

TEOFIL DABROWSKI, EDWARD KOLAKOVSKI,  
LEONID TOMASZEWICZ

Katedra Tehnologije prerade ribe Visoke poljoprivredne škole u Olsztynu.

## Ispitivanje iskorištavanja riboze kao indikatora za objektivnu ocjenu svježine slatkovodnih riba

### UVOD

Ocjena svježine ribe na osnovu kemijskih promjena, nastalih u ribljem mesu za vrijeme čuvanja je problem koji je relativno malo ispitan.

Uzrok tome je, bez sumnje, ogroman broj parametara, koji utječu na tok biokemijskih promjena u ribi u postmortalnom stanju, a također neke tehnološke pojave, koje stvaraju poteškoće u primjenjivanju kemijskih indikatora prilikom ocjene svježine ribe u proizvodnji.

U takve pojave ubrajaju se, između ostalog, oplakivanje anorganskih i organskih supstancija iz ribljeg tkiva vodom, koja je nastala otapanjem leda, u slučaju kada je riba konzervirana, i cijedenjem tkivnih sokova, tzv. »Drip«. (1—3, 5, 6, 14).

Blíže upoznavanje utjecaja tehnoloških prilika na kemijske promjene supstancije, koja može služiti kao indikator svježine i kvaliteta ribe, služi bržem širenju u proizvodnji mnogih vrijednih objektivnih metoda ocjene riblje sirovine, a također izboru takovih načina konzerviranja ribe, gdje će gubici, nastali prilikom tih procesa, biti relativno minimalni.

Cilj ovoga rada je ispitivanje upotrebe riboze za objektivnu ocjenu svježine slatkovodnih riba, kao i gubitaka pojedinih frakcija riboze i fosfora za vrijeme čuvanja ribe u ledu.

### POKUSNI DIO

#### a) Materijal za ispitivanje

Pokusi su pravljani na Abramis brama L. kao tipičnom predstavniku slatkovodnih riba, koji se susreću u trgovinama kao riba hladena u ledu. Stanje spolnih žljezda prema skali Mayera za ženke i mužjake III, srednja težina jednog primjerka 0,5 kg.

Ispitivanje je vršeno na ribama iz jezera Lejmany u olštinskom vojvodstvu. Poslije početne obrade sve su ribe podijeljene u sedam partija (5 partija riba s izvađenom utrobom i 2 partije s neizvađenom utrobom), koje su poslije smještaja u ledu skladištene na temperaturi 8—10 stepeni Celzija. de iz otapajućeg leda (kontrolna proba), upotre-

Jedna partija ribe s izvađenom i neizvađenom utrobom se je izolirala od direktnog djelovanja vodom specijalnih folijskih torbica u obliku rukava, koji su otvoreni na oba kraja. U svakoj su se torbici nalazile dvije ribe.

Za hlađenje ribe u toku prvog dana upotrebljavale su se sledeće količine leda:

— ribe su skladištene u direktnom kontaktu sa ledom: s izvađenom utrobom: 30, 60, 90 i 120 težinskih dijelova leda/100 težinskih dijelova ribe, a s neizvađenom utrobom: 90 težinskih dijelova leda/100 težinskih dijelova ribe.

— ribe su skladištene u folijskim torbicama (kontrolna proba) s izvađenom i neizvađenom utrobom: 90 težinskih dijelova leda/100 težinskih dijelova ribe.

Prilikom skladištenja ribe u ledu upotrebljavali su se trgovački sanduci D-40 (bakalar — 40 kg) od jelovog drva. U dnu svakog sanduka je probušeno nekoliko malih otvora, koji omogućavaju odstranjivanje vode koja se cjeđi iz ribe. Način stavljanja ribe u led je izvršen prema poljskoj normi (13), upotrebljavajući umjetni led od vode iz slavine. Na površini odgovarajuće usitnjenog leda, koji je sačinjavao oko jednu trećinu cijelokupnog leda određenog za jednu partiju ribe, slagana je riba leđima okrenutim prema gore, horizontalno s kratkom osi sanduka i poslije posipala ostatkom leda (2/3 količine).

Dodavanje leda na ribu vršeno je svakih 24 sata, uvijek u isto vrijeme dana. Led, koji je ostao na ribi iz prošlog dana, nadoknađivao se je svježim ledom i znajući količinu ribe, koja se je nalazila u sanduku (suma težine pojedinih primjeraka) izračunata je količina leda za pojedine partije.

Iz partije ribe s izvađenom i neizvađenom utrobom s odnosom leda i ribe = 90%, skladištenih u direktnom kontaktu sa ledom, vršeno je istovremeno sakupljanje vode koja, se je cijedila s ribe, (voda s otapajućeg leda sa svim anorganskim supstancijama, kao i organskim koje su nastale prilikom oplakivanja i cijedenja vode s ribe) u speci-

TABELA I.

VRSTA OBRADE RIBE	LIČIN SKLADIŠTENJE RIBE U LEĐU	KOLIČINA LEĐA KOJA SE UPOTREBLJAVAJE ZA HLAĐENJE RIBE U TOKU DANA, TEŽINSKI DIJELOVA RIBE	VRIJEME SKLADIŠTENJA RIBE U LEĐU (DANI)	VODA %	pH	OPĆI FOSFOR mg %	RIBOZA ESTRAHIRANA TRIKLOROCTENOY KISELINOM mg / 100 g "SIROVOG" MESA			ODNOS RIBOZE KOJA SE TALOŽI BARIJEM PŘEHA U KUPNOJ U %	KOLEBAKUE TEMPERATURE RIBE ZA HLAĐENJE SKLAĐENJE U LEĐU	KOLIČINA LEĐA KOJA JE OSKORUJANA RIBI U KRAJNJOJ FAZI DANA	
							UKUPNA	KOJA SE SLOBODNO TALOŽI	KOJA SE TALOŽI				
S IZVAĐENOM UTROBOM	RIBE SU SKLADIŠTENE U DIREKTNOM KONTAKTU S LEĐOM	POČETNA ANALIZA (ODMAH POSLIJE DEKAPITACIJE RIBE)	0,00	77,43	6,55	233,20	250,00	50,00	200,00	80,00	-	-	
			2	77,65	6,70	220,80	237,00	16,00	221,00	93,00	-	-	
			6	77,81	6,70	195,10	210,00	14,80	195,20	92,90	-	-	-
			10	77,34	6,75	188,00	198,00	12,20	185,80	93,80	-	-	-
			16	78,95	6,95	174,30	104,00	14,10	89,90	86,45	-	-	-
			21	78,93	6,65	168,40	155,00	18,00	137,00	89,30	-	-	-
			2	78,56	6,66	203,00	225,00	15,00	210,00	93,30	-	-	-
			6	78,49	6,85	186,30	221,00	11,00	210,00	96,00	-	-	-
			10	78,94	6,90	182,20	192,00	10,80	181,20	94,40	-	-	-
			16	78,92	6,70	163,30	135,00	14,10	120,90	90,00	-	-	-
			21	79,50	6,70	155,40	148,00	17,40	130,60	89,20	-	-	-
			2	77,88	6,60	217,50	250,00	20,00	230,00	92,00	-	-	10 - 12
			6	77,90	6,63	206,70	221,00	13,40	207,60	93,90	-	-	-
			10	78,08	6,80	188,40	211,00	12,80	198,20	93,90	-	-	-
			16	78,66	6,70	162,30	129,00	15,40	113,60	88,00	-	-	-
			21	79,50	6,68	137,30	149,00	16,40	132,60	88,90	-	-	-
			2	77,70	6,57	198,40	221,00	20,00	201,00	91,00	-	-	-
			6	78,39	6,70	191,60	214,00	10,80	203,20	95,00	-	-	-
			10	79,00	6,77	188,70	208,00	10,40	197,60	95,00	-	-	-
			16	78,48	6,75	167,20	171,00	13,90	157,10	91,80	-	-	60
			21	79,61	6,70	148,20	163,00	17,90	145,10	89,00	-	-	-
S NEIZVAĐENOM UTROBOM	RIBE SU SKLADIŠTENE U DIREKTNOM KONTAKTU S LEĐOM	KONTROLNA PROBA, RIBE SU SKLADIŠTENE U TORBICAMA	2	77,77	6,68	206,50	250,00	31,00	219,00	83,60	-	-	
			6	77,47	6,70	197,70	227,00	10,00	216,40	95,30	-	-	
			10	78,92	6,65	191,40	222,00	12,40	209,60	94,40	-	-	
			16	78,46	6,70	188,80	196,00	16,20	179,80	91,70	-	-	
			21	77,60	6,80	184,30	200,00	21,60	178,40	89,20	-	-	
			2	78,21	6,72	217,80	230,00	24,00	206,00	89,60	-	-	
			6	78,39	6,71	203,70	227,00	15,40	211,60	93,20	-	-	
			10	78,67	6,70	194,10	220,00	13,30	206,70	94,00	-	-	
			16	79,49	6,75	176,40	140,00	17,80	122,20	87,30	-	-	
			21	79,58	6,67	160,30	147,00	17,20	129,80	88,30	-	-	
			2	78,11	6,73	208,50	213,00	24,00	210,00	89,80	-	-	
			6	78,03	6,80	198,60	213,00	14,60	198,40	93,10	-	-	
10	78,07	6,83	192,80	206,00	12,40	193,60	94,00	-	-				
16	78,64	6,80	188,00	178,00	20,00	168,00	86,50	-	-				
21	78,72	6,78	183,00	191,00	17,40	173,60	90,80	-	-				

Promjena frakcija riboze otopljene u kiselinama, općem fosforu, vodi i pH u ribljem tkivu Abramis brama s izvađenom i neizvađenom utrobnom za vrijeme skladištenja ribe u ledu uz upotrebu raznih količina leda za hlađenje ribe u 1 danu.

jalne folijske vrećice, koje su bile obješene ispod sanduka.

Vrećice su se praznile jedan put na dan, u momentu kada je trebalo vršiti slijedeće stavljanje ribe u led, količina vode se je vagala i probni materijal se je sakupljao za ispitivanje.

Temperatura ribe se je kolebala u zavisnosti od partije ribe i određenog vremena u danu od 0° — 6° C. Za ispitivanje se je uzimalo 6 riba od svake partije metodom izvlačenja poslije slijedećih razdoblja skladištenja: 0, 2, 6, 10, 16, i 21 dana. Kod riba s izvađenom utrobom uzet je u obzir odnos mužjaka i ženke, koji je iznosio približno 2:3.

Analiza ocjeđenja vode sa riba je vršena svaki dan, odmah poslije uzimanja probnog materijala.

#### b) Način ispitivanja

Riblje tkivo iz lateralno-dorsalnog dijela fileta je mljeveno na mašini za mljevenje mesa, poslije je homogenizirano u vremenu od 30 sek. pri 5000 okretaja na minutu. U sirovini je određeno:

— opći fosfor kolorimetrijskom, Fiske - Subbarovom metodom (4), na Pulfrichovom fotometru upotrebom crvenog filtra s max. 726 milimikrona i kivete 2 cm.

— voda poslije sušenja probnog materijala na temperaturi 105° C.

— pH potencijometrijskom metodom s pH-metrom »Kovodružba — Praha«. Za određivanje riboze u ribljem mesu pripremljeni su ekstrakti trikloroacetne kiseline na slijedeći način: na 10,00 gr. ribljeg mesa davalo se je 30 ml. 10% CCl<sub>3</sub>COOH ohlađene ledom i u cijelini smrvljene u 8 cm porculanskom mužaru. Poslije 15 minuta gornji sloj tekućine se je filtrirao u 100 ml. odmjerne tikvici, a na ostatak koji je ostao u mužaru se je ponovno djelovalo s 25 ml. 10% CCl<sub>3</sub>COOH i usitnjavalo, a poslije 10 minuta kvantitativno se prenosilo na filter. Mužar se je nekoliko puta uzastopce oplakivao 1% CCl<sub>3</sub>COOH do momenta kada je mjerna tikvica bila napunjena do 100 ml. Ekstrakte se je do momenta uzimanja za analizu čuvalo na temperaturi 0° C; vrijeme čuvanja nikada nije prelazilo 30 minuta.

U tkivnim ekstraktima se je određivalo:

— potpuna riboza metodom Mejbauma (11) direktno iz ekstrakta trikloroacetne kiseline.

— riboza, koja se taloži barijem, poslije taloženja te frakcije s 20% barijevim acetatom u pH 8.2 prema metodi La Page (17), talog je centrifugiran na centrifugi s 5.000 okretaja na minutu i poslije otapanja u 0,1 n HCl određivana je kao potpuna riboza.

— slobodna riboza iz razlike, kada se oduzme riboza koja se taloži barijem od potpune riboze.

Iz ekstrakta vode, koja se cijedi iz ribe, određivala se je riboza na slijedeći način: u 30 gr. vode, koja se cijedila iz ribe, otapalo se je 3 gr. CCl<sub>3</sub>COOH u kristalnom stanju i poslije 5 minuta grijanja mješavine u vodenoj kupelji na temperaturi

od 60° C. sve se je u cijelini kvantitativno filtriralo u 50 ml. odmjerne tikvici. Kada smo odmjernu tikvicu dopunili do baždarenog ruba 10% CCl<sub>3</sub>COOH, određivali smo ribozu slično kao u tkivnim ekstraktima.

#### REZULTATI

U prvoj fazi su vršena ispitivanja gubitaka riboze otopljene u trikloroacetnoj kiselini i općeg fosfora mesnog tkiva Abramis brama za vrijeme skladištenja ribe u ledu. Opći fosfor je uzet u obzir kao pomoćni indikator gubitaka (2) iz razloga, jer je suprotno od riboze koja je bila određena iz tkivnog ekstrakta, sačinjavao potpuni fosfor, koji se je nalazio u tkivu.

#### I Gubici riboze i fosfora u tkivu ribljeg mesa za vrijeme skladištenja u ledu

Tabela I pokazuje promjene riboze ekstrakta trikloroacetne kiseline, potpunog fosfora, vode i pH u mesnom tkivu Abramis brama s izvađenom i neizvađenom utrobom, skladištenog u direktnom kontaktu sa ledom, kao i upotrebom folijskih torbica, u kojima se nalazi riba izolirana od oplakujućeg djelovanja vode iz otapajućeg leda. S vremenom skladištenja uočava se porast pH i količine vode u tkivu, kao i smanjenje fosfora i riboze.

Gubitke riboze i fosfora, koji se računaju na suhu masu tkiva poslije 16 dana skladištenja, pokazuje druga tabela.

To vrijeme (16 dana) je uzeto iz razloga trajnosti ribe u tim uslovima, poslije čega ona skoro potpuno gubi vrijednost za ljudsku upotrebu u bilo kakvom obliku. Da bi se mogli što je moguće točnije uspoređivati gubici u različitim partijama upotrebljavaju se vrijednosti dobivene za kontrolne partije riba (vrijeme skladištenja »O«) i prve analize (vrijeme skladištenja dva dana). Riba, skladištena u direktnom kontaktu s ledom, pokazuje veće gubitke riboze i fosfora, nego skladištena u ledu u folijskim torbicama, pri čemu riba s neizvađenom utrobom pokazuje manje gubitke, nego riba s izvađenom utrobom, koja je skladištena u istim uslovima. Najveći gubitak riboze pokazuje riba s izvađenom utrobom, koja je skladištena direktno u ledu s 30 težinskih dijelova leda/100 težinskih dijelova ribe na dan, a najveće gubitke fosfora pokazuje riba s izvađenom utrobom, koja je skladištena direktno u ledu s 90% leda na dan (tabela II).

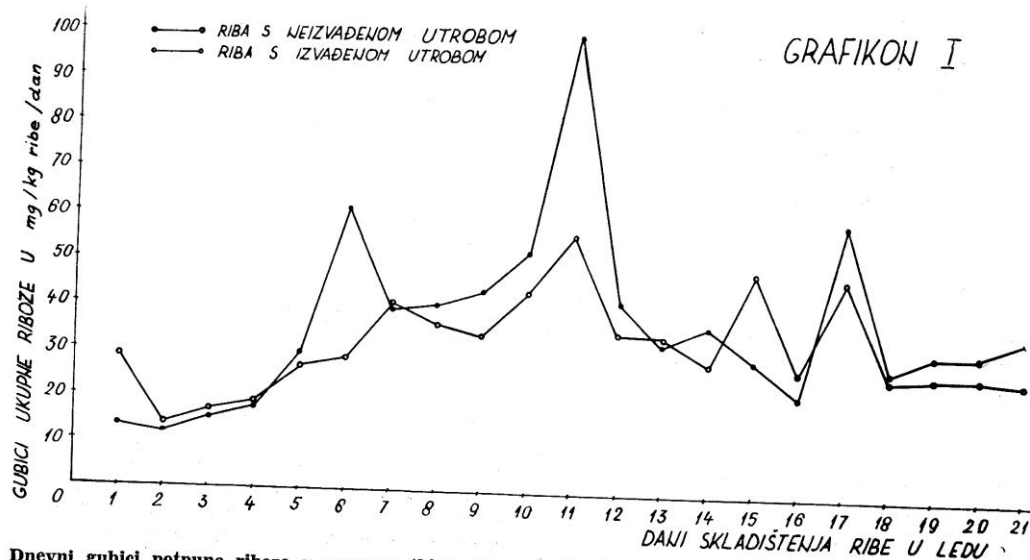
Ravnomjerno je vršeno upoređivanje dnevnih gubitaka riboze u ribama s izvađenom i neizvađenom utrobom, koje su skladištene u direktnom kontaktu s ledom na osnovu analize vode, koja se je cijedila iz ribe za vrijeme skladištenja. Ta se je voda sakupljala svakih 24 sata skladištenja ribe u ledu, vagala se je i od nje pripremljenih ekstrakata određivala se je potpuna riboza.

Dobiveni rezultati su preračunati na gubitke prema formuli:

TABELA II

SUPSTANCIJA	NAČIN IZRAČUNAVANJA GUBITAKA	GUBICI U SUHOJ MASI TKIVA POSLIJE 16 DANA SKLADIŠTENJA U %						
		RIBA JE SKLADIŠTENJA U DIREKTNOM KONTAKTU S LEDOM				RIBA JE SKLADIŠTENJA U FOLIJSKIM TORBICAMA		
		RIBA S IZVAĐENOM UTROBOM		RIBA S NEIZVAĐENOM UTROBOM		RIBA S IZVAĐENOM UTROBOM		RIBA S NEIZVAĐENOM UTROBOM
		KOLIČINA TEŽ DIJELOVA LEDA / 100 TEŽ DIJELOVA RIBE / DAN						
		50	60	90	120	90	30	90
UKUPNA RIBOZA	SADRŽAJ U ODNOSU NA POČETNU ANALIZU	55,37	42,14	45,39	30,02	38,36	17,80	24,63
	SADRŽAJ U ODNOSU NA ANALIZU POSLIJE 2 DANA SKLADIŠTENJA	53,41	38,97	46,51	21,83	38,05	19,09	22,04
UKUPNI FOSFOR	SADRŽAJ U ODNOSU NA POČETNU ANALIZU	19,83	26,36	26,25	25,14	17,17	15,54	15,18
	SADRŽAJ U ODNOSU NA ANALIZU POSLIJE 2 DANA SKLADIŠTENJA	16,18	18,18	22,15	12,67	10,99	5,64	7,59

Gubici riboze i fosfora u suhoj masi mesnog tkiva Abramis brama s izvađenom i neizvađenom utrobom poslije 16 dana skladištenja ribe u ledu, izraženi u odnosu na početnu analizu (vrijeme skladištenja »0«) kao i analizu poslije 2 dana skladištenja.



Dnevni gubici potpune riboze u mesnom tkivu Abramis brama s izvađenom i neizvađenom utrobom za vrijeme 3 sedmice skladištenja ribe u ledu s odnosom leda prema ribi: 90 težinskih dijelova leda/100 težinskih dijelova ribe/dan.

$$\text{Gubici u mg/kg ribe/dan} = \frac{\text{Sadržaj riboze u mg/kg} \times \text{kol. oced. vodesakup. u vr. 1 dana u kg}}{\text{količina ribe u kg koja se je nalazila u sanduku za vrijeme sakupljanja vode.}}$$

Na taj način je dobivena zavisnost između brzine gubitaka riboze u tkivu *Abramis brama* i stepena kvarenja ribe. Formiranje dnevnih gubitaka za vrijeme troseđmičnog skladištenja ribe u ledu ilustrira crtež.

Najveći gubitak riboze pokazuju ribe s izvađenom i neizvađenom utrobom između 6. i 12. dana skladištenja. To vrijeme dolazi u razdoblju prelazanja i nestajanja rigor mortis, kao i stadija autolize na početku, kada se pojavljuju gnjilno bakterijski procesi. Za jednu i drugu partiju ribe ti se gubici formiraju u osnovi slično. Treba ipak imati u vidu, da postoje izvjesne netačnosti, koje proizlaze iz izračunavanja riboze u vodi, koja se cijedi iz ribe, u odnosu na opću masu ribe, kada ta riboza potječe uglavnom iz mesnog tkiva.

#### II Ispitivanje iskorištavanja riboze za ocjenu svježine slatkovodnih riba

Rezultati za ribozu koja se taloži barijem u prvoj fazi ispitivanja su bili prilično niski. Već poslije 2 dnevnog skladištenja ribe u ledu odnos neistaložene riboze barijem prema potpunoj je iznosio prosječno za sve partije 90,7%. Odlučilo se je dakle provesti metodu određivanja riboze, koja se taloži barijem, upotrebljavajući prilikom talo-

ženja 20% otopinu barijevog acetata iz ekstrakta triklorooctene kiseline sa različitim vrijednostima pH. Dobivene rezultate pokazuje tabela III.

Uz pomoć dobivenih rezultata, dobiven je slijedeći konačni način postupanja: u posudicu koja služi za centrifugiranje, dodavalo se je 2,5 ml. ekstrakta triklorooctene kiseline i kada je pH dostigao vrijednost 8,3, uz pomoć 0,1 n NaOH, u prisustvu fenoltaleina, dodavalo se je 0,5 ml. 20% otopine (CH<sub>3</sub>COO<sub>2</sub>) Ba. Reakcija mješavine je dovedena ponovno na vrednost pH 10,2. Posudica sa sadržajem je ostavljena 30 minuta na temperaturi 0° C. Nastali talog se je centrifugirao 20 minuta na 5000 okretaja/minutu, tekućina poviše taloga se je odlijevala, a posudica centrifuge se je ostavljala dnom orenutim prema gore na budačicu. Na taj način osušeni talog otapao se je u 5 ml. o. 1 n HCl i kvantitativno stavljao u 50 ml. odmjernu tikvicu.

Za ispitivanje uzimalo se je u epruvetu iz odmjerne tikvice 5 ml. tekućine, dodavalo se je 5 ml. arcine (1 gr. arcine otopljene u 100 ml. 36% HCl sadržavao je 0,1% FeCl<sub>3</sub>) i sve se je držalo 15 minuta u kuhaćoj vodenoj kupelji, poslije čega se je epruveta hladila. Mjerenje ekstincije je vršeno na fotometru Pulfricha, upotrebljavajući filtar br. 7 (S 66) i kivetu od 2 cm. Rezultati su izračunati iz krivulje uzoraka, koja je bila pripremljena za koncentraciju od 0,0004 — 0,006 mg riboze/ml.

Ispitivanje iskorištavanja riboze za ocjenu svježine slatkovodnih riba su vršena na *Abramis brama* s neizvađenom utrobom, budući se ona, uglavnom, u takovom obliku susreće u trgovini.

TABELA III

KOLIČINA ml EKSTRAKTA (1), KOJA SE UZIMA U POSUDICU CENTRIFUGE	KOLIČINA ml 20% Ba/CH <sub>3</sub> COO <sub>2</sub> UPO TREBLJENA ZA VRIJEME TALOŽENJA	pH EKSTRAKTA PRIJE DODAVANJA BARIJEVA ACETATA	pH MJEŠAVINE POSLIJE STVARANJA TALOGA	RIBOZA, KOJA SE TALOŽI BARIJEM U %
5,0	0,2	8,3	7,9	30,8
5,0	0,5	8,3	7,6	36,4
5,0	1,0	8,3	7,1	43,2
5,0	1,5	8,3	6,6	20,1
2,5	0,5	9,0	8,3	38,4
2,5	0,5	9,8	9,1	51,6
2,5	0,5	10,2	9,5	83,6
2,5	0,5	8,3	9,5	83,6
2,5	0,5	8,3	10,2	98,4
2,5	0,5	8,3	10,8	98,3

(1) EKSTRAKT JE PRIPREMLJEN ISTO KAO ŠTO JE OPISANO U METODI ISPITIVANJA

Promjene sadržaja riboze koja se taloži barijem u tkivnim ekstraktima *Abramis brama* pripremljenim odmah poslije dekapitacije riba u zavisnosti od vrijednosti pH za vrijeme taloženja i količine upotrijebljene 20% otopine barijevog acetata.

TABELA IV

VRIJE- ME DJE- LA U LE- DU	KOLIČINA SAMIPLIENE OCJENE VODE	pH	MESNO TKIVO			CJEDLJIVA VODA	STEREN SVEŽI- ME RIBE	DISKRIMINIRANE ORGANOLEPTIČKE OCJENE RIBE																		
			RIBOZA KISELINE % SINDIPOG MRS.TRIVA	RIBOZA KISELINE % SINDIPOG MRS.TRIVA	RIBOZA KISELINE % SINDIPOG MRS.TRIVA			VANJSKI IZGLED		TJELESNA ŠUPLJINA		MESO														
								OKO	SARGE	IZGLED U AUTRAS- KOH OR- GANA	MIRIS	IZGLED	KONZIS- TENCJA	MIRIS												
0	35,08	20,36	0,682	6,45	79,81	265,0	78,00	892,0	-	-	ODMAR PO SLUJE DE- KAPITACIJE	OKO POPUT PROZIRNO STAKLA	SKVETLO CRIVENE	SKVETLO POPUT STAKLA	IZRAZITE KONTURE	RIBLJI	IZRAZITE KONTURE	RIBLJI	SKVETLO POPUT STAKLA	KOMPAKTNA MISICY ZGRČENI	RIBLJI					
2	38,06	24,65	0,769	6,60	80,15	232,0	46,60	186,4	28,30	16,00	7,30	POČETAK RIGOR - MORTIS	POPUT STAKLA	SVJETLO CRIVENE	SVJETLO PROZIRNO	IZRAZITE KONTURE	RIBLJI	IZRAZITE KONTURE	RIBLJI	SVJETLO POPUT STAKLA	KOMPAK- TNA	RIBLJI				
4	28,98	20,06	0,632	6,60	80,42	223,0	35,50	167,5	22,20	16,00	6,00	RIGOR - MORTIS	HALO TAMNA	HALO TAMNA	ISPUPČENO PROZIRNO	ISPUPČENO PROZIRNO	IZRAZITE KONTURE	RIBLJI	IZRAZITE KONTURE	RIBLJI	SKVETLO	KOMPAK- TNA	RIBLJI			
6	25,07	19,70	0,786	6,65	80,73	206,0	21,00	185,0	26,00	18,50	7,40	RIGOR - MORTIS U STADIJU PRELAZNE	HALO TAMNA MUTNOU SLUZI	HALO TAMNA MUTNOU SLUZI	ISPUPČENO PROZIRNO	ISPUPČENO PROZIRNO	IZRAZITE KONTURE	RIBLJI	IZRAZITE KONTURE	RIBLJI	SKVETLO	KOMPAK- TNA	RIBLJI			
10	28,13	17,67	0,739	6,70	80,87	196,0	18,00	178,0	30,00	20,00	10,00	KRALJICA PARA RIGOR - MORTIS	POKRIVENA MUTNO-SIVOM SLUZI	POKRIVENA MUTNO-SIVOM SLUZI	ISPUPČENO PROZIRNO	ISPUPČENO PROZIRNO	IZRAZITE KONTURE	RIBLJI	IZRAZITE KONTURE	RIBLJI	HALO TAMNA MUTNO-SIVOM SLUZI	HALO TAMNA MUTNO-SIVOM SLUZI	HALO TAMNA MUTNO-SIVOM SLUZI	IZRAZITE KONTURE	IZRAZITE KONTURE	RIBLJI, M* LO ZAUDA* RAJUĆI
12	19,77	17,98	0,910	6,75	80,89	186,0	13,00	173,0	41,30	19,00	29,30	RIBA SE KIVARI	POKRIVENA MUTNO-SIVOM SLUZI	POKRIVENA MUTNO-SIVOM SLUZI	ISPUPČENO PROZIRNO	ISPUPČENO PROZIRNO	IZRAZITE KONTURE	RIBLJI	IZRAZITE KONTURE	RIBLJI	HALO TAMNA MUTNO-SIVOM SLUZI	HALO TAMNA MUTNO-SIVOM SLUZI	HALO TAMNA MUTNO-SIVOM SLUZI	IZRAZITE KONTURE	IZRAZITE KONTURE	HALO ZA- UDA* RAJUĆI
14	16,21	15,05	0,928	6,78	81,01	180,5	12,80	167,7	38,70	18,00	24,70	RIBA SE KIVARI	POKRIVENA MUTNO-SIVOM SLUZI	POKRIVENA MUTNO-SIVOM SLUZI	ISPUPČENO PROZIRNO	ISPUPČENO PROZIRNO	IZRAZITE KONTURE	RIBLJI	IZRAZITE KONTURE	RIBLJI	HALO TAMNA MUTNO-SIVOM SLUZI	HALO TAMNA MUTNO-SIVOM SLUZI	HALO TAMNA MUTNO-SIVOM SLUZI	IZRAZITE KONTURE	IZRAZITE KONTURE	HALO ZA- UDA* RAJUĆI
16	13,08	10,55	0,807	6,80	81,05	176,0	18,00	168,0	35,50	18,00	16,70	HA GARAN- CI, KOMBENI	POKRIVENA MUTNO-SIVOM SLUZI	POKRIVENA MUTNO-SIVOM SLUZI	ISPUPČENO PROZIRNO	ISPUPČENO PROZIRNO	IZRAZITE KONTURE	RIBLJI	IZRAZITE KONTURE	RIBLJI	HALO TAMNA MUTNO-SIVOM SLUZI	HALO TAMNA MUTNO-SIVOM SLUZI	HALO TAMNA MUTNO-SIVOM SLUZI	IZRAZITE KONTURE	IZRAZITE KONTURE	JAKO OSLAB- JENA, RA- JUNA
21	10,23	8,46	0,886	6,75	81,38	100,5	35,00	66,50	39,30	16,00	17,30	RIBA PO- KIVARI	POKRIVENA MUTNO-SIVOM SLUZI	POKRIVENA MUTNO-SIVOM SLUZI	ISPUPČENO PROZIRNO	ISPUPČENO PROZIRNO	IZRAZITE KONTURE	RIBLJI	IZRAZITE KONTURE	RIBLJI	HALO TAMNA MUTNO-SIVOM SLUZI	HALO TAMNA MUTNO-SIVOM SLUZI	HALO TAMNA MUTNO-SIVOM SLUZI	IZRAZITE KONTURE	IZRAZITE KONTURE	HALO TAMNA MUTNO-SIVOM SLUZI

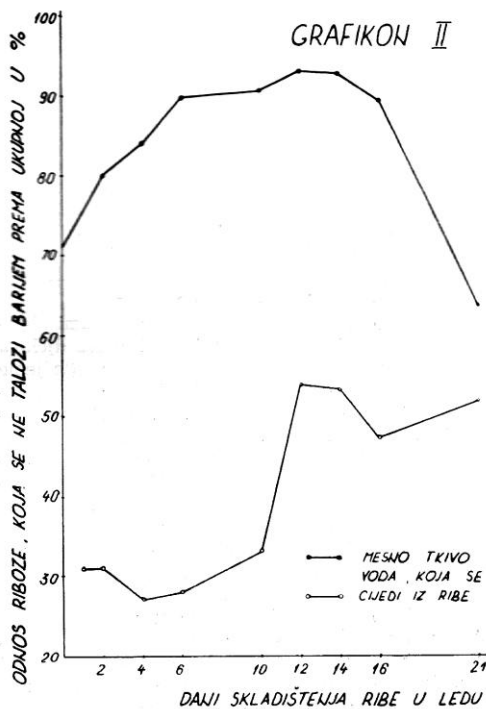
Zavisnost između promjena riboze u tkivnim ekstraktima Abramis brama s neizvađenom utrobom i ekstraktima koji se cijede iz ribe za vrijeme skladištenja u ledu (90 tež. dijelova leda/100 tež. dijelova ribe/dan) i organoleptičkih promjena ribe.

Promjene riboze u mesnom tkivu, kao i u vodi koja se cijedi iz *Abramis brama* s neizvađenom utrobom, u povezanosti s organoleptičkim promjenama ribe za vrijeme skladištenja u ledu, predstavlja tabela IV.

Najsvježije mesno tkivo *Abramis brama*, dobiveno odmah poslije dekapitacije ribe, sadrži u suhoj masi oko 1,26 % potpune riboze, koja se ekstrahira triklorooctenom kiselinom, kod čega preko 70% sačinjava riboza koja se nalazi u ribljem tkivu u nevezanom stanju, kao tzv. slobodna riboza. S vremenom skladištenja pojavljuje se nagli, naročito na početku, porast slobodne riboze, tako da poslije 6 dana skladištenja sačinjava 90% potpune riboze tkivnog ekstrakta. Sadržaj riboze, koja se taloži barijem u tkivu, dostiže svoj minimum između 14. i 16. dana skladištenja, a u toku daljnjeg skladištenja pojavljuje se njezin ponovni porast. Poslije 21. dana skladištenja nalazi je se u tkivu skoro toliko, koliko i poslije 4. dana.

Stalno sniženje riboze u tkivu za vrijeme skladištenja je popraćeno istovremenim porastom sadržaja pojedinih frakcija riboze u vodi koja se cijedi iz ribe. (tabela IV).

Formiranje odnosa riboze koja se ne taloži barijem prema potpunoj u ekstraktima mesnog tkiva



Promjene odnosa riboze koja se ne taloži barijem prema ukupnoj u ekstraktima mesnog tkiva *Abramis brama* s neizvađenom utrobom za vrijeme skladištenja ribe u ledu (90 težinskih dijelova leda/100 težinskih dijelova ribe/dan) kao i u ekstraktima vode koja se cijedi iz ribe.

i vode koja se cijedi za vrijeme skladištenja ribe u ledu predstavlja crtež 2.

Ekstrakti ocjednih voda u odnosu na tkivo sadrže daleko niži odnos riboze koja se ne taloži barijem prema potpunoj ribozi, što svjedoči o prelaznju znatnih količina ogranskih spojeva u vodu koja se cijedi iz ribe, koji sadrži ribozu u vezanom obliku. Može se općenito uzeti, da ekstrakti ocjedne vode s ribe, dobivene u prvih deset dana skladištenja u ledu, sadrže oko 33% riboze u slobodnom obliku i 67% riboze u vezanom obliku. Poslije 12 dana skladištenja, količina slobodne riboze u ekstraktima raste do oko 55% i na tom nivou ostaje do kraja razdoblja skladištenja (crtež 2.).

#### DISKUSIJA

Što se tiče iskorištavanja riboze za ocjenu svježine slatkovodnih riba, to se rezultati koje smo dobili u osnovi podudaraju s rezultatima koje je dobio Shewan i Jones (14) kao i Jones (7) za bakalar iz Sjevernog mora.

Riboza kao indikator može imati praktičnu upotrebu jedino na početku skladištenja, kada odnos riboze koja se ne taloži barijem prema potpunoj stvara izrazitu linearnu zavisnost s vremenom. Za *Abramis brama* s neizvađenom utrobom, koja se je skladištila u ledu s 90 težinskih dijelova leda (100 težinskih dijelova ribe) dan to vrijeme treba iznositi 6 dana (2. crtež).

Daljnje promjene odnosa slobodne riboze prema potpunoj, između 6. i 12. dana skladištenja, ne pokazuju već tako jasnu linearnu zavisnost s vremenom. U toku 6 dana koji pripadaju tom vremenu, odnos slobodne riboze prema potpunoj samo raste za 3,21%.

Poslije 12 dana skladištenja ribe u ledu pojavljuje se na početku polagani, a poslije nagli pad odnosa slobodne riboze prema potpunoj u tkivnim ekstraktima, tako, da poslije 21 dana skladištenja iznosi samo 64,67%. Zadržavanje toga odnosa u tom vremenu treba pripisivati nastajućim gnjilobakteriološkim procesima, koji dovode, između ostalog, do raspadanja ribonukleinske kiseline u tkivima, a također i do procesa oplakivanja i cijedenja (»Drip«) riboze iz tkiva.

Ribonukleinska kiselina, razložena na spojeve koji se daju ekstrahirati triklorooctenom kiselinom, povećava vrijednosti riboze koja se taloži barijem, dovodeći na taj način do snižavanja odnosa slobodne riboze prema potpunoj. Može biti, da na sniženje toga odnosa utječe u određenom stepenu i djelovanje bakterija, koje u svome tijelu pretvaraju slobodnu ribozu u vezanu. Taj posljednji proces izgleda da je malo vjerojatan.

U krajnjem vremenu skladištenja, i pored dodavanja kiselootapajuće riboze prilikom raspada ribonukleinske kiseline (RN), njezin sadržaj u tkivu opada prilikom cijedenja i oplakivanja uz pomoć vode iz otopljenog leda. Poslije 3 sedmice skladištenja ribe u ledu sačinjava ona samo 42,7% početne vrijednosti, računajući na suhu masu.

U trgovačkoj praksi se ipak ne susreće tako dugo vrijeme skladištenja ribe u ledu. Vrijeme od 16 dana skladištenja ribe, pri upotrebi 90% leda u odnosu na težinu ribe, treba primiti kao gornju

granicu upotrebe ribe za hranu. U stvarnosti, već poslije 14 dana skladištenja riba pokazuje izrazite karakteristike već malo pokvarene ribe i praktički nije dobra za ljudsku upotrebu. Njezino meso ima lagano zaudarajući miris s kiselim odlikom — koja kao da potječe od fermentacije mliječne kiseline. Čvrstina mesa je ozbiljno oslabljena (tabela IV). Poslije pritiska prstom u tkivo, nije se vraćalo u prvobitni položaj, ostavljajući izrazita trajna udubljenja.

Uzimajući dvije sedmice kao maksimalno vrijeme skladištenja Abramis brama u ledu, može se predstaviti pojednostavljenu zavisnost između promjena riboze u tkivu i organoleptičkim promjenama ribe.

#### Vrijeme skladištenja 0 — 6 dana

Vrijeme brzih promjena riboze, naročito odnos slobodne riboze prema potpunoj (70% — 90%); nedostaje izrazitih promjena u indikatorima organoleptičke ocjene, osim tkivnog tetanusa. Riba je potpuno svježa.

#### Vrijeme skladištenja 6 — 14 dana

Vrijeme polaganih promjena riboze u tkivu: stabilizacija odnosa riboze, koja se taloži barijem, prema potpunoj (90 — 93%); izrazitije promjene u indikatorima organoleptičke ocjene. Riba se je počela kvariti.

#### Vrijeme skladištenja preko 14 dana

Vrijeme ubrzanih promjena riboze u tkivu, brzi pad odnosa riboze koja se ne taloži barijem prema potpunoj. Riba je pokvarena i može se upotrebiti samo za riblje brašno.

Iz svega toga izlazi, da riboza kao indikator svježine slatkovodnih riba ispunjava najbolje svoj zadatak u prvim danima skladištenja (do 6 dana), kada organoleptička ocjena, zbog nedostatka ozbiljnijih organoleptičkih promjena u ribi ne odgovara u potpunosti traženim zahtjevima.

Treba ipak reći, da je iskorištavanje riboze kao indikatora za ocjenu svježine slatkovodnih riba u odnosu na ribe iz porodice bakalara (7, 14) znatno niže, i to iz razloga, što se u tkivu apsolutno svježeg Abramis brama nalazi velika količina slobodne riboze. To je najvjerojatnije u vezi s relativno aktivnim djelovanjem hidrolaza riboze na tkivne nukleotide (8, 12, 14) u razdoblju postmortem (15), što je glavni izvor slobodne riboze u ribljem tkivu (16), a također sa spontanom hidrolizom visokolabilnih riboznih spojeva za vrijeme ekstrakcije tkiva s trikloroocetnom kiselinom (10). To bi također potvrdilo već u prošlom radu uočen (1) brzi raspad ATP u mesnom tkivu Abramis brama, skladištenog u ledu.

Vrlo ozbiljnu smetnju pri upotrebi riboze za ocjenu svježine slatkovodnih riba skladištenih u ledu predstavlja oplakujuće djelovanje otopljene vode iz leda, kako na slobodnu, tako i na vezanu ribozu (IV tabela) i njezino spontano curenje iz tkiva.

U tom slučaju riboza se lakše gubi nego fosfor kod partije koje su slabije ohlađene ledom (30%

leda), a u vezi s tim se one brže kvare. Ti gubici su mnogo veći, nego u slučaju intenzivnijeg hlađenja ribe (120% leda).

Prilikom ocjene svježine slatkovodnih riba u ledu biti će jako važno normalizirati uslove hlađenja ribe u ledu, a naročito takove parametre, kao odnos leda i ribe, učestalost dodavanja leda, temperaturu okoline, itd.

Prilikom uzimanja ribe za ispitivanje treba prema mogućnosti voditi računa o sastavu partije, uzimajući u obzir veličinu ribe, kao i odnos spola. Ženke Abramis brama posjeduju dosta manje riboze koja se taloži barijem, nego mužjaci. Ekstrakt, iz mesnog tkiva Abramis brama odmah poslije dekapitacije, sadrži kod srdnja ženke 55,0 a kod mužjaka 91,3 mg riboze, koja se taloži barijem/100 gr. »sirovog« mesnog tkiva i potpune riboze 249 i 260 mg. Kada to izračunamo, dobivamo odnos riboze koja se taloži barijem prema potpunoj za ženke 22,1% a za mužjake 23,0%.

#### ZAKLJUČCI

1. Ribozna kao indikator kemijske ocjene svježine slatkovodnih riba je naročito prikladna za vrijeme kratkog razdoblja skladištenja ribe u ledu (0 — 6 dana), kada organoleptička ocjena zbog nedostaka osnovnih promjena u njezinim diskriminantama nije u potpunosti prikladna, dok naprotiv promjene riboze u tom razdoblju su najbrže.

2. U vezi s gubicima riboze u mesnom tkivu za vrijeme skladištenja ribe u ledu, uzrokovanim oplakivanjem vode iz rastopljenog leda i spontanom curenjem tkivnih sokova (»drip«) koja deformiraju pravu sliku promjena pojedinih frakcija riboze, najviše prikladan za kemijsku ocjenu svježine ribe je odnos: riboza koja se ne taloži barijem x 100/potpuna riboza. Za vrijeme skladištenja Abramis brama u ledu (90 tež. djelova leda/100 tež. djelova ribe/dan) taj odnos raste na 70 — 90%, stvarajući linearnu zavisnost s vremenom.

3. Poslije 3 sedmice skladištenja Abramis brama u ledu s 90 tež. djelova leda/100 tež. djelova ribe/dan u odnosu na početnu analizu (vrijeme skladištenja »O«) uočeni su slijedeći srednji gubici potpune riboze: riba s izvađenom utrobom — 45,19%, riba s neizvađenom utrobom — 38,36%.

Najosjetljivije na gubitak riboze u masnom tkivu su ribe, koje se nalaze u stadiju prelaženja rigor-mortis u početnom razdoblju nastajanja gnjilobakterijskih procesa, što u slučaju Abramis brama pri upotrebi gore navedenih uslova hlađenja u ledu dolazi u razdoblju između 9. i 13. dana skladištenja.

4. Veličina gubitaka riboze u mesnom tkivu Abramis brama, zavisi prije svega od brzine kvarenja ribe za vrijeme skladištenja, kao i o količini leda koja se upotrebljava prilikom hlađenja. Riba hlađena s relativno velikom količinom leda (120 tež. dijeova leda/100 tež. dijelova ribe/dan), a pri tome i bolje osigurane od kvarenja pokazuju manje gubitke riboze (30,02%), nego ribe ohlađene manjom količinom leda (30 tež. dijelova leda/100 tež. dijelova ribe/dan), ali se ove brže kvare. (55,37%).



5. Prilikom uzimanja ribe za ispitivanje treba uzeti u obzir reprezentaciju primjeraka pojedinog spola. U probnom materijalu mužjaci Abramis brama posjeduju oko 12,9% niži odnos riboze, koja se taloži barijem prema potpunoj, nego ženke.

Preveo: Perica Cetinić

#### LITERATURA:

1. Dabrowski T., Kolakowski E., Med. Weterynaryjne (rad u štampanju).
2. Dabrowski T., Kolakowski E., Roczniki PZH (rad u štampanju).
3. Dabrowski T., Kolakowski E., Stodolnik L., (rad npipreman za štampanje).
4. Fiske C. H., Subbarow Y., J. Biol. Chem., **66**, 375 (1925).
5. Jones N. R., Biochem. J., **58**, Xlvii (1954).
6. Jones N. R., J., Sci. Fd Agric., **6**, 3 (1955).
7. Jones N. R., J. Sci. Fd Agric., **9**, 672 (1958).
8. Jones N. R., Murraö J., Biochem. J., **66**, 5P (1956).
9. Jones N. R., Murray J., Sci. Fd Agric., **13**, 475 (1962).
10. Lassota Z., Acts Biochim. Polon., **2**, 233 (1955).
11. Mejbbaum W., Z. f. Physiol. Chem., **258**, 117 (1939).
12. Murray J., Jones N. R., Biochem. J., **68**, 9P (1958).
13. Polska Norma, PN — 55, A — 86761.
14. Shewan J. M., Jones N. R., J. Sci. Fd Agric., **8**, 491 (1957).
15. Tarr H. L. A., Biochem. J. **59**, 386 (1955).
16. Tomlinson N., Creelman V. M., J. Fisch. Res. Ed Canada, **17**, 603 (1960).
17. Umbreit W. W., Burris R. H., Stauffer J. F., Monometric Techniques and tissue metabolism, Minneapolis 1949.