

UNIVERZITET U BEOGRADU
POLJOPRIVREDNI FAKULTET

Dejana K. Trbović

**UTICAJ NAČINA ISHRANE NA SADRŽAJ LIPIDA I
SASTAV MASNIH KISELINA U MESU ŠARANA
(*Cyprinus carpio* L., 1758) U POLUINTENZIVNOM
SISTEMU GAJENJA**

doktorska disertacija

Beograd, 2014.

UNIVERSITY OF BELGRADE
FACULTY OF AGRICULTURE

Dejana K. Trbović

**THE INFLUENCE OF DIET ON LIPID CONTENT
AND FATTY ACID COMPOSITION OF CARP
MEAT (*Cyprinus carpio* L., 1758) IN THE SEMI-
INTENSIVE REARING SYSTEM**

Doctoral Dissertation

Belgrade, 2014

Članovi komisije za ocenu i odbranu:

Mentor: dr Zoran Marković, redovni profesor
Univerzitet u Beogradu, Poljoprivredni fakultet

dr Dušan Živković, vanredni profesor
Univerzitet u Beogradu, Poljoprivredni fakultet

dr Aurelija Spirić, naučni savetnik
Institut za higijenu i tehnologiju mesa, Beograd

dr Zorka Dulić, vanredni profesor
Univerzitet u Beogradu, Poljoprivredni fakultet

dr Nenad Parunović, naučni saradnik
Institut za higijenu i tehnologiju mesa, Beograd

Datum odbrane: _____

Eksperimentalni deo ove doktorske disertacije urađen je u Institutu za higijenu i tehnologiju mesa, u Beogradu, u Odeljenju za hemijska ispitivanja. Istraživanje je finansijski podržano projektima Ministarstva prosvete, nauke i tehnološkog razvoja Republike Srbije (TR 20122 i TR 31075). Zahvaljujem se rukovodstvu Ribarskog gazdinstva "Ečka" a.d. - generalnom direktoru Nenadu Raduloviću, direktoru proizvodnje Zoranu Mažiću, DVM i Dušku Ružinu, DVM, kao i dr Stevanu Čanku sa šaranskog ribnjaka "Živača" a.d., koji su pružanjem tehničke i kolegijalne pomoći omogućili realizaciju istraživanja u okviru ove doktorske disertacije.

Zahvaljujem se mom mentoru prof. dr Zoranu Markoviću na ukazanom poverenju, podršci i velikoj stručnoj pomoći u sticanju znanja iz akvakulture, koji je svojim sugestijama, savetima doprineo da ova disertacija dobije kvalitetniji i konačan izgled.

Posebnu zahvalnost dugujem dr Aureliji Spirić koja je omogućila razvoj savremenih analitičkih metoda ekstrakcije lipida i gasne hromatografije u Institutu, i time značajno doprinela razvoju kontrole kvaliteta u oblasti akvakulture. Zahvalna sam na njenom strpljenju, pružanju velike stručne pomoći i ukazanoj podršci pri izradi rada.

Zahvaljujem se prof. dr Dušanu Živkoviću na vremenu i trudu koji je posvetio u pregledu i oceni ove disertacije i korisnim sugestijama, prof. dr Zorki Dulić na pregledu teksta i korisnim sugestijama i dr Nenadu Parunoviću, članovima komisije za odbranu disertacije.

Zahvaljujem se kolegi mr Radivoju Petronijeviću na ukazanoj podršci tokom razvoja metoda i eksperimentalnog rada, korisnim savetima i nesebičnoj razmeni znanja u oblasti statističke obrade rezultata. Veliku zahvalnost dugujem koleginicama, hemijskim tehničarima Laboratorije za hemijska ispitivanja Instituta na pomoći i podršci u analitičkom radu, Danieli Mirčetić koja je pokazala samoinicijativu i veliko zalaganje u pripremi uzoraka za analitičko određivanje sastava masnih kiselina.

Zahvaljujem se kolektivu Instituta za higijenu i tehnologiju mesa na ukazanom poverenju i podršci, kao i svim koleginicama i kolegama koji su, na bilo koji način, pomogli pri realizaciji ove disertacije.

Zahvaljujem mojim roditeljima koji su bili uz mene tokom izrade ove disertacije, na njihovoj podršci, strpljenju i ohrabrenju.

UTICAJ NAČINA ISHRANE NA SADRŽAJ LIPIDA I SASTAV MASNIH KISELINA U MESU ŠARANA (*Cyprinus carpio* L., 1758) U POLUINTENZIVNOM SISTEMU GAJENJA

Rezime: Istraživanja koja su realizovana u okviru ove doktorske disertacije imala su za cilj da daju doprinos proučavanju promena hemijskog i masnokiselinskog sastava šarana (*Cyprinus carpio*) gajenog u dva ribnjaka sa poluintenzivnim uzgojem, u zavisnosti od vrste dodatne hrane (ekstrudirana hrana i kukuruz), u završnoj fazi uzgoja dvogodišnje ribe za konzum.

Rast i povećanje mase ribe povezano je sa povećanjem sadržaja proteina, lipida, vlage, mineralnih materija, itd. Količine hranljivih materija koje su se deponovale u mesu šarana u toku uzgoja i prihranjivanja sa dve vrste dodatne hrane analizirane su alometrijskom i izometrijskom linearnom regresijom. Uticaj dodatne hrane procenjen je poređenjem izometrijskih koeficijenata b pomoću t testa. Rezultati su pokazali da se prihranjivanjem šarana ekstrudiranom hranom tokom uzgoja deponovala veća količina proteina u mesu ribe, dok se prihranjivanjem šarana kukuruzom deponovala veća količina lipida. Višestrukom linearnom regresijom (MLR) utvrđen je odnos između sadržaja proteina, lipida i vlage u mesu šarana, kao i doprinos koji su proteini i lipidi imali u povećanju mase šarana. Dobijeni rezultati su značajni za bolje razumevanje biohemijskih procesa koji se odigravaju u toku rasta šarana.

U cilju definisanja razlika u hemijskom sastavu i sastavu masnih kiselina između, ukupno, 62 uzorka šarana, prema vrsti dodatne hrane, korišćene su analiza varijansi i multivarijantna analiza glavnih komponenti (PCA).

Rezultati su pokazali da je sadržaj proteina ($P < 0,01$) i vlage ($P < 0,001$) bio značajno veći kod šarana prihranjivanih ekstrudiranom hranom, dok je sadržaj lipida bio značajno veći ($P < 0,001$) kod šarana prihranjivanih kukuruzom. Šarani se nisu značajno razlikovali u sadržaju pepela.

Prema vrsti prihrane, šarani se nisu razlikovali u sadržaju zasićenih masnih kiselina. Mononezasićene masne kiseline su bile značajno veće kod šarana prihranjivanih kukuruzom ($P < 0,0001$), u svim mesecima izlova, u odnosu na šarane prihranjivanih ekstrudiranom hranom. Polinezasićene masne kiseline, $n-3$ i $n-6$, su bile značajno veće kod šarana prihranjivanih ekstrudiranom hranom ($P < 0,0001$) u odnosu na šarane

prihranjivanih žitaricama. Manji odnos n-6/n-3 masnih kiselina u mesu šarana koji su prihranjivani ekstrudiranom hranom ukazuje na njegove bolje nutritivne karakteristike, u odnosu na šarane koji su prihranjivani kukuruzom.

Analiza glavnih komponenti pokazala je da je na osnovu hemijskog sastava i sastava masnih kiselina moguće razlikovati šarane prema vrsti dodatne hrane koja je na ribnjaku korišćena. Naime, sa prve dve glavne komponente utvrđeno je 91% varijacija u hemijskom sastavu šarana prema vrsti dodatne hrane. U sastavu grupa masnih kiselina, sa prve dve glavne komponente, utvrđeno je 84% varijacija, uzimajući u obzir sadržaj lipida i mase riba kao promenjive veličine. Na osnovu projekcija svojstvenih vektora ustanovljeno je da su najuticajniji faktori koji su imali dominantni udeo kod šarana koji su prihranjivani kukuruzom bile masne kiseline 18:1n-9, 16:1 i 20:3n-6, dok su n-3 i n-6 masne kiseline 18:3n-3, 22:6n-3, 18:2n-6, 20:3n-3, 20:2, 20:5n-3 i 22:5n-3 bile više zastupljene u šaranima koji su prihranjivani ekstrudiranom hranom.

Vrsta korišćene hrane značajno je uticala na sadržaj lipida deponovanih u tkivu ribe. Korelacija lipida sa sastavom masnih kiselina pokazala je da se sa povećanjem sadržaja lipida masnokiselinski sastav mesa šarana značajno menjao: povećavale su se mononezasićene masne kiseline, sa dominantnom oleinskom kiselinom (18:1n-9), a istovremeno smanjivale n-3 i n-6 polinezasićene masne kiseline. Ustanovljeno je da veličina ribe utiče na promenu sastava masnih kiselina i time ne treba zanemariti uticaj rasta i povećanja telesnih masa šarana na sastav masnih kiselina ribe. Istraživanja koja su prikazana u ovoj doktorskoj disertaciji su ukazala na opravdanost prihranjivanja šarana ekstrudiranom hranom u cilju poboljšanja kvaliteta mesa.

Ključne reči: šaran, dodatna hrana, hemijski sastav, regresione analize, sastav masnih kiselina, analiza glavnih komponenti (PCA)

Naučna oblast: Biotehničke nauke

Naučna disciplina: Stočarstvo

Uža naučna disciplina: Ribarstvo

UDK: 637.56`81/`83:639.3.03.2

THE INFLUENCE OF DIET ON LIPID CONTENT AND FATTY ACID COMPOSITION OF CARP MEAT (*Cyprinus carpio* L., 1758) IN THE SEMI-INTENSIVE REARING SYSTEM

Abstract: The studies that have been carried out in the framework of the present doctoral thesis were aimed to contribute to the study of changes in the chemical and fatty acid composition of common carp (*Cyprinus carpio*) farmed in two fish farms with semi-intensive farming, depending on the type of supplementary feed (extruded feed and corn), in the final stage of farming of two-year fish for consumption.

The growth and increase in body weight of the fish are associated with the increase in the content of proteins, lipids, moisture, mineral substances, etc. The amount of nutrients that had been deposited in the flesh of common carp during the farming and additional nutrition with two supplemental types of feed was analysed using the allometric and isometric linear regression. The effect of the supplemental feed was evaluated by comparing isometric coefficients b by the use of t test. The results showed that the use of extruded feed in carp farming resulted in deposition of greater amounts of proteins in the fish meat, while the use of corn in nutrition of carp influenced deposition of greater amounts of lipids. Multiple linear regression (MLR) was used to determine the relationship between the contents of proteins, lipids and moisture in the meat, as well as the contribution of proteins and lipids in the increase of the body mass of carp. The results obtained are important for a better understanding of the biochemical processes that take place during the growth of carp.

In order to establish differences in the chemical composition and the fatty acid profiles among a total of 62 samples of carp, according to the type of supplementary feed, analysis of variance and multivariate principal components analysis (PCA) were used.

The results showed that the protein ($P < 0.01$) and moisture content ($P < 0.001$) were significantly higher in carp supplementary fed extruded feed, while the content of lipids was significantly higher ($P < 0.001$) in carp supplementary fed corn. Carp were not significantly different in ash content.

According to the type of supplementary feed, carp did not differ in the content of saturated fatty acids. Monounsaturated fatty acids were significantly higher in carp supplementary fed corn ($P < 0.0001$), in all months of fish harvest, compared to carp

supplementary fed extruded feed. Polyunsaturated fatty acids, n-3 and n-6, were significantly higher in carp supplementary fed extruded feed ($P < 0.0001$) compared to carp supplementary fed grains. A lower n-6/n-3 fatty acids ratio in the meat of carp supplementary fed extruded feed points to its better nutritional characteristics compared to carp supplementary fed corn.

Principal components analysis showed that, based on the chemical composition and fatty acid profile, it is possible to distinguish carp according to the type of supplementary feed that was used on the fish farms. Namely, according to the type of supplementary feed, with the first two principal components 91% of the variation in chemical composition was established. Within the group of fatty acids, with the first two principal components, 84% of the variations were described, taking into account the lipid content and the fish body weight as variables. Based on the projection of the eigenvalues, it was established that fatty acids 18:1n-9, 16:1 and 20:3n-6 were the most influential factors, which had a predominant share in the carp supplementary fed corn, while the n-3 and n-6 fatty acids 18:3n-3, 22:6n-3, 18:2n-6, 20:3n-3, 20:2, 20:5n-3 and 22:5n-3 were more predominant in carp which were fed extruded feed.

The type of feed which was used on the farm significantly influenced the content of lipids which were deposited in the tissues of fish. The correlation of lipids to fatty acid composition showed that by the increase in the content of lipids, the fatty acid composition of carp meat significantly changed: the monounsaturated fatty acids increased, with the predominant oleic acid (18:1n-9), and, at the same time, the n-3 and n-6 polyunsaturated fatty acids decreased. It was established that the size of fish influenced the change in the composition of fatty acids, and that the impact of growth and increase in body weight of carp on the fatty acid composition of fish should not be ignored. The research that is presented in this doctoral thesis have indicated the justification for supplementary feeding of carp with extruded feed in order to improve the quality of meat.

Key words: *common carp, supplementary feed, chemical composition, regression analysis, fatty acid composition, principal component analysis (PCA)*

Scientific field: Biotechnical Sciences

Scientific discipline: Animal husbandry

Scientific sub-discipline: Fishery

UDC: 637.56`81/`83:639.3.03.2

SADRŽAJ

1. UVOD.....	1
2. PREGLED LITERATURE.....	3
2.1 Šaran (<i>Cyprinus carpio</i>).....	4
2.1.1 Sistemi gajenja šarana.....	5
2.1.2 Dodatna ishrana šarana u poluintenzivnom sistemu gajenja.....	6
2.1.3 Gajenje šarana u Srbiji i perspektive razvoja.....	7
2.2 Uticaj ishrane na hemijski sastav gajene ribe.....	8
2.2.1 Uticaj endogenih faktora na hemijski sastav ribe.....	9
2.2.2 Uticaj egzogenih faktora na hemijski sastav ribe.....	10
2.3 Struktura i nomenklatura masnih kiselina.....	11
2.3.1 Zasićene masne kiseline.....	12
2.3.2 Mononezasićene masne kiseline.....	13
2.3.3 Polinezasićene masne kiseline.....	14
2.4 Uloga lipida – metabolizam i biosinteza masnih kiselina.....	17
2.4.1 Biosinteza zasićenih masnih kiselina.....	18
2.4.2 Biosinteza mononezasićenih masnih kiselina.....	18
2.4.3 Biosinteza polinezasićenih masnih kiselina.....	19
2.4.4 Uloga masnih kiselina i holesterola u ćelijskim membranama.....	20
2.5. Uticaj ishrane na sastav masnih kiselina ribe.....	21
2.5.1 Sastav masnih kiselina gajene ribe i ribe otvorenih voda.....	21
2.5.2 Uticaj ishrane bazirane na uljima biljnog porekla na sastav masnih kiselina.....	22
2.5.3 Uticaj ishrane na metabolizam masnih kiselina kod šarana.....	24
2.6. Komponente hrane za ribe – proteini, lipidi i ugljeni hidrati kao izvori energije.....	27
2.7. Biološke osobine rasta ribe.....	29
2.8 Deponovanje hranljivih materija i procena hemijskog sastava mesa ribe korišćenjem regresionih analiza.....	31
2.9 Izbor analitičkih metoda.....	33
2.9.1 Uzimanje uzoraka – analitički uzorak.....	33
2.9.2 Metode određivanja hemijskog sastava.....	34
2.9.3 Metode ekstrakcije lipida za određivanje sastava masnih kiselina.....	35
2.9.4 Tehnike za analitičko određivanje sastava masnih kiselina.....	37

2.9.5 Izbor uslova za pripremu metilestara masnih kiselina.....	38
2.9.6 Tehnike za analitičko određivanje sadržaja holesterola	39
3. CILJEVI ISTRAŽIVANJA.....	40
4. MATERIJAL I METODE.....	42
4.1 Uzimanje uzoraka ribe i hrane.....	42
4.2 Analitičke metode.....	43
4.2.1 Reagensi.....	43
4.2.2 Analiza hemijskog sastava mesa šarana i hrane za ribe.....	43
4.2.3 Ubrzana ekstrakcija lipida pomoću rastvarača (ASE - <i>accelerated solvent extraction</i>).....	44
4.2.4 Priprema metilestara masnih kiselina i njihova analiza metodom kapilarne gasne hromatografije.....	45
4.2.5 Određivanje holesterola metodom visokoeфикаsne tečne hromatografije.....	46
4.3 Statistička analiza.....	47
4.3.1 Linearna regresija u proceni uticaja veličine ribe na hemijski sastav mesa šarana.....	47
4.3.1.1 Alometrijska analiza.....	47
4.3.1.2 Izometrijska analiza.....	48
4.3.2 Analiza varijanse.....	48
4.3.3 Korelaciona analiza.....	49
4.3.4 Višestruka linearna regresija (MLR – <i>multiple linear regression</i>).....	49
4.3.5 Analiza glavnih komponenti (PCA - <i>principal component analysis</i>).....	50
5. REZULTATI ISTRAŽIVANJA.....	52
5.1. Promene hemijskog sastava mesa šarana prihranjivanih ekstrudiranom hranom sa povećanjem mase riba.....	52
5.2. Promene hemijskog sastava mesa šarana prihranjivanih žitaricama sa povećanjem mase riba.....	64
5.3. Uporedna analiza hemijskog sastava šarana sa dva ribnjaka sa poluintenzivnim uzgojem – uticaj vrste dodatne hrane.....	75
5.4. Sastav masnih kiselina ekstrudirane hrane – uticaj na sastav masnih kiselina mesa šarana.....	82
5.5. Multivarijantna analiza sastava masnih kiselina mesa šarana u toku poluintenzivnog uzgoja i prihranjivanja ekstrudiranom hranom.....	86
5.6 Korelacija masa riba i sadržaja lipida sa sastavom masnih kiselina šarana prihranjivanih ekstrudiranom hranom.....	91

5.7. Sastav masnih kiselina žitarica - uticaj na sastav masnih kiselina mesa šarana.....	98
5.8. Multivarijantna analiza sastava masnih kiselina mesa šarana u toku polintenzivnog uzgoja i prihranjivanja kukuruzom.....	102
5.9. Korelacija masa riba i sadržaja lipida sa sastavom masnih kiselina šarana prihranjivanih kukuruzom.....	107
5.10. Uporedna analiza masnokiselinskog sastava šarana sa dva ribnjaka sa poluintenzivnim uzgojem – uticaj vrste dodatne hrane.....	113
5.11. Sadržaj holesterola u mesu šarana sa dva ribnjaka sa poluintenzivnim uzgojem – uticaj vrste dodatne hrane.....	121
6. DISKUSIJA.....	126
6.1. Alometrijska i izometrijska analiza u proceni deponovanja hranljivih materija u mesu šarana u zavisnosti od vrste prihranjivanja.....	126
6.2. Uticaj vrste dodatne hrane na hemijski sastav šarana sa dva ribnjaka sa poluintenzivnim uzgojem.....	131
6.3. Uticaj vrste dodatne hrane na masnokiselinski sastav šarana sa dva ribnjaka sa poluintenzivnim uzgojem.....	134
6.4. Korelacija masa riba i sadržaja lipida sa sastavom masnih kiselina šarana – uticaj ekstrudirane hrane i žitarica.....	140
6.5. Sadržaj holesterola u mesu šarana sa dva ribnjaka sa poluintenzivnim uzgojem – uticaj vrste dodatne hrane	144
7. ZAKLJUČCI.....	146
8. LITERATURA.....	150
PRILOZI.....	170
BIOGRAFIJA.....	190

1. UVOD

Šaran (*Cyprinus carpio*) je jedna od najviše gajenih vrsta riba u svetu i dominantna gajena vrsta u nekim evropskim zemljama. Akvakultura, kao privredna grana u Srbiji, nije dovoljno razvijena i obuhvata samo gajenje riba u šaranskim i pastrmskim ribnjacima. Šaran je dominantna gajena vrsta u Srbiji i čini preko 80% ukupno proizvedene ribe. Proizvodnja šarana je, uglavnom, poluintenzivna i zasniva se na kombinaciji prirodne i dodatne hrane, žitarica i kompletne ekstrudirane ili peletirane hrane.

Sve veća potražnja i potrošnja ribe iz akvakulture u svetu, ali i u Srbiji, nameće i određene zahteve u pogledu njenog kvaliteta i nutritivnih svojstava. Poslednjih nekoliko decenija, istraživanja ishrane riba i unapređenje kvaliteta hrane doprinela su intenzivnom razvoju akvakulture i povećanju hranljive vrednosti gajene ribe. Korišćenje pouzdanih metoda i modela rasta neophodno je u razumevanju uticaja ishrane i unosa hranljivih materija kod gajene ribe koja je značajna za ishranu ljudi. Alometrijske i izometrijske regresione analize preovlađuju u proceni sastava mesa gajene ribe. Najveći broj studija rasta i proučavanje promena hranljivih materija sa rastom riba se odnosi na morske vrste riba, a od slatkovodnih vrsta najviše je proučavana kalifornijska pastrmka. Većina istraživanja korelacione zavisnosti masnokiselinskog sastava mesa riba od masnokiselinskog sastava korišćene hrane odnose se, takođe, na morske vrste riba, a od slatkovodnih vrsta na kalifornijsku pastrmku.

Rezultati koji su, do sada, objavljeni, a koji se odnose na promene hranljivih materija u toku rasta šarana (*Cyprinus carpio*) su veoma oskudni u literaturi. Iz tih razloga je, u ovoj doktorskoj disertaciji, postavljeno za cilj da se alometrijskom i izometrijskom analizom prouče promene hranljivih materija u toku uzgoja šarana, na dva ribnjaka, u zavisnosti od vrste dodatne hrane (ekstrudirana hrana i kukuruz). Planirano je da se prouči odnos između proteina, lipida i vlage u mesu šarana u toku uzgoja.

S obzirom da hrana ima najveći uticaj na sastav masnih kiselina riba, predviđeno je i proučavanje hemijskog i masnokiselinskog sastava ekstrudirane hrane i kukuruza i njihov uticaj na nutritivni kvalitet mesa šarana. S obzirom da je metabolizam pojedinačnih masnih kiselina, osim od vrste i količine hrane, pod uticajem starosti ribe, razmatrane su promene u sastavu masnih kiselina u mesu šarana u završnoj fazi uzgojne sezone. Da bi se stekao bolji uvid u strukturu parametara kvaliteta šarana koji su prihranjivani sa dve vrste hrane, korišćena je analiza glavnih komponenti za diferencijaciju šarana prema načinu gajenja, vrsti hrane i uticaju sezone. Prednost ove metode, u odnosu na druge statističke metode, je u činjenici što daje korelacione odnose između promenljivih veličina, kao što su proteini, lipidi i vlaga, zatim korelacije pojedinačnih masnih kiselina sa masom riba i sadržajem lipida.

Očekuje se da će se ovim istraživanjima dati značajan doprinos razumevanju promena koje se dešavaju u toku uzgoja konzumnog šarana. Rezultati bi trebalo da omoguće unapređenje uslova uzgoja i povećanje nutritivne vrednosti mesa šarana, kao najzastupljenije vrste ribe u nacionalnoj akvakulturi. S obzirom na važnost ishrane kod gajenih riba, korišćenjem kvalitetnijih dodatnih hrana omogućila bi se intenzivnija proizvodnja šarana i, na taj način, bi se pospešio dalji razvoj akvakulture u našoj zemlji. Osim ekonomskog efekta, ova istraživanja bi dala značajan doprinos naučnim saznanjima koja se odnose na istraživanje šarana kao vrste ribe koja je malo proučavana.

2. PREGLED LITERATURE

Akvakultura je najbrže rastući sektor proizvodnje visoko proteinske hrane za ljudsku ishranu. Svetska proizvodnja ribe iz akvakulture, uključujući ljuskare, mekušce i ostale vodene životinje za ljudsku ishranu, dostigla je 52,5 miliona tona u 2008. godini (FAO, 2010). Za razliku od ulova iz otvorenih voda, koji je skoro prestao da raste od sredine osamdesetih godina dvadesetog veka, u periodu od 1970. do 2008. akvakultura održava prosečnu godišnju stopu rasta od 8,3%, što predstavlja tri puta brži rast od rasta proizvodnje mesa toplokrvnih životinja u istom periodu (FAO, 2010).

U proizvodnji slatkovodne ribe, koja čini 54,7% svetske proizvodnje, dominiraju šaranske vrste (Cyprinidae), sa 20,4 miliona tona, ili 71,1% (FAO, 2010). Glavni kontinent u proizvodnji šarana je Azija, gde je Kina zastupljena sa 70,7% ukupne svetske proizvodnje. Šaran (*Cyprinus carpio*) je jedna od najviše gajenih vrsta riba i čini 18% ukupne proizvodnje ciprinida u svetu (Takeuchi i dr., 2002).

U evropskoj akvakulturi proizvodnja šarana je zastupljena sa 6% (Váradi i dr., 2011). Ciprinide su najznačajnija gajena vrsta ribe u centralnoj i istočnoj Evropi i doprinose sa 75% proizvodnji slatkovodne ribe. Proizvodnja šarana se u evropskim zemljama značajno smanjila u odnosu na maksimalnu proizvodnju u 1990. godini od preko 402 000 tona (Váradi i dr., 2011). Proizvodnja šarana u 2008. godini je iznosila 152 076 tona. Razlog za ovakva smanjenja su bile socijalne i ekonomske promene u centralnoj i istočnoj Evropi (Váradi i dr., 2011). Najveći proizvođači šarana u 2008. godini bile su Ruska Federacija, Češka, Poljska, Ukrajina, Nemačka, Mađarska, Izrael, Srbija i Francuska, koje su proizvodile oko 90% šarana u Evropi (Huntington, 2009).

Potrošnja ribe u većini evropskih zemalja zavisi od tradicije konzumiranja, klime, socijalne strukture i ekonomske moći stanovništva, organizacije i snabdevenosti tržišta. Potrošnja ribe i ribljih proizvoda u Evropi, prosečno, iznosi 22,2 kg po glavi stanovnika godišnje (FAO, 2010).

Međutim, evropsko tržište nije homogeno. Južnoevropske i zemlje severne Evrope imaju najveću potrošnju ribe, dok u zemljama centralne i istočne Evrope potrošnja ribe varira između 3 i 16 kg po glavi stanovnika godišnje (Huntington, 2009; Váradi i dr.,

2011). Uzimajući u obzir količinu uvezene ribe, koja je u stalnom porastu, količinu proizvedene i izlovljene ribe iz ribolovnih voda, kao i ribu koja se izvozi, procenjuje se da je realna potrošnja u Srbiji oko 7 kg ribe po glavi stanovnika (Marković i Poleksić, 2011; Marković i Poleksić, 2013). Potrošnja ribe nije kontinualna u toku godine. Najveća je u periodu od oktobra do decembra i u vezi je sa verskom tradicijom – slavamama, kada promet ribe čini i do 60% godišnje trgovine. Razlog male potrošnje ribe u našoj zemlji nije samo u niskoj proizvodnji, slabom ulovu, neodgovarajućoj preradi i ponudi, nego i u nepoznavanju nutritivne vrednosti ribljeg mesa.

2.1 Šaran (*Cyprinus carpio*)

Šaran je omnivorna vrsta ribe. Njegovu glavnu prirodnu hranu čine organizmi makrozoobentosa, kao što su: larve insekata (pre svega iz familije Chironomidae), gliste (sa dominacijom Oligochaeta), mekušci i zooplanktonski organizmi. Prirodna hrana je veoma bitna za rast šarana, zbog bogatog sadržaja proteina, povoljnog aminokiselinskog sastava, vitamina, minerala i nezasićenih masnih kiselina, naročito n-3 polinezasićenih masnih kiselina (Domaizon i dr., 2000; Bogut i dr., 2007; Bogut i dr., 2010). Pored hrane animalnog porekla, koju šaran nalazi u vodi u kojoj živi, hrani se i mladim izdancima i semenkama vodenih i kopnenih biljaka. Do faune dna, makrozoobentosa, šaran dolazi rijući mekano, muljevito dno vodenog ekosistema, čime povećava zamućenost vode, a do zooplanktona filtrirajući vodu branhiospinama u osnovi škrga. Semenke biljaka drobi sa ždrelnim zubima, koji mu služe i za usitnjavanje prirodne hrane, mekušaca, i dodatne zrnaste hrane. U cilju povećanja prisustva prirodne hrane u šaranskim ribnjacima proizvođači primenjuju agrotehničke mere (isušivanje, plitko oranje, tanjiranje...) i đubrenje zemljišta. Time se povećava razvoj fitoplanktonskih organizama, a kroz lance ishrane i zooplanktonskih organizama i faune dna – prirodne hrane šarana. Konzumiranjem ovih organizama šaran zadovoljava najveći deo potreba za proteinima u poluintenzivnom sistemu gajenja baziranim na žitaricama kao dodatnoj hrani (Marković, 2010).

Proizvodnja konzumnog šarana (od 1,5 do preko 2,5 kg) u evropskim temperaturnim uslovima traje 2-3 godine. Najbolji rast se postiže u temperaturnom opsegu vode od 20

do 26 °C i pH vrednostima od 6,5 do 8,5 (Woynarovich, i dr., 2010; Marković, 2010). Međutim, šaran toleriše i znatno niže temperature, čak i led na površini vode, ali i temperature preko 28 °C (Marković, 2010). Temperatura vode na kojoj šaran prestaje da jede nalazi se u opsegu od 4 do 12 °C. Na niskim temperaturama vode, šaran više voli da živi blizu dna ribnjaka, gde je temperatura veća. Međutim, iako je aktivnost šarana i traženje hrane ograničeno u zimskom periodu, postoje istraživanja koja ukazuju da šaran u toku prezimljavanja uzima hranu sa dna ribnjaka: hironomide i oligohete (Bauer i Schlott, 2004; Huet, 1986). Toleriše salinitet vode do oko 5 ‰. Ženke, uglavnom, sazrevaju u trećoj godini života, a mužjaci u drugoj, ili trećoj godini. Mreste se u proleće, kada temperatura vode pređe 17 °C.

Period uzgoja (proizvodna sezona) šarana počinje u proleće, a završava se u jesen. Dužina sezone zavisi od broja toplih dana i varira u zavisnosti od geografskog regiona i nadmorske visine, odnosno klimatskih uslova, ali zavisi i od konzumne veličine ribe, što se razlikuje od zemlje do zemlje. U klimatskim uslovima centralne i istočne Evrope i u zemljama centralne Azije, proizvodnja konzumne ribe može biti završena u roku od dve, ili tri godine (Woynarovich, i dr., 2010). U zemljama gde je sezona duža, proizvodnja konzumne ribe (preko 1 kg telesne mase) traje dve godine, dok u zemljama gde je sezona kraća, ili gde su konzumne mase šarana veće (poput Srbije) proizvodnja se završava tokom ciklusa od tri godine. Šaran se izlovljava u toku uobičajene jesenje sezone i krajem proleća ili leta, da bi se tržište u kontinuitetu snabdevalo ribom.

2.1.1 Sistemi gajenja šarana

Šaran se u ribnjacima gaji sam, u monokulturi, ili u polikulturi, zajedno sa pratećim vrstama kao što su beli tolstolobik (*Hypophthalmichthys molitrix*), sivi tolstolobik (*Arystichthys nobilis*) i beli amur (*Ctenopharyngodon idella*), (Horváth i dr., 1984; Marković, 2010). Prateće vrste riba su, šezdesetih godina dvadesetog veka, uspešno uvedene u evropsku akvakulturu iz Azije. S obzirom na selektivnu ishranu pratećih vrsta, često se gaje u polikulturi i time povećavaju produktivnost ribnjaka i poboljšavaju kvalitet vode. Amur se hrani višim vodenim biljkama (trska, rogoz, drezga i sl.) i time reguliše obraslost ribnjaka. Beli tolstolobik se gaji u ribnjacima sa dosta fitoplanktona, a

sivi tolstolobik tamo gde je dobro razvijen zooplankton. Ove vrste riba nemaju potrebe za dodatnom ishranom. Šaran je zastupljen u polikulturi najčešće oko 50-60% (u Srbiji i preko 80%), dok procenat pratećih vrsta riba zavisi od karakteristika samog ribnjaka, odnosno od proizvodnih planova odgajivača.

Šaran se uzgaja i u integrisanim sistemima sa drugim poljoprivrednim aktivnostima, kao što su stočarstvo i biljna proizvodnja. Postoji veliko interesovanje i za organsku proizvodnju šarana ali, s obzirom da je prati povećanje troškova proizvodnje organske hrane, gubici u prinosima, nedostatak zakonodavstva i kontrole, to stvara nepoverenje između proizvođača i potrošača, koji nisu spremni da plate veću cenu takvog proizvoda. U organskoj proizvodnji šarana dozvoljeno je da se koriste samo žitarice iz organske proizvodnje. Zbog znatno veće cene organskih žitarica (2-3 puta) u odnosu na konvencionalno proizvedene, organska proizvodnja šarana teško može da konkuriše konvencionalnoj proizvodnji.

2.1.2 Dodatna ishrana šarana u poluintenzivnom sistemu gajenja

U zavisnosti od načina ishrane, šaran se gaji u ekstenzivnom, poluintenzivnom i intenzivnom sistemu. Gajenje šarana u ekstenzivnom sistemu se bazira isključivo na prirodnoj hrani iz ribnjaka, zbog čega ima prednost u kvalitetu mesa. Međutim, zbog malih prinosa treba analizirati ekonomsku opravdanost ekstenzivne proizvodnje šarana i moraju da se pronalaze nova rešenja da bi se povećala njegova proizvodna vrednost (Marković i Poleksić, 2011; Ćirković i dr., 2010; Váradi i dr., 2011). Poluintenzivan sistem je dominantan oblik proizvodnje šarana u svetu (97-98%) i bazira se na kombinaciji prirodne i dodatne hrane. Konzumiranjem prirodne hrane iz samog ribnjaka šaran zadovoljava veći deo svojih potreba za proteinima, dok energetske potrebe zadovoljava dodatim, zrnastim ugljeno-hidratnim hranivima. Za dodatnu ishranu šarana, uglavnom, se koriste žitarice, ili jednostavne mešavine žitarica, pirinčane i pšenične mekinje, često pomešane sa pogačama različitih semena uljarica (repica, soja). Sastav ovih smeša varira. U Kini se, najčešće, koristi sojina sačma, susamova pogača, repičino brašno kao i riblje brašno, mesno, mesno- koštano i krvno brašno (Takeuchi i dr., 2002; De Silva, 2012).

Značaj žitarica u ishrani životinja, s obzirom na nutritivnu vrednost proteina (sadržaj, svarljivost i sastav aminokiselina) je najčešće prihvaćena prema redosledu: pšenica – tritikale – kukuruz – ječam - raž (Viola i Arieli, 1983; Degani i dr., 1997). Međutim, postupkom ekstrudiranja ove žitarice postaju podjednako vredne komponente hrane za šarana. Ispitivanja pokazuju da vrsta korišćenih žitarica koje ulaze u sastav kompletne hrane ne utiče značajno na rast i hemijski sastav ribe (Przybyl i Mazurkiewicz, 2004). Dodatna ishrana žitaricama značajno smanjuje sadržaj n-3 polinezasićenih masnih kiselina u odnosu na šarana koji se hrani isključivo prirodnom hranom iz ribnjaka (Vacha i dr., 2007; Steffens i Wirth, 2007).

Postupkom ekstrudiranja povećava se svarljivost i kvalitet proteina žitarica, svarljivost skroba (zbog njegove želatinizacije), povećava se stabilnost i održivost pelete u vodi, što utiče na bolju iskoristljivost hrane (Takeuchi i dr., 1990). Žitarice su, kao komponente u kompletnim smešama, veoma važne u ishrani šarana koji zadovoljava značajan deo svojih energetskih potreba iz skroba. Berlow je 2000. godine predvideo da će se u 2010. godini u gajenju šarana koristiti 50% koncentrovane hrane (De Silva, 2012). Kompletna hrana (peletirana i ekstrudirana) je sve više zastupljena u poluintenzivnom sistemu gajenja šarana u Srbiji (Marković, 2010).

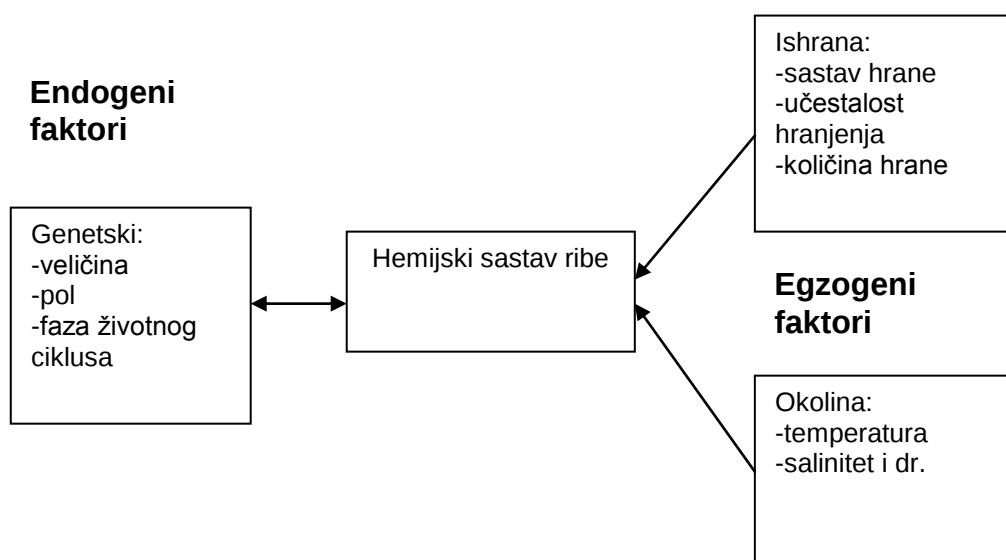
2.1.3 Gajenje šarana u Srbiji i perspektive razvoja

Šaran se u Srbiji počeo gajiti pre više od sto godina. Prva šaranska mlad nabavljena je sa teritorije današnje Mađarske. U šaranskim toplovodnim ribnjacima dominantna gajena vrsta je šaran (*Cyprinus carpio*), koji čini preko 80% ukupno proizvedene ribe. Pored pratećih vrsta (beli tolstolobik, sivi tolstolobik i amur) gaje se, u manjoj meri, i grabljivice: som (*Silurus glanis*) i smuđ (*Stizostedion lucioperka*), zbog regulisanja brojnosti korovske ribe. Šaranski ribnjaci su najvećim delom locirani u ravničarskim krajevima zemlje. S obzirom na potencijale neiskorišćenih površina, snabdevanje vodom i dostupnost stočne hrane, ukupna površina šaranskih ribnjaka u Srbiji je veoma mala. Proizvodnja šarana u ribnjacima je, uglavnom, poluintenzivna (85% proizvedene ribe). Najčešća dodatna hraniva su žitarice: pšenica, kukuruz i ječam. Od 2005. godine sve prisutnije je gajenje šarana sa kompletnom hranom, čime se značajno povećala

proizvodnja, od 1500 do preko 3000 kg/ha. U 2009. i 2010. godini više od 50% konzumnog šarana je prihranjivano kompletnom, pre svega ekstrudiranom hranom (Marković i Poleksić, 2011). Intenziviranje proizvodnje, korišćenjem kvalitetnijih dodatnih hrana, omogućava razvoj akvakulture u našoj zemlji. Povećanje proizvodnje se može postići smanjenjem površina postojećih objekata na šaranskim ribnjacima, sa sadašnjih više stotina hektara na 20 do 50 hektara, unapređenjem tehnologije i boljom preventivnom i zdravstvenom zaštitom gajene ribe, kao i savremenim programima selekcije šarana, čime će se dobiti mlađ boljih proizvodnih osobina.

2.2 Uticaj ishrane na hemijski sastav gajene ribe

Na hemijski sastav ribe utiču brojni faktori, koji se mogu klasifikovati u endogene i egzogene. Endogeni faktori, kao što su veličina ribe, polna zrelost, faza životnog ciklusa, i egzogeni, kao što su temperatura, salinitet vode, vrsta i količina hrane, vreme i učestalost hranjenja i dr. istovremeno utiču na sastav ribe (Shearer, 1994; Huss, 1995), kao što je prikazano na slici 2.1.



Slika 2.1. Faktori koji utiču na hemijski sastav ribe (Shearer, 1994)

2.2.1 Uticaj endogenih faktora na hemijski sastav ribe

Endogeni faktori su povezani sa životnim ciklusom ribe i genetski su kontrolisani. Tokom razvoja, rasta i sazrevanja riblje mladi menja se sastav tela ribe i njen hemijski sastav. Mlad povećava svoju veličinu unosom hrane i ne skladišti energiju (Shearer, 1994). Sa povećanjem mase ribe, povećava se sadržaj lipida i smanjuje sadržaj vlage (Fauconneau i dr., 1995; Huss, 1995). Procenat proteina u telu ribe nastavlja da raste, kao posledica povećanja mišićne mase, dok ne dostigne stalnu vrednost od 16 do 18% telesne mase (Shearer, 1994; Fauconneau i dr., 1995). Sa povećanjem tela ribe, unutrašnji organi čine njen manji deo. U periodu polne zrelosti, proteini i lipidi se mobiliju iz mišića u gonade polno zrelih jedinki i stoga se povećava sadržaj vlage u mišićnom tkivu (Huss, 1995). Riba ulazi u period gladovanja zbog prirodnih, ili fizioloških razloga (mrest, migracija), ili zbog spoljnih faktora, kao što je nedostatak hrane.

Sadržaj proteina i mineralnih materija

Proteini i mineralne materije su endogeno regulisani i određeni vrstom, genetskim karakteristikama i veličinom ribe. Zbog toga njihov sadržaj ne varira mnogo i nije ih lako manipulirati kod gajene ribe, kao što je slučaj sa sadržajem lipida (Haard, 1992; Shearer, 1994; Kaushik, 1995; Morris, 2001). Pored toga, sastav aminokiselina mišića ribe je veoma sličan kod riba iz istog roda, kao i kod riba iz različitih rodova (Wilson, 2002). Sadržaj pepela u telu ribe može biti smanjen u nedostatku esencijalnih minerala u hrani (Schwarz, 1995).

Sadržaj ugljenih hidrata

Sadržaj ugljenih hidrata u ribi je veoma nizak i čini manje od 0,5% telesne mase (Huss, 1995). Ugljeni hidrati su u ribi prisutni kao monosaharidi, glikogen, ili metabolički intermedijeri. Promene u sadržaju lipida ili proteina u ishrani ne utiču direktno na sadržaj ugljenih hidrata u mesu gajene ribe (Wilson, 1994).

Sadržaj lipida

U sadržaju lipida postoje velike razlike između različitih vrsta riba. Masne ribe imaju >8% lipida (npr. losos, skuša), polumasne 4-8%, (npr. barakuda, cipal i ajkula), niskomasne 2-4% (brancin) i suve <2% lipida (npr. bakalar, oslić, smuđ). Nemasne vrste riba deponuju lipide u jetri, dok masnije vrste riba čuvaju lipide u masnim ćelijama koje su raspoređene u drugim delovima tkiva (Ackman, 1990; Huss, 1995). Kod većine ribljih vrsta, kao i kod većine kičmenjaka, deponovani lipidi se sastoje od triglicerida. Kod nemasnih vrsta riba, npr. kod bakalara, fosfolipidi čine 90% od ukupnih lipida (Huss, 1995).

Glavni sterol u mišićima riba je holesterol, koji se nalazi u količinama manjim od 100 mg/100 g, koje nisu mnogo veće od količina koje se nalaze u mišićnom tkivu sisara (Huss, 1995).

Sadržaj vlage

Varijacije u procentu masti kod riba se odražavaju na procenat vlage, jer mast i vlaga, obično, čine oko 80% fileta ribe. Sadržaj vlage u ribi se lako modifikuje promenom u ishrani i, generalno, opada sa povećanjem masti u telu ribe.

2.2.2 Uticaj egzogenih faktora na hemijski sastav ribe

Sadržaj lipida u mesu ribe u direktnoj je vezi sa načinom ishrane. Veći sadržaj lipida ima gajena riba, jer je sadržaj lipida kod riba iz otvorenih voda pod uticajem vrste i dostupnosti hrane iz vodene sredine (Grigorakis i dr., 2002; Orban i dr., 2003). S obzirom da je ishrana, odnosno sastav hrane, najvažniji faktor koji utiče na hemijski sastav ribe, izborom uslova gajenja uzgajivači ribe mogu uticati na kvalitet mesa (Haard, 1992; Huss, 1995; Rasmussen, 2001). Vrsta i količina hrane, kao i vreme i učestalost hranjenja, utiču na povećanje brzine rasta ribe. Ostali faktori, kao što su temperatura, kretanje ribe, davanje steroida, indirektno stimulišu ishranu i stoga i sadržaj masti (Viola i dr., 1992). Povećanjem količina lipida u hrani, kod nekih vrsta riba poboljšava se rast i povećava se skladištenje lipida (Shearer, 1994). Šaran, za razliku od pastrmke, ne može da koristi velike količine lipida iz hrane. Zbog toga, sa

povećanjem količine hrane, koja ima visok sadržaj lipida, i učestalosti hranjenja smanjuje se svarljivost hrane kod šarana (Yamamoto i dr., 2007).

Lipidi se mogu akumulirati u ribi, ne samo kao posledica unosa lipida ishranom, nego i zbog lipogeneze koja nastaje iz proteina i ugljenih hidrata hrane. Zbog toga je veoma teško izolovati pojedinačne efekte proteina, masti, ili ugljenih hidrata iz hrane na hemijski sastav mesa ribe. Uobičajeno je da se razmotri uticaj energije, ili odnos proteina i energije, u hrani na sastav mesa ribe. Davanje visoko energetske hrane u cilju stimulacije rasta i skraćivanja vremena uzgoja utiče na povećanje sadržaja masti, dok sadržaj proteina u mesu ostaje nepromenjen (Kaushik, 1995; Fauconneau i dr., 1995).

Promene u hemijskom sastavu, koje su u vezi sa veličinom i starošću ribe i uslovima gajenja, su veoma važne u proceni kvaliteta ribe (Fauconneau i dr., 1995). Količina proteina i pepela zavise od veličine ribe i životnog ciklusa ribe. Sadržaj lipida se povećava sa veličinom ribe, a količina vlage i lipida su inverzno povezane (Shearer, 1994).

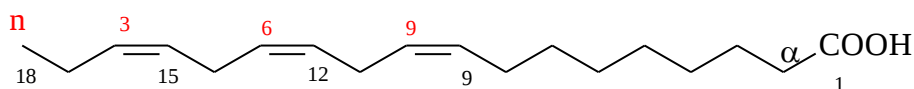
2.3 Struktura i nomenklatura masnih kiselina

Struktura masnih kiselina je određena na osnovu dužine lanca (broja C atoma), stepena nezasićenja (broja dvostrukih veza) i položaja dvostruke veze.

U skladu sa nomenklaturom Međunarodne unije za čistu i primenjenu hemiju (IUPAC - International Union of Pure and Applied Chemistry), masne kiseline su sistematske nazive dobile prema zasićenom ugljovodoniku, kao najdužem nizu koji sadrži karboksilnu grupu, sa nastavkom *-ska kiselina* (IUPAC, 1978). Brojanje lanca počinje od ugljenikovog atoma karboksilne grupe, a geometrijski položaj dvostruke veze se označava sa *cis* ili *trans*. Na slici 2.2 prikazana je struktura *cis*-9,*cis*-12,*cis*-15-oktadekatrienske kiseline (linolenska kiselina). Sistematsko ime *oktadeka* - označava broj C atoma (18), sufiks *trien* označava tri dvostruke veze koje se nalaze u *cis* položaju na 9, 12 i 15 ugljenikovom atomu od karboksilne grupe. Mada IUPAC nomenklatura nesumnjivo opisuje hemijsku strukturu, imena masnih kiselina su dugačka, pa je uobičajeno da se u naučnoj literaturi koriste trivijalna imena, ili skraćene oznake, kao

što je 16:0, gde 16 označava broj C atoma. 14:0 i 16:0 su zasićene masne kiseline sa 14, odnosno 16 C atoma bez dvostrukih veza (:0).

Nomenklatura koja se koristi u označavanju položaja dvostruke veze od metil (-CH₃) kraja lanca (*n*), definiše različite metaboličke serije, kao što su n-9, n-6 i n-3 (dvostruke veze se nalaze na devetom, šestom i trećem C atomu). Na slici 2.2, na kojoj je prikazana struktura linolenske kiseline, 18:3n-3 označava masnu kiselinu sa 18 C atoma i tri dvostruke veze (:3). Prva dvostruka veza nalazi se na trećem C atomu (n-3) od metil grupe sa kraja lanca, a položaj ostalih dvostrukih veza definisan je u celoj strukturi jer su dvostruke veze razdvojene metilenskom (-CH₂-) grupom.



Slika 2.2. Struktura linolenske kiseline (18:3n-3)
cis-9, cis-12, cis-15 - oktadekatrienska kiselina

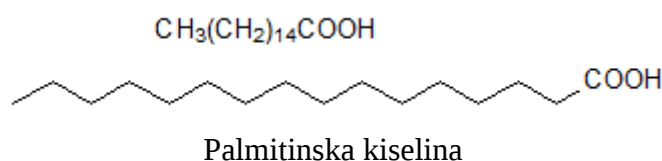
Trivijalna imena nekih masnih kiselina, kao što su palmitinska (16:0), oleinska (18:1n-9) i linolenska kiselina (18:3n-3), ukazuju na njihovo poreklo (palmino, maslinovo i laneno ulje). Formalnija, grčko-latinska, imena kao što su eikozapentaenska (20:5n-3) i dokozaheksaenska (22:6n-3), ukazuju na broj C atoma (20, 22) i broj dvostrukih veza (5 i 6).

2.3.1 Zasićene masne kiseline

Najviše zastupljene zasićene masne kiseline u tkivu životinja su 14:0, 16:0 i 18:0. Fosfolipidi, od masnih kiselina, sadrže značajne količine 16:0, 18:0 i, u manjoj meri, 20:0. U tabeli 2.1 date su najčešće zastupljene zasićene masne kiseline u mastima i uljima koje sadrže namirnice. Struktura zasićenih masnih kiselina je prikazana na slici 2.3.

Tabela 2.1. Nomenklatura zasićenih masnih kiselina

Trivijalno ime	Sistematsko ime	Skraćeno ime
buterna	butanska	4:0
kapronska	heksanska	6:0
kaprilna	oktanska	8:0
kaprinska	dekanska	10:0
laurinska	dodekanska	12:0
miristinska	tetradekanska	14:0
palmitinska	heksadekanska	16:0
stearinska	oktadekanska	18:0
arahidska	eikozanska	20:0
lignocerinska	tetrakozanska	24:0



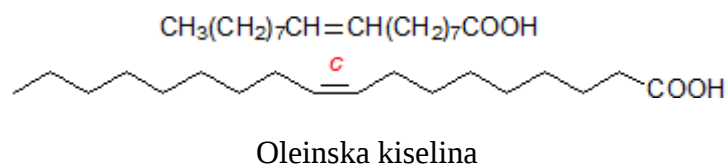
Slika 2.3. Struktura zasićenih masnih kiselina

2.3.2 Mononezasićene masne kiseline

U fosfolipidima, od mononezasićenih masnih kiselina, najviše su zastupljene 16:1, 18:1, i, u manjoj meri, 20:1. U mnogim trigliceridima su zastupljene gadoleinska (20:1n-9) i ketoleinska (22:1n-11) kiselina, koje potiču iz zooplanktona (Sargent i dr., 1989). U mnogim vrstama bakterija *cis* - 11 - oktadecenska (18:1n-7) je glavna mononezasićena masna kiselina. Kod preživara, kao sporedni proizvod biohidrogenacije, je prisutna 18:1*trans*-11 masna kiselina. U tabeli 2.2 date su najčešće zastupljene mononezasićene masne kiseline. Njihova struktura je prikazana na slici 2.4.

Tabela 2.2. Nomenklatura mononezasićenih masnih kiselina

Trivijalno ime	Sistematsko ime	Skraćeno ime
palmitoleinska	cis-9 - heksadecenska	16:1n-7
oleinska	cis-9 - oktadecenska	18:1n-9
cis - vascenska	cis-11 - oktadecenska	18:1n-7
gadoleinska	cis-9 - eikozenska	20:1n-11
gondoinjska	cis-11 - eikozenska	20:1n-9
eručna (eruka)	cis-13 - dokozenjska	22:1n-9
nervonska	cis-15 - tetrakozenska	24:1n-9



Slika 2.4. Struktura mononezasićenih masnih kiselina

2.3.3 Polinezasićene masne kiseline

Kod polinezasićenih masnih kiselina dvostruke veze imaju *cis* diensku strukturu i razdvojene su metilenskom grupom $-\text{CH}_2-$ (slike 2.5 i 2.6). *n*-sistem označavanja je od velike važnosti jer biljni i životinjski lipidi sadrže familije masnih kiselina sa sličnom terminalnom strukturom, ali različitom dužinom lanca jer su nastale elongacijom ili beta oksidacijom od svojih prekursora. U popularnoj literaturi *n*-6 i *n*-3 masne kiseline se često označavaju sa omega, ali takvo označavanje IUPAC ne preporučuje (IUPAC-IUB, 1978). U tabeli 2.3 date su najvažnije *n*-6, a u tabeli 2.4 najvažnije *n*-3 polinezasićene masne kiseline u mastima i uljima koje sadrže namirnice.

Tabela 2.3. Nomenklatura n-6 polinezasićenih masnih kiselina

Trivijalno ime	Sistematsko ime	Skraćeno ime
linolna	cis-9, cis-12 - oktadekadienska	18:2n-6 (LA)
γ - linolenska	cis-6, cis-9, cis-12 - oktadekatrienska	18:3n-6 (GLA)
dihomo - γ linolenska	cis-8, cis-11, cis-14 - eikozatrienska	20:3n-6 (DHGLA)
arahidonska	cis-5, cis-8, cis-11, cis-14 - eikozatetraenska	20:4n-6 (AA)

Tabela 2.4. Nomenklatura n-3 polinezasićenih masnih kiselina

Trivijalno ime	Sistematsko ime	Skraćeno ime
α - linolenska	cis-9, cis-12, cis-15 - oktadekatrienska	18:3n-3 (ALA)
stearidonska	cis-6, cis-9, cis-12, cis-15 - oktadekatetraenska	18:4n-3 (SDA)
eikozapentaenska	cis-5, cis-8, cis-11, cis-14, cis-17 - eikozapentaenska	20:5n-3 (EPA)
dokozapentaenska	cis-7, cis-10, cis-13, cis-16, cis-19 - dokozapentaenska	22:5n-3 (DPA)
dokozaheksaenska	cis-4, cis-7, cis-10, cis-13, cis-16, cis-19 - dokozaheksaenska	22:6n-3 (DHA)

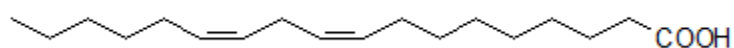
Morski organizmi, a naročito alge, sadrže polinezasićene masne kiseline sa 16 C atoma i 2-4 dvostruke veze, 18 C atoma sa 2-5, 20 C atoma sa 2-5 i 22 C atoma sa 2-6 dvostrukih veza. Ove polinezasićene masne kiseline su, uglavnom, n-3 serije, mada mogu biti i n-6 serije. Linolna kiselina je najviše zastupljena od n-6 masnih kiselina i njena količina u tkivu životinja zavisi od ishrane. Ostale n-6 masne kiseline, kao što su 18:3n-6, 20:2n-6 i 20:3n-6, su prisutne u tkivu životinja u neznatnim količinama od 1 do 2%. Arahidonska kiselina je najvažniji metabolit linolne kiseline. Često je najzastupljenija polinezasićena masna kiselina u fosfolipidima i ima važnu ulogu u ćelijskim membranama (Christie, 2012).

n-3 masne kiseline, kao što su 18:3n-3 i 20:3n-3, su prisutne u fosfolipidima animalnih tkiva i retko prelaze 1%. 20:5n-3 je jedna od najvažnijih masnih kiselina n-3 familije. Pojavljuje se u algama i važan je konstituent fosfolipida u mišićnom tkivu ribe.

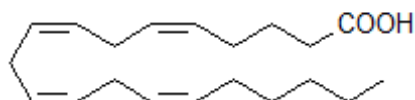
Masna kiselina 22:5n-3 je malo proučavana. Važan je konstituent ribljeg ulja i uobičajeno je prisutna u fosfolipidima, u količini 2 - 5%, a poznato je da se može

konvertovati u 20:5n-3 masnu kiselinu. Međutim, desaturacija u 22:6n-3 se ne dešava u ribi, koja je najvažnija masna kiselina u fosfolipidima u tkivu riba (Christie, 2012).

Međutim, glavne polinezasićene masne kiseline koje se razmatraju u ribama su arahidonska (20:4n-6), linolna (18:2n-6), EPA (20:5n-3) i DHA (22:6n-3), sa njihovim prekursorom linolenskom kiselinom (18:3n-3), (Slike 2.5 i 2.6). Visoko nezasićene (HUFA, *highly unsaturated fatty acids*) su masne kiseline sa 20 i više C atoma, sa tri i više dvostrukih veza.

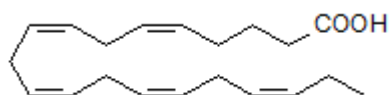


Linolna kiselina

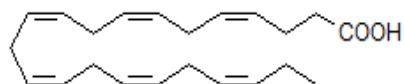


Arahidonska kiselina

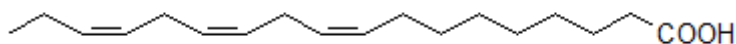
Slika 2.5. Struktura n-6 polinezasićenih masnih kiselina



Eikozapentaenska kiselina



Dokozaheksaenska kiselina

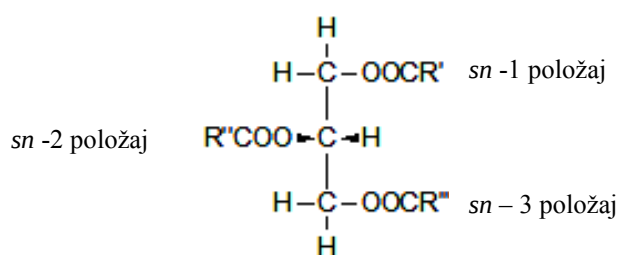


α -Linolenska kiselina

Slika 2.6. Struktura n-3 polinezasićenih masnih kiselina

2.4 Uloga lipida – metabolizam i biosinteza masnih kiselina

Kada se razmatraju potrebe riba za lipidima, korisno je razmotriti potrebe riba za masnim kiselinama koje su njihov sastavni deo. Masti i ulja se sastoje od smeše estara glicerola i masnih kiselina (triacilglicerola). Triacilgliceroli se najčešće sastoje od dve ili tri različite masne kiseline koje su esterifikovane u *sn*-1, *sn*-2 i/ili *sn*-3 položaju L - glicerola (Slika 2.7). U molekulu triacilglicerola jedna masna kiselina može da se esterifikuje u sva tri položaja glicerola, kao što je, na primer, triolein, sa oleinskom kiselinom u *sn*-1, *sn*-2 i *sn*-3 položaju, ili u dva položaja, npr. dioleomonopalmitoil glicerol. Generalno, zasićene i mononezasićene masne kiseline se vezuju u *sn*-1 i *sn*-3, dok polinezasićene u *sn*-2 položaju (Christie, 2011). Međutim, postoje izuzeci od ovog pravila.



Slika 2.7. Fišerova formula triacil-*sn*-glicerola

Glavna uloga lipida je snabdevanje organizma metaboličkom energijom u obliku adenosin-trifosfata (ATP), koji nastaje β - oksidacijom masnih kiselina (Sargent i dr., 1989; Froyland i dr., 2000). Lipidi su rezervne energetske materije, prioritetni su izvor metaboličke energije za rast, reprodukciju i kretanje, naročito morskih riba, što dokazuje i velika količina lipida kod haringe. S obzirom da je riblje ulje glavni izvor lipida u kompletnoj hrani za morske ribe, masne kiseline koje su dominantni izvor metaboličke energije su 16:0 i 18:1n-9, jer se konzumiraju u velikim količinama tokom rasta, zatim 20:1n-9, 22:1n-11 i n-3 polinezasićene masne kiseline naročito, 20:5n-3 i 22:6n-3. Morske ribe tzv. severnih voda karakteriše visok sadržaj mononezasićenih masnih kiselina 20:1n-9 i 22:1n-9 koje potiču iz zooplanktona koji su važni u ishrani morskih riba. Odnos esencijalnih masnih kiselina EPA:DHA kod morskih riba je 1-1.5. Sa druge

strane, morske ribe južne hemisfere imaju manji sadržaj 20:1 i 22:1 i veći sadržaj n-3 polinezasićenih masnih kiselina, sa odnosom EPA:DHA do 2. Izuzetak je tuna, koja ima veći sadržaj DHA i odnos DHA:EPA može biti 7,4-11,3 (Medina i dr., 1995). Dominantne zasićene masne kiseline u ulju riba su 16:0 i 18:0, a prisutne su i znatne količine mononezasićene 18:1n-9 masne kiseline.

Masne kiseline 6:0, 8:0, 10:0, kao potencijalni izvori energije, nemaju bitnu ulogu i ishrana ovim masnim kiselinama nema uticaja na masnokiselinski sastav tkiva riba. Naprotiv, one mogu i da utiču na smanjenje unosa hrane i apsorpciju dugolančanih polinezasićenih masnih kiselina (Fontagne i dr., 2000a; Fontagne i dr., 2000b; Røsjø i dr., 2000).

2.4.1 Biosinteza zasićenih masnih kiselina

Lipogeneza je proces biosinteze novih endogenih lipida i odvija se u jetri. Delovanjem enzima (sintaza masnih kiselina), na acetyl-CoA (acetyl koenzim A), koji je prekursor svih ugljenikovih atoma u masnim kiselinama, nastaju masne kiseline 16:0 i 18:0, koje mogu da se biosintetišu *de novo* u svim organizmima, pa i u ribi (Sargent i dr., 1989). Sa povećanjem temperature, delovanjem enzima, dolazi do povećanja količina zasićenih masnih kiselina. Na taj način, ribe su sposobne da se, procesom biosinteze masnih kiselina, vrlo brzo prilagode temperaturnim uslovima, što je veoma bitno za preživljavanje.

Kod ishrane bogate proteinima koji imaju manji sadržaj ugljenih hidrata pojedine aminokiseline su prioritetan izvor ugljenika za sintezu masnih kiselina lipogenezom. Ishrana sa većim udelom lipida u odnosu na proteine smanjuje aktivnost lipogenih enzima, odnosno lipidi koji su prisutni u hrani suzbijaju lipogenezu (Shimeno i dr., 1995). Ishrana bogata ugljenim hidratima, a manjom količinom lipida, povećava lipogenezu iz glukoze (Brauge i dr., 1995).

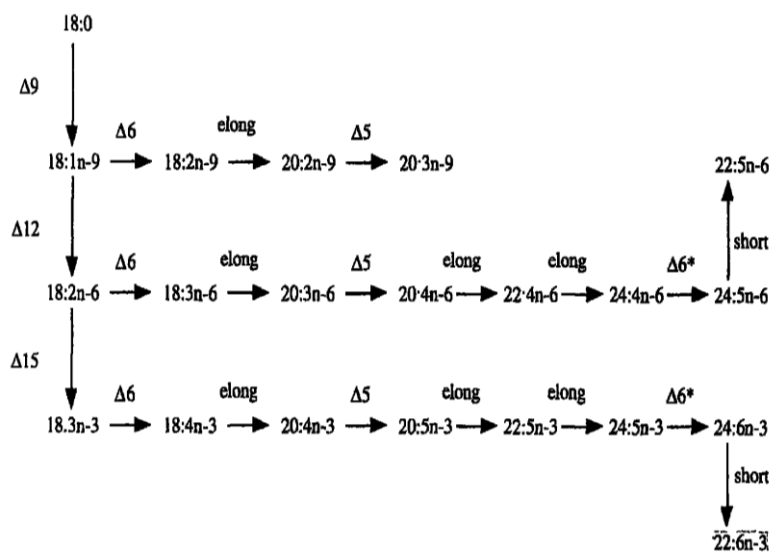
2.4.2 Biosinteza mononezasićenih masnih kiselina

Ribe, kao i ostali kičmenjaci, su sposobne da desaturišu 16:0 u 16:1n-7 i 18:0 u 18:1n-9, što je od fiziološke važnosti jer nastale mononezasićene masne kiseline imaju nižu tačku

topljenja nego njihovi zasićeni prekursori. Na taj način, enzimi $\Delta 9$ desaturaze, regulišu fluidnost ćelijskih membrana u fosfolipidima. Manje proučavan je način na koji masne kiseline 16:1n-7 i, naročito, 18:1n-9 dalje produžavaju svoj lanac i prelaze u više homologe, 18:1n-7, 20:1n-9, 22:1n-9 i 24:1n-9.

2.4.3 Biosinteza polinezasićenih masnih kiselina

Svi kičmenjaci, uključujući i ribe, ne mogu da sintetišu masne kiseline 18:2n-6 i 18:3n-3 iz 18:1n-9 zbog nedostatka enzima $\Delta 12$ i $\Delta 15$ desaturaza (Tocher, 2003), i stoga su 18:2n-6 i 18:3n-3 esencijalne masne kiseline u njihovoj ishrani. Ribe mogu da desaturišu i elongiraju 18:2n-6 i 18:3n-3 u fiziološki esencijalne masne kiseline 20:4n-6, 20:5n-3 i 22:6n-3, što zavisi od relativne aktivnosti enzima $\Delta 6$ i $\Delta 5$ desaturaza i elongaza (slika 2.8). Zbog obilja 20:5n-3 i 22:6n-3 masnih kiselina u njihovoj ishrani, morske ribe imaju, za razliku od slatkovodnih riba, slabiju aktivnost ovih enzima (Steffens, 1997; Tocher, 2003).



Slika 2.8. Shema biosinteze C20 i C22 polinezasićenih masnih kiselina iz n-3, n-6 i n-9 C18 prekursora. $\Delta 5$, $\Delta 6$, $\Delta 6^*$, $\Delta 9$, $\Delta 12$, $\Delta 15$ - desaturaze masnih kiselina; elong - elongaze masnih kiselina; short - skraćenje lanca (Tocher, 2003).

Potrebe riba za esencijalnim masnim kiselinama su, zbog toga, u određenoj meri, u vezi sa sposobnošću riba da metabolički modifikuju ove masne kiseline. Slatkovodne ribe imaju potrebe za linolnom (18:2n-6) ili linolenskom kiselinom (18:3n-3), ili obe (npr. šaran, tilapija), dok morske ribe imaju potrebe za EPA i DHA. (NRC, 2011). Najveći pokazatelji deficitarnosti esencijalnih masnih kiselina su promene na koži ribe, miokarditis, sporiji rast, smanjena efikasnost hrane i smrtnost (Takeuchi i Watanabe, 1977; Takeuchi, 1996). Pokazatelj deficitarnosti esencijalnih masnih kiselina je desaturacija i elongacija oleinske kiseline u 20:3n-9, koja se u povećanoj koncentraciji može naći u ribi (Farkas i dr., 1977; Csengeri, 1996). Esencijalne masne kiseline, kao komponente fosfolipida, imaju važnu ulogu u mnogim metaboličkim funkcijama.

2.4.4 Uloga masnih kiselina i holesterola u ćelijskim membranama

Ribe nemaju konstantu telesnu temperaturu, već se prilagođavaju stalnim promenama temperature okoline kako bi obezbedile odgovarajuće fizičko-hemijske osobine svojih ćelijskih membrana. Fosfolipidi su glavni konstituenti lipida ćelijskih membrana i omogućavaju da površina membrana bude hidrofobna, ili hidrofilna, u zavisnosti od orijentacije masnih kiselina u intra- ili ekstracelularnim prostorima. Fosfolipidi, uglavnom, sadrže 16:0, 18:0, DHA i EPA masne kiseline.

Sadržaj polinezasićenih masnih kiselina u ukupnim lipidima i fosfolipidima je veći u tkivu ribe koja se prilagodila hladnijoj sredini, odnosno u zimskom periodu, nego u tkivu ribe u toplijoj sredini (Farkas i Csengeri, 1976; Farkas i dr., 2000). Razlog tome je u činjenici da sa smanjenjem temperature, enzimskim procesom elongacije i desaturacije lanca linolne i linolenske kiseline, dolazi do nastajanja i akumulacije dugolančanih polinezasićenih masnih kiselina.

Sa povećanjem temperature, delovanjem enzima sintaza masnih kiselina, dolazi do povećanja količina zasićenih masnih kiselina. Visoko nezasićene masne kiseline imaju vrlo nisku tačku topljenja, što povećava fluidnost ćelijskih membrana, dok zasićene masne kiseline imaju mnogo veću tačku topljenja, što dovodi do smanjenja njene fluidnosti. DHA je, naročito, važna u biološkim sistemima, jer ima najduži lanac C atoma i najviše je nezasićena masna kiselina (šest dvostrukih veza). Utvrđen je uticaj n-

3 polinezasićenih masnih kiselina iz hrane na poboljšanje fluidnosti membrana, što povećava toleranciju ribe na hladnije uslove okoline (Kelly i Kohler, 1999).

Holesterol je najvažniji sterol, i ima ulogu da dovede do čvršćeg pakovanja fosfolipida i, na taj način, utiče na fluidnost membrana, (Ohvo - Rekila i dr., 2002). Holesterol i nezasićene masne kiseline su važni faktori u kontrolisanju fluidnosti membrana. Prilagođavanje ribe na hladnije temperaturne uslove ima za posledicu smanjenje sadržaja holesterola (Hazel i Williams, 1990; Yeagle, 1985).

2.5 Uticaj ishrane na sastav masnih kiselina ribe

Sadržaj lipida i sastav masnih kiselina ribe variraju unutar iste vrste i između vrsta, a mnogobrojni faktori dodatno doprinose ovim varijacijama (Vandeputte i dr., 2008; Haliloglu i Aras, 2002). Brojna istraživanja ukazuju da masnokiselinski sastav hrane bitno utiče na sastav masnih kiselina u mesu ribe (Caballero i dr., 2002; Steffens i Wirth, 2007; Jobling i dr., 2008; Bergstrom, 1989). Na sastav masnih kiselina mogu da utiču i faktori životne sredine, kao što je temperatura, kvalitet vode, sezona (Tocher i Sargent, 1990; Geri i dr., 1995b; Rasoarahona i dr., 2004; Guler i dr., 2008), zatim veličina i starost životinje (Kiessling i dr., 2001).

2.5.1 Sastav masnih kiselina gajene ribe i ribe otvorenih voda

Generalno, gajena riba ima veće količine masti nego riba iz otvorenih voda. Ribu iz otvorenih voda karakteriše veći sadržaj n-3 polinezasićenih masnih kiselina i veći odnos n-3/n-6 masnih kiselina (Steffens, 1997). Lipidi morske ribe imaju manji sadržaj linolne i linolenske kiseline (18:3n-3), međutim, sadrže više n-3 polinezasićenih masnih kiselina. Morske ribe konzumiraju alge (fitoplankton) koje su bogate u EPA (20:5n-3) i DHA (22:6n-3), ili manje ribe, mekušce i rakove, koji se hrane algama (Steffens, 1997). Slatkovodne ribe, međutim, imaju veći sadržaj n-6 masnih kiselina, linolne (18:2n-6) i arahidonske (20:4n-6, AA) i, stoga, različit sastav masnih kiselina, jer se hrane slatkovodnim algama, ljuskarima i larvama vodenih insekata koji su bogati 18:2n-6, 18:3n-3 i EPA (Steffens, 1997).

Uticaj ishrane na sastav masnih kiselina u tkivu ribe je ispitano za brojne gajene i divlje vrste (Bergstrom, 1989; Haard, 1992; Shearer, 1994; Sérot i dr., 1998; Alasalvar i dr., 2002; Grigorakis i dr., 2002). Riblje ulje se, najčešće, koristi kao komponenta hrane za ishranu gajenih riba, zbog palatabilnosti, ali, što je najvažnije, i zbog sastava masnih kiselina. Velike količine n-3 masnih kiselina koje su prisutne u ribljem ulju utiču na sastav masnih kiselina mišićnog tkiva ribe i time povećavaju njenu nutritivnu vrednost (Haard, 1992; Rasmussen, 2001; Steffens, 1997; Sérot i dr., 1998). Riblje ulje je važna komponenta hrane u ishrani lososa (25%) i pastrmke (17,5%) i oko 65% proizvedenog ribljeg ulja koristi se u akvakulturi ove dve vrste riba (Huntington i Hasan, 2009). Cyprinidae zahtevaju manje količine ribljeg ulja, 1-2%. Hrana bogatija n-3 polinezasićenim masnim kiselinama, pri istim uslovima uzgoja, značajno utiče na povećanje n-3/n-6 odnosa u tkivu ribe.

Poređenje sastava masnih kiselina korišćenjem multivariantne analize podataka i linearne regresije pokazala su da se sastav masnih kiselina u mišićnom tkivu riba hranjenih različitim vrstama hrane jasno razlikuje i veoma je sličan sa masnim kiselinama zastupljenim u hrani (Barrado i dr., 2003). Takođe, gajena riba se razlikuje od riba iz otvorenih voda, zbog načina ishrane, a utvrđene su i sezonske razlike (Rosenlund i dr., 2001; Rasoarahona i dr., 2004; Jensen i dr., 2007).

2.5.2 Uticaj ishrane bazirane na uljima biljnog porekla na sastav masnih kiselina

Sastav masnih kiselina ulja biljnog porekla razlikuje se od ribljeg ulja i, shodno tome, utiče na sastav masnih kiselina u tkivu ribe, pre svega, smanjuje se količina n-3 masnih kiselina. Gajenu ribu, u čijoj su ishrani dodata ulja biljnog porekla, karakteriše veći sadržaj oleinske (18:1n-9) i linolne (18:2n-6) kiseline, zbog njihove veće zastupljenosti u biljnim uljima. Sojino, suncokretovo i repičino ulje se često koriste kao komponenta hrane za ribu i posebno su bogate ovim masnim kiselinama (Turchini i dr., 2009; Rosenlund i dr., 2001; Menoyo i dr., 2007).

Laneno ulje je bogato linolenskom (18:3n-3) kiselinom. Ishrana ribe sa lanenim uljem, kao izvorom lipida, dovodi do povećavanja sadržaja n-3 masnih kiselina u mesu ribe i povećanja odnosa n-3/n-6 masnih kiselina (Menoyo i dr., 2007).

Ispitivanja delimične zamene ribljeg ulja u ishrani riba sa biljnim uljima pokazala su da ishrana biljnim uljima nema uticaja na rast ribe, svarljivost lipida, konverziju hrane, ali dolazi do histoloških promena kao posledica uticaja lipida iz hrane na transport i metabolizam masti u ribi (Caballero i dr., 2002). Kod morskih vrsta riba potpuna zamena ribljeg ulja u hrani sa uljima biljnog porekla značajno smanjuje rast ribe, zbog potreba ribe za esencijalnim masnim kiselinama EPA i DHA (Montero i dr., 2008; Berge i dr., 2009). Takođe, istraživanja ukazuju i na negativne uticaje ishrane bazirane na biljnim uljima na imuni sistem riba (Fracalossi i Lowell, 1994; Kiron i dr., 1995; Montero i dr., 2008).

Brojna ispitivanja ukazuju da, u cilju poboljšanja kvaliteta ribe čija se ishrana bazira na biljnim uljima, sastav masnih kiselina može da se menja nekoliko nedelja pre izlova korišćenjem hrane koja sadrži riblje ulje (Bell i dr., 2003; Glencross i dr., 2003; Izquierdo i dr., 2005).

Međutim, teško je predvideti sastav masnih kiselina ribe na osnovu sastava komponenti hrane, zbog toga što su masne kiseline pod različitim metaboličkim uticajima, kao što su inkorporiranje (Linares i Henderson, 1991), β -oksidacija (Kiesling i Kiesling, 1993), lipogenska aktivnost, ili procesi elongacije i desaturacije masnih kiselina (Henderson i Sargent, 1985).

Takođe, veoma je teško predvideti vreme koje je potrebno da se postigne relativno stabilan masnokiselinski sastav ribe hranjene određenom vrstom hrane. To bi moglo da bude relativno kratak (Skonberg i dr., 1994), ili duži vremenski period (Tidwell i Robinette, 1990). Uticaj hrane na sastav masnih kiselina kod riblje mlađi ribe je moguće postići u relativno kratkom vremenskom periodu zbog brzog rasta ribe (Jobling i dr., 2008). U slučaju velikih riba, zbog male relativne mase prirasta, početni sastav masnih kiselina će i dalje imati snažan uticaj na njihov konačni sastav. Stoga je bitno da se, menjajući masnokiselinski sastav hrane, prate promene sastava masnih kiselina ribe imajući u vidu unos hrane, povećanje mase ribe i trajanje ishrane.

2.5.3 Uticaj ishrane na metabolizam masnih kiselina kod šarana

Postoji nekoliko istraživanja o uticaju ishrane na metabolizam masnih kiselina u lipidima šarana i o potrebi šarana za esencijalnim masnim kiselinama. Ova ispitivanja su najviše rađena u Japanu i Mađarskoj (Watanabe i dr., 1975; Takeuchi i Watanabe, 1977; Farkas i Csengeri, 1976; Farkas i dr., 1977; Farkas i dr., 1978; Farkas i dr., 1980; Takeuchi i dr., 1987; Csengeri, 1996).

Farkas i Csengeri (1976) su ispitali metaboličke promene masnih kiselina u jetri i mišićnom tkivu šarana u zavisnosti od temperature okoline. Sa radioaktivno obeleženim ^{14}C acetatom ispitana je inkorporacija masnih kiselina u fosfolipide i trigliceride jetre šarana u toplijem (22 °C) i hladnijem periodu (5 °C). U ukupnim lipidima i fosfolipidima su više bile zastupljene 20:4n-6 i 22:6n-3 kod riba koje su se adaptirale hladnim temperaturnim uslovima nego toplim. Sadržaj 16:0 se smanjio za 50%, dok se, suprotno tome, sadržaj 18:0 povećao. Količina 18:1n-9 se nije značajno promenila.

Farkas i dr. (1977) su ispitali uticaj ishrane sa različitim udelom 18:3n-3 u hrani na deficitarnost esencijalnih masnih kiselina u lipidima šarana. Rezultati su pokazali da je sadržaj oleinske kiseline u trigliceridima mišićnog tkiva ribe bio u inverznoj korelaciji sa sadržajem linolenske kiseline u hrani. Stvaranje 20:3n-9 je bilo u korelaciji sa oleinskom kiselinom kao njenim prekursorom i u vezi sa smanjivanjem 20:3n-3 i 22:6n-3. Utvrđeno je da sadržaj 22:6n-3 u ribi zavisi od koncentracije linolenske kiseline u hrani. S obzirom da je kukuruz deficitaran u 18:3n-3, DHA je bila najmanje zastupljena u lipidima šarana hranjenih kukuruzom. Odnos 20:3n-9 i 22:6n-3 može da se koristi kao pokazatelj deficitarnosti esencijalnih masnih kiselina u ribi (Watanabe i dr., 1975). U šaranima koji su hranjeni kukuruzom utvrđena je intenzivna elongacija i desaturacija 18:2n-6 i pretvaranje u 20:4n-6 i 22:5n-6. Ova istraživanja su pokazala da linolna kiselina ne može da zameni linolensku kiselinu i da spreči stvaranje 20:3n-9 (Farkas i dr., 1977).

Ispitivanja su pokazala da ishrana šarana sa hranom bogatom ugljenim hidratima i niskim sadržajem masti (ishrana sa kukuruzom i pšenicom) dovodi do visokog stepena biosinteze masnih kiselina (Farkas i dr., 1978). Glavni proizvod biosinteze su masne

kiseline 16:0 i 18:1n-9. Rezultati su pokazali da je potrebno 1% linolenske kiseline u hrani da održi lipogenezu na niskom nivou i da spreči hiperprodukciju oleinske kiseline kod šarana.

Šaran najbolji prirast i iskorišćenje hrane postiže ukoliko hrana sadrži 1% linolne i 1% linolenske kiseline (Watanabe i dr., 1975; Takeuchi i Watanabe, 1977; Takeuchi, 1996). Linolenska kiselina u hrani može se zameniti sa 0,5-1% EPA i DHA. Watanabe i dr. (1975) su ustanovili da šaran ima naglašene potrebe za esencijalnim masnim kiselinama n-3 serije, ali da je manje osetljiv na njihov nedostatak nego ribe iz grupe salmonida.

Farkas i dr. (1980) ispitali su deponovanje masnih kiselina u šaranu koji je hranjen hranom sa različitim sadržajem lipida i različitim udelom linolenske kiseline. Linolenska kiselina se deponovala u trigliceridima ali ne i u fosfolipidima. Međutim, formiranje 22:6n-3 u fosfolipidima je bilo u vezi sa količinom 18:3n-3 u hrani. Ova istraživanja su veoma značajna za prilagođavanje ribe, zimi, na niske temperature i zbog saznanja o doprinosu formirane 22:6n-3 fluidnosti membrana. Šaran koji je deficitaran u esencijalnim masnim kiselinama ne može da proizvede visoko nezasićene masne kiseline kod naglog pada temperature.

Poljski autori Bieniarz i dr. (2001) su ispitali sastav masnih kiselina i sadržaj holesterola u mesu različitih genetskih linija šarana gajenih pod istim uslovima i hranjenih istom vrstom hrane. Ova ispitivanja su pokazala da je sadržaj polinezasićenih masnih kiselina i holesterola do izvesne mere genetski uslovljen, što omogućava selekciju šarana u cilju dobijanja populacije sa većim udelom polinezasićenih masnih kiselina i manjim sadržajem holesterola, a time i kvalitetnije hrane za ljudsku ishranu. Sličnim ispitivanjima Buchtové i dr. (2007) utvrđene su razlike u sadržaju ukupnih polinezasićenih masnih kiselina u mesu šarana.

Nema mnogo podataka o uticaju dodatne hrane na masnokiselinski sastav mesa šarana gajenog u ribnjacima. U odnosu na brojna istraživanja lososa i pastrmke, koje su dve najviše gajene vrste riba u Evropi, ispitivanja o uticaju ishrane na kvalitet mesa šarana su sporadična: u Češkoj (Vacha i Tvrzicka, 1995; Fajmonova i dr, 2003; Vacha i dr. 2007; Mráz i Pickova, 2009), Mađarskoj (Trenovszki i dr., 2011), Izraelu (Viola i dr.,1988), Poljskoj (Bieniarz i dr., 2001), Bugarskoj (Hadjinikolova, 2004). Postoji malo

podataka i o uticaju sezone na sadržaj masti i na sastav masnih kiselina mesa šarana u jezerima (Rasoarahona i dr., 2004; Guler i dr., 2008; Guler i dr., 2011).

Ispitivanja o uticaju vrste hrane (prirodna hrana, žitarice, kompletna hrana) na hemijski sastav i sastav masnih kiselina šarana realizovana su u nekoliko studija. Šaran koji se hrani isključivo prirodnom hranom, u ekstenzivnom sistemu, sadrži manje lipida, više n-3 polinezasićenih masnih kiselina i ima bolji odnos n-3/n-6 od šarana prihranjivanih žitaricama i kompletnom hranom (Steffens i Wirth, 2007; Ćirković i dr., 2010). Šaran ima sposobnost elongacije i desaturacije 18:2n-6 i 18:3n-3 u visokonezasićene n-3 masne kiseline sa >20 C atoma (Henderson i Tocher, 1987; Steffens, 1997).

Rezultati koje su dobili Steffens i Wirth (2007) pokazali su da šaran sadrži veće količine n-3 masnih kiselina ukoliko se prihranjuje peletama koje sadrže riblje ulje. Šaran u čijoj je ishrani pretežno zastupljeno sucokretovo i kukuruzno ulje sadrži veće količine n-6 masnih kiselina. Ishrana šarana sa hranom kojoj je dodato repičino ulje dovodi do većeg sadržaja oleinske kiseline (Steffens i dr. 1995).

Ispitivanja Mráz i dr. (2012), koja su se odnosila na prihranjivanje šarana peletama koje su sadržale repičin kolač (30%), su pokazala da je meso šarana sadržalo veći udeo n-3 polinezasićenih masnih kiselina u odnosu na šarana dodatno hranjenog žitaricama, ali ne i u odnosu na ekstenzivno gajenog šarana.

Prihrana šarana žitaricama, smešom kukuruza i pšenice (80:20), u toku trogodišnjeg perioda gajenja, dovela je do postepenog smanjenja udela n-3 i n-6 masnih kiselina, a time i odnosa n-3/n-6 (Ćirković i dr., 2011). Veći udeo n-3 i n-6 masnih kiselina i veći odnos n-3/n-6 je postignut prihranom šarana smešom ječma, kukuruza i pšenice (40:30:30), u toku tri godine gajenja. Šaran dodatno hranjen peletiranom hranom imao je povoljniji odnos n-3/n-6 masnih kiselina u odnosu na šarana prihranjivanog žitaricama (Ćirković i dr., 2011).

Za vreme prezimljavanja šaran, za svoje energetske potrebe, koristi, uglavnom, lipide adipoznog tkiva i proteine iz mišića, pre nego lipide iz mišića (Takeuchi i dr. 1987). U pomenutom ispitivanju nije uočena značajna razlika u sastavu masnih kiselina lipida mišićnog tkiva pre i posle prezimljavanja. Kvalitet mesa ostaje skoro nepromenjen posle 128 dana gladovanja. Vacha i dr. (2007) su ispitali uticaj gladovanja šarana u trajanju od

osam meseci. Efekat gladovanja je zavisio od prethodne ishrane. Šaran prethodno hranjen žitaricama nije pretrpeo promene u udelu ukupnih i n-3 polinezasićenih masnih kiselina, dok se njihov udeo neznatno smanjio u mesu šarana koji se prethodno hranio prirodnom hranom. Metaboličke promene masnih kiselina u lipidima šarana u zavisnosti od prethodne količine hrane ispitao je Csengeri (1996). Katabolički procesi su ubrzani u periodu gladovanja i prethodnog hranjenja sa manjim obrocima hrane. Oleinsku kiselinu iz lipida jetre i mišića, riba, uglavnom, koristi za energetske potrebe. Kod šarana koji su pre gladovanja hranjeni većom količinom hrane oleinska kiselina se čak povećala, a udeo polinezasićenih masnih kiselina smanjio. Moguće je da je to posledica prethodnog hranjenja većom količinom hrane i veće zastupljenosti polinezasićenih masnih kiselina u rezervama lipida, koje su se razgradile i konvertovale u oleinsku kiselinu (Csengeri, 1996).

2.6 Komponente hrane za ribu – proteini, lipidi i ugljeni hidrati kao izvori energije

Riba se hrani sa većim količinama proteina, za razliku od kopnenih životinja. Hrana za ribu koja se gaji sadrži 30 do 35% proteina, sa dobrom ravnotežom aminokiselina, dok hrana za živinu sadrži 18-23%, a za svinje 14-16% proteina. Razlog tome nije u činjenici što ribe imaju veću potrebu za proteinima od kopnenih životinja, već što imaju manje energetske zahteve jer troše relativno manje energije za kretanje u vodi nego sisari i ptice na kopnu. Količine proteina u koncentrovanoj hrani su veće za ribu nego životinje i zbog manjeg gubitka energije u katabolizmu proteina i izlučivanju amonijaka, jer ne koriste energiju da proizvedu manje toksičnu ureu ili mokraćnu kiselinu (Lowell, 1991).

Riblje brašno je glavni izvor proteina u ishrani riba, zbog optimalnog sastava aminokiselina, dobre svarljivosti, sastava masnih kiselina i drugih poželjnih hranljivih svojstava (Watanabe, 2002; Huntington i Hasan, 2009). Omnivore i herbivore, kao što su amur, šaran, ostale ciprinide i tilapija zahtevaju manje proteina u ishrani, < 20%, koji mogu da potiču iz biljnih i životinjskih izvora. Ove vrste riba zahtevaju oko 5% ribljeg brašna u njihovoj ishrani (Huntington i Hasan, 2009).

Proteini su najskuplji sastojak hrane za ribu. Pad u globalnoj proizvodnji ribljeg brašna, visoke cene i potreba da se smanji opterećenje azotom i fosforom u životnoj sredini, dovelo je do potrebe za alternativnim izvorima proteina biljnog, ili životinjskog porekla. Izbor biljnih izvora proteina zavisi od dostupnosti na lokalnom tržištu i stabilnog snabdevanja, cene, palatabilnosti, uticaja na prirast ribe i iskorišćenje hrane i uticaja na kvalitet mesa ribe (Watanabe, 2002; Chou i dr., 2004). Najčešći biljni izvori proteina su punomasna i odmašćena sojina sačma, repičino brašno, brašno semena suncokreta, graška, seme pamuka, brašno kukuruznog glutena, a od životinjskih izvora su rakovi i mesno brašno (Kaushik, 1995; Chou i dr., 2004; De Francesco i dr., 2004, Morris i dr., 2005).

Sojina sačma se, najčešće, koristi kao zamena za riblje brašno u proizvodnji hrane za herbivorne i omnivorne vrste riba, dok koncentrat proteina soje se koristi za karnivorne vrste riba zbog niskog sadržaja nesvarljivih ugljenih hidrata (Tacon i dr., 2009).

Prilikom odabira alternativnih izvora proteina mora se uzeti u obzir aminokiselinski sastav sirovine, jer su biljni izvori, često, deficitarni lizinom i metioninom. Biljno brašno, koncentрати i izolati biljnog porekla deficitarni su u jednoj ili više esencijalnih aminokiselina. Ova deficitarnost može, kod nekih vrsta riba, da se nadoknadi sintetičkim aminokiselinama. Npr. pastrmka može da koristi biljne proteine obogaćene sintetičkim aminokiselinama, dok šaran ne može, a razlog može biti nedostatak želuca kod šarana, odnosno, nedostatak pepsina i kisele faze varenja. Mladi šaran hranjen jednom dnevno hranom koja sadrži visok nivo sintetičkih aminokiselina izbacivaće iz tela i do 40% slobodnih aminokiselina kroz škrge i bubrege (Lowell, 1991). Osim deficitarnosti aminokiselinama, postoje ograničenja za korišćenje hrane biljnog porekla i zbog prisustva antinutritivnih faktora, odnosno jedinjenja koja smanjuju nutritivnu vrednost i iskorišćenje hrane, kao što su inhibitori proteaze, fitanska kiselina, ne-skrobni polisaharidi, oligosaharidi, glukozinolati itd. (Tacon i dr., 2009).

Ugljeni hidrati mogu da se koriste kao izvor energije za neke vrste riba. Toplovodne vrste su sposobne da koriste ugljene hidrate kao izvore energije, za razliku od hladnovodnih vrsta (Wilson, 1994; Morris, 2001; Hemre i dr., 2002). Međutim, ugljeni hidrati i dalje predstavljaju najjeftiniji oblik ne-proteinske energije i obezbeđuju skrob

neophodan za želatinizaciju tokom procesa proizvodnje hrane. Ako se ugljeni hidrati ne obezbede ishranom, proteini i lipidi se katabolišu za energiju i sintezu raznih biološki važnih jedinjenja koja, inače, nastaju iz ugljenih hidrata. Iz tih razloga je bitno da se ribi obezbedi određena količina ugljenih hidrata. Većina istraživanja pokazuju da davanje visoko energetske hrane i povećanje koncentracije ugljenih hidrata u hrani (dekstrin, skrob, pšenično brašno) povećava količinu lipida u jetri, veličinu jetre i sadržaj lipida u filetima ribe (Rasmussen, 2001).

Količina lipida, kao glavni izvor energije koja je potrebna za pojedine vrste riba, zavisi od količine proteina i ugljenih hidrata koji su, takođe, izvori energije. S obzirom da su proteini najskuplji sastojak hrane, cilj uzgajivača ribe i proizvođača hrane je da se smanji količina proteina kao izvora energije, a količina lipida redukuje dodavanjem ugljenih hidrata koji mogu da se koriste kod nekih vrsta riba (NRC, 2011). Skorašnja ispitivanja i istraživački projekti imaju za cilj da omoguće smanjenje korišćenja ribljeg brašna i ribljeg ulja u hrani za ribu i zamenu održivim alternativnim izvorima, koji ne sadrže nepoželjne kontaminante. Pri tome se moraju razmatrati performanse rasta, konverzija hrane, zdravlje i dobrobit gajene ribe, bezbednost i kvalitet ribljeg mesa i prihvatljivost konačnog proizvoda za potrošače (Tacon i dr., 2009).

2.7 Biološke osobine rasta ribe

Rast se definiše kao promena u veličini ribe (masa i/ili dužina). Termin rast se, uglavnom, koristi da označi povećanje mase jer je to najvažniji parametar u akvakulturi (Bureau i dr., 2000). Sa povećanjem mase ribe povećava se nivo telesnih komponenti, kao što su voda, proteini, fosfolipidi, trigliceridi, nukleinske kiseline, glikogen, minerali, itd. Rast zahteva egzogeni unos hranljivih materija, koje se koriste kao gradivni blokovi i izvori energije za potrebe održavanja životnih procesa. Snabdevanje dovoljnim količinama balansirane hrane, u pravilnim intervalima, je od suštinskog značaja za realizaciju potencijala rasta.

Rast ribe može da se opiše jednostavnim modelima. Zbog veoma brzog rasta mlađi, dobitak mase koju riba postiže u toku vremena uvek eksponencijalno raste (ima sigmoidalni oblik) i približava se asimptoti, za ribe veće mase (Bureau i dr., 2000;

Dumas i dr., 2007; Dumas i dr., 2010). U akvakulturi, model koji je široko prihvaćen, i pored svojih nedostataka, jeste specifična brzina rasta (SGR, *specific growth rate*), koji se bazira na određivanju prirodnog logaritma povećanja ukupne mase riba u određenom vremenskom periodu. Glavni nedostatak ovog modela je što brzina rasta varira sa veličinom ribe i sa temperaturom okoline, zbog čega, često, dovodi do potcenjivanja dobitka mase (Bureau i dr., 2000; Dumas i dr., 2010).

Dnevni koeficijent rasta (DGC, *daily growth coefficient*), koji predstavlja kubni koren povećanja mase ribe u određenom vremenu, bolje opisuje rast ribe pod optimalnim uslovima. Zbog varijacija u temperaturi okoline, ovaj model je korigovan u termalni jedinični koeficijent rasta (TGC, *thermal-unit growth coefficient*), (Iwama i Tautz, 1981; Azevedo i dr., 1998; Bureau i dr., 2000). Istraživanja pokazuju da model TGC verno opisuje rast kalifornijske pastrmke, potočne pastrmke i lososa, u širokom temperaturnom opsegu, i da omogućava poređenje performansi između načina gajenja, proizvodne godine, intervala uzimanja uzoraka itd. Takođe, može se koristiti u naučnim studijama da se ispita da li je riba dostigla potencijal rasta, ili da se ispita efekat ishrane i različitih uslova gajenja. S obzirom da stopa rasta veoma zavisi od vrste ribe, genetike, uslova okoline, ishrane, načina gajenja i drugih faktora, neophodno je izračunati stopu rasta za date uslove akvakulture. Međutim, ovim modelima nedostaje biološko tumačenje, jer se zanemaruju moguće varijacije u rastu ribe kroz životne faze, kao što je npr. period polnog sazrevanja, velike varijacije temperatura i snabdevanja hranom. Cho (1992), a zatim Cho i Bureau (1998) su koristili bioenergetski model razmatrajući ekvivalentnost energetskeg prinosa hranjivih i otpadnih materija, kako bi odredili minimalnu količinu hrane koja je potrebna da se postigne predvidiv rast ribe. Ovaj model je primenjen na razne vrste riba (Kaushik, 1998; Zhou i dr., 2005) i njime se može predvideti dobitak energije, ali ne daje dovoljno informacija o promeni hemijskog sastava ribe (proteini, lipidi, voda, pepeo) sa povećanjem biomase (Dumas i dr., 2010).

2.8 Deponovanje hranljivih materija i procena hemijskog sastava mesa ribe korišćenjem regresionih analiza

Kada je poznat obrazac rasta, deponovanje hranljivih materija može vrlo lako da se predvidi korišćenjem jednostavnih modela, koji podrazumevaju uzimanje uzoraka ribe različitih veličina i utvrđivanje njihovog osnovnog hemijskog sastava (Shearer, 1994; Bureau i dr., 2000; Dumas i dr., 2007). Povećanje mase riba je povezano sa povećanjem količine vlage, proteina, ugljenih hidrata, masti, minerala, itd. u mesu riba. Količina ovih komponenti, deponovanih po jedinici prirasta, nije konstantna, već promenljiva vrednost koja zavisi od vrste ribe i njene veličine, korišćene hrane itd.

Najbolji način da se otkriju odnosi između procesa koji su se dešavali u telu ribe, u zavisnosti od promene telesne mase, jeste da se grafički prikaže jedna promenljiva veličina (npr. prehrambeni zahtevi, ili brzina metabolizma) nasuprot telesne mase, korišćenjem jednačine $Y = aX^b$, gde je Y promenljiva koja treba da se utvrdi, X je telesna masa, a i b su konstante koje su empirijski dobijene iz regresije. Eksponent b je od posebnog značaja jer daje odnos skaliranja između veličina kao što su metabolizam i telesna masa. Ova matematička tehnika se zove alometrijska analiza i primenjuje se u biologiji da bi se opisale brzine kojom se odvijaju promene različitih anatomskih karakteristika nekog organizma (Gayon, 2000). Alometrijske analize su, takođe, korišćene da bi se opisale brzine kojom se deponuju masti u različitim tkivima životinja.

Alometrijske i izometrijske regresione analize i dalje preovlađuju u proceni sastava tela gajenih životinja i riba (Shearer, 1994; Azevedo i dr., 1998; Lupatsch i dr., 1998; Dumas i dr., 2007; Dumas i dr., 2010). Najveći broj studija rasta i promene hranljivih materija sa rastom riba se odnose na istraživanja kalifornijske pastrmke (Reinitz, 1983; Shearer, 1994; Azevedo et al., 1998; Bureau i dr., 2000; Dumas i dr., 2007), lososa (Jobling, 2001), bakalara (Björnsson i dr., 2007), dok je manje podataka za slatkovodne vrste riba, kao što su babuška (*Carassius auratus*), (Cui i Wang, 2007) i som (Tidwell i Robinette, 1990). Rezultati koji su do sada objavljeni za šarana (*Cyprinus carpio*) su veoma oskudni (Zeitler i dr., 1984; Geri i dr., 1995a; Geri i dr., 1995b; Fajmonova i dr., 2003).

Ispitivanja korelacije zavisnosti masnokiselinskog sastava mesa riba od masnokiselinskog sastava korišćene hrane postoje za razne vrste riba, kao što su orada (*Sparus aurata* L.), (Izquierdo i dr., 2005; Benedito-Palos i dr., 2009; Benedito – Palos i dr., 2011; Ballester-Lozano i dr., 2011; De Francesco i dr., 2007), losos (*Salmo salar*), (Bell i dr., 2001; Bell i dr., 2003), brancin (*Dicentrarchus labrax*), (Skalli i Robin, 2004; Robin i Skalli, 2007), pastrmka (*Oncorhynchus mykiss*), (De Francesco i dr., 2004; Kiessling i dr., 2001) i bakalar (*Gadus morhua*), (Jobling i dr., 2008; Karalazos i dr., 2007). Međutim, rezultati nisu dovoljno pouzdani da bi se razvio model kojim se može predvideti sastav masnih kiselina mesa ribe na osnovu sastava masnih kiselina hrane. Razlog tome je metabolizam pojedinačnih masnih kiselina, koji može da zavisi od starosti ribe, količine hrane, količine lipida u hrani i kretanja ribe (Kiessling i dr., 2001; Pratoomyot i dr., 2010). To potvrđuju ispitivanja Mráz i dr. (2012) koja su se odnosila na šarana (*Cyprinus carpio*) hranjenog sa različitim udelima biljnog i ribljeg ulja u ekstrudiranoj hrani. Autori navode da je poređenjem eksperimentalnih vrednosti sa vrednostima koje su dobijene pomoću modela razblaženja (Robin i dr., 2003; Jobling, 2004) moguće dobijanje dobre predikcije za EPA i DHA, ali ne i za mononezasićene i polinezasićene masne kiseline. Promene koje će se dešavati u masnokiselinskom sastavu je jednostavnije predvideti kod riba koje imaju različiti početni sastav masnih kiselina, koje su, zatim, hranjene hranom istog masnokiselinskog sastava (Robin i dr., 2003; Robin i Skalli, 2007).

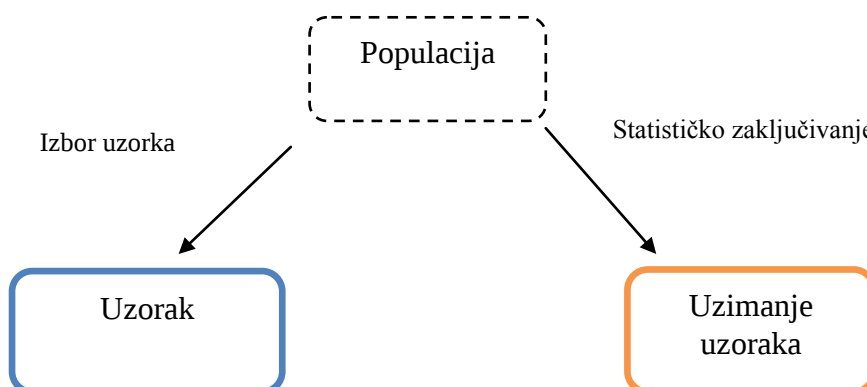
Na osnovu pregleda dosadašnjih rezultata, objavljenih u naučnoj literaturi, može da se konstatuje da ne postoji mnogo podataka o promenama masnokiselinskog sastava koje se dešavaju kod šarana tokom rasta, odnosno njegovog uzgoja uz prihranjivanje istom vrstom hrane (Geri i dr., 1995a; Geri i dr., 1995b; Fajmonova i dr., 2003). Takođe, ne postoje podaci o korelaciji masnokiselinskog sastava sa sadržajem ukupnih lipida tokom uzgoja šarana i prihranjivanja istom vrstom hrane. Promene u hemijskom sastavu mesa riba koje su u vezi sa veličinom i starošću riba i uslovima uzgoja su veoma važne za procenu kvaliteta mesa riba. Danas, unapređenje kvaliteta gajene ribe je od velikog interesa (Mozaffarian i Rimm, 2006), a proizvođači i potrošači će zahtevati sve više informacija i garancija o kvalitetu ribe.

2.9 Izbor analitičkih metoda

Osim izbora odgovarajuće analitičke metode, pre samog analitičkog određivanja, najvažniji je izbor reprezentativnog uzorka i postupak uzorkovanja. Priprema uzorka za analizu u laboratoriji je sledeći važan korak, a za uzorak ribe postupak je detaljno opisan u standardnoj AOAC (Association of Official Analytical Chemists) metodi (1995). Uzorak za ispitivanje treba dobro da se homogenizuje, da bi se smanjila varijabilnost dela uzorka koji se analizira.

2.9.1 Uzimanje uzoraka - analitički uzorak

Uzorak na osnovu kojeg se procenjuju karakteristike populacije koja je, potpuno ili delimično, nepoznata treba da bude dobro definisan. Postupak uzimanja uzoraka zavisi od karakteristike koju želimo da ispitamo da bi se statističko zaključivanje o populaciji moglo da se sprovede sa definisanom preciznošću. To znači da se za datu svrhu istraživanja mora odrediti potreban nivo preciznosti (Cadima i dr., 2005). Broj uzoraka se smatra dovoljnim (zadovoljavajuća, ili prihvatljiva preciznost) ukoliko povećanje broja uzoraka značajno ne smanjuje interval pouzdanosti analiziranih parametara (Miller i Miller, 2005).



Slika 2.9. Postupak uzimanja uzoraka (Cadima i dr., 2005)

Aritmetička sredina, standardna devijacija i drugi parametri varijacija opisuju distribuciju uzoraka i populacije. Sa povećanjem broja uzoraka raspodela aritmetičkih sredina slučajnih uzoraka približava se normalnoj raspodeli. To znači da se, ako se izvrši ispitivanje na dovoljno velikom broju uzoraka, s obzirom da se iz populacije može izvući mnoštvo slučajnih uzoraka određenih veličina, može sa velikom verovatnoćom tvrditi da će apsolutna razlika između aritmetičke sredine uzorka i aritmetičke sredine populacije biti manja (Cadima i dr., 2005). Postupak uzorkovanja koji je prikazan na slici 2.9. predstavlja uzimanje skupa uzoraka istih veličina koji bi, sa istom verovatnoćom, mogli biti izabrani iz populacije, prema istom kriterijumu.

Prilikom uzimanja uzoraka riba, odnosno bioloških uzoraka, razmatra se ponašanje riba, heterogenost staništa, ograničenja koja postoje prilikom uzorkovanja, itd. Postoji nekoliko različitih metoda u izboru uzoraka: najčešće je uzimanje slučajnog uzorka, slojevitog slučajnog uzorka i grupnog uzorka. Slučajni uzorak daje svakom članu populacije jednaku verovatnoću uzimanja i nezavisnost ostalih članova populacije. Kod izbora slojevitog slučajnog uzorka članovi populacije se, na osnovu izabranih kriterijuma, podele na homogene klase u odnosu na dato svojstvo iz kojih se uzima nezavisni slučajni uzorak. Grupni uzorak dobija se izborom uzorka iz skupina kojima pripadaju članovi populacije. U istraživanju, u ribarstvu se, takođe, koristi višestepeno uzorkovanje, odnosno kombinacija nekoliko osnovnih metoda (Cadima i dr., 2005).

2.9.2 Metode određivanja hemijskog sastava

Najčešće korišćena metoda za određivanje sadržaja proteina u mesu ribe i drugoj vrsti hrane se zasniva na određivanju ukupnog azota, metodom po Kjeldahlu (1883). Uzorak se razara sumpornom kiselinom, uz dodatak katalizatora koji povećava tačku ključanja kiseline. Posle razaranja organske supstance, dodatkom natrijum hidroksida osloboda se amonijak, koji se destiluje, a oslobođeni azot se određuje titracijom, ili, ređe, kolorimetrijski. Proces destilacije i titracije je automatizovan, čime je omogućeno određivanje većeg broja uzoraka, sa dobrom preciznošću. Druga metoda koja se koristi za određivanje azota je metoda po Dumasu. Uzorak se sagoreva u peći, na 900 °C, u prisustvu kiseonika, pri čemu se oslobađaju azot, ugljen dioksid i voda, koji prolaze

kroz kolonu koja apsorbira ugljen-dioksid i vodu. Na kraju kolone se nalazi termoprovodljivi detektor koji meri sadržaj azota posle potpunog sagorevanja uzorka. Metoda je automatizovana, a instrument treba da se kalibriše sa standardnom supstancom koja sadrži poznatu koncentraciju azota. Metoda po Dumasu je brža, ne koriste se toksične hemikalije, ali je skuplja od metode po Kjeldahlu. Poređenjem ove dve metode, dobijeno je dobro slaganje rezultata (King-Brink i Sebranek, 1993). Sadržaj proteina u uzorku se izračunava množenjem sadržaja ukupnog azota (N) sa faktorom 6,25, jer se zasniva na pretpostavci da proteini sadrže 16% azota. U principu, bilo bi prikladnije da se proceni sadržaj proteina na osnovu sadržaja aminokiselina (Salo-Väänänen i Koivistoinen, 1996). Takođe, za određivanje sadržaja azota koristi se i spektroskopija u bliskoj infracrvenoj oblasti (NIR), mada je potreban veliki broj kalibracionih uzoraka. Merenjem apsorpcije u bliskoj infracrvenoj oblasti, na određenim talasnim dužinama, moguće je proceniti sadržaj proteina, vode, lipida i ugljenih hidrata.

Sadržaj vlage se, obično, određuje zagrevanjem uzorka u sušnici iznad tačke ključanja vode, od 100 °C do 105 °C, u trajanju od 3 sata, do konstantne mase (gubitak mase se izračunava kao procenat vlage), (AOAC, 1995).

Sadržaj pepela se određuje suvim spaljivanjem uzorka u porculanskim ili platinskim posudama. Osušeni uzorak se prethodno zagreva na električnoj ploči do ugljenisanja, kako bi se sprečilo dimljenje lipida i šećera iz uzorka u peći za žarenje, a zatim se žari na 500 °C do belog, ili svetlo sivog ostatka (ISO; AOAC, 1995).

2.9.3 Metode ekstrakcije lipida za određivanje sastava masnih kiselina

Ekstrakcija lipida je preovlađujući problem tačnog određivanja sastava masnih kiselina i zavisi od načina na koji su masne kiseline vezane u matriks uzorka. Za izolovanje lipida iz tkiva dostupne su razne metode ekstrakcije, sa različitim vrstama rastvarača ili njihovih smeša. Jedna od najviše korišćenih metoda za ekstrakciju lipida zasniva se na kontinuiranoj ekstrakciji osušenog uzorka u Soxhlet ekstraktoru, uz eventualno, prethodnu kiselu hidrolizu, kako bi se oslobodile vezane lipidne frakcije. Ova metoda je usvojena kao standardna metoda za određivanje ukupne masti u uzorcima hrane (ISO; AOAC, 1995). Mada je jednostavna i efikasna, glavni nedostatak metode po Soxhletu je

dugo trajanje ekstrakcije i korišćenje velike količine rastvarača. Za ekstrakciju se, obično, koristi petroletar.

Korišćenjem smeše polarnih i nepolarnih rastvarača moguća je potpuna ekstrakcija lipida iz animalnih i biljnih uzoraka. Smeša hloroforma i metanola (2:1, v/v) je najčešće korišćena (Folch i dr., 1957; Bligh i Dyer, 1959), zbog sposobnosti hloroforma da dobro rastvara lipide, a metanola da dobro prodire u tkivo. Ekstrakt, najčešće, sadrži ne-lipidni materijal i zahteva prečišćavanje. Osim toga, zbog izloženosti operatera toksičnim rastvaračima, metoda je povezana sa zdravstvenim rizicima. Umereno polarna smeša n-heksana i 2-propanola (3:2, v/v) je manje toksična i, zbog manje koekstrakcije ne-lipidnih materija, uzorak ne mora dodatno da se prečišćava (Hara i Radin, 1978).

Metodom tečne ekstrakcije pod visokim pritiskom azota (3.5 do 20 MPa), na temperaturi iznad tačke ključanja rastvarača (60-200 °C), (PLE - pressurized liquid extraction, ASE - accelerated solvent extraction) smanjuje se količina utrošenog rastvarača, skraćuje se vreme trajanja ekstrakcije, omogućava se zaštita analita od oksidacije i smanjuje se izloženost tehničkog osoblja toksičnim rastvaračima (Dionex, Application Note, 334; Schäfer, 1998; Richter i dr., 1996; Dodds i dr., 2004). Ova metoda, zbog toga, ima brojne prednosti u odnosu na metodu po Soxhletu i metoda koje su razvili Folch i dr. (1957), Bligh i Dyer (1959). Ekstrakcija lipida se izvodi u ćeliji za ekstrakciju, u koju se stavi odmerena masa homogenizovanog uzorka koji se pomeša sa dijatomejskom zemljom, kako bi se iz uzorka uklonila vlaga. Dobra disperzija uzorka sa dijatomejskom zemljom omogućava homogenu distribuciju uzorka u ekstrakcionoj ćeliji, povećava površinu uzorka i omogućava bolje prodiranje rastvarača u matriks. Na dno ekstrakcione ćelije stavlja se celulozni filter, kako fine čestice uzorka ne bi prošle u ekstrakcionu vijalu u koju se sakuplja lipidni ekstrakt (Dionex, Technical Note 209). Kod metode ubrzane ekstrakcije rastvaračima, izbor rastvarača i temperatura ekstrakcije su najvažniji parametri. Izbor rastvarača zavisi od polarnosti ciljanog analita i analitičke tehnike koja će se koristiti u detekciji analita.

Za kvantitativnu ekstrakciju masti, moraju se optimizovati radni uslovi: tip rastvarača, sastav smeše rastvarača, količina uzorka, sastav punjenja ekstrakcione ćelije, pritisak, temperatura, broj ciklusa ekstrakcije i njihova dužina trajanja. Potrebna je validacija

metode korišćenjem sertifikovanih referentnih materijala, ili upoređivanjem sa drugom (standardnom) metodom. Postupak ekstrakcije lipida optimizovan je za pripremu uzoraka mesa ribe za instrumentalno određivanje sastava masnih kiselina gasnom hromatografijom. Rezultati su poređeni sa rezultatima koji su dobijeni standardnom metodom ekstrakcije masti po Soxhletu i objavljeni su u vrhunskom međunarodnom časopisu *Analitica Chimica Acta* (Spirić i dr., 2010).

2.9.4 Tehnike za analitičko određivanje sastava masnih kiselina

Gasna hromatografija je postala široko prihvaćena analitička tehnika za određivanje sastava masnih kiselina u različitim oblastima istraživanja. U tu svrhu, masne kiseline se, kao komponente lipida, prevode u isparljive derivate, uobičajeno metilestre. U prirodi, masne kiseline, najčešće, se nalaze u obliku estara, vezane za glicerol, holesterol, dugolančane alifatične alkohole, ili su kao amidi vezane u sfingolipidima. Takođe, mogu biti i u slobodnom stanju, odnosno neesterifikovane. Veoma je važno da analiza masnokiselinskog sastava bude jednostavna i brza. Osim gasne hromatografije sa plameno-jonizacionim detektorom (GC-FID), koriste se i gasna hromatografija – masena spektrometrija (GC-MS), gasna hromatografija - infracrvena spektroskopija sa Furijeovom transformacijom (GC-FTIR), srebro-jonska i reverzno-fazna visokoefikasna tečna hromatografija (HPLC).

U poslednjih nekoliko godina, gasna hromatografija, u kombinaciji sa masenom spektrometrijom (GC-MS), postala je jedna od najmoćnijih tehnika u analizi sastava masnih kiselina. Za derivatizaciju masnih kiselina, najčešće, se koristi 4,4-dimetil oksazolin (DMOKS). Mada postoje brojne razlike između gasne hromatografije (GC) sa masenim detektorom (MS) i plameno-jonizacionim detektorom (FID) poređenje rezultata koji su dobijeni sa ove dve tehnike je zadovoljavajuće (Dodds i dr., 2005). Međutim, MS detekcija, zbog osetljivosti i selektivnosti, ima značajnu prednost u analizi kompleksnih bioloških ekstrakata. Naime, intenzitet signala ne zavisi samo od koncentracije, već i od prirode jedinjenja koje se određuje. MS detektuje promene intenziteta koje potiču od koncentracije jona različitih masa i naelektrisanja (m/z), a FID detektuje promene intenziteta koje zavise od koncentracije naelektrisanih čestica, tj.

jona. Međutim, za kvantitativno i precizno određivanje, bez obzira na primenjenu metodu detekcije, najvažniji je postupak kalibracije (Dodds i dr., 2005).

Tehnike koje se koriste za razdvajanje lipidnog ekstrakta u lipidne frakcije (trigliceridi, fosfolipidi, glikolipidi, estri holesterola, itd) su tankoslojna hromatografija na silika gelu (TLC), hromatografija na koloni i ekstrakcija na čvrstoj fazi (SPE, solid-phase extraction), (Christie, 2003). Lipidne frakcije se, potom, analiziraju tehnikom HPLC, ili, posle prevođenja u metilestre, tehnikom GC. U analizi triglicerida i fosfolipida, najčešće, se koristi metoda visokoeфикаsne tečne hromatografije (Nikolova-Damyanova, 1997). Masne kiseline nemaju jake hromoforne grupe koje apsorbuju u UV oblasti, zbog čega se prevode u fenacil derivate koji apsorbuju u oblasti od 242 do 254 nm. Za simultano određivanje lipidnih klasa mono-, di- i triglicerida, fosfolipida, sterola i slobodnih masnih kiselina koristi se metoda tečne hromatografije - masena spektrometrija (LC-MS), (Christie i Urwin, 1995).

2.9.5 Izbor uslova za pripremu metilestara masnih kiselina

Gasna hromatografija je rutinska procedura za analizu masnih kiselina sa većim brojem C atoma (> C₁₂) u mnogim granama bioloških nauka. Međutim, zbog relativno visoke polarnosti masnih kiselina, neophodno je pripremiti nepolarne derivate masnih kiselina, koji su lako isparljivi, da bi se omogućilo njihovo GC razdvajanje. Metilestri se, uobičajeno, koriste u analizi sastava masnih kiselina metodom gasne hromatografije.

U naučnoj literaturi postoje brojne procedure za esterifikaciju masnih kiselina, koje se primenjuju na različite klase lipida (Christie, 1993). Mnoge od tih metoda se razlikuju prema utrošku vremena i rada u pripremi metilestara. Razlikuju se i prema zahtevima, kao što je npr. potpuno odsustvo vlage zbog hidrolize lipida u slobodne masne kiseline, kod kiselo katalizovanih (metanolni rastvor bortrifluorida, BF₃) i bazno katalizovanih transesterifikacija (natrijum ili kalijum metoksidom). Neke procedure nisu preporučljive za esterifikaciju polinezasićenih masnih kiselina, kao što je npr. metanolni rastvor sumporne kiseline jer je sumporna kiselina veoma jako oksidaciono sredstvo.

Kataliza sa organskim bazama, kao što je trimetilsulfonijum hidroksid ((CH₃)₃SOH, TMSH), omogućava veoma brzu reakciju sa lipidima, a jedini sporedni proizvod

reakcije je lako isparljivi dimetil sulfid. Trigliceridi i fosfolipidi se brzo metiluju, a polinezasićene masne kiseline iz ribljeg ulja se veoma bezbedno metiluju (Christie, 1993). TMSH, bez zagrevanja, katalizuje metilaciju triglicerida u metilestre masnih kiselina. Prednost ove metode je što se lipidi rastvore u rastvaraču i doda reagens za derivatizaciju. Nije potrebno zagrevanje, niti uklanjanje suvišnog reagensa, a rastvor je spreman za injektovanje u gasni hromatograf (Butte, 1983; Schulte i Weber, 1989; EN ISO 5509).

2.9.6 Tehnike za analitičko određivanje sadržaja holesterola

Za određivanje sadržaja holesterola danas se više ne koriste gravimetrijske i spektrofotometrijske metode, a prednost imaju HPLC i GC analitičke tehnike. Uobičajeni postupak određivanja sadržaja holesterola sastoji se od prethodne ekstrakcije ukupnih lipida organskim rastvaračima, saponifikacije i izolacije nesaponifikovanih materija. Najčešće se izvodi derivatizacija holesterola u isparljive trimetilsilil (TMS) etre i nakon toga kvantifikacija gasnom hromatografijom sa FID detektorom, na slabo polarnoj koloni (AOAC, 1995). Prilikom derivatizacije, prisustvo vlage može da dovede do hidrolize nastalog etra, čime se smanjuje prinos. Da bi se to sprečilo i skratilo vreme trajanja analize, razvijeni su postupci direktne saponifikacije uzorka, bez prethodne ekstrakcije lipida, koji ne zahtevaju derivatizaciju za određivanje holesterola GC tehnikom (Ulberth i Reich, 1992.; Dinh i dr., 2012). Takođe, razvijeni su postupci direktne saponifikacije uzorka i određivanja holesterola HPLC tehnikom sa UV detekcijom (Maraschiello i dr., 1996; Daneshfar i dr., 2009).

3. CILJEVI ISTRAŽIVANJA

Na osnovu pregleda literaturnih podataka i dosadašnjih istraživanja koja su relevantna za uzgoj šarana, ali i ostalih vrsta riba, kao cilj istraživanja u okviru ove doktorske disertacije je postavljeno da se prouče promene u hemijskom i masnokiselinskom sastavu mesa šarana u završnoj fazi uzgoja ribe za konzum. S obzirom da hrana ima najveći uticaj na hemijski i masnokiselinski sastav mesa ribe, planirano je da se ispituju uzorci šarana sa dva ribnjaka i odgovarajuće hrane. Na jednom ribnjaku je riba prihranjivana ekstrudiranom hranom, a na drugom ribnjaku kukuruzom. S tim u vezi, ciljevi istraživanja su podeljeni u sledeće faze i aktivnosti:

I Ispitivanje hemijskog sastava (proteini, lipidi, voda i pepeo) hrane i mesa šarana.

Planirano je da se:

- alometrijskom i izometrijskom analizom opiše način deponovanja hranljivih materija u završnoj fazi uzgoja šarana sa dva ribnjaka (prihranjivanje ekstrudiranom hranom, na prvom, i kukuruzom, na drugom),
- analizira odnos između proteina, vlage i lipida u mesu šarana višestrukom linearnom regresijom.
- višestrukom linearnom regresijom prouči doprinos proteina i lipida povećanju mase šarana,
- u zavisnosti od vrste korišćene hrane, linearnom regresijom ispita način promene udela proteina, lipida, vlage i pepela u mesu šarana u toku uzgoja na dva ribnjaka (prihranjivanje ekstrudiranom hranom, na prvom i prihranjivanje kukuruzom, na drugom),
- analizom varijanse i analizom glavnih komponenti uporedi hemijski sastav mesa šarana sa dva ribnjaka, da bi se utvrdio uticaj vrste dodatne hrane,
- ispitivanjem sadržaja holesterola ustanovi uticaj dodatne hrane na njegov sadržaj u mesu šarana, kao i korelacija sa masom riba i sadržajem lipida.

II Ispitivanje masnokiselinskog sastava dodate hrane i mesa šarana.

Planirano je da se:

- korelacionom analizom prouči uticaj masnokiselinskog sastava ekstrudirane hrane i kukuruza na sastav masnih kiselina mesa šarana,
- analizom varijanse i analizom glavnih komponenti ustanove promene masnokiselinskog sastava mesa šarana tokom završne faze uzgoja ribe sa dva ribnjaka (prihranjivanje ekstrudiranom hranom, na prvom i prihranjivanje kukuruzom, na drugom),
- kod šarana sa oba ribnjaka, korelacionom analizom ispituju eventualne promene sastava masnih kiselina u mesu sa povećanjem mase riba u toku uzgoja, kao i sa promenom sadržaja ukupnih lipida,
- analizom varijanse i analizom glavnih komponenti uporedi sastav masnih kiselina šarana sa dva ribnjaka, da bi se utvrdio uticaj vrste dodate hrane na masnokiselinski profil ribe.

Očekuje se da će rezultati dobijeni u okviru ovih istraživanja doprineti razumevanju promena koje se dešavaju u toku uzgoja konzumnog šarana i da će rešiti dilemu vezanu za tradicionalni način prihrane žitaricama. Rezultati će, takođe, ukazati i na opravdanost prihranjivanja šarana ekstrudiranom, kako ekonomsku, tako i u cilju poboljšanja kvaliteta mesa šarana.

4. MATERIJAL I METODE

4.1 Uzimanje uzoraka ribe i hrane

Za potrebe ispitivanja, uzorci dvogodišnjeg šarana uzimani su u toku jeseni/zime 2009. godine i u proleće 2010. godine sa dva ribnjaka sa poluintenzivnim uzgojem. Jedna grupa šarana uzimana je sa ribnjaka „Ečka” a.d., Lukino Selo. Riba je gajena u ribnjaku Belo jezero, površine 459 ha i prosečne dubine 1,5 m. Druga grupa šarana uzimana je sa ribnjaka „Živača” a.d., Boljevci. Riba je gajena u ribnjaku Veliko jezero, površine 110 ha i prosečne dubine 1,5 m.

Prihrana šarana na ribnjaku „Ečka” bazirala se na ekstrudiranoj hrani, koja je sadržala 25% proteina i 7% masti, prečnika granule od 4 mm. Ekstrudirana hrana se sastojala od kukuruza, sojine sačme, ribljeg brašna, kvasca i ostalih sastojaka. Prihranjivanje šarana je obavljeno u zavisnosti od sezone gajenja i produktivnosti ribnjaka. Šarani su prihranjivani ekstrudiranom hranom u količini od 0,1 do 0,3% u aprilu, 0,3% do 1% u maju, 1% do 2% u junu, 3% u julu i avgustu i 2% do 3% u septembru, u odnosu na ihtiomasu. Na drugom ribnjaku, šaran je prihranjivan kukuruzom, u periodu od maja do kraja septembra 2009. godine, u količini od 0,5% do 4%, u odnosu na ihtiomasu.

Uzorci su uzimani početkom septembra, krajem oktobra, početkom decembra 2009. godine i krajem marta - početkom aprila 2010. godine, nakon prezimljavanja konzumnog šarana. Šarani su uzimani u istom vremenskom periodu, sa razmakom između uzorkovanja sa jednog i drugog ribnjaka od dva do tri dana. Prilikom svakog uzorkovanja uzimano je po osam uzoraka, što ukupno iznosi 32 uzorka sa svakog ribnjaka, ukupno 64 uzorka šarana sa oba ribnjaka. Uzorci su uzimani pomoću ribarske mreže - sačmarice i transportovani do laboratorije u ručnim frižiderima, u hladnom režimu. U periodu prihranjivanja šarana uzimani su uzorci hrane za ribe i izmerene su temperature vode u ribnjaku.

Posle donošenja uzoraka ribe u laboratoriju, izmerena je dužina (od vrha glave do kraja repnog peraja) i masa ribe. Posle evisceracije, uklonjene su glava, rep i kosti, a odvojeni fileti ribe bez kože su homogenizovani u homogenizatoru CombiMax 600 (Braun, Nemačka). Analize hemijskog sastava započete su odmah po filetiranju, a do početka

ispitivanja sadržaja holesterola i sastava masnih kiselina, uzorci fileta šarana su zamrznuti i čuvani u tamnim plastičnim kesama na -18 °C, do mesec dana.

Uzorci hrane su, pre ispitivanja, samleveni i homogenizovani u analitičkom mlinu A11 (IKA, Nemačka), do finog praha veličine čestica oko 1 µm.

4.2 Analitičke metode

4.2.1 Reagensi

Svi reagensi koji su korišćeni za hemijska ispitivanja bili su analitičke čistoće. Rastvarači koji su korišćeni za ekstrakciju lipida ubrzanom ekstrakcijom su bili HPLC čistoće ($\geq 99,8\%$, "Sigma – Aldrich", SAD). Za derivatizaciju masnih kiselina korišćen je reagens 0,25M trimetilsulfonijum hidroksid u metanolu (TMSH, GC čistoće, "Fluka", Švajcarska). Za rastvaranje lipidnog ekstrakta korišćen je terc-butil-metiletar ($\geq 99\%$, "Fluka", Švajcarska).

Za identifikaciju i kvantifikaciju metilestara masnih kiselina korišćen je standard Supelco 37 Component FAME Mix ("Supelco", Bellefonte, PA, SAD), koji sadrži smešu metilestara masnih kiselina koncentracije 10 mg/ml u CH_2Cl_2 . Kao interni standard korišćen je metil heneikozanoat (21:0), ($\geq 99\%$, "Fluka", Švajcarska). Pre instrumentalnog određivanja uzorci su filtrirani kroz 0,2 µm filter. Za određivanje sadržaja holesterola korišćen je standard čistoće $\geq 99\%$ ("Sigma - Aldrich", SAD).

4.2.2 Analiza hemijskog sastava mesa šarana i hrane za ribe

Sadržaj proteina u mesu ribe određen je metodom po Kjeldahlu (Manual book, "Tecator", Švedska). Zagrevanjem uzorka sa koncentrovanom sumpornom kiselinom na 420 °C u kivetu i sistemu za digestiju (Digestion System 20, "Tecator", Švedska) organske materije se oksiduju do ugljene kiseline, a oslobođeni azot u obliku amonijaka gradi sa sumpornom kiselinom amonijum sulfat. Dejstvom natrijum hidroksida na amonijum sulfat oslobađa se amonijak koji se destiluje u višak rastvora borne kiseline i titirira sa 0,2 M hlorovodoničnom kiselinom. Destilacija je izvršena na aparatu Kjeltex Auto 1030 Analyzer ("Tecator", Švedska). Na osnovu utrošene zapremine 0,2 M

hlorovodonične kiseline, izračunat je sadržaj azota u uzorku. Sadržaj proteina dobijen je množenjem sadržaja azota sa faktorom 6,25.

Sadržaj vlage u mesu ribe određen je sušenjem uzorka na 103 ± 2 °C do konstantne mase standardnom metodom SRPS ISO 1442:1998. Ukupna mast u mesu ribe određena je nakon kisele hidrolize uzorka sa 0,1 M hlorovodoničnom kiselinom, kako bi se oslobodile okludovane i vezane lipidne frakcije. Nakon filtriranja i sušenja dobijene mase, mast je ekstrahovana petroletrom po Soxhletu, standardnom metodom SRPS ISO 1443:1992. Sadržaj pepela u uzorku određen je merenjem mase ostatka nakon sušenja, spaljivanja i žarenja uzorka na 550 ± 25 °C standardnom metodom SRPS ISO 936:1999. Hrana za ribe je analizirana korišćenjem standardnih metoda za hranu za životinje (sadržaj lipida, SRPS ISO 6492:2001; sadržaj vlage, SRPS ISO 6496:2001; sadržaj pepela, SRPS ISO 5984:2002). Sadržaj proteina određen je opisanom metodom po Kjeldahlu. Sadržaj celuloze određen je standardnom metodom sa međufiltracijom, SRPS ISO 6865:2004. Uzorak je tretiran ključalim rastvorom 0,26 M sumporne kiseline, a potom filtriran kroz guč za filtriranje. Talog je ispiran vrućom vodom i tretiran sa ključalim rastvorom 0,23 M kalijum-hidroksida. Ostatak posle filtriranja je tri puta ispiran sa po 50 ml acetona i 50 ml dietiletra, potom sušen 2 sata u sušnici na 105 °C. Ostatak posle sušenja je izmeren i, potom, žaren na 500 ± 25 °C. Sadržaj celuloze u uzorku je dobijen iz razlike između mase ostatka posle sušenja i ostatka posle žarenja. Analiza hemijskog sastava svakog uzorka je urađena u tri ponavljanja.

4.2.3 Ubrzana ekstrakcija lipida pomoću rastvarača (ASE - *accelerated solvent extraction*)

Za ekstrakciju lipida izmereno je oko 3,5 g homogenizovanog uzorka mesa ribe sa tačnošću od $\pm 0,0001$ g, a oko 4,0 g homogenizovanog uzorka hrane za ribe sa tačnošću od $\pm 0,0001$ g na analitičkoj vagi. Uzorci su pomešani sa oko 2 g dijatomejske zemlje, kako bi se iz uzorka uklonila vlaga. Na dno ekstrakcione ćelije od 33 ml stavljena su dva celulozna filtra (19,8 mm, Dionex, Sunnyvale, CA, SAD), zatim uzorak, a ćelija je, potom, do vrha napunjena dijatomejskom zemljom. Izmerena je masa kolekcione vijale na analitičkoj vagi tačnosti od 0,01 mg (Denver Instruments, Bohemia, NY, SAD).

Ekstrakcione ćelije i vijale postavljene su u uređaj ASE 200 (Dionex, Sunnyvale, CA, SAD). Lipidi su ekstrahovani smešom n-heksana i 2-propanola (60:40, v/v), pod pritiskom azota od 10,3 MPa, na temperaturi od 100 °C. Korišćena su dva statička ekstrakciona ciklusa u trajanju od 10 min. Rastvarač sa ekstraktom lipida je automatski sakupljen u vijali od 60 ml, a po završetku ekstrakcije uparen do suva u struji azota, na 50 °C, u kabinetu za uparavanje (Solvent Evaporator 500, Dionex, Sunnyvale, CA, SAD). Vijala sa lipidnim ostatkom je, potom, ostavljena preko noći u eksikatoru. Sadržaj lipida u uzorku određen je iz razlike pune i prazne vijale i izmerene mase uzorka. Metoda je validovana poređenjem sa standardom metodom za ekstrakciju masti po Soxhletu. Odstupanja rezultata za ekstrakte lipida koji su dobijeni metodom ASE u odnosu na rezultate dobijene po Soxhletu nalazila su se u opsegu od -4% do +1%.

4.2.4 Priprema metilestara masnih kiselina i njihova analiza metodom kapilarne gasne hromatografije

Metilestri masnih kiselina pripremljeni su transesterifikacijom sa trimetilsulfonijum hidroksidom, prema standardnoj metodi SRPS EN ISO 5509:2007. U vijalu za automatsko injektovanje u gasni hromatograf izmereno je 10 ± 2 mg uzorka lipida, koji je dobijen nakon ASE ekstrakcije i uparavanja. Lipidi su rastvoreni sa 500 μ l t-butil-metiletra, dodato je 50 μ l rastvora internog standarda, metil heneikozanoata, koncentracije 10 mg/ml, a potom 250 μ l 0,25 M TMSH, reagensa za transesterifikaciju. Odmah je snažno mućkano oko 30 s.

Metilestri masnih kiselina analizirani su metodom kapilarne gasne hromatografije sa plameno-jonizujućim detektorom, na aparatu GC Shimadzu 2010 (Kyoto, Japan), sa automatskim injektovanjem. Za razdvajanje i analizu metilestara korišćena je jako polarna kapilarna kolona, cijanopropil poli-siloksana HP-88, dužine 100 m, unutrašnjeg prečnika 0,25 mm, debljine stacionarne faze 0,20 μ m (J&W Scientific, SAD). Temperatura peći kolone je bila programirana: početna temperatura 125 °C, zagrevanje brzinom 10 C °/min do 175 °C, trajanje 10 min, potom zagrevanje brzinom 5 C °/min do 210 °C, trajanje 5 min, zagrevanje brzinom 2 C °/min do 230 °C, trajanje 12 min. Vreme trajanja analize iznosilo je 50,5 min. Temperatura injektora je bila 250 °C, a temperatura

detektora 280 °C. Kao noseći gas korišćen je azot, sa protokom kroz kolonu od 1,33 ml/min i pritiskom od 250 kPa. Injektovan je 1 µl uzorka u split odnosu 1:50. Kao gasovi za detektor korišćeni su vodonik, sa protokom od 40 ml/min, sintetički vazduh, sa protokom od 400 ml/min i azot kao make - up gas, sa protokom od 30 ml/min. Za sakupljanje i obradu podataka korišćen je softver Shimadzu GC Solution, verzija 2,3.

Hromatografski pikovi metilestara u uzorku su identifikovani poređenjem relativnih retencionih vremena sa pikovima metilestara u smeši standarda (37 Component FAME Mix). Površine hromatografskih pikova su korigovane za empirijski faktor odgovora svakog identifikovanog metilestra. Faktori odgovora su određeni analizom standardne smeše metilestara masnih kiselina. Maseni udeo pojedinačnih masnih kiselina, od ukupno identifikovanih, izračunat je metodom interne normalizacije. Za dobijanje granice određivanja (LOQ, limit of quantitation) i granice detekcije (LOD, limit of detection) korišćen je odnos signala i šuma (S/N, signal to noise ratio) prema formuli $LOQ = 10 \times S/N$; $LOD = 3 \times S/N$ (Huber, 2007).

4.2.5 Određivanje holesterola metodom visokoefikasne tečne hromatografije

Sadržaj holesterola u mesu ribe određen je direktnom saponifikacijom uzorka, bez prethodne ekstrakcije lipida, prema metodi Maraschiello i dr. (1996). 100 mg homogenizovanog uzorka saponifikovano je sa 2 ml 0,5 M KOH u metanolu, jedan sat, na temperaturi 80 °C. Nakon dodatka zasićenog rastvora natrijum hlorida, lipidi su ekstrahovani smešom dietiletra i n-heksana (1:1, v/v). Nakon odvajanja gornjeg, lipidnog, sloja, postupak ekstrakcije donjeg sloja je ponavljen još dva puta. Sakupljeni lipidni ekstrakt je uparen u struji azota, na 50 °C, do suvog ostatka i rastvoren u 1 ml smeše acetonitrila i 2-propanola (80:20, v/v). U tečni hromatograf injektovano je 10 µl uzorka. Sadržaj holesterola je određen metodom tečne hromatografije na aparatu HPLC Waters - 2695 Separation modul, sa PDA detektorom, na 210 nm (Waters 2996 Photodiodearray detector). Za razdvajanje komponenti smeše korišćena je reverzno-fazna kolona Phenomenex Luna C₁₈ (150 mm x 3,0 mm, veličina čestica 5 µm), sa izokratskim protokom mobilne faze (acetonitril - 2-propanol, 80:20, v/v) od 1,2 ml/min.

Vreme trajanja analize je bilo 10 min. Sadržaj holesterola je određen eksternom kalibracijom u linearnom opsegu od 25 do 125 mg/100 g uzorka. Prinos metode je bio od 66,3% do 74,8%. Za prikupljanje i analizu podataka korišćen je Empower Pro software.

4.3 Statistička analiza

Rezultati za dužine, mase šarana, sadržaj proteina, lipida, vlage, pepela, holesterola i sastav masnih kiselina, pre statističke obrade podataka, su grupisani prema periodu uzimanja uzoraka. Nakon provere prisustva ekstremnih vrednosti u grupi podataka (outlier-a), (Miller i Miller, 2005), za svaku grupu podataka izračunata je srednja vrednost, standardna devijacija, koeficijent varijacije i 95% interval pouzdanosti, u programu Microsoft Office Excel 2007 (Data Analysis Tools).

4.3.1 Linearna regresija u proceni efekta veličine ribe na hemijski sastav mesa šarana

Linearnom regresijom je ispitan način na koji su se deponovali proteini, lipidi, voda i pepeo u meso šarana tokom uzgoja ribe. Rezultati su analizirani alometrijskom i izometrijskom regresijom, kao što je opisano u radovima (Shearer, 1994; Bureau i dr., 2000; Dumas i dr., 2007).

4.3.1.1 Alometrijska analiza

Da bi se ispitaio alometrijski odnos između hemijskog sastava šarana i njegove mase, primenjena je regresiona analiza. Za svaku izmerenu telesnu masu šarana, x_i , izračunat je apsolutni sadržaj proteina, lipida, vlage i pepela, y_i . Dobijene vrednosti svakog parametra su posmatrane u funkciji mase riba.

Model alometrijske zavisnosti predstavljen je sledećom jednačinom:

$$y_i = a \cdot x_i^b$$

Ovaj model pretpostavlja da su brzine kojom su se povećavali hemijski parametri u telu riba bile različite od povećanja mase riba. Da bi se postigla homogenost varijansi, koriste se logaritamski transformisani podaci, pa je odgovarajući linearni oblik:

$$\log y_i = a + b \log x_i$$

gde je b - koeficijent prave, a - odsečak na ordinati.

Alometrijski model opisuje brzinu promene između dve varijable, mase i hemijskog parametra, na način da ako je nagib prave $b = 1$, obe varijable su rasle istom brzinom. Kada je nagib $0 < b < 1$, mase riba su se brže povećavale nego hemijski parametar, koji se smanjivao. Ako je nagib veći od 1 ($b > 1$), hemijski parametar je predstavljao dominantan udeo u povećanju mase.

4.3.1.2 Izometrijska analiza

Izometrijski odnos pretpostavlja da su se hemijski parametri povećavali istom brzinom sa povećanjem mase riba. Nije potrebna logaritamska transformacija podataka. Vrednosti apsolutnog sadržaja proteina, lipida, vlage i pepela, kao zavisno promenljivih veličina, y_i , postavljene su u funkciji mase riba, kao nezavisno promenjive veličine, x_i , i analizirane linearnom regresijom prema modelu:

$$y_i = a + bx_i$$

gde je b - koeficijent prave, a - odsečak na ordinati.

Značajnost koeficijenata korelacije proverena je t - testom. Vrednost t je veća ako je koeficijent korelacije bliži 1. U slučaju kada je t vrednost veća od kritične, utvrđeno je da postoji statistički značajna korelacija između x i y . Ovaj model ukazuje na količinu deponovanih hranjivih materija po jedinici mase ribe.

4.3.2 Analiza varijanse

Jednofaktorska analiza varijanse (one-way analysis of variance, ANOVA) je korišćena u ispitivanju promena dužina i masa šarana u toku gajenja na svakom ribnjaku. Analizom varijanse poreden je i hemijski sastav, sadržaj holesterola i sastav masnih kiselina mesa šarana sa dva ribnjaka, u cilju otkrivanja značajnih razlika između šarana

koji su prihranjivani sa različitom vrstom dodatne hrane. Značajnosti su posmatrane na nivou $P = 0,05$, uz proveru normalne raspodele i homogenosti varijansi. Srednje vrednosti parametara su poređene sa Studentovim t -testom. Značajnost je navedena na nivoima verovatnoće: $P < 0,05$, $P < 0,01$, $P < 0,001$, $P < 0,0001$.

4.3.3 Korelaciona analiza

Da bi se utvrdilo da li je masnokiselinski sastav hrane u periodu prihranjivanja imao značajan uticaj na sastav masnih kiselina u mesu šarana, urađena je korelaciona analiza. Značajnost koeficijenata korelacije proverena je pomoću t -testa. Distribucija masnih kiselina u hrani i mesu šarana prikazana je pomoću histograma.

Korelaciona analiza je urađena da bi se ispitalo da li je u toku gajenja ribe povećanje mase šarana imalo uticaj na sastav masnih kiselina mesa riba. Mase riba su korelisane sa grupama (zasićene, mononezasićene i polinezasićene $n-3$ i $n-6$ masne kiseline) i pojedinačnim masnim kiselinama kod šarana, u periodima uzimanja uzoraka, sa svakog ribnjaka. Tabelarno su dati koeficijenti korelacije i nivoi značajnosti. Korelacija sadržaja lipida sa sastavom masnih kiselina mesa riba je urađena da bi se utvrdilo da li je sa deponovanjem lipida tokom uzgoja došlo do značajnih promena u masnokiselinskom sastavu. Odnos između grupa masnih kiselina i lipida u mesu šarana u periodima uzimanja uzoraka prikazan je grafički u programu Origin 8.1 (OriginLab Corporation, Northampton, SAD, <http://www.OriginLab.com>).

4.3.4 Višestruka linearna regresija (MLR – *multiple linear regression*)

Višestruka linearna regresija je analiza jedne kontinualne y varijable i nekoliko kontinualnih x varijabli. Linearnom kombinacijom x varijabli, metodom najmanjih kvadrata utvrđuje se njihov međusobni odnos. Ova metoda je primenjena na analizu odnosa između proteina, lipida i vlage u mesu šarana. Sadržaj vlage posmatran je u funkciji sadržaja proteina i lipida, kao nezavisno promenljive varijable, u apsolutnom (g/masa ribe) i relativnom sadržaju (%). Kvalitet efekta procenjen je analizom varijanse. Varijabilitet rezidualnih vrednosti, tzv. suma kvadrata reziduala (RSS – *residual sum of squares*), korišćen je za ispitivanje efekta testa. Manja vrednost RSS određuje veličine

koje bolje opisuju sadržaj vlage. Za svaki efekat dat je koeficijent regresije (R^2), nivo značajnosti (P) i t -test regresije svakog pojedinačnog parametra (proteini, lipidi) u regresionom modelu.

Takođe, ovom statističkom metodom ispitana je zavisnost mase šarana od apsolutnog sadržaja proteina, lipida i pepela, sa ciljem da se utvrdi doprinos svakog pojedinačnog parametra povećanju mase. Značajnost svakog parametra i efekta linearne kombinacije parametara u modelu proverena je poređenjem sume kvadrata reziduala, sa sumom kvadrata reziduala kada je taj parametar uklonjen iz regresionog modela. Vrednost rezidualne greške, RSS, koja je mnogo manja kada je parametar uključen u regresioni model, određuje one veličine koje će dati veći doprinos povećanju mase ribe. Doprinos svakog parametra u modelu je prikazan grafički, a njihov uticaj protumačen na osnovu nagiba prave koja preseca horizontalnu liniju koja predstavlja srednju vrednost. Parametar ima značajan uticaj na povećanje mase ribe, ako je nagib značajno različit od nule i prava seče horizontalnu liniju. Parametar ima graničan uticaj na povećanje mase, ako je nagib na granici značajnosti i prava ne preseca horizontalnu liniju, već joj se asimptotski približava. Kada nagib nije značajno različit od nule, prava ne preseca horizontalnu liniju i parametar nema uticaj na povećanje mase.

4.3.5 Analiza glavnih komponenti (PCA - *principal component analysis*)

Analiza glavnih komponenti je multivarijantna analiza podataka sa brojnim promenljivim osobinama. Jedan od problema u razjašnjenju i proceni podataka sa više promenljivih faktora jeste otežano uočavanje obrasca i odnosa. Cilj mnogih metoda multivarijantne analize je smanjenje broja podataka bez gubitka važnih informacija (Sall i dr., 2007), čime se postiže jednostavnija interpretacija dobijenih rezultata.

Ovom metodom smanjuje se dimenzionalnost skupa podataka rotacijom i konstrukcijom ortogonalnih linearnih kombinacija originalnih varijabli i projektovanjem maksimalne varijabilnosti na nove ose, koje predstavljaju glavne komponente (PC, *principal component*). Svaka glavna komponenta može se smatrati kao nova promenjiva koja predstavlja neku osnovnu karakteristiku podataka. Prva glavna komponenta je glavna

osa tačaka u p -dimenzionalnom prostoru, koja opisuje maksimalni iznos varijansi podataka. Druga glavna komponenta je ortogonalna na prvu glavnu komponentu i definiše sledeći najveći iznos varijacija, itd.

Grafičkim prikazom glavnih komponenti mogu se razlikovali i klasifikovali različiti uzorci. S obzirom da prve dve glavne komponente (PC1 i PC2) opisuju većinu varijacija u skupu podataka, podaci se mogu predstaviti u samo dve, umesto u originalnih n dimenzija (Miller i Miller, 2005). Za razliku od standardne devijacije i varijanse, koje su jednodimenzionalne, kovarijansom se utvrđuje veza između dve dimenzije. Glavne komponente se dobijaju na osnovu matrice kovarijansi, sa kojom se utvrđuje veza između podataka sa više od dve dimenzije. Matrice mogu da se pomnože, ako su kompatibilnih veličina, čime se dobijaju svojstveni vektori (*eigenvectors*). Svi vektori su ortogonalni, odnosno pod pravim uglom jedan u odnosu na drugi, a njima odgovaraju svojstvene vrednosti (*eigenvalues*), koje, poredane od najveće do najmanje, predstavljaju komponente. Glavnih komponenti ima koliko i promenljivih veličina (Lindsay, 2002). Pravac ose ima oblik elipse, što je karakteristika normalne raspodele podataka. Ekstremne vrednosti (outlieri) se mogu jasno otkriti jer se izdvajaju iz grupe podataka sa normalnom raspodelom i udaljene su od pravca osa komponenti.

U ovoj doktorskoj disertaciji dat je naglasak na analizi glavnih komponenti, kako bi se ustanovile razlike, ali i sličnosti, između uzoraka šarana koji su uzeti u različitim mesecima tokom uzgoja konzumne ribe. Analiza glavnih komponenti je primenjena na tri vrste podataka:

1. Upoređivanje hemijskog sastava mesa šarana sa dva ribnjaka,
2. U uzorcima šarana sa svakog ribnjaka analizirane su grupe masnih kiselina (zasićene, mononezasićene i polinezasićene masne kiseline, $n-3$ i $n-6$), kao i pojedinačne masne kiseline, uzimajući u obzir mase šarana i sadržaj lipida kao promenjive veličine,
3. Upoređivanje masnokiselinskog sastava mesa šarana sa dva ribnjaka.

Analiza varijanse, višestruka linearna regresija i analiza glavnih komponenti su urađene u statističkom programu JMP 8.0.1 (SAS Institute Inc., Cary, NC, SAD).

5. REZULTATI ISTRAŽIVANJA

5.1 Promene hemijskog sastava mesa šarana prihranjivanih ekstrudiranom hranom sa povećanjem mase riba

Analizom varijanse dužina i masa šarana koji su prihranjivani ekstrudiranom hranom konstatovano je da se šarani u periodu uzimanja uzoraka nisu razlikovali po dužini ($P > 0,05$), dok je između njihovih masa postojala statistički značajna razlika. Do značajnog povećanja mase u toku gajenja ribe došlo je između septembra i decembra ($P < 0,0001$), septembra i aprila ($P < 0,0001$) i između oktobra i aprila ($P < 0,001$). Mase šarana u oktobru su bile 1,4 puta, ili za 37,8% ($P < 0,001$) veće od masa šarana u septembru, što može biti posledica intenzivnog prihranjivanja tokom letnje sezone gajenja i povoljnih ambijentalnih uslova u vodenoj sredini, kao i uzetih uzoraka ribe u ovom periodu. Mase šarana u decembru se nisu statistički značajno razlikovale ($P > 0,05$) od masa šarana u oktobru. Razlog tome može biti činjenica da se šarani nakon jesenjeg pada temperatura vode nisu prihranjivali. Nakon izlova u decembru, preostali šarani su, za sledeću godinu gajenja, bili prebačeni u zimovnike, na prezimljavanje. Mase šarana u aprilu su bile statistički značajno veće ($P < 0,01$) od masa šarana u decembru što je, moguće, bilo u vezi sa uzojem šarana u odgajivalištima posle prezimljavanja i prolećnim rastom prirodne hrane u ribnjacima koja je bila dostupna ribi. Srednje vrednosti dužina i masa šarana sa parametrima varijacija u periodima uzimanja uzoraka su date u tabeli 5.1.

Tabela 5.1. Dužine i mase šarana prihranjivanih ekstrudiranom hranom (srednja vrednost $\pm$ standardna devijacija)

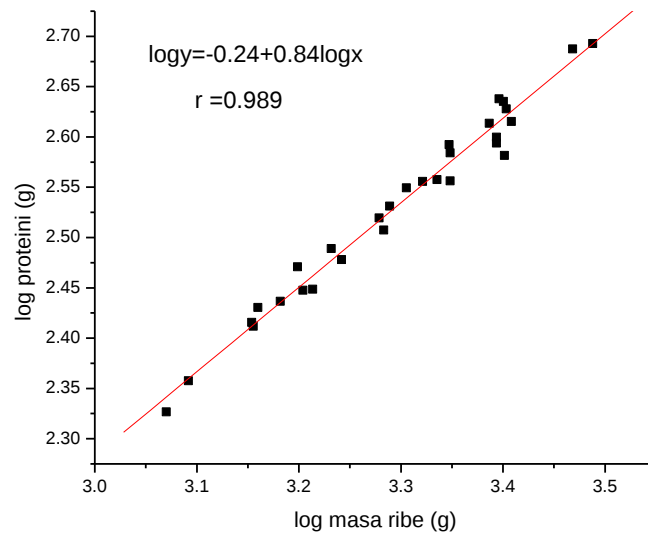
Period	Dužina ribe (cm)		Masa ribe (g)	
	$\bar{x} \pm s_d$	CV %	$\bar{x} \pm s_d$	CV %
Septembar (n=8)	37 $\pm$ 3 ^a	8,1	1439 $\pm$ 173 ^c	12,0
Oktobar (n=7)	36 $\pm$ 3 ^a	8,3	1984 $\pm$ 322 ^b	16,2
Decembar (n=7)	40 $\pm$ 3 ^a	7,5	2177 $\pm$ 251 ^b	11,5
April (n=8)	38 $\pm$ 2 ^a	5,3	2472 $\pm$ 111 ^a	4,5

n – broj uzoraka; CV - koeficijent varijacije

^{abc} srednje vrednosti u istoj koloni sa različitim slovnim oznakama se statistički značajno razlikuju ($P < 0,05$)

S obzirom da se tokom uzgoja značajno povećavala ukupna masa šarana, linearnom regresijom je utvrđen obrazac rasta, odnosno način na koji su se nutrijenti inkorporirali u tkivo ribe. Regresiona analiza je obuhvatala 30 uzoraka šarana telesnih masa od 1175 g do 3075 g. Zavisnost sadržaja proteina, lipida, vlage i pepela od mase riba je grafički prikazana na slikama od 5.1 do 5.13.

Alometrijska analiza, koja je prikazana na slici 5.1, ukazuje da je sadržaj proteina jako zavisio od veličine riba, što potvrđuje visoki stepen korelacije ($r = 0,989$, $P < 0,0001$). Sadržaj proteina se povećavao u mesu ribe kao gradivna komponenta. Nagib regresione prave je bio manji od 1 ($b = 0,84$), što ukazuje da su se mase riba brže povećavale od brzine kojom su se deponovali proteini u njihovo tkivo. Vrednost t testa potvrđuje visoku značajnost korelacije ($t = 35,67$, $t_{krit} = 2,04$).

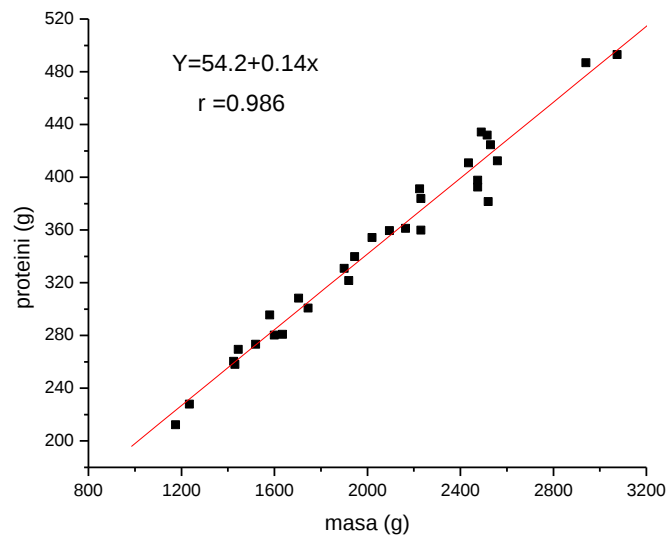


Slika 5.1. Alometrijski odnos apsolutnog sadržaja proteina (g/masa ribe) i masa šarana prihranjivanih ekstrudiranom hranom, u periodu septembar, oktobar, decembar i april

Izometrijskom regresijom (slika 5.2) dobijena vrednost koeficijenta korelacije ($r = 0,986$) je bliska koeficijentu korelacije alometrijske regresije ($r = 0,989$), pa odnos proteina i mase šarana može opisati sledeća jednačina:

$$\text{Proteini (g)} = 54,2 (\pm 19,4) + 0,14 (\pm 0,01) \times \text{masa šarana (g)}$$

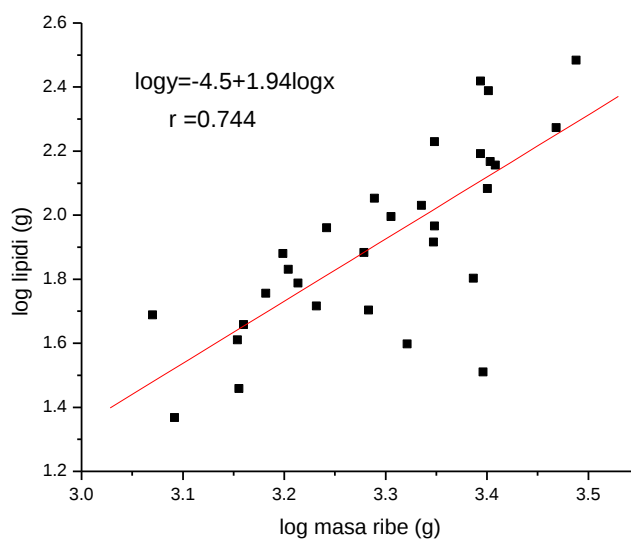
Vrednost u zagradi predstavlja 95% interval pouzdanosti odsečka i nagiba regresije. Nagib izometrijske regresije ukazuje na brzinu kojom su se proteini deponovali u tkivo ribe ($0,14 \pm 0,01$ g proteina/g ribe).



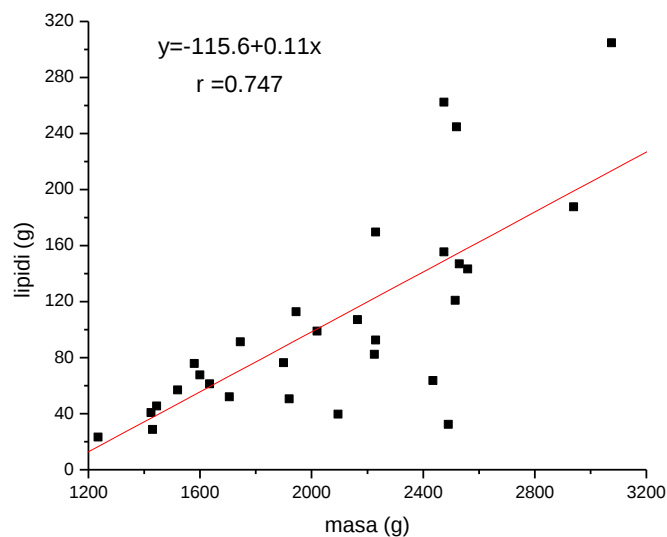
Slika 5.2. Izometrijski odnos apsolutnog sadržaja proteina (g/masa ribe) i masa šarana prihranjivanih ekstrudiranom hranom, u periodu septembar, oktobar, decembar i april

Između sadržaja lipida i mase riba postojala je slaba korelacija ($r = 0,744$, $P < 0,0001$), što potvrđuje i vrednost t testa ($t = 5,88$, $t_{krit} = 2,04$). Na slici 5.3, koja prikazuje alometrijski odnos, može se uočiti da su lipidi značajno varirali tokom rasta i da su bili dva, pa i nekoliko, puta veći za istu masu ribe. Brzina kojom se menjao sadržaj lipida u tkivu šarana bila je veća od povećanja njihove mase ($b = 1,94$). To je posledica uticaja raznih faktora, kao što su količina hrane, učestalost hranjenja, sezona, biološke varijacije jedinki, itd., pa se za ribu određene mase ne može, sa sigurnošću, predvideti količina lipida koju će sadržati.

Izometrijska regresija (slika 5.4) pokazala je da se sadržaj lipida smanjivao u jednom momentu, što odgovara decembarskom periodu, kada riba nije prihranjivana, a zatim se povećavao sa velikim varijabilnostima jedinki, naročito za mase šarana preko 2400 g.

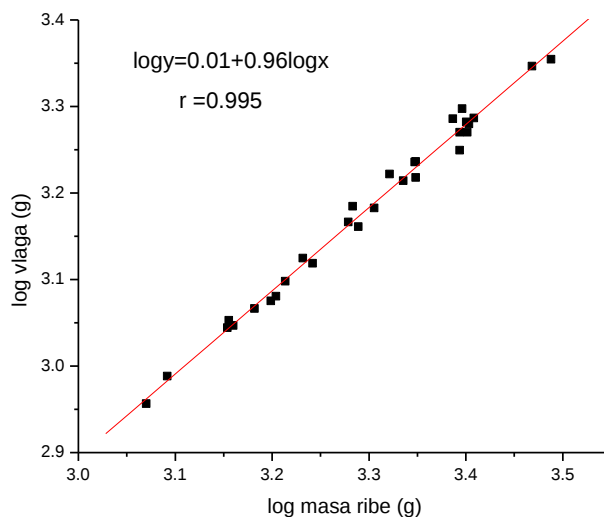


Slika 5.3. Alometrijski odnos apsolutnog sadržaja lipida (g/masa ribe) i masa šarana prihranjivanih ekstrudiranom hranom, u periodu septembar, oktobar, decembar i april

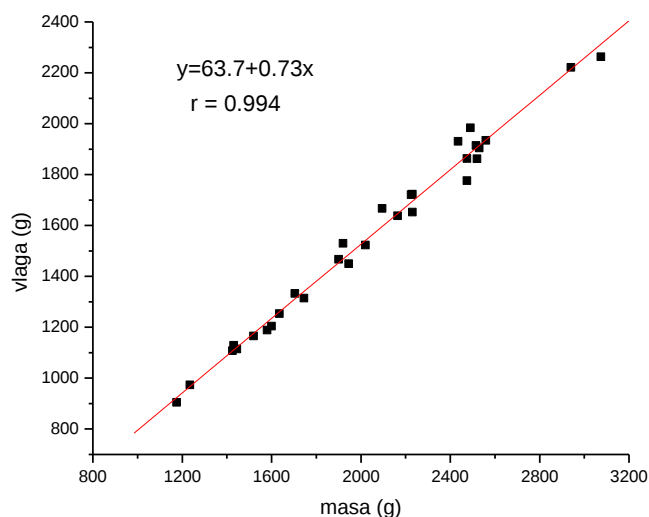


Slika 5.4. Izometrijski odnos apsolutnog sadržaja lipida (g/masa ribe) i masa šarana prihranjivanih ekstrudiranom hranom, u periodu septembar, oktobar, decembar i april

Sadržaj vlage u mesu šarana je bio u visokoj korelaciji sa masom riba ($r = 0,995$, $P < 0,0001$, $t = 53,99$, $t_{krit} = 2,04$), a slična vrednost koeficijenta regresije dobijena je i izometrijskom analizom $r = 0,994$ (slike 5.5 i 5.6).

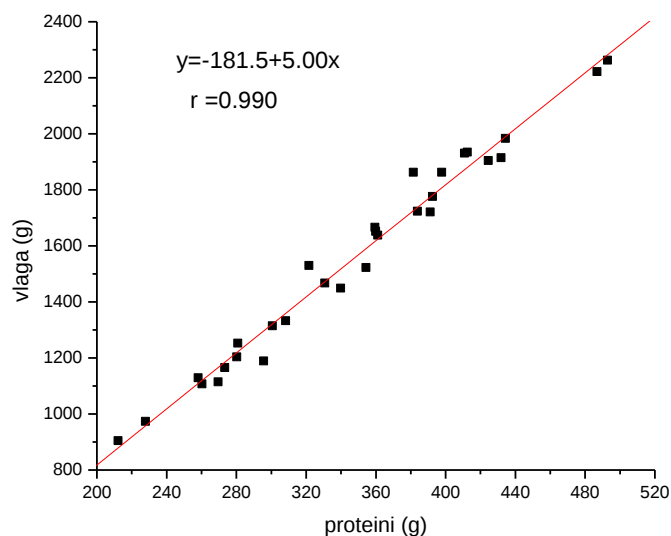


Slika 5.5. Alometrijski odnos apsolutnog sadržaja vlage (g/masa ribe) i masa šarana prihranjivanih ekstrudiranom hranom, u periodu septembar, oktobar, decembar i april



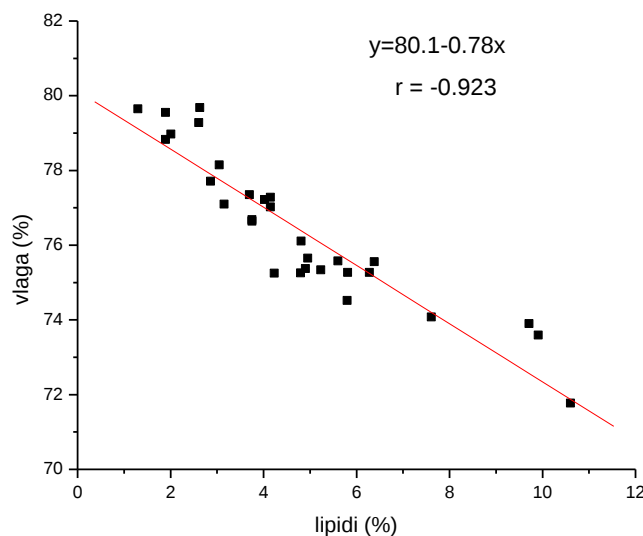
Slika 5.6. Izometrijski odnos apsolutnog sadržaja vlage (g/masa ribe) i masa šarana prihranjivanih ekstrudiranom hranom, u periodu septembar, oktobar, decembar i april

Međutim, sadržaj vlage u mesu šarana je bio determinisan deponovanjem proteina i lipida u tkivo ribe. Na ovu činjenicu ukazuje jako pozitivna korelacija sa sadržajem proteina ($r = 0,990$, $P < 0,0001$, $t = 36,89$, $t_{krit} = 2,04$), koja je prikazana na slici 5.7. Sa svakim gramom deponovanih proteina u mesu šarana zadržavalo se 5 g vlage ($b = 5,00$, $s_e = 0,13$).



Slika 5.7. Odnos između sadržaja vlage (g/masa ribe) i proteina (g/masa ribe) u mesu šarana

Deponovani lipidi u tkivu zamenjuju vlagu, odnosno negativno su korelisani što je grafički prikazano na slici 5.8. Nagib regresione prave ukazuje da je svako povećanje od 1 g lipida u tkivu šarana zahtevalo smanjenje vlage za 0,78 g ($b = -0,78$, $s_e = 0,06$). Korelacija je statistički značajna ($r = -0,923$, $P < 0,0001$, $t = -12,67$, $t_{krit} = 2,04$).



Slika 5.8. Odnos između relativnog sadržaja vlage i lipida u mesu šarana

Zavisnost sadržaja vlage od sadržaja proteina i lipida u tkivu šarana se može opisati višestrukom linearnom regresijom. U tabeli 5.2 su dati najvažniji parametri višestruke regresije, na osnovu kojih se može zaključiti koji od ova dva parametra bolje opisuje povećanje vlage u mesu ribe. Vrednost zbira kvadrata reziduala (RSS) ukazuje na odstupanja od linearne zavisnosti; što je ova vrednost manja predviđanje parametra je bolje.

Tabela 5.2. Parametri višestruke linearne regresije sadržaja vlage u funkciji sadržaja proteina i lipida

Faktori predikcije	N	RSS	R ²	t-test	P
Proteini, %	30	11,48	0,899	-3,58	0,0013
Lipidi, %				-12,99	<0,0001
Proteini, g/masa ribe	30	78 123	0,980	26,87	<0,0001
Lipidi, g/masa ribe				0,73	0,47

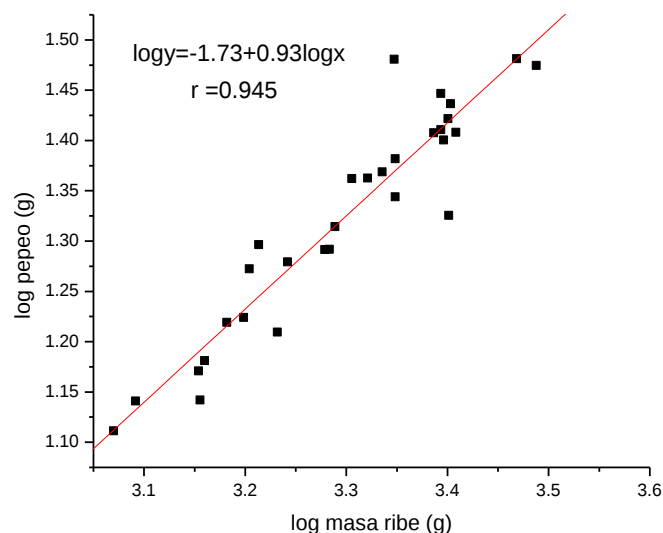
N – broj uzoraka; RSS – zbir kvadrata reziduala; R² – koeficijent regresije; t-test; P – nivo značajnosti

Kao što je prikazano na slici 5.7 proteini, u apsolutnom sadržaju po masi ribe (g/masa ribe) su značajno uticali na sadržaj vlage. Lipidi u apsolutnom sadržaju (g/masa ribe)

nisu uticali na sadržaj vlage ($P = 0,47$), odnosno povećanje vlage se dešavalo nezavisno od povećanja lipida.

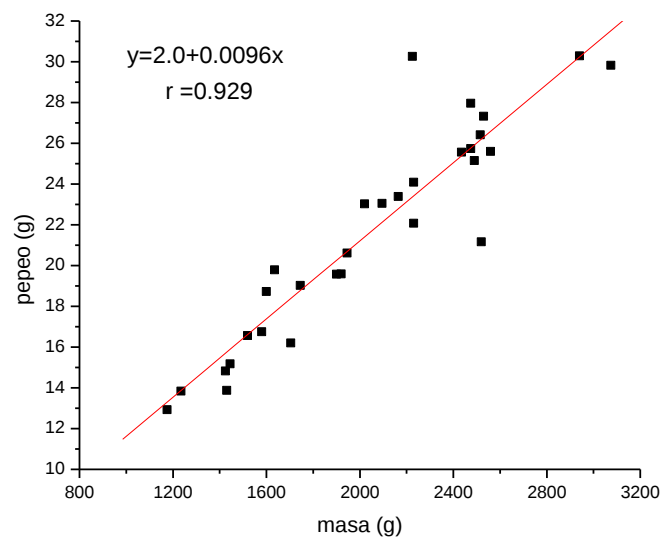
Međutim, kada se rezultati prikažu u relativnom udelu, visok nivo značajnosti ($P < 0,0001$) i vrednost t testa (12,99) ukazuju da su lipidi doveli do značajnog smanjenja udela vlage u mesu ribe. Udeo vlage se slabije menjao sa udelom proteina ($P = 0,0013$), što potvrđuje niska vrednost t testa (3,58), (tabela 5.2).

Kako se povećavala masa riba, tako se povećavala i skeletna struktura riba, što se ogleda i u povećanju sadržaja pepela. Međutim, stepen korelacije alometrijskog odnosa nije bio visok, zbog velikih varijabilnosti, koje se uočavaju na slici 5.9. Koeficijent korelacije je bio $r = 0,945$ ($P < 0,0001$, $t = 15,34$, $t_{krit} = 2,04$).



Slika 5.9. Alometrijski odnos apsolutnog sadržaja pepela (g/masa ribe) i masa šarana prihranjivanih ekstrudiranom hranom, u periodu septembar, oktobar, decembar i april

Manji koeficijent korelacije je dobijen izometrijskom analizom ($r = 0,929$), koja je prikazana na slici 5.10.



Slika 5.10. Izometrijski odnos apsolutnog sadržaja pepela (g/masa ribe) i masa šarana prihranjivanih ekstrudiranom hranom, u periodu septembar, oktobar, decembar i april

Kako sadržaj pepela zavisi od veličine riba, odnosno endogeno je regulisan, uočene varijabilnosti mogu biti posledica bioloških promena sa rastom ribe. Alometrijska analiza preciznije opisuje promene u sadržaju pepela sa masom šarana, pa odgovarajuća jednačina sa kojom se može opisati ova zavisnost je:

$$\log \text{pepeo (g)} = -1,73 (\pm 0,41) + 0,93 (\pm 0,12) \times \log \text{masa šarana (g)}$$

Vrednost u zagradi predstavlja 95% interval pouzdanosti odsečka i nagiba regresije.

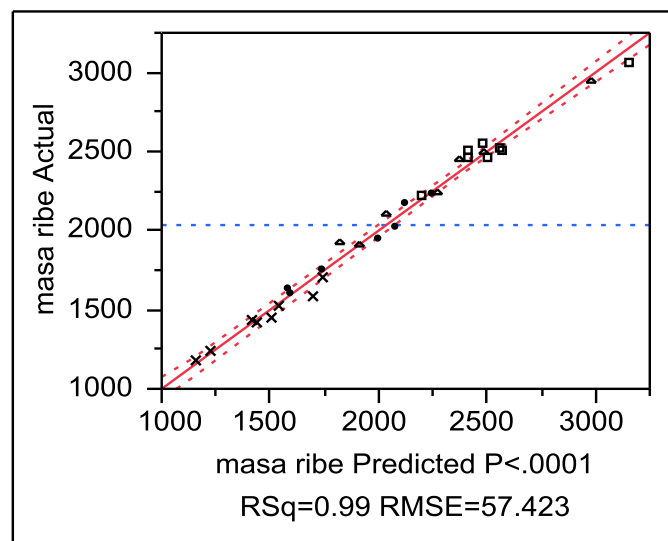
U cilju određivanja parametra koji je ključno uticao na rast šarana i koji najbolje određuje masu ribe urađena je linearna i višestruka linearna regresija masa riba u funkciji sadržaja proteina, lipida i pepela (g/masa ribe) i njihovog zbira. S obzirom da je sadržaj vlage u funkciji sadržaja proteina i lipida, njen uticaj nije uzet u razmatranje. Vrednosti RSS su date u tabeli 5.3.

Tabela 5.3. Parametri linearne i višestruke linearne regresije masa šarana u zavisnosti od hemijskih parametara kao predviđajućih faktora

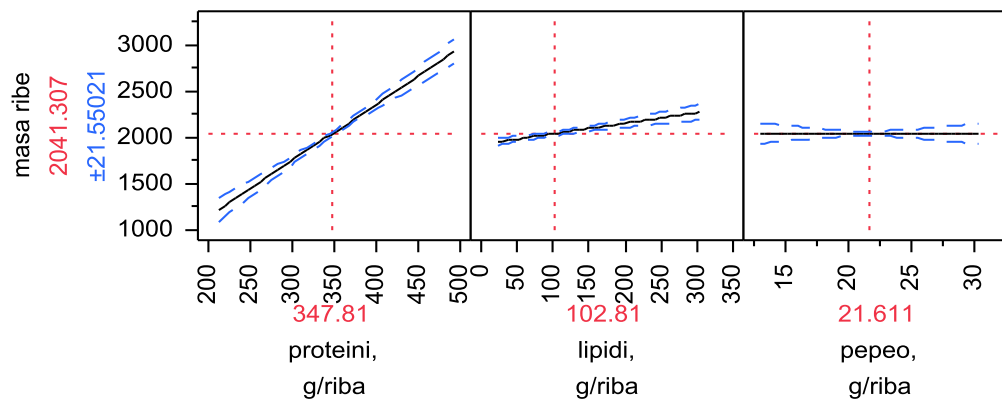
Faktori predikcije	N	RSS	R ²	P
Proteini, g/masa ribe	30	195 117	0,97	<0,0001
Lipidi, g/masa ribe	30	3 226 867	0,56	<0,0001
Pepeo, g/masa ribe	30	998 991	0,86	<0,0001
Proteini + lipidi, g/masa ribe	30	85 756	0,99	<0,0001
Proteini + lipidi + pepeo, g/masa ribe	30	85 733	0,99	<0,0001

N – broj uzoraka; RSS - zbir kvadrata reziduala; R² – koeficijent regresije; P – nivo značajnosti

Na slici 5.11 grafički je prikazana predikcija mase riba u zavisnosti od sadržaja proteina, lipida i pepela. Najmanja vrednost RSS (85 756) i visoka vrednost koeficijenta regresije (0,99) (tabela 5.3) ukazuju da su proteini i lipidi dva faktora koji najbolje opisuju masu ribe. Vrednost RSS se nije značajno smanjila, ako se uzme u obzir i sadržaj pepela, što pokazuje da pepeo nije uticao na predviđanje mase ribe. Uticaj zbirnih faktora (proteini, lipidi i pepeo) se jasno uočava na slici 5.12. Najveći nagib prave ukazuje da proteini dovode do značajnog povećanja mase, što znači da su ključni faktor za rast ribe, dok lipidi dovode samo do malog povećanja mase.



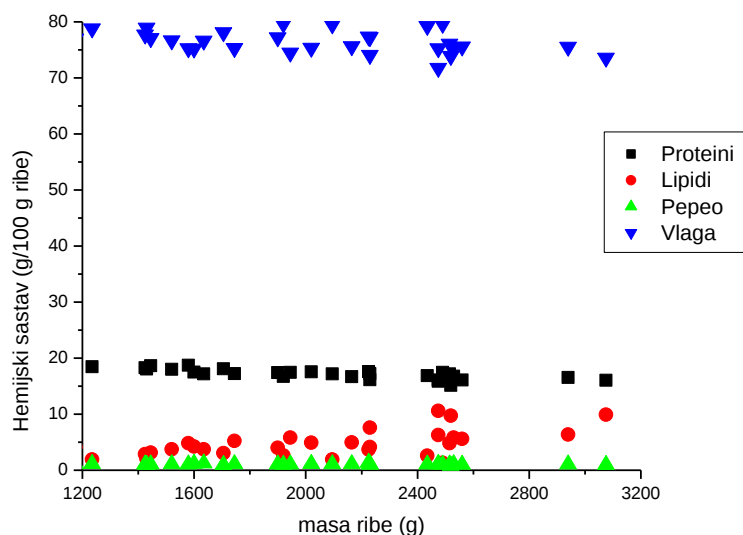
Slika 5.11. Višestruka linearna regresija mase šarana u zavisnosti od sadržaja proteina, lipida i pepela u mesu ribe



Slika 5.12. Predikcija mase šarana u funkciji sadržaja proteina, lipida i pepela u mesu ribe

Grafičkim prikazom relativnog hemijskog sastava (g/100 g ribe) u funkciji rasta šarana dobija se uvid u promene sastava mesa šarana, kao što je prikazano na slici 5.13. Na osnovu prikazanih rezultata može se zaključiti da se udeo proteina u tkivu šarana smanjivao sa povećanjem mase riba, dok je udeo pepela bio prilično konstantan. Udeo vlage u tkivu šarana imao je tendenciju blagog opadanja sa povećanjem mase riba, dok

se udeo lipida povećavao sa povećanjem mase riba. Lipidi i vlaga su znatno varirali tokom rasta, jer deponovanje lipida u tkivu šarana je bilo u indirektnoj korelaciji sa vlagom i najviše su bili pod uticajem hrane.



Slika 5.13. Hemijski sastav (relativan sadržaj, g/100 g) šarana prihranjivanih ekstrudiranom hranom, u periodu septembar, oktobar, decembar i april

Prikazani rezultati ukazuju da se udeo proteina i vlage u tkivu šarana smanjivao, a udeo lipida povećavao sa povećanjem mase riba, što pokazuje da je došlo i do smanjenja u efikasnosti hranjenja riba većih masa.

5.2 Promene hemijskog sastava mesa šarana prihranjivanih žitaricama sa povećanjem mase riba

Analizom varijanse dužina i masa šarana sa ribnjaka u kojem su, kao dodatna hrana, korišćene žitarice (kukuruz), pokazano je da je došlo do značajnog povećanja dužine riba u periodu od septembra do decembra. Mase šarana u oktobru nisu se statistički značajno razlikovale od masa šarana u septembru ($P > 0,05$). Moguć razlog je veća varijabilnost jedinki šarana, na šta ukazuju veći koeficijenti varijacije. Utvrđena je značajna razlika u masi šarana između oktobra i decembra ($P < 0,05$), odnosno u ovom

periodu gajenja ribe došlo je do značajnog povećanja mase. Mase šarana u aprilu su se značajno smanjile u odnosu decembar ($P < 0,001$). Veliki gubitak mase tokom zimskog perioda se dešava u uslovima velike gustine nasada u zimovniku, kada su temperature vode relativno visoke (5-8 °C), ali je retko veći od 20 do 25%. Gubitak mase od 40% je pre posledica uzimanja nereprezentativnih uzoraka u aprilu, nego prezimljavanja ribe u zimovnicima. Srednje vrednosti dužina i masa šarana sa parametrima varijacija u periodima uzimanja uzoraka date su u tabeli 5.4.

Tabela 5.4. Dužine i mase šarana prihranjivanih žitaricama (srednja vrednost $\pm$ standardna devijacija)

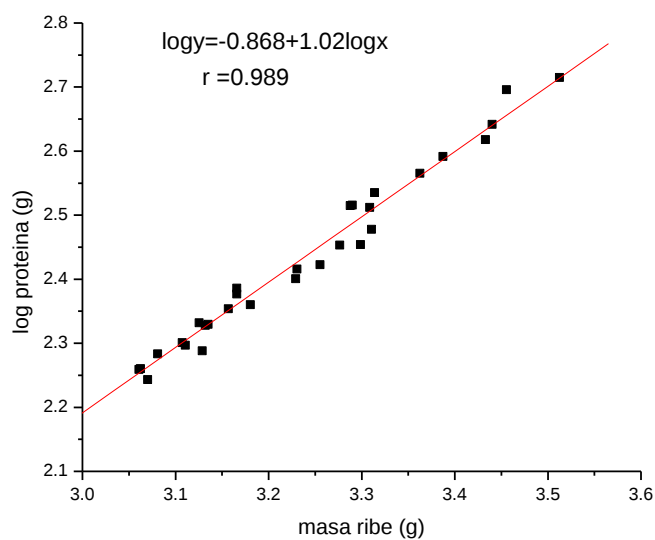
Period	Dužina ribe (cm)		Masa ribe (g)	
	$\bar{x} \pm s_d$	CV %	$\bar{x} \pm s_d$	CV %
Septembar (n=8)	35 ± 2^c	5,7	1478 ± 312^{bc}	21,1
Oktobar (n=8)	40 ± 3^b	7,5	1834 ± 443^b	24,1
Decembar (n=7)	44 ± 3^a	6,8	2332 ± 579^a	24,8
April (n=8)	37 ± 2^c	5,4	1398 ± 206^c	14,7

n – broj uzoraka; CV – koeficijent determinacije;

^{abc} srednje vrednosti u istoj koloni sa različitim slovnim oznakama se statistički značajno razlikuju ($P < 0,05$)

S obzirom da su tokom uzgoja šarana postojale značajne razlike u masi, utvrđen je obrazac promena sadržaja proteina, lipida, vlage i pepela u mesu šarana sa rastom ribe. Linearna regresija obuhvatala je 31 uzorak šarana telesnih masa od 970 g do 3255 g. Rezultati su grafički prikazani na slikama od 5.14 do 5.26.

Sadržaj proteina se menjao visoko linearnim odnosom sa masom riba ($r = 0,989$, $P < 0,0001$). Nagib alometrijske regresije je bio blizu 1 ($b = 1,02$), što ukazuje da se sadržaj proteina povećavao istovremeno sa povećanjem mase riba. Vrednost parametra t ($t = 35,64$, $t_{krit} = 2,04$) ukazuje na statističku značajnost korelacije (slika 5.14).

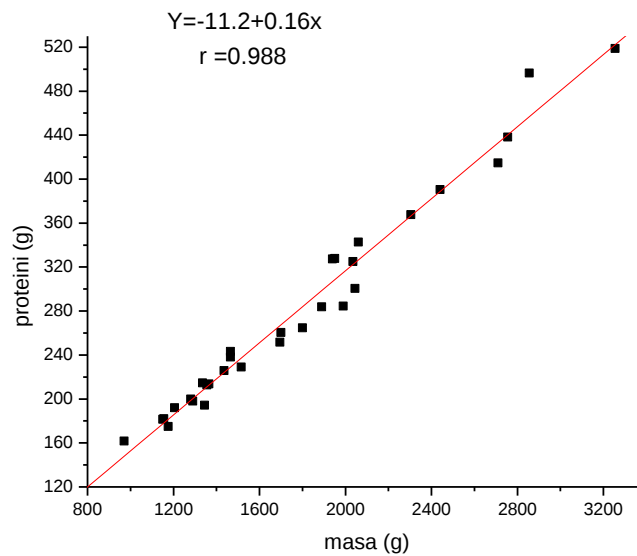


Slika 5.14. Alometrijski odnos apsolutnog sadržaja proteina (g/masa ribe) i masa šarana prihranjivanih žitaricama, u periodu septembar, oktobar, decembar i april

Logaritamska transformacija podataka nije uticala na povećanje linearnosti, pa se odnos između proteina i mase šarana može opisati sledećom izometrijskom jednačinom (slika 5.15):

$$\text{Proteini (g)} = -11,2 (\pm 17,8) + 0,16 (\pm 0,01) \times \text{masa šarana (g)}$$

Vrednost u zagradi predstavlja 95% interval pouzdanosti odsečka i nagiba regresije.

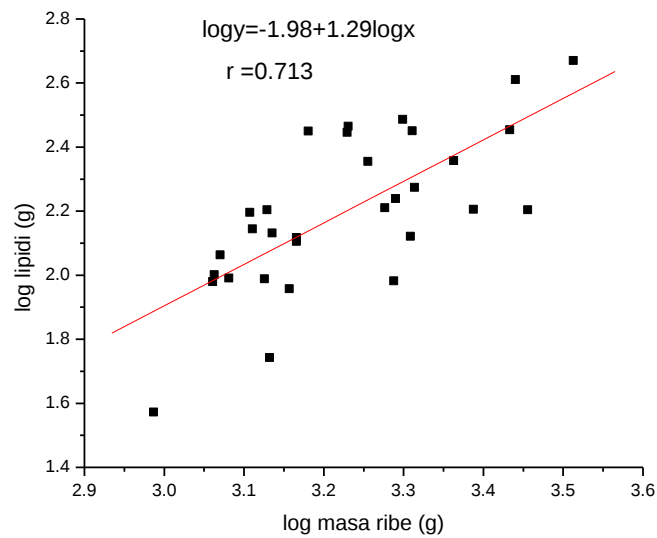


Slika 5.15. Izometrijski odnos apsolutnog sadržaja proteina (g/masa ribe) i masa šarana prihranjivanih žitaricama, u periodu septembar, oktobar, decembar i april

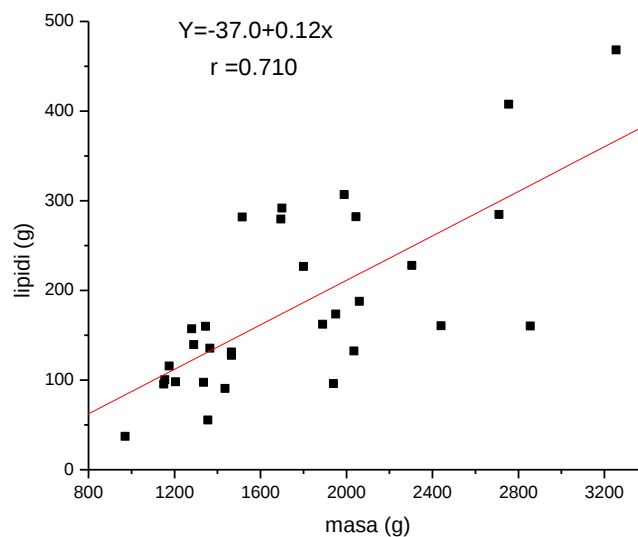
Na osnovu nagiba izometrijske regresije ($b = 0,16$) se može zaključiti da se sadržaj proteina povećavao brzinom od $0,16 \pm 0,01$ g proteina/g ribe.

Kao i kod šarana prihranjivanih ekstrudiranom hranom, i kod šarana koji su prihranjivani žitaricama postoji slaba korelacija između sadržaja lipida i mase riba ($r = 0,713$, $P < 0,0001$, $t = 5,48$, $t_{krit} = 2,04$). Alometrijski odnos koji je prikazan na slici 5.16, gde je nagib bio veći od 1 ($b = 1,29$), ukazuje da je brzina promene sadržaja lipida u mesu šarana bila veća od promene njegove mase. Ta promena je, ipak, bila manja nego kod šarana prihranjivanih ekstrudiranom hranom ($b = 1,94$).

Rezultati izometrijske regresije (slika 5.17), ukazuju da, iako su lipidi značajno varirali tokom rasta i bili dva, pa i nekoliko, puta veći za istu masu ribe, postoje razlike u ponašanju lipida u odnosu na šarana sa prvog ribnjaka koji su bili prihranjivani ekstrudiranom hranom.



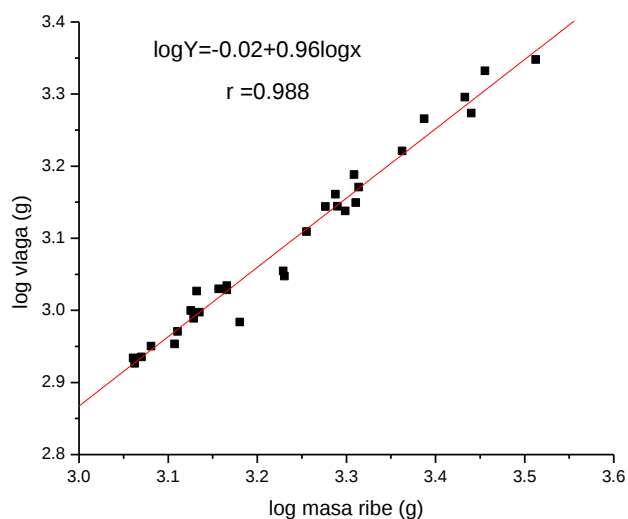
Slika 5.16. Alometrijski odnos apsolutnog sadržaja lipida (g/masa ribe) i masa šarana prihranjivanih žitaricama, u periodu septembar, oktobar, decembar i april



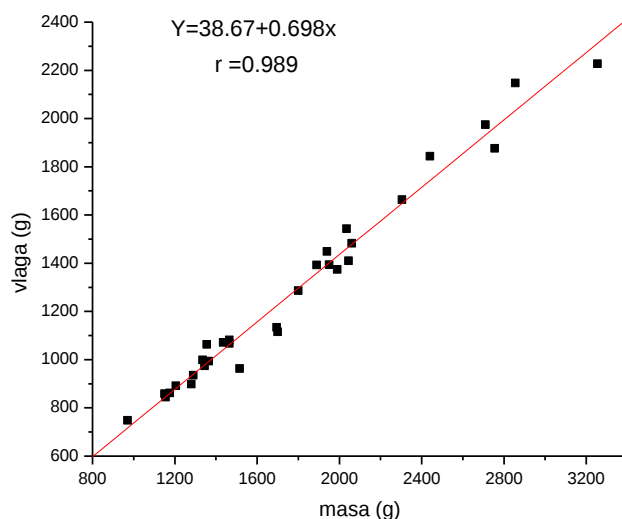
Slika 5.17. Izometrijski odnos apsolutnog sadržaja lipida (g/masa ribe) i masa šarana prihranjivanih žitaricama, u periodu septembar, oktobar, decembar i april

Lipidi su kod riba manjih masa, od 1200 g do 1500 g, bili ujednačeni, dok su kod riba većih masa razlike između jedinki bile veće.

Sadržaj vlage je bio u jako pozitivnoj korelaciji sa masom riba. Nagib alometrijske regresije ($b = 0,96$) ukazuje da se masa ribe brže povećavala od povećanja sadržaja vlage (slika 5.18).



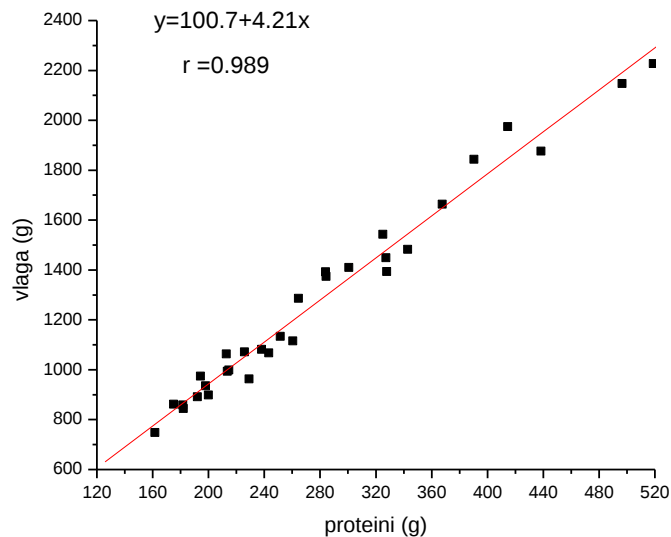
Slika 5.18. Alometrijski odnos apsolutnog sadržaja vlage (g/masa ribe) i masa šarana prihranjivanih žitaricama, u periodu septembar, oktobar, decembar i april



Slika 5.19. Izometrijski odnos apsolutnog sadržaja vlage (g/masa ribe) i masa šarana prihranjivanih žitaricama, u periodu septembar, oktobar, decembar i april

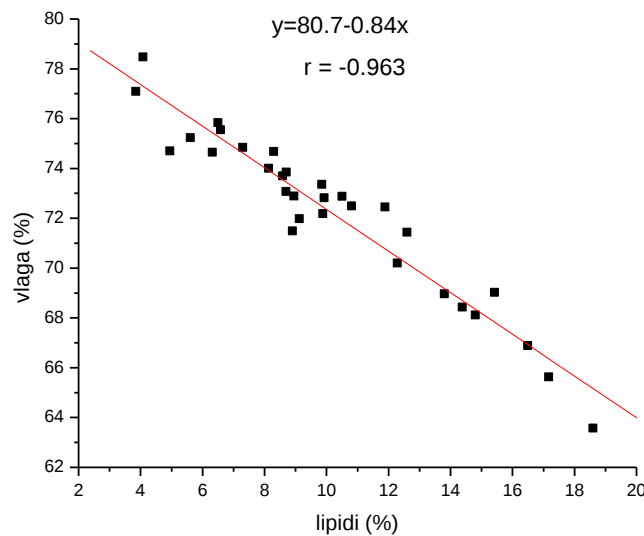
Visok koeficijent korelacije ukazuje da se sadržaj vlage izometrijskim odnosom menjao sa masom riba ($r = 0,989$, $P < 0,0001$, $t = 36,36$, $t_{krit} = 2,04$) (slika 5.19).

Povećanje sadržaja vlage u mesu šarana je posledica promene sadržaja proteina i lipida. Sadržaj vlage u tkivu šarana je u jakoj korelaciji sa sadržajem proteina ($r = 0,989$, $P < 0,0001$), što je prikazano na slici 5.20. Nagib regresione prave ($b = 4,21$, $s_e = 0,12$) ukazuje da se sa svakim gramom deponovanih proteina u mesu šarana zadržavalo 4,21 g vlage.



Slika 5.20. Odnos između sadržaja vlage (g/masa ribe) i proteina (g/masa ribe) u mesu šarana

Kako su sadržaj vlage i lipida u negativnoj korelaciji ($r = -0,963$, $P < 0,0001$, $t = -19,35$, $t_{krit} = 2,04$), (Slika 5.21), na osnovu nagiba regresione prave ($b = -0,84$; $s_e = 0,04$) može se zaključiti da je povećanje od 1 g lipida u tkivu šarana pratilo smanjenje vlage za 0,84 g.



Slika 5.21. Inverzna zavisnost sadržaja vlage i lipida u mesu šarana

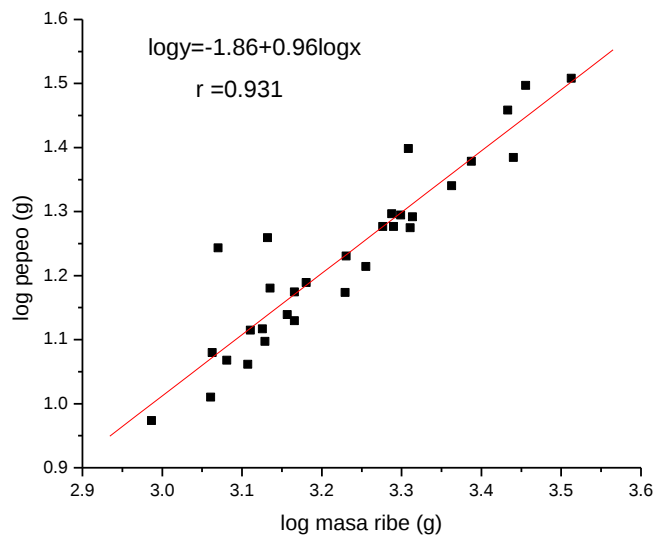
S obzirom da je sadržaj vlage u funkciji sadržaja lipida i proteina, njihova međusobna zavisnost je utvrđena višestrukom linearnom regresijom. Kako je sadržaj lipida u negativnoj korelaciji sa sadržajem vlage, a sadržaj proteina u pozitivnoj korelaciji (g/masa ribe), sadržaj vlage se bolje može predvideti ako se proteini i lipidi izraze u relativnom sadržaju, što ukazuje manja vrednost RSS (10,76). Parametri višestruke linearne regresije dati su u tabeli 5.5.

Tabela 5.5. Parametri višestruke linearne regresije sadržaja vlage u funkciji proteina i lipida

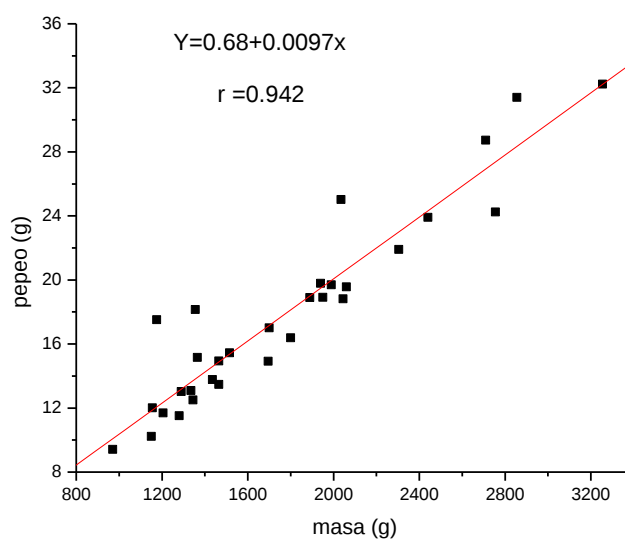
Faktori predikcije	N	RSS	R ²	t-test	P
Proteini, %	31	10,76	0,968	-5,91	<0,0001
Lipidi, %				-26,06	<0,0001
Proteini, g/masa ribe	31	106 865	0,978	28,30	<0,0001
Lipidi, g/masa ribe				-0,96	0,34

N – broj uzoraka; RSS – zbir kvadrata reziduala; R² – koeficijent regresije; t-test; P – nivo značajnosti

Sadržaj pepela nije bio u visokoj pozitivnoj korelaciji sa masom ribe, za razliku od proteina i vlage ($r = 0,931$, $P < 0,0001$, $t = 13,73$, $t_{krit} = 2,04$).



Slika 5.22. Alometrijski odnos apsolutnog sadržaja pepela (g/masa ribe) i masa šarana prihranjivanih žitaricama, u periodu septembar, oktobar, decembar i april



Slika 5.23. Izometrijski odnos apsolutnog sadržaja pepela (g/masa ribe) i masa šarana prihranjivanih žitaricama, u periodu septembar, oktobar, decembar i april

Nagib alometrijske regresije je bio manji od 1 ($b = 0,96$) (slika 5.22), odnosno masa šarana se povećavala brže nego što se izgrađivala njegova skeletna struktura. Veći stepen korelacije ($r = 0,942$) je dobijen izometrijskom regresijom (slika 5.23). Rast skeletne strukture sa povećanjem mase je bio ravnomerniji nego kod šarana sa prvog ribnjaka.

Odnos između sadržaja pepela i mase šarana opisuje sledeća izometrijska jednačina:

$$\text{Pepeo (g)} = 0,68 (\pm 2,43) + 0,0097 (\pm 0,0013) \times \text{masa šarana (g)}.$$

Vrednost u zagradi predstavlja 95% interval pouzdanosti odsečka i nagiba regresije. Sadržaj pepela sa svakim gramom ribe povećavao se za $0,0097 \pm 0,0013$ g pepela/g ribe.

Međutim, da bi se statistički utvrdilo kako pojedini hemijski parametri utiču na rast šarana, urađena je linearna i višestruka linearna regresija masa riba u funkciji proteina, lipida i pepela (g/masa ribe) (tabela 5.6). Sadržaj vlage nije uzet u obzir jer je u funkciji proteina i lipida.

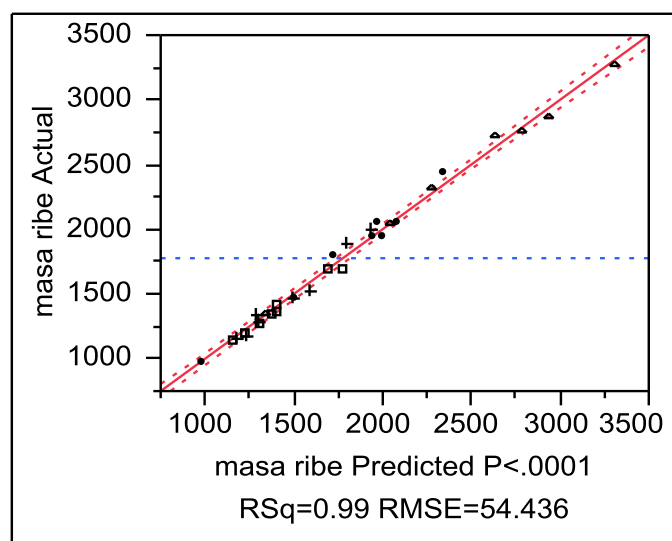
Tabela 5.6. Parametri linearne i višestruke linearne regresije masa šarana u zavisnosti od hemijskih parametara kao predviđajućih faktora

Faktor predikcije	N	RSS	R^2	P
Proteini, g/masa ribe	31	228 756	0,98	<0,0001
Lipidi, g/masa ribe	31	4 942 270	0,50	<0,0001
Pepeo, g/masa ribe	31	1 115 930	0,89	<0,0001
Proteini + lipidi, g/masa riba	31	104 510	0,99	<0,0001
Proteini + lipidi + pepeo, g/masa ribe	31	80 009	0,99	<0,0001

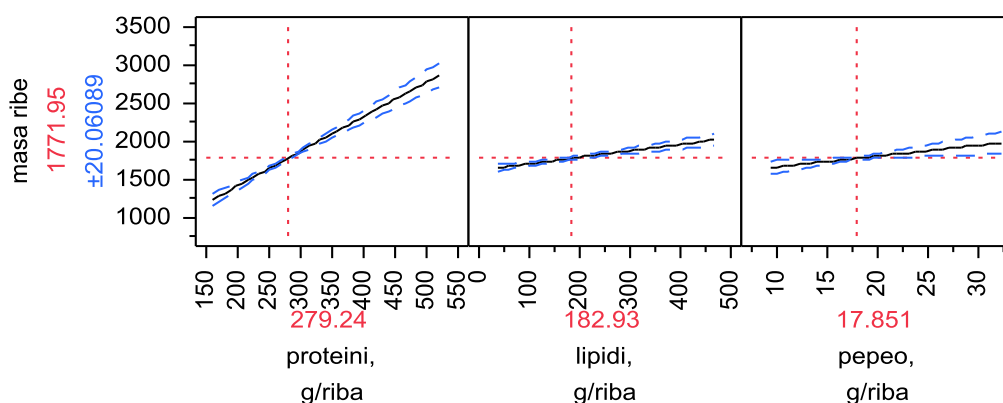
N – broj uzoraka; RSS - zbir kvadrata reziduala; R^2 – koeficijent regresije; P – nivo značajnosti

Visoka vrednost koeficijenta regresije ($R^2 = 0,99$) i najmanja vrednost RSS (80 009) zbirnih faktora (sadržaj proteina, lipida i pepela) ukazuju da ova tri faktora najbolje opisuju masu ribe, kao što je prikazano na slici 5.24. Međutim, proteini su isključivo

odgovorni za rast, odnosno povećanje mase riba, dok lipidi malo doprinose njenom povećanju, što se jasno uočava na osnovu nagiba prave na slici 5.25. Sa povećanjem sadržaja proteina drastično se menja masa ribe, a slabo se menja sa promenom sadržaja lipida (slika 5.25).

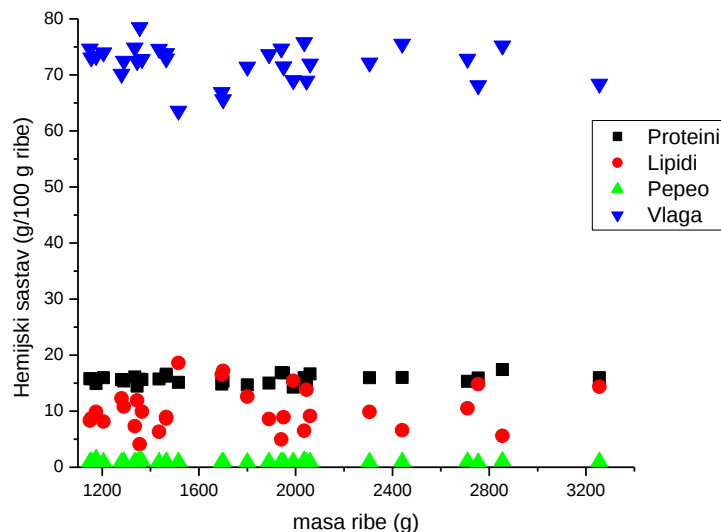


Slika 5.24. Višestruka linearna regresija mase šarana u zavisnosti od sadržaja proteina, lipida i pepela u mesu ribe



Slika 5.25. Predikcija mase šarana u funkciji sadržaja proteina, lipida i pepela u mesu ribe

Kada se podaci za hemijske parametre izraze kao g/100 g ribe, može se steći uvid u sastav tkiva tokom rasta ribe. Rezultati koji su prikazani na slici 5.26, ukazuju da se udeo proteina i pepela u tkivu šarana nije značajno menjao sa povećanjem mase riba.



Slika 5.26. Hemijski sastav (relativan sadržaj, g/ 100 g) šarana koji su prihranjivani kukuruzom, u periodu septembar, oktobar, decembar i april

Udeo lipida i vlage je znatno varirao tokom rasta ribe, jer su najviše bili pod uticajem ishrane, a ove varijacije su, verovatno, i posledica veće varijabilnosti jedinki šarana. Koeficijenti varijacija za mase šarana su bili veći nego kod šarana sa ribnjaka u kojem je korišćena ekstrudirana hrana. Rezultati su pokazali da se hemijski sastav mesa šarana tokom rasta nije značajno menjao.

5.3 Uporedna analiza hemijskog sastava šarana sa dva ribnjaka sa poluintenzivnim uzgojem - uticaj vrste dodatne hrane

Poređenjem masa šarana uzetih u istom vremenskom periodu sa dva ribnjaka sa poluintenzivnim uzgojem, sa dva načina prihrane, dobijene su sledeće vrednosti t testa: septembar - 0,31; oktobar - 0,35; decembar - 1,90; april - 12,79 ($t_{krit} = 2,20$ za septembar, oktobar i april, $t_{krit} = 2,36$ za decembar), na osnovu čega se može zaključiti

da su se šarani sa dva ribnjaka u istim mesecima uzimanja uzoraka značajno razlikovali u masi samo u aprilu mesecu. Međutim, ovi rezultati, koji predstavljaju laboratorijske izmerene vrednosti uzetih uzoraka ribe i ne predstavljaju proizvodne rezultate, mogu se objasniti činjenicom da je varijabilnost uzoraka šarana bila veća na ribnjaku u kojem je riba prihranjivana žitaricama. Na to ukazuju veći koeficijenti varijacije za mase riba (14,7 – 24,8%), kao što je dato u tabeli 5.4, dok su šarani sa ribnjaka u kojem je riba prihranjivana ekstrudiranom hranom imali manje varijacije mase (4,5 – 16,2%, tabela 5.1).

U tabeli 5.7 dat je hemijski sastav ekstrudirane hrane za prihranu šarana, koja je uzeta u septembru i oktobru. Šaran je istom ekstrudiranom potpunom smešom, na prvom ribnjaku, prihranjivan od početka (april) do kraja tovne sezone (oktobar). Ekstrudirana smeša je sadržala visok sadržaj proteina, lipida i mineralnih materija.

Tabela 5.7. Učešće proteina, ukupnih lipida, vlage, pepela, celuloze, bezazotnih ekstraktivnih materija (BEM) (g/100 g) i metabolička energija (ME) u ekstrudiranoj hrani za prihranu šarana (srednja vrednost $\pm$ SD)

Parametar	Septembar (n=6)	Oktobar (n=6)
Proteini (g)	24,96 $\pm$ 0,08	23,81 $\pm$ 0,09
Ukupni lipidi (g)	8,17 $\pm$ 0,02	6,97 $\pm$ 0,18
Vlaga (g)	9,66 $\pm$ 0,04	11,64 $\pm$ 0,06
Pepeo (g)	6,81 $\pm$ 0,04	6,42 $\pm$ 0,04
Celuloza (g)	3,12 $\pm$ 0,06	3,27 $\pm$ 0,09
BEM (g)	47,28	47,89
ME, (MJ/kg)	17,22	16,58

BEM - bezazotne ekstraktivne materije (BEM = 100 – (vlaga+sirovi proteini+lipidi+sirova celuloza+ pepeo); ME - metabolička energija izračunata na osnovu konverzionih faktora: za proteine 23,4 kJ/g, za lipide 39,8 kJ/g i za BEM 17,2 kJ/g (Cho, Slinger i Bayley, 1982).

Prihrana šarana od početka (maj) do kraja tovne sezone (početak oktobra) na drugom ribnjaku bazirala se isključivo na kukuruzu. U tabeli 5.8 dat je hemijski sastav

kukuruza, ali i ostalih vrsta žitarica (pšenica, ječam) koje se koriste u prihrani šarana i date su samo informativno.

Tabela 5.8. Učešće proteina, ukupnih lipida, vlage, pepela, celuloze, bezazotnih ekstraktivnih materija (BEM) (g/100 g) i metabolička energija (ME) u žitaricama za prihranu šarana (srednja vrednost $\pm$ SD)

Parametar	Kukuruz	Pšenica	Ječam
Proteini (g)	8,58 $\pm$ 0,05	12,55 $\pm$ 0,17	10,67 $\pm$ 0,28
Ukupni lipidi (g)	4,47 $\pm$ 0,04	1,02 $\pm$ 0,07	1,03 $\pm$ 0,06
Vlaga (g)	11,64 $\pm$ 0,03	9,33 $\pm$ 0,04	9,47 $\pm$ 0,20
Pepeo (g)	1,10 $\pm$ 0,03	1,55 $\pm$ 0,05	1,13 $\pm$ 0,02
Celuloza (g)	1,71 $\pm$ 0,03	0,06 $\pm$ 0,02	3,64 $\pm$ 0,10
BEM (g)	72,50	75,49	74,06
ME, (MJ/kg)	16,25	16,32	15,64

BEM - bezazotne ekstraktivne materije (BEM = 100 – (vlaga+sirovi proteini+lipidi+sirova celuloza+pepeo); ME - metabolička energija izračunata na osnovu konverzionih faktora: za proteine 23,4 kJ/g, za lipide 39,8 kJ/g i za BEM 17,2 kJ/g (Cho, Slinger and Bayley, 1982).

Sadržaj proteina, lipida i pepela bio je značajno veći u ekstrudiranoj hrani nego u žitaricama. Bezazotne ekstraktivne materije bile su mnogo veće u žitaricama nego u ekstrudiranoj hrani. One su mera potencijalno rastvorljivih i svarljivih ugljenih hidrata i u biljkama se sastoje, uglavnom, od slobodnih šećera, skroba i drugih svarljivih ugljenih hidrata.

Analizom varijanse sadržaja proteina, lipida, vlage i pepela u mesu ribe ispitan je uticaj ekstrudirane hrane i kukuruza na hemijski sastav mesa šarana (tabela 5.9).

Sadržaj proteina je bio veći u mesu šarana prihranjivanih ekstrudiranom hranom (16,16-18,28%) nego u mesu šarana prihranjivanih žitaricama (15,14-16,12%). Značajne razlike između šarana sa dva ribnjaka, u istom periodu uzimanja uzoraka, su uočene u septembru ($P < 0,0001$), oktobru ($P < 0,01$), decembru ($P < 0,01$) i aprilu ($P < 0,05$).

Sadržaj lipida je bio značajno veći u mesu šarana prihranjivanih kukuruzom u septembru ($P < 0,0001$), oktobru ($P < 0,05$) i decembru ($P < 0,001$), nego u mesu šarana

koji su bili prihranjivani ekstrudiranom hranom. Međutim, šarani u aprilu se nisu međusobno razlikovali u sadržaju lipida ($P > 0,05$). Sa izuzetkom aprila, prihrana šarana ekstrudiranom hranom, generalno, nije dovela do povećanja sadržaja lipida u mesu ribe. Od septembra do decembra sadržaj lipida u šaranima koji su prihranjivani ekstrudiranom hranom bio je u opsegu od 3,2 do 4,7%, dok je u aprilu bio značajno veći (7,5%). Udeo lipida u šaranima prihranjivanih kukuruzom, od septembra do aprila, bio je u opsegu od 8,6 do 11,6%.

Sadržaj vlage u mesu šarana prihranjivanih kukuruzom bio je od 71,4 do 73,0%, dok u mesu šarana prihranjivanih ekstrudiranom hranom od 74,4 do 78,3%. S obzirom da su lipidi u inverznom odnosu sa sadržajem vlage, šarani prihranjivani žitaricama imali su značajno manji sadržaj vlage od šarana prihranjivanih ekstrudiranom hranom u septembru ($P < 0,001$), oktobru ($P < 0,05$) i decembru ($P < 0,001$). Kako se šarani u aprilu nisu razlikovali u sadržaju lipida, nisu se međusobno razlikovali ni u sadržaju vlage ($P > 0,05$).

Šarani su se međusobno razlikovali u sadržaju pepela samo u oktobru ($P < 0,05$). U mesu šarana prihranjivanih ekstrudiranom hranom sadržaj pepela bio je od 1,01 do 1,12%, dok u mesu šarana prihranjivanih kukuruzom od 0,96 do 1,03%.

Analiza varijanse je pokazala da se šarani u aprilu, sa ribnjaka u kojem je riba prihranjivana ekstrudiranom hranom, u hemijskom sastavu nisu razlikovali od šarana u oktobru, decembru i aprilu ($P > 0,05$) koji su prihranjivani kukuruzom. Razlika je postojala samo u septembru, u sadržaju proteina ($P < 0,01$) i lipida ($P < 0,05$). Ove sličnosti su, pre svega, u vezi sa uslovima gajenja šarana, što dovodi do zaključka da je kritični moment za povećanje lipida i smanjenje proteina u mesu ribe sa ribnjaka u kojem je korišćena ekstrudirana hrana bio u aprilu, na početku nove sezone gajenja. Moguće je da je ovo povećanje lipida bilo u vezi sa produkcijom prirodne hrane u ribnjaku u prolećnom periodu. Konzumiranjem hrane koja je bogata proteinima, kao što je prirodna hrana iz ribnjaka, kod riba se, posle perioda gladovanja, povećava sinteza masnih kiselina, odnosno lipida, iz proteina, efekat koji se dešava i kod hrane koja je bogata ugljenim hidratima (Henderson, 1996).

Tabela 5.9. Hemijski sastav mesa šarana sa dva ribnjaka (srednja vrednost $\pm$ standardna devijacija)

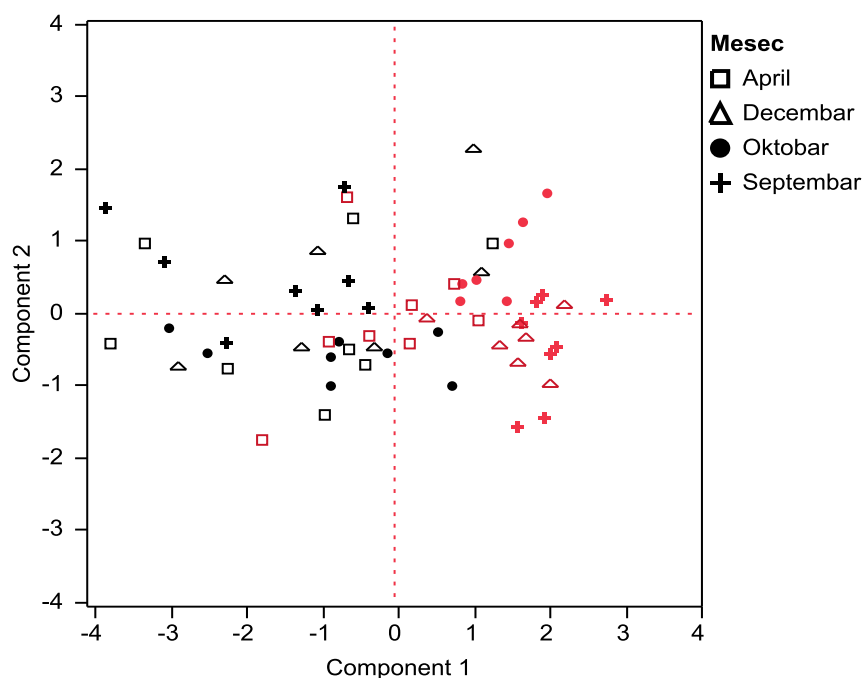
	Septembar		Oktobar		Decembar		April	
Vrsta hrane	E	Ž	E	Ž	E	Ž	E	Ž
Proteini, %	18,28 $\pm$ 0,29 ^a	15,14 $\pm$ 0,65 ^e	17,26 $\pm$ 0,30 ^b	16,12 $\pm$ 0,92 ^{cd}	17,11 $\pm$ 0,39 ^b	15,85 $\pm$ 0,28 ^{cd}	16,16 $\pm$ 0,60 ^c	15,68 $\pm$ 0,19 ^{de}
Vlaga, %	77,5 $\pm$ 1,2 ^a	71,4 $\pm$ 3,5 ^d	75,7 $\pm$ 0,9 ^{ab}	73,0 $\pm$ 2,6 ^{bcd}	78,3 $\pm$ 1,6 ^a	72,5 $\pm$ 3,2 ^{cd}	74,4 $\pm$ 1,4 ^{bc}	72,2 $\pm$ 4,3 ^{cd}
Lipidi, %	3,2 $\pm$ 1,0 ^d	11,6 $\pm$ 3,6 ^a	4,7 $\pm$ 0,7 ^{cd}	8,6 $\pm$ 3,5 ^{ab}	3,2 $\pm$ 1,7 ^d	9,8 $\pm$ 3,7 ^{ab}	7,5 $\pm$ 2,2 ^{bc}	10,3 $\pm$ 4,7 ^{ab}
Pepeo, %	1,05 $\pm$ 0,06 ^{ab}	1,02 $\pm$ 0,06 ^{bc}	1,12 $\pm$ 0,06 ^a	0,96 $\pm$ 0,04 ^c	1,04 $\pm$ 0,03 ^{ab}	1,03 $\pm$ 0,11 ^{bc}	1,01 $\pm$ 0,09 ^{bc}	0,96 $\pm$ 0,08 ^{bc}

Vrsta hrane: E – šarani prihranjivani ekstrudiranom hranom, Ž – šarani prihranjivani žitaricama (kukuruz);

ANOVA *t* – test: ^{abcde} srednje vrednosti u istom redu sa različitim slovnim oznakama statistički se značajno razlikuju ($P < 0,05$)

Multivarijantnom analizom hemijskog sastava šarana sa dva ribnjaka mogu se bolje utvrditi razlike i sličnosti kod mesa šarana prema vrsti korišćene hrane. Analiza, ukupno, 61 uzorka šarana rezultirala je u modelu u kojem prve dve glavne komponente opisuju 90,77% varijabilnosti podataka. Razdvajanje uzoraka postignuto je duž prve glavne komponente sa 72,89% varijabilnosti podataka, dok je drugom glavnom komponentom ostvareno 17,88% varijansi podataka.

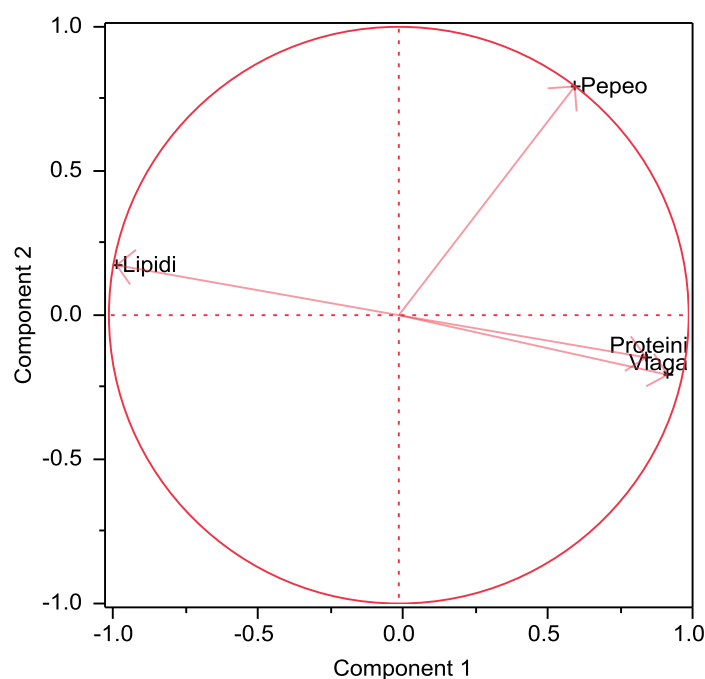
Vrednosti skorova prve dve glavne komponente na slici 5.27, prikazuju razdvajanje šarana prema vrsti dodatne hrane i vremenu uzimanja uzoraka. Svaka tačka na grafičkom prikazu predstavlja jedan uzorak šarana. Šarani prihranjivani žitaricama razdvojeni su duž negativne ose prve glavne komponente (crno označeno), od šarana prihranjivanih ekstrudiranom hranom koji su razdvojeni duž pozitivne ose prve glavne komponente (crveno označeno). Na slici 5.27 može se uočiti da su jedinke šarana koje su prihranjivane kukuruzom više varirale, što je posledica varijabilnosti, pre svega, u sadržaju lipida.



Slika 5.27. Vrednosti skorova prve dve glavne komponente hemijskog sastava šarana gajenih u dva ribnjaka (oznake: crveno – riba prihranjivana ekstrudiranom hranom, crno – riba prihranjivana žitaricama)

Osim toga, na slici 5.27 se uočava da je, od ukupno 30, šest uzoraka šarana sa ribnjaka u kojem je riba prihranjivana ekstrudiranom hranom izdvojeno, i bili su bliži u hemijskom sastavu uzorcima šarana koji su dodatno hranjeni žitaricama. Oni predstavljaju uzorke šarana iz aprila, kao što je analizom varijanse prethodno utvrđeno.

Projekcija svojstvenih vektora na slici 5.28 ukazuje da su šarani prihranjivani žitaricama razdvojeni duž negativne ose prve komponente prema većem sadržaju lipida. Lipidi su bili u najvećoj korelaciji sa prvom glavnom komponentom ($r = -0,569$). Šarani prihranjivani ekstrudiranom hranom razdvojeni su duž pozitivne ose prve komponente prema većem sadržaju vlage ($r = 0,542$) i proteina ($r = 0,502$). Sadržaj pepela nije značajno uticao na razdvajanje uzoraka ($r = 0,352$).



Slika 5.28. Projekcije svojstvenih vektora prve dve glavne komponente hemijskog sastava šarana gajenih u dva ribnjaka

Na slici 5.28 se uočavaju jasne korelacije između pojedinačnih hemijskih parametara. Postoji visoka negativna korelacija između vlage i lipida ($r = -0,970$), a slabija korelacija između vlage i proteina ($r = 0,673$) u mesu šarana. Između lipida i proteina,

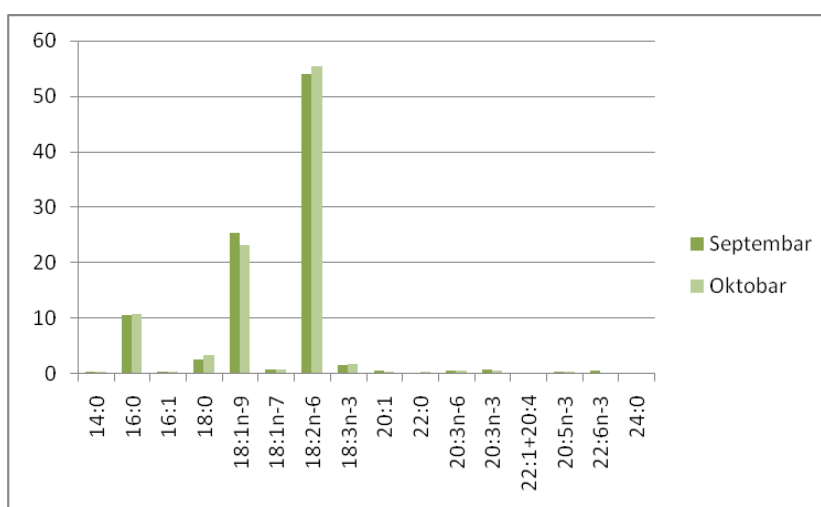
takođe, postoji jaka korelacija ($r = -0,792$). Pepeo je u veoma slaboj korelaciji sa svim parametrima ($r = 0,4$).

Dobijeni rezultati ukazuju da se na osnovu ispitivanja većeg broja uzoraka, multivarijantnom analizom mogu utvrditi jasne razlike, ali i sličnosti u hemijskom sastavu šarana koji su prihranjivani različitom vrstom hrane.

5.4 Sastav masnih kiselina ekstrudirane hrane – uticaj na sastav masnih kiselina mesa šarana

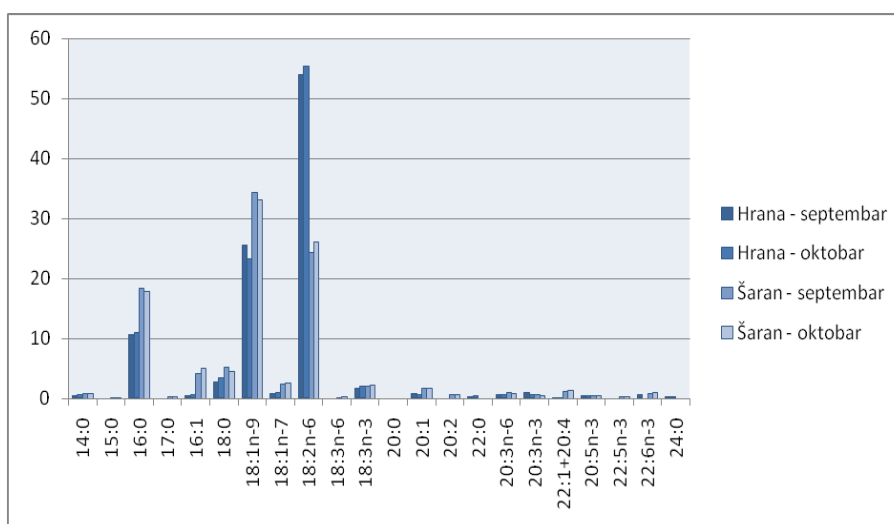
U ekstrudiranoj hrani za prihranu šarana dominantne masne kiseline su bile linolna ($18:2n-6$), sa 54-55%, oleinska ($18:1n-9$), sa 23-25% i palmitinska ($16:0$), sa 11%. Linolna kiselina je dominirala u udelu $n-6$ masnih kiselina, a od $n-3$ polinezasićenih masnih kiselina linolenska kiselina ($18:3n-3$) je bila najzastupljenija. Od važnijih pokazatelja kvaliteta lipida značajan je odnos $n-6/n-3$, koji je bio prosečno 17,35, zatim odnos polinezasićenih i zasićenih masnih kiselina (P/Z) koji je prosečno bio 3,93 i odnos ukupnih nezasićenih i zasićenih masnih kiselina (U/Z), prosečno 5,77.

Šaran je sa ekstrudiranom smešom istog sastava prihranjivan u septembru i oktobru, kada su uzeti i uzorci ribe. Distribucija masnih kiselina ekstrudirane hrane prikazana je na slici 5.29.



Slika 5.29. Distribucija masnih kiselina u ekstrudiranoj hrani za šarane

Korelacionom analizom utvrđeno je da je ekstrudirana smeša kojom su šarani prihranjivani u toku septembra i oktobra bila nepromenjena u sastavu masnih kiselina. To potvrđuje visoka vrednost koeficijenta korelacije ($r = 0,999$). S obzirom da riba nije bila prihranjivana u decembru i aprilu, sastav masnih kiselina ekstrudirane hrane korelisan je sa sastavom masnih kiselina mesa šarana u septembru i oktobru. Vrednosti korelacionih koeficijenata i odgovarajuće vrednosti t testa za septembar ($r = 0,829$, $t = 6,63$) i oktobar ($r = 0,837$, $t = 6,84$), ($t_{krit} = 2,16$, $P = 0,05$) ukazuju da je postojala statistički značajna korelacija između masnokiselinskog sastava hrane i ispitanih uzoraka ribe. Distribucija masnih kiselina u mesu šarana i hrani u septembru i oktobru prikazana je na slici 5.30.



Slika 5.30. Distribucija masnih kiselina u ekstrudiranoj hrani i mesu šarana u septembru i oktobru

Na slici 5.30 se mogu uočiti jasni varijabiliteti u sadržaju određenih masnih kiselina u hrani i mesu šarana. Sadržaj 16:0, 16:1 i 18:1n-9 je bio veći u mesu šarana u odnosu na hranu. Razlog tome je činjenica što su zasićene i mononezasićene masne kiseline sa 16 i 18 ugljenikovih atoma, uglavnom, proizvodi sinteze u tkivu ribe, a interkonverzija između njih ograničava uticaj dodatne hrane.

Prisustvo *cis* – vacenske kiseline (18:1n-7) u mesu ribe može da potiče iz ribnjačkih hidrobionata, kao što su bakterije poput *E. coli*. Njeno prisustvo u hrani je bilo manje od 1%, a u mesu šarana od 0,28% do 2,72%. 18:2n-6 masna kiselina je bila dvostruko više zastupljena u hrani nego u mesu šarana. Linolna kiselina se nepromenjena inkorporira u tkivo ribe, međutim njen udeo je manji u mesu ribe zbog povećanja *de novo* sinteze oleinske kiseline. 18:3n-6, 20:2n-6 i 22:5n-3 masne kiseline nisu bile prisutne u hrani, dok njihovo prisustvo u mesu ribe ukazuje da su ove masne kiseline nastale iz drugih izvora, kao što je npr. prirodna hrana iz ribnjaka. U mesu ribe nije utvrđeno prisustvo zasićenih masnih kiselina 20:0, 22:0 i 24:0, koje su bile prisutne u hrani.

U tabeli 5.10 prikazan je sastav masnih kiselina šarana sa ribnjaka u kojem je riba bila prihranjivana ekstrudiranom hranom. Masne kiseline koje su najviše bile zastupljene u mesu šarana u svim periodima uzimanja uzoraka su bile, redom, 18:1n-9, 18:2n-6 i 16:0. Ove masne kiseline su bile dominantni izvori metaboličke energije za ribe.

Udeo 18:1n-9 u mesu šarana je bio značajno veći u aprilu ($P < 0,0001$) u odnosu na septembar, oktobar i decembar. Udeo oleinske kiseline se nije značajno menjao od septembra do decembra ($P > 0,05$). Linolna kiselina je bila više zastupljena u septembru (25,04%) i oktobru (26,09%), zbog prihranjivanja ribe hranom koja je bila bogata linolnom kiselinom, u odnosu na decembar (22,96%) i april (22,12%). Palmitinska kiselina je bila manje zastupljena u aprilu u odnosu na decembar ($P < 0,0001$), septembar ($P < 0,0001$) i oktobar ($P < 0,001$).

Od n-6 polinezasićenih masnih kiselina najviše je bila zastupljena 18:2n-6, a od n-3 polinezasićenih masnih kiselina najviše je bila zastupljena 18:3n-3, u svim periodima uzimanja uzoraka. n-6 masne kiseline su bile više zastupljene u septembru ($P < 0,05$) i oktobru ($P < 0,001$), zbog prihranjivanja u tom periodu, za razliku od decembra kada šaran nije bio prihranjivan. Takođe, n-3 masne kiseline u septembru i oktobru su bile veće ($P < 0,01$) nego u decembru. Odnos n-3/n-6 je bio najveći u septembru (0,17), a najmanji u aprilu (0,10), dok između oktobra i decembra nije bilo značajne razlike ($P > 0,05$).

Masnokiselinski sastav mesa šarana se nije značajno razlikovao između septembra i oktobra u udelu mononezasićenih i polinezasićenih masnih kiselina, dok su zasićene

masne kiseline bile više zastupljene u septembru ($P < 0,05$), kada je temperatura bila veća ($20\text{ }^{\circ}\text{C}$), nego u oktobru kada je izmerena temperatura bila $6\text{ }^{\circ}\text{C}$. Moguć razlog je sinteza zasićenih masnih kiselina u toku letnjeg perioda, zbog njihove fiziološke uloge, jer smanjuju fluidnost ćelijskih membrana.

Tabela 5.10. Sastav masnih kiselina (% od ukupnih masnih kiselina) u mesu šarana koji su prihranjivani ekstrudiranom hranom (srednja vrednost $\pm$ SD)

Masne kiseline	Septembar (n=6)	Oktobar (n=8)	Decembar (n=6)	April (n=8)
14:0	0,82 $\pm$ 0,05 ^{AB}	0,84 $\pm$ 0,07 ^A	0,76 $\pm$ 0,05 ^B	0,68 $\pm$ 0,05 ^C
15:0	0,22 $\pm$ 0,03 ^A	0,19 $\pm$ 0,04 ^A	0,20 $\pm$ 0,04 ^A	0,06 $\pm$ 0,01 ^B
16:0	18,28 $\pm$ 0,89 ^A	17,81 $\pm$ 0,76 ^A	18,46 $\pm$ 0,91 ^A	16,06 $\pm$ 0,76 ^B
16:1	3,97 $\pm$ 0,43 ^B	5,01 $\pm$ 0,83 ^A	5,05 $\pm$ 0,66 ^A	4,35 $\pm$ 0,31 ^B
17:0	0,39 $\pm$ 0,05 ^A	0,34 $\pm$ 0,08 ^{AB}	0,31 $\pm$ 0,07 ^B	0,09 $\pm$ 0,01 ^C
18:0	5,15 $\pm$ 0,44 ^A	4,49 $\pm$ 0,28 ^B	4,94 $\pm$ 0,65 ^{AB}	4,91 $\pm$ 0,29 ^{AB}
18:1n-9	33,55 $\pm$ 2,59 ^B	33,09 $\pm$ 2,46 ^B	34,89 $\pm$ 1,16 ^B	43,88 $\pm$ 1,76 ^A
18:1n-7	2,42 $\pm$ 0,08 ^B	2,57 $\pm$ 0,18 ^{AB}	2,72 $\pm$ 0,26 ^A	0,28 $\pm$ 0,12 ^C
18:2n-6	25,04 $\pm$ 0,62 ^A	26,09 $\pm$ 1,81 ^A	22,96 $\pm$ 0,71 ^B	22,12 $\pm$ 1,13 ^B
18:3n-6	0,25 $\pm$ 0,04 ^B	0,34 $\pm$ 0,05 ^{AB}	0,30 $\pm$ 0,13 ^{AB}	0,35 $\pm$ 0,11 ^A
18:3n-3	2,12 $\pm$ 0,34 ^A	2,23 $\pm$ 0,27 ^A	1,68 $\pm$ 0,37 ^B	1,46 $\pm$ 0,09 ^B
20:1	1,70 $\pm$ 0,24 ^B	1,76 $\pm$ 0,24 ^B	2,54 $\pm$ 0,35 ^A	1,93 $\pm$ 0,25 ^B
20:2	0,81 $\pm$ 0,13 ^A	0,68 $\pm$ 0,09 ^{AB}	0,70 $\pm$ 0,12 ^{AB}	0,62 $\pm$ 0,14 ^B
20:3n-6	0,86 $\pm$ 0,44 ^A	0,88 $\pm$ 0,10 ^A	1,08 $\pm$ 0,07 ^A	1,08 $\pm$ 0,22 ^A
20:3n-3	0,70 $\pm$ 0,22 ^A	0,48 $\pm$ 0,11 ^B	0,37 $\pm$ 0,06 ^B	0,20 $\pm$ 0,04 ^C
22:1+20:4	1,25 $\pm$ 0,14 ^A	1,35 $\pm$ 0,28 ^A	1,39 $\pm$ 0,40 ^A	1,17 $\pm$ 0,19 ^A
20:5n-3	0,52 $\pm$ 0,16 ^A	0,58 $\pm$ 0,14 ^A	0,63 $\pm$ 0,24 ^A	0,11 $\pm$ 0,02 ^B
22:5n-3	0,29 $\pm$ 0,09 ^A	0,28 $\pm$ 0,08 ^A	0,22 $\pm$ 0,05 ^A	0,10 $\pm$ 0,03 ^B
22:6n-3	0,94 $\pm$ 0,22 ^{AB}	1,01 $\pm$ 0,27 ^A	0,76 $\pm$ 0,15 ^B	0,54 $\pm$ 0,09 ^C
ZMK	24,86 $\pm$ 1,03 ^A	23,66 $\pm$ 0,80 ^B	24,67 $\pm$ 1,41 ^{AB}	21,80 $\pm$ 0,96 ^C
MNMK	41,68 $\pm$ 2,59 ^C	42,43 $\pm$ 2,93 ^C	45,20 $\pm$ 1,48 ^B	50,45 $\pm$ 1,85 ^A
PNMK	31,53 $\pm$ 1,91 ^A	32,56 $\pm$ 2,37 ^A	28,72 $\pm$ 0,78 ^B	26,58 $\pm$ 1,05 ^C
n-3	4,57 $\pm$ 0,59 ^A	4,57 $\pm$ 0,66 ^A	3,66 $\pm$ 0,45 ^B	2,41 $\pm$ 0,14 ^C
n-6	26,96 $\pm$ 1,75 ^A	27,99 $\pm$ 1,91 ^A	25,05 $\pm$ 0,68 ^B	24,17 $\pm$ 0,98 ^B
n-3/n-6	0,17 $\pm$ 0,02 ^A	0,16 $\pm$ 0,02 ^{AB}	0,15 $\pm$ 0,03 ^B	0,10 $\pm$ 0,01 ^C

n – broj uzoraka; analiza varijanse (ANOVA): srednje vrednosti u istom redu sa različitim slovnim oznakama statistički se značajno razlikuju ($p < 0,05$).

U decembru, kada se šaran nije prihranjivao, značajno se povećao udeo mononezasićenih masnih kiselina ($P < 0,05$) i smanjio udeo n-6 ($P < 0,001$) i n-3 ($P < 0,01$) polinezasićenih masnih kiselina, u odnosu na oktobar.

Šaran je u aprilu sadržao značajno veći udeo mononezasićenih masnih kiselina u odnosu na decembar ($P < 0,001$) i manji udeo n-3 polinezasićenih masnih kiselina ($P < 0,0001$). Udeo n-6 PNMK se nije značajno razlikovao ($P > 0,05$) između decembra i aprila. Odnos n-3/n-6 je bio značajno manji u aprilu ($P < 0,0001$) nego u decembru. Zbog dominantnog udela mononezasićenih masnih kiselina, zasićene masne kiseline su bile najmanje zastupljene u mesu šarana u aprilu.

Ovakav masnokiselinski sastav je, verovatno, rezultat povezanosti sadržaja lipida u ribi i sezone gajenja, što će biti razmatrano daljom analizom.

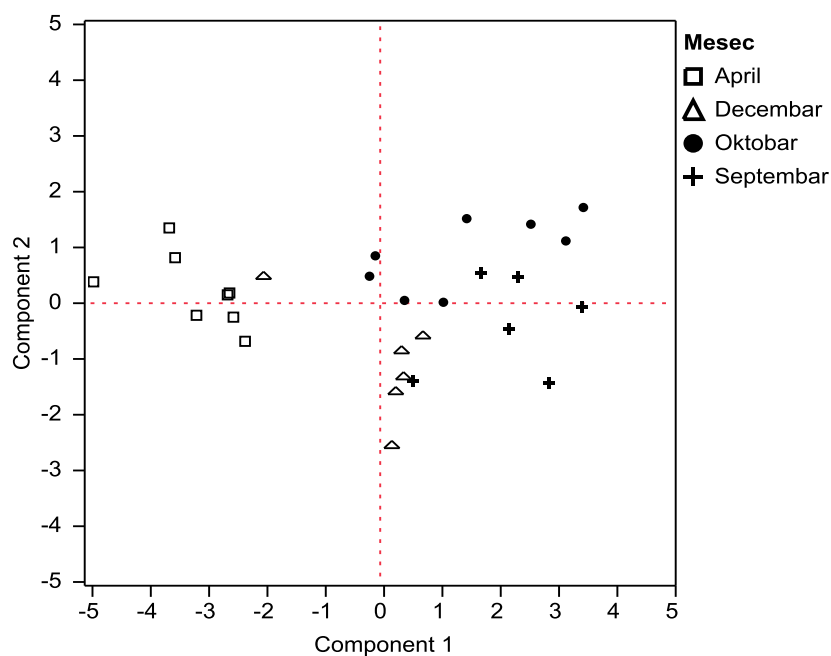
5.5 Multivarijantna analiza sastava masnih kiselina mesa šarana u toku poluintenzivnog uzgoja i prihranjivanja ekstrudiranom hranom

Varijacije u masnokiselinskom sastavu šarana, u različitim periodima uzimanja uzoraka, mogu se najbolje uočiti multivarijantnom analizom. Analizom glavnih komponenti, uzimajući kao promenjive veličine grupe masnih kiselina, mase šarana i udeo lipida u mesu ribe (slika 5.31), postignuto je dobro razdvajanje šarana prema periodu uzimanja uzoraka.

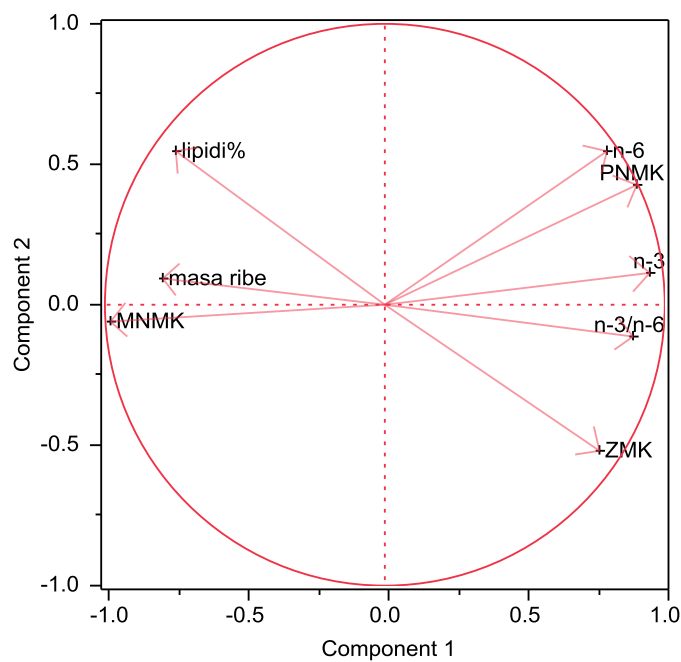
Prve dve glavne komponente opisuju ukupnu varijabilnost od 87%. Mononezasićene masne kiseline, koje su u negativnoj korelaciji sa prvom glavnom komponentom, kao što je prikazano na slici 5.32, doprinele su razdvajanju šarana iz aprila, sa većim sadržajem ovih masnih kiselina, od ostalih šarana. Ovi šarani su imali veći udeo lipida u mesu i bili su veće mase, što ukazuje pozitivna korelacija sa drugom, odnosno negativna korelacija sa prvom glavnom komponentom.

Prvom glavnom komponentom, duž pozitivne ose, n-3 polinezasićene masne kiseline su najviše doprinele izdvajanju šarana iz septembra i oktobra. Njihovom razdvajanju doprinele su i n-6 polinezasićene masne kiseline duž pozitivne ose druge glavne komponente (slike 5.31 i 5.32). Grupisanje šarana u septembru i oktobru posledica je intenzivne prihrane šarana tokom letnjeg perioda. Zasićene masne kiseline, koje su u

negativnoj korelaciji sa drugom glavnom komponentom, doprinele su izdvajanju šarana iz decembra.



Slika 5.31. Vrednosti skorova prve dve glavne komponente za grupe masnih kiselina šarana prihranjivanih ekstrudiranom hranom



Slika 5.32. Projekcije svojstvenih vektora prve dve glavne komponente za grupe masnih kiselina šarana prihranjivanih ekstrudiranom hranom

Dobijeni rezultati ukazuju na činjenicu da je sastav masnih kiselina u mesu šarana u septembru i oktobru bio uslovljen, pre svega, načinom ishrane. U decembru i aprilu na njihov sastav su uticali i neki drugi faktori, odnosno bioekološki, npr. varijacije u temperaturnim uslovima, dostupnost prirodne hrane, i dr. U tabeli 5.11 dati su koeficijenti korelacije prve dve glavne komponente i svake varijable. Najveće vrednosti su označene masnim slovima - bold.

Tabela 5.11. Koeficijenti korelacije između prve dve glavne komponente i varijabli, svojstvene vrednosti i varijanse za šarane prihranjivane ekstrudiranom hranom, u periodu septembar, oktobar, decembar i april

Varijable	Komponente	
	I	II
ZMK	0,316	-0,499
MNMK	-0,404	-0,059
PNMK	0,371	0,408
n-6	0,328	0,521
n-3	0,392	0,109
n-3/n-6	0,367	-0,109
Masa ribe	-0,328	0,088
Lipidi%	-0,307	0,527
Svojstvena vrednost	5,83	1,09
Varijansa, %	72,99	13,61
Zbir, %	72,99	86,61

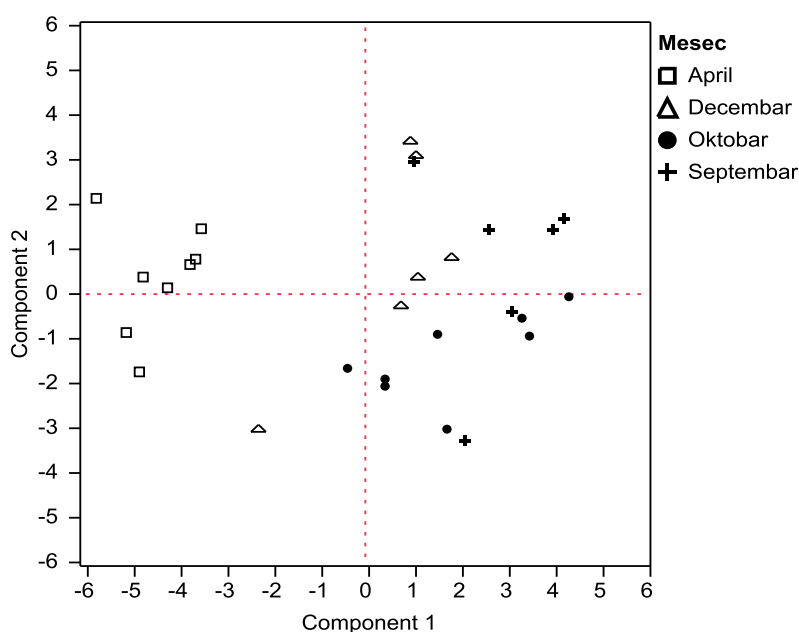
ZMK, zasićene masne kiseline; MNMK, mononezasićene masne kiseline; PNMK, polinezasićene masne kiseline

Analizom glavnih komponenti mogu se jasno utvrditi promene pojedinačnih masnih kiselina tokom uzgoja šarana. Uzimajući u obzir masnokiselinski sastav, mase riba i sadržaj lipida kao promenjive veličine, dobijen je model koji sa prve dve glavne komponente opisuje ukupnu varijabilnost od 66%. Pri tome je prvom glavnom komponentom opisano 49%, a drugom 16% varijabilnosti.

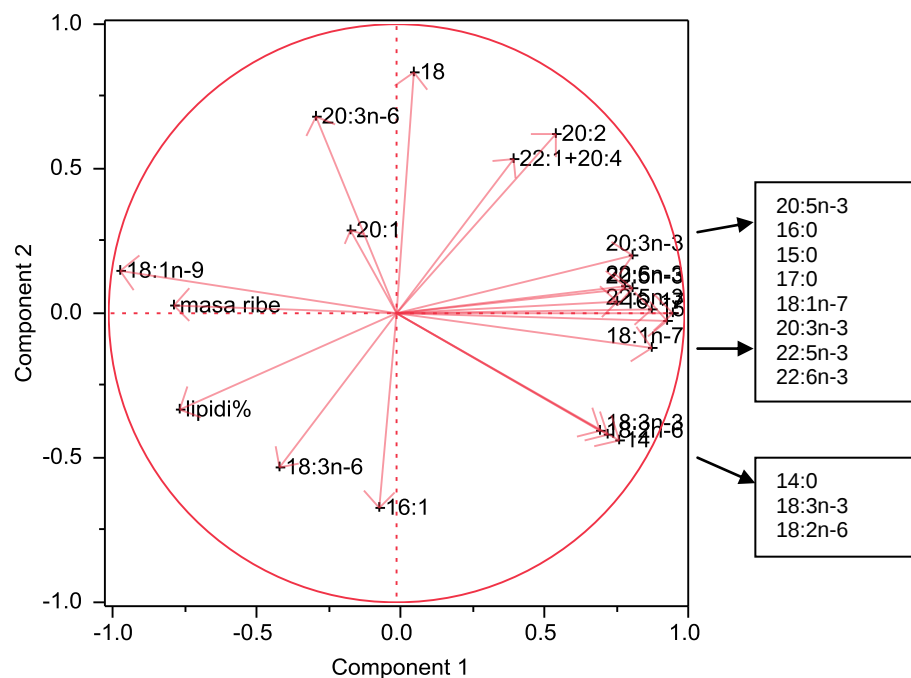
Vrednosti skorova prve dve glavne komponente, slika 5.33, i njihove uzajamne projekcije, slika 5.34, pokazuju da masne kiseline koje su najviše uticale na razdvajanje duž prve komponente su 18:1n-9 (oleinska kiselina), koja je bila više zastupljena u šaranu u aprilu, i 20:5n-3 (EPA, eikozapentaenska kiselina), 16:0 (palmitinska kiselina),

15:0, 17:0, 18:1n-7, 20:3n-3, 22:5n-3 (DPA, dokozapentaenska kiselina) i 22:6n-3 (DHA, dokosaheksaenska kiselina), koje su bile više zastupljene u šaranu u septembru i oktobru.

Druga glavna komponenta je definisana, primarno, sa masnim kiselinama 18:0, 20:1, 20:3n-6, 20:2 i 22:1+20:4n-6 na pozitivnoj osi, koje su bile dominantnije u šaranu u decembru. S obzirom da u ekstrudiranoj hrani nije utvrđeno prisustvo masnih kiselina 20:2 i 22:1+20:4n-6, a u ribi, je u većem udelu, zastupljena 20:1, moguće je da ova masna kiselina potiče iz prirodne hrane, koju je šaran koristio u zimskom periodu (Sargent i dr., 1989).



Slika 5.33. Vrednosti skorova prve dve glavne komponente sastava masnih kiselina šarana prihranjivanih ekstrudiranom hranom



Slika 5.34. Uzajamne projekcije prve dve glavne komponente sastava masnih kiselina šarana prihranjivanih ekstrudiranom hranom

Linolna (18:2n-6) i linolenska (18:3n-3) kiselina duž negativne ose druge komponente, doprinele su razdvajanju šarana iz oktobra, a njihova veća zastupljenost je uzrokovana prihranom ribe ekstrudiranom hranom. U tabeli 5.12, masnim slovima, su označene varijable koje su bile u najvećoj korelaciji sa prve tri glavne komponente.

Tabela 5.12. Koeficijenti korelacije između prve tri glavne komponente i varijabli, svojstvene vrednosti i varijanse za šarane prihranjivane ekstrudiranom hranom, u periodu septembar, oktobar, decembar i april

Varijable	Komponente		
	I	II	III
14:0	0,240	-0,240	-0,103
15:0	0,291	-0,013	0,116
16:0	0,237	0,021	0,196
16:1	-0,018	-0,364	0,458
17:0	0,298	-0,000	0,038
18:0	0,018	0,452	-0,139
18:1n-9	-0,297	0,080	-0,096
18:1n-7	0,274	-0,064	0,252
18:2n-6	0,218	-0,222	-0,229
18:3n-6	-0,126	-0,289	0,149
18:3n-3	0,226	-0,228	-0,096
20:1	-0,049	0,157	0,540
20:2	0,171	0,338	-0,086
20:3n-6	-0,087	0,369	0,227
20:3n-3	0,254	0,107	-0,168
22:1+20:4	0,126	0,290	0,154
20:5n-3	0,254	0,046	0,257
22:5n-3	0,276	0,005	0,034
22:6n-3	0,246	0,052	-0,052
Masa ribe	-0,241	0,013	0,262
Lipidi%	-0,234	-0,179	-0,095
Svojstvena vrednost	10,40	3,40	2,15
Varijansa, %	49,55	16,18	10,26
Zbir, %	49,55	65,73	75,99

5.6 Korelacija masa riba i sadržaja lipida sa sastavom masnih kiselina šarana prihranjivanih ekstrudiranom hranom

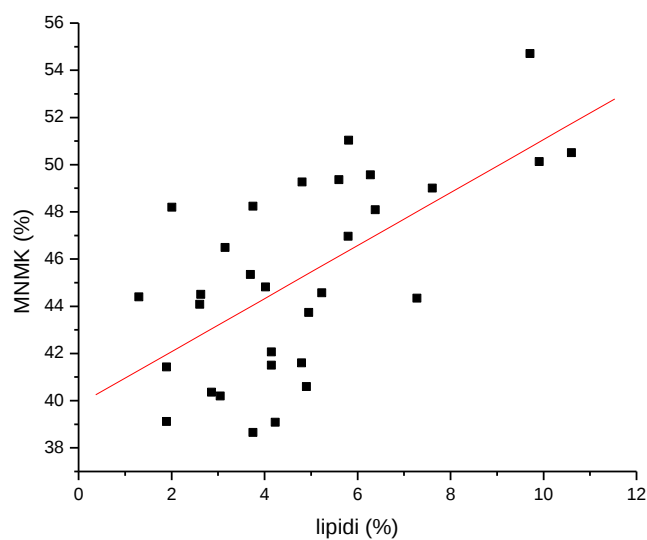
Rezultati korelacione matrice ukazali su na promene u sastavu masnih kiselina mesa šarana tokom uzgoja. Promene su se dešavale sa povećanjem mase i količine deponovanih lipida. Korelacije grupa masnih kiselina, masa riba i sadržaja lipida date su u tabeli 5.13.

Tabela 5.13. Korelacija grupa masnih kiselina šarana prihranjivanih ekstrudiranom hranom (ZMK, MNMK, PNMK, n-6, n-3) sa masom šarana (g) i sadržajem lipida (%)

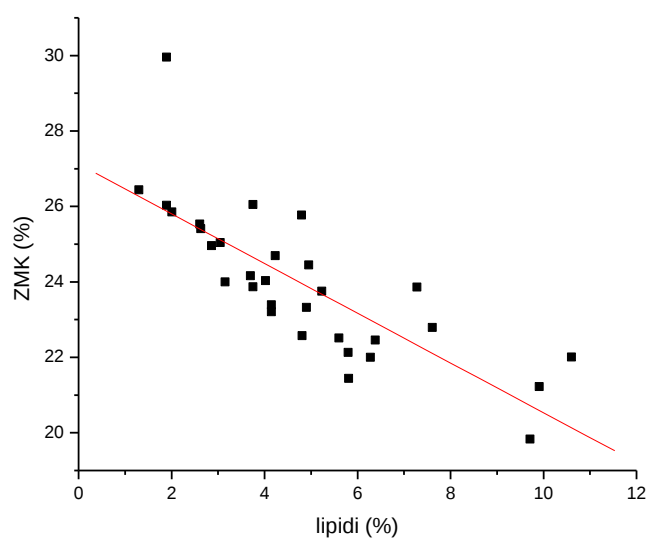
Masne kiseline	Masa ribe (g)		Lipidi (%)	
	r	P	r	P
ZMK	-0,544	0,0028*	-0,820	<0,0001*
MNMK	0,711	<0,0001*	0,702	<0,0001*
PNMK	-0,624	0,0004*	-0,465	0,0127*
n-3	-0,727	<0,0001*	-0,596	0,0008*
n-6	-0,519	0,0047*	-0,358	0,0612
n-3/n-6	-0,717	<0,0001*	-0,634	0,0003*

r – koeficijent korelacije, P – nivo značajnosti

Mononezasićene masne kiseline u lipidima mesa šarana dominirale su sa povećanjem masa riba ($r = 0,711$) i sa povećanjem sadržaja lipida ($r = 0,702$), (tabela 5.13). Varijabilnosti u sadržaju mononezasićenih masnih kiselina su bile u uskoj vezi sa promenom u udelu lipida u mesu ribe (slika 5.35), na koju su uticali vrsta i količine hrane, sezona gajenja, različitost jedinki i dr. Suprotan je bio efekat na sadržaj zasićenih masnih kiselina, koji se značajno smanjivao sa povećanjem udela lipida u mesu ribe ($r = -0,820$), kao što je prikazano na slici 5.36. To je, pre svega, posledica enzimske desaturacije zasićenih u mononezasićene masne kiseline. Sadržaj zasićenih masnih kiselina se smanjivao i sa povećanjem mase riba ($r = -0,544$), (tabela 5.13).

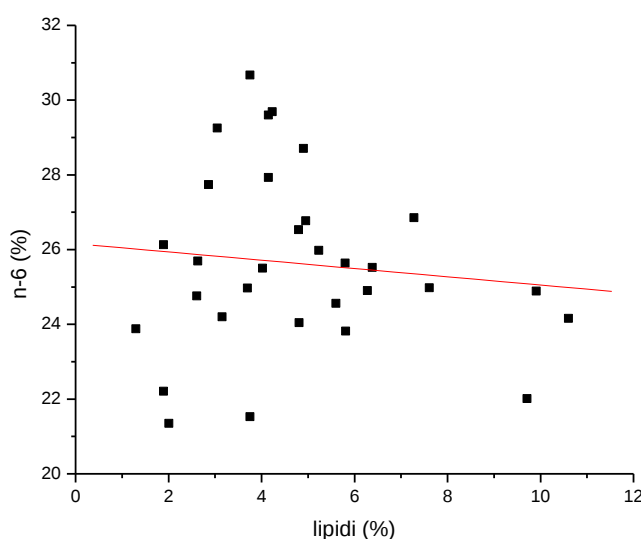


Slika 5.35. Odnos između mononezasićenih masnih kiselina i lipida u mesu šarana prihranjivanih ekstrudiranom hranom, u periodu septembar, oktobar, decembar i april



Slika 5.36. Odnos između zasićenih masnih kiselina i lipida u mesu šarana prihranjivanih ekstrudiranom hranom, u periodu septembar, oktobar, decembar i april

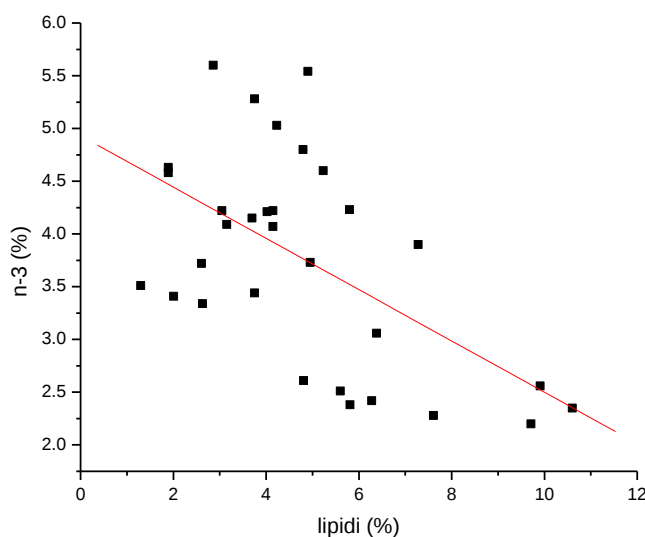
Povećanje sadržaja lipida u mesu ribe nije značajno uticao na sadržaj ukupnih polinezasićenih masnih kiselina ($r = -0,465$), ali se njihov sadržaj značajno smanjivao sa povećanjem mase riba ($r = -0,624$). n-6 polinezasićene masne kiseline nisu bile u korelaciji sa sadržajem lipida ($r = -0,358$), kao što se vidi na slici 5.37, a bile su u veoma slaboj korelaciji sa masom riba ($r = -0,519$) (tabela 5.13).



Slika 5.37. Odnos između n-6 polinezasićenih masnih kiselina i lipida u mesu šarana prihranjivanih ekstrudiranom hranom, u periodu septembar, oktobar, decembar i april

Na slici 5.37 se može uočiti da su veće varijacije u n-6 bile u mesu ribe sa manjim sadržajem ukupnih lipida, verovatno, usled različite distribucije ovih masnih kiselina u tkivu ribe. Međutim, udeo n-3 polinezasićenih masnih kiselina sa povećanjem sadržaja lipida se značajno smanjivao ($r = -0,596$), (slika 5.38), a naročito sa povećanjem mase riba ($r = -0,727$), (tabela 5.13). S obzirom da sadržaj ukupnih lipida jako utiče na sastav lipidnih klasa, promene u sastavu lipida su se više odrazile na smanjenje n-3, koje su bile i manje zastupljene, nego na n-6. Verovatno je razlog smanjenja n-3 masnih kiselina činjenica da se sa povećanjem ukupnih lipida povećao udeo neutralnih lipida u

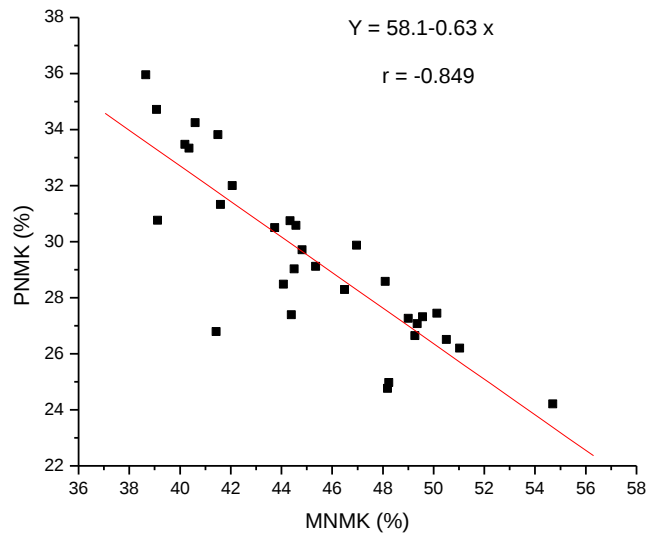
odnosu na polarne fosfolipide, u čijem sastavu su zastupljene n-3 masne kiseline kao konstituenti ćelijskih membrana.



Slika 5.38. Odnos između n-3 polinezasićenih masnih kiselina i lipida u mesu šarana prihranjivanih ekstrudiranom hranom, u periodu septembar, oktobar, decembar i april

Verovatno je, iz tog razloga, meso šarana sa većim udelom ukupnih lipida, u aprilu sadržalo manje n-3 masnih kiselina nego meso šarana u septembru, oktobru i decembru ($P < 0,0001$). Osim toga, šaran je u aprilu imao najveću masu. Promene u sadržaju n-3 masnih kiselina sa promenom u sadržaju lipida uticale su i na smanjenje odnosa n-3/n-6 ($r = -0,634$), koji se značajno smanjivao sa povećavanjem masa riba ($r = -0,717$) (tabela 5.13).

Dobijeni rezultati ukazuju da se sa povećanjem količine lipida u mesu šarana značajno povećavao udeo mononezasićenih masnih kiselina i smanjivao udeo nutritivno važnih n-3 masnih kiselina, a sa povećanjem mase šarana smanjivao se i udeo n-6 polinezasićenih masnih kiselina. Postojala je jako negativna korelacija između polinezasićenih i mononezasićenih masnih kiselina ($r = -0,849$, $P < 0,0001$), koja je prikazana na slici 5.39.



Slika 5.39. Korelacija između polinezasićenih i mononezasićenih masnih kiselina u mesu šarana prihranjivanih ekstrudiranom hranom, u periodu septembar, oktobar, decembar i april

Nagib regresione jednačine ($b = -0,63$) ukazuje da se polinezasićene masne kiseline smanjuju za 0,63% sa povećanjem sadržaja mononezasićenih masnih kiselina od 1% u ukupnim lipidima.

Koeficijenti korelacije pojedinačnih masnih kiselina u mesu šarana sa masom ribe i sadržajem lipida, koji su dobijeni pomoću korelacione matrice, prikazani su u tabeli 5.14.

Sa povećanjem mase šarana povećavao se udeo oleinske kiseline (18:1n-9), ($r = 0,640$). Povećanje ukupnih lipida u mesu šarana za 1,5-2,5 puta, od septembra do aprila, doveo je do značajnog povećanja oleinske kiseline ($r = 0,707$), smanjenja palmitinske (16:0), ($r = -0,747$) i stearinske kiseline (18:0), ($r = -0,396$), što se može objasniti *de novo* sintezom mononezasićenih masnih kiselina iz zasićenih.

Od pojedinačnih n-3 polinezasićenih masnih kiselina, sa povećanjem mase šarana značajno se smanjivao udeo 18:3n-3 ($r = -0,660$) i dokozapentaenske kiseline (22:5n-3),

($r = -0,675$), dok su eikozapentaenska (20:5n-3), ($r = -0,477$) i dokozaheksaenska kiselina (22:6n-3) ($r = -0,520$) bile u slabijoj korelaciji sa masom riba.

Sa povećanjem ukupnih lipida značajno se smanjivao udeo 20:5n-3 ($r = -0,668$), 22:5n-3 ($r = -0,602$) i 22:6n-3 ($r = -0,504$) masnih kiselina.

Promena u sadržaju lipida u mesu šarana nije značajno uticala na udeo linolne (18:2n-6), ($r = -0,336$) i linolenske kiseline (18:3n-3), ($r = -0,271$). Linolna kiselina je bila u slaboj negativnoj korelaciji sa masom riba ($r = -0,530$).

Tabela 5.14. Korelacija masnih kiselina šarana prihranjivanih ekstrudiranom hranom (% od ukupnih MK) sa masom ribe (g) i sadržajem lipida (%)

Masne kiseline	Masa ribe (g)		Lipidi (%)	
	r	P	r	P
14:0	-0,630	0,0003*	-0,423	0,0249*
15:0	-0,708	<0,0001*	-0,717	<0,0001*
16:0	-0,501	0,0066*	-0,747	<0,0001*
16:1	0,270	0,1644	0,175	0,3722
17:0	-0,740	<0,0001*	-0,703	<0,0001*
18:0	-0,069	0,7268	-0,396	0,0370*
18:1n-9	0,640	0,0002*	0,707	<0,0001*
18:1n-7	-0,543	0,0029*	-0,680	<0,0001*
18:2n-6	-0,530	0,0037*	-0,336	0,0800
18:3n-6	0,445	0,0176*	0,368	0,0542
18:3n-3	-0,660	0,0001*	-0,271	0,1629
20:1	0,347	0,0706	-0,057	0,7747
20:2	-0,498	0,0070*	-0,488	0,0084*
20:3n-6	0,415	0,0279*	0,083	0,6753
20:3n-3	-0,715	<0,0001*	-0,665	0,0001*
22:1+20:4	-0,073	0,7112	-0,501	0,0066*
20:5n-3	-0,477	0,0102*	-0,668	0,0001*
22:5n-3	-0,675	<0,0001*	-0,602	0,0007*
22:6n-3	-0,520	0,0046*	-0,504	0,0063*

r – koeficijent korelacije, P – nivo značajnosti

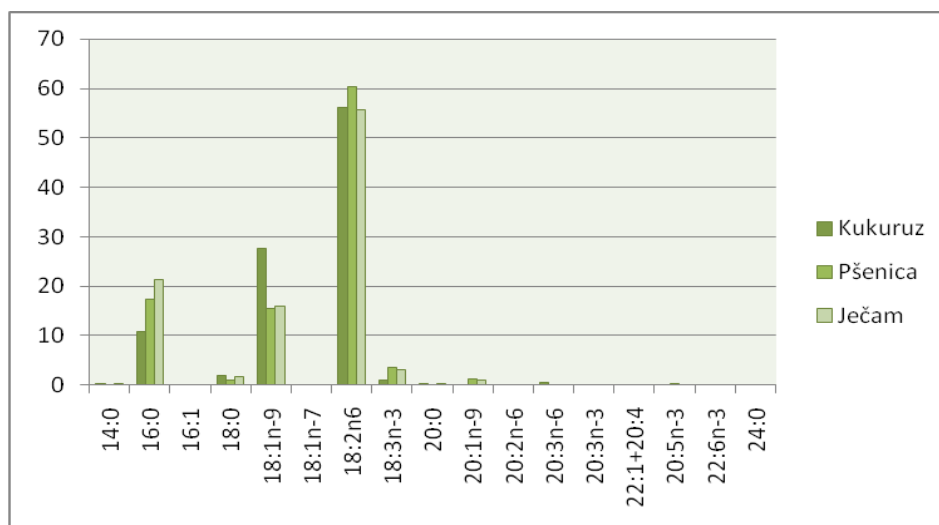
Na osnovu svega prikazanog može se, generalno, konstatovati da je u toku gajenja šarana, sa rastom, odnosno, sa povećanjem mase riba i sadržaja lipida, došlo do značajnih promena u sastavu masnih kiselina mesa ribe. Sa povećanjem lipida uočava se trend povećanja mononezasićenih masnih kiselina, sa predominantnom oleinskom kiselinom i smanjenja esencijalnih n-3 polinezasićenih masnih kiselina (20:5n-3, 22:5n-

3 i 22:6n-3). Kako se sa povećanjem ukupnih lipida, povećavao udeo neutralnih lipida, dok je udeo fosfolipida ostao konstantan, jedino moguće objašnjenje je da su visokonezasićene masne kiseline 20:5n-3, 22:5n-3 i 22:6n-3 bile zastupljene u fosfolipidima zbog njihove fiziološke uloge, zbog čega se njihov udeo smanjivao sa povećanjem udela neutralnih lipida. Masa ribe i sadržaj lipida nisu imali značajan uticaj na promenu 16:1 i 20:1. Sa povećanjem mase šarana smanjivao se udeo 18:2n-6 i 18:3n-3, dok je njihov udeo ostao nepromenjen sa promenom sadržaja lipida. Verovatno su 18:2n-6 i 18:3n-3 bile više zastupljene u neutralnim lipidima.

5.7 Sastav masnih kiselina žitarica – uticaj na sastav masnih kiselina mesa šarana

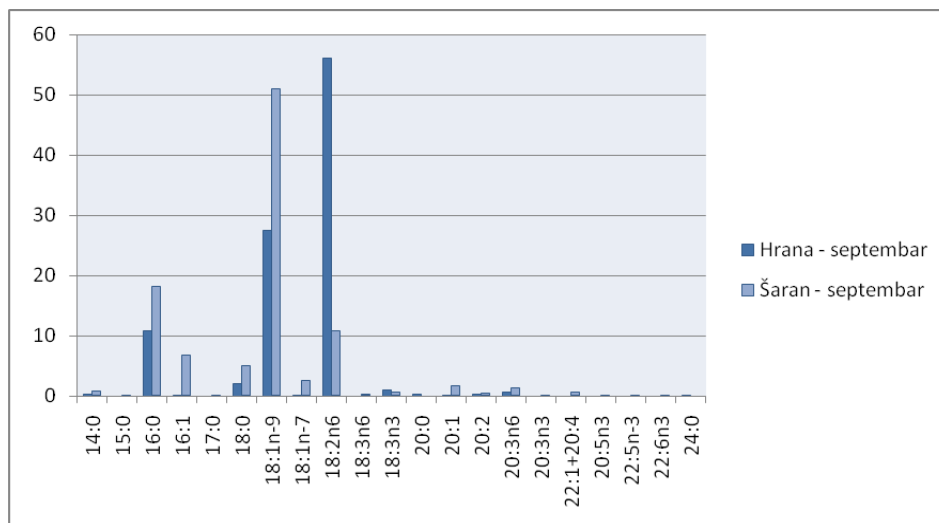
Masne kiseline koje su bile dominantne u sastavu masnih kiselina kukuruza za prihranu šarana bile su 18:2n-6, sa 56%, 18:1n-9, sa 28% i 16:0, sa 11%, odnosno sa udelima koji su slični kao i u ekstrudiranoj hrani. Linolna kiselina je bila dominantna u ukupnom udelu n-6, a linolenska u udelu n-3 polinezasićenih masnih kiselina. Odnos n-6/n-3, kao jedan od pokazatelja kvaliteta lipida, je bio 58,19. Odnos polinezasićenih i zasićenih masnih kiselina (P/Z) je u kukuruzu bio 4,19, a odnos ukupnih nezasićenih i zasićenih masnih kiselina (U/Z) je bio 6,22.

Distribucija masnih kiselina u žitaricama, koje se koriste u prihrani šarana, prikazana je na slici 5.40., a sastav masnih kiselina žitarica su date u prilogu. Pšenica i ječam se u toku uzimanja uzoraka nisu koristile za prihranjivanje šarana i vrednosti su date samo informativno. Kukuruz je, u sastavu masnih kiselina, imao sličan udeo 18:2n-6 kao pšenica i ječam, veći udeo 18:1n-9 i manji udeo 18:3n-3, što su pokazali i koeficijenti korelacije masnokiselinskog sastava kukuruza i pšenice ($r = 0,970$), kukuruza i ječma ($r = 0,963$). Visok stepen korelacije između pšenice i ječma ($r = 0,996$) ukazuje na njihov veoma sličan masnokiselinski sastav.



Slika 5.40. Distribucija masnih kiselina u žitaricama

Šaran je od početka tovne sezone (maj) do kraja septembra bio prihranjivan samo kukuruzom, a tokom oktobra nije prihranjivan, zbog smanjenja temperature vode. S obzirom da riba nije bila prihranjivana u oktobru, decembru i aprilu, sastav masnih kiselina kukuruza korelisan je sa sastavom masnih kiselina mesa šarana koji je uzorkovan u septembru. Vrednost korelacionog koeficijenta i t testa ($r = 0,799$, $t = 5,15$, $t_{krit} = 2,16$, $P = 0,05$) ukazuju da je postojala statistički značajna korelacija između masnokiselinskog sastava kukuruza i uzoraka šarana. Distribucija masnih kiselina u mesu šarana i kukuruzu koji je korišćen za prihranu ribe u septembru prikazana je na slici 5.41.



Slika 5.41. Distribucija masnih kiselina u kukuruzu i mesu šarana u septembru

Mogu se uočiti jasne razlike u odnosu na sadržaj određenih masnih kiselina u kukuruzu i mesu šarana. Sadržaj masnih kiselina 16:0, 16:1, 18:0, 18:1n-9 i 18:1n-7 je bio veći u mesu šarana. 18:1n-7 masna kiselina je biomarker za mnoge bakterije koje su prisutne u ekosistemu ribnjaka. Ona je sa manje od 0,1 % bila prisutna u kukuruzu, a u mesu šarana od 0,52% do 2,83%. Udeo 18:2n-6 (linolna kiselina) je bio pet puta veći u hrani u odnosu na meso šarana. Na inkorporaciju linolne kiseline u tkivo šarana uticala je povećana sinteza 18:1n-9 (oleinska kiselina), koja je dovela do povećanja njenog udela na račun smanjenja udela 18:2n-6. U hrani nije utvrđeno prisustvo 18:3n-6, 20:5n-3, 22:5n-3 i 22:6n-3 masnih kiselina, a njihov sadržaj u mesu ribe ukazuje da su one nastale iz drugih izvora, kao što je npr. prirodna hrana iz ribnjaka. U ribi nije utvrđeno prisustvo zasićenih masnih kiselina 20:0 i 24:0, koje su bile prisutne u hrani.

U tabeli 5.15 prikazan je sastav masnih kiselina šarana koji su u ispitanom periodu prihranjivani kukuruzom. Glavne zastupljene masne kiseline u mesu šarana su bile, redom, 18:1n-9, 16:0 i 18:2n-6 i činile su 79,48-79,93% od ukupnih masnih kiselina u periodu od septembra do decembra. U aprilu njihov udeo je bio 81,39%, zbog većeg udela 18:1n-9 u mesu šarana u aprilu u odnosu na septembar ($P < 0,05$) i oktobar ($P < 0,05$). Udeo linolne kiseline je bio značajno veći u mesu šarana u septembru (10,81%) nego u decembru (8,14%).

Tabela 5.15. Sastav masnih kiselina (% od ukupnih masnih kiselina) u mesu šarana koji su prihranjivani kukuruzom (srednja vrednost $\pm$ SD)

Masne kiseline	Septembar (n=8)	Oktobar (n=7)	Decembar (n=7)	April (n=7)
14:0	0,67 $\pm$ 0,12 ^{AB}	0,71 $\pm$ 0,07 ^A	0,60 $\pm$ 0,08 ^B	0,67 $\pm$ 0,06 ^{AB}
15:0	0,08 $\pm$ 0,02 ^A	0,09 $\pm$ 0,02 ^A	0,04 $\pm$ 0,04 ^B	0,08 $\pm$ 0,02 ^A
16:0	18,17 $\pm$ 1,56 ^A	18,45 $\pm$ 1,39 ^A	17,36 $\pm$ 1,41 ^A	17,79 $\pm$ 1,15 ^A
16:1	6,73 $\pm$ 0,94 ^A	6,85 $\pm$ 0,74 ^A	6,81 $\pm$ 1,09 ^A	7,09 $\pm$ 0,50 ^A
17:0	0,11 $\pm$ 0,01 ^{AB}	0,12 $\pm$ 0,03 ^A	0,10 $\pm$ 0,02 ^B	0,11 $\pm$ 0,02 ^{AB}
18:0	4,92 $\pm$ 0,43 ^A	5,19 $\pm$ 0,60 ^A	4,76 $\pm$ 0,86 ^A	4,94 $\pm$ 0,49 ^A
18:1n-9	50,95 $\pm$ 3,02 ^B	51,25 $\pm$ 3,83 ^B	53,98 $\pm$ 2,63 ^{AB}	54,47 $\pm$ 1,50 ^A
18:1n-7	2,49 $\pm$ 0,14 ^B	2,67 $\pm$ 0,20 ^A	2,83 $\pm$ 0,18 ^A	0,52 $\pm$ 0,06 ^C
18:2n-6	10,81 $\pm$ 1,70 ^A	9,80 $\pm$ 2,24 ^{AB}	8,14 $\pm$ 1,58 ^B	9,13 $\pm$ 0,60 ^{AB}
18:3n-6	0,29 $\pm$ 0,10 ^A	0,26 $\pm$ 0,05 ^A	0,24 $\pm$ 0,10 ^A	0,21 $\pm$ 0,04 ^A
18:3n-3	0,63 $\pm$ 0,28 ^A	0,63 $\pm$ 0,23 ^A	0,49 $\pm$ 0,19 ^A	0,41 $\pm$ 0,12 ^A
20:1	1,67 $\pm$ 0,23 ^C	1,76 $\pm$ 0,26 ^{BC}	2,10 $\pm$ 0,20 ^A	1,96 $\pm$ 0,13 ^{AB}
20:2	0,37 $\pm$ 0,07 ^A	0,31 $\pm$ 0,06 ^B	0,28 $\pm$ 0,06 ^B	0,33 $\pm$ 0,03 ^{AB}
20:3n-6	1,27 $\pm$ 0,15 ^A	1,09 $\pm$ 0,17 ^B	1,01 $\pm$ 0,19 ^B	0,93 $\pm$ 0,14 ^B
20:3n-3	0,05 $\pm$ 0,03 ^{BC}	0,04 $\pm$ 0,08 ^C	0,10 $\pm$ 0,02 ^{AB}	0,11 $\pm$ 0,04 ^A
22:1+20:4	0,55 $\pm$ 0,07 ^B	0,55 $\pm$ 0,12 ^B	0,76 $\pm$ 0,15 ^A	0,84 $\pm$ 0,14 ^A
20:5n-3	0,07 $\pm$ 0,02 ^A	0,11 $\pm$ 0,08 ^A	0,10 $\pm$ 0,03 ^A	0,08 $\pm$ 0,04 ^A
22:5 n-3	0,06 $\pm$ 0,04 ^B	0,02 $\pm$ 0,02 ^C	0,09 $\pm$ 0,05 ^{AB}	0,11 $\pm$ 0,04 ^A
22:6n-3	0,11 $\pm$ 0,02 ^B	0,12 $\pm$ 0,07 ^B	0,19 $\pm$ 0,08 ^A	0,21 $\pm$ 0,09 ^A
ZMK	23,94 $\pm$ 1,46 ^{AB}	24,55 $\pm$ 1,39 ^A	22,86 $\pm$ 1,61 ^B	23,60 $\pm$ 1,54 ^{AB}
MNMK	61,83 $\pm$ 2,65 ^B	62,53 $\pm$ 4,00 ^{AB}	65,73 $\pm$ 3,13 ^A	64,04 $\pm$ 1,63 ^{AB}
PNMK	13,66 $\pm$ 1,90 ^A	12,35 $\pm$ 2,62 ^{AB}	10,65 $\pm$ 1,84 ^B	11,52 $\pm$ 0,81 ^B
n-3	0,92 $\pm$ 0,29 ^A	0,91 $\pm$ 0,40 ^A	0,97 $\pm$ 0,35 ^A	0,92 $\pm$ 0,27 ^A
n-6	12,74 $\pm$ 1,78 ^A	11,44 $\pm$ 2,29 ^{AB}	9,68 $\pm$ 1,68 ^B	10,6 $\pm$ 0,58 ^B
n-3/n-6	0,07 $\pm$ 0,02 ^A	0,08 $\pm$ 0,03 ^A	0,10 $\pm$ 0,03 ^A	0,09 $\pm$ 0,02 ^A

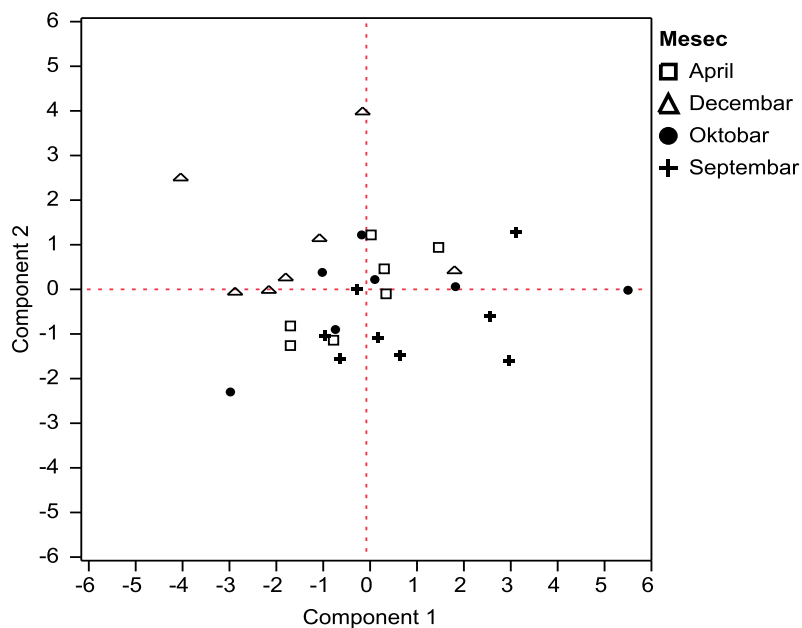
n – broj uzoraka; analiza varijanse (ANOVA): srednje vrednosti u istom redu sa različitim slovnim oznakama statistički se značajno razlikuju ($p < 0,05$).

Udeo palmitinske kiseline je bio isti tokom celog perioda ispitivanja. Zasićene masne kiseline su bile značajno veće u oktobru u odnosu na decembar ($P < 0,05$). Glavne zastupljene n-6 i n-3 masne kiseline su bile 18:2n-6 i 18:3n-3. S obzirom da je šaran sadržao 8,6-11,6% ukupnih lipida, niski udeli 20:5n-3, 22:5n-3 i 22:6n-3 masnih kiselina su, verovatno, posledica dominantnog udela neutralnih lipida u sastavu ukupnih lipida. Masne kiseline 22:5n-3 i 22:6n-3 su bile više zastupljene u periodu kada se riba nije prihranjivala u aprilu i decembru nego u oktobru ($P < 0,001$; $P < 0,05$) i septembru ($P < 0,05$).

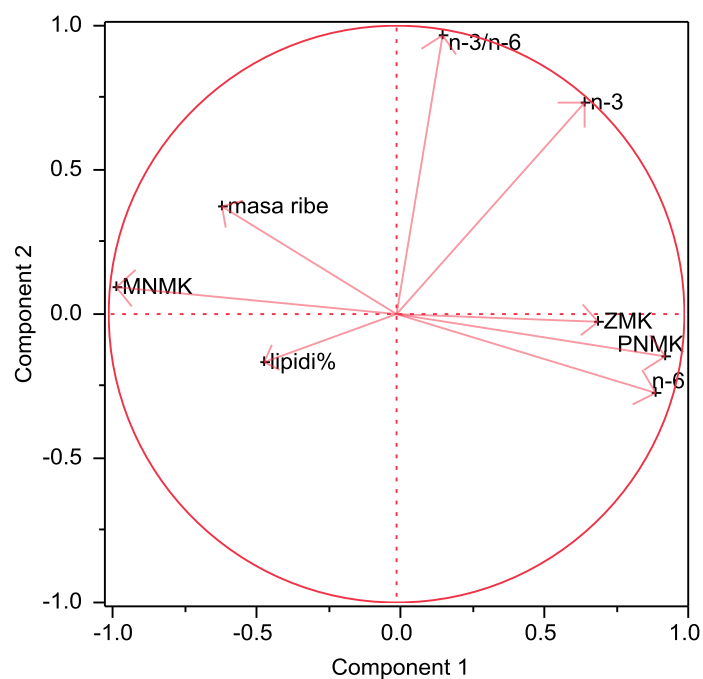
5.8 Multivarijantna analiza sastava masnih kiselina mesa šarana u toku poluintezivnog uzgoja i prihranjivanja kukuruzom

Varijacije u sastavu masnih kiselina šarana u toku uzgoja kukuruzom, prikazane su na slici 5.42. Prve dve glavne komponente grupa masnih kiselina opisuju ukupnu varijabilnost podataka od 74%, pri čemu je prvom ostvareno 52% varijabilnosti podataka, a drugom 22%. Vrednosti skorova prve dve glavne komponente prikazane na slici 5.42, a projekcije njihovih vektora na slici 5.43 prikazuju da su najveće varijacije između šarana postojale u sadržaju mononezasićenih i n-6 polinezasićenih masnih kiselina.

Zbog varijacija jedinki u sadržaju lipida ova varijabla nije uticala na jasno razdvajanje šarana. Šarani uzeti u decembru sadržali su više mononezasićenih masnih kiselina, što pokazuje razdvajanje duž negativne ose prve komponente. Ovi šarani su imali i veću masu, što ukazuje pravac druge komponente. Šarani iz oktobra i septembra razdvojeni su duž pozitivne ose prve komponente prema većem sadržaju n-6 polinezasićenih masnih kiselina. Na osnovu međusobne udaljenosti tačaka (slika 5.42) može se videti da su najveće razlike u masnokiselinskom sastavu mesa šarana bile između decembra i septembra, s obzirom da su tačke najviše udaljene. Grupisanje tačaka u centru ukazuje da se ovi šarani nisu razlikovali u sastavu masnih kiselina.



Slika 5.42. Vrednosti skorova prve dve glavne komponente za grupe masnih kiselina šarana prihranjivanih kukuruzom



Slika 5.43. Uzajamne projekcije prve dve glavne komponente za grupe masnih kiselina šarana prihranjivanih kukuruzom

Korelacije između prve dve glavne komponente i varijabli date su u tabeli 5.16.

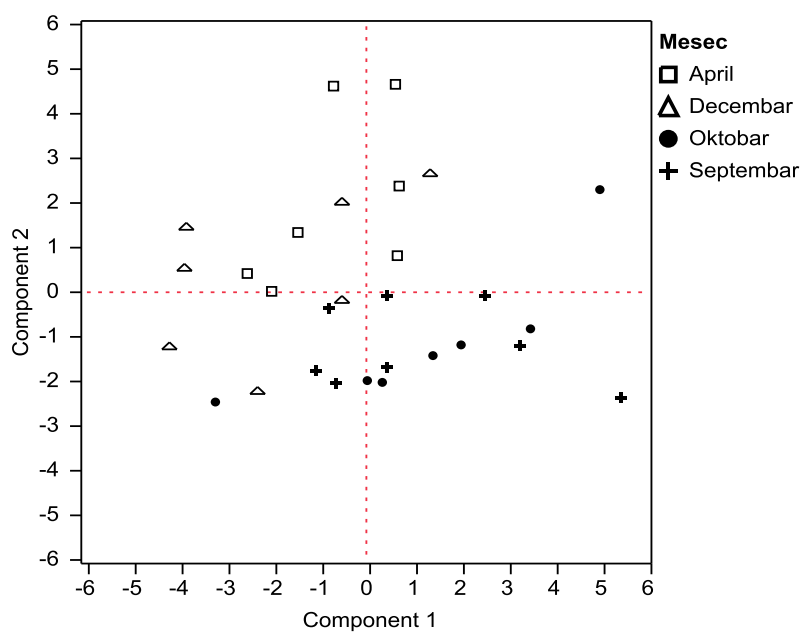
Tabela 5.16. Koeficijenti korelacije između prve dve glavne komponente i varijabli, svojstvene vrednosti i varijanse za šarane prihranjivane kukuruzom, u periodu septembar, oktobar, decembar i april

Varijable	Komponente	
	I	II
ZMK	0,343	-0,018
MNMK	-0,476	0,068
PNMK	0,459	-0,111
n-6	0,443	-0,205
n-3	0,322	0,557
n-3/n-6	0,077	0,731
Lipidi%	-0,224	-0,127
Masa ribe	-0,297	0,282
Svojstvena vrednost	4,15	1,74
Varijansa, %	51,95	21,81
Zbir, %	51,95	73,75

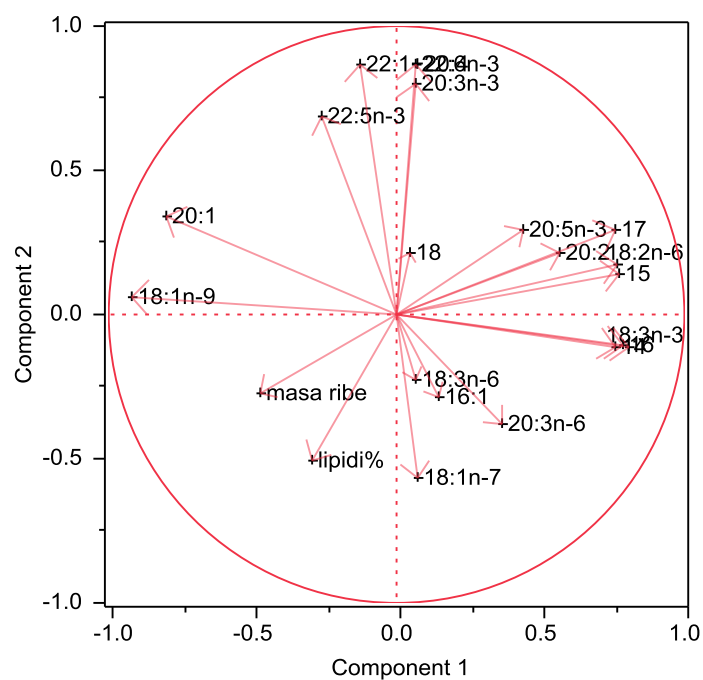
ZMK, zasićene masne kiseline; MNMK, mononezasićene masne kiseline; PNMK, polinezasićene masne kiseline

Slika 5.44 prikazuje varijacije sastava masnih kiselina u mesu šarana, pri čemu se jasno uočava razdvajanje uzoraka u dva perioda uzimanja uzoraka: septembar - oktobar i decembar - april. Unutar ova dva odvojena perioda šarani su bili slični u sastavu masnih kiselina. Projekcija varijabli prve dve glavne komponente (slika 5.45) pokazuje da su masne kiseline 18:1n-9 i 20:1, duž negativne ose prve glavne komponente, bile dominantne u šaranu u decembru i aprilu. Duž pozitivne ose prve glavne komponente, masne kiseline 18:3n-3, 18:2n-6, 20:5n-3, 15:0 i 17:0 su bile više zastupljene u šaranima u septembru i oktobru. Masne kiseline koje najviše doprinose razdvajanju grupa duž druge glavne komponente, sa 19% varijabilnosti, su 22:6n-3, 22:1+20:4, 22:5n-3 i 20:3n-3. One su bile više zastupljene u šaranima u decembru i aprilu, dok su masne kiseline 18:1n-7 i 20:3n-6, koje su razdvojene duž negativne ose druge glavne komponente, bile više zastupljene u septembru i oktobru. Razdvajanje nije postignuto za 16:1, 18:0 i 18:3n-6, odnosno šarani se nisu razlikovali u sadržaju ovih masnih kiselina.

Količine masnih kiselina 22:5n-3 i 22:6n-3 su bile veće u periodu kada je temperatura vode bila niža i kada se šaran nije prihranjivao, u decembru i aprilu, što može biti posledica ishrane šarana sa prirodnom hranom iz ribnjaka.



Slika 5.44. Vrednosti skorova prve dve glavne komponente sastava masnih kiselina šarana prihranjivanih kukuruzom



Slika 5.45. Uzajamne projekcije prve dve glavne komponente sastava masnih kiselina šarana prihranjivanih kukuruzom

U tabeli 5.17 su prikazane varijable koje su najviše korelisane sa prve tri glavne komponente.

Tabela 5.17. Koeficijenti korelacije između prve tri glavne komponente i varijabli, svojstvene vrednosti i varijanse za šarane prihranjivane kukuruzom, u periodu septembar, oktobar, decembar i april

Varijable	Komponente		
	I	II	III
14:0	0,304	-0,058	0,186
15:0	0,311	0,071	0,085
16:0	0,316	-0,054	0,164
16:1	0,058	-0,142	0,471
17:0	0,307	0,146	0,002
18:0	0,019	0,107	-0,440
18:1n-9	-0,371	0,028	0,023
18:1n-7	0,029	-0,284	-0,103
18:2n-6	0,309	0,086	-0,177
18:3n-6	0,027	-0,112	0,238
18:3n-3	0,325	-0,056	0,100
20:1	-0,322	0,171	-0,149
20:2	0,228	0,105	-0,344
20:3n-6	0,147	-0,190	-0,241
20:3n-3	0,026	0,398	0,038
22:1+20:4	-0,050	0,434	0,125
20:5n-3	0,176	0,145	0,123
22:5n-3	-0,103	0,342	0,232
22:6n-3	0,028	0,433	0,182
Lipidi%	-0,119	-0,253	0,256
Masa ribe	-0,190	-0,136	0,148
Svojstvena vrednost	6,19	4,01	3,15
Varijansa, %	29,47	19,11	14,99
Zbir, %	29,47	48,59	63,57

5.9 Korelacija masa riba i sadržaja lipida sa sastavom masnih kiselina šarana prihranjivanih kukuruzom

Na osnovu rezultata korelacione matrice mogu se izvesti zaključci o promeni masnokiselinskog sastava lipida tokom uzgoja ribe. U tabeli 5.18 dati su koeficijenti korelacije grupa masnih kiselina sa masom šarana i sadržajem lipida koji su dobijeni pomoću korelacione matrice. Mononezasićene masne kiseline su bile u pozitivnoj korelaciji sa povećanjem mase riba ($r = 0,484$), dok su polinezasićene masne kiseline bile u negativnoj korelaciji ($r = -0,465$), kao i kod šarana koji su prihranjivani

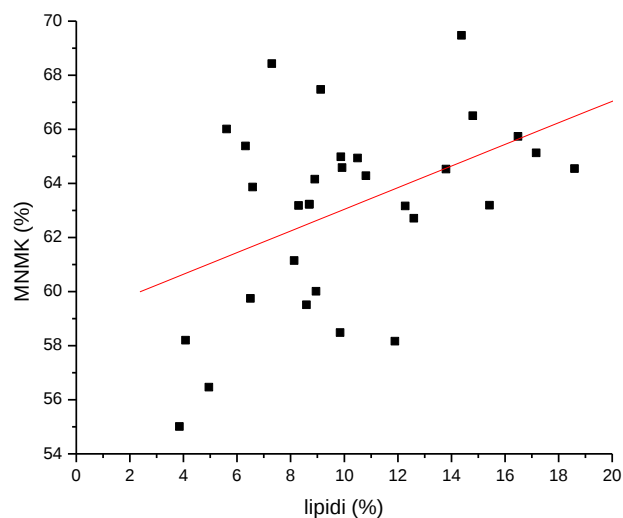
ekstrudiranom hranom. Takođe, količine zasićenih masnih kiselina su se smanjivale ($r = -0,353$), kao i količine n-6 polinezasićenih masnih kiselina ($r = -0,502$), sa povećanjem masa riba. Za razliku od šarana koji su prihranjivani ekstrudiranom hranom, povećanje mase šarana koji su prihranjivani kukuruzom nije uticalo na sadržaj n-3 polinezasićenih masnih kiselina ($r = -0,110$), niti na odnos n-3/n-6 ($r = 0,04$). Razlog tome je činjenica da je sadržaj ukupnih lipida kod šarana koji su prihranjivani kukuruzom bio od 8% do 11 %, a čine ga, verovatno, neutralni lipidi.

Tabela 5.18. Korelacija grupa masnih kiselina šarana prihranjivanih kukuruzom (ZMK, MNMK, PNMK, n-6, n-3) sa masom ribe (g) i sadržajem lipida (%)

Masne kiseline	Masa ribe (g)		Lipidi (%)	
	r	P	r	P
ZMK	-0,353	0,0602	-0,241	0,192
MNMK	0,484	0,0058*	0,447	0,012*
PNMK	-0,465	0,0083*	-0,453	0,010*
n-6	-0,502	0,0040*	-0,369	0,041*
n-3	-0,111	0,553	-0,482	0,006*
n-3/n-6	0,039	0,832	-0,383	0,033*

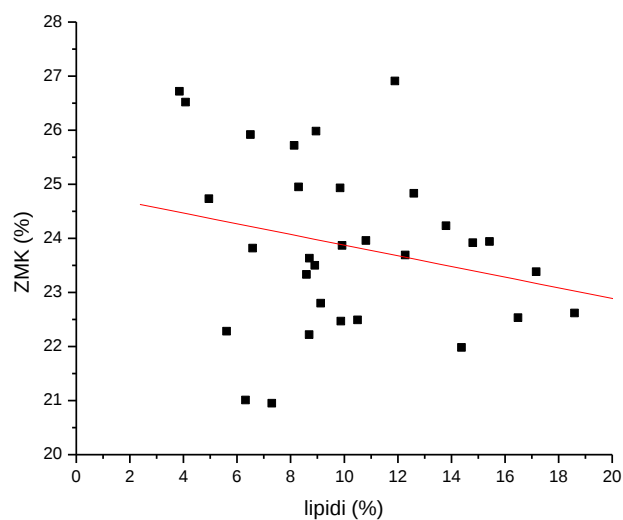
r – koeficijent korelacije, P – nivo značajnosti

Zbog slabe diferencijacije jedinki u sadržaju lipida u periodima uzimanja uzoraka, masne kiseline su slabo korelisane sa ukupnim lipidima. Na to ukazuje slaba pozitivna korelacija sa mononezasićenim masnim kiselinama ($r = 0,447$), kao što je prikazano na slici 5.46 (tabela 5.18).



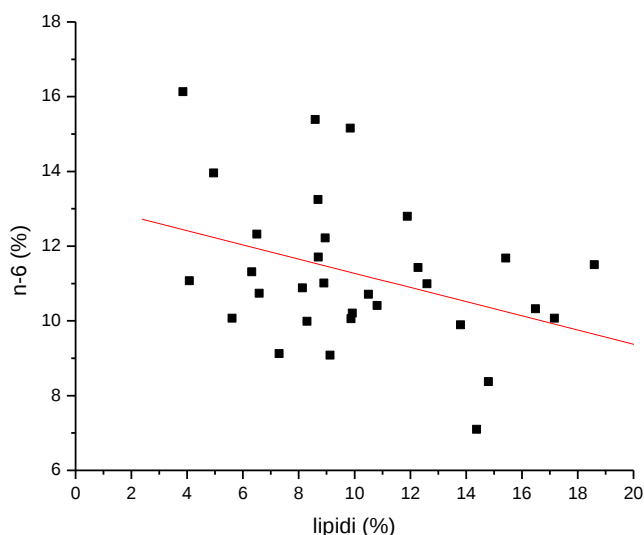
Slika 5.46. Odnos između mononezasićenih masnih kiselina i lipida u mesu šarana prihranjivanih kukuruzom, u periodu septembar, oktobar, decembar i april

Zasićene masne kiseline nisu bile u korelaciji sa sadržajem lipida ($r = -0,241$), (tabela 5.18), kao što je prikazano na slici 5.47.

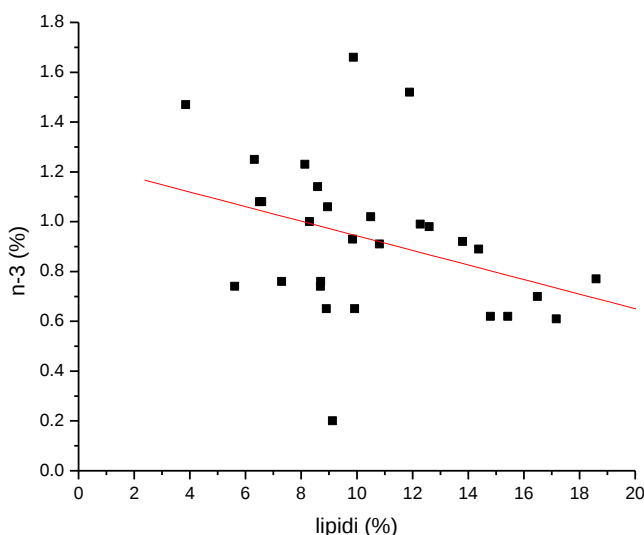


Slika 5.47. Odnos između zasićenih masnih kiselina i lipida u mesu šarana prihranjivanih kukuruzom, u periodu septembar, oktobar, decembar i april

Postojala je slaba negativna korelacija ukupnih polinezasićenih masnih kiselina ($r = -0,453$), n-6 masnih kiselina ($r = -0,369$) i n-3 masnih kiselina ($r = -0,482$), sa sadržajem lipida što je prikazano na slikama 5.48 i 5.49 (tabela 5.18). Odnos n-3/n-6 se takođe smanjivao ($r = -0,383$), (tabela 5.18).

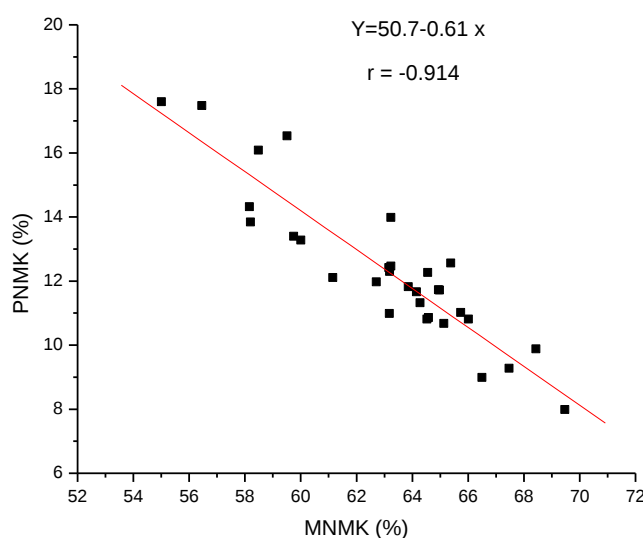


Slika 5.48. Odnos između n-6 polinezasićenih masnih kiselina i lipida u mesu šarana prihranjivanih kukuruzom, u periodu septembar, oktobar, decembar i april



Slika 5.49. Odnos između n-3 polinezasićenih masnih kiselina i lipida u mesu šarana prihranjivanih kukuruzom, u periodu septembar, oktobar, decembar i april

Međutim, iako su ove korelacije slabe, postoji tendencija povećanja mononezasićenih masnih kiselina sa povećanjem lipida i smanjenja esencijalnih n-6 i n-3 polinezasićenih masnih kiselina. Očigledno je da šaran, bez obzira na vrstu dodatne hrane (kukuruz ili ekstrudirana hrana), pokazuje iste metaboličke promene masnih kiselina. Na to dodatno ukazuje jako negativna korelacija između polinezasićenih i mononezasićenih masnih kiselina ($r = -0,914$, $P < 0,0001$) u mesu šarana prihranjivanih kukuruzom, što je prikazano na slici 5.50.



Slika 5.50. Korelacija između polinezasićenih i mononezasićenih masnih kiselina u mesu šarana prihranjivanih kukuruzom, u periodu septembar, oktobar, decembar i april

Nagib regresione jednačine ($b = -0,61$) ukazuje da se polinezasićene masne kiseline smanjuju za 0,61% sa povećanjem sadržaja mononezasićenih masnih kiselina od 1% u ukupnim lipidima, što je slično kao i kod šarana koji su prihranjivani ekstrudiranom hranom. To dovodi do zaključka da je kod šarana, nezavisno od vrste dodatne hrane, metabolizam ovih grupa masnih kiselina isti.

Povećanje mase šarana nije uticalo na sastav masnih kiselina. Izuzetak su 18:2n-6 ($r = -0,539$) i 20:2n-6 ($r = -0,539$) masne kiseline, čiji se sadržaj smanjivao sa povećanjem mase. 18:1n-7 (*cis*-vacenska kiselina), koja je prisutna u mnogim bakterijama,

povećavala se sa masom riba ($r = 0,474$). Sadržaj ove masne kiseline je bio veći u toplijem periodu, u septembru, dok je u aprilu bila prisutna samo u tragovima. Slično je ponašanje ove masne kiseline i kod šarana sa ribnjaka gde je riba prihranjivana ekstrudiranom hranom. U periodu prihranjivanja i većih temperatura vode, veće je prisustvo bakterija u ekosistemu šaranskog ribnjaka. Mogući razlog što ova masna kiselina u mesu ribe u aprilu gotovo da nije bila prisutna su dobre agrotehničke mere obrade zemljišta i priprema ribnjaka.

Jedan od razloga što kod šarana prihranjivanih kukuruzom masa ribe nije bila u korelaciji sa sastavom masnih kiselina može biti i veća varijabilnost samih jedinki.

Koeficijenti korelacije masnih kiselina sa masom šarana i sadržajem lipida, koji su dobijeni pomoću korelacione matrice, prikazani su u tabeli 5.19.

Sadržaj lipida je bio najveći u septembru (11,6%), zbog prihrane kukuruzom, dok se u oktobru, decembru i aprilu, kada riba nije prihranjivana, kretao od 8,6 do 9,8%. Ove razlike nisu bile statistički značajne ($P > 0,05$). Zbog toga, masna kiselina 18:1n-9 nije bila u korelaciji sa sadržajem lipida ($r = 0,260$), a masne kiseline 16:1 ($r = 0,485$) i 18:0 ($r = -0,390$) su bile u slaboj korelaciji. Povećanje lipida u tkivu šarana uticalo je na smanjenje masnih kiselina 20:5n-3 ($r = -0,403$) i 22:6n-3 ($r = -0,378$). Masne kiseline 18:2n-6 ($r = -0,352$), 18:3n-3 ($r = -0,183$) i 22:5n-3 ($r = 0,007$) nisu bile u korelaciji sa sadržajem lipida.

Tabela 5.19. Korelacija masnih kiselina šarana prihranjivanih kukuruzom (% od ukupnih MK) sa masom riba (g) i sadržajem lipida (%)

Masne kiseline	Masa ribe (g)		Lipidi (%)	
	r	P	r	P
14:0	-0,204	0,2893	0,003	0,9881
15:0	-0,421	0,0230*	-0,219	0,2534
16:0	-0,246	0,1988	0,024	0,8998
16:1	0,112	0,5642	0,485	0,0077*
17:0	-0,396	0,0333*	-0,464	0,0113*
18:0	-0,279	0,1430	-0,390	0,0363*
18:1n-9	0,335	0,0754	0,260	0,1724
18:1n-7	0,474	0,0094*	-0,113	0,5578
18:2n-6	-0,539	0,0025*	-0,352	0,0611
18:3n-6	0,039	0,8416	0,242	0,2066
18:3n-3	-0,180	0,3493	-0,183	0,3423
20:1	0,321	0,0896	-0,136	0,4806
20:2	-0,539	0,0026*	-0,387	0,0379*
20:3n-6	-0,225	0,2415	-0,158	0,4129
20:3n-3	-0,183	0,3422	-0,332	0,0783
22:1+20:4	-0,067	0,7299	-0,349	0,0637
20:5n-3	0,092	0,6359	-0,403	0,0303*
22:5n-3	-0,038	0,8444	0,007	0,9722
22:6n-3	-0,072	0,7088	-0,378	0,0430*

r – koeficijent korelacije, P – nivo značajnosti

5.10 Uporedna analiza masnokiselinskog sastava šarana sa dva ribnjaka sa poluintenzivnim uzgojem – uticaj vrste dodatne hrane

Analiza varijanse sastava masnih kiselina mesa šarana sa dva ribnjaka ukazala je da su između šarana postojale značajne razlike (tabela 5.20).

Mononezasićene masne kiseline su bile značajno veće kod šarana prihranjivanih kukuruzom ($P < 0,0001$), u svim mesecima uzimanja uzoraka, u odnosu na šarane prihranjivane ekstrudiranom hranom. Njihov udeo u mesu šarana koji su prihranjivani kukuruzom bio je u opsegu od 61,83 do 65,72%, dok je u mesu šarana koji su prihranjivani ekstrudiranom hranom bio od 42,43 do 50,44%. Razlog većeg sadržaja mononezasićenih masnih kiselina bio je značajno veći ($P < 0,0001$) sadržaj 18:1n-9, (oleinska kiselina), u mesu šarana prihranjivanih kukuruzom (50,95-54,47%), u svim

mesecima uzimanja uzoraka, u odnosu na šarane koji su prihranjivani ekstrudiranom hranom (33,09-43,88%).

Ukupne polinezasićene masne kiseline, kao i n-6 i n-3 masne kiseline, su bile značajno veće u mesu šarana prihranjivanih ekstrudiranom hranom ($P < 0,0001$) u odnosu na šarane prihranjivane kukuruzom. Sadržaj polinezasićenih masnih kiselina u mesu šarana prihranjivanih ekstrudiranom hranom bio je u opsegu od 26,58 do 32,55%, dok je u mesu šarana prihranjivanih kukuruzom bio od 10,65 do 13,66%. Šarani prihranjivani ekstrudiranom hranom imali su značajno veći sadržaj 18:2n-6 (linolna kiselina), u svim mesecima uzimanja uzoraka ($P < 0,0001$). Takođe, značajna razlika između šarana je postojala i u sadržaju 18:3n-3 (linolenska kiselina), u svim mesecima uzimanja uzoraka, koji je bio veći kod šarana prihranjivanih ekstrudiranom hranom ($P < 0,0001$). Veći sadržaj linolenske kiseline u mesu šarana prihranjivanih ekstrudiranom hranom je posledica prihrane, jer je ekstrudirana hrana bila bogatija ovom masnom kiselinama od kukuruza. Iz tih razloga su šarani koji su prihranjivani ekstrudiranom hranom imali i mnogo veći sadržaj n-3 polinezasićenih masnih kiselina (2,41-4,57%), nego šarani koji su prihranjivani kukuruzom (0,91-0,97%). Odnos n-3/n-6 u mesu šarana sa ribnjaka u kojem je korišćena ekstrudirana hrana bio je značajno veći ($P < 0,0001$) u odnosu na šarane sa ribnjaka u kojem je riba prihranjivana kukuruzom. Odnosno, ako se posmatra odnos n-6 i n-3, za koji je preporučeno da bude oko 4, odnos je bio mnogo povoljniji kod šarana prihranjivanih ekstrudiranom hranom (5,9-6,8, dok u aprilu 10,0) u odnosu na šarane prihranjivane kukuruzom (10,0-13,8).

Tabela 5.20. Sastav masnih kiselina šarana sa dva ribnjaka (% od ukupnih masnih kiselina)

Hrana	Septembar		Oktobar		Decembar		April	
	E	Ž	E	Ž	E	Ž	E	Ž
14:0	0,83 ^a	0,67 ^{cd}	0,84 ^a	0,71 ^{bc}	0,77 ^{ab}	0,60 ^d	0,68 ^c	0,67 ^{cd}
15:0	0,21 ^a	0,08 ^{bc}	0,19 ^a	0,09 ^b	0,20 ^a	0,04 ^d	0,06 ^{cd}	0,08 ^{bc}
16:0	18,28 ^a	18,17 ^a	17,81 ^a	18,45 ^a	18,46 ^a	17,36 ^a	16,06 ^b	17,79 ^a
16:1	3,97 ^c	6,73 ^a	5,01 ^b	6,85 ^a	5,05 ^b	6,81 ^a	4,35 ^{bc}	7,09 ^a
17:0	0,40 ^a	0,11 ^c	0,34 ^b	0,12 ^c	0,31 ^b	0,10 ^c	0,09 ^c	0,11 ^c
18:0	5,15 ^a	4,92 ^{ab}	4,48 ^b	5,19 ^a	4,94 ^{ab}	4,76 ^{ab}	4,91 ^{ab}	4,94 ^{ab}
18:1n-9	33,55 ^d	50,95 ^b	33,09 ^d	51,25 ^b	34,89 ^d	53,98 ^a	43,88 ^c	54,47 ^a
18:1n-7	2,42 ^c	2,48 ^c	2,57 ^{bc}	2,67 ^{ab}	2,72 ^{ab}	2,83 ^a	0,28 ^e	0,52 ^d
18:2n-6	25,04 ^a	10,81 ^c	26,09 ^a	9,80 ^{cd}	22,96 ^b	8,14 ^d	22,12 ^b	9,14 ^d
18:3n-6	0,25 ^b	0,29 ^{ab}	0,34 ^a	0,24 ^b	0,30 ^{ab}	0,24 ^b	0,35 ^a	0,22 ^b
18:3n-3	2,12 ^a	0,63 ^c	2,23 ^a	0,63 ^c	1,68 ^b	0,49 ^c	1,46 ^b	0,41 ^c
20:1	1,70 ^{cd}	1,67 ^d	1,76 ^{cd}	1,76 ^{cd}	2,54 ^a	2,10 ^b	1,93 ^{bc}	1,96 ^{bc}
20:2	0,81 ^a	0,37 ^c	0,68 ^b	0,31 ^c	0,70 ^{ab}	0,28 ^c	0,62 ^b	0,32 ^c
20:3n-6	0,86 ^b	1,27 ^a	0,88 ^b	1,09 ^{ab}	1,08 ^{ab}	1,01 ^b	1,08 ^{ab}	0,92 ^b
20:3n-3	0,70 ^a	0,05 ^d	0,48 ^b	0,04 ^d	0,38 ^b	0,10 ^d	0,20 ^c	0,12 ^{cd}
22:1+20:4	1,25 ^a	0,55 ^c	1,35 ^a	0,55 ^c	1,39 ^a	0,76 ^{bc}	1,17 ^a	0,85 ^b
20:5n-3	0,52 ^a	0,07 ^b	0,58 ^a	0,11 ^b	0,63 ^a	0,10 ^b	0,11 ^b	0,08 ^b
22:5n-3	0,29 ^a	0,06 ^{cd}	0,28 ^a	0,01 ^d	0,22 ^b	0,09 ^c	0,10 ^c	0,11 ^c
22:6n-3	0,94 ^a	0,11 ^d	1,01 ^a	0,12 ^d	0,76 ^b	0,19 ^d	0,54 ^c	0,21 ^d
ZMK	24,86 ^a	23,94 ^{ab}	23,66 ^{ab}	24,55 ^a	24,67 ^a	22,86 ^{bc}	21,80 ^c	23,59 ^{ab}
MNMK	41,64 ^e	61,83 ^b	42,43 ^{de}	62,53 ^b	45,20 ^d	65,72 ^a	50,44 ^c	64,04 ^{ab}
PNMK	31,53 ^a	13,66 ^d	32,55 ^a	12,35 ^{de}	28,72 ^b	10,65 ^e	26,58 ^c	11,52 ^e
n-3	4,57 ^a	0,92 ^d	4,57 ^a	0,91 ^d	3,67 ^b	0,97 ^d	2,41 ^c	0,92 ^d
n-6	26,96 ^a	12,74 ^c	27,99 ^a	11,44 ^{cd}	25,05 ^b	9,68 ^e	24,17 ^b	10,60 ^{de}
n-3/n-6	0,17 ^a	0,07 ^c	0,16 ^a	0,08 ^{bc}	0,15 ^a	0,10 ^b	0,10 ^b	0,09 ^{bc}

Hrana: E – šaran prihranjivan ekstrudiranom hranom, Ž – šaran prihranjivan žitaricama (kukuruz);

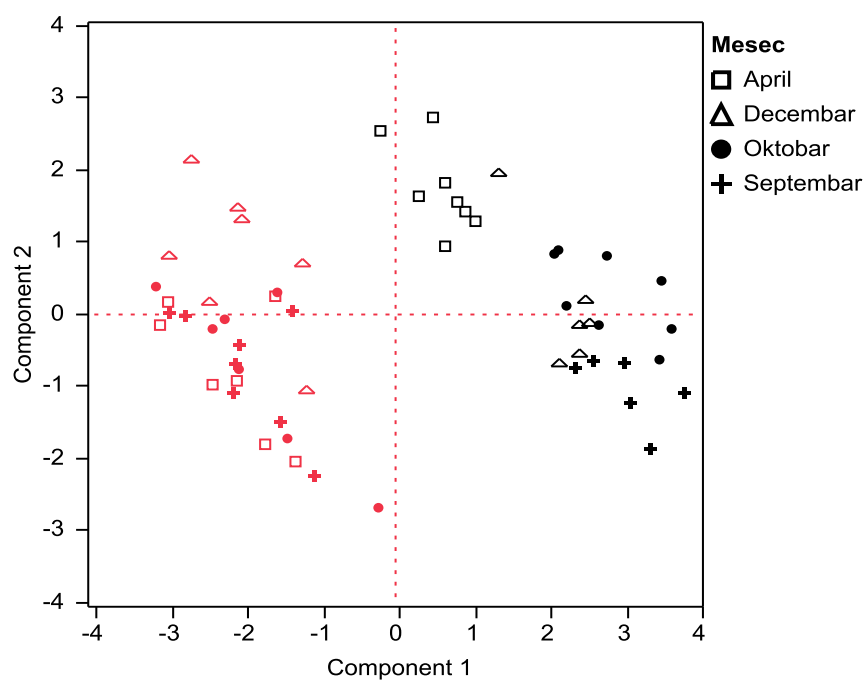
ANOVA *t* – test: ^{abcde} srednje vrednosti u istom redu sa različitim slovnim oznakama statistički se značajno razlikuju ($p < 0,05$)

Nije postojala značajna razlika u sadržaju zasićenih masnih kiselina u mesu šarana prema vrsti dodatne hrane. U mesu šarana koji su prihranjivani kukuruzom one su bile u opsegu 22,86-24,55%, dok je u mesu šarana koji su prihranjivani ekstrudiranom hranom bio u opsegu od 21,80 do 24,86%. Meso šarana se, prema načinu dodatne ishrane, nije međusobno razlikovalo u sadržaju palmitinske kiseline (16:0), koja je bila najviše zastupljena od zasićenih masnih kiselina. Samo između šarana u aprilu je postojala slabo značajna razlika ($P < 0,03$). Šarani se nisu razlikovali ni u sadržaju stearinske

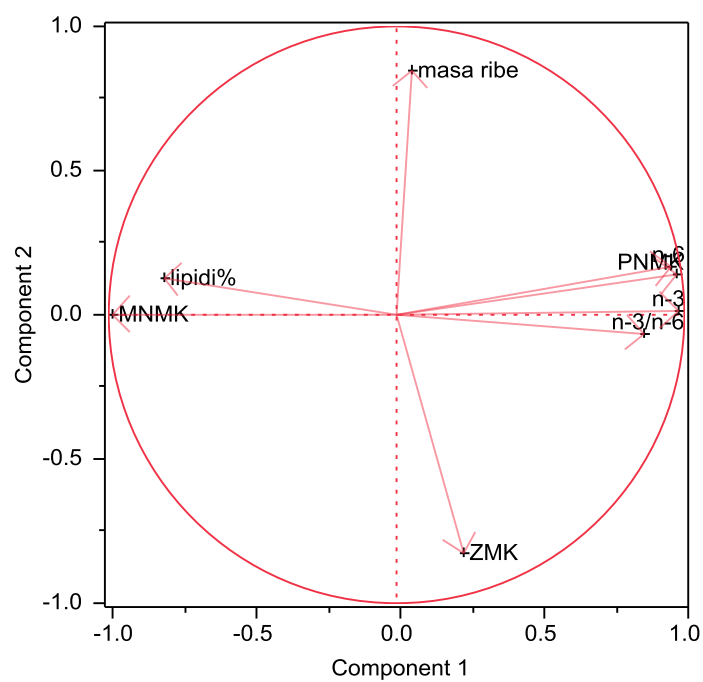
kiseline (18:0), a slabo značajna razlika je postojala između riba samo u oktobru ($P = 0,01$).

Masna kiselina 18:1n-7, koja je karakteristična za mnoge bakterije, imala je sličan sadržaj kod šarana sa oba ribnjaka, u svakom mesecu uzimanja uzoraka, a razlikovala se jedino u aprilu ($P < 0,01$). Ovaj podatak ukazuje na prisustvo bakterija koje su prirodno naseljene u slatkovodnim ekosistemima, a moguće da je razlika u aprilu u vezi sa različitom pripremom ribnjaka za sledeću godinu uzgoja.

Analiza glavnih komponenti sastava masnih kiselina šarana sa dva ribnjaka ukazala je na značajne varijacije i razdvajanje šarana prema načinu prihrane. Prve dve glavne komponente opisuju 84% varijacija, od kojih je prvom opisano 65%, a drugom glavnom komponentom 18% varijacija. Najvažnije varijable, kojima je postignuto razdvajanje duž negativne ose prve glavne komponente, su bile mononezasićene masne kiseline, dominantno zastupljene kod šarana prihranjivanih kukuruzom, zatim n-6 i n-3 polinezasićene masne kiseline, duž pozitivne ose, koje su bile dominantno zastupljene kod šarana prihranjivanih ekstrudiranom hranom (slike 5.51 i 5.52).



Slika 5.51. Vrednosti skorova prve dve glavne komponente za grupe masnih kiselina šarana gajenih u dva ribnjaka



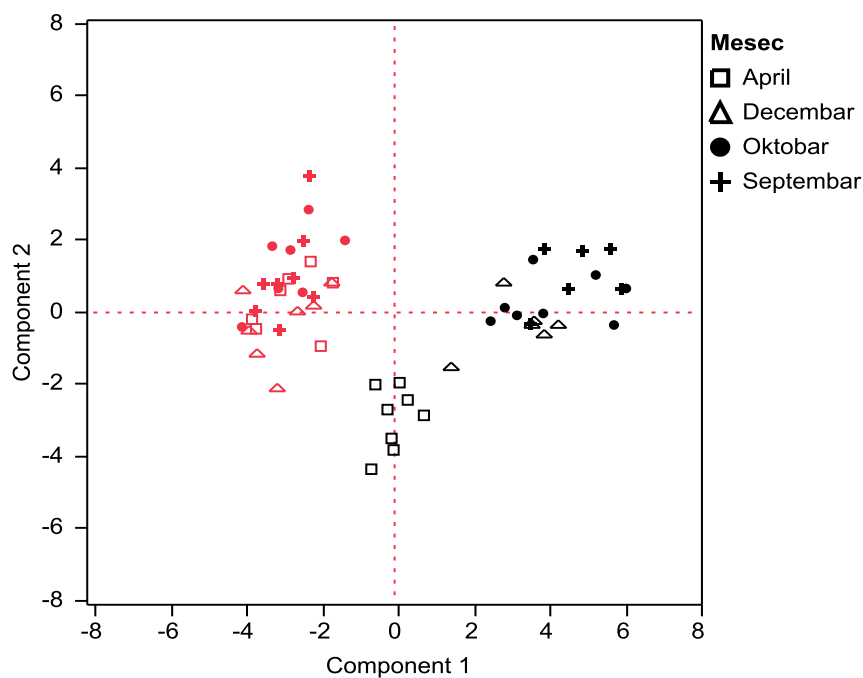
Slika 5.52. Uzajamne projekcije prve dve glavne komponente za grupe masnih kiselina šarana gajenih u dva ribnjaka

U tabeli 5.21 prikazane su varijable koje su najviše korelisane sa prve dve glavne komponente.

Tabela 5.21. Koeficijenti korelacije između prve dve glavne komponente i varijabli, svojstvene vrednosti i varijanse za šarane gajenih u dva ribnjaka

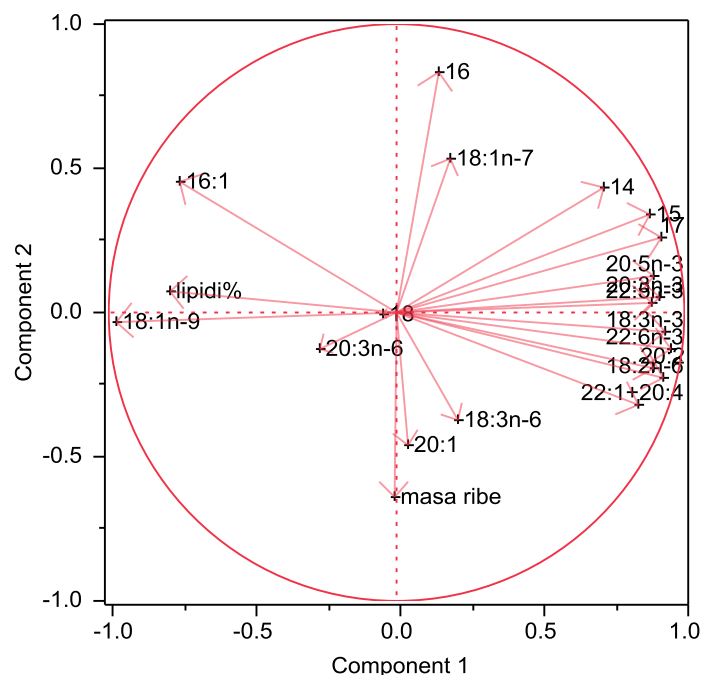
Varijable	Komponente	
	I	II
ZMK	0,101	-0,681
MNMK	-0,430	0,000
PNMK	0,424	0,117
n-6	0,418	0,138
n-3	0,428	0,009
n-3/n-6	0,376	-0,055
lipidi%	-0,354	0,103
masa ribe	0,022	0,700
Svojstvena vrednost	5,24	1,47
Varijansa, %	65,47	18,43
Zbir, %	65,47	83,90

U cilju utvrđivanja razlika između šarana i mogućih obrazaca grupisanja uzoraka, analizom glavnih komponenti pokazano je da, od ukupno 19 određenih masnih kiselina u 61 uzorku, je postojalo 65% varijabilnosti podataka.



Slika 5.53. Vrednosti skorova prve dve glavne komponente sastava masnih kiselina šarana gajenih u dva ribnjaka

Vrednosti skorova na slici 5.53 prikazuju jasno razdvajanje uzoraka šarana duž prve komponente prema načinu ishrane. Masne kiseline koje su najviše uticale na razdvajanje su: duž negativne ose prve komponente 18:1n-9, 16:1 i 20:3n-6, koje su imale dominantan udeo u šaranima koji su prihranjivani kukuruzom, a duž pozitivne ose prve komponente 20:5n-3, 20:3n-3, 22:5n-3, 18:3n-3, 20:2, 22:6n-3 i 18:2n-6, koje su bile više zastupljene u šaranima koji su prihranjivani ekstrudiranom hranom. Vrsta dodatne hrane nije uticala na sadržaj 16:0, 18:0 i 18:1n-7 masnih kiselina.



Slika 5.54. Uzajamne projekcije prve dve glavne komponente sastava masnih kiselina šarana gajenih u dva ribnjaka

Na slici 5.53, u pravcu negativne ose druge glavne komponente, razdvojena je jedna grupa šarana sa ribnjaka u kojem je riba prihranjivana ekstrudiranom hranom. Ova grupa, prema oznakama, odgovara šaranu iz aprila, a projekcija vektora na slici 5.54 ukazuje da su ovi šarani bili najveće mase. Masa ribe je bila u korelaciji samo sa 20:1 ($r = 0,345$, $P = 0,0086$) i 18:3n-6 ($r = 0,319$, $P = 0,0154$). Ove masne kiseline nisu bile prisutne u ekstrudiranoj hrani, što ukazuje da je moguće da je na njihov unos uticala prirodna hrana iz ribnjaka, s obzirom da je masna kiselina 20:1 biomarker zooplanktona. Koeficijenti korelacije prve tri glavne komponente su dati u tabeli 5.22.

Tabela 5.22. Koeficijenti korelacije između prve tri glavne komponente i varijabli, svojstvene vrednosti i varijanse za šarane gajene u dva ribnjaka

Varijable	Komponente		
	I	II	III
14:0	0,218	0,271	-0,176
15:0	0,265	0,214	0,020
16:0	0,043	0,518	0,011
16:1	-0,227	0,282	-0,211
17:0	0,277	0,163	0,038
18:0	-0,014	-0,003	0,625
18:1n-9	-0,293	-0,019	0,059
18:1n-7	0,056	0,334	0,039
18:2n-6	0,279	-0,142	-0,089
18:3n-6	0,064	-0,233	-0,488
18:3n-3	0,281	-0,042	-0,136
20:1	0,012	-0,289	0,237
20:2	0,270	-0,119	0,151
20:3n-6	-0,081	-0,078	0,297
20:3n-3	0,275	0,033	0,062
22:1+20:4	0,253	-0,199	0,062
20:5n-3	0,269	0,078	0,020
22:5n-3	0,267	0,020	-0,041
22:6n-3	0,287	-0,080	-0,025
lipidi%	-0,237	0,045	-0,219
masa ribe	-0,002	-0,397	-0,192
Svojstvena vrednost	10,99	2,57	1,93
Varijansa, %	52,34	12,22	9,21
Zbir, %	52,34	64,56	73,78

5.11 Sadržaj holesterola u mesu šarana sa dva ribnjaka sa poluintenzivnim uzgojem - uticaj vrste dodatne hrane

Analizom varijanse i upoređivanjem srednjih vrednosti sadržaja holesterola u mesu šarana utvrđeno je da se šarani prihranjivani ekstrudiranom hranom nisu značajno razlikovali u periodu uzgoja ($P > 0,05$). Šarani prihranjivani kukuruzom imali su najmanji sadržaj holesterola u septembru (39,22 mg/100 g), a najveći u aprilu (57,97 mg/100 g) ($P < 0,0001$).

Šarani koji su prihranjivani ekstrudiranom hranom imali su veći sadržaj holesterola u septembru od šarana prihranjivanih kukuruzom ($P < 0,001$). Šarani u oktobru, decembru

i aprilu se nisu statistički značajno razlikovali ($P > 0,05$) prema vrsti dodate hrane, kao što je prikazano u tabeli 5.23.

Tabela 5.23. Sadržaj holesterola (mg/100 g) u mesu šarana sa dva ribnjaka prihranjivanih ekstrudiranom hranom i kukuruzom

Period	Septembar	Oktobar	Decembar	April
Ekstrudirana hrana	51,89±3,05 ^{ab}	49,87±6,79 ^{ab}	51,58±10,27 ^{ab}	54,97±2,25 ^{ab}
Kukuruz	39,22±4,73 ^c	54,69±11,90 ^{ab}	48,30±12,48 ^b	57,97±4,58 ^a

^{abcd}različite slovne oznake ukazuju na statistički značajne razlike ($p < 0,05$)

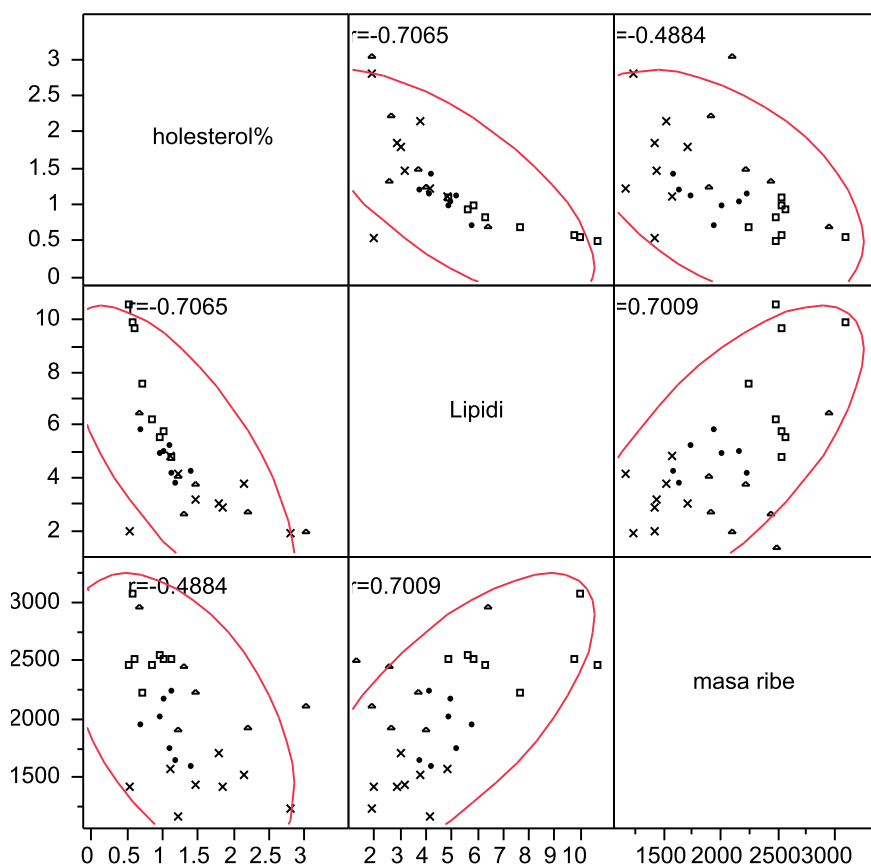
Međutim, sadržaj holesterola, kada se izrazi kao % lipida, kao što je prikazano u tabeli 5.24, je bio veći kod šarana prihranjivanih ekstrudiranom hranom nego kukuruzom, u septembru ($P < 0,0001$) i decembru ($P < 0,0001$), dok u oktobru i aprilu nije bilo značajnih razlika ($P > 0,05$). Drugim rečima, sadržaj holesterola u lipidima je bio veći u mesu šarana sa manjim sadržajem ukupnih lipida.

Tabela 5.24. Sadržaj holesterola (% lipida) u mesu šarana sa dva ribnjaka prihranjivanih ekstrudiranom hranom i kukuruzom

Period	Septembar	Oktobar	Decembar	April
Ekstrudirana hrana	1,89±0,64 ^a	1,08±0,21 ^b	1,64±0,83 ^a	0,78±0,22 ^{bc}
Kukuruz	0,36±0,10 ^c	0,78±0,48 ^{bc}	0,57±0,29 ^c	0,68±0,33 ^{bc}

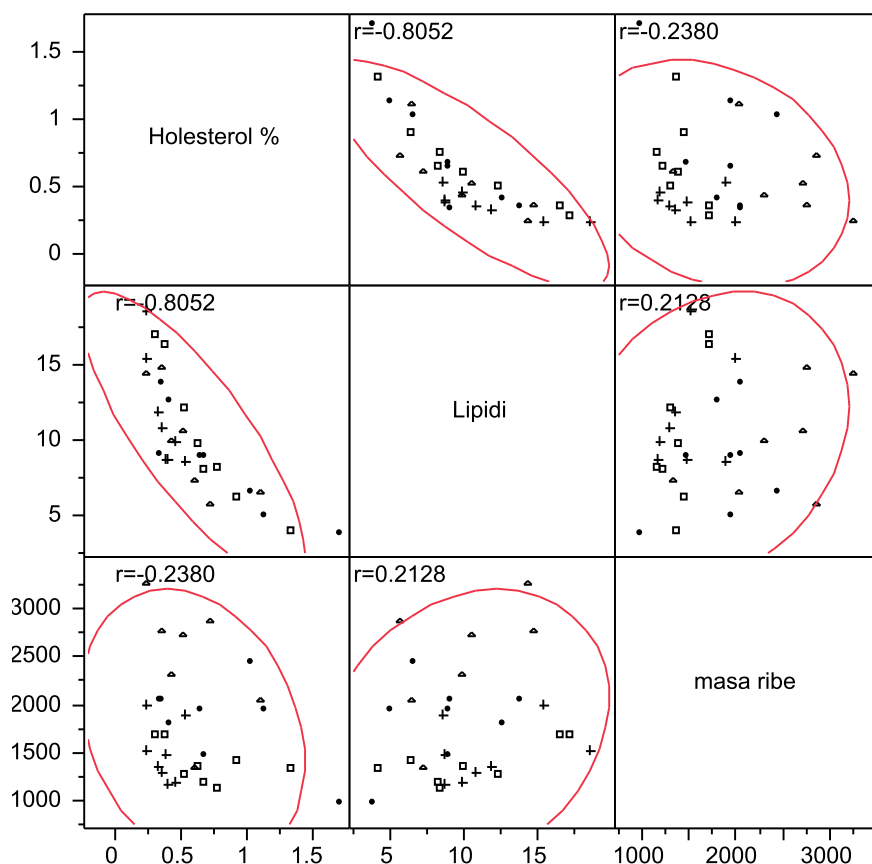
^{abcd}različite slovne oznake ukazuju na statistički značajne razlike ($p < 0,05$)

Na slici 5.55, koja prikazuje zavisnost sadržaja holesterola (% lipida) i mase šarana, može se uočiti da je sadržaj holesterola bio u jako negativnoj korelaciji sa udelom lipida ($r = -0,706$, $P < 0,0001$) i slaboj korelaciji sa masom ribe ($r = -0,488$, $P < 0,01$).



Slika 5.55. Korelacija sadržaja holesterola (% lipida) sa sadržajem lipida (%) i masom šarana (g) prihranjivanih ekstrudiranom hranom

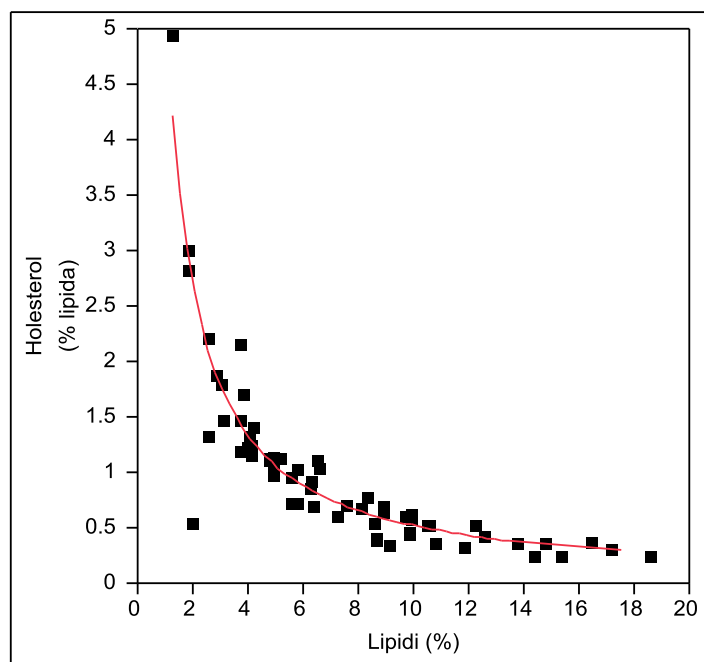
Međutim, sadržaj holesterola kod šarana prihranjivanih kukuruzom je u jako negativnoj korelaciji sa sadržajem lipida ($r = -0,805$, $P < 0,0001$), ali nije u korelaciji sa masom šarana ($r = 0,238$, $P > 0,05$), kao što je prikazano na slici 5.56.



Slika 5.56. Korelacija sadržaja holesterola (% lipida) sa sadržajem lipida (%) i masom šarana (g) prihranjivanih kukuruzom

U toku uzgoja ribe, lipidi su se, usled intezivne prihrane, značajno povećavali sa masom kod šarana prihranjivanih ekstrudiranom hranom, dok to nije uočeno kod šarana prihranjivanih žitaricama, moguće zbog velikih varijabilnosti jedinki, što se uočava na slici 5.56 ($r = 0,2128$, $P > 0,05$). Očigledno, ove razlike su posledica različitog sadržaja lipida u tkivu ribe, koji zavisi od vrste dodatne hrane.

Iz tih razloga je predstavljena zavisnost sadržaja holesterola (%) od sadržaja lipida u svim uzorcima šarana, bez obzira na vrstu dodatne hrane (slika 5.57). Dobijena je logaritamska zavisnost za 60 uzoraka šarana, sa visokim koeficijentom korelacije ($R^2 = 0,916$), a značajnost potvrđuje visoka vrednost t testa ($t = -25,16$, $P < 0,0001$).



Slika 5.57 Logaritamska zavisnost sadržaja holesterola (izražen kao % lipida) od sadržaja lipida (%) u mesu šarana

Ovu zavisnost predstavlja sledeća logaritamska jednačina:

$$\log \text{holesterol (\%)} = 1,779 - 1,085 \log \text{lipidi (\%)},$$

koja ukazuje da šaran sa niskim udelom lipida u mesu sadrži visok udeo holesterola (%), koji se veoma brzo smanjuje, kako se povećavaju ukupni lipidi u mesu ribe i, konačno, sa visokim udelom lipida u mesu ribe dostiže se konstantna vrednost holesterola.

6. DISKUSIJA

Pomoću regresionih jednačina, koje su široko korišćene u predviđanju hemijskog sastava riba (Shearer, 1994; Azevedo i dr., 1998; Bureau i dr., 2000; Dumas i dr., 2007; Jobling, 2001), ispitano je deponovanje hranljivih materija u završnoj fazi uzgoja dvogodišnjeg šarana namenjenog tržištu. Od interesa je bilo da se ispita deponovanje hranljivih materija u zavisnosti od vrste prihrane, zatim odnos između proteina, vlage i lipida u mesu šarana i njihove promene u toku završne faze uzgoja. Dobijeni rezultati su poređeni sa literaturnim podacima i dalje korišćeni u objašnjenju uticaja dodatne hrane (ekstrudirane i kukuruza) na hemijski sastav šarana.

Nesporno je dokazano da sastav masnih kiselina hrane direktno utiče na sastav masnih kiselina mesa šarana. S obzirom da je metabolizam pojedinačnih masnih kiselina pod uticajem veličine ribe, vrste i količine hrane, količine lipida u ribi (Farkas i dr., 1980; Tidwell i Robinette, 1990; Geri i dr., 1995a; Kiessling i dr., 2001; Fajmonova i dr., 2003; Jobling i dr., 2008; Ballester-Lozano i dr., 2011), razmatrane su promene masnih kiselina u mesu šarana u zavisnosti od mase i od sadržaja lipida u ribi sa dve vrste prihranjivanja. Pošto se statistička metoda koja se bazira na analizi glavnih komponenti često koristi u otkrivanju razlika i sličnosti između riba, u zavisnosti od načina gajenja, vrste hrane, sezone (Barrado i dr., 2003; Rosenlund i dr., 2001; Rasoarahona i dr., 2004; Jensen i dr., 2007), ova multivarijantna analiza je korišćena da bi se stekao bolji uvid u strukturu šarana koji su prihranjivani sa dve vrste hrane. Prednost ove metode, u odnosu na druge statističke metode, je u činjenici što daje korelativne odnose između varijabli, kao što su odnosi između proteina, lipida i vlage, između pojedinačnih masnih kiselina, kao i korelacije masnih kiselina sa masom riba i sa sadržajem lipida.

6.1 Alometrijska i izometrijska analiza u proceni deponovanja hranljivih materija u mesu šarana u zavisnosti od vrste prihranjivanja

Ispitivanje hemijskog sastava šarana u širokom opsegu masa, od 1175 g do 3075 g, sa jednog i od 970 g do 3255 g, sa drugog ribnjaka, omogućilo je da se odredi način deponovanja hranljivih materija u mesu ribe i da se ustanove razlike, ukoliko postoje, u odnosu na vrstu dodatne hrane. Alometrijski koeficijenti b , koji pokazuju odnos

skaliranja između proteina, lipida, vlage, pepela i telesnih masa šarana, sa oba ribnjaka, dati su u tabeli 6.1 i poređeni su sa literaturnim podacima.

Tabela 6.1. Alometrijski odnosi između hemijskog sastava (y) i masa šarana (x) dodatno hranjenih ekstrudiranom hranom (E) i kukuruzom (Ž), ($\log y = a + b \log \text{masa ribe}$). Poređenje sa literaturnim podacima

Parametar, y	Proteini		Lipidi		Vlaga		Pepeo	
	b	R ²	b	R ²	b	R ²	b	R ²
b _E	0,84	0,978	1,94	0,553	0,96	0,990	0,93	0,893
b _Ž	1,02	0,978	1,29	0,508	0,96	0,976	0,96	0,867
Pastrmka ¹	1,03	1,0	1,17	0,950	-	-	0,99	0,997
Pastrmka ²	0,96	-	1,19	-	-	-	-	-
Pastrmka ²	1,04	0,998	1,24	0,978	-	-	1,0	0,985
Šaran ³	1,06	0,973	-	-	-	-	-	-
Tilapija ¹	1,10	0,971	-	-	-	-	-	-
Losos ¹	0,99	1,0	-	-	-	-	-	-
Orada ⁴	1,04	0,990	1,04	0,960	-	-	0,97	0,940

¹Shearer, 1994; ²Dumas i dr., 2007; ³Zeitler i dr., 1984, ⁴Hernández i dr., 2003

b – koeficijent alometrijske regresije (nagib); R² – koeficijent regresije

Alometrijska analiza je pokazala da su se proteini sporije deponovali u mesu šarana koji su prihranjivani ekstrudiranom hranom (b = 0,84) nego kukuruzom (b = 1,02). Naši rezultati su u skladu sa istraživanjem Zeitler i dr. (1984), mada se njihovi podaci odnose na jednogodišnju šaransku mlad. Alometrijski koeficijenti i koeficijenti regresije, za različite vrste riba koje su date u tabeli 6.1, pokazuju da se ribe razlikuju u svojoj sposobnosti da koriste proteine iz hrane. Međutim, deponovanje proteina je uporedivo između vrsta, što pokazuje istraživanje Ramseyer (2002). Analizom podataka sakupljenih iz literature za 66 vrsta riba, koji su se odnosili na procenu deponovanih proteina u zavisnosti od njihovih masa, utvrđeno je da su regresioni parametri bili slični za većinu vrsta riba. Procenjeno je da je logaritamski odnos proteina i mase (b = 1,03), sa standardnom greškom od 0,054 i visokim koeficijentom regresije R² = 0,996.

Za razliku od deponovanja proteina, koje je uporedivo između vrsta, vrste riba se razlikuju u brzini deponovanja lipida, što zavisi od veličine i životnog ciklusa ribe

(mlađ, ili odrasla riba), i distribucije lipida u tkivu (Ackman, 1990; Huss, 1995; Bureau i dr., 2000). Zbog toga su koeficijenti regresije u našem ispitivanju bili manji od podataka navedenih u literaturi. Za razliku od proteina, vlage i pepela, lipidi su u slabijoj korelaciji sa masom riba, usled faktora ishrane i režima hranjenja (Shearer, 1994; Bureau i dr., 2000; Dumas i dr., 2007).

U našim ispitivanjima, veća vrednost parametra b za apsolutni sadržaj lipida može da ukaže da je uzgoj ribe bio intenzivniji u ribnjaku u kojem je riba prihranjivana ekstrudiranom hranom, što može biti u vezi sa režimom hranjenja i vrstom hrane.

Koeficijenti regresije za sadržaj pepela, koji su bili manji od 0,95, a vrednosti parametara b manji od 1, pokazuju da se mišićna masa šarana brže povećavala nego skeletna struktura. Alometrijska analiza bolje opisuje rast skeletne strukture šarana prihranjivanih ekstrudiranom hranom, a izometrijska analiza bolje kod šarana prihranjivanih kukuruzom. Generalno, masa kostiju se sporije povećavala kod odrasle ribe nego mlađi (Shearer, 1994).

Bureau i dr. (2000), Dumas i dr. (2007) su pokazali da se sadržaj proteina izometrijski menjao u pastrmci ($b = 0,169$; $R^2 = 0,999$; $b = 0,164$; $R^2 = 0,997$) i navode da izometrija bolje opisuje odnose između hranljivih materija i masa kod većih riba, verovatno zbog toga što je riba već dostigla stabilan sastav. To su pokazali i rezultati našeg ispitivanja dvogodišnjeg šarana sa oba ribnjaka, bez obzira na vrstu prihrane. Naime, logaritmovanjem hemijskih parametara i masa šarana nije postignuta veća linearnost u odnosu na ne-logaritmovane (izometrijske) podatke.

Izometrijske analize ukazuju na količine deponovanih proteina, lipida, vlage i pepela po jedinici mase. Vrednosti parametara izometrijske regresije proteina i lipida prikazane su u tabeli 6.2.

Tabela 6.2. Izometrijski odnosi između apsolutnog sadržaja proteina (g/masa ribe) i lipida (g/masa ribe) i masa šarana (g) sa dva načina prihrane

Hemijski parametar	Proteini			Lipidi		
	nagib	odsečak	r	nagib	odsečak	r
Šaran (ekstrudirana)	0,14	54,2 ^a	0,986	0,11	-115,6 ^b	0,747
Šaran (kukuruz)	0,16	-11,2 ^b	0,988	0,12	-37,0 ^a	0,710
P	>0,05	< 0,01		>0,05	< 0,01	

ab - vrednosti u istoj koloni sa različitim slovnim oznakama su značajno različite ($P < 0,05$)

r – koeficijent korelacije; P – nivo značajnosti

Kod šarana prihranjivanih ekstrudiranom hranom proteini su se deponovali brzinom od 0,14 g/g ribe, a kod šarana prihranjivanih kukuruzom brzinom od 0,16 g/g ribe. Ugradnja lipida po jedinici mase kod šarana prihranjivanih ekstrudiranom hranom je bila 0,11 g/g ribe, a kod šarana prihranjivanih kukuruzom 0,12 g/g ribe.

Poređenjem izometrijskih regresionih jednačina pomoću t testa (Zar, 2010), ustanovljeno je da nije bilo značajnih razlika u brzini promene proteina i lipida u ribi sa dva ribnjaka, prema vrsti hrane, jer su vrednosti t za parametar b bile manje od kritičnih ($t = 0,48$ za proteine, $t = 0,54$ za lipide, $t_{krit} = 1,29$). Međutim, ista masa ribe imala je različite količine proteina i lipida, odnosno za istu masu šarana x , odgovarajuće vrednosti y nisu bile iste. To je pokazala vrednost t testa za proteine ($t = 39,36$, $t_{krit} = 1,67$) i lipide ($t = 10,46$, $t_{krit} = 1,67$). Izračunavanjem objedinjene vrednosti nagiba za proteine ($b = 0,15$) i lipide ($b = 0,18$) određene su nove vrednosti odsečaka a , koje su date u tabeli 6.3.

Tabela 6.3. Rezultati uporednog t testa regresionih jednačina apsolutnog sadržaja proteina (g/masa ribe) i lipida (g/masa ribe) u zavisnosti od masa šarana (g) sa dva načina prihrane

Hemijski parametar	Proteini		Lipidi	
	nagib	odsečak	nagib	odsečak
Šaran (ekstrudirana)	0,15	31,4	0,18	-135,7
Šaran (kukuruz)	0,15	4,58	0,18	-23,1
t	0,48	39,36	0,54	10,46
P	>0,05	< 0,01	>0,05	< 0,01

t – test; P – nivo značajnosti

Na osnovu novih vrednosti odsečaka, može se zaključiti da je sa deponovanjem proteina došlo do većeg povećanja mase šarana koji su prihranjivani ekstrudiranom hranom nego kukuruzom. Mnoga istraživanja ukazuju da različite količine proteina u hrani dovode samo do razlika u masi riba, ali ne i do različitog udela proteina u tkivu riba (Shearer, 1994). Šarani prihranjivani kukuruzom deponovali su više lipida po jedinici mase tokom uzgoja nego šarani prihranjivani ekstrudiranom hranom.

Sa svakim gramom deponovanih proteina, u mesu šarana prihranjivanih ekstrudiranom hranom vezivalo se 5,00 g vlage, a kod šarana prihranjivanih kukuruzom 4,21 g vlage (poglavlje 5, slike 5.7 i 5.20). Cho i Kaushik (1990) navode da se u mesu ribe sa svakim gramom proteina vezuje od 3 do 6 g vlage. Razlog tome je konstantan odnos vlage i proteina koji nije pod uticajem veličine ribe i načina ishrane (Dumas i dr., 2007). Deponovanje proteina je dovelo do većeg deponovanja vlage kod šarana prihranjivanih ekstrudiranom hranom nego kod šarana prihranjivanih kukuruzom, dok je povećanje udela lipida dovelo do većeg smanjenja udela vlage kod šarana prihranjivanih kukuruzom (0,84%; $r = -0,963$) nego ekstrudiranom hranom (0,78%; $r = -0,923$), (poglavlje 5, slike 5.8 i 5.21).

Rezultati višestruke linearne regresije apsolutnog sadržaja proteina i lipida kod šarana sa oba ribnjaka su pokazali da je na povećanje mase šarana značajno uticalo deponovanje proteina, dok je deponovanje lipida dovelo samo do neznatnog porasta mase (poglavlje 5, slike 5.12 i 5.25). To potvrđuju i rezultati za pastrmku koje su dobili Dumas i dr. (2007), jer lipidi u tkivu ribe zamenjuju vlagu i, stoga, ne dovode do značajnog povećanja mase (Cho i Kaushik, 1990). Riba koja raste različitim brzinama, takođe, deponuje i nutrijente različitim brzinama, a sa variranjem količine hrane, varira i količina deponovanih proteina, lipida i energije (Bureau i dr., 2000). Smanjenje obroka hrane rezultuje i dalje u visokom sadržaju lipida u tkivu šarana, u poređenju sa ribom iste veličine kojoj je data manja količina hrane (Yamamoto i dr., 2007). To pokazuje da lipidi nisu faktor koji povećavaju masu ribe (Kiessling i dr., 2001).

Iz tih razloga je veoma važno da se ustanovi način promene hemijskog sastava ribe u toku uzgoja. U našem ispitivanju šarana prihranjivanih ekstrudiranom hranom udeo proteina se tokom uzgoja smanjivao, udeo lipida se povećavao, a, shodno tome, se

smanjivao i udeo vlage. Ovo potvrđuju ispitivanja Fajmonova i dr. (2003), koji navode da su ove promene povezane sa brzim rastom ribe, tj. sa intenzivnim tovom šarana. Slično su naveli Geri i dr. (1995b), za period uzgoja šarana od 12 do 18 meseci, ali autori ove promene, pre objašnjavaju sezonskim uticajem (jul, oktobar, decembar), nego starošću ribe.

Kod šarana prihranjivanih kukuruzom nije bilo značajnih promena u udelu proteina, lipida i vlage u završnoj fazi uzgoja. Moguće je da je to posledica veće varijabilnosti uzetih uzoraka šarana prihranjivanih kukuruzom (14,7-24,8%), u odnosu na uzorke šarana prihranjivanih ekstrudiranom hranom (4,5-16,2%). Ove varijacije mogu biti posledica prirode hrane, uslova gajenja, pola (Kocour i dr., 2005).

Promene hemijskog sastava šarana prihranjivanih ekstrudiranom hranom ukazuju da se, intenzivnim uzgojem, smanjivala efikasnost hranjenja šarana sa povećanjem mase. Sa dostizanjem određenog sadržaja proteina, dodatni unos energije povećava deponovanje lipida, a zbog većih potreba za hranom kod većih riba, povećavaju se i troškovi hranjenja (Bureau i dr., 2000). Zbog toga je veoma važno da se odredi starost i masa ribe za koju se postiže maksimum deponovanih proteina i time optimizuje efikasnost hranjenja, kako bi se izbeglo suvišno povećanje adipoznog tkiva.

6.2 Uticaj vrste dodatne hrane na hemijski sastav šarana sa dva ribnjaka sa poluintenzivnim uzgojem

Rezultati izometrijske analize su pokazali da je deponovanje proteina dovelo do većeg povećanja mase šarana koji su prihranjivani ekstrudiranom hranom, čime se povećavala i količina vlage u tkivu ribe, a deponovanje lipida nije dovelo do značajnog povećanja mase i bilo je veće na ribnjaku u kojem je šaran prihranjivan kukuruzom. To je dovelo do raspodele proteina, lipida i vlage u mesu ribe, odnosno do uspostavljanja njihovih masenih udela, što će biti u nastavku razmatrano.

Udeo proteina je bio veći u mesu šarana prihranjivanih ekstrudiranom hranom (16,16-18,28%) nego kukuruzom (15,14-16,12%). Sličan, niži sadržaj proteina, navode i drugi autori, za šarane koji su dodatno hranjeni žitaricama (Fajmonova i dr., 2003, 15,74%;

Ćirković i dr., 2011, 15,59%), a veći za šarane koji su prihranjivani kompletnom hranom (Geri i dr., 1995b, 18,06%; Ćirković i dr., 2011, 17,17%).

Udeo lipida je bio značajno veći (8,6-11,6%) u mesu šarana prihranjivanih kukuruzom nego ekstrudiranom hranom (3,2-4,7%). U ispitivanjima Vacha i dr. (2007), udeo lipida u mesu šarana, u zavisnosti od vrste žitarica, se kretao od 9,72%, sa prihranom tritikelijama, 11,22%, sa prihranjivanjem pšenicom, do 13,26%, sa prihranjivanjem kukuruzom. Sličan udeo lipida su utvrdili Fajmonova i dr. (2003), 8,01%, Ćirković i dr. (2011), 6,85% (smeša pšenice i kukuruza), dok Trenovszki i dr. (2011), u zavisnosti od smeše korišćenih žitarica, navode od 3% do 23,77% lipida u mesu šarana. U našem ispitivanju šaran sa ribnjaka gde je prihranjivanje bilo sa ekstrudiranom hranom u aprilu je imao 7,5% lipida i nije se značajno razlikovao od šarana prihranjivanih kukuruzom ($P > 0,05$). Moguće je da je ovo povećanje udela lipida bilo povezano sa prolećnim rastom prirodne hrane u ribnjaku. Literaturni podaci ukazuju da unošenje hrane koja je bogata proteinima, posle perioda gladovanja, dovodi do sinteze masnih kiselina iz proteina, kao što se dešava kod hrane koja je bogata ugljenim hidratima (Henderson, 1996).

S obzirom da su lipidi u inverznom odnosu sa udelom vlage, veći udeo vlage imali su šarani prihranjivani ekstrudiranom hranom (74,4-78,3%), nego kukuruzom (71,4-73,0%). Slične rezultate navode i drugi autori za šarane prihranjivane kompletnom hranom (Geri i dr., 1995b, 78,44%; Ćirković i dr., 2011, 78,36%) i žitaricama (Fajmonova i dr., 2003, 73,57%; Ćirković i dr., 2011, 75,01%). Kako se u našem ispitivanju šarani u aprilu nisu razlikovali u sadržaju lipida, nisu se međusobno razlikovali ni u sadržaju vlage ($P > 0,05$).

Udeo pepela se nije značajno razlikovao između šarana prihranjivanih ekstrudiranom hranom (1,01-1,12%) i šarana prihranjivanih kukuruzom (0,96-1,03%). Značajna razlika je postojala samo u oktobru (1,12%, 0,96%; $P < 0,05$), što može biti povezano sa biološkim promenama u ribi. Shearer (1994) navodi da sadržaj pepela zavisi od veličine ribe i endogeno je regulisan. Sadržaj pepela je nešto veći kod šarana dodatno hranjenih kompletnom hranom (Geri i dr., 1995b, 1,07%; Ćirković i dr., 2011, 1,03%) nego žitaricama (Ćirković i dr., 2011, 0,89%), što može biti posledica nedostatka minerala u hrani (Schwarz, 1995), ili njihove slabe apsorpcije (Yamamoto i dr., 2007).

Analizom glavnih komponenti, koja je pokazala jasnu strukturu 61 uzorka šarana u periodima uzimanja uzoraka, utvrđeno je 90,77% varijacija u hemijskom sastavu šarana. Lipidi su bili u najvećoj korelaciji sa prvom glavnom komponentom ($r = -0,569$) i značajno su uticali na razdvajanje šarana prihranjivanih kukuruzom od šarana prihranjivanih ekstrudiranom hranom. Udeo vlage i proteina duž prve glavne komponente uticalo je na razdvajanje šarana prihranjivanih ekstrudiranom hranom ($r = 0,542$, $r = 0,502$, respektivno). Šarani iz aprila, sa ribnjaka na kojem se riba prihranjivala ekstrudiranom hranom, bili su u korelaciji sa šaranima koji su dodatno hranjeni kukuruzom, što je bilo povezano sa uslovima uzgoja. Analizom glavnih komponenti utvrđena je visoka korelacija između vlage i lipida ($r = -0,970$), jaka između lipida i proteina ($r = -0,792$), a slabija između vlage i proteina ($r = 0,673$). Udeo pepela je bio u veoma slaboj korelaciji sa ostalim parametrima ($r = 0,4$).

Kukuruz, kojim je prihranjivan šaran, sadržao je značajno manje proteina (8,58%) i lipida (4,47%), nego ekstrudirana hrana (24,96% proteina, 8,17% lipida). Prihrana kukuruzom i ostalim vrstama žitarica (pšenica, ječam), koje imaju nizak sadržaj proteina, ograničava deponovanje proteina u tkivo ribe i toplokrvnih životinja (Steffens, 1996; Wood i dr., 2008). Izračunata metabolička, ili iskoristljiva energija ekstrudirane hrane je bila 17,2 MJ/kg, a kukuruza 16,2 MJ/kg. Međutim, odnos proteina i energije je mnogo veći kod ekstrudirane hrane nego kod kukuruza. Proteini iz ekstrudirane hrane imali su tri puta više kalorija nego proteini iz kukuruza. Energija iz ugljenih hidrata kukuruza je bila 1,5 puta veća nego iz ekstrudirane hrane. Ispitivanja kalifornijske pastrmke (Lee i Putnam, 1973; Takeuchi i dr., 1987), lososa (Akiyama i dr., 1981) i šarana (Zeitler i dr., 1984) pokazala su da se sa povećanjem odnosa proteina i energije u ishrani, sadržaj proteina u tkivu ribe povećava, a sadržaj lipida smanjuje. Zeitler i dr. (1984) navode da je u mesu šarana povećani unos energije imao najviše uticaja na varijacije u sadržaju lipida (6,7-17,6%), a manje na varijacije u sadržaju proteina (14,2-16,1%). Smanjivanje količine proteina iz hrane sa, 41,3%, na 30,1% i na 19,9% u suvoj materiji, imao je isti efekat: smanjivao se sadržaj proteina i vlage, a povećavao se sadržaj lipida u mesu. Steffens (1996) ukazuje na potrebu šarana za hranom sa optimalnim odnosom proteina i energije. Takeuchi i dr. (2002) navode da šaran ima potrebe za 30-35% proteina, 5-15% lipida, 30-40% skroba i 13-15 MJ/kg svarljive

energije. S obzirom da su žitarice energetski bogate ugljenim hidratima, a siromašne proteinima i lipidima, šaran prihranjivan kukuruzom je, očigledno, koristio ugljene hidrate za sintezu lipida, zbog energetskih potreba (čuvanja energije). To su utvrdili Farkas i dr., 1978. i Csengeri, 1996., koji su pokazali da ishrana šarana kukuruzom i pšenicom dovodi do visokog stepena biosinteze masnih kiselina. Zbog toga su šarani prihranjivani kukuruzom imali veći udeo lipida u svom tkivu, nego šarani prihranjivani ekstudiranom hranom. Razlike u udelu proteina u mesu šarana sa dva načina prihrane su rezultat kombinovanog efekta u promeni udela lipida i vlage u mesu (Shearer, 1994).

6.3 Uticaj vrste dodatne hrane na masnokiselinski sastav šarana sa dva ribnjaka sa poluintenzivnim uzgojem

Dominantne masne kiseline u ekstrudiranoj hrani i kukuruzu su bile palmitinska (16:0), oleinska (18:1n-9) i linolna (18:2n-6). Eikozapentaenska kiselina (20:5n-3) je bila prisutna samo u ekstrudiranoj hrani, a dokozaheksaenska (22:6n-3) nije bila prisutna ni u jednoj hrani. Zasićene masne kiseline su bile zastupljene sa 14,93%, mononezasićene sa 26,45%, a polinezasićene su bile dominantne sa 58,55% u ekstrudiranoj hrani. Sličan sastav masnih kiselina je imao i kukuruz, 13,84% zasićenih, 28,15% mononezasićenih i 58,00% polinezasićenih masnih kiselina.

Udeo n-6 polinezasićenih masnih kiselina bio je sličan u ekstrudiranoj hrani (55,33%) i kukuruzu (57,03%). Jedina razlika između ekstrudirane hrane i kukuruza je bila u udelu n-3 polinezasićenih masnih kiselina. One su u ekstrudiranoj hrani bile zastupljene sa 3,21%, dok su u kukuruzu činile < 1% ukupnih masnih kiselina. Linolenska kiselina (18:3n-3), koja je veoma bitna u ishrani šarana jer je prekursor EPA i DHA (Farkas i dr., 1977; Watanabe i dr., 1975), bila je zastupljena sa 1,76%, u ekstrudiranoj hrani, a u kukuruzu sa manje od 1%.

Zbog toga je odnos n-6/n-3, kao jedan od pokazatelja kvaliteta lipida, bio bolji u ekstrudiranoj hrani (17,35), a lošiji u kukuruzu (58,19). Zbog sličnog udela ukupnih polinezasićenih i zasićenih masnih kiselina, njihov odnos (P/Z) je bio sličan u ekstrudiranoj hrani (3,93) i kukuruzu (4,19), a takođe, i odnos ukupnih nezasićenih i zasićenih masnih kiselina (U/Z), (5,72; 6,22).

Rezultati za sastav masnih kiselina šarana iz oba ribnjaka ukazali su da je postojala visoka korelacija masnokiselinskog sastava hrane i ribe u periodu prihranjivanja. To su pokazali visoki koeficijenti korelacije između šarana i ekstrudirane hrane, u septembru i oktobru ($r = 0,829$, $r = 0,837$, respektivno) i između šarana i kukuruza, u septembru ($r = 0,799$). Masne kiseline 16:0, 16:1, 18:0 i 18:1n-9 su bile više zastupljene u mesu šarana nego u hrani. Razlog tome je činjenica što su zasićene i mononezasićene masne kiseline sa 16 i 18 ugljenikovih atoma, uglavnom, proizvodi sinteze u tkivu ribe, pa interkonverzija između njih ograničava uticaj dodatne hrane (Benedito-Palos i dr., 2011; Wood i dr., 2008).

Linolna kiselina (18:2n-6) je bila dvostruko više zastupljena u ekstrudiranoj hrani, a pet puta više u kukuruzu, nego u mesu šarana. Ova kiselina se nepromenjena inkorporira u tkivu životinja (Wood i dr., 2008), a njen udeo se smanjuje u mesu, usled *de novo* sinteze oleinske kiseline. Masne kiseline 18:3n-6, 20:2n-6 i 22:5n-3 nisu bile prisutne ni u jednoj hrani. Male količine masnih kiselina 18:3n-6, 20:2n-6 i 20:3n-6 u šaranu, koje su intermedijeri u procesu biosinteze do arahidonske kiseline (20:4n-6), ukazuju da se ovaj proces slabo odvijao. Kiessling i dr. (2001) navode da, i pored velike količine 18:2n-6 u hrani, uticaj na konačni proizvod biosinteze 20:4n-6 je veoma slab.

18:1n-7 masna kiselina, čije je prisustvo u ekstrudiranoj hrani bilo manje od 1%, a u kukuruzu manje od 0,1%, u mesu šarana sa oba ribnjaka je bila zastupljena sa 2,42-2,83%. Nije utvrđeno da u životinjama postoje desaturaze koje prevode 18:0 u 18:1n-7 (Tocher i dr., 1998). Masna kiselina 18:1n-7 je specifični bakterijski marker i njeno prisustvo u ribi može da potiče iz ribnjačkih hidrobionata (Navarrete i dr., 2000).

Masne kiseline koje su bile najviše zastupljene u šaranu sa ribnjaka na kojem je šaran prihranjivan ekstrudiranom hranom, u svim ispitanim periodima, bile su, redom, 18:1n-9, 18:2n-6 i 16:0. Na drugom ribnjaku, na kome je šaran prihranjivan kukuruzom, najzastupljenije masne kiseline su bile, redom, 18:1n-9, 16:0, 18:2n-6. Ove masne kiseline su bile glavni izvori metaboličke energije i dominiraju u sastavu masnih kiselina šarana i nekih drugih slatkovodnih riba (Fajmonova i dr., 2003; Hadjinikolova, 2004; Rasoarahona i dr., 2004; Guler i dr., 2008; Guler i dr., 2011).

Sa aspekta kvaliteta mesa ribe veoma je važno da se ustanove značajnije promene masnokiselinskog sastava šarana u toku uzgoja i vreme kada je riba imala najpovoljniji masnokiselinski sastav. Analizom glavnih komponenti utvrđeno je 87% varijacija u sastavu grupa masnih kiselina šarana prihranjivanih ekstrudiranom hranom i 74% varijacija u sastavu grupa masnih kiselina šarana prihranjivanih kukuruzom.

Primećene su sličnosti u ponašanju masnih kiselina, bez obzira na vrstu hrane. PCA je pokazala postojanje pozitivne korelacije između mase šarana, sadržaja lipida i mononezasićenih masnih kiselina kod šarana prihranjivanih ekstrudiranom hranom ($r \geq 0,7$; $P < 0,001$) i kukuruzom ($r \geq 0,5$; $P < 0,01$). Ove masne kiseline su uticale na razdvajanje šarana prihranjivanih ekstrudiranom hranom u aprilu, a u decembru šarana prihranjivanih kukuruzom od šarana koji su uzorkovani u drugim mesecima istraživanja.

Udeo mononezasićenih masnih kiselina kod šarana prihranjivanih ekstrudiranom hranom postepeno se povećavao, sa 41,68% u septembru, 42,43% u oktobru, 45,20% u decembru do 50,45% u aprilu. Značajna razlika u udelu mononezasićenih masnih kiselina je bila između oktobra i decembra ($P < 0,05$) i decembra i aprila ($P < 0,001$). Kod šarana prihranjivanih kukuruzom udeo mononezasićenih masnih kiselina se povećavao od septembra, sa 61,83% i oktobra, sa 62,53%, do decembra na 65,73%, dok su u aprilu bile 64,04%. Značajna razlika je bila između oktobra i decembra ($P < 0,05$). Najveća razlika u masnokiselinskom sastavu između šarana prihranjivanih ekstrudiranom hranom je bila između septembra i aprila, a kod šarana prihranjivanih kukuruzom između septembra i decembra, u oba slučaja u periodu prihranjivanja i u periodu kada su šarani imali najveću masu.

Slično je bilo ponašanje i n-3 i n-6 masnih kiselina, koje su se značajno smanjivale sa povećanjem količina mononezasićenih masnih kiselina, što su pokazale jako negativne korelacije kod šarana prihranjivanih ekstrudiranom hranom ($r = -0,895$, n-3; $r = -0,846$, n-6; $P < 0,001$) i kukuruzom ($r = -0,557$, n-3; $r = -0,887$, n-6; $P < 0,001$). Masne kiseline n-3 i n-6 su bile više zastupljene u periodu prihranjivanja šarana (septembar), bez obzira na vrstu dodatne hrane.

Odnos n-3/n-6 je bio najveći u septembru (0,17), a najmanji u aprilu (0,10), kod šarana prihranjivanih ekstrudiranom hranom, dok kod šarana prihranjivanih kukuruzom nije bilo značajne razlike (0,07-0,10), u ispitanoj periodu. PCA je omogućila bolje razumevanje promena u sastavu masnih kiselina tokom završne faze uzgoja šarana i pokazala je da su značajne promene bile u vezi sa količinom lipida i veličinom riba.

U mesu šarana prihranjivanih kukuruzom udeo zasićenih masnih kiselina se nije značajno razlikovao (22,86-24,55%) od udela zasićenih masnih kiselina kod šarana prihranjivanih ekstrudiranom hranom (21,80-24,86%). Od pojedinačnih zasićenih masnih kiselina nije bilo razlike u udelu najviše zastupljene palmitinske kiseline (16:0), koja je bila u opsegu od 17,36 do 18,45%, kod šarana koji su prihranjivani kukuruzom, a od 16,06 do 18,46% kod šarana koji su prihranjivani ekstrudiranom hranom. Generalno, riba ima manje od 30% zasićenih masnih kiselina, sa izuzetkom nekih vrsta (Ackman, 1990). Veći udeo zasićenih masnih kiselina, od 25,8 do 29,8%, u mesu šarana je objavio Bieniarz i dr. (2001). Palmitinska kiselina je najviše zastupljena zasićena masna kiselina u šaranu i drugim vrstama riba (Guler i dr., 2008; Guipu i dr., 2011; Alasalvar i dr., 2002; Grigorakis i dr., 2002).

Mononezasićene masne kiseline su bile značajno više zastupljene u mesu šarana prihranjivanih kukuruzom (61,83-65,72%), nego ekstrudiranom hranom (41,64-50,44%). Njihov veći udeo kod šarana prihranjivanih žitaricama navode i drugi autori (Steffens, 1997, 54,94%; Fajmonova i dr., 2003, 58,97%; Trenovszki i dr., 2011, 59,7% - prihrana pšenicom, 62,9% - prihrana kukuruzom; Bieniarz i dr., 2001, 54,2-61,0%; Ćirković i dr., 2011, 64,34%). Razlog većeg udela mononezasićenih masnih kiselina kod šarana prihranjivanih kukuruzom, ali i drugim žitaricama, je povećana biosinteza oleinske kiseline (Farkas i dr., 1978; Csengeri i dr., 1996). Šaran, iz energetski bogate hrane, kao što je kukuruz, procesom biosinteze gradi zasićene masne kiseline koje desaturacijom prelaze u mononezasićene, zbog čega njihov udeo raste. Istovremeno se smanjuje udeo polinezasićenih masnih kiselina (Csengeri, 1996; Henderson, 1996).

S obzirom da je oleinska kiselina glavni proizvod biosinteze, njen udeo je bio veći u mesu šarana koji su prihranjivani kukuruzom (50,95-54,47%) nego ekstrudiranom hranom (33,09-43,88%). Visok udeo oleinske kiseline navode i drugi autori za šarane

prihranjivane žitaricama (Steffens, 1997, 43,4%; Fajmonova i dr., 2003, 45,97%; Trenovszki i dr., 2011, 46,96% - pšenica, 50,44% - kukuruz; Bieniarz i dr., 2001, 39,5-47,4%; Ćirković i dr., 2011, 51,35%).

Udeo polinezasićenih masnih kiselina je bio značajno veći u mesu šarana prihranjivanih ekstrudiranom hranom (26,58-32,55%) nego kukuruzom (10,65-13,66%). Kod različitih autora, njihov udeo u mesu šarana se kreće u različitim opsezima, od 11,6–15,7% (Bieniarz i dr., 2001), 31,04% (Ćirković i dr., 2011) i do 32,3–34,5% (Geri i dr., 1995b), što zavisi od vrste dodatne hrane.

Od polinezasićenih masnih kiselina linolna kiselina (18:2n-6) u mesu šarana je bila najviše zastupljena. Ova masna kiselina, koja je dominantna u sastavu masnih kiselina žitarica i semena uljarica (Caballero i dr., 2002; Turchini i dr., 2009; Tacon i dr., 2009), nepromenjena se inkorporira u tkivo ribe, pa se njen sadržaj povećava sa unosom hrane (Wood i dr., 2008). Međutim, bez obzira na veći sadržaj linolne kiseline u hrani, njen udeo je bio manji u mesu šarana prihranjivanih kukuruzom (8,14-10,81%), nego ekstrudiranom hranom (22,12-26,09%). Razlog tome je povećavanje udela oleinske kiseline kod šarana prihranjivanih kukuruzom i, stoga, smanjivanje udela linolne kiseline. Zbog ove manje inkorporacije 18:2n-6, odnos P/S je bio manji kod šarana prihranjivanih kukuruzom (0,46-0,57) nego ekstrudiranom hranom (1,16-1,37). Ovaj odnos je veoma važan zbog sposobnosti ribe da se prilagodi promeni temperature okoline i ukazuje na fluidnost membrana (Farkas i dr., 1980). Wood i dr. (2008) navode da je povoljno da odnos P/S bude veći od 0,4. Udeo linolne kiseline je u skladu sa rezultatima drugih autora (Rosarhona i dr., 2004., neprihranjivani šaran, 10,6%; Fajmonova i dr., 2003., 6,91%, pšenica; Ćirković i dr., 2011., 8,75%, smeša kukuruza i pšenice i 22,56%, peletirana hrana).

Vrsta korišćene hrane je značajno uticala na udeo n-3 polinezasićenih masnih kiselina u mesu šarana. Linolenska kiselina (18:3n-3) je bila više zastupljena u mesu šarana koji su prihranjivani ekstrudiranom hranom (1,46-2,23%), nego žitaricama (0,41-0,63%). Ovo je posledica njenog većeg udela u ekstrudiranoj hrani (1,6-1,9%), nego u kukuruzu (0,98%). Osim toga, riba je, verovatno, unosila male količine prirodne hrane u toku prihranjivanja u ispitanom periodu (Steffens, 1997; Steffens i Wirth, 2007).

Prirodna hrana, kao što su organizmi zooplanktona i bentosa, je bogata sa masnim kiselinama 18:3n-3 i 20:5n-5 (Domaizon i dr., 2000; Bogut i dr., 2007; Sushchik i dr., 2003; Živić i dr., 2011), sa manje zastupljenom 22:6n-3 kod Cladocera dok ova masna kiselina dominira kod Copepoda (Bret i dr. 2009).

Veći udeo 20:5n-3 masne kiseline imali su šarani prihranjivani ekstrudiranom hranom (0,11-0,58%), nego kukuruzom (0,07-0,11%). Takođe, udeo 22:6n-3 masne kiseline je bio veći u šaranima prihranjivanih ekstrudiranom hranom (0,54-1,01%), nego kukuruzom (0,11-0,21%). S obzirom da masne kiseline 20:5n-3 i 22:6n-3 nastaju elongacijom i desaturacijom iz linolenske kiseline (18:3n-3), dobijeni rezultati ukazuju da se ovaj proces slabo odvijao i da su količine 18:3n-3 bile nedovoljne za stvaranje navedenih masnih kiselina.

U ispitivanjima koje su sprovedi Trenovszki i dr. (2011), najmanji udeo 18:3n-3 imali su šarani sa većim udelom kukuruza u hrani (0,78%), pa je i udeo 20:5n-3 i 22:6n-3 bio manji (0,14%, 0,14%). To ukazuje na potrebu da se hrana za šarane obogati linolenskom kiselinom, kako bi se povećao sadržaj 22:6n-3. Konverzija linolenske kiseline (18:3n-3), elongacijom i desaturacijom, u visokonezasićene masne kiseline sa 20 i 22 ugljenikova atoma se dešava u fosfolipidima, sa izuzetkom 20:5n-3. U tkivo toplokrvnih životinja, 18:3n-3 se slabije inkorporira u poređenju sa linolnom kiselinom (18:2n-6), (Wood i dr., 2008).

Odnos n-3/n-6 je bio manji u mesu šarana koji su prihranjivani kukuruzom (0,07-0,10) nego ekstrudiranom hranom (0,10-0,17). Ishrana sa balansiranim odnosom n-3/n-6 je važna za uzgoj zdrave ribe i za proizvodnju kvalitetne hrane za ljudsku ishranu (Steffens, 1997). U literaturi postoje različite objavljene vrednosti za n-3/n-6 odnos u tkivu šarana, u zavisnosti od načina prihrane (Geri i dr, 1995b, 0,47; Fajmonova i dr., 2003, 0,5; Ribarova i dr., 2003, 0,26; Buchtova i dr., 2007, 0,29-0,31; Trenovszki i dr., 2011, 0,17; Ćirković i dr., 2011, 0,14 - žitarice, 0,26 - peletirana hrana). Odnos n-3/n-6 je veći u mesu šarana koji se hrani prirodnom hranom (Vacha i Tvrzicka, 1995, 1,12; Ćirković i dr., 2010, 0,56; Guipu i dr., 2011, 0,6), na koji znatno utiče temperatura okoline, odnosno sezona. Ovaj odnos je veći u hladnijem periodu (Rasoarahona i dr., 2004, od 0,48-0,78; Guler i dr., 2008, 0,50-1,06; Guler i dr., 2011, 1,39-2,50).

6.4 Korelacija masa riba i sadržaja lipida sa sastavom masnih kiselina šarana – uticaj ekstrudirane hrane i žitarica

Sa povećanjem mase šarana došlo je do značajnih promena u masnokiselinskom sastavu. Uočava se linearni trend povećanja mononezasićenih ($r = 0,711$) i smanjenja zasićenih ($r = -0,544$) i polinezasićenih masnih kiselina ($r = -0,624$), u ispitanom periodu uzgoja šarana ekstrudiranom hranom. Ove promene su imale isti trend i kod šarana prihranjivanih kukuruzom, ali sa slabijim koeficijentima regresije ($r = 0,484$, mononezasićene; $r = -0,353$, zasićene; $r = -0,465$, polinezasićene). Iste promene sa rastom šarana potvrđuju rezultati drugih autora (Fajmonova i dr., 2003; Geri i dr., 1995a), ali i za druge vrste riba (Tidwell i Robinette, 1990; Kiessling i dr., 2001). Standardne devijacije su, generalno, bile manje za zasićene masne kiseline, što ukazuje da su biološke varijacije bile manje za ove masne kiseline, dok su za mononezasićene i polinezasićene masne kiseline bile veće, naročito u periodu prihranjivanja. Slično su uočili i drugi autori (Geri i dr., 1995b; Jensen i dr., 2007).

Sa povećanjem mase šarana značajno se smanjivao udeo linolne kiseline (18:2n-6), bez obzira na vrstu dodatne hrane. Uočeno je da je promena u 18:2n-6 povezana sa ishranom ribe (Kiessling i dr., 2001), što je razumljivo, jer ova masna kiselina dominira u oba tipa hrana, pa je njen udeo bio manji u decembru i aprilu kada se riba nije prihranjivala. Manje izražen efekat je bio u smanjenju arahidonske kiseline (20:4n-6) (Geri i dr., 1995a; Fajmonova i dr., 2003), iako u našem ispitivanju nisu uočene značajne promene ($P > 0,05$).

Mononezasićene masne kiseline su se povećavale sa povećanjem mase, a s obzirom da se povećavao i udeo lipida u mesu, jasno je da se i njihov udeo povećavao sa povećanjem predominantne oleinske kiseline (18:1n-9), (Kiessling i dr., 2001).

Udeo n-3 polinezasićenih masnih kiselina 18:3n-3 ($r = -0,660$), 20:5n-3 ($r = -0,477$) i 22:6n-3 ($r = -0,520$) značajno se smanjivao sa povećanjem mase šarana koji su prihranjivani ekstrudiranom hranom, što je u skladu sa rezultatima Fajmonova i dr. (2003), Geri i dr. (1995a). Smanjenje dokozaheksaenske kiseline (22:6n-3) sa starošću ribe navode i Kiessling i dr. (2001) kod pastrmke. Tendencija smanjenja ovih masnih

kiselina kod šarana koji su prihranjivani kukuruzom nije bila značajna ($P > 0,05$), verovatno, jer su one bile manje zastupljene. Povećanje mase slabo je uticalo na promene pojedinačnih masnih kiselina kod šarana prihranjivanih kukuruzom, što može biti povezano sa većom varijabilnošću jedinki šarana, usled vrste hrane i uslova uzgoja (Kocour i dr., 2005).

Sa povećanjem sadržaja lipida u mesu šarana prihranjivanih ekstrudiranom hranom, značajno su se povećavale mononezasićene ($r = 0,702$), a smanjivale zasićene ($r = -0,820$) i polinezasićene masne kiseline ($r = -0,465$). Slične, ali u slabijem stepenu korelacije, su bile promene sastava masnih kiselina i u mesu šarana prihranjivanih kukuruzom ($r = 0,447$, mononezasićene; $r = -0,241$, zasićene; $r = -0,453$, polinezasićene). Iste promene navode i drugi autori kod šarana (Geri i dr., 1995a; Fajmonova i dr., 2003).

Povećanje ukupnih lipida nije se značajno odrazilo na smanjenje udela n-6 masnih kiselina kod šarana prihranjivanih ekstrudiranom hranom ($r = -0,358$, $P > 0,05$), za razliku od šarana prihranjivanih kukuruzom ($r = -0,369$, $P < 0,05$). Udeo n-3 se značajno smanjivao kod šarana sa oba načina prihranjivanja sa povećanjem lipida ($r = -0,596$, ekstrudirana hrana; $r = -0,482$, kukuruz), što su pokazala ispitivanja Geri i dr. (1995a), Fajmonova i dr. (2003), Mráz i Pickova (2009). To je povezano sa sastavom lipidnih klasa, jer promene u relativnom udelu polarnih fosfolipida i triglicerida u ukupnim lipidima značajno utiču na n-3 masne kiseline (Kiessling i dr., 2001; Wood i dr., 2008; Henderson, 1996). Fosfolipidi, koji su esencijalne komponente ćelijskih membrana, ostaju prilično konstantni, dok neutralni lipidi dominiraju sa povećanjem ukupnih lipida (Wood i dr., 2008; Kiessling i dr., 2001; Mráz i Pickova, 2009). Zbog toga se udeo masnih kiselina 20:5n-3 i 22:6n-3 značajno smanjivao sa povećanjem ukupnih lipida kod šarana prihranjivanih ekstrudiranom hranom ($r = -0,668$, $r = -0,504$, respektivno) i kukuruzom ($r = -0,403$, $r = -0,378$, respektivno). Ballester-Lozano i dr. (2011) navode da sa povećanjem lipida u oradi (*Sparus aurata*), povećava se udeo 18:1n-9 i smanjuje udeo 20:4n-6 i 22:6n-3 masnih kiselina.

Kiessling i dr. (2001) navode da se promene u sastavu lipidnih klasa (fosfolipidi i trigliceridi) manje odražavaju na zasićene masne kiseline, jer su podjednako zastupljene

u obe klase lipida, a više na mononezasićene i polinezasićene, koje su u njima različito zastupljene. To potvrđuju ispitivanja lipidnih klasa kod šarana (Mráz i dr., 2012). U sastav fosfolipida više ulaze masne kiseline 18:2n-6 i 20:4n-6, a 16:0 i 18:1n-9 masne kiseline ulaze u sastav polarnih i neutralnih lipida (Linares i Henderson, 1991; Wood i dr., 2008).

U našem radu nisu ispitane promene u sastavu masnih kiselina u pojedinim klasama lipida, međutim, ove promene su, generalno, male i zbirno se odražavaju na promene sastava masnih kiselina u ukupnim lipidima (Kiessling i dr., 2001).

Očigledno je da šaran, bez obzira na vrstu dodatne hrane, pokazuje slične metaboličke promene masnih kiselina. Jako negativna korelacija između polinezasićenih i mononezasićenih masnih kiselina u mesu šarana prihranjivanih kukuruzom ($r = -0,914$, $P < 0,0001$) i ekstrudiranom hranom ($r = -0,849$, $P < 0,0001$), ukazuje na mogućnost da se na ove masne kiseline može uticati izborom hrane koja je bogatija polinezasićenim masnim kiselinama. To su pokazala ispitivanja Trenovszki i dr. (2011). U zavisnosti od dodatne hrane, koja se bazirala na različitim vrstama žitarica i obrocima uljarica, kao glavnih izvora ugljenih hidrata, koji su važni u ishrani šarana, sadržaj zasićenih masnih kiselina se kretao u opsegu 21-26%, dok su mnogo veće varijacije bile u sadržaju mononezasićenih masnih kiselina, od 45 do 63% i polinezasićenih masnih kiselina, od 8% do 26%. Ova istraživanja su pokazala da je različita vrsta ishrane dovela do značajnih varijacija u sadržaju masti, mononezasićenih i n-6 i n-3 polinezasićenih masnih kiselina u mesu šarana.

Sastav masnih kiselina čini se povoljnijim kada se dodatna ishrana bazira na kombinaciji zrna žitarica i obroka uljarica, a prednost ovakve ishrane je bogatiji sadržaj polinezasićenih masnih kiselina. S obzirom da su u ispitivanjima Trenovszki i dr. (2011) n-6 masne kiseline bile u opsegu od 7% do 14%, a n-3 masne kiseline između 1% i 11%, moguća je proizvodnja ribe visoke nutritivne vrednosti, što zavisi od metode gajenja i vrste hrane (Steffens, 1997; Steffens i Wirth, 2007; Hadjinikolova, 2004). Poređenjem šarana ekstenzivno i poluintenzivno gajenih, sa dva načina prihranjivanja, pšenicom i peletiranom hranom sa 30% repičinog kolača, Mráz i dr. (2012) su utvrdili veći udeo 20:5n-3 (2,28%) i 22:6n-3 (6,76%) masnih kiselina u ukupnim lipidima kod

šarana prihranjivanih peletama nego kod šarana prihranjivanih pšenicom (0,94 i 2,95, respektivno). Šaran koji je koristio samo prirodnu hranu sadržao je veći udeo n-3 masnih kiselina i značajno se razlikovao od šarana sa dodatnim prihranjivanjem.

Dodavanje velikih količina uljarica hrani za ribu može biti sporno, s obzirom da su i ostala istraživanja pokazala da visoko energetska hrana, sa povećanom koncentracijom ugljenih hidrata (dekstrin, skrob, pšenično brašno), dovodi do povećanja sadržaja lipida u jetri i u mesu ribe (Cho i Kaushik, 1990; Shearer, 1994; Morris, 2001; Rasmussen, 2001).

Analiza glavnih komponenti dodatno pojašnjava rezultate ispitivanja i daje jasan uvid u strukturu uzoraka šarana. Utvrđeno je 84% varijacija u sastavu grupa masnih kiselina šarana prema vrsti dodatne hrane. Mononezasićene masne kiseline koje su bile u najvećoj korelaciji sa prvom komponentom ($r = -0,430$), bile su dominantno zastupljene kod šarana prihranjivanih kukuruzom. Šarani prihranjivani kukuruzom su dodatno bili razdvojeni prvom komponentom prema većem sadržaju lipida ($r = -0,354$). n-3 i n-6 masne kiseline su bile u pozitivnoj korelaciji sa prvom komponentom ($r = 0,428$, $r = 0,418$), i bile su dominantno zastupljene kod šarana prihranjivanih ekstrudiranom hranom. Međutim, šarani iz aprila, sa ribnjaka u kojem je riba prihranjivana ekstrudiranom hranom, su drugom glavnom komponentom ($r = 0,700$) razdvojeni kao odvojena grupa. Masa ovih šarana je bila u korelaciji samo sa masnim kiselinama 20:1 ($r = 0,345$, $P = 0,0086$) i 18:3n-6 ($r = 0,319$, $P = 0,0154$), koje nisu bile prisutne u hrani, što ukazuje da je moguće da one u ribi potiču iz prirodne hrane u ribnjaku, s obzirom da je 20:1 biomarker zooplanktona (Sargent i dr., 1989). Masne kiseline 18:1n-9, 16:1 i 20:3n-6 su imale dominantan udeo u šaranima koji su prihranjivani kukuruzom, a masne kiseline 20:5n-3, 20:3n-3, 22:5n-3, 18:3n-3, 20:2, 22:6n-3 i 18:2n-6 su bile više zastupljene u šaranima koji su prihranjivani ekstrudiranom hranom. Vrsta dodatne hrane nije uticala na sadržaj 16:0, 18:0 i 18:1n-7 masnih kiselina.

Dobijeni rezultati pokazuju da je sastav masnih kiselina mesa ribe jako zavisio od sadržaja ukupnih lipida. Prihranjivanjem šarana žitaricama, koje su bogate ugljenim hidratima, a siromašne lipidima i proteinima, povećavala se količina ukupnih lipida, usled procesa biosinteze 18:1n-9, dominantne mononezasićene masne kiseline (Farkas i

dr., 1978; Csengeri, 1996). Efekat prihrane, odnosno vrste korišćene hrane, stoga, treba razmatrati u vezi sa količinom lipida koji su se deponovali u tkivo ribe. Ovaj proces ukazuje na potrebu da hrana za prihranu šarana mora biti balansirana u svom sastavu u sadržaju proteina, lipida i ugljenih hidrata.

Povećanje ukupnih lipida i oleinske kiseline (18:1n-9), koja je kod šarana prihranjivanih ekstrudiranom hranom bila oko 33%, a kod šarana prihranjivanih kukuruzom oko 54%, značajno je uticalo na smanjenje n-3 masnih kiselina. Na ovu činjenicu ukazuje Wood i dr. (2008), za meso toplokrvnih životinja. Vrsta korišćene hrane je značajno uticala na sadržaj n-3 masnih kiselina. Šarani se nisu razlikovali u sadržaju zasićenih masnih kiselina jer ove masne kiseline ulaze u sastav fosfolipida i neutralnih lipida.

Ova ispitivanja su pokazala da ne treba zanemariti ni uticaj rasta i povećanje mase riba, procesi koji, takođe, značajno utiču na masnokiselinski sastav (Tidwell i Robinette, 1990, Kiessling i dr., 2001).

6.5 Sadržaj holesterola u mesu šarana sa dva ribnjaka sa poluintenzivnim uzgojem - uticaj vrste dodatne hrane

Sadržaj holesterola u mesu šarana prihranjivanih kukuruzom bio je u opsegu od 39,22 do 57,97 mg/100 g, a ekstrudiranom hranom u opsegu od 49,87 do 54,97 mg/100 g. Sadržaj holesterola, izražen u mg/100 g ribe, bio je veći kod šarana prihranjivanih ekstrudiranom hranom u septembru ($P < 0,001$), dok između šarana u oktobru, decembru i aprilu nije bilo statistički značajnih razlika ($P > 0,05$). Ovi rezultati pokazuju da sadržaj holesterola, izražen u mg/100 g ribe, nije zavisio od sadržaja lipida, masa riba i vrste dodate hrane.

Dosadašnja ispitivanja su pokazala da se sadržaj holesterola u ribama kreće od 49 do 92 mg/100 g, a u mesu toplokrvnih životinja od 45 do 84 mg/100 g (Piironen i dr., 2002). Cahu i dr. (2004) ukazuju da riba iz akvakulture, iako ima veći sadržaj masti, ima isti sadržaj holesterola kao i ista vrsta iz slobodnog izlova. Rezultati ispitivanja šarana u periodu uzgoja, od 12 do 18 meseci (Geri i dr. 1995b), pokazala su da, iako se povećavao sadržaj lipida, sadržaj holesterola se nije značajno menjao i kretao se od 86,76 do 90,90 mg/100 g. To su pokazala i naša ispitivanja za šarane prihranjivane ekstrudiranom hranom. Dobijeni rezultati su u skladu sa ispitivanjima Vacha i Tvrzicka

(1995), koji su utvrdili sadržaj holesterola u mesu gajenog šarana od 55,20 mg/100 g, Kopicova i Vavreinova (2007) od 47 mg/100 g, a u mesu amura 52 mg/100 g, a niži su nego u ispitivanjima šarana koje su analizirali Komprda i dr. (2003), 69,4-77,6 mg/100 g.

Bieniarz i dr., 2001 su utvrdili značajne razlike u sadržaju holesterola između različitih genetskih linija šarana (59,6-233,5 mg/100 g).

Međutim, kada se sadržaj holesterola izrazi u g/100 g lipida ribljeg mesa, sadržaj holesterola je znatno veći u ribi sa manjim sadržajem lipida. To su pokazala i naša ispitivanja, jer je sadržaj holesterola u lipidima mesa šarana prihranjivanih kukuruzom bio manji (0,36-0,78%) nego ekstrudiranom hranom (0,78-1,89%). Ispitivanjem mesa šaranskih vrsta riba iz Dunava, Živković i dr. (2002) su utvrdili da je sadržaj holesterola u lipidima bio od 0,21% do 0,62%. Oni su ustanovili i sezonske promene i navode da se tokom letnjeg perioda sadržaj holesterola u lipidima smanjuje i sličan je, ili čak manji nego u proleće. Naši rezultati za šarane prihranjivane ekstrudiranom hranom su u skladu sa rezultatima Živković i dr. (2002), koji su utvrdili da se sa povećanjem telesne mase riba sadržaj holesterola u lipidima brzo smanjivao. Iste promene nisu uočene kod šarana prihranjivanih kukuruzom, moguće zbog varijacija jedinki. Ispitivanjem zavisnosti sadržaja holesterola (% lipida) od sadržaja lipida, bez obzira na vrstu prihrane, za 60 uzoraka šarana dobijena je logaritamska zavisnost sa visokim koeficijentom korelacije ($R^2 = 0,916$), koja je ukazala da šaran sa manjim udelom lipida u mesu ima veći sadržaj holesterola (%), koji se veoma brzo smanjuje sa povećanjem ukupnih lipida i dostiže konstantnu vrednost. To su potvrdila i ispitivanja Komprda i dr. (2003), koji su, takođe, utvrdili negativnu korelaciju ($R^2 = 0,77$) sadržaja holesterola i lipida. Očigledno je da su navedene promene u vezi sa sastavom lipidnih klasa, s obzirom da holesterol ima važnu ulogu u izgradnji ćelijske membrane i ulazi u sastav fosfolipida. Sa povećanjem ukupnih lipida, udeo fosfolipida ostaje konstantan, a povećavaju se neutralni lipidi (Kiessling i dr., 2001; Wood i dr., 2008), zbog čega se i udeo holesterola u ukupnim lipidima smanjuje.

7. ZAKLJUČCI

U cilju proučavanja uticaja vrste dodatne hrane (ekstrudirana hrana i kukuruz) na hemijski i masnokiselinski sastav mesa šarana, kao i proučavanja promena koje su se dešavale u toku uzgoja konzumne ribe, obavljena su ispitivanja dvogodišnjeg šarana tokom perioda jesen/zima 2009. godine i proleće 2010. godine, sa dva ribnjaka sa poluintenzivnim uzgojem.

Prilikom svakog uzimanja uzoraka riba uzorkovana je i hrana i izmerena je temperatura vode, zatim, po prispeću uzoraka u laboratoriju, izmerene su mase i dužine riba, da bi se procenio uticaj koji su endogeni i egzogeni faktori imali na hemijski i masnokiselinski sastav mesa šarana. Analizom sadržaja proteina, lipida, vlage, pepela, celuloze, BEM i ME ekstrudirane hrane i kukuruza proučavan je uticaj vrste hrane, u periodu prihranjivanja, na hemijski sastav mesa šarana.

Ispitivanjem sadržaja proteina, ukupnih lipida, vlage, pepela i holesterola u mesu šarana, u toku ispitnog perioda uzgoja, sagledane su promene koje su se dešavale sa povećanjem masa šarana. Pomoću regresionih analiza utvrđene su apsolutne količine proteina, lipida i vlage po masi ribe, u zavisnosti od vrste dodatne hrane.

Za potrebe instrumentalnog određivanja sastava masnih kiselina primenjena je i optimizovana nova metoda ubrzane ekstrakcije pomoću rastvarača (ASE) ukupnih lipida iz mesa šarana i hrane za ribu. Metilstri masnih kiselina, iz ekstrakta lipida, analizirani su metodom gasne hromatografije. Korelacionom analizom utvrđen je uticaj masnokiselinskog sastava ekstrudirane hrane i kukuruza na sastav masnih kiselina mesa šarana. Primenom statističkih metoda, analize varijansi i multivarijantne analize glavnih komponenti, utvrđene su razlike i, moguće, sličnosti između hemijskog i masnokiselinskog sastava šarana prema vrsti dodatne hrane. U toku perioda ispitivanja, proučavane su promene u sastavu masnih kiselina mesa šarana koje su se dešavale sa povećanjem mase riba, kao i sa povećanjem sadržaja ukupnih lipida u mesu riba.

Na osnovu postavljenih ciljeva istraživanja, u ovoj doktorskoj disertaciji, i statističke analize dobijenih rezultata izvedeni su sledeći zaključci:

1. Regresionim analizama pokazano je da su proteini, lipidi, vlaga i pepeo bili u izometrijskom odnosu sa masom šarana u toku uzgoja, na oba ribnjaka, odnosno da su se navedeni hemijski parametri povećavali istom brzinom sa povećanjem mase riba. Poređenjem izometrijskih regresionih jednačina ustanovljeno je da je prihranjivanje šarana ekstrudiranom hranom uticalo na deponovanje većih količina proteina po jedinici mase ribe, dok je prihranjivanje šarana kukuruzom uticalo na deponovanje većih količina lipida.
2. Rezultati višestruke linearne regresije su pokazali da su proteini odgovorni za rast ribe i da, isključivo, doprinose povećanju mase šarana, dok deponovanje lipida slabo doprinosi povećanju mase šarana.
3. Razlike u količini deponovanih proteina i lipida dovele su do razlika u njihovom masenom udelu u mesu šarana. Proteini su bili značajno više zastupljeni u mesu šarana prihranjivanih ekstrudiranom hranom, a lipidi su bili značajno više zastupljeni u mesu šarana prihranjivanih kukuruzom. Udeo vlage je bio veći u mesu šarana prihranjivanih ekstrudiranom hranom nego kukuruzom. Šarani se, prema vrsti dodatne hrane, nisu međusobno razlikovali u udelu pepela. Analizom glavnih komponenti utvrđeno je 91% varijacija u hemijskom sastavu šarana prema vrsti dodatne hrane.
4. Odnos proteina i energije bio je značajno manji u kukuruzu nego u ekstrudiranoj hrani, što je dovelo do veće količine deponovanih lipida u mesu šarana prihranjivanih kukuruzom. Ovaj proces ukazuje na potrebu korišćenja hrane za prihranu šarana koja ima izbalansiran sadržaj proteina, lipida i ugljenih hidrata.
5. Sadržaj holesterolu se veoma brzo smanjivao sa povećanjem sadržaja ukupnih lipida, kako kod šarana prihranjivanih ekstrudiranom hranom tako i kod šarana prihranjivanih kukuruzom. Sa povećanjem mase riba značajno se smanjivao sadržaj holesterolu, kod šarana prihranjivanih ekstrudiranom hranom, ali ne i kod

- šarana prihranjivanih kukuruzom. Holesterol je bio manje zastupljen u ukupnim lipidima šarana prihranjivanih kukuruzom nego ekstrudiranom hranom.
6. Kukuruz i ekstrudirana hrana za prihranu šarana su imali sličan sastav zasićenih, mononezasićenih i n-6 polinezasićenih masnih kiselina. Značajna razlika je postojala samo u udelu n-3 polinezasićenih masnih kiselina, koje su bile više zastupljene u ekstrudiranoj hrani, sa predominantnom linolenskom kiselinom (18:3n-3).
 7. U periodu prihranjivanja, masne kiseline su kod šarana sa oba ribnjaka bile u jakoj korelaciji sa masnim kiselinama u dodatnoj hrani. Palmitinska (16:0), palmitoleinska (16:1), stearinska (18:0) i oleinska masna kiselina (18:1n-9) su procentualno bile više zastupljene u mesu šarana nego u ekstrudiranoj hrani i kukuruzu. Linolna kiselina (18:2n-6) je procentualno bila više zastupljena u ekstrudiranoj hrani i kukuruzu, nego u mesu šarana.
 8. Prema vrsti prihrane, šarani se nisu značajno razlikovali u sadržaju zasićenih masnih kiselina. Mononezasićene masne kiseline su bile značajno više zastupljene u mesu šarana koji su prihranjivani kukuruzom nego ekstrudiranom hranom. Udeo polinezasićenih masnih kiselina i odnos n-3/n-6 je bio značajno veći u mesu šarana prihranjivanih ekstrudiranom hranom nego kukuruzom.
 9. Analiza glavnih komponenti je pokazala da je postojala pozitivna korelacija između masa šarana, sadržaja lipida i sadržaja mononezasićenih masnih kiselina, bez obzira na vrstu dodatne hrane.
 10. Sa povećanjem sadržaja lipida, masnokiselinski sastav mesa šarana se značajno menjao; povećavale su se mononezasićene masne kiseline, sa dominantnom oleinskom kiselinom (18:1n-9), a istovremeno se smanjivale n-3 i n-6 polinezasićene masne kiseline.

11. Sa povećanjem masa šarana došlo je do značajnog povećanja mononezasićenih masnih kiselina i smanjenja zasićenih i polinezasićenih masnih kiselina, bez obzira na vrstu dodatne hrane.
12. Analizom glavnih komponenti utvrđeno je 84% varijacija u sastavu grupa masnih kiselina između šarana, prema vrsti dodatne hrane. Masne kiseline 18:1n-9, 16:1 i 20:3n-6 su imale dominantan udeo kod šarana koji su prihranjivani kukuruzom, a 18:3n-3, 22:6n-3, 18:2n-6, 20:3n-3, 20:2, 20:5n-3 i 22:5n-3 masne kiseline su bile više zastupljene u šaranima koji su prihranjivani ekstrudiranom hranom. Vrsta dodatne hrane nije uticala na sadržaj 16:0, 18:0 i 18:1n-7 masnih kiselina.

Istraživanjima koja su realizovana u okviru ove disertacije došlo se do novih saznanja o procesu deponovanja hranljivih materija u mesu šarana. S obzirom da rast ribe, odnosno povećanje njene mase, može da se predvidi na osnovu količine deponovanih proteina, izborom hrane može da se utiče na promene količina deponovanih hranljivih materija. Na osnovu modela rasta moguće je da se proceni brzina deponovanja hranljivih materija u funkciji vremena, što je od koristi za procenu efekata ishrane ribe.

Rezultati koji se odnose na proučavanje dodatne ishrane šarana različitim mešavinama žitarica i semena uljarica ukazuju da su ovakve vrste istraživanja i dalje potrebna, kao i određivanje optimalnog perioda za prihranjivanje šarana u praksi, kako bi se dobio što kvalitetniji proizvod akvakulture, bogatiji polinezasićenim masnim kiselinama. Dodatna istraživanja treba usmeriti ka pronalaženju novih komponenti hrane za ribu, kao i na utvrđivanju njihovih optimalnih udela u hrani, u cilju dobijanja što kvalitetnijeg proizvoda, odnosno ribe kao namirnice za ljudsku ishranu.

Saznanja do kojih se došlo u toku istraživanja, a koja su prezentovana u okviru ove doktorske disertacije ukazuju na opravdanost prihranjivanja šarana ekstrudiranom hranom u cilju poboljšanja kvaliteta mesa šarana. Potreba da se poboljša sastav, odnosno kvalitet hrane kao i efikasnost hranjenja je od suštinske važnosti za stalno unapređenje akvakulture.

8. LITERATURA

- Ackman, R. G.**, 1990. Seafood lipids and fatty acids. *Food Reviews International* 6, 617-646.
- Akiyama, T.**, Yagisawa, I., Nose, T., 1981. Optimum levels of dietary crude protein and fat for fingerling chum salmon. *Bulletin of National Research Institute of Aquaculture* 2, 35-42.
- Alasalvar, C.**, Taylor, K. D. A., Zubcov, E., Shahidi, F., Alexis, M., 2002. Differentiation of cultured and wild sea bass (*Dicentrarchus labrax*): total lipid content, fatty acid and trace mineral composition. *Food Chemistry* 79, 145-150.
- AOAC**, 1995. Official Methods of Analysis of the Association of Official Analytical Chemists (16th Edition). AOAC International, Washington DC, USA.
- Azevedo, P. A.**, Cho, C. Y., Leeson, S., Bureau, P. D., 1998. Effects of feeding level and water temperature on growth, nutrient and energy utilization and waste outputs of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Aquatic Living Resources* 11, 227-238.
- Ballester-Lozano, G. F.**, Benedito-Palos, L., Navarro, J. C., Kaushik, S., Pérez-Sánchez, J., 2011. Prediction of fillet fatty acid composition of market-size gilthead sea bream (*Sparus aurata*) using a regression modelling approach. *Aquaculture* 319, 81-88.
- Barrado, E.**, Jiménez, F., Prieto, F., Nuevo, C., 2003. The use of fatty-acid profiles of the lipids of the rainbow trout (*Onchorynchus mykiss*) to differentiate tissue and dietary feed. *Food Chemistry* 81, 13-20.
- Bauer, C.**, Schlott, G., 2004. Overwintering of farmed common carp (*Cyprinus carpio* L.) in the ponds of a central European aquaculture facility – measurement of activity by radio telemetry. *Aquaculture* 241, 301-317.
- 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.

- Bell, J. G.,** Mc Ghee, F., Campbell, P. J., Sargent, J. R., 2003. Rapeseed oil as an alternative to marine fish oil in diets of postsmolt Atlantic salmon (*Salmo salar*): changes in flesh fatty acid composition and effectiveness of subsequent fish oil 'wash out'. *Aquaculture* 218, 515-528.
- Benedito-Palos, L.,** Navarro, J.C., Bermejo-Nogales, A., Saera-Vila, A., Kaushik, S., Pérez-Sánchez, J., 2009. The time course of fish oil wash-out follows a simple dilution model in gilthead sea bream (*Sparus aurata* L.) fed graded levels of vegetable oils. *Aquaculture* 288, 98-105.
- Benedito-Palos, L.,** Bermejo-Nogales, A., Karampatos, A. L., Ballester-Lozano, G., Navarro, J.C., Diez, A., Bautista, J. M., Bell, J. G., Tocher, D. R., Obach, O., Kaushik, S., Pérez-Sánchez, J., 2011. Modelling the predictable effects of dietary lipid sources on the fillet fatty acid composition of one-year-old gilthead sea bream (*Sparus aurata* L.). *Food Chemistry* 124, 538-544.
- Berge, G. M.,** Witten, P. E., Baeverfjord, G., Vegusdal, A., 2009. Diets with different n-6/n-3 fatty acid ratio in diets for juvenile Atlantic salmon, effects on growth, body composition, bone development and eicosanoid production. *Aquaculture* 296, 299-308.
- Bergstrom, E.,** 1989. Effects of natural and artificial diets on seasonal changes in fatty acids composition and total body lipid content of wild and hatchery reared Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) parr-smolt. *Aquaculture* 82, 205-217.
- Bieniarz, K.,** Koldras, M., Kaminski, J., Mejza, T., 2001. Fatty acids, fat and cholesterol in some lines of carp (*Cyprinus carpio*) in Poland. *Archives of Polish Fisheries* 9, 5-24.
- Björnsson, B.,** Steinarsson, A., Árnason, T., 2007. Growth model for Atlantic cod (*Gadus morhua*): Effects of temperature and body weight on growth rate. *Aquaculture* 271, 216–226.
- Blight, E.G., Dyer, W.J.,** 1959. A rapid method of total lipid extraction and purification. *Canadian Journal of Biochemistry and Physiology* 37, 911-917.
- Bogut, I.,** Has – Schön, E., Adámek, Z., Rajković, V., Galović, D., 2007. *Chironomus plumosus* larvae – a suitable nutrient for freshwater farmed fish. *Agriculture* 13, 159-162.

- Bogut, I.**, Adamek, Z., Puškadija, Z., Galović, D., Bodakoš, D., 2010. Nutritional value of planktonic cladoceran *Daphnia magna* for common carp (*Cyprinus carpio*) fry feeding. *Ribarstvo* 68, 1-10.
- Brauge, C.**, Corraze, G., Medale, F., 1995. Effects of dietary levels of carbohydrate and lipid on glucose oxidation and lipogenesis from glucose in rainbow trout (*Onchorynchus mykiss*) reared in freshwater or in seawater. *Comparative Biochemistry and Physiology* 111A, 117-124.
- Brett, T. M.**, Müller-Navarra, D. C., Persson, J., 2009. Crustacean zooplankton fatty acid composition. In: Arts, M. T., Brett, T. M., Kainz, M. J. (Eds.), *Lipids in Aquatic Ecosystems*. Springer, Dordrecht, The Netherlands, 115-146.
- Buchtova, H.**, Svobodova, Z., Křižek, M., Vacha, F., Kocour, M., Velišek, J., 2007. Fatty acid composition in intramuscular lipids of experimental scaly crossbreds in 3-year-old common carp (*Cyprinus carpio* L.). *Acta Veterinaria Brno* 76, S73-S81.
- Bureau, D. P.**, Azevedo, P. A., Tapia-Salazar, M., Cuzon, G., 2000. Pattern and cost of growth and nutrient deposition in fish and shrimp: Potential implications and applications, In: Cruz-Suárez, L.E., Ricque-Marie, D., Tapia-Salazar, M., Olvera-Novoa, M.A. Civera-Cerecedo, R. (Eds.), *Avances en Nutrición Acuicola V. Memorias del V Simposium Internacional de Nutrición Acuicola*. 19-22 Noviembre, Mérida, Yucatán, Mexico, 111-140.
- Butte, W.**, 1983. Rapid method for the determination of fatty acid profiles from fats and oils using trimethylsulphonium hydroxide for transesterification, *Journal of Chromatography* 261, 142-145.
- 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, *Onchorynchus mykiss*. *Aquaculture* 214, 253–271.
- Cadima, E. L.**, Caramelo, A. M., Afonso-Dias, M., Conte de Barros, P., Tandstad, M. O., de Leiva-Moreno, J. I., 2005. Sampling methods applied to fisheries science: a manual. *FAO Fisheries Technical Paper* 434, FAO, Rome, Italy, 88.

- 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.
- Cho, C. Y.**, 1992. Feeding systems for rainbow trout and other salmonids with reference to current estimates of energy and protein requirements. *Aquaculture* 100, 107-123.
- Cho, C. Y.**, Slinger, S. J., Bayley, H. S., 1982. Bioenergetics of salmonid fishes: Energy intake, expenditure and productivity. *Comparative Biochemistry and Physiology Part B: Comparative Biochemistry* 73, 25–41.
- Cho, C.Y.**, **Kaushik, S. J.**, 1990. Nutritional energetics in fish: energy and protein utilization in rainbow trout (*Salmo gairdneri*). *World Review of Nutrition and Dietetics* 61, 132-172.
- Cho, C.Y.**, **Bureau, D. P.**, 1998. Development of bioenergetic models and the *Fish-PrFEQ* software to estimate production, feeding ration and waste output in aquaculture. *Aquatic Living Resources* 11, 199-210.
- Chou, R. L.**, Her, B.Y., Su, M. S., Hwang, G., Wu, Y. H., Chen, H.Y., 2004. Substituting fish meal with soybean meal in diets of juvenile cobia *Rachycentron canadum*. *Aquaculture* 229, 325-333.
- Christie, W.W.**, 1993. Preparation of ester derivatives of fatty acids for chromatographic analysis. In: Christie, W.W. (Ed.), *Advances in Lipid Methodology II*. The Oily Press, Dundee, Scotland, 69-111.
- Christie, W.W.**, 2003. Lipid Analysis. In: Christie, W.W. (Ed.), *Isolation, separation, identification and structural analysis of Lipids*, 3rd Edition. The Oily Press, Bridgwater, England, 432.
- Christie, W.W.**, 2011. Triacylglycerols. Part 1. Structure and composition. In: The AOCS Lipid Library (Updated 2011) <http://lipidlibrary.aocs.org>
- Christie, W.W.**, 2012. Fatty acids: methylene-interrupted double bonds - structures, occurrence and biochemistry. In: The AOCS Lipid Library (Updated 2012) <http://lipidlibrary.aocs.org>

- Christie, W.W., Urwin, R.A.**, 1995. Separation of lipid classes from plant tissues by highperformance liquid chromatography on chemically bonded stationary phases. *Journal of High Resolution Chromatography* 18, 97-100.
- Ćirković, M.**, Trbović, D., Milošević, N., Đorđević, V., Janković, S., Ljubojević, D., 2010. Meat quality of two years-old tench and carp grown in extensive conditions, 2nd Workshop FEED-TO-FOOD FP-7 REGPOT-3, XIV International Feed Technology Symposium, Novi Sad, Serbia, October 19-22, Proceedings, 400-404.
- Ćirković, M.**, Trbović, D., Ljubojević, D., Đorđević, V., 2011. Meat quality of fish farmed in polyculture in carp ponds in Republic of Serbia. *Tehnologija mesa* 52, 106-121.
- Csengeri, I.**, 1996. Dietary effects on fatty acid metabolism of common carp. *Archiv für Tierernaehrung* 49, 73-82.
- Cui, Z., Wang, Y.**, 2007. Temporal changes in body mass, body composition and metabolism of gibel carp *Carassius auratus gibelio* during food deprivation. *Journal of Applied Ichthyology* 23, 215–220.
- Daneshfar, A.**, Khezeli, T., Lotfi, H. J., 2009. Determination of cholesterol in food samples using dispersive liquid–liquid microextraction followed by HPLC–UV. *Journal of Chromatography B* 877, 456-460.
- De Francesco, M.**, Parisi, G., Medale, F., Lupi, P., Kaushik, S. J., Poli, B. M., 2004. Effect of long-term feeding with a plant protein mixture based of large rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Aquaculture* 236, 413-429.
- De Francesco, M.**, Parisi, G., Pérez-Sanchez, J., Gomez-Réqueni, P., Médale, F., S.J. Kaushik, S.J., Mecatti, M., Poli, B.M., 2007. Effect of high-level fish meal replacement by plant proteins in gilthead sea bream (*Sparus aurata*) on growth and body/fillet quality traits. *Aquaculture Nutrition* 13, 361 – 372.
- De Silva, S.**, 2012. Carps. In: Lucas, S. J., Southgate, C. P. (Eds.), *Aquaculture: Farming Aquatic Animals and Plants*, 2nd Edition, Wiley-Blackwell Publishing, Chichester, England, 294-311.
- Degani, G.**, Viola, S., Yehuda, Y., 1997. The digestibility of nutrient sources for common carp, *Cyprinus carpio* Linnaeus. *Aquaculture Research* 28, 575-580.

- Dinh, T. T. N.**, Thompson, L. D., Galyean, M. L., Brooks, J. C., Boylan, M. L., 2012. Determination of Total Cholesterol in Meat and Poultry by Gas Chromatography: Single-Laboratory Validation. *Journal of AOAC International* 95, 472-488.
- Dionex**, Application Note 334. Rapid determination of Fat in Meat Using Accelerated Solvent Extraction (ASE), Dionex Corporation, Sunnyvale, CA, USA. <http://www.dionex.com>
- Dionex**, Technical Note 209. Accelerated Solvent Extraction (ASE). Sample Preparation Techniques for Food and Animal Feed Samples, Dionex Corporation, Sunnyvale, CA, USA. <http://www.dionex.com>
- Dodds, E. D.**, Mc Coy, R. M., Geldenhuys, A., Rea, D. L., Kennish, J. M., 2004. Microscale Recovery of Total Lipids from Fish Tissue by Accelerated Solvent Extraction. *Journal of the American Oil Chemists' Society* 81, 835-840.
- Dodds, E. D.**, Mc Coy, R. M., Rea, D. L., Kennish, J. M., 2005. Gas chromatographic quantification of fatty acid methyl esters: Flame ionization detection vs. Electron impact mass spectrometry. *Lipids* 40, 419-428.
- Domaizon, I.**, Desvillettes, C., Debroas, D., Bourdier, G., 2000. Influence of zooplankton and phytoplankton on the fatty acid composition of digesta and tissue lipids of silver carp: mesocosm experiment. *Journal of Fish Biology* 57, 417-432.
- Dumas, A.**, Lange de F. M. C., France, J., Bureau, P. D., 2007. Quantitative description of body composition and rates of nutrient deposition in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*), *Aquaculture* 273, 165-181.
- Dumas, A.**, France, J., Bureau, D., 2010. Modelling growth and body composition in fish nutrition: where have we been and where are we going? *Aquaculture Research* 41, 161-181.
- Fajmonova, E.**, Zelenka J., Komprda T., Kladroba D., Sarmanova I., 2003. Effect of sex, growth intensity and heat treatment on fatty acid composition of common carp (*Cyprinus carpio*) filets. *Czech Journal of Animal Science* 48, 85-92.
- FAO 2010**. The State of World Fisheries and Aquaculture 2010. FAO Fisheries and Aquaculture Department, FAO, Rome, Italy, 197.

- Farkas, T., Csengeri, I.**, 1976. Biosynthesis of fatty acids by the carp, *Cyprinus carpio* L., in relation to environmental temperature. *Lipids* 11, 401-407.
- Farkas, T., Csengeri, I., Majoros, F., Olah, J.**, 1977. Metabolism of fatty acids in fish. I. Development of essential fatty acid deficiency in the carp, (*Cyprinus carpio* Linnaeus 1758). *Aquaculture* 11, 147-157.
- Farkas, T., Csengeri, I., Majoros, F., Olah, J.**, 1978. Metabolism of fatty acids in fish. II. Biosynthesis of fatty acids in relation to diet of the carp, (*Cyprinus carpio* Linnaeus 1758). *Aquaculture* 14, 57-65.
- Farkas, T., Csengeri, I., Majoros, F., Olah, J.**, 1980. Metabolism of fatty acids in fish. III. Combined effect of environmental temperature and diet on formation and deposition of fatty acids in the carp, *Cyprinus carpio* Linnaeus 1758. *Aquaculture* 20, 29-40.
- Farkas, T., Kitajka, K., Fodor, E., Csengeri, I., Landes, E., Yeo, Y. K., Krasznai, Z., Halver, J. E.**, 2000. Docosahexaenoic acid-containing phospholipid molecular species in brains of vertebrates. *Proceedings of the National Academy of Science USA* 97, 6362 – 6366.
- Fauconneau, B., Alami - Durante, H., Laroche, M., Marcel, J., Vallot, D.**, 1995. Growth and meat quality relations in carp. *Aquaculture* 129, 265-297.
- Folch, J., Lees, M., Stanley, G.H.S.**, 1957. A simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissues. *Journal of Biological Chemistry* 226, 497-509.
- Fontagne, S., Burtair, L., Corraze, G., Bergot, P.**, 2000a. Effects of dietary medium-chain triacylglycerols (tricaprylin and tricaproin) and phospholipid supply on survival, growth, and lipid metabolism in common carp (*Cyprinus carpio* L.) larvae. *Aquaculture* 190, 289-303.
- Fontagne, S., Robin, J., Corraze, G., Bergot, P.**, 2000b. Growth and survival of European sea bass (*Dicentrarchus Labrax*) larvae fed from first feeding on compound diets containing medium - chain triacylglycerols. *Aquaculture* 190, 261-271.

- Fracalossi, D. M., Lowell, R. T.**, 1994. Dietary lipid sources influence responses of channel catfish (*Ictalurus punctatus*) to challenge with the pathogen *Edwardsiella ictaluri*. *Aquaculture* 119, 287-298.
- Froyland, L.**, Lie, O., Berge, R. K., 2000. Mitochondrial and peroxisomal beta-oxidation capacities in various tissues from Atlantic salmon (*Salmo salar*). *Aquaculture Nutrition* 6, 85-89.
- Gayon, J.**, 2000. History of the concept of allometry. *American Zoologist* 40, 748–758.
- Geri, G.**, Lupi, P., Parisi, G., Dell' Agnello, M., Martini, A., Ponzetta, M.P., 1995a. Morphological of muscle in the mirror carp (*Cyprinus carpio* var. *specularis*) as influenced by body weight. *Aquaculture* 129, 323-327.
- Geri, G.**, Poli, B. M., Gualtieri, M., Lupi, P., Parisi, G., 1995b. Body traits and chemical composition of muscle in the common carp (*Cyprinus carpio* L.) as influenced by age and rearing environment. *Aquaculture* 129, 329-333.
- Glencross, B. D.**, Hawkins, W.E., Curnow, J. G., 2003. Restoration of the fatty acid composition of red seabream (*Pagrus auratus*) using a fish oil finishing diet after grow - out on plant oil based diet. *Aquaculture Nutrition* 9, 409-418.
- Grigorakis, K.**, Alexis, M. N., Taylor, K. D. A., Hole, M., 2002. Comparison of wild and cultured gilthead sea bream (*Spaurus aurata*); composition, appearance and seasonal variation. *International Journal of Food Science and Technology* 37, 477- 484.
- Guipu, L.**, Sinclair, A.J., Duo, L., 2011. Comparison of Lipid Content and Fatty Acid Composition in the Edible Meat of Wild and Cultured Freshwater and Marine Fish and Shrimps from China. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 59, 1871–1881.
- Guler, G. O.**, Kiztanir, B., Aktumsek, A., Cital, O. B., Ozparlak, H., 2008. Determination of the seasonal changes on total fatty acid composition and $\omega 3/\omega 6$ ratios of carp (*Cyprinus carpio* L.) muscle lipids in Beysehir Lake (Turkey). *Food Chemistry* 108, 689-694.
- Guler, G. O.**, Aktumsek, A., Cakmak, Y. S., Zengin, G., Cital, O. B., 2011. Effect of Season on Fatty Acid Composition and n-3/n-6 Ratios of Zander and Carp Muscle Lipids in Altinapa Dam Lake. *Journal of Food Science* 76, C594-C597.

- Haard, N. F.**, 1992. Control of chemical composition and food quality attributes of cultured fish. *Food Research International* 25, 289-307.
- Hadjinikolova, L.**, 2004. The influence of nutritive lipid sources on the growth chemical and fatty acid composition of carp (*Cyprinus carpio* L.). *Archives of Polish Fisheries* 12, 111–119.
- Haliloglu, 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.
- Hara, A., Radin, N. S.**, 1978. Lipid extraction of tissues with a low-toxicity solvent. *Analytical Biochemistry* 90, 420-426.
- Hazel, J. R., Williams, E. E.**, 1990. The role of alterations in membrane lipid composition in enabling physiological adaptation of organisms to their physical environment. *Progress in Lipid Research* 29, 167- 227.
- Hemre, G-I., Mommsen, T. P., Krogdahl, A.**, 2002. Carbohydrates in fish nutrition: effects on growth, glucose metabolism and hepatic enzymes. *Aquaculture Nutrition* 8, 175-194.
- Henderson, R. J., Sargent, J. R.**, 1985. Chain-length specificities of mitochondrial and peroxisomal beta - oxidation of fatty acids in livers of rainbow trout (*Salmo gairdneri*). *Comparative Biochemistry and Physiology* 82, 79-85.
- Henderson, R.J., Tocher, D.R.**, 1987. The lipid composition and biochemistry of freshwater fish. *Progress in Lipid Research* 26, 281-347.
- Henderson, R. J.** 1996. Fatty acid metabolism in freshwater fish with particular reference to polyunsaturated fatty acids. *Archives of Animal Nutrition* 49, 5-22.
- Hernández, M. D., Egea, M. A., Rueda, F. M., Martínez, F. J., García García, B.**, 2003. Seasonal condition and body composition changes in sharpsnout seabream (*Diplodus puntazzo*) raised in captivity. *Aquaculture* 220, 569-580.
- Horváth, L., Tamás, G., Tölg, I.**, 1984. Special methods in pond fish husbandry. Akadémia Kiadó, Budapest, Halver Corporation, Seattle, 147.
- Huber, L.**, 2007. Validation and Qualification in Analytical Laboratories, Second Edition. Informa Healthcare, New York, USA, 312.

- Huet, M.**, 1986. Textbook of Fish Culture: Breeding and cultivation of fish. Fishing News Books, Farnham, Surrey, UK, 438.
- Huntington, T. C., Hasan, M. R.**, 2009. Fish as feed inputs for aquaculture – practices, sustainability and implications: a global synthesis. In: Hasan, M.R., Halwart, M. (Eds.), Fish as feed inputs for aquaculture: practices, sustainability and implications. FAO Fisheries and Aquaculture Technical Paper 518, FAO, Rome, Italy, 1-61.
- Huntington, T.**, 2009. Use of wild fish and other aquatic organisms as feed in aquaculture – a review of practices and implications in Europe. In: Hasan, M.R., Halwart, M. (Eds.), Fish as feed inputs for aquaculture: practices, sustainability and implications. FAO Fisheries and Aquaculture Technical Paper 518, FAO, Rome, Italy, 209–268.
- Huss, H. H.**, 1995. Quality and quality changes in fresh fish. FAO Fisheries Technical Paper 348, FAO, Rome, Italy, 195.
- IUPAC-IUB Commission on Biochemical Nomenclature** 1978. The nomenclature of lipids (Recommendations, 1976). Biochemical Journal 171, 21-35.
- Iwama, G. K., Tautz, A.F.**, 1981. A simple growth model for salmonids in hatcheries. Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences 38, 649-656.
- Izquierdo, M. S., Montero, D., Robaina, L., Caballero, M. J., Rosenlund, G., Gines, 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.
- Jensen, K. N., Jacobsen, C., Nielsen, H. H.**, 2007. Fatty acid composition of herring (*Clupea harengus* L.): influence of time and place of catch on n-3 PUFA content. Journal of the Science of Food and Agriculture 87, 710-718.
- Jobling, M.**, 2001. Nutrient partitioning and the influence of feed composition on body composition. In: Houlihan, D., Boujard, T., Jobling, M. (Eds.), Food Intake in Fish. Blackwell Science, Oxford, UK, 354-375.
- Jobling, M.**, 2004. Are modifications in tissue fatty acid profiles following a change in diet the result of dilution? Test of a simple dilution model. Aquaculture 232, 551-562.

- Jobling, M.**, Leknes, O., Seather, B. S., Bendiksen, E. 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.
- Karalazos, V.**, Treasurer, J., Cutts, C. J., Alderson, R., Galloway, T. F., Albrektsen, S., Arnason, J., MacDonald, N., Pike, I., Bell, G., 2007. Effects of fish meal replacement with full-fat soy meal on growth and tissue fatty acid composition in Atlantic cod (*Gadus morhua*). *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 55, 5788-5795.
- Kaushik, S. J.**, 1995. Nutrient requirements, supply and utilization in the context of carp culture. *Aquaculture* 129, 225-241.
- Kaushik, S. J.**, 1998. Nutritional bioenergetics and estimation of waste production in non-salmonids. *Aquatic Living Resources* 11, 211-217.
- Kelly, A. M., Kohler, C. C.**, 1999. Cold tolerance and fatty acid composition of striped bass, white bass, and their hybrids. *North American Journal of Aquaculture* 61, 278 – 285.
- Kiessling, A.**, Pickova, J., Johansson, L., Asgard, T., Storebakken, T., Kiessling, K. H., 2001. Changes in fatty acid composition in muscle and adipose tissue of farmed rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) in relation to ration and age. *Food Chemistry* 73, 271-284.
- Kiessling, K. H., Kiessling, A.**, 1993. Selective utilization of fatty acids in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss* Walbaum) red muscle mitochondria. *Canadian Journal of Zoology* 71, 248-251.
- King-Brink, M., Sebranek, J. G.**, 1993. Combustion method for determination of crude protein in meat and meat products: collaborative study. *Journal of AOAC International* 76, 787-793.
- Kiron, V.**, Fukuda, H., Takeuchi, T., Watanabe, T., 1995. Essential fatty acid nutrition and defence mechanisms in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Physiology* 111, 361-367.
- Kocour, M.**, Linhart, O., Gela, D., Rodina, M., 2005. Growth performance of all-female and mixed-sex common carp *Cyprinus carpio* L. Populations in the

- central Europe climatic conditions. Journal of the World Aquaculture Society 36, 103-113.
- Komprda, T., Zelenka, J., Fajmonová, E., Bakaj, P., Pechová, P., 2003.** Cholesterol content in Meat of Some Poultry and Fish Species As Influenced by Live Weight and Total Lipid Content. Journal of Agricultural and Food Chemistry 51, 7692-7697.
- Kopicova Z., Vavreinova S., 2007.** Occurrence of squalene and cholesterol in various species of Czech freshwater fish. Czech Journal of Food Sciences 25, 195–201.
- Lee, D.J., Putnam, G.B., 1973.** The response of rainbow trout to varying protein/energy ratios in a test diet. Journal of Nutrition 103, 916-922.
- Linares, F., Henderson, R. J., 1991.** Incorporation of ¹⁴C-labelled polyunsaturated fatty acids by juvenile turbot, *Scophthalmus maximus* (L.) in vivo. Journal of Fish Biology 38, 335-347.
- Lindsay, I. Smith, 2002.** A tutorial on Principal Components Analysis. University of Otago, New Zeland
http://www.cs.otago.ac.nz/cosc453/student_tutorials/principal_components.pdf
- Lowell, R., 1991.** Nutrition of aquaculture species. Journal of Animal Science 69, 4193-4200.
- Lupatsch, I., Kissil, G.Wm., Sklan, D., Pfeffer, E., 1998.** Energy and protein requirement for maintenance and growth in gilthead seabream (*Sparus aurata* L.). Aquaculture Nutrition 4, 165-173.
- Manual book - Digestion System 20, Tecator, Sweden; Manual book - Kjeltetec Auto 1030 Analyzer, Tecator, Sweden.**
- 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.
- Marković, Z., 2010.** Šaran: gajenje u ribnjacima i kaveznim sistemima. Prof. dr. Zoran Marković, Beograd, 155.
- Marković, Z., Poleksić, V., 2011.** Akvakultura i ribarstvo u Srbiji – Aquaculture and fishery in Serbia, Prof. dr. Zoran Marković, Beograd, 289.

- Marković, Z., Poleksić, V.**, 2013. Aquaculture in Serbia. *Aquaculture Europe* 38, 32-37.
- Medina, I.**, Aubourg, S. P., Martin, R. P., 1995. Composition of phospholipids of white muscle of six tuna species. *Lipids* 30, 1127-1135.
- Menoyo, D.**, López – Bote, C. J., Diez, A., Obach, A., Bautista, J. M., 2007. Impact of n-3 fatty acid chain length and n-3/n-6 ratio in Atlantic salmon (*Salmo salar*) diets. *Aquaculture* 267, 248-259.
- Miller, J. N., Miller, J. C.**, 2005. *Statistics and Chemometrics for Analytical Chemistry*. Pearson Education Limited (5th ed.), Edinburgh Gate Harlow, England, 268.
- Montero, D.**, Grasso, V., Izquierdo, M. S., Ganga, R., Real, F., Tort, L., Caballero, M. J., Acosta, F., 2008. Total substitution of fish oil by vegetable oils in gilthead sea bream (*Sparus aurata*) diets: Effect on hepatic Mx expression and some immune parameters. *Fish & Shellfish Immunology* 24, 147-155.
- Morris, P. C.**, 2001. The Effects of Nutrition on the Composition of Farmed Fish. In: Kestin, S.C., Warriss, P.D. (Eds.), *Farmed Fish Quality*. Fishing News Books, London, UK, 161-179.
- Morris, P. C.**, Gallimore, P., Handley, J., Hide, G., Haughton, P., Black, A., 2005. Full-fat soya for rainbow trout (*Onchorynchus mykiss*) in freshwater: Effects on performance, composition and flesh fatty acid profile in absence of hind-gut enteritis. *Aquaculture* 248, 147-161.
- Mozaffarian, D., Rimm, E.B.**, 2006. Fish intake, contaminants and human health: evaluating the risks and the benefits. *Journal of American Medical Association* 296, 1885-1899.
- Mráz, J., Pickova, J.**, 2009. Differences between lipid content and composition of different parts of fillets from crossbred farmed carp. *Fish Physiology and Biochemistry* 35, 615-623.
- Mráz, J.**, Máchová, J., Kozák, P., Pickova, J., 2012. Lipid content and composition in common carp – optimization of n-3 fatty acids in different pond production systems. *Journal of Applied Ichthyology* 28, 238-244.

- Navarrete, A.,** Paacock, A., Macnaughton, S.J., Urmeneta, J., Mas-Castella, J., White, D.C., Guerrero, R., 2000. Physiological status and community composition of microbial mats of the Ebro delta, Spain, by signature lipid biomarkers. *Microbial Ecology* 39, 92-99.
- Nikolova - Damyanova, B.,** 1997. Reversed-phase high-performance liquid chromatography: general principles and application to the analysis of fatty acids and triacylglycerols. In: Christie, W.W. (Ed.), *Advances in Lipid Methodology – Four*. Oily Press, Dundee, Scotland, 193-251.
- NRC** (National Research Council), 2011. Nutrient requirements of fish and shrimp. Committee on the nutrient requirement of fish and shrimp. National Academic Press, Washington DC, USA, 360.
- Ohvo-Rekila, H.,** Ramstedt, B., Leppimäki, P., Slotte, J. P., 2002. Cholesterol interactions with phospholipids in membranes. *Progress in Lipid Research* 41, 66-97.
- Orban, E.,** Nevigato, T., Di Lena, G., Casini, I., Marzetti, A., 2003. Differentiation in the lipid quality of wild and farmed seabass (*Dicentrarchus labrax*) and gilthead sea bream (*Sparus aurata*). *Journal of Food Science* 68, 128-132.
- 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, 705–713.
- Pratoomyot, J.,** Bendiksen, E.Å., Bell, J.G., Tocher, D.R., 2010. Effects of increasing replacement of dietary fishmeal with plant protein sources on growth performance and body lipid composition of Atlantic salmon (*Salmo salar* L.). *Aquaculture* 305, 124-132.
- Przybyl, A., Mazurkiewicz, J.,** 2004. Nutritive value of cereals in feeds for common carp (*Cyprinus carpio* L.). *Czech Journal of Animal Science* 49, 307-314.
- Ramseyer, L.,** 2002. Predicting Whole-Fish Nitrogen Content from Fish Wet Weight Using Regression Analysis. *North American Journal of Aquaculture* 64, 195-204.

- Rasmussen, R. S.**, 2001. Quality of farmed salmonids with emphasis on proximate composition, yield, and sensory characteristics. *Aquaculture Research* 32, 767-786.
- Rasoarahona, J. R. E.**, Barnathan, G., Bianchini, J. P., Gaydou, E. M., 2004. Annual Evolution of Fatty Acid Profile from Muscle Lipids of the Common Carp (*Cyprinus carpio*) in Madagascar Inland Waters. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 52, 7339-7344.
- Reinitz, G.**, 1983. Relative effect of age, diet, and feeding rate on the body composition of young rainbow trout (*Salmo gairdneri*). *Aquaculture* 35, 19-27.
- Richter, B. E.**, Jones, B. A., Ezzell, J. L., Porter, N. L., 1996. Accelerated Solvent Extraction: A Technique for Sample Preparation. *Analytical Chemistry* 68, 1033-1039.
- Robin, H. J.**, Regost, C., Arzel, J., Kaushik, S., 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.
- Robin, H. J., 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.
- Rosenlund, G.**, Obach, A., Sandberg, M. G., Standal, H., Tveit, K., 2001. Effect of alternative lipid sources on long-term growth performance and quality of Atlantic salmon (*Salmo salar* L.). *Aquaculture Research* 32, 323-328.
- Røsjø, C.**, Nordrum, S., Olli, J. J., Krogdahl, A., Ruyter, B., Holm, H., 2000. Lipid digestibility and metabolism in Atlantic salmon (*Salmo salar*) fed medium-chain triglycerides. *Aquaculture* 190, 65-76.
- Sall, J.**, Creighton, L., Lehman, A., 2007. JMP® Start Statistics: A Guide to Statistics and Data Analysis Using JMP®, Fourth Edition. SAS Institute Inc., Cary, NC, USA, 399-408.
- Salo-Väänänen, P.P., Koivistoinen, P.E.** 1996. Determination of protein in foods: comparison of net protein and crude protein ($N \times 6.25$) values. *Food Chemistry* 57, 27-31.

- Sargent, J. R.**, Henderson, R. J., Tocher, D. R., 1989. The lipids. In: Halver, J.E. (Ed.), Fish Nutrition, 2nd edition. Academic Press, New York, USA, 153-218.
- Schulte, Von E., Weber, K.**, 1989. Schnelle Herstellung der Fettsäuremethylester aus Fetten mit Trimethylsulfoniumhydroxid oder Natriummethylat, European Journal of Lipid Science and Technology 91, 181-183.
- Schwarz, F. J.**, 1995. Determination of mineral requirements of fish. Journal of Applied Ichthyology 11, 164-74.
- Sérot, T.**, Gandemer, G., Demaimay, M., 1998. Lipid and fatty acid compositions of muscle from farmed and wild adult turbot. Aquaculture International 6, 331-343.
- Shäfer, K.**, 1998. Accelerated solvent extraction of lipids for determining the fatty acid composition of biological material, Analitica Chimica Acta 358, 69-77.
- Shearer, K. D.**, 1994. Factors affecting the proximate composition of cultured fishes with emphasis on salmonids. Aquaculture 119, 63-88.
- Shimeno, S.**, Kheyyali, D., Shikata, T., 1995. Metabolic response to dietary lipid to protein ratios in common carp. Fisheries Science 61, 977-980.
- Skalli, A., Robin, H. J.**, 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.
- Skonberg, D. I.**, Rasco, B. A., Dong, F. M., 1994. Fatty acid composition of salmonid muscle changes in response to high oleic acid diet. Journal of Nutrition 124, 1628-1638.
- Spirić, A.**, Trbović, D., Vranić, D., Djinović, J., Petronijević, R., Matekalo-Sverak, V., 2010. Statistical evaluation of fatty acid profile and cholesterol content in fish (common carp) lipids obtained by different sample preparation procedures. Analytica Chimica Acta 672, 66-71.
- SRPS EN ISO 5509:2007. Ulja i masti biljnog i životinjskog porekla – priprema metilestara masnih kiselina
- SRPS ISO 1443:1992. Meso i proizvodi od mesa. Određivanje sadržaja ukupne masti
- SRPS ISO 1442:1998. Meso i proizvodi od mesa. Određivanje sadržaja vlage
- SRPS ISO 5984:2002. Hrana za životinje. Određivanje sirovog pepela
- SRPS ISO 6492:2001. Hrana za životinje. Određivanje sadržaja masti

- SRPS ISO 6496:2001. Hrana za životinje. Određivanje sadržaja vlage i drugih isparljivih materija
- SRPS ISO 6865:2004. Hrana za životinje. Određivanje sadržaja sirove celuloze. Metoda sa međufiltracijom
- SRPS ISO 936:1999. Meso i proizvodi od mesa. Određivanje ukupnog pepela
- Steffens, W.**, 1996. Protein sparing effect and nutritive significance of lipid supplementation in carp diets. *Archiv für Tierernaehrung* 49, 93-98.
- Steffens, W.**, 1997. Effects of variation in essential fatty acids in fish feeds on nutritive value of freshwater fish for humans. *Aquaculture* 151, 97-119.
- Steffens, W., Wirth, M.**, 2007. Influence of nutrition on the lipid quality of pond fish: common carp (*Cyprinus carpio*) and tench (*Tinca tinca*). *Aquaculture International* 15, 313-319.
- Steffens, W., Wirth, M., Rennert, B.**, 1995. Effect of adding various oils to the diet on growth, feed conversion and chemical composition of carp (*Cyprinus carpio*). *Archiv für Tierernaehrung* 47, 381-389.
- Sushchik, N. N., Gladyshev, M. I., Moskvichova, A. V., Makhutova, O. N., Kalachova, G. S.**, 2003. Comparison of fatty acid composition in major lipid classes of the dominant benthic invertebrates of the Yenisei river. *Comparative Biochemistry and Physiology Part B: Comparative Biochemistry* 134, 111-122.
- Tacon, A. G. J., Metian, M., Hasan, M. R.**, 2009. Feed ingredients and fertilizers for farmed aquatic animals: sources and composition. *FAO Fisheries and Aquaculture Technical Paper* 540, FAO, Rome, Italy, 209.
- Takeuchi, T., Watanabe, T.**, 1977. Requirement of carp for essential fatty acids. *Bulletin of Japanese Society of Scientific Fisheries* 43, 541-551.
- Takeuchi, T., Watanabe, T., Satoh, S., Ida, T., Yaguchi, M.**, 1987. Changes in proximate and fatty acid compositions of carp fed low protein-high energy diets due to starvation during winter. *Nippon Suisan Gakkaishi* 53, 1425-1429.
- Takeuchi, T., Jeong, K.-S., Watanabe, T.**, 1990. Availability of extruded carbohydrate ingredients to rainbow trout *Onchorynchus mykiss* and carp *Cyprinus carpio*. *Nippon Suisan Gakkaishi* 56, 1839-1845.

- Takeuchi, T.**, 1996. Essential fatty acid requirements in carp. *Archiv für Tierernaehrung* 49, 23-32.
- Takeuchi, T.**, Satoh, S., Kiron, V., 2002. Common carp, *Cyprinus carpio*. In: Webster, C.D., Lim, C.E. (Eds.), *Nutrient Requirement and Feeding of Finfish for Aquaculture, Part II Freshwater Fish*. CABI Publishers, New York, USA, 245-261.
- Tidwell, J. H., Robinette, R. H.**, 1990. Changes in Proximate and Fatty Acid Composition of Fillets from Channel Catfish during a Two-Year Growth Period. *Transactions of the American Fisheries Society* 119, 31-40.
- Tocher, D. R., Sargent, J. R.**, 1990. Effect of temperature on the incorporation into phospholipid classes and metabolism via desaturation and elongation of n-3 and n-6 polyunsaturated fatty acids in fish cells in culture. *Lipids* 25, 435-442.
- Tocher, D. R.**, Leaver, M. J., Hodson, P. A., 1998. Recent advances in the biochemistry and molecular biology of fatty acyl desaturases. *Progress in Lipid Research* 37, 73-117.
- Tocher, D. R.**, 2003. Metabolism and functions of lipids and fatty acids in teleost fish. Review in *Fisheries Science* 11, 107-184.
- Trenovszki, M. M.**, Lebovics, V. K., Müller, T., Szabo, T., Hegyi, Á., Urbányi, B., Horváth, L., Lugasi, A., 2011. Survey of fatty acid profile and lipid peroxidation characteristics in common carp (*Cyprinus carpio* L.) meat taken from five Hungarian fish farms. *Acta Alimentaria* 40, 153-164.
- Turchini, G. M.**, Torstensen, B. E., Ng, W-K., 2009. Fish oil replacement in finfish nutrition. *Reviews in Aquaculture* 1, 10-57.
- Ulberth, F., Reich, H.**, 1992. Gas chromatographic determination of cholesterol in processed foods. *Food Chemistry* 43, 387.
- Vacha, F., Tvrzicka, E.**, 1995. Content of polyunsaturated fatty acids and cholesterol in muscle tissue of tench (*Tinca tinca*), common carp (*Cyprinus carpio*) and hybrid of bighead carp (*Aristichthys nobilis*) with silver carp (*Hypophthalmichthys molitrix*). *Polish Archives of Hydrobiology* 42, 151-157.

- Vacha, F.**, Vejsada, P., Huda J., Hartvich, P., 2007. Influence of supplemental cereal feeding on the content and structure of fatty acids during long - lasting storage of common carp (*Cyprinus carpio* L.). *Aquaculture International* 15, 321–329.
- Vandeputte, M.**, Kocour, M., Mauger, S., Rodina, M., Launay, A., Gela, D., Dupont – Nivet, M., Hulak, M., Linhard, O., 2008. Genetic variation for growth at one and two summers of age in the common carp (*Cyprinus carpio* L.): Heritability estimates and response to selection. *Aquaculture* 277, 7-13.
- Váradi, L.**, Lane, A., Harache, Y., Gyalog, G., Békefi, E., Lengyel, P., 2011. Regional Review on Status and Trends in Aquaculture Development in Europe – 2010, FAO Fisheries and Aquaculture Circular 1061/1, FAO, Rome, Italy, 257.
- Viola, S., Arieli, Y.**, 1983. Evaluation of different grains as basic ingredients in complete feeds for carp and tilapia in intensive culture. *Bamidgeh* 35, 38–42.
- Viola, S.**, Mokady, S., Behar, O., Cogan, U., 1988. Effects of polyunsaturated fatty acids in feeds of tilapia and carp. 1. Body composition and fatty acids profiles at different environmental temperatures. *Aquaculture* 75, 27-137.
- Viola, S.**, Lahav, E., Arieli, Y., 1992. Response of Israeli carp, *Cyprinus carpio* L., to lysine supplementation of a practical ration at varying conditions of fish size, temperature, density and ration size. *Aquaculture and Fisheries Management* 23, 49-58.
- Watanabe, T.**, Takashima, F., Utsue, O., Kobayashi, I., Ogino, C., 1975. Effect of dietary methyl linoleate and linolenate on growth of carp. *Bulletin of Japanese Society of Scientific Fisheries* 41, 257-262.
- Watanabe, T.**, 2002. Strategies for further development of aquatic feeds. *Fisheries Science* 68, 242–252.
- Wilson, R. P.**, 1994. Utilization of carbohydrate by fish. *Aquaculture* 124, 67-80.
- Wilson, R. P.**, 2002. Amino Acids and Proteins. In: Halver, J.E., Hardy, R.W. (Eds.), *Fish Nutrition*, 3rd ed., Academic Press, San Diego, California, USA, 144-175.
- Wood, J. D.**, Enser, M., Fisher, A.V., Nute, G. R., Sheard, P. R., Richardson, R. I., Hughes, S. I., Whittington, F. M., 2008. Fat deposition, fatty acid composition and meat quality: A review. *Meat Science* 78, 343-358.

- Woynarovich, A.**, Moth-Poulsen, T., Péteri, A., 2010. Carp polyculture in Central and Eastern Europe, the Caucasus and Central Asia: a manual. FAO Fisheries and Aquaculture Technical Paper 554, FAO, Rome, Italy, 73.
- Yamamoto, T.**, Shima, T., Furuita, H., Sugita, T., Suzuki, N., 2007. Effects of feeding time, water temperature, feeding frequency and dietary composition on apparent nutrient digestibility in rainbow trout *Oncorhynchus mykiss* and common carp *Cyprinus carpio*. Fisheries Science 73, 161–170.
- Yeagle, P. L.**, 1985. Cholesterol and the cell membrane. Biochimica et Biophysica Acta 822, 267-287.
- Zar, H. J.**, 2010. Biostatistical analysis, 5-th edition. Pearson Prentice-Hall, Upper Saddle River, New Jersey, USA, 944.
- Zeitler, M. H.**, Kirchgessner, M., Schwan, F. J., 1984. Effects of different proteins and energy supplies on carcass composition of carp (*Cyprinus carpio* L.). Aquaculture 36, 37-48.
- Zhou, Z.**, Xie, S., Lei, W., Zhu, X., Yang, Y., 2005. A bioenergetic model to estimate feed requirement of gibel carp, *Carassius auratus gibelio*. Aquaculture 248, 287-297.
- Živić, I.**, Trbović, D., Živić, M., Bjelanović, K., Stanković, M., Vukojević, D., Marković, Z., 2011. *Chironomus Plumosus* (Diptera, Insecta) larvae as a source of essential fatty acids in feed of carp fry. V International Conference "Aquaculture & Fishery", Institute of Animal Science, Faculty of Agriculture, Belgrade-Zemun, Serbia, June 1-3, Conference Proceedings, 497-503.
- Živković, D.**, Perić, V., Barać, M., Perunović, M., 2002. Cholesterol content in meat of some *Cyprinidae*. Journal of Agricultural Sciences 47, 179-187.

Tabela 1. Dužine (cm), mase šarana (g), sadržaj proteina, vlage, lipida i pepela u mesu šarana prihranjivanih ekstrudiranom hranom

SEPTEMBAR	Br.uzoraka	1	2	3	4	5	6	7	8	$\bar{x}$	sd	CV %
	dužina ribe, cm	33	35	35,5	36	37	35	41	40	36,6	2,7	7,36
	masa ribe, g	1175	1705	1445	1580	1425	1235	1520	1430	1439	173	12
	proteini, %	18,06	18,08	18,65	18,71	18,27	18,45	17,98	18,05	18,28	0,29	1,58
	vlaga, %	77,02	78,15	77,10	75,26	77,71	78,83	76,68	78,97	77,47	1,22	1,58
	lipidi, %	4,15	3,05	3,15	4,80	2,86	1,89	3,75	2,01	3,21	1	31,26
	pepeo, %	1,10	0,95	1,05	1,06	1,04	1,12	1,09	0,97	1,05	0,06	5,77
OKTOBAR	dužina ribe, cm	43	33	37	37	36	37	32	34	36,1	3,4	9,41
	masa ribe, g	2535	1635	1745	2020	2230	1945	2165	1600	1984	322	16,23
	proteini, %	18,36*	17,18	17,23	17,54	17,21	17,47	16,68	17,52	17,26	0,3	1,73
	vlaga, %	70,92*	76,64	75,34	75,37	77,28	74,52	75,65	75,25	75,72	0,93	1,23
	lipidi, %	7,28*	3,75	5,23	4,90	4,15	5,80	4,95	4,23	4,72	0,71	15,04
	pepeo, %	1,72*	1,21	1,09	1,14	1,08	1,06	1,08	1,17	1,12	0,06	4,99
DECEMBAR	dužina ribe, cm	46	38	43	40	36	41	41	-	40,7	3,3	7,99
	masa ribe, g	2940	1920	2490	2435	1900	2225	2095	-	2286	368	16,12
	proteini, %	16,56	16,75	17,44	16,87	17,41	17,58	17,16	-	17,11	0,39	2,28
	vlaga, %	75,56	79,68	79,65	79,28	77,22	77,35	79,55	-	78,33	1,62	2,07
	lipidi, %	6,38	2,63	1,30	2,61	4,02	3,70	1,89	-	3,22	1,68	52,35
	pepeo, %	1,03	1,02	1,01	1,05	1,03	1,06	1,10	-	1,04	0,03	2,91
APRIL	dužina ribe, cm	34*	38,5	38	37	39	39	38,5	37	38,1	0,9	2,23
	masa ribe, g	2530	2475	2515	2230	2475	3075*	2520	2560	2472	111	4,49
	proteini, %	16,78	15,86	17,17	16,14	16,07	16,03	15,14	16,11	16,16	0,61	3,74
	vlaga, %	75,27	71,77	76,11	74,08	75,27	73,59	73,90	75,58	74,45	1,4	1,88
	lipidi, %	5,81	10,6	4,81	7,61	6,28	9,91	9,71	5,60	7,54	2,25	29,86
	pepeo, %	1,08	1,13	1,05	0,99	1,04	0,97	0,84	1,00	1,01	0,09	8,57

*ekstremne vrednosti (outlieri), $G_{\text{test}} > G_{\text{krit}}$ ($P = 0,05$); $\bar{x}$ – srednja vrednost; sd – standardna devijacija; CV – koeficijent varijacije

Tabela 2. Šarani prihranjivani ekstrudiranom hranom: mase šarana (g), logaritam mase (g), relativan sadržaj (%), apsolutni sadržaj (g/masa ribe) i logaritam apsolutnog sadržaja (g/masa ribe) proteina, vlage, lipida i pepela. Rezultati su korišćeni za alometrijske i izometrijske analize, kao i za višestruku linearnu regresiju

Br. uzorka	masa	log masa	proteini, %	aps. proteini	log proteini	vlaga, %	aps. vlaga	log vlaga	lipidi, %	aps. lipidi	log lipidi	pepeo, %	aps. pepeo	log pepeo
1-Sep	1175	3,070	18,06	212,21	2,327	77,02	904,99	2,957	4,15	48,76	1,688	1,10	12,93	1,111
2-Sep	1705	3,232	18,08	308,26	2,489	78,15	1332,46	3,125	3,05	52,00	1,716	0,95	16,20	1,209
3-Sep	1445	3,160	18,65	269,49	2,431	77,10	1114,10	3,047	3,15	45,52	1,658	1,05	15,17	1,181
4-Sep	1580	3,199	18,71	295,62	2,471	75,26	1189,11	3,075	4,80	75,84	1,880	1,06	16,75	1,224
5-Sep	1425	3,154	18,27	260,35	2,416	77,71	1107,37	3,044	2,86	40,76	1,610	1,04	14,82	1,171
6-Sep	1235	3,092	18,45	227,86	2,358	78,83	973,55	2,988	1,89	23,34	1,368	1,12	13,83	1,141
7-Sep	1520	3,182	17,98	273,30	2,437	76,68	1165,54	3,067	3,75	57,00	1,756	1,09	16,57	1,219
8-Sep	1430	3,155	18,05	258,12	2,412	78,97	1129,27	3,053	2,01	28,74	1,459	0,97	13,87	1,142
2-Okt	1635	3,214	17,18	280,89	2,449	76,64	1253,06	3,098	3,75	61,31	1,788	1,21	19,78	1,296
3-Okt	1745	3,242	17,23	300,66	2,478	75,34	1314,68	3,119	5,23	91,26	1,960	1,09	19,02	1,279
4-Okt	2020	3,305	17,54	354,31	2,549	75,37	1522,47	3,183	4,90	98,98	1,996	1,14	23,03	1,362
5-Okt	2230	3,348	17,21	383,78	2,584	77,28	1723,34	3,236	4,15	92,55	1,966	1,08	24,08	1,382
6-Okt	1945	3,289	17,47	339,79	2,531	74,52	1449,41	3,161	5,80	112,81	2,052	1,06	20,62	1,314
7-Okt	2165	3,335	16,68	361,12	2,558	75,65	1637,82	3,214	4,95	107,17	2,030	1,08	23,38	1,369

Tabela 2. Nastavak

Br. uzorka	masa	log masa	proteini, %	aps. proteini	log proteini	vlaga, %	aps. vlaga	log vlaga	lipidi, %	aps. lipidi	log lipidi	pepeo, %	aps. pepeo	log pepeo
8-Okt	1600	3,204	17,52	280,32	2,448	75,25	1204,00	3,081	4,23	67,68	1,830	1,17	18,72	1,272
1-Dec	2940	3,468	16,56	486,86	2,687	75,56	2221,46	3,347	6,38	187,57	2,273	1,03	30,28	1,481
2-Dec	1920	3,283	16,75	321,60	2,507	79,68	1529,86	3,185	2,63	50,50	1,703	1,02	19,58	1,292
3-Dec	2490	3,396	17,44	434,26	2,638	79,65	1983,29	3,297	1,30	32,37	1,510	1,01	25,15	1,401
4-Dec	2435	3,386	16,87	410,78	2,614	79,28	1930,47	3,286	2,61	63,55	1,803	1,05	25,57	1,408
5-Dec	1900	3,279	17,41	330,79	2,520	77,22	1467,18	3,166	4,02	76,38	1,883	1,03	19,57	1,292
6-Dec	2225	3,347	17,58	391,16	2,592	77,35	1721,04	3,236	3,70	82,33	1,916	1,06	23,59	1,373
7-Dec	2095	3,321	17,16	359,50	2,556	79,55	1666,57	3,222	1,89	39,60	1,598	1,10	23,05	1,363
1-Apr	2530	3,403	16,78	424,53	2,628	75,27	1904,33	3,280	5,81	146,99	2,167	1,08	27,32	1,437
2-Apr	2475	3,394	15,86	392,54	2,594	71,77	1776,31	3,250	10,60	262,35	2,419	1,13	27,97	1,447
3-Apr	2515	3,401	17,17	431,83	2,635	76,11	1914,17	3,282	4,81	120,97	2,083	1,05	26,41	1,422
4-Apr	2230	3,348	16,14	359,92	2,556	74,08	1651,98	3,218	7,61	169,70	2,230	0,99	22,08	1,344
5-Apr	2475	3,394	16,07	397,73	2,600	75,27	1862,93	3,270	6,28	155,43	2,192	1,04	25,74	1,411
6-Apr	3075	3,488	16,03	492,92	2,693	73,59	2262,89	3,355	9,91	304,73	2,484	0,97	29,83	1,475
7-Apr	2520	3,401	15,14	381,53	2,582	73,90	1862,28	3,270	9,71	244,69	2,389	0,84	21,17	1,326
8-Apr	2560	3,408	16,11	412,42	2,615	75,58	1934,85	3,287	5,60	143,36	2,156	1,00	25,60	1,408

Tabela 3. Sastav masnih kiselina (% od ukupnih masnih kiselina) u uzorcima mesa šarana prihranjivanih ekstrudiranom hranom

Br. uzorka	14:0	15:0	16:0	16:1	17:0	18:0	18:1n-9	18:1n-7	18:2n-6	18:3n-6	18:3n-3	20:1	20:2
1-Sep	0,87	0,21	17,59	4,47	0,35	4,37	33,95	2,35	26,99	0,29	2,28	1,29	0,65
2-Sep	0,84	0,19	18,16	3,44	0,38	5,47	32,74	2,37	27,30	0,21	1,81	1,65	0,80
3-Sep	0,72	0,17	17,21	3,70	0,34	5,56	38,44	2,33	21,82	0,21	1,96	2,02	0,96
4-Sep	0,87	0,25	19,12	4,43	0,46	5,07	32,98	2,47	24,78	0,26	2,35	1,72	0,67
5-Sep	0,82	0,25	18,05	3,69	0,43	5,41	32,27	2,49	25,51	0,23	2,59	1,91	0,93
6-Sep	0,83	0,22	19,53	4,09	0,42	5,03	30,91	2,53	23,85	0,30	1,71	1,59	0,84
7-Sep*	0,91	0,22	18,98	5,13	0,36	5,58	38,82	2,53	20,12	0	2,03	1,76	0,61
8-Sep*	1,23	0,51	19,59	4,93	0,88	5,45	27,06	3,62	25,42	0	3,60	1,19	0,83
$\bar{x}$	0,83	0,22	18,28	3,97	0,40	5,15	33,55	2,42	25,04	0,25	2,12	1,70	0,81
sd	0,06	0,03	0,89	0,43	0,05	0,44	2,59	0,08	2,05	0,04	0,34	0,26	0,13
CV %	6,72	14,93	4,87	10,74	12,0	8,54	7,73	3,45	8,18	15,80	16,22	15,13	15,95
1-Okt	0,82	0,13	17,99	4,91	0,22	4,70	35,59	2,19	25,04	0,36	1,86	1,65	0,55
2-Okt	0,93	0,24	17,35	3,77	0,46	4,89	30,50	2,72	28,59	0,28	2,59	1,66	0,86
3-Okt	0,94	0,17	18,34	6,07	0,26	4,04	34,23	2,59	24,32	0,30	2,23	1,68	0,60
4-Okt	0,79	0,21	17,66	4,75	0,40	4,26	31,34	2,69	26,49	0,41	2,37	1,82	0,74
5-Okt	0,82	0,15	17,60	4,71	0,30	4,34	32,92	2,41	27,67	0,30	1,87	1,46	0,70
6-Okt	0,86	0,19	16,32	5,03	0,34	4,42	37,24	2,64	23,84	0,34	2,43	2,05	0,69
7-Okt	0,75	0,17	18,72	6,33	0,34	4,47	32,54	2,71	24,87	0,42	2,09	2,16	0,63
8-Okt	0,83	0,22	18,46	4,54	0,42	4,76	30,35	2,59	27,87	0,32	2,38	1,60	0,70
$\bar{x}$	0,84	0,19	17,81	5,01	0,34	4,49	33,09	2,57	26,09	0,34	2,23	1,76	0,68
sd	0,07	0,04	0,76	0,83	0,08	0,28	2,46	0,18	1,81	0,05	0,27	0,24	0,09
CV %	7,76	20,02	4,28	16,50	23,86	6,31	7,44	7,09	6,93	15,22	11,97	13,44	13,83

Tabela 3. Nastavak

Br. uzorka	14:0	15:0	16:0	16:1	17:0	18:0	18:1n-9	18:1n-7	18:2n-6	18:3n-6	18:3n-3	20:1	20:2
1-Dec	0,82	0,14	17,09	6,08	0,22	4,19	37,02	2,54	23,42	0,56	1,74	2,45	0,50
2-Dec	0,80	0,22	19,26	5,38	0,33	4,80	33,97	2,80	23,66	0,28	1,68	2,35	0,63
3-Dec	0,72	0,19	19,47	4,39	0,29	5,77	35,08	2,62	21,71	0,24	1,24	2,30	0,77
4-Dec	0,71	0,17	18,71	4,28	0,32	5,62	35,00	2,57	22,65	0,25	1,31	2,23	0,76
5-Dec	0,75	0,18	18,53	5,06	0,26	4,31	34,46	2,57	23,36	0,28	1,85	2,73	0,74
6-Dec	0,79	0,27	17,70	5,13	0,43	4,97	33,83	3,22	22,97	0,22	2,25	3,17	0,82
7-Dec*	0,86	0,41	21,39	5,40	0,73	6,57	29,18	4,18	20,24	0,14	1,96	2,67	0,95
$\bar{x}$	0,77	0,20	18,46	5,05	0,31	4,94	34,89	2,72	22,96	0,31	1,68	2,54	0,70
sd	0,05	0,05	0,91	0,66	0,07	0,65	1,16	0,26	0,71	0,13	0,37	0,36	0,12
CV %	5,89	23,11	4,95	13,14	23,33	13,21	3,33	9,64	3,09	41,67	22,10	13,99	16,74
1-Apr	0,63	0,06	15,79	4,28	0,09	4,87	44,86	0	21,93	0,62	1,45	1,89	0,39
2-Apr	0,70	0,06	16,49	4,74	0,10	4,66	43,78	0,32	22,56	0,36	1,57	1,67	0,44
3-Apr	0,73	0,06	16,25	3,93	0,10	5,43	43,32	0,26	21,97	0,36	1,43	1,75	0,56
4-Apr	0,74	0,07	16,64	4,19	0,11	5,23	42,70	0,33	22,90	0,29	1,46	1,78	0,76
5-Apr	0,64	0,05	16,51	4,53	0,08	4,72	42,72	0,28	23,03	0,28	1,52	2,04	0,59
6-Apr	0,65	0,06	15,74	4,78	0,09	4,68	43,02	0,39	22,54	0,34	1,50	1,94	0,72
7-Apr	0,61	0,05	14,39	4,03	0,08	4,70	47,86	0,34	19,48	0,29	1,28	2,47	0,75
8-Apr	0,72	0,06	16,66	4,32	0,09	4,98	42,81	0,32	22,53	0,28	1,45	1,91	0,72
$\bar{x}$	0,68	0,06	16,06	4,35	0,09	4,91	43,88	0,28	22,12	0,35	1,46	1,93	0,62
sd	0,05	0,01	0,76	0,31	0,01	0,29	1,76	0,12	1,13	0,11	0,09	0,25	0,14
CV %	7,47	10,91	4,76	7,16	11,19	5,84	4,02	42,73	5,13	32,19	5,84	12,81	23,45

Tabela 3. Nastavak

Br. uzorka	20:3n-6	20:3n-3	22:1+20:4	20:5n-3	22:5n-3	22:6n-3	ZMK	MNMK	PNMK	n-6	n-3	n-3/n-6
1-Sep	0	0,43	0,98	0,42	0,23	0,71	23,39	42,06	32,00	27,93	4,07	0,15
2-Sep	0,94	0,94	1,29	0,32	0,20	0,95	25,04	40,20	33,47	29,25	4,22	0,14
3-Sep	1,21	0,57	1,21	0,40	0,25	0,91	24,00	46,49	28,29	24,20	4,09	0,17
4-Sep	0,82	0,62	1,32	0,65	0,26	0,92	25,77	41,60	31,33	26,53	4,80	0,18
5-Sep	1,07	0,64	1,35	0,67	0,35	1,35	24,96	40,36	33,34	27,74	5,60	0,20
6-Sep	1,14	1,01	1,35	0,67	0,45	0,79	26,03	39,12	30,76	26,13	4,63	0,18
7-Sep*	0,80	0,42	0,73	0,35	0,20	0,44	26,05	48,24	24,97	21,53	3,44	0,16
8-Sep*	0,72	0,65	1,34	0,63	0,50	0,78	27,66	37,49	33,13	26,97	6,16	0,23
$\bar{x}$	0,86	0,70	1,25	0,52	0,29	0,94	24,87	41,64	31,53	26,96	4,57	0,17
sd	0,45	0,23	0,14	0,16	0,09	0,22	1,01	2,60	1,92	1,75	0,59	0,02
CV %	51,61	32,09	11,37	30,46	32,13	23,59	4,08	6,24	6,08	6,48	12,84	12,89
1-Okt	0,90	0,40	1,05	0,42	0,24	0,98	23,86	44,34	30,75	26,85	3,90	0,15
2-Okt	0,94	0,65	1,52	0,50	0,34	1,20	23,87	38,65	35,95	30,67	5,28	0,17
3-Okt	0,76	0,47	1,08	0,57	0,30	1,03	23,75	44,57	30,58	25,98	4,60	0,18
4-Okt	1,07	0,59	1,82	0,75	0,41	1,42	23,32	40,60	34,25	28,71	5,54	0,19
5-Okt	0,93	0,53	1,47	0,54	0,25	1,03	23,21	41,50	33,82	29,60	4,22	0,14
6-Okt	0,77	0,41	1,02	0,58	0,19	0,62	22,13	46,96	29,87	25,64	4,23	0,16
7-Okt	0,85	0,34	1,30	0,45	0,20	0,65	24,45	43,74	30,5	26,77	3,73	0,14
8-Okt	0,80	0,41	1,51	0,80	0,32	1,12	24,69	39,08	34,72	29,69	5,03	0,17
$\bar{x}$	0,88	0,48	1,35	0,58	0,28	1,01	23,66	42,43	32,56	27,99	4,57	0,16
sd	0,10	0,11	0,28	0,14	0,08	0,27	0,80	2,93	2,37	1,91	0,66	0,02
CV %	11,90	22,39	21,08	23,45	26,70	26,55	3,36	6,91	7,28	6,82	14,46	11,28

Tabela 3. Nastavak

Br. uzorka	20:3n-6	20:3n-3	22:1+20:4	20:5n-3	22:5n-3	22:6n-3	ZMK	MNMK	PNMK	n-6	n-3	n-3/n-6
1-Dec	1,04	0,27	0,86	0,37	0,16	0,52	22,46	48,09	28,58	25,52	3,06	0,12
2-Dec	1,12	0,36	1,04	0,38	0,18	0,74	25,41	44,50	29,03	25,69	3,34	0,13
3-Dec	1,16	0,44	1,77	0,86	0,19	0,78	26,44	44,39	27,39	23,88	3,51	0,15
4-Dec	1,10	0,43	1,90	0,82	0,24	0,92	25,53	44,08	28,48	24,76	3,72	0,15
5-Dec	1,12	0,35	1,43	0,84	0,26	0,91	24,03	44,82	29,71	25,50	4,21	0,17
6-Dec	0,96	0,41	1,36	0,49	0,29	0,71	24,16	45,35	29,12	24,97	4,15	0,17
7-Dec*	0,88	0,56	1,82	1,16	0,20	0,70	29,96	41,43	26,79	22,21	4,58	0,21
$\bar{x}$	1,08	0,38	1,39	0,63	0,22	0,76	24,67	45,21	28,72	25,05	3,67	0,15
sd	0,07	0,06	0,40	0,24	0,05	0,15	1,41	1,48	0,79	0,68	0,45	0,02
CV %	6,65	16,93	28,89	37,95	23,18	19,34	5,72	3,27	2,73	2,70	12,39	13,76
1-Apr	0,88	0,19	1,33	0,11	0,10	0,53	21,44	51,03	26,20	23,82	2,38	0,10
2-Apr	0,80	0,16	0,96	0,12	0,10	0,40	22,01	50,51	26,51	24,16	2,35	0,10
3-Apr	1,15	0,23	1,52	0,14	0,16	0,65	22,57	49,26	26,65	24,04	2,61	0,11
4-Apr	1,03	0,20	0,96	0,11	0,07	0,44	22,79	49,00	27,26	24,98	2,28	0,09
5-Apr	1,00	0,21	1,08	0,09	0,08	0,52	22,00	49,57	27,32	24,90	2,42	0,10
6-Apr	1,29	0,18	1,20	0,12	0,11	0,65	21,22	50,13	27,45	24,89	2,56	0,10
7-Apr	1,49	0,17	1,27	0,09	0,10	0,56	19,83	54,70	24,21	22,01	2,20	0,10
8-Apr	1,03	0,27	1,07	0,10	0,09	0,60	22,51	49,36	27,07	24,56	2,51	0,10
$\bar{x}$	1,08	0,20	1,17	0,11	0,10	0,54	21,80	50,45	26,58	24,17	2,41	0,10
sd	0,22	0,04	0,19	0,02	0,03	0,09	0,96	1,85	1,05	0,98	0,14	0,01
CV %	20,54	17,71	16,58	15,37	26,63	16,77	4,42	3,67	3,97	4,04	5,82	5,35

*ekstremne multivarijantne vrednosti (outlieri) - identifikovane kao tačke koje su bile najviše udaljene od višestruke srednje vrednosti (Mahalanobisova udaljenost i T^2);

$\bar{x}$ – srednja vrednost; sd – standardna devijacija; CV – koeficijent varijacije

Tabela 4. Sadržaj holesterola u mesu šarana prihranjivanih ekstrudiranom hranom

Period	Br.uzorka	1	2	3	4	5	6	7	8	$\bar{x}$	sd	CV %
SEPTEMBAR	Holesterol (mg/100g)	50,90	54,30	46,46	53,68	53,20	53,12	48,39	55,10	51,89	3,05	5,88
	Lipidi (g/100 g)	4,15	3,05	3,15	4,80	2,86	1,89	3,75	2,01	3,21	1,00	31,26
	Holesterol (g/100 g)	1,227	1,780	1,475	1,118	1,860	2,811	1,290	2,741	1,79	0,66	37,04
OKTOBAR	Holesterol (mg/100g)	39,25*	44,42	58,2	47,25	47,68	41,2	51,05	59,32	49,87	6,79	13,61
	Lipidi (g/100 g)	7,28*	3,75	5,23	4,90	4,15	5,80	4,95	4,23	4,72	0,71	15,04
	Holesterol (g/100 g lipida)	0,539	1,185	1,113	0,964	1,149	0,710	1,031	1,402	1,01	0,213	21,09
DECEMBAR	Holesterol (mg/100g)	43,24	59,25	64,22*	34,24	48,80	54,48	56,85	-	51,58	10,27	19,91
	Lipidi (g/100 g)	6,38	2,63	1,30	2,61	4,02	3,70	1,89	-	3,22	1,68	52,35
	Holesterol (g/100 g lipida)	0,678	2,253	4,940	1,312	1,214	1,472	3,008	-	2,13	1,46	68,54
APRIL	Holesterol (mg/100g)	58,64	54,35	52,90	53,84	53,26	56,04	57,77	52,97	54,97	2,25	4,09
	Lipidi (g/100 g)	5,81	10,6	4,81	7,61	6,28	9,91	9,71	5,60	7,54	2,25	29,86
	Holesterol (g/100 g lipida)	1,009	0,513	1,100	0,707	0,848	0,565	0,595	0,946	0,79	0,22	28,21

*ekstremne vrednosti (outlieri), $G_{\text{test}} > G_{\text{krit}}$ ($P = 0,05$); $\bar{x}$ – srednja vrednost; sd – standardna devijacija; CV – koeficijent varijacije

Tabela 5. Sastav masnih kiselina (% od ukupnih masnih kiselina) ekstrudirane hrane za prihranu šarana

Masne kiseline	Septembar	Oktobar
14:0	0,47	0,52
16:0	10,61	10,94
16:1	0,42	0,53
18:0	2,76	3,48
18:1n-9	25,48	23,24
18:1n-7	0,79	0,90
18:2n-6	54,02	55,35
18:3n-3	1,62	1,91
20:0	-	0,32
20:1n-9	0,73	0,50
20:2n-6	-	-
22:0	0,31	0,38
20:3n-6	0,67	0,63
20:3n-3	0,89	0,56
22:1n-9+20:4n-6	0,07	0,06
20:5n-3	0,39	0,47
22:6n-3	0,59	-
24:0	0,18	0,21
ZMK	14,02	15,85
MNMK	27,73	25,17
PNMK	58,18	58,92
n-6	54,69	55,98
n-3	3,49	2,94
n-3/n-6	0,06	0,05
n-6/n-3	15,67	19,04
P/Z	4,15	3,72
U/Z	6,13	5,31

ZMK – zasićene masne kiseline; MNMK – mononezasićene masne kiseline; PNMK – polinezasićene masne kiseline; P/Z odnos PNMK i ZMK; U/Z odnos ukupnih nezasićenih i ZMK

Tabela 6. Dužine (cm), mase šarana (g), sadržaj proteina, vlage, lipida i pepela u mesu šarana prihranjivanih kukuruzom

Period	Br.uzoraka	1	2	3	4	5	6	7	8	$\bar{x}$	sd	CV %
SEPTEMBAR	dužina ribe, cm	33	36	36	38	33	35	35	36	35,3	1,7	4,7
	masa ribe, g	1345	1990	1515	1890	1155	1465	1175	1290	1478	312	21,1
	proteini, %	14,44	14,29	15,12	15,02	15,76	16,25	14,90	15,35	15,14	0,65	4,28
	vlaga, %	72,45	69,03	63,57	73,70	73,08	73,85	73,36	72,49	71,44	3,53	4,94
	lipidi, %	11,89	15,42	18,60	8,59	8,69	8,70	9,85	10,81	11,57	3,65	31,56
	pepeo, %	0,93	0,99	1,02	1,00	1,04	1,02	1,14	1,01	1,02	0,06	5,78
OKTOBAR	dužina ribe, cm	45	35	41	39	40	38	43	38	39,9	3,1	7,8
	masa ribe, g	1940	970	2045	1950	2060	1800	2440	1465	1834	443	24,1
	proteini, %	16,87	16,66	14,70	16,81	16,64	14,70	16,00	16,60	16,12	0,92	5,68
	vlaga, %	74,70	77,10	68,96	71,49	71,98	71,44	75,55	72,89	73,01	2,63	3,60
	lipidi, %	4,95	3,85	13,8	8,90	9,12	12,60	6,58	8,95	8,59	3,45	40,19
	pepeo, %	1,02	0,97	0,92	0,97	0,95	0,91	0,98	0,92	0,96	0,04	3,92
DECEMBAR	dužina ribe, cm	45	46	46	46	38	46	42	-	44,1	3,1	7,0
	masa ribe, g	2710	2305	3255	2755	1335	2855	2035	-	2464	633	25,7
	proteini, %	15,30	15,95	15,94	15,91	16,08	17,39*	15,97	-	15,86	0,28	1,76
	vlaga, %	72,88	72,19	68,43	68,12	74,85	75,23	75,84	-	72,51	3,17	4,37
	lipidi, %	10,50	9,88	14,38	14,80	7,30	5,61	6,50	-	9,85	3,68	37,33
	pepeo, %	1,06	0,95	0,99	0,88	0,98	1,10	1,23	-	1,03	0,11	11,15
APRIL	dužina ribe, cm	38,5	38,5	32,5	36,5	36	35	39	37	36,6	2,2	5,9
	masa ribe, g	1355	1700	1280	1205	1150	1435	1695	1365	1398	206	14,7
	proteini, %	15,70	15,32	15,62	15,94	15,79	15,74	14,84*	15,65	15,68	0,19	1,22
	vlaga, %	78,48	65,63	70,20	74,01	74,68	74,65	66,89	72,82	72,17	4,32	5,99
	lipidi, %	4,08	17,17	12,28	8,13	8,30	6,32	16,49	9,92	10,34	4,67	45,2
	pepeo, %	1,14	1,00	0,90	0,97	0,89	0,96	0,88	1,11	0,98	0,10	10,04

*ekstremne vrednosti (outlieri), $G_{\text{test}} > G_{\text{krit}}$ ($P = 0,05$); $\bar{x}$ – srednja vrednost; s_d – standardna devijacija; CV – koeficijent varijacije

Tabela 7. Šarani prihranjivani kukuruzom: mase šarana (g), logaritam mase (g), relativan sadržaj (%), apsolutni sadržaj (g/masa ribe) i logaritam apsolutnog sadržaja (g/masa ribe) proteina, vlage, lipida i pepela. Rezultati su korišćeni za alometrijske i izometrijske analize, kao i za višestruku linearnu regresiju

Period	masa	log masa	proteini, %	aps. proteini	log proteini	vlaga, %	aps. vlaga	log vlaga	lipidi, %	aps. lipidi	log lipidi	pepeo, %	aps. pepeo	log pepeo
1-Sep	1345	3,129	14,44	194,22	2,288	72,45	974,45	2,989	11,89	159,92	2,204	0,93	12,51	1,097
2-Sep	1990	3,299	14,29	284,37	2,454	69,03	1373,70	3,138	15,42	306,86	2,487	0,99	19,70	1,294
3-Sep	1515	3,180	15,12	229,07	2,360	63,57	963,09	2,984	18,60	281,79	2,450	1,02	15,45	1,189
4-Sep	1890	3,276	15,02	283,88	2,453	73,70	1392,93	3,144	8,59	162,35	2,210	1,00	18,90	1,276
5-Sep	1155	3,063	15,76	182,03	2,260	73,08	844,07	2,926	8,69	100,37	2,002	1,04	12,01	1,080
6-Sep	1465	3,166	16,25	238,06	2,377	73,85	1081,90	3,034	8,70	127,46	2,105	1,02	14,94	1,174
7-Sep	1175	3,070	14,90	175,08	2,243	73,36	861,98	2,935	9,85	115,74	2,063	1,49	17,51	1,243
8-Sep	1290	3,111	15,35	198,02	2,297	72,49	935,12	2,971	10,81	139,45	2,144	1,01	13,03	1,115
1-Okt	1940	3,288	16,87	327,28	2,515	74,70	1449,18	3,161	4,95	96,03	1,982	1,02	19,79	1,296
2-Okt	970	2,987	16,66	161,60	2,208	77,10	747,87	2,874	3,85	37,35	1,572	0,97	9,41	0,974
3-Okt	2045	3,311	14,70	300,62	2,478	68,96	1410,23	3,149	13,80	282,21	2,451	0,92	18,81	1,274
4-Okt	1950	3,290	16,81	327,80	2,516	71,49	1394,06	3,144	8,90	173,55	2,239	0,97	18,92	1,277
5-Okt	2060	3,314	16,64	342,78	2,535	71,98	1482,79	3,171	9,12	187,87	2,274	0,95	19,57	1,292
6-Okt	1800	3,255	14,70	264,60	2,423	71,44	1285,92	3,109	12,60	226,80	2,356	0,91	16,38	1,214
7-Okt	2440	3,387	16,00	390,40	2,592	75,55	1843,42	3,266	6,58	160,55	2,206	0,98	23,91	1,379

Tabela 7. Nastavak

Period	masa	log masa	proteini, %	aps. proteini	log proteini	vlaga, %	aps. vlaga	log vlaga	lipidi, %	aps. lipidi	log lipidi	pepeo, %	aps. pepeo	log pepeo
8-Okt	1465	3,166	16,60	243,19	2,386	72,89	1067,84	3,029	8,95	131,12	2,118	0,92	13,48	1,130
1-Dec	2710	3,433	15,30	414,63	2,618	72,88	1975,05	3,296	10,50	284,55	2,454	1,06	28,73	1,458
2-Dec	2305	3,363	15,95	367,65	2,565	72,19	1663,98	3,221	9,88	227,73	2,357	0,95	21,90	1,340
3-Dec	3255	3,513	15,94	518,85	2,715	68,43	2227,40	3,348	14,38	468,07	2,670	0,99	32,22	1,508
4-Dec	2755	3,440	15,91	438,32	2,642	68,12	1876,71	3,273	14,80	407,74	2,610	0,88	24,24	1,385
5-Dec	1335	3,125	16,08	214,67	2,332	74,85	999,25	3,000	7,30	97,46	1,989	0,98	13,08	1,117
6-Dec	2855	3,456	17,39	496,48	2,696	75,23	2147,82	3,332	5,61	160,17	2,205	1,10	31,41	1,497
7-Dec	2035	3,309	15,97	324,99	2,512	75,84	1543,34	3,188	6,50	132,28	2,121	1,23	25,03	1,398
1-Apr	1355	3,132	15,70	212,74	2,328	78,48	1063,40	3,027	4,08	55,28	1,743	1,14	15,45	1,189
2-Apr	1700	3,230	15,32	260,44	2,416	65,63	1115,71	3,048	17,17	291,89	2,465	1,00	17,00	1,230
3-Apr	1280	3,107	15,62	199,94	2,301	70,20	898,56	2,954	12,28	157,18	2,196	0,90	11,52	1,061
4-Apr	1205	3,081	15,94	192,08	2,283	74,01	891,82	2,950	8,13	97,97	1,991	0,97	11,69	1,068
5-Apr	1150	3,061	15,79	181,59	2,259	74,68	858,82	2,934	8,30	95,45	1,980	0,89	10,24	1,010
6-Apr	1435	3,157	15,74	225,87	2,354	74,65	1071,23	3,030	6,32	90,69	1,958	0,96	13,78	1,139
7-Apr	1695	3,229	14,84	251,54	2,401	66,89	1133,79	3,055	16,49	279,51	2,446	0,88	14,92	1,174
8-Apr	1365	3,135	15,65	213,62	2,330	72,82	993,99	2,997	9,92	135,41	2,132	1,11	15,15	1,180

Tabela 8. Sastav masnih kiselina (% od ukupnih masnih kiselina) u uzorcima mesa šarana prihranjivanih kukuruzom

Br. uzorka	14:0	15:0	16:0	16:1	17:0	18:0	18:1n-9	18:1n-7	18:2n-6	18:3n-6	18:3n-3	20:1	20:2
1-Sep	0,87	0,10	21,64	8,76	0,12	4,18	45,81	2,42	10,60	0,29	1,19	1,17	0,35
2-Sep	0,69	0,05	18,06	6,99	0,08	5,06	52,20	2,45	9,85	0,29	0,36	1,55	0,32
3-Sep	0,53	0,06	17,36	6,95	0,11	4,56	53,53	2,37	9,57	0,46	0,45	1,70	0,30
4-Sep	0,63	0,10	17,86	6,26	0,12	4,62	49,11	2,50	13,45	0,28	0,77	1,64	0,44
5-Sep	0,53	0,06	16,46	5,94	0,09	5,08	53,09	2,30	11,30	0,37	0,42	1,90	0,36
6-Sep	0,66	0,09	17,38	6,81	0,11	5,39	51,89	2,76	10,01	0,21	0,41	1,77	0,36
7-Sep	0,78	0,07	18,90	6,39	0,11	5,07	47,78	2,60	13,08	0,14	0,71	1,71	0,51
8-Sep	0,65	0,09	17,68	5,72	0,12	5,42	54,18	2,48	8,63	0,25	0,74	1,90	0,34
$\bar{x}$	0,67	0,08	18,17	6,73	0,11	4,92	50,95	2,49	10,81	0,29	0,63	1,67	0,37
sd	0,12	0,02	1,56	0,94	0,01	0,43	3,02	0,14	1,70	0,10	0,28	0,23	0,07
CV %	17,34	25,57	8,61	14,02	13,84	8,77	5,93	5,73	15,74	15,74	33,87	14,04	18,53
1-Okt*	0,95	0,24	18,29	7,85	0,30	4,95	44,25	3,20	11,77	0,46	2,03	1,16	0,46
2-Okt	0,70	0,10	19,58	6,16	0,15	6,19	44,83	2,34	14,43	0,24	0,90	1,68	0,40
3-Okt	0,74	0,08	18,64	7,53	0,11	4,66	52,85	2,54	8,63	0,22	0,58	1,61	0,22
4-Okt	0,71	0,08	17,43	7,06	0,10	5,18	52,83	2,65	9,26	0,32	0,50	1,61	0,28
5-Okt	0,56	0,06	16,72	6,24	0,09	5,37	56,16	2,75	7,43	0,19	0,20	2,32	0,29
6-Okt	0,75	0,10	18,60	6,37	0,13	5,25	51,63	2,90	9,56	0,17	0,76	1,81	0,32
7-Okt	0,75	0,12	17,43	6,46	0,13	5,39	53,02	2,66	8,80	0,24	0,72	1,72	0,34
8-Okt	0,74	0,09	20,72	8,10	0,16	4,27	47,45	2,88	10,49	0,27	0,72	1,58	0,32
$\bar{x}$	0,71	0,09	18,45	6,85	0,12	5,19	51,25	2,67	9,80	0,24	0,63	1,76	0,31
sd	0,07	0,02	1,39	0,74	0,03	0,61	3,83	0,20	2,25	0,05	0,23	0,26	0,06
CV %	9,58	21,28	7,53	10,83	20,70	11,68	7,48	7,31	22,91	21,19	36,34	14,69	17,96

Tabela 8. Nastavak

Br. uzorka	14:0	15:0	16:0	16:1	17:0	18:0	18:1n-9	18:1n-7	18:2n-6	18:3n-6	18:3n-3	20:1	20:2
1-Dec	0,66	0,09	18,35	7,72	0,11	3,28	52,53	2,76	9,03	0,45	0,53	1,93	0,22
2-Dec	0,67	0,07	17,39	7,31	0,10	4,24	52,84	2,84	8,63	0,28	0,88	1,99	0,26
3-Dec	0,64	0	16,88	7,49	0,08	4,38	56,63	3,19	5,88	0,22	0,46	2,16	0,22
4-Dec	0,62	0,05	18,28	8,08	0,08	4,89	53,59	2,85	7,01	0,19	0,40	1,98	0,26
5-Dec	0,48	0	15,15	6,13	0,09	5,23	57,17	2,80	7,32	0,20	0,36	2,33	0,28
6-Dec	0,48	0	16,18	5,39	0,10	5,52	55,41	2,79	8,39	0,18	0,31	2,42	0,31
7-Dec	0,64	0,09	19,27	5,57	0,13	5,79	49,67	2,60	10,75	0,18	0,50	1,91	0,40
$\bar{x}$	0,60	0,04	17,36	6,81	0,10	4,76	53,98	2,83	8,14	0,24	0,49	2,10	0,28
sd	0,08	0,04	1,41	1,09	0,02	0,86	2,63	0,18	1,58	0,10	0,19	0,20	0,06
CV %	13,79		8,14	16,05	17,99	18,15	4,86	6,29	19,39	40,25	38,26	9,71	22,36
1-Apr*	0,88	0,13	20,00	6,42	0,18	5,33	49,07	0,56	9,57	0,24	1,37	2,15	0,38
2-Apr	0,62	0,06	17,26	7,25	0,08	5,36	55,44	0,48	8,64	0,20	0,26	1,96	0,29
3-Apr	0,69	0,10	18,29	7,83	0,13	4,48	52,92	0,57	9,96	0,28	0,57	1,84	0,28
4-Apr	0,74	0,10	19,04	6,18	0,12	5,72	52,38	0,52	9,36	0,18	0,43	2,07	0,34
5-Apr	0,75	0,10	18,84	7,32	0,12	5,14	53,48	0,60	8,49	0,19	0,47	1,78	0,33
6-Apr	0,61	0,09	15,71	6,89	0,13	4,47	55,89	0,57	9,86	0,25	0,49	2,03	0,35
7-Apr	0,62	0,06	17,23	7,07	0,10	4,52	56,03	0,50	8,63	0,23	0,38	2,14	0,34
8-Apr	0,64	0,07	18,19	7,11	0,09	4,88	55,13	0,42	9,01	0,18	0,25	1,92	0,34
$\bar{x}$	0,67	0,08	17,79	7,09	0,11	4,94	54,47	0,52	9,14	0,22	0,41	1,96	0,32
sd	0,06	0,02	1,15	0,50	0,02	0,49	1,50	0,06	0,60	0,04	0,12	0,13	0,03
CV %	8,90	22,81	6,49	7,04	18,18	9,91	2,76	11,93	6,61	17,93	29,22	6,50	8,51

Tabela 8. Nastavak

Br. uzorka	20:3n-6	20:3n-3	22:1+20:4	20:5n-3	22:5n-3	22:6n-3	ZMK	MNMK	PNMK	n-6	n-3	n-3/n-6
1-Sep	1,56	0,06	0,59	0,10	0,06	0,11	26,91	58,16	14,32	12,80	1,52	0,12
2-Sep	1,22	0,05	0,55	0,04	0,08	0,09	23,94	63,19	12,30	11,68	0,62	0,05
3-Sep	1,17	0,04	0,53	0,06	0,12	0,10	22,62	64,55	12,27	11,50	0,77	0,07
4-Sep	1,22	0,07	0,62	0,09	0,06	0,15	23,33	59,51	16,53	15,39	1,14	0,07
5-Sep	1,22	0,05	0,56	0,06	0,07	0,14	22,22	63,23	13,99	13,25	0,74	0,06
6-Sep	1,13	0,06	0,65	0,09	0,07	0,13	23,63	63,23	12,47	11,71	0,76	0,06
7-Sep	1,43	0,09	0,48	0,05	0	0,08	24,93	58,48	16,09	15,16	0,93	0,06
8-Sep	1,19	0	0,44	0,07	0	0,10	23,96	64,28	11,32	10,41	0,91	0,09
$\bar{x}$	1,27	0,05	0,55	0,07	0,06	0,11	23,94	61,83	13,66	12,74	0,92	0,07
sd	0,15	0,03	0,07	0,02	0,04	0,02	1,46	2,65	1,90	1,78	0,29	0,02
CV %	11,67	49,62	12,60	30,54	70,03	22,16	6,11	4,29	13,93	14,01	31,13	31,06
1-Okt*	1,27	0,19	1,31	0,33	0,34	0,63	24,73	56,46	17,48	13,96	3,52	0,25
2-Okt	1,06	0,21	0,65	0,15	0	0,21	26,72	55,01	17,60	16,13	1,47	0,09
3-Okt	0,82	0	0,41	0,18	0,05	0,11	24,23	64,53	10,81	9,89	0,92	0,09
4-Okt	1,15	0	0,66	0,05	0	0,10	23,50	64,15	11,66	11,01	0,65	0,06
5-Okt	1,17	0	0,44	0	0	0	22,80	67,47	9,28	9,08	0,20	0,02
6-Okt	0,94	0,06	0,48	0,08	0	0,08	24,83	62,71	11,97	10,99	0,98	0,09
7-Okt	1,36	0	0,50	0,23	0	0,13	23,82	63,86	11,82	10,74	1,08	0,10
8-Okt	1,14	0	0,72	0,11	0,05	0,18	25,98	60,01	13,28	12,22	1,06	0,09
$\bar{x}$	1,09	0,04	0,55	0,11	0,01	0,12	24,55	62,53	12,35	11,44	0,91	0,08
sd	0,17	0,08	0,12	0,08	0,02	0,07	1,39	3,99	2,62	2,29	0,41	0,03
CV %	15,94		22,22	69,06		59,22	5,67	6,39	21,21	20,02	43,60	36,45

Tabela 8. Nastavak

Br. uzorka	20:3n-6	20:3n-3	22:1+20:4	20:5n-3	22:5n-3	22:6n-3	ZMK	MNMK	PNMK	n-6	n-3	n-3/n-6
1-Dec	1,01	0,12	0,83	0,10	0,08	0,19	22,49	64,94	11,73	10,71	1,02	0,10
2-Dec	0,89	0,11	0,83	0,15	0,17	0,35	22,47	64,98	11,72	10,06	1,66	0,17
3-Dec	0,78	0,09	0,55	0,08	0,09	0,17	21,98	69,47	7,99	7,10	0,89	0,13
4-Dec	0,91	0,06	0,58	0,06	0	0,10	23,92	66,50	8,99	8,37	0,62	0,07
5-Dec	1,32	0,08	0,73	0,08	0,09	0,15	20,95	68,43	9,88	9,12	0,76	0,08
6-Dec	1,19	0,10	0,89	0,07	0,09	0,17	22,28	66,01	10,81	10,07	0,74	0,07
7-Dec	0,99	0,11	0,92	0,13	0,11	0,23	25,92	59,75	13,40	12,32	1,08	0,09
$\bar{x}$	1,01	0,10	0,76	0,10	0,09	0,19	22,86	65,73	10,65	9,68	0,97	0,10
sd	0,19	0,02	0,15	0,03	0,05	0,08	1,61	3,13	1,84	1,68	0,35	0,04
CV %	18,30	21,63	19,31	34,58	55,56	40,73	7,04	4,77	17,29	17,40	35,73	36,19
1-Apr*	0,88	0,32	1,45	0,28	0,29	0,51	26,52	58,20	13,84	11,07	2,77	0,25
2-Apr	0,94	0,09	0,82	0,04	0,08	0,14	23,38	65,13	10,68	10,07	0,61	0,06
3-Apr	0,91	0,10	0,73	0,08	0,08	0,16	23,69	63,16	12,42	11,43	0,99	0,09
4-Apr	1,00	0,13	1,01	0,12	0,18	0,37	25,72	61,15	12,11	10,88	1,23	0,11
5-Apr	0,98	0,14	0,89	0,07	0,11	0,21	24,95	63,18	10,99	9,99	1,00	0,10
6-Apr	0,85	0,18	1,05	0,13	0,15	0,30	21,01	65,38	12,56	11,31	1,25	0,11
7-Apr	1,12	0,07	0,73	0,04	0,07	0,14	22,53	65,74	11,02	10,32	0,70	0,07
8-Apr	0,68	0,10	0,71	0,06	0,08	0,16	23,87	64,58	10,86	10,21	0,65	0,06
$\bar{x}$	0,93	0,12	0,85	0,08	0,11	0,21	23,59	64,05	11,52	10,60	0,92	0,09
sd	0,14	0,04	0,14	0,04	0,04	0,09	1,54	1,63	0,81	0,60	0,27	0,02
CV %	14,81	31,89	16,42	46,57	39,49	42,52	6,54	2,55	7,01	5,65	29,27	25,96

*ekstremne multivarijantne vrednosti (outlieri) - identifikovani kao tačke koje su najviše bile udaljene od višestruke srednje vrednosti (Mahalanobisova udaljenost i T^2);

$\bar{x}$ – srednja vrednost; sd – standardna devijacija; CV – koeficijent varijacije

Tabela 9. Sadržaj holesterola u mesu šarana prihranjivanih kukuruzom

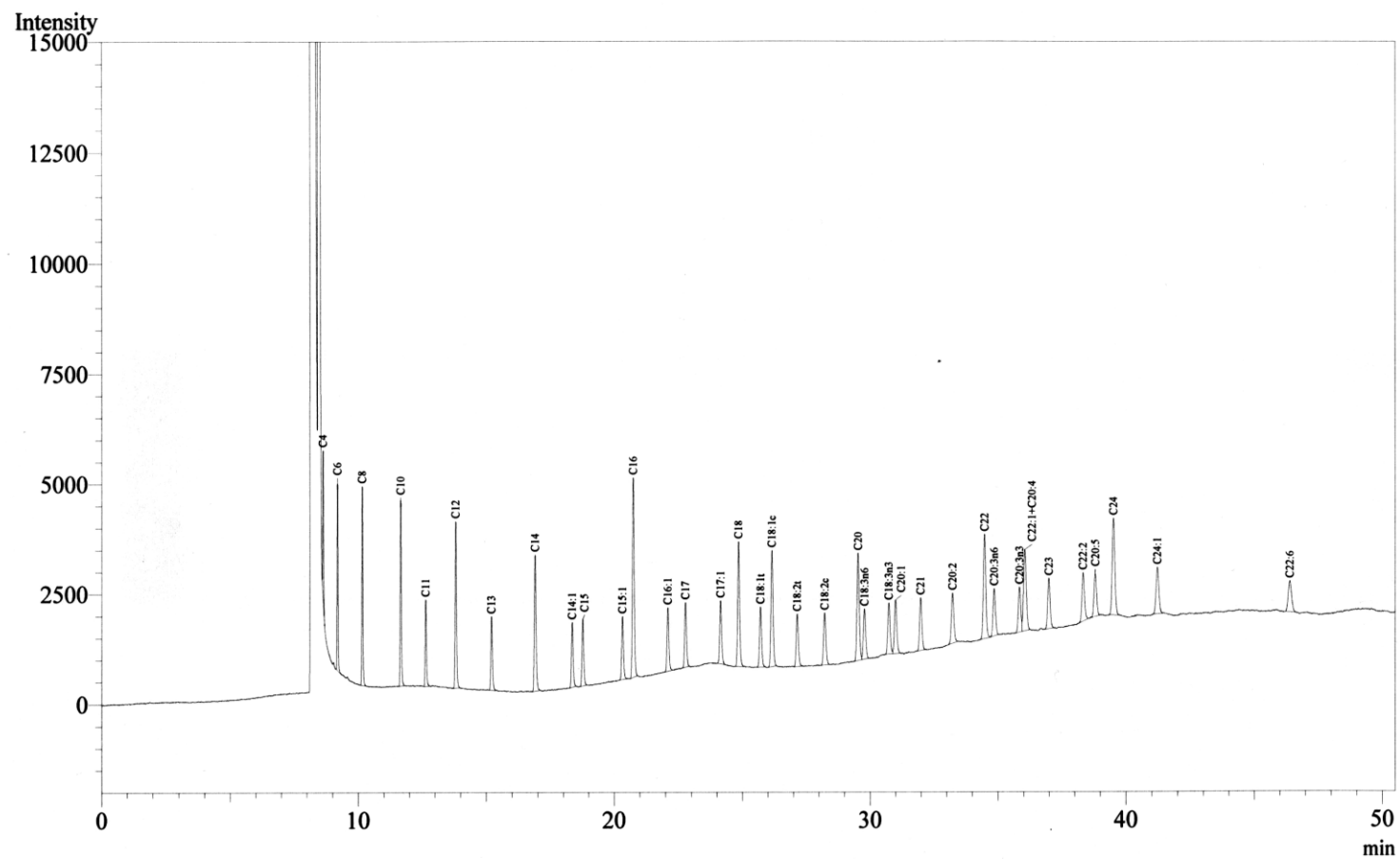
Period	Br.uzorka	1	2	3	4	5	6	7	8	$\bar{x}$	sd	CV %
SEPTEMBAR	Holesterol (mg/100g)	37,78	36,52	43,70	45,50	34,48	33,03	44,36	38,36	39,22	4,73	12,07
	LIPIDI (g/100 g)	11,89	15,42	18,6	8,59	8,69	8,70	9,85	10,81	11,57	3,65	31,56
	Holesterol (g/100 g lipida)	0,318	0,237	0,235	0,530	0,397	0,380	0,450	0,355	0,36	0,10	27,83
OKTOBAR	Holesterol (mg/100g)	56,20	65,50	48,5	56,70	29,91	52,11	67,86	60,72	54,69	11,90	21,77
	LIPIDI (g/100 g)	4,95	3,85	13,8	8,9	9,12	12,60	6,58	8,95	8,59	3,45	40,19
	Holesterol (g/100 g lipida)	1,135	1,701	0,351	0,637	0,328	0,414	1,031	0,678	0,78	0,48	60,77
DECEMBAR	Holesterol (mg/100g)	53,96	42,44	33,75	51,84	43,55	40,57	72,00	-	48,30	12,48	25,84
	LIPIDI (g/100 g)	10,50	9,88	14,38	14,80	7,30	5,61	6,50	-	9,85	3,68	37,33
	Holesterol (g/100 g lipida)	0,514	0,430	0,235	0,350	0,597	0,723	1,108	-	0,57	0,29	50,91
APRIL	Holesterol (mg/100g)	53,93	51,17	63,35	53,94	63,35	57,95	59,21	60,87	57,97	4,58	7,90
	LIPIDI (g/100 g)	4,08	17,17	12,28	8,13	8,30	6,32	16,49	9,92	10,34	4,67	45,20
	Holesterol (g/100 g lipida)	1,322	0,298	0,516	0,663	0,763	0,917	0,359	0,614	0,68	0,33	48,21

$\bar{x}$ – srednja vrednost; sd – standardna devijacija; CV – koeficijent varijacije

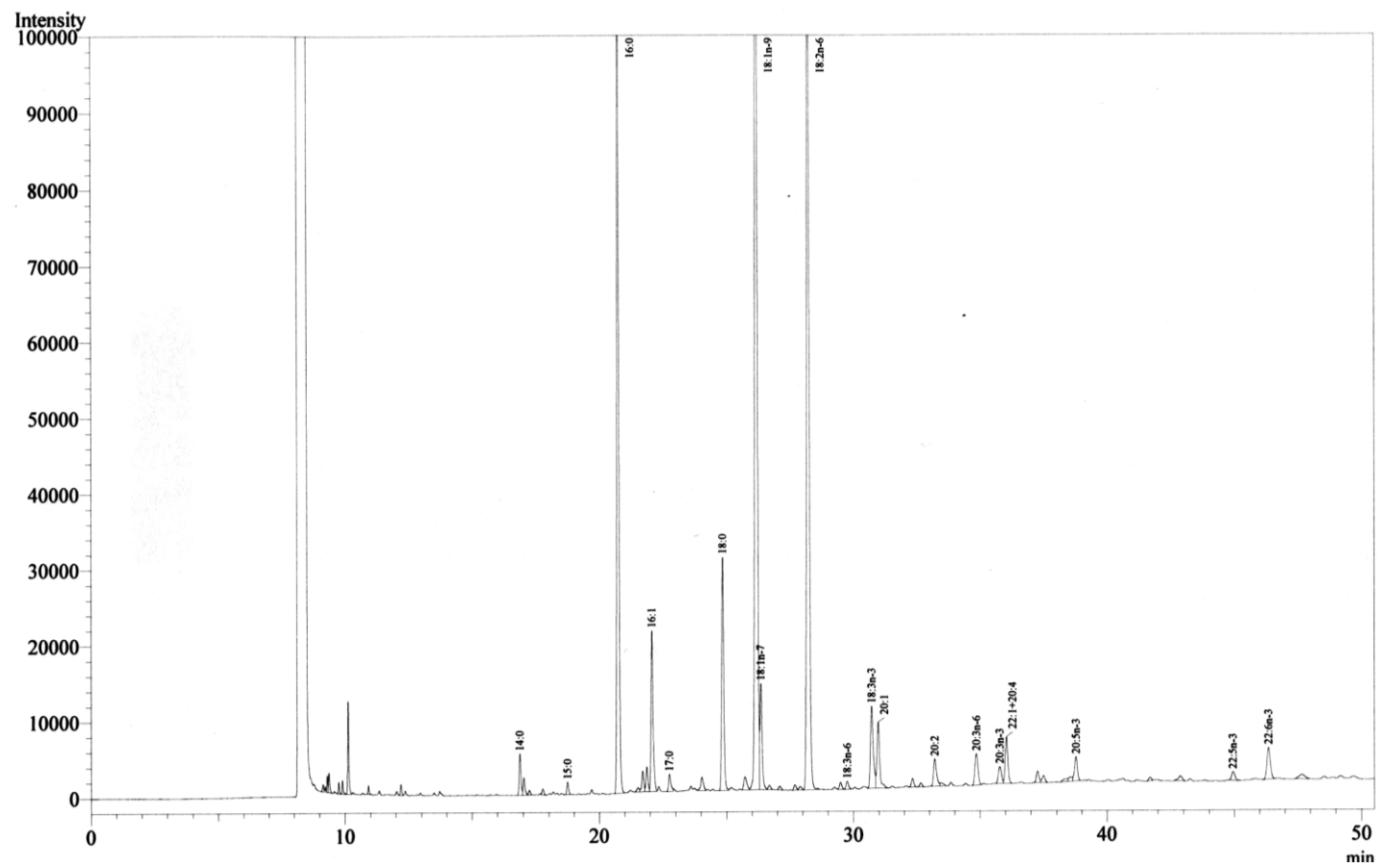
Tabela 10. Sastav masnih kiselina (%) u lipidima žitarica za prihranu šarana

Masne kiseline	Kukuruz	Pšenica	Ječam
14:0	0,40	0,11	0,17
16:0	10,86	17,33	21,32
16:1	0,17	0,17	0,09
18:0	2,02	1,01	1,58
18:1n-9	27,62	15,51	15,91
18:1n-7	0,16	-	-
18:2n-6	56,15	60,41	55,65
18:3n-6	-	-	-
18:3n-3	0,98	3,60	3,14
20:0	0,39	0,17	0,25
20:1n-9	0,20	1,14	1,02
20:2n-6	0,26	0,07	0,07
20:3n-6	0,62	-	0,05
20:3n-3	-	-	-
22:1n-9+20:4n-6	-	0,16	0,12
20:5n-3	-	0,26	-
22:6n-3	-	-	-
24:0	0,17	0,16	-
ZMK	13,84	18,87	23,51
MNMK	28,15	16,81	17,01
PNMK	58,00	64,16	59,37
n-6	57,03	60,47	55,75
n-3	0,98	3,69	3,62
n-3/n-6	0,02	0,06	0,06
n-6/n-3	58,19	16,42	15,40
P/Z	4,19	3,40	2,53
U/Z	6,22	4,25	3,25

ZMK – zasićene masne kiseline; MNMK – mononezasićene masne kiseline; PNMK – polinezasićene masne kiseline; P/Z odnos PNMK i ZMK; U/Z odnos ukupnih nezasićenih i ZMK



Slika 1. GC hromatogram smeše metilestara masnih kiselina u standardnom rastvoru Supelco 37 Component FAME Mix



Slika 2. GC hromatogram metilestara masnih kiselina u uzorku šarana

Biografija

Dejana Trbović rođena je 09.05.1973. godine u Zadru, Republika Hrvatska, gde je završila osnovnu i srednju hemijsku školu. Diplomirala je 2000. godine na Hemijskom fakultetu Univerziteta u Beogradu, smer Hemija za istraživanje i razvoj. Magistarsku tezu pod naslovom "Testiranje izvrsnosti laboratorija - određivanje tragova elemenata u vodi" odbranila je 2008. godine na Hemijskom fakultetu Univerziteta u Beogradu, na Katedri za analitičku hemiju i stekla naučni stepen magistra hemijskih nauka.

Zaposlena je u Institutu za higijenu i tehnologiju mesa, u Beogradu, od 2005. godine, u Odeljenju za hemijska ispitivanja, gde obavlja poslove ispitivanja parametara kvaliteta namirnica animalnog porekla (meso, proizvodi od mesa, riba, hrana za životinje i dr.).

Učestvuje u realizaciji projekata Ministarstva prosvete, nauke i tehnološkog razvoja Republike Srbije, ("Unapređenje proizvodnih kapaciteta šarana (*Cyprinus carpio* L.) programima ishrane i selekcije", ev. br. TR 31075 i "Uticaj kvaliteta komponenata u ishrani ciprinida na kvalitet mesa, gubitke i ekonomičnost proizvodnje", ev. br. TR 31011), na kojima je angažovana na eksperimentalnom ispitivanju uticaja načina ishrane šarana (prirodna hrana – zooplankton, bentos, peletirana hrana, ekstrudirana hrana, različiti izvori ulja) na hemijski i masnokiselinski sastav šarana. Rezultate rada iz oblasti akvakulture i ispitivanja kvaliteta slatkovodnih riba, u periodu od 2010. do 2013. godine, objavila je u međunarodnim naučnim časopisima sa ISI liste (7 radova), 5 radova u domaćim naučnim časopisima, a 27 saopštenja je prezentovala na međunarodnim naučnim skupovima.

Prilog 1.

Izjava o autorstvu

Potpisani-a _____ Dejana Trbović
broj prijave doktorske disertacije 1299

Izjavljujem

da je doktorska disertacija pod naslovom

“UTICAJ NAČINA ISHRANE NA SADRŽAJ LIPIDA I SASTAV MASNIH
KISELINA U MESU ŠARANA (*Cyprinus carpio* L., 1758) U POLUINTENZIVNOM
SISTEMU GAJENJA”

- rezultat sopstvenog istraživačkog rada,
- da predložena disertacija u celini ni u delovima nije bila predložena za dobijanje bilo koje diplome prema studijskim programima drugih visokoškolskih ustanova,
- da su rezultati korektno navedeni i
- da nisam kršio/la autorska prava i koristio intelektualnu svojinu drugih lica.

Potpis doktoranda

U Beogradu, Januar 2014.

Dejana Trbović

Prilog 2.

**Izjava o istovetnosti štampane i elektronske verzije
doktorskog rada**

Ime i prezime autora Dejana Trbović

Broj prijave doktorske disertacije 1299

Studijski program _____

Naslov rada

``UTICAJ NAČINA ISHRANE NA SADRŽAJ LIPIDA I SASTAV MASNIH
KISELINA U MESU ŠARANA (*Cyprinus carpio* L., 1758) U POLUINTENZIVNOM
SISTEMU GAJENJA``

Mentor dr Zoran Marković, redovni profesor

Potpisani/a Dejana Trbović

Izjavljujem da je štampana verzija mog doktorskog rada istovetna elektronskoj verziji koju sam predao/la za objavljivanje na portalu **Digitalnog repozitorijuma Univerziteta u Beogradu**.

Dozvoljavam da se objave moji lični podaci vezani za dobijanje akademskog zvanja doktora nauka, kao što su ime i prezime, godina i mesto rođenja i datum odbrane rada.

Ovi lični podaci mogu se objaviti na mrežnim stranicama digitalne biblioteke, u elektronskom katalogu i u publikacijama Univerziteta u Beogradu.

Potpis doktoranda

U Beogradu, Januar 2014.

Dejana Trbović

Prilog 3.

Izjava o korišćenju

Ovlašćujem Univerzitetsku biblioteku „Svetozar Marković“ da u Digitalni repozitorijum Univerziteta u Beogradu unese moju doktorsku disertaciju pod naslovom:

``UTICAJ NAČINA ISHRANE NA SADRŽAJ LIPIDA I SASTAV MASNIH KISELINA U MESU ŠARANA (*Cyprinus carpio L.*, 1758) U POLUINTENZIVNOM SISTEMU GAJENJA``

koja je moje autorsko delo.

Disertaciju sa svim priložima predao/la sam u elektronskom formatu pogodnom za trajno arhiviranje.

Moju doktorsku disertaciju pohranjenu u Digitalni repozitorijum Univerziteta u Beogradu mogu da koriste svi koji poštuju odredbe sadržane u odabranom tipu licence Kreativne zajednice (Creative Commons) za koju sam se odlučio/la.

1. Autorstvo

2. Autorstvo - nekomercijalno

☒ 3. Autorstvo – nekomercijalno – bez prerade

4. Autorstvo – nekomercijalno – deliti pod istim uslovima

5. Autorstvo – bez prerade

6. Autorstvo – deliti pod istim uslovima

(Molimo da zaokružite samo jednu od šest ponuđenih licenci, kratak opis licenci dat je na poledini lista).

Potpis doktoranda

U Beogradu, Januar 2014.