastných kyselin a nižší podíl n-3 HUFA (Jobling, 2008).

Losos atlantský při použití lněného oleje obsahoval vysoké procento kyseliny alfa linoleové z celkového obsahu tuku. Důvodem byl právě zmíněný lněný olej, který je bohatým zdrojem této kyseliny. Ovšem tento olej měl negativní vliv na obsah EPA a DHA. Po dokončení experimentu vykazovaly skupiny ryb krmené lněným olejem nižší obsah EPA a DHA, i když byla po dost dlouho dobu použita technologie „finishing feeding“. Rozdílná byla ovšem skupina ryb, ve které byl nahrazen rybí olej pouze z 25 %. Tato skupina nevykazovala na konci experimentu žádné signifikantní rozdíly oproti kontrolní skupině (Bell a kol, 2004).

Částečné nahrazení rybího oleje olejem řepkovým v krmné směsi pro pstruha duhového má prokazatelný vliv na vyšší obsah SFA. Podobně jako u lososa atlantského se objevují rozdíly při použití rostlinného oleje v obsahu 18 C mastných kyselin a nízkém obsahu n-3 HUFA (Robin a kol., 2003).

Směs lněného a řepkového oleje v krmné směsi působí negativně na obsah n-3 PUFA především na EPA a DHA ve svalovině kapra obecného. Opačný vliv má tato

směs na n-6 PUFA, tato skupina mastných kyselin stoupá s množstvím směsi lněného a řepkového oleje v krmivu podávaného kaprovi obecném (Mráz a kol., 2012).

Aplikace rostlinných olejů významně ovlivňuje kompozici mastných kyselin, jak je vidět z předchozího textu. Pro dosažení a navrácení optimálních hodnot v obsahu mastných kyseliny především z řady n-3 se používá technologie „finishing feeding“. Tento konečný výkrm probíhá pomocí krmiv obsahující velké množství rybího oleje. Díky použití tohoto krmiva v konečné fázi výkrmu („finishing feeding“) dojde ke zvýšení obsahu n-3 mastných kyselin, snížení SFA a vyváží se poměr n-3/n-6, jak prokázali Jobling a kol. (2008), Bell a kol. (2004) a Torstensen a kol. (2004), Robin a kol. (2003), Brown a kol. (2010). Délka aplikace technologie „finishing feeding“ závisí na druhu ryby a délce výkrmu prováděné pomocí alternativních náhrad (rostlinné oleje).

3 Metodika

Praktická část této bakalářské práce je zaměřena na nahrazení rybího oleje olejem rostlinným a na testování technologie „finishing feeding“ u sivena amerického (*Salvelinus fontinalis*) v praktických podmínkách českého rybářství. V rámci projektu byl testován vliv technologie „finishing feeding“ na produkční ukazatele, sensorické vlastnosti masa a obsah tuku a kompozici mastných kyselin ve svalovině. Tato bakalářská práce je zaměřena na obsah tuku ve svalovině a změny v kompozici mastných kyselin chovaných ryb.

3.1 Popis odchovného zařízení

Projekt probíhal na pstruhovém objektu v Anníně spadající pod Klatovské rybářství a.s. Odchovné žlaby byly betonové a obdélníkového tvaru o rozměrech 1 x 1 x 8 m (obr. 2). Těmito žlaby protékal neustále kvalitní průtok okysličené vody z řeky Otavy, která napájí celý objekt.

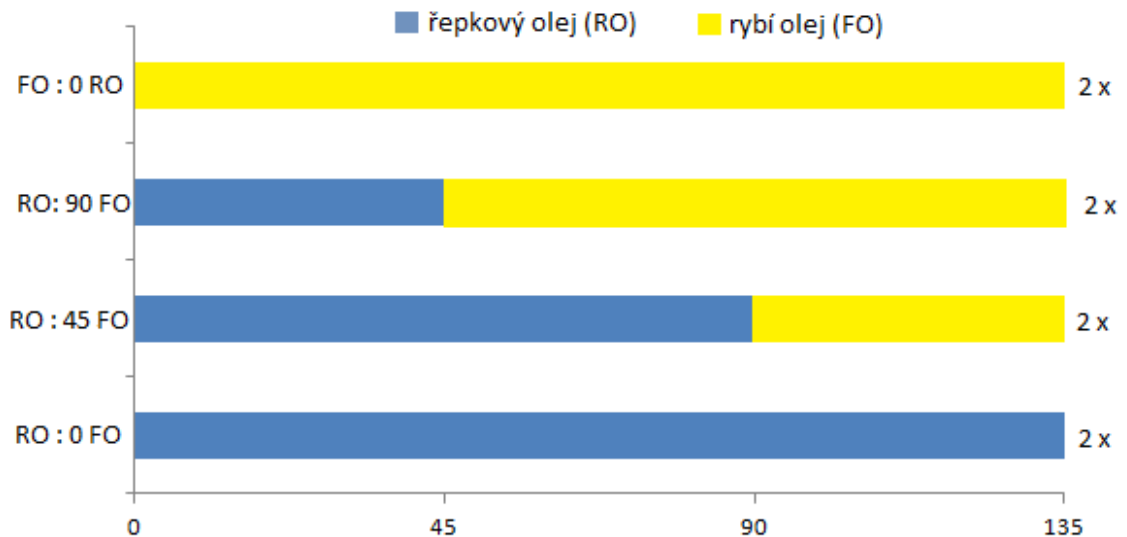


Obr. 2: Odchovné žlaby, ve kterých byl prováděn výzkum.

3.2 Ryby a design experimentu

Pro tento experiment byl vybrán druh z čeledi lososovitých siven americký (*Salvelinus fontinalis*), protože tento druh kvalitně přijímá granulované krmivo v odchovných zařízeních. Dalším důvodem výběru je i místo a kvalita vody. Siven americký je ryba, která snáší i vyšší kyselost vody, se kterou se v Anníně setkáváme.

V prvních dvou žlabech (číslo 1 a číslo 2) byly ryby nasazeny jako kontrolní skupina. Tato kontrolní skupina byla po celou dobu experimentu krmena krmivem, které obsahovalo 100 % rybího oleje (FO: 0 RO). Ryby ve žlabech číslo 7 a 8 byly krmeny po celou dobu krmivem, které obsahovalo řepkový olej (RO: 0 FO). Skupiny ryb ve žlabech číslo 3 a 4 byly ze začátku experimentu krmeny krmivem obsahující řepkový olej. Po 45 dnech došlo k přechodu na krmivo, které obsahovalo pouze rybí olej, tato etapa využívá technologii „finishing feeding“ (RO:90 FO). V poslední skupině, která byla umístěna ve žlabech číslo 5 a 6, se ryby krmily prvních 90 dní opět krmivem obsahující řepkový olej a po uplynutí této doby se přešlo na výkrm pomocí technologie „finishing feeding“, krmivo tedy obsahovalo pouze rybí olej (RO:45 FO).



Obr. 3: Design 135 denního experimentu (FO: 0 RO = 135 dní 100 % rybího oleje, RO: 90 FO = 45 dní krmivo s řepkovým olejem a 90 dní 100 % rybího oleje, RO: 45 FO = 90 dní krmivo s řepkovým olejem a 45 dní 100 % rybího oleje, RO: FO 135 dní krmivo s řepkovým olejem). Každá skupina po dvou žlabech.

3.3 Krmivo

Krmivo použité pro experiment dodala firma Biomar. Krmení obsahovalo výrazně snížený obsah lipidů a to pouze 13 %. Krmivo bylo následně tzv. dotukováno na potřebných 26 %, toto dotukování probíhalo na Fakultě rybářství a ochrany vod ve Vodňanech. Tento proces probíhal manuálně za použití míchacího přístroje, ve kterém se ke krmivu přistříkával potřebný olej (řepkový popř. rybí). Úprava krmiva, probíhala ve více etapách, vždy když krmivo docházelo z důvodu toho, aby se předešlo žluknutí tuků. Krmivo bylo potřeba skladovat v suché hale.

Tab. 4: Živinnové složení krmiva použité pro výkrm sivena amerického uváděné v %.

Protein	44-48
Lipidy	26
Karbohydráty (NFE)	15
Vláknina	2,8
Popeloviny	6,5
Celkový fosfor	0,9

3.4 Zahájení experimentu

Experiment začal 21. 5. 2012 a trval po dobu 135 dní. Ryby byly dodány z Annína z jednoho odchovného hejna a s pomocí místních pracovníků se ryby vážily na digitální stolní váze s přesností 0,01 kg po 50 kusech. Následně byli jedinci sivena amerického rozsazeni do osmi odchovných žlabů, do kterých se umisťovali v hustotě obsádky 300 kusů na žlab. Průměrná hmotnost nasazovaných jedinců byla $156,3 \pm 4,9$ g. Po nasazení ryb se provedlo počáteční měření 33 kusů ryb. Průměrná celková délka těla byla $241,5 \pm 6,1$ mm a průměrný Fultonův koeficient činil $1,51 \pm 0,15$.



Obr. 4: Nasazení ryb do odchovných žlabů



Obr. 5: Prvotní měření ryb



Obr. 6: Vážení a příprava krmiva

3.5 Krmení ryb

Krmení ryb probíhalo pomocí automatického krmítka, které fungovalo na základě hodinového strojku (Obr. 7). Toto krmítko se vždy ráno naplnilo krmivem z připravené konve a samostatně dávkovalo krmivo. Denní dávka byla stanovena podle doporučení dodavatele krmiva (Biomar) a pohybovala se v rozpětí 0,8 až 1,6 % průměrné kusové hmotnosti v závislosti na teplotě vody.



Obr. 7: Pohled na krmítko s hodinovým strojkem

3.6 Odběr vzorků

V průběhu experimentu probíhalo vzorkování. Odběr vzorků byl prováděn při nasazení pokusu, dále po 45 a po 90 dnech a při ukončení experimentu. Při každém vzorkování bylo odebráno 10 ks ryb pro chemickou analýzu obsahu a složení tuku a dále 10 ks ryb za účelem provedení sensorické analýzy. Celkem tedy bylo odebráno 80 ks ryb z každé nádrže.

Odběr vzorků byl prováděn na místě provádění experimentu, ryby byly odloveny ze žlabu, byly u nich změřeny základní biometrické údaje a to zvážení a změření. Následně byly ryby usmrceny úderem tupým předmětem do temena hlavy a byly jim přeříznuty žaberní oblouky. Po usmrcení byly ryby vykuchány a byly jim odstraněny hlavy. Zbýlý trup ryby byl vyfiletován (Obr. 8). Jako hlavní vzorek se vždy používala pouze levá fileta. Z této filety byl oddělen menší vzorek, který se používal k chemické analýze. Fileta byla zabalena do hliníkové fólie, označena určeným popiskem (Obr. 9) a byla vložena do tekutého dusíku (-196°C), kde došlo k hlubokému zamrazení. Po dokončení vzorkování byly zamražené filety umístěny do hluboko-mrazících boxů, ve kterých se teplota pohybuje okolo -80°C . Teplota uchování vzorků je velmi důležitá, protože k oxidaci tuků dochází při teplotě do -40°C .



Obr. 8: Odebraný vzorek sivena amerického (*Salvelinus fontinalis*)

3.7 Chemická analýza

Pro chemickou analýzu bylo použito 6 ryb z každého žlabu při kontrolním odběru. Extrakce lipidů ze vzorků masa (Obr. 9) a krmiv byla provedena podle Hara a Radin (1978). Celkový obsah lipidů ve vzorcích byl stanoven gravimetricky. Z celkového lipidu byly připraveny metylestery mastných kyselin podle Appelqvista (1968). Kompozice mastných kyselin byla stanovena pomocí plynového chromatografu (Trace Ultra FID, Thermo Scientific). Jednotlivé vrcholy (peaky) byly určeny porovnáním se standardem GLC-68D a dalšími.



Obr. 9: Vzorek připravený k analýze

3.8 Statistické vyhodnocení

Všechny statistické analýzy byly prováděny s využitím programu Statistica 10.0 CZ. Prezentovaná data jsou průměr \pm směrodatná odchylka. Pro determinaci rozdílů mezi skupinami byla použita jednocestná analýza variance (ANOVA) a Tukeyův HSD test. Vyznačené rozdíly jsou považovány za signifikantní při $p < 0,05$.

3.9 Model předpovědi kompozice mastných kyselin

Data zjištěná analýzou kompozice mastných kyselin u skupin, kde byl prováděn „finishing feeding“ byla porovnávána s předpověďmi pomocí ředícího modelu (Jobling, 2004).

$$P_T = P_R + (P_I - P_R) / (Q_T / Q_I)$$

Příčemž:

P_T - předpověď % zastoupení mastné kyseliny v čase T

P_R - % obsah mastné kyseliny ve svalovině kontrolní ryby v čase T

P_I - počáteční % obsah mastné kyseliny před začátkem „finishing feeding“

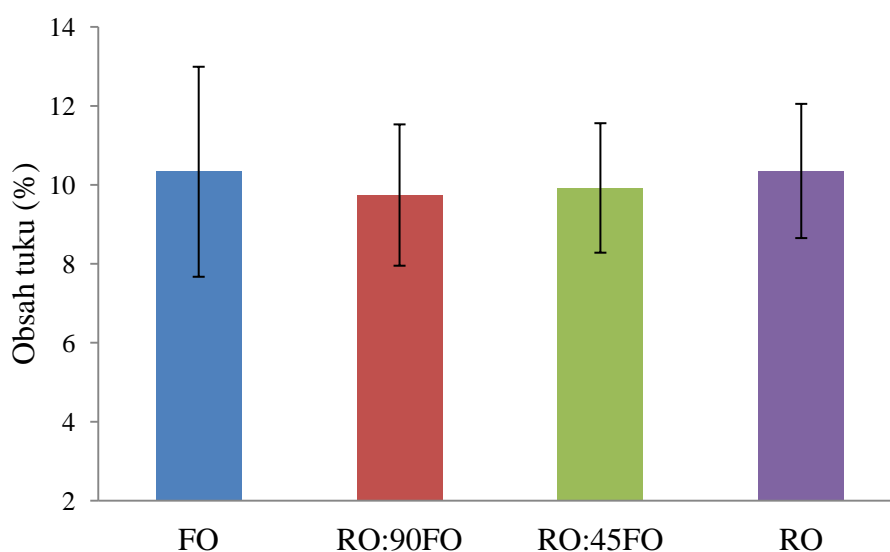
Q_T - součinitel hmotnosti a obsahu tuku testované ryby v čase T

Q_I - součinitel hmotnosti a obsahu tuku testované ryby před začátkem „finishing feeding“

4 Výsledky

4.1 Obsah tuku

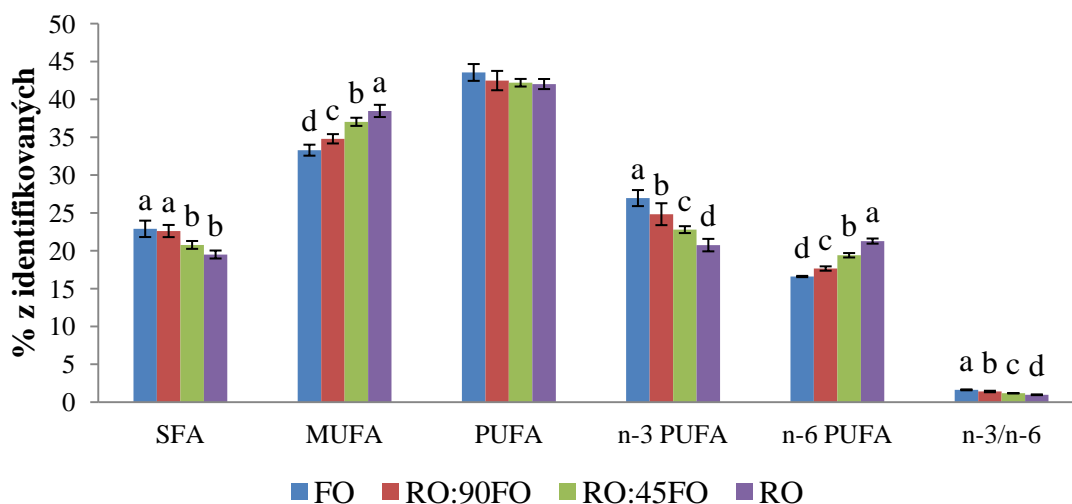
Obsah tuku ve filetu sivena amerického byl analyzován při každém kontrolním odběru. Při těchto kontrolních analýzách nebyl nalezen statistický rozdíl v obsahu tuku mezi jednotlivými skupinami. Nicméně pro potřeby tohoto experimentu je hlavní obsah tuku na konci, tedy po 135 dnech výkrmu. V analýze provedené na konci experimentu nebyl opět zjištěn žádný statistický rozdíl v obsahu tuku u jednotlivých skupin (graf 2).



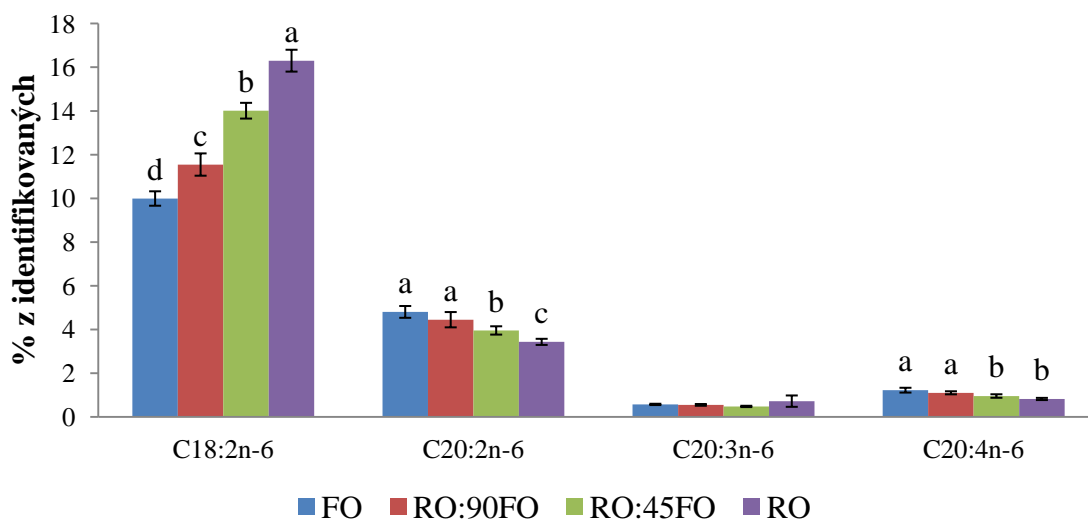
Graf 2: Obsah tuku v % ve filetu ryb na konci experimentu u FO (krmeno pouze krmivem, které obsahovalo 100 % rybího oleje), RO: 90 FO (90 dní krmeno krmivem obsahující pouze rybí olej a 45 dní krmeno obsahující 50 % řepkového oleje), RO: 45 FO (45 dní krmeno krmivem obsahující pouze rybí olej a 90 dní krmeno obsahující 50 % řepkového oleje) a RO (krmeno pouze krmivem obsahující 50 % řepkového oleje). Vynesé hodnoty jsou průměrem \pm směrodatná odchylka ($n=6$). Různá písmena vyjadřují signifikantní rozdíly ($p<0,05$).

4.2 Kompozice mastných kyselin

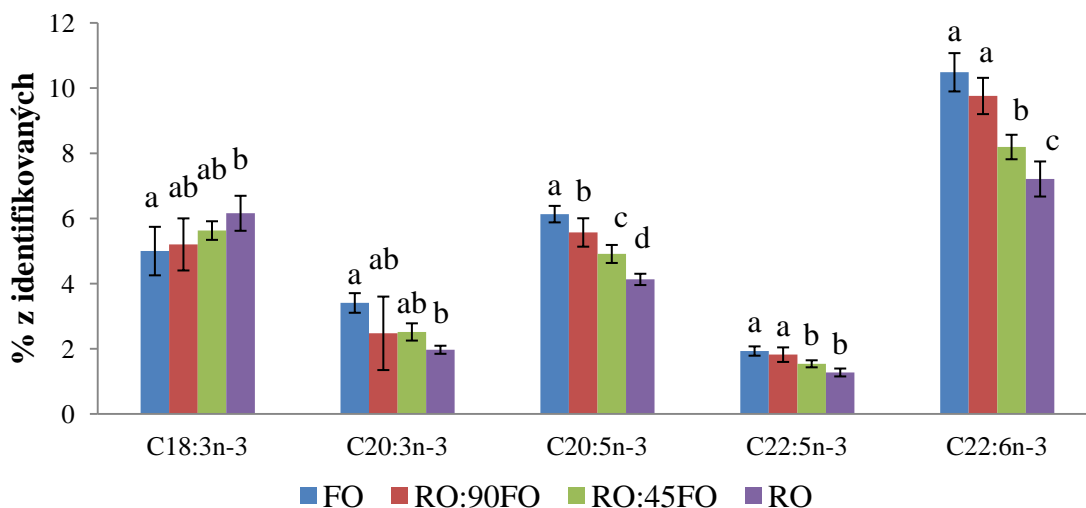
Složení skupin a jednotlivých mastných kyselin zcela odpovídá druhu krmné směsi, která byla předkládána rybám v experimentu. Kompozice mastných kyselin vyšla nejlépe u skupiny FO. Tato skupina vykazovala největší obsah n-3 PUFA, n-3 HUFA, také poměr n-3/n-6 byl nejvyšší, ale byly zde také statisticky nejmenší hodnoty MUFA a n-6 PUFA. Obsah SFA klesal s množstvím podávaného řepkového oleje v krmné směsi, statistický rozdíl byl ale pouze mezi dvojicí FO, RO: 90FO a dvojicí RO: 45FO, RO (graf 3). Statistické rozdíly byly nalezeny u skupin MUFA, n-3 PUFA, n-6 PUFA a také u poměru n-3/n-6. Tyto rozdíly byly zjištěny u všech krmných skupin ryb, tedy u skupin FO, RO: 90FO, RO: 45FO a RO. Obsah skupin mastných kyselin MUFA a n-6 PUFA se zvětšoval s množstvím podávaného řepkového oleje v krmné směsi, největší obsah byl tedy zjištěn u skupiny RO. Oproti tomu obsah n-3 PUFA a také poměr mezi n-3/n-6 klesal s množstvím podávaného řepkového oleje v krmné směsi a nejnižší hodnoty tedy vykazovala skupina FO (graf 3). Znázornění zastoupení jednotlivých mastných kyselin vyskytujících se ve vzorku ryb na konci experimentu je znázorněn v grafech 4 a 5.



Graf 3: Složení identifikovaných mastných kyselin ve vzorcích masa na konci experimentu v % u FO (krmeno pouze krmivem, které obsahovalo 100 % rybího oleje), RO: 90 FO (90 dní krmeno krmivem obsahující pouze rybí olej a 45 dní krmeno obsahující 50 % řepkového oleje), RO: 45 FO (45 dní krmeno krmivem obsahující pouze rybí olej a 90 dní krmeno obsahující 50 % řepkového oleje) a RO (krmeno pouze krmivem obsahující 50 % řepkového oleje). Vynesené hodnoty jsou průměrem \pm směrodatná odchylka (n=6). Různá písmena vyjadřují signifikantní rozdíly ($p < 0,05$).



Graf 4: Zastoupení n-6 mastných kyselin ve vzorcích masa na konci experimentu v % u FO (krmeno pouze krmivem, které obsahovalo 100 % rybího oleje), RO: 90 FO (90 dní krmeno krmivem obsahující pouze rybí olej a 45 dní krmeno obsahující 50 % řepkového oleje), RO: 45 FO (45 dní krmeno krmivem obsahující pouze rybí olej a 90 dní krmeno obsahující 50 % řepkového oleje) a RO (krmeno pouze krmivem obsahující 50 % řepkového oleje). Vynesé hodnoty jsou průměrem ± směrodatná odchylka (n=6). Různá písmena vyjadřují signifikantní rozdíly (p<0,05).



Graf 5: Zastoupení n-3 mastných kyselin ve vzorcích masa na konci experimentu v % u FO (krmeno pouze krmivem, které obsahovalo 100 % rybího oleje), RO: 90 FO (90 dní krmeno krmivem obsahující pouze rybí olej a 45 dní krmeno obsahující 50 % řepkového oleje), RO: 45 FO (45 dní krmeno krmivem obsahující pouze rybí olej a 90 dní krmeno obsahující 50 % řepkového oleje) a RO (krmeno pouze krmivem obsahující 50 % řepkového oleje). Vynesé hodnoty jsou průměrem ± směrodatná odchylka (n=6). Různá písmena vyjadřují signifikantní rozdíly (p<0,05).

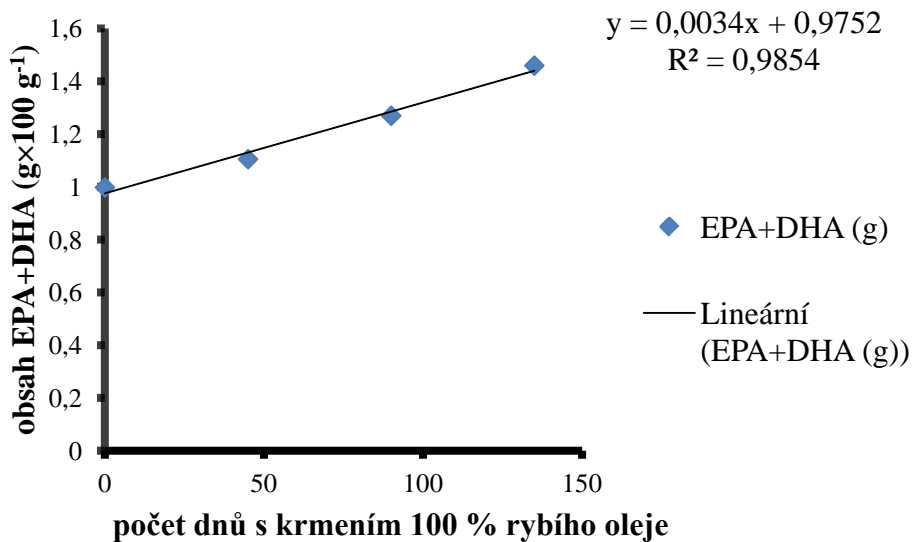
4.3 Absolutní množství EPA a DHA ve svalovině

Svalovina sivena z tohoto experimentu má obsah tuku a procentické zastoupení EPA+DHA viz Tabulka 5. Při znalosti těchto dvou vlastností lze s vysokou přesností kalkulovat absolutní obsah EPA+DHA ($\text{g} \times 100 \text{ g}^{-1}$) podle pravidla, že rybí tuk zpravidla obsahuje 85 % mastných kyselin, tedy 16,62 % EPA+DHA při 10,33 g tuku odpovídá $1,46 \text{ g} \times 100 \text{ g}^{-1}$ EPA+DHA (opět Tabulka 5).

Tab 5: Obsah tuku a EPA+DHA u testovaných skupin na konci experimentu u FO (krmeno pouze krmivem, které obsahovalo 100 % rybího oleje), RO: 90 FO (90 dní krmeno krmivem obsahující pouze rybí olej a 45 dní krmeno obsahující 50 % řepkového oleje), RO: 45 FO (45 dní krmeno krmivem obsahující pouze rybí olej a 90 dní krmeno obsahující 50 % řepkového oleje) a RO (krmeno pouze krmivem obsahující 50 % řepkového oleje). Hodnoty jsou průměrem ($n=6$).

	Tuk $\text{g} \times 100 \text{ g}^{-1}$	EPA + DHA %	EPA + DHA g
FO	10,33	16,62	1,46
RO: 90 FO	9,74	15,33	1,27
RO: 45 FO	9,92	13,10	1,10
RO	10,35	11,34	1,00

Na základě laboratorních analýz byly tedy zjištěny hodnoty zastoupení EPA+DHA ve svalovině sivena. Tyto hodnoty se lineárně zvyšují s dobou, po kterou je k výkrmu použito krmivo se 100 % rybího oleje (viz graf 6) a jsou pravidlem i pro obsah dalších mastných kyselin obsažených výhradně v rybím oleji (např. n-3 HUFA).



Graf 6: Hodnoty obsahu EPA+DHA ($\text{g} \times 100 \text{ g}^{-1}$) ve filetu sivena amerického v závislosti na délce období (dny), kdy byly ryby krmeny dietou se 100 % rybího oleje. Hodnoty jsou průměrem jednotlivých skupin na konci experimentu ($n=6$). Regresní přímka znázorňuje linii trendu v obsahu EPA+DHA v g.

S použitím jednoduché lineární regrese můžeme vypočítat kolik dní je potřeba krmit krmivo s rybím olejem k dosažení požadovaných hodnot EPA+DHA. V případě, že je požadovaný obsah EPA+DHA např. $1,2 \text{ g} \times 100 \text{ g}^{-1}$ svaloviny, dosadíme tuto hodnotu za y do jednoduché regresní rovnice (viz Graf 6):

$$y = 0,0034x + 0,9752$$

$$1,2 = 0,0034x + 0,9752$$

$$\underline{x = 66 \text{ dní}}$$

V tomto konkrétním případě tedy bude dosaženo hodnoty $1,2 \text{ g}$ EPA+DHA ve 100 g svaloviny sivena za 66 dní krmění dietou se 100 % rybího oleje (použití metody „finishing feeding“)

4.4 Předpověď kompozice mastných kyselin

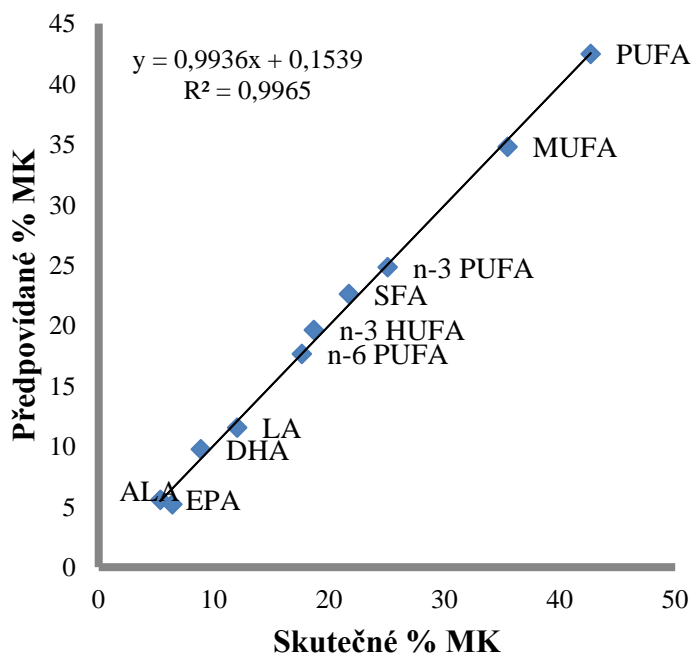
Jedinci sivena amerického byli nejprve krmeni krmnou směsí, ve které byl z 50 % nahrazen rybí olej olejem řepkovým. Po 45 dnech se přešlo na výkrm krmnou směsí, která obsahovala 100 % rybího oleje. V době této změny vážili jedinci sivena amerického v průměru 259 gramů a obsah tuku ve filetu vzorkované ryby byl 7,75 % a obsah n-3 PUFA 21,99 %. Novou krmnou směsí byly ryby vykrmovány až do tržní velikosti, která v tomto případě byla v průměru 537 gramů a obsah tuku ve filetu byl 9,74 %. Obsah tuku u jedinců chovaných v kontrolní skupině, která byla vykrmována krmnou směsí obsahující 100 % rybího oleje, činil 10,49 % a z toho bylo 26,96 % n-3 PUFA.

$$P_T = P_R + (P_I - P_R) / (Q_T / Q_I)$$

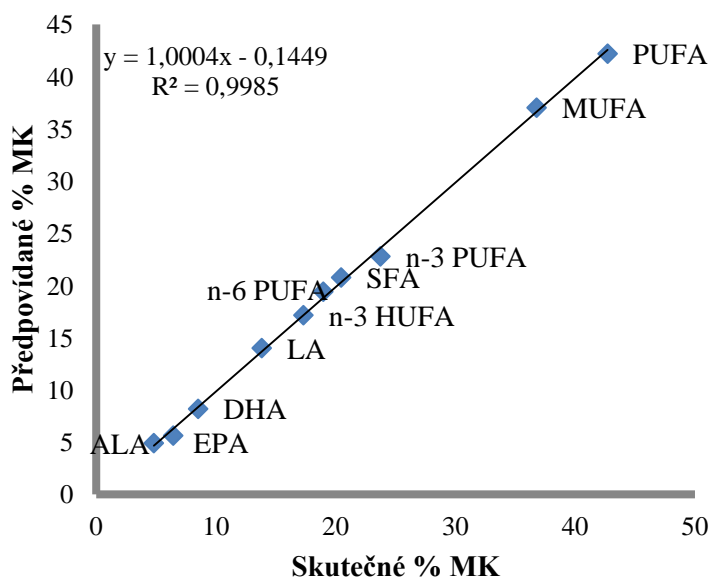
$$P_T = 10,49 + (21,99 - 26,29) / (5238 / 2004)$$

$$P_T = \underline{25,06 \% \text{ n-3 PUFA}}$$

Z výsledků ředícího modelu vyplývá, že předpokládaný obsah n-3 PUFA na konci výkrmu s použitím „finishing feeding“ by měl být 25,06 %. Skutečnost zjištěná chemickou analýzou v laboratorních podmínkách byla 24,83 %. Po vypočtení všech identifikovaných mastných kyselin (SFA, MUFA, n-3 PUFA, n-6 PUFA, EPA, DHA, ALA, LA, n-3 HUFA) jsou hodnoty vyneseny do grafu a z výsledku regresní rovnice a koeficientu spolehlivosti R^2 (Graf 7 a 8) je zjištěno, že v našem případě, model předpovědi pracuje s vysokou spolehlivostí díky hodnotám pohybujícím se kolem jedné.



Graf 7: Graf předpovědi ředícího modelu v % mastných kyselin ve filetu vzorkovných ryb na konci výkrmu u skupiny RO: 90 FO (90 dní krmeno krmivem obsahující pouze rybí olej a 45 dní krmeno obsahující 50 % řepkového oleje). Vynesé hodnoty jsou průměrem (n=6). Regresní přímka znázorňuje linii předpovědi.



Graf 8: Graf předpovědi ředícího modelu v % mastných kyselin ve filetu vzorkovných ryb na konci výkrmu u skupiny RO: 45 FO (45 dní krmeno krmivem obsahující pouze rybí olej a 90 dní krmeno obsahující 50 % řepkového oleje). Vynesé hodnoty jsou průměrem (n=6). Regresní přímka znázorňuje linii předpovědi.

5 Diskuze

Obsah tuku v těle ryb je silně ovlivňován složením a množstvím podávané krmné směsi. U vzorkovaných ryb nebyl zaznamenán vliv řepkového oleje na obsah tuku ve svalovině. Objevil se ale rozdíl, který nebyl statisticky prokázán, u skupiny RO: 90 FO a RO: 45 FO v obsahu tuku. Důvodem by mohl být přechod a adaptace ryb na jinou krmnou směs. Proto lze doporučit přechod na novou krmnou směs co nejpozději.

Podobně jako u Joblinga a kol. (2008), Bella a kol. (2004), Torstensena a kol. (2003), Browna a kol. (2010) skupina krmená po celou dobu krmnou směsí obsahující rybí olej vyšla vzhledem ke kompozici mastných kyselin nejlépe. Tento výsledek se dal předpokládat, proto tato skupina sloužila jako kontrola.

Kompozice jednotlivých skupin mastných kyselin je ovlivněna množstvím a dobou podávání řepkového oleje v krmné směsi a délce „finishing feeding“. Vliv řepkového oleje se podařil prokázat na n-6 PUFA a MUFA obdobně jako u Mráze a kol. (2012).

Řepkový olej ale negativně ovlivnil obsah n-3 PUFA ve svalovině ryb. Obsah n-3 PUFA klesal s množstvím podávaného řepkového oleje. U skupiny FO byl naměřen 26,96 % a u RO pouze 20,75 % z celkového tuku. Jobling (2008) prokázal tuto závislost také u tresky obecné.

Obsah SFA v našem experimentu se statisticky nelišil mezi dvojicemi FO (22,9 %), RO: 90 FO (22,61 %) a RO: 45 FO (20,77 %), RO (19,5 %). Tento výsledek byl ovšem rozdílný od zjištění, které udává Robin a kol. (2003), kdy obsah SFA lineárně stoupal s množstvím řepkového oleje v krmivu. Toto rozdílné zjištění je zřejmě způsobeno tím, že Robin a kol. (2003) prováděli delší fáze výkrmu, kde byl rybí olej nahrazen řepkovým a následnou delší fází „finishing feeding“.

Zastoupení jednotlivých mastných kyselin bylo zásadně ovlivněno množstvím řepkového oleje v krmivu. Byly nalezeny signifikantní rozdíly v obsahu kyseliny linolové (LA, 18:2n-6) ve všech testovaných vzorcích. Největší zastoupení této kyseliny bylo u skupiny RO, ve které bylo naměřeno 16,3 %. Na rozdíl od toho byl obsah u FO pouze 9,99 %. Jobling a kol. (2008) prokázali stejnou závislost řepkového oleje na obsahu linolové kyseliny i u tresky obecné.

Obsah kyseliny eikosapentaenová (EPA, 22:5n-3) klesal v závislosti na množství řepkového oleje. Největší obsah vykazovala skupina FO (6,13 %) a nejnižší byl u RO (4,13 %). Všechny skupiny vykazovaly signifikantní rozdíly v zastoupení této kyseliny. Stejných výsledků dosáhli i Bell a kol. (2004) a Mráz a kol. (2012). Pro navrácení této kyseliny do stejných hodnot je zapotřebí delší „finishing feeding“ pomocí krmné směsi, ve které není nahrazen rybí olej.

Zajímavý výsledek vyšel u kyseliny dokosahexaenové (DHA, 22:6n-3). Statisticky se nelišil obsah této kyseliny mezi FO (10,49 %) a RO: 90 FO (9,76 %). Dá se tedy říci, že když je siven americký krmen krmnou směsí, ve které je nahrazen rybí olej olejem řepkovým po dobu 45 dnů, pak postačí pro navrácení do původních hodnot 90 dní výkrmu pomocí technologie „finishing feeding“.

Výsledný poměr n-3/n-6 klesá s množstvím řepkového oleje v krmné směsi. Důvod této změny v průběhu výkrmu má za následek řepkový olej, který obsahuje nižší obsah n-3 a vyšší obsah n-6 mastných kyselin. Při delší době „finishing feeding“ by tento poměr stoupal.

Řepkový olej, jak už bylo zmíněno, ovlivňuje složení a obsah jednotlivých mastných kyselin. Ovšem jako částečná náhrada za rybí olej se vyplácí použít řepkový olej po dobu 45 dnů a následně 90 dnů používat krmnou směs bez náhrady, tedy „finishing feeding“ (v našem experimentu skupina RO: 90 FO). Tato skupina se totiž nelišila od kontroly u 5 z 9 sledovaných mastných kyselin.

Jobling (2004) uvádí model předpovědi kompozice mastných kyselin používaný pro metodu „finishing feeding“. Byly vypočteny předpokládané hodnoty kompozice mastných kyselin a společně s hodnotami přesně naměřenými chemickou analýzou byly vyneseny do grafu. Jeho výsledky můžeme považovat za velice spolehlivé, protože se výpočet shodoval s přesně naměřenými hodnotami pomocí chemické analýzy v našem experimentu. Tento model pracoval s koeficientem spolehlivosti R^2 0,9965 u RO: 90 FO a 0,9985 u RO: 45 FO. Tuto vysokou spolehlivost a přesnost prokázali i Bell a kol. (2004), Jobling (2004), Jobling a kol. (2008).

Pro chovatele je zajímavý následující pohled na využití dosažených výsledků v praxi, tedy jak dlouhé období je třeba k dosažení požadované hladiny určitých mastných kyselin ve filetu chovaného sivena, jestliže v předcházejícím období je použito krmivo s podílem řepkového oleje, a tudíž je obsah EPA+DHA v tuku ryb snížen. Odpověď je popsána v doporučení

Doporučení:

Chovatel používá ve výkrmu dietu, kde je 50 % rybího oleje nahrazeno řepkovým a má požadavek docílit konkrétního obsahu EPA+DHA ve svalovině chovaného sivena. Tento obsah chce následně deklarovat zákazníkovi. Tento požadovaný obsah je $1,2 \text{ g EPA+DHA} \times 100 \text{ g}^{-1}$ svaloviny. Počet dní pro použití technologie „finishing feeding“ je v tomto konkrétním případě 66. To znamená, že chovatel musí pro dosažení požadovaného obsahu EPA+DHA aplikovat „finishing feeding“ po dobu 66 dní.

6 Závěr

Nahrazení rybího oleje olejem rostlinným a následné využití technologie „finishing feeding“ lze provádět v podmínkách České republiky na sivenovi americkém. Podařilo se prokázat, že částečné nahrazení rybího oleje řepkovým nezpůsobuje signifikantní rozdíly v obsahu tuku.

Kompozice mastných kyselin se může účinně měnit v závislosti na množství a složení krmiva, resp. na obsahu rostlinného oleje v krmivu.

Řepkový olej obsažený v krmivu snižuje obsah n-3 HUFA, především kyselinu dokosaheptaenovou (DHA, 22:6n-3) a eikosapentaenovou (EPA, 20:5n-3). Tento obsah je ale snížen pouze ve fázi výkrmu, kdy nahrazujeme rybí olej olejem řepkovým. Po přechodu na krmivo obsahující pouze rybí olej, tedy přechod na technologii „finishing feeding“, dojde opět ke zvýšení hodnot těchto dvou kyselin. Proto je důležité volit přesný poměr dní, kdy bude výkrm probíhat pomocí krmiva, ve kterém bude částečně nahrazen rybí olej, a délce „finishing feeding“. Z výsledků tohoto experimentu můžeme usoudit, že tyto dvě mastné kyseliny nevykazují v obsahu signifikantní rozdíly při použití řepkového oleje po dobu 45 dní a následně využít technologii „finishing feeding“ po dobu 90 dní oproti skupině ryb krmných pouze krmnou směsí obsahující rybí olej.

Pro docílení vyžadovaného obsahu EPA+DHA 1,2 g ve 100g svaloviny je potřeba 66 dní výkrmu pomocí technologie „finishing feeding“.

Podařilo se prokázat vysokou spolehlivost matematické předpovědi kompozice mastných kyselin pomocí ředícího modelu při využívání technologie „finishing feeding“. Tento matematický model funguje s vysokou spolehlivostí a lze ho využít pro výpočet kompozice mastných kyselin při změně složení krmiva.

Využití řepkového oleje pro nahrazení rybího oleje v krmivu a následné technologie „finishing feeding“ je vhodnou alternativou pro chovatele ke snížení nároků na rybí olej a zároveň docílení ekonomické úspory. V tomto experimentu došlo ke snížení nákladů o 1,1 Kč \times kg⁻¹ krmné směsi.

7 Přehled použité literatury

- Bell, J., Henderson, R.J., Tocher, D.R., Sagent, J.R., 2004. Replacement of dietary fish oil with increasing of linseed oil: Modification of flesh fatty acid compositions in atlantic salmon (*Salmo salar*) using a fish oil finishing diet. *Lipids*. 39, 223-232.
- Brown, D.T., Francis, D.S., Turchini, G.M., 2010. Can dietary lipid source circadian alternation improve omega-3 deposition in rainbow trout?. *Aquaculture*. 300, 148-155.
- Burke, P.A., Ling, P.R., Forse, R.A., Bistran, B.R., 1999. Conditionally fatty acid deficiencies in end-stage liver disease. *Nutrition*. 15, 302-304.
- EFSA, 2009. Scientific opinion - Labelling reference intake values for n-3 and n-6 polyunsaturated fatty acids. *EFSA Journal*. 1176, 1-11.
- EFSA, 2010. Panel on Dietetic products, Nutrition and Allergies (NDA). Scientific Opinion on Dietary Reference Values for fats, including saturated fatty acids, polyunsaturated fatty acids, monounsaturated fatty acids, *trans* fatty acids, and cholesterol. *EFSA Journal* 8 (3): 1461.
- FAO, 2011a. Global Aquaculture Production,. [online, cit. 1.4.2013]. Dostupné z: www.FAO.org.
- FAO, 2011b. Fish and fishery products – apartment consumption. 7.
- Hara, R., Radin, N.S., 1978. Lipid extraction with a low-toxicity solvent. *Analytical biochemistry*. 90, 420-426.
- IFFO. Marine Resources a Sustainability, 2006. In: Is aquaculture growth putting pressure on feed fish stocks? And is the growth of aquaculture being restricted by finite supplies of fishmeal and fish? [online, cit. 1.4.2013]. Dostupné z: www.IFFO.net.
- IFFO. Marine Resources a Sustainability, 2006. In: What are Fishmeal a Fish Oil? [online, cit. 1.4.2013]. Dostupné z: www.IFFO.net.
- Izquierdo, M.S., Montero, D., Robaina, L., Caballero, M.J., Rosenlund, G., Ginés, R., 2005. Alternations in fillet fatty acid profile and flesh quality in githead seabream (*Sparus aurata*) fed vegetace oils for along term period. Recovery of fatty acid profiles by fis oil feeding. *Aquaculture*. 250, 431-444.
- Jobling, M., 2004. 'Finishing' feeds for carnivorous fish and the fatty acid dilution model. *Aquaculture Research*. 35, 706-709.
- Jobling, M., Leknes, O., Sæther, B., Bendiksen, A., 2008. Lipid and fatty acid dynamics in Atlantic cod, *Gadus morhua*, tissues: Influence of dietary lipid concentrations and feed oil sources. *Aquaculture*. 281, 87-94.
- Kalač, P., Špička, J., 2006. Složení lipidů sladkovodních ryb jejich význam v lidské výživě. *České Budějovice, Jihočeská univerzita, Zemědělská fakulta*, s. 57.

- Mráz, J., Zajíc, T., Picková, J., 2012. Culture of common carp (*Cyprinus carpio*) with defined flesh quality for prevention of cardiovascular diseases using finishing feeding strategy. *Neuroendocrinology Letters*. 33, 101-108.
- MZeČR, 2011. Situační a výhledová zpráva RYBY. Ministerstvo zemědělství ČR, 45.
- Pickova, J., Morkore, T., 2007. Alternative oils in Leeds. *European Journal of lipid Science and Technology*. 109, 256-263.
- Robin, J.H., Regost, C., Arzel, J., Kaushik, S.J., 2003. Fatty acid profile of fish following a change in dietary fatty acid source: model of fatty acid composition with a dilution hypothesis. *Aquaculture*. 225, 283-293.
- Sargent, J.R., Tacon, A.G.J., 1999. Development of farmed fish: a nutritionally necessary alternative to meat. *Proceedings of the nutrition society* 58, 377-383.
- Simopoulos, A.P., 2008. The omega-6/omega-3 fatty acid ratio, genetic variation, and cardiovascular disease. *Asia Pacific Journal of Clinical Nutrition*. 17, 131-134.
- Steffens, W., 1997. Effects of variation in essential fatty acids in fish feeds on nutritive value of freshwater fish for humus. *Aquaculture*. 151, 97-119.
- Tacon, A.G.J., Metian, M., 2008. Global overview on the use of fish meal and fish oil in industrially compounded aquafeeds: Trends and future prospects. *Aquaculture*. 285, 146-158.
- Tocher, D.R., 2003. Metabolism and Functions of Lipids and Fatty Acids in Teleost Fish. *Reviews in Fisheries Science*. 11, 107-184.
- Torstensen, B.E., Frøyland, L., Lie, Ø., 2004. Replacing dietary fish oil increasing levels of rapeseed oil and olive oil – effects on Atlantic salmon (*Salmo salar L.*) tissue and lipoprotein lipid composition and lipogenic enzyme activities. *Aquaculture nutrition*. 10, 175-192.
- Turchini, M.G., Torstensen, B.E., Wim-Keong Ng, 2009. Fish oil replacement in finfish nutrition. *Reviews in Aquaculture*. 1, 10-5.
- Vácha, F., 2000. Zpracování ryb. České Budějovice, Jihočeská univerzita, Zemědělská fakulta, s. 103.
- Velíšek, J., 2002. *Chemie potravin 1*. Osis, s. 344.
- WHO, 2013. Availability and consumption of fish. In: *Global and regional food consumption patterns and trends*. [online, cit. 20.4.2013]. Dostupné z: www.who.int.
- Zajíc, T., Mráz, J., Kozák, P., Picková, J., 2011. Možnosti produkce sladkovodních ryb vysokým obsahem omega-3 mastných kyselin. *Edice metodik, VÚRH Vodňany*, s. 34.

8 Abstrakt

Cílem mé bakalářské práce bylo ověřit vliv nahrazení rybího oleje řepkovým na obsah tuku ve svalovině a kompozici mastných kyselin u sivena amerického (*Salvelinus fontinalis*) s využitím technologie „finishing feeding“. Experiment probíhal v roce 2012 po dobu 135 dní a jedinci sivena amerického byli rozděleni do 4 skupin. Dvě skupiny byly krmeny celou dobu krmivem obsahujícím pouze řepkový olej nebo rybí olej. Zbýlé dvě skupiny měly výkrm rozdělen do dvou fází. V každé fázi byly ryby krmeny jinou dietou. V první fázi se prováděl výkrm, kde byl částečně nahrazen rybí olej olejem řepkovým a ve druhé už krmivem, které tuto náhradu neobsahovalo („finishing feeding“).

50% nahrazení rybího oleje olejem řepkovým neměla vliv na obsah tuku ve svalovině sivena amerického. Obsah MUFA a n-6 PUFA stoupal s množstvím podávaného řepkového oleje, ale zároveň klesal obsah n-3 PUFA, EPA, DHA a poměr n-3/n-6. Následná aplikace technologie „finishing feeding“ s použitím krmiva s rybím olejem měla vliv opačný. Dále se podařilo prokázat vysokou spolehlivost předpovědi kompozice mastných kyselin pomocí ředícího modelu. Na základě těchto zjištění lze s vysokou pravděpodobností předpovědět jednak změny kompozice mastných kyselin ve svalovině sivena, ale také vypočítat jak dlouhou dobu je nutno aplikovat „finishing feeding“ pro dosažení požadovaných hodnot EPA+DHA, popř. n-3 HUFA.

Klíčová slova: DHA, EPA, finishing feeding, kompozice, mastná kyselina, MUFA, n-3/n-6, n-3 PUFA, n-6 PUFA, rybí olej, řepkový olej, siven americký

9 Abstract

The aim of my bachelor thesis was to evaluate the effect of fish oil substitution for rapeseed oil in the feed on the fat content and fatty acid composition in the flesh of Brook trout (*Salvelinus fontinalis*) in the finishing feeding technology. The experiment was conducted in 2012 for the period of 135 days. The individuals of Brook trout were divided into four groups. The first two groups were fed with the feed containing only rapeseed or fish oil. The feeding of the remaining two groups was divided into two phases. In the first phase the fish oil was partly replaced by the rapeseed oil. In the second phase the fish oil was replaced by the feed which contained fish oil only.

It was proved that a half replacement of the fish oil with the rapeseed oil does not influence the content of fat in the flesh of Brook trout. We observed that the fish had the higher content of MUFA and n-6 PUFA and lower content of n-3 PUFA, DHA, EPA and n-3/n-6 with increasing period where the feed with rapeseed oil was served. Following application of the finishing feeding technology with the use of feed with fish oil had the opposite effects. Furthermore, the dilution model was proved to be highly reliable for the prediction of the fatty acids composition. Based on these findings, it is possible to predict changes of fatty acid composition in the flesh of Brook trout as well as to predict how long is needed to apply finishing feeding to reach required content of EPA+DHA or n-3 HUFA.

Key words: DHA, EPA, finishing feeding, composition, fatty acid, MUFA, n-3/n-6, n-3 PUFA, n-6 PUFA, fish oil, rapeseed oil, brook trout