

1.UVOD

Sa porastom broja stanovnika u svijetu i rastom životnog standarda, naročito u zemljama u razvoju, značajno rastu potrebe za mesom riba i ostalih plodova voda. Krajem dvadesetog vijeka ulov ribe je dostigao svoj maksimum i smatra se da dalje povećanje ulova nije moguće, bez posljedica za opstanak pojedinih vrsta riba i narušavanja ekosistema. Povećanjem ulova i proizvodnje ribe i proizvoda od ribe znatno se povećala količina ribe i proizvoda od ribe na tržištu, a samim tim postala je dostupna velikom broju potrošača.

Dimljena riba je dobro prihvaćena od potrošača. U prilog tome govori i podatak da u Francuskoj od ukupne ponude ribe oko 20% čini dimljena riba. Povećanoj potražnji dimljene ribe svakako doprinosi njen atraktivan izgled (boja), karakterističan miris i okus. Prilikom kupovine namirnica potrošač se najčešće opredjeljuje na osnovu izgleda, a konačan sud donosi nakon konzumiranja, pri čemu su mu u ocjeni prihvatljivosti najvažniji miris i ukus. Za ponovnu mogućnost izbora namirnice potrošač se oslanja na prethodno stečeno iskustvo, očekujući da namirnica ima isti kvalitet koji je memorisao. Standardan kvalitet u proizvodnji dimljene ribe nije jednostavno održati. Mnogi činoci u tehnologiji uzgoja i prerade ribe mogu da utiču na kvalitet proizvoda.

U Republici Srpskoj proizvodnja ribe je u porastu. Očekuje se da će riba biti jedan od prvih proizvoda koje ćemo moći da ponudimo potrošačima u EU. Otuda postoji i interes za ispitivanje činilaca koji utiču na kvalitet dimljene ribe.

2. PREGLED LITERATURE

2.1. Ulov ribe

Prvi podaci o ribolovu potiču iz kamenog doba. Razne vrste udica iz kamenog doba ukazuju da su ljudi toga perioda koristili ribu u ishrani. Istorijski spomenici iz perioda starog vijeka sadrže podatke o preradi i čuvanju ribe u dužem vremenskom periodu (**Baltić, 1997**).

Početak dvadesetog vijeka prihvaćeni su postupci konzervisanja namirnica. Tako je povećana i proizvodnja konzerviranih namirnica, a među njima i ribe. U tom periodu povećao se i ulov ribe (tabela 2.1.).

Tabela 2.1. Ulov ribe u svijetu u toku 20 vijeka (milioni tona)

Godina	1900	1920	1938	1960	1977	1991	1997	2000
Ulov	5.0	9.5	20.5	35.0	73.5	84.3	93.3	94

Ulov ribe u toku 20 vijeka rastao je skoro 20 puta i dostigao je maksimum od blizu 100 miliona tona. U svijetu, 2002 godine ulovljeno je ukupno 132.900 000 tona ribe. Od mnogobrojnih vrsta ribe (oko 30 000 vrsta), 65 vrsta je ekonomski značajno i u ukupnom ulovu učestvuju sa preko 50%. Zemlja sa najvećim ulovom je Kina, koja je u ukupnom svjetskom godišnjem ulovu 2004 godine učestvovala sa preko 16%. (**Anon, 2004**). Najznačajniji proizvođači ribe u akvakulturi prikazani su u tabeli 2.2. (**Kilibarda i sar. 2008**).

Tabela 2.2. Zemlje sa najvećom proizvodnjom ribe u akvakulturi u svijetu 2005 godine (u milionima tona)

Zemlja	Količina
Kina	32.47
Indija	2.84
Vietnam	1.44
Indonezija	1.20
Tailand	1.14
Bangladeš	0.88
Japan	0.75
Čile	0.70
Norveška	0.66
Filipini	0.58

Smatra se da dalje povećanje ulova ribe od 94 miliona tona godišnje nije moguće bez posljedica po opstanak pojedinih ekosistema i narušavanja prirodnih odnosa.

Potrebe za mesom ribe koje se ne mogu obezbjediti ulovom zadovoljavaju se ribom porijeklom iz akvakulture.

Uzgajanje riba u akvakulturi bila je poznata Kinezima 2000 godina prije Hrista. Danas se ovim načinom proizvodnje dobija 32 miliona tona ribe, a pretpostavlja se da će 2025 godine proizvodnja dostići 77 miliona tona (**Ćirković i sar. 2002**)

2.2. Značaj ribe u ishrani ljudi

Na potrošnju ribe utiče veliki broj činioca kao što su ponuda, kulinarske navike, običaji itd. Našu zemlju karakteriše mala potrošnja mesa ribe oko, 2,5 kilograma godišnje po stanovniku. Povećana potrošnja primjećuje se u vrijeme vjerskih praznika.

Zbog svoje hranjive vrijednosti riba zauzima značajno mjesto u ishrani ljudi. Povoljan sadržaj proteina, minerala, vitamina, a posebno esencijalnih masnih kiselina pogoduje u prevenciji brojnih oboljenja (**Ćirković 2000**).

Tabela 2.3. Procentualna zastupljenost pojedinih jestivih i nejestivih dijelova trupa riječne ribe (**Baltić i Teodorović, 1997**)

Vrsta ribe	Unutrašnji					
	Trup	Glava	organi	Peraja	Krljušt	Ikra
Šaran (ž)	72,0	13,9	9,00 (x)	/	/	2,14
Šaran (m)	70,0	13,3	7,50 (x)	/	/	5,43
Saran	66,0	15-23	11,5-18,0	/	/	/
Amur	64-72	19,5-26	5	1,0-1,5	2,0-2,8	/
Tolstolobik	65-73	18-25,5	4,0-4,7	1,3-2,0	2,6-3,3	/
Kalifornijska pastrmka	72-77	11,5	9,0-13,0	2,2-2,5	0,5	/

Količina mesa u tijelu ribe zastupljena je od 35,0% - 62,0%, glave od 14%-32%, unutrašnjih organa od 2,0% - 17% , kože od 2,0% - 4,5%, kostiju od 4,5% - 14,0 % , peraja od 1,0% - 3,5% .

Hranjiva vrijednost mesa riba uslovljena je količinom proteina, masti, minerala i vitamina u njemu. Energetska vrijednost mesa ribe, u zavisnosti od vrste, iznosi oko 500 KJ. Zavisno od vrste , pola, starosti i ishrane mijenja se i hemijski sastav ribe. Sadržaj vode prosječno iznosi 75%-80%, proteina u riječnoj ribi 16% - 19% , a u morskoj 18%-23%. Sadržaj masti je vrlo varijabilan i kreće se od 0,5% - 22,0%.

Ugljeni hidrati zastupljeni su sa 0,5% - 1,0%. Od mineralnih soli koje daju pepeo kisele reakcije ribe najviše su zastupljeni fosfor, kalcijum i magnezijum. Sadržaj vitamina A i D je vrlo veliki, međutim riba je siromašan izvor tiamina, riboflavina, niacina i vitamina C. U pogledu vitamina C izuzetak je riba salmo (pastrmka) (Savićević i sar, 1997). Meso ribe predstavlja značajan izvor proteina (15 %-24%).

Tabela 2.4. Hemijski sastav različitih vrsta riba (Baltić i Teodorović, 1997)

Vrsta ribe	Voda	Proteini	Mast	Pepeo
Cyprinus caprio (šaran)	77,4	16,0	5,3	1,3
Salmo (pastrmka)	75,0	14,0	6,1	0,9
Dentex dentex (zubatac)	71,9	20,3	6,5	1,3
Scomber scombrus (skuša)	74,5	20,7	3,4	1,4

Tabela 2.5. Sadržaj hranjivih materija u pojedinim kategorijama mesa (Ćirković, 2002).

Vrsta mesa	Voda (%)	Proteini (%)	Masti (%)	Energetska vrijednost (KJ)
Šaran	79,27	17,63	1,93	355
Pastrmka	76,3	19-20	0,8	351
Svinjsko meso	56,8	17-20	25,3	1238
Goveđe meso	74,3	20	3,5	485
Piletina	74,3	21,5	2,5	460
Jagnjetina	66,4	19,7	12,7	812

U mesu ribe ukupna količina amino kiselina ne razlikuje se značajno od količine amonokiselina mesa stoke za klanje. Mišići ribe sadrže manje količine vezivnog tkiva od mesa stoke za klanje, samim tim je probavljivije, pa je pogodno u dijetetici, kada je potrebno izbjegavati opterećenje organa za varenje. Iz svježe, zamrznute ili dimljene ribe se resorbuje 95% proteina.

Količina proteina u mesu ribe zavisi od vrste ribe i varira od 12,8%-20,0%. Proteini mesa riba mogu da se podijele u tri osnovne grupe: proteini sarkoplazme, proteini miofibrila i proteini vezivnog tkiva. Proteini sarkoplazme rastvorljivi su u vodi i čine 20%-30% ukupnih mišićnih proteina.

Tabela 2.6. Osnovne grupe proteina u mišićima riba i sisara (**Baltić Teodorović, 1997**).

Proteini	Mišići riba (%)	Mišići sisara (%)
Sarkoplazme	20-35	30-35
Miofibrila	65-75	52-56
Vezivnog tkiva	3-10	10-15

Količina masti u mesu ribe značajno varira ne samo kod različitih vrsta već su zabilježena i značajna odstupanja unutar iste vrste. Količina masti zavisi od godišnjeg doba, sezone lova, starosti i pola ribe. Koeficijent svarljivosti masti svježe, zamrznute i dimljene ribe iznosi i do 91 % (**Baltić i Tadić 2001**).

Masti riba sadrže 17%-21% zasićenih i 79%-83% nezasićenih masnih kiselina. Od nezasićenih masnih kiselina značajne su velike količine oleinske, linolnelinoleinske i arahidonske kiseline koje se smatraju esencijalnim, pa tako kofaktori metabolizma imaju funkciju u održavanju povoljnog zdravstvenog stanja organizma. Energetska vrijednost mesa ribe zavisi od količine masti.

Prema sadržaju masti izvršena je podjela riba na :

- posne ribe sa manje od 5 % masti
- polumasne ribe sa 5%-10 % masti
- masne ribe sa više od 10 % masti (**Baltić i Teodorović, 1997**)

Riblje ulje je bogat izvor n-3 (poznate kao omega 3) masnih kiselina, eikozapentaenske kiseline (EHK) i dokozaheksanske kiseline (DHK). Omega -3 masne kiseline pripadaju jednoj od dvije klase polinezasićenih masnih kiselina. Drugoj klasi polinezasićenih masnih kiselina pripadaju n-6 masne kiseline, poznate još kao omega -6 masne kiseline.

Obe klase nezasićenih masnih kiselina su bitne i neophodne za zdravlje ljudi, a razlikuju se u hemijskoj strukturi, odnosno u položaju dvostruke veze u lancu. Kod omega-3 masnih kiselina dvoguba veza se nalazi na trećem C atomu od terminalne grupe, dok se kod omega -6 masnih kiselina ona nalazi na šestom C atomu. Klasa n-3 polinezasićenih masnih kiselina je derivat alfa –linoleinske kiseline, esencijalne masne kiseline, čiji je glavni izvor riblje ulje, dok klasa n-6 polinezasićenih masnih kiselina vodi porijeklo od linoleinske kiseline, takođe esencijalne masne kiseline koja se uglavnom nalazi u biljnim uljima. Reakciju desaturacije i elongacije lanca alfa-linoleinske i linoleinske kiseline, u kojoj nastaju njihovi derivati, polinezasićene masne kiseline, katalizuju isti enzim.

S obzirom da reakciju katalizuje isti enzim, između ovih esencijalnih masnih kiselina postoji kompeticija za enzim, pa povećanje koncentracije linoleinske kiseline, može inhibirati pretvaranje alfa-linoleinske kiseline u njene derivate, što može narušiti odnos njihovih derivata (omega -3 i omega-6 masnih kiselina) u organizmu (**Mason, 2000**).

Pored unosa optimalnih količina esencijalnih masnih kiselina takođe je bitan i odnos u kom se one unose. Optimalan odnos omega 3 masnih kiselina prema omega 6 masnim kiselinama je 1:4 do 1:5. U tabeli 2.7. data je zastupljenost omega- 3 masnih kiselina, EPK i DHK, u mesu pojedinih vrsta riba i u mesu drugih životinja za klanje.

Tabela 2.7. Sadržaj polinezasićenih masnih kiselina u mesu stoke za klanje i mesu riba (% od ukupnih masti) (**Baltić i Teodorović, 1997**)

Namirnica	20:5 EPA	22:6 DHA
Pileće meso	0,3	0,6
Svinjske slabine	0,5	0,4
Teleći šol	0,3	0,2
Goveđi but	0,2	/
Štuka	7,6	33
Losos atlantski	4,5	12,3
Oslić	7,5	24,8
Haringa	6,2	9,8
Bakalr	13,2	34,4
Hobotnica	15,5	20,7

Osnovna uloga omega -3 i omega -6 polinezasićenih masnih kiselina su izgradnja ćelijskih i subćelijskih membrana i sinteza eikozanoida, supstanci sa snažnim efektima na brojne organe i tkiva. Eikozanoidi su snažni medijatori mnogih biohemijskih procesa i imaju važnu ulogu u koordinisanju fizioloških interakcija među ćelijama, ali se međusobno eikozanoidi nastali iz masnih kiselina omega -3 i omega -6 serija razlikuju po intezitetu, a ponekad i tipu efekta. Eikozanoidi nastali iz masnih kiselina omega -3 serije imaju blaže i po organizam povoljnije djelovanje. Za njihovu sintezu odgovorna je EPA. EPA ima antiinflamatornu, antimikrobnu i imunomodulatorsku ulogu. U organizmu DHA čini gradivni dio mozga, cirkulacijom se prenosi u različita tkiva u organizmu, gdje se koristi u sintezi fosfolipida, jer ulaze u sastav membrane ćelija.

Omega -3 masne kiseline imaju veliki značaj jer učestvuju u izgradnji nervnih završetaka i na taj način utiču na brzinu i prohodnost impulsa (informacija) kroz nervni sistem.

Omega -3 polinezasićene masne kiseline smanjuju sadržaj holesterola i triglicerida u krvnom serumu ljudi, a takođe sprječavaju taloženje trombocita i oštećenje krvnih sudova, prevenirajući na taj način nastanak srčanog udara (**Stolyhwo i sar., 2006**).

Kliničkim ispitivanjima **Kremer-a (2000)** utvrđeno je da povećanje količine ribljeg ulja u ishrani, povećava nivo kalcijuma u organizmu, koji se taloži u kostima i na taj način preveniraju osteoartritis i reumatoidni artritis.

Takođe, smanjuju razgradnju hrskavice i uklanjaju medijatore zapaljenja.

Zbog velikog značaja polinezasićenih masnih kiselina n-3 klase u Evropi su date i preporuke o optimalnom dnevnom unosu. Stručnjaci u Velikoj Britaniji predlažu da se doze kreću od 200 mg do 1250 mg dnevno. U Danskoj preporučena doza iznosi 1500 mg dnevno (**Mason 2000**).

Meso ribe bogato je vitaminima A i D koji su rastvorljivi u mastima. Sa odstupanjem količine masti varira i količina ovih vitamina. Meso ribe sadrži i vitamine B grupe (B1 i B2). Riblje meso je bogat izvor vitamina E, koji štiti polinezasićene masne kiseline i loš holesterol, LDL, od oksidacije slobodnim radikalima, a takođe ima i antiinflamatorno djelovanje.

Meso ribe sadrži više neorganskih materija nego meso sisara. Količina neorganskih materija od 1,0% do 1,5%. Riblje meso je dobar izvor magnezijuma i fosfora. Predstavlja nešto slabiji izvor kalcijuma. U mesu ribe se nalazi 100 puta veća količina joda nego u mesu sisara. (**Anon, 2003b**)

Riba je značajan izvor selena, koji ulazi u sastav mnogih enzima, a najbolje je proučen glutation peroksidaza. Ovaj enzim ima značajnu ulogu u očuvanju integriteta ćelijskih membrana koji bi mogao da se naruši djelovanjem slobodnih radikala (**Anon, 2003b**).

2.3. Proizvodi od mesa ribe

Ideja da se riba sačuva za duže vrijeme je vrlo stara. Da bi se to postiglo čovjek je iskorištavao prirodne pojave : zima, led, pećine, vjetar, sunce, dim i dr. Prekretnicu u konzervisanju hrane napravio je francuski pivničar i vinar Nicolas Appertl, izumivši konzervu. Konstruisanjem rashladnog uređaja u potpunosti su se zadovoljili zahtjevi za očuvanjem i produžavanjem održivosti namirnica (**Šoša, 1989**).

Ohlađena riba koja se danas može naći na tržištu je najnepovoljniji način ponude ovog mesa na tržištu, kao i u vidu proizvoda od mesa ribe.

Riba se najčešće hladi miješanjem sa ledom u odnosu 1:1. Održivost ovako konzervisane ribe je tek nekoliko dana.

Pod smrznutom ribom, smatra se morska ribe i slatkovodna riba koja je poslije ulova živa ili mrtva podvrgnuta smrzavanju i uskladištenju na temperaturi ne višoj od -18°C . Riba se može smrzavati sa glavom ili bez nje, bez utrobe, rasječena u dijelove sa kostima ili bez njih, sa kožom ili bez nje, pojedinačno ili u bloku. Smrznuta riba se može prije uskladištenja glazirati. Glaziranje smrznute ribe vrši se odgovarajućim tehnološkim procesom vodom koja je higijenski ispravna, a zabranjeno je odmrznutu ribu ponovo zamrzavati. Riba se može naći u ponudi u vidu proizvoda od mesa ribe koji su nastali primjenom različitih tehnika konzervisanja.

Proizvodima od ribe se smatraju :

- 1) riblje konzerve ;
- 2) riblje polutrajne konzerve;
- 3) smrznuti proizvodi od ribe;
- 4) ostali proizvodi od ribe

Riblje konzerve su proizvodi od ribe dobijeni preradom pojedinih vrsta ribe po odgovarajućem tehnološkom postupku. Toplotna obrada konzervi obavlja se u hermetički zatvorenim sudovima ili omotačima na temperaturi iznad 100°C , najčešće između 120°C - 122°C i pri uslovima koji obezbjeđuju sterilnost proizvoda, pri čuvanju na sobnoj temperaturi. Prije stavljanja u konzerve riba se može obraditi jednim ili više toplotnih postupaka, a kao naliv može da se koristi ulje (maslinovo, biljno, riblje), sosovi, salamura sa kuhinjskom solju, vino itd.

Riblje polutrajne konzerve su proizvodi dobijeni preradom pojedinih vrsta ribe prema odgovarajućem tehnološkom postupku, čija upotrebljivost ne može biti duža od 18 mjeseci. Riblje polutrajne konzerve proizvode se kao pasterizovane polutrajne konzerve i nepasterizovane polutrajne konzerve.

Riblje polutrajne pasterizovane konzerve se obrađuju u hermetički zatvorenim sudovima ili omotačima na temperaturi nižoj od 100 °C. Ribljim nepasterizovanim polutrajnim konzervama dodaju se za konzervisanje kuhinjska so i organske kiseline (sirćetna, sorbinska kiselina). Prema porijeklu ribe, riblje polukonzerve stavljaju se u promet kao polutrajne konzerve od morske ribe i polutrajne konzerve od slatkovodne ribe.

Polutrajne konzerve od morske ribe stavljaju se u promet kao marinade i proizvodi od slane ribe.

Marinade su slano-kiseli nepasterizovani proizvodi proizvedeni prema određenom tehnološkom postupku, sa dodatkom povrća ili bez njega, zaliveni salamurum, sirćetnom kiselinom, sosom ili uljem. Pod proizvodima od slane ribe, podrazumijevaju se polutrajne konzerve dobijene preradom soljenih inćuna ili sardela, sa dodatkom ulja, sosa ili salamure. Pod polukonzervama od slatkovodne ribe podrazumijevaju se proizvodi dobijeni preradom riblje ikre bez primjena temperatura pasterizacije. Polutrajne konzerve od slatkovodne ribe stavljaju se u promet kao kavijar i riblja ikra.

Pod smrznutim proizvodima od ribe podrazumijevaju se proizvodi od ribe, komada ribe i usitnjelog mesa ribe, koji prije smrzavanja mogu da se podvrgnu toplotnoj obradi usitnjavanju, formiranju, a mogu da im se dodaju i drugi sastojci, a zatim da se skladište na temperaturi ne višoj od -18 °C.

Ostali proizvodi od ribe pripremaju se dodavanjem soli i drugih sastojaka sa konzervišućim dejstvom, primjenom toplote kao i izlaganjem mesa dimu.

Soljena riba – Soljena riba stavlja se u promet kao soljena morska riba i soljena slatkovodna riba.

Soljena morska riba je proizvod dobijen soljenjem sardele, inćuna, skuše, haringe i drugih vrsta riba.

Soljena slatkovodna riba je proizvod dobijen soljenjem slatkovodne ribe. Prema količini soli, soljena slatkovodna riba stavlja se u promet kao jako soljena slatkovodna riba, ako sadrži više od 14 % soli u odnosu na neto masu ribe.

Dimljena riba – je proizvod dobijen toplim ili hladnim dimljenjem ribe. Najpoznatiji proizvod hladnog dimljenja su dimljeni losos, haringa i fileti tonida.

Od toplo dimljenih proizvoda od mesa ribe najpoznatiji su toplo dimljena haringa, toplo dimljena papalina, dok su od slatkovodnih riba najčešći toplo dimljena pastrmka, toplo dimljeni šaran i toplo dimljeni tolstolobik.

Sušena riba – je proizvod dobijen sušenjem mesnatih, posnih vrsta ribe na vazduhu, na taj način što se izlaže djelovanju sunca, uz upotrebu soli ili bez nje. Od proizvoda dobijenih od sušene ribe najpoznatiji je sušeni bakalar i druge ribe iz porodice Gadidae. Najpoznatiji su iz ove vrste proizvoda fileti morune i jesetre.

Gotova jela od ribe – se proizvode od mesa različitih vrsta ribe i proizvoda od ribe, drugih namirnica, dodataka i aditiva.

Kobasice od ribe – se proizvode od različitih vrsta morske i slatkovodne ribe, čistog mesa peradi, mašinski otkoštenog mesa peradi ili mesa krupne stokeza klanje. Ukupna količina upotrebljenog mesa ne smije biti više od 40% u odnosu na neto masu mesa ribe. Kobasice od mesa ribe stavljaju se u promet u prirodnim i vještačkim omotačima (crijevima), i mogu biti dimljene. Kobasice od ribe stavljaju se u promet kao : svježe kobasice; barene kobasice; kuvane kobasice.

Riblje salate - su nesterilisani proizvodi pripremljeni od ribljeg mesa bez kostiju u koje se dodaju povrće, začini, sirće, ulje, majonez ili umak. Riba za salate može da bude soljena, marinirana, kuvana ili dimljena. Za salate se najčešće koristi soljena haringa. Od povrća se koriste krastavci, cvekla, crveni luk i kopar.

2.4. Dimljena riba

Dimljenje je jedan od najstarijih postupaka konzervisanja mesa pa i ribe, koji potiče još iz praistorijskih vremena. Naime, dim iz vatre koji se prije svega koristio za zagrijavanje ribe i njeno aromatiziranje, ujedno je i sušio tu ribu, koja je visila okačena u zatvorenim skloništima.

Ovaj postupak koristi se i u preradi ribe, a naročito u proizvodnji dimljenog lososa, iverka, haringe, skuše jegulje, tilapije, pasrmke, bakalara, lista šarana, deverike, linjka, ukljeve, tolstolobika, amura, smuđa i dr.

Najpoznatiji iz ove grupe proizvoda je dimljeni losos. Status luksuznog proizvoda dimljeni losos izgubio je krajem dvadesetog vijeka, kada je zbog velike proizvodnje postao dostupan velikom broju potrošača.

Proizvodnja dimljene ribe ima dugu tradiciju i za naše uslove može da predstavlja značajnu mogućnost proširenja asortimana proizvoda od ribe na tržištu, a samim tim i mogućnost povećanja potrošnje mesa ribe u ishrani ljudi.

Dimljena riba u ishrani ljudi je značajna i to zbog poželjnih senzornih karakteristika, visoke hranjive vrijednosti, raznovrsnosti vrsta masti i bogatstvu nezasićenim masnim kiselinama **(Baltić, i sar., 2006)**.

Proizvod od dimljene ribe je karakterističnog mirisa i ukusa „na dim“ zbog čega se potrošači i opredjeljuju za njega. Sadrži od 2%-4% soli, 60%-70% vode, a ta količina zavisi od količine masti koje može biti i do 13,5% u zavisnosti od karakteristika početne sirovine. Proteina u dimljenoj ribi ima oko 25,7% a mineralnih materija oko 1,5%. Energetska vrijednost dimljene ribe je oko 966 KJ, a pH je od 5,8 do 6,3. **(Sigurgisladottir i sar., 2000 a ; Baltić i Teodorović, 1997)**.

2.5. Parametri od značaja za kvalitet dimljene ribe

Inteziviranje proizvodnje ribe, poslednjih godina, nosi sa sobom i određene teškoće od kojih se neke negativno odražavaju na kvalitet. Neujednačenost kvaliteta dimljene ribe evidentna je na evropskom tržištu. Standardan kvalitet u proizvodnji dimljene ribe nije jednostavno održati. On zavisi od mnogobrojnih činilaca koji su vezani kako za proizvodnju, tako i onih koji se odnose na proizvodni proces (**Hansen i sar.,1995**).

U literaturi postoje brojni podaci koji se odnose na ispitivanje činilaca od značaja za kvalitet ribe. Ti podaci su najčešće vezani za izbor sirovine, odnosno na uticaj ishrane, zatim ambijentalnih uslova na kvalitet ribe, genetskih faktora, pola i polne zrelosti, životnog ciklusa itd.

Pored toga, literaturni podaci odnose se još i na uticaj mikrobiološke kontaminacije sirovine, uticaj klanja i obrade, salamurenje odnosno soljenje (način soljenja, sadržaj soli) i dimljenja (dužina, temperatura) na kvalitet gotovog proizvoda. Održivosti dimljene ribe istraživači su posvetili posebnu pažnju. Znatan uticaj na održivost ima bakteriološki status, fizička i hemijska svojstva, senzorne osobine i dr. (**Cardinal i sar., 2004**).

Proces proizvodnje može se podijeliti u nekoliko faza, a unutar svake faze ima obično više operacija. Osnovne faze proizvodnog procesa dimljene ribe su : klanje i primarna obrada, soljenje i odsoljavanje, sušenje i dimljenje (hladno ili toplo) , pakovanje i čuvanje (**Baltić i sar., 2006 b**)

2.5.1. Izbor sirovine

Samo higijenski ispravna sirovina, koja bi svježa i zamrznuta bila pogodna za prodaju, odnosno bezbjedna za zdravlje potrošača, može se koristiti za proizvodnju dimljene ribe. Loš kvalitet početne sirovine ne može se popraviti dimljenjem. To bi rezultiralo proizvodnjom dimljene ribe lošeg kvaliteta. (**Baltić i sar., 2006a**).

Brojne studije urađene na temu kvaliteta dimljene ribe ukazuju da je ispitivanje bakteriološkog statusa, hemijskih i fizičkih osobina sirovine, kao i parametri koji utiču na rast ribe, jedan od glavnih činilaca koji utiču na kvalitet mesa.

Pri izboru sirovine treba voditi računa da riba koja se koristi u procesu proizvodnje bude bakteriološki ispravna. Kontaminacija sirovog mesa ribe bakterijama može da bude direktna, kada mikroorganizmi potiču iz zagađene sredine ili indirektna kada je prisustvo bakterija u mesu riba posljedica kontaminacije ribe u toku manipulacije sa ribom od izlova, tokom čuvanja do momenta uključivanja sirovine u proces proizvodnje. Bakterijska kontaminacija pored toga što može da utiče na kvalitet gotovog proizvoda i njegovu održivost, a takođe može prouzrokovati i oboljenja ljudi (**Karabasil i sar., 2005**).

Sadržaj masti i mesa riba može bitno uticati na kvalitet dimljene ribe. Poznato je i utvrđeno da niža tjelesna masa znači i manji sadržaj masti u mesu ribe. Sadržaj masti i njen kvalitet (masno – kiselinski sastav na koji može da se utiče ishranom) utiču, ne samo na energetske i hranjivu vrijednost gotovog proizvoda, već i na senzorne karakteristike (miris, okus, tekstura) i prihvatljivost od strane potrošača (**Robb i sar., 2002**). Zbog toga se za dimljenje odabiraju jedinke šarana najmanje mase 2 kg. Sadržaj masti ima značaj i za prinos (odnosno kalo) praktično u svim fazama prerade.

Prilikom proizvodnje dimljene ribe ukupan gubitak iznosi oko 50% (**Rora i sar., 1999**). Isti autori ispitali su uticaj sadržaja masti na kvalitet gotovog proizvoda. Utvrdili su da je gubitak nakon primarne obrade bio veći sa povećanjem sadržaja masti. Smanjenje gubitaka tokom soljenja i dimljenja može se objasniti manjom dehidracijom kod masnijih riba. (**Sigurgisdottir i sar., 2001 b**).

Oblik i veličina ribe, a samim tim i sadržaj masti ima uticaj i na odvijanje proizvodnog procesa. Masti u mesu imaju značajnu ulogu kao ograničavajući faktor tokom faza soljenja i sušenja. Potpomažu proces sušenja zbog toga što premještaju vodenu fazu, služeći kao vektor tokom ovog procesa, ali i zbog toga što predstavljaju fizičku barijeru tokom procesa soljenja, jer ga otežavaju. (**Cardinal i sar., 2004**).

Tokom proizvodnog procesa, ribe sa najvećim sadržajem masti, pokazale su najveću oksidaciju masti, kao i najveći gubitak tokoferola. Međutim krajnja vrijednost oksidacije je bila niska, što je i ukazalo na antioksidativnu aktivnost ovog vitamina (**Espe i sar., 2002**).

Poznavanjem karakteristika početne sirovine, može se uticati na kvalitet gotovog proizvoda kao i na prinos. (**Cardinal i sar., 2004**) Ishrana bogata mastima ima značajan uticaj na prinos. Istraživanja pokazuju da je najveći prinos kod onih riba čija je ishrana bila bogata mastima. (**Einen i Roem, 1997**).

Različita ulja, biljna i riblja, dodavana u ishrani riba, imala su uticaj na teksturu mesa gotovog proizvoda. Ishrana biljnim uljima uslovlila je veći sadržaj omega - 6 nezasićenih masnih kiselina i tokoferola u mesu, za razliku od riba kojima je u ishrani dodavano riblje ulje, što je i razumljivo, s obzirom da je biljno ulje bogat izvor i omega -6 masnih kiselina i tokoferola. Ishrana ribljim uljem uslovlila je viši sadržaj omega 3 nezasićenih masnih kiselina u mesu ovih riba.

Zamjena ribljeg ulja, biljnim uljem u ishrani riba ne dovodi do razlike sposobnosti proteina da vezuju vodu, ali dovodi do povećanja prinosa nakon dimljenja. (**Rora i sar., 2003**).

Istraživanja **Robb-a i sar., (2002)** pokazala su da sa povećanjem sadržaja masti raste i mekoća mesa. Ocjena prihvatljivosti mesa raste sa porastom sadržaja masti. Senzornom ocjenom utvrđena je i veoma jaka korelacija između ocjene ukupne prihvatljivosti gotovog proizvoda i sadržaja masti. Ukupan miris i ukus fileta izraženiji kod masnijih fileta dimljene ribe, što pokazuje da je najveći broj komponenata dima koji su nosioci mirisa i okusa na dim rastvorljivi u mastima.

Tokom prenosa od uzgojišta do klaonice, ribe su izložene stresu, usljed manipulacije sa njom i transporta. Kao odgovor na stres prije klanja, u tijelu ribe odvijaju se brojni biohemijski procesi, koji negativno utiču na odvijanje proizvodnog procesa i kvalitet krajnjeg proizvoda.

Kao posljedica stresa dolazi do opadanja pH u mišićima, kao posljedica nakupljanja vodonikovih jona i mliječne kiseline. Stres uzrokuje i porast volumena krvi u mišićima, usporavajući razmjenu krvi sa krvnim sistemom. Takođe, stres ubrzava koagulaciju krvi, što otežava iskrvarenje (**Olsen i sar., 2006**). Stres prije klanja produžava vrijeme za koje nastaje rigor mortis (**Roth i sar., 2006**).

Stres je jedan od najvažnijih činilaca koji dovode do pojave krvnih mrlja na površini i unutar fileta. Pojava ovih mrlja posljedica je zaostale krvi u krvnim sudovima ribe nakon iskrvarenja. Efikasnost iskrvarenja zavisi od mišićnih kontrakcija, gravitacije i vazodilatacije u perifernim krvnim sudovima (**Olsen i sar., 2006**). Primijenjena tehnika omamljivanja može uveliko da smanji stres prije klanja.

Iz tog razloga Norvežani su počeli da primjenjuju princip hlađenja žive ribe prije omamljivanja i prije klanja, jer se na taj način odlaže rigor mortis i omogućuje filetiranje i uključivanje ribe u proces proizvodnje prije nastanka mrtvačke ukočenosti (**Taylor i sar., 2002**).

2.5.2. Obrada ribe

Postupak primarne obrade ribe uključuje različite operacije što zavisi od vrste i veličine ribe, njene namjene itd. U osnovi se pod primarnom obradom ribe podrazumijeva:

- a) omamljivanje,
- b) iskrvarenje,
- c) odsijecanje glava i škrge,
- d) skidanje krljušti (kod riba koje imaju krljušti) i sluzi,
- e) vađenje unutrašnjih organa (egzenteracija)
- f) pranje ribe.

Izostajanje pojedinih od navedenih postupaka veoma su česti.

Za kvalitet krajnjeg proizvoda neophodno je da se proizvodnja zasniva na dva temeljna načela a to su: higijenski uslovi rada i pribora sa kojima riba dolazi u kontakt i brzina izvođenja svih operacija.

Omamljivanje ribe obavlja se električnom strujom, a nakon toga se pristupa iskrvarenju. Iskrvarenje treba da bude brzo i izdašno iz razloga što krv, koja zaostaje u mesu nakon uginuća i iskrvarenja, predstavlja pogodnu sredinu za razmožavanje bakterija. U osnovi iskrvarenje je mnogo bolje ako se obavi dok je riba živa. Iskrvarenje je bolje ako se obavlja na nižim temperaturama.

Kod velikih riba iskrvarenje može da se obavi zasijecanjem (zamišljena linija između trupa i glave) na ventralnom dijelu vrata.

Skidanje krljušti i sluzi najčešće se izvodi prije odsijecanja glave i prije egzenteracije. Krljušt može da se skida ručno i mašinski. Krljušt se lakše skida sa svježe ribe. Pri skidanju krljušti neophodno je obezbijediti stalan protok vode (**Baltić i Teodorović, 1997**).

Digestivni trakt ribe sadrži mnogobrojne mikroorganizme i enzime koji mogu da ubrzaju kvar ribe. Ukupan broj bakterija na škrgama, odnosno u digestivnom traktu, kreće se od 10^3 - 10^9 /gr (**Shewan, 1962**). Prilikom egzenteracije treba izbjegavati zarezivanje muskulature jer svako oštećenje mišića može izazvati kontaminaciju mesa. Ukupan broj bakterija na koži ribe nakon izlova veoma je varijabilan i kreće se od 10^2 - 10^7 /cm² kože (**Liston, 1980**).

Zbog rastresite muskulature i nepostojanja vezivnotkivnih fascija, prodiranje bakterija u meso je olakšano. Zbog toga je bitno da se pranje ribe obavi odmah poslije egzenteracije uz stalan protok vode. Iskustva pokazuju da se broj bakterija sa kože ribe smanjuje nakon pranja (**Kolodziejska i sar., 2002**).

Patogena mikroflora koja se može pronaći kod ribe dijeli se prema porijeklu na bakterije koje su porijeklom iz živih riba, bakterije koje potiču iz fekalnog zagađenja voda i bakterije koje su posljedica kontaminacije mesa riba pri klanju i obradi ribe. *Clostridium botulinum* (tip *E,B,F*) i pojedine *Vibrio* vrste su patogene bakterije za čovjeka i ribu, a nalaze se u slanim vodama (**Hackney and Dicharry, 1988**). Ostale patogene bakterije su kontaminanti vode (iz humanih i animalnih izvora). Cl botulinum u većim količinama nalazi se u muljevitom dnu ribnjaka (**Hus i sar., 1974**).

Bakterije *Aeromonas* vrsta i *Edwardsiella tarda* izazivaju trovanja kod imunokompromitovanih ljudi. Od ostalih patogena tu su i *Plesiomonas shigelloides* i *Listeria monocytogenes*. Bakterije roda *Listeria* se često nalaze u dimljenim proizvodima od mesa ribe (**Dillon and Patel, 1993**). Najčešći fekalni kontaminanti su *Campylobacter jejuni*, *Yersinija enterocolitica*, *E.coli*, *Shigella spp.* i *Salmonella spp.*

Na senzorne karakteristike gotovog proizvoda može da utiče način i brzina primarne obrade. Egzenteraciju treba obaviti odmah nakon klanja, ručno ili mašinski, pri čemu posebnu pažnju treba obratiti da ne dođe do oštećenja žučne kese i razlijevanja žuči, jer takvo meso poprimi gorak ukus (**Baltić i Teodorović, 1997**).

Najvažnija promjena koja nastaje poslije ulova ribe je rigor mortis. Brzina nastajanja i dužina trajanja rigor mortis-a riba zavisi od: temperature, oblika, vrste i fizičkog stanja ribe. Nastanak rigor mortis-a počinje neposredno poslije smrti ribe, što zavisi od rezervi glikogena, odnosno od postupaka sa ribom koji mogu da dovedu do stresa (**Baltić i Teodorović, 1997**).

Omamljivanje i iskrvarenje koje se obavlja u hipotermiji (omamljivanje i klanje u ledenoj vodi) dovode do brzog nastanka mrtvačke ukočenosti, dok omamljivanje udarcem u glavu odlaže proces do 18 sati (**Huss, 1995**).

Na višim temperaturama rigor mortis nastaje brže i jače je izražen, zbog čega se posljedično javlja povećana žilavost i značajnije otpuštanje vode. Na nižim temperaturama rigor mortis nastaje kasnije, duže traje i slabijeg je intenziteta. Kada se razgrade izvori energije u tkivu, povećava se pH, prestaje rigor mortis što čini muskulaturu ponovo opuštenom, ali bez elastičnosti koju je muskulatura imala prije nastanka rigor mortis-a **(Baltić i Teodorović, 1998)**.

Na početku rigor mortis-a meso ribe je neutralne ili blago kisele reakcije (6,5-6,9) ,što ne odgovara razvoju i razmnožavanju mikroorganizama. Uz tom periodu dolazi do denaturacije proteina koji djelimično gube sposobnost vezivanja vode **(Huss, 1995)**. Produžavanjem ovog stadijuma inhibiraju se enzimi koji učestvuju u razgradnji glikogena, a time i proces razgradnje mesa odnosno nastanak kvara.

Značaj rigor mortis-a ogleda se naročito kod filetiranja ribe, odnosno, u tome da li je riba filetirana prije ili poslije rigor mortisa. Ako se riba fileтира prije rigor mortis-a ona kasnije prolazi kroz rigor, a kako mišići nisu potpomognuti skeletom lako može doći do njihovog pucanja mišićnih vlakana i njihovog skraćivanja i za 10% do 14% **(Einen i sar., 2002)**.

Filetiranje ribe treba izbjegavati za vrijeme trajanja rigor mortis-a, jer se dobijaju fileti koji nisu povezani. Istraživanja pokazuju da je kod ovakvih fileta značajno otežano izdvajanje sitnih kostiju (rebara), a takođe otežana je i difuzija soli ukoliko je soljenje obavljeno prije prolaska fileta kroz rigor **(Kiessling i sar., 2005)**.

Vjerovatno je razlog ove slabe difuzije taj što ćelijske membrane, mišića nisu prošle kroz rigor, te nisu oštećene enzimima koji se oslobađaju iz ćelija, prilikom rigora. Takođe u mišićima koji nisu prošli kroz rigor, utvrđen je veći sadržaj adenozintrifosfata (ATP). Kako ćelijske membrane nisu oštećene , ATP- zavisna jonska pumpa u stanju je da održava koncentracioni gradijent membrane i na taj način spriječava i otežava difuziju soli **(Wang i sar., 2000)**.

Rigor mortis može da utiče na kvalitet zamrznute ribe. Ako se riba neposredno poslije ulova drži na hladnom (0 °C) i ako se sa njom pritom nije grubo rukovalo, uticaj rigor mortis-a na gotov proizvod neće biti negativan. Ne preporučuje se da se riba zamrzne prije nego što nastane rigor mortis, kao ni u toku njegovog trajanja.

Ovakva riba, naročito ako se brzo odmrzne, dolazi u rigor odmrzavanja što ima za posljedicu nastajanje promjena teksture i gubljenje tečnosti iz mesa. Ovaj efekat je manje izražen ukoliko se odmrzavanje obavlja sporije i na nižim temperaturama (**Einen, 2002; Baltić i Teodorović, 1997**).

Posljednih godina intezivirana su ispitivanja o mogućnosti uključivanja ribe u proces proizvodnje prije nastanka rigor mortis-a. Pokazalo se da se od takve sirovine dobija finalni proizvod koji ima bolju teksturu i boju (**Røra i sar., 2004**).

2.5.3. Zamrzavanje ribe

Primjena niskih temperatura za očuvanje namirnica poznata je odavno. U antičko doba namirnice su čuvane u podzemnim pećinama, snijegu i ledu.

Zamrzavanje je način konzervisanja kojim se postiže bolja održivost mesa nego prilikom hlađenja. Meso počinje da se smrzava na temperaturama ispod -1 °C.

Prilikom smrzavanja voda prelazi u čvrsto agregatno stanje i u mesu nastaju kristali leda (kristalizacija vode). Kristali leda su sačinjeni od mnogobrojnih molekula vode, povezanih čvrstim vodoničnim vezama, i svojom strukturom podsjećaju na kristalnu rešetku mineralnih soli.

Meso ribe sadrži veliku količinu vode (57 % - 80 %). Kada se temperatura snizi na ispod -1,5°C voda u mesu počinje da se smrzava (kriostopska tačka). Smrzavanjem se tkivna, ćelijska i međućelijska tečnost pretvaraju u led.

Zona maksimalne kristalizacije nalazi se u temperaturnom intervalu od krioskopske tačke do -8°C , i u njoj se velika količina tečnosti pretvara u led. Na temperaturi od -30°C zamrznuto je oko 88% vode.

Od nesmrznute vode, 4%-5% je hemijski vezana za proteine, a ostatak čine minerali i druge hidrosolubilne materije. Količina zamrznute vode u mesu goveda i mesu ribe predstavljena je u tabeli 2.8. **(Baltić i Teodorović,1997).**

Kristali leda počinju da se stvaraju prvo u ekstracelularnoj tečnosti, koja sadrži manju količinu rastvorenih materija, a tek zatim u ćelijama mišićnog tkiva. Veličina i broj kristala, kao i njihov položaj u tkivu, zavise u prvom redu od temperature i brzine smrzavanja. Pri višim temperaturama smrzavanja obrazuje se mali broj centara kristalizacije, pretežno u međucelijskim prostorima. Kako je tada period kristalizacije duži kristali leda privlače vodu i to ne samo iz međucelijskih prostora, već i iz mišićnih vlakana, pa rastu i postaju krupni. U takvim slučajevima prilikom odmrzavanja će doći do izlivanja ćelijske tečnosti, meso će ostati bez dijela vlage, dehidriraće, izgubiće svoju prirodnu sočnost, mekoću i svojstven ukus, a i kraće vrijeme će biti održivo. Osim toga, kod sporog smrzavanja proteini mesa ribe nalaze se mnogo duže pod uticajem soli, pa će sigurno biti podvrgnuti izraženijim promjenama. Pri nižim temperaturama smrzavanja formira se veći broj centara kristalizacije, i to kako u međucelijskim prostorima, tako i u mišićnim vlaknima, a zbog kratkog perioda kristalizacije, kristali leda slabije privlače vodu i ostaju sitniji **(Vuković 1998).**

Riba može da se zamrzne u struji hladnog vazduha, u slanom rastvoru ili u „ blok „ zamrzivačima. Za kvalitetno smrzavanje i odmrzavanje ribe presudna je zona maksimalne kristalizacije, koja se mora postići u što kraćem vremenskom periodu. Kod pravilnog zamrzavanja ćelijske membrane ostaju neoštećene i zadržavaju svoju tečnost te takva riba nakon odmrzavanja zadržava isti ukus miris, sočnost i mekoću **(Šoša,1989)**

Tabela 2.8. Količina zamrznute vode u mesu goveda i mesu ribe

Tempeartura °C	Količina zamrznute vode %	
	meso goveda	meso riba
-1	2	10
-2	48	56
-3	64	70
-5	71	76
-10	83	87
-20	88	91
-30	89	92

U nezamrznutom dijelu vode odnosno „vezane vode“, povećava se koncentracija soli što se odražava na pH, njegovu jonsku jačinu, površinski napon, koncentraciju rastvorljivog gasa i viskoznost. Ove promjene značajno mogu da utiču na osobine proteina i enzima u tkivu. Promjene zamrznutog mesa ribe odnose se na promjene nastale na proteinima i promjene nastale na mastima. Izraženost tih promjena (strukturne, fizičke i fizičko-hemijske) zavisi od načina zamrzavanja (brzo i sporo), visine temperature, vremena trajanja skladištenja, načina odmrzavanja, vrste ribe, stanja ribe prije zamrzavanja (**Baltić i Teodorović,1997**).

Promjene nastale na mastima vezane su za proces lipolize i oksidacije. Proces lipolize u toku zamrzavanja ne zaustavljaju se u potpunosti, jer enzimi mesa pri niskim temperaturama zadržavaju izvjesnu aktivnost. Oksidativnim promjenama podliježu prvenstveno polinezasićene masne kiseline kojih u mastima riba ima u velikim količinama. Karakterističan oksidativni produkt razgrađivanja polinezasićenih masnih kiselina malonaldehid služi za praćenje stepena užeglosti masti.

Kiseonik iz vazduha, ako površina ribe nije adekvatno zaštićena (glaziranjem ili načinom pakovanja), dolazi u neposredan dodir sa masnim tkivom i odmah oksidiše. Kao posljedica ovog procesa javlja se užegao miris, užegao okus i žuta boja masnog tkiva.

Promjene zamrznutog mesa ribe mogu nastati kao posljedica mikrobiološko-enzimskih promjena na proteinima i mastima. Izraženost tih promjena (strukturne, fizičke, fizičko – hemijske) zavise od načina zamrzavanja (brzo ili sporo), visine temperature, vremena trajanja skladištenja, načina odmrzavanja, vrste ribe, stanja ribe prije zamrzavanja itd. (Šoša, 1989).

Denaturacija proteina je posljedica raznih soli u koncentrovanoj tkivnoj tečnosti, zatim različitih elektrolita i elektrolitičkih procesa, promjene pH kao i enzimske aktivnosti uz stvaranje jedinjenja odgovornih za nastanak specifičnog ukusa i aromatičnih jedinjenja koja se naročito cijene. Proteini se denurišu kada se pri zamrzavanju odvoji voda od njihovih molekula. Pri tome se raskidaju vodonične veze, koje i održavaju karakterističnu prostornu strukturu molekula. Denaturacija je reverzibilnog karaktera i proteini ponovo dobijaju svoju nativnu strukturu kada za vrijeme odmrzavanja ponovo vežu vodu. Denaturacijske promjene na proteinima najuočljivije su na temperaturi između -1°C i 5°C .

U procesu zamrzavanja denuriše se oko 20% proteina. Kristalizacijom vode mijenja se i pH mesa. Niske temperature razgrađuju organske materije kao što su glikogen, keratinin fosfat i ATP i to za nekoliko časova (Šoša, 1989).

Ispitivanja istih autora, koja su se odnosila na uticaj zamrznute sirovine na dimljeni proizvod pokazala su da bez obzira što je došlo do skupljanja mišićnih fibrila i širenja ekstracelularnog prostora usljed izlaska vode iz ćelija kod zamrznute ribe tečnost se nije cijedila na površini proizvoda ni tokom sušenja, ni tokom dimljenja u većoj mjeri.

To se objašnjava i time da se vjerovatno tokom soljenja pojačava jonska veza između proteina i vode. Iako je kod zamrznutih fileta izraženo skraćivanje tokom procesa, ono nije uticalo na prinos nakon dimljenja.

Kao posljedica skraćivanja miofibrila, tokom skladištenja, proteini se slabije rastvaraju i imaju manju sposobnost zadržavanja tečnosti, a meso postaje žilavije. Proteini miofibrila, zamrznute ribe se slabo ekstrahuju (Sigurgisladottir i sar., 2000). Ispitivanja Regost-a i sar. (2004) pokazuju da je zamrzavanje imalo uticaja na teksturu odmrznutog mesa.

Defrostovana riba, na osnovu njihovih rezultata bila je mekša .

U zamrznutom mesu ribe mikrobiološka aktivnost bakterija se može zanemariti. Temperatura od $-8\text{ }^{\circ}\text{C}$ je ujedno i donja granica rasta nekih mikroorganizama kao što su psihrofili. Sudbina mikroorganizama u zamrznutom mesu uslovljena je velikim brojem činilaca koji se mogu podijeliti u tri grupe :

1. Uloga samog mikroorganizma tj. vrste mikroorganizama, faza rasta, koncentracija ćelija i dr.
2. Uloga temperature smrzavanja, način smrzavanja i odmrzavanja i dr.
3. Uticaj sredine u kojoj su mikroorganizmi rasli prije smrzavanja, hemijski sastav sredine (pH, aw vrijednost) (**Baltić, 1979**). Prilikom smrzavanja opada aw vrijednost i raste koncentracija rastvorljivih materija u nesmrznutom dijelu vode što djeluje nepovoljno na rast i razmnožavanje bakterija (**Vuković, 1998**).

Kod dugotrajnog skladištenja enzimi iz bakterija (aktivnost proteolitičkog enzima prestaje tek oko $-18\text{ }^{\circ}\text{C}$) mogu uticati na kvalitet mesa. Rezultati **Kolodziejsk-a i sar. (2002)** pokazuju da je zamrznuta riba kao početna sirovina na kraju procesa proizvodnje i u toku skladištenja imala prosječan manji ukupan broj bakterija na površini kože od svježe ribe koja je korištena kao polazna sirovina u ovom eksperimentu.

Temperatura pri kojoj se čuva zamrznuta riba ne smije da bude viša od $-18\text{ }^{\circ}\text{C}$. Da bi se sačuvao kvalitet zamrznute ribe, ona mora da se zaštiti u toku skladištenja. To se postiže glaziranjem ili pakovanjem u materijal koji ima svojstvo da potpuno naliježe uz ribu. Na ovakav način, difuzija kiseonika iz vazduha je veoma usporena, što znatno usporava oksidaciju masti (**Baltić i Teodorović, 1997**).

Skaladištenje ima uticaj na boju, kako zamrznute sirovine tako i na boju dimljenog proizvoda dobijenog od te sirovine. Koncentracija astksantina, pigmenta koji riba unosi putem hrane, a koji utiče na intenzitet boje, raste tokom perioda skladištenja. Koncentracija kantaksina, drugog pigmenta odgovornog za boju mesa, blago opada tokom perioda skladištenja u mesu zamrznute ribe (**Regost i sar., 2004**).

Kvalitet zamrznute ribe zavisi od načina i brzine odmrzavanja. Odmrzavanje se može obavljati preko medijuma (voda, vazduh) koji okružuju zamrznutu ribu ili električnom energijom koja se u mesu ribe konvertuje u toplotu. U toku odmrzavanja riba je podložna kvaru. Brzina kvara se povećava sa porastom temperature. Za vrijeme odmrzavanja postoje uslovi za razvoj psihrofila jer se temperatura mesa relativno dugo održava u blizini krioskopske tačke **(Baltić i Teodorović, 1997)**.

2.5.4. Soljenje ribe

Soljenje je jedna od faza u okviru ukupnog procesa dimljenja ribe. Efekat soli na održivost mesa ribe, poznat je još iz davnih vremena, ali njihov uticaj ne senzorne osobine gotovog proizvoda nije zanemarljiv.

Djelovanje soli na meso ribe, zasniva se na tome da se jedan dio vode prisutne u mesu ribe zamjenjuje solju, po principima odvijanja procesa difuzije i osmoze. Na ovaj način iz tkiva se izvlači voda i djelimično odvija ireverzibilna denaturacija proteina.

Ova izmjena teče sve dok se ne uspostavi ravnoteža između koncentracije soli u salamuri i vodenoj fazi mesa, iako se te koncentracije ne izjednačuju. Koncentracija soli u ribi ne može nikada biti kao ona u salamuri. Soljenje traje sve dok se ne postigne željeni stepen slanosti, poželjan ukus, koncentracija i miris **(Baltić i Teodorović, 1997)**.

Soli najbrže difunduju na početku procesa, kada postoji najveća razlika između sadržaja soli u salamuri i soli u mesu. Sa povećanjem sadržaja soli u mesu, raste kapacitet hidracije miofibrila i meso počinje da vezuje vodu. Pri tome raste i volumen mesa. Soli povećavaju sposobnost vezivanja vode i emulgovanja masti **(Vuković, 1998)**. Koncentracija soli od 2% pospješuje sposobnost vezivanja vode u mišićima. U koncentraciji od 2%-5% NaCl, miozin jako bubri i voda u tkivu postaje jako vezana za proteine **(Sigurisdottir i sar., 2000b)**. Koncentracija soli do 8% izaziva promjene na proteinima. Mišićno tkivo se steže, mišićna vlakna gube elastičnost i deformišu se i proteini koagulišu **(Šoša, 1989)**.

Postoje tri osnovna postupka soljenja :

1. Vlažno soljenje, kada se riba potapa u pripremljeni slani rastvor. Zavisno od koncentracije soli u vodi, soljenje može da bude lagano, srednje ili jako soljenje. Pri vlažnom soljenju odnos ribe u salamuri je najčešće 1:1. Drugi način vlažnog soljenja, postiže se ubrizgavanjem salamure u meso pomoću injektora.
2. Suvo soljenje, kada se riba soli (posipa) suvim kristalima soli, što ima za posledicu izvlačenje vode iz mesa ribe i nastanak slanog rastvora (salamure) koji se odstranjuje. U zavisnosti od odnosa količine soli i količine ribe, takođe se razlikuje lagano, srednje i jako soljenje.
3. Treći način soljenja je suvo soljenje u sopstvenoj salamuri, kada se riba soli na sličan način kao pri suvom soljenju, s tim što se u ovom slučaju, slani rastvor (salamura) ne odstranjuje, već se riba zadržava u njemu

Način soljenja ima uticaj na prinos, odnosno na gubitak mase sirovine tokom soljenja, odnosno i na gubitak mase gotovog proizvoda. Suvo soljenje rezultira većim gubitkom mase ribe. Pri vlažnom soljenju, poslije početnog gubitka mase, postiže se veća masa u toku soljenja. Razlog tome je, što pri suvom soljenju, meso nije potopljeno u tečni medijum, tako da tečnost (salamura) mora da se formira i to izlaskom unutarćelijske tečnosti na površinu mesa, što dovodi do većeg kала.

Kod vlažnog soljenja tečni medijum postoji, tako da je difuzija vode iz mesa manja a samim tim i gubici. Takođe, zbog boljeg kontakta slanog medijuma i površine mesa, utvrđen je viši sadržaj soli kod uzoraka potopljenih u salamuru, za razliku od onih koji su suvo soljeni. Utvrđeno je da su gubici primjenom suvog soljenja ribe u fazi soljenja bili veći. Primjenom vlažnog soljenja utvrđeni su veći gubici u fazi dimljenja. (**Gallart-Jornet i sar., 2006**).

Djelovanje narijum hlorida kao konzervansa zasniva se na više efekata. Jedan od njih je snižavanje aktivnosti vode u mesu ribe (a_w vrijednost), čime se smanjuje količina vode dostupna mikroorganizmima. Snižavanje a_w vrijednosti usporava razmnožavanje bakterija. Ispod određene a_w vrijednosti ono potpuno prestaje, ali vrlo rijetko dolazi do smrti bakterijske ćelije.

Natrijum hlorid se rastvara u vodi i povećava osmotski pritisak u supstratu. Takođe, kada joni kuhinjske soli dospiju u tkivo, mogu se vezati sa molekulima proteina. U nedostatku tih jona, na ta mjesta bi se mogli vezati proteolitički enzimi mikroorganizama. Prisustvo jona natrijum hlorida blokira stvaranje pomenutih veza i sprječava djelovanje bakterijskih enzima. Takođe, hloridni joni djeluju toksično na pojedine vrste mikroorganizama (**Goulas i sar., 2005**). Međutim, različite koncentracije natrijum hlorida različito i utiču na mikroorganizme. Prema istraživanju **Šoš, (1989)** niske koncentracije pogoduju razvoju najvećeg broja bakterija. Ista ispitivanja sproveli su **Kolodziejska i sar. (2002)**. Broj bakterija na koži ribe, koju su oni ispitivali, nakon soljenja se značajno redukovao, ali je na površini kože ipak ostao određen broj bakterija koje su i u uslovima povećane koncentracije soli nastavile da se razvijaju. Međutim, jake koncentracije soli ipak ne inhibiraju u potpunosti aktivnost enzima iz tkiva.

Zbog toga je onemogućeno odvijanje zrenja mesa, koje predstavlja skup hemijskih, fizičkih i biohemijskih promjena u mesu. Te promjene su zapravo razgradnja masti i proteina i upravo te promjene odgovorne su za nastanak karakterističnog mirisa, ukusa i konzistencije mesa ribe.

Kuhinjska so može, u visokim koncentracijama, da ima negativan uticaj na održivost mesa (**Šoš, 1989**). U kontaktu sa mesom, so pospješuje oksidaciju polinezasićenih masnih kiselina. Ovo je naročito izraženo pri niskom pH i visokom koncentracijom natrijum hlorida (**Rahelić i sar. 1980**). Dokazano je da so stimuliše oksidaciju lipida putem aktivacije jona gvožđa. Natrijumovi joni mogu zamijeniti jone gvožđa iz makromolekula, kao što je mioglobin, oslobađajući na taj način tri jona gvožđa koji mogu katalizovati reakciju lipidne oksidacije (**Stolyhwo isar.,2006; Kolakowska i sar.,2002**).

Utvrđeno je i da koncentracija natrijum hlorida od 2%-5% u salamuri povoljno utiče na veze između miozina i vode u tkivu, dok se koncentracije od 9% natrijum hlorida smatraju kritičnim, jer postepeno vode ka denaturaciji proteina, koji gube svoju gel strukturu (**Sigurgisladdottir i sar.,2000b**). Minimalna koncentracija soli (oko 5%) neophodna je u procesu proizvodnje, jer utiče na održivost gotovog proizvoda, i na njegove senzorne osobine.

Tokom perioda skladištenja dimljenog proizvoda ova količina soli sprječava nastanak oksidacije (**Yanar i sar., 2006**). Način soljenja ima uticaj na teksturu dimljene ribe. Tekstura je čvršća kod suvo soljene ribe, što se može objasniti većom količinom suve mase i manjom količinom vode.

Temperatura ambijenta u kojem se vrši soljenja treba da bude konstantna. Proces soljenja je sporiji na nižim temperaturama. Rast mikroorganizama je intenzivan na temperaturama iznad 10 °C, što karakteriše pojavu ružičaste boje ili sivo –smeđe boje mesa ribe. Suvo soljenje može da traje od 12 sati do osam dana. Ako se riba ne soli dovoljno dugo, postoji mogućnost da se neravnomjerno usoli, što se može odraziti na kvalitet gotovog proizvoda.

Pri većim koncentracijama soli, soljenje se obavlja brže (**Baltić i Teodorović, 1997**).

Ispitivanja pokazuju da so lakše prodire u meso koje je prethodno bilo zamrznuto, zbog čega se mijenja struktura ćelija u toku zamrzavanja i povećava difuzija soli u meso. Intenzitet slanog okusa zavisi od količine soli, sadržaja vode, ali i od procesa zamrzavanja koji djelimično modifikuje strukturu mišića i može pojačati percepciju na okus slanosti, dajući utisak da ima više soli u mesu (**Cardinal i sar.**). Isti autori utvrdili su da je apsorpcija soli sporija kod masnih i riba sa debelom kožom. Razlog tome je što mast predstavlja barijeru za prolaženje soli i izlazak vode.

So za soljenje predstavlja mješavinu kuhinjske soli sa malim količinama drugih soli ($MgCl_2$, $CaCl_2$, Na_2SO_4). Izbor soli zavisi od metoda soljenja, tipa proizvoda, temperature čuvanja, vrste ribe. Prisustvo magnezijumovih i kalcijumovih soli u soli za soljenje mogu da uspore prodiranje u meso ribe te na taj način mogu da izazovu „kvar“ ribe. Penetracija raznih soli u tkivo prikazan je u tabeli 2.9.

Tabela 2.9. Penetracija različitih soli u tkivo (Šoša, 1989)

Sredstvo za soljenje i sastav	Slanost mesa ribe u % nakon nedelju dana soljenja
100 %	9.8
99% NaCl + 1 % MgCl ₂	6.5
95,4 % NaCl + 4,6 % MgCl ₂	5.9
90 % NaCl + Na ₂ SO ₄	7.1

Za suvo soljenje i soljenje masne ribe potrebno je da so bude što čistija. Nivo bakra i gvožđa viši od 0.1 ppm, odnosno 10 ppm može da uzrokuje diskoloraciju mesa ribe (smeđe obojavanje). Za suvo soljenje masne ribe mali kristali soli omogućavaju brže i ravnomjernije soljenje.

Potrebno je 24 sata da so prodre u centar fileta ribe debljine 4-5 mm. Krupna so, zbog male kontaktne površine, ne prodire tako brzo u meso kao sitna so. Ovo može da bude značajno u toku ranog stadijuma soljenja, jer se rast bakterija ne zaustavlja sve dok se ne postigne koncentracija soli od 5%-6%. Vrijeme soljenja zavisi od temperature vazduha. Suviše niske ili visoke temperature usporavaju proces osmoze (**Baltić i Teodorović, 1997**).

Nakon soljenja riba se odsoljava. Odsoljavanje se vrši na više načina : potapanjem u vodu, potapanjem u tekuću vodu ili tuširanjem. Potrebno je da se odsoljavanje obavi što prije, jer svako zadržavanje vode u mesu smanjuje njegov kvalitet. Proces ispiranja ribe vodom nakon soljenja, dodatni je postupak koji mehanički dovodi do redukcije broja bakterija tolerantnih na so.

Međutim, određeni broj bakterija ostaje i nakon ovih operacija, jer se mikroorganizmi mogu naći u ragadama u dubljim slojevima kože, nedostupnim djelovanju soli, i vode (**Kolodziejska-e i sar., 2002**).

Sušenje u struji toplog vazduha sledeća je faza proizvodnje dimljene ribe. Cilj ove faze je sušenje naročito površinskih dijelova ribe. Osušena površina bolje upija dim, sprječava taloženje gara i čađi, a takođi i pucanje kože.

Izlaganjem ribe dimljenju prije sušenja i formiranja kože može dovesti do gubitka sočnosti i formiranja bijele skrabe kao posljedice izlaganja visokim temperaturama kod toplog dimljenja. U slučaju hladnog dimljenja, nedostatak kože može usloviti rast mikroorganizama koji mogu dovesti do pojave nepoželjnih mirisa, gorkog ukusa i kašaste konzistencije (**Cardinal i sar.,2007 ; Anon, 1979**).

2.5.5. Dimljenje ribe

Dim je mješavina vazduha, vodene pare, ugljen dioksida, ugljen monoksida, i najmanje nekoliko stotina različitih organskih komponenti različitih koncentracija prisutnih u aerosolu.

Dim koji se koristi za dimljenje mesa ribe nastaje nepotpunim sagorijevanjem drveta. U te svrhe koriste se, prije svega, tvrde vrste, drveta kao što su bukva, grab i dr. (**Vuković 1998**). Celuloza je najvažniji sastojak drveta . Broj jedinjenja koja nastaju sagorjevanjem celuloze je veliki. U tabeli 2.10. dati su neki od najvažnijih proizvoda sagorjevanja drveta .

Tabela 2.10. Proizvodi pirolize celuloze pri 600°C (**Shahidi, 1998**)

Komponente	Zastupljenost u %
Acetaldehid	2.3
Furan	1.6
Aceton / propionaldehid	1.5
Propanal	3.2
Matanol	2.1
2,3 – Butandion	2.0
1-Hidreoksi -2-propanon	2.1
Glioksal	2.2
Sirćetna kiselina	6.7
2-Furaldehid	1.1
Mravlja kiselina	0.9
5- Metil-2-furaldehid	0.7
2-Furfural alkohol	0.5
Ugljern dioksid	12.0
Voda	18.0
Čađ	15.0
Katran	28.0

Na pojavu mirisa i ukusa dimljenih proizvoda najviše utiču jedinjenja nastala sagorjevanjem hemiceluloze i lignina.

Hemijska jedinjenja koja ulaze u sastav dima svrstana su u četiri glavne klase: ---

- kisela jedinjenja,

fenolne komponente dima,

karbonilna jedinjenja,

policiklična aromatična hidrokarbonilna jedinjenja (**Shahidi, 1998**).

Dimljenje se može obavljati u klasičnim ili automatskim pušnicama.

Tradicionalni način podrazumijeva dimljenje eviscerirane usoljene, filetirane ili cijele ribe iznad otvorenog ložišta smještenog u pušnici ili izvan nje. U ovakvim uslovima teško je kontrolisati temperaturu dimljenja, što dovodi do pojave da se u gotovom proizvodu, nađu štetna jedinjenja u većim količinama ili koncentracijama. U industrijskim objektima sagorjevanje drveta vrši se u komori koja je odvojena od pušnice. U ovim uslovima može da se kontroliše temperatura sagorjevanja drveta, vlažnost vazduha i brzina cirkulacije vazduha, količina i kvalitet dima, koji se može prečistiti i ohladiti na najjednostavniji način propuštanjem dima preko „ vodene zavjese „ ili hladnjaka. U vodi ili hladnjaku talože se čestice dima , a sa njima i štetne komponente. Elektrostatička filtracija je takođe postupak kojim se dim prečišćava. Ovim postupkom se pored štetnih materija dima mogu odstraniti i neke materije korisne za proces dimljenja mesa **(Baltić i sar., 2006b)**.

U zavisnosti od temperature koja se postiže u pušnicama, dimljenje može biti hladno i toplo. Postoje i druge podjele tako neki autori dimljenje dijele na hladno, toplo i vruće. Temperatura u toku hladnog dimljenja kreće se između 12°C i 25°C , a u toku toplog dimljenja od 25°C- 45°C. Kod vrućeg dimljenja temperatura dima kreće se od 40°C-100°C, a u dubini proizvoda i do 85°C **(Stolyhwo i Sikorski, 2005)**.

Temperatura kod hladnog dimljenja zavisi od vrste ribe. Ako je u pitanju posna riba. temperatura ne bi trebalo da bude viša od 32°C dok za masniju ribu temperatura ne bi smjela da bude viša od 29°C. Relativna vlažnost vazduha se kreće oko 45°C. Proces sušenja i dimljenja traju od 24 do 72 sata. Za to vrijeme kalo sušenja može da bude i do 30% . Hladno dimljenje može trajati danima i nedjeljama. Dimljena riba je u tom slučaju duže održiva, ima nježnu aromu dima, čvršće je konzistencije, sadrži manje vlage i više soli od dimljene toplim dimom **(Šoša, 1989)**.

Toplo dimljenje vrši se na temperaturi između 50°C i 85°C, rijetko više od 85 °C. Za razliku od hladnog dimljenja, gdje so ima glavnu ulogu, kod ovog načina dimljenja efekat konzervacije se postiže gubljenjem vode, djelovanjem dima i djelovanjem visokih temperatura.

Dimljenjem proizvod treba da dobije karakterističan miris i okus. **Yanar i sar.(2006)**, u svojim istraživanjima dokazali su da meso toplo dimljene ribe ima veći sadržaj proteina i masti u odnosu na meso svježere ribe. Toplo dimljenje, utiče povoljno na održivost mesa, zato što veliki broj komponenti dima (organske kiseline i alkoholi, aldehidi i ketoni a naročito fenoli) imaju bakteriostatsku i fungistatsku aktivnost. Aldehidi i ketoni koji nastaju pirolizom drveta, deponuju se na površini mesa i tako stvaraju specifičnu antiseptičnu barijeru, koja sprječava prodor brojnih mikroorganizama koji bi mogli dovesti do kvara mesa. **Kolodziejska i sar. (2002)** ukazuju na antimikrobno svojstvo komponenti dima, značajnim smanjenjem broja bakterija na koži ribe nakon faze dimljenja. Ipak, antimikrobno dejstvo dima ograničeno je na površinu proizvoda, jer njihova koncentracija prema unutrašnjosti opada. Iz ovih razloga smatra se da dimljenje nije pouzdan način konzerviranja kojim bi se inhibirale patogene bakterije (npr. *Salmonelae* i *C. Botulinum*). Indirektno, dim pomaže rast anaerobnih vrsta bakterija, jer sprječavanjem prodiranja kiseonika i stvaranjem mikroaerofilnih uslova pogodnih za rast mikroaerofilnih laktobacila.

Brzina difuzije komponenti dima u meso, kao i njihova distribucija u mesu ribe, uslovljena je karakteristikama površine kože ribe, osobinama mesa ribe kao i svojstvima komponenta dima koje difunduju, njihove rastvorljivosti u vodi i isparljivosti pojedinih sastojaka dima. Većina fenolnih komponenti deponuje se na koži u sloju na dubini do 6 mm, naročito u masnom tkivu, mada mogu penetrirati i u dublje slojeve (**Šimko, 1991**).

Na specifične, poželjne senzorne karakteristike dimljenog proizvoda imaju uticaj tri klase jedinjenja: kisela jedinjenja, fenolne komponente i karbonilna jedinjenja. Policiklična aromatična hidrokarbonilna jedinjenja su nepoželjna frakcija dima, jer je poznato njihovo kancerogeno svojstvo. ona umanjuju kvalitet proizvoda. Kisela jedinjenja daju specifičan miris mesu i utiču na izgled površine mesa. Druga grupa jedinjenja, fenolne komponente dima, pored toga što utiču na održivost mesa, utiču, takođe i na njegov miris, deponujući se na površini proizvoda. Karbonilna jedinjenja stupaju u reakciju sa proteinima mesa, i drugim azotnim jedinjenjima koja dimljenom mesu daju specifičnu aromu (**Shahidi,1998**).

Na intenzitet boje i mirisa na dim u dimljenim proizvodima ključnu ulogu imaju fenoli. Najviše uticaja na miris i ukus ima frakcija fenola koja se oslobađa pri temperaturi od 75°C do 89°C u kojoj se nalazi devet fenola. Kod umjereno izraženog mirisa i okusa na dim sadržaj fenola u 100 g mesa ribe iznosi i do 18 mg, a u 100g kože i do 28 mg (**Šoša, 1989**). Rezultati istraživanja **Cardinal-a i sar. (2001)** pokazuju da je veći sadržaj fenola u mesu bio kod riba koje su imale niži sadržaj masti u mesu. Razlog je što kod manjih riba (koje su manje masne), je tanja površina fileta pa fenoli lakše prodiru. Više temperature hladnog dimljenja omogućavaju da se materije veće molekulske mase, koje imaju ulogu u nastanku mirisa na dim, duže zadrže u gasnoj fazi dima i na taj način deponuju u meso u većoj količini. Ukupna količina fenolnih komponenti raste sa dužim trajanjem procesa i visinom temperature dimljenja (**Sérot i sar, 2004**).

Dimljeni proizvodi imaju čvršću strukturu od svježe ribe. Razlog tome je reakcija koja se odvija između karbonilnih jedinjenja dima, prvenstveno formaldehida, sa amino grupom dva susjedna polipeptidna lanca proteina. Formaldehid i drugi karbonili dima, koagulišu proteine, vezujući ih u velike agregate, zbog čega dimljeni proizvodi postaju čvršći. Ta reakcija se odvija uglavnom na površini proizvoda (**Vuković, 1989**).

Dimljenjem se smanjuje svarljivost proteina se, ali je biološka vrijednost proteina svježe i dimljene ribe vrlo bliska i nema značajnih razlika (**Šoša, 1989**).

Međutim , pri višim temperaturama dimljenja manja je količina askorbinske kiseline u gotovom proizvodu u odnosu na njihov sadržaj u polaznoj sirovini (**Espe i sar.,2004**).

Hladno dimljeni proizvodi na 30°C imali su veći prinos u odnosu na proizvode dimljene na 20°C. To se objašnjava time da viša temperatura dovodi do formiranja filma i sprječava gubitak masti i isparavanje (**Sigurgisdottir i sar., 2001 b**).

Policiklaična aromatična hidrokarbonilna jedinjenja (PAH). Obuhvataju klasu organskih materija koja se sastoji iz dva ili više aromatičnih prstenova, izgrađenih od ugljenikovih i vodonikovih atoma. Na sobnoj temperaturi se nalaze u tečnom agregatnom stanju. Osnovne karakteristike su im visoke tačke ključanja i topljenja, slaba isparljivost i slaba rastvorljivost u vodi, koja ima tendenciju opadanja sa porastom molekulske mase. Liposolubilni su i rastvorljivi u velikom broju organskih rastvarača. Mogu reagovati sa azotim oksidom, nitritnom kiselinom, sulfo oksidima, sulfatnom kiselinom, ozonom i hidroksilnim radikalima (**Anon, 1998**).

Do sada je opisano 660 različitih PAH jedinjenja. U dimljenoj ribi identifikovano je oko 100 PAH i njihovih alkalnih derivata. Dokazano je da 15 PAH ima mutagen i genotoksičan efekat na somatske ćelije eksperimentalnih životinja u in vivo uslovima (tabela 2.11.)

Tabela 2.11. Policiklična aromatična hidrokarbonilna jedinjenja kancerogenih svojstava (**Stolyhwo i sar., 2006**)

Vrste PAH jedinjenja		
Benz(a)antracen	Benzno(a) piren	Dibenzo(ah) piren
Benzo(b) fluoranten	Hrizen	Dibenzo(ai) piren
Benzo(j) fluoranten	Ciclopenta(cd) piren	Dibenzo(al) piren
Benzo (k) fluoranten	Dibenzo(ah) antracen	Indeno (1,2,3-cd) piren
Benzo(ghi) perilen	Dibenzo(a) piren	5-Metilhrizen

PAH jedinjenja se u organizmu mogu unijeti putem respiratornog sistema, digestivnog trakta i putem kože. Distribuiraju se na različite načine po cijelom tijelu i mogu se naći u svim unutrašnjim organima. S obzirom na to da su to liposolubilna jedinjenja, pretežno se deponuju u masnom tkivu. Moguća veza između konzumiranja dimljene hrane i nastanka karcinoma gornjih partija gastrointestinalnog trakta prvi put je primjećena kod Islandana (**Philips, 1999**).

Iz ove grupe jedinjenja, koja pokazuju kancerogena svojstva najbolje je ispitan benzopiren. Mehanizam njegovog štetnog djelovanja ogleda se u tome što se on u organizmu metaboliše u benzo-piren-diol-epoksid (dihidrodiol-epoksid), koji se kovalentno veže za ćelijski makromolekul uključujući DNK. Umetanjem ovog metabolita u dvostruki heliks, DNK zavojnica više nije sposobna da se pravilno replikuje što izaziva mutacije u ćelijama i nepoželjne efekte u genskoj ekspresiji. **(Philips,1999)**.

Najveće koncentracije PAH jedinjenja u dimljenom proizvodu utvrđena su nakon završetka procesa dimljenja. Zbog stupanja u reakciju sa drugim prisutnim hemijskim komponentama i razlaganjem pod djelovanjem svjetlosti njihova koncentracija opada **(Šimko, 2002)**.

Količina PAH jedinjenja u dimljenim proizvodima ne dovodi u pitanje kvalitet dimljenog proizvoda kada je u pitanju proizvod dobijen u savremenim pušnicama. Gotov proizvod odimljen u kontrolisanim uslovima modernih pušnica sadrži oko 0,1 µg /kg benzopirena, što nije zabrinjavajuće u odnosu na dozvoljene količine od 5 µg /kg **(Anon, 1992)**. Veliki problem predstavljaju tradicionalno dimljenje mesa gdje gotov proizvod sadrži velike količine ovog kancerogena. Međutim meso dimljeno na ovaj način može imati sadržaj ovih štetnih materija i do nekoliko desetina µg /kg **(Stolyhwo i Sikorski., 2005)**.

2.5.6. Vakuumiranje proizvoda i održivost

Nakon završetka procesa dimljenja, prije pakovanja, dimljeni proizvod se ohladi na sobnu i niže temperature. U suprotnom oni postaju mlatavi, vlažni, gorki i kašasti.

U ovoj fazi obrade, meso ribe se izlaže mogućnosti dodatne kontaminacije bakterijskom florom sa radnih površina i opreme. Manipulacija mesom u ovoj fazi dovodi i do oštećenja ćelija, izlaska ćelijske tečnosti i enzima, koji mogu dovesti do promjena u strukturi mesa i skratiti mu održivost **(Hansen i sar., 1998)**. Isti autori su pokazali da kontaminacija tokom proizvodnje ima veći uticaj na održivost proizvoda od same inicijalne kontaminacije sirovine.

Održivost proizvoda zavisi, prvenstveno od inicijalne kontaminacije, uslova proizvodnje, rukovanja sa proizvodom nakon proizvodnog procesa i temperature skladištenja.

Zaustavljanje rasta bakterija zavisi od sadržaja soli u vodenoj fazi proizvoda, temperature, vlažnosti, gustine dima, trajanja dimljenja kao i koncentracije aktivnih materija u dimu. Nepažljiva manipulacija proizvodom, loša sirovina, nekorektne higijenske mjere mogu usloviti pojavu patogena.

Najveću opasnost u ribarskoj industriji predstavlja *C. Botulinum* tip E. koji ima sposobnost rasta i produkcije toksina na 3,3°C. Spore *C. Botulinum* tipa E manje su otporne na zagrijavanje od spora ostalih tipova *C. Botulinum*, pa su zato najopasniji proizvodi od svježih i nedovoljno obrađene ribe (**Baltić i Teodorović, 1998**).

Listeria monocytogenes je bakterija kojoj pogoduju temperature skladištenja, na šta ukazuje i visoka incidenca ovih bakterija u hladno dimljenim proizvodima od ribe (11-60%). Ove bakterije izazivaju niz poremećaja kod prijemčivih konzumenata. Najosjetljivije grupe su trudnice, djeca, starije i imunokompetentne osobe.

Staphylococcus aureus se može naći u dimljenim proizvodima jer toleriše nisku aw vrijednost i visoku koncentraciju soli, a pogoduje mu temperature u rasponu od 6°C-50°C. *Salmonella* vrste su utvrđene u 5 od 156 testiranih slučajeva. Interakcija između različitih bakterijskih vrsta je dobro poznat fenomen. Smatra se da su kompeticija za supstrat i antagonizam, najvažniji pri selekciji mikroflore u određenoj ekološkoj niši (**Lone Gram 1993**). Prilikom pakovanja mesa u vakuum stvara se mikroaerofilna sredina, a djelimično se nakuplja i ugljen dioksid, čime se inhibira rast aerobnim Gram-negativnim bakterijama i postiže se bolja održivost mesa. Utvrđeno je da kvar mesa na temperaturama frižidera, izazivaju mikroaerofilne bakterije među kojima dominiraju laktobakterije. U manjem broju izolovane su Enterobacteriaceae, te druge Gram negativne bakterije i kvasci, dok nijedan specifični mikroorganizam kvara nije izolovan (**Leroi i sar., 1998**).

Utvrđeno je da su laktobacili dominantna mikroflora koja je prisutna tokom cijelog perioda skladištenja vakuum pakovanih proizvoda, sve do pojave njihovog kvara (**Joffraud i sar., 2001**).

Istraživanja mikroflore hladno dimljene ribe izolovane su sledeće vrste plijesni : *Penicilium spp.*, *Cladosporium sp.*, *Fusarium spp.*, *Rhizopus spp.*, *Gleosporium spp.*, *Sterile mycilia* (**Vishawanath i sar., 1998**). **Gonzales i sar. (2002)** su ispitivanjem 196 uzoraka, hladno dimljene ribe vakuum pakovane, utvrdili procentualnu zastupljenost sledećih vrsta bakterija: 49% mikroflore činili su laktobacili , 19,9% Enterokoke, 15,8% mikrokoke, 5,1% aerobne Gram negativne bakterije 5,10% *Brochotrix*, 2,25% pokretne *Aeromonas* vrste i 2,55% *Bacillus* vrste.

U vakuum pakovanjima utvrđeni su *Lactobacillus sakei*, *Lactobacillus farciminis*, *Brochothrix thermosphacta*, koji produkuju sulfate, kiseline i užegao miris.

Najzastupljeniji, a samim tim i najvažniji za održivost proizvoda kao i za senzorne osobine hladno- dimljenih, vakuumiranih proizvoda od ribe su *Lactobacillus* vrste. U ovim proizvodima laktobacili inhibiraju rast drugih bakterija, stvarajući mliječnu kiselinu i bakteriocine i kompeticijom za nutritijente. Zbog toga njihovo prisustvo u vakuumiranim proizvodima, na neki način može doprinijeti i produžavanju održivosti (**Gram et Dalgaard 2002**).

Ukupan broj bakterija u vakuum -pakovanim proizvodima od mesa ribe ponekad dostiže i do 10^7 - 10^8 CFU/gr mesa. Francuska je jedna od rijetkih zemalja Evropske Unije koja ima zakonsku regulativu o maksimalno dozvoljenom broju bakterija u vakuum pakovanim proizvodima od dimljene ribe, prema kojoj taj broj ne smije biti veći od 10^6 CFU/gr bakterija (**Cardinal i sar.,2004**).

Tržište zahtijeva da ukupan broj bakterija ne prelazi 10^5 log CFU/gr mesa hladno dimljene vakuumirane ribe. Istraživanja pojedinih autora pokazala su da ukupan broj bakterija od čak 10^8 log CFU/gr mesa ne dovodi do kvara (**Hansen i sar., 1996**).

Kao hemijski indikatori kvaliteta hladno dimljene ribe prate se količina ukupnog azota i ukupne isparljive azotne materije koje predstavljaju kombinaciju amonijaka, trimetilamina, dimetilamina i drugih isparljivih amina. Pored toga kao indikator razgradnje nukleotida prati se količina produkovanog etanola i porast količine hipoksantina. Međutim, početak ovih promjena i njihova veza sa kvalitetom nije utvrđena, što čini njihovu upotrebu u ocjeni kvaliteta proizvoda nepouzdanom.

Noviji indeksi kvaliteta zasnivaju se na određivanju koncentracije biogenih amina, kadaverina, putrescina, histamina, tiramina i pH koji pokazuju dobru korelaciju sa senzornim indikatorima kvaliteta.

Amonijak nastaje kao posljedica bakterijske razgradnje (dezaminacije) proteina, peptida i amino kiselina. Takođe, on nastaje i u toku autolitičkih procesa. Dugotrajno skladištenje vakuum-pakovanih proizvoda prouzrokuje značajno nakupljanje amonijaka, koje vodi daljem nakupljanju nižih masnih kiselina, sirćetne, buterne i propionske kiseline **(Huss,1995)**.

Meso riba sadrži visok nivo ne –proteinskog azota, koji omogućava rast bakterija post-mortem. Prisustvo trimetilamina (TMA) u mesu ribe posljedica je redukcije trimetilamin oksida (TMAO) koji je normalno prisutan u tkivu riba. TMA se stvara djelovanjem bakterijskog enzima-trimetilamin oksidaze i to kod bakterija koje su u stanju da redukuju TMAO, koji im služi kao akceptor kiseonika prilikom anaerobnog disanja. Količina ovog amina je uvijek u korelaciji sa brojem bakterija, ali ne i obavezno sa brojem tipičnih bakterija kvara, budući da TMAO mogu da razgrađuje i bakterije koje nisu tipični izazivači kvara mesa.

Mjerenjem količine ovog amina ne može se detektovati kvar u njegovim ranijim fazama. Vrijednost mu je u korelaciji sa senzornim promjenama, temperaturom, vremenom skladištenja, ukupnim brojem bakterija i brojem anaeroba. Granične vrijednosti za nastanak kvara su ispod 15 mg /TMA-N/ 100 gr **(Anon,1996)**, ali ove vrijednosti nisu regulisane i propisima Evropske Unije.

Dimetilamin je najčešće prisutan u zamrznutoj ribi lošijeg kvaliteta. Nalazi se u membranama mišića i njegovo oslobađanje nastaje kao posljedica procesa autolize prilikom grube manipulacije ili temperaturnim kolebanjima u toku hlađenja ribe.

Bakterije mogu stvarati hipoksantin od inozina ili inozin-monofosfata. Hipoksantin je najbolji pokazatelj kvaliteta, zato što se može uspostaviti veza između njegovih vrijednosti u mesu i senzornih karakteristika proizvoda **(Hansen i sar., 1995)**.

Etanol nastaje kao posljedica bakterijske razgradnje ugljenih hidrata u toku anaerobne fermentacije (glikolize) i / ili dezaminacijom i dekarboksilacijom amino kiselina kao što je alanin. On je objektivni pokazatelj svježine i kvaliteta ribe, a i termički je stabilan (**Huss, 1995**).

Biogeni amini, histamin, putrescin, kadaverin i tiramin nastaju kao posljedica dekarboksilacije slobodnih amino-kiselina. Dekarboksilacijom histidina, nastaje histamin, lizina kadaverin a putrescin može nastati dekarboksilacijom glutamina, arginina i agmatina, djelovanjem bakterijskih dekarboksilaza. Najznačajniji od svih je histamin koji može dovesti do tzv. skromboidnih trovanja, jer se histidin, od kojeg nastaje, nalazi u velikoj količini u ribama familije Scombridae. Međutim, putrescin i kadaverin često su povezani sa trovanjem izazvanim histaminom, jer potenciraju njegovu toksičnost (**Brinker i sar., 2002**). Biogeni amini su termički stabilni. Utvrđivanjem njihovog prisustva u toplo obrađenoj ribi može se zaključiti da li su procesi kvara započeli u ribi još u sirovom stanju.

Njegova najveća produkcija je na temperaturi između 20°C i 45°C. Biogeni amini se uobičajeno stvaraju sa razvojem kvara mesa riba. Oni nastaju i kao posljedica bakterijske razgradnje, dekarboksilacijom amino kiselina ali i kao posljedica neodgovarajućih temperatura i neadekvatnim postupkom sa ribom nakon ulova.

Granične vrijednosti za histamin u dimljenim proizvodima od ribe su od 100 ppm do 200 ppm , prema FDA-50 ppm, dok regulativa Evropske Unije preporučuje od 100 ppm-200 ppm. Poliamini su pogodni za ocjenu higijenskog statusa, ali ne i za ocjenu svježine ribe (**Dondera i sar., 2004**).

Vrijednost sadržaja ukupnih isparljivih azotnih materija, raste sa vremenom skladištenja kao i temperaturom i posljedica je razgradnje u toku autolize ali i bakterijske razgradnje (*Phenobacterium spp.*, *Enterobacteriaceae* i *Lactobacillus sp.*). U istraživanjima **Cardinal i sar. (2004)** uzorci sa preko 30 mg N/100 gr pokazivali su znakove kvara, što se može smatrati i graničnom vrijednošću za kvalitet proizvoda.

Sirćetna kiselina i druge organske kiseline, nastaju djelimično usljed mikrobiološke aktivnosti lactobacila i enterobakterija, ali i kao posljedica autolitičkih procesa (**Hansen i sar., 1996**).

S obzirom da su produkti razgradnje laktobacila kisela jedinjenja, pH mesa tokom skladištenja hladno dimljenih proizvoda opada u vakuum pakovanjima gdje laktobacili čine dominantnu mikrofloru. Međutim, pH može i da raste ako su u većem broju prisutni mikroorganizmi čiji su produkti razgradnje, koji se nagomilavaju, bazna jedinjenja (**Stohr i sar., 2001**).

Primarni procesi oksidacije nezasićenih masnih kiselina su hidroperoksidi.

Koncentracija ovih jedinjenja može se iskazati preko peroksidnog broja, koji nam može ukazati na kvar masti, dok još nisu nastale senzorne promjene. U kasnijim fazama, sekundarni produkti oksidacije su aldehidi i ketoni, koji dovode do promjene senzornih osobina mesa ribe. Prije svega, misli se na pojavu veoma neprijatnog mirisa i promjenu boje. Oni se dokazuju u reakciji sa tiobarbiturnom kiselinom.

Laktobacili proizvode organske kiseline i etanol, ali nije utvrđeno da li svojom aktivnošću mogu stvarati hiposkantin i trimetilamin. Dejstvom bakterija u anaerobnoj fermentaciji (glikolizi) ugljenih hidrata nastaje etanol. Etanol, takođe nastaje djelovanjem bakterija dezaminacijom i dekarboksilacijom amino-kiselina kao što je alanin (**Huss,1995**). Laktobacili mogu razlagati arginin do ornitina koji se potom, djelovanjem enterobakterija, razgrađuje do putrescina Ovo rezultuje 10 do 15 puta većim količinama putrescina nego da su ga enterobakterije stvarale bez prisustva laktobacila (**Gram et Dalgaard, 2002**).

Gram negativne bakterije vakuum pakovanih proizvoda razlažu TMAO do TMA, ali ujedno ove bakterije ne čine dominantnu mikroofloru (**Stohr i sar., 2001**).

Temperatura skladištenja, kao i količina soli, u uzorku imaju značajnu ulogu u određivanju održivosti proizvoda (**Hansen i sar., 2001**). Ispitivanja su pokazala da su uzorci sa većom količinom soli u vodenoj fazi, bili prihvatljiviji za najmanje 2-3 nedjelje tokom skladištenja, u odnosu na uzorke sa manjim sadržajem soli kod kojih se kvar pojavio ranije. Takođe, koncentracije svih produkata razgradnje, ukupnih isparljivih azotnih materija, trimetilamina, hipoksantina, etanola i organskih kiselina kao i ukupan broj bakterija, rastao je tokom skladištenja.

Rast koncentracije ovih hemijskih jedinjenja tokom skladištenja kao i ukupnog broja bakterija bio je manje izražen u svim uzorcima koji su imali više koncentracije soli. Iste promjene bile su izraženije u uzorcima koji su bili čuvani na višim temperaturama. Inicijalni pH bio je od 5,9 do 6,1, a na kraju skladištenja od 5,8 do 6,3 (**Hansen i sar., 1995**).

Uticaj koncentracije soli na održivost proizvoda dokazali su i **Yanar i sar. (2006)**. Rezultati njihovog ispitivanja pokazuju da su uzorci sa najvišim količinama soli, imali i najveću održivost tokom skladištenja.

Iako je pojava nepoželjnog mirisa i ukusa, najvećim dijelom posljedica mikrobiološke aktivnosti, ne može se zanemariti važnost autolitičkih enzima i njihov uticaj na održivost. Temperature kod hladnog dimljenja nikad ne prelaze 28 °C pa ne dolazi do inaktivacije tih enzima (**Hansen isar.,1996**).

Ispitivanje mirisa i ukusa ribljeg mesa, kako onih karakterističnih za vrstu ribe, tako i onih nepoželjnijih, te intenzitet atributa, zasnivaju se na senzornoj ocjeni. Hemijskom analizom se najčešće ne mogu utvrditi specifičnosti mirisa i okusa. Analiza profila mirisa i okusa neke namirnice je najsloženija metoda senzorne analize (**Baltić i sar., 2000**).

4. MATERIJAL I METODE

4.1. Materijal

Kao materijal za ogled korišten je šaran mase oko 2 kg, iz ribnjaka kod Kozarske Dubice. Riba je živa transportovana do pogona za preradu specijalizovanim vozilom za tečnim kiseonikom. Prihvaćena je u bazene pogona gdje su obezbjeđeni svi neophodni uslovi. Zdravstvena kontrola i higijenski nadzor obavljen je od strane veterinarskog inspektora.

Nakon izlovljavanja iz bazena šaran je omamljen, udarcem gumenog čekića u čelo, potom zaklan. Klanje je izvršeno zasjecanjem vrata u ventralnom dijelu, nožem, nakon čega je stavljen u burad da iskrvari. Nakon iskrvarenja riba je oprana, zatim je ručno eviscerirana, odstranjena je glava i peraja. Nakon ovih operacija riba je filetirana. Filetiranje se obavlja ručno, rezom koji počinje na ventralnoj površini vrata i trbuha paralelno sa rebrima i završava na dorzalnoj površini kičme. Na ovaj način dobijeni su fileti spremni za sledeći proizvodni proces.

Za ovaj ogled formirane su dvije grupe šarana: kontrolna od sveže ribe i ogledna od prethodno zamrznute ribe.

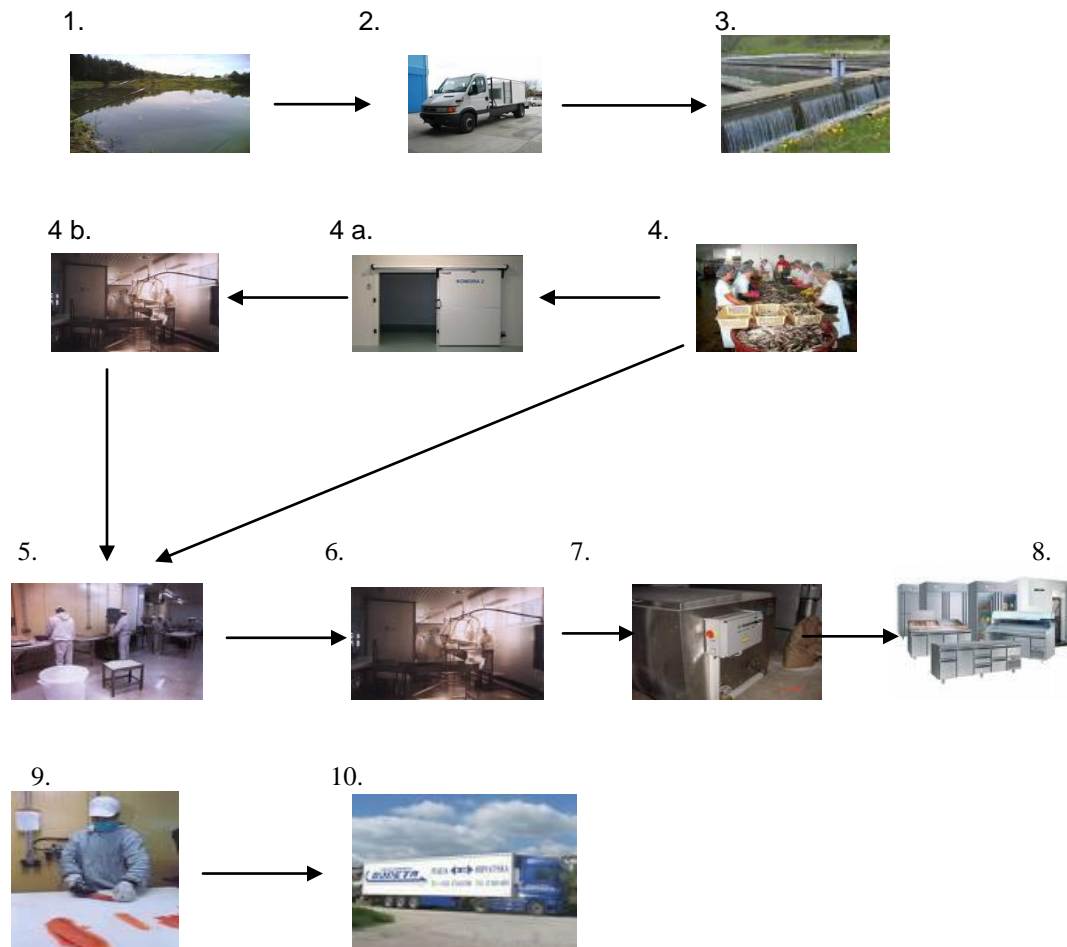
Prva grupa šarana je nakon primarne obrade ispirana i salamurena (suva salamura). U salamuru je dodavan bijeli luk . Temperatura prostorije u kojoj je salamurena riba bila je + 4°C, a riba je odstožala u salamuri 72 sata.

Poslije proseca salamurenja riba je vađena i stavljana na rešetke za cijedenje komore za dimljenje tokom 30 minuta na temperaturi + 23 °C. Dimljenje je obavljeno u automatizovanim pušnicama pri temperaturi od 28 °C , tokom 4 sata. Nakon završenog procesa dimljenja riba je hlađena tokom 12 sati na temperaturi od + 4°C. Ovako ohlađena riba je narezivana na komade, mjerena masa i vakuumirana.

Druga grupa šarana korištenog u ogledu je nakon primarne obrade zamrzavan u tunelu na -40 °C, a potom skladišten na -20 °C, zaštićen plastičnim kesama u pojedinačnim pakovanjima. Prije druge faze prerade, za potrebe eksperimenta riba je nakon 15 dana skladištenja odmrznuta brzo metodom "u buradima sa stalnim dotokom čiste vode u toku 45 minuta. Nakon odmrzavanja riba je uključena u proces proizvodnje pod istim uslovima kao i kontrolna grupa.

Nakon vakuumiranja uzorci obe grupe, kontrolne i ogledne, su skladišteni 21. dan pri dvije temperature +4 °C i +8 °C. Uzorci su analizirani nultog, sedmog, četrnaestog i dvadeset prvog dana skladištenja.

Dijagram toka proizvodnje dimljene ribe :



- 1) ribnjak
- 2) transport specijalnim vozilom sa tečnim kiseonikom
- 3) prihvatni bazen
- 4) pogon za primarnu obradu; 4 a. zamrzavanje – 40 °C ; skladištenje -20 °C
- 5) suvo soljenje (72 sata)
- 6) cijedenje (30 min/ 20 °C)
- 7) hladno dimljenje (3 h / 28 °C)
- 8) hlađenje (12 h / + 4 °C)
- 9) pakovanje
- 10) distribucija

4.2. Metode

Za ispitivanje korištene su:

- bakteriološke analize
- fizičke i fizičko hemijske analize
- senzorne analize

4.2.1. Bakteriološke analize

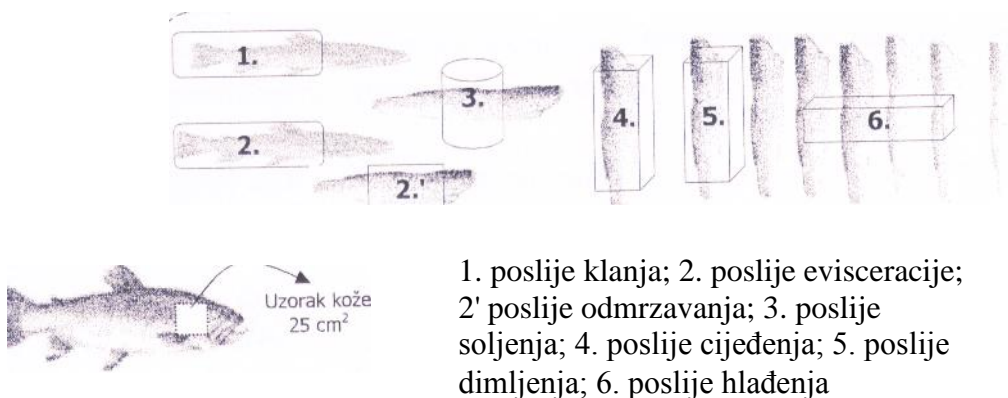
Bakteriološke analize obuhvatale su ispitivanje broja enterobakterija i ukupnog broja bakterija na koži riba u toku proizvodnog procesa i ispitivanje broja enterobakterija, ukupnog broja bakterija i broja laktobacila u toku skladištenja vakuumiranih dimljenih proizvoda.

4.2.1.1. Uzorci za bakteriološka ispitivanja

Za ispitivanje broja enterobakterija u toku proizvodnog procesa, uzimani su uzorci kože iza škrga sa desne strane, površine 25 cm², dok su za ispitivanje ukupnog broja bakterija uzimani uzorci kože iza škrga sa lijeve strane, iste površine. Koža je skidana sterilnim makazama i pincetom. Uzorci su uzimani poslije svake faze obrade tj. nakon klanja, evisceracije, soljenja, cijedenja, dimljenja, hlađenja odnosno prije pakovanja. Po uzimanju uzorak je stavljan u stomaher kesu i u roku od pola sata u ručnom pri +4 °C frižideru transportovan u laboratoriju.

Za ispitivanje ukupnog broja bakterija, kao i broja laktobacila u mesu hladno dimljenog šarana , nultog, sedmog, četrnaestog i dvadeset prvog dana čuvanja, uzimani su uzorci mesa u količini od 10 grama, sterilnim skalpelom i hirurškom pincetom i stavljeni su u stomaher kese. Dok su za ispitivanje broja enterobakterija u mesu hladno dimljenog šarana nultog, sedmog, četrnaestog i dvadeset prvog dana uzimani uzorci mesa od 25 grama (**shema 4.1.**).

Shema 4.1. Uzorkovanje hladno dimljene ribe u toku proizvodnog procesa



4.2.1.2. Hranjive podloge

- MRD bujon

Maximum Recovery Diluent, MRD (Merc N° VM 940835 807) : Kazein (enzyematikdigest 1,0 gr/l; NaCl 8,5 gr/l. Suspendovano je 9,5 grama praha podloge u 1000 ml destilovane vode. Pripremljena tečna podloga je razlivena u epruvete u količini od 9 ml ili u Erlenmajerove boce od 1l i 2 l i sterilisana u autoklavu pri 121°C tokom 15 minuta.

- PCA

Plate Count Agar – Tryptic Yeast Agar, PCA (Biolife, cat N° 402175): Tripton 5,0 gr/l ; ekstrakt kvasca 2,5 gr/l ; Glukoza 1,0 gr/l; Agar 15.0 gr/l .

Suspendovano je 23,5 grama u 1000 ml dstilovane vode i zagrijavano do ključanja uz često miješanje, a zatim sterilisano u autoklavu pri 121 °C tokom 15 minuta. Podloga je ohlađena na 45 °C, a potom razlivena u Petri ploče.

- MRS agar

MRS agar base(Biolab, cat N° 20500): Pepton 25.5 gr/l; Glukoza 20,0 gr/l;Natrijum acetat 5.0.gr/l; Magnezijum sulfat 0,2 gr/l; Mangan sulfat 0,005 gr/l ; Amonijum citrat 2.0 gr/l ; Pufer 2,25 gr/l ; Agar 13,0 gr/l . Suspendovano je 68 grama u 1000 ml destilovane vode i zagrijavano do ključanja uz stalno miješanje, nakon toga je dodat 1 ml saplementa (Tween 80 supplement), a potom razlivena u Petri ploče.

- Puferizovana peptonska voda

PPV (Biolab, cat N° 614) : Enzimski digest kazeina 10,0 grama;natrijum hlorid 5,0 g; dinatrijum hidrogenfosfat dodekahidrat 9,0 grama; kalijum dihidrogenfosfat 1,5 grama. Suspedovati u 1000 ml destilovane vode. Podewstiti pH na 7,0+/-0,2 pri temperaturi od 25 °C . Podloga se razlije u boce i sterilise na 121 °C tokom 15 minuta. Pripremljenu podlogu čuvati u frižideru do 30 dana.

- Puferizovani brilijant zeleni glukoza žučni bujon (EE bujon)

EE bujon (Biolab, cat 287) : Enzimski digest animalnih tkiva 10,0 grama; Glukoza 5,0 grama ; Natrijum hidrogenfosfat 6,45 grama; Kalijum dihidrogenfosfat 2,0 grama; Goveđa žuč 20,0 grama; Brilijant zeleno 0,0135 grama. Suspendovati u 1000 ml detilovane vode i staviti da se zagrijava u tekućoj kipućoj vodi. Podloga se ne zagrijava duže od 30 minuta. Brzo se ohladi . Podesi pH tako da nakon zagrijavanja iznosi 7,2 +/- 0,2 pri temperaturi od 25 °C. Podloga se razlije u epruvete po 10 ml. Ne sterilizuje se . Pripremljena podloga čuva se u frižideru 30 dana.

- Violet crvenbi glukoza žučni agar (VRBG agar)

VRBG agar (Biolab, cat 20500) : Enzimski digest animalnih tkiva 7,0 grama; Glukoza 10,0 grama; Natrijum hlorid (NaCl) 5,0 grama; Ekstrakt kvasca 3,0 grama ; Žučna so broj 3 1,5 grama ; Neutralno crveno 0,03 grama; Kristal violet 0,002 grama; Agar 9,0 grama do 18,0 grama u zavisnosti od željene jačine gela.Rastvoriti medijum u 1000 ml destilovane vode. Zagrijavati u kipućoj vodi . Podesiti pH tako da nakon zagrijavanja iznosi 7,4 +/- 0,2 pri temperaturi 25 °C . Aseptično razliti u sterilne posude odgovarajućeg volumena. Ne sterilizovati. Otopljenu podlogu koristiti do 4 sata nakon pripreme.

Priprema agar ploča

Odmah razliti 15 ml pripremljene podloge (ohlađene na temperaturu od 44°C-47°C) u Petrijeve ploče. Ostaviti da se agar stegne. Neposredno prije upotrebe , pažljivo osušiti agar ploče i to tako da se ploča okrene skine poklopac i stavi u sušnicu podešenu na temperaturu od 37°C - 55°C. Ploča se drži u sušnici sve dok površina agara ne postane suva. Razlivene ploče čuvati do 2 nedjelje pri temperaturi od 5 °C +/- 3°C.

- Hranjivi agar

Nutrient agar (Biolife): Mesni ekstrakt 3,0 grama ; Pepton 5,0 grama; Agar 9grama – a8 grama u zavisnosti od jačine gela . Medijum rastvoriti u 1000 ml destilovane vode . Podestiti pH tako da nakon sterilizacije iznosi 7,3 +/- 0,2 pri temperaturi 25 °C . Razliti medijum u epruvete ili sudove odgovarajućeg kapaciteta. Sterilizovati u autoklavu 15 minuta pri temperaturi od 121 °C.

Priprema agar ploča

Prenijeti 15 ml otpoljenog medijuma (ohlađenog na temperaturu od 47 °C) u sterilne Petrijeve ploče. Ostaviti da se agar stegne. Neposredno prije upotrebe, pažljivo osušiti agar ploče u sušnici na temperaturu 37°C-55°C, sve dok površina agara ne postane suva. Razlivene ploče čuvati do 2 nedjelje pri temperaturi od 5 °C +/- 3°C.

- Glukozni agar

Glukozni agar (Biolife) : Entimski digest kazeina 10,0 grama ; Ekstrakt kvasca 1,5 grama; Glukoza 10,0 grama; Natrijum hlorid 5,0 grama; Bromkrezol purpur 0,015 grama ; Agar 9,0 grama -18,0 grama u zavisnosti od jačine gela. Rastvoriti medijum u 1000 ml destilovane vode, dobro promiješati i po potrebi zagrijavati. Podesiti pH, po potrebi , tako da nakon sterilizacije iznosi 7,0 +/-0,2 pri temperaturi od 25 °C. Razliti medijum u posude ili epruvete u količini od po 10 ml . Sterilizovati u autoklavu 15 minuta pri 121 °C. Ostaviti da se stegne u okomitom položaju. Napravljena podloga može se čuvati nedjelju dana pri temperaturi od 5 °C +/- 3 °C . Da bi se uklonio kiseonik iz podloge, neposredno pred upotrebu staviti epruvete glukoznog agara u kipuću vodu u trajanju od 15 minuta, a zatim brzo ohladiti na temperaturu inkubacije.

-
-

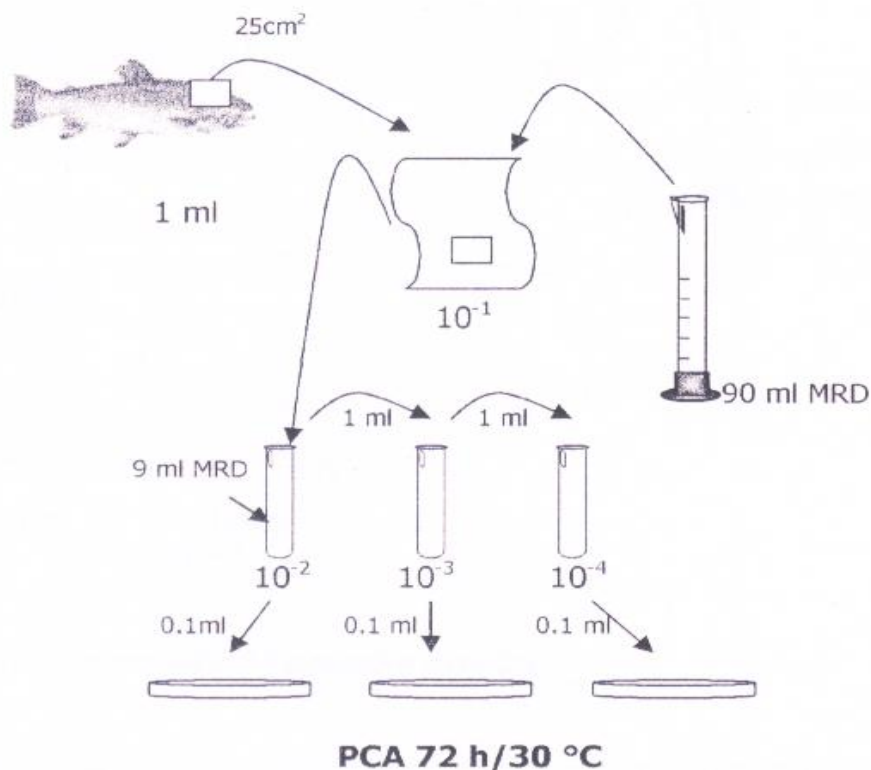
- Oksidaza reagens

Oksidaza reagens (Merck,): Tetrametil –p- dihidrohlorid 1,0 g

4.2.1.3. Određivanje ukupnog broja bakterija na koži ribe u toku procesa proizvodnje

Određivanje ukupnog broja aerobnih mezofilnih bakterija na koži ribe, vršeno je postupkom prema preporuci **Roberts-a i sar. (1995)**.

Uzorak kože u stomacher kesi, po dolasku u laboratoriju nalivan je sa 90 ml MRD-ja i ručno homogenizovan 2 minuta. Poslije homogenizacije pripremana su decimalna razblaženja pri čemu su za razrjeđenja korištene epruvete sa po 9 ml MRD-ja. Iz odgovarajućih serijskih razblaženja MRD-ja, zasijavano je po 0,1 ml na površinu PCA i razmazan je sterilnim etalerom. Zasijana podloga je inkubirana tokom 3 dana pri 30 ° C. Trećeg dana brojane su izrasle kolonije. Dobijen broj kolonija množen je sa veličinom razrjeđenja, podijeljen sa brojem centimetara i iskazan kao log CFU (Colony Forming Unit) po 1 cm² kože (**Shema 4.2.**)

Shema 4.2. Određivanje ukupnog broja bakterija na koži ribe u toku procesa proizvodnje

4.2.1.4. Određivanje ukupnog broja bakterija u mesu vakuum pakovane ribe tokom skladištenja

Određivanje ukupnog broja aerobnih mezofilnih bakterija u mesu vakuum pakovane ribe, vršeno je postupkom prema preporuci **Roberts-a i sar. (1995)**

Uzorak mesa od 10 grama u stomacher kesi, nalivan je sa 90 ml MRD-ja i ručno homogenizovan 2 minuta. Poslije homogenizacije pripremana su decimalna razblaženja pri čemu su za razrjeđivanja korištene epruvete sa po 9 ml MRD-ja. Iz odgovarajućih serijskih razblaženja MRD-ja, zasijavano je po 0,1 ml na površinu PCA i razmazan je sterilnim etalerom. Zasišana podloga je inkubirana tokom 3 dana pri 30 ° C. Trećeg dana brojane su izrasle kolonije.

Dobijen broj kolonija množen je sa veličinom razrjeđenja, podijeljen sa brojem grama i iskazan kao log CFU (Colony Forming Unit) u 1 gramu mesa (**Shema 4.3.**)

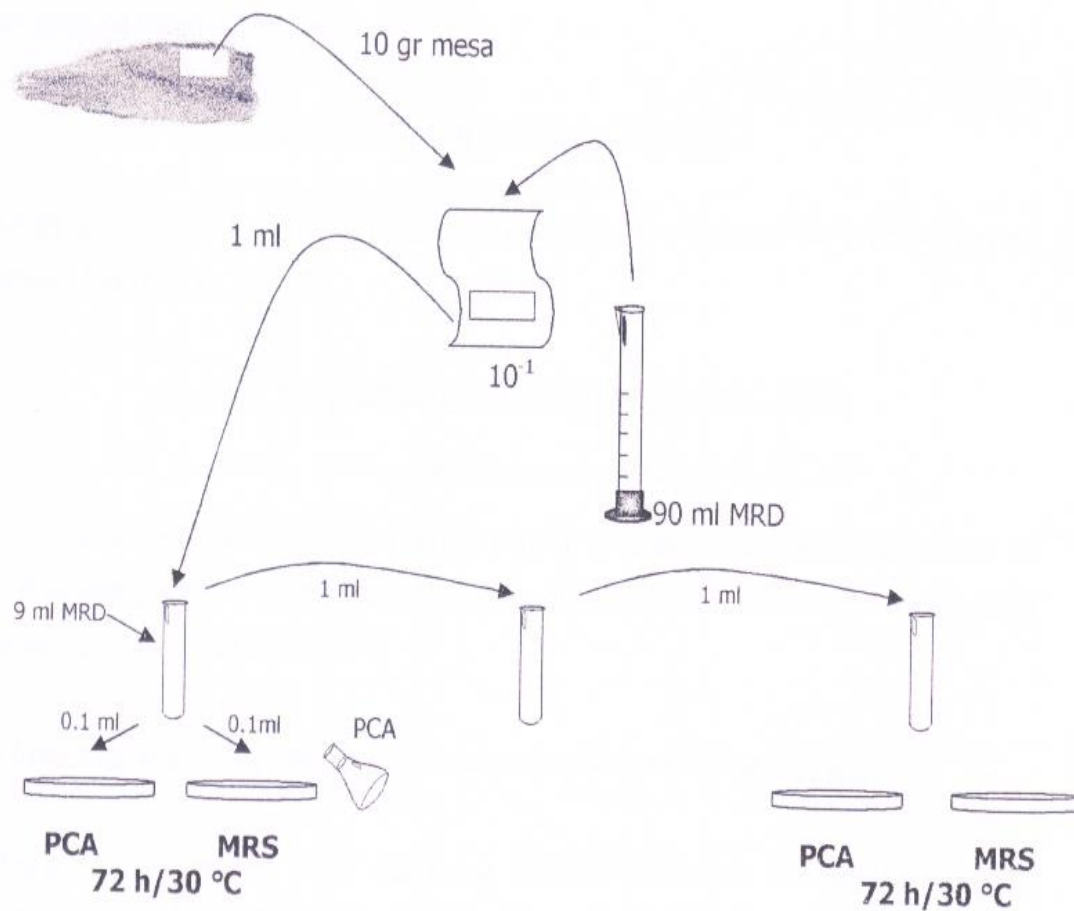
4.2.1.5. Određivanje ukupnog broja laktobacila u mesu vakuum pakovane dimljene ribe tokom skladištenja

Određivanje ukupnog broja laktobacila u gotovom proizvodu vršeno je prema postupku opisanom u ediciji „Microbiological method for the meat industry “

(**Cook,1991**). Uzorak 10 grama mesa u stomaher kesi nalivan je sa 90 ml MRD-ja i homogenizovan u stomaheru 30 sekundi. Nakon homogenizacije pripremana su decimalna razblaženja pri čemu su za razrjeđenja korištene epruvete sa po

9 ml MRD-ja . Iz odgovarajućih serija razblaženjaMRD-ja, zasijavano je po 0,1 ml na površinu MRS agara i razmazan je sterilnim etalerom.Ovako zasijana podloga prelivana je sa 10 ml na 45°C podloge za ukupan broj bakterija (Plate Count Agar) u cilju stvaranja mikroaerofilnih, optimalnih uslova za rast laktobacilusa. Zasijana podloga je inkubisana na 30 °C tokom 3 dana. Trećeg dana brojane su izrasle kolonije. Dobijeni broj kolonija množen je sa veličinom razrjeđenja, podijeljen je sa brojem grama i iskazan kao log CFU (Colony Forming Unit) u 1 gramu mesa (**Shema 4.3.**).

Shema 4.3. Određivanje ukupnog broja bakterija i laktobacila u mesu vakuum pakovane dimljene ribe tokom skladištenja



4.2.1.6. Određivanje broja enterobakterija na koži ribe u toku procesa proizvodnje

Određivanje broja enterobakterija vršeno je prema međunarodnim standardima ISO 6887-1, ISO 6887-2, ISO 6887-3, ISO 6887-4 kao i ISO 8261.

Horizontalna metoda za detekciju i enumeraciju Enterobacteriaceae MPN (najvjerojatnije mogući broj) tehnikom

Odmjereno je 25 cm² uzorka kože i homogenizovano sa 225 ml puferske peptonske vode, a zatim je 1 ml ove suspenzije inokulisano je i homogenizovano sa 9 ml puferske peptonske vode. Napravljena su odgovarajuća razrjeđenja i vršena inkubacija na 37 °C u vremenu od 18 h +/- 2 h . Nakon inkubacije otpipetirano je 1 ml prethodne suspenzije u epruvetu koja sadrži 10 ml podloge za obogaćivanje. (EE bujon).Opisana tehnika zahtjeva 3 epruvete po razrjeđenju. Pripremljena razrjeđenja inkubirana su na 37 °C tokom 24 h +/- 2 h. Po završenoj inkubaciji iz svake epruvete ezom inokulisati ploče sa selektivnom podlogom (VRBG) . Inokulisane podloge inkubirane su na 37 °C, 24 h +/- 2 h . Karakteristične kolonije pink do crveno ljubičaste sa ili bez precipitacionih prstena, inokulisano je na ploče sa hranjivim agrom. Sa dobijenim kolonijama nakon inkubacije 37 °C, 24 h +/- 2 h, inokulisanih ploča sa hranjivim agrom, napravi se oksidaza test. Kolonije koje pokazu negativnu reakciju na oksidaza test , inokulišu se na glukozni agar i inkubira na 37 °C tokom 24 h +/- 2 h. Pozitivna reakcija na glukoznom agru ukazuje na prisustvo enterobakterija .

4.2.1.7. Određivanje broja enterobakterija u mesu vakuum pakovane ribe u toku skladištenja

Određivanje broja enterobakterija vršeno je primjenom međunarodnih standarda ISO 6887-1, ISO 6887-2, ISO 6887-3, ISO 6887-4 kao i ISO 8261.

Horizontalna metoda za detekciju i enumeraciju Enterobacteriaceae MPN (najvjerojatnije mogući broj) tehnikom

Odmjereno je 25 grama uzorka mesa vakuum pakovane ribe i homogenizovano sa 225 ml puferske peptonske vode, a zatim je 1 ml ove suspenzije inokulisano i homogenizovano sa 9 ml puferske peptonske vode. Napravljena su odgovarajuća razrjeđenja i vršena inkubacija na 37 °C u vremenu od 18 h +/- 2 h . Nakon inkubacije otpipetirano je 1 ml prethodne suspenzije u epruvetu koja sadrži 10 ml podloge za obogaćivanje (EE bujon). Opisana tehnika zahtjeva tri epruvete po razrjeđenju. Pripremljena razrjeđenja inkubirana su na 37 °C tokom 24 h +/- 2 h . Po završenoj inkubaciji iz svake epruvete ezom inokulisane su ploče sa selektivnom podlogom (VRBG). Inokulisane podloge inkubirane su na 37 °C, 24 h +/- 2 h. Karakteristične kolonije pink do crveno ljubičaste sa ili bez precipitacionih prstena, inokulisano je na ploče sa hranjivim agrom. Sa dobijenim kolonijama nakon inkubacije 37 °C, 24 h +/- 2 h, inokulisanih ploča sa hranjivim agrom, napravi se oksidaza test. Kolonije koje pokazuju negativnu reakciju na oksidaza test, inokulišu se na glukozni agar i inkubira na 37 °C tokom 24 h +/- 2 h. Pozitivna reakcija na glukoznom agru ukazuje na prisustvo enterobakterija .

4.2.2. Fizičko – hemijske i hemijske analize

4.2.2.1. Ispitivanje osnovnog hemijskog sastava u mesu vakuum pakovane diljene ribe

Uzorci za ispitivanje osnovnog hemijskog sastava uzimani su iz originalnog vakuum pakovanja, nultog dana obe grupe šarana. Za ispitivanje osnovnog hemijskog sastava (sadržaj vode, masti, proteina, pepela) korišćeni su sledeći postupci:

- vode- određivanjem gubitka mase pri sušenju homogenizovanog uzorka pri 105 °C +/- 1 °C do konstantne mase (JUS ISO 1442)
- masti- metodom po Soxhletu, ekstrakcijom masti iz osušenog uzorka petrol etrom, destilacijom i sušenjem pri 105 °C +/- 1 °C do konstantne mase (JUS ISO 1443)
- proteina-metodom po Kjeldalhu primjenom uređaja firme ” Tecator „ (JUS ISO 937)
- pepela- sagorijevanjem uzorka pri 550°C do konstantne mase (JUS ISO 936)
- natrijum hlorida- metodom po Volhardu (JUS ISO 1841-1)

4.2.2.2. Određivanje sadržaja soli u vodenoj fazi , aw vrijednosti i pH u mesu vakuum pakovane dimljene ribe

Sadržaj soli u vodenoj fazi (SVF) izračunat je na osnovu ukupnog sadržaja soli u mesu i sadržaja vode, na osnovu formule:

$$\text{SVF} = \% \text{ soli} \times 100 / \% \text{ soli} + \% \text{ vode}$$

SVF- sadržaj soli u vodenoj fazi

Određivanje aw vrijednosti izvršeno je na osnovu sadržaja soli u vodenoj fazi, a prema formuli (Gimenéza i Dalgaard, 2004)

$$a_w = 1 - 0,0052471 \times \text{SVF} - 0,00012206 \times \text{SVF}^2$$

SVF- sadržaj soli u vodenoj fazi

Uzorci za određivanje pH vrijednosti obe grupe pastrmki čuvanih pri dvije temperature, uzeti su nultog i dvadeset prvog dana skladištenja. pH je određen pomoću aparata pH Meter 3310 WTW model pH 340 i, (ISO 2917-1974)

4.2.2.3. Određivanje sadržaja etanola u mesu vakuum pakovane dimljene ribe

Za ispitivanje sadržaja etanola uzorci obe grupe šarana uzimani su iz originalnog vakuum pakovanja, nultog, sedmog, četrnaestog i dvadeset prvog dana skladištenja, čuvanih pri 4°C i 8 °C.

Za ispitivanje fizičko - hemijskih svojstava korišteni su sledeći postupci :

Za određivanje etanola korišćeni su enzimski kitovi na bazi alkohol dehidrogenaze proizvođača " Megazyme Inter. Ireland Lim". Određivanje etanola izvršeno je prema postupku opisanom u " Methods of Enzymatic Analysis " (**Beutler-u, 1989**).

Uzorak u količini od 5 gr, homogenizovan je sa 0,6 mol/l perhlornom kiselinom u odnosu 1:2, na električnom homogenizatoru " Junke & Kunkel", pri naponu od 70 V i u trajanju od 5 minuta poslije toga filtriran (Whatman1). Bistar filtrat je bio zamrznut do analize. Neposredno prije izvođenja testa pH filtrata je neutralisan do pH 7 sa 15% rastvorom KOH.

4.2.3. Senzorne analize

4.2.3.1. Uzorci za senzorno ispitivanje

Senzornim ipitivanjem ocjenjivani su uzorci dimljenih fileta, obe grupe pastrmki iz originalnog vakuum pakovanja nultog, sedmog, četrnaestog i dvadeset prvog dana skladištenja, čuvanih na dvije temperature 4°C i 8 °C .

4.2.3.2. Izbor ocjenjivača

U senzornoj ocjeni učestvovali su izabrani i obučeni ocjenjivači. Izbor ocjenjivača izvršen je prema ISO 8586/1985.

4.2.3.3. Senzorna ocjena

Uzorke hladno dimljenog šarana ispitivalo je četrnaest ocjenjivača. Senzorna ocjena obavljena je kvantitativnom deskriptivnom analizom (ISO 6564/1985).

Senzorna ocjena odabranih osobina fileta dimljenog šarana obavljena je pomoću ocjenjivačkog lista koji je uključivao ocjenu ukupne prihvatljivosti na strukturnoj skali sa pet tačaka. (Shema 4.4.)

Shema 4.4. Primjer ocjenjivačkog listića

Grupa: kontrolna / ogledna					
Temperatura 4 °C / 8 °C					
Dani skladištenja: 0. / 7. / 14. / 21.					
UKUPNA PRIHVATLJIVOST					
	1	2	3	4	5
Ime i prezime ocjenjivača:			Datum:		
_____			_____		

4.2.4. Statistička obrada rezultata

Sva ispitivanja uključivala su dovoljan broj ponavljanja (minimum šest ponavljanja) za statističku obradu podataka. Rezultati su statistički obrađeni (srednje vrijednosti, mjere varijacije, t-test, analiza varijanse) pomoću programa Microsoft Office Excel 2003.

5. REZULTATI ISPITIVANJA

Rezultati ispitivanja su podijeljeni u pet cijelina prema zadacima ispitivanja.

5.1. Promjene ukupnog broja bakterija na koži kontrolne i ogleadne grupe šarana u toku proizvodnog procesa

Rezultati ispitivanja promjene ukupnog broja bakterija na koži kontrolne i ogleadne grupe šarana u toku proizvodnog procesa prikazani su tabelama 5.1. i 5.2. i grafikonom 5.1.

Ukupan broj bakterija na koži kontrolne grupe šarana poslije klanja ($\log \text{CFU} / \text{cm}^2$ 3.72 +/- 0.26) i evisceracije ($\log \text{CFU} / \text{cm}^2$ 3.79 +/- 0.14) statistički se značajno razlikovao ($p < 0.001$). Nakon pojedinih faza obrade (soljenje, cijedenje, dimljenje i hlađenje) ukupan broj bakterija bio je statistički značajno manji, nego poslije faza klanja ($p < 0.01$) i evisceracije ($p < 0.05$). Utvrđeno je da se ukupan broj bakterija nakon soljenja ($\log \text{CFU} / \text{cm}^2$ 3.03 +/- 0.17) statistički značajno razlikovao ($p < 0.01$) od ukupnog broja bakterija nakon cijedenja ($\log \text{CFU} / \text{cm}^2$ 2.62 +/- 0.07). Takođe, ukupan broj bakterija nakon dimljenja ($\log \text{CFU} / \text{cm}^2$ 1.78 +/- 0.12) i nakon hlađenja ($\log \text{CFU} / \text{cm}^2$ 1.71 +/- 0.15) bio je statistički značajno manji ($p < 0.05$) od ukupnog broja bakterija nakon soljenja i nakon cijedenja. Između ukupnog broja bakterija poslije dimljenja i ukupnog broja bakterija poslije hlađenja nije bilo statistički značajnih razlika ($p > 0.05$).

Kod ogleadne grupe šarana ukupan broj bakterija poslije soljenja ($\log \text{CFU} / \text{cm}^2$ 2.86 +/- 0.17) bio je statistički značajno manji ($p < 0.01$) u poređenju sa ukupnim brojem bakterija poslije odmrzavanja ($\log \text{CFU} / \text{cm}^2$ 3.47 +/- 0.13). Ukupan broj bakterija nakon cijedenja ($\log \text{CFU} / \text{cm}^2$ 2.46 +/- 0.41) bio je statistički značajno manji ($p < 0.01$) u odnosu na ukupan broj bakterija nakon soljenja, a statistički značajno veći ($p < 0.05$) od ukupnog broja bakterija nakon dimljenja ($\log \text{CFU} / \text{cm}^2$ 1.65 +/- 0.09) i ukupnog broja bakterija nakon hlađenja ($\log \text{CFU} / \text{cm}^2$ 1.53 +/- 0.17). Između ukupnog broja bakterija nakon dimljenja i nakon hlađenja nije bilo statistički značajnih razlika.

Tabela 5.1. Promjene ukupnog broja bakterija na koži kontrolne grupe šarana u toku proizvodnog procesa (log/CFU cm²)

Faza obrade*	\bar{X}	Mjere varijacije				
		S _d	S _e	I _v		C _v %
				X _{max}	X _{min}	
klanje	3.72 ^{xxxx}	0.26	0.09	4.25	3.5	7.03
evisceracija	3.79 ^{xxxx}	0.14	0.05	4	3.6	3.64
soljenje	3.03 ^{xxx}	0.17	0.06	3.3	2.8	5.71
cijeđenje	2.62 ^{xxx}	0.07	0.02	2.7	2.5	2.70
dimljenje	1.78 ^x	0.12	0.04	1.9	1.6	6.87
hlađenje	1.71 ^x	0.15	0.05	1.9	1.5	8.49

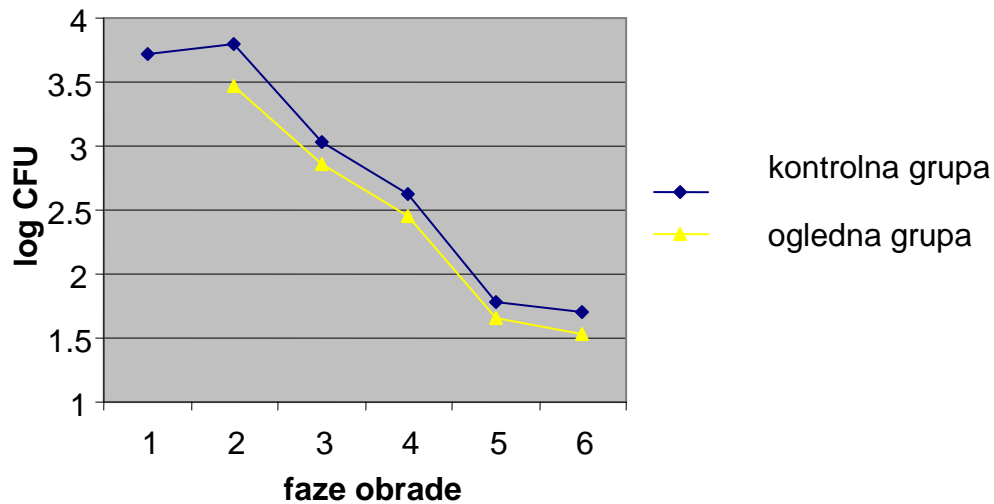
Tabela 5.2. Promjena ukupnog broja bakterija (UBB) na koži ogleadne grupe šarana u toku proizvodnog procesa (log CFU/cm²)

Faza obrade*	\bar{X}	Mjere varijacije				
		S _d	S _e	I _v		C _v %
				X _{max}	X _{min}	
odmrzavanje	3.47 ^{xxxx}	0.13	0.04	3.65	3.2	3.68
soljenje	2.86 ^{xxx}	0.17	0.05	3.1	2.6	5.91
cijeđenje	2.46 ^{xx}	0.41	0.12	3.5	2.2	16.65
dimljenje	1.65 ^x	0.09	0.03	1.8	1.5	5.25
hlađenje	1.53 ^x	0.17	0.06	1.75	1.25	10.87

Važi za tabele: 5.1. i 5.2.

p > 0.05 x
 p < 0.05 xx
 p < 0.01 xxx
 p < 0.001 xxxx

Grafikon 5.1. Promjene ukupnog broja bakterija (UBB) na koži kontrolne i ogledne grupe šarana u toku proizvodnog procesa (log CFU/cm²)



1. klanje
2. evisceracija / odmrzavanje
3. soljenje
4. cijedenje
5. dimljenje
6. hlađenje

Statistička značajnost razlike (t-test) između ukupnog broja bakterija na koži ogledne i kontrolne grupe šarana u toku proizvodnog procesa prikazan je u Tabeli 5.3. U pojedinim fazama proizvodnje (poslije soljenja, poslije cijedenja, poslije dimljenja i poslije hlađenja) ukupan broj bakterija kontrolne grupe šarana bio je statistički značajno veći u odnosu na ukupan broj bakterija ogledne grupe šarana ($p < 0.05$). Nakon faze cijedenja ukupan broj bakterija kože kontrolne grupe bakterija, nije se statistički značajno razlikovao od ukupnog broja bakterija kože ogledne grupe šarana ($p > 0.05$).

Tabela 5.3. Statistička značajnost razlike (t-test) između ukupnog broja bakterija na koži ogleadne i kontrolne grupe šarana u pojedinim fazama proizvodnog procesa (log CFU cm²)

Grupa	poslije soljenja $\bar{X} \pm S_d$	poslije cijedenja $\bar{X} \pm S_d$	poslije dimljenja $\bar{X} \pm S_d$	poslije hlađenja $\bar{X} \pm S_d$
Kontrolna	3.03 ^a ± 0.17	2.62 ^{nz} ± 0.07	1.78 ^a ± 0.12	1.71 ^a ± 0.24
Ogledna	2.86 ^b ± 0.17	2.46 ^{nz} ± 0.14	1.65 ^b ± 0.09	1.53 ^b ± 0.40

Važi za sve tabele:

nz **p>0.05**

a, b, c **p<0.05**

x, y, z **p<0.01**

α, β, γ **p<0.001**

5.2. Promjene ukupnog broja enterobakterija na koži kontrolne i ogleadne grupe šarana u toku proizvodnog procesa

Rezultati ispitivanja broja enterobakterija na koži kontrolne i ogleadne grupe šarana u toku proizvodnog procesa prikazani su tabelama 5.4 , 5.5 i grafikonom 5.2. Rezultati ispitivanja kože kontrolne grupe šarana ukazuju na postojanje statistički značajne razlike (p<0.001) između broja enterobakterija u različitim dijelovima proizvodnog procesa. Broj enterobakterija nakon klanja (log CFU/cm² 3.37+/- 0.34) nije se statistički razlikovao (p>0.05) od broja enterobakterija nakon evisceracije (log CFU/cm² 3.34+/-0.25) i broja enterobakterija nakon salamurenja (log CFU/cm² 3.43 +/- 0.32). Broj enterobakterija nakon cijedenja (log CFU/ cm² 2.62 +/- 0.25) bio je statistički značajno manji (p<0.001) od ukupnog broja enterobakterija nakon salamurenja. Takođe, ukupan broj enterobakterija nakon dimljenja (log CFU/cm² 1.78 +/- 0.31) i hlađenja (log CFU/cm² 1.74 +/- 0.29) bio je statistički značajno manji (p<0.001) od ukupnog broja enterobakterija nakon cijedenja.

Ukupan broj enterobakterija nakon dimljenja i ukupan broj enterobakterija nakon hlađenja nije se statistički značajno razlikovao.

Ukupan broj enterobakterija na koži ogleadne grupe šarana nakon odmrzavanja (log CFU/cm² 2.85 +/- 0.47) bio je statistički značajno veći (p<0.001) od ukupnog broja enterobakterija nakon salamurenja (log CFU/cm² 2.69 +/- 0.27) i ukupnog broja

enterobakterija nakon cijedenja ($\log \text{CFU/cm}^2$ 2.64 +/- 0.45). Između ukupnog broja enterobakterija kože ogledne grupe šarana nakon salamurenja i ukupnog broja enterobakterija kože ogledne grupe šarana nakon cijedenja nije bilo statistički značajne razlike. Ukupan broj enterobakterija nakon dimljenja ($\log \text{CFU/cm}^2$ 2.12 +/- 0.38) bio je statistički značajno manji ($p < 0.001$) od ukupnog broja enterobakterija nakon cijedenja, a statistički značajno veći ($p < 0.001$) od ukupnog broja enterobakterija nakon hlađenja ($\log \text{CFU/cm}^2$ 1.74 +/- 0.09).

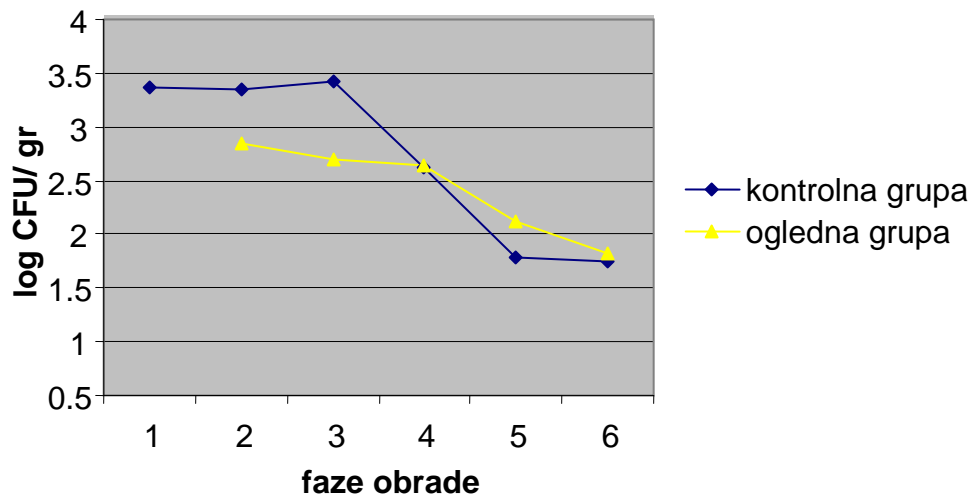
Tabela 5.4. Promjena ukupnog broja enterobakterija na koži kontrolne grupe šarana u toku proizvodnog procesa ($\log \text{CFU/cm}^2$)

Faza obrade	\bar{X}	Mjere varijacije				
		S_d	S_e	I_v	$C_v\%$	
				X_{\max}	X_{\min}	
klanje	3.37 ^a	0.34	0.11	4.11	2.9	10.15
evisceracija	3.34 ^a	0.25	0.08	3.71	3.07	7.35
salamurenje	3.43 ^a	0.32	0.11	4.07	3.07	9.44
ceđenje	2.62 ^b	0.25	0.08	3.25	2.4	9.36
dimljenje	1.78 ^y	0.31	0.10	2.1	1	17.34
hlađenje	1.74 ^y	0.29	0.10	1.9	1	16.49

Tabela 5.5. Promjena ukupnog broja enterobakterija na koži ogleadne grupe šarana u toku proizvodnog procesa (log CFU/cm²)

Faza obrade	\bar{X}	Mjere varijacije				
		S _d	S _e	I _v X _{max}	X _{min}	C _v %
odmrzavanje	2.85 ^a	0.47	0.16	3.74	2.22	16.55
salamurenje	2.69 ^{xαβ}	0.27	0.09		2.2	9.88
cedenje	2.64 ^{xαβ}	0.45	0.15	3.7	2.3	16.88
dimljenje	2.12 ^{yβγ}	0.38	0.13	3	1.8	18.02
hlađenje	1.82 ^γ	0.09	0.03	1.95	1.7	4.77

Grafikon 5.2. Promjene ukupnog broja enterobakterija na koži kontrolne i ogleadne grupe šarana u toku proizvodnog procesa (log CFU/cm²)



1. klanje
2. evisceracija / odmrzavanje
3. soljenje
4. cijedenje
5. dimljenje
6. hlađenje

Statistička značajnost razlike (t-test) između ukupnog broja enterobakterija na koži ogleadne i kontrolne grupe šarana u toku proizvodnog procesa prikazan je u Tabeli 5.6. Nakon soljenja ukupan broj enterobakterija kontrolne grupe bio je statistički značajno veći ($p < 0.001$) od ukupnog broja enterobakterija ogleadne grupe. Nakon faza cijedenja, dimljenja i hlađenja ukupan broj enterobakterija kože kontrolne grupe bakterija, nije se statistički značajno razlikovao od ukupnog broja enterobakterija kože ogleadne grupe šarana ($p > 0.05$).

Tabela 5.6. Statistički značajnost razlike (t-test) između ukupnog broja enterobakterija na koži kontrolne grupe šarana i ukupnog broja enterobakterija na koži ogleadne grupe šarana ($\log \text{CFU}/\text{cm}^2$)

Grupa	poslije soljenja $\bar{X} \pm S_d$	poslije cijedenja $\bar{X} \pm S_d$	poslije dimljenja $\bar{X} \pm S_d$	poslije hlađenja $\bar{X} \pm S_d$
Kontrolna	$3.43^a \pm 0.27$	$2.62^{nz} \pm 0.25$	$1.78^{nz} \pm 0.31$	$1.74^{nz} \pm 0.29$
Ogledna	$2.69^b \pm 0.32$	$2.64^{nz} \pm 0.45$	$2.12^{nz} \pm 0.38$	$1.82^{nz} \pm 0.09$

Statistička značajnost razlike (t-test) između ukupnog broja enterobakterija u dimljenim vakuum pakovanim filetima kontrolne i ogleadne grupe šarana nultog dana skladištenja ($\log \text{CFU}/\text{gr}$) prikazana je u tabeli 5.7. Ukupan broj enterobakterija nije bio statistički značajno različit ($p > 0.05$) između vakuum pakovanih fileta kontrolne i ogleadne grupe šarana.

Tabela 5.7. Statistička značajnost razlike (t-test) između ukupnog broja enterobakterija u dimljenim vakuum pakovanim filetima kontrolne i ogleadne grupe šarana nultog dana skladištenja ($\log \text{CFU} / \text{gr}$)

grupa	$\bar{X} \pm S_d$
Kontrolna	$1.76^{nz} \pm 0.26$
Ogledna	$1.83^{nz} \pm 0.09$

5.3. Promjena ukupnog broja bakterija u vakuum pakovanim filetima kontrolne i ogleadne grupe šarana skladištenih pri dvije temperature

5.3.1. Promjena ukupnog broja bakterija u vakuum pakovanim filetima kontrolne i ogleadne grupe šarana, skladištenih tri nedjelje pri +4 °C (log CFU / gr)

Rezultati ispitivanja promjene ukupnog broja bakterija u vakuum pakovanim filetima kontrolne i ogleadne grupe šarana u toku skladištenja od tri nedjelje, pri +4°C prikazani su u tabelama 5.8. , 5.9. i grafikonom 5.3. Ukupan broj bakterija u filetu kontrolne grupe vakuum pakovanog šarana nultog dana bio je (log CFU/gr 1.7 +/- 0.15) i nije se statistički značajno razlikovao ($p > 0.05$) od ukupnog broja bakterija u filetu vakuum pakovanog šarana sedmog dana skladištenja (log CFU/gr 1.59 +/- 0.24). Takođe, ukupan broj bakterija nije se statistički značajno razlikovao u vakuum pakovanim filetima šarana skladištenih četrnaest dana (log CFU / gr 1.99 +/- 0.11), u poređenju sa ukupnim brojem bakterija u vakuum pakovanim filetima šarana nultog dana ($p < 0.001$). Ukupan broj bakterija fileta skladištenog dvadeset jedan dan (log CFU/gr 0.99 +/- 0.25) bio je statistički značajno manji u poređenju sa nultim danom skladištenja ($p < 0.001$). Takođe, ukupan broj bakterija vakuum pakovanog fileta šarana sedmog dana skladištenja bio je statistički značajno manji od ukupnog broja bakterija vakuum pakovanog fileta šarana četrnaestog dana skladištenja ($p < 0.001$). Statistički značajan manji ukupan broj bakterija fileta šarana bio je dvadeset prvog dana skladištenja u odnosu na ukupan broj bakterija fileta četrnaestog dana skladištenja ($p < 0.001$). Ukupan broj bakterija u vakuum pakovanim filetima ogleadne grupe šarana nultog dana (log CFU 1.49 +/- 0.15) statistički se nije značajno razlikovao ($p < 0.05$) u odnosu na sedmi dan skladištenja (log CFU 1.6 +/- 0.12). Ukupan broj bakterija u vakuum pakovanim filetima skladištenih četrnaesti dan (log CFU 2.01 +/- 0.11) statistički je značajno veći ($p < 0.001$) od ukupnog broja bakterija vakuum pakovanih fileta nultog i sedmog dana skladištenja. Takođe, ukupan broj bakterija vakuum pakovanih fileta skladištenih četrnaesti dan, statistički je značajno veći ($p < 0.001$) od ukupnog broja bakterija vakuum pakovanih fileta skladištenih dvadeset jedan dan (log CFU 0.89 +/- 0.14).

Ukupan broj bakterija vakuum pakovanih fileta skladištenih dvadeset jedan dan statistički je značajno manji ($p < 0.001$) od ukupnog broja bakterija vakuum pakovanih fileta nultog i sedmog dana skladištenja.

Tabela : 5.8. Promjena ukupnog broja bakterija (UBB) u dimljenim vakuum pakovanim filetima kontrolne grupe šarana u toku skladištenja pri +4 °C (log CFU/gr)

Dani skladištenja	\bar{X}	Mjere varijacije				
		S_d	S_e	I_v		$C_v\%$
				X_{max}	X_{min}	
0	1.7 ^{aβx}	0.12	0.04	1.9	1.5	7.2
7	1.59 ^a	0.24	0.04	1.9	1.5	7.29
14	1.99 ^{βy}	0.11	0.04	2.1	1.8	5.3
21	0.99 ^γ	0.25	0.08	1.6	0.8	25.44

Tabela : 5.9. Promjena ukupnog broja bakterija (UBB) u dimljenim vakuum pakovanim filetima ogledne grupe šarana u toku skladištenja pri +4 °C (log CFU/gr)

Dani skladištenja	\bar{X}	Mjere varijacije				
		S_d	S_e	I_v		$C_v\%$
				X_{max}	X_{min}	
0	1.49 ^a	0.15	0.05	1.6	1.2	9.82
7	1.6 ^a	0.12	0.04	1.9	1.5	7.65
14	2.01 ^β	0.11	0.04	2.2	1.9	5.24
21	0.89 ^γ	0.14	0.05	1.07	0.6	15.82

Statistička značajnost razlike (t-test) između ukupnog broja bakterija u dimljenim vakuum pakovanim filetima kontrolne i ogledne grupe šarana nultog dana skladištenja (log CFU/gr) prikazana je u tabeli 5.10. Ukupan broj bakterija bio je statistički značajno veći ($p < 0.001$) u vakuum pakovanim filetima kontrolne grupe šarana.

Tabela 5.10. Statistička značajnost razlike (t-test) između ukupnog broja bakterija u dimljenim vakuum pakovanim filetima kontrolne i ogledne grupe šarana nultog dana skladištenja (log CFU / gr)

grupa	$\bar{X} \pm S_d$
Kontrolna	$1.70^a \pm 0.12$
Ogledna	$1.49^b \pm 0.15$

Rezultati ispitivanja statističke značajnosti razlike, t-testom, pokazuju da između ukupnog broja bakterija u filetima kontrolne grupe šarana i ukupnog broja bakterija ogledne grupe šarana skladištenih sedam, četrnaest i dvadeset jedan dan nije bilo statistički značajnih razlika ($p > 0.05$) i prikazani su u tabeli 5.11.

Tabela: 5.11. Statistička značajnost razlike (t-test) između ukupnog broja bakterija dimljenih vakuum pakovanih fileta kontrolne i ogledne grupe šarana skladištenih pri +4° C (log CFU/ gr)

grupa	7. dan	14. dan	21. dan
	$\bar{X} \pm S_d$	$\bar{X} \pm S_d$	$\bar{X} \pm S_d$
kontrolna	$1.59^{nz} \pm 0.24$	$1.99^{nz} \pm 0.11$	$0.99^{nz} \pm 0.25$
ogledna	$1.60^{nz} \pm 0.12$	$2.01^{nz} \pm 0.11$	$0.89^{nz} \pm 0.14$

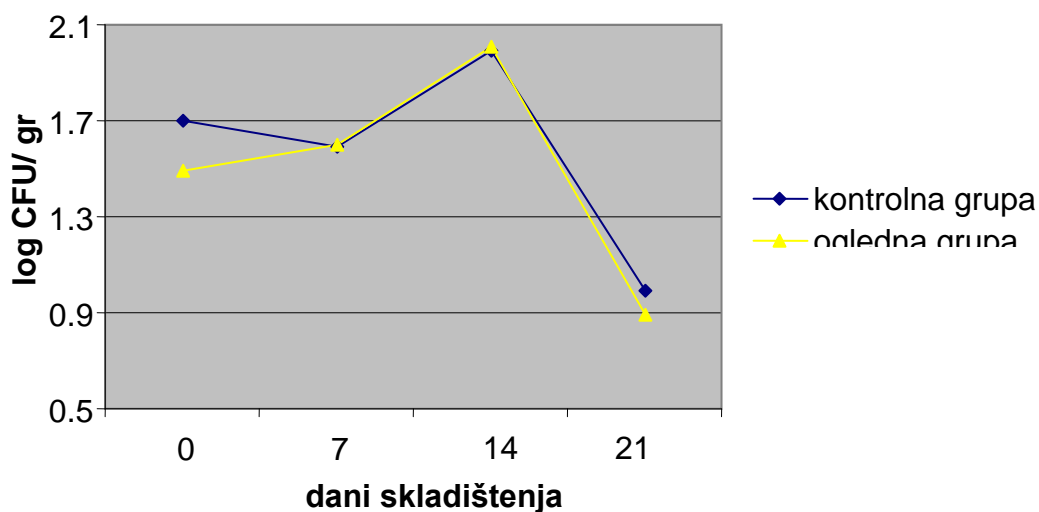
Statistička značajnost razlike (t-test) između ukupnog broja bakterija dimljenih vakuum pakovanih fileta kontrolne grupe šarana skladištenih na +4°C i +8 °C prikazani su u tabeli 5.12. Dobijeni rezultati ispitivanja pokazali su statistički značajnu razliku četrnaestog dana skladištenja ($p < 0.001$).

Sedmog i dvadeset prvog dana skladištenja nisu utvrđene statistički značajne razlike u promjeni ukupnog broja bakterija ($p > 0.05$) između fileta kontrolne grupe šarana skladištenih na $+4\text{ }^{\circ}\text{C}$ i $+8\text{ }^{\circ}\text{C}$.

Tabela 5.12. Statistička značajnost razlike (t-test) između ukupnog broja bakterija dimljenih vakuum pakovanih fileta kontrolne I grupe šarana skladištenih pri $+4\text{ }^{\circ}\text{C}$ i $8\text{ }^{\circ}\text{C}$ (log CFU/ gr)

Temperatura	7. dan	14. dan	21. dan
	$\bar{X} \pm S_d$	$\bar{X} \pm S_d$	$\bar{X} \pm S_d$
$4\text{ }^{\circ}\text{C}$	$1.59^{nz} \pm 0.24$	$1.99^a \pm 0.11$	$0.99^{nz} \pm 0.25$
$8\text{ }^{\circ}\text{C}$	$1.76^{nz} \pm 0.12$	$2.20^b \pm 0.07$	$0.86^{nz} \pm 0.16$

Grafikon 5.3. Promjene ukupnog broja bakterija (UBB) u dimljenim vakuum pakovanim filetima kontrolne i ogledne grupe šarana u toku skladištenja na $+4\text{ }^{\circ}\text{C}$ (log CFU/gr)



5.3.2. Promjena ukupnog broja bakterija u vakuum pakovanim filetima kontrolne i ogledne grupe šarana, skladištenih tri nedjelje pri +8 °C (log CFU/gr)

Rezultati ispitivanja promjene ukupnog broja bakterija u vakuum pakovanim filetima kontrolne i ogledne grupe šarana u toku skladištenja od tri nedjelje, pri +8°C prikazani su u Tabelama 5.13. , 5.14. i Grafikonom 5.4. Ukupan broj bakterija vakuum pakovanih fileta kontrolne grupe, skladištenih nultog dana (log CFU / gr 1.7 +/- 0.12) nije se statistički značajno razlikovao ($p < 0.001$) od ukupnog broja bakterija vakuum pakovanih fileta skladištenih sedam dana (log CFU / gr 1.76 +/- 0.16). U filetima skladištenim četrnaest dana ukupan broj bakterija (log CFU / gr 2.2 +/- 0.07) bio je statistički značajno veći u odnosu na ukupan broj bakterija fileta skladištenih nultog i sedmog dana ($p < 0.001$).

Takođe, ukupan broj bakterija fileta skladištenih četrnaest dana bio je statistički značajno veći ($p < 0.001$) od ukupnog broja bakterija fileta skladištenih dvadeset jedan dan (log CFU/gr 0.89 +/- 0.16). Fileti skladišteni dvadeset jedan dan imali su statistički značajno manji ($p < 0.001$) ukupan broj bakterija od fileta nultog i sedmog dana skladištenja.

Ukupan broj bakterija vakuum pakovanih fileta ogledne grupe šarana, skladištenih nultog dana (log CFU/gr 1.49 +/- 0.15) bio je statistički značajno manji ($p < 0.001$) od ukupnog broja bakterija fileta skladištenih sedam dana (log CFU/gr 1.82 +/- 0.20). Statistički značajna razlika ($p < 0.001$) utvrđena je između ukupnog broja bakterija fileta skladištenih sedam dana i ukupnog broja bakterija fileta skladištenih četrnaest dana (log CFU/gr 2.11 +/- 0.12). Ukupan broj bakterija fileta skladištenih dvadeset jedan dan (log CFU/gr 0.9 +/- 0.14) bio je statistički značajno manji ($p < 0.001$) od ukupnog broja bakterija fileta skladištenih nultog, sedmog i četrnaestog dana.

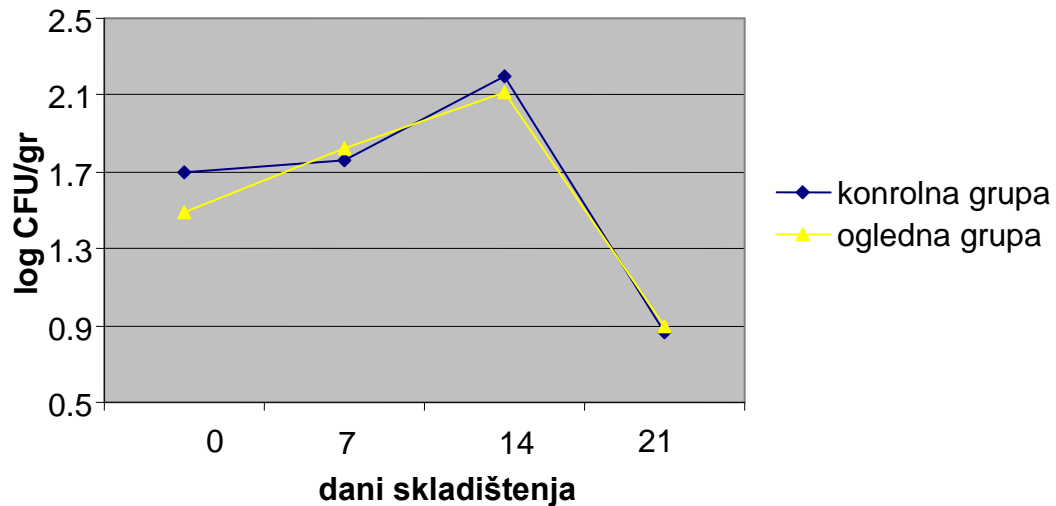
Tabela 5.13. Promjena ukupnog broja bakterija (UBB) u dimljenim vakuum pakovanim filetima kontrolne grupe šarana skladištene na +8 °C (log CFU/gr)

Dani skladištenja	\bar{X}	Mjere varijacije				
		S_d	S_e	I_v		$C_v\%$
				X_{max}	X_{min}	
0	1.7 ^α	0.12	0.04	1.9	1.5	7.2
7	1.76 ^α	0.12	0.04	1.9	1.6	7.04
14	2.2 ^β	0.07	0.02	2.3	2.1	3.21
21	0.86 ^γ	0.16	0.05	1.07	0.6	18.62

Tabela 5.14. Promjena ukupnog broja bakterija (UBB) u dimljenim vakuum pakovanim filetima ogledne grupe šarana skladištene na +8 °C (log CFU/gr)

Dani skladištenja	\bar{X}	Mjere varijacije				
		S_d	S_e	I_v		$C_v\%$
				X_{max}	X_{min}	
0	1.49 ^α	0.15	0.04	1.6	1.2	9.82
7	1.82 ^β	0.20	0.07	2.1	1.6	10.92
14	2.11 ^γ	0.12	0.04	2.3	1.9	5.53
21	0.9 ^δ	0.14	0.05	1.07	0.6	16

Grafikon 5.4. Promjene ukupnog broja bakterija (UBB) u dimljenim vakuum pakovanim filetima kontrolne i ogledne grupe šarana u toku skladištenja na + 8 C° (log CFU/gr)



Rezultati ispitivanja statističke značajnosti razlike (t-test) pokazuju da između ukupnog broja bakterija dimljenih vakuum pakovanih fileta kontrolne grupe I dimljenih vakuum pakovanih fileta ogledne grupe nema statistički značajnih razlika ($p > 0.05$) I prikazani su u tabeli 5.15.

Tabela 5.15. Statistička značajnost razlike (t-test) između ukupnog broja bakterija dimljenih vakuum pakovanih fileta kontrolne I ogledne grupe šarana skladištenih pri +8° C (log CFU/ gr)

grupa	7. dan	14. dan	21. dan
	$\bar{X} \pm S_d$	$\bar{X} \pm S_d$	$\bar{X} \pm S_d$
kontrolna	$1.76^{nz} \pm 0.12$	$2.20^{nz} \pm 0.07$	$0.86^{nz} \pm 0.16$
ogledna	$1.82^{nz} \pm 0.20$	$2.11^{nz} \pm 0.12$	$0.90^{nz} \pm 0.14$

Statistička značajnost razlike (t-test) između ukupnog broja bakterija dimljenih vakuum pakovanih fileta ogleadne grupe šarana skladištenih na +4°C i +8 °C prikazani su u tabeli 5.11. Dobijeni rezultati ispitivanja pokazali su statistički značajnu razliku sedmog dana skladištenja ($p < 0.01$). Četrnaestog i dvadeset prvog dana skladištenja nisu utvrđene statistički značajne razlike promjene ukupnog broja bakterija ($p > 0.05$) između fileta ogleadne grupe šarana skladištenih na + 4 °C i +8 °C

Tabela 5.11. Statistička značajnost razlike (t-test) između ukupnog broja bakterija dimljenih vakuum pakovanih fileta ogleadne grupe šarana skladištenih pri +4 °C i +8 °C (log CFU/ gr)

Temperatura	7. dan	14. dan	21. dan
	$\bar{X} \pm S_d$	$\bar{X} \pm S_d$	$\bar{X} \pm S_d$
4 °C	1.60 ^x ± 0.12	2.01 ^{nz} ± 0.11	0.89 ^{nz} ± 0.14
8 °C	1.82 ^y ± 0.20	2.11 ^{nz} ± 0.12	0.90 ^{nz} ± 0.14

5.4. Promjena ukupnog broja enterobakterija u vakuum pakovanim filetima kontrolne i ogledne grupe šarana skladištene pri dvije temperature

5.4.1. Promjena ukupnog broja enterobakterija u vakuum pakovanim filetima kontrolne i ogledne grupe šarana, skladištenih tri nedjelje pri +4 °C

Rezultati ispitivanja promjene ukupnog broja enterobakterija u vakuum pakovanim filetima kontrolne i odledne grupe šarana, skladištenih na +4 °C prikazani su u Tabelama 5.16 i 5.17. i Grafikonom 5.6. Rezultati ispitivanja, vakuum pakovanih fileta kontrolne grupe šarana, pokazuju da nije bilo statistički značajne razlike između ukupnog broja enterobakterija nultog dana skladištenja (log CFU/gr 1.76 +/-0.26) i sedmog dana skladištenja (log CFU/gr 1.69 +/- 0.12). Statistički značajna razlika ($p < 0.001$) zabilježena je između fileta skladištenih sedam i četrnaest dana (log CFU/gr 1.36 +/- 0.10), kao i između fileta skladištenih četrnaest i dvadeset jedan dan (log CFU/gr 0.71 +/- 0.11).

Između ukupnog broja enterobakterija u filetima ogledne grupe šarana skladištenih tri nedjelje utvrđeno je postojanje statistički značajnih razlika, sa različitim nivoima statističke značajnosti. Ukupan broj enterobakterija (log CFU/gr 1.83 +/- 0.09) fileta nultog dana skladištenja bio je statistički značajno veći ($p < 0.001$) od ukupnog broja enterobakterija skladištenih sedam dana (log CFU/gr 1.49 +/- 0.08), a takođe statistički značajno veći od ukupnog broja enterobakterija skladištenih četrnaest dana (log CFU/gr 1.06 +/- 0.08). Ukupan broj enterobakterija fileta skladištenih dvadeset jedan dan (log CFU/gr 0.80 +/- 0.14) bio je statistički značajno manji ($p < 0.001$) od ukupnog broja enterobakterija fileta skladištenih četrnaest dana.

Tabela 5.16. Promjena ukupnog broja enterobakterija vakuum pakovanih fileta kontrolne grupe šarana, skladištenih tri nedjelje pri +4 °C (log CFU/gr)

Dani skladištenja	\bar{X}	Mjere varijacije				
		Sd	Se	Iv		Cv%
X max	X min					
0	1.76 ^a	0.26	0.09	1.90	1.1	14.55
7	1.69 ^a	0.12	0.04	1.90	1.5	6.83
14	1.36 ^b	0.10	0.03	1.50	1.2	7.10
21	0.71 ^γ	0.11	0.04	0.8	0.6	14.82

Tabela 5.17. Promjena ukupnog broja enterobakterija vakuum pakovanih fileta ogledne grupe šarana skladištenih tri nedjelje, pri +4 °C (log CFU/gr)

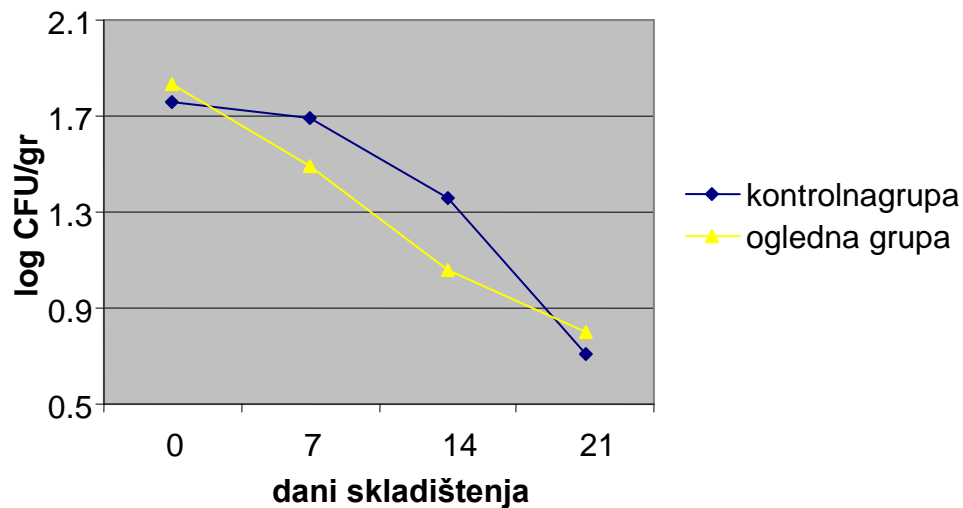
Dani skladištenja	\bar{X}	Mjere varijacije				
		Sd	Se	Iv		Cv%
X max	X min					
0	1.83	0.09	0.03	1.90	1.1	14.55
7	1.49	0.08	0.03	1.85	1.4	6.83
14	1.06	0.08	0.04	1.80	1.4	7.10
21	0.80	0.14	0.03	0.8	0.6	11.85

Statistička značajnost razlike (t-test) između ukupnog broja enterobakterija fileta kontrolne i ogledne grupe šarana skladištenih tri nedjelje na temperaturi +4 °C prikazani su u Tabeli 5.18. Statistička značajnost razlike ($p < 0.001$) utvrđena je između ukupnog broja enterobakterija fileta kontrolne i ogledne grupe četrnaestog dana skladištenja. Statistički značajna razlika nije utvrđena između kontrolne i ogledne grupe šarana sedmog i dvadeset prvog dana skladištenja.

Tabela 5.18. Statistički značajnost razlike (t-test) između ukupnog broja enterobakterija kontrolne grupe šarana i ukupnog broja enterobakterija ogledne grupe šarana (log CFU/gr) skladištenih tri nedjelje na +4 °C (log CFU/gr)

grupa	7. dan	14. dan	21. dan
	$\bar{X} \pm S_d$	$\bar{X} \pm S_d$	$\bar{X} \pm S_d$
kontrolna	$1.69^{nz} \pm 0.12$	$1.36^a \pm 0.10$	$0.71^{nz} \pm 0.11$
ogledna	$1.49^{nz} \pm 0.08$	$1.06^b \pm 0.08$	$0.80^{nz} \pm 0.14$

Grafikon 5.6. Promjene ukupnog broja enterobakterija u dimljenim vakuum pakovanim filetima kontrolne i ogledne grupe šarana u toku skladištenja na + 4 C° (log CFU/gr)



5.4.1. Promjena ukupnog broja enterobakterija u vakuum pakovanim filetima kontrolne i ogledne grupe šarana, skladištenih tri nedjelje pri +8 °C (log CFU/gr)

Rezultati ispitivanja promjene ukupnog broja enterobakterija u vakuum pakovanim filetima kontrolne i odledne grupe šarana, skladištenih na +8 °C prikazani su u tabelama 5.19 i 5.20 i grafikonom 5.7. Rezultati ispitivanja, vakuum pakovanih fileta kontrolne grupe šarana, pokazuju da nije bilo statistički značajne razlike ($p < 0.001$) između ukupnog broja enterobakterija nultog dana skladištenja (log CFU/gr 1.76 +/-0.26) , sedmog dana skladištenja (log CFU/gr 1.66 +/- 0.13), i četrnaestog dana skladištenja (log/CFU 1.65 +/- 0.12). Statistički značajno ($p < 0.001$) manji ukupan broj enterobakterija (log/CFU 0.74 +/- 0.09) zabilježen je dvadeset prvog dana skladištenja

Između ukupnog broja enterobakterija u filetima ogledne grupe šarana skladištenih tri nedjelje utvrđeno je postojanje statistički značajnih razlika, sa različitim nivoima statističke značajnosti. Ukupan broj enterobakterija (log CFU/gr 1.83 +/- 0.09) fileta nultog dana skladištenja bio je statistički značajno veći ($p < 0.001$) od ukupnog broja enterobakterija skladištenih sedam dana (log CFU/gr 1.58 +/- 0.09), a takođe statistički značajno veći od ukupnog broja enterobakterija skladištenih četrnaest dana (log CFU/gr 1.46 +/-0.16). Između ukupnog broja enterobakterija fileta skladištenih sedam i četrnaest dana nije bilo statistički značajne razlike ($p < 0.001$).

Ukupan broj enterobakterija fileta skladištenih dvadeset jedan dan (log CFU/gr 0.76 +/- 0.15) bio je statistički značajno manji ($p < 0.001$) od ukupnog broja enterobakterija fileta skladištenih četrnaest dana.

Tabela 5.19. Promjena ukupnog broja enterobakterija vakuum pakovanih fileta kontrolne grupe šarana, skladištenih tri nedjelje pri +8 °C (log CFU/gr)

Dani skladištenja	\bar{X}	Mjere varijacije				
		Sd	Se	Iv		Cv%
X max	X min					
0	1.76	0.26	0.09	1.90	1.1	14.55
7	1.66	0.13	0.04	1.85	1.4	6.83
14	1.65	0.12	0.04	1.80	1.4	7.10
21	0.74	0.09	0.03	0.8	0.6	11.85

Tabela 5.20. Promjena ukupnog broja enterobakterija vakuum pakovanih fileta ogledne grupe šarana, skladištenih tri nedjelje pri +8 °C (log CFU/gr)

Dani skladištenja	\bar{X}	Mjere varijacije				
		Sd	Se	Iv		Cv%
X max	X min					
0	1.83 ^a	0.09	0.03	1.95	1.7	4.95
7	1.58 ^b	0.09	0.03	1.75	1.45	5.41
14	1.46 ^b	0.16	0.05	1.7	1.2	10.67
21	0.76 ^γ	0.15	0.05	1.07	0.6	19.69

Statistička značajnost razlike (t-test) između ukupnog broja enterobakterija fileta kontrolne i ogledne grupe šarana skladištenih tri nedjelje na temperaturi +8 °C prikazani su u tabeli 5.21. Statistička značajnost razlike ($p < 0.001$) utvrđena je između ukupnog broja enterobakterija fileta kontrolne i ogledne grupe četrnaestog dana skladištenja. Statistički značajna razlika nije utvrđena između kontrolne i ogledne grupe šarana sedmog i dvadeset prvog dana skladištenja.

Tabela 5.21. Statistički značajnost razlike (t-test) između ukupnog broja enterobakterija vakuum pakovanih fileta kontrolne grupe šarana i ukupnog broja enterobakterija vakuum pakovanih fileta ogledne grupe šarana (log CFU/gr) skladištenih tri nedjelje na +8 °C (log CFU/gr)

grupa	7. dan	14. dan	21. dan
	$\bar{X} \pm S_d$	$\bar{X} \pm S_d$	$\bar{X} \pm S_d$
kontrolna	1.66 ^{nz} ± 0.13	1.65 ^α ± 0.12	0.74 ^{nz} ± 0.09
ogledna	1.58 ^{nz} ± 0.09	1.46 ^β ± 0.16	0.76 ^{nz} ± 0.15

U tabeli 5.22. prikazane su statističke značajnosti razlika (t-test) između ukupnog broja enterobakterija u filetima kontrolne grupe šarana skladištenih tri nedjelje pri dvije temperature. Statistička značajnost razlike ($p < 0.001$) utvrđena je između ukupnog broja enterobakterija fileta kontrolne grupe šarana četrnaestog dana skladištenja. Statistički značajna razlika nije utvrđena između ukupnog broja enterobakterija vakuum pakovanih fileta kontrolne grupe šarana sedmog i dvadeset prvog dana skladištenja.

Tabela 5.22. Statistički značajnost razlike (t-test) između ukupnog broja enterobakterija vakuum pakovanih fileta kontrolne grupe šarana skladištenih tri nedjelje pri dvije temperature (log CFU/gr)

Temperatura	7. dan	14. dan	21. dan
	$\bar{X} \pm S_d$	$\bar{X} \pm S_d$	$\bar{X} \pm S_d$
4 °C	1.69 ^{nz} ± 0.12	1.36 ^α ± 0.10	0.71 ^{nz} ± 0.11
8 °C	1.56 ^{nz} ± 0.09	1.65 ^β ± 0.12	0.74 ^{nz} ± 0.09

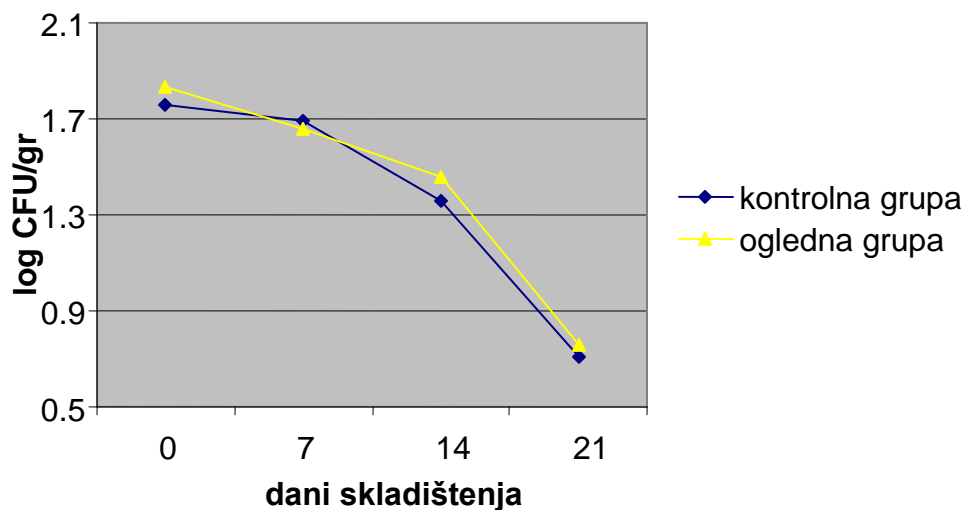
U tabeli 5.23. prikazane su statističke značajnosti razlika (t-test) između ukupnog broja enterobakterija u filetima ogledne grupe šarana skladištenih tri nedjelje pri dvije temperature. Statistička značajnost razlike ($p < 0.05$) utvrđena je između ukupnog broja

enterobakterija fileta kontrolne grupe šarana sedmog dana skladištenja kao i četrnaestog dana skladištenja ($p < 0.001$). Statistički značajna razlika nije utvrđena između ukupnog broja enterobakterija vakuum pakovanih fileta ogledne grupe šarana dvadeset prvog dana skladištenja.

Tabela 5.23. Statistički značajnost razlike (t-test) između ukupnog broja enterobakterija vakuum pakovanih fileta ogledne grupe šarana skladištenih tri nedjelje pri dvije temperature (log CFU/gr)

Temperatura	7. dan	14. dan	21. dan
	$\bar{X} \pm S_d$	$\bar{X} \pm S_d$	$\bar{X} \pm S_d$
4 °C	1.49 ^a ± 0.08	1.06 ^α ± 0.08	0.80 ^{nz} ± 0.14
8 °C	1.58 ^b ± 0.09	1.46 ^β ± 0.16	0.76 ^{nz} ± 0.15

Garfikon 5.7. Promjene ukupnog broja enterobakterija u dimljenim vakuum pakovanim filetima kontrolne i ogledne grupe šarana u toku skladištenja na + 8 °C (log CFU/gr)



5.5. Promjena ukupnog broja laktobacilus vrsta u vakuum pakovanim filetima kontrolne i ogledne grupe šarana skladištene pri dvije temperature

5.5.1. Promjena ukupnog broja laktobacilus vrsta u vakuum pakovanim filetima kontrolne i ogledne grupe šarana, skladištenih tri nedjelje pri +4 °C (log CFU/gr)

Rezultati ispitivanja promjene ukupnog broja laktobacilus vrsta u vakuum pakovanim filetima kontrolne i ogledne grupe šarana, skladištenih na +4 °C prikazani su u tabelama 5.24 i 5.25. i grafikonom 5.8. Ukupan broj laktobacilus vrsta kontrolne grupe statistički se značajno razlikovao ($p < 0.001$) između svih dana skladištenja (nultog, sedmog, četrnaestog i dvadeset prvog dana).

Ukupan broj laktobacilus vrsta ogledne grupe šarana statistički se značajno razlikovao ($p < 0.001$) između nultog, sedmog, četrnaestog i dvadeset prvog dana skladištenja. Između ukupnog broja laktobacila skladištenih četrnaestog i dvadeset prvog dana skladištenja nije bilo statistički značajne razlike ($p < 0.001$).

Tabela 5.24. Promjena ukupnog broja laktobacilus vrsta u vakuu pakovanim filetima kontrolne grupe šarana u toku skladištenja pri + 4°C (log CFU/gr)

Dani skladištenja	\bar{X}	Mjere varijacije				
		Se	X max	Iv X min	Cv%	
0	1.43 ^{αx}	0.33	0.11	1.7	1	22.87
7	1.96 ^{αy}	0.42	0.14	2.6	1.6	21.25
14	3.92 ^β	0.24	0.08	4.2	3.6	6.08
21	5.08. ^γ	0.30	0.10	5.4	4.6	5.89

Tabela 5.25. Promjena ukupnog broja laktobacilus vrsta u vakuum pakovanim filetima ogledne grupe šarana u toku skladištenja pri + 8°C (log CFU/gr)

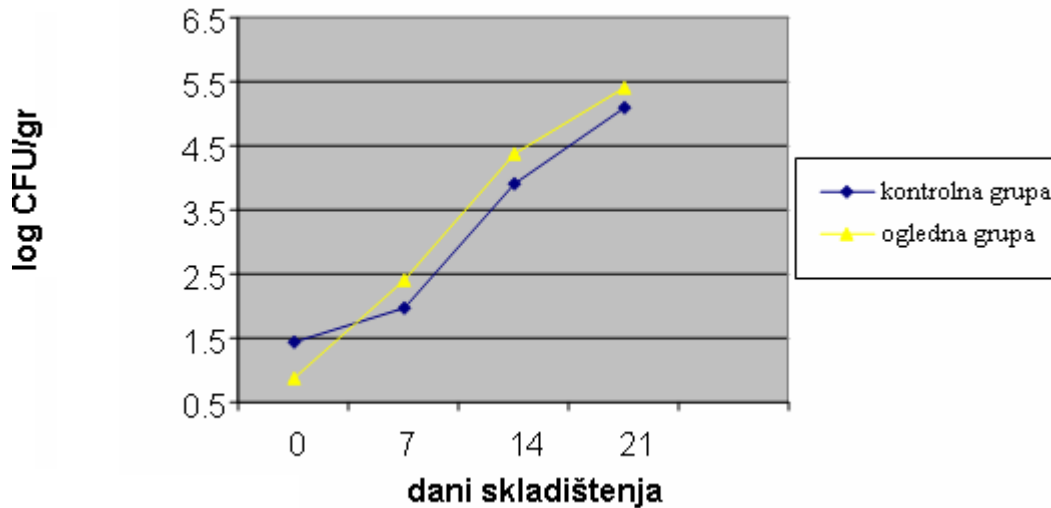
Dani skladištenja	\bar{X}	Mjere varijacije				
		Se	X max	Iv X min	Cv%	
0	0.89 ^a	0.16	0.05	1.07	0.7	18.02
7	2.41 ^b	0.35	0.12	2.9	1.9	14.58
14	4.38 ^y	0.21	0.07	4.8	4.2	4.70
21	5.42. ^y	0.18	0.06	5.7	5.2	3.30

Statističke značajnosti razlika (t-test) između ukupnog broja laktobacilus vrsta u filetima kontrolne i ogledne grupe šarana skladištenih tri nedjelje pri +4°C temperature prikazane su u tabeli 5.26. Statistička značajnost razlike (p<0.05) utvrđena je između ukupnog broja laktobacilus vrsta fileta kontrolne grupe šarana četrnaestog dana skladištenja. Statistički značajna razlika (p<0.001) utvrđena je i između ukupnog broja laktobacilus vrsta vakuum pakovanih fileta kontrolne i ogledne grupe šarana dvadeset prvog dana skladištenja. Statistički značajna razlika (p>0.05) nije utvrđena između ukupnog broja laktobacilus vrsta fileta skladištenih sedam dana.

Tabela 5.26. Statistički značajnost razlike (t-test) između ukupnog broja laktobacilus vrsta vakuum pakovanih fileta kontrolne i ogledne grupe šarana skladištenih tri nedjelje pri +4 °C (log CFU/gr)

grupa	7. dan	14. dan	21. dan
	$\bar{X} \pm S_a$	$\bar{X} \pm S_a$	$\bar{X} \pm S_a$
kontrolna	1.96 ^{nz} ± 0.42	3.92 ^a ± 0.24	5.08 ^a ± 0.30
ogledna	2.41 ^{nz} ± 0.35	4.38 ^b ± 0.21	5.42 ^b ± 0.18

Grafikon 5.8. Promjena broja laktobacilus vrsta u filetima kontrolne i ogledne grupe šarana skladištenih pri +4°C



5.5.2. Promjena ukupnog broja laktobacilus vrsta u vakuum pakovanim filetima kontrolne i ogledne grupe šarana, skladištenih tri nedjelje pri +8 °C (log CFU/gr)

Rezultati ispitivanja promjene ukupnog broja laktobacilus vrsta u vakuum pakovanim filetima kontrolne i ogledne grupe šarana, skladištenih na +8°C prikazani su u tabelama 5.27 i 5.28. i grafikonom 5.9. Ukupan broj laktobacilus vrsta vakuum pakovanih fileta kontrolne grupe šarana statistički se značajno razlikovao između svih dana skladištenja ($p < 0.001$). Ukupan broj laktobacilus vrsta vakuum pakovanih fileta ogledne grupe šarana statistički se značajno razlikovao između svih dana skladištenja ($p < 0.001$).

Tabela 5.27. Promjena ukupnog broja laktobacilus vrsta u vakkum pakovanim filetima kontrolne grupe šarana u toku skladištenja pri + 8°C (log CFU/gr)

Dani skladištenja	\bar{X}	Mjere varijacije				
		Se	X max	Iv X min	Cv%	
0	1.43 ^a	0.33	0.11	1.7	1	22.87
7	2.42 ^b	0.36	0.12	2.9	1.9	14.85
14	4.36 ^γ	0.23	0.08	4.8	4.1	6.18
21	5.46 ^δ	0.22	0.07	5.8	5.2	4.01

Tabela 5.28. Promjena ukupnog broja laktobacilus vrsta u vakuum pakovanim filetima ogledne grupe šarana u toku skladištenja pri + 8°C (log CFU/gr)

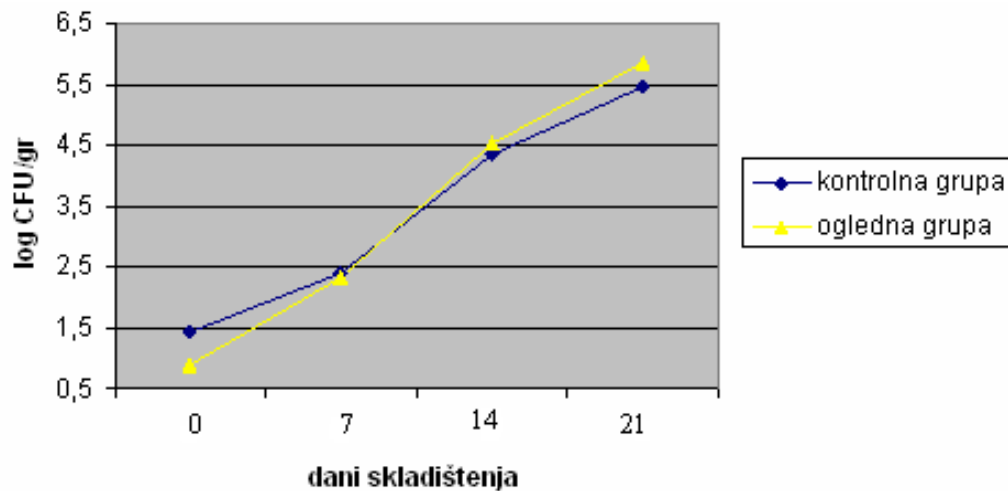
Dani skladištenja	\bar{X}	Mjere varijacije				
		Se	X max	Iv X min	Cv%	
0	0.89 ^a	0.16	0.05	1.07	0.7	18.02
7	2.43 ^b	0.32	0.11	2.75	2	13.51
14	4.51 ^γ	0.30	0.10	5.1	4.2	6.67
21	5.85 ^δ	0.22	0.07	6.2	5.55	3.80

Statističke značajnosti razlika (t-test) između ukupnog broja laktobacilus vrsta u filetima kontrolne i ogledne grupe šarana skladištenih tri nedjelje pri +8°C temperature prikazane su u tabeli 5.29. Statistička značajnost razlike ($p < 0.01$) utvrđena je između ukupnog broja laktobacilus vrsta fileta kontrolne i ogledne grupe šarana dvadeset prvog dana skladištenja. Statistički značajna razlika ($p > 0.05$) nije utvrđena između ukupnog broja laktobacilus vrsta fileta skladištenih sedam dana kao ni između ukupnog broja laktobacilus vrsta skladištenih četrnaest dana.

Tabela 5.29. Statistički značajnost razlike (t-test) između ukupnog broja laktobacilus vrsta vakuum pakovanih fileta kontrolne i ogledne grupe šarana skladištenih tri nedjelje pri +8 °C (log CFU/gr)

grupa	7. dan $\bar{X} \pm S_d$	14. dan $\bar{X} \pm S_d$	21. dan $\bar{X} \pm S_d$
kontrolna	2.42 ^{nz} ± 0.36	4.36 ^{nz} ± 0.23	5.46 ^x ± 0.22
ogledna	2.34 ^{nz} ± 0.32	4.51 ^{nz} ± 0.30	5.85 ^y ± 0.22

Grafikon 5.9. Promjena broja laktobacilus vrsta u filetima kontrolne i ogledne grupe šarana skladištenih pri +8°C (log CFU/gr)



Statistička značajnost razlike (t-test) između ukupnog broja laktobacilus vrsta u dimljenim vakuum pakovanim filetima kontrolne i ogledne grupe šarana nultog dana skladištenja (log CFU/gr) prikazana je u tabeli 5.30.

Ukupan broj laktobacilus vrsta kontrolne grupe šarana (log CFU/gr 1.43 +/- 0.33) bio je statistički značajno veći (p<0.001) od ukupnog broja laktobacilus vrsta ogledne grupe šarana (log CFU/gr 0.89 +/- 0.16).

Tabela 5.30. Statistička značajnost razlike (t-test) između ukupnog broja laktobacilus vrsta u dimljenim vakuum pakovanim filetima kontrolne i ogledne grupe šarana nultog dana skladištenja (log CFU / gr)

grupa	$\bar{X} \pm S_d$
Kontrolna	$1.43^a \pm 0.33$
Ogledna	$0.89^b \pm 0.16$

U tabeli 5.31. prikazane su statističke značajnosti razlika (t-test) između ukupnog broja laktobacilus vrsta u filetima kontrolne grupe šarana skladištenih tri nedjelje pri dvije temperature. Statistička značajnost razlike (p<0.01) utvrđena je između ukupnog broja laktobacilus vrsta fileta kontrolne grupe šarana četrnaestog dana skladištenja. Statistički značajna razlika (p>0.05) nije utvrđena između ukupnog broja laktobacilus vrsta vakuum pakovanih fileta kontrolne grupe šarana sedmog i dvadeset prvog dana skladištenja.

Tabela 5.31. Statistički značajnost razlike (t-test) između ukupnog broja laktobacilus vrsta vakuum pakovanih fileta kontrolne grupe šarana skladištenih tri nedjelje pri dvije temperature (log CFU/gr)

Temperatura	7. dan	14. dan	21. dan
	$\bar{X} \pm S_d$	$\bar{X} \pm S_d$	$\bar{X} \pm S_d$
4 °C	$1.96^{nz} \pm 0.42$	$3.92^a \pm 0.24$	$5.08^{nz} \pm 0.30$
8 °C	$2.42^{nz} \pm 0.36$	$4.36^b \pm 0.23$	$5.46^{nz} \pm 0.22$

U tabeli 5.32. prikazane su statističke značajnosti razlika (t-test) između ukupnog broja laktobacilus vrsta u filetima ogledne grupe šarana skladištenih tri nedjelje pri dvije temperature. Statistička značajnost razlike ($p < 0.001$) utvrđena je između ukupnog broja laktobacilus vrsta fileta ogledne grupe šarana dvadeset prvog dana skladištenja. Statistički značajna razlika ($p > 0.05$) nije utvrđena između ukupnog broja laktobacilus vrsta vakuum pakovanih fileta ogledne grupe šarana sedmog i dvadeset prvog dana skladištenja.

Tabela 5.32. Statistički značajnost razlike (t-test) između ukupnog broja laktobacilus vrsta vakuum pakovanih fileta ogledne grupe šarana skladištenih tri nedjelje pri dvije temperature (log CFU/gr)

Temperatura	7. dan $\bar{X} \pm S_d$	14. dan $\bar{X} \pm S_d$	21. dan $\bar{X} \pm S_d$
4 °C	2.41 ^{nz} ± 0.35	4.38 ^{nz} ± 0.21	5.42 ^a ± 0.18
8 °C	2.34 ^{nz} ± 0.32	4.51 ^{nz} ± 0.30	5.85 ^b ± 0.22

5.2. Osnovni hemijski sastav kontrolne i ogledne grupe proizvoda

Osnovni hemijski sastav (sadržaj vode, masti, proteina, pepela i soli) kontrolne i ogledne grupe proizvoda gotovog vakuumiranog proizvoda prikazan je u tabelama. 5.33-5.37

Prosječan sadržaj vode u gotovom proizvodu kontrolne grupe šarana bio je $74,09 \pm 2,52\%$ statistički se značajno razlikovao ($p < 0,05$) od prosječnog sadržaja vode ogledne grupe $75,26 \pm 2,84\%$ (tabela 5.33). Prosječan sadržaj masti kontrolne grupe gotovog proizvoda bio je $4,80 \pm 0,90\%$ i nije se statistički značajno razlikovao ($p < 0,05$) od prosječnog sadržaja masti gotovog proizvoda iz ogledne grupe šarana $4,08 \pm 1,20\%$ (tabela 5.34.). Prosječan sadržaj proteina u vakuumiranim filetima kontrolne grupe bio je $17,45 \pm 1,25\%$ i statistički se značajno razlikovao ($p < 0,05$) od prosječnog sadržaja proteina u vakuumiranim filetima ogledne grupe šarana $16,64 \pm 1,42\%$ (tabela 5.35.).

Prosječan sadržaj pepela u kontrolnoj grupi iznosio je $3,66 \pm 0,21\%$ i statistički je značajno niži ($p < 0,01$) od prosječnog sadržaja pepela ogledne grupe $4,42 \pm 0,18\%$ (tabela 5.36). Prosječan sadržaj soli kontrolne grupe bio je $2,56 \pm 0,21\%$ i statistički se značajno razlikovao ($p < 0,01$) od prosječnog sadržaja soli u oglednoj grupi $3,31 \pm 0,24$ (tabela 5.36.).

Tabela 5.33. Statistička značajnost razlike (t- test) između prosječnog sadržaja vode u vakuumiranim dimljenim filetima kontrolne i ogledne grupe šarana (%).

Grupa	\bar{X}	Mjere varijacije				
		Sd	Se	X max	X min	Cv%
Kontrolna	74,09 ^a	2,52	0,43	76,01	72,50	3,48
Ogledna	75,26 ^b	2,84	0,51	76,94	74,36	3,77

Tabela 5.34. Statistička značajnost razlike (t- test) između prosječnog sadržaja masti u vakuumiranim dimljenim filetima kontrolne i ogledne grupe šarana (%).

Grupa	\bar{X}	Mjere varijacije				
		Sd	Se	X max	X min	Cv%
Kontrolna	4,80 ^a	0,94	0,21	5,36	4,22	19,58
Ogledna	4,68 ^a	1,20	0,29	5,92	4,05	25,64

Tabela 5.35. Statistička značajnost razlike (t- test) između prosječnog sadržaja proteina u vakuumiranim dimljenim filetima kontrolne i ogledne grupe šarana (%).

Grupa	\bar{X}	Mjere varijacije				
		Sd	Se	X max	X min	Cv%
Kontrolna	17,45 ^a	1,25	0,20	18,56	16,91	7,16
Ogledna	16,64 ^b	1,42	0,28	17,91	15,88	8,53

Tabela 5.36. Statistička značajnost razlike (t- test) između prosječnog sadržaja pepela u vakuumiranim dimljenim filetima kontrolne i ogledne grupe šarana (%).

Grupa	\bar{X}	Mjere varijacije				
		Sd	Se	X max	X min	Cv%
Kontrolna	3,66 ^x	0,21	0,10	4,42	3,08	5,73
Ogledna	4,42 ^y	0,18	0,09	4,96	3,51	4,07

Tabela 5.37. Statistička značajnost razlike (t- test) između prosječnog sadržaja soli u vakuumiranim dimljenim filetima kontrolne i ogledne grupe šarana (%).

Grupa	\bar{X}	Mjere varijacije				
		Sd	Se	X _{max}	X _{min}	Cv%
Kontrolna	2,56 ^x	0,21	0,11	3,16	2,04	8,20
Ogledna	3,31 ^y	0,24	0,10	3,84	2,96	7,25

5.3. Sadržaj soli u vodenoj fazi, a_w vrijednost, pH i sadržaj etanola kontrolne i ogledne grupe proizvoda

5.3.1. Sadržaj soli u vodenoj fazi

Sadržaj soli u vodenoj fazi kontrolne grupe $3,34 \pm 0,22$ bio je statistički značajno niži ($p < 0,01$) od sadržaja vode kontrolne grupe $4,41 \pm 0,34$ (tabela 5.38.)

Tabela 5.37. Statistička značajnost razlike (t- test) između prosječnog sadržaja soli u vodenoj fazi vakuumiranih dimljenih fileta kontrolne i ogledne grupe šarana (%).

Grupa	\bar{X}	Mjere varijacije				
		Sd	Se	X_{\max}	X_{\min}	Cv%
Kontrolna	$3,34^x$	0,22	0,09	3,84	2,96	6,59
Ogledna	$4,21^y$	0,34	0,15	4,86	3,92	8,08

a_w vrijednost

Izračunata a_w vrijednost u kontrolnoj grupi proizvoda iznosila je $1,43 \pm 0,33$, a utvrđena a_w vrijednost ogledne grupe bila je niža i iznosila je $0,89 \pm 0,16$ (tabela 5.37)

Tabela 5.37. a_w vrijednost kontrolne i ogledne grupe proizvoda

grupa	a_w vrijednost
Kontrolna	$1.43^a \pm 0.33$
Ogledna	$0.89^b \pm 0.16$

5.3.3. Rezultati ispitivanja pH

Prosječan pH, kontrolne grupe proizvoda nultog dana iznosio je $6,18 \pm 0,04\%$ i bio je statistički značajno viši ($p < 0,01$) od prosječne pH vrijednosti proizvoda nakon tri nedjelje skladištenja pri 4°C (tabela 5.38). Prosječna pH vrijednost ogledne grupe proizvoda nultog dana skladištenja bio je $6,02 \pm 0,06$ i nije se statistički značajno razlikovala od prosječne vrijednosti nakon tri nedjelje skladištenja $6,05 \pm 0,04$ (tabela 5.39).

Tabela 5.38. Statistička značajnost razlike (t- test) između prosječne pH vrijednosti vakuumiranih dimljenih fileta kontrolne grupe šarana kod skladištenja nultog i dvadeset prvog dana, pri 4°C (%).

Dani skladištenja	\bar{X}	Mjere varijacije				
		Sd	Se	X_{\max}	X_{\min}	Cv%
0	6,18 ^a	0,04	0,02	6,41	5,92	0,63
21	5,95 ^b	0,04	0,02	6,21	5,08	0,67

Tabela 5.39. Statistička značajnost razlike (t- test) između prosječne pH vrijednosti vakuumiranih dimljenih fileta ogledne grupe šarana kod skladištenja nultog i dvadeset prvog dana, pri 4°C (%).

Dani skladištenja	\bar{X}	Mjere varijacije				
		Sd	Se	X_{\max}	X_{\min}	Cv%
0	6,02	0,06	0,03	6,58	6,24	1,50
21	6,05	0,04	0,02	6,60	6,30	0,66

Prosječan pH, ogledne grupe proizvoda dvadeset prvog dana pri 8°C iznosio je 5,90±0,04% i bio je statistički značajno niži ($p < 0,001$) od prosječne pH vrijednosti proizvoda nultog dana skladištenja 6,18±0,04% (tabela 5.40). Prosječna pH vrijednost ogledne grupe proizvoda nultog dana skladištenja iznosila je 6,02±0,06 i statistički se značajno razlikovala ($p < 0,001$) od prosječne vrijednosti nakon tri nedjelje skladištenja 5,86 ±0,04% (tabela 5.41). Između prosječnih pH vrijednosti u proizvodima kontrolne i ogledne grupe skladištenih pri dvije temperature nisu utvrđene statistički značajne razlike ($p > 0,05$) (tabela 5.42.)

Tabela 5.40. Statistička značajnost razlike (t- test) između prosječne pH vrijednosti vakuumiranih dimljenih fileta kontrolne grupe šarana kod skladištenja nultog i dvadeset prvog dana, pri 8°C (%).

Dani skladištenja	\bar{X}	Mjere varijacije				
		Sd	Se	X_{\max}	X_{\min}	Cv%
0	6,18 ^x	0,04	0,02	6,41	5,92	0,63
21	5,40 ^y	0,04	0,02	6,66	5,72	0,68

Tabela 5.41. Statistička značajnost razlike (t- test) između prosječne pH vrijednosti vakuumiranih dimljenih fileta ogledne grupe šarana kod skladištenja nultog i dvadeset prvog dana, pri 8°C (%).

Dani skladištenja	\bar{X}	Mjere varijacije				
		Sd	Se	X_{\max}	X_{\min}	Cv%
0	6,02 ^x	0,06	0,02	6,58	6,24	1,00
21	5,86 ^y	0,04	0,02	6,41	5,62	0,68

Tabela 5.42. Statistička značajnost razlike (t- test) između prosječne pH vrijednosti vakuumiranih dimljenih fileta kontrolne i ogledne grupe šarana kod skladištenja nultog i dvadeset prvog dana, pri dvije temperature (%).

Grupa	t°C	dani skladištenja	
		0	21
kontrolna	4	6,18 ^a	5,95 ^{nz}
ogledna		6,02 ^b	6,05 ^{nz}
kontrolna	8	6,18 ^a	5,90 ^{nz}
ogledna		6,02 ^b	5,86 ^{nz}

Rezultati ispitivanja sadržaja etanola

Rezultati ispitivanja sadržaja etanola kontrolne i ogledne grupe šarana prikazan je u Tabeli 5.43. Prosječan sadržaj etanola u proizvodima kontrolne grupe, skladištenih pri 4°C nultog dana iznosio je 4,42 ppm, sedmog dana skladištenja 5,38 ppm, sadržaj etanola se i dalje povećavao pa je četrnaestog dana iznosio 7,01ppm, a dvadeset prvog dana 8,28 ppm. Sadržaj etanola ogledne grupe nultog dana skladištenja pri istoj temperaturi iznosio je 5,02 ppm, sedmog dana skladištenja 6,12 ppm. Sadržaj etanola se i dalje povećavao tako je četrnaestog dana skladištenja isnosio 8,04 ppm, dok se dvadeset prvog dana skladištenja sadržaj etanola smanjio i iznosio je 8,02 ppm. Prosječan sadržaj etanola u proizvodima kontrolne grupe skladištenih pri 8°C iznosio je 4,42 ppm, sedmog dana skladištenja 6,60 ppm, četrnaestog dana 8,80 ppm, a dvadeset prvog dana skladištenja 8,25 ppm. Sadržaj etanola ogledne grupe nultog dana iznosio je 5,05 ppm, sedmog dana 7,11 ppm, da bi četrnaestog dana iznosio 8,26 ppm i nastavio rasti do 8,40 ppm dvadeset prvog dana skladištenja.

Tabela 5.43. Sadržaj etanola u proizvodima kontrolne i ogledne grupe šarana skladištenih tri nedjelje na dvije temperatura (ppm)

Grupa	t°C	dani skladištenja			
		0	7	14	21
kontrolna	4	4,42	5,38	7,01	8,28
ogledna		5,02	6,12	8,04	8,02
kontrolna	8	4,42	6,06	8,20	8,25
ogledna		5,05	7,11	8,26	8,90

5.4. Senzorne analize

5.4.1. Senzorna ocjena ukupne prihvatljivosti ogledne i kontrolne grupe proizvoda

Rezultati ispitivanja senzorne ocjene ukupne prihvatljivosti kontrolne i ogledne grupe gotovih proizvoda skladištenih na 4°C prikazani su u tabelama 5.44. i tabelama 5.45.

Poređenjem prosječnih ocijena za ukupnu prihvatljivost kontrolne grupe navedenog proizvoda utvrdili smo da je između nultog dana skladištenja $4,63 \pm 0,23$ % i dvadeset prvog dana $4,06 \pm 0,18$ % postoji statistički značajna razlika na nivou $p < 0,001$. Statistički značajne razlike nismo utvrdili među proizvodima kontrolne grupe skladištenih sedmog i četrnaestog dana.

Tabela. 5.44. Ocjena ukupne prihvatljivosti kontrolne grupe skladištene pri +4°C

Dani skladištenja	\bar{X}	Mjere varijacije				
		Sd	Se	X_{\max}	X_{\min}	Cv%
1	4,63 ^a	0,23	0,08	5,00	4,00	5,00
7	4,44 ^a	0,18	0,6	4,50	4,00	3,98
14	4,50 ^a	0,27	0,09	5,00	4,00	5,94
21	4,06 ^b	0,18	0,06	4,50	4,00	6,00

Prosječna ocjena ukupne prihvatljivosti ogledne grupe skladištenih pri 4°C pokazuje da između prvog dana skladištenja $4,58 \pm 0,17\%$ i dvadeset prvog dana skladištenja $4,00 \pm 0,38$ postoji statistički značajna razlika ($p < 0,001$), dok statistički značajne razlike nisu utvrđene između proizvoda skladištenih sedmog i četrnaestog dana.

Tabela. 5.45. Ocjena ukupne prihvatljivosti ogledne grupe skladištene pri 4°C

Dani skladištenja	\bar{X}	Mjere varijacije				
		Sd	Se	X_{\max}	X_{\min}	Cv%
1	4,56 ^a	0,17	0,08	5,00	4,00	3,71
7	4,62 ^a	0,21	0,09	4,50	4,00	4,54
14	4,46 ^a	0,18	0,08	4,50	3,50	4,03
21	4,00 ^b	0,38	0,13	4,50	3,50	9,45

Prosječne ocjene ukupne prihvatljivosti kontrolne i ogledne grupe proizvoda skladištenih na 8°C prikazane su u tabeli 5.46, tabeli 5.47.

Prosječna ocjena ukupne prihvatljivosti kontrolne grupe skladištene na 8°C, međusobno su se statistički značajno razlikovale na različitim nivoima . Prosječna ocjena prvog dana skladištenja $4,63 \pm 0,23$ nije se statistički značajno razlikovala ($p < 0,001$), od prosječne ocjene sedmog dana skladištenja $4,38 \pm 0,26\%$. Prosječna ocjena sedmog dana skladištenja statistički se značajno razlikovala ($p < 0,001$) od ocjene dobijene četrnaestog dana skladištenja $4,13 \pm 0,23\%$ i prosječne ocjene ukupne prihvatljivosti proizvoda skladištenog dvadeset jedan dan $3,69 \pm 0,37$

Tabela. 5.46. Ocjena ukupne prihvatljivosti kontrolne grupe skladištene na +8°C

Dani skladištenja	\bar{X}	Sd	Se	Mjere varijacije		
				X_{\max}	X_{\min}	Cv%
1	$4,63^a$	0,23	0,08	5,00	4,50	5,00
7	$4,38^a$	0,26	0,09	4,50	4,00	6,00
14	$4,13^a$	0,23	0,08	4,50	4,00	5,61
21	$3,69^b$	0,37	0,13	4,50	4,00	10,60

Statistički značajna razlika zabilježena je u proizvodima ogledne grupe skladištenim na 8°C. Prosječna ocjena prvog dana skladištenja $4,56 \pm 0,17\%$ statistički se značajno razlikovala ($p < 0,001$) od proizvoda skladištenih sedam $4,25 \pm 0,18\%$, četrnaest $4,06 \pm 0,27$ i dvadeset jedan $3,56 \pm 0,32$ dan.

Tabela. 5.46. Ocjena ukupne prihvatljivosti ogledne grupe skladištene na 8°C

Dani skladištenja	\bar{X}	Mjere varijacije				
		Sd	Se	X_{\max}	X_{\min}	Cv%
1	4,56 ^a	0,17	0,08	5,00	4,00	3,71
7	4,25 ^x	0,18	0,06	4,50	4,00	4,23
14	4,06 ^β	0,27	0,09	4,50	4,00	0,65
21	3,56 ^γ	0,32	0,11	4,00	3,00	8,99

6. DISKUSIJA

Bakterijski status ribe značajan je iz dva razloga, sa aspekta bakterijskog kvara, i prisustva patogenih vrsta koje mogu dovesti do alimentarnih trovanja čovjeka.

6.1. Mikrobiološki status ribe

Mikroflora živih riba odraz je mikroflorne sredine iz koje je riba izlovljena. Muskulatura i unutrašnji organi svježe i zdrave ribe su sterilni. Bakterije se mogu naći u škrgama i u alimentarnom traktu (Baross i Liston, 1970; Shewan, 1977). Ukupan broj bakterija na koži i škrgama riba koje žive u hladnim vodama ($<10-15^{\circ}\text{C}$) kreće se u granicama od (10^2-10^4 CFU/cm²), dok kod riba toplijih voda je od 10^3-10^6 CFU/cm². Ukupan broj bakterija u alimentarnom traktu zavisi od momenta hranjenja ribe i kreće se od 10^2-10^4 CFU/cm². Mikroflora kože ribe koja potiče iz hladnijih voda uglavnom je predstavljena Gram (-) bakterijama, dok je kod riba toplijih voda uglavnom zastupljena Gram (+) flora (Shewan, 1977). Mikrofloru riba hladnijih voda uglavnom čine: *Psychrobacter*, *Pseudomonas*, *Acinetobacter*, *Shewanella*, *Flavobacterium*. Kod slatkovodnih vrsta riba, mikroflora je uglavnom slična, s tim što su umjesto halotolerantnih vibrio vrsta, zastupljene aeromonas vrste (Karabasil i sar., 2005).

Zbog mogućnosti prisustva patogenih mikroorganizama na koži i digestivnom traktu ribe, bitno je da se riba od momenta izlova do njenog uključivanja u proces proizvodnje dopremi u što kraćem vremenskom periodu u adekvatnim uslovima, kako bi se umanjili uslovi za razmnožavanje mikroorganizama i kako bi se sačuvao kvalitet ribe, bilo da je namijenjena za prodaju ili preradu. Rezultati koje smo dobili u našem eksperimentu pokazuju da se broj bakterija na koži ribe nakon klanja, kretao od 10^3-10^4 CFU/cm² i podudarao bi se sa podacima Liston, 1980 u kojima iznosi da se broj bakterija kreće od 10^2-10^7 CFU/gr. Broj bakterija na koži nakon evisceracije bio je nešto viši, ali ne i statistički značajno viši od broja bakterija nakon klanja. Najveći broj mikroorganizama sa površine kože uklanja se pranjem ribe odmah nakon evisceracije uz stalan protok vode.

6.2. Promjene ukuopnog broja bakterija i enterobakterija na koži kontrolne i ogledne grupe pastrmki u toku proizvodnog procesa

Zamrzavanje je najčešći i najpraktičniji način čuvanja mesa ribe. Ovakav način konzerviranja najmanje utiče na osobine mesa ribe. Postupak zamrzavanja, a kasnije odmrzavanja ribe i uključivanja u proizvodni proces, utiče na to da se dobije gotov proizvod sa manjim brojem bakterija, u odnosu na ribu koja se odmah nakon primarne obrade, svježa uključuje u prosek proizvodnje. Razlog tome je što niske temperature koje se koriste pri zamrzavanju inhibišu rast mikroorganizama i djelimično ih uništavaju **Kolodziejska i sar. (2002)** ispitivali su mikrobiološki status gotovog proizvoda na kraju procesa proizvodnje i u toku skladištenja. Njihovi rezultati pokazuju da je zamrznuta riba, koja je korištena kao početna sirovina, na kraju procesa proizvodnje i u toku skladištenja imala manji ukupan broj bakterija na površini kože od svježe ribe koja je korištena kao početna sirovina u ovom eksperimentu. Rezultati naših ispitivanja pokazuju da je ukupan broj bakterija na koži ogledne grupe šarana bio niži ($3.47 \pm 0.13 \log \text{CFU/cm}^2$) u odnosu na ukupan broj bakterija na koži kontrolne grupe šarana ($3.72 \pm 0.26 \text{CFU/cm}^2$). Takođe, naši rezultati su pokazali da zamrzavanje i odmrzavanje mesa ribe, koje se koristi kao početna sirovina za preradu, nepovoljno utiče na razvoj i razmnožavanje enterobakterija. Ukupan broj enterobakterija na koži ogledne grupe šarana niži je ($2.85 \pm 0.47 \text{CFU/cm}^2$) od ukupnog broja enterobakterija kože kontrolne grupe ($3.37 \pm 0.34 \text{CFU/cm}^2$). Soljenje ili salamurenje je sljedeća faza u proizvodnom procesu dimljene ribe. Kako je izneseno u poglavlju Pregled literature so na više načina nepovoljno utiče na rast i razmnožavanje mikroorganizama čime doprinosi dužoj održivosti proizvoda. Kuhinjska so snižava aktivnost vode u mesu ribe (a_w vrijednost) smanjujući količinu vode dostupnu mikroorgsnizmima. Kada joni kuhinjske soli uđu u meso stvaraju veze sa proteinima i na taj naačin sprječavaju vezivanje bakterijskih enzima na ta mjesta. **Kolodziejska i sar. (2002)** utvrdili su u svojim istaživanjima da je najveće smanjenje ukupnog broja bakterija na koži nakon faze soljenja Naši rezultati ispitivanja dejstva soli na površini kože kontrolne i ogledne grupe šarana pokazuju da se broj bakterija redukovao statistički značajnom razlikom ($p < 0.01$) i da je iznosio kod kontrolne grupe $3.03 \pm 0.17 \log \text{CFU/cm}^2$ i ogledne grupe $2.86 \pm 0.17 \log \text{CFU/cm}^2$ u odnosu na ukupan broj bakterija prije soljenja 3.79 ± 0.26

log CFU/cm² odnosno 2.86±0.17 log CFU/cm².

Slični rezultati dobijeni su i za ukupan broj enterobakterija na koži, gdje je na koži kontrolne grupe nakon salamurenja utvrđeno 3.34±0.32 log CFU/cm² odnosno 2.69±0.27 log CFU/cm² na koži ogledne grupe, što je statistički značajno niže (p<0.001) od ukupnog broja enterobakterija na koži kontrolne 3.34±0.25 log CFU/cm² odnosno ogledne 2.69±0.27 log CFU/cm² grupe.

Ispitivanja Hansena i sar. (1995) pokazala su da održivost proizvoda zavisi od koncentracije salamure sa kojom se riba miješa. Naime, najveću održivosr imao je onaj vakuumirani dimljeni proizvod, koji je imao najveći sadržaj soli. Isti autori ispitivali su uticaj načina soljenja ribe na mikrofloru. U suvo soljenim vakuum pakovanim proizvodima dominirale su vibrio vrste, dok su u vlažno usoljenim proizvodima dominirale Laktobacillus vrste i Enterobacteriaceae. Rezultati ispitivanja koje smo mi sproveli, pokazuju da je ukupan broj bakterija na koži ogledne grupe šarana nakon soljenja 2.86±0.17 log CFU/cm² bio statistički značajno niži (p< 0.05) od ukupnog broja bakterija na koži kontrolne grupe šarana 3.03±0.17 log CFU/cm². Rezultati naših ispitivanja odnose se i na ukupan broj enterobakterija na koži ispitivanih uzoraka, gdje smo utvrdili da je ukupan broj enterobakterija na koži ogledne grupe šarana 2,69±0.32 log CFU /cm² statistički značajno niži (p<0,001) od ukupnog broja enterobakterija na koži kontrolne grupe šarana. **Deng (1977) i Cardinal (2001)** ispitivali su penetraciju soli u meso ribe. Rezultati njihovih ispitivanja pokazuju da so bolje prodire u meso ribe koja je prethodno bila zamrznuta, što je posljedica promjene strukture ćelije u toku zamrzavanja. Ta povećana difuzija soli u meso, omogućena promjenama nastalim zamrzavanjem, omogućava izraženiji efekat soli na rast i razmnožavanje bakterija, što i pokazuje utvrđen broj bakterija na koži kontrolne i ogledne grupe ribe u toku našeg eksperimenta.

Nakon odsoljavanja riba se suši (cijedi). Cilj ove faze proizvodnje je sušenje površinskih dijelova ribe. Na taj način sprječava se taloženje dima i pucanje kože. Ukoliko se riba izloži dimljenju bez prethodnog sušenja i formiranja kože, taj nedostatak kože može usloviti rast mikroorganizama. Naši rezultati pokazuju da se broj bakterija na površini kože kontrolne i ogledne grupe riba se smanjio nakon sušenja 2,62±0,17 log CFU/cm² odnosno 2,46±0,14 log CFU/cm². Takođe, broj enterobakterija na površini kože kontrolne i ogledne grupe se smanjio nakon sušenja 2,62±0,25 log CFU/cm² odnosno 2,64±0,45 log CFU/cm².

Dimljenje utiče povoljno na održivost mesa ribe zato što veliki broj komponenti dima, organske kiseline i alkoholi, aldehidi i ketoni, a naročito fenoli imaju bakteriostatsku i fungistatsku aktivnost. Antimikrobno dejstvo dima ograničava se samo na površinu proizvoda jer koncentracija antimikrobnih materija opada prema unutrašnjosti, a i vremenom sastojci dima isparavaju (**Baltić i sar.,2006b**). Zbog toga se smatra da dimljenje nije postupak kojim bi se pouzdano mogle inhibirati patogene bakterije. U svojim rezultatima **Kolodziejska i sar. (2002)** ukazuju na antimikrobno svojstvo komponentni dima, značajnim smanjenjem broja bakterija na koži ribe nakon dimljenja. Ukupan broj bakterija u našem eksperimentu sa kože dimljene ribe kontrolne i ogledne grupe iznosio je $1,78 \pm 0,12 \log \text{CFU/cm}^2$ odnosno $1,65 \pm 0,09 \log \text{CFU/cm}^2$. Ukupan broj bakterija na površini kože dimljene ribe je statistički značajno niži ($p < 0,05$) od ukupnog broja bakterija nakon sušenja. Ukupan broj enterobakterija u našem eksperimentu sa kože dimljene ribe kontrolne i ogledne grupe iznosio je $1,78 \pm 0,31 \log \text{CFU/cm}^2$ odnosno $2,12 \pm 0,38 \log \text{CFU/cm}^2$. Ukupan broj enterobakterija na površini kože dimljene ribe nije se statistički značajno razlikovao od ukupnog broja enterobakterija nakon sušenja.

Odmah po završetku procesa dimljenja, prije vakuumiranja, dimljene proizvode treba ohladiti na sobnu temperaturu i na niže temperature, jer izostanak hlađenja i pretjerano sporo hlađenje mogu stimulisati rast bakterija. Ukupan broj bakterija sa površine kože kontrolne i ogledne grupe šarana nakon hlađenja iznosio je $1,71 \pm 0,24 \log \text{CFU/cm}^2$ odnosno $1,53 \pm 0,40 \log \text{CFU/cm}^2$ i bio je statistički značajno niži ($p < 0,05$) od ukupnog broja bakterija nakon dimljenja. Ogledna grupa šarana imala je statistički značajno niži ($p < 0,05$) ukupan broj bakterija nakon hlađenja $1,53 \pm 0,40 \log \text{CFU/cm}^2$ nego što je imala kontrolna grupa $1,71 \pm 0,24 \log \text{CFU/cm}^2$.

Za ukupan broj enterobakterija sa kože kontrolne i ogledne grupe šarana poslije hlađenja nisu postojale statistički značajne razlike.

Može se smatrati da je razlog zbog kojeg je ukupan broj bakterija u oglednim grupama statistički značajno niži od ukupnog broja bakterija kontrolne grupe, promjene u mesu nastale kao posljedica zamrzavanja.

U mesu koje je prije procesa proizvodnje bilo zamrznuto izraženije je djelovanje soli i komponenti dima, a i meso je po ulasku u proces proizvodnje imalo manji broj bakterija na površini kože, do sličnih rezultata došla je i **Kilibarda (2006)**.

6.3. Promjena ukupnog broja bakterija, broja enterobakterija i broja laktobacila u vakuum pakovanih fileta kontrolne i ogledne grupe šarana skladištenih na dvije temperature

Održivost vakuumiranih dimljenih proizvoda zavisi, prije svega od inicijalne kontaminacije uslova proizvodnje, rukovanja sa proizvodom nakon proizvodnog procesa i temperature skladištenja. Zaustavljanje rasta bakterija zavisi od sadržaja soli u vodenoj fazi proizvoda, temperature, vlažnosti, gustine dima, trajanja dimljenja kao i koncentracije aktivnih materija u dimu.

Ispitivanje ukupnog broja bakterija u vakuum pakovanim filetima dimljene ribe ispitali su brojni autori (**Dondera i sar. 2004; Kolodziejska i sar.,2002**). Rezultati naših ispitivanja promjena ukunog broja bakterija u vakuum pakovanim filetima kontrolne grupe šarana u toku skladištenja od tri nedjelje, pri 4°C pokazuju da je ukupan broj bakterija u filetu kontrolne grupe šarana nultog dana iznosio $1.7 \pm 0,12 \log \text{ CFU/gr}$, sedmog dana skladištenja $1,59 \pm 0,24 \log \text{ CFU/gr}$, četrnaestog dana skladištenja $1,99 \pm 0,11 \log \text{ CFU/gr}$, a dvadeset prvog dana skladištenja $0,99 \pm 0,25 \log \text{ CFU/gr}$. Porast broja bakterija do četrnaestog dana, a zatim statistički značajno opadanje dvadeset prvog dana skladištenja u vakuum pakovanim filetima može se objasniti interakcijom između bakterijskih vrsta.

Kompeticija među različitim bakterijskim vrstama zbog nastalih uslova sredine, odnosno smanjenja i nedostataka trofičkih faktora neophodnih za rast i razmnožavanje bakterija.

Ukupan broj bakterija u vakuum pakovanim filetima kontrolne grupe šarana skladištenih pri 8°C nije se statistički značajno razlikovao nultog dana $1.7 \pm 0,12 \log \text{ CFU/gr}$ i sedmog dana skladištenja $1.76 \pm 0,12 \log \text{ CFU/gr}$. Statistički značajno niži ($p < 0.001$) ukupan broj bakterija bio je dvadeset prvog dana skladištenja $0,86 \pm 0,16 \log \text{ CFU/gr}$ od ukupnog broja.

bakterija proizvoda skladištenih četrnaest dana $2,2 \pm 0,07$ log CFU/gr.

U svojim ispitivanjima **Leroi i sar.(1998)** utvrdili su da je ukupan broj bakterija u filetima dimljene ribe nakon dvasdesetjednog dana skladištenja pri 8 °C dostizao je broj 10^8 CFU/gr.

Ukupan broj bakterija u vakuum pakovanim proizvodima od mesa ribe ponekad dostiže i do 10^7 - 10^8 log CFU/gr mesa. Francuska je jedna od rijetkih zemalja Evropske Unije u kojoj je zakonom propisana maksimalan ukupan broj bakterija u vakuum pakovanim dimljenim proizvodima od ribe i iznosi 10^6 cfu/gr (**Cardinal i sar., 2004**).

Prema podacima **Kilibarda, 2006** ukupan broj bakterija u vakuum pakovanim filetima dobijenih od prethodno zamrznute ribe rastao je do četrnaestog dana skladištenja pri 4 °C, da bi dvadeset prvog dana statistički značajno opao. Naši rezultati takođe pokazuju da je ukupni broj bakterija statistički značajno u porastu sa različitim nivoima statističke značajnosti do četrnaestog dana skladištenja. Dvadesetprvog dana bilježi se statistički značajan pad ukupnog broja bakterija u proizvodima.

Ukupan broj bakterija u vakuumiranim dimljenim proizvodima od ribe koji su u svom istraživanju utvrdili **Hansen i sar (1995)** dostizao je vrijednost od 10^8 CFU/gr 21 dana pri 5°C, ali su takođe utvrdili da taj broj bakterija ne mora obavezno i da dovede do kvara proizvoda.

Pri pakovanju svježeg mesa u vakuumu stvara se mikroaerofilna sredina, a djelimično se nakuplja ugljen dioksid, čime se inhibira rast aerobnih gram negativnih bakterija i postiže se bolja održivost mesa. Kvar vakuum pakovanog mesa za vrijeme skladištenja na temperaturama fružidera, izazivaju mikroaerofilne bakterije koje stvaraju mliječnu kiselinu, snižavajući pH sredine produkcijom bakteriocina ali i kompeticijom za nutrijente. Zbog toga, njihovo prisustvo u vakuumiranim proizvodima na neki način može doprinjeti i produžavanju održivosti vakuumiranih proizvod (**Gram et Dalgaard, 2002**).

Ispitivanjem bakterijskog sastava vakuumiranih dimljenih proizvoda od ribe Gozales i sar.(2002) su utvrdili da su ubjedljivo najzastupljeniju grupu mikroorganizama u svim proizvodima činile *Lactobacillus* vrste, a najčešće izolovane i identifikovane vrste su bile: *L.sakei*, *L.curvatus*, *L.homohiochii*, *L.plantarum*, *L.casei*, *L.alimentarius*.

Druga grupe mikroorganizama koji su izolovani iz dimljenih vakuumiranih proizvoda bile su Enterobacteriaceae i to vrste: *Proteus mirabilis*, *Proteus vulgaris* i *Serratia liquefaciens*. Treću grupu mikroorganizama koja je imala visoku incidencu nalaza u ovim proizvodima činile su mikrokoke, a među njima najzastupljenije su bile koagulaza –negativne stafilokoke. Ispitivanjem mikroflore u vakuumiranim hladno-dimljenim proizvodima, **Leroi i sar (1998)** su utvrdili da su prve nedjelje skladištenja dominantnu mikrofloru činile Gram (-) bakterije, nakon toga njihov broj je progresivno opadao i dominantni mikroorganizmi su postali Gram (+) mikroorganizmi i to prije svega laktobacili.

Rezultati naših ispitivanja pokazuju da nije bilo statistički značajne razlike u broju enterobakterija dimljenih fileta kontrolne grupe skladištenih pri 4°C nultog i sedmog dana skladištenja. Statistički značajna razlika ($p < 0,001$) zabilježena je između fileta skladištenih sedmog i četrnaestog dana, kao i između fileta skladištenih četrnaest i dvadeset jedan dan. Skladištenje proizvoda kontrolne grupe pri 8°C pokazalo je nešto drugačije rezultate. Statistički značajna razlika ($p < 0,001$) nije postojala između ukupnog broja enterobakterija proizvoda skladištenih nultog, sedmog i četrnaestog dana. Statistički značajno manji ($p < 0,001$) bio je ukupan broj enterobakterija dvadeset prvog dana skladištenja.

Skladištenjem ogledne grupe fileta dimljenog šarana pri 4 °C utvrđen je statistički značajno ($p < 0,001$) manji ukupan broj enterobakterija četrnaestog i dvadeset prvog dana skladištenja, dok između nultog i sedmog dana skladištenja nije bilo statistički značajne razlike. Skladištenjem ogledne grupe fileta dimljenog šarana pri 8 °C utvrđeno je da se ukupan broj enterobakterija statistički značajno smanjuje, sa različitim nivoima statističke značajnosti.

S obzirom da laktobacili predstavljaju dominantnu mikrofloru u hladno dimljenim vakuumiranim proizvodima od mesa ribe, naša ispitivanja odnosila su se i na određivanje njihovog ukupnog broja u tri nedjelje skladištenja obe grupe proizvoda na dvije temperature.

Rezultati ispitivanja pokazuju da je ukupan broj laktobacila u obe grupe proizvoda pri 4°C statistički značajno rastao ($p < 0,001$) do dvadeset prvog dana skladištenja.

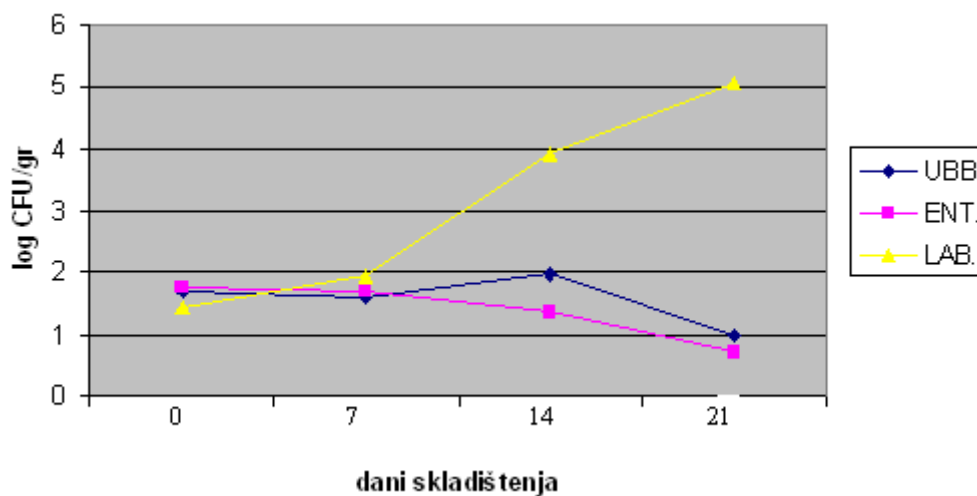
Brojni autori ispitivali su takođe ukupan broj laktobacilus vrsta u vakuumiranim hladno dimljenim proizvodima u toku tri nedjelje skladištenja (**Dondero i sar.2004; Leroi i sar.1998**). Međutim broj laktobacilus vrsta prema njihovim rezultatima kretao se u opsegu od 10^3 - 10^8 log CFU/gr nakon tri nedjelje skladištenja pri 4°C. Razlog ovako neujednačenih rezultata jeste upravo nepostojanje standarda za kvalitet dimljenih riba, kako u zemljama Evropske Unije tako i kod nas.

Kada je u pitanju ukupan broj laktobacilus vrsta u dimljenim proizvodima kontrolne grupe šarana skladištenih na 8°C povećavao se i dvadesetprvog dana iznosio je $5,46 \pm 0,22$ log CFU/gr i bio je statistički značajno veći ($p < 0,001$) od ukupnog broja laktobacilus vrsta proizvoda skladištenih nultog, sedmog i četrnaestog dana. Ukupan broj laktobacilus vrsta ogleadne grupe šarana skladištenih na 8°C dvadeset prvog dana skladištenja iznosio je $5,85 \pm 0,22$ log CFU/gr i bio je statistički značajno veći ($p < 0,001$) od ukupnog broja laktobacilus vrsta proizvoda skladištenih nultog, sedmog i četrnaestog dana. Statistički značajna razlika ($p < 0,01$) utvrđena je između ukupnog broja laktobacilus vrsta fileta kontrolne grupe skladištenih na dvije temperature četrnaestog dana skladištenja.

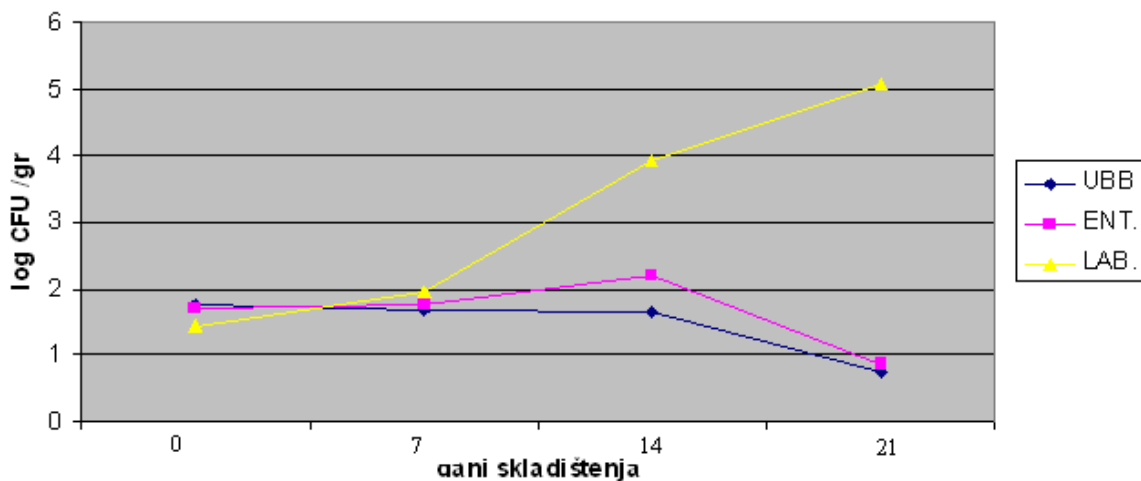
Statistički značajne razlike nisu utvrđene sedmog i dvadeset prvog dana skladištenja. Kada su u pitanju dimljeni fileti ogleadne grupe šarana skladišteni na dvije temperature statistički značajna razlika ($p < 0,001$) utvrđena je samo dvadeset prvog dana skladištenja. Sedmog i četrnaestog dana skladištenja nije bilo statistički značajne razlike u broju laktobacilus vrsta.

Naši rezultati pri tom dokazuju da uslovi čuvanja, i u ovom slučaju temperatura ima značajan uticaj na održivost vakuumiranih proizvoda od ribe.

Grafikon 6.1. Uporedni prikaz ukupnog broja bakterija, ukupnog broja enterobakterija i ukupnog broja laktobacila, u vakuum pakovanim filetima kontrolne grupe skladištenih tri nedjelje na 4°C



Grafikon 6.2. Uporedni prikaz ukupnog broja bakterija, ukupnog broja enterobakterija i ukupnog broja laktobacila, u vakuum pakovanim filetima kontrolne grupe skladištenih tri nedjelje na 8°C



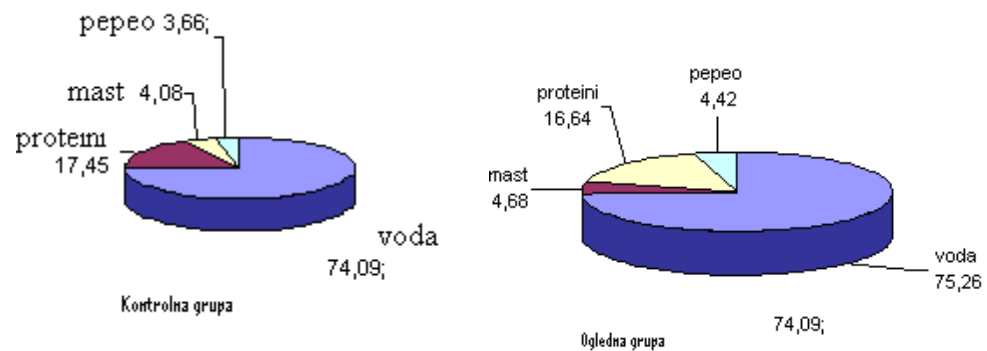
6.3. Osnovni hemijski sastav, sadržaj soli u vodenoj fazi, aw-vrijednost, pH i sadržaj etanola kontrolne i ogledne grupe proizvoda

Prosječan sadržaj vode kontrolne grupe iznosio je $74,09 \pm 2,52$ % i statistički se značajno razlikovao ($p < 0,05$) od prosječnog sadržaja vode ogledne grupe $75,26 \pm 2,84$ %. Prosječan sadržaj masti kontrolne grupe gotovog proizvoda bio je $4,80 \pm 0,90$ % i nije se statistički značajno razlikovao ($p < 0,05$) od prosječnog sadržaja masti gotovog proizvoda iz ogledne grupe šarana $4,08 \pm 0,90$ % i nije se statistički značajno razlikovao od prosječnog sadržaja masti gotovog proizvoda iz ogledne grupe šarana $4,68 \pm 1,20$ %. Prosječan sadržaj proteina u vakuumiranim filetima kontrolne grupe iznosio je $17,45 \pm 1,25$ % i statistički se značajno razlikovao ($p < 0,05$) od prosječnog sadržaja proteina u vakuumiranim filetima ogledne grupe šarana $16,64 \pm 1,42$. Prosječan sadržaj pepela u kontrolnoj grupi iznosio je $3,66 \pm 0,21$ % i statistički je značajno niži ($p < 0,01$) od prosječnog sadržaja pepela ogledne grupe $4,42 \pm 0,18$ % (grafikon 6.3). Prosječan sadržaj soli u kontrolnoj grupi bio je $2,56 \pm 0,21$ % i bio je statistički značajno niži ($p < 0,01$) od prosječnog sadržaja soli u oglednoj grupi $3,31 \pm 0,24$ % (grafikon 6.4). Slične rezultate o sadržaju soli u uzorcima od svježe i zamrznute sirovine dobili su u svojim istraživanjima **Sigurisladdottir i sar. (2000a) i Kilibarda (2006)**.

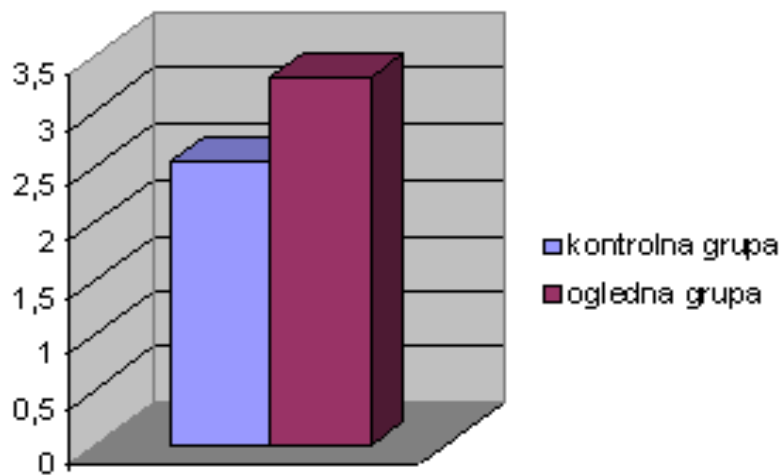
Više sadržaja soli u oglednoj grupi šarana objašnjava se, kao što je već istaknuto, boljom penetracijom soli u ćelije mesa, kod kojeg je prilikom zamrzavanja došlo do promjena u strukturi ćelije.

Ispitivanje **Hansen i sar. (1995)** pokazala su da povećanje sadržaja soli u vodenoj fazi povećava održivost gotovog vakuumiranog proizvoda. Sadržaj soli u vodenoj fazi kontrolne i ogledne grupe vakuumiranih proizvoda izračunat je na osnovu sadržaja soli i sadržaja vode u proizvodima. Naši rezultati pokazali su da je sadržaj soli u vodenoj fazi kontrolne grupe bio statistički značajno niži ($p < 0,01$) od sadržaja soli u vodenoj fazi ogledne grupe. Iz predstavljenih rezultata može se zaključiti da su hladno-dimljeni proizvodi dobijeni od prethodno zamrznute sirovine, s obzirom na viši sadržaj SVF održiviji, a samim tim i boljeg kvaliteta u odnosu na one dobijene od svježe sirovine.

Grafikon 6.3. Osnovni hemijski sastav dimljenog šarana kontrolne i ogledne grupe



Grafikon 6.4. Prosječan sadržaj soli dimljenog šarana kontrolne i ogledne grupe

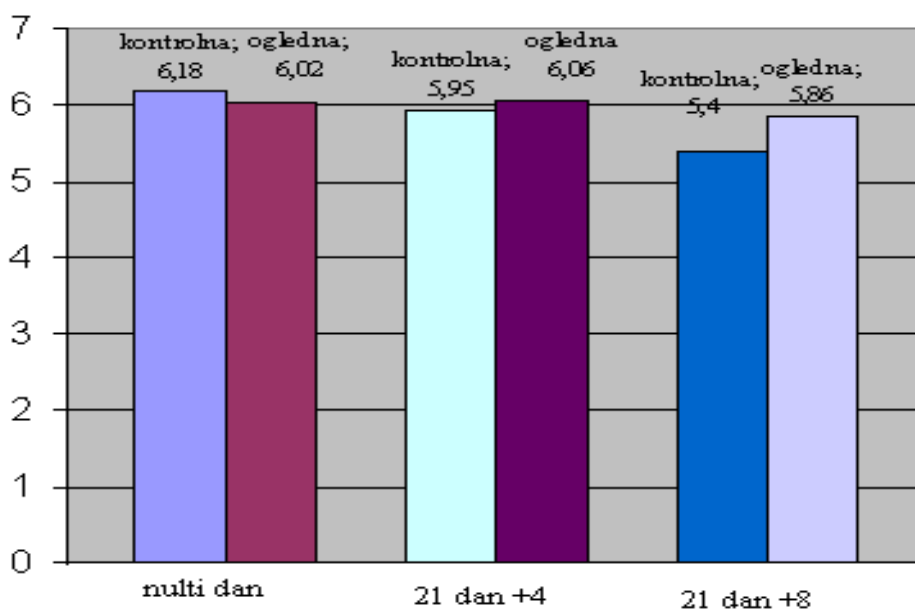


Na osnovu primjenjene formule izračunata a_w vrijednost u kontrolnoj grupi proizvoda iznosila je $1,43 \pm 0,33\%$ i bila je viša od vrijednosti ogledne grupe $0,89 \pm 0,16\%$. Niža a_w vrijednost ogledne grupe rezultat je višeg procenta soli u vodenoj fazi ove grupe proizvoda. Dobijena a_w vrijednost ogledne grupe niža je od 0,97 koja je prema **Kolodzijeska i sar., (2002)** granica za zaustavljanje rasta mikroorganizama.

Naši rezultati ispitivanja pH vrijednosti pokazuju da je pH vrijednost kontrolne grupe proizvoda nultog dana iznosila 6,18 i da je bio viši od prosječne pH vrijednosti 6,02 nultog dana skladištenja ogledne grupe. **Espe i sar., (2002)** dobili su slične podatke, odnosno da je pH proizvoda od prethodno zamrznute sirovine znatno niži od proizvoda dobijenog od svježe sirovine. Dobijeni rezultati mogu se objasniti izraženijim promjenama na proteinima mesa ribe u toku zamrzavanja **Sigurgisladottir i sar. (2000a)**.

Nakon tri nedjelje skladištenja, u proizvodima kontrolne grupe, čuvanih na 4°C , prosječan pH bio je 5,95, a u proizvodima čuvanih na 8°C 5,90 (grafikon 6.5.)

Grafikon. 6.5. Promjena pH dimljenog šarana od nultog do dvadeset prvog dana skladištenja



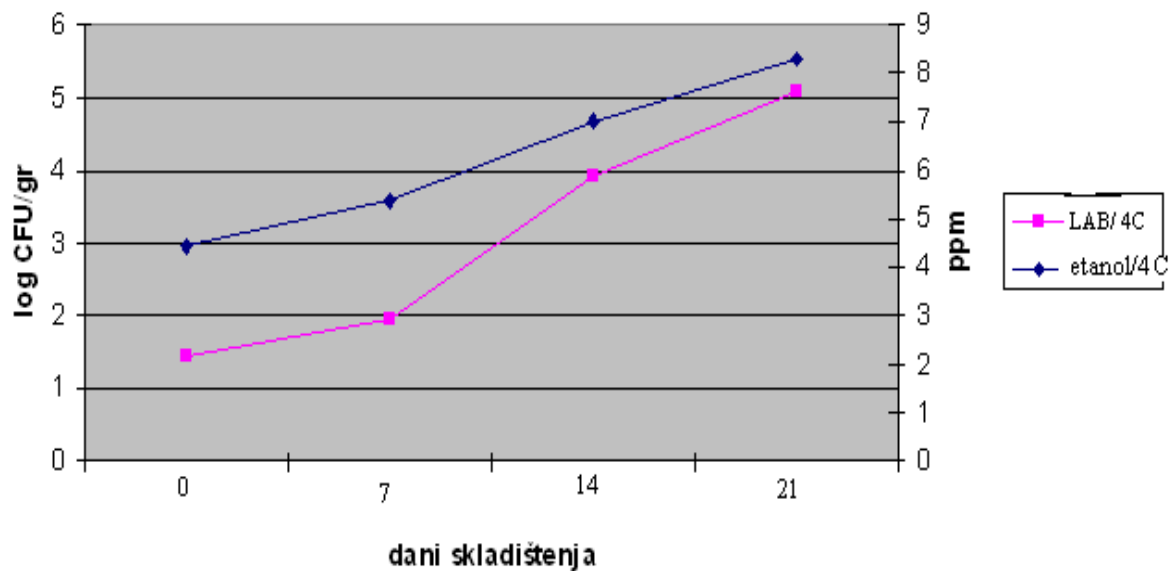
Niža pH vrijednost proizvoda skladištenih dvadeset jedan dan u odnosu na nulti dan može se objasniti porastom ukupnog broja laktobacila koji stvaraju mliječnu kiselinu. Stvaranje ovog metabolita ima za posljedicu smanjenje pH mesa. Autori Leroi i Joffraud (2000) ističu da se može značajno uticati na snižavanje pH mesa tokom skladištenja, što objašnjavaju time da se pojačava jonske veze unutar ćelije.

Etanol nastaje kao posljedica bakterijske razgradnje ugljenih hidrata u toku anaerobne fermentacije (glukolize) i/ili dezaminacijom i dekarboksilacijom amino kiselina kao što je alanin. (Huss,1995). Stoga je etanol, kao pokazatelj mikrobiološkog statusa namirnice, a samim tim i njegove održivosti i kvaliteta bio predmet našeg ispitivanja. Sve prosječne vrijednosti izračunate su na osnovu tri mjerenja. Poznato je da laktobacili razlažu etanol, a kako su oni najzastupljenija flora u vakuumiranim proizvodima, ukupnog broja laktobacila i sadržaja etanola u proizvodima obe grupe šarana dat je u grafikonima 6.6,6.7,6.8,6.9.

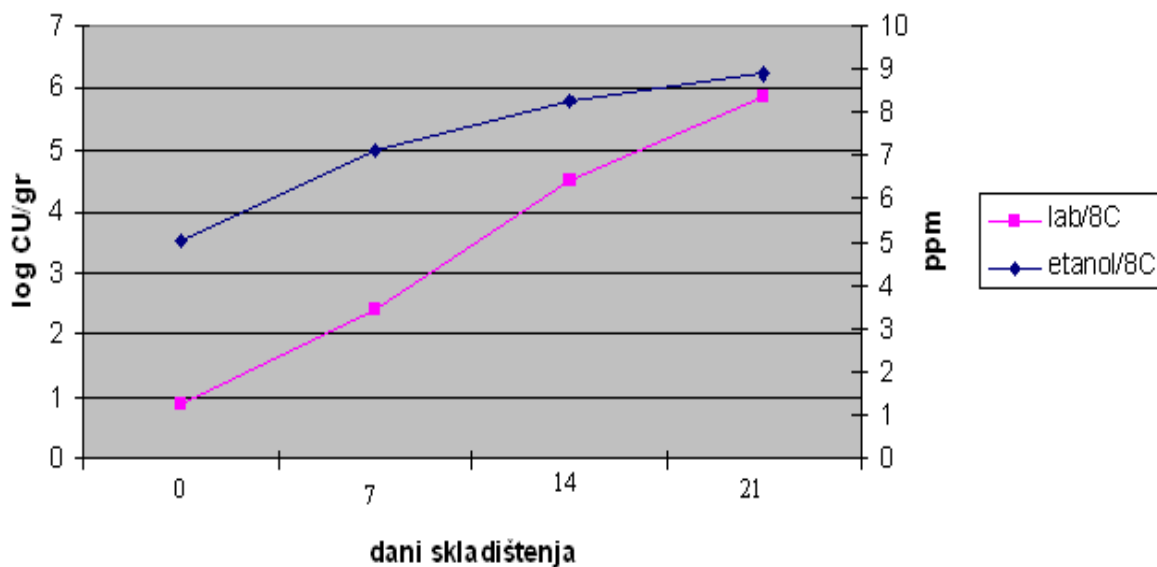
Prosječna vrijednost etanola u proizvodima kontrolne grupe, skladištenih pri 4°C nultog dana iznosio je 4,42 ppm, sedmog dana 5,38 ppm, četrnaestog dana 7,01 ppm sadržaj etanola se povećavao i dvadeset prvog dana je iznosio 8,28 ppm.

Prosječna vrijednost etanola u proizvodima ogledne grupe nultog dana skladištenih pri 8 °C nultog dana iznosila je 5,02 ppm, sedmog dana 6,12 ppm, četrnaestog dana 8,04 da bi dvadeset prvog dana vrijednost etanola opala na 8,02 ppm. U proizvodima kontrolne grupe, skladištenih pri 8°C prosječan sadržaj etanola iznosio je počevši od nultog dana skladištenja, 4,42 ppm, sedmog dana 6,06 ppm, četrnaestog 8,20 ppm, a dvadeset prvog dana 8,25 ppm. U proizvodima ogledne grupe, skladištenih pri 8 °C, prosječan sadržaj etanola iznosio je nultog dana skladištenja 5,05 ppm, sedmog dana 7,11 ppm, četrnaestog dana 8,26 ppm, a dvadeset prvog dana 8,90 ppm.

Grafikon 6.6. Uporedni prikaz ukupnog broja laktobacila i sadržaja etanola u uzorcima kontrolne grupe šarana skladištenih pri 4 °C

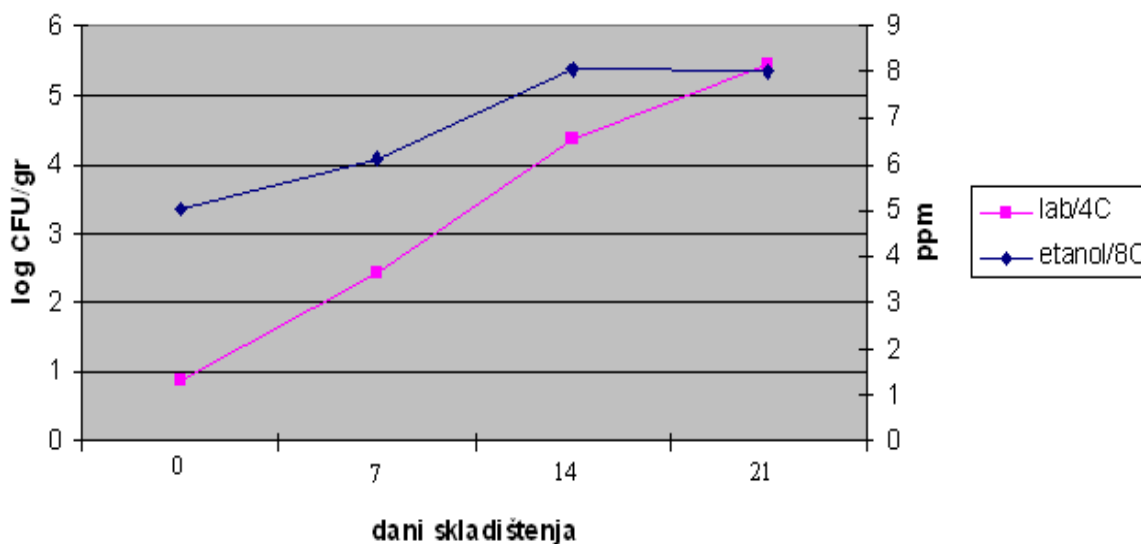


Grafikon 6.7. Uporedni prikaz ukupnog broja laktobacila i sadržaja etanola u uzorcima kontrolne grupe šarana skladištenih pri 8 °C

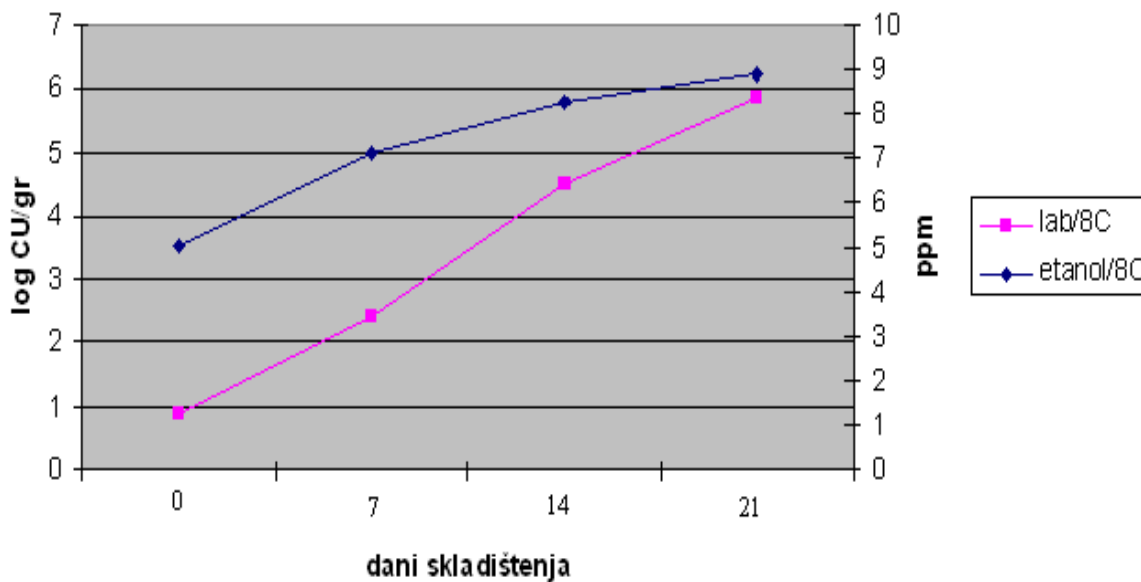


Iz grafikona 6.6. može se vidjeti da se količina etanola u proizvodima mijenjala u toku skladištenja slično promjenama ukupnog broja laktobacila. U grafikonu 6.7. dat je uporedni prikaz promjene ukupnog broja laktobacila i sadržaja etanola u uzorcima kontrolne grupe šarana pri 8 °C, i može se zaključiti da su laktobacili nastavili da rastu i poslije 14 dana skladištenja dok se sadržaj etanola smanjio, što bi se moglo objasniti time da su pri višoj temperaturi i procesi razgradnje supstrata iz kojeg nastaje etanol bili intenzivniji, pa su se samim tim i količine supstrata brže potrošile, zbog čega je i opadala količina etanola u proizvodima iako je ukupan broj laktobacila rastao.

Grafikon 6.8. Uporedni prikaz ukupnog broja laktobacila i sadržaja etanola u uzorcima ogleadne grupe šarana skladištenih pri +4 °C



Grafikon 6.9. Uporedni prikaz ukupnog broja laktobacila i sadržaja etanola u uzorcima ogledne grupe šarana skladištenih pri +8 °C



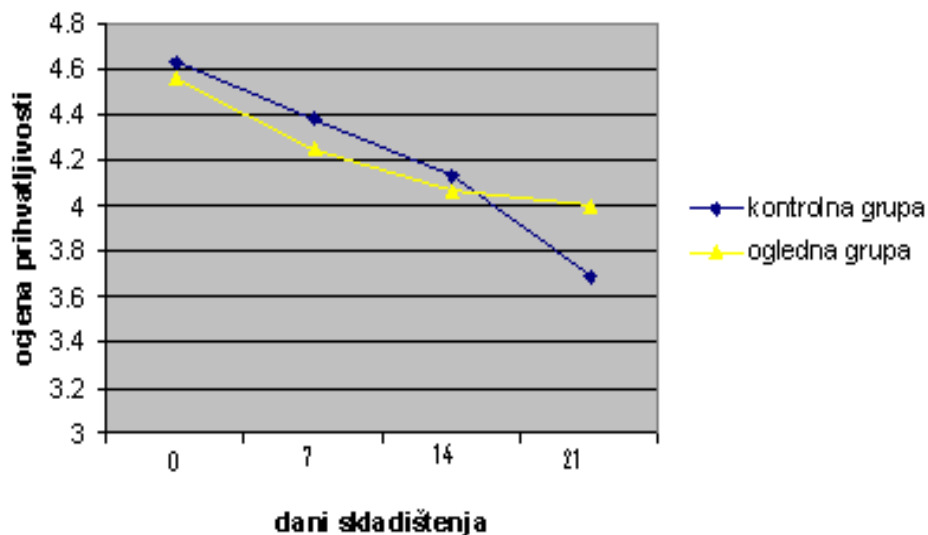
Iz grafikona 6.8. može se vidjeti da se količina etanola u proizvodima ogledne grupe šarana skladištenih na 4 °C mijenjala u toku skladištenja slično promjenama ukupnog broja laktobacila, što je utvrđeno i u uzorcima kontrolne grupe. U uzorcima ogledne grupe šarana, za razliku od uzoraka kontrolne grupe, utvrđene su nešto više vrijednosti etanola. U grafikonu 6.9.

6.4. Senzorna analiza

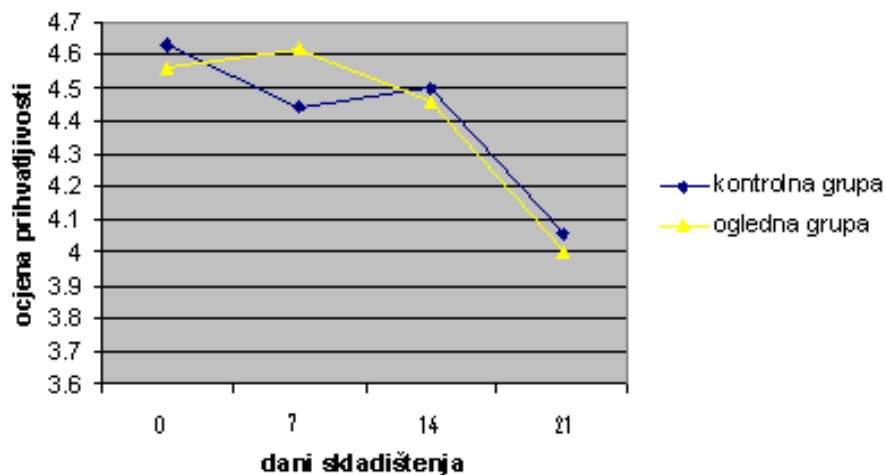
Prosječna ocjena ukupne prihvatljivosti kontrolne i ogledne grupe šarana, koje smo ocjenjivali opadale su tokom skladištenja, što su u svojim ispitivnjima utvrdili i **Goulas i sar.(2005)**. Prosječne vrijednosti parametara imale su višu tendenciju opadanja kod uzoraka skladištenih na višoj temperaturi, a i do istih rezultata došli su u svojim istraživanjima i **Kolodzjeska i sar; Kilibarda 2006**. Slične rezultate dobili su **Dondero i sar.(2004)**. Njihovi rezultati pokazuju da je kraća održivost, kao i manja ukupna prihvatljivost, onih proizvoda koji su skladišteni pri višim temperaturama. Prosječne ocjene ukupne

prihvatljivosti bile su više za dimljene vakuumirane proizvode za čiju se proizvodnju koristila svježa riba.

Grafikon 5.10. Promjena prosječnih ocijena prihvatljivosti kontrolne i ogledne grupe proizvoda skladištenih pri 4°C



Grafikon 5.11. Promjena prosječnih ocijena prihvatljivosti kontrolne i ogledne grupe proizvoda skladištenih pri 8°C



7. ZAKLJUČCI

Na osnovu izvršenih ispitivanja, zaključeno je da:

1. Kod obe grupe šarana (kontrolne i ogledne) ukupan broj bakterija kao i ukupan broj enterobakterija opada od faze evisceracije do odmrzavanja do faze hlađenja.
2. Ukupan broj bakterija i ukupan broj enterobakterija u uzorcima ogledne i kontrolne grupe ribe rastao je do 14.dana skladištenja, a zatim opadao do 21.dana.
3. Broj laktobaacila u uzorcima dimljenog šarana rastao je i kod uzoraka skladištenih pri +4 °C i pri +8 °C do 21.dana skladištenja.
4. Prosječan sadržaj etanola u uzorcima vakuumiranih dimljenih fileta proizvedenim od svježe,ribe skladištenih pri +4 °C i +8°C, povećavao se u toku prve dvije nedjelje skladištenja da bi 21. dana opao.
5. Ocjene ukupne prihvatljivosti vakuum pakovanih fileta proizvedenim od svježe, odnosno zamrznute ribe su se tokom tri nedjelje skladištenja smanjivale. Ocjene ukupne prihvatljivosti vakuum pakovanih dimljenih fileta proizvedenim od svježe, odnosno zamrznute ribe bile su niže za uzorke skladištene pri +8°C u odnosu na uzorke skladištene pri +4 °C.