

Uticaj masnih kiselina u hrani na sastav masnih kiselina i količinu holesterola kod kalifornijske pastrmke (*Oncorhynchus mykiss*)*

Spirić Aurelija¹, Trbović Dejana¹, Vranić Danijela¹, Đinović Jasna¹, Petronijević Radivoj¹, Milijašević Milan¹, Janković Saša¹, Radičević Tatjana¹

S a d r ž a j: Nekomolirana i dugotrajna eksploatacija morskih resursa, kao i saznanja o povoljnom uticaju n-3 polinezasićenih masnih kiselina (PNMK) na zdravlje čoveka, doprinela su, u poslednje vreme, povećanoj potražnji ribe iz akvakulture, što nameće i određene zahteve u pogledu njenog kvaliteta i nutritivnog sastava, odnosno sadržaja n-3 PNMK.

Imajući to u vidu, cilj ovog rada bio je da se ispituju osnovni hemijski sastav, sadržaj holesterola i masnokiselinskog sastava kalifornijske pastrmke (*Oncorhynchus mykiss*) u fazi uzgoja, u zimskom periodu (decembar 2008. i mart 2009. godine), kao i osnovni hemijski i masnokiselinski sastav hrane. Za utvrđivanje korelacionih odnosa dobijenih rezultata za ribu i hranu, korišćene su savremene metode statističke obrade podataka. Uzorci su sakupljeni u punosistemnom odgajalištu kalifornijske pastrmke sa nezavisnim snabdevanjem vode koji je situiran u brdsko-planinskom delu centralne Srbije.

Korelacionom analizom sastava masnih kiselina u uzorcima hrane i pastrmke, dobijene su vrednosti Pearsonovog korelacionog koeficijenta za merenja koja se odnose na mart i decembar; redom: $r = 0,9422$ i $r = 0,9584$. Vrednosti koje odgovaraju vrednostima parametra t iznose 11,933 i 14,253 ($t_{crit} = 2,10$), koje ukazuju na statističku značajnost oba korelaciona koeficijenta na nivou signifikantnosti $p = 0,05$. Dobijeni rezultati ukazuju da postoji statistički značajna korelacija između masnokiselinskog sastava hrane i masnokiselinskog sastava ispitanih uzoraka ribe, iako statistički podaci za hranu (uporedni t -test) pokazuju da ne postoji statistički značajna razlika u sastavu hrane.

Analizom glavne komponente (PCA, Principal Component Analysis) dobijene su dve grupe rezultata za masnokiselinski sastav fileta pastrmke, prema vremenu ispitivanja (decembar i mart). Urađen je Hottelingov T^2 test za poređenje dve populacije multivarijantnih objekata, da bi se objektivno potvrdilo postojanje razlike između ove dve grupe rezultata. Dobijena vrednost parametra T^2 je 331,6, dok kritična vrednost za nivo značajnosti od $p = 0,05$ iznosi 15,3, što jasno ukazuje na statistički značajnu razliku između dve grupe uzoraka.

Na osnovu dobijenih rezultata za masnokiselinski sastav ispitanih uzoraka izračunat je sadržaj n-3 i n-6 PNMK kao i odnos n-3/n-6. Odnos n-3/n-6 masnih kiselina u uzorcima hrane u decembarskom periodu bio je 0,87, a u martu 1,58. Kod fileta pastrmke n-3/n-6 odnos je bio 1,13 u decembru, odnosno 2,41 u martu. Sadržaj holesterola u filetima pretkonzumne pastrmke, uzorkovanim u decembru i martu, bio je 43,84 mg/100 g i 46,02 mg/100 g respektivno.

Ključne reči: kalifornijska pastrmka, hrana, ukupna mast, holesterol, masne kiseline.

Uvod

Promene navika populacije u konzumiranju ribe, kao i sve veća potrošnja ribe iz akvakulture, nameću dilemu koja se odnosi na kvalitet i kvantitet dugolančanih polinezasićenih masnih kiselina (PNMK) u ribi iz akvakulture, a koje su od interesa za javno zdravlje. Sve je više studija u literaturi koje se sprovode radi ispitivanja masnokiselinskog sastava ribe iz akvakulture sa namerom da se ukaže na njen nutritivni značaj, u odnosu na iste vrste riba iz slobodnog izlova (Weaver i dr., 2008). Kon-

statovano je da, od 30 vrsta riba iz akvakulture i slobodnog izlova, najveće količine n-3 PNMK sadrže gajeni losos i gajena pastrmka (više od 4 g/100 g). Najveće varijacije u sadržaju n-3 masnih kiselina ustanovljene su kod pastrmke kao posledica različitih načina uzgoja i ishrane ribe, u različitim akvakulturnim uslovima.

Povoljan uticaj n-3 PNMK iz mesa ribe na zdravlje čoveka dokazan je u mnogim studijama (Von Shacky, 2001; Mozaffarian i dr., 2004), kojima se potvrđuje povezanost potrošnje ribe sa njenim uticajem na sprečavanje nastanka koronarnih obo-

* **Napomena:** predstavljeni rezultati su proistekli iz rada na realizaciji Projekta „Monitoring vodenih ekosistema u cilju dobijanja higijenski ispravnih i kvalitetnih akvakulturnih ptoizvoda, konkurentnih na tržištu EU“, ev. br. 20122, koji, u okviru Programa istraživanja u oblasti tehnološkog razvoja, finansira Ministarstvo za nauku i tehnološki razvoj Republike Srbije.

¹ Institut za higijenu i tehnologiju mesa, Kačanskog 13, 11 000 Beograd, Republika Srbija.

Autor za kontakt: Spirić Aurelija, aurelija@inmesbgd.com

ljenja, posebno infarkta miokarda, arterioskleroze, hipertenzije i drugih oboljenja kardiovaskularnog sistema. Neki podaci iz literature ukazuju da povećano unošenje ribe (20 g/dan) smanjuje rizik od nastanka kardiovaskularnih bolesti sa fatalnim ishodom za 7 procenata (He i dr., 2004). Stav američkog udruženja za srce (American Heart Association) je da bi zdrava populacija trebalo da jede ribu najmanje dva puta nedeljno, a populacija koja pati od kardiovaskularnih bolesti dnevno bi trebalo da unese u organizam, ukupno, 1 g EPA (eicosapentaenoic acid, pentaen-eikozonska kiselina, C20:5 n-3) i DHA (docosahexaenoic acid, heksaen-dokozonska kiselina, C22:6 n-3), (Lichtenstein i dr., 2006). Mehanizam koji je odgovoran za povoljan uticaj n-3 PNMK na organizam čoveka je višestruk i njegovo sagledavanje prevazilazi okvire ovog rada. Osim sprečavanja koronarnih oboljenja (Yaqoob, 2004; Mozaffarian i dr., 2005) i smanjenja pojave hipertenzije (Calder, 2001), povoljan uticaj n-3 PNMK ogleda se i u prevenciji inflamatornih (Moreno i Mitjavila, 2003), autoimunih (Zamaria, 2004) i malignih oboljenja (Terry i dr., 2004), dijabetesa (Nettleton i Katz, 2005) i drugo.

Nekontrolisana i dugotrajna eksploatacija morskih resursa kao i saznanja o povoljnom uticaju n-3 PNMK iz mesa ribe na zdravlje čoveka, doprinela su, u poslednje vreme, značajnim ulaganjima u akvakulturu i njenoj ekspanziji u mnogim zemljama sveta. Sve veća potrošnja ribe iz akvakulture nameće i određene zahteve u pogledu njenog nutritivnog sastava, odnosno sadržaja polinezasićenih masnih kiselina. Istraživanja Cahu i dr., 2004. ukazuju da se slatkovodna riba ne sme da zanemaruje kao nosilac n-3 PNMK, zbog činjenice da ta vrsta ribe poseduje veću sposobnost desaturacije kraćih masnih kiselina i njihove transformacije u duže, EPA i DHA, u odnosu na morsku ribu. Na taj način se hrana manje nutritivne vrednosti pretvara u hranu koja ima veći značaj u ishrani čoveka. Poznata je činjenica da slatkovodna riba iz slobodnog izlova, u odnosu na gajenu ribu iste vrste, sadrži manje masti i veće količine EPA i DHA, kada se ove vrednosti izražavaju kao procentualni udeo ukupnih masnih kiselina. Međutim, treba da se ima u vidu činjenica da riba iz akvakulture sadrži veći procenat ukupne masti i da je, kada se vrednosti za PNMK izražavaju na 100 g ribe, unos EPA i DHA u organizam čoveka veći kada se konzumira gajena riba.

Rezultati koje su dobili Cahu i dr., 2004. ukazuju da riba iz akvakulture, iako ima veći sadržaj masti, ima isti sadržaj holesterola (izražen kao g/100 g) kao i ista vrsta ribe iz slobodnog izlova. Međutim, drugi izvori iz literature (Moreira i dr., 2001) ukazuju da se sadržaj holesterola u slatkovodnoj ribi iz slo-

bodnog izlova i akvakulture razlikuje i da zavisi od vrste ribe. Kod nekih vrsta riba nema značajnijih razlika, a kod drugih se sadržaj holesterola razlikuje i za 10 mg/100 g. Mathew i dr., 1999. i Luzia i dr., 2003. konstatuju da je za ljudsko zdravlje pogodnija ishrana rečnom ribom, nego morskom i da je sadržaj holesterola u rečnoj ribi niži u odnosu na morsku ribu. S obzirom na klinička i epidemološka ispitivanja koja ukazuju na vezu između holesterola unetog hranom, holesterola u plazmi i arterioskleroze (Orban i dr., 2006) relativno nizak sadržaj holesterola, pored PNMK, čini pastrmku pogodnom za ishranu.

Neosporna je činjenica, što mnogobrojni podaci u literaturi i ukazuju, da ishrana ribe ima veliki uticaj na hemijski sastav, posebno na masnokiselinski sastav mesa ribe, ali na masnokiselinski sastav ribe utiču i mnogobrojni drugi činioci. Sadržaj lipida i sastav masnih kiselina kod ribe variraju unutar i između vrsta (Haliloglu i dr., 2002; Celik i Ali Gökçe, 2003), a mnogobrojni činioci, kao što su temperatura, kvalitet vode, vrsta i dostupnost hrane, sezona, uzrast i individualne razlike smatraju se značajnim činiocima koji doprinose ovim varijacijama (Grigorakis i dr., 2002; Skalli i Robin, 2004; Skalli i dr., 2006; Valente i dr., 2007; Robin i Skalli, 2007). Mnoga istraživanja ukazuju da masnokiselinski sastav hrane utiče na sastav masnih kiselina u mesu ribe (Caballero i dr., 2002; Tocher i dr., 2004; Valente i dr., 2007). Hrana bogatija n-3 masnim kiselinama, pri istim uslovima uzgoja, značajno utiče na povećanje odnosa n-3/n-6 PNMK u tkivima ribe (Bell i dr., 2001; Grisdale-Helland i dr., 2002; Person-Le Ruyet i dr., 2004; Skalli i dr., 2006). Unutar iste vrste masnokiselinski sastav jedinki može da varira u zavisnosti od pola, stanja ekosistema, uslova sredine i drugih činilaca. Rezultati nekih istraživanja ukazuju da temperatura vode značajno utiče na masnokiselinski sastav mesa kalifornijske pastrmke, ali i na masnokiselinski sastav mesa drugih vrsta riba iz akvakulture, a najznačajniji uticaj temperature se ogleda u desaturaciji masnih kiselina i njihovoj beta-oksidaciji, tako da sa smanjenjem temperature raste udeo nezasićenih masnih kiselina (Cordier i dr., 2002; Tocher i dr., 2004).

Akvakultura, kao privredna grana u Srbiji, nije dovoljno razvijena i obuhvata, najvećim delom, gajenje ribe (više od 95 posto) u šaranskim i pastrmskim ribnjacima. Pastrmka je, posle šarana, riba koja je najviše zastupljena u ishrani stanovništva, a proizvodnja ove ribe u akvakulturi postaje sve intenzivnija. Proizvodnja pastrmke čini oko 15 posto od ukupne proizvodnje ribe i odvija se u ribnjacima sa hladnom vodom, u brdsko-planinskim delovima zemlje. Najvećim delom se gaji kalifornijska pastrmka (*Oncorhynchus mykiss*), u malim,

intenzivnim ili poluintenzivnim sistemima, bez prateće dokumentacije i zvaničnog nadzora. Na nacionalnom nivou je započet proces sagledavanja neophodnih aktivnosti za registraciju objekata u akvakulturi, a proizvođači izražavaju spremnost za uvođenje dobre proizvođačke prakse (GMP) u objekte i, time, steknu uslove za izvoz ribe iz akvakulture na inostrana tržišta. Prisutna je i podrška Ministarstva za nauku i tehnološki razvoj kroz finansiranje naučnoistraživačkih projekata.

Cilj ovog rada bio je da se u pretkonzumnoj fazi uzgoja kalifornijske pastrmke (*Oncorhynchus mykiss*), u zimskom periodu (decembar 2008. i mart 2009. godine), ispita osnovni hemijski i masnokiselinski sastav hrane, odnosno fileta ribe i sadržaj holesterola u mesu ribe. Na osnovu dobijenih rezultata za masnokiselinski sastav uzoraka pretkonzumne pastrmke i relevantne hrane predviđeno je da se izračuna sadržaj n-3 i n-6 polinezasićenih masnih kiselina, kao i n-3/n-6 odnos u filetima pastrmke i hrani, i da se, statističkom analizom, ustanovi da li postoji značajna korelacija između masnokiselinskog sastava hrane i sastava masnih kiselina u mesu ribe. Takođe je predviđeno i da se utvrdi da li postoji značajna razlika u masnokiselinskom sastavu ribe u različitom periodu uzgoja.

Materijal i metode

Uzimanje uzoraka

Pretkonzumna kalifornijska pastrmka uzorkovana je početkom decembra 2008. i marta 2009. godine, u punosistemnom odgajalištu kalifornijske pastrmke sa nezavisnim snabdevanjem vode, koji je situiran u brdsko-planinskom delu centralne Srbije. Na dan uzimanja uzoraka temperatura vode je bila 10°C (decembar) i 14°C (mart). Pastrmka je hranjena kompletnom hranom za ribe (proizvođač „Aller Aqua“, Poljska), koja je sadržala: riblje brašno, sojinu pogaču, riblje ulje, repičinu pogaču i repičino ulje, suncokretovu pogaču i pšenicu.

Uzorci pretkonzumne pastrmke uzeti su i početkom marta 2009. godine iz istog ribnjaka. Temperatura vode u ribnjaku na dan uzimanja uzoraka bila je 14°C. Pastrmka je hranjena smešom sličnog sastava, istog proizvođača, kao i decembra meseca.

Uzorci su, do laboratorijskih ispitivanja, čuvani na -18°C. Posle odmrzavanja, riba je eviscerirana i uklonjeni su glava, rep i peraja, zatim koža i kičmeni stub. Za potrebe ispitivanja, fileti ribe su homogenizovani, a ispitivanje osnovnog hemijskog sastava započeto je odmah posle odmrzavanja i homogenizacije ribe. Za određivanja masnih kiselina i holesterola uzorci su čuvani u tamnim plastičnim kesama, na -18°C do instrumentalnog određivanja.

Analiza hemijskog sastava ribe i hrane za ribe

Sadržaj proteina (N x 6,25) određen je metodom po Kjeldahlu, na aparatu Kjeltex Auto 1030 Analyzer (Manual book, Tecator, Sweden). Sadržaj vode određen je sušenjem na $103 \pm 2^\circ\text{C}$, do konstantne mase (SRPS ISO metode). Ukupna mast određena je ekstrakcijom petroletrom po Soxhletu, nakon kisele hidrolize uzorka (SRPS ISO metode). Sadržaj pepela određen je merenjem mase ostatka nakon žarenja na $550 \pm 25^\circ\text{C}$ (SRPS ISO metode).

Ekstrakcija ukupnih lipida za određivanje masnih kiselina

Ukupni lipidi, za određivanje masnih kiselina, ekstrahovani su metodom ubrzane ekstrakcije rastvaračima (Accelerated solvent extraction, ASE) na aparatu Dionex ASE 200. Homogenizovani uzorak, pomešan sa dijetomejskom zemljom, ekstrahovan je smešom n-heksana i izo-propanola (60:40 v/v) u 33 ml ekstrakcionoj ćeliji, na temperaturi od 100°C i pod pritiskom azota od 10,3 MPa. Dobijeni ekstrakti su upareni u struji azota, na aparatu Dionex SE 500, na 50°C, do suvog ostatka masti. Ekstrahovana mast dalje je korišćena za određivanje masnih kiselina.

Analiza sastava masnih kiselina

Metilestri masnih kiselina pripremljeni su transesterifikacijom sa trimetilsulfonijum-hidroksidom, prema metodi SRPS EN ISO 5509:2007. Metilestri su razdvojeni na polarnoj cijanopropil-aril koloni HP-88 (dužina kolone 100 m, unutrašnji prečnik 0,25 mm, debljina filma 0,20 μm, Agilent, USA), u programiranom temperaturnom opsegu, na kapilarnom gasnom hromatografu Shimadzu 2010 (Kyoto, Japan), sa plameno-jonizujućim detektorom. Temperatura injektora bila je 250°C, a detektora 280°C. Kao noseći gas korišćen je azot, sa protokom 1,33 ml/min i odnosom splita 1:50. Injektovana zapremina iznosila je 1 μl, a ukupno vreme trajanja analize 50,50 minuta. Metilestri masnih kiselina su identifikovani na osnovu retencionih vremena, poređenjem sa retencionim vremenima smeše metilestara masnih kiselina u standardu, Supelco 37 Component FAME Mix (Supelco, Bellefonte, USA).

Određivanje sadržaja holesterola u mesu ribe

Određena masa mišićnog tkiva ribe je, bez prethodne ekstrakcije lipida, saponifikovana, prema metodi *Maraschiella i dr.*, 1996. Nakon saponifikacije i ekstrakcije lipida, ekstrakti su upareni u struji azota. Suvi ostatak je rekonstituisan u odgovarajućoj smeši rastvarača i, određena zapremina injektovana u HPLC/PDA sistem.

Sadržaj holesterola je određen na aparatu HPLC Waters 2695 Separation modul, sa Waters 2996 Photodiodearray detektorom (PDA). Hromatografsko razdvajanje je postignuto na Phenomenex Luna C₁₈₍₂₎ koloni (150 mm × 3,0 mm, veličina čestice 5 μm), sa odgovarajućom pretkolonom, izokratno, sa mobilnom fazom izopropanol-acetonitril, 20 posto : 80 posto v/v. Injektovana zapremina bila je 10 μl. Holesterol je određivan apsorpcijom na talasnoj dužini 210 nm. Analitički prinos (Recovery) za ispitivane količine bio je od 66,30 posto do 74,80 posto. Sadržaj holesterola izračunat je eksternom kalibracijom. Za kontrolu sistema, akviziciju podataka i njihovu obradu korišćen je Empower Pro softver.

Metode statističke obrade podataka

Srednje vrednosti dveju serija podataka koji se odnose na masnokiselinski sastav hrane za pretkonzumnu pastrmku, za period decembar 2008, odnosno mart 2009, poređene su uporednim (paired) *t*-testom.

Za statističko izračunavanje korelacije sastava masnih kiselina u uzorcima hrane sa masnokiselinskim sastavom uzoraka pastrmke, u odgovarajućem periodu uzimanja uzoraka, korišćen je softverski paket Microsoft Office Excell 2007 i njegov standardni dodatak za analizu podataka, Data Analysis ToolPack.

Da bi se utvrdilo postojanje razlike između masnokiselinskog sastava za dvanaest uzoraka fileta pastrmke, šest iz decembra i šest iz marta, urađena je analiza glavne komponente (PCA, Principal Component Analysis). Pri tome je korišćena probna verzija softverskog paketa NCSS (www.ncss.com).

Kako bi se objektivno potvrdilo postojanje razlika masnokiselinskog sastava između dve grupe uzoraka fileta pastrmke urađen je Hottelingov *T*² test za poređenje dve populacije multivarijantnih objekata.

Rezultati i diskusija

U tabeli 1 prikazan je hemijski sastav fileta pastrmke, sadržaj holesterola, kao i hemijski sastav hrane za uzgoj pretkonzumne pastrmke. Dobijeni rezultati ukazuju da je hemijski sastav hrane bio približno isti u decembru i martu mesecu. Hemijski sastav fileta pastrmke se, takođe, bitno ne razlikuje, sa izuzetkom sadržaja masti koji je u martu, u odnosu na decembar, veći za oko jedan posto, a sadržaj vode je za isti iznos manji.

Sadržaj holesterola u filetima pretkonzumne pastrmke, uzorkovanim u decembru i martu, iznosi $43,84 \pm 0,77$ mg/100 g, odnosno $46,02 \pm 7,86$ mg/100 g i u martu je veći za 2,18 mg/100 g u odnosu na decembar mesec. Vrednosti koje su dobijene u okviru naših istraživanja su nešto veće od vrednosti koje su dobili Kopicova i Vavreinoва, 2007 (41 mg/100 g, za pastrmku *Salmo trutta*), a znatno veće od vrednosti za jezersku pastrmku u Turskoj, 35,04 mg/100 g (Celik i dr., 2008). Prema podacima USDA, 2005, sadržaj holesterola u mesu pastrmke *S. gairdneri* je znatno veći (59 mg/100 g) od naših vrednosti. Studija sprovedena na mnogim rečnim ribama (Moreira i dr., 2001), pokazala je da je sadržaj holesterola između 40,99 i 52,79 mg/100 g, a može da bude i veći, 60–65 mg/100 g (pastrmka *Salmo gairdneri*), (Piironen i dr., 2002).

Tabela 1. Hemijski sastav i sadržaj holesterola u filetima pastrmke i hemijski sastav hrane za uzgoj pretkonzumne pastrmke (srednja vrednost ± standardna devijacija), n = 6

Table 1. Chemical composition and cholesterol content of trout filets and chemical composition of feed (mean value ± standard deviation), n = 6

Parametri/ Parameters	Decembar/December		Mart/March	
	Pastrmka/Trout	Hrana/ Feed	Pastrmka/Trout	Hrana/ Feed
Sadržaj proteina, %/ Protein content %	17,56 ± 0,28	41,45 ± 0,10	17,67 ± 0,36	39,70 ± 0,11
Sadržaj vlage, %/ Moisture content %	78,68 ± 0,53	6,80 ± 0,02	77,59 ± 0,45	7,83 ± 0,01
Sadržaj masti, %/ Fat content%	2,01 ± 0,63	20,44 ± 0,21	2,94 ± 0,31	20,82 ± 0,08
Sadržaj pepela, %/ Ash content %	1,38 ± 0,06	6,03 ± 0,03	1,35 ± 0,06	6,00 ± 0,02
Sadržaj ugljenih hidrata (računski), %/ Carbohydrates content (calculated), %	0,37	25,28	0,45	25,65
Sadržaj holesterola, mg/100g / Cholesterol content mg/100g	43,84 ± 0,77	–	46,02 ± 7,86	–

U tabeli 2 prikazane su srednje vrednosti ($n = 6$) masnokiselinskog sastava fileta pastrmke i hrane za njen uzgoj, izražen kao procenat od ukupnih masnih kiselina, uzorkovano decembra 2008. i marta 2009. godine.

Sastav masnih kiselina u uzorcima hrane i fileta pastrmke u decembru i martu shematski je prikazan na grafikonu 1. Korelacijom sastava masnih kiselina u uzorcima hrane sa sadržajem masnih kiselina u uzorcima pastrmke dobijene su navedene

Tabela 2. Sastav masnih kiselina (% od ukupnih masnih kiselina) u filetima pastrmke i hrani za ishranu pastrmke (srednja vrednost \pm standardna devijacija), $n = 6$

Table 2. Fatty acids composition (% of total fatty acids) in trout filets and feed (mean value \pm standard deviation), $n = 6$

Masne kiseline, %/ Fatty acids %	Decembar/December		Mart/March	
	Pastrmka/Trout	Hrana/ Feed	Pastrmka/Trout	Hrana/ Feed
14:0	3,69 \pm 0,11	4,44 \pm 0,20	4,03 \pm 0,25	4,28 \pm 0,02
15:0	0,33 \pm 0,01	0,28 \pm 0,01	–	–
16:0	18,94 \pm 0,30	13,87 \pm 0,77	16,45 \pm 1,32	13,06 \pm 0,06
16:1	4,76 \pm 0,01	4,29 \pm 0,04	4,70 \pm 0,27	4,74 \pm 0,04
17:0	–	0,22 \pm 0,02	–	–
17:1	–	–	0,58 \pm 0,05	0,77 \pm 0,01
18:0	4,33 \pm 0,10	2,72 \pm 0,18	3,30 \pm 0,33	2,63 \pm 0,03
18:1 n-9	29,72 \pm 0,89	33,21 \pm 0,58	27,72 \pm 1,64	34,71 \pm 0,03
18:1 n-11	3,22 \pm 0,05	2,82 \pm 0,06	3,12 \pm 0,15	3,12 \pm 0,02
18:2 n-6	11,05 \pm 0,46	12,79 \pm 0,20	9,51 \pm 0,45	12,18 \pm 0,08
18:3 n-6	–	0,37 \pm 0,01	0,15 \pm 0,02	–
18:3 n-3	1,86 \pm 0,09	–	2,97 \pm 0,21	5,10 \pm 0,05
20:1 n-9	3,40 \pm 0,22	5,41 \pm 0,08	2,27 \pm 0,17	1,45 \pm 0,02
20:2 n-6	0,49 \pm 0,02	0,15 \pm 0,01	0,42 \pm 0,06	0,13 \pm 0,01
20:3 n-6	0,52 \pm 0,05	0,25 \pm 0,01	0,44 \pm 0,07	0,53 \pm 0,03
20:3 n-3	3,13 \pm 0,06	–	2,12 \pm 0,23	1,34 \pm 0,01
22:1+20:4	0,99 \pm 0,04	3,26 \pm 0,01	0,93 \pm 0,04	0,62 \pm 0,01
20:5 n-3	2,33 \pm 0,30	7,18 \pm 0,11	5,54 \pm 0,86	8,66 \pm 0,01
22:5 n-3	1,28 \pm 0,12	0,14 \pm 0,01	1,97 \pm 0,23	1,10 \pm 0,01
22:6 n-3	6,16 \pm 1,04	4,43 \pm 0,05	11,69 \pm 2,24	3,89 \pm 0,01
ZMK/SFA	24,72 \pm 2,55	21,54 \pm 1,19	23,78 \pm 1,86	20,32 \pm 0,11
MNMK/MUFA	39,52 \pm 2,98	45,74 \pm 0,75	38,69 \pm 1,96	44,80 \pm 0,07
PNMK/PUFA	30,15 \pm 1,41	28,59 \pm 0,33	34,83 \pm 3,11	32,96 \pm 0,15
Σ n-6	13,06 \pm 0,53	13,57 \pm 0,19	10,09 \pm 0,49	12,72 \pm 0,11
Σ n-3	14,77 \pm 1,51	11,76 \pm 0,15	24,31 \pm 3,04	20,11 \pm 0,04
Σ n-3/ Σ n-6	1,13 \pm 0,08	0,87 \pm 0,01	2,41 \pm 0,32	1,58 \pm 0,01

Legenda/Legend:

ZMK/SFA – zasićene masne kiseline/saturated fatty acids

MNMK/MUFA – mononezasićene masne kiseline/monounsaturated fatty acids

PNMK/PUFA – polinezasićene masne kiseline/polyunsaturated fatty acids

Za poređenje srednjih vrednosti dveju serija podataka koji se odnose na masnokiselinski sastav hrane za pretkonzumnu pastrmku, za period decembar, odnosno mart, primenjen je uporedni (paired) t -test. Pri tome je dobijena vrednost parametra $t_{eksp} = 0,316$, dok je tablična vrednost $t_{crit} = 2,093$, za nivo značajnosti $p \leq 0,05$. Kako je izračunata vrednost (0,316) niža od kritične (2,093) može da se zaključi da ne postoji statistički značajna razlika u sastavu hrane koja je korišćena za ishranu ribe u navedena dva vremenska perioda.

vrednosti Pearsonovog korelacionog koeficijenta, za merenja koja se odnose na mart i decembar, redom: $r = 0,9422$ i $r = 0,9584$. Njima odgovarajuće vrednosti parametra t iznose 11,933 i 14,253 ($t_{crit} = 2,10$), koje ukazuju na statističku značajnost oba korelaciona koeficijenta na nivou signifikantnosti $p \leq 0,05$. Drugim rečima, postoji statistički značajna korelacija između masnokiselinskog sastava hrane i masnokiselinskog sastava ispitanih uzoraka ribe, iako navedeni statistički podaci za hranu uka-

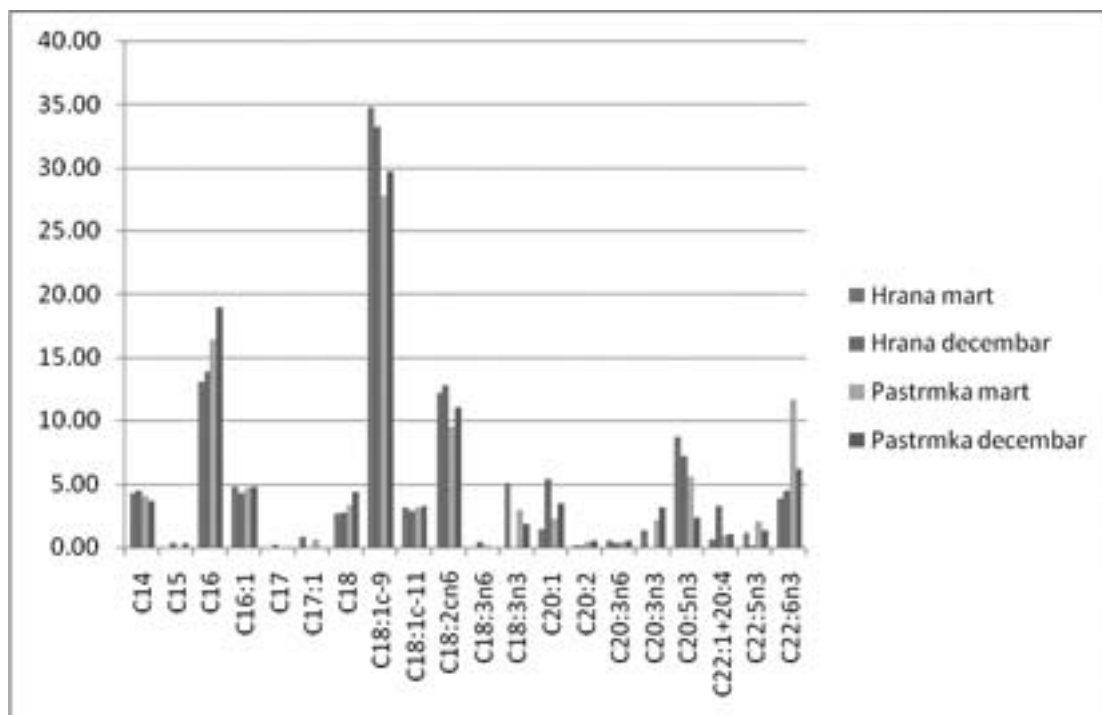
zuju da ne postoji statistički značajna razlika u sastavu hrane koja je korišćena za ishranu ribe u navedena dva vremenska perioda.

Dobijeni rezultati za statističku značajnost korelacije između masnokiselinskog sastava hrane i masnokiselinskog sastava ispitanih uzoraka ribe su u saglasnosti sa rezultatima velikog broja autora (Caballero i dr., 2002; Tocher i dr., 2004; Valente i dr., 2007), koji su ustanovili da masnokiselinski sastav hrane utiče na sastav masnih kiselina u mesu ribe i da hrana bogatija n-3 masnim kiselinama, pri istim uslovima uzgoja, utiče na povećanje odnosa n-3/n-6 PNMK u tkivima ribe (Bell i dr., 2001; Grisdale-Helland i dr., 2002; Person-Le Ruyet i dr., 2004; Skalli i dr., 2006).

Iako se na grafikonu 1 jasno uočava pravilnost kojom sastav ribe prati sastav hrane, uočavaju se

đeno je da tri glavne komponente obuhvataju ukupnu varijabilnost podataka sa 97,79 posto, od toga prva komponenta 90,11 posto, a kumulativno sa drugom 94,64 posto. Vrednosti skorova, odnosno njihove uzajamne projekcije, prve dve glavne komponente za ispitivane uzorke prikazane su na grafikonu 2. Na grafikonu se jasno uočavaju dve grupe koje odvajaju uzorke prema vremenu ispitivanja (mart i decembar). Uzorci od 1 do 6 potiču iz meseca marta, dok su uzorci od 7 do 12 locirani u mesecu decembru.

Grafički prikaz uzajamne projekcije dvaju svojstvenih vektora (grafikon 3) ukazuje da promenljive 5, 10, 11, 16, 18, 19 (što odgovara masnim kiselinama C17:1, C18:3 n-6, C18:3 n-3, C20:5 n-3, C22:5, C22:6 n-3) najviše doprinose sa pozitivnim predznakom varijabilitetu skorova prve komponente, dok je promenljiva 7 (C18:1 n-9) dominantna sa



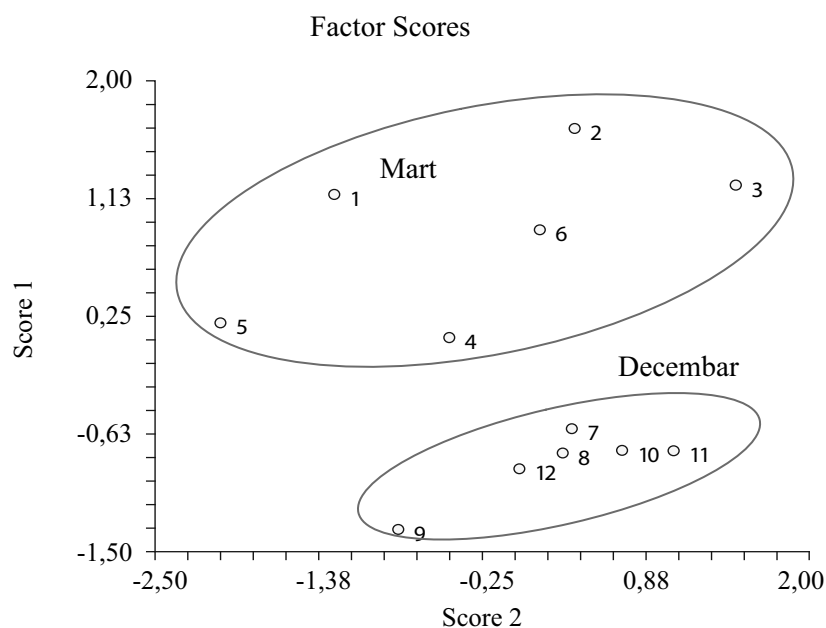
Grafikon 1. Sastav sadržaja masnih kiselina u filetima pastrmke i hrani, u decembru 2008. i martu 2009. godine.

Graph 1. Fatty acids composition in trout filets and feed in December 2008 and March 2009

i neke razlike. Naime, većina masnih kiselina u filetima ribe ima veći sadržaj u decembru u odnosu na mart mesec. Od ovoga odstupa masna kiselina C22:6 n-3, (DHA), kod koje je situacija obrnuta, tj. njena procentualna zastupljenost je upola manja u decembru nego u martu, iako ne postoji razlika u sadržaju pomenute kiseline u hrani. Da bi se utvrdilo postojanje razlike između masnokiselinskog sastava za dvanaest uzoraka fileta pastrmke, šest iz decembra i šest iz marta, urađena je analiza glavne komponente (PCA, Principal Component Analysis). Utvr-

negativnim predznakom. Drugim rečima, veći sadržaj ukupnih PNMK (34,83 posto) u filetima pastrmke uzorkovane u martu, u odnosu na decembar (30,15 posto), upravo potiče od većeg sadržaja esencijalnih masnih kiselina, linolenske (2,97 posto), EPA (5,54 posto) i DHA (11,69 posto) u odnosu na sadržaj istih u decembru mesecu (tabela 2).

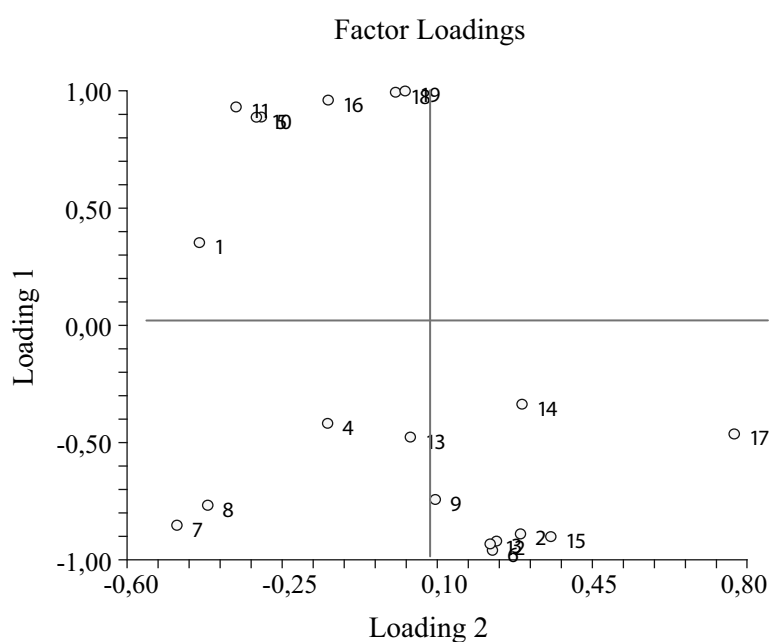
Kako bi se razlika između ove dve grupe objektivno potvrdila, urađen je Hottellingov T^2 test za poređenje dve populacije multivarijantnih objekata (uzoraka fileta pastrmke), pri čemu su kao



Grafikon 2. Vrednosti skorova prve i druge glavne komponente za 12 uzoraka fileta pastrmke
Graph 2. Score values of the first and second principal component for 12 samples of trout filets

promenljive uzete vrednosti skorova prve tri glavne komponente. Vrednost parametra T^2 , pri tome, iznosi 331,6, dok kritična vrednost za nivo značajnosti od $p \leq 0,05$ iznosi 15,3, što jasno ukazuje na statistički značajnu razliku između dve grupe uzoraka. Rasipanje uzoraka u prostoru glavnih komponenti znatno je veće kod grupe iz marta u odnosu na decembar mesec, na šta ukazuju vrednosti standardne zapremine podataka, koje redom iznose: $9,44 \cdot 10^{-7}$ i $1,47 \cdot 10^{-7}$.

Istraživanja *Cordier i dr.*, 2002; *Tocher i dr.*, 2004. ukazuju da unutar iste vrste, masnokiselinski sastav jedinki može da varira u zavisnosti od pola, stanja ekosistema, uslova sredine i drugih činilaca, što, u našem slučaju, objašnjava rasipanje uzoraka u prostoru glavnih komponenti koje je znatno veće kod grupe iz marta (izdiferencirane jedinke, veća polna zrelost) u odnosu na decembar mesec.



Grafikon 3. Projekcije svojstvenih vektora koji odgovaraju prvim dvema glavnim komponentama
Graph 3. Projections of proprietary vectors corresponding to two major components

Zaključak

Na osnovu dobijenih rezultata može da se zaključi da ne postoji statistički značajna razlika u sastavu hrane koja je korišćena za ishranu ribe u ispitivana dva vremenska perioda (decembar 2008. i mart 2009).

Između masnokiselinskog sastava hrane i masnokiselinskog sastava ispitanih uzoraka fileta ribe postoji statistički značajna korelacija, ali, s obzirom da ne postoji statistički značajna razlika u glavnim komponentama hrane za ishranu ribe, u dva vremenski odvojena perioda, razlike u masnokiselinskom sastavu ribe su, verovatno, uslovljene promenama u stanju ekosistema (temperatura, pH, količina kiseonika i drugo).

Odnos n-3/n-6 masnih kiselina u uzorcima hrane u decembarskom periodu bio je 0,87, a u martu 1,58. Kod fileta pastrmke n-3/n-6 odnos je bio 1,13 u decembru, odnosno 2,41 u martu.

Sadržaj holesterola u filetima pretkonzumne pastrmke, uzorkovanim u decembru i martu, iznosio je $43,84 \pm 0,77$ mg/100 g, odnosno $46,02 \pm 7,86$ mg/100 g, tj. u martu je bio veći za 2,18 mg/100 g u odnosu na decembar mesec.

Dalja istraživanja u akvakulturi treba da budu usmerena ka proučavanju potrebnih količina energetskih komponenti, kao i masnih kiselina u hrani za ribu, koje će doprineti dostizanju optimalnih proizvodnih rezultata, kao i količina n-3 masnih kiselina u mesu ribe koje su neophodne za očuvanje zdravlja potrošača.

Literatura

- Bell J. G., McEvoy J., Tocher D. R., McGhee F., Campbell P. J., Sargent J. R., 2001. Replacement of fish oil with rapeseed oil in diets of Atlantic salmon (*Salmo salar*) affects tissue lipid compositions and hepatocyte fatty acid metabolism. *Journal of Nutrition*, 131, 1535–1543.
- Caballero M. J., Obach A., Rosenlund G., Montero D., Gisvold M., Izquierdo M. S., 2002. Impact of different dietary lipid sources on growth, lipid digestibility, tissue fatty acid composition and histology of rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*. *Agriculture*, 214, 253–271.
- Cahu C., Salen P., de Lorgeril M., 2004. Farmed and wild fish in the prevention of cardiovascular diseases: Assessing possible differences in lipid nutritional values. *Nutrition Metabolism and Cardiovascular Diseases*, 14, 34–41.
- Calder P. C., 2001. Polyunsaturated fatty acids, inflammation and immunity. *Lipids*, 36, 1007–1024.
- Celik M., Ali Gökçe M., 2003. Determination of fatty acid compositions of five different tilapia species from the Çukurova (Adana/Turkey) region. *Turkish Journal of Veterinary and Animal Sciences*, 27, 75–79.
- Celik M., Gökçe M. A., Basusta N., Kucuekguelmez A., Tasbozan O., Tabakoglu, S. S., 2008. Nutritional quality of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) caught from the Atatürk Dam Lake in Turkey. *Journal of Muscle Foods*, 19, 1, 50–61.
- Cordier M., Brichon G., Weber J. M., Zwingelstein G., 2002. Changes in the fatty acid composition of phospholipids in tissues of farmed sea bass (*Dicentrarchus labrax*) during an annual cycle. Roles of environmental temperature and salinity. *Comparative Biochemistry and Physiology, Part B*, 133, 281–288.
- Grigorakis K., Alexis M. N., Taylor K. D. A., Hole M., 2002. Comparison of wild and cultured gilthead sea bream (*Sparus aurata*); composition, appearance and seasonal variations. *International Journal of Food Science and Technology*, 37, 477–484.
- Grisdale-Helland B., Ruyter B., Rosenlund G., Obach A., Helland S. J., Sandberg M. G., Standal H., Rosjo C., 2002. Influence of high contents of dietary soybean oil on growth, feed utilization, tissue fatty acid composition, heart histology and standard oxygen consumption of Atlantic salmon (*Salmo salar*) raised at two temperatures. *Aquaculture*, 207, 311–329.
- Haliloğlu H. I., Aras N. M., 2002. Comparison of muscle fatty acids of three trout species (*Salvelinus alpinus*, *Salmo trutta fario*, *Oncorhynchus mykiss*) raised under the same conditions. *Turkish Journal of Veterinary and Animal Sciences*, 26, 1097–1102.
- He K., Song Y., Daviglus M. L., Liu K., Van Horn L., Dyer A. R., Grenland P., 2004. Accumulated evidence on fish consumption and coronary heart disease mortality: A meta-analysis of cohort studies. *Circulation*, 109, 2705–2711.
- Kopicova Z., Vavreinova S., 2007. Occurrence of squalene and cholesterol in various species of Czech freshwater fish. *Czech Journal of Food Sciences*, 25, 4, 195–201.
- Lichtenstein A. H., Appel L. J., Brands M., Carnethon M., Daniels S., Franch H. A., Franklin B., Kris-Etherton P., Harris W. S., Howard B., Karanja N., Lefevre M., Rudel L., Sacks F., Van Horn L., Winston M., Wylie-Rosett J., 2006. Diet and lifestyle recommendations revision 2006: A scientific statement from the American Heart Association Nutrition Committee. *Circulation*, 114, 82–96.
- Luzia L. A., Sampaio G. R., Castellucci C. M. N., Torres E. A. F. S., 2003. The influence of season on the lipid profiles of five commercially important species of Brazilian fish. *Food Chemistry*, 83, 93–97.
- Maraschiello C., Diaz I., Regueiro J. A. G., 1996. Determination of cholesterol in fat and muscle of pig by HPLC and capillary gas chromatography with solvent venting injection. *Journal of High Resolution Chromatography*, 19, 165–168.
- Mathew S., Amnu K., Nair P. G. V., Devadasan K., 1999. Cholesterol content of Indian fish and shellfish. *Food Chemistry*, 66, 455–461.
- Moreira A. B., Visentainer J. V., de Souza N. E., Matsushita M., 2001. Fatty acids profile and cholesterol contents of three Brazilian *Brycon* freshwater fishes. *Journal of Food Composition and Analysis*, 14, 565–574.
- Moreno J. J., Mitjavila M. T., 2003. The degree of unsaturation of dietary fatty acids and the development of atherosclerosis (review). *Journal of Nutritional Biochemistry*, 14, 182–195.
- Mozaffarian D., Psaty B. M., Rimm E. B., Lemaitre R. N., Burke G. L., Lyles M. F., Lefkowitz D., Siscovick D.

- S., 2004. Fish intake and risk of incident atrial fibrillation. *Circulation*, 110, 368–373.
- Mozaffarian D., Ascherio A., Hu F. B., Stampfer M. J., Willett W. C., Siscovick D. S., Rimm E. B., 2005.** Interplay between different polyunsaturated fatty acids and risk of coronary heart disease in men. *Circulation*, 111, 157–164.
- Nettleton J. A., Katz R., 2005.** n-3 long-chain polyunsaturated fatty acids in type 2 diabetes: a review *Journal of the American Dietetic Association*, 105, 428–440.
- Orban E., Masci M., Nevigato T., Di Lena G., Casini I., Caproni R., Gambelli L., De Angelis P., Rampacci M., 2006.** Nutritional quality and safety of whitefish (*Coregonus lavaretus*) from Italian lakes. *Journal of Food Composition Analysis*, 19, 737–746.
- Person-Le Ruyet J., Skalli A., Dulau B., Le Bayon N., Le Delliou H., Robin J. H., 2004.** Does dietary n-3 highly unsaturated fatty acids level influence the European sea bass (*Dicentrarchus labrax*) capacity to adapt to a high temperature? *Aquaculture*, 242, 571–588.
- Piironen V., Toivo J., Lampi A. M., 2002.** New data for cholesterol contents in meat, fish, milk, eggs and their products consumed in Finland. *Journal of Food Composition and Analysis*, 15, 6, 705–713.
- Robin J. H., Skalli A., 2007.** Incorporation of dietary fatty acid in European sea bass (*Dicentrarchus labrax*) – A methodological approach evidencing losses of highly unsaturated fatty acids. *Aquaculture*, 263, 227–237.
- Skalli A., Robin J. H., 2004.** Requirement of n-3 long chain polyunsaturated fatty acids for European sea bass (*Dicentrarchus labrax*) juveniles: growth and fatty acid composition. *Aquaculture*, 240, 399–415.
- Skalli A., Robin J. H., Le Bayon N., Le Delliou H., Person-Le Ruyet J., 2006.** Impact of essential fatty acid deficiency and temperature on tissues' fatty acid composition of European sea bass (*Dicentrarchus labrax*). *Aquaculture*, 255, 223–232.
- Terry P. D., Terry J. B., Rohan T. E., 2004.** Long-chain (n-3) fatty acid intake and risk of cancers of the breast and the prostate recent epidemiological studies, biological mechanisms, and directions for future research. *Journal of Nutrition*, 134, 3412S–3420S.
- Tocher D. R., Fonseca-Madrigal J., Dick J. R., Ng W.-K., Bell J. G., Campbell P. J., 2004.** Effects of water temperature and diets containing palm oil on fatty acid desaturation and oxidation in hepatocytes and intestinal enterocytes of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Comparative Biochemistry and Physiology, Part B*, 137, 49–63.
- USDA National Nutrient Database for Standard Reference., 2005.** Release 18 from the nutrient data laboratory home page on the World Wide Web. http://www.nal.usda.gov/fnic/foodcomp/cgi-bin/list_nut_edit.pl (accessed October 8, 2006).
- Valente L. M. P., Bandarra N. M., Figueiredo-Silva A. C., Rema P., Vaz-Pires P., Martins S., Prates J. A. M., Nunes M. L., 2007.** Conjugated linoleic acid in diets for large-size rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*): effects on growth, chemical composition and sensory attributes. *British Journal of Nutrition*, 97, 289–297.
- Von Shacky C., 2001.** Clinical trials, not n-6 to n-3 ratios, will resolve whether fatty acids prevent coronary heart disease. *European Journal of Lipid Science and Technology*, 103, 423–427.
- Weaver K. L., Ivester P., Chilton J. A., Wilson M. D., Pandey P., Chilton F. H., 2008.** The content of favorable and unfavorable polyunsaturated fatty acids found in commonly eaten fish. *Journal of the American Dietetic Association*, 108, No. 7, 1178–1185.
- Yaqoob P., 2004.** Fatty acids and the immune system: from basic science to clinical applications. *Proceedings of the Nutrition Society*, 63, 89–104.
- Zamaria N., 2004.** Alteration of polyunsaturated fatty acid status and metabolism in health and disease. *Reproduction Nutrition Development*, 44, 273–282.

Fatty acid composition, cholesterol and total fat content in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) as influenced by fatty acids in diet

Spirić Aurelija, Trbović Dejana, Vranić Danijela, Đinović Jasna, Petronijević Radivoj, Milijašević Milan, Janković Saša, Radičević Tatjana

S u m m a r y: Long-term and uncontrolled exploitation of sea resources, as well as awareness of positive influence of n-3 polyunsaturated fatty acids (PUFA) on humans' health, contributed recently to increased demand for aquaculture which resulted in certain demands in respect to fish quality and nutritive value, i.e. n-3 PUFA composition.

The aim of this paper was to investigate basic chemical parameters, cholesterol content and fatty acids content of Rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) during the breeding in winter season (December 2008 and March 2009) as well as to investigate basic chemical composition and fatty acids content of feed. In order to determine correlations of obtained results for fish and feed, we used modern statistical methods. The samples were collected in full-system breeding facility with independent water supply, situated in the mountainous area of central Serbia.

Using correlational analysis of fatty acids composition in food and trout samples, Pearson's correlation coefficient was calculated for measurements carried out in March and December: $r=0.9422$ and $r=0.9584$. Respective values of t-parameter were 11.933 and 14.253 ($t_{crit}=2.10$), which point to the statistical significance of both correlation coefficients at the significance level of $p=0.05$. Obtained results show that there is statistically significant correlation between fatty acids composition of feed and fatty acids composition of trout samples, although statistical data for feed (comparative t-test) show no statistical difference in feed composition.

By applying principal component analysis (PCA), two groups of results for fatty acids composition of trout filets were obtained, depending on time of experiment (December and March). Hotelling's T^2 test for comparison of two populations of multivariate objects was performed in order to objectively confirm the difference between the two groups of results. Value of T^2 is 331.6, while critical value for significance level of $p=0.05$ is 15.3. This clearly indicates significant difference between two groups of samples.

On the basis of obtained results for fatty acids composition in investigated samples, we calculated the content of n-3 and n-6 PUFA as well as n-3/n-6 ratio. This ratio was 0.87 in December and 1.58 in March for feed samples, while n-3/n-6 ratio for trout filet samples was 1.13 in December and 2.41 in March. Cholesterol content in trout filets samples taken in December and March was 43.84 mg/100g and 46.02 mg/100g respectively.

Key words: *Rainbow trout, feed, total fat, cholesterol, fatty acids.*

Rad primljen: 21.08.2009.

Rad prihvaćen: 5.10.2009.