Uzroci obojenja mišićnog tkiva svježeg brancina (Dicentrarchus labrax) žučnim bojama

Ledenko, Nikolina

Master's thesis / Diplomski rad

2019

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **University of Zagreb, Faculty of Agriculture / Sveučilište u Zagrebu, Agronomski fakultet**

Permanent link / Trajna poveznica: https://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:204:927272

Rights / Prava: In copyright / Zaštićeno autorskim pravom.

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



Repository / Repozitorij:

Repository Faculty of Agriculture University of Zagreb







SVEUČILIŠTE U ZAGREBU
AGRONOMSKI FAKULTET

Uzroci obojenja mišićnog tkiva svježeg brancina (*Dicentrarchus labrax*) žučnim bojama

DIPLOMSKI RAD

Nikolina Ledenko

Zagreb, rujan, 2019.

SVEUČILIŠTE U ZAGREBU
AGRONOMSKI FAKULTET

Diplomski studij:
Ribarstvo i lovstvo

Uzroci obojenja mišićnog tkiva svježeg brancina (*Dicentrarchus labrax*) žučnim bojama

DIPLOMSKI RAD

Nikolina Ledenko

Mentor: izv. prof. dr. sc. Tea Tomljanović

Zagreb, rujan, 2019.

SVEUČILIŠTE U ZAGREBU

AGRONOMSKI FAKULTET

IZJAVA STUDENTA

O AKADEMSKOJ ČESTITOSTI

Ja, **Nikolina Ledenko**, JMBAG 0269066554, rođen/a dana 08.12.1993. u Šibeniku, izjavljujem da sam samostalno izradila/izradio diplomski rad pod naslovom:

Uzroci obojenja mišićnog tkiva svježeg brancina (*Dicentrarchus labrax*) žučnim bojama

Svojim potpisom jamčim:

- da sam jedina autorica/jedini autor ovoga diplomskog rada;
- da su svi korišteni izvori literature, kako objavljeni tako i neobjavljeni, adekvatno citirani ili parafrazirani, te popisani u literaturi na kraju rada;
- da ovaj diplomski rad ne sadrži dijelove radova predanih na Agronomskom fakultetu ili drugim ustanovama visokog obrazovanja radi završetka sveučilišnog ili stručnog studija;
- da je elektronička verzija ovoga diplomskog rada identična tiskanoj koju je odobrio mentor;
- da sam upoznata/upoznat s odredbama Etičkog kodeksa Sveučilišta u Zagrebu (Čl. 19).

U Zagrebu, dana _____ _____

Potpis studenta / studentice

SVEUČILIŠTE U ZAGREBU
AGRONOMSKI FAKULTET

IZVJEŠĆE

O OCJENI I OBRANI DIPLOMSKOG RADA

Diplomski rad studentice **Nikoline Ledenko**, JMBAG 0269066554, naslova

Uzroci obojenja mišićnog tkiva svježeg brancina (*Dicentrarchus labrax*) žučnim bojama

obranjen je i ocijenjen ocjenom _____ , dana _____ .

Povjerenstvo:			potpisi:
1.	izv. prof. dr. sc. Tea Tomljanović	mentor	_____
2.	doc. dr. sc. Daniel Matulić	član	_____
3.	prof. dr. sc. Marina Piria	član	_____

Zahvala

Zahvaljujem se svojim roditeljima, bratu i sestri na ljubavi, te na svemu što su mi pružili i pomogli u životu.

Zahvaljujem se svojim dragim prijateljima koji su mi bili velika podrška tijekom studiranja. Hvala vam na pomoći, na predivnom zajedničkom provedenom vremenu, razgovorima, te svim najljepšim provedenim trenutcima u Zagrebu. Vi ste bili onaj najbolji dio studiranja.

Zahvaljujem se i teti Davorini na molitvama, ljubavi, brizi, podršci i pomoći tijekom cijelog mog života pa tako i tijekom mog studiranja.

Zahvaljujem se dr. sc. Slavici Čolak na pristupačnosti, pomoći, strpljenju te literaturi pri izradi ovog diplomskog rada. Hvala i dr. med. vet. Danijelu Mejdandžiću na pomoći, otvorenosti i materijalima za ovaj diplomski rad.

Zahvaljujem se mentorici izv. prof. dr. sc. Tei Tomljanović na pomoći, strpljenju i podršci prilikom izrade ovog diplomskog rada.

I na kraju, hvala Bogu na svemu što je učinio za mene.

Sadržaj

1. Uvod 1

1.1. Biologija i ekologija brancina (*Dicentrachus labrax*) 1

1.2. Jetra i žučni mjehur 2

1.3. Cilj istraživanja 3

2. Materijali i metode 4

3. Rezultati 6

4. Rasprava 20

5. Zaključak 24

6. Popis literature 25

Životopis 29

Sažetak

Diplomskog rada studentice **Nikolina Ledenko**, naslova

Uzroci obojenja mišićnog tkiva svježeg brancina (Dicentrarchus labrax) žučnim bojama

Obojanost mišićnog tkiva žučnim bojama nastaje kao normalna postmortalna promjena kada stijenka žučnog mjehura uslijed smrti stanica postaje propusna, te se žuč preslikava na okolna tkiva. Ako je žučni mjehur naslonjen na mišićno tkivo preslikavanje će se odraziti i na mišićnom tkivu. Cilj istraživanja je provjera potencijalnih čimbenika: temperature mora, dana gladovanja, odležavanja ribe na ledu, indeksa kondicije, težine žučnog mjehura, težine jetre na pojavu obojenja mišićnog tkiva žučnim bojama svježeg brancina (*Dicentrarchus labrax*). Pokus je proveden na 2 kaveza, jedan kavez je bio kontrolni nad kojim se vršila svakodnevna hranidba, a jedan pokusni u kojem je riba gladovala 10 dana po ciklusu. Vršena su 4 ciklusa uzorkovanja, a svaki ciklus je trajao 10 dana. U kontrolnom kavezu obrada odmah po izlovu se vršila 3., 5. i 10. dan, te nakon 24 h odležavanja na ledu od sva 3 puta uzorkovanja. U pokusnom kavezu obrada odmah po izlovu se vršila 6, 12, 24 h nakon zadnjeg hranjenja, a od drugog dana obrada se vršila jednom dnevno do 10. dana. Nakon 24 h odležavanja na ledu obrada se vršila nakon svakog dana uzorkovanja svih 10 dana po ciklusu. Prema rezultatima ovog istraživanja, gladovanje je utjecalo na obojenje mišićnog tkiva i na povećanje mase žučnog mjehura. Dulje trajanje gladovanja i dulje vrijeme proteklo od izlova do obrade ribe, rezultiralo je češćom i intenzivnijom pojavom obojanosti mišićnog tkiva žučnim bojama. Temperatura mora nije bila značajno povezana s obojanošću fileta, ali se njezin utjecaj odražava na indeks kondicije (IK), hepatosomatski indeks (HSI) i omjer mase žučnog mjehura i mase žučnog mjehura s jetrom (HI). Visceralna mast u utrobi ribe i oko žučnog mjehura reducirala je obojenje mišićnog tkiva žučnim bojama.

Ključne riječi: *Dicentrarchus labrax*, žučni mjehur, obojenje, žučne boje, gladovanje

Summary

Of the master's thesis – student **Nikolina Ledenko,** entitled

Causes of coloration of muscular tissue at fresh sea bass (*Dicentrarchus labrax*) with bile pigments

Coloration of fish musculuar tissue with bile pigments forms as a normal postmortal change when gallbladder wall due to "cell death" becomes permeable, and the bile is mapped to the surrounding tissues. If gallbladder leans on muscular tissue, the mapping will also affect muscle tissue. The aim of the study is a review of the potential factors: sea temperature, days of starvation, lying fish on ice, condition index, liver weight, gall bladder weight on the occurrence of coloration on muscular tissue at the fresh sea bass (Dicentrarchus labrax) with bile pigments. The experiment was carried out on 2 cages, one cage was the control over which daily nutrition was carried out, and the second cage was experimental in which fish were starved 10 days per cycle. Four sampling cycles were done, each cycle were lasting 10 days. In the control cage, evisceration immediately after harvesting was done on the 3rd, 5th and 10th day, and after 24 hours lying fish on ice at all three sampling times. In the experimental cage, evisceration immediately after harvesting was done 6, 12, 24 h after the last feeding, and from the second day the evisceration was done once daily until 10th day. After 24 hours of lying fish on ice, evisceration was doing after every day of sampling for 10 all days per cycle. According to the results of this study, starvation has affected the coloration of muscle tissue and the increase of gallbladder weight. The longer duration of starvation and the longer the time elapsed from harvesting till evisceration, resulted in a more frequent and intense appearance of coloration of muscular tissue. Sea temperature was not significantly related to the coloration of muscular tissue, but its influence reflected on the condition index (IK), the hepatosomatic index (HSI) and the ratio of the gall bladder weight and the weight of the gallbladder with the liver (HI). Visceral fat in the intestines of the fish and around the gallbladder reduced the coloration of the muscular tissue with bile colors.

Keywords: *Dicentrarchus labrax*, gallbladder, coloration, bile pigmests, starvation

1. Uvod

Riba iz uzgoja postaje sve važniji izvor kvalitetnih životinjskih proteina u ishrani ljudi (Subasinghe i sur., 2009) i samim time i ona zahtjeva hranidbu s kvalitetnim životinjskim proteinima, odnosno ribljim brašnom kako bi postala kvalitetan proizvod koji postiže visoku ekonomsku vrijednost na tržištu. Posljednjih godina, ponuda ribljeg brašna postaje sve teže dostupna na tržištu, te je potreban razvoj akvakulturne hranidbe sa što manjim udjelom ili potpunom zamjenom ribljeg brašna za održivu akvakulturu (Tacon i Metian, 2008).
Postoje mnogi pokušaji zamjene ribljeg brašna s jeftinijom hranom biljnog podrijetla, a kao jedna od posljedica javlja se pojava zelene jetre (Goto i sur., 2001a; Takagi i sur., 2006a; Takagi i sur., 2006b).
Prednosti hrane biljnog podrijetla su niža cijena i veća dostupnost, dok su nedostatci nizak udio aminokiselina, niska nutritivna svojstva, te slaba palatabilnost i probavljivost (Gatlin i sur., 2007).
Proces smrzavanja uništava staničnu membranu tako da se gubi barijera između unutarstaničnog i izvastaničnog prostora i dovodi do stvaranja unutarstaničnog leda koji uzrokuje mehanička oštećenje stanica (Yu i sur., 2004).
Obojanost mišićnog tkiva žučnim bojama nastaje kao normalna postmortalna promjena kada stjenka žučnog mjehura uslijed smrti stanica postaje propusna za žučne boje koje se preslikavaju na okolna tkiva. Ako je žučni mjehur naslonjen na mišićno tkivo preslikavanje će se odraziti i na mišićnom tkivu (Slika 1, Slika 2). Obojan dio mišićnog tkiva je gorak i treba ga odstraniti prije pripreme jela i konzumacije jer mijenja okus proizvoda (Jones, 1969).
Brancin (*Dicentrarchus labrax*) je jedna od glavnih morskih vrsta u akvakulturnoj proizvodnji u mediteranskim zemljama (Kyrana i Lougovois, 2002; Cakli i sur., 2006). Na tržištu se nudi kao cijeli proizvod, očišćena riba ili u obliku fileta. Meso brancina je cijenjeno među potrošačima zbog svoje bijele boje mesa, slatkog i blagog okusa te niskog udjela masti (Cakli i sur., 2006).



Slika 1. Prikaz obojenja mišićnog tkiva svježeg brancina (*Dicentrarchus labrax*) žučnim bojama (Foto: Mejdandžić).



Slika 2. Prikaz izraženijeg obojenja mišićnog tkiva žučnim bojama nakon odležavanja na ledu 24 h (Foto: Sokolov).

1.1. Biologija i ekologija brancina (*Dicentrachus labrax*)

Tijelo brancina je vretenasto izduženo i pokriveno sitnim ljuskama, duž bočne pruge nalazi se 65 do 80 ljuski. Usta su mu velika sa sitnim zubima koji su smješteni na obje čeljusti. Na škržnim poklopcima se nalaze dvije jake bodlje. U prvoj leđnoj peraji se nalazi 8 do 10 tvrdih žbica, a u drugoj leđnoj peraji jedna tvrda i 12 do 14 mekih žbica. U podrepnoj peraji su smještene 3 tvrde i 8 do 11 mekih žbica. Dorzalna strana tijela je tamnosiva, a lateralne strane su svjetlije s tamnim srebrnim preljevom. Ventralna strana je bijele boje, a bočna pruga svjetlocrne boje (Slika 3). Može narasti do 100 cm i težiti 14 kg. Rasprostranjen je u Sredozemnom moru, Crnom moru i Istočnom Atlantiku, od Maroka i Kanarskih otoka do zapadne obale Norveške. Mužjaci spolno sazrijevaju u drugoj godini, a ženke u trećoj godini. (Bogut i Pavličević, 2006). Euritermna je vrsta, podnosi široki raspon temperatura od 2 °C do 32 °C, a ispod 7 °C prestaje hranu. Zadržava se uz obalu i pretežno zalazi do 20 m dubine, najviše do 100 m (Barnabé, 1980). Eurihalin je organizam pa osim stalnog obitavanja u morskoj vodi, zalazi u bočate vode i uzvodno u rijeke. Grabežljiv je i hrani se pretežno malim ribama koje žive u jatima, crvima, rakovima, glavonošcima. Konzumira i otpatke, što pogoduje u intenzivnom uzgoju gdje se hrani peletima. U Jadranskom moru se mrijesti od studenog do ožujka, a u Sjevernom moru od svibnja do kolovoza (Treer i sur., 1995).

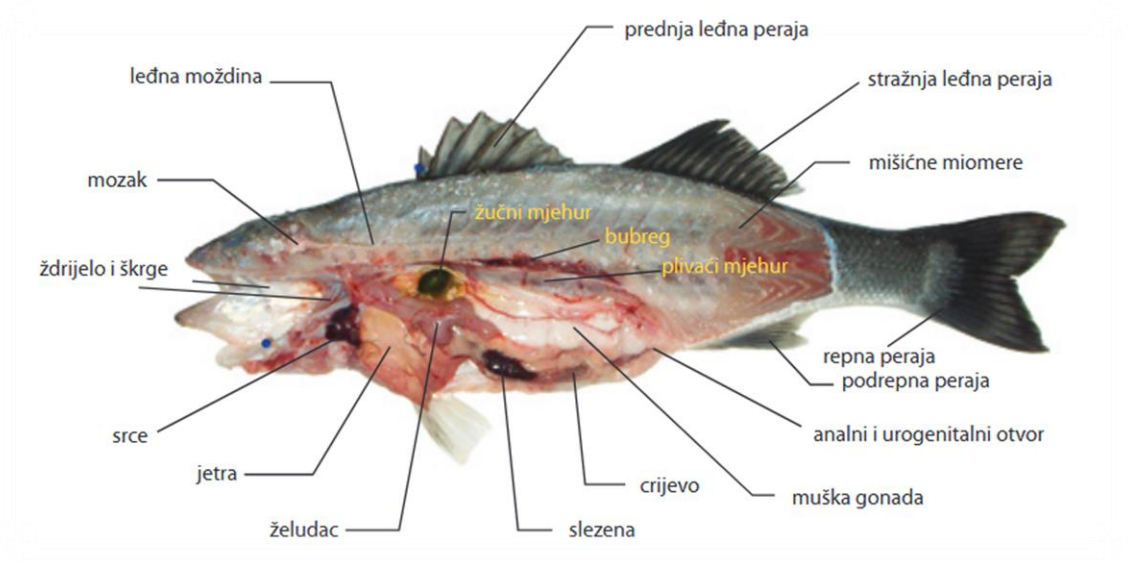


Slika 3. Brancini (*Dicentrarchus labrax*) prilikom uzorkovanja (Foto: Sokolov)

1.2. Jetra i žučni mjehur

Jetra je najveća žlijezda probavnog sustava u riba, može biti režnjevita ili kompaktne građe. Veličina jetre ovisi o vrsti, spolu, starosti, godišnjem dobu i hranidbi, a vrste riba iz porodice *Gadidae* nemaju žučni mjehur. Jetra zauzima 1% do 3% ukupne tjelesne mase, a taj udio može varirati i unutar iste vrste ovisno o količini masti i glikogena u jetrenim stanicama. Boja jetre ovisi o hranidbi ribe. U zimskom razdoblju kada riba gladuje boja jetre je žuto-zelena, dok je u razdoblju konzumacije hrane boja jetre tamno-crvena. Žuč se stvara u jetri i ima važnu ulogu u probavi masti gdje svojim emulgacijskim učinkom razbija velike kapljice masti na manje čestice, što povećava površinu na koju djeluju crijevni probavni enzimi lipaze.
Poikilotermni organizmi imaju sposobnost dužeg vremena gladovanja bez velikih negativnih posljedica te niske temperature produžuju sposobnost gladovanja.
Posljedice gladovanja se očituju na unutarnjim organima, posebice na jetri. Primjerice, tijekom 7 dana gladovanja pri temperaturama vode od 10 do 20 °C masa jetre kod jednogodišnjih i dvogodišnjih šarana se smanjila više od 30%, a nakon 15 dana više od 40%. Nadalje, u jegulja nakon 15 dana gladovanja pri temperaturama vode od 12 °C do 28 °C masa jetre se smanjila za 31% do 50% (Bogut i Bavčević, 2016).
Ribe su osjetljivije na okolišne čimbenike za razliku od mnogih sisavaca. Vanjski čimbenici poput hrane, temperature, onečišćivača, mikroorganizama, toksina i sl. mogu utjecati na izgled i rad jetre. Stoga je jetra jasan pokazatelj promjena okolišnih čimbenika (Bruslé i Anadon, 1996).
Žučni mjehur je organ probavnog sustava koji se nalazi uz jetru. Služi za pohranu i koncentraciju žuči koja se izlijeva žučnim kanalima iz jetre. Žuč je ekskretorni proizvod jetre uz koju se izlučuju razgradni proizvodi te toksične tvari. Uloga žuči je razgradnja i probava

masti koja svojim emulgacijskim učinkom razbija masti na manje čestice povećavajući tako površinu na koju djeluju crijevni probavi enzimi lipaze (Bogut, 2016).



Slika 4. Pregled anatomije brancina (Izvor: Bavčević, 2014).

1.3. Cilj istraživanja

Cilj istraživanja je utjecaj potencijalnih čimbenika: temperature mora, dana gladovanja i odležavanja ribe na ledu na kvalitetu mesa brancina odnosno pojavu obojanosti mesa žučnim bojama. Utvrdit će se težina žučnog mjehura i težina jetre na pojavu povećane koncentracije žuči kao i indeks kondicije ispitivanih jedinki iz svake grupe podvrgnute različitim tretmanima.

2. Materijali i metode

Istraživanje je provedeno na uzgajalištu tvrtke Cromaris d. d. Mala Lamjana, lokacija Bisage (44°01´28.6"N 15°13´11.2"E) na pokusnim kavezima pojedinačnih dimenzija 9x5x5 m (V=225 m³) na brancinima 2014. generacije.

U pokusu je korišten brancin iz 2 kaveza po 6000 komada u svakom. Jedan kavez je bio kontrolni nad kojim se vršila svakodnevna hranidba, a drugi pokusni u kojem je riba gladovala 10 dana. Temperatura mora mjerena je svakodnevno na dubini od 2 m prilikom svakog izlova. Vršena su 4 uzorkovanja, a svaki ciklus uzorkovanja trajao je 10 dana. Dan prije svakog uzorkovanja ribe su hranjene ekstrudiranim peletima Biomar Effico 858 čiji su glavni sastojci riblje brašno i riblje ulje te varijabilni udjeli biljnih sastojaka poput sojinog i kukuruznog brašna. Riba je hranjena *ad libitum*.

- prvi ciklus uzorkovanja počeo je 14. 6. 2015. godine na prosječnoj temperaturi mora od 22.31 °C s ribom prosječne težine 203 grama.
- drugi ciklus počeo je 20. 7. 2015. godine na prosječnoj temperaturi mora od 25.38 °C s ribom prosječne težine 247 grama.
- treći ciklus počeo je 7. 12. 2015. godine na prosječnoj temperaturi mora od 16.59 °C s ribom prosječne težine 453 grama.
- četvrti ciklus počeo je 2. 3. 2016. godine na prosječnoj temperaturi mora od 13.35 °C s ribom prosječne težine 490 grama.

Prvi i drugi ciklus uzorkovanja spadaju u topli period godine, a treći i četvrti ciklus uzorkovanja u hladni period godine.

Ribe u kontrolnom kavezu su se tijekom ciklusa uzorkovanja hranile svakodnevno. Dvadeset riba iz kontrolnog kaveza je uzorkovano 3., 5. i 10. dana svakog ciklusa istraživanja, dok je deset riba iz kontrolnog kaveza stavljeno na led te uzorkovano nakon 24 h.

Ribe u pokusnom kavezu su gladovale 10 dana i uzorkovanje se vršilo 6, 12, 24 h nakon zadnjeg hranjenja. Od drugog dana uzorkovanje se vršilo jednom dnevno. U oba kaveza se svaki uzorak sastojao od 20 riba koji se obradio odmah i 10 koji se obradio nakon 24 h ležanja na ledu. Prvi ciklus uzorkovanja je bio probni i razlikuje se po tome što se 20 riba po danu tijekom 240 sati trajanja ciklusa obradilo u različitim vremenskim razmacima od vremena izlova tako da je izostavljen dio pokusa gdje se 10 riba obrađivalo nakon 24 h od izlova ribe kako u pokusnom kavezu tako i u kontrolnom kavezu.

Nakon izlova riba se odmah ubacivala u male baje sa smjesom leda i mora (bljuzga). Odmah po izlovu riba se eviscirala, mjerila i vizualno provjerila obojanost mišićnog tkiva. Nakon toga, riba bi se stavila na led 24 h kako bi se imitirali uvjeti skladištenja. Sljedeći dan ta bi se riba obrađivala u laboratoriju pogona za soritanje i preradu ribe tvrtke Cromaris d. d.

Mjerena je ukupna duljina tijela (TL) (cm) pomoću ihtiometra, ukupna masa tijela (g), masa trbušnih organa (g), masa jetre i žučnog mjehura (g), masa jetre (g) sa analitičkom vagom Ohaus Adventurer Pro, mjerena je duljina žučnog mjehura van jetre (mm) i procjenjivao se intezitet obojenja mišičnog tkiva (0 - nije obojeno, + - slabo obojeno, ++ - srednje obojeno i +++ - jako obojeno).

Na temelju izmjerenih podataka, računali su se indeks kondicije (IK), hepatosomatski indeks (HSI) i omjer mase žučnog mjehura i mase žučnog mjehura s jetrom (HI).

Indeks kondicije (IK) se računao Fultonovim ili kubičnim indeksom kondicije koji izražava masu ribe u kubiku njezine dužine formulom:

$$IK = W\ L^{-3}\ 100$$

gdje je W – masa u gramima, L – ukupna dužina tijela u centimetrima (Ricker, 1975).
Hepatosomatski indeks (HSI) je omjer mase jetre i ukupne mase tijela ribe, a izračunava se formulom (Wootton i sur., 1978):

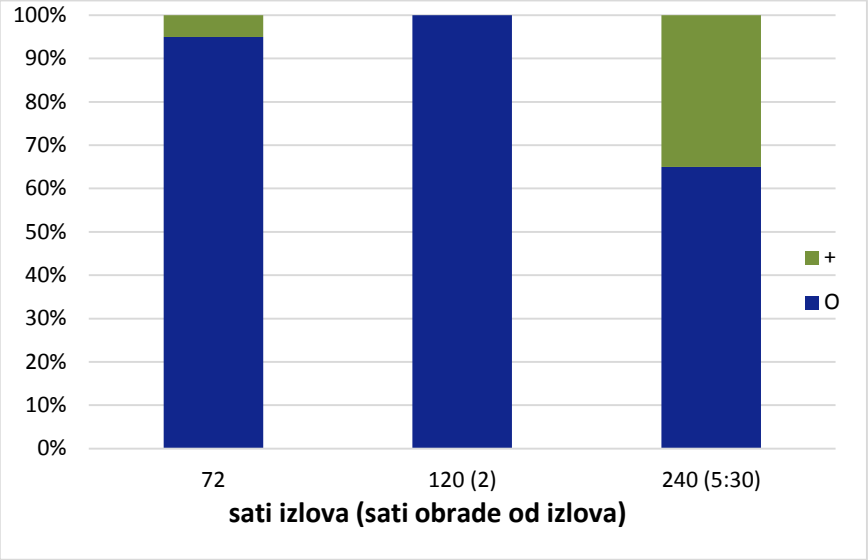
$$HSI = \frac{masa\ jetre\ (g)}{ukupna\ masa\ tijela\ (g)}\ 100$$

Omjer mase žučnog mjehura i mase žučnog mjehura s jetrom (HI) se izračunava formulom (Banaee i sur., 2013):

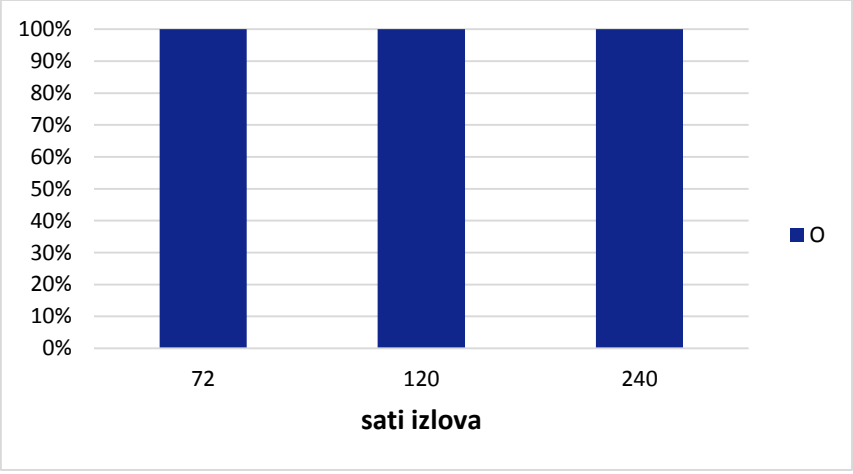
$$HI = \frac{masa\ žučnog\ mjehura\ (g)}{masa\ žučnog\ mjehura\ (g) + masa\ jetre\ (g)}\ 100$$

3. Rezultati

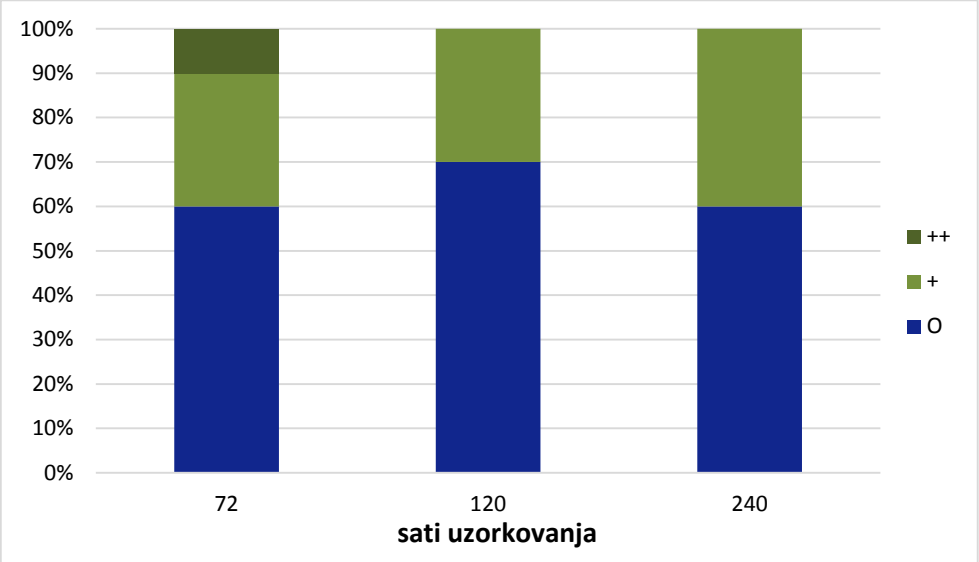
Kod prvog pokusnog uzorkovanja u kontrolnom kavezu gdje se obrada ribe vršila u različitim vremenskim periodima zabilježene su sljedeće vrijednosti. U 3. danu uzorkovanja riba se obradila odmah po izlovu te 5% jedinki je imalo slabo obojenje, a 95% jedinki nije imalo obojenje na mišićnom tkivu. U 5. danu uzorkovanja riba se obradila 2 h poslije izlova te nije bilo zabilježeno nikakvo obojenje na mišićnom tkivu. U 10. danu uzorkovanja riba se obradila 5:30 h poslije izlova te 35% jedinki je imalo slabo obojenje, a 65% jedinki nije imalo obojenje na mišićnom tkivu (Slika 5).



Slika 5. Udio obojenja mišičnog tkiva s obzirom na vrijeme obrade od izlova tijekom prvog ciklusa uzorkovanja (lipanj) u kontrolnom kavezu.
0 - nije obojeno, + - slabo obojeno, ++ - srednje obojeno, +++ - jako obojeno

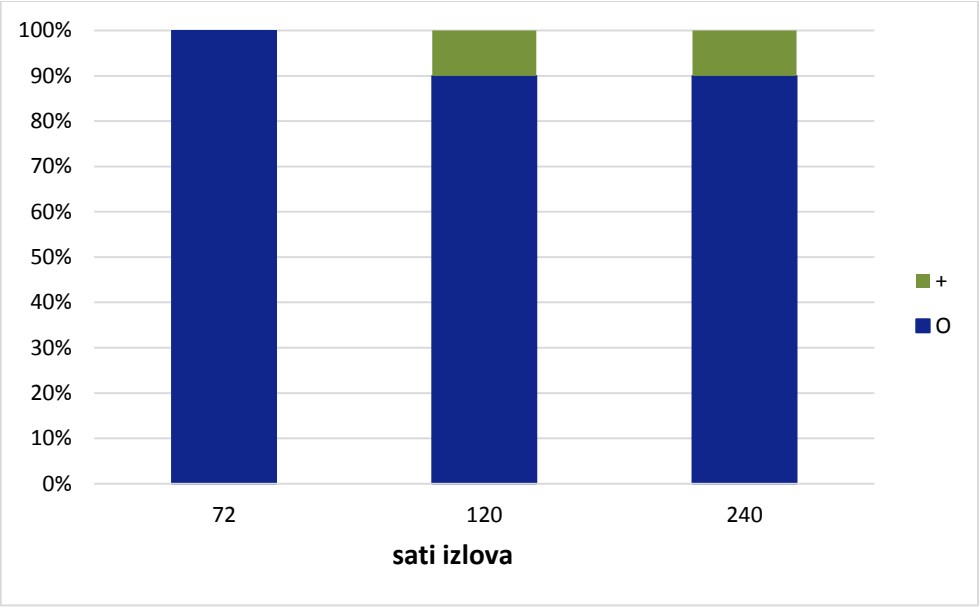


Slika 6. Udio obojenja mišičnog tkiva s obzirom na vrijeme obrade odmah po izlovu tijekom drugog ciklusa uzorkovanja (srpanj) u kontrolnom kavezu.
0 - nije obojeno, + - slabo obojeno, ++ - srednje obojeno, +++ - jako obojeno

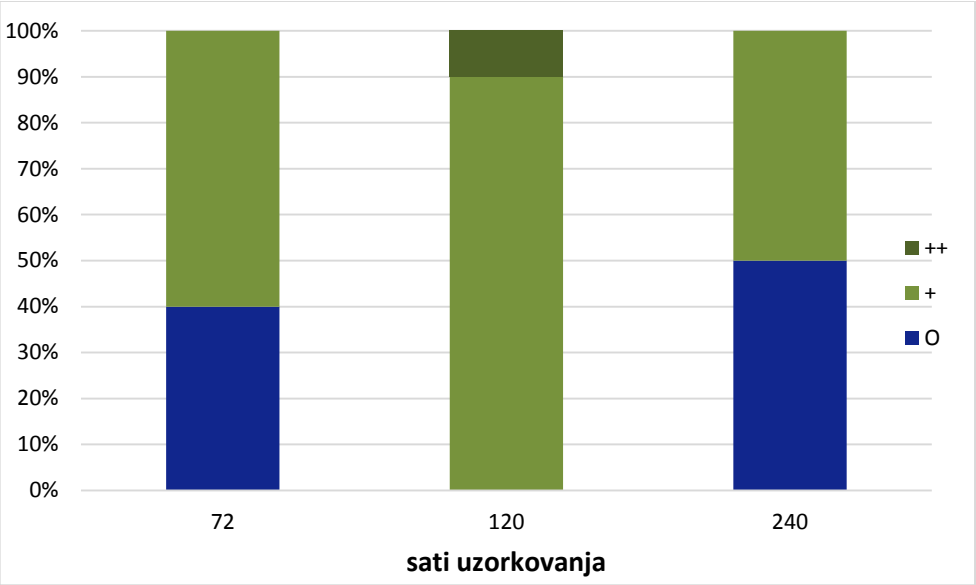


Slika 7. Udio obojenja mišićnog tkiva s obzirom na obradu nakon 24 h od izlova tijekom drugog ciklusa uzorkovanja (srpanj) u kontrolnom kavezu.
0 - nije obojeno, + - slabo obojeno, ++ - srednje obojeno, +++ - jako obojeno

Tijekom drugog uzorkovanja u kontrolnom kavezu nije zabilježeno nikavo obojenje na mišićnom tkivu u sva 3 dana uzorkovanja (Slika 6). U kontrolnom kavezu gdje se obrada ribe vršila nakon 24 h odležavanja na ledu zabilježene su sljedeće vrijednosti. U 3. danu uzorkovanja 60% jedinki nije imalo obojenje na mišićnom tkivu, 30% jedinki imalo je slabo obojenje, a 10% jedinki srednje obojenje na mišićnom tkivu. U 5. danu uzorkovanja 70% jedinki nije imalo obojenje na mišićnom tkivu, a 30% jedinki je imalo slabo obojenje. U 10. danu uzorkovanja 60% jedinki nije imalo obojenje na mišićnom tkivu, a 40% je imalo slabo obojenje. (Slika 7).

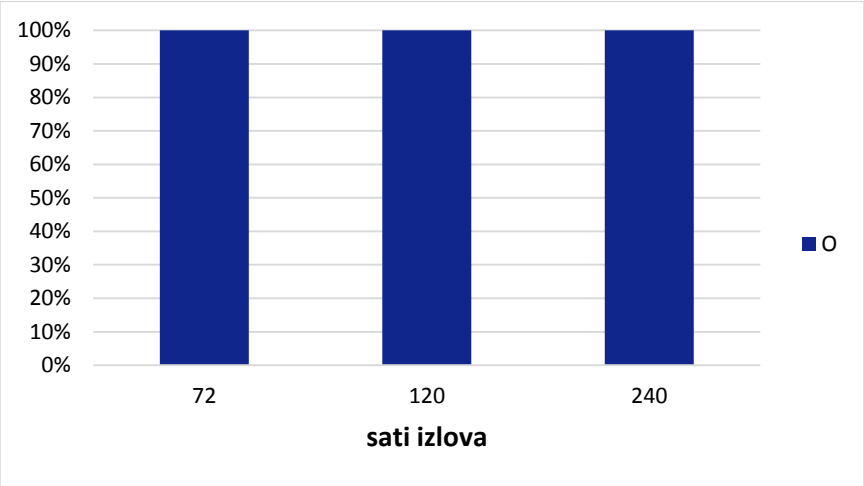


Slika 8. Udio obojenja mišičnog tkiva s obzirom na vrijeme obrade odmah po izlovu tijekom trećeg ciklusa uzorkovanja (prosinac) u kontrolnom kavezu.
0 - nije obojeno, + - slabo obojeno, ++ - srednje obojeno, +++ - jako obojeno

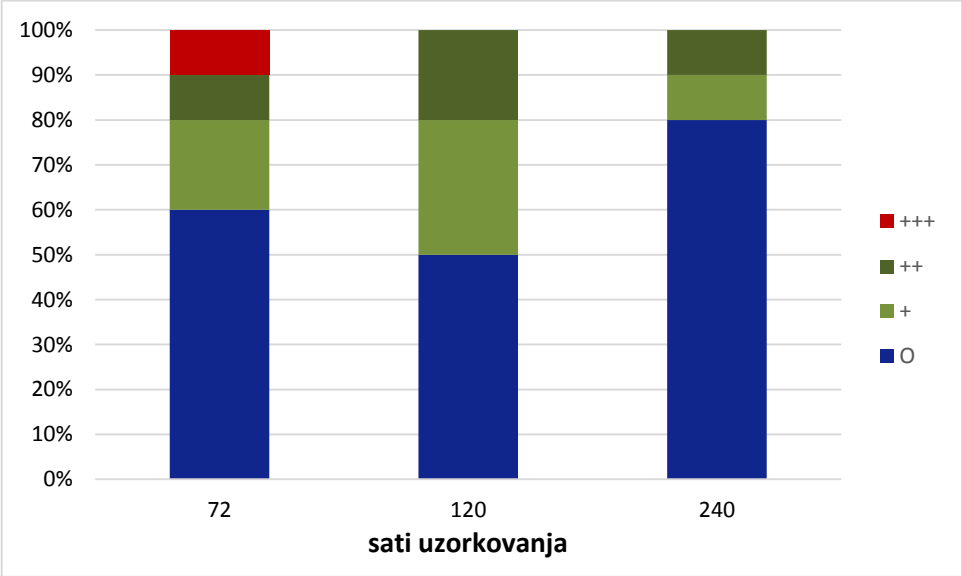


Slika 9. Udio obojenja mišićnog tkiva s obzirom na obradu nakon 24 h od izlova tijekom trećeg ciklusa uzorkovanja (prosinac) u kontrolnom kavezu.
0 - nije obojeno, + - slabo obojeno, ++ - srednje obojeno, +++ - jako obojeno

Tijekom trećeg uzorkovanja u kontrolnom kavezu u 3. danu uzorkovanja nije zabilježeno nijedno obojenje na mišićnom tkivu. U 5. danu uzorkovanja 10% jedinki je imalo slabo obojenje na mišićnom tkivu, a ostale jedinke nisu imale obojenje na mišićnom tkivu. U 10. danu uzorkovanja 10% jedinki je imalo slabo obojenje na mišićnom tkivu, a ostale jedinke nisu imale obojenje na mišićnom tkivu (Slika 8). U kontrolnom kavezu gdje se obrada ribe vršila nakon 24 h odležavanja na ledu zabilježene su slijedeće vrijednosti. U 3. danu uzorkovanja 60% jedinki je imalo slabo obojenje, dok 40% jedinki nije imalo obojenje. U 5. danu uzorkovanja 90% jedinki je imalo slabo obojenje, a 10% jedinki srednje obojenje. U 10. danu uzorkovanja 50% jedinki je imalo slabo obojenje, a ostale jedinke nisu imale obojenje na mišićnom tkivu (Slika 9).



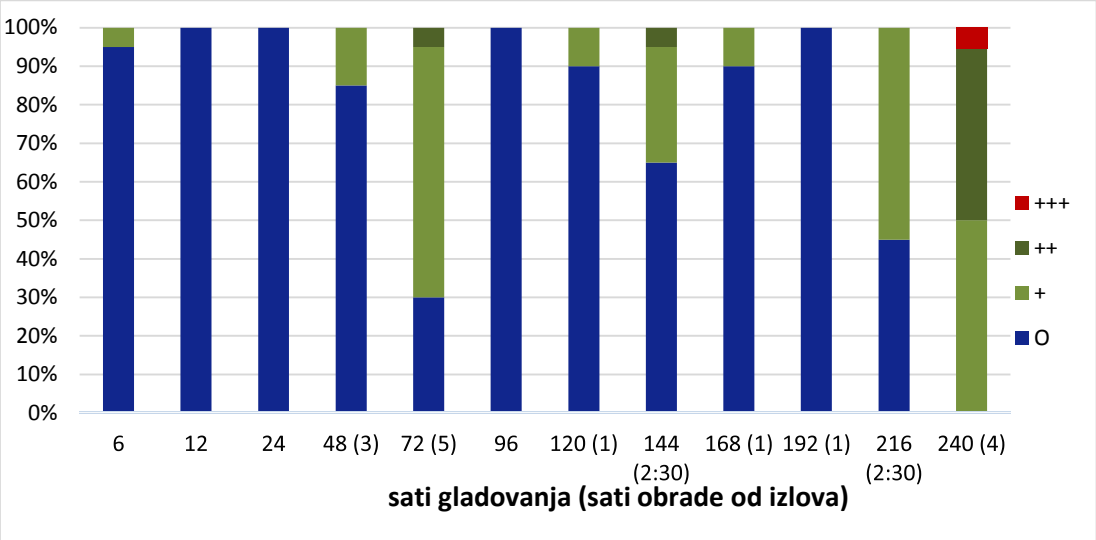
Slika 10. Udio obojenja mišićnog tkiva s obzirom na vrijeme obrade odmah po izlovu tijekom četvrtog ciklusa uzorkovanja (ožujak) u kontrolnom kavezu.
0 - nije obojeno, + - slabo obojeno, ++ - srednje obojeno, +++ - jako obojeno



Slika 11. Udio obojenja mišićnog tkiva s obzirom na obradu nakon 24 h od izlova tijekom četvrtog ciklusa uzorkovanja (ožujak) u kontrolnom kavezu.
0 - nije obojeno, + - slabo obojeno, ++ - srednje obojeno, +++ - jako obojeno

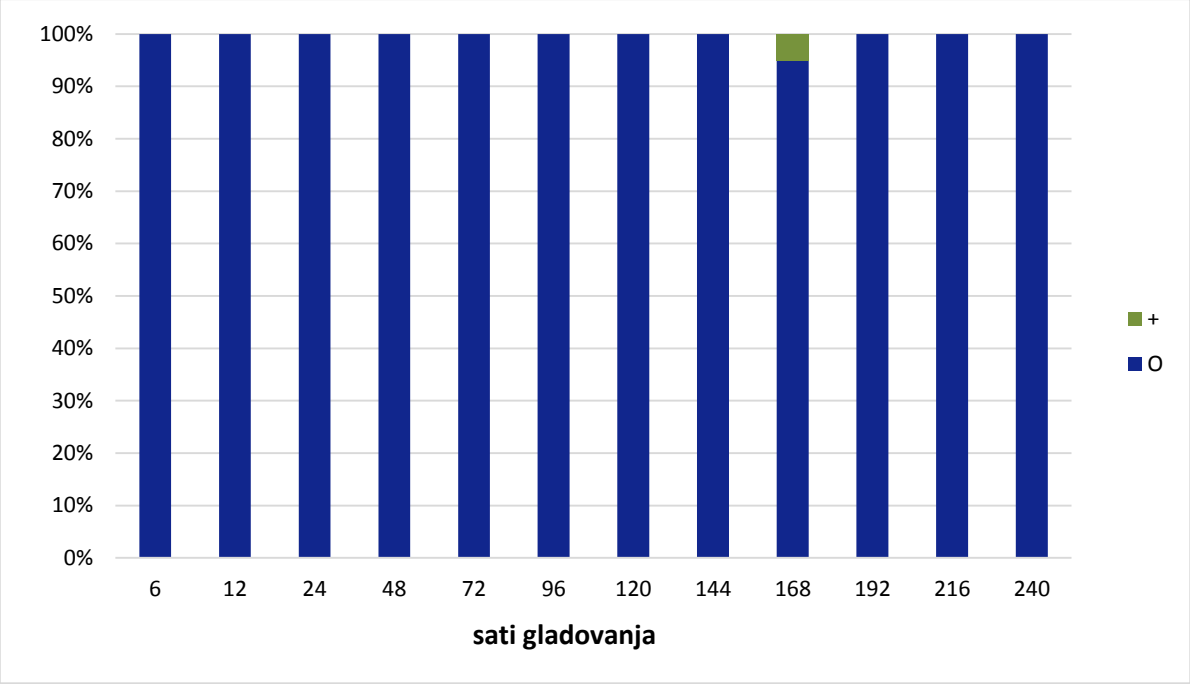
Tijekom četvrtog uzorkovanja u kontrolnom kavezu nije zabilježeno nijedno obojenje na mišićnom tkivu u sva 3 dana uzorkovanja (Slika 10). U kontrolnom kavezu gdje se obrada ribe vršila nakon 24 h odležavanja na ledu zabilježene su sljedeće vrijednosti. U 3. danu uzorkovanja 60% jedinki nije imalo obojenje, 20% jedinki je imalo slabo obojenje, 10% jedinki je imalo srednje obojenje, a 10% jedinki je imalo jako obojenje na mišićnom tkivu. U 5. danu uzorkovanja 50% jedinki nije imalo obojenje, 30% je imalo slabo obojenje, a 20% srednje obojenje na mišićnom tkivu. U 10. danu uzorkovanja 80% jedinki nije imalo obojenje, 10%

jedinki je imalo slabo obojenje, a 10% jedinki je imalo srednje obojenje na mišićnom tkivu (Slika 11).

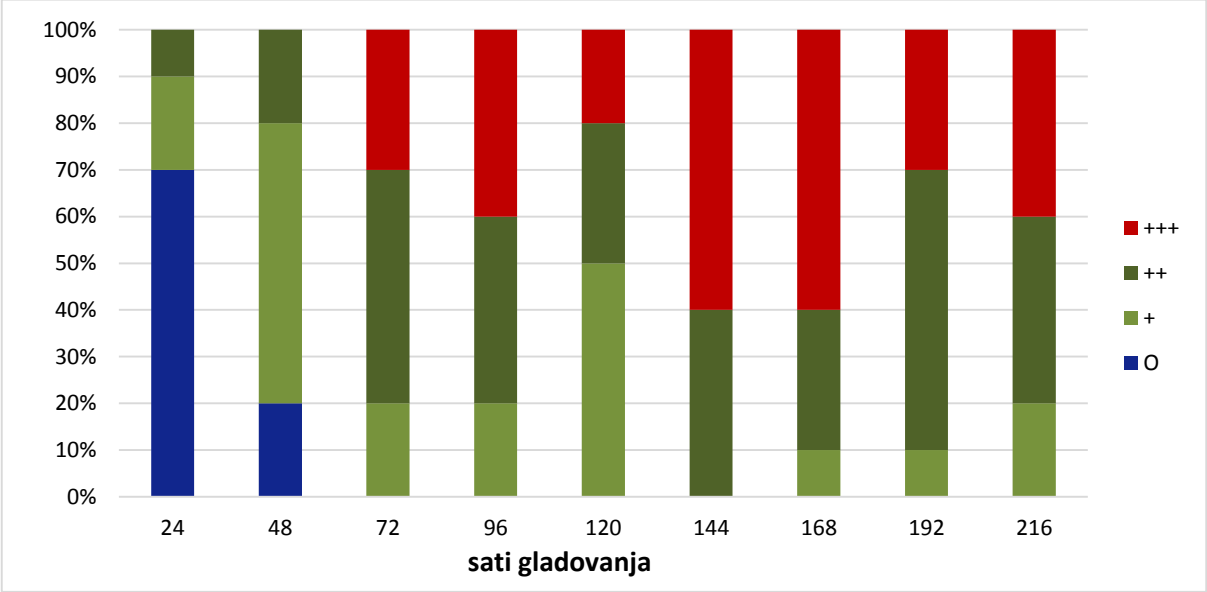


Slika 12. Udio obojenja mišićnog tkiva s obzirom na vrijeme gladovanja i na vrijeme obrade od izlova tijekom prvog ciklusa uzorkovanja (lipanj) u pokusnom kavezu.
0 - nije obojeno, + - slabo obojeno, ++ - srednje obojeno, +++ - jako obojeno

Kod prvog pokusnog uzorkovanja u pokusnom kavezu gdje se obrada ribe vršila u različitim vremenskim periodima zabilježene su sljedeće vrijednosti. U 6. h uzorkovanja 5% jedinki je imalo slabo obojenje, a 95% jedinki nije imalo nijedno obojenje na mišićnom tkivu. U 12. h i 24. h uzorkovanja nije zabilježeno nijedno obojenje na mišićnom tkivu. U 2. danu uzorkovanja gdje se riba obrađivala 3 h nakon izlova 15% jedinki je imalo slabo obojenje, a 85% jedinki nije imalo obojenje na mišićnom tkivu. U 3. danu uzorkovanja gdje se riba obrađivala 5 h nakon izlova 5% jedinki je imalo srednje obojenje, 65% jedinki je imalo slabo obojenje, a 30% jedinki nije imalo obojenje na mišićnom tkivu. U 4. danu uzorkovanja riba se obrađivala odmah po izlovu te nije bilo zabilježeno nijedno obojenje na mišićnom tkivu. U 5. danu uzorkovanja gdje se riba obrađivala nakon 1 h izlova 10% jedinki je imalo slabo obojenje, a 90% jedinki nije imalo nijedno obojenje na mišićnom tkivu. U 6. danu uzorkovanja gdje se riba obrađivala 2:30 h nakon izlova 5% jedinki je imalo srednje obojenje, 30% jedinki je imalo slabo obojenje, a 65% nije imalo nijedno obojenje na mišićnom tkivu. U 7. danu uzorkovanja gdje se riba obrađivala 1 h nakon izlova 10% jedinki je imalo slabo obojenje, a 90% jedinki nije imalo nijedno obojenje na mišićnom tkivu, a u 8. danu uzorkovanja gdje se riba obrađivala 1 h nakon izlova nije zabilježeno nijedno obojenje na mišićnom tkivu. U 9. danu uzorkovanja gdje se riba obrađivala 2:30 h nakon izlova 55% jedinki je imalo slabo obojenje, a 45% jedinki nije imalo nijedno obojenje na mišićnom tkivu. U 10. danu uzorkovanja 5% jedinki je imalo jako obojenje, 40% jedinki je imalo srednje obojenje, a 55% jedinki slabo obojenje na mišićnom tkivu (Slika 12).



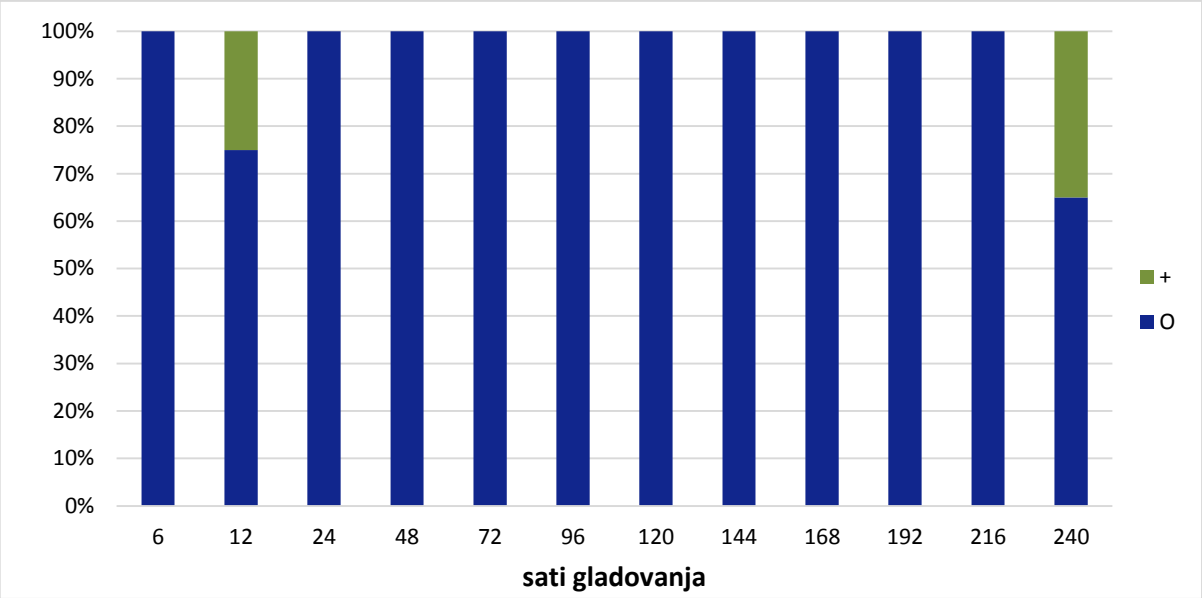
Slika 13. Udio obojenja mišićnog tkiva s obzirom na vrijeme gladovanja i obradu odmah po izlovu tijekom drugog ciklusa uzorkovanja (srpanj) u pokusnom kavezu.
0 - nije obojeno, + - slabo obojeno, ++ - srednje obojeno, +++ - jako obojeno



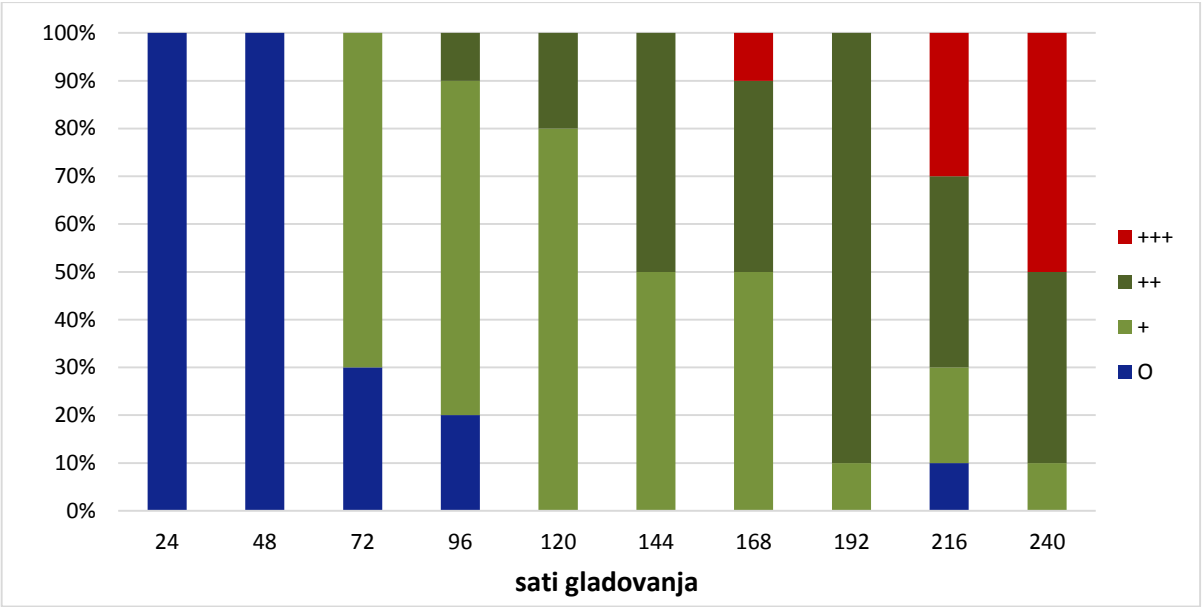
Slika 14. Udio obojenja mišićnog tkiva s obzirom na vrijeme gladovanja i obradu nakon 24 h od izlova tijekom drugog ciklusa uzorkovanja (srpanj) u pokusnom kavezu.
0 - nije obojeno, + - slabo obojeno, ++ - srednje obojeno, +++ - jako obojeno

Tijekom drugog ciklusa uzorkovanja u pokusnom kavezu gdje je riba gladovala 10 dana i obrađivala odmah po izlovu zabilježeno je tek 5% jedinki u 8. danu gladovanja kod kojih je bilo prisutno slabo obojenje mišićnog tkiva, a u ostalim danima nije bilo obojenja (Slika 13). U pokusnom kavezu gdje je riba gladovala 10 dana i gdje se obrada ribe vršila nakon 24 h

odležavanja na ledu zabilježene su sljedeće vrijednosti. U prva 24 h 70% jedinki nije imalo obojenje, 20% jedinki je imalo slabo obojenje, a 10% jedinki je imalo srednje obojenje mišićnog tkiva. U 2. danu uzorkovanja 20% jedinki nije imao obojenje, 60% je imalo slabo obojenje, a 20% srednje obojenje mišićnog tkiva. Od 3. dana sve uzorkovane jedinke su imale obojenja u različitim rasponima. U prosjeku od 3. pa do 10. dana 18,57% jedinki je imalo slabo obojenje, 41,43% jedinki je imalo srednje obojenje, a 40% jedinki je imalo jako obojenje na mišićnom tkivu (Slika 14).

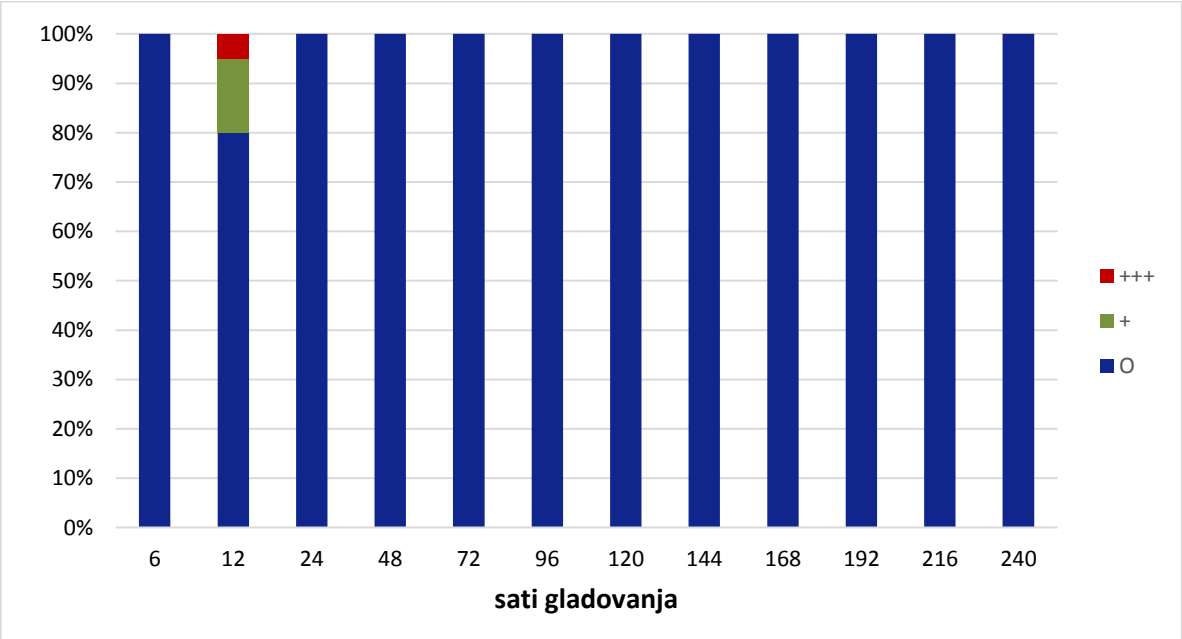


Slika 15. Udio obojenja mišićnog tkiva s obzirom na vrijeme gladovanja i obradu odmah po izlovu tijekom trećeg ciklusa uzorkovanja (prosinac) u pokusnom kavezu.
0 - nije obojeno, + - slabo obojeno, ++ - srednje obojeno, +++ - jako obojeno

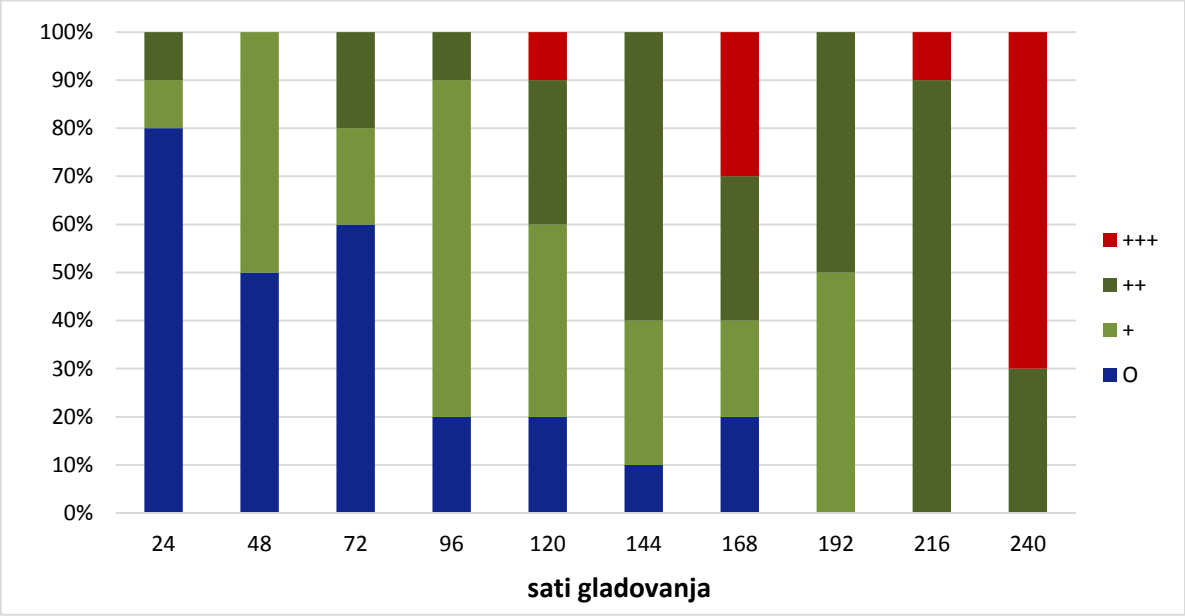


Slika 16. Udio obojenja mišićnog tkiva s obzirom na vrijeme gladovanja i obradu nakon 24 h od izlova tijekom trećeg ciklusa uzorkovanja (prosinac) u pokusnom kavezu.
0 - nije obojeno, + - slabo obojeno, ++ - srednje obojeno, +++ - jako obojeno

Tijekom trećeg ciklusa uzorkovanja u pokusnom kavezu gdje je riba gladovala 10 dana i obrađivala odmah po izlovu zabilježeno je 25% jedinki u 12. h uzorkovanja i 35% jedinki u 10. danu uzorkovanja koje su imale slabo obojenje na mišićnom tkivu. U ostalim danima uzorkovanja nije bilo zabilježenih obojenja na mišićnom tkivu (Slika 15). U pokusnom kavezu gdje je riba gladovala 10 dana i gdje se obrada ribe vršila nakon 24 h odležavanja na ledu zabilježene su sljedeće vrijednosti. Do 2. dana uzorkovanja nije bilo zabilježeno nijedno obojenje na mišićnom tkivu. U 3. danu uzorkovanja 70% jedinki je imalo slabo obojenje, a 30% jedinki nije imalo nijedno obojenje na mišićnom tkivu. U 4. danu uzorkovanja 70% jedinki je imalo slabo obojenje, 20% jedinki nije imalo nijedno obojenje, a 10% jedinki je imalo srednje obojenje na mišićnom tkivu. U 5. danu uzorkovanja 80 % jedinki je imalo slabo obojenje, a 20% jedinki je imalo srednje obojenje na mišićnom tkivu. U 6. danu uzorkovanja 50% jedinki je imalo srednje obojenje, a ostatak je imao slabo obojenje na mišićnom tkivu. U 7. danu uzorkovanja 50% jedinki je imalo slabo obojenje, 40% jedinki je imalo srednje obojenje, a 10% jedinki je imalo jako obojenje na mišićnom tkivu. U 8. danu uzorkovanja 90% jedinki je imalo srednje obojenje, a 10% jedinki je imalo slabo obojenje na mišićno tkivu. U 9. danu uzorkovanja 10% jedinki nije imalo nijedno obojenje, 20% jedinki je imalo slabo obojenje, 40% jedinki je imalo srednje obojenje, a 30% jedinki je imalo jako obojenje na mišićnom tkivu. U 10. danu uzorkovanja 50% jedinki je imalo jako obojenje, 40% jedinki je imalo srednje obojenje, a 10% jedinki je imalo slabo obojenje na mišićnom tkivu (Slika 16).



Slika 17. Udio obojenja mišićnog tkiva s obzirom na vrijeme gladovanja i obradu odmah po izlovu tijekom četvrtog ciklusa uzorkovanja (ožujak) u pokusnom kavezu.
0 - nije obojeno, + - slabo obojeno, ++ - srednje obojeno, +++ - jako obojeno



Slika 18. Udio obojenja mišićnog tkiva s obzirom na vrijeme gladovanja i obradu nakon 24 h od izlova tijekom četvrtog ciklusa uzorkovanja (ožujak) u pokusnom kavezu.
0 - nije obojeno, + - slabo obojeno, ++ - srednje obojeno, +++ - jako obojeno

Tijekom četvrtog ciklusa uzorkovanja u pokusnom kavezu gdje je riba gladovala 10 dana i obrađivala odmah po izlovu zabilježena su obojenja u 12. h uzorkovanja, dok u ostalih 10 dana nije zabilježeno nijedno obojenje. 15% jedinki je imalo slabo obojenje, a 5% jako obojenje mišićnog tkiva. Udio od 5% koji je imao jako obojenje je bila bolesna riba, pa je bila pretpostavka da je bolest uzrok jakog obojenja na mišićnom tkivu (Slika 17). U pokusnom kavezu gdje je riba gladovala 10 dana i gdje se obrada ribe vršila nakon 24 h odležavanja na ledu zabilježene su sljedeće vrijednosti. U 1. danu uzorkovanja 80% jedinki nije imalo nijedno obojenje, 10% jedinki je imalo slabo obojenje, a 10% jedinki je imalo srednje obojenje na mišićnom tkivu. U 2. danu uzorkovanja 50% jedinki je imalo slabo obojenje, a ostale jedinke nisu imalo nijedno obojenje na mišićnom tkivu. U 3. danu uzorkovanja 60% jedinki nije imalo nijedno obojenje, 20% jedinki je imalo slabo obojenje, a 20% jedinki je imalo srednje obojenje na mišićnom tkivu. U 4. danu uzorkovanja 20% jedinki nije imalo nijedno obojenje, 70% jedinki je imalo slabo obojenje, a 10% jedinki je imalo srednje obojenje na mišićnom tkivu. U 5. danu uzorkovanja 20% jedinki nije imalo nijedno obojenje, 40% jedinki je imalo slabo obojenje, 30% jedinki je imalo srednje obojenje, a 10% jedinki je imalo jako obojenje na mišićnom tkivu. U 6. danu uzorkovanja 60% jedinki je imalo srednje obojenje, 30% jedinki je imalo slabo obojenje, a 10% jedinki nije imalo nijedno obojenje. U 7. danu uzorkovanja 30% jedinki je imalo jako obojenje, 30% jedinki je imalo srednje obojenje, 20% jedinki je imalo slabo obojenje, a 10% jedinki nije imalo nijedno obojenje. U 8. danu uzorkovanja 50% jedinki je imalo srednje obojenje, a ostatak je imao slabo obojenje na mišićnom tkivu. U 9. danu uzorkovanja 90% jedinki je imalo srednje obojenje, a 10% jedinki je imalo jako obojenje na mišićnom tkivu. U 10. danu uzorkovanja 70% jedinki je imalo jako obojenje, a 30% jedinki je imalo srednje obojenje na mišićnom tkivu (Slika 18).

Dulje gladovanje prije izlova te dulje vrijeme proteklo od izlova do evisceracije, povezano je sa češćom i izraženijom pojavom obojenosti mišićnog tkiva i obratno, što su te dvije varijable vremenski kraće to će manje riba imati izraženo obojenje.
Obojenje mišićnog tkiva žučnim bojama je značajno više prisutno kod riba koje su gladovale.

Tablica 1. Utjecaj sati gladovanja na indeks kondicije (IK), masu žučnog mjehura, hepatosomatski indeks (HSI) i omjer mase žučnog mjehura i mase žučnog mjehura s jetrom (HI) u prvom ciklusu

Lipanj				
Sati gladovanja	**IK**	**Masa žučnog mjehura**	**HSI**	**HI**
6	1,17	0,24	2,05	5,52
12	1,19	0,17	2,09	4,06
24	1,10	0,27	2,13	5,03
48	1,05	0,31	1,90	8,25
72	1,10	0,39	1,87	9,60
96	1,08	0,38	1,62	10,55
120	1,03	0,43	1,74	11,32
144	1,03	0,44	1,51	12,78
168	1,05	0,44	1,61	12,14
192	1,04	0,50	1,55	13,92
216	1,03	0,45	1,41	14,30
240	1,03	0,51	1,39	14,88

Tablica 2. Utjecaj sati gladovanja na indeks kondicije (IK), masu žučnog mjehura, hepatosomatski indeks (HSI) i omjer mase žučnog mjehura i mase žučnog mjehura s jetrom (HI) u drugom ciklusu

Srpanj				
Sati gladovanja	**IK**	**Masa žučnog mjehura**	**HSI**	**HI**
6	1,17	0,30	2,01	4,92
12	1,19	0,22	2,02	3,84
24	1,10	0,32	1,86	6,36
48	1,05	0,40	1,76	8,63
72	1,10	0,49	1,76	10,33
96	1,08	0,51	1,62	11,29
120	1,03	0,50	1,45	13,09

144	1,03	0,57	1,47	13,49
168	1,05	0,56	1,42	14,10
192	1,04	0,53	1,24	15,56
216	1,03	0,54	1,39	13,96
240	1,03	0,48	1,17	15,69

Tablica 3. Utjecaj sati gladovanja na indeks kondicije (IK), masu žučnog mjehura, hepatosomatski indeks (HSI) i omjer mase žučnog mjehura i mase žučnog mjehura s jetrom (HI) u trećem ciklusu

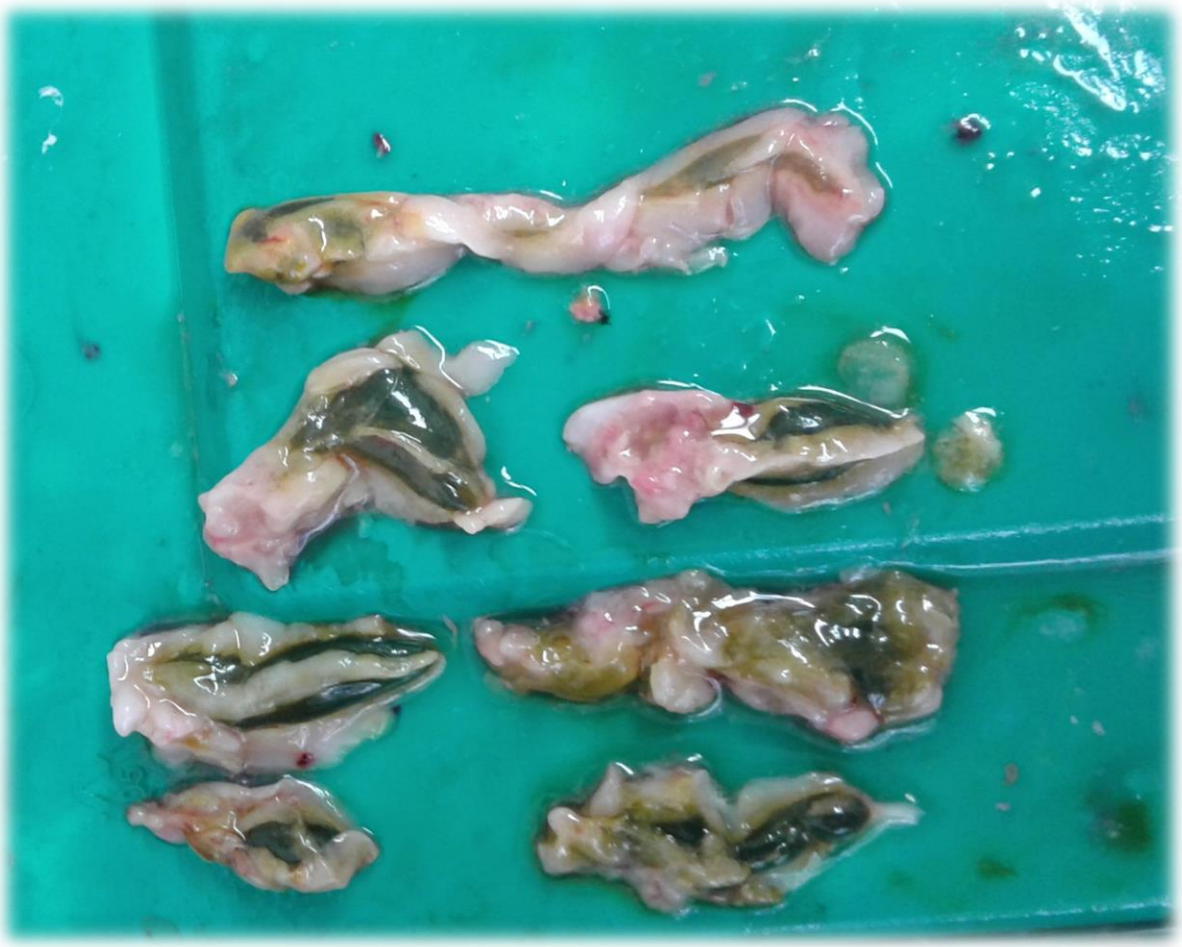
Prosinac				
Sati gladovanja	**IK**	**Masa žučnog mjehura**	**HSI**	**HI**
6	1,19	0,55	2,64	3,93
12	1,21	0,72	2,67	5,41
24	1,17	0,44	2,54	3,58
48	1,14	0,67	2,69	4,73
72	1,10	0,77	2,66	6,24
96	1,10	0,86	2,55	7,05
120	1,07	0,85	2,55	7,18
144	1,07	0,83	2,51	7,67
168	1,07	0,87	2,55	7,55
192	1,08	0,90	2,67	7,07
216	1,07	1,00	2,52	8,00
240	1,07	0,98	2,46	8,24

Tablica 4. Utjecaj sati gladovanja na indeks kondicije (IK), masu žučnog mjehura, hepatosomatski indeks (HSI) i omjer mase žučnog mjehura i mase žučnog mjehura s jetrom (HI) u četvrtom ciklusu

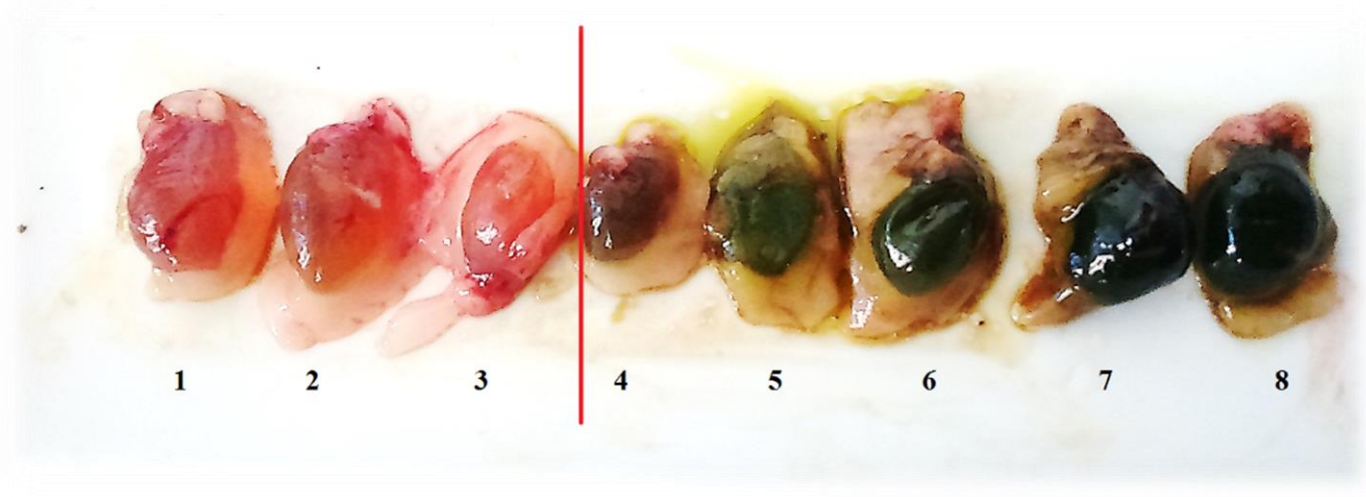
Ožujak				
Sati gladovanja	**IK**	**Masa žučnog mjehura**	**HSI**	**HI**
6	1,15	0,48	3,11	3,04
12	1,14	0,59	3,25	3,70
24	1,17	0,59	3,30	3,67
48	1,12	0,55	3,01	3,53
72	1,09	0,54	3,12	3,65
96	1,12	0,69	3,02	4,56

120	1,13	0,85	3,42	5,04
144	1,13	0,86	3,20	5,14
168	1,08	0,76	2,81	5,64
192	1,14	0,89	3,12	5,45
216	1,06	0,68	2,67	5,84
240	1,11	0,94	2,96	6,19

Prema rezultatima iz Tablica 1., 2., 3. i 4., indeks kondicije (IK) i hepatosomatski indeks (HSI) se smanjuju što su veći sati gladovanja, a vrijednosti mase žučnog mjehura i omjer mase žučnog mjehura i mase žučnog mjehura s jetrom (HI) se povećavaju.

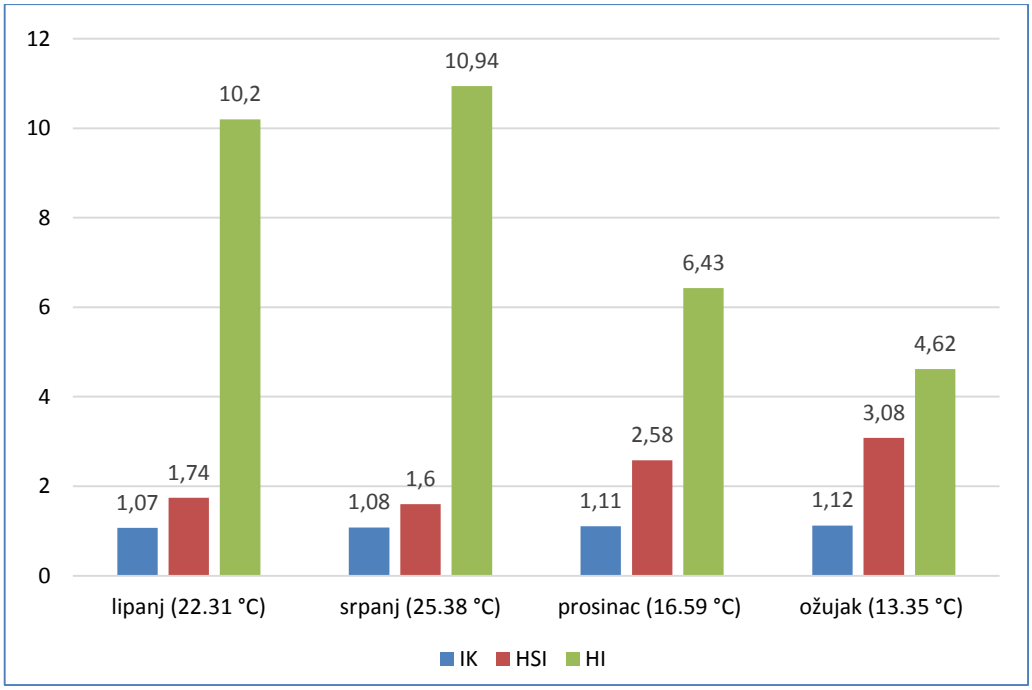


Slika 19. Žučni mjehuri s naslagama visceralnog masnog tkiva (Foto: Mejdandžić).



Slika 20. Stadiji punjenosti žučnih mjehura. (Foto: Mejdandžić).

Na Slici 20. prikazani su žučni mjehuri u različitim stadijima punjenosti od zadnje hranidbe. Prva tri žučna mjehura su napunjena u prva 24 h od zadnje hranidbe i blijedo crvene su boje. Ostali žučni mjehuri su napunjeni nakon 3 dana gladovanja i boje žučnih mjehura su tamnije, od svjetlije zelene pa sve do tamne zelene.



Slika 21. Prikaz indeksa kondicije (IK), hepatosomatskog indeksa (HSI) i omjera mase žučnog mjehura i mase žučnog mjehura s jetrom (HI) tijekom četiri ciklusa uzorkovanja u odnosu na prosječnu temperaturu mora u svakom ciklusu uzorkovanja.

Na Slici 21. dat je prikaz indeksa kondicije, hepatosomatskog indeksa i omjera mase žučnog mjehura i mase žučnog mjehura s jetrom tijekom četiri ciklusa uzorkovanja u odnosu na

prosječnu temperaturu mora za svaki ciklus uzorkovanja. U hladnom periodu godine indeks kondicije (IK) je bio veći (1,1-1,2), dok je u toplom periodu bio niži (1,07-1,08). Omjer mase žučnog mjehura i mase žučnog mjehura s jetrom (HSI) u hladnom periodu je bio također veći (2,58-3,08) u odnosu na topli period (1,6-1,74). Omjer mase žučnog mjehura i mase žučnog mjehura s jetrom (HI) u toplom periodu je bio veći (10,2-10,94), dok je u hladnom periodu bio niži (4,62-6,43).

4. Rasprava

Taurin je organska kiselina koja se nalazi u životinjskim tkivima. Visoke koncentracije taurina se nalaze u morskim organizmima i mesu, te mnogi kralježnjaci mogu sintetizirati taurin. S druge strane, mnoge vrste koje u sebi imaju visoke koncentracije taurina, ne mogu sintetizirati taurin te ga moraju nadomjestiti hranidbom (Brosnan i Brosnan, 2006). Među morskim ribljim vrstama kapacitet sinteze taurina se razlikuje. Kod većih karnivornih vrsta kao što su tuna (*Thunns thynus*), gof (*Seriola quinqueradiata*), japanski pagar (*Pagrus major*) te japanski halibut (*Paralichthys olivaceus*) kapacitet sinteze taurina je značajno nizak ili zanemariv (Goto i sur., 2001b).

Taurin se uglavnom sintetizira u jetri (Yokoyama i sur., 2001). Stoga su koncentracije taurina u jetri ovisne o taurinu koji se unosi hranom u organizam što su i pokazala istraživanja koja pokazuju kako nedostatak taurina negativno utječe na stanje jetre (Takagi i sur, 2008). Pojava zelene jetre je najspecifičniji simptom nedostatka taurina kod riba, iako nije zabilježen kod svih vrsta riba (Takagi i sur., 2005).

Goto i suradnici (2001a) u svom su istraživačkom radu na japanskom pagru istraživali uzrok pojave zelene jetre. U ovom pokusu primjenjivale su se tri vrste hranidbe kroz 28 tjedana, a ribe su hranjene dva puta na dan. Hranidba 1 je bila kontrolna i sadržavala je 50% ribljeg brašna bez udjela komponenata hrane biljnog podrijetla. Hranidba 2 je sadržavala 15% ribljeg brašna, 24% sojine sačme i 20% kukuruznog glutena, a hranidba 3 je sadržavala 24% kukuruznog glutena, 20% sojine sačme bez udjela ribljeg brašna. Dobiveni rezultati su pokazali da je pojava zelene jetre najmanje prisutna kod hranidbe 1 (13,33%), dok je kod hranidbe 2 (80%) i hranidbe 3 (75%) bila ekstremno veća zastupljenost. Pretpostavljaju da je uzrok pojave nedostatak taurina koji je uzrokovao zadržavanje žučnog pigmenta biliverdina u jetri, a glavni izvor taurina je hrana životinjskog podrijetla, dok hrana biljnog podrijetla u sebi ne sadrži taurin.

Takagi i suradnici (2006) istraživali su na jednogodišnjem japanskom pagru utjecaj dodavanja taurina na hranidbu sa sojinim proteinskim koncentratom (SPC) s niskim udjelom ribljeg brašna. Hranjenje je provođeno 5 puta tjedno, 2 puta na dan kroz ukupan vremenski period od 34 tjedna. Temperatura vode se kretala između 15,5 – 27,3 °C. Ribe su gladovale 48 h prije uzorkovanja jedinki, a uzorkovanje je provođeno na početku eksperimenta, nakon 14 i 29 tjedna i u zadnjem 34 tjednu. Hranidba 1 je sadržavala 5% ribljeg brašna, 53% SPC-a i 0% taurina, a hranidba 2 je sadržavala i 0,2% dodatka taurina, dok je hranidba 3 bila kontrolna i sadržavala je 50% ribljeg brašna. Ukupni udio taurina u prvoj hranidbi je iznosio 0.95 mg/g, u drugoj 2.58 mg/g, a u trećoj 4,72 mg/g. U 14 tjednu uzorkovanja učestalost pojave zelene jetre je bila niska, a pretpostavlja se da uzrok tome može biti utjecaj temperature. Naime, zapaženo je da niske temperature pogoduju većoj učestalosti pojave zelene jetre, što znači da će i veća pojavnost biti u zimskom periodu (Sakaguchi i Hamaguchi, 1979). U 34 tjednu učestalost pojave zelene jetre je iznosila 45% kod hranidbe 1, kod hranidbe 2 iznosila je 5%, a 10% kod hranidbe 3. Stoga, uz pretpostavku da dodavanje taurina u hranidbu riba utječe na smanjenje pojave zelene jetre, jedan od uzroka pojave mogu biti niske temperature (Takagi i sur., 2006).

Nakon par godina ponovno je provođen eksperiment na jednogodišnjem japanskom pagru gdje je vršena hranidba s 55%-tnim udjelom sojinog proteinskog koncentrata (SPC) bez udjela ribljeg brašna. U ovom radu su promijenjeni dotadašnji temperaturni uvjeti, tako da su

temperature u ovom pokusu visoke (prosječna temperatura se kretala oko 22 °C) kako bi se eliminirao utjecaj niskih temperatura na pojavu zelene jetre. Sastavljene su 3 razine hranidbe u kojima se udio taurina proporcionalno povećavao s dodatkom taurina u hranidbe, pa je prva hranidba sadržavala 0.01 mg/g, druga 9.79 mg/g, a treća hranidba je sadržavala 20.8 mg/g taurina. Ribe su gladovale 48 h prije uzorkovanja. Pojava zelene jetre u prvoj hranidbi je zabilježena u 70%-tnom udjelu, dok uopće nije zabilježena u drugoj i trećoj hranidbi. Nadalje, koncentracije taurina su bile najniže, a sadržaji žučnih pigmenata su bili najveći u prvoj hranidbi. Nasuprot tome, koncentracije taurina su se povećavale s dodatkom taurina, a sadržaji žučnih pigmenata su se smanjivali (Takagi i sur., 2011).

U navedenim istraživanjima vidljiva je promjena količine taurina kod istraživanih vrsta, stoga bi kao daljnji korak u ovom istraživanju bilo važno proučiti i taj čimbenik.

Uz svako testiranje mjerena je i temperatura mora. Temperatura mora se mijenjala sukladno s vremenskim dobima i pojavnost obojenja je bila prisutna kod svih izmjerenih temepraturnih vrijednosti, odnosno nije bilo razlike u obojanosti fileta s obzirom na temperaturu mora. Na različitim temperaturama mora obojanost fileta je svejedno bila vidljiva. Međutim, temperatura mora je utjecala na povezane varijable koje su utjecale na obojenje mišićnog tkiva, a to su indeks kondicije (IK), hepatosomatski indeks (HSI) i omjer mase žučnog mjehura i mase žučnog mjehura s jetrom (HI). U hladnom periodu godine indeks kondicije (IK) je bio veći (1,1-1,2), dok je u toplom periodu bio niži (1,07-1,08). Omjer mase žučnog mjehura i mase žučnog mjehura s jetrom (HSI) u hladnom periodu je bio također veći (2,58-3,08) u odnosu na topli period (1,6-1,74). Omjer mase žučnog mjehura i mase žučnog mjehura s jetrom (HI) u toplom periodu je bio veći (10,2-10,94), dok je u hladnom periodu bio niži (4,62-6,43).

U lipnju i srpnju indeks kondicije (IK) je najniži nakon perioda niskih temepratura i sniženog metabolizma ribe. Indeks kondicije (IK) se povećava kroz ljetne mjesece kad je ribi dostupna dostatna količina hrane i kad je temepratura mora pogodna za rast. Indeks kondicije se tako povećava sve do rujna i zatim postepeno pada prema zimskim mjesecima. Na početku hladnog perioda riba je najčešće u dobroj kondiciji (Čolak, 2009).

Zbog bržeg metabolizma u toplom periodu brže nastupaju razlike u masi između jetre i žučnog mjehura, jetra brže gubi na masi, a žučni mjehur se brže puni. Zbog toga je i omjer između njihovih masa veći. Zbog sporijeg metabolizma i smanjene hranidbe žuč se neće previše trošiti tako da je masa žučnog mjehura veća u hladnom periodu (Pointet i Milliet, 2000).

Indeks kondicije (IK) pokazuje opće stanje riba, kao i promjene koje se događaju zavisno od lokacije i fizioloških ciklusa u životu riba. Indeks kondicije (IK) se smanjuje što su veći sati gladovanja (Treer, 2008), a kod smanjenog indeksa kondicije smanjuje se i količina visceralnog masnog tkiva koje onemogućuje kontakt žučnog mjehura s mišićnim tkivom.

Žučni mjehur se puni i postaje teži kod riba koje gladuju (Love, 1958), a masa jetre se smanjuje (Bogut i Bavčević, 2016). Prema tome, žučni mjehur više prominira izvan rubova jetre i u većem je kontaktu sa okolinom, te se hepatosomatski indeks (HSI) smanjuje s duljim gladovanjem, a omjer mase žučnog mjehura i mase žučnog mjehura s jetrom (HI) se povećava (Collins i Anderson 1995).

Kod jednogodišnjeg gofa vršena je hranidba sa sojinim proteinskim koncentratom (SPC) s niskim udjelom ribljeg brašna. Kao i kod prethodnih istraživanja s niskim udjelom taurina u hranidbi zabilježena je velika pojavnost pojave zelene jetre, a dodavanjem taurina u hranidbi pojava zelene jetre se smanjuje (Takagi i sur., 2005; 2006; 2008).

S obzirom na to da su se u ovom istraživačkom radu koristili ekstrudirani peleti čiji su glavni sastojci riblje brašno i riblje ulje te varijabilni udjeli biljnih sastojaka poput sojinog i kukuruznog brašna, te se nije dodavao taurin u hranidbi, utjecaj ovog hranidbenog režima se ne može proučavati kao uzrok pojave obojenja.

U ovom istraživanju nije se posebno proučavao utjecaj hranidbe na pojavu obojenja, no prema prijašnjim istraživanjima bilo bi dobro utvrditi i tu vezu.

Na jednogodišnjem atlantskom lososu (*Salmo salar*) primjenjivana su 3 režima hranidbe. Prvi režim se sastojao od 24-satnog hranjenja. Riba se hranila svakih 15 min te se uzrokovalo 5 jedinki svaka 4 h. Drugi režim se sastojao od izgladnjivanja i ponovnog hranjenja ribe. Kad je završen prvi režim hranidbe, ostala riba je gladovala 12 dana. Nakon 3, 6, 12, 24, 36, 84, 136 i 276 h uzrokovalo se po 5 jedinki iz svake grupe. Po završetku izgladnjivanja, riba se ponovno vratila ponovnom hranjenju i nakon 1, 6, 12 i 24 h uzrokovalo se 5 jedinki iz svake grupe. Treći režim se sastojao od jednokratne hranidbe u 10 h svaki dan u vremenskom razdoblju od 14 dana. Kod prvog režima hranidbe žučni mjehuri su bili prazni, a kod nekoliko žučnih mjehura koji nisu bili prazni, boja žuči je bila blijeda. Kod drugog režima hranidbe u prva 24 h žuč je bila blijeda, nakon 36 h postala je tamnija, da bi nakon 84 h postala tamno zelena, a nakon 276 h je bila tamno plave boje. Kod ponovnog hranjenja težina žučnih mjehura je dosegla gotovo upola manju težinu od težine koja je bila kod 276 h gladovanja. Nakon 6 h težina žučnih mjehura je bila gotovo ista kao i kod jedinki hranjenih *ad libitum*. U trećem režimu hranidbe nakon što je riba nahranjena u roku 4 h žučni mjehur se ispraznio. Kod hranidbe *ad libitum* žučni mjehuri su konstantno prazni. U takvim okolnostima pretpostavlja se da žuč vjerojatno prolazi direktno od jetre do prednjeg dijela crijeva ne zadržavajući se u žučnom mjehuru. Prazni žučni mjehuri ukazuju na to da je zadnja hranidba bila unutar 6 h. Žučni mjehuri sa znatnim količinama blijede žuči ukazuju na to da jedinke nisu dobile hranu oko 24 h, a žučni mjehuri tamno zelene boje ukazuju na gladovanje oko 4 dana, a tamno plava boja ukazuje na gladovanje bar 6 dana (Talbot i Higgins, 1982).

Love (1958) je proveo pokus s bakalarom (*Gadus morhua*) u akvariju na 14 °C. Ukupno je uzorkovano 12 jedinki s tim da je 6 jedinki hranjeno 3 puta tjedno, a ostatak je gladovao 76 dana da bi se ispitali učinci gladovanja na pojedine dijelove tijela, uključujući i žučni mjehur. Žučni mjehur kod izgladnjivanih jedinki je bio signifikantno većeg volumena u odnosu na jedinke koje su primale hranu. Približne količine žuči su bile i do 2-4 puta veće u odnosu na hranjenu ribu. Razlog tomu je što se žučni mjehur ne prazni kod ribe koja gladuje jer žuč sudjeluje u probavi hrane te riba koja gladuje ne koristi žuč. Zbog toga je masa žučnog mjehura veća nego kod ribe koja se redovno hrani.

Robb (1992) je istraživao na pišmolju (*Merlangius merlangus*) utjecaj 3 različite hranidbe na stanje žučnog mjehura. Ribe koje su se hranile imale su manji, blijed i ispražnjen žučni mjehur. Suprotno tome, ribe koje su prestale dobivati hranu i prešle u fazu gladovanja imale su sve veći i tamniji žučni mjehur. Prva 24 h od gladovanja žuč u žučnom mjehuru je bila blijede boje, a nakon 36 h žuč je dobila nijansu zelene boje pa sve do tamno zelene boje do 40 h gladovanja. Nakon više od 75 h gladovanja žuč je dobila tamno plavu boju. Unutar 6 h prelaskom u fazu ponovne hranidbe iz faze gladovanja težina žučnog mjehura se značajno smanjila, odnosno žučni mjehur je bio prazan. U fazi gladovanja težina žučnog mjehura je zauzimala 0,2% od ukupne mase ribe, a prelaskom u fazu ponovne hranidbe zauzimala je tek 0,03%.

Pri provedenom istraživanju u pokusnom kavezu u kojem je riba gladovala, dulji sati gladovanja su utjecali na veću i jaču pojavu obojenja. Shodno tome, masa žučnog mjehura se povećavala što je riba više vremenski gladovala. Žučni mjehur više prominira izvan rubova jetre i u većem je kontaktu sa okolinom. Suprotno tome, u kontrolnom kavezu gdje se riba hranila svakodnevno, pojavnost obojenja je bilo jako niska.

5. Zaključak

Prema rezultatima ovog istraživanja, gladovanje je utjecalo na obojenje mišićnog tkiva. Što je riba dulje gladovala, obojenje mišićnog tkiva je bilo veće i masa žučnog mjehura je bila veća kod gladovanja. Nadalje, što je dulje trajanje gladovanja i dulje vrijeme proteklo od izlova do obrade ribe, to je bila češća i intenzivnija pojava obojanosti mišićnog tkiva žučnim bojama. Temperatura mora nije bila značajno povezana s obojanošću fileta, ali se njezin utjecaj odražava na indeks kondicije (IK), hepatosomatski indeks (HSI) i omjer mase žučnog mjehura i mase žučnog mjehura s jetrom (HI). Veća temperatura mora je povezana s nižim indeksom kondicije (IK), manjim hepatosomatskim indeksom (HSI) te većim omjerom mase žučnog mjehura i mase žučnog mjehura s jetrom (HI), dok je niža temperatura mora je povezana s većim indeksom kondicije (IK), hepatosomatskim indeksom (HSI) i manjim omjerom mase žučnog mjehura i mase žučnog mjehura s jetrom (HI).

Od ostalih čimbenika koji mogu umanjiti obojenje fileta bez obzira koliko dugo riba leži na ledu je količina visceralne masti u ribi koja je direktno povezana s indeksom kondicije. Naime, što je veća količina masti u utrobi ribe veće su šanse da ta mast obuhvati žučni mjehur i tako fizički spriječi njegovo preslikavanje na mišićno tkivo.

6. Popis literature

1. Banaee M., Sureda A., Mirvaghefi A. R., & Ahmadi K. (2013). Biochemical and histological changes in the liver tissue of rainbow trout (Oncorhynchus mykiss) exposed to sub-lethal concentrations of diazinon. Fish physiology and biochemistry, 39(3): 489-501.

2. Barnabé G. (1980). Exposé synoptique des données biologiques sur le loup ou bar Dicentrarchus labrax. FIR/S126 Synopsis FAO sur les pêches. 126: 1-70.

3. Bavčević L. (2014). Priručnik i vodič za dobru proizvođačku praksu, Kavezni uzgoj lubina i komarče. Savjetodavna služba, Zagreb 124.

4. Bogut I. (2016). Morfologija probavnog sustava. U: Hranidba riba. (Bogut I., Bavčević L., Stević I., Adámek Z., Franičević V., Galović D., Gjurčević E., Klanjšček T., Luzzana U., Mareš J., Mišlov-Jelavić K., Pavličević J., Pliestić S., Šterbić I., Tibaldi E., Župan B., Ur.). Hrvatska akademija za znanost i umjetnost u Bosni i Hercegovini, Sveučilište u Mostaru, Fakultetsko vijeće Agronomskog i prehrambeno-tehnološkog fakulteta u Mostaru, Agronomski fakultet Sveučilišta u Zagrebu, Mostar 11-31.

5. Bogut I., Bavčević L. (2016.) Načela izmjene tvari i energije. U: Hranidba riba. (Bogut I., Bavčević L., Stević I., Adámek Z., Franičević V., Galović D., Gjurčević E., Klanjšček T., Luzzana U., Mareš J., Mišlov-Jelavić K., Pavličević J., Pliestić S., Šterbić I., Tibaldi E., Župan B., Ur.). Hrvatska akademija za znanost i umjetnost u Bosni i Hercegovini, Sveučilište u Mostaru, Fakultetsko vijeće Agronomskog i prehrambeno-tehnološkog fakulteta u Mostaru, Agronomski fakultet Sveučilišta u Zagrebu, Mostar 235-263.

6. Bogut I., Pavličević J. (2006). Sistematika riba. U: Biologija riba. (Bogut I., Novoselić D., Pavličević J., Ur.). Poljoprivredni fakultet (Sveučilište JJ Strosmajer u Osijeku i Sveučilište u Mostaru), Osijek 360-361.

7. Brosnan J. T., Brosnan M. E. (2006). The sulfur-containing amino acids: An overview. The Journal of Nutrition. 136 (6): 1636S-1640S.

8. Bruslé J., Anadon G. G. (1996). The structure and function of fish liver. U: Fish morphology. (Mushi J. S., Dutta H. M., Ur.). Horizon of New Research, Oxford & IBH Publishing, New Delhi, Calcutta 77-93.

9. Cakli S., Kilinc B., Cadun A., Dincer T., Tolasa S. (2006). Effects of gutting and ungutting on microbiological, chemical, and sensory properties of aquacultured sea bream (*Sparus aurata*) and sea bass (*Dicentrarchus labrax*) stored in ice. Critical Reviews in Food Science and Nutrition. 46(7): 519-527.

10. Collins A. L., Anderson T. A. (1995). The regulation of endogeneous energy stores during starvation and refeeding in the somatic tissues of the golden perch. Journal of Fish Biology. 47(6): 1004-1015.

11. Čolak S. (2009). Pojavnost parazita cimotoidnog jednakonošca *Ceratothoa oestroides* (Risso, 1926) na uzgajanom lubinu (*Dicentrarchus labrax* L. 1758). Magistarski rad. Sveučilište u Zagrebu 74-75.

12. Gatlin D. M., Barrows F. T., Brown P., Dabrowski K., Gaylord T. G., Hardy R., W., Herman E., Hu G., Krogdahl A., Nelson R., Overturf K., Rust M., Sealey W., Skonberg D., J. Souza E., Stone D., Wilson R., Wurtele E. (2007). Expanding the utilization of sustainable plant products in aquafeeds: a review. Aquaculture Research. 38(6): 551-579.

13. Gilloteaux J., Oldham C. K., Biaginati-Risbourg S. (1996). Ultrastructural diversify of the biliary tract and the gallbladder in fish. U: Fish morphology. (Mushi J. S., Dutta H. M., Ur.). Horizon of New Research, Oxford & IBH Publishing, New Delhi, Calcutta 95-110.

14. Goto T., Takagi S., Ichiki T., Sakai T., Endo M., Yoshida T., Ukawa M., Murata H. (2001a). Studies on the green liver in cultured red sea bream fed low level and nonfish meal diets: relationship between hepatic taurine and biliverdin levels. Fisheries Science. 67(1): 58-63.

15. Goto T., Tiba K., Sakurada Y., Takagi S. (2001b). Determination of hepatic cysteinesulfinate decarboxylase activities in fish by means of OPA-prelabeling and reverse-phase high-performance liquid chromatographic separation. Fisheries Science. 67(3): 553-555.

16. Jones N. R. (1969). Meat and fish flavors; significance of ribomononucleotides and their metabolites. Journal of Agricultural and Food Chemistry. 17(4): 712-716.

17. Kyrana V. R., Lougovois V. P. (2002). Sensory, chemical and microbiological assessment of farm-raised European sea bass (*Dicentrarchus labrax*) stored in melting ice. International Journal of Food Science and Technology. 37(3): 319–328.

18. Love R. M. (1958). Studies of North Sea Cod. III. Effects of starvation. Journal of the Science of Food and Agriculture. 9(9): 617-620.

19. Pointet K., Milliet A. (2000). PAHs analysis of fish whole gall bladders and livers from the Natural Reserve of Camargue by GC/MS. Chemosphere. 40(3): 293-299.

20. Ricker W. E. (1975). Computation and interpretation of biological statistics of fish populations. Bulletin of the Fisheries Research Board of Canada 191(1): 382.

21. Robb A. P. (1992). Changes in the gall bladder of whiting (*Merlangius merlangus*) in relation to recent feeding history. ICES Journal of Marine Science. 49(4): 431-436.

22. Sakaguchi H., Hamaguchi A. (1979). Physiological studies on cultured red sea bream – IV. Prevention of green liver andchanges in plasma constituents and enzymatic activities onwinter culturing in warm water. Nippon Suisan Gakkaishi. 45: 1371-1373.

23. Subasinghe R., Soto D., Jia J. (2009). Global aquaculture and its role in sustainable development. Reviews in Aquaculture. 1(1): 2-9.

24. Tacon A. G. J., Metian M. (2008). Global overview on the use of fishmeal and fish oil in industrially compounded aquafeeds: Trends and future prospects. Aquaculture. 285(1-4): 146-158.

25. Takagi S., Murata H., Goto T., Ichiki T., Munasinghe D. M. S., Endo M., Matsumoto T., Sakurai A., Hatate H., Yoshida T., Sakai T., Yamashita H., Ukawa M., Kuramoto T. (2005). The green liver syndrome is caused by taurine deficiency in yellowtail *Seriola quinqueradiata* fed diets without fishmeal. Aquatic Science. 53(3): 279-290.

26. Takagi S., Murata H., Goto T., Hayashi M., Hatate H., Endo M., Yamashita H., Ukawa M. (2006a). Hemolytic suppression roles of taurine in yellowtail *Seriola quinqueradiata* fed non-fish meal diets based on soybean protein. Fisheries Science. 72(3): 546-555.

27. Takagi S., Murata H., Goto T., Endo M., Yamashita H., Ukawa M. (2008). Taurine is an essential nutrient for yellowtail *Seriola quinqueradiata* fed non-fish meal diets based on soy protein concentrate. Aquaculture. 280(1-4): 198–205.

28. Takagi S., Murata H., Goto T., Ichiki T., Endo M., Hatate H., Yoshida T., Sakai T., Yamashita H., Ukawa M. (2006b). Efficacy of taurine supplementation for preventing green liver syndrome and improving growth performance in yearling red sea bream *Pagrus major* fed low-fishmeal diet. Fisheries Science. 72(6): 1191-1199.

29. Takagi S., Murata H., Goto T., Hatate H., Endo M., Yamashita H., Ukawa M. (2011). Role of taurine deficiency in inducing green liver symptom and effect of dietary taurine supplementation in improving growth in juvenile red sea bream *Pagrus major* fed non-fishmeal diets based on soy protein concentrate. Fisheries Science. 77(2): 235-244.

30. Talbot C., P. J. Higgins. (1982). Observations on the gall bladder of juvenile Atlantic salmon *Salmo salar* L., in relation to feeding. Journal of Fish Biology. 21(6): 663-669.

31. Treer T. (2008). Ihtiologija II. Agronomski fakultet Sveučilišta u Zagrebu. Zagreb 87.

32. Treer T., Safner R., Aničić I., Lovrinov M. (1995). Ribarstvo. Nakladni zavod Globus, Zagreb 171.

33. Wootton R. J., Evans G. W., & Mills L. (1978). Annual cycle in female three-spined sticklebacks (*Gasterosteus aculeatus* L.) from an upland and lowland population. Journal of Fish Biology. 12(4):331-343.

34. Yokoyama M., Takeuchi T., Park G. S., Nakazoe J. (2001). Hepatic cysteinesulphinate decarboxylase activity in fish. Aquaculture Research. 32(s1), 216–220.

35. Yu T. H., Liu J., Zhou Y. X. (2004). Using electrical impedance detection to evaluate the viability of biomaterials subject to freezing or thermal injury. Analytical and bioanalytical chemistry. 378(7): 1793-1800.

Životopis

Nikolina Ledenko je rođena 08. 12. 1993. u Šibeniku. Završila je srednju školu u Benkovcu, smjer ekonomist 2012. godine. Iste godine se upisala na preddiplomski studij Primijenjene ekologije u poljoprivredi u Zadru, a diplomirala je 2016. godine. Nakon diplomiranja upisuje diplomski studij Ribarstvo i lovstvo na Agronomskom fakultetu u Zagrebu. U 2016. godini kao članica Volonterskog centra Zadar dobila je uvjerenje o završenoj edukaciji hrvatskog znakovnog jezika. Članica je Hrvatskog planinarskog društva Sv. Patrik. Njezini hobiji su sviranje gitare i pjevanje, te se rekreativno bavi trčanjem.