Utjecaj uzgojne tehnike na ponašanje i kvalitetu ribe

Ćosić, Dorotea

Undergraduate thesis / Završni rad

2020

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **University of Pula / Sveučilište Jurja Dobrile u Puli**

Permanent link / Trajna poveznica: https://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:137:947700

Rights / Prava: In copyright / Zaštićeno autorskim pravom.

Download date / Datum preuzimanja: **2024-03-29**

Image not found or type unknown

Repository / Repozitorij:

Digital Repository Juraj Dobrila University of Pula

zir.nsk.hr

Image not found or type unknown

SVEUČILIŠTE JURJA DOBRILE U PULI
SVEUČILIŠNI PREDDIPLOMSKI STUDIJ ZNANOST O MORU

Dorotea Ćosić

Utjecaj uzgojne tehnike na ponašanje i kvalitetu ribe

ZAVRŠNI RAD

U Puli, lipanj 2020.

SVEUČILIŠTE JURJA DOBRILE U PULI
SVEUČILIŠNI PREDDIPLOMSKI STUDIJ ZNANOST O MORU

Dorotea Ćosić

Utjecaj uzgojne tehnike na ponašanje i kvalitetu ribe

ZAVRŠNI RAD

JMBAG: 0066234199, redovna studentica
Studijski smjer: Preddiplomski studij znanost o moru
Predmet: Sigurnost i kvaliteta proizvoda iz mora
Znanstveno područje: Prirodne znanosti
Znanstveno polje: Interdisciplinarne prirodne znanosti
Znanstvena grana: Znanost o moru
Mentor: izv. prof. dr. sc. Ana Gavrilović

U Puli, lipanj 2020.

IZJAVA O AKADEMSKOJ ČESTITOSTI

Ja, dolje potpisana Dorotea Ćosić, kandidatkinja za prvostupnicu Znanosti o moru ovime izjavljujem da je ovaj Završni rad rezultat isključivo mojega vlastitog rada, da se temelji na mojim istraživanjima te da se oslanja na objavljenu literaturu kao što to pokazuju korištene bilješke i bibliografija. Izjavljujem da niti jedan dio Završnog rada nije napisan na nedozvoljen način, odnosno da je prepisan iz kojega necitiranog rada, te da ikoji dio rada krši bilo čija autorska prava. Izjavljujem, također, da nijedan dio rada nije iskorišten za koji drugi rad pri bilo kojoj drugoj visokoškolskoj, znanstvenoj ili radnoj ustanovi.

Studentica: Dorotea Ćosić

_____

U Puli, 17.lipnja, 2020. godine

IZJAVA
o korištenju autorskog djela

Ja, Dorotea Ćosić dajem odobrenje Sveučilištu Jurja Dobrile u Puli, kao nositelju prava iskorištavanja, da moj završni rad pod nazivom „ Utjecaj uzgojne tehnike na ponašanje i kvalitetu ribe“ koristi na način da gore navedeno autorsko djelo, kao cjeloviti tekst trajno objavi u javnoj internetskoj bazi Sveučilišne knjižnice Sveučilišta Jurja Dobrile u Puli te kopira u javnu internetsku bazu završnih radova Nacionalne i sveučilišne knjižnice (stavljanje na raspolaganje javnosti), sve u skladu s Zakonom o autorskom pravu i drugim srodnim pravima i dobrom akademskom praksom, a radi promicanja otvorenoga, slobodnoga pristupa znanstvenim informacijama.

Za korištenje autorskog djela na gore navedeni način ne potražujem naknadu.

U Puli, 17.lipnja 2020.godine

Potpis

_____

ZAHVALA

Zahvaljujem se svojoj mentorici izv. prof. dr. sc Ani Gavrilović na posvećenom vremenu, strpljenju i upornom ponavljanju kako tokom studiranja tako i pri pisanju završnog rada, te na stručnim savjetima bez kojih ovaj rad ne bi poprimio odgovarajući oblik.

Zahvaljujem se svojim kolegama i prijateljima koji su mi pružili podršku i pomoć tijekom studiranja i pisanja rada, te istima koji su vjerovali da je moguće paralelno se posvetiti studiranju i profesionalnom sportu.

Zahvaljujem se svojoj obitelji na strpljenju i omogućavanju daljnjeg studiranja, te svom dečku na motivaciji i njegovoj obitelji na obzirnosti tijekom pisanja rada.

Zahvaljujem se svim profesorima koji su pokazali prvenstveno ljubav prema onom što rade, na dobroj volji prilikom podučavanja i vremenu koje su posvetili na prenošenje znanja.

Sadržaj

1. Uvod: Potreba za unapređenjem kvalitete proizvoda iz akvakulture 2
2. Postmortalne promjene na mesu ribe 5
3. Ocjena kvalitete ribe 10
   - 3.1.Tržišna kategorizacija ribe po svježini 10
   - 3.2.Senzorske i instrumentalne metode ocjene svježine ribe 10
     - 3.2.1. Senzorske metode 11
     - 3.2.2. Instrumentalne (fizikalne) metode 12
   - 3.3. Biokemijske i kemijske metode 13
   - 3.4. Mikrobiološke metode 14
4. Postupci koje je moguće primijeniti u uzgoju ili tijekom i nakon izlova kako bi se unaprijedila kvaliteta ribe 16
   - 4.1. Postupci usmjereni na očuvanje kvalitete tijekom uzgoja 16
     - 4.1.1. Stres 16
     - 4.1.2. Dobrobit 18
       - 4.1.2.1.Ponašanje kao indikator dobrobiti 19
     - 4.1.3. Održavanje optimalne kvalitete vode u uzgojnom sustavu kao osnovna tehnološka mjera za izbjegavanje stresa u uzgoju 22
   - 4.2. Postupci za očuvanje kvalitete tijekom i nakon izlova 24
5. Zaključak 27
6. Literatura 28
7. Sažetak 34
8. Abstract 35

1. UVOD: POTREBA ZA UNAPREĐENJEM KVALITETE PROIZVODA IZ AKVAKULTURE

U zadnja dva desetljeća potražnja za ribom na svjetskom tržištu bilježi značajan porast. U isto vrijeme su zalihe ove visokovrijedne bjelančevinske hrane sve manje u svjetskim oceanima, morima i kopnenim vodama te dolazi do naglog razvitka akvakulture koja danas predstavlja najbrže rastući sektor proizvodnje hrane. Prema FAO-u, od akvakulture se očekuje važan doprinos u osiguranju dovoljne količine hrane za rastuću svjetsku populaciju, koja će prema previđanjima 2050. godine dostići 9.7 milijardi (FAO, 2016). Ukupna svjetska proizvodnja ribe u 2003. godini iznosila je 132,2 milijuna tona, od čega je oko 25% bilo iz akvakulture (FAO, 2004). U 2016. godini proizvodnja je narasla na 171 milijun tona, od čega je čak 47% ribe već bilo iz akvakulture (FAO, 2018). Pored značajnog povećanja proizvodnje i razvitka tehnologija koja će omogućiti očekivano povećanje, pred sektorom akvakulture je još jedan paralelni izazov – osigurati siguran (zdravstveno ispravan) i kvalitetan proizvod, jer je to zahtjev potrošača koji svakodnevno postaje sve izraženiji.

Kvaliteta hrane, prema definiciji Zakona o hrani iz 2003. predstavlja „sveukupna svojstva hrane koja pridonose njezinoj sposobnosti da zadovolji potrebe krajnjeg potrošača“ (NN 117/2003). Pri tome je sigurnost hrane osnovni preduvjet njezine kvalitete te podrazumijeva hranu bez ili s prihvatljivom razinom kontaminanata, prirodno prisutnih toksina i drugih tvari koji ju mogu učiniti štetnom za zdravlje ljudi. Dok je sigurnost zakonski obavezna i propisana brojnim zakonskim aktima koje svi proizvođači moraju poštivati, postizanje ostalih obilježja kvalitete je dobrovoljno i ovisi o proizvođaču (Gavrilović i sur., 2011). Kako su sveukupna svojstva hrane vrlo širok pojam, brojni su indikatori/pokazatelji njezine kvalitete. Oni se mogu podijeliti na unutarnje i vanjske. Unutarnje predstavljaju senzorski (izgled, okus, miris, boja), indikatori koji se odnose na sigurnost (prisutnost bioloških, kemijskih i fizičkih hazarda), nutritivna svojstva proizvoda, briga o dobrobiti životinja za koju u posljednje vrijeme ujedno postoji sve više certifikacijskih shema, ambalaža u koji je proizvod upakiran i dr. Vanjske indikatore predstavljaju: primijenjene metode proizvodnje (npr. organska proizvodnja), zemlja porijekla, cijena, brendiranje, oznake, različite certifikacije, način i sadržaj informacije o proizvodu i dr. Svi navedeni indikatori služe reklamiranju i uvjeravanju kupca da odabere određeni proizvod, predstavljajući ujedno dodanu vrijednost proizvodu. Kako su indikatori kvalitete brojni, njihovo vrednovanje od strane kupaca se razlikuje, a često ovisi i o zemljopisnom području i platežnoj moći. Kada su preferencije kupaca usmjerene

prema vanjskim faktorima zbog nedovoljnog poznavanja unutarnjih indikatora, kupci će poveznicu s kvalitetom, primjerice, pripisati zemlji proizvodnje (Lawley i sur., 2012). Za veliki broj kupaca, kvaliteta se često odnosi na nutritivnu vrijednost i organoleptička svojstva, uključujući svakako svježinu kao najvažniji parametar (Grigorakis, 2007). Organoleptička svojstva i nutritivna vrijednost ovise vrsti i starosti ribe, primijenjenoj tehnologiji i tehnikama uzgoja (prilagođenost uzgojnog prostora vrsti, režim hranidbe i kvaliteta hrane, gustoća nasada, način rukovanja s ribom i dr.), čimbenicima kvalitete uzgojne sredine koji također ovise o efikasnosti tehnologije uzgoja (temperatura, salinitet, pH, koncentracija amonijaka, svjetlost, koncentracija otopljenog kisika, i dr.), metodi klanja i omamljivanja te načinu rukovanja i transporta. Pri tome treba voditi računa da svaka vrsta zahtijeva specifične uvjete uzgoja, ali vrlo često i specifične postupke nakon izlova. Svježina ribe, kao jedan od osnovnih i neizostavnih pokazatelja senzorskih obilježja kvalitete brzo opada ukoliko je riba izložena stresu prije smrti te ukoliko se njom pravilno ne rukuje prije ili nakon izlova. Tako je izbjegavanje stresa, osnovnog preduvjeta za osiguranje dobrobiti uzgajanih organizama, ujedno i osnova osiguranja kvalitetnog proizvoda. Nakon izlova najvažniji čimbenik, uz uspostavu maksimalne higijene, predstavlja održavanje hladnog lanca (držanje ribe na niskoj temperaturni) sve do krajnjeg potrošača. Ukoliko je riba izložena stresu tijekom uzgoja ili izlova, ili ukoliko nakon izlova nije stavljena na nisku temperaturu, postmortalne promjene na mesu će se ubrzano razvijati te će svježina, odnosno održivost proizvoda, biti značajno skraćena (Huss, 1995; Martins i sur., 2012; Konjevod i sur., 2018; Donatović i sur., 2019; Roth i sur.,2005). Navedeno će se negativno odraziti i na kasnije faze prerade, ukoliko se riba ne konzumira svježa. Tako će se bilo koja od navedenih nepravilnosti negativno odraziti na vrijeme nastanka mrtvačke ukočenosti (*rigor mortis*), što je izuzetno važno precizno znati s tehnološkog aspekta jer o tom vremenu ovisi primjerice kada će filetiranje ribe biti obavljeno. Naime, ukoliko se riba filetira prije *rigora* mišići se mogu nastajanjem ukočenosti kontraktirati i tako smanjiti filet, dok filetiranje tokom *rigora* nije moguće zbog tvrdoće tkiva. Meso koje se filetira nakon *rigora* je čvrsto, sočno i elastično. Iz navedenog primjera se jasno vidi koliko je važno predviđanje i planiranje svih daljih tehnoloških faza prerade, o kojima također ovisi kvaliteta ribljeg mesa (Martins i sur., 2012). Kako bi se pravilno planirale te faze, ali i blagovremeno utvrdili nedostaci koji uzrokuju stres i time utječu na kvalitetu mesa, važno je pratiti ponašanje ribe tijekom uzgoja. Naime, promjene u ponašanju predstavljaju jedan od prvih indikatora stresa, odnosno narušavanja dobrobiti (Appleby i Hughes, 1997; Duncan i Fraser, 1997), te ukoliko su blagovremeno uočene mogu će eliminirati ili značajno ublažiti sniženje kvalitete uzrokovano neadekvatnim postupcima i tehnikama uzgoja. Riba koja se uzgaja pod prikladnim uvjetima posljedično je i manje podložna bolestima te zahtjeva manje lijekova i

različitih tretmana, a sve uz postizanje veće stope rasta i bolju kvalitetu finalnog proizvoda (FAO, 2019; Duncan, 2005; Duncan i Dawkins, 1983).

Iz svega navedenog je jasno da se brojni postupci i tehnike tijekom uzgoja i nakon izlova ribe mogu negativno odraziti na kvalitetu finalnog proizvoda, djelujući negativno direktno na dobrobit, održivost i senzorska svojstva finalnog proizvoda. Stoga je cilj ovog rada pregledom dostupne znanstvene literature:

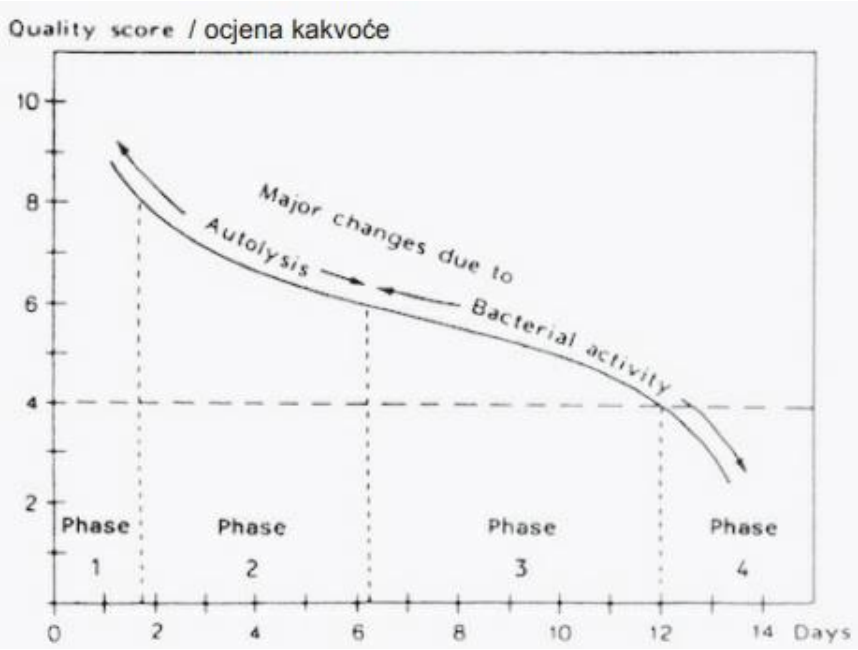
- opisati postmortalne promjene na mesu ribe te čimbenike koji utječu negativno na brzinu njihovog nastanka (kvarenje ribe)
- opisati metode ocjene kvalitete mesa ribe
- opisati promjene koje nam tijekom uzgoja, kao indikatori stresa/dobrobiti, mogu blagovremeno ukazati na eventualne nepravilnosti koje bi se mogle negativno odraziti na kvalitetu budućeg proizvoda

2. POSTMORTALNE PROMJENE NA MESU RIBE

Meso riba se u usporedbi s mesom kopnenih kralješnjaka kvari brže. Razlog tome su rastresita struktura i kemijski sastav tkiva. Naime, u ribljem mesu nalazi se manje vezivnog tkiva nego u mesu toplokrvnih životinja što omogućuje lakši prodor bakterijama. Prodor bakterija lakši je i zbog povećane količine vode u mišićnom tkivu i pH koji po uginuću raste te tako postaje povoljan ambijent za razvoj proteolitičkih bakterija (Šoša, 1989; Huss, 1995).
Nakon uginuća ribe dolazi do brojnih promjena na površini tijela i unutar tkiva što posljedično uzrokuje kvarenje. Pri tome anaboličke reakcije prestaju, a kataboličke se intenziviraju. Kako po uginuću disanje prestaje, aerobne procese zamjenjuju anaerobni procesi.

Sve ove promjene mogu se podijeliti se u četiri faze:

- faza pojačanog lučenja sluzi i postmortalne ukočenosti
- faza fermentativne razgradnje ili autoliza
- faza bakterijske razgradnje tkiva
- kvarenje (Šoša, 1989; Huss, 1976).



Slika 1. Promjena kakvoće bakalara pohranjenog (0°C) na ledu
(Huss, 1976; Huss, 1995)

U prvoj fazi riba je svježa, ugodnog i slatkastog mirisa i čvrste teksture. U drugoj fazi nedostaje specifičan miris i okus ribe te je meso neutralnog mirisa i okusa ali je tekstura zadržana. U trećoj fazi dolazi do neugodnog mirisa i mogu se uočiti znakovi krvarenja (proces razgradnje mesa) te se u četvrtoj fazi riba smatra pokvarenom (Šoša, 1989; Huss, 1995).

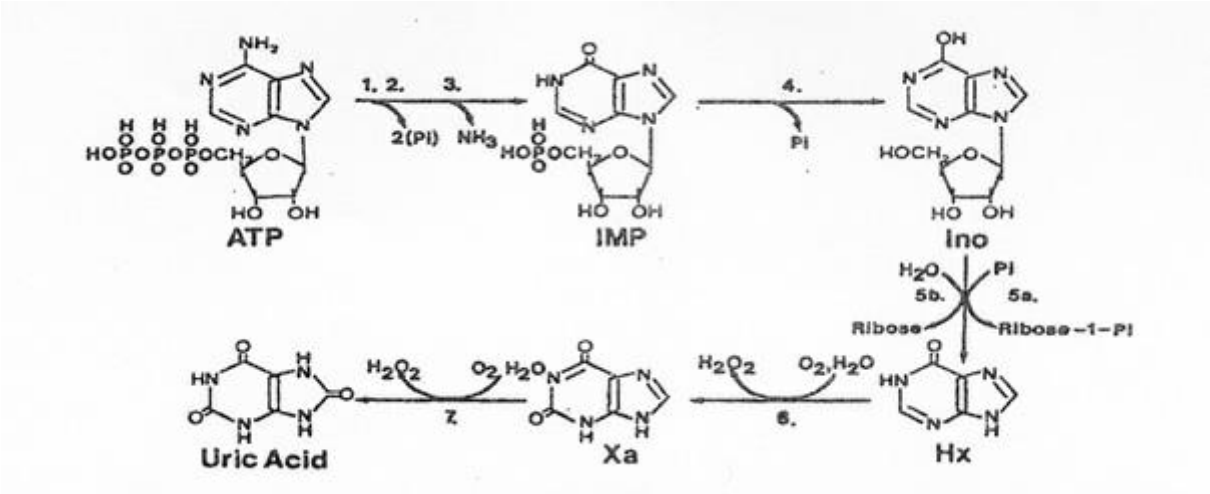
U početnom dijelu prve faze (faza pojačanog lučenja sluzi i postmortalne ukočenosti), odnosno neposredno nakon izlova, dolazi do pojačanog lučenja sluzi. Uobičajeno je koža žive i zdrave ribe pokrivena tankim slojem bezbojne sluzi koja organizam štiti od vanjskih negativnih utjecaja te predstavlja prvu liniju njegove obrane. Po uginuću se sluz pojačano luči kao reakcija na stresne uvjete. Što je riba bila izložena većem stresu, to će i količina sluzi biti veća. Stajanjem ta prozirna sluz postaje neprozirna i zamućena, a kako se sastoji od mukopolisaharida predstavlja pogodan medij za razvoj mikroorganizama koji uzrokuju kvarenje.

Prestankom izlučivanja sluzi dolazi do drugog dijela prve faze postmortalnih promjena, koju nazivamo mrtvačka ukočenost (*rigor mortis*). Meso je neutralne ili blago kisele pH reakcije. Do ovog kratkotrajnog pada pH dolazi neposredno nakon izlova, što meso čini nepogodnim medijem za razvoj mikroorganizama. Intenzitet pada pH ovisi o jačini stresa kojem je riba bila izložena te ukoliko je intenzivniji utječe i na naboj proteina. Tada dolazi do njihove denaturacije i posljedično smanjenja sposobnosti vezivanja vode (Huss, 1995). Na ovaj način se mijenja i tekstura mesa. Svježe meso postaje vodenasto, a nakon termičke obrade žilavo, što je nepoželjno sa stajališta kvalitete. Korelacija između visine pH i žilavosti mesa, je prema Love-u (1975) negativna.

Kako sami izlov predstavlja stres za organizam, pojačane su mišićne kontrakcije te je ribi potrebno više energije koju dobiva od ATP-a. Ukoliko je intenzitet stresa veći potrebe za ATP-om, odnosno energijom su veće. Uobičajeno, u normalnim životnim okolnostima, ovaj se proces resinteze ATP-a odvija u aerobnim uvjetima. Pri stresu, a i nakon smrti, uslijed nedostatka kisika, započinje anaerobni proces resinteze ATP-a putem glikolize, te ga se proizvodi u puno manjim količinama. U tkivu tako dolazi do nagomilavanja mliječne i piruvinske kiseline te posljedičnog pada pH. Trajanje ove faze ovisi o količini rezervi glikogena, što znači da ukoliko je riba prije smrti izložena intenzivnijem stresu (uznemirenje dovodi do veće potrošnje) i/ili izgladnjivana rezerve glikogena su manje. Za razliku od razlaganja glukoze u aerobnim uvjetima do ugljikovog dioksida i vode uz nastanak AMP-a, krajnji produkt glikolize u anaerobnim uvjetima predstavljaju piruvinska i mliječna kiselina koje zakiseljavaju tkivo. Sniženi pH, uz utjecaj na denaturaciju proteina, aktivira enzime zaslužne za hidrolizu fosfata te se prvo razgradi kreatin fosfat pa potom ATP. Kada ATP padne ispod razine potrebne za razdvajanje kontraktilnih proteina aktina i miozina pri mišićnoj

kontrakciji, nastaje kompleks aktomiozin. Tada mišići ostaju u zgrčenom stanju, te kažemo da je nastupila faza mrtvačke ukočenosti, odnosno *rigor mortis.* Mišić se kontraktira te skrati i stvrdne. Ovaj proces kod riba započinje od glave. Kako je u ovom stadiju riba najsvježija, ovaj stadij potrebno je produžiti skladištenjem odnosno držanjem ribe na niskoj temperaturi od samog izlova (Šoša, 1989).

Razgradnjom ATP-a (slika 2), pH se povećava i mišići omekšavaju te započinje druga faza, faza autolize.



Slika 2. Postmortalna degradacija ATPa kod koštunjača. Enzimi prisutni u reakciji: 1. ATPaze, 2. miokinaze, 3. AMP deaminohidrolaze (ili AMP deaminaze), 4. IMP fosfohidrolaze (5'-nukleotidaze), 5a. nukleozid fosforilaze, 5b. inozinske nukleozidaze, 6.,7. ksantin oksidaze (Gill, 1992; Huss, 1995).

Faza autolize odvija se pomoću hidrolitičkih enzima prisutnih u organizmu (proteaze, amilaze, lipaze i dr.). Pri tome nastaju slobodne aminokiseline, peptidi male molekulske mase, slobodne masne kiseline i sl. Te tvari same po sebi nisu štetne ali čine tkivo, čija je pH reakcija sada alkalna, pogodnim za razvoj mikroorganizama koji će u daljim fazama uzrokovati kvarenje. Meso je samo po sebi u ovoj fazi manje komercijalne prihvatljivosti ali nije pokvareno. Karakterističan primjer proteolitičke autolize je pucanje stjenke probavnog sustava pelagičkih riba uslijed omekšanog tkiva i promijenjene prehrane ljeti. Tada se i bakterije koje se nalaze u probavnom sustavu lakše šire po ostalim tkivima te je i kvarenje brže (Huss, 1995; Huss, 2004).

Autoliza se događa kod svih vrsta riba, ali različitom brzinom. Grubo rukovanje s ribom pri izlovu, nagomilavanje ribe u velikom sloju pri izlovu i skladištenju te drugi nepravilni postupci ubrzavaju autolitičke promjene. Naime, autolitički enzimi nalaze se unutar membrana gdje se prilikom

grubog rukovanja miješa enzim i supstrat što utječe na brzinu odvijanja kemijskih reakcija. Naravno da će ovaj postupak biti brži pri višim temperaturama, s obzirom da je u takvim uvjetima i aktivnost enzima veća.

Nakon faze autolize, kada je tkivo dovoljno razmekšano, nastupa faza bakterijske razgradnje tkiva. Riba se još uvijek ne smatra pokvarenom u ovoj fazi koja se zbiva brzo u sredini bogatoj nebjelančevinastim dušikovim spojevima. Daljom bakterijskom razgradnjom nastaju spojevi neugodnog mirisa i toksičnih svojstava (isparljivi dušični amini, aldehidi, ketoni, esteri, alkoholi, itd) (Šoša, 1989; Parlapani, 2014). Generalno, kako raspadanje tkiva napreduje, povećava se koncentracija hlapljivih dušičnih spojeva (TVB) i hlapljivih organskih spojeva (VOC). Bakterije i bakterijski enzimi, između ostaloga, razgrađuju i trimetilamin-oksid (TMAO) na trimetilamin (TMA) i formaldehid (FA). Karakterističan „riblji miris“ pri kvarenju pripisuje se TMA, dok FA utječe na sposobnost zadržavanja vode u tkivu a time i tvrdoću mesa. Enzimi koji uzrokuju stvrdnjavanje putem FA vezani su uz membranu te postaju najaktivniji pri grubom rukovanju i oscilacijama temperature tijekom hladnog skladištenja (Huss, 1995).

Pored pravilnog rukovanja i održavanja hladnog lanca neposredno nakon izlova, na brzinu ove faze utječe i inicijalni broj mikroorganizama prisutnih na ribi ili u okolišu nakon izlova (Huss, 2004). Na koži ribe nalazi se specifična mikroflora sa pripadajućim enzimima. Broj i raznolikost bakterija na koži ribe ovisi o okolišu iz kojeg je riba ulovljena. Ne uzrokuju sve bakterije kvarenje, što znači da kvarenje proizlazi isključivo od bakterija kvarenja a ne ukupnog broja bakterija. U različitim postmortalnim fazama i u različitim uvjetima skladištenja prevladavaju različite bakterije. One se nalaze i na koži žive ribe, ali imunosustav žive i zdrave ribe ne dopušta prodor mikroorganizama u tkivo. Po uginuću imunosustav nije aktivan te bakterije imaju lakši pristup tkivu (Huss, 1995). Ukupan broj na škrgama i u utrobi iznosi između 10^3 and 10^9cfu (colony forming units)/g (Shewan, 1962), a na koži 10^2-10^7 cfu/ cm^2 (Liston, 1980). Ovisno o staništu iz kojeg potiču, za očekivati je da će različit broj i vrste bakterija biti prisutne na ribi. Generalno, manje bakterija nalazi se kod riba iz hladnih voda a najviše bakterija nalazimo kod riba iz toplih, zagađenih voda. Pritom dominiraju Gram-negativne bakterije iz rodova *Pseudomonas, Moraxella, Acinetobacter, Shewanella* i *Flavobacterium,* ali postoje i Gram-pozitivne kao što su *Bacillus, Micrococcus, Clostridium, Lactobacillus* (Huss, 1995; Huss, 2004). Kako je mikrobna aktivnost glavni uzrok kvarenja ribljih proizvoda riba se mora pohraniti na nisku temperaturu kako bi se spriječio rast bakterija i produžila pre-rigor faza (Huss,1995). Valja napomenuti da održavanje pre-rigor faze ovisi o finalnom tipu proizvoda. Pri različitim temperaturama različiti organizmi su odgovorni za kvarenje (Gram i sur., 1987; Gram i sur., 1990; Liston, 1992). Razlike u kvarenju mikroflore, odnosno početne količine mikroorganizama ne ovise samo o temperaturi već i o pH te

prisutnosti kisika (aerobni ili anaerobnim uvjeti). Kvarenje mesa u aerobnim uvjetima uzrokovano je primarno Gram-negativnim organizmima (npr. *Pseudomonas* spp). Način pakiranja tu igra važnu ulogu jer se u vakumski pakiranim proizvodima kvarenje uglavnom događa zbog Gram-pozitivnih organizama (bakterije mliječne kiseline) koje su otpornije na niže koncentracije kisika i veće koncentracije CO_2. Međutim, mogu se pokvariti i uslijed Gram-negativnih organizama kao što je *Shewanella putrefaciens*. Njen rast i metabolička aktivnost ograničeni su u vakuumiranim proizvodima (Molin, 1983; Dainty i Mackey, 1992).

Uz kvarenje koje je u većini slučajeva posljedica širenja bakterijskih enzima u tkivo, kvarenje može biti i nebakterijsko. Nebakterijsko kvarenje može nastati oksidacijom i hidrolizom masti, te po organoleptičkim svojstvima može i ne mora biti vidljivo, ali je nutritivni sastav značajno promijenjen. Ove promjene značajne su za masniju ribu koju je potrebno zaštiti od direktnog kontakta s kisikom pri skladištenju (Šoša, 1989; Huss, 1995).

3. OCJENA KVALITETE RIBE

Sve metode ocjene kvalitete temelje se na intenzitetu postmortalnih promjena povezanih sa senzorskim, kemijskim, fizikalnim i mikrobiološkim promjenama (Gokoglu i sur., 1998) te se tako i kategoriziraju. Kao što je već spomenuto, brzina tih promjena ovisi o vrsti, veličini ribe, uzgojnim metodama, rukovanju ribom, načinu ulova te skladištenju, a posebice o temperaturi. Do promjena dolazi brže ako je riba podložena stresu prije smrti a brzina odvijanja tih promjena znači brzinu kvarenja (Huss,1995).

1.1.Tržišna kategorizacija ribe po svježini

Kvaliteta ribe određuje se primarno prema senzornim svojstvima te ovisno o kategorizaciji i načinu obrade prema shodnoj vrsti (Kozačinski i sur, 2006). Sukladno propisima EU, riba na ledu gradira se tri kategorije svježine sukladno (EC 2406/96):

- E (ekstra) - riba mora biti bez oštećenja izazvanih pritiskom, ozljedama, krvarenjima i bez prisustva diskoloracija
- A - bez prisustva krvarenja i diskoloracija. Toleriraju se znakovi blagih ozljeda nastalih uslijed pritiska i površinske povrede na vrlo malim dijelovima tijela
- B - mali dijelovi sa značajnijim znacima pritiska i površinskim ozljedama mogu se tolerirati. Riba mora biti bez znakova krvarenja i diskoloracija.

Riba ispod B kategorije smatra se neispravnom za ljudsku konzumaciju. Pored kategorija svježine ova direktiva propisuje i da svaka proizvodna serija (lot) mora sadržati proizvode istog stupnja svježine. Nadalje, prisutnost vidljivih parazita se ne tolerira. Iz navedenog je jasno da se na tržištu

mora nalaziti zdrava i neozlijeđena riba, o čemu treba voditi računa pri uzgoju te pažljivo manipulirati pri izlovu.

1.2.Senzorske i instrumentalne ocjene svježine ribe

Metode za ocjenu svježine ribe dijele se na dvije glavne skupine: senzorske i instrumentalne (Huss, 1995).

1.2.1. Senzorske metode

Svježina ribe kao sinonim kvalitete provode se ocjenom organoleptičkih svojstava, pri čemu se ocjenjuju fizikalne karakteristike (izgled, miris i tekstura). Ove metode možemo podijeliti na diskriminativne i deskriptivne.

Deskriptivne metode se temelje na ocjeni svakog pojedinačnog organoleptičkog svojstva svježe ribe, a zbroj ocjena pojedinačnih značajki predstavlja ukupnu kvalitetu proizvoda. Neke od senzorskih metoda su *Torry Sensory Assessment*, Europska E-A-B metoda, QIM (*Quality Indeks Method*), strukturno skaliranje i profiliranje (Huss, 1995). Torry metoda i QIM koriste zbroj bodova za procjenu vremena (dana) koje je ribe provela na ledu, a QIM služi i za procjenu preostalog roka trajanja (Archer, 2019).

Quality Indeks Method (QIM) je metoda koja je razvijena za svaku pojedinačnu vrstu ribe, te se ocjenjuju zasebno sve pojedinačne karakteristike (npr. izgled očiju, boja i sl.) bodovima od 0 do 3 ili 4 (Jonsdottir, 1992; Huss, 1995). Potom se zbrajaju bodovi i dobiva indeks kvalitete.

Torry metoda također sadrži posebne upute za svaku vrstu ribe, a primjer Torry senzorne procjene nalazi se u tablici 1. Sve metode su razvijene za procjenu ribe koja je procesuirana u skladu s dobrom proizvođačkom praksom, što znači da je skladištena na ledu odmah nakon ulova zbog čega je lako uočiti nepravilnosti povezane sa bržim kvarenjem od očekivanog (npr. uslijed lošeg temperaturnog režima ili grubog rukovanja pri izlovu) (Archer, 2010).

Tablica 1. Primjer "Torry" senzorne procjene sirovog lososa (Archer, 2010).

Bodovi	**Miris**	**Izgled očiju**	**Izgled škrga**

10	Morski, algasti, oštar.	Ispupčene, bistre	Tamno crvene
9	Voćni, cvjetni.		
8	Uljast, svježa trava.		
7	Kvasast.	Plosnate, bistre	Crvenkasto smeđe
6	Zemljan.		
5	Kiselkast, gorak.	Udubljene, zamućene	Smeđe, izblijeđene
4	Gorak, ustajao.		
3	Pokvaren	Udubljene, zamućene, gube boju	Smeđe, izblijeđene, pokrivene žutom sluzi
2	Amonični		
1	Pokvaren, smrdljiv, truo.		

Strukturirano skaliranje daje ocjenjivaču skalu sa različitim razinama intenziteta određenih karakteristika proizvoda (0-10) koje mora opisati pažljivim izborom riječi. Kvaliteta se dijeli u 3 skupine gdje se proizvod koji se nalazi između 2. i 3. skupine smatra neprihvatljivim.
Profiliranje je deskriptivan test s bodovima od 0 do 9, gdje se opisuje jedno svojstvo (izgled, okus i tekstura) sa brojevima od 0 do 9; na kraju se dobije multivarijantna analiza koja sliči na paukovu mrežu (Huss,1995).

Diskriminativni testovi su, primjerice, *triangle* i *ranking* test a određuju postoji li razlika između danih uzoraka. Prilikom *triangle* testa svakom ocjenjivaču se istovremeno daju tri šifrirana uzorka, od koja su dva potpuno ista a treći različit, te on mora prepoznati koji uzorak se ne uklapa. Ovaj test provodi 12 treniranih ocjenjivača, pri čemu svaki dobije iste uzorke, ali poredane prema drugom redoslijedu. Kod *ranking* testa potrebno je šifrirane uzorke poredati prema intenzitetu određene karakteristike (npr. po intenzitetu slanosti) (Huss, 1995).

1.2.2. **Instrumentalne (fizikalne) metode**

Ova skupina metoda zasnovana je na mjerenju promjene svojstava kvalitete ribljeg mesa instrumentima koji mjere određene fizikalne promjene. Tako se primjerice intenzitet postmortalnih promjena može odrediti na osnovu promjene električnih svojstva (vodljivosti) tkiva i kože.

Također je na ovaj način moguće mjeriti promjene pH mesa ili odrediti strukturu tkiva (Huss, 1995; Huss i sur., 2004; Donatović i sur., 2019).

Primjer primjene ovih metoda daje nam istraživanje koje su proveli Donatović i sur. (2019). Autori su istraživali promjenu pH, dielektričnih svojstava i senzorskih pokazatelja svježina lubina, *Dicentrarchus labrax*, koji je pripremljen i pakiran na nekoliko različitih načina te skladišten na različitim temperaturama (4±1°C i 12±1°C). Prve tri skupine ribe, različito tretirane i pakirane, skladištene su na 4±1°C a četvrta skupina na 12±1°C. Prve dvije skupine bile u polusatnoj kupki NaCl-om ali pakirane u različite podloške, dok su druge dvije skupine pakirane direktno s leda. Svježina se ocjenjivala senzorskom metodom na skali od 1 do 5 (5 najsvježija riba; 3-krajnji rok upotrebe) prema metodi Parlapani i sur. (2015). Prema senzorskoj ocjeni svježija riba bila je ona skladištena na nižoj temperaturi; pritom je druga skupina imala najbolje rezultate dok su prva i treća bile na graničnoj vrijednosti. Promjena dielektričnih svojstava mjerena je torimetrom (uređaj koji mjeri električnu vodljivost) i najbrži pad pokazivale su 3. i 4.skupina. Pad senzorskih svojstava nije bio u korelaciji sa promjenom dielektričnih svojstava iz čega se zaključuje da torimetarska mjerenja nisu pouzdani pokazatelji svježine za ribu skladištenu u podlošcima (stiropornim podlošcima obavijenim prozirnom folijom). Najbrži rast pH u mišićima bio je kod četvrte skupine a pratila ga je treća skupina. Najsvježija riba bila je ona s tretmanom polusatne kupke NaCl-om, pri čemu autori smatraju da je tretman s 0,9% NaCl otopinom reducirao inicijalni broj mikroorganizama, uzročnika kvarenja (Donatović i sur., 2019). Pored toga, ta skupina je ujedno skladištena na nižoj temperaturi što potvrđuje da je temperatura skladištenja jedan od najvažnijih čimbenika koji utječu na svježinu ribe (Donatović, 2019; Boziaris, 2014; Šimat i sur., 2009).

1.3.Biokemijske i kemijske metode

Ove metode su korisne za određivanje stupnja kvarenja kod proizvode kada nije potpuno jasno u kojoj se fazi postmortalnih promjena riba nalazi (npr. riba koja je odmrznuta pa se prodaje kao svježa), ili kada je on sukladno senzorskoj ocjeni na granici prihvatljivosti. Neki od pokazatelja kvarenja su jasno vidljivi tek nakon 10-ak dana. Biokemijske istraživanja tijekom skladištenja i kvarenja ribe ukazuju na to da većinu hlapljivih spojeva proizvode bakterije (Schewann, 1962). Najznačajniji su TMA, hipoksantin, sulfa-spojevi, aldehidi, ketoni i esteri. Ugljikohidrati, raspadni produkti ATP-a (inosin i IMP) i neproteinski dušični spojevi služe kao njihovi supstrati. Ovisno o vrsti bakterija kvarenja nastaju pojedini spojevi jer jedino oni mogu proizvesti takvu količinu hlapljivih sastojaka koju je moguće organoleptički zamijetiti (Bojanić i sur., 2009; Konjevod i sur.,

2018). Metoda određivanja TVB (ukupni hlapljivi dušični spojevi) je metoda koja ne pokazuje je li kvarenje bakterijsko ili proteolitičko, ali se iz nje zbog porasta produkata proteolize zaključuje o količini mikroorganizama (Kyrana i Loufovois, 2002). Koristi se za mjerenje ukupnih amina (trimetilamina, dimetilamina, amonijaka i drugih nitrogenih spojeva). Amonijak pritom nastaje deaminacijom aminokiselina i nukleotidnih katabilita (npr adenozin monofosfata - AMP), prilikom skladištenja na ledu. Trimetilamin nastaje raspadom trimetilamin oksida (TMAO) i daje karakterističan "riblji" miris. Redukcija TMAO koja se događa prilikom disanja bakterija mjeri se putem nastalih dimetilamina (DMA). DMA se proizvodi tokom skladištenja na ledu i indikator je denaturacije proteina. Iako redukcijom TMAO nastaje i formaldehid (FA) ne može se kvantificirati jer je vezan za membranu. FA uzrokuje stvrdnjavanje tkiva jer kao što je već spomenuto, pri temperaturnim oscilacijama i lošem rukovanju dolazi do miješanja FA i supstrata (membrane).
Ukoliko nakon kuhanja ribe biokemijskim ispitivanjem utvrdimo pokvarenost kroz količinu prisutnost biogenih amina, to znači da je riba sigurno bila pokvarena i prije jer su biogeni amini termostabilni. Sve kataboličke promjene ne ukazuju samo na reakcije autolize, pa tako raspad nukleotidnih katabolita može ukazivati na autolitičko ili bakterijsko kvarenje. Smatra se da je većina enzima uključenih u raspad adenozin trifosfata (ATP) do inozinfosfata (IMP) autolitička, međutim pretvorba IMP u inozin (Ino) pa hipohsanstin (Hx) je uglavnom posljedica bakterija kvarenja. Napredovanjem kvarenja razina svakog katabolita u tkivu raste i pada, zato se kvaliteta ne smije procjenjivati na razini samo jednog katabolita. Prisutnošću etanola se također utvrđuje kvarenje, jer je etanol metabolit različitih bakterija, koji je također termostabilan a proizvodi se glikolizom ugljikohidrata. Riblji lipidi podložni su oksidaciji nezasićenih masnih kiselina zato je još jedna biokemijska metoda ispitivanja razine kvarenja - mjerenje oksidacijske užeglosti (koje mjeri razinu oksidacije ribljih lipida) - od velike važnosti (Huss,1995).

1.4.Mikrobiološke metode

Mikrobiološke metode služe za procjenu higijene, ali također mogu poslužiti i za ocjenu kvalitete ili svježine hrane. Putem metode utvrđivanja ukupnog broja mikroorganizama *"total count"* odnosno TAC (*Total Aerobic Count*) određuje se ukupan broj bakterija koje na određenoj temperaturi mogu formirati kolonije. Da bi ova metoda odredila sigurnost proizvoda potrebno je znati temperaturni režim i način rukovanja prije uzorkovanja zato što ukupan broj bakterija na proizvodu može biti velik i nekoliko dana prije kvarenja. Određivanje bakterija kvarenja temelji se na činjenici da samo neke bakterije zapravo kvare meso ribe. Neke od tih bakterija su

Shewanella putrefaciens koja stvara kolonije zbog prisutnosti FeS (Levin, 1968; Gram i sur., 1987); bakterije porodice Vibrionaceae također zbog prisutnosti željeza i sumpora; *Pseudomonas* spp. koje kvare tropsku i slatkovodnu ribu; *Photobacterium phosphoreum* koja kvari pakiranu svježu ribu i dr. TAC i određivanje bakterija kvarenja rijetko pokazuju senzorsku kvalitetu i očekivani rok trajanja (Huss i sur., 1974). Kod bijele ribe jedna od glavnih reakcija kvarenja je redukcija TMAO na TMA (Liston, 1980; Hobbs and Hodgkiss, 1982), prilikom čega se dogodi nekoliko promjena (od smanjenja redoks potencijala do povećanja pH i električne vodljivosti). Ovim načinom može se putem supstrata (koji sadržava TMAO) odrediti podložnost ribe kvarenju kroz brzinu redukcije TMAO. Neki autori su mjerili vrijeme prije promjene vodljivosti (Gibson i sur., 1984; Gram, 1985; Jorgensen i sur., 1988) i ustanovili da je to vrijeme obrnuto proporcionalno broju H_2S producirajućih bakterija u svježe spremljenoj ribi pod aerobnim uvjetima. Moguća je i brza procjena broja tih bakterija unutar 8 do 36 h čime lakše možemo odrediti brzinu kvarenja ribe (Huss,1995). U mikrobiološke metode spada i analiziranje humanih patogenih bakterija koje su porijeklom iz okoliša iz kojeg je riba ulovljena, ili koje su rezultat nehigijenskog rukovanja ribom (prljav okoliš nakon izlova ili su na ribu dospjele od samih radnika koji rukuju s ribom tijekom izlova, tansporta, skladištenja ili prerade).

S obzirom da sve ove metode pokazuju različite promjene, vrlo često se za ocjenu kvalitete provodi više metoda paralelno. Takav je primjer istraživanje Parlapani i sur. (2014), koji su primjenom analize promjene kemijskih i mikrobioloških pokazatelja svježine istraživali rok trajnosti lubina (*Dicentrarchus labrax)* skladištenog na 2°C koji je bio pakiran na dva različita načina: na zraku (u aerobnim uvjetima) i u modificiranoj atmosferi (MAP). U ovom slučaju, kod MAP pakiranja, omjer plinova bio je CO2: 60%, O2: 10%, N2: 30%. Ispitane su mikrobiološke i senzorske značajke te promjene ukupnih amina (TVB-N), trimetila nitrogena (TMA-N) i hlapljivih organskih spojeva (VOC). Ovim metodama ustanovio se indeks kemijskog kvarenja (CSI) koristeći plinsku kromatografiju i masenu spektrometriju (SPME/GC-MS). Prema senzorskoj ocjeni rok trajanja lubina u aerobnim uvjetima bio je 9 dana, a u MAP pakiranjima 13 dana. *Pseudomonas* i sulfid reducirajuće bakterije bile su među dominantnim bakterijama kvarenja kod oba načina pohrane, dok je kod MAP-a bilo i mnogo bakterija mliječne kiseline (LAB) i *Brochothrix thermosphacta*. Poznato je da kemijsko kvarenje uzrokuju TVB-N i TMA-N spojevi koji su se značajno povećali u kasnijim fazama skladištenja ili nakon odbijanja proizvoda, ali djelovanje mikroorganizama i kemijska aktivnost proizveli su mnogo hlapljivih organskih spojeva (VOC) kao što su aldehidi, ketoni, esteri, alkoholi itd. Razina VOC spojeva mikrobnog podrijetla narasla je tokom

skladištenja, iz čega se moglo zaključiti da su oni jedni od uzročnika kemijskog kvarenja (Parlapani, 2014).

4. POSTUPCI KOJE JE MOGUĆE PRIMIJENITI U UZGOJU ILI TIJEKOM I NAKON IZLOVA KAKO BI SE UNAPRIJEDILA KVALITETA RIBE

4.1. Postupci usmjereni na očuvanje kvalitete tijekom uzgoja

Uzgojne tehnologije u akvakulturi dijele se generalno na ekstenzivne (male nasadne gustoće i bez dodatnog hranjenja), semi-intenzivne (nešto veća nasadna gustoća, uzgoj zasnovan na prirodnoj hrani ali uz dodatno prihranjivanje) i intenzivne sustave (velika nasadna gustoća, umjetna hrana). Prema dizajnu, najjednostavniju podjelu predstavlja podjela na sustave koji koriste stajaću (stagnantnu) vodu, sustave s protočnom vodom, recirkulacijske sustave (RAS) te kombinirane sustave. Bez obzira o kojem se tehnološkom tipu sustava radi, sustav bi trebao osigurati optimalnu uzgojnu sredinu za tu vrstu ribe što znači da bi uzgojna sredina (sami izgled i kvaliteta vode) trebala biti održavana u optimalnim uvjetima za datu vrstu. Pored toga, svaka manipulacija ribom trebala bi biti oprezno izvedena kako bi se izbjegao dodatni stres ribe. Također, kako bi se spriječile bolesti, higijenske mjere trebalo bi maksimalno poštivati (Gavrilović i Jug-Dujaković, 2019; Conte, 2004; Baluyut, 1989). Iz svega do sada navedenoga proizlazi da će kvaliteta ribe biti veća i da će se postmortalne promjene odvijati sporije ukoliko se jedinke što manje izlažu stresu, odnosno kvaliteta ribe je veća kada njihova dobrobit nije ugrožena.

4.1.1. Stres

Stres je stanje u kojem organizam nastoji održati ili povratiti normalne fiziološke funkcije (homeostazu) koje su narušene zbog djelovanja različitih štetnih čimbenika (Fijan, 2006). Homeostazu je moguće je poremetiti djelovanjem brojnih čimbenika, koje nazivamo stresori. Nagla i dugotrajna izloženost stresorima ugrožava dobrobit i zdravlje riba. Svi stresori sijele se na:

- fizikalne,
- biološke,
- kemijske
- proceduralne.

Fizikalne stresore predstavljaju promjena temperature, svjetlo ili boja koja ne odgovara ribi, jaki zvukovi, prezasićenost vode određenim plinovima ili nedostatak istih (posebice kisika) i dr. Biološke stresore predstavlja gustoća populacije (gustoća nasada, veličina uzgojnog prostora), socijalni odnosi (reakcija bijega, agresija) te zarazne i nametničke bolesti. Kemijske stresore predstavlja neodgovarajući sastav ili promjena svojstava vode (pH, salinitet, konc.organske tvari), visoke koncentracije ribljih izlučevina (amonijak, nitrit), neodgovarajući ili promijenjen sastav hrane i lijekovi. Pod proceduralne stresore spada manipulacija ribom prilikom uzgoja (premještanje, sortiranje i sl.), izlova i transporta te tretman bolesti (Shoemaker i sur., 2001).

Stres dovodi do poremećaja osmoregulacije (propusnost kože i škrga za vodu i ione) što posljedično vodi do poremećaja metabolizma tih tvari; oslabljenosti imuno-sustava (nakon stresa ribe su prijemčljivije za bolesti što dovodi do većeg mortaliteta); te poremećaja reprodukcije (kasnije ili nepravilno sazrijevanje spolnih produkata, smanjenja brojnosti ikre i mliječi te bolesti i uginuća neposredno nakon mrijesta). Iz svega navedenoga je jasno da svi stresori djeluju na potrošnju glikogena što će ubrzati postmortalne promjene, promijeniti kemijski sastav mesa te izgled samog proizvoda. Primjerice, riba oštećena uslijed bolesti ili grube manipulacije neće biti poželjna za tržište (Huss i sur, 1995; Huss i sur. 2004).

Važno je napomenuti da ribe imaju sposobnost prilagodbe ovisno o vrsti, razvojnom stadiju i temperaturi vode. Primjerice, pri naglim promjenama temperature vode stres se može umanjiti postupnim privikavanjem. Normalne promjene u prirodi rezultiraju prilagodbom ribe dok akutni i kronični stresori dovode do bolesti, usporenog rasta i uginuća. Akutni (jaki) stresori mogu biti kumulativni a primjera ovakvih stresora u akvakulturi ima mnogo, nakon čega izbijaju akutne virusne i bakterijske bolesti, čiji su uzročnici mirovali u ribi. Neki od kroničnih stresora mogu biti socijalni stresori koji se događaju pri uzgoju u neprirodnim uvjetima a događaju se kao posljedica izdvajanja jedinke iz jata ili neujednačenosti jedinki u uzgojnoj sredini (sprječava se sortiranjem jedinki kako bi se dobila njihova ujednačenost), koja će za posljedicu imati uzimanje više hrane od strane dominantnijih jedinki, agresiju te smanjen ukupan prirast. Odgovori organizma na stres

kreću od promjena ekspresije hormona i neuroendokrinih odgovora (primarni odgovori); respiratornih, imuno, metaboličkih i drugih promjena (sekundarni odgovori); smanjenog rasta, kondicije, otpornosti te poremećene reprodukcije i abnormalnog ponašanja (tercijarni odgovori). Primarni odgovori utječu na sekundarne a sekundarni na tercijarne. O stresu treba voditi računa pri izboru prostora, tehnologije, lokacije i specifičnosti zahtjeva za vrstu. Razni stresori dovode do smanjenja dobrobiti, što je često moguće vidjeti u ponašanju ribe, koje ujedno predstavlja indikator stresa, odnosno smanjene dobrobiti (Martins, 2012; Dawkins, 1998; FSBI, 2002; Dawkins, 2003; 2004; Cutts i sur., 2002).

4.1.2. **Dobrobit**

Dobrobit se temelji na biološkoj funkcionalnosti koja uključuje fiziološke odgovore na stres i emocionalno stanje životinje (mogućnost pozitivnih i negativnih emocija (Duncan, 2005). Dakle, ako se riba ponaša prirodno te fiziološki normalno funkcionira i ukoliko je zdrava, možemo pretpostaviti nenarušenu dobrobit. Neprilagođen okoliš narušava dobrobit (Segner, 2019). Osim kvalitete vode, ostale prakse i metode uzgoja mogu utjecati na dobrobit. Potrebno je dobro poznavati zahtjeve vrste i životnog stadija jedinki te takve uvjete i osigurati. Također je potrebno poznavati normalno ponašanje uzgajane vrste kako bi se uočile moguće promjene u ponašanju. Osoblje mora biti obrazovano i odgovorno glede uočavanja neobičnog ponašanja, znanja o sustavu uzgoja i reagiranja na mogući problem (Segner, 2019).

Gustoća nasada (biomasa ribe po jedinici volumena tj. kg ribe/m^3) je također važan čimbenik za održavanje dobrobiti jer može prouzrokovati velike količine stresa ne samo zbog nemogućnosti kretanja već i zbog narušavanja već spomenutog važnog faktora – kvalitete vode. Idealna gustoća nasada ovisi o vrsti koja se uzgaja, životnom stadiju jedinki i kvaliteti vode koju je tehnološkim mjerama moguće optimizirati u uzgojnom sustavu. Ukoliko je stopa izmjene vode velika, određeni sustav može podnijeti puno veće gustoće nasada nego pri niskom protoku. Ona utječe na rast jedinki, socijalne interakcije (agresije) te kako broj jedinki može biti veliki na malom prostoru utječe i na brzinu prijenosa uzročnika bolesti. Premala kao i prevelika gustoća nasada mogu ugroziti dobrobit.

Nadalje, uzgojni okoliš mora biti dobro tehnički prilagođen zahtjevima uzgoja. Jedna od pet sloboda propisanih od strane FAWC (FAWC, 1996) je sloboda izražavanja normalnog ponašanja pružanjem dovoljno prostora i uvjeta za uzgoj unutar uzgojne jedinice. Čišćenje uzgojnih jedinica mora se obavljati jednostavno i redovito, a okoliš mora onemogućiti oštećenja kože i peraja. Vanjski stresori pritom moraju biti minimalizirani a uzgojna jedinica zaštićena od predatora i

grabežljivaca (ptica). Mora se raditi redovita prevencija bolesti i dezinfekcija te kontrolirati mogući poremećaji.

Na uzgojnom mjestu potrebno je voditi računa o prevenciji bolesti. To se čini odvajanjem zaražene ili uginule ribe te raznim kupkama (npr. NaCl-om, formalinom). Tijekom uzgojnog procesa obavljaju se brojni zahvati koji utječu na dobrobit ribe i posljedičnu kvalitetu mesa. Primjerice, prijenos riba unutar sustava uzgoja, između uzgojnih područja ili transport i rukovanje prije stavljanja na tržište utječu na dobrobit. Osjetljivost na rukovanje posebno ovisi o temperaturnom režimu prilikom transporta i skladištenja, higijenskoj praksi te korištenju površina koje ne oštećuju ribu (Segner, 2019). Nadalje, klanje mora biti organizirano kako bi smanjilo trajanje i intenzitet stresa zato što može jako utjecati na dobrobit ribe i kvalitetu mesa. Prije klanja ribu je potrebno omamiti (anestezirati) a način na koji će se to učiniti ovisi o odabranoj metodi uzgojnog mjesta. Neke metode klanja mogu dovesti ribu do velikog stresa ukoliko nije omamljena (Marx sur.,1997).

4.1.2.1. Ponašanje kao indikator dobrobiti

Indikatori ugrožene dobrobiti iskazom promjene u ponašanju proizlaze iz načina suočavanja sa stresom. Indikatori ponašanja su neinvazivni i rani pokazatelji potencijalnih problema dobrobiti. Pri procjeni indikatora ponašanja mora se poznavati već spomenuta granica normalnog i abnormalnog ponašanja (koja uključuje vještinu promatrača) (Martins, 2012). Pitanje je dali abnormalno ponašanje direktno pretpostavlja smanjenu dobrobit ili odgovore prilagodbe bez posljedica na dobrobit (Dawkins, 1998; FSBI, 2002; Dawkins, 2003, 2004). Jedini način ustanovljavanja granice tih ponašanja je procjena empirijskim testovima (Dawkins, 1998; Cutts i sur., 2002). Priroda ponašanja vrste ne utječe nužno na dobrobit zato što ribe i u zatočeništvu reagiraju instinktivno (npr. izbjegavanje predatora unutar zaštićenog područja) (Dawkins, 1998, 2003, 2004; FSBI, 2002). Postoje autonomni odgovori na aktivnost i uzbuđenje kao što je oslobađanje kortizola, koji ne ukazuju nužno na lošu dobrobit, te na njih mogu utjecati različiti parametri (Dawkins, 1998; FSBI, 2002).

Pri ocjeni ponašanja, mora se razlikovati individualno i grupno ponašanje, što znači da jedinka ne predstavlja grupu i obrnuto. Koolhaas i sur. (1999) su definirali način suočavanja sa stresom kao korelirani niz fizioloških i bihevioralnih značajki konzistentno povezanih kroz vrijeme i situacije, koji definiraju sposobnost organizma da se suoči sa stresom. Postoje dva tipa suočavanja sa stresom: proaktivno i reaktivno. Prvo je aktivno suočavanje, odnosno borba a karakterizira ga niska proizvodnja kortikosteroida (npr.kortizola); drugo je pasivno suočavanje, odnosno povlačenje, a karakterizira ga visoka proizvodnja kortizola, odnosno hormona stresa. Ove dvije skupine se mogu

još definirati kao "high responsive" (HR linije) ili "low responsive to stres" (LR linije) (Martins, 2012). Razlikuju se u kompetitivnosti (agresija), a Pottinger, Trenzado i sur. (2006) otkrili su razlike u stopi rasta između tih skupina. Overli i sur. (2006a) zaključili su da proaktivna skupina uglavnom dobiva borbe za socijalnu dominaciju, te nakon jednom uspostavljene hijerarhije imaju lakši pristup hrani, bolju efikasnost hranjenja, te posljedično bolju stopu rasta. Ova skupina će također prije pobjeći iz kaveza ukoliko joj se pokaže prilika (Hansen i sur., 2008). Ukoliko nešto ugrozi reaktivnu skupinu riba, ona će otplivati i propustiti hranu, te će prije sljedećeg hranjenja usporediti rizik od agresije i nagradu od hranjenja te tako promijeniti vrijeme, mjesto i količinu hranjenja. Proaktivna i reaktivna skupina razlikuju se i prema podložnosti na bolesti i upalne reakcije. Naime, reaktivna je skupina više podložna bolestima.

Jedan od indikatora ugrožene dobrobiti ponašanjem je traženje hrane ("foraging behaviour") zato što je smanjenje apetita jedan od glavnih uzroka smanjenja rasta usred izloženosti stresu (Martins, 2012). Sanchez i sur. (2009) primijetili su promjenu ponašanje i fiziologije uslijed promjene rasporeda hranjenja komarče (*Sparus aurata*) a Martins i sur.(2009) povećanu lokomotornu aktivnost i „zahtijevanje“ hrane pred hranjenje kod nilske tilapije (*Oreochromis niloticus*), što je dovelo do ozljeda peraja. Sljedeći indikator ponašanja je aktivnost disanja koja se karakterizira kao količina prolaska vode kroz škrge po jedinici vremena a važna je za opskrbu kisikom. Ukoliko je aktivnost disanja (broj disajnih pokreta) povećana, jasno je da je riba izložena određenom stresoru. Aktivnost disanja ovisi i o količini otopljenog kisika i ugljikova dioksida u vodi. Povećana aktivnost disanja može dovesti do gušenja ribe. Ograničen teritorij u uzgojnoj jedinici tjera ribe na agresiju jer povećava kompetitivnost za resurse. Razina agresije mjeri se prema broju lezija na koži (Almazan-Rueda i sur., 2004; Canon Jones i sur., 2010). Dominacija se uspostavlja putem napada (ugriza) ili submisije ovisno o spolu, veličini, dostupnosti hrane i hrabrosti. Uspostavljen socijalni status važan je za stabilnost grupe i individuu (Fox i sur., 1997). Agresiju se pritom može umanjiti stavljanjem manje velikih riba unutar grupe malih riba (Adams i sur., 2000) te režimom hranjenja kao kod atlantskog lososa (Andrew i sur., 2002). Daljnji indikator ponašanja je aktivnost plivanja jedinki koja je potrebna za hranjenje i reprodukciju (Beamish, 1978; Manciocccо i sur., 2004). Svaka aktivnost plivanja povezana je s određenim plivaćim ponašanjem. Mjeri se putem kritične brzine plivanja (U_{crit}) koja pokazuje fiziološko stanje ribe (Wolter i Arlinghaust, 2004), te putem elektromiograma (EMG) ili fizioloških telemetrijskih senzora koji mjere mišićnu aktivnost i procjenjuju oporavak. Na aktivnost plivanja prije svega može utjecati kvaliteta vode, npr. hipoksija kod nekih vrsta može smanjiti a kod drugih povećati aktivnost plivanja (Crocker and Cech, 1997; Schurmann and Steffensen 1994; Herbert and Steffensen 2005). Koprcanje na površini ili potpuna letargija znak su prisustva patogena i parazita

(Warren, 1982; Barber, 2006). Zanimljivo je da nakon transporta dolazi do značajne promjene u plivanju uz povišenu razinu trošenja kisika, čak i nakon vremena oporavka . Aktivnost plivanja jedinki treba razlikovati od aktivnosti plivanja grupe. Aktivnost plivanja grupe obuhvaća prostornu raspodjelu, strukturu jata, horizontalnu i vertikalnu raspodjelu grupe, brzinu i smjer plivanja te polarizaciju (Martins, 2012). Npr. gustoća jata i dubina plivanja lososa može se manipulirati umjetnim svjetlom (Juell i sur., 2003; Juell i Fosseidengen, 2004). Uzgojne vrste se odabiru zbog mogućnosti razvoja pri velikim gustoćama nasada a jedinka pritom mora ponašanje prilagoditi grupi kako bi izbjegla sudare. Jedinke obično obitavaju na području boljih okolišnih uvjeta što dovodi do velike gustoće na jednom području i guranja manje kompetitivnih jedinki u lošije područja kaveza/bazena što može promijeniti okolišne uvjete tako da smanji cirkulaciju vode i poveća potrošnju kisika što može uzrokovati hipoksiju (Juell, 1998; Johanson i sur., 2006; Oppedal i sur., 2007). Neke od vrsta koje ne podnose dobro velike gustoće nasada su lubin (Vazzana i sur., 2002; Gornati i sur., 2004), jezerska zlatovčica (Jorgensen i sur., 1993; Ellis i sur., 2002), kalifornijska pastrva (Ellis, 2002; Ellis i sur., 2002), atlantski losos i iverak (u odraslom stadiju) (Greaves i Tuene, 2001; Kristiansen i sur.,2004). Nadalje, stresor može natjerati ribu da naglo posegne za dnom bazena ili kaveza što ju izlaže akutnom stresu (Stien i sur., 2007; FAST FISH 2009; Bratland i sur., 2010) a u situaciji akutnog stresa riba se ponaša na temelju kopiranja jedinki u jatu (Fore i sur., 2009). Tako se u kavezima lososa mogu promatrati specifične strukture (npr. oblik tornada) formirane kao reakcija na signal stresa koje se mogu proširiti i na neugroženu ribu (Martins, 2012).

Prisustvo parazita može također djelovati na ponašanje riba (Barber, 2006). Ribe infestirane parazitima često se trljaju ili češu uz čvrsti supstrat (Clayton i sur., 1998). Postoje i drugi indikatori dobrobiti kroz ponašanje, a neki od primjera će biti navedeni u nastavku. Primjerice, prikaz dobrog zdravlja je odgovor ribe na zvukove ili signale vezane uz hranjenje. Supstrat i pozadinska boja mogu utjecati na agresivno ponašanje nekih vrsta (O'Connor i sur., 1999; Hoglund i sur., 2000, 2002; Merighe i sur., 2004). Korištenje tamnog supstrata smanjuje agresiju jezerske zlatovčice, *Salvelinus alpinus* (Hoglund i sur., 2002). Također, kada je pagar (*Pagrus pagrus*) u prevelikoj nasadnoj gustoći u bazenima s različitom pozadinskom bojom pokazao je manje odgovora na stres pri svjetlijim pozadinama nego pri tamnim (Rotllant i sur., 2003; Van der Salm i sur., 2004). Nadalje, hranjenje i obogaćivanje okoliša tijekom mrijesta može povećati stope preživljavanja uzgojnog atlantskog lososa (Salmo salar, L.Brown et at., 2003) i kraljevskog lososa (Oncorhynchus tshawytscha, Maynard i sur., 1996) nakon puštanja u divlje populacije. Što se tiče dominacije i agresivnog ponašanja mlađ uzgojena u obogaćenom okolišu biti će sličnija divljoj ribi nego uzgojnoj (Berejikian i sur., 2000, 2001).

Primjeri promijenjenog ponašanja u vidu vertikalne migracije u stupcu vode prilikom plivanja utvrđeni su kod atlantskog halibuta (Kristianses i sur., 2004), a javljaju se pri visokoj nasadnoj gustoći. To je vrsta koja obitava na površini jedino ukoliko se strujom prenosi na veće udaljenosti. Problem kod uzgoja bio je što je uslijed velikih gustoća nasada dno bilo prekriveno od 100 do 300%. (Greaves, 2001). Takva pokrivenost dna gdje se jedna jedinka nalazila povrh druge uzrokovala je veći broj kretnji pri čemu su jedinke često napuštale dno i plivale 3 do 5 sekundi. Kompeticija je smanjila motivaciju za hranom a jedinke koje su više vremena provodile na površini imali su manju motivaciju za hranom i manju stopu rasta, što je jasan indikator loše dobrobiti. Nadalje, ponašanja opisana kao abnormalna ili na neki način indikativna, utvrđena su kod atlantskog lososa – kružno kopanje u kavezu (Kristiansen i sur., 2004) i mozambičke tilapije – kopanje vakuumskih jama kada se nalazi u odsustvu supstrata (Galhardo i sur., 2008; Kristianses i sur., 2004), što znači da prilagodba okoliša nije obavljena sukladno zahtjevima uzgajane vrste. Finalno, dobrobit ribe i umanjivanje mogućih stresora glavne su odrednice kvalitete budućeg proizvoda zato što stresori vode do fizikalnih i kemijskih promjena mesa ribe te utječu na brzinu nastanka *rigor mortis*.

4.1.3. **Održavanja optimalne kvalitete vode u uzgojnom sustavu kao osnovna tehnnološka mjera za izbjegavanje stresa u uzgoju**

S obzirom da su brojne tehnološke mjere i postupci koje potrebno poduzeti kako bi se stres što je moguće više izbjegao i time unaprijedila kvaliteta proizvoda već spomenute, ovdje će biti detaljnije razrađen najčešći uzročnik stesa u uzgojnim sustavima - kvaliteta vode. Stoga je njezinom održavanju tehnološkim mjerama potrebno posvetiti posebnu pažnju (Shoemaker i sur., 2001; Gavrilović i Jug-Dujaković, 2020). Ovaj je čimbenik od iznimno velike važnosti pri uzgoju ribe jer loša kvaliteta može narušiti zdravlje i stopu rasta ribe (Post, 1987; Klontz, 1993; Masser i sur.,1999). Važno je održavati optimalna fizikalna i kemijska svojstva vode jer se ona mogu lako poremetiti. Kontroliranje temperature je jedan od važnijih faktora jer njezina kolebanja mogu utjecati na ponašanje, hranjenje, rast i reprodukciju. Povećanjem preferencijalne temperature metabolizam ribe se ubrzava, a optimalna temperatura ovisi o vrsti ribe. Ribe hladnih voda (npr. losos i pastrva) preferiraju 9-18°C, ribe umjerenih (američki grgeč) 16-29°C a ribe toplih voda (som i tilapija) 24-32°C (L.Towers, 2015). Vodu jako mogu onečistiti i feces riba, nepojedena hrana te druge krute tvari suspendirane u vodi. Feces riba može posebno narušiti kvalitetu vode zbog visokog udjela dušika koji može oštetiti škrge. Nadalje, turbiditet nastao od sitnih

sedimentnih čestica može zamutiti vodu, zbog čega je poželjno birati sediment koji se taloži i ostaje na dnu (zbog težine i veličine čestica). Prevelika količina algi i fitoplanktona u sustavu također igra ulogu, a može dovesti do prevelike proizvodnje pa zatim pomanjkanja kisika (Towers, 2015). Koncentracija otopljenih plinova (kisika, ugljikovog dioksida, dušika, amonijaka) također mora biti kontrolirana. Količina potrošenog kisika ovisi o metaboličkoj aktivnosti ribe, njenoj veličini i vrsti te temperaturi na kojoj je uzgajana. Tako će prugasti grgeč uzgajan na 25°C potrošiti puno više kisika (Lewis i sur., 1981) nego losos uzgajan na 14°C (Meade, 1974). Količina kisika koja se može otopiti u vodi smanjuje se povećanjem temperature i saliniteta, a da bi se održao konstantan rast riba se mora uzgajati pri optimalnoj razini otopljenog kisika. Koncentracija otopljenog kisika manja od 55 ppm uzrokovat će stres kod riba a koncentracija manja od 2 ppm može uzrokovati smrt. Neke vrste mogu preživjeti takav pad otopljenog kisika, no to nije slučaj kod svih riba. Ukoliko je koncentracija otopljenog kisika visoka, riba može podnijeti koncentracije otopljenog ugljikovog dioksida od 10 ppm, iako je optimalna razina ispod 5 ppm. U intenzivnim uzgojnim sustavima količina otopljenog kisika može varirati od 0 do 15 ppm, a u recirkulacijskim može preći i 20 ppm, što može remetiti iskorištavanje kisika. U takvom slučaju, riba može uginuti bez vidljivih znakova jer dolazi do oslobađanja mjehurića dušika iz vode budući da mu je topljivost u vodi niža od topljivosti kisika te se prvi oslobađa iz supersaturirane otopine. Takvi mjehurići uzrokuju bolest „mjehurićavost“, a moguće ju je spriječiti adekvatnom (u ovom slučaju nižom) aeracijom uzgojnih jedinica. Riba uz ureu izlučuje i amonijak koji se može pojaviti u dva oblika: NH_3 (neionizirani amonijak,nitrat, toksičan) i NH_4^+ (ionizirani amonijak, netoksičan). Opasnost od nakupljanja amonijaka događa se zbog visokih gustoća nasada a češći je kod recirkulacijskih sustava u kojima se voda pročišćava i reciklira, i to u slučaju kada biofilter sustava nije dovoljno efikasan. Uz dovoljno poznavanje tehnologije, moguće je preraditi toksičan u netoksičan oblik putem prirodnih procesa. Nakupljeni amonijak se tijekom procesa nitrifikacije prevodi u manje toksičan spoj – nitrat, koji čini odličnu podlogu za razvoj bakterija. Nitrati rastu s rastom temperature i pH, a razina na kojoj postaju toksični ovisi o vrsti (Towers, 2015). Nadalje, prevelika koncentracija ugljikovog dioksida, osim što remeti iskorištavanje kisika, remeti pH sustava. Ravnotežu pH je teško održati bez nekog načina skladištenja ugljikovog dioksida proizvedenog disanjem riba i algi/fitoplanktona, zbog čega se koristi puferiranje. pH se određuje prema količini vodikovih iona (H^+) u vodi. Bitno je da voda ima alkalne, odnosno lužnate karakteristike, odnosno da je sposobna neutralizirati kiseline bez povećanja pH. To ovisi o količini karbonata (CO^{-3}) i bikarbonata (HCO^{3-}), te u nekim slučajevima hidroksida (OH^-). Karbonati i bikarbonati mogu skladištiti ugljikov dioksid bez da onemoguće fotosintezu te posljedično proizvodnju kisika u sustavu, te se pomoću njih izbjegavaju oscilacije pH u uzgoju. Bez puferiranja ugljični dioksid će

stvoriti velike količine karbonatne (ugljične) kiseline koja može smanjiti pH preko noći a povećati preko dana zbog konzumacije od strane fitoplanktona, odnosno pojačane fotosinteze. Takve oscilacije će povećati mortalitet jer većina vrsta živi unutar uskog raspona pH. U recirkulacijskim sustavima, gdje nema fotosinteze, sustav puferiranja može spriječiti preveliko nakupljanje ugljičnog dioksida koji će uzrokovati pad pH i mortalitet. Danas su za eliminaciju ovog plina iz sustava razvijeni i uređaji koje nazivamo degasatori ili otplinjivači (Gavrilović i Jug-Dujaković, 2019; 2020). Nekim slatkovodnim vrstama je potreban alkalitet u vrijednosti 20 ppm dok je drugim potrebno do 100 ppm. Za sprječavanje takvih oscilacija vodama sa niskim alkalitetom može se dodati vapno. U slatkovodnom uzgojnom sustavu, umjesto saliniteta, bitna je i tvrdoća vode. Tvrdoća vode ovisi primarno o kalciju i magneziju iako može ovisiti i o nekim drugim elementima. Kada je tvrdoća vode slična ukupnom karbonatu (karbonati + bikarbonati) govorimo o karbonatnoj tvrdoći, a ukoliko prelazi te vrijednosti govorimo o nekarbonatnoj tvrdoći. Vrijednosti tvrdoće vode trebale bi biti oko 20 ppm. Neki od ostalih metala mogu stvarati probleme u uzgojnoj sredini, što se može spriječiti tretiranjem vode prije ulaska u uzgojni prostor (Towers, 2015). Brzina protoka vode u uzgojnom sustavu (stopa izmjene vode po uzgojnoj jedinici) je kritična odrednica kvalitete jer omogućuje opskrbu svježim kisikom te razrjeđuje i raspršuje metabolički otpad. Brzina i smjer protoka vode mora biti postavljena na način da se sva voda redovito mijenja i nema dijelova rezervoara u koje voda slabo ili uopće ne pristiže, čime se izbjegava nakupljanje amonijaka, fekalija, nepojedene hrane i omogućava visok sadržaj kisika u svim dijelovima rezervoara. Uzgojna oprema u intenzivnim, zatvorenim sustavima, uglavnom sadrži senzore i sustavne alarme koji upozoravaju na nepravilnosti u rezervoarima, zato što jedno naglo pogoršanje kvalitete vode može dovesti do velikih gubitaka (Segner, 2019). Možemo zaključiti da je kvaliteta vode glavni parametar za suzbijanje stresa, te parazita i nakupljanja bakterija te time utječe na dobrobit ribe i kvalitetu proizvoda.

4.2.Postupci za očuvanje kvalitete tijekom i nakon izlova

Nakon ulova ribu je potrebno što prije ohladiti. Rok trajanja ribe se produžuje skladištenjem na niskim temperaturama a može se izračunati pomoću RRS (relative rate of spoilage) modela. RRS pruža uvid u dužinu trajanja svježine ribe ovisno o temperaturi na kojoj je skladištena. Rukovanje ribom naprednije je u industrijskom gospodarstvu no što je u malim tvrtkama. Vrlo često, iako je početna kvaliteta ribe malih tvrtki bolja, riba je jeftinija jer traje kraće. Industrijski

izlov (veći uzgojni i izlovni kapaciteti) često omogućava bolju tehnologiju (brži izlov, brže hlađenje, dostatne količine leda, umanjuje se pretrpavanje ribe u izlovnim posudama, poštuje se hladni lanac tijekom transporta i prerade, adekvatnije pakiranje i sl.).

Prijenos ribe iz mreža na brod ili mjesto izlova se može obaviti hidrauličnim podizanjem mreža i P/V pumpama koje uvlače ribu zajedno s vodom pomoću vakuuma. Nakon izlova ribu je potrebno sortirati, očistiti i neprekidno dalje hladiti. U marikulturi se za izlov najčešće primjenjuju baje s ledom. Ovakav način izlova ujedno predstavlja krioanesteziju, odnosno omamljivanje ledom. Hlađenje omogućava i usporavanje metabolizma ribe kako bi one manje onečišćivale spremnik svojim izlučevinama, što bi dalje inače pogodovalo razvitku bakterija. Nadalje, izlučevine predstavljaju amonijak i nitrite koji "guše" ribu odnosno otežavaju uzimanje kisika što kasnije povećava mortalitet (Huss, 1989).

Često se hlađenje ribe obavlja pomoću tehnologije djelomičnog zamrzavanja putem "Frigido sustava", gdje je omjer ribe i leda 3:1, a kada je na morskim uzgajalištima radi se korištenjem rashlađene morske vode (RSW- Refrigerated Sea Water). RSW sustavi su korisni jer smanjuju pritisak na ribu do kojeg dolazi prilikom stavljanja ribe u izlovne posude za hlađenje (Nelson i Barnett, 1973). Pri tome je točka ledišta smanjena zbog prisutnosti NaCl. Riba se može ohladiti i CSW sustavima (Chilled Sea Water), gdje se led dodaje morskoj vodi. Metoda djelomičnog zamrzavanja nije pogodna za sve vrste riba zato što im smanjuje kvalitetu stvaranjem određenog postotka zaleđene vode. Postotak zaleđene vode u tako skladištenoj ribi ovisi o temperaturi (npr. na -1°C bit će 19% a na -4°C i do 76%) (Ronsivalli i Baker, 1981). Djelomično zaleđivanje može dovesti do stvaranja kristala leda, denaturacije proteina i povećane enzimske aktivnosti (Love i Elerian, 1964).

Pored već opisane krioanestezije, odnosno omamljivanja ledom, riba se može omamiti manualno (udarcem po glavi, ubodom u vrat), strujom ili anesteziranjem pomoću CO_2. U istraživanju Marx i sur.(1997) istražio se utjecaj metode omamljivanja kod tri slatkovodne vrste (jegulje, šarana i pastrve) te se ustanovilo da manualno omamljivanje daje najbolju senzornu kvalitetu. Međutim, takvo je omamljivanje s druge strane dugotrajno i pri industrijskom izlovu moguće samo kod malog broja velikih riba, kao npr. tune.

Brzo hlađenje može umanjiti posljedice smanjenja kvalitete koje se događa prilikom lošeg rukovanja ribom . Kraći rok trajanja imat će ribe koje se spremaju u nehigijenske spremnike, što će povećati ukupan broj bakterija vidljiv nakon nekoliko dana skladištenja (Huss i sur., 1974). Čišćenje (vađenje utrobe ili evisceracija) također može utjecati na kvalitetu ribe. Neke ribe je poželjno očistiti prije daljnjeg procesuiranja kako bi se izbjeglo širenje bakterija iz probavnih organa, dok kod drugih riba čišćenje uzrokuje oksidaciju i diskoloraciju zbog pristupa slobodnog

zraka, odnosno reagiranja masti s kisikom. Važno je znati i da grubo rukovanje smanjuje rok trajanja zbog nastalih površinskih oštećenja ribe koji olakšavaju prodor bakterijama.

Kako bi se pri izlovu smanjio stres, a ujedno ispraznio probavni sustav ribe u kojem se mogu naći i bakterije koje će uzrokovati brže kvarenje ali i promjenu okusa koja može negativno djelovati na kvalitetu, preporuka je da se riba dan do tri prije izlova ne hrani. U ovom slučaju se sav raspoloživi kisik može usmjeriti na „rješavanje“ problema stresa, dok bi u slučaju punog probavila značajna potrošnja kisika bila i u probavnom sustavu (Huss, 1995).

Razvoj bakterija moguće je umanjiti i putem pakiranja ribe u ambalažu s otopljenim CO_2 ili stavljanjem ribe u spremnike s hladnom morskom vodom s prisutnim CO_2. Pakiranje ribe u MAP (Modified Atmosphere Packing) ili vakumiranje (VP) onemogućava razvoj aerobnih bakterija te povećava održivost, ali je tip kvarenja drugačiji. Pokvareni proizvodi pri ovakvom pakiranju imat će izražen riblji miris jer tu prisutne anaerobne bakterije dišu pomoću redukcije TMAO u TMA. Previše otopljenog CO_2 u MAP pakiranju pokvarit će teksturu mesa jer CO_2 smanjuje pH što smanjuje sposobnost zadržavanja vode (do 60% otopljenog CO_2 neće utjecati na teksturu) (Coyne, 1933). Znači da nije dovoljno upotrijebiti MAP pakiranje, već treba obratiti pozornost i na sastav upotrijebljene modificirane atmosfere.

Rok trajanja ribe skladištene na ledu ovisi o vrsti i veličini ribe. Glede veličina ribe, trajnost veće ribe duža je od male zbog deblje kože koja je otpornija na prodor bakterija (Huss, 1995). Nadalje, tropske vrste uglavnom imaju duži rok trajanja od riba umjerenog i hladnog područja (Curran i Disney, 1979; Shewan, 1977); dok slatkovodne vrste traju duže od morskih (Lima de Santos, 1981).

Uz sve navedene čimbenike, potrebno se tijekom svih postupaka pridržavati dobre higijenske prakse kako ne bi došlo do naknadne kontaminacije proizvoda (Huss i sur., 2004).

5. ZAKLJUČAK

Povećana potražnja ribe na tržištu, usporedo s prelovom prirodnih populacija, nameće potrebu za povećanjem proizvodnje u akvakulturi te poboljšanjem tehnologije i metoda uzgoja. Osnovni cilj je sve postupke u uzgoju optimizirati kako bi proizvedena riba bila što bolje kvalitete i na taj način postizala veću cijenu na tržištu. Iako su indikatori kvalitete brojni, a dijele se općenito na unutarnje i vanjske, pri čemu organolepička svojstva (izgled, miris, okus, boja), odnosno svježina ribe predstavljaju osnovni pokazatelj kvalitete prilikom stavljanja ribe na tržište. Naime, tržišno je neprihvatljiva oštećena riba intenzivnog „mirisa“. Zato je važna senzorna ocjena kvalitete u kombinaciji s intrumentalnom, biokemijskom i mikrobiološkom radi osiguranja svježine i sigurnosti proizvoda. Pri svakoj ocjeni kvalitete postoji prag ispod kojeg se riba odbacuje i smatra

nepovoljnom za konzumaciju. Također je važno da cijeli proces uzgoja, izlova i rukovanja nakon izlova bude prilagođen zahtjevima vrste. Tu igra ključnu ulogu znanje i stručno osoblje, koje je sposobno stalno pratiti i blagovremeno uočiti sve eventualne nepoželjne promjene u uzgoju. To se prvenstveno odnosi na promjene u ponašanju ribe te blagovremenu detekciju i maksimalno moguću eliminaciju stresora. Štetni čimbenici (stresori) uzrokuju smanjenje dobrobiti kod riba u neprilagođenoj uzgojnoj sredini što se može očitovati u ponašanju te posljedično odraziti na kvalitetu. Najvažnija odrednica je kvaliteta vode uzgojnog mjesta, koju prati gustoća nasada, režim hranjenja, sastav hrane, okoliš i dr. Riba izložena stresu će u okolišu prilagođenim zahtjevima uzgajane vrste imati bolji apetit, a time i povećanu stopu rasta. Njezin imunosni sustav će biti aktivan te će jedinke manje obolijevati. Posljedično, neće biti vanjskih oštećenja koja će negativno utjecati na izgled ribe, a također će se i zbog manje izloženosti stresu postmortalne promjene odvijati sporije. Temperaturni režim (održavanje hladnog lanca) i dobra higijenska praksa također su iznimno važni nakon izlova, pri čemu se riba mora što prije ohladiti i držati neprekidno na temperaturi koja održava svježinu. Svi ovi postupci utječu na brzinu odvijanja postmortalnih promjena , čije je usporavanje ključno za očuvanje svježine ribe. Iz svega navedenoga proizlazi da je bitno uravnotežiti zahtjeve proizvodnje (što veći profit uz što manja zalaganja) i samu dobrobit riba, bez koje kvaliteta proizvoda ne može biti zadovoljavajuća.

LITERATURA:

Archer, M. 2010. Sensory assessment scoresheets for fish and shellfish – Torry & QIM. Seafish.

Ashley, P. J. 2007. Fish welfare: Current issues in aquaculture. Applied Animal Behaviour Science, 104 (3-4): 199-235.

Baluyut, E.A. 1989. Aquaculture Systems and Practices: A Selected Review. United

Nations Development Programme. Food and agriculture of the United Nations. ADCP/REP/89/43.

Barber, I. 2007. Parasites, behaviour and welfare in fish. Applied Animal Behaviour Science. 104 (3-4): 251–264.

Bavčević, L. 2014. Kavezni uzgoj riba lubina i komarče. Priručnik i vodič za dobru proizvođačku i higijensku praksu. Hrvatska poljoprivredna komora

Bojanić, K., Kozačinksi, L., Filipović, I., Cvrtila, Ž., Zdolec, N., Njari, B. 2009. Kvaliteta mesa lubina tijekom pohrane na ledu. MESO: Prvi hrvatski časopis o mesu. XI (1): 45-50.

Conte, F.S. 2004. Stress and the welfare of cultured fish. Applied Animal Behaviour Science. 86 (3-4): 205–223.

Donatović, M., Gavrilović, A., Ljubičić, A., Brailo, M., Jug-Dujaković, J. 2019. Changes of pH, dielectric and sensoric freshness parameters of mediterranean sea bass, *Dicentrachus labrax* (Linnaeus, 1758), under different conditions of preparation and storage. Proceedings, 54th Croatian & 14th International Symposium on Agriculture, February 17-22 February 2019, Vodice, Croatia, 347-352.

EC 2406/96. Uredba Vijeća (EZ) br. 2406/96 od 26. studenoga 1996. o određivanju zajedničkih tržišnih standarda za neke proizvode ribarstva.

FAO. 2016. The State of World Fisheries and Aquaculture 2016, Contributing to food security and nutrition for all, FAO, Rome, 200 pp.

FAO. 2018. The State of World Fisheries and Aquaculture 2018 - Meeting the sustainable development goals. Rome.

Fijan, N. 2006. Zaštita zdravlja riba. Poljoprivredni fakultet u Osijeku, str. 392.

Fuentes, A., Fernandez-Segovia, I., Serra, J.A., Barat, J.M. 2010. Comparison of wild and cultured sea bass (*Dicentrarchus labrax*) quality. Food Chemistry, 119: 1514-1518.

Gavrilović, A. Jug-Dujaković, J. 2019. Izazovi razvoja održive akvakulture: Primjena novih tehnologija. Proceedings, 54th Croatian & 14th International Symposium on Agriculture, February 17-22 February 2019, Vodice, Croatia, 353-357.

Gavrilović, A. Jug-Dujaković, J. 2020. Održavanje optimalne kvalitete vode u recirkulacijskom sustavu. Book of abstracts, 55th Croatian & 15th International Symposium on Agriculture, February 16-21 February 2020, Vodice, Croatia, 163-165.

Gavrilović, A., Jug-Dujaković, J., Skaramuca, B. 2011. Oznake kvalitete, certifikacijske sheme i zaštita proizvoda slatkovodne akvakulture na tržištu. Zbornik radova 6. Savjetovanja o slatkovodnom ribarstvu Republike Hrvatske s međunarodnim sudjelovanjem „Hrvatsko ribarstvo - Kako i kuda dalje (Prof. dr.sc. Ivan Bogut, ur.). Zagreb: Hrvatska gospodarska komora, 37-50.

Gokoglu, N., Ozden, O., Erkan, N. 1998. Physical, chemical and sensory analyses of freshly harvested sardines (*Sardina pilchardus*) stored at 4°C. J.Aquatic Food Prod.Technol., 7: 5-15.

Grigorakis, K. 2007. Compositional and organoleptic quality of farmed and wild gilthead sea bream (*Sparus aurata*) and sea bass (*Dicentrarchus labrax*) and factors affecting it. Aquaculture, 272 (1-4): 55-75.

Hardison, R. 1999. The Evolution of Hemoglobin: Studies of a very ancient protein suggest that changes in gene regulation are an important part of the evolutionary story. American Scientist. 87 (2): 126.

Huss, H.H. 1995. Quality and quality changes in fresh fish. Food and Agriculture Organisation of the United Nations. Rome. FAO Fisheries Technical Paper - 348.

Huss, H. H., Gram, L., Ababouch, L. 2004. Assessment and management of seafood safety and quality. Food and Agriculture organization of the United Nations. FAO Fisheries Technical Paper.No. 444. Rome, str. 230.

Johansson, D., Ruohonen, K., Kiessling, A., Oppedal, F., Stiansen, J.E., Kelly, M., Juell J.E. 2006. Effect of environmental factors on swimming depth preferences of Atlantic salmon (*Salmo salar L.*) and temporal and spatial variations in oxygen levels in sea cages at a fjord site. Aquaculture. 254(1-4): 594-605

Johnston, I.A. 1999. Muscle development and growth: potential implications for flesh quality in fish. Aquaculture. 177 (4-1): 99-115

Johnston, I.A., Li, X., Vieira, V.L.A., Nickell, D., Dingwall, A., Alderson, R., Campbell, P., Bickerdike, R. 2006. Muscle and flesh quality traits in wild and farmed Atlantic salmon. Aquaculture. 256 (1-4): 323–336.

Konjevod, I., Gavrilović, A., Ljubičić, A., Brailo, M., Orhanović, S., Jug-Dujaković., J. 2018. Promjena kemijskih pokazatelja svježine lubina, Dicentrachus labrax (Linnaeus, 1758), pri različitim uvjetima pripreme i skladištenja Changes in chemical indicators of freshness of mediterranean sea bass, Dicentrachus labrax (Linnaeus, 1758) under different conditions of preparation and storage. Proceedings, 53rd Croatian & 13th International Symposium on Agriculture, February 18-23 February 2018, Vodice, Croatia, 375-379.

Kozačinski , L., Filipović, I., Cvrtila, Ž. , Hadžiosmanović, M., Zdolec, N. 2006. Ocjena svježine morske ribe. Meso. 7 (3): 158-163.

Kristiansen, T.S., Ferno, A., Holm, J.C., Privitera, L., Bakke, S., Fosseidengen, J.E. 2004. Swimming behaviour as an indicator of low growth rate and impaired welfare in Atlantic halibut (*Hippoglossus hippoglossus L.*) reared at three stocking densities. Aquaculture. 230 (1-4): 137–151.

Lawley, M., Birch, D., Hamblin, D. 2012. An exploratory study into the role and interplay of intrinsic and extrinsic cues in Australian consumers' evaluation of fish. Australasian Marketing Journal (AMJ), 20 (4): 260-267.

Lines, J.A., Spence, J. 2012. Safeguarding the welfare of farmed fish at harvest. Fish Physiology and Biochemistry. 38(1):153-62

Lines, J.A., Spence, J. 2014. Humane harvesting and slaughter of farmed fish. Scientific and Technical Review of the Office International des Epizooties. 33 (1): 255-264.

Manciocco, A., Toni, M., Tedesco, A., Malavasi, S., Alleva, E., Cioni, C. 2014. The Acclimation of European Sea Bass (*Dicentrarchus labrax*) to Temperature: Behavioural and Neurochemical Responses. Ethology, 120: 1-16.

Martins, C.I.M., Galhardo, L., Noble, C., Damsgård, B., Spedicato, M.T., Zupa, W., Beauchaud, M., Kulczykowska, E., Massabuau, J.C., Carter, T., Rey Planellas, S., Kristiansen, T. 2012. Behavioural indicators of welfare in farmed fish. Fish Physiology and Biochemistry. 38(1): 17–41.

Marx, H., Brunner, B., Weinzier, W., Hoffman, R., Stolle, A. 1997. Methods of stunning freshwater fish: impact on meat quality and aspects of animal welfare. Zeitschrift für Lebensmitteluntersuchung und -Forschung A. 204 (4): 282-286.

Matsuo, M., Ando, Y., Kamei, Y., Fukamachi, S. 2018. A semi-automatic and quantitative method to evaluate behavioral photosensitivity in animals based on the optomotor response (OMR). Biology Open 7 (6).

NN 117/2003. Zakon o hrani.

North, B. P., Turnbull, J. F., Ellis, T., Porter, M. J., Migaud, H., Bron, J., Bromage, N. R. 2006. The impact of stocking density on the welfare of rainbow trout (*Onchorhynchus mykiss*). Aquaculture, 255 (1-4): 466-479.

Palstra, A.P., Planas, J.V., Takle, H., Thorarensen, H. 2015. The implementation of swimming exercise in aquaculture to optime production. Aquaculture Europe. 40 (1): 20-22.

Parlapani, F.F., Haroutounian, S.A., Nychas, G.J.E., Boziaris, I.S. 2015. Microbiological spoilage and volatiles production of gutted European sea bass stored under air and commercial modified atmosphere package at 2°C. Food Microbiology, 50: 44-53.

Prabjeet Singh, Mohd Danish i Amita Saxena, 1991. Spoilage Of Fish-Proces And Its Prevention. Aquatic Fish Database (Aquafind). Pantnagar, Uttrakhand, India.

Robb, D.H.F., Kestin, S.C., Warriss, P.D. 2000. Muscle activity at slaughter: I. Changes in flesh colour and gaping in rainbow trout. Aquaculture. 182 (3-4): 261-269.

Roth, B., Slinde, E., Arildsen, J. 2006. Pre or post mortem muscle activity in Atlantic salmon (*Salmo salar*). The effect on rigor mortis and the physical properties of flesh. Aquaculture 257 (1-4): 504-510.

Segner, H., Reiser, S., Ruane, N., Rösch, R., Steinhagen, D. and Vehanen, T. 2019. Welfare of fishes in aquaculture. FAO Fisheries and Aquaculture Circular. Budimpešta, br. 1189.

Shoemaker et al. (2001): Immunity and disease resistance in fish. In: Nutrition and Fish Health (Ed.: Lim, C., Webster, C.D.). Food Products Press, NY

Skjervold, P.O., Fjæra, S.O., Østby, P.B. 1999. Rigor in Atlantic salmon as affected by crowding stress prior to chilling before slaughter. Aquaculture. 175 (1-2): 93-101.

Stroud, G. D. 2001. Rigor in Fish - The Effect on Quality. Ministry of technology. Torry research station. Torry advisory note No. 36.

Šoša, B. 1989. Higijena i tehnologija prerade morske ribe. Školska knjiga, Zagreb

Ytrestyl et al. 2013. Effects of Salinity and Excercise on Atlantic Salmon Postsmolts Reared in RAS. Aquaculture Europe. Nofima, Norveška

Zhang, X.D., Zhu, Y.F., Cai, L.S., Wu, T.X. 2008. Effects of fasting on the meat quality and antioxidant defenses of market-size farmed large yellow croaker (*Pseudosciaena crocea*). Aquaculture, 280 (1-4): 136-139.

Øverli, Ø., Sørensen, C., Pulman, K.G., Pottinger, T.G., Korzan, W., Summers, C.H., Nilsson, G.E. 2007. Evolutionary background for stress coping styles: Relationships between physiological, behavioral, and cognitive traits in non-mammalian vertebrates. Neuroscience and Biobihevioral Reviews. 31(3):396-412.

SAŽETAK:

Povećana potražnja ribe na tržištu, usporedo s prelovom prirodnih populacija, nameće potrebu za povećanjem proizvodnje u akvakulturi te poboljšanjem tehnologije i metoda uzgoja. Istovremeno, zahtjevi tržišta za kvalitetnom ribom svakodnevno su sve izraženiji. Stoga je cilj ovog rada bio pregledom dostupne znanstvene literature pored opisa značajki kvalitete i metoda njezine ocjene,

opisati postmortalne promjene na mesu ribe te čimbenike koji utječu negativno na brzinu njihovog nastanka. Pored toga opisane su i promjene ponašanja te ostali indikatori dobrobiti / stresa, koji nam tijekom uzgoja mogu ukazati blagovremeno na nepravilnosti koje bi se, ukoliko ne budu ispravljene, mogle negativno odraziti na kvalitetu finalnog proizvoda.

Naime, brzina kvarenja mesa ribe ovisi o dobroj proizvođačkoj i higijenskoj praksi, a očituje se brzinom kojom se odvijaju postmortalne promjene. Ove se promjene dijele u četiri faze do kvarenja. Pri tome je potrebno što više produžiti prvu fazu, fazu pojačanog lučenja sluzi i mrtvačke ukočenosti, kada je riba najbolje svježine. Vrijeme pojave mrtvačke ukočenosti, do koje obično dolazi nekoliko sati po uginuću, ovisi o brojnim čimbenicima kao što su: vrsta, veličina ribe, zemljopisno područje u kojem je uzgojena, količina stresa kojem je u uzgoju i pri izlovu bila izložena, kao i postupanje s ribom nakon izlova. Kako stres izazvan bilo kojom vrstom stresora (biološki, kemijski, fizikalni i manipulativni) utječe na pojačanu potrošnju energije, upravo je on glavni čimbenik kojeg je tijekom uzgoja i pri izlovu potrebno maksimalno reducirati. To se postiže tehnološkim mjerama od kojih su najvažnije održavanje optimalne kvalitete uzgojne sredine prilagođene nasadnoj gustoći pravilno hranjenje i pažljivo postupanje s ribom. Stoga je za očuvanje kvalitete mesa bitno ribu uzgajati u prilagođenim uvjetima specifičnim za vrstu te ispravno rukovati s njom uz pridržavanje svih higijenskih mjera. Štetni faktori (stresori) očitovati će se u smanjenoj dobrobiti riba koju je moguće uočiti ne samo u fiziološkim odgovorima, već i u ponašanju riba. Zato je od izuzetne važnosti ove promjene ponašanja uočiti blagovremeno. Nadalje, dobra proizvođačka praksa, osim osiguranja kvalitetnog okoliša i uzgojnih uvjeta mora obuhvatiti i pravilno rukovanje ribom tijekom i nakon izlova. To uključuje pogodnu metodu omamljivanja, higijensko i pravilno rukovanje ribom, te neprekidno održavanje hladnog lanca od trenutka izlova do krajnjeg potrošača. Za kvalitetu mesa važno je uskladiti interes proizvođača koji predstavlja povećanu stopu rasta pri gustim nasadima i zahtjeve uzgajane vrste kako bi se dobio optimalan omjer kvalitete i kvantitete željenog proizvoda.

ABSTRACT:

Overfishing of natural populations along with increased market demand for fish, imposes the need to increase aquaculture production and improve farming technology and methods. Demand for fish

quality is also becoming more highlighted on daily basis. Therefore, the aim of this paper was to review the existing scientific literature and to describe traits of quality and methods of its assessment plus postmortem changes in fish meat and factors that negatively affect them. In addition, changes in behavior are described alongside other factors indicating welfare/stress, which can indicate irregularities in fish farming that could, if not corrected, negatively affect the quality of the final product. The spoilage rate of fish meat may be reduced by good husbandry and handling practices combined with hygiene procedures which are manifested by the speed with which postmortem changes occur. These changes are divided into four phases. It is necessary to prolong the first phase, the phase increased mucus secretion and rigor mortis, as much as possible, because then the fish is at its best freshness. Rigor mortis usually occurs within several hours after death, depending on a number of factors such as: species, size of the fish, geographical area where fish was cultured, the amount of stress to which fish was exposed during farming and harvest, as well as postharvest handling. Stress caused by any type of stressor (biological, chemical, physical and manipulative) influence energy consumption, and presents the main factor that needs to be reduced during farming and harvesting. This is achieved through technological measures, especially trough maintenance of the optimal quality of rearing environment, adjusted to stocking density, proper feeding regimes, and careful handling. Therefore, in order to preserve the quality of fish meat, it is important to rear the fish in adapted conditions specific to the species and to handle it properly in compliance with all hygienic measures. Harmful factors (stressors) will be manifested in reduced welfare which can be observed not only in physiological responses but also in behavior of the fish. That is why it is utterly important to notice any change of behavior on time. Good manufacturing practice, in addition to ensuring a quality environment and rearing conditions, must include the proper handling of fish during and after harvesting. This includes a convenient method of stunning, hygienic and proper handling of fish and continuous maintenance of the cold chain from to moment of catch to the final consumer. Therefore, it is important to reconcile the interest of the producer, which represents an increased growth rate at high densities, and the requirement of the cultivated species in order to obtain the optimal ratio of quality and quantity of the desired final product.