

Kopp R., Malý O., Mareš J.

*Mendelova univerzita v Brně, Oddělení rybářství a hydrobiologie,
Zemědělská 1, 613 00, Brno*

Fosfor patří mezi nejdůležitější prvky živočišného i rostlinného organismu. Největší podíl fosforu (80-90 %) se nalézá v kostech, zubech a šupinách ryb. V kostní tkáni je fosfor z velké části obsažen v anorganických sloučeninách, především hydroxyapatitu, fosforečnanu vápenatém, hořečnatém a sodném. Další 10 až 20 % fosforu je obsaženo ve svalové a nervové tkáni, dále i v srdci, játrech a ledvinách. Fosfor má významnou roli v různých tělních sloučeninách, především v metabolismu lipidů, sacharidů a proteinů. Důležitou roli hraje v molekule deoxyribonukleové kyseliny jako součást genetického materiálu, část fosforu je uložena i v červených krvinkách (Jirásek a kol., 2005; Jelínek a Koudelka, 2003; Chow a Schell, 1980).

V případě rybího organismu je fosfor velmi důležitý pro tvorbu červených krvinek, vývoj jiker a spermatu ryb. Je součástí různých organických sloučenin a účastní se mnoha metabolických procesů spojených s vitamíny a minerálními látkami. Tvoří základ sloučenin (ADP, ATP, keratinofosfát) které jsou zdrojem energie buněk při různých metabolických pochodech v organismu a ovlivňuje svalovou koordinaci (Jirásek a kol., 2005; Jelínek a Koudelka, 2003).

Sladkovodní ryby potřebují stejné minerální látky jako teplotekvná zvířata, ale potřebu některých minerálů (např. vápníku) mohou ze značné části kryt absorpcí z vody přes žaberní epitel nebo kůži. Fosfor získávají ryby primárně z potravy a jeho resorpce probíhá hlavně v tenkém střevě a v malém množství i v ostatních částech trávicí soustavy. Fosfor se vstřebává jako anorganický fosfát a proto je nutné, aby došlo k přeměně organicky vázaného fosforu na anorganický. Vyšší podíl vápníku, hořčíku nebo chloridů v krmivu může ve střevě vytvářet nerozpustné a neresorbovatelné fosfáty.

Potřeba fosforu pro jednotlivé druhy ryb je různá. Hlavní podmínkou není ani tak celkové množství fosforu obsaženého v krmivu, ale aby byl v krmivu obsažen v biodostupné formě. Vyšší množství těžko stravitelných forem fosforu v krmivu zvyšuje ekologickou zátěž vodního prostředí a přispívá ke zvyšování eutrofizace vod. Množství fosforu v krmivu pro kapra se má pohybovat v rozmezí od 4 do 6 g a pro pstruha duhového kolem 13 g (Jirásek a kol. 2005).

Do nedávné doby byly hlavním zdrojem fosforu obsaženého v krmných směsích pro ryby různé druhy rybí moučky obsahující vysoké množství organického fosforu. Zdrojem fosforu v rybí moučce jsou především kostní a svalová tkáň ryb a živočichů, které jsou pro výrobu rybí moučky použity. Obsah fosforu v rybích moučkách je velmi rozmanitý. Ovlivněn je zejména složením rybí moučky a její úpravou. Nejbohatším zdrojem fosforu je z těchto mouček nevyklížená kostní moučka, která obsahuje až 94,5 g fosforu. Běžný obsah fosforu různých druhů rybích mouček se pohybuje v rozmezí od 24,6 do 32 g (Jirásek a kol. 2005). Vzhledem k vysoké kvalitě rybí moučky měl v minulosti její podíl v recepturách krmných směsí rostoucí trend. Zvyšující se cena a snižující se dostupnost rybí moučky vedly k její postupné náhradě různými, převážně rostlinnými komponenty.

Jednou z možností zvýšení podílu fosforu v krmivu je použití doplňkového fosforu ve formě vápenatých fosfátů. Z těch patří mezi nejvýznamnější monokalciumfosfát a dikalciumfosfát. Tyto základní vápenaté fosforečnany se liší poměrem vápníku k fosforu a rovněž stupněm relativní využitelnosti fosforu. Biodostupnost fosforu je nejvyšší u monokalciumfosfátu (obsah fosforu 196,5 g.kg⁻¹) a činí pro

pstruha duhového i kapra obecného 94 %. Využitelnost dikalciumfosfátu (obsah fosforu 178,2 g.kg⁻¹) je nižší a činí pro pstruha duhového 71 % a pro kapra obecného 46 % (Jirásek a kol. 2005). Přestože je využitelnost fosforu z anorganických fosfátů vysoká, je jejich využití v krmivech pro ryby nízké z důvodu jejich vysoké ceny.

Z výše popsanych důvodů se tak hlavní pozornost výrobců krmiv obrací na ingredience rostlinného původu, které ve stále větší míře začínají nahrazovat živočišnou složku krmiv. Z rostlinných krmiv dostávají ryby ale značný podíl fosforu v těžce využitelné formě. Přestože je v řadě obilovin, luštěnin i olejnin fosfor obsažen v poměrně vysokém množství, je jeho značná část vázána na vápenatou sůl ve formě kyseliny fytové (Tab. č. 1). Ryby netvoří enzym fytázu, který je schopen štěpit fytátovou vazbu a proto velice špatně tuto formu fosforu tráví. Z toho je jasné patrné, že fosfor vázaný ve fytátové vazbě je vylučován výkaly bez jakéhokoliv využití a přechází do vodního prostředí. Fytát navíc snadno vytváří složité komplexy s dvojmocnými a trojmocnými kationty zinku, vápníku nebo hořčíku, což limituje i využití těchto minerálů.

Tabulka 1

Celková fosfor, fytátový fosfor a jeho procentický podíl v ingrediencích používaných v krmivech pro ryby (dle NRC, 1993; Ravindran a kol. 1994; Selle a kol. 2003; Godoy a kol. 2005; Jirásek a kol. 2005)

Ingredience	Celkový P g/kg	Fytátový-P g/kg	Podíl fytátového-P (%)
pšenice	3,1-4,0	2,2-2,9	71,6-74,9
oves	2,4-4,8	2,1-2,5	59,0-86,4
kukuřice	2,4-2,7	1,7-2,2	71,6-85,4
ječmen	2,7-4,2	1,9-2,6	61,0-67,3
čirok	3,0-4,1	2,2-2,7	65,9-72,6
žito	3,1-3,6	2,0-2,4	63,9-67,0
triticale	4,0	2,8	70,0
rýže	1,2-3,8	0,8-2,8	54,8-73,7
sója	6,0	3,7	61,7
řepkový šrot	9,6-11,8	6,3-7,0	59,0-76,4
kukuřičný šrot	5,2-7,4	2,7-6,7	63,0-90,5
sójový šrot	6,3-6,5	3,8-3,9	59,9-60,3
rýžové otruby	13,4-17,8	10,3-15,8	76,9-90,2
pšeničné otruby	11,0-11,5	5,7-8,4	49,6-90,0
žitné otruby	5,8	4,9	85,0

Kyselina fytová je cyklický šestiuhlíkatý uhlovodík, ve kterém je na každý uhlík navázán zbytek kyseliny fosforečné. Myo-inositol hexaafosfát, neboli kyselina fytová (fytát) je běžnou složkou krmiv rostlinného původu. Efektivní využití potenciálu krmiva z hlediska obsahu fosforu lze zabezpečit přidáním enzymu fytázy. Tento enzym se běžně přidává do krmných směsí pro prasata a drůbež, ve výživě ryb je využití fytázy zatím poměrně málo prozkoumanou oblastí. Vzhledem k mnoha faktorům ovlivňujícím její funkci je i její využití v chovech ryb velmi problematické. Mezi zásadní ovlivňující faktory patří hodnota pH v trávicím traktu ryb a teplota prostředí (Sugiura a kol., 1998; Kumar a kol., 2011).

Fytázu v malém množství obsahují i v krmivech používané rostlinné komponenty. Výsledky studií zabývajících se obsahem fytátu v různých druzích rostlin se velmi liší, což může být dáno různými odrůdami rostlin i odlišnými podmínkami prostředí. Fytázy produkované rostlinami, jsou velmi náchylné na teplotu prostředí. Nižší aktivitu těchto fytáz ovlivňuje i úzké rozmezí hodnot pH, které tyto fytázy snášejí. Obecně lze říci, že ve většině rostlin používaných pro výrobu krmiv, jako jsou olejninu či obiloviny, se obsah fytátu pohybuje v rozmezí od 0,7 % do 2 % (Adeola a Sands, 2003; Simmons a kol., 1990).

Tabulka 2

Přehled zdrojů fytázy a optimální podmínky pro její funkci (dle Greiner a Konietzny, 2006)

Zdroj fytázy	Aktivita fytázy (FTU/mg při 37 °C)	Optimální pH	Optimální teplota
HOUBY			
<i>Aspergillus caespitosus</i>	-	5,5	80
<i>Aspergillus fumigatus</i>	23-28	5,0-6,0	60
<i>Aspergillus niger</i>	50-103	5,0-5,5	55-58
<i>Aspergillus oryzae</i>	11	5,5	50
<i>Aspergillus terreus</i>	142-196	5,0-5,5	70
<i>Penicillium simplicissimum</i>	3	4,0	55
<i>Peniophora lycii</i>	1080	5,5	58
<i>Thermomyces lanuginosus</i>	110	6,0	65
BAKTERIE			
<i>Bacillus amyloliquefaciens</i>	20	7,0-8,0	70
<i>Bacillus subtilis</i>	9,0-15	6,5-7,5	55-60
<i>Citrobacter braakii</i>	3457	4	50
<i>Escherichia coli</i>	811-1800	4,5	55-60
<i>Klebsiella terrigena</i>	205	5	58
<i>Lactobacillus sanfranciscensis</i>	-	4	50
<i>Pantoea agglomerans</i>	23	4,5	60
<i>Pseudomonas syringae</i>	769	5,5	40
KVASINKY			
<i>Candida krusei</i>	1210	4,6	40
<i>Pichia anomala</i>	-	4	60

Jako nejjednodušší cesta ke zvýšení stravitelnosti fosforu v krmivech pro ryby se v současnosti jeví použití enzymatických preparátů obsahujících fytázu. Tyto preparáty jsou nejčastěji vyráběny mikrobiální cestou za využití různých organismů ze skupiny hub, bakterií nebo kvasinek (Tab. č. 2). Účinnost fytázy se měří ve fytázových jednotkách (FTU) a jejich účinnost je přibližně 500 FTU=0,8 g stravitelného fosforu. Fytázy nabízené na našem trhu obsahují nejčastěji koncentraci 5000 FTU/l g přípravku (Zeman a kol., 2007).

Nejdůležitějším faktorem účinnosti fytázy je hodnota pH. Pokud je pH okolního prostředí v jiných hodnotách, účinnost fytázy se snižuje, nebo úplně ztrácí. Tento fakt je značně problematickým právě při využití fytáz ve výživě ryb. Aktivita fytázy je u různých druhů ryb velmi variabilní, vzhledem ke stavbě jejich trávicího traktu a rozdílným hodnotám pH v trávicí soustavě. První skupinou jsou ryby, které mají žaludek (např. pstruh duhový), kde je kyselé prostředí a využití fytázy je tedy efektivní. U druhé skupiny ryb, které žaludek nemají (např. kapr obecný) je hodnota pH pro účinnou funkci fytázy nevhodná.

Problematickou nevhodného prostředí pro účinek fytázy lze řešit více způsoby. Z obecného pohledu jde o zlepšení podmínek, tedy úpravu pH trávicího traktu nebo krmiva před jeho zpracováním např. za použití různých organických kyselin. Zlepšení účinnosti fytázy může být provedeno i použitím fytázy, která má optimální hodnoty pH okolo 7 (Cao a kol., 2007).

Všechny druhy fytáz jsou mimo pH velmi citlivé na působení vyšších teplot. Většina fytáz produkovaných mikroorganismy má rozmezí optimálních teplot od 40 do 60 °C. Při běžné výrobě granulovaných krmiv dochází při procesu granulace ke sterilování granulí teplotou 85 °C, což je teplota neslučitelná s požadavky na aktivitu fytázy. Při teplotách okolo 70 °C dochází k výraznému omezení aktivity, při působení teploty nad 100 °C po dobu expozice 10 minut dochází k téměř úplné ztrátě aktivity fytázy. Obecně lze říci, že mikrobiální fytázy jsou proti vysokým teplotám odolnější než endogenní fytázy

roślin (Greiner a Konietzny, 2006; Cao a kol., 2007). Jednou z možností jak eliminovat negativní vliv teploty je aplikace fytázy sprejování na povrch již vyrobených pelet nebo granulí.

V blízké budoucnosti lze v chovech ryb očekávat vyšší využití různých metod ke zvýšení stravitelnosti fytátového fosforu a rostoucí tlak společnosti na snižování zátěže vodního prostředí nevyužitým fosforem z chovu ryb. Použití fytáz v krmivech pro ryby je mnohem běžnější v chovech lososovitých ryb, jednak pro jejich efektivnější využití díky kyselému pH v žaludku ryb a jednak pro používanou technologii chovu, která je založena téměř výhradně na aplikaci kompletních krmných směsí.

V chovu kapra převládá technologie příkrmování neupravenými obilovinami nad použitím granulovaných krmiv. Využití fytáz navíc omezuje i nevhodné pH trávicího traktu ryb. Jednou z cest je využití nízkofytátových odrůd obilovin, které mají vyšší biodostupnost fosforu. Jejich vyššímu použití při krmení ryb zatím brání nižší produkce a vyšší cena.

Seznam použité literatury

- ADEOLA, O., SANDS, J.S. (2003): Does supplementary microbial phytase improve amino acid utilization? A perspective that it does not. *Journal of Animal Science*, 81:78–85.
- CAO, L., WANG, W., YANG, CH., YANG, Y., DIANA, J., YAKUPITIYAGE, A., LUO, Z., LI D. (2007): Application of microbial phytase in fish feed. *Enzyme and Microbial Technology* 40:497–507.
- CHOW, K.W., SCHELL W.R. (1980): Chapter 7. The Minerals 1/2. Calcium and phosphorus, FAO, <http://www.fao.org/docrep/X5738E/x5738e08.htm>
- GREINER, R., KONIETZNY, U. (2006): Phytase for food application. *Food Technology and Biotechnology* 44(2):125–40.
- GODOY, S., CHICCO, C., MESCHY, F., REQUENA, F. (2005): Phytic phosphorus and phytase activity of animal feed ingredients. *Interiencia* 30:24–28.
- JELÍNEK, P., KOUDELKA, K. (2003): Fyziologie hospodářských zvířat, 1. vyd. Brno: Mendelova zemědělská a lesnická univerzita, 414 s.
- JIRÁSEK, J., MAREŠ J., ZEMAN L. (2005): *Potřeba živin a tabulky výživné hodnoty krmiv pro ryby*, 2. vyd., Brno: Mendelova zemědělská a lesnická univerzita, 69 s.
- KUMAR, V., SINHA, A.K., MAKKAR, H.P.S., DE BOECK, G., BECKER, K. (2011): Phytate and phytase in fish nutrition. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition* 96:335–364.
- (NRC) NATIONAL RESEARCH COUNCIL (1993): Nutrient requirements of fish. Washington, DC: National Academy Press; 114 pp.
- RAVINDRAN, V., RAVINDRAN, G., SIVALOGAN, S. (1994): Total and phytate phosphorus contents of various foods and feedstuffs of plant origin. *Food Chemistry* 50:133–136.
- SELLE, P.H., WALKER, A.R., BRYDEN, W.L. (2003): Total and phytate-phosphorus contents and phytase activity of Australian-sourced feed ingredients for pigs and poultry. *Australian Journal of Experimental Agriculture* 43:475–479.
- SIMMONS, P.C.M., VERSTEECH, H.A.J., JONGBLOED, A.W., KEMME, P.A., SLUMP, P., BOS, K.D., WOLTERS, M.G., BEUDEKER, R.F., VERSCHOOR, G.J. (1990): Improvement of phosphorus availability by microbial phytase in broilers and pigs. *British Journal of Nutrition* 64:525–540.
- STEINER, T., MOSENTHIN, R., ZIMMERMANN, B., GREINER, R., ROTH, S. (2007): Distribution of phytase activity, total phosphorus and phytate phosphorus in legume seeds, cereals and cereal by-products as influenced by harvest and cultivar. *Animal Feed Science Technology* 133:320–334.

- SUGIURA, S.H., DONG, F.M., RATHBONE, C.K., HARDY, R.W. (1998):** Apparent protein digestibility and mineral availabilities in various feed ingredients for salmonid feeds. *Aquaculture* 159:177–202.
- ZEMAN, L., DOLEŽAL, P., LICHOVNÍKOVÁ, M., ŠIŠKOVÁ, P., SKLÁDANKA, J., RYANT, P., VYSKOČIL, I. (2007):** Jak splnit požadavky systému „cross-compliance“ v oblasti výživy a krmení zvířat. Metodika MZ ČR, MZLU v Brně, 75 s.