

# Sastav masnih kiselina u IQF smrznutoj jadranskoj srdeli u ovisnosti o vremenu skladištenja, ulovljenoj u zimskom razdoblju

---

**Božin, Karla**

**Master's thesis / Diplomski rad**

**2023**

*Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj:* **University of Zadar / Sveučilište u Zadru**

*Permanent link / Trajna poveznica:* <https://um.nsk.hr/um:nbn:hr:162:895873>

*Rights / Prava:* [In copyright](#)/[Zaštićeno autorskim pravom.](#)

*Download date / Datum preuzimanja:* **2024-12-23**



**Sveučilište u Zadru**  
Universitas Studiorum  
Jadertina | 1396 | 2002 |

*Repository / Repozitorij:*

[University of Zadar Institutional Repository](#)



zir.nsk.hr



DIGITALNI AKADEMSKI ARHIVI I REPOZITORIJI

Sveučilište u Zadru

Odjel za ekologiju, agronomiju i akvakulturu  
Održivo upravljanje vodenim ekosustavima

**Karla Božin**

**Sastav masnih kiselina u IQF smrznutoj jadranskoj  
srdeli u ovisnosti o vremenu skladištenja, ulovljenoj  
u zimskom razdoblju**

**Diplomski rad**

Zadar, 2023.

Sveučilište u Zadru  
Odjel za ekologiju, agronomiju i akvakulturu  
Održivo upravljanje vodenim ekosustavima

Sastav masnih kiselina u IQF smrznutoj jadranskoj srdeli u ovisnosti o vremenu skladištenja,  
ulovljenoj u zimskom razdoblju

Diplomski rad

Student/ica:  
Karla Božin

Mentor/ica:  
prof.dr.sc. Bosiljka Mustać

Komentor/ica:  
Doc.dr.sc. Bruna Petani

Zadar, 2023.



## Izjava o akademskoj čestitosti

Ja, Karla Božin, ovime izjavljujem da je moj diplomski rad pod naslovom **Sastav masnih kiselina u IQF smrznutoj jadranskoj srdeli u ovisnosti o vremenu skladištenja, ulovljenoj u zimskom razdoblju** rezultat mojega vlastitog rada, da se temelji na mojim istraživanjima te da se oslanja na izvore i radove navedene u bilješkama i popisu literature. Ni jedan dio mojega rada nije napisan na nedopušten način, odnosno nije prepisan iz necitiranih radova i ne krši bilo čija autorska prava.

Izjavljujem da ni jedan dio ovoga rada nije iskorišten u kojem drugom radu pri bilo kojoj drugoj visokoškolskoj, znanstvenoj, obrazovnoj ili inoj ustanovi.

Sadržaj mojega rada u potpunosti odgovara sadržaju obranjenoga i nakon obrane uređenoga rada.

Zadar, 19. veljače 2023.

## Sadržaj

|   |    |
|---|----|
| 1. Uvod.....  | 1  |
| 2. Pregled literature .....   | 4  |
| 3. Ciljevi i svrha rada .....   | 10 |
| 4. Materijali i metode .....  | 11 |
| 4.1. Postupak uzorkovanja.....  | 11 |
| 4.2. Kemijska i mikrobiološka analiza .....   | 12 |
| 4.3. Statistička obrada podataka .....  | 13 |
| 4.4. Priprema uzoraka .....   | 14 |
| 5. Rezultati .....  | 16 |
| 5.1. Biometrijska analiza rezultata uzoraka srdele .....  | 16 |
| 5.2. Mikrobiološka analiza uzoraka srdele .....   | 18 |
| 5.3. Masno-kiselinski sastav svježe srdele za vrijeme skladištenja.....   | 20 |
| 5.4. Masno-kiselinski sastav smrznute srdele za vrijeme skladištenja .....  | 30 |
| 5.5. Statistička analiza skupina masnih kiselina kod svježih i IQF smrznutih srdela u odnosu na vrijeme skladištenja..... | 40 |
| 6. Rasprava.....  | 46 |
| 7. Zaključak.....   | 50 |
| 8. Literatura.....  | 51 |
| 9. Prilozi .....  | 58 |

## **Sastav masnih kiselina u IQF smrznutoj jadranskoj srdeli u ovisnosti o vremenu skladištenja, ulovljenoj u zimskom razdoblju**

Prvi spomen ribolova na srdele u Republici Hrvatskoj datira iz 13. stoljeća, a ubrzo se i spominje njihova prerada. Glavni cilj prerade svježe ribe je produživanje roka trajanja uz zadržavanje kvalitete. Snižavanjem temperature i zamrzavanjem ribe se stvaraju nepovoljni uvjeti za život i aktivnost mikroorganizama i enzima. Mikrobiološkim ispitivanjem uzoraka svježe i smrznute srdele utvrđeno je kako su svi uzorci bili higijenski ispravni te bakterijsko djelovanje nije moglo utjecati na daljnju analizu srdele. Srdela (*Sardina pilchardus*) je među najbrojnijim i gospodarski najvažnijim vrstama riba u preradi. Srdela korištena u ovom istraživanju ulovljena je u zimskom periodu s prosječnom ukupnom količinom masti  $1,46\% \pm 0,43\%$ . Za postizanje IQF (individually quick frozen) smrznute srdele, potrebno je postrojenje za duboko smrzavanje na temperaturi od  $-35^{\circ}\text{C}$  do  $-40^{\circ}\text{C}$  i trajanje smrzavanja od 35 minuta za riblje filete i 40 minuta za očišćenu ribu. Prilikom smrzavanja, ribu je potrebno pravilno smrznuti kako bi stanične membrane ostale neoštećene te zadržale stanične sokove, čime se ribi omogućava zadržavanje svog okusa, sočnosti i mekoće. U procesu je jako bitno zadržati što bolju kvalitetu, odnosno što manje promjena u sastavu masnih kiselina zbog njihovog značaja u ljudskoj prehrani te pozitivnom utjecaju na prevenciju raznih bolesti.

Cilj ovog rada bio je usporediti sastav masnih kiselina između uzoraka srdele koja je skladištena kao svježa ( $0-3^{\circ}\text{C}$ ) i IQF smrznute srdele. Svrha rada bila je kvalitativno vrednovati sastav masnih kiselina u IQF smrznutoj srdeli kako bi se utvrdilo je li takav način prerade poželjan za očuvanje kvalitete prehrambenih ribljih proizvoda. Istraživanjem masno-kiselinskog sastava kod svježe i IQF smrznute srdele zabilježeno je različito ponašanje skupina masnih kiselina. Kad svježe i IQF smrznute srdele je primijećen pad količine suhe tvari, te porast količine udjela vode. Tijekom petodnevnog skladištenja srdele na  $0-3^{\circ}\text{C}$  zabilježen je porast zasićenih i mononezasićenih masnih kiselina dok su polinezasićene i visoko nezasićene vremenom opadale. Međutim, kod IQF smrznute srdele je, tijekom 120 dana skladištenja na niskim temperaturama, zabilježen porast svih skupina masnih kiselina.

**Ključne riječi:** jadranska srdela, IQF, masne kiseline, prerada ribe, skladištenje ribe, ribarstvo, prehrambeni proizvod

## **The composition of fatty acids in IQF frozen Adriatic sardines (*Sardina pilchardus*) depending on storage time, caught in the winter season**

The first mention of sardine fishing in Croatia dates back to the 13th century, and their processing was soon mentioned as well. The main goal of fresh fish processing is to extend the shelf life while maintaining quality. By lowering the temperature and freezing the fish, unfavorable conditions are created for the life and activity of microorganisms and enzymes. During this research, microbiological testing of fresh and frozen sardine samples revealed that all samples were hygienically correct and that bacterial activity could not affect the further analysis of the sardine. Sardine (*Sardina pilchardus*) is among the economically most important fish in processing. Sardines that are used in this research were caught in the winter period with an average total fat content of  $1.46\% \pm 0.43\%$ . In order to achieve IQF (individually quick frozen) frozen sardine, a deep-freezing plant is required at a temperature of  $-35^{\circ}\text{C}$  to  $-40^{\circ}\text{C}$  and a freezing time of 35 minutes for fish fillets and 40 minutes for cleaned fish. When freezing, the fish must be properly frozen so that the cell membranes remain undamaged and retain the cell juices, which enables the fish to retain its taste, juiciness and softness. In the process, it is very important to maintain the best possible quality, that is, as few changes as possible in the composition of fatty acids due to their importance in human nutrition and their positive impact on the prevention of various diseases.

The aim of this paper was to compare the composition of fatty acids between sardine samples stored as fresh ( $0-3^{\circ}\text{C}$ ) and IQF frozen sardine. The purpose of the work was to qualitatively evaluate the composition of fatty acids in IQF frozen sardines in order to determine whether such a processing method is desirable for preserving the quality of food fish products. Research on the fatty acid composition of fresh and IQF frozen sardines revealed different behavior of fatty acid groups. When using fresh and IQF frozen sardines, a decrease in the amount of dry matter and an increase in the amount of water content was observed. During the five-day storage of sardines at  $0-3^{\circ}\text{C}$ , an increase in saturated and monounsaturated fatty acids was recorded, while polyunsaturated and highly unsaturated fatty acids decreased over time. However, with IQF frozen sardines, during 120 days of storage at low temperatures, an increase in all groups of fatty acids was recorded.

**Keywords:** Adriatic sardines, IQF, fatty acids, fish processing, fish storage, fishing, food product

## 1. Uvod

Globalna potrošnja akvatičkih organizama, isključujući alge, značajno je porasla, a u svijetu se trenutno konzumira više od peterostruke količine koja je bila konzumirana prije otprilike 60 godina (FAO, 2022.). Svjetska potrošnja ribljih proizvoda je u 2017. godini po glavi stanovnika bila procijenjena na 20,3 kg, od čega su ti isti proizvodi činili oko 17,3 % ukupnog unosa životinjskih bjelančevina svjetske populacije te 6,8 % svih konzumiranih bjelančevina (FAO, 2021.).

Na potrošnju ribe po stanovniku najviše su utjecale povećane proizvodnje akvatičkih organizama u vidu prehrambenih proizvoda, promjene preferencija potrošača, napredak tehnologije i rast prihoda (FAO, 2022.). Smatra se da je 2019. godina bila prijelomna za akvakulturu jer je udio ukupne opskrbe ribljom hranom proizvedenom iz akvakulture pretekao udio riblje hrane iz ribolova (FAO, 2021.).

Što se tiče ribarstva u Hrvatskoj, akvakulturom i ribolovom se 2017. godine proizvela ukupna količina od 86,046 tona ribe. Količina ribe koja se uvezla iznosila je 60,351 tona, dok se 67,647 tona ribe izvezlo, što je omogućilo dostupnost od 78,427 tona ribe za konzumaciju Hrvatskom stanovništvu. Na tadašnju populaciju Republike Hrvatske, od otprilike 4,2 milijuna ljudi, prosječna potrošnja ribe po glavi stanovnika je bila 18,7 kilograma, od čega je izveden podatak da je prosječan Hrvat u danu unio 5,7 grama ribljih proteina (6,4% od sveukupnog dnevnog unosa proteina) (FAO, 2021.).

Gospodarski važna skupina ribe kod nas i šire je sitna plava riba, od kojih je najznačajnija, odnosno najbrojnija srdela (*Sardina pilchardus*). Srdela spada u porodicu Clupeidae te ima široki areal kretanja od 65° do 14° sjeverne geografske širine i od 32° zapadne do 42° istočne geografske dužine i rasprostranjena je duž sjeverne obale Afrike, u Sredozemnom moru, na atlantskoj obali pirinejskog poluotoka te u Biskajskom zaljevu (Voulgairdou i Stergiou, 2003; FAO, 2018.). Srdela se lovi tijekom cijele godine, a najviše u jesensko-zimskom razdoblju. Njezin kemijski sastav i nutritivna vrijednost variraju ovisno o sezoni ribolova. Osim bioloških parametara kao što su dužina jedinki i spolna zrelost, i vanjski parametri (resursi hrane, salinitet i temperatura mora) utječu na sastav aminokiselina i masnih kiselina, što posljedično utječe na nutritivnu vrijednost srdele. Količina masti kod srdele je obično niža u razdobljima kada je potreba za energijom povećana, npr. za vrijeme mrijesta kroz zimsko razdoblje ili migracija,



jer su tada potrebe za iskorištavanjem rezervi masti veće. Na taj način dolazi do sezonskih promjena količina masnih kiselina u srdeli tijekom cijele godine. Prema istraživanjima Šimata i sur. (2020.), najviši ukupni sastav aminokiselina u srdelama, ulovljenim u Jadranskom moru, bio je izmjeren u zimskom razdoblju, od siječnja (843 mg/100g) do ožujka (953 mg/g).

Nutritivna važnost srdele uzrokovana je velikom količinom dugolančanih masnih kiselina, ponajviše višestruko nezasićenih masnih kiselina (PUFA – polysaturated fatty acid) u njenom sastavu. Najpoznatije višestruko nezasićene masne kiseline su eikozapentaenska (EPA) i dokozaheksaenska (DHA) masna kiselina koje imaju vrlo važnu ulogu u rastu, razvoju i poboljšanju ljudskog zdravlja. Ovi kemijski spojevi su potakli ljude na sve veću konzumaciju ribljih proizvoda zbog tendencije poboljšanja zdravlja, fizičkog i mentalnog (Šimat i sur., 2020.).

Čak i male količine namirnica ribljeg porijekla mogu imati značajan pozitivan nutritivni učinak na ljudsko zdravlje zbog osiguravanja esencijalnih nutrijenata koji su rijetki u biljnoj prehrani. Unos ribljih namirnica omogućuje unos visokokvalitetnih proteina i esencijalnih aminokiselina, vitamina (osobito A, B i D), fosfora i minerala poput željeza, kalcija, cinka, joda, magnezija, kalija i selen te je primarni izvor omega 3 masne kiseline. U srdeli se nalaze dvije važne omega-3 masne kiseline, dokozaheksaensku (DHA) i eikosapentaensku kiselinu (EPA), a s obzirom da ih ljudsko tijelo ne može samostalno proizvesti, njihov unos kroz prehranu je esencijalan (FAO, 2022.). Zbog velikog postotka vode (od 66,8% do 78,1%) i masti (do 17,2%), srdela je sklona brzom kvarenju zbog visoke mogućnosti oksidacije (Cvrtila i Kozačinski, 2006.).

Zahvaljujući razvoju tehnologije, metode održavanja svježih ribe su se usavršile, te čovjek više ne ovisi o okolišnim uvjetima, npr. zimi, ledu, suncu, vjetru, dimu, soli, itd. Prvi tragovi razvoja tehnologije konzerviranja ribe datiraju iz početka 19. stoljeća kada se u Francuskoj pojavila prva konzerva, a kraj istog stoljeća obilježen je izumom prvog rashladnog uređaja, tj. hladnjače u Australiji (Šoša, 1989.).

Radi usporavanja unutarnjih kemijskih procesa koji uzrokuju kvarenje ribe, hladni lanac počinje već pri samom ulovu. Tijekom ulova, riblji organizam je stavljen u stanje stresa. U tom trenutku, pravilno rukovanje ima ključnu ulogu u održavanja kvalitete ribe zbog smanjenja nakupljanja mliječne kiseline u mišićima. Također, osim nakupljanja mliječne kiseline, ubrzanje kvarenja može biti uzrokovano i nakupljanjem mikroorganizama u oštećenom tkivu.

Stoga je ribu, odmah nakon ulova, potrebno tretirati, primjerice ohladiti u otopini vode i soli (Borderías i Sánchez-Alonso, 2010.).

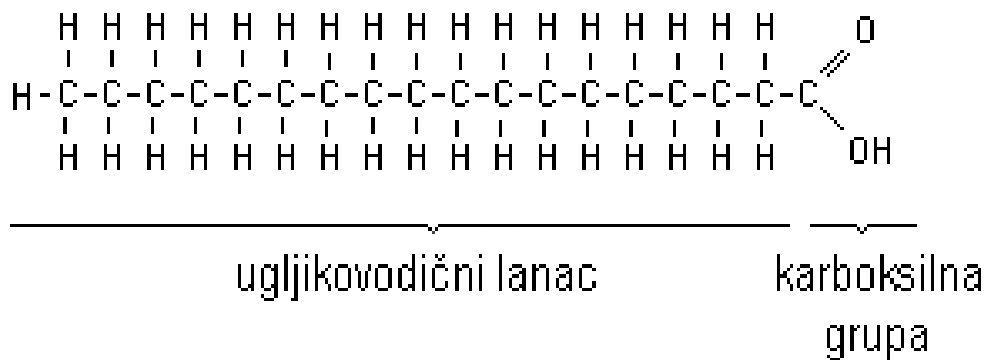
Prema Careche i sur. (2002.), ribu s osjetljivim tkivom poput srdele je preporučeno pakirati u male polistirenske spremnike napunjene kombinacijom vode i leda. U njihovom istraživanju pokazano je kako se kroz 20 sati transporta, riba u takvim uvjetima manje kviri nego kada se transportira u spremnicima napunjenim samo ledom.

Kako bi se očuvale njene značajne nutritivne vrijednosti, u prehrambeno-prerađivačkoj industriji, metoda smrzavanja danas predstavlja jednu od glavnih metoda konzerviranja (FAO, 2022.).

## 2. Pregled literature

Ribljí organizmi se smatraju izvorom niskog udjela masti i visokog udjela proteina, a zbog svog kemijskog i masno-kiselinskog sastava, pozitivno utječu na ljudsko zdravlje. Kemijski sastav uvelike varira te ovisi o ribljoj vrsti, dobi, spolu, mjestu obitavanja vrste te godišnjem dobu. Riba je izvrstan izvor vrijednih mikronutrijenata, vitamina i minerala te je jedini izvor proteina koji sadrži sve esencijalne amino kiseline. Otprilike 50–60 % težine ribe sastoji se od mišićne mase, pri čemu su proteini najzastupljeniji (16–21 %), zatim masti (0,5–2,3 %), pepeo (1,2–1,5 %), voda (52–82 %) i ugljikohidrati (oko 0,5 %). Zahvaljujući takvom nutritivnom sadržaju, morski organizmi imaju značajnu ulogu kod rješavanja problema hrane za rastuću ljudsku populaciju (Cheung i Mehta, 2015.).

Masti su heterogena skupina spojeva koja se temelji na svojstvu topljivosti, više nego na kemijskoj strukturi. Nalaze se u svim tipovima stanicama, a pridonose strukturi stanice te sudjeluju u biološkim procesima. U masti spadaju masne kiseline, trigliceridi, steroidi, prostaglandini, vitamini topljivi u mastima, ulja, voskovi i srodni spojevi, a svima je zajednička karakteristika netopivost u vodi, a topivost u nepolarnim otapalima. Masne kiseline karakterizira lančana struktura s kiselinskom ili karboksilnom (COOH) skupinom s jedne strane i metilnom skupinom (CH<sub>3</sub>) s druge strane molekule. Ostatak molekule sastoji se od lanca ugljikovodika koji može varirati u duljini i zasićenosti (Slika 1.; Røyneberg, 2005.).



Slika 1. Prikaz građe zasićene masne kiseline (stearinska kiselina, 18:0)

(Slika izmijenjena, izvor: Røyneberg, 2005.)

Masne kiseline se razlikuju po zasićenosti, tj. po prisutnosti i količini dvostrukih veza između ugljikovih atoma. Dok zasićene masne kiseline nemaju dvostruke veze, nezasićene masne kiseline imaju barem jednu dvostruku vezu. Na temelju broja dvostrukih veza, nezasićene

masne kiseline dalje se dijele na mononezasićene masne kiseline koje sadrže samo jednu dvostruku vezu i višestruko nezasićene masne kiseline koje sadrže dvije ili više dvostrukih veza (Røyneberg, 2005.).

Mononezasićene masne kiseline (MUFA) se obično pojavljuju u cis formaciji s duljinom od 16-22 ugljikova atoma. Masne kiseline u cis formaciji su termonidamički manje stabilne od molekula s trans formacijom te također imaju niže talište.

Kod višestruko nezasićenih masnih kiselina (PUFA), prva dvostruka veza može se naći na dva mjesta. Masne kiseline koje imaju prvu dvostruku vezu između trećeg i četvrtog ugljikovog atoma nazivaju se n-3 masne kiseline. No, kad se prva dvostruka veza nalazi između šestog i sedmog atoma ugljika, tada se nazivaju n-6 masne kiseline. Dvostruke veze kod višestruko nezasićenih masnih kiselina su odvojene metilnom skupinom (CH<sub>3</sub>) (Rustan i Drevon, 2001.).

Najznačajnije višestruko nezasićene masne kiseline su linolenska kiselina (LA; 18:2n-6) i  $\alpha$ -lipoična kiselina (ALA; 18:3n3) te spadaju u esencijalne masne kiseline (EFA) (Røyneberg, 2005.). Njih tijelo ne može samostalno sintetizirati, već se moraju unijeti putem hrane, a na njihov nedostatak mogu upućivati simptomi poput dermatitisa (Andreassi i sur., 1997.), zastoja u rastu (Zhang, 1997.) i neplodnosti (Cerolini i sur., 1997.).

Masne kiseline se također dijele na kratkolančane i dugolančane masne kiseline. Kratkolančane masne kiseline se sastoje od manje od 8 ugljikovih atoma te su topive u vodi. Apsorbiraju se izravno iz crijeva u krvotok te se metaboliziraju za trenutne energetske potrebe. Masne kiseline s više od 12 ugljikovih atoma se smatraju dugolančanim te su glavni sastavni dio složenih masti u membranama (Røyneberg, 2005.).

Od velikog broja postojećih masnih kiselina, samo 20 do 25 su široko rasprostranjene u prirodi te su od komercijalnog značaja. Broj ugljikovih atoma im varira između 10 i 22, a uglavnom se dobivaju iz biljnih ulja i životinjskih masti (Kenar i sur., 2017.). Od velikog broja otkrivenih masnih kiselina, samo desetak je prisutno u značajnim količinama u ribljim masnoćama (Lambertsen, 1978.). U godišnjoj proizvodnji ulja i masti, riblje masnoće imaju jako mali doprinos (oko 2%), a među najiskorištavanijim vrstama je srdela zbog bogatog sastava značajnih masnih kiselina (Gunstone, 2012.).

Sadržaj masti se tradicionalno određuje gravimetrijskom metodom uz pomoć ekstrakcijskog otapala. Postoji više metoda ekstrakcije masti, a u ribljoj industriji najčešće se koriste Soxhlet metoda, metoda kiselinske hidrolize te Bligh-Dyer metoda. Različite metode ekstrakcije

razlikuju se u učinkovitosti ekstrakcije masti, a stanične stijenke različitih organizama variraju u propusnosti za otapala. Masti koji su sastavni dijelovi membrana, gdje su u bliskoj vezi s proteinima i polisaharidima, teže se ekstrahiraju. Kako bi se ekstrahirali masti iz tkiva, potrebno je pronaći otapala koja, ne samo da lako otapaju masti, već i remete interakcije između masti i staničnih membrana određenih tkiva. Ponekad je čak potrebno i izvršiti značajnu denaturaciju ostalih dijelova staničnih membrana kako bi se omogućila temeljita ekstrakcija masti (Xiao, 2010.).

Lamberstsen (1978.) je analizirao sastav masnih kiselina u ukupnim mastima kod 74 uzoraka 34 različite vrste riba i ribljih nusproizvoda. Kod 22 uzorka od 8 vrsta male pelagičke ribe s visokim udjelom masti (prosječno 12,7%) lovljenih kroz cijelu godinu, primjećujemo kako je, od analiziranih masnih kiselina, najmanje zastupljena bila dokosaheksaena masna kiselina (22:6; 1,1%), a najviše zastupljena eručna masna kiselina (22:1; 28,4%). Kod srednje masnih vrsta ribe (prosječno 5,4%), uzorka veličine 22 od ukupno 10 vrsta, najmanje zastupljena bila je miristinska masna kiselina (14:0; 2%), a oleinska najzastupljenija (18:1; 22,9%). Od 18 uzoraka 4 vrste s prosječnim udjelom masnoće ispod 1%, najzastupljenija masna kiselina bila je dokosaheksaena (30,6%), a najmanji udio zauzimala je miristinska (1,1%).

Razna istraživanja su pokazala da kemijski sastav srdela i ostalih pelagijskih vrste može varirati ovisno o lokaciji, godišnjem dobu, dostupnosti hrane i drugim čimbenicima (Zlatanović i Laskaridis, 2007; Bandarra i sur., 2018; Serrazanetti i sur., 1991; Frederiksen i sur., 2006; Rebah i sur., 2010.).

O migraciji srdela u Jadranu, radi dostupnosti hrane, tj. zooplanktona, pisalo se još i davne 1955. godine kada su istraživači slijedili puteve kojima se dvije vrste zooplanktona kreću kroz godinu. Otkriveno je kako se u ranu jesen srdele povlače iz obalnih zona na područja gdje se razmnožavaju, gdje se također nalaze povećane količine većih planktona u odnosu na obalno područje. Na početku proljeća, u travnju nakon mrijesta, srdele se vraćaju u obližnja obalna područja. U isto vrijeme, otkriveno je kako se biomasa većih planktona smanjuje u područjima gdje su se mrijestile, dok se u obalnim područjima biomasa manjih planktona povećava (Gamulin, 1955.). Samim time zaključuje se da nutritivan sastav srdele ulovljene u ljetnom periodu nije jednak srdeli ulovljenoj u zimskom periodu (Šimat i sur., 2020.). Kasnija istraživanja provedena na području Jadranskog mora su pokazala kako se srdela mrijesti od jeseni do proljeća, odnosno počinje se mrijestiti početkom listopada, a mrijest uglavnom traje do kraja travnja (Morello i Arneri, 2009; Mustać i Sinovčić, 2009; Pešić i sur., 2010; Zorica i

sur., 2016; 2017.). Vrhunac mrijesta srdele događa se između studenog i veljače (Sinovčić i sur., 2008; Pešić, 2011; Zorica i sur., 2017; 2019.) kada je temperatura mora između 11°C i 16°C (Morello i Arneri, 2009.).

Zbog velike količine pronađenih jedinki srdela, u ranoj životnoj fazi (jaja i ličinke) utvrđena su područja mrijestilišta srdele na Jadranu: područje Kvarnera, vanjski dio Dugog otoka, otoci srednje Dalmacije, te područje Boke Kotorske (Mandić, 2011; Zorica i sur., 2019.).

Istraživanja su pokazala da je sadržaj masti obično niži za vrijeme mrijesta ili migracije (u zimskom periodu), s obzirom da je tad povećana potreba za energijom te se rezerve masti više iskorištavaju (Zorica i sur., 2017; 2019; Bandararra i sur., 1997; 2018; Zlatanov i Laskaridis, 2007.).

Šimat i suradnici (2020.) su pratili sezonske promjene u slobodnim aminokiselinama i masnim kiselinama kod srdele u Jadranskom moru te su prikazali kako je nizak sadržaj masti primijećen od siječnja do ožujka. S obzirom da se srdela tada mrijesti, nizak sadržaj masnih kiselina su povezali s velikom potrebom za energijom. Najveće vrijednosti udjela masti (>10%) zabilježene su ljeti, što se poklapa s razdobljem hranjenja srdele, budući da je vrhunac primarne proizvodnje (cvjetanje planktona) tijekom proljeća i ljeta.

Na temelju analize sadržaja u crijevima srdele, otkrilo se kako su im dominantna hrana male vrste zooplanktona. Budući da količina masti u ribi ovisi o unosu masnoće kroz prehranu, razlike u sastavu masti ovise o promjenama kod funkcija u ekosustavu, npr. promjena kod energetskog toka (Gonçalves i sur., 2012.) i primarne produktivnosti (Pethybridge i sur., 2013.).

Zbog svojih nutritivnih komponenti koje blagotvorno djeluju na zdravlje ljudi i životinja, potražnja za hranom iz morskog ili slatkovodnog okoliša je sve veća, a baš zbog prethodno navedenih promjena u sastavu masti kod srdele, potrebno je širiti znanje o najboljem vremenu za lov na srdelu kako bi se potrošačima omogućila konzumacija najkvalitetnijih ribljih proizvoda s najboljim nutritivnim sastavom. Također je potrebno i razumjeti prednosti i načine skladištenja i prerade ribljih proizvoda, kako se u procesu njena vrijednost ne bi izgubila. Ukoliko se riba nakon ulova ne zbrine na propisan način, u jako kratkom vremenu može doći do kemijskih i bioloških promjena, odnosno do kvarenja te onemogućavanja daljnje proizvodnje i distribucije (Ababouch, 2009.).

Kod skladištenja ribe na niskim temperaturama, brzina smrzavanja, temperatura skladištenja, fluktuacije temperature, uvjeti odmrzavanja i drugi čimbenici su ključni za kvalitetu ribljeg

mesa. Temperatura skladištenja je jedan od najbitnijih faktora, te se prema Codex Alimentarius-u zahtijeva skladištenje smrznute hrane na  $-18^{\circ}\text{C}$  ili niže (Codex, S.T.A.N., 1995.).

Pri neadekvatnim temperaturama može doći do denaturacije proteina u mišićima, oksidacije i hidrolize masti, promjene boje, blijedenje boje, stvaranje formaldehida i ostalih promjena (Nakazawa i Okazaki, 2020.). Oksidacija masti je veliki problem kod očuvanja kvalitete. Ona dovodi do razvoja neugodnih mirisa i neugodnih okusa zbog promjena u masnim kiselinama, što se također naziva i oksidativnom užeglosti (Ashie i sur., 1996.).

Mišićna tkiva srdela su bogata višestruko nezasićenim masnim kiselinama koje su podložne peroksidaciji (Serदारoglu i Felekoglu, 2005.). Slobodni radikali reagiraju s kisikom i proizvode perokside masnih kiselina. To su slobodni radikali koji mogu napasti drugu molekulu masti što rezultira peroksidom i novim slobodnim radikalom (Hamre i sur., 2003.). Primarni proizvod oksidacije masti je hidroperoksid masne kiseline, izražen kroz peroksidni broj. Peroksidi su nestabilni spojevi koji se razbijaju na aldehide, ketone i alkohole, koji zbog svojeg svojstva hlapljivosti proizvode neugodan okus hrane (Lubis i Buckle, 1990.).

Bulat i sur. (2020.) su, usporedbom srdele skladištene na  $4^{\circ}\text{C}$  i  $10^{\circ}\text{C}$  kroz period od 6 dana, prikazali kako je povećanje temperature skladištenja ubrzalo propadanje srdela potičući rast bakterija. Prema mikrobiološkim i senzorskim analizama, srdele pohranjene na  $4^{\circ}\text{C}$  premašile su granicu za dozvoljenu konzumaciju 6. dan dok su one pohranjene na  $10^{\circ}\text{C}$  prekoračile granicu konzumacije 3. dan. Utvrđeno je kako je rok trajanja srdela skladištenih na temperaturi od  $4^{\circ}\text{C}$  čak 3 dana duži od onih skladištenih na temperaturi od  $10^{\circ}\text{C}$ .

Erkan i Özden (2008.) su proučavali kvalitetu i rok trajanja cijelih srdela smrznutih sa i bez crijeva kroz 9 dana. Rezultati ove studije pokazali kako je rok trajanja cijelih srdela skladištenih na  $+4 \pm 1^{\circ}\text{C}$  kod obje skupine, prema senzornim rezultatima, iznosio 7 dana, a prema kemijskoj analizi manje od 7 dana. Također, parametri oksidacije masti bili su viši kod očišćene srdele nego kod neočišćene.

Među najčešće korištenim metodama konzerviranja u industriji je metoda smrzavanja strujom hladnog zraka na kontinuirani i nekontinuirani način. Nekontinuiranim načinom smrzavanja, riba se smrzava u tunelima za duboko smrzavanje. Prethodno se riba slaže na palete ili u ribarske sanduke što naknadno stvara problem zbog neujednačenog smrzavanja. Kako bi svi slojevi dosegli istu razinu temperature smrzavanja, potrebno je čak 8 sati što ovu metodu čini vremenski zahtjevnom. Za razliku od nekontinuirane metode, kontinuirani način traje puno

kraće te se zbog ujednačenijeg smrzavanja ribe smatra efikasnijim načinom smrzavanja (Šoša, 1989.).

Jedna od metoda kontinuiranog smrzavanja strujom hladnog zraka je individually quick-frozen (IQF) metoda. Ova metoda smatra se puno efikasnijom zbog ujednačenijeg smrzavanja koje se postiže smrzavanjem ribe kao pojedinačne jedinice na pokretnoj traci, a za sam proces potrebno je ne više od 15 minuta. Proces počinje tako što pojedinačne jedinice ribe prolaze kroz bazen hladne vode s ciljem dobivanja glazure koja omogućava ribi otpornost od isušivanja prilikom smrzavanja. Nakon toga, traka sa prethodno umočenim srdelama prolazi kroz uređaj koji ih ujednačeno zamrzava na temperaturu od  $-18^{\circ}\text{C}$  kroz 15 minuta. Kod ovog uređaja, kapacitet smrzavanja je 5 tona u jednom satu, što ga čini vrlo profitabilnim i poželjnim u industriji. Zahvaljujući velikom kapacitetu, u stanju je efikasno i učinkovito odraditi velike količine smrzavanja u kratkom vremenskom periodu, što ga čini idealnim za velike industrijske proizvodne linije. Također, učinkovitost ovog uređaja značajno smanjuje troškove i produžuje životni vijek proizvoda, što ga čini vrlo atraktivnim za korištenje u svakom sektoru industrije koji se bavi smrzavanjem proizvoda (George, 1993.).

No ipak, Ravindranathan Nair i suradnici (1987.) su istraživanjem provedenim na različito smrznutim skušama (*Rastrelliger kanagurta*) sa srednjim (4%) i visokim (11%) udjelom masti, ustanovili kako IQF smrznuti uzorci imaju kraće dopušteno vrijeme skladištenja u smrznutom stanju u odnosu na uzorke smrznute na  $-23^{\circ}\text{C}$  u blokovima. Na temelju senzorne analize, uzorcima smrznutim IQF metodom kod obje skupine rok trajanja je iznosio između 17 i 20 tjedana, dok je kod uzoraka smrznutih na  $-23^{\circ}\text{C}$  u blokovima predviđen rok trajanja bio između 23 i 24 tjedna.

Bejaoui i sur. (2021.) su istraživali učinke vremena skladištenja (5, 10 i 15 dana) i različitih temperatura ( $-20^{\circ}\text{C}$  i  $+4^{\circ}\text{C}$ ) na biokemijski sastav mediteranske dagnje (*Mytilus galloprovincialis*). Rezultati su pokazali značajno smanjenje biokemijskih spojeva u tkivima dagnji nakon postupka hlađenja ( $+4^{\circ}\text{C}$ ) i zamrzavanja ( $-20^{\circ}\text{C}$ ). Što se tiče sastava masnih kiselina, primijećen je porast zasićenih masnih kiselina nakon oba procesa skladištenja (do 228% na  $+4^{\circ}\text{C}$  i do 237% na  $-20^{\circ}\text{C}$ ) dok su se polinezasićene (za 34% na  $+4^{\circ}\text{C}$  i za 59% na  $-20^{\circ}\text{C}$ ) i mononezasićene (za 45% na  $+4^{\circ}\text{C}$  i za 52% na  $-20^{\circ}\text{C}$ ) značajno smanjile, osobito nakon 10-og i 15-og dana skladištenja. Najveći porast su imale C16:0 i C18:0, dok su C16:1, DHA, EPA, n-3 PUFA i n-6 PUFA imale najveći pad.



### **3. Ciljevi i svrha rada**

Cilj rada je usporediti sastav i količinu masnih kiselina između uzoraka skladištene srdele kao svježe (0-3°C) i smrznute srdele IQF metodom, ulovljene u zimskom periodu.

Svrha rada je kvalitativno vrednovati sastav masnih kiselina u IQF smrznutoj srdeli kako bi se utvrdilo je li takav način prerade poželjan za očuvanje kvalitete nutritivno visokovrijednih prehrambenih ribljih proizvoda.

## 4. Materijali i metode

Istraživanje se provodilo u sklopu projekta “Vrednovanje visokokvalitetne smrznute srdele za ljudsku ishranu”, u kojem je sudjelovalo Sveučilište u Zadru te Ribarska zadruga Omega 3.

### 4.1. Postupak uzorkovanja

Uzorkovanje srdele se provodilo za vrijeme mrijesta, odnosno u zimskom vremenskom periodu. Od cjelokupnog ulova je izdvojeno 100 jedinki srdele s ciljem određivanja biometrijskih podataka. Ulovljene srdele su bile smještene u emulziju morske vode i leda te održavane na temperaturi 0°- 3°C. Ribari su jedinke, neposredno prije iskrcaja, prebacili u termonepropusne sanduke u kojima su transportirani do tvrtke Omega 3 i njihovog pogona za preradu gdje su potom poslane na daljnje smrzavanje.

Zatim je 100 komada jedinki srdele poslano na analiziranje radi utvrđivanja biometrijskih podataka ulova.

Tijekom četiri naredna dana pratile su se promjene degradacijskog karaktera prema skladišnim kriterijima za svježu ribu, tj. na ribi ohlađenoj na 0°- 3°C. Za svaki dan skladištenja uzimao se triplikatni uzorak što je nakon zadanog perioda razultiralo brojem od 15 uzoraka, tj. 5 triplikatnih uzoraka.

Promjene degradacijskog karaktera IQF smrznute srdele su se pratile u vremenskom periodu od 120 dana. Metoda uzorkovanja je ponovljena na isti način kao i kod uzoraka svježe srdele samo u različitim vremenskim intervalima. Nakon 10., 30., 45., 60. i 120. dana uzimali su se triplikatni uzorci IQF smrznutih srdela što je na kraju sačinjavalo sveukupno 15 uzoraka.

Usporedno su se procjenjivala i organoleptička svojstva svježih i IQF smrznutih uzoraka srdele kako bi se utvrdile promjene u mirisu, boji i izgledu.

Promjene degradacijskog karaktera pratile su se pomoću kemijske i mikrobiološke analize. U laboratoriju za kemiju namirnica provedena je kemijska analiza uzoraka srdele na filetima radi dobivanja analitičkih podataka o sadržaju vode, masti i bjelančevina, a u laboratoriju za mikrobiologiju namirnica je provedena mikrobiološka analiza kojom se se utvrdila

zastupljenost sulfitoridirajućih klostridija, bakterija porodice Enterobacteriaceae, bakterija roda *Salmonella spp.* i aerobnih mezofilnih bakterija.

#### 4.2. Kemijska i mikrobiološka analiza

Kemijska i mikrobiološka obrada uzoraka srdele provedena je sukladno rješenju Ministarstva poljoprivrede KLASA: UP/I-322-01/17-01/94; URBROJ: 525-10/0729-18-3 od 24. rujna 2018. u Zavodu za javno zdravstvo u Zadru. Analize su provedene u laboratoriju za obavljanje analize hrane i hrane za životinje u svrhu službene kontrole.

U Laboratoriju za kemiju namirnica utvrđivao se sadržaj:

- vode korištenjem vlastite akreditirane metode PO-7.2/56 01/3, 02.09.2019. po odredbi HRN EN ISO 712:2020.
- ukupne količine masti prema odredbi ISO 1443:1973.
- masnih kiselina korištenjem ekstrakcije i gravimetrije akreditiranom vlastitom metodom PO-7.2/50 01/2, 02.09.2019. po odredbi HRN ISO 1443:1999.
- ukupne masti korištenjem akreditirane metode HRN ISO 1443:1999 Z-I-4 N 02 Rev.08
- zasićenih masnih kiselina korištenjem metode HRN EN ISO 12966-4:2015 Z-I-4 N 22 Rev.05.
- bjelančevina korištenjem digestije i titracije akreditiranom vlastitom metodom PO-7.2/73 01/2, 02.09.2019. po odredbi HRN ISO 1871/2017.

U Laboratoriju za mikrobiologiju namirnica utvrđivla se prisutnost:

- sulfitoridirajućih klostridija vlastitom metodom.
- bakterija porodice Enterobacteriaceae metodom HRN EN ISO 21528-2:2017.
- bakterija roda *Salmonella spp.* Metodom HRN EN ISO 6579-1:2017.
- aerobnih mezofilnih bakterija metodom HRN EN ISO 4833-1:2013.

### 4.3. Statistička obrada podataka

Podaci su statistički obrađivani uz pomoć Microsoft Excel programa te statističkog programa “Statistika”.

Prema dostavljenim izvještajima o ispitivanju uzoraka svježih i IQF smrznutih srdela iz Laboratorija Zavoda za javno zdravstvo, uz pomoć Microsoft Excel programa su izračunate prosječne vrijednosti i standardne devijacije suhe tvari i masti, a zatim i vrijednosti pojedinačnih masnih kiselina te skupina masnih kiselina (zasićene, mononezasićene, PUFA, HUFA). Ovaj postupak se provodio za dobivanje podataka o udjelu masnih kiselina i skupina masnih kiselina u cijeloj srdeli, ukupnoj masti te u suhoj tvari (kod svježe i smrznute srdele).

Za dobivanje udjela masne kiseline u pojedinom uzorku korištena je formula:

$$\frac{MK_{uzorak}}{100} \times MASTI_{uzorak}$$

“*MK<sub>uzorak</sub>*” označava određenu masnu kiselinu u određenom uzorku srdele. “*MASTI<sub>uzorak</sub>*” označava ukupnu količinu masti u uzorku srdele. Ovim izračunom dobili smo postotak masnih kiselina u uzorcima svježe srdele nakon čega smo izračunali njihovu prosječnu srednju vrijednost i standardnu devijaciju.

Za dobivanje udjela masne kiseline u suhoj tvari srdele korištena je formula:

$$\frac{100}{ST_{uzorak}} \times \frac{MK_{uzorak}}{100} \times MASTI_{uzorak}$$

“*ST<sub>uzorak</sub>*” označava količinu suhe tvari u određenom uzorku srdele. Ovim izračunom dobili smo postotak masnih kiselina u suhoj tvari svježih srdele nakon čega smo izračunali njihovu prosječnu srednju vrijednost i standardnu devijaciju.

Nakon dobivanja potrebnih podataka iz Microsoft Excel programa, nastavak analize se provodio u statističkom program “Statistika”. Analiza varijance je napravljena pomoću ANOVA testiranja, multivarijantnom analizom, a značajnost razlika između uzoraka s nehomogenom varijancom je testirana Lavene i Kruskal-Wallis neparametrijskim testom.

#### 4.4. Priprema uzoraka

Uzorci korišteni u potrebe ovog istraživanja ulovljeni su dana 8/03/2021. Pecatura je iznosila 52 jedinke po kilogramu srdele.

Dana 9/03/2021. u laboratoriju za istraživanje mora i akvakulturu „Sfinga“ u Zadru provedena je biometrijska analiza 2 kilograma jedinki srdele s ciljem utvrđivanja spolne zrelosti srdele temeljem težine gonada, spola, a pratila se i količina mezenterične masnoće, težine jedinki te totalne i standardne duljine riba. Nakon detaljnog pregleda, utvrđeno je kako paraziti nisu bili prisutni u uzorku.

Spol se odredio makroskopski prema obliku, izgledu i strukturi gonada. Stanje zrelosti gonada mužjaka i ženki se utvrdilo makroskopski, temeljem empirijske skale (Sinovčić, 2000.).

- I stadij – gonade su vrlo malene i prozirne. Nalaze se samo kod primjeraka koji nisu dostigli prvu spolnu zrelost.
- II stadij – gonade dosežu nešto manje od polovine visceralne šupljine. Jaja se ne vide prostim okom.
- III stadij – gonade zauzimaju više od polovine visceralne šupljine. Jaja se vide prostim okom, testisi svijetlo ružičasti.
- IV stadij – gonade zauzimaju oko dvije trećine visceralne šupljine. Jaja su neprozirna, testisi bijeli.
- V stadij – gonade ispunjavaju cijelu visceralnu šupljinu. Ovariji su svijetlo crveni, jaja neprozirna. Testisi su bijelo-kremasti.
- VI stadij – gonade su potpuno zrele. Jaja i sperma izlaze pri pritisku na abdomen. Jaja su prozirna.
- VII stadij – riba je djelomično izbacila spolne produkte te gonade koje su mlohave i prokrvljene zauzimaju oko dvije trećine visceralne šupljine.
- VIII stadij – riba je sasvim izbacila spolne produkte. Gonade su sasvim mlohave i prokrvljene, testisi bijelo sivi, a ovariji tamno crvene boje.

Količina mezenterične masnoće u visceralnoj šupljini se procijenila koristeći empirijsku skalu od pet stupnjeva (Sinovčić, 2000.).

- 0 - srdela vrlo mršava, bez tragova mezenterične masnoće,
- 1 - srdela mršava, mezenterična masnoća u tragovima oko probavnog trakta,
- 2 - srdela masnija, mezenterična masnoća zastupljena oko probavnog trakta,
- 3 - srdela masna, znatne količine mezenterične masnoće oko probavnog trakta,
- 4 - srdela vrlo masna, probavni trakt potpuno obavijen mezenteričnom masnoćom.

Za potrebe kemijske i mikrobiološke obrade, na dan ulova su izdvojene 3 grupe po 2 kilograma jedinki (triplikat) kako bi u istraživanju poslužili kao usporedna referentna vrijednost za ostale uzorke. Nakon odvajanja i smrzavanja uzoraka, poslani su na analizu te su označeni kao R1, R2 i R3.

Narednih 5 dana nakon ulova, svježi uzorci srdele su održavani na temperature od 0°C do 3°C kako bi se oponašali uvjeti prodaje svježe ribe. Od 1. do 5. dana, svaki dan je IQF metodom zamrznut jedan triplikatni uzorak svježe srdele te potom poslan na daljnju kemijsku i mikrobiološku analizu.

Uzorci svježe srdele po danima uzorkovanja su bili označeni na sljedeći način:

- Uzorak R – 1. dan: R1, R2, R3
- Uzorak Fa – 2. dan: Fa1, Fa2, Fa3
- Uzorak Fb – 3. dan: Fb1, Fb2, Fb3
- Uzorak Fc – 4. dan: Fc1, Fc2, Fc3
- Uzorak Fd – 5. dan: Fd1, Fd2, Fd3

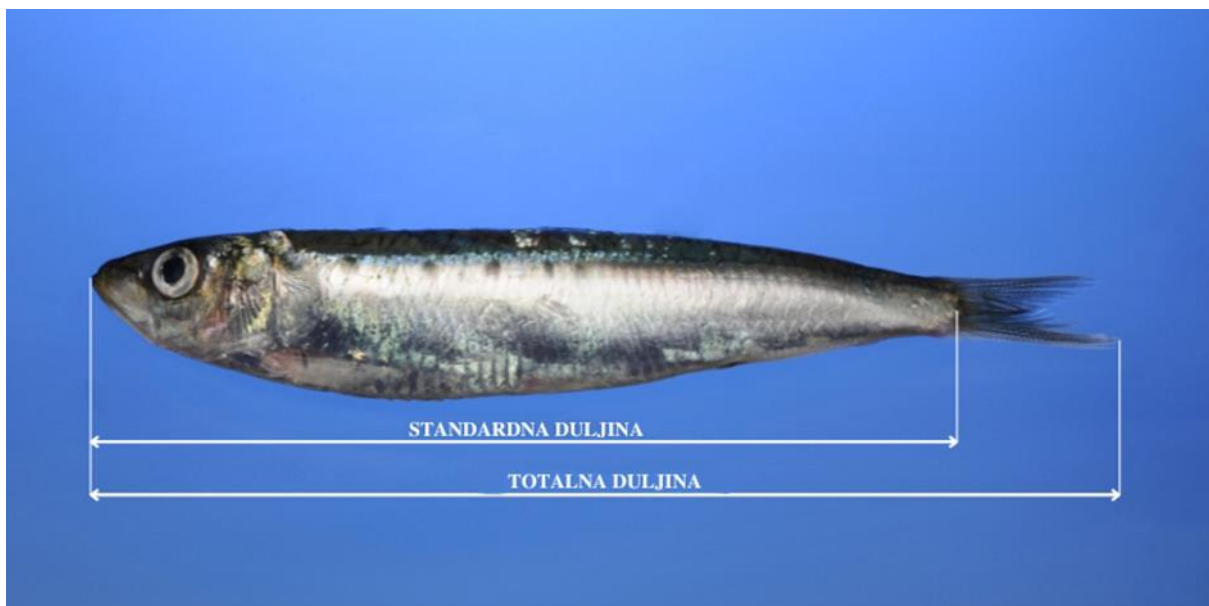
Uzorci smrznute srdele su odmah na dan ulova izdvojeni i zamrznuti IQF metodom. Odvojeno je 5 triplikatnih uzoraka što je činilo sveukupno 15 uzoraka srdele. Skladišteni uzorci IQF smrznute srdele su poslani na analizu nakon unaprijed određenog broja dana, u skladu s ciljem ovog istraživanja, te bili obilježeni:

- Uzorak Z1 - početak uzorkovanja bio je 10. dan nakon ulova: Z11, Z12, Z13
- Uzorak Z2 - početak uzorkovanja bio je 30. dan nakon ulova: Z21, Z22, Z23
- Uzorak Z3 - početak uzorkovanja bio je 45. dan nakon ulova: Z31, Z32, Z33
- Uzorak Z4 - početak uzorkovanja bio je 60. dan nakon ulova: Z41, Z42, Z43
- Uzorak Z5 - početak uzorkovanja bio je 120. dan nakon ulova: Z51, Z52, Z53

## 5. Rezultati

### 5.1. Biometrijska analiza rezultata uzoraka srdele

Od biometrijskih podataka određivani su sljedeći podaci: totalna duljina, standardna duljina (Slika 1.), masa, spol, razina mezenterične masnoće te stadiji spolne zrelosti i masa gonada. Prosječne vrijednosti rezultata biometrije srdele iz ulova koja se provodila na 100 jedinki srdele u zimskom razdoblju prikazane su u tablici 1.



Slika 1. Shematski prikaz totalne i standardne duljine *Sardina pilchardus* (autor: Karla Božin)

Tablica 1. Prosječne vrijednosti biometrije srdele uzorskovane u zimskom periodu

| Totalna duljina (cm) | Standardna duljina (cm) | Masa (g)   | Spol (ž/m) | Mezenterična masnoća (stupanj 0 do 4) | Razvijenost gonada (skala 1 do 7) | Masa gonada (g) |
|----------------------|-------------------------|------------|------------|---------------------------------------|-----------------------------------|-----------------|
| 13,69±1,02           | 11,62±0,95              | 18,79±4,81 | 72/28      | 0,57                                  | 5,07                              | 0,59±0,42       |

Prosječna vrijednost totalne duljine uzorkovanih srdela iznosi 13,69 cm, gdje je najdulji uzorak iznosio 16,5 cm, a najkraći 12 cm. Raspon standardne duljine uzorkovanih srdela iznosio je 10-

14 cm, a prosječna vrijednost iznosila je 11,62 cm. Prosječna masa uzorkovanih srdela iznosila je 18,79 g. Najlakši uzorak imao je 11,69 g, a najteži 33,37 g. Od 100 uzoraka, 72 je bilo ženskog spola, a 28 muškog.

Razina mezenterične masnoće kod uzoraka je varirala (0-6), ali možemo zaključiti kako se radilo o nemasnim jednikama srdele s obzirom da kod čak 51 jedinke nije uočena mezenterična masnoća (razina 0), dok je kod 47 jedinki uočeno jako malo mezenterične masnoće (razina 1).

Procjenom stadija zrelosti gonada (2-7) saznalo se kako su gonade uzorkovanih srdela u visokim stadijima zrelosti što je ukazivalo da je srdela u razdoblju mrijesta. Od ukupno 100 uzorkovanih srdela, samo 3 su imali gonade stadija zrelosti 2, 8 su imale stadij 3, 21 je imala stadij 4, 23 su imale stadij 5, 37 su imale stadij 6, a stadij 7 je imalo 8 uzorkovanih srdela.

Također se i na masi gonada moglo utvrditi kako je uzorkovana srdela u razdoblju mrijesta. Prosječna vrijednost mase gonada iznosila je 0,59 g, gdje je najteža iznosila 1,78 g, a najlakša samo 0,03 g.



## 5.2. Mikrobiološka analiza uzoraka srdele

U Zavodu za javno zdravstvo u Zadru, Službi za zdravstvenu ekologiju i zaštitu okoliša, u laboratoriju za mikrobiologiju namirnica provedena su mikrobiološka ispitivanja na uzorcima svježe i smrznute srdele. Uzete su po tri replike svakog uzorka, što ukupno daje 15 rezultata uzoraka svježe srdele i 15 rezultata uzoraka smrznute srdele. U tablicama 2. i 3. su prikazane dobivene vrijednosti analize koje prikazuju količinu bakterija u cfu/g u uzorku. Svi uzorci su mikrobiološki uredni sukladno Pravilniku o mikrobiološkim kriterijima za hranu (NN 74/08, 2008.).

Tablica 2. Rezultati mikrobiološke analize za uzorke svježe srdele

| Uzorak L-880321-S/29                 |                |                |                |                |                |
|--------------------------------------|----------------|----------------|----------------|----------------|----------------|
| Sulfitredirajuće klostridije (cfu/g) | R              | Fa             | Fb             | Fc             | Fd             |
| 1                                    | <100           | <100           | <100           | <100           | <100           |
| 2                                    | <100           | <100           | <100           | <100           | <100           |
| 3                                    | <100           | <100           | <100           | <100           | <100           |
| <i>Enterobacteriaceae</i> (cfu/g)    | R              | Fa             | Fb             | Fc             | Fd             |
| 1                                    | <10            | <10            | <10            | <10            | <10            |
| 2                                    | <10            | <10            | <10            | <10            | <10            |
| 3                                    | 40             | <10            | <10            | <10            | <10            |
| <i>Salmonella spp.</i> (25g)         | R              | Fa             | Fb             | Fc             | Fd             |
| 1                                    | nisu izolirane | nisu izolirane | nisu izolirane | nisu izolirane | nisu izolirane |
| 2                                    | nisu izolirane | nisu izolirane | nisu izolirane | nisu izolirane | nisu izolirane |
| 3                                    | nisu izolirane | nisu izolirane | nisu izolirane | nisu izolirane | nisu izolirane |
| Aerobne mezofilne bakterije (cfu/g)  | R              | Fa             | Fb             | Fc             | Fd             |
| 1                                    | 14900          | 15000          | 3600           | 40000          | 11500          |
| 2                                    | 11900          | 19000          | 5400           | 13800          | 5000           |
| 3                                    | 8800           | 3100           | 3500           | 11900          | 16200          |

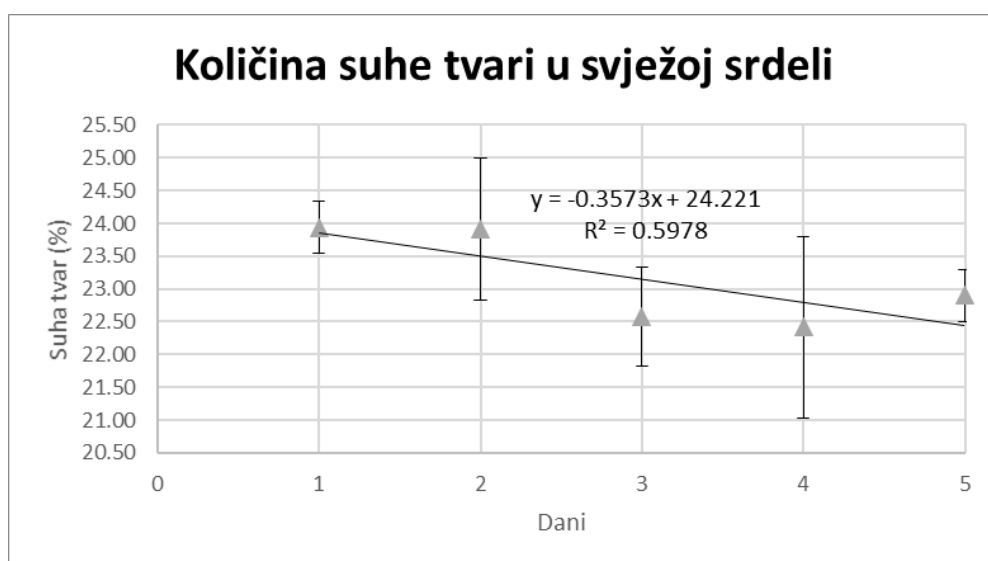
Tablica 3. Rezultati mikrobiološke analize za uzorke smrznute srdele

| Uzorak L-880321-S/29                 |                |                |                |                |                |                |
|--------------------------------------|----------------|----------------|----------------|----------------|----------------|----------------|
| Sulfitredirajuće klostridije (cfu/g) | R              | Z1             | Z2             | Z3             | Z4             | Z5             |
| 1                                    | <100           | <100           | <100           | <100           | <100           | <100           |
| 2                                    | <100           | <100           | <100           | <100           | <100           | <100           |
| 3                                    | <100           | <100           | <100           | <100           | <100           | <100           |
| <i>Enterobacteriaceae</i> (cfu/g)    | R              | Z1             | Z2             | Z3             | Z4             | Z5             |
| 1                                    | <10            | <10            | <10            | <10            | <10            | <10            |
| 2                                    | <10            | <10            | <10            | <10            | <10            | <10            |
| 3                                    | 40             | <10            | <10            | <10            | 30             | <10            |
| <i>Salmonella spp.</i> (25g)         | R              | Z1             | Z2             | Z3             | Z4             | Z5             |
| 1                                    | nisu izolirane | nisu izolirane | nisu izolirane | nisu izolirane | nisu izolirane | nisu izolirane |
| 2                                    | nisu izolirane | nisu izolirane | nisu izolirane | nisu izolirane | nisu izolirane | nisu izolirane |
| 3                                    | nisu izolirane | nisu izolirane | nisu izolirane | nisu izolirane | nisu izolirane | nisu izolirane |
| Aerobne mezofilne bakterije (cfu/g)  | R              | Z1             | Z2             | Z3             | Z4             | Z5             |
| 1                                    | 14900          | 12300          | 1000           | 1800           | 3500           | 4100           |
| 2                                    | 11900          | 9600           | 500            | 910            | 2600           | 6500           |
| 3                                    | 8800           | 3900           | 2600           | 500            | 16600          | 13000          |

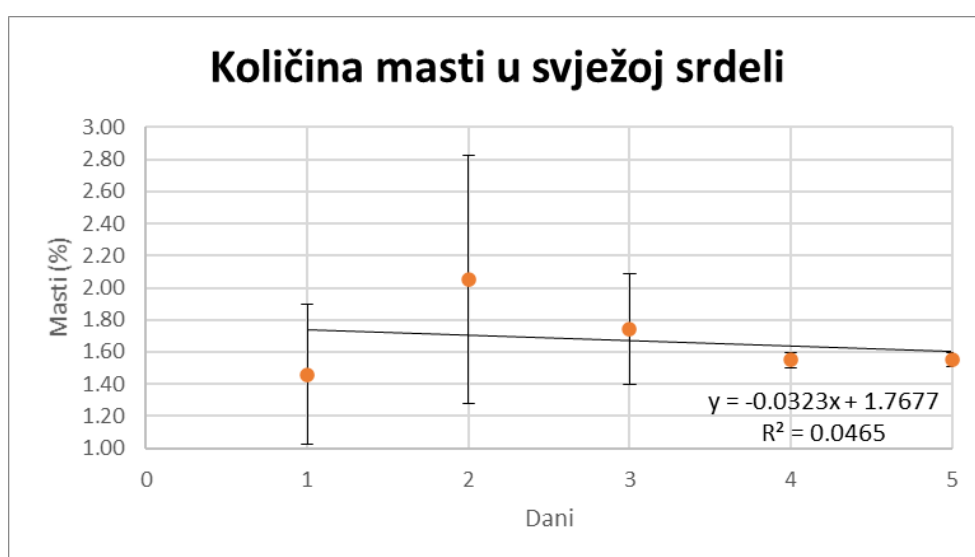
Iz rezultata mikrobiološke analize uzoraka svježe i smrznute srdele možemo zaključiti kako su uzorci tijekom cijelog uzorkovanja bili higijenski ispravni te bakterijsko djelovanje nije moglo utjecati da daljnju analizu srdele.

### 5.3. Masno-kiselinski sastav svježe srdele za vrijeme skladištenja

U programu Microsoft Excel smo najprije određivali prosječne vrijednosti i standardne devijacije suhe tvari i ukupnih količina masti kod svježe srdele (slika 2. i 3.). Tijekom 5 dana skladištenja, primjećen je pad u količini suhe tvari i ukupne masti. Također možemo primjetiti kako je jako malen broj masnih kiselina zabilježen u većim količinama (tablica 4).



Slika 2. Linearna regresija količine suhe tvari u svježoj srdeli u odnosu na trajanje skladištenja (1. – 5. dana) (prilog 1)

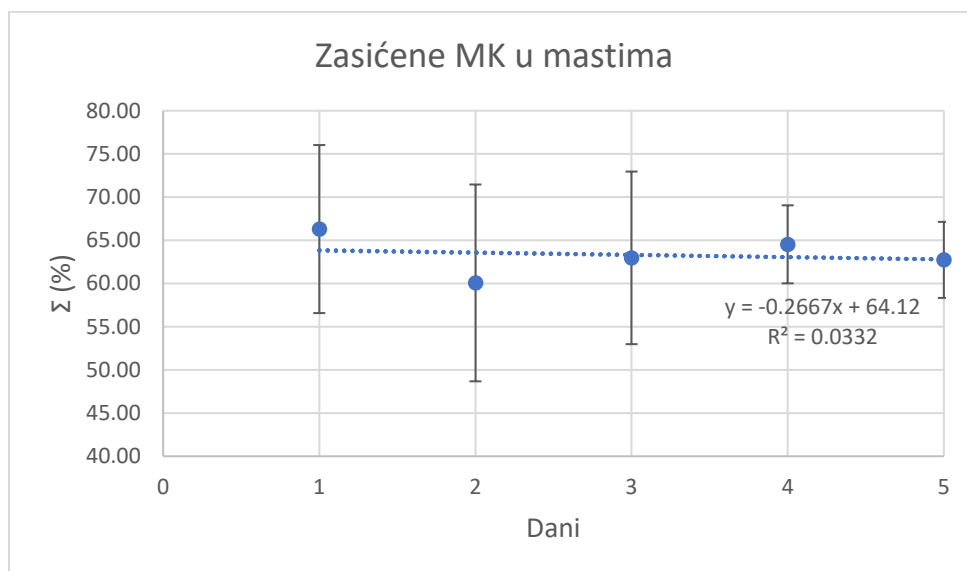


Slika 3. Linearna regresija količine masti u svježoj srdeli u odnosu na trajanje skladištenja (1. – 5. dana) (prilog 1)

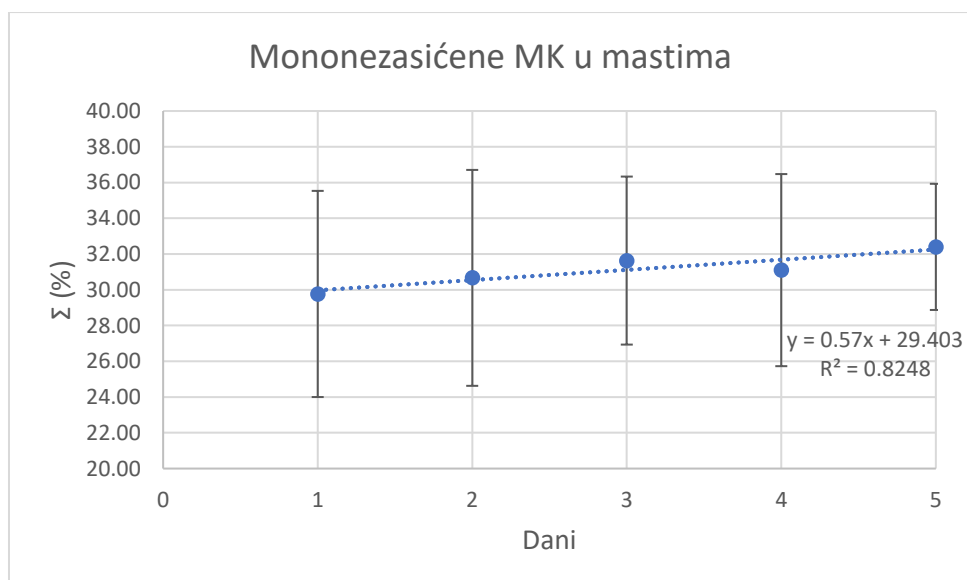
Tablica 4. Prosječne vrijednosti masnih kiselina (%) u ukupnim mastima u svježoj srdeli (tijekom skladištenja u trajanju od 5 dana)

| Masne kiseline | R          | Fa         | Fb         | Fc         | Fd         |
|----------------|------------|------------|------------|------------|------------|
| C14:0          | 12.97±2.06 | 12.93±1.11 | 11.7±1.45  | 13.5±1.48  | 14.03±0.25 |
| C14:1          | 0          | 0.03±0.06  | 0          | 0          | 0          |
| C15:0          | 1.6±0.26   | 1.4±0.35   | 1.53±0.38  | 1.5±0.1    | 1.37±0.23  |
| C15:1          | 0          | 0          | 0          | 0          | 0          |
| C16:0          | 37.4±4.55  | 33±6.68    | 36.33±4.97 | 36.1±1.57  | 34.33±2.51 |
| C16:1n7t       | 0.3±0.26   | 0.4        | 0.5        | 0.43±0.06  | 0.4        |
| C16:1n7c       | 10.1±1.71  | 12.33±3.12 | 10.63±2.5  | 11.8±2.08  | 13.07±1.91 |
| C17:0          | 2.33±0.29  | 2.07±0.49  | 2.3±0.26   | 2.3±0.1    | 2.2±0.26   |
| C17:1          | 0.1±0.17   | 0.23±0.21  | 0.23±0.21  | 0.3        | 0.27±0.06  |
| C18:0          | 10.03±1.42 | 8.27±2.12  | 9.57±1.81  | 9.23±0.58  | 8.43±0.55  |
| C18:1n9t       | 0.03±0.06  | 0.03±0.06  | 0          | 0          | 0          |
| C18:1n9c       | 11.1±1.8   | 10.23±1.14 | 13.27±0.9  | 11.17±2.12 | 10.97±0.81 |
| C18:1n7        | 4.7±0.46   | 4.63±0.35  | 4.6±0.36   | 4.83±0.38  | 4.93±0.21  |
| C18:2n6t       | 0          | 0.07±0.12  | 0.17±0.29  | 0          | 0.1±0.17   |
| C18:2n6c       | 1          | 1.17±0.15  | 1.13±0.15  | 1±0.2      | 0.7±0.1    |
| C18:3n6        | 0.13±0.23  | 0.27±0.23  | 0.13±0.23  | 0.2±0.17   | 0.3        |
| C18:3n3        | 0.1±0.17   | 0.27±0.25  | 0.13±0.23  | 0          | 0.07±0.12  |
| C18:4n3        | 0.1±0.17   | 0.47±0.57  | 0.23±0.4   | 0          | 0.07±0.12  |
| C20:0          | 0.83±0.15  | 0.7±0.1    | 0.77±0.15  | 0.6±0.1    | 0.8±0.26   |
| C20:1n9        | 1.3±0.44   | 1.03±0.21  | 1.07±0.23  | 1.1±0.1    | 1.17±0.06  |
| C20:2n6        | 0.3±0.26   | 0.43±0.21  | 0.23±0.25  | 0.57±0.12  | 0.8±0.1    |
| C21:0          | 0          | 0          | 0          | 0          | 0          |
| C20:3n6        | 0.1±0.17   | 0.07±0.12  | 0          | 0.1±0.17   | 0.5±0      |
| C20:4n6        | 0.1±0.17   | 0.2±0.35   | 0.1±0.17   | 0          | 0          |
| C20:3n3        | 0          | 0          | 0          | 0          | 0          |
| C20:4n3        | 0          | 0.17±0.29  | 0.1±0.17   | 0          | 0          |
| C20:5n3        | 0.63±0.78  | 2.7±2.95   | 1±1.18     | 0.7±0.2    | 0.4±0.46   |
| C22:0          | 0.3±0.26   | 0.3±0.1    | 0.1±0.17   | 0.23±0.21  | 0.3        |
| C22:1n11       | 0          | 0.27±0.23  | 0          | 0.1±0.17   | 0.2±0.17   |
| C22:1n9        | 0.53±0.5   | 0.27±0.23  | 0.17±0.29  | 0.13±0.23  | 0.57±0.06  |
| C22:2n6        | 0          | 0          | 0          | 0          | 0          |
| C23:0          | 0.47±0.4   | 0.7±0.1    | 0.43±0.38  | 0.77±0.12  | 1.03±0.12  |
| C22:5n3        | 0          | 0.13±0.15  | 0.07±0.12  | 0.1±0.17   | 0.4±0.1    |
| C24:0          | 0.37±0.32  | 0.7±0.35   | 0.23±0.4   | 0.3±0.26   | 0.23±0.21  |
| C22:6n3        | 0.83±0.97  | 2.63±2.16  | 1.4±1.64   | 0.83±0.38  | 0.83±0.45  |
| C24:1n9        | 1.6±0.36   | 1.2±0.44   | 1.17±0.21  | 1.23±0.23  | 0.83±0.25  |

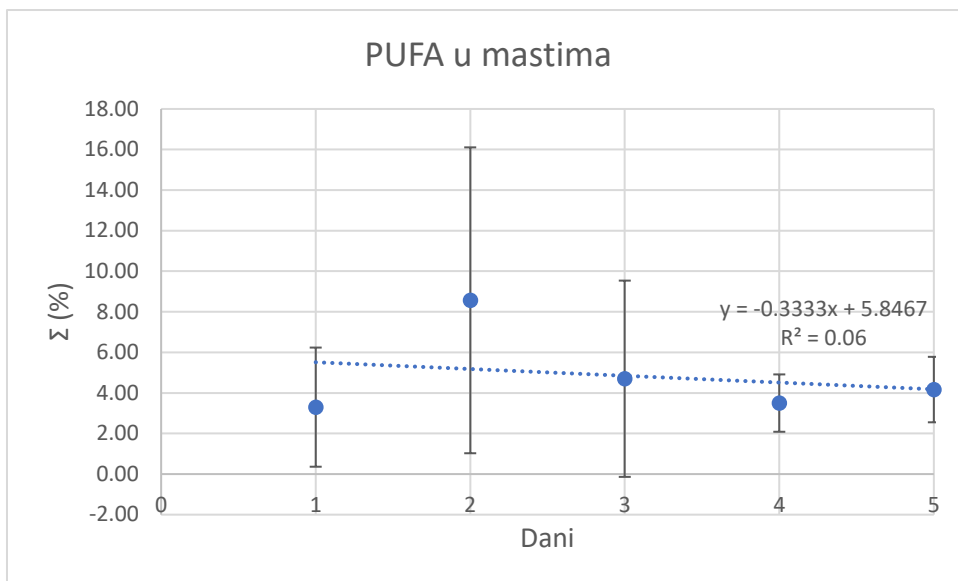
Nakon izračuna prosječnih vrijednosti i standardnih devijacija za skupine masnih kiselina (zasićene, mononezasićene, PUFA, HUFA), linearnom regresijom smo prikazali kretanje tih skupina u mastima kroz 5 dana skladištenja (slika 4., 5., 6. i 7.). Primjećen je rast mononezasićenih masnih kiselina, dok su ostale skupine bile u padu.



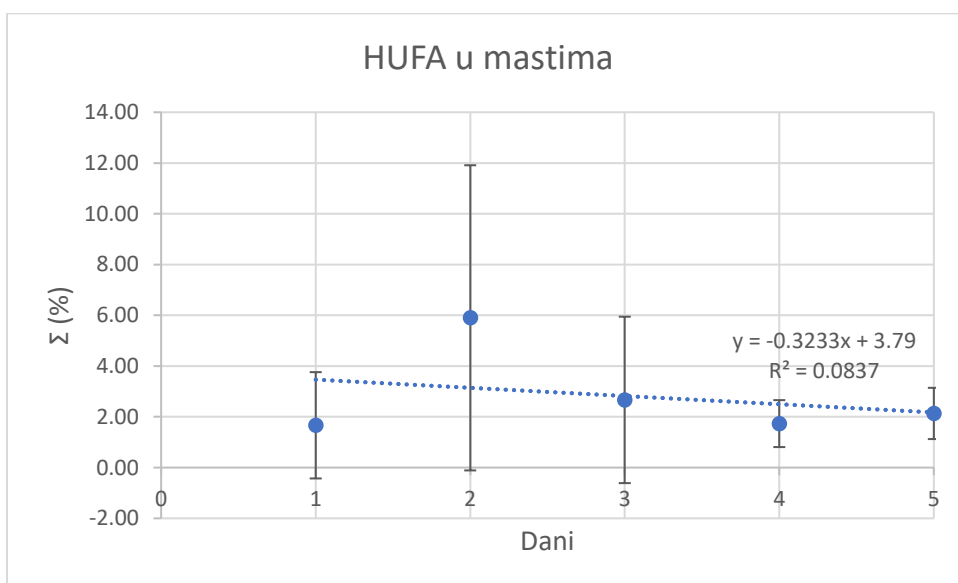
Slika 4. Linearna regresija ukupne prosječne vrijednosti zasićenih masnih kiselina u mastima u odnosu na trajanje skladištenja (1. – 5. dana) (prilog 2)



Slika 5. Linearna regresija ukupne prosječne vrijednosti mononezasićenih masnih kiselina u mastima u odnosu na trajanje skladištenja (1. – 5. dana) (prilog 2)



Slika 6. Linearna regresija ukupne prosječne vrijednosti polinezasićenih masnih kiselina (PUFA) u mastima u odnosu na trajanje skladištenja (1. – 5. dana) (prilog 2)



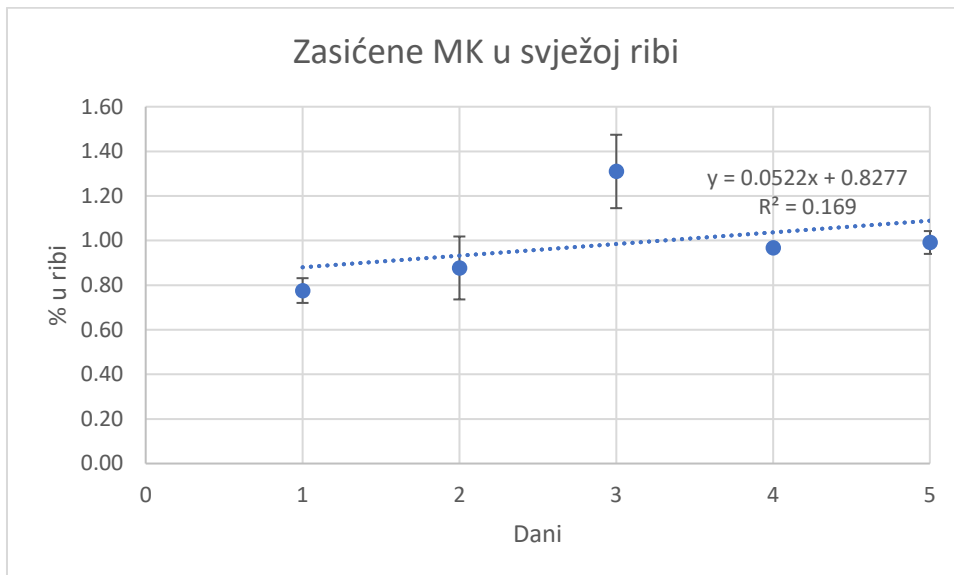
Slika 7. Linearna regresija ukupne prosječne vrijednosti visoko nezasićenih masnih kiselina (HUFA) u mastima u odnosu na trajanje skladištenja (1. – 5. dana) (prilog 2)

Nakon izračuna postotka masnih kiselina u uzorcima svježe srdele, izračunali smo njihovu prosječnu srednju vrijednost i standardnu devijaciju (tablica 7).

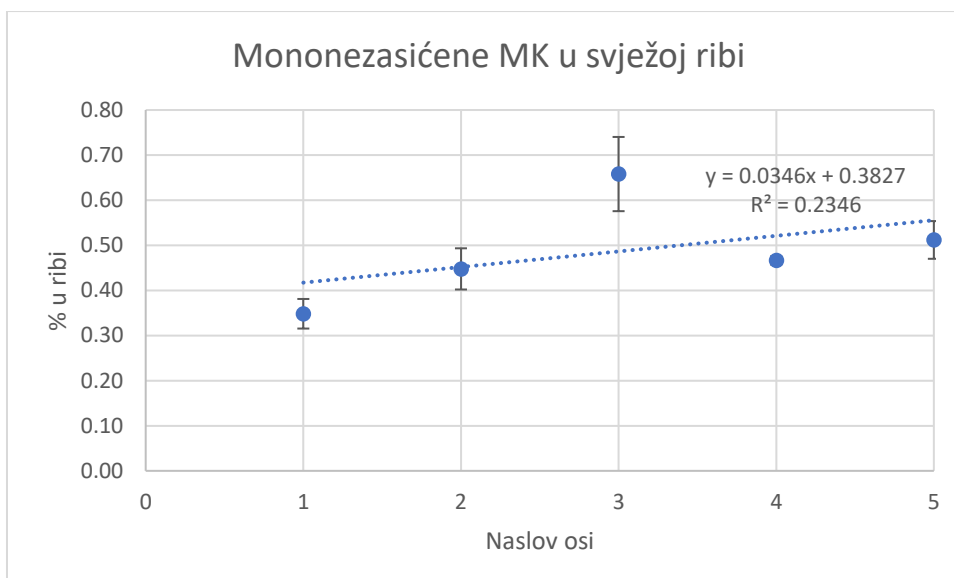
Tablica 7. Prosječne vrijednosti masnih kiselina (g MK/100 g ribe) u svježoj srdeli (tijekom skladištenja u trajanju od 5 dana)

| MK% težine ribe | R         | Fa        | Fb        | Fc        | Fd        |
|-----------------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|
| C14:0           | 0.15±0.02 | 0.19±0.02 | 0.24±0.03 | 0.2±0.02  | 0.22      |
| C14:1           | 0         | 0         | 0         | 0         | 0         |
| C15:0           | 0.02±0    | 0.02±0.01 | 0.03±0.01 | 0.02      | 0.02      |
| C15:1           | 0         | 0         | 0         | 0         | 0         |
| C16:0           | 0.44±0.05 | 0.48±0.1  | 0.76±0.1  | 0.54±0.02 | 0.54±0.04 |
| C16:1n7t        | 0         | 0.01      | 0.01      | 0.01      | 0.01      |
| C16:1n7c        | 0.12±0.02 | 0.18±0.05 | 0.22±0.05 | 0.18±0.03 | 0.21±0.03 |
| C17:0           | 0.03      | 0.03±0.01 | 0.05±0.01 | 0.03      | 0.03      |
| C17:1           | 0         | 0         | 0         | 0         | 0         |
| C18:0           | 0.12±0.02 | 0.12±0.03 | 0.2±0.04  | 0.14±0.01 | 0.13±0.01 |
| C18:1n9t        | 0         | 0         | 0         | 0         | 0         |
| C18:1n9c        | 0.13±0.02 | 0.15±0.02 | 0.28±0.02 | 0.17±0.03 | 0.17±0.01 |
| C18:1n7         | 0.05±0.01 | 0.07±0.01 | 0.1±0.01  | 0.07±0.01 | 0.08      |
| C18:2n6t        | 0         | 0         | 0±0.01    | 0         | 0         |
| C18:2n6c        | 0.01      | 0.02      | 0.02      | 0.02      | 0.01      |
| C18:3n6         | 0         | 0         | 0         | 0         | 0         |
| C18:3n3         | 0         | 0         | 0         | 0         | 0         |
| C18:4n3         | 0         | 0.01±0.01 | 0±0.01    | 0         | 0         |
| C20:0           | 0.01      | 0.01      | 0.02      | 0.01      | 0.01      |
| C20:1n9         | 0.02±0.01 | 0.02      | 0.02      | 0.02      | 0.02      |
| C20:2n6         | 0         | 0.01      | 0±0.01    | 0.01      | 0.01      |
| C21:0           | 0         | 0         | 0         | 0         | 0         |
| C20:3n6         | 0         | 0         | 0         | 0         | 0.01      |
| C20:4n6         | 0         | 0±0.01    | 0         | 0         | 0         |
| C20:3n3         | 0         | 0         | 0         | 0         | 0         |
| C20:4n3         | 0         | 0         | 0         | 0         | 0         |
| C20:5n3         | 0.01±0.01 | 0.04±0.04 | 0.02±0.02 | 0.01      | 0.01±0.01 |
| C22:0           | 0         | 0         | 0         | 0         | 0         |
| C22:1n11        | 0         | 0         | 0         | 0         | 0         |
| C22:1n9         | 0.03±0.01 | 0.04      | 0.07±0.01 | 0.05      | 0.01      |
| C22:2n6         | 0         | 0         | 0         | 0         | 0         |
| C23:0           | 0.05      | 0.05      | 0.1±0.01  | 0.05      | 0.02      |
| C22:5n3         | 0         | 0         | 0         | 0         | 0.01      |
| C24:0           | 0         | 0.01±0.01 | 0±0.01    | 0         | 0         |
| C22:6n3         | 0.01±0.01 | 0.04±0.03 | 0.03±0.03 | 0.01±0.01 | 0.01±0.01 |
| C24:1n9         | 0.02      | 0.02±0.01 | 0.02      | 0.02      | 0.01      |

Za prikaz linearne regresije kretanja skupina masnih kiselina u svježoj ribi, kroz 5 dana skladištenja, korišten je isti postupak kao ranije (slika 8., 9., 10. i 11.). Primjećen je porast zasićenih i mononezasićenih masnih kiselina, dok su polinezasićene i visoko nezasićene masne kiseline opadale vremenom.

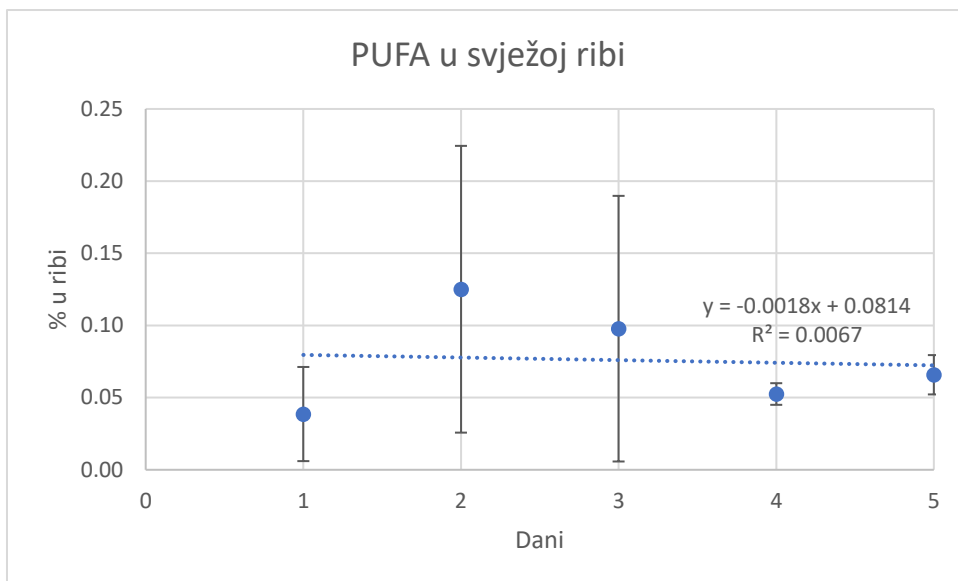


Slika 8. Linearna regresija ukupne prosječne vrijednosti zasićenih masnih kiselina u svježoj ribi u odnosu na trajanje skladištenja (1. – 5. dana) (prilog 3)

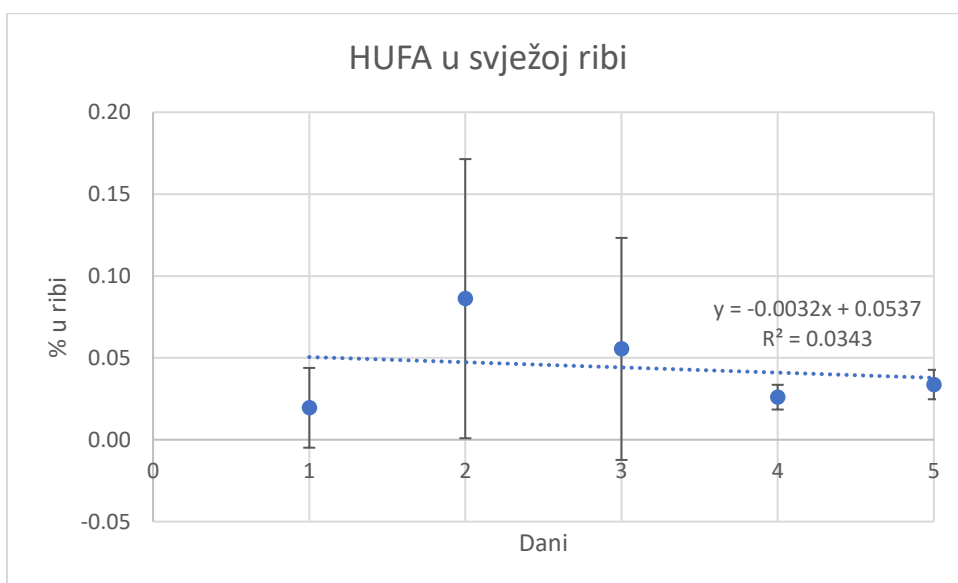


Slika 9. Linearna regresija ukupne prosječne vrijednosti mononezasićenih masnih kiselina u svježoj ribi u odnosu na trajanje skladištenja (1. – 5. dana) (prilog 3)





Slika 10. Linearna regresija ukupne prosječne vrijednosti polinezasićenih masnih kiselina (PUFA) u svježoj ribi u odnosu na trajanje skladištenja (1. – 5. dana) (prilog 3)



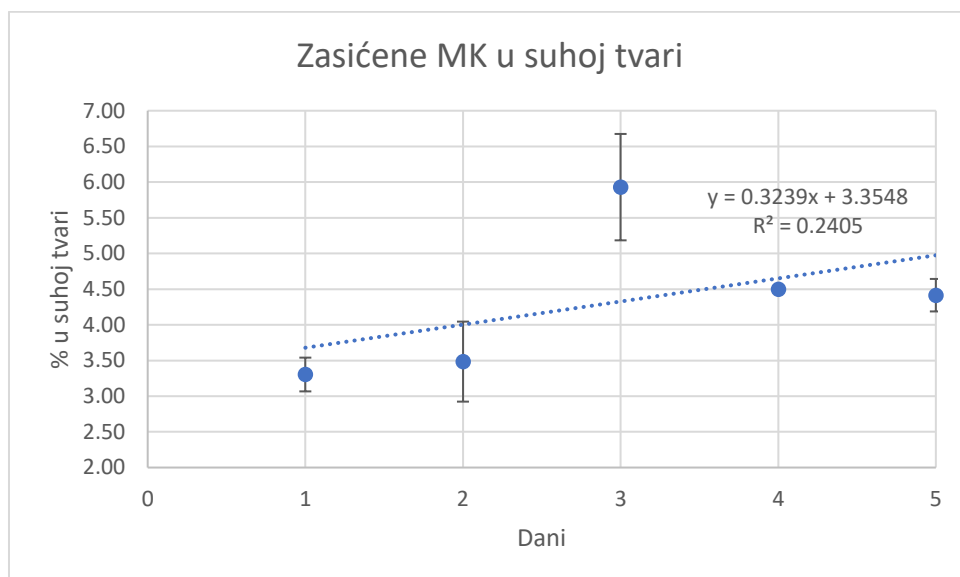
Slika 11. Linearna regresija ukupne prosječne vrijednosti visoko nezasićenih masnih kiselina (HUFA) u svježoj ribi u odnosu na trajanje skladištenja (1. – 5. dana) (prilog 3)

Nakon izračuna postotka masnih kiselina u suhoj tvari svježih srdele, izračunali smo njihovu prosječnu srednju vrijednost i standardnu devijaciju (tablica 9).

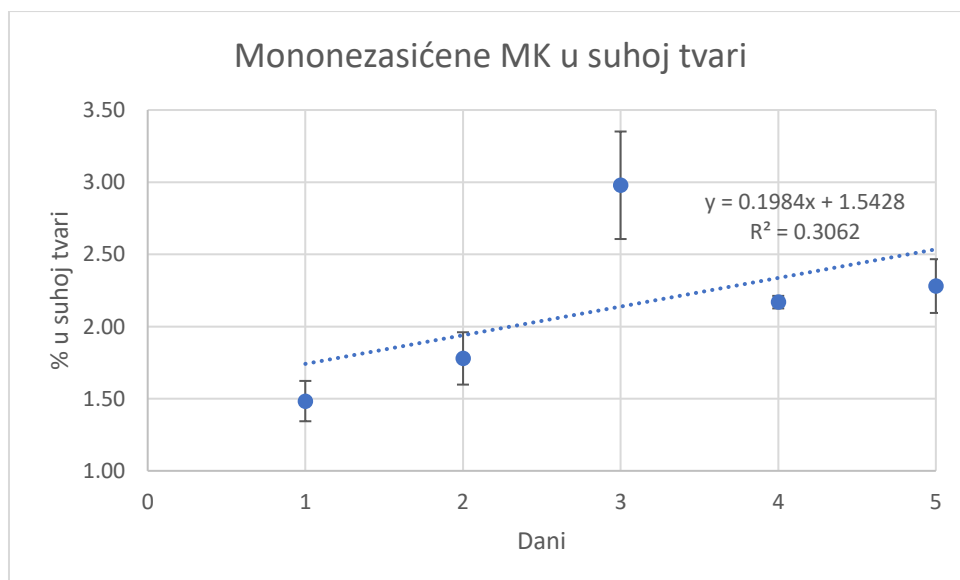
Tablica 9. Prosječne vrijednosti masnih kiselina (g MK/100 g suhe tvari ribe) u suhoj tvari kod svježe srdele (tijekom skladištenja u trajanju od 5 dana)

| MK% u suhoj tvari | R         | Fa        | Fb        | Fc        | Fd        |
|-------------------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|
| C14:0             | 0.65±0.1  | 0.75±0.06 | 1.1±0.14  | 0.94±0.1  | 0.99±0.02 |
| C14:1             | 0         | 0         | 0         | 0         | 0         |
| C15:0             | 0.08±0.01 | 0.08±0.02 | 0.14±0.04 | 0.1±0.01  | 0.1±0.02  |
| C15:1             | 0         | 0         | 0         | 0         | 0         |
| C16:0             | 1.86±0.23 | 1.91±0.39 | 3.42±0.47 | 2.52±0.11 | 2.42±0.18 |
| C16:1n7t          | 0.01±0.01 | 0.02      | 0.05      | 0.03      | 0.03      |
| C16:1n7c          | 0.5±0.09  | 0.72±0.18 | 1±0.24    | 0.82±0.14 | 0.92±0.13 |
| C17:0             | 0.12±0.01 | 0.12±0.03 | 0.22±0.02 | 0.16±0.01 | 0.15±0.02 |
| C17:1             | 0±0.01    | 0.01±0.01 | 0.02±0.02 | 0.02      | 0.02      |
| C18:0             | 0.5±0.07  | 0.48±0.12 | 0.9±0.17  | 0.64±0.04 | 0.59±0.04 |
| C18:1n9t          | 0         | 0         | 0         | 0         | 0         |
| C18:1n9c          | 0.55±0.09 | 0.59±0.07 | 1.25±0.08 | 0.78±0.15 | 0.77±0.06 |
| C18:1n7           | 0.23±0.02 | 0.27±0.02 | 0.43±0.03 | 0.34±0.03 | 0.35±0.01 |
| C18:2n6t          | 0         | 0±0.01    | 0.02±0.03 | 0         | 0.01±0.01 |
| C18:2n6c          | 0.05      | 0.07±0.01 | 0.11±0.01 | 0.07±0.01 | 0.05±0.01 |
| C18:3n6           | 0.01±0.01 | 0.02±0.01 | 0.01±0.02 | 0.01±0.01 | 0.02      |
| C18:3n3           | 0±0.01    | 0.02±0.01 | 0.01±0.02 | 0         | 0±0.01    |
| C18:4n3           | 0±0.01    | 0.03±0.03 | 0.02±0.04 | 0         | 0±0.01    |
| C20:0             | 0.04±0.01 | 0.04±0.01 | 0.07±0.01 | 0.04±0.01 | 0.06±0.02 |
| C20:1n9           | 0.06±0.02 | 0.06±0.01 | 0.1±0.02  | 0.08±0.01 | 0.08      |
| C20:2n6           | 0.01±0.01 | 0.03±0.01 | 0.02±0.02 | 0.04±0.01 | 0.06±0.01 |
| C21:0             | 0         | 0         | 0         | 0         | 0         |
| C20:3n6           | 0±0.01    | 0±0.01    | 0         | 0.01±0.01 | 0.04      |
| C20:4n6           | 0±0.01    | 0.01±0.02 | 0.01±0.02 | 0         | 0         |
| C20:3n3           | 0         | 0         | 0         | 0         | 0         |
| C20:4n3           | 0         | 0.01±0.02 | 0.01±0.02 | 0         | 0         |
| C20:5n3           | 0.03±0.04 | 0.16±0.17 | 0.09±0.11 | 0.05±0.01 | 0.03±0.03 |
| C22:0             | 0.01±0.01 | 0.02±0.01 | 0.01±0.02 | 0.02±0.01 | 0.02      |
| C22:1n11          | 0         | 0.02±0.01 | 0         | 0.01±0.01 | 0.01±0.01 |
| C22:1n9           | 0.14±0.03 | 0.17±0.01 | 0.32±0.03 | 0.23±0.02 | 0.04      |
| C22:2n6           | 0         | 0         | 0         | 0         | 0         |
| C23:0             | 0.22±0.02 | 0.18±0.01 | 0.45±0.04 | 0.23±0.01 | 0.07±0.01 |
| C22:5n3           | 0         | 0.01±0.01 | 0.01±0.01 | 0.01±0.01 | 0.03±0.01 |
| C24:0             | 0.02±0.02 | 0.04±0.02 | 0.02±0.04 | 0.02±0.02 | 0.02±0.01 |
| C22:6n3           | 0.04±0.05 | 0.15±0.13 | 0.13±0.15 | 0.06±0.03 | 0.06±0.03 |
| C24:1n9           | 0.08±0.02 | 0.07±0.03 | 0.11±0.02 | 0.09±0.02 | 0.06±0.02 |

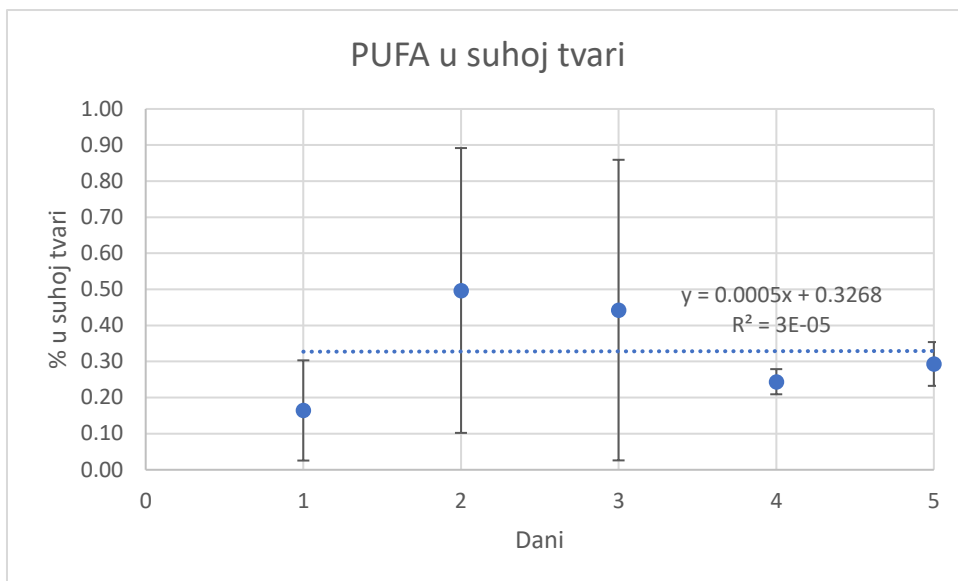
Za prikaz linearne regresije kretanja skupina masnih kiselina u suhoj tvari svježe skladištene srdele, kroz 5 dana skladištenja, korišten je isti postupak kao ranije (slika 12, 13, 15 i 15). Primjećeno je opadanje visoko nezasićenih masnih kiselina dok je ostalima količina bila u porastu tijekom 120 dana skladištenja.



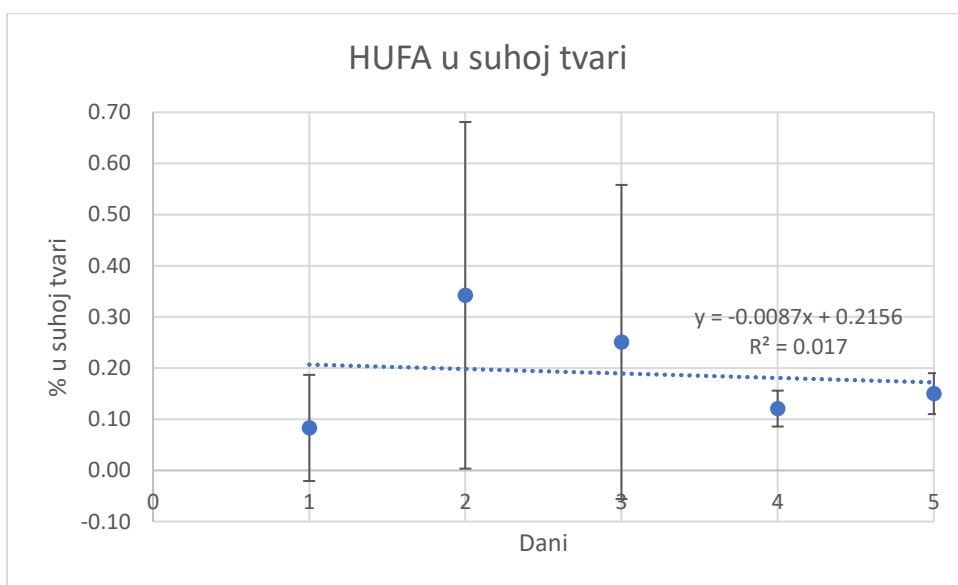
Slika 12. Linearna regresija ukupne prosječne vrijednosti zasićenih masnih kiselina u suhoj tvari svježe srdele u odnosu na trajanje skladištenja (1. – 5. dana) (prilog 4)



Slika 13. Linearna regresija ukupne prosječne vrijednosti mononezasićenih masnih kiselina u suhoj tvari svježe srdele u odnosu na trajanje skladištenja (1. – 5. dana) (prilog 4)



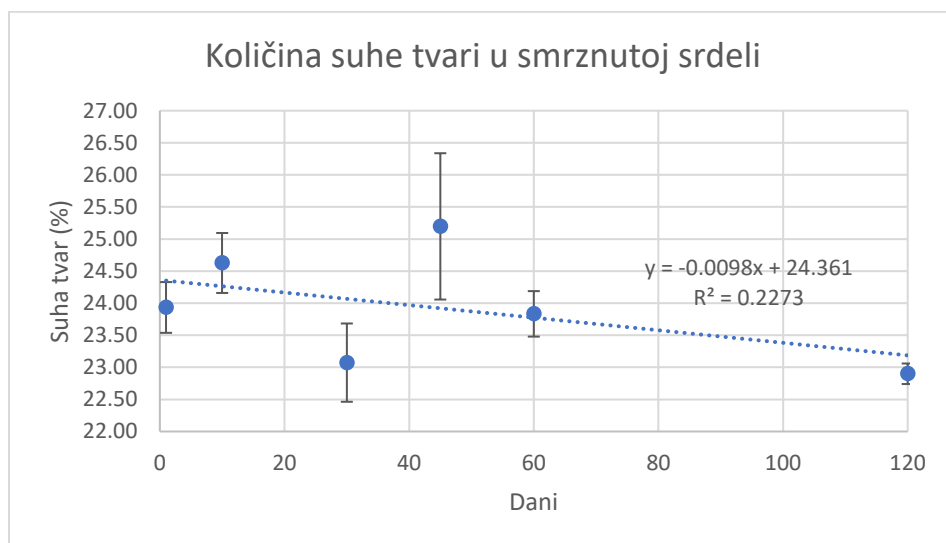
Slika 14. Linearna regresija ukupne prosječne vrijednosti polinezasićenih masnih kiselina (PUFA) u suhoj tvari svježe srdele u odnosu na trajanje skladištenja (1. – 5. dana) (prilog 4)



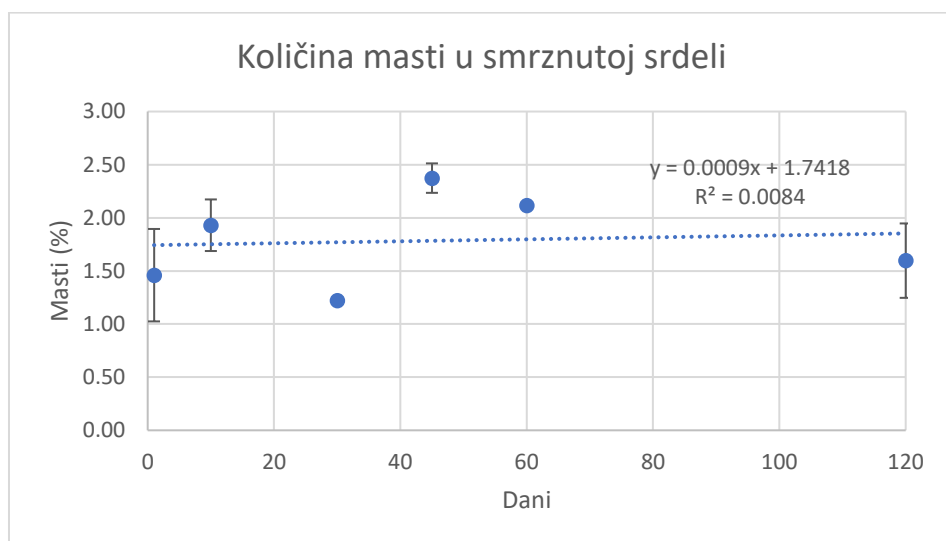
Slika 15. Linearna regresija ukupne prosječne vrijednosti visoko nezasićenih masnih kiselina (HUFA) u suhoj tvari svježe srdele u odnosu na trajanje skladištenja (1. – 5. dana) (prilog 4)

#### 5.4. Masno-kiselinski sastav smrznute srdele za vrijeme skladištenja

Postupak za određivanje prosječnih vrijednosti i standardne devijacije suhe tvari i ukupnih količina masti kod IQF smrznute srdele bio je isti kao i kod svježe srdele (slika 16. i 17.). Tijekom 120 dana skladištenja, primjećen je pad u količini suhe tvari, dok je ukupna mast bila u porastu. Količine analiziranih masnih kiselina u ukupnim mastima smrznute srdele prikazane su u tablici 12.



Slika 16. Linearna regresija količine suhe tvari u smrznutoj srdeli u odnosu na trajanje skladištenja (1. – 120. dana) (prilog 5)

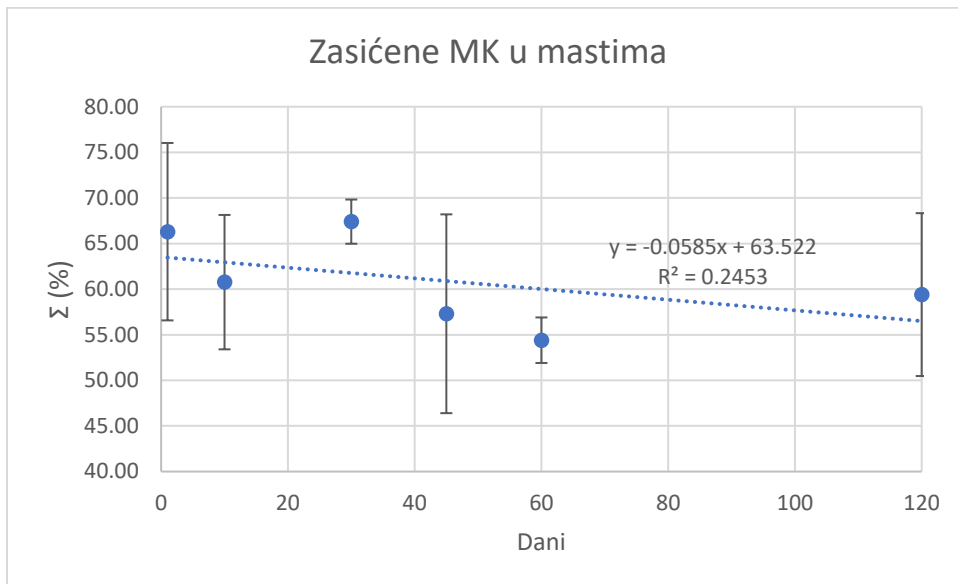


Slika 17. Linearna regresija količine masti u smrznutoj srdeli u odnosu na trajanje skladištenja (1. – 120. dana) (prilog 5)

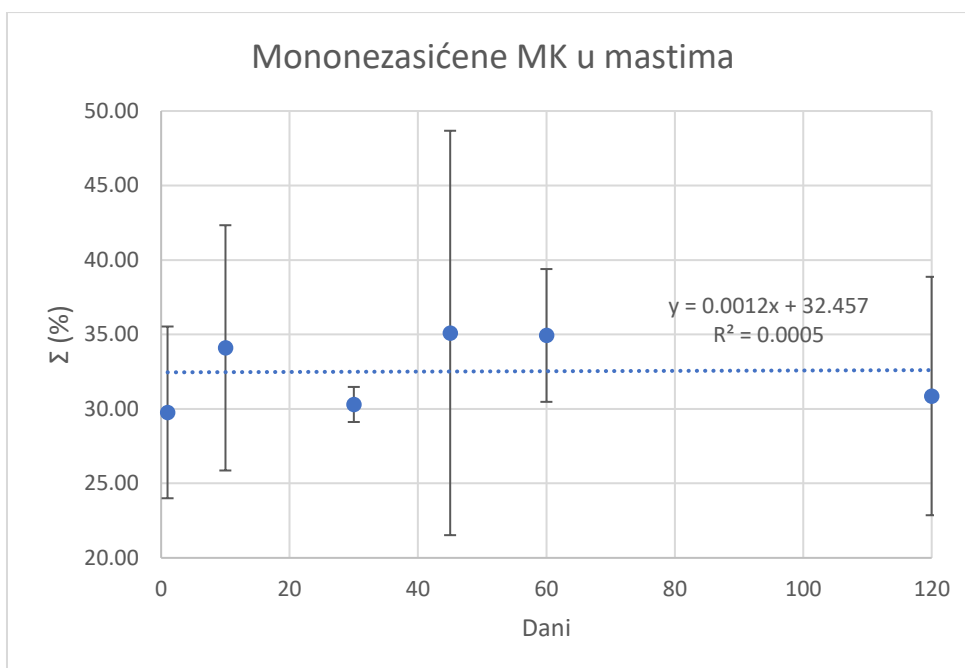
Tablica 12. Prosječne vrijednosti masnih kiselina (%) u ukupnim mastima u smrznutoj srdeli (tijekom skladištenja u trajanju od 120 dana)

| Masne kiseline | R          | F1         | F2         | F3        | F4         | F5         |
|----------------|------------|------------|------------|-----------|------------|------------|
| C14:0          | 12.97±2.06 | 12.67±2.24 | 13.77±0.5  | 9.27±4.01 | 11±0.79    | 9.03±1.1   |
| C14:1          | 0          | 0          | 0          | 0.1±0.1   | 0.03±0.06  | 0          |
| C15:0          | 1.6±0.26   | 1.2±0.3    | 1.63±0.12  | 1.23±0.46 | 1.2±0.1    | 1.43±0.4   |
| C15:1          | 0          | 0          | 0          | 0         | 0          | 0.17±0.15  |
| C16:0          | 37.4±4.55  | 33.53±2.31 | 38.57±0.65 | 33.77±2.9 | 30.93±0.85 | 35.57±5.01 |
| C16:1n7t       | 0.3±0.26   | 0.4        | 0.43±0.06  | 0.47±0.06 | 0.4        | 0.43±0.06  |
| C16:1n7c       | 10.1±1.71  | 11.6±2.41  | 10.47±0.21 | 9.2±2.86  | 12.5±2.09  | 8.13±4.82  |
| C17:0          | 2.33±0.29  | 2±0.26     | 2.5±0.1    | 2.07±0.51 | 1.9±0.2    | 2.2±0.5    |
| C17:1          | 0.1±0.17   | 0.27±0.06  | 0.1±0.17   | 0.37±0.06 | 0.3        | 0.27±0.06  |
| C18:0          | 10.03±1.42 | 9.13±1.4   | 9.27±0.67  | 9.07±2.47 | 7.03±0.38  | 8.73±1.17  |
| C18:1n9t       | 0.03±0.06  | 0          | 0          | 0.1±0.1   | 0          | 0.03±0.06  |
| C18:1n9c       | 11.1±1.8   | 14.7±4.74  | 12.4±0.2   | 17.5±8.35 | 12.8±1.21  | 14.17±0.71 |
| C18:1n7        | 4.7±0.46   | 4.73±0.38  | 4.6±0.26   | 4.07±0.55 | 4.9±0.36   | 3.97±0.91  |
| C18:2n6t       | 0          | 0.07±0.12  | 0          | 0.17±0.15 | 0.2        | 0.13±0.12  |
| C18:2n6c       | 1          | 1.7±1.56   | 1.03±0.15  | 1.83±1.27 | 1.33±0.25  | 1.3±0.26   |
| C18:3n6        | 0.13±0.23  | 0.3±0.1    | 0          | 0.33±0.12 | 0.4        | 0.23±0.21  |
| C18:3n3        | 0.1±0.17   | 0.1±0.17   | 0          | 0.37±0.06 | 0.43±0.06  | 0.47±0.15  |
| C18:4n3        | 0.1±0.17   | 0.07±0.12  | 0          | 0.33±0.12 | 0.6±0.1    | 0.5±0.17   |
| C20:0          | 0.83±0.15  | 0.9±0.36   | 0.7±0.1    | 0.6±0.2   | 0.8        | 0.7±0.1    |
| C20:1n9        | 1.3±0.44   | 1.1±0.17   | 1±0.1      | 1.27±0.38 | 1.43±0.32  | 1.47±0.15  |
| C20:2n6        | 0.3±0.26   | 0.43±0.21  | 0.33±0.29  | 0.13±0.12 | 0.2        | 0.13±0.12  |
| C21:0          | 0          | 0          | 0          | 0         | 0          | 0.17±0.29  |
| C20:3n6        | 0.1±0.17   | 0.07±0.12  | 0          | 0         | 0.13±0.15  | 0.1±0.17   |
| C20:4n6        | 0.1±0.17   | 0.17±0.15  | 0          | 0.13±0.15 | 0.33±0.06  | 0.2±0.2    |
| C20:3n3        | 0          | 0          | 0          | 0         | 0          | 0          |
| C20:4n3        | 0          | 0          | 0          | 0.07±0.12 | 0.27±0.06  | 0.17±0.15  |
| C20:5n3        | 0.63±0.78  | 0.53±0.32  | 0          | 1.3±0.52  | 2.53±0.47  | 1.77±0.59  |
| C22:0          | 0.3±0.26   | 0.33±0.06  | 0.13±0.23  | 0.23±0.12 | 0.27±0.06  | 0.2±0.2    |
| C22:1n11       | 0          | 0          | 0          | 0.13±0.23 | 0.67±0.15  | 0.37±0.32  |
| C22:1n9        | 0.53±0.5   | 0.3±0.17   | 0          | 0.7±0.36  | 0.6        | 0.17±0.21  |
| C22:2n6        | 0          | 0          | 0          | 0         | 0          | 0          |
| C23:0          | 0.47±0.4   | 0.63±0.38  | 0.83±0.06  | 0.67±0.06 | 0.6        | 0.7±0.1    |
| C22:5n3        | 0          | 0.3±0.1    | 0.13±0.23  | 0.2±0.2   | 0.2        | 0.17±0.15  |
| C24:0          | 0.37±0.32  | 0.37±0.06  | 0          | 0.4±0.17  | 0.67±0.12  | 0.67±0.06  |
| C22:6n3        | 0.83±0.97  | 0.63±0.4   | 0          | 2.23±1.37 | 3.53±1.02  | 4.17±1.95  |
| C24:1n9        | 1.6±0.36   | 1±0.3      | 1.3±0.17   | 1.2±0.53  | 1.3±0.26   | 1.7±0.56   |

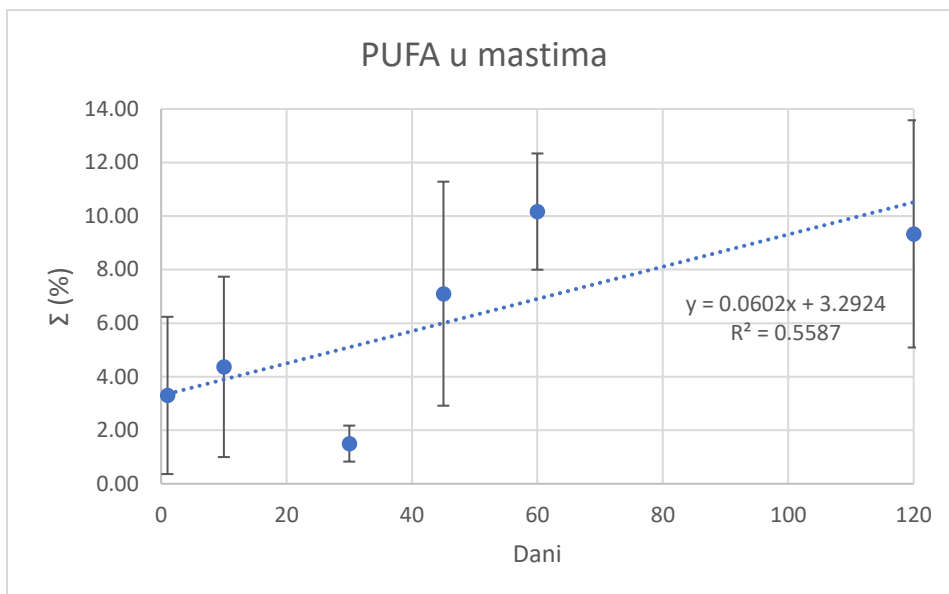
Nakon izračuna prosječnih vrijednosti i standardnih devijacija za skupine masnih kiselina prisutnih kod IQF smrznute srdele, linearnom regresijom smo prikazali kretanje tih skupina u mastima kroz 120 dana skladištenja (slika 18., 19., 20. i 21.). Primjećen je pad zasićenih masnih kiselina dok su ostale bile u porastu.



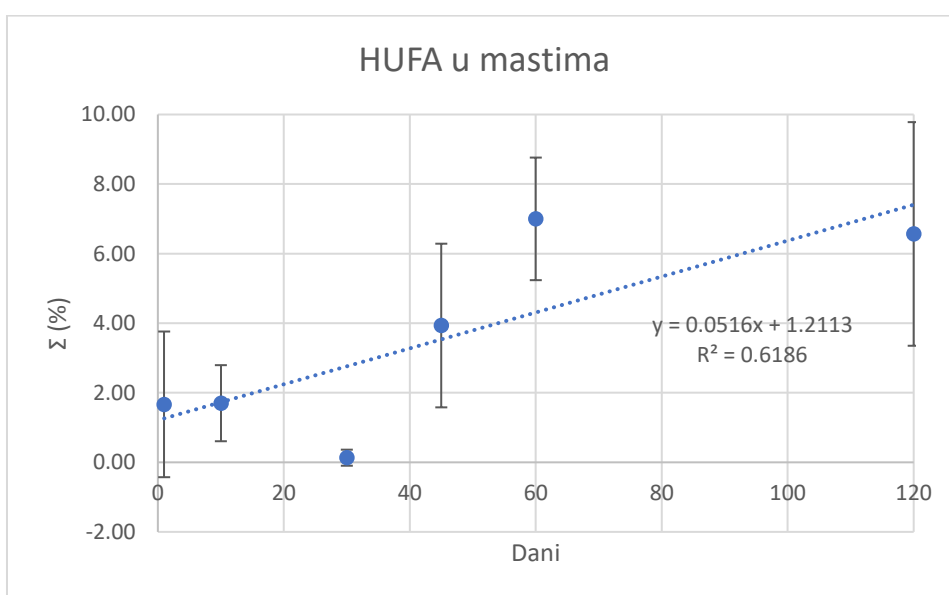
Slika 18. Linearna regresija ukupne prosječne vrijednosti zasićenih masnih kiselina u mastima smrznutih uzoraka srdele u odnosu na trajanje skladištenja (1. – 120. dana) (prilog 6)



Slika 19. Linearna regresija ukupne prosječne vrijednosti mononezasićenih masnih kiselina u mastima smrznutih uzoraka srdele u odnosu na trajanje skladištenja (1. – 120. dana) (prilog 6)



Slika 20. Linearna regresija ukupne prosječne vrijednosti polinezasićenih masnih kiselina (PUFA) u mastima smrznutih uzoraka srdele u odnosu na trajanje skladištenja (1. – 120. dana) (prilog 6)



Slika 21. Linearna regresija ukupne prosječne vrijednosti visoko nezasićenih masnih kiselina (HUFA) u mastima smrznutih uzoraka srdele u odnosu na trajanje skladištenja (1. – 120. dana) (prilog 6)

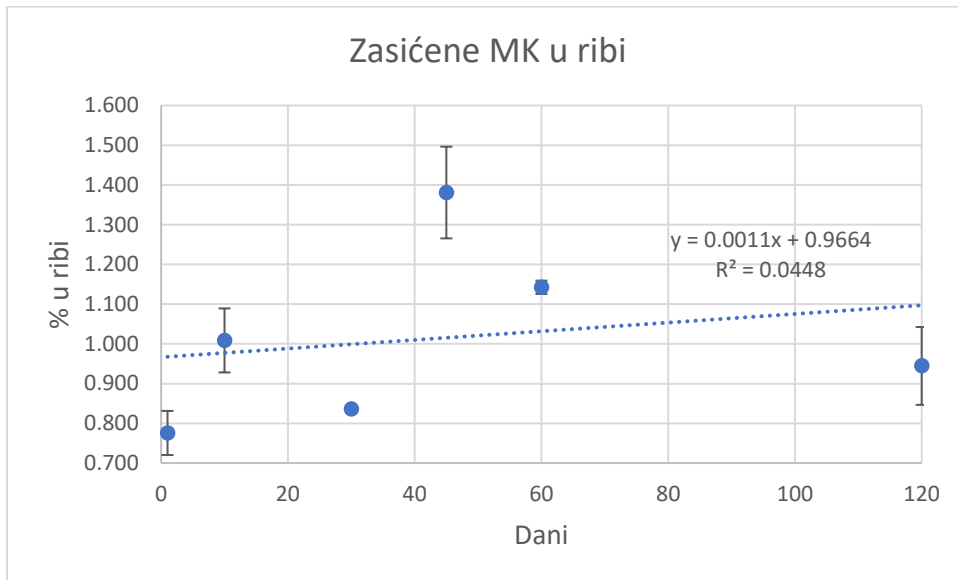
Za izračun postotka masnih kiselina u smrznutoj srdeli koristila se ista formula kao i ranije, nakon čega smo računali prosječnu srednju vrijednost i standardnu devijaciju (tablica 14).



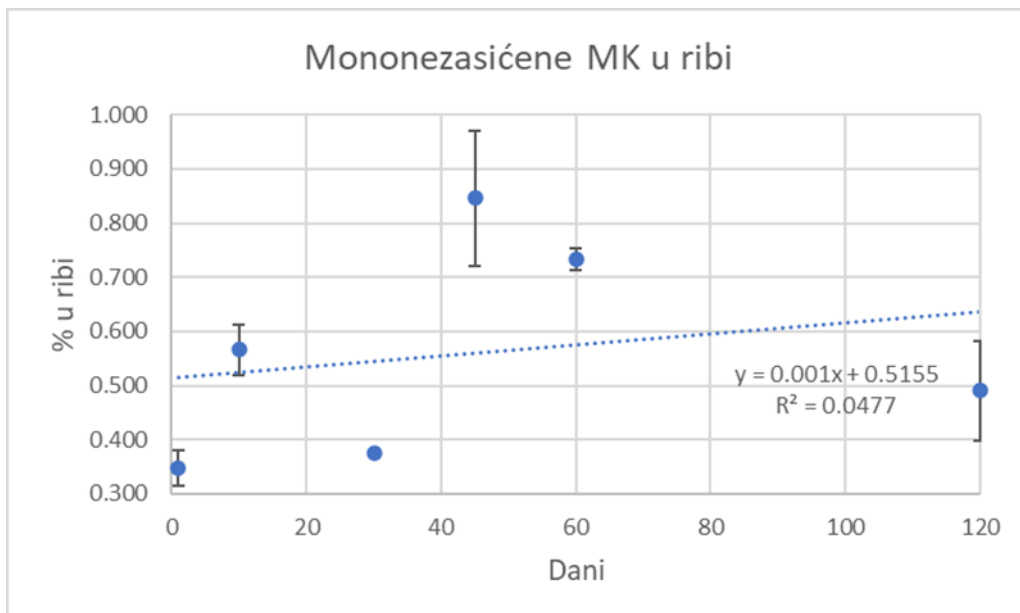
Tablica 14. Prosječne vrijednosti masnih kiselina (g MK/100 g ribe) u smrznutoj srdeli (tijekom skladištenja u trajanju od 120 dana)

| MK% težine ribe | R         | F1        | F2        | F3        | F4        | F5        |
|-----------------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|
| C14:0           | 0.15±0.02 | 0.21±0.04 | 0.17±0.01 | 0.22±0.1  | 0.23±0.02 | 0.14±0.02 |
| C14:1           | 0±0       | 0±0       | 0±0       | 0±0       | 0±0       | 0±0       |
| C15:0           | 0.02±0    | 0.02±0    | 0.02±0    | 0.03±0.01 | 0.03±0    | 0.02±0.01 |
| C15:1           | 0±0       | 0±0       | 0±0       | 0±0       | 0±0       | 0±0       |
| C16:0           | 0.44±0.05 | 0.56±0.04 | 0.48±0.01 | 0.81±0.07 | 0.65±0.02 | 0.57±0.08 |
| C16:1n7t        | 0±0       | 0.01±0    | 0.01±0    | 0.01±0    | 0.01±0    | 0.01±0    |
| C16:1n7c        | 0.12±0.02 | 0.19±0.04 | 0.13±0    | 0.22±0.07 | 0.26±0.04 | 0.13±0.08 |
| C17:0           | 0.03±0    | 0.03±0    | 0.03±0    | 0.05±0.01 | 0.04±0    | 0.03±0.01 |
| C17:1           | 0±0       | 0±0       | 0±0       | 0.01±0    | 0.01±0    | 0±0       |
| C18:0           | 0.12±0.02 | 0.15±0.02 | 0.11±0.01 | 0.22±0.06 | 0.15±0.01 | 0.14±0.02 |
| C18:1n9t        | 0±0       | 0±0       | 0±0       | 0±0       | 0±0       | 0±0       |
| C18:1n9c        | 0.13±0.02 | 0.24±0.08 | 0.15±0    | 0.42±0.2  | 0.27±0.03 | 0.23±0.01 |
| C18:1n7         | 0.05±0.01 | 0.08±0.01 | 0.06±0    | 0.1±0.01  | 0.1±0.01  | 0.06±0.01 |
| C18:2n6t        | 0±0       | 0±0       | 0±0       | 0±0       | 0±0       | 0±0       |
| C18:2n6c        | 0.01±0    | 0.03±0.03 | 0.01±0    | 0.04±0.03 | 0.03±0.01 | 0.02±0    |
| C18:3n6         | 0±0       | 0±0       | 0±0       | 0.01±0    | 0.01±0    | 0±0       |
| C18:3n3         | 0±0       | 0±0       | 0±0       | 0.01±0    | 0.01±0    | 0.01±0    |
| C18:4n3         | 0±0       | 0±0       | 0±0       | 0.01±0    | 0.01±0    | 0.01±0    |
| C20:0           | 0.01±0    | 0.01±0.01 | 0.01±0    | 0.01±0    | 0.02±0    | 0.01±0    |
| C20:1n9         | 0.02±0.01 | 0.02±0    | 0.01±0    | 0.03±0.01 | 0.03±0.01 | 0.02±0    |
| C20:2n6         | 0±0       | 0.01±0    | 0±0       | 0±0       | 0±0       | 0±0       |
| C21:0           | 0±0       | 0±0       | 0±0       | 0±0       | 0±0       | 0±0       |
| C20:3n6         | 0±0       | 0±0       | 0±0       | 0±0       | 0±0       | 0±0       |
| C20:4n6         | 0±0       | 0±0       | 0±0       | 0±0       | 0.01±0    | 0±0       |
| C20:3n3         | 0±0       | 0±0       | 0±0       | 0±0       | 0±0       | 0±0       |
| C20:4n3         | 0±0       | 0±0       | 0±0       | 0±0       | 0.01±0    | 0±0       |
| C20:5n3         | 0.01±0.01 | 0.01±0.01 | 0±0       | 0.03±0.01 | 0.05±0.01 | 0.03±0.01 |
| C22:0           | 0±0       | 0.01±0    | 0±0       | 0.01±0    | 0.01±0    | 0±0       |
| C22:1n11        | 0±0       | 0±0       | 0±0       | 0±0.01    | 0.01±0    | 0.01±0.01 |
| C22:1n9         | 0.03±0.01 | 0±0       | 0±0       | 0.02±0.01 | 0.01±0    | 0±0       |
| C22:2n6         | 0±0       | 0±0       | 0±0       | 0±0       | 0±0       | 0±0       |
| C23:0           | 0.05±0    | 0.01±0.01 | 0.01±0    | 0.02±0    | 0.01±0    | 0.01±0    |
| C22:5n3         | 0±0       | 0±0       | 0±0       | 0±0       | 0±0       | 0±0       |
| C24:0           | 0±0       | 0.01±0    | 0±0       | 0.01±0    | 0.01±0    | 0.01±0    |
| C22:6n3         | 0.01±0.01 | 0.01±0.01 | 0±0       | 0.05±0.03 | 0.07±0.02 | 0.07±0.03 |
| C24:1n9         | 0.02±0    | 0.02±0    | 0.02±0    | 0.03±0.01 | 0.03±0.01 | 0.03±0.01 |

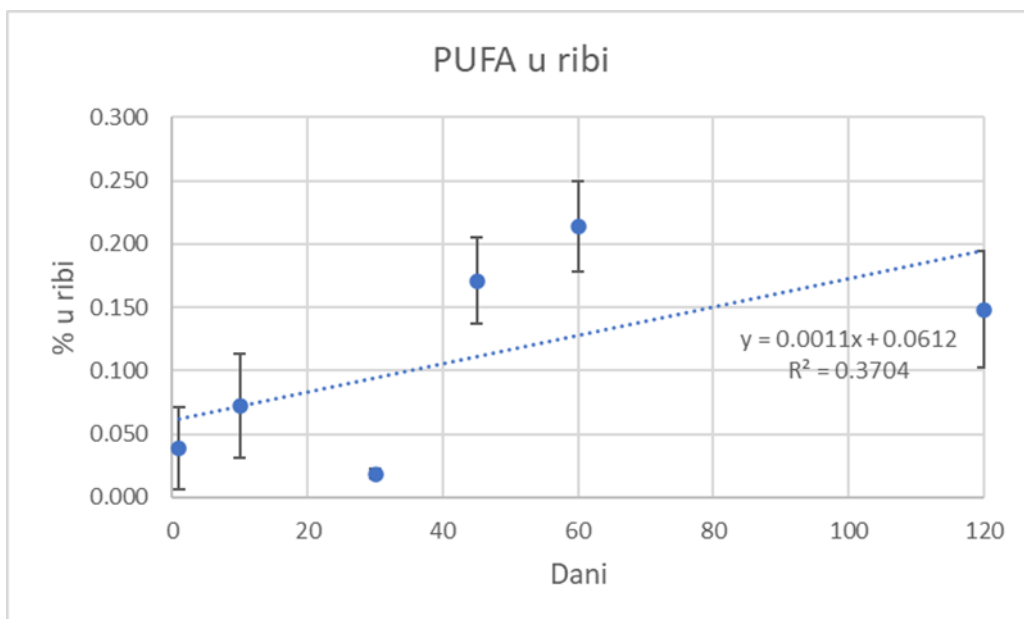
Linearnom regresijom prikazali smo kretanja skupina masnih kiselina u svježoj ribi, kroz 120 dana skladištenja na  $-18^{\circ}\text{C}$ . Za izračun je korišten isti postupak kao ranije (slika 22., 23., 24. i 25.). Primjećen je porast svih skupina masnih kiselina.



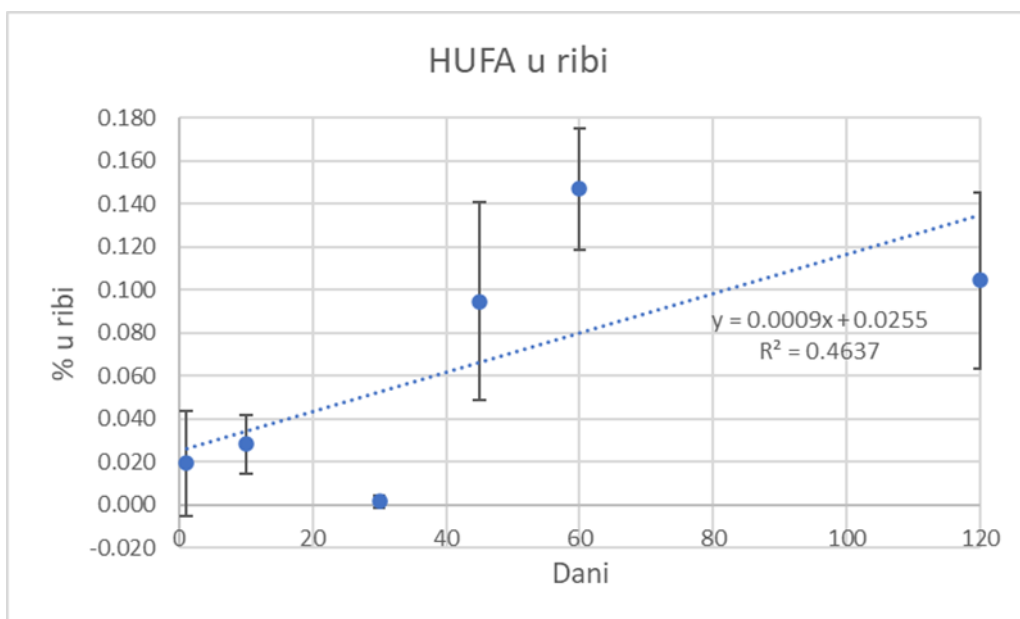
Slika 22. Linearna regresija ukupne prosječne vrijednosti zasićenih masnih kiselina u smrznutim uzorcima srdele u odnosu na trajanje skladištenja (1. – 120. dana) (prilog 7)



Slika 23. Linearna regresija ukupne prosječne vrijednosti mononezasićenih masnih kiselina u smrznutim uzorcima srdele u odnosu na trajanje skladištenja (1. – 120. dana) (prilog 7)



Slika 24. Linearna regresija ukupne prosječne vrijednosti polinezasićenih masnih kiselina (PUFA) u smrznutim uzorcima srdele u odnosu na trajanje skladištenja (1. – 120. dana) (prilog 7)



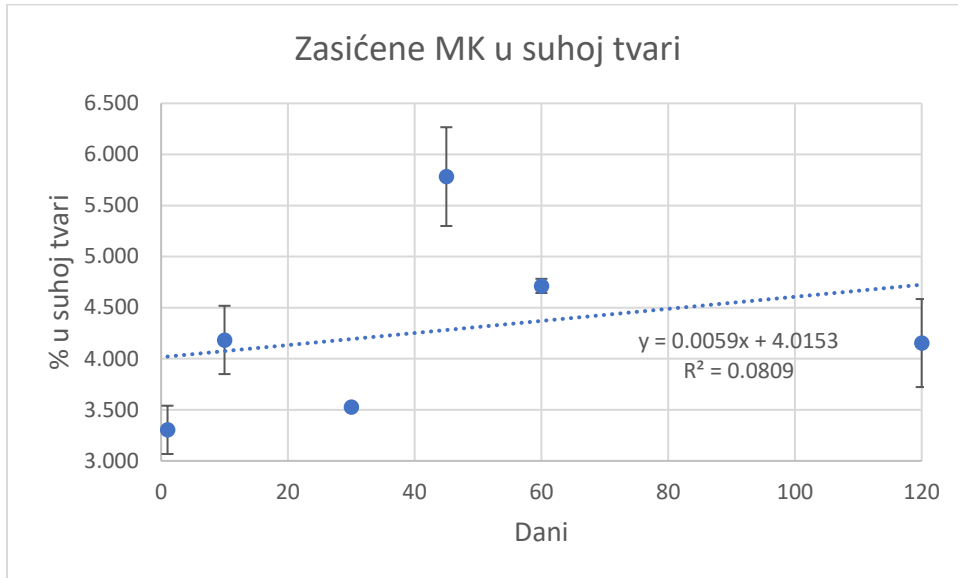
Slika 25. Linearna regresija ukupne prosječne vrijednosti visoko nezasićenih masnih kiselina (HUFA) u smrznutim uzorcima srdele u odnosu na trajanje skladištenja (1. – 120. dana) (prilog 7)

Nakon izračuna udjela masnih kiselina u suhoj tvari smrznute srdele, izračunali smo njihovu prosječnu srednju vrijednost i standardnu devijaciju (tablica 16).

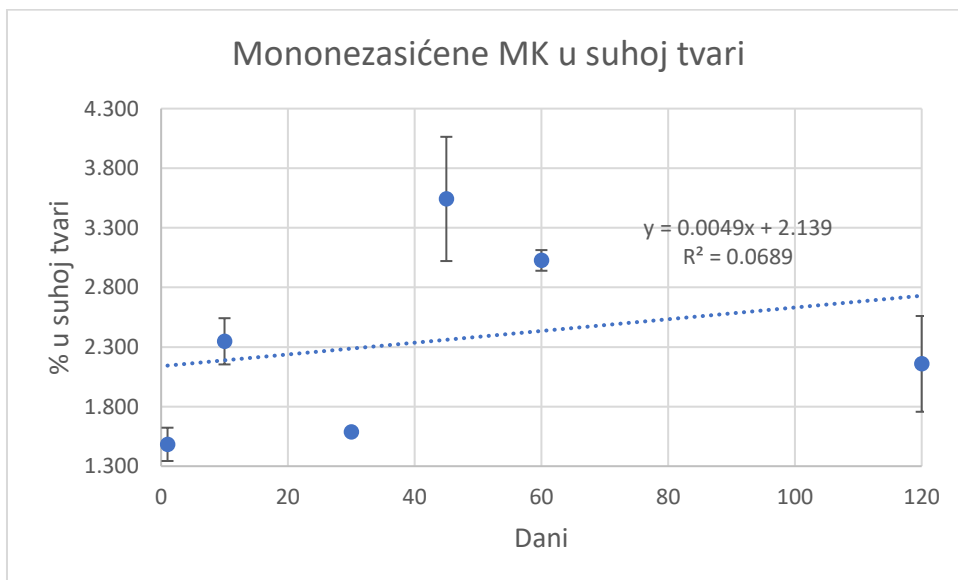
Tablica 16. Prosječne vrijednosti masnih kiselina (g MK/100 g suhe tvari ribe) u suhoj tvari kod smrznute srdele (tijekom skladištenja u trajanju od 120 dana)

| MK% u suhoj tvari | R         | F1        | F2        | F3        | F4        | F5        |
|-------------------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|
| C14:0             | 0.65±0.1  | 0.87±0.15 | 0.72±0.03 | 0.94±0.4  | 0.95±0.07 | 0.63±0.08 |
| C14:1             | 0         | 0         | 0         | 0.01±0.01 | 0±0.01    | 0         |
| C15:0             | 0.08±0.01 | 0.08±0.02 | 0.09±0.01 | 0.12±0.05 | 0.1±0.01  | 0.1±0.03  |
| C15:1             | 0         | 0         | 0         | 0         | 0         | 0.01±0.01 |
| C16:0             | 1.86±0.23 | 2.31±0.16 | 2.02±0.03 | 3.41±0.29 | 2.68±0.07 | 2.49±0.35 |
| C16:1n7t          | 0.01±0.01 | 0.03      | 0.02      | 0.05±0.01 | 0.03      | 0.03      |
| C16:1n7c          | 0.5±0.09  | 0.8±0.17  | 0.55±0.01 | 0.93±0.29 | 1.08±0.18 | 0.57±0.34 |
| C17:0             | 0.12±0.01 | 0.14±0.02 | 0.13±0.01 | 0.21±0.05 | 0.16±0.02 | 0.15±0.03 |
| C17:1             | 0±0.01    | 0.02      | 0.01±0.01 | 0.04±0.01 | 0.03      | 0.02      |
| C18:0             | 0.5±0.07  | 0.63±0.1  | 0.49±0.03 | 0.92±0.25 | 0.61±0.03 | 0.61±0.08 |
| C18:1n9t          | 0         | 0         | 0         | 0.01±0.01 | 0         | 0         |
| C18:1n9c          | 0.55±0.09 | 1.01±0.33 | 0.65±0.01 | 1.77±0.84 | 1.11±0.11 | 0.99±0.05 |
| C18:1n7           | 0.23±0.02 | 0.33±0.03 | 0.24±0.01 | 0.41±0.06 | 0.42±0.03 | 0.28±0.06 |
| C18:2n6t          | 0         | 0±0.01    | 0         | 0.02±0.02 | 0.02      | 0.01±0.01 |
| C18:2n6c          | 0.05±0    | 0.12±0.11 | 0.05±0.01 | 0.19±0.13 | 0.12±0.02 | 0.09±0.02 |
| C18:3n6           | 0.01±0.01 | 0.02±0.01 | 0         | 0.03±0.01 | 0.03      | 0.02±0.01 |
| C18:3n3           | 0±0.01    | 0.01±0.01 | 0         | 0.04±0.01 | 0.04±0.01 | 0.03±0.01 |
| C18:4n3           | 0±0.01    | 0±0.01    | 0         | 0.03±0.01 | 0.05±0.01 | 0.03±0.01 |
| C20:0             | 0.04±0.01 | 0.06±0.02 | 0.04±0.01 | 0.06±0.02 | 0.07      | 0.05±0.01 |
| C20:1n9           | 0.06±0.02 | 0.08±0.01 | 0.05±0.01 | 0.13±0.04 | 0.12±0.03 | 0.1±0.01  |
| C20:2n6           | 0.01±0.01 | 0.03±0.01 | 0.02±0.02 | 0.01±0.01 | 0.02      | 0.01±0.01 |
| C21:0             | 0         | 0         | 0         | 0         | 0         | 0.01±0.02 |
| C20:3n6           | 0±0.01    | 0±0.01    | 0         | 0         | 0.01±0.01 | 0.01±0.01 |
| C20:4n6           | 0±0.01    | 0.01±0.01 | 0         | 0.01±0.02 | 0.03±0.01 | 0.01±0.01 |
| C20:3n3           | 0         | 0         | 0         | 0         | 0         | 0         |
| C20:4n3           | 0         | 0         | 0         | 0.01±0.01 | 0.02±0.01 | 0.01±0.01 |
| C20:5n3           | 0.03±0.04 | 0.04±0.02 | 0         | 0.13±0.05 | 0.22±0.04 | 0.12±0.04 |
| C22:0             | 0.01±0.01 | 0.02      | 0.01±0.01 | 0.02±0.01 | 0.02±0.01 | 0.01±0.01 |
| C22:1n11          | 0         | 0         | 0         | 0.01±0.02 | 0.06±0.01 | 0.03±0.02 |
| C22:1n9           | 0.14±0.03 | 0.24±0.01 | 0         | 0.07±0.04 | 0.05      | 0.01±0.01 |
| C22:2n6           | 0         | 0         | 0         | 0         | 0         | 0         |
| C23:0             | 0.22±0.02 | 0.26±0.03 | 0.04      | 0.07±0.01 | 0.05      | 0.05±0.01 |
| C22:5n3           | 0         | 0.02±0.01 | 0.01±0.01 | 0.02±0.02 | 0.02      | 0.01±0.01 |
| C24:0             | 0.02±0.02 | 0.03      | 0         | 0.04±0.02 | 0.06±0.01 | 0.05      |
| C22:6n3           | 0.04±0.05 | 0.04±0.03 | 0         | 0.23±0.14 | 0.31±0.09 | 0.29±0.14 |
| C24:1n9           | 0.08±0.02 | 0.07±0.02 | 0.46±0.01 | 0.12±0.05 | 0.11±0.02 | 0.12±0.04 |

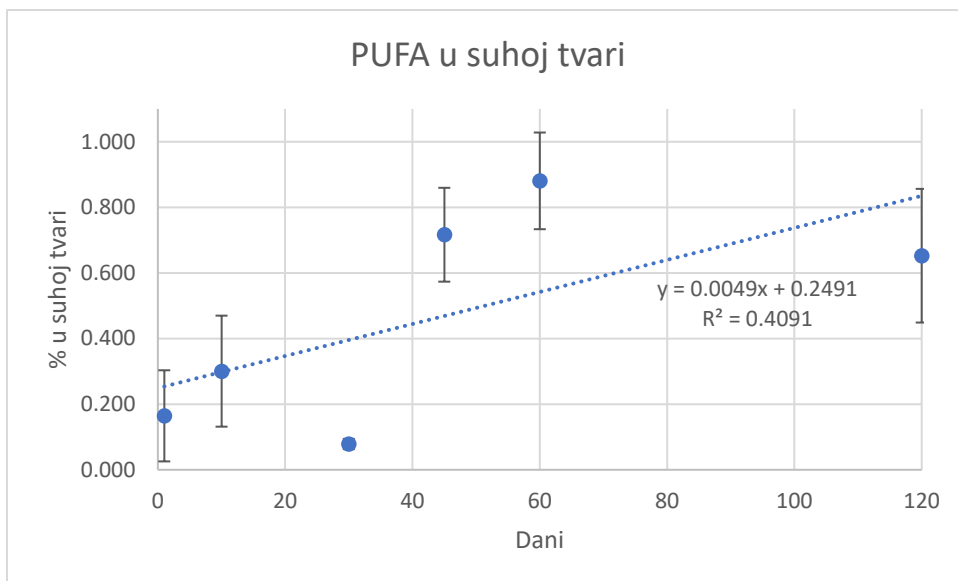
Linearnom regresijom je prikazano kretanje skupina masnih kiselina u suhoj tvari IQF smrznute srdele te smo primjetili značajan porast kod svih skupina (slika 26., 27., 28. i 29.).



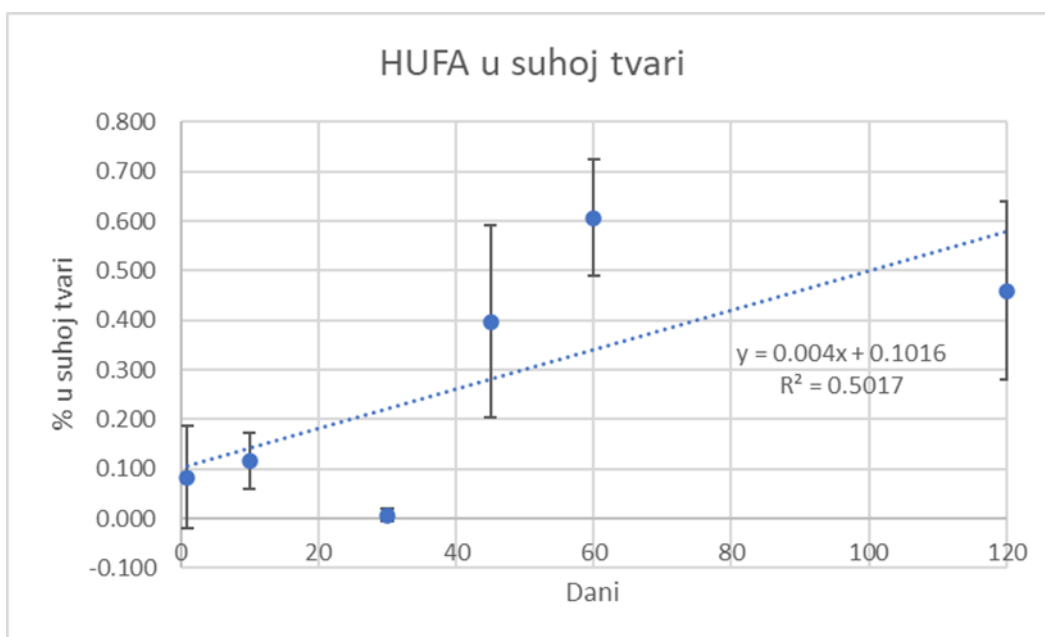
Slika 26. Linearna regresija ukupne prosječne vrijednosti zasićenih masnih kiselina u suhoj tvari smrznutih uzoraka srdele u odnosu na trajanje skladištenja (1. – 120. dana) (prilog 8)



Slika 27. Linearna regresija ukupne prosječne vrijednosti mononezasićenih masnih kiselina u suhoj tvari smrznutih uzoraka srdele u odnosu na trajanje skladištenja (1. – 120. dana) (prilog 8)



Slika 28. Linearna regresija ukupne prosječne vrijednosti polinezasićenih masnih kiselina (PUFA) u suhoj tvari smrznutih uzoraka srdele u odnosu na trajanje skladištenja (1. – 120. dana) (prilog 8)

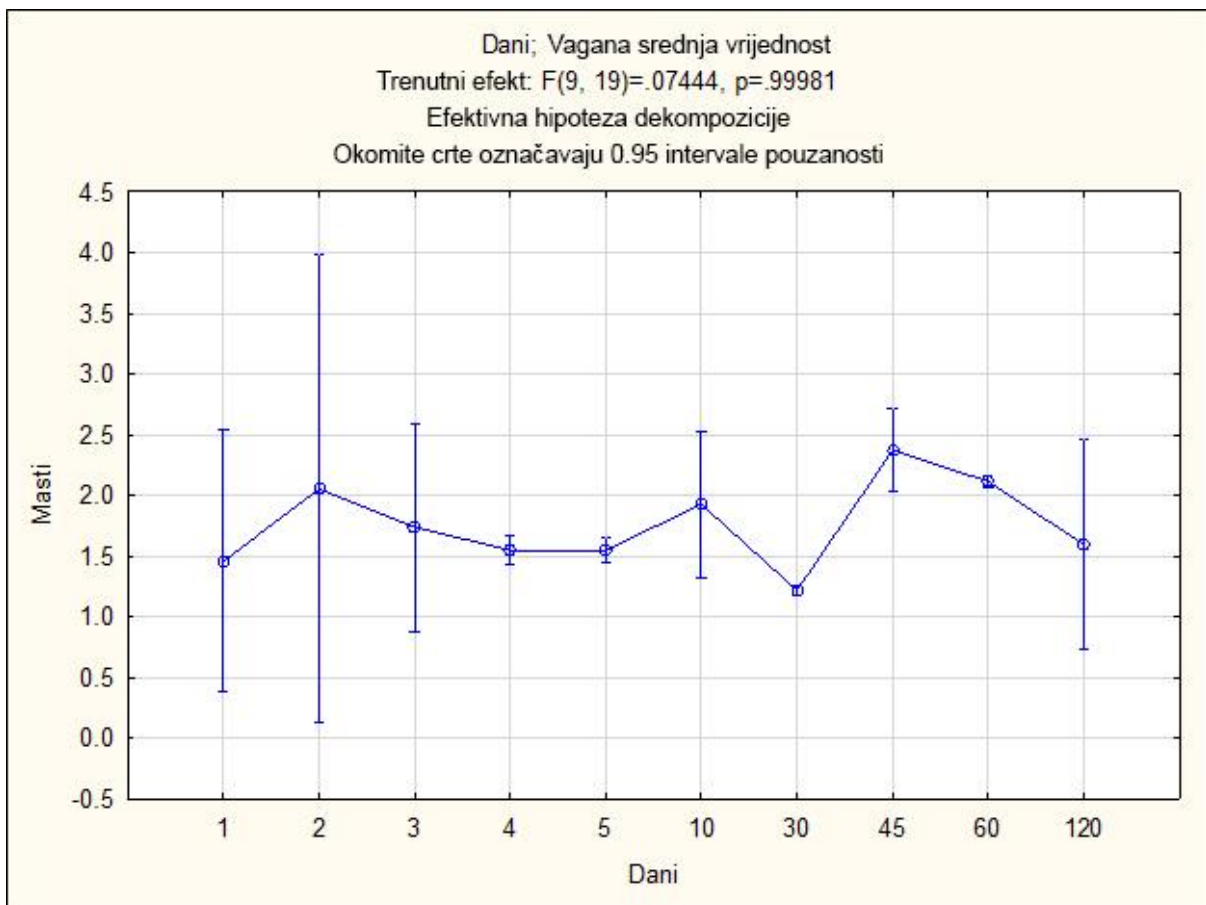


Slika 29. Linearna regresija ukupne prosječne vrijednosti visoko nezasićenih masnih kiselina (HUFA) u suhoj tvari smrznutih uzoraka srdele u odnosu na trajanje skladištenja (1. – 120. dana) (prilog 8)

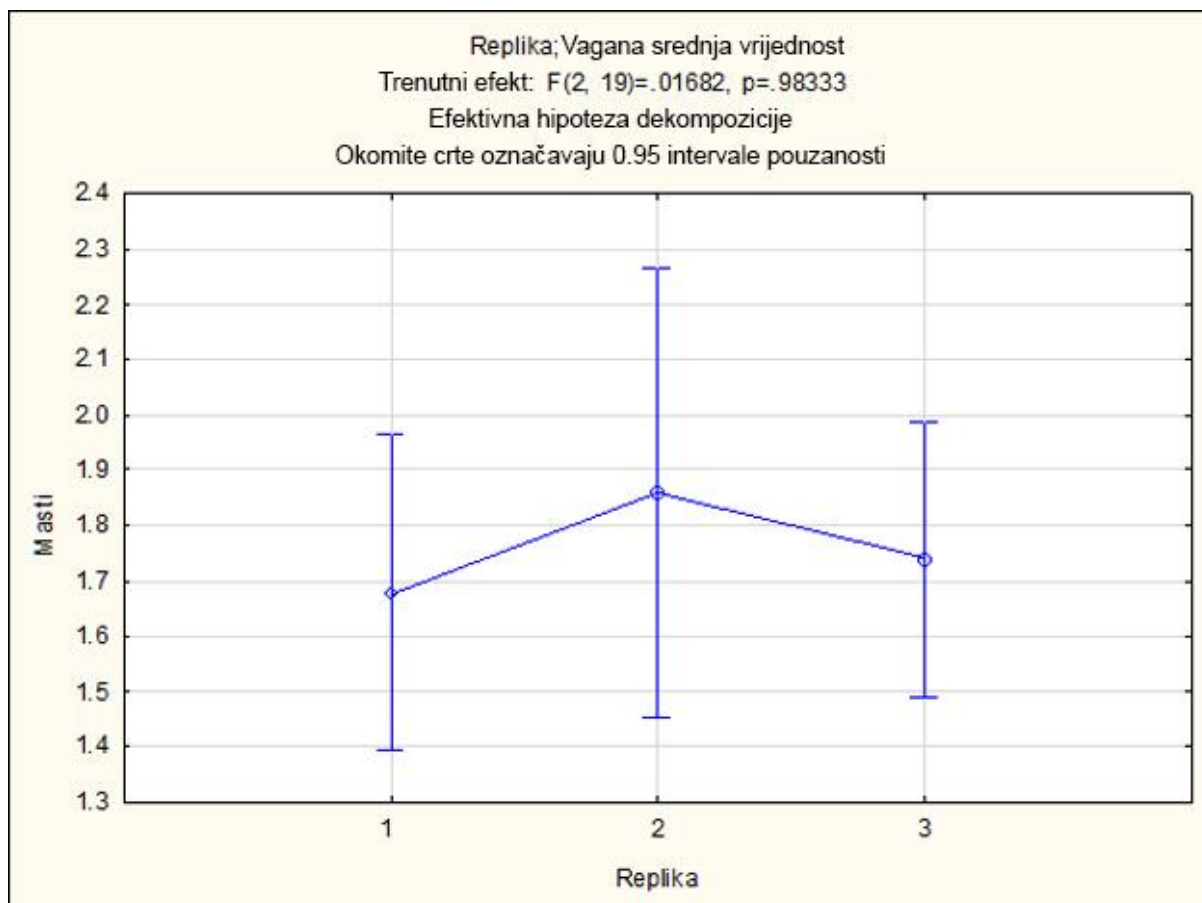
## 5.5. Statistička analiza skupina masnih kiselina kod svježih i IQF smrznutih srdela u odnosu na vrijeme skladištenja

Sljedeću obradu podataka odrađivali smo uz pomoć statističkog programa "Statistika". Najprije smo napravili testiranje analize varijance putem ANOVA testiranja, multivarijantne analize. Ovisna varijabla je bila 'masti', a neovisna su bili 'dani' i 'replike'. Analizirali smo razlikuju li se masti po svojstvu starosti i po svojstvu replika (repeticija).

Prema dobivenim rezultatima možemo zaključiti kako se uzorci signifikantno ne razlikuju po svojstvu starosti (slika 30.) ni po svojstvu ponavljanja (slika 31.). Varijabilnost uzoraka nije uzrokovana starošću ni repeticijom.



Slika 30. Vagane srednje vrijednosti masti u odnosu na dane (prilog 9.)



Slika 31. Vagane srednje vrijednosti masti u odnosu na ponavljanja (replike) (prilog 9.)

Na temelju testiranja srednjih vrijednosti smo utvrdili kako nije bilo značajne razlike između masnoća u ovisnosti o danima i replikama (prilog 9.).

Pojedinačne masne kiseline nisu imale značajne razlike između sebe, stoga smo istraživanje usmjerili na analizu promjene kod glavnih skupina masnih kiselina u odnosu na vrijeme skladištenja.

Proveden je Lavenov test s ciljem utvrđivanja homogenosti varijance kod svake skupine masnih kiselina u ribi i u suhoj tvari u ovisnosti o vremenu skladištenja. Kod ukupnih masti u ribi i svih skupina masnih kiselina utvrđeno je kako razlike nisu značajne (prilog 10.-14.), što znači da varijanca nije homogena te je zbog toga bilo potrebno provesti Kruskal-Wallis neparametrijske testove.



Također je proveden Lavenov test kod svake skupine masnih kiselina u suhoj tvari u ovisnosti o vremenu skladištenja. Kod svih skupina masnih kiselina je utvrđeno kako razlike nisu značajne (prilog 15.-18.), što znači da varijanca nije homogena.

Iz priloga 15.-18. možemo primjetiti kako je značajnost F uvijek bila manja od 0.05 te smo zbog toga rezultate dobivene za masti i skupine masnih kiselina u ribi proveli kroz Kruskal-Wallis neparametrijske testove (Tablica 17).

Tablica 17. Rezultati Kruskal-Wallis neparametrijskog testa za masti i skupine masnih kiselina u ribi

|                                 | <i>Chi-Square</i> | <i>df (broj stupnjeva slobode)</i> | <i>Značajnost F</i> |
|---------------------------------|-------------------|------------------------------------|---------------------|
| Masti                           | 19.33             | 9                                  | 0.0225              |
| Zasićene MK u ribi              | 19.33             | 9                                  | 0.0225              |
| Mononezasićene MK u ribi        | 22                | 9                                  | 0.0089              |
| PUFA u ribi                     | 16.67             | 9                                  | 0.0542              |
| HUFA u ribi                     | 16.67             | 9                                  | 0.0542              |
| Zasićene MK u suhoj tvari       | 19.33             | 9                                  | 0.0225              |
| Mononezasićene MK u suhoj tvari | 19.33             | 9                                  | 0.0225              |
| PUFA u suhoj tvari              | 19.33             | 9                                  | 0.0225              |
| HUFA u suhoj tvari              | 16.67             | 9                                  | 0.0542              |

Rezultate Kruskal-Wallis neparametrijskog testa za masti i skupine masnih kiselina u ribi smo dodatno analizirali “post-hoc” testom usporedbom srednjih vrijednosti za svaki mjereni parameter (tablica 18.-22.).

Tablica 18. Testiranje razlika srednjih vrijednosti između mjerenja za masti u ribi

| Dani | 1    | 2 | 3 | 4 | 5    | 10   | 30   | 45   | 60   | 120 |
|------|------|---|---|---|------|------|------|------|------|-----|
| 1    |      | 1 | 1 | 1 | 1    | 1    | 1    | 0.34 | 1    | 1   |
| 2    | 1    |   | 1 | 1 | 1    | 1    | 1    | 1    | 1    | 1   |
| 3    | 1    | 1 |   | 1 | 1    | 1    | 1    | 1    | 1    | 1   |
| 4    | 1    | 1 | 1 |   | 1    | 1    | 1    | 1    | 1    | 1   |
| 5    | 1    | 1 | 1 | 1 |      | 1    | 1    | 0.98 | 1    | 1   |
| 10   | 1    | 1 | 1 | 1 | 1    |      | 0.63 | 1    | 1    | 1   |
| 30   | 1    | 1 | 1 | 1 | 1    | 0.63 |      | 0.02 | 0.13 | 1   |
| 45   | 0.34 | 1 | 1 | 1 | 0.98 | 1    | 0.02 |      | 1    | 1   |
| 60   | 1    | 1 | 1 | 1 | 1    | 1    | 0.13 | 1    |      | 1   |
| 120  | 1    | 1 | 1 | 1 | 1    | 1    | 1    | 1    | 1    |     |

Iz tablice 18. možemo primjetiti kako postoji signifikantna razlika ( $p < 0.05$ ) za uzorke masti u ribi između 30. i 45. dana, dok su ostale razlike nesignifikantne.

Tablica 19. Testiranje razlika srednjih vrijednosti između mjerenja za zasićene masne kiseline u ribi

| Dani | 1     | 2    | 3     | 4 | 5 | 10 | 30   | 45   | 60   | 120 |
|------|-------|------|-------|---|---|----|------|------|------|-----|
| 1    |       | 1    | 0.053 | 1 | 1 | 1  | 1    | 0.02 | 0.13 | 1   |
| 2    | 1     |      | 0.81  | 1 | 1 | 1  | 1    | 0.37 | 1    | 1   |
| 3    | 0.053 | 0.81 |       | 1 | 1 | 1  | 0.24 | 1    | 1    | 1   |
| 4    | 1     | 1    | 1     |   | 1 | 1  | 1    | 1    | 1    | 1   |
| 5    | 1     | 1    | 1     | 1 |   | 1  | 1    | 1    | 1    | 1   |
| 10   | 1     | 1    | 1     | 1 | 1 |    | 1    | 1    | 1    | 1   |
| 30   | 1     | 1    | 0.24  | 1 | 1 | 1  |      | 0.1  | 0.55 | 1   |
| 45   | 0.02  | 0.37 | 1     | 1 | 1 | 1  | 0.1  |      | 1    | 1   |
| 60   | 0.13  | 1    | 1     | 1 | 1 | 1  | 0.55 | 1    |      | 1   |
| 120  | 1     | 1    | 1     | 1 | 1 | 1  | 1    | 1    | 1    |     |

Iz tablice 19. možemo primjetiti kako postoji signifikantna razlika ( $p < 0.05$ ) za uzorke zasićenih masnih kiselina u ribi između 1. i 45. dana, dok su ostale razlike nesignifikantne.

Tablica 20. Testiranje razlika srednjih vrijednosti između mjerenja za mononezasićene masne kiseline u ribi

| Dani | 1    | 2    | 3    | 4    | 5 | 10 | 30   | 45   | 60   | 120 |
|------|------|------|------|------|---|----|------|------|------|-----|
| 1    |      | 1    | 0.13 | 1    | 1 | 1  | 1    | 0.01 | 0.09 | 1   |
| 2    | 1    |      | 1    | 1    | 1 | 1  | 1    | 0.48 | 1    | 1   |
| 3    | 0.13 | 1    |      | 1    | 1 | 1  | 0.28 | 1    | 1    | 1   |
| 4    | 1    | 1    | 1    |      | 1 | 1  | 1    | 0.81 | 1    | 1   |
| 5    | 1    | 1    | 1    | 1    |   | 1  | 1    | 1    | 1    | 1   |
| 10   | 1    | 1    | 1    | 1    | 1 |    | 1    | 1    | 1    | 1   |
| 30   | 1    | 1    | 0.28 | 1    | 1 | 1  |      | 0.03 | 0.18 | 1   |
| 45   | 0.01 | 0.48 | 1    | 0.81 | 1 | 1  | 0.03 |      | 1    | 1   |
| 60   | 0.09 | 1    | 1    | 1    | 1 | 1  | 0.18 | 1    |      | 1   |
| 120  | 1    | 1    | 1    | 1    | 1 | 1  | 1    | 1    | 1    |     |

Iz tablice 20. možemo primjetiti kako postoji signifikantna razlika ( $p < 0.05$ ) za uzorke mononezasićenih masnih kiselina u ribi između 1. i 45. te 30. i 45. dana, dok su ostale razlike nesignifikantne.

Tablica 21. Testiranje razlika srednjih vrijednosti između mjerenja za polinezasićene masne kiseline u ribi

| Dani | 1    | 2 | 3 | 4 | 5 | 10 | 30   | 45   | 60   | 120  |
|------|------|---|---|---|---|----|------|------|------|------|
| 1    |      | 1 | 1 | 1 | 1 | 1  | 1    | 0.92 | 0.42 | 1    |
| 2    | 1    |   | 1 | 1 | 1 | 1  | 1    | 1    | 1    | 1    |
| 3    | 1    | 1 |   | 1 | 1 | 1  | 1    | 1    | 1    | 1    |
| 4    | 1    | 1 | 1 |   | 1 | 1  | 1    | 1    | 1    | 1    |
| 5    | 1    | 1 | 1 | 1 |   | 1  | 1    | 1    | 1    | 1    |
| 10   | 1    | 1 | 1 | 1 | 1 |    | 1    | 1    | 1    | 1    |
| 30   | 1    | 1 | 1 | 1 | 1 | 1  |      | 0.16 | 0.06 | 0.37 |
| 45   | 0.92 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1  | 0.16 |      | 1    | 1    |
| 60   | 0.42 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1  | 0.06 | 1    |      | 1    |
| 120  | 1    | 1 | 1 | 1 | 1 | 1  | 0.37 | 1    | 1    |      |

Tablica 22. Testiranje razlika srednjih vrijednosti između mjerenja za visoko nezasićene masne kiseline u ribi

| <b>Dani</b> | <b>1</b> | <b>2</b> | <b>3</b> | <b>4</b> | <b>5</b> | <b>10</b> | <b>30</b> | <b>45</b> | <b>60</b> | <b>120</b> |
|-------------|----------|----------|----------|----------|----------|-----------|-----------|-----------|-----------|------------|
| <b>1</b>    |          | 1        | 1        | 1        | 1        | 1         | 1         | 1         | 0.76      | 1          |
| <b>2</b>    | 1        |          | 1        | 1        | 1        | 1         | 0.92      | 1         | 1         | 1          |
| <b>3</b>    | 1        | 1        |          | 1        | 1        | 1         | 1         | 1         | 1         | 1          |
| <b>4</b>    | 1        | 1        | 1        |          | 1        | 1         | 1         | 1         | 1         | 1          |
| <b>5</b>    | 1        | 1        | 1        | 1        |          | 1         | 1         | 1         | 1         | 1          |
| <b>10</b>   | 1        | 1        | 1        | 1        | 1        |           | 1         | 1         | 1         | 1          |
| <b>30</b>   | 1        | 0.92     | 1        | 1        | 1        | 1         |           | 0.28      | 0.06      | 0.18       |
| <b>45</b>   | 1        | 1        | 1        | 1        | 1        | 1         | 0.28      |           | 1         | 1          |
| <b>60</b>   | 0.76     | 1        | 1        | 1        | 1        | 1         | 0.06      | 1         |           | 1          |
| <b>120</b>  | 1        | 1        | 1        | 1        | 1        | 1         | 0.18      | 1         | 1         |            |

Iz tablica 21. i 22. možemo primjetiti kako ne postoji signifikantna razlika među uzorcima polinezasićenih i visoko nezasićenih masnih kiselina u ribi.

## 6. Rasprava

Srdela, kao komercijalno i nutritivno značajna riba, važan je izvor masnih kiselina. Masne kiseline igraju ključnu ulogu u ljudskoj prehrani i zdravlju, a na njihov sastav mogu utjecati različiti čimbenici, uključujući obradu i skladištenje hrane (De Leonardis i Macciola, 2004; García-Arias i sur., 2003; Prost i sur., 2006.). Ovim istraživanjem ispitali smo koliko se mijenja sastav i količina masnih kiselina kod IQF smrznutih srdela kroz vremenski period od 120 dana u usporedbi s promjenama kod svježe srdele kroz 5 dana skladištenja.

Srdela korištena u ovom istraživanju ulovljena je u zimskom periodu, točnije početkom ožujka te se radilo o nemasnim jedinkama. S obzirom da je prosinac i siječanj vrijeme kada se srdela najintenzivnije mrijesti (Mustać i Sinovičić, 2010; Škrivanić i Zavodnik, 1973.), pronađena jako niska količina mezenterične masnoće potvrđuje upravo da se srdela netom prije ulova izmrijestila (Hardy i Keay, 1972.). Na razdoblje mrijesta također ukazuju visoki stadiji zrelosti gonada kod većine uzorkovanih srdela.

U nultom danu ovog istraživanja gravimetrijom je utvrđen postotak od  $1,46\% \pm 0,43\%$  ukupne masti kod svježe srdele (prilog 1). Slični rezultati pronađeni su i kod japanske srdele (*Sardinops melanostictus*) ulovljene uz južnu obalu Japana u razdoblju od godinu dana. Najniži sadržaj masti kod japanske srdele primijećen je u veljači (1,8%), a najviši (7,2%) od srpnja do rujna (Shirai i sur., 2002.). Zlatanov i Laskaridis (2007.) su također u svom istraživanju utvrdili kao je najmanji sadržaj masti kod jadranske srdele bio primijećen krajem zimskog godišnjeg doba (Zlatanov i Laskaridis, 2007.).

Rezultatima mikrobiološke analize uzoraka svježe i smrznute srdele ustanovljena je mikrobiološka ispravnost što ukazuje na pravilno rukovanje ribom prilikom ulova, transporta i skladištenja (Lougovois i Kyrana, 2005; Cheng i sur., 2014.). Bakterije mogu u meso ribe ući na više načina, od čega su najčešći putem škrga do krvnih žila, kroz sluznicu trbušne šupljine te probijanjem membrane kože. Jednom kad prodru u meso, počinju se brzo razmnožavati, proizvodeći neugodne mirise i okuse (Johnston i sur., 1994.).

Kvarenje se može spriječiti skladištenjem na temperaturama nižim od 4°C te potom brzom upotrebom i daljnjom kemijskom obradom ili skladištenjem na temperaturama nižim od -18°C. Takav način skladištenja značajno usporava kemijske promjene i inhibira rast bakterija, međutim ne garantira sto postotno uništavanje svih bakterija (Baird-Parker, 2000.). S time dolazimo do zaključka kako je najbolje rješenje za mikrobiološki ispravnu hranu, ispravno

seovremeno rukovanje proizvodima (García i Careche, 2002; Borderias i Sanchez-Alonso, 2011.). Osim ispravnog rukovanja i temperature smrzavanja, za krajnju kvalitetu smrznute ribe bitan čimbenik je i brzina smrzavanja (Johnston, 1994.). Zahvaljujući metodi individualno brzog smrzavanja (IQF) vrlo se brzo postižu niske temperature (-18°C) koje omogućavaju jednako smrzavanje ribe sve do kosti (George, 1993.), što nije moguće postići drugim metodama smrzavanja (Erikson i sur., 2011.).

Zahvaljujući mikrobiološkoj analizi provedenoj na svježoj i smrznutoj ribi isključujemo mogućnost bakterijskog djelovanja te njihov utjecaj na promjene u količinama masnih kiselina.

Ulovljena srdela je na dan ulova imala postotak vode oko 76% što se podudara s istraživanjem provedenim od strane Mustać i Sinovčić (2009.). Mjerenjem količine vode u srdeli tijekom cijele godine prikazali su kako srdela sadrži najveći udio vode (preko 70%) kroz zimsko i proljetno razdoblje, dok su najniže vrijednosti (oko 65%) izmjerene ljeti (Mustać i Sinovčić, 2009.).

Kod svježe srdele, kroz 5 dana skladištenja primijećen je pad količine suhe tvari, što upućuje na porast količine udjela vode. Isti rezultati primijećeni su i kod IQF smrznute srdele kroz 120 dana skladištenja. Slični rezultati pronađeni su i kod drugih istraživanja (Kyrana i sur., 1997; Reza i sur., 2009.).

Međutim, s obzirom da je porast vode kod svježe skladištene srdele rapidniji tijekom 5 dana (slika 2.) nego kod smrznute srdele tijekom 120 dana (slika 16), možemo zaključiti kako bi porast vode sve više rastao kod svježe srdele s produžavanjem vremena skladištenja. Mogući razlog tome je upijanje vode iz smjese u koju je riba stavljena radi održavanja temperature od 0-3°C u tkivo ribe, jer mrtav organizam nije u mogućnosti reguliranja osmolarnosti tjelesnih tekućina. U literaturi je povećanje količine vode u tkivu ribe direktno povezano sa smanjivanjem udijela masti (Reza i sur., 2009; Stansby, 1962.).

Proučavanjem kretanja ukupne masti kod svježih i srdela smrznutih IQF metodom dolazimo do različitih rezultata. Kod svježih srdela količina ukupne masti se vremenom smanjuje (slika 3.), dok se kod IQF smrznute srdele povećala, ali ne značajno (slika 17.).

Linearnim regresijama smo prikazali kretanje masnih kiselina u zavisnosti s vremenom između svježih i smrznutih uzoraka fileta srdele, nakon čega smo podatke usporedili kako bi mogli zaključiti koja metoda je pogodnija.

Kod svježe i IQF smrznute srdele zabilježen je porast zasićenih masnih kiselina u srdeli te u suhoj tvari srdele, a pad je zabilježen u ukupnim mastima. Kod svježe srdele mononezasićene masne kiseline su bile u porastu, kao i kod IQF smrznute srdele. Pad polinezasićenih kiselina zabilježen je u mastima i cijeloj svježoj srdeli, dok je u suhoj tvari svježe srdele bio zabilježen porast. Kod IQF smrznute srdele zabilježen je značajan porast polinezasićenih masnih kiselina. Što se tiče visoko nezasićenih masnih kiselina, zabilježen je njihov pad kod srdele skladištene na 0-3°C, dok je kod IQF skladištenih srdela primijećen značajan porast.

U ranijim istraživanjima skladištene smrznute ribe prikazana je povećana vjerojatnost oksidacije kod nezasićenih masti nego kod zasićenih zbog prisutnosti dvostrukih veza i veće reaktivnosti kisika. Taheri i sur. (2011.) su istraživanjem promjena u profilu masnih kiselina kod kobije (*Rachycentron canadum*) skladištene na -18°C tijekom 6 mjeseci došli do različitih rezultata u odnosu na ovo istraživanje. Uočeno je povećanje zasićenih masnih kiselina dok su se mononezasićene, polinezasićene i visoko nezasićene kiseline značajno smanjile, s čime su zaključili kako je 6-mjesečno skladištenje na -18°C uzrokovalo smanjivanje nutritivne vrijednosti kobije. Serdaroglu i Felekoglu (2003.) su istraživanjem promjenama u profilu masnih kiselina kod mljevenih mišićnih tkiva srdele skladištene na -20°C kroz 5 mjeseci dobili podatke slične kao Taheri i sur. (2011.). Mononezasićene, polinezasićene i visokonezasićene masne kiseline su ostvarile pad u količini, dok su zasićene masne kiseline bile u porastu.

Slično ponašanje skupina masnih kiselina utvrđeno i kod fileta španjolske skuše (*Scomberomorus commersoni*) i širokoustog morskog psa (*Carcharhinus dussumieri*) smrznutih na -30°C (Nazemroaya i sur., 2009.). Pirestani i sur. (2010.) su također zabilježili pad nutritivne vrijednosti kod pet ribljih vrsta (*Rutilus frisii kutum*, *Caprinus carpio*, *Sander lucioperca*, *Liza aurata* i *Clupeonella cultiventris caspia*) tijekom skladištenja na -24°C kroz 6 mjeseci. Kod svih ribljih vrsta zabilježen je porast zasićenih masnih kiselina te pad mononezasićenih, polinezasićenih i visoko nezasićenih. Istraživanjem provedenim na svježim i smrznutim (-18°C) filetima tilapije utvrđena je također smanjena nutritivna vrijednost, međutim fileti su i dalje bili u granicama prihvatljivosti. U svježim uzorcima bilo je više polinezasićenih masnih kiselina od zasićenih masnih kiselina, ali nakon 150 dana skladištenja taj omjer se obrnuo (Karami i sur., 2013.).

Šimičević (2022.) je također provodio istraživanje u kojem su se pratile promjene u sastavu masnih kiselina u IQF smrznutoj srdeli. U istraživanju su korišteni uzorci srdele ulovljene u ljetnom periodu, što je različito u odnosu na ovo istraživanje. Biometrijom je utvrđeno kako se

radilo o masnijim jedinkama srdele, što se razlikuje od ovog istraživanja. Također, kod srdela ulovljenih u ljetnom periodu primijećene su slabije razvijene gonade što upućuje na spolno mirovanje srdele. Šimičević je u svom radu dokazao kako je IQF metoda smrzavanja značajno usporila degradacijske procese te promjene u masnim kiselinama. Nakon 120 dana skladištenja IQF smrznute srdele na  $-18^{\circ}\text{C}$  zabilježen je porast zasićenih i mononezasićenih masnih kiselina te pad polinezasićenih i visoko nezasićenih masnih kiselina.

Međutim, pojedini podaci dobiveni u ovom istraživanju se ne mogu smatrati u potpunosti ispravnima. Nepravilnosti među podacima, tj. velike oscilacije u izračunima se mogu uočiti pri izračunu pojedinačnih masnih kiselina. Kao primjer možemo uzeti masnu kiselinu  $\text{C}_{20:4n3}$  iz tablice 1. gdje primjećujemo kako prvog dana nije bila prisutna, dok se drugog dana povećala na  $0,17 \pm 0,29\%$ , nakon čega se njen udio opet smanjuje. Ovaj uzorak ponašanja masnih kiselina se u ovom istraživanju pojavljuje često te pretpostavljamo kako se problem pojavio kod postupka ekstrakcije masnih kiselina. S obzirom kako se radi o jako nemasnoj ribi te o činjenici da je količina masnih kiselina analizirana isključivo kod fileta srdele, koji sam po sebi ima manju količinu masti u odnosu na cijelu neočišćenu ribu, potrebno je odabrati adekvatnu metodu ekstrakcije kako bi se izvukle sve masne kiseline iz membrana.

Procedure i koraci koji se koriste u procesu ekstrakcije mogu izazvati biokemijske promjene masnih kiselina te diferencijalan gubitak što dovodi do lažnih i pogrešnih tumačenja (Counturier i sur., 2020; Nechev i sur., 2021; Christie, 1993; Sahena i sur., 2010.).

Rezultati dobiveni ovim istraživanjem ne ukazuju na procese promjena masnih kiselina u ribi zbog načina prerade ili skladištenja, već su posljedica kombinacije smrzavanja, ekstrakcije i mjerenja.



## 7. Zaključak

Srdela je vrlo bitna komercijalna vrsta u Hrvatskoj zbog svog nutritivnog sastava, ali i brojnosti, odnosno velikih količina dostupnih za ulov u Jadranskom moru. Također je i zbog svoje tržišne cijene jedna od najdostupnijih ribljih vrsta za konzumaciju. Zbog svoje široke rasprostranjenosti i korištenosti u razne prehrambene i neprehrambene svrhe potrebno je ustanoviti najučinkovitiju metodu skladištenja s najmanjim promjenama u nutritivnom sastavu kroz vrijeme skladištenja. Na taj način bila bi omogućena pohrana velike količine ribljih proizvoda kroz duži vremenski period što bi uvelike značilo za rastuću globalnu populaciju. IQF metoda se pokazala kao poželjna metoda smrzavanja različitih prehrambenih proizvoda radi dugotrajnog očuvanja nutritivnih značajki.

Istraživanje je provedeno sa svrhom utvrđivanja je li IQF metoda poželjan način očuvanja kvalitete nutritivno visokovrijedne srdele kroz uspoređivanje sastava i količine masnih kiselina između srdele skladištene na 0-3°C i IQF smrznute srdele. Ovim istraživanjem zaključilo se kako srdela ulovljena u zimskom periodu ima značajno manje količine masnih kiselina u odnosu na onu ulovljenu u ljetnom periodu, što je bilo za očekivati nakon sezone mriještenja. Mikrobiološkim ispitivanjem smo došli do zaključka da su svi uzorci srdele bili mikrobiološki ispravni te bakterijsko djelovanje nije moglo imati utjecaj na daljnju analizu. Usporedbom kretanja masnih kiselina kod svježe i IQF smrznute srdele zaključili smo kako se IQF metoda pokazala kao bolje rješenje za skladištenje ribljih proizvoda. Kroz 120 dana skladištenja IQF smrznute ribe na niskim temperaturama došlo je do porasta kod svih skupina masnih kiselina, što nije davalo naznake za smanjivanje nutritivnog sastava srdele. Međutim, tijekom 5 dana skladištenja srdele na 0-3°C primijetili smo porast samo kod zasićenih i mononezasićenih masnih kiselina, dok su polinezasićene i visoko nezasićene zabilježile pad. S dobivenim podacima možemo zaključiti kako se IQF metoda smrzavanja pokazala pogodnom metodom skladištenja s ciljem očuvanja nutritivnog sastava srdele kroz duži vremenski period.

## 8. Literatura

Ababouch, L. (2009.). Fish utilization and trade. Second International Congress on Seafood Technology on Sustainable, Innovative and Healthy Seafood (p. 9).

Andreassi, M., Forleo, P., Di Lorio, A., Masci, S., Abate, G., Amerio, P. (1997.) Efficacy of gamma-linolenic acid in the treatment of patients with atopic dermatitis. *J Int Med Res*, 25(5):266–74

Ashie, I. N. A., Smith, J. P., Simpson, B. K., Haard, N. F. (1996.) Spoilage and shelf-life extension of fresh fish and shellfish. *Critical Reviews in Food Science & Nutrition*, 36(1-2), 87-121.

Baird-Parker, T. C. (2000.): The production of microbiologically safe and stable foods. *The microbiological safety and quality of food*, 1, 3-18.

Bandarra, N. M., Batista, I., Nunes, M. L., Empis, J. M., Christie, W. W. (1997.) Seasonal changes in lipid composition of sardine (*Sardina pilchardus*). *Journal of food science*, 62(1), 40-42.

Bandarra, N. M., Marçalo, A., Cordeiro, A. R., Pousão-Ferreira, P. (2018.) Sardine (*Sardina pilchardus*) lipid composition: Does it change after one year in captivity?. *Food Chemistry*, 244, 408-413.

Bejaoui, S., Ghribi, F., Chetoui, I., Aouini, F., Bouaziz, M., Houas-Gharsallah, I., Soudani, N., El Cafsi, M. H. (2021.) Effect of storage temperature and time on the fatty acids and nutritional quality of the commercial mussel (*Mytilus galloprovincialis*). *Journal of Food Science and Technology*, 58, 3493-3503.

Borderías, A. J., Sánchez-Alonso, I. (2010.) First processing steps and the quality of wild and farmed fish, *J Food Sci.* 2011 Jan-Feb;76(1):R1-5

Borderías, A. J. i Sánchez-Alonso, I. (2011.) First processing steps and the quality of wild and farmed fish. *Journal of food science*, 76(1), R1-R5.

Bulat, F. N., Kılınç, B., Atalay, S. D. (2020.) Microbial ecology of different sardine parts stored at different temperatures and the development of prediction models. *Food Bioscience*, 38, 100770.

- Careche, M., Garcíá, R., Borderías, J. (2002.) Anchovy shelf life as affected by different chilling methods during distribution, *J Food Prot* 65:353–61.
- Cerolini, S., Kelso, K. A., Noble, R. C., Speake, B. K., Pizzi, F., Cavalchini, L. G. (1997.) Relationship between spermatozoan lipid composition and fertility during aging of chickens. *Biol Reprod*, 57(5):976–80, 1997.
- Cheng, J.H., Sun, D.W., Zeng, X.A., Liu, D. (2015.) Recent advances in methods and techniques for freshness quality determination and evaluation of fish and fish fillets: A review. *Critical reviews in food science and nutrition*, 55(7), 1012-1225.
- Cheung, P. C. K. i Mehta, B. M. (2015.) *Handbook of food chemistry* (Vol. 11). Springer Berlin Heidelberg
- Christie, W. W. (1993.) Preparation of lipid extracts from tissues. *Advances in lipid methodology*, 2(1), 195-213.
- Codex, S. T. A. N (1995.) Codex general standard for quick frozen fish fillets. *Codex Stan*, 190-1995.
- Couturier, L. I., Michel, L. N., Amaro, T., Budge, S. M., Da Costa, E., De Troch, M., Soudant, P. (2020.) State of art and best practices for fatty acid analysis in aquatic sciences. *ICES Journal of Marine Science*, 77(7-8), 2375-2395.
- Cvrtila, Ž. i Kozačinski, L. (2006.) Kemijski sastav mesa riba, *Meso: prvi hrvatski časopis o mesu* 8 (6), 365-370
- De Leonardis, A. i Macciola, V. (2004.) A study on the lipid fraction of Adriatic sardine filets (*Sardina pilchardus*). *Food/Nahrung*, 48(3), 209-212.
- Erikson, U., Misimi, E., Gallart-Jornet, L. (2011.) Superchilling of rested Atlantic salmon: Different chilling strategies and effects on fish and fillet quality. *Food Chemistry*, 127(4), 1427-1437.
- Erkan, N. i Özden, Ö. (2008.) Quality assessment of whole and gutted sardines (*Sardina pilchardus*) stored in ice. *International journal of food science & technology*, 43(9), 1549-1559.
- FAO (2006.) Report of the FAO working group on the assessment of small pelagic fish off northwest Africa. *FAO Fisheries Report*, Banjul, Gambia, 2.

FAO (2022.) The State of World Fisheries and Aquaculture 2022. Towards Blue Transformation

FAO (2021.) FAO Yearbook. Fishery and Aquaculture Statistics 2019.

Frederiksen, M., Edwards, M., Richardson, A. J., Halliday, N. C., Wanless, S. (2006.) From plankton to top predators: bottom-up control of a marine food web across four trophic levels. *Journal of Animal Ecology*, 75(6), 1259-1268.

Gamulin, T. (1955.) Migration of the sardine (*Sardina pilchardus* walb.) in relation to the zooplankton

García, R. i Careche, M. (2002.) Influence of chilling methods on the quality of sardines (*Sardina pilchardus*). *Journal of food protection*, 65(6), 1024-1032.

García-Arias, M. T., Pontes, E. Á., García-Linares, M. C., García-Fernandez, M. C., Sanchez-Muniz, F. J. (2003.) Cooking–freezing–reheating (CFR) of sardine (*Sardina pilchardus*) fillets. Effect of different cooking and reheating procedures on the proximate and fatty acid compositions. *Food chemistry*, 83(3), 349-356.

George, R. M. (1993.) Freezing processes used in the food industry. *Trends in Food Science & Technology*, 4(5), 134-138.

Gonçalves, A. M. M., Azeiteiro, U. M., Pardal, M. A., De Troch, M. (2012.) Fatty acid profiling reveals seasonal and spatial shifts in zooplankton diet in a temperate estuary. *Estuarine, Coastal and Shelf Science*, 109, 70-80.

Gunstone, F. D. (2012.) *Fatty acid and lipid chemistry*. Springer.

Hamre, K., Lie, Ø., Sandnes, K. (2003.) Development of lipid oxidation and flesh colour in frozen stored fillets of Norwegian spring-spawning herring (*Clupea harengus* L.). Effects of treatment with ascorbic acid. *Food Chemistry*, 82(3), 447-453.

Hardy, R. i Keay, J. N. (1972.) Seasonal variations in the chemical composition of Cornish mackerel, *Scomber scombrus* (L), with detailed reference to the lipids. *International Journal of Food Science & Technology*, 7(2), 125-137.

Johnston, W.A. (1994.) Freezing and refrigerated storage in fisheries (Vol. 340). Food & Agriculture Org.

- Karami, B., Moradi, Y., Motallebi, A. A., Hosseini, E., Soltani, M. (2013.) Effects of frozen storage on fatty acids profile, chemical quality indices and sensory properties of red tilapia (*Oreochromis niloticus* × *Tilapia mosambicus*) fillets.
- Kenar, J. A., Moser, B. R. i List, G. R. (2017.) Naturally occurring fatty acids: Source, chemistry, and uses. Chapter 2, Fatty acids (pp. 23-82). AOCS Press.
- Kyranas, V. R., Lougovois, V. P., Valsamis, D. S. (1997.) Assessment of shelf-life of maricultured gilthead sea bream (*Sparus aurata*) stored in ice. *International Journal of Food Science & Technology*, 32(4), 339-347.
- Lambertsen, G. (1978.) Fatty acid compositions of fish fats. Comparisons based on eight fatty acids [Norway]. *Fiskeridirektoratets Skrifter. Serie Ernaering*, Vol. 1 : No. 4, 105-116.
- Lougovois, V.P. i Kyranas, V.R. (2005.) Freshness quality and spoilage of chill-stored fish. *Food policy, control and research*, 1, 35-86.
- Lubis, Z. i Buckle, K. A. (1990.) Rancidity and lipid oxidation of dried-salted sardines. *International Journal of Food Science & Technology*, 25(3), 295-303
- Mandić, M. (2011.) Seasonal Aspects of Ichthyoplankton Diversity in the Boka Kotorska Bay (PhD Thesis). University of Belgrade. 169 p.
- Morello, E. B. i Arneri, E. (2016.) Anchovy and sardine in the Adriatic Sea—an ecological review. *Oceanography and marine biology*, 221-268.
- Mustać, B. i Sinovčić, G. (2009.) Comparison of mesenteric and tissue fat content in relation to sexual cycle of the sardine, *Sardina pilchardus* (Walb., 1792), in the eastern Middle Adriatic fishery grounds (Croatia). *Journal of Applied Ichthyology*, 25(5), 595-599.
- Mustać, B. i Sinovčić, G. (2010.) Reproduction, length-weight relationship and condition of sardine, *Sardina pilchardus* (Walbaum, 1792), in the eastern Middle Adriatic Sea (Croatia). *Periodicum biologorum*, 112(2), 133-138.
- Nakazawa, N. i Okazaki, E. (2020.) Recent research on factors influencing the quality of frozen seafood. *Fisheries Science*, 86, 231-244
- Nazemroaya, S., Sahari, M. A., Rezaei, M. (2009.) Effect of frozen storage on fatty acid composition and changes in lipid content of *Scomberomorus commersoni* and *Carcharhinus dussumieri*. *Journal of Applied Ichthyology*, 25(1), 91-95.

- Nechev, J. T., Edvinsen, G. K., Eilertsen, K. E. (2021.) Fatty Acid Composition of the Lipids from Atlantic Salmon—Comparison of Two Extraction Methods without Halogenated Solvents. *Foods*, 10(1), 73.
- Pešić, A., Đurović, M., Joksimović, A., Regner, S., Simonović, P., Glamuzina, B. (2010.) Some reproductive patterns of the sardine, *Sardina pilchardus* (Walb, 1792), in Boka kotorska Bay (Montenegro, southern Adriatic Sea). *Acta Adriatica*, 51(2), 159-168.
- Pešić, A. (2011.) Ribarstveno–biološka istraživanja juvenilne srdele (*Sardina pilchardus* Walbaum 1792.) u Kotorskom zalivu (Fisheries and biological researches of juvenile sardine (*Sardina pilchardus* Walbaum 1792) in Kotor Bay) (Doctoral dissertation, PhD Thesis, University of Belgrade, Biological Faculty, Belgrade), 118 p.
- Pethybridge, H. R., Nichols, P. D., Virtue, P., Jackson, G. D. (2013.) The foraging ecology of an oceanic squid, *Todarodes filippovae*: The use of signature lipid profiling to monitor ecosystem change. *Deep Sea Research Part II: Topical Studies in Oceanography*, 95, 119-128.
- Pirestani, S., Sahari, M. A., Barzegar, M. (2010.) Fatty acids changes during frozen storage in several fish species from South Caspian Sea.
- Pravilnik o mikrobiološkim kriterijima za hranu, NN 74/08, 2008.
- Prost, C., Hallier, A., Cardinal, M., Serot, T., Courcoux, P. (2004.) Effect of storage time on raw sardine (*Sardina pilchardus*) flavor and aroma quality. *Journal of Food Science*, 69(5), S198-S204.
- Ravindranathan Nair, P., George, C., Thampuran, N., Perigreen, P. A., Gopakumar, K. (1987.) Studies on frozen characteristics of individually quick frozen and block frozen mackerel.
- Rebah, F. B., Abdelmouleh, A., Kammoun, W., Yezza, A. (2010.) Seasonal variation of lipid content and fatty acid composition of *Sardinella aurita* from the Tunisian coast. *Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom*, 90(3), 569-573
- Reza, M. S., Bapary, M. A., Ahasan, C. T., Islam, M. N., Kamal, M. (2009.) Shelf life of several marine fish species of Bangladesh during ice storage. *International journal of food science & technology*, 44(8), 1485-1494.

Røyneberg, A. (2005.) The impact of different dietary sources of marine polyunsaturated fatty acids on the fatty acid composition of rat brain, liver and red blood cells (Master's thesis, The University of Bergen)

Rustan, A. C. i Drevon, C. A. (2001.) Fatty acids: structures and properties. e LS

Sahena, F., Zaidul, I. S. M., Jinap, S., Yazid, A. M., Khatib, A., Norulaini, N. A. N. (2010.) Fatty acid compositions of fish oil extracted from different parts of Indian mackerel (*Rastrelliger kanagurta*) using various techniques of supercritical CO<sub>2</sub> extraction. *Food chemistry*, 120(3), 879-885.

Serdaroğlu, M. i Felekoğlu, E. (2005.) Effects of using rosemary extract and onion juice on oxidative stability of sardine (*Sardina pilchardus*) mince. *Journal of food quality*, 28(2), 109-120.

Serrazanetti, G. P., Conte, L. S., Cortesi, P., Totti, C., Viviani, R. (1991.) Seasonal variations of aliphatic hydrocarbons in *Sardina pilchardus* (Walb.) (Teleostei: Clupeidae) tissues. *Marine chemistry*, 32(1), 9-18.

Shirai, N., Terayama, M., Takeda, H. (2002.): Effect of season on the fatty acid composition and free amino acid content of the sardine *Sardinops melanostictus*. *Comparative Biochemistry and Physiology Part B: Biochemistry and Molecular Biology*, 131(3), 387-393.

Sinovčić G. (2000.) Anchovy, *Engraulis encrasicolus* (Lianneus,1758) biology, population dynamics and fisheries case study. *Acta Adriatica* 1 (41): 3-53.

Sinovčić, G., Keč, V. Č., Zorica, B. (2008.) Population structure, size at maturity and condition of sardine, *Sardina pilchardus* (Walb., 1792), in the nursery ground of the eastern Adriatic Sea (Krka River Estuary, Croatia). *Estuarine, Coastal and Shelf Science*, 76(4), 739-744.

Sinovčić, G. (2014.) Stanje resursa pelagijskog ribolova, Institut za oceanografiju i ribarstvo

Stansby, M. E. (1962.) Proximate composition of fish. *Fish in Nutrition*. Fishing News (books) Ltd., London.

Šimat, V., Hamed, I., Petričević, S., Bogdanović, T. (2020.) Seasonal Changes in Free Amino Acid and Fatty Acid Compositions of Sardines, *Sardina pilchardus* (Walbaum, 1792): Implications for Nutrition, *Foods* 9, no. 7: 867.

- Šimičević, M. (2022.) Praćenje promjena u sastavu masnih kiselina u IQF smrznutoj jadranskoj srdeli ulovljenoj u ljetnom periodu
- Škrivanić, A. i Zavodnik, D. (1973.) Migrations of the sardine (*Sardina pilchardus*) in relation to hydrographical conditions of the Adriatic Sea. *Netherlands Journal of Sea Research*, 7, 7-18.
- Šoša, B. (1989.) Higijena i tehnologija prerade morske ribe, Školska knjiga Zagreb
- Taheri, S., Motallebi, A. A., Fazlara, A., Aghababayan, A., Aftabsavar, Y. (2012.) Changes of fatty acid profiles in fillets of Cobia (*Rachycentron canadum*) during frozen storage.
- Voulgaridou, P. i Stergiou, K. I. (2003.) Trends in various biological parameters of the European sardine, *Sardina pilchardus* (Walbaum, 1792), in the Eastern Mediterranean Sea. *Scientia marina*, 67(S1), 269-280.
- Zhang, L. (1997.) The effects of essential fatty acids preparation in the treatment of intrauterine growth retardation. *Am J Perinatol*, 14(9):535–7, 1997.
- Zlatanov, S. i Laskaridis, K. (2007.) Seasonal variation in the fatty acid composition of three Mediterranean fish—sardine (*Sardina pilchardus*), anchovy (*Engraulis encrasicolus*) and picarel (*Spicara smaris*). *Food Chemistry*, 103(3), 725-728.
- Zorica, B., Keč, V. Č., Vidjak, O., Mladineo, I., Balič, D. E. (2016.) Feeding habits and helminth parasites of sardine (*S. pilchardus*) and anchovy (*E. encrasicolus*) in the Adriatic Sea. *Mediterranean Marine Science*, 17(1), 216-229.
- Zorica, B., Keč, V. Č., Vidjak, O., Kraljević, V., Brzulja, G. (2017.) Seasonal pattern of population dynamics, spawning activities, and diet composition of sardine (*Sardina pilchardus* Walbaum) in the eastern Adriatic Sea. *Turkish Journal of Zoology*, 41(5), 892-900.
- Zorica, B., Anđelić, I., Keč, V. Č. (2019.) Sardine (*Sardina pilchardus*) spawning in the light of fat content analysis. *Scientia Marina*, 83(3), 207-213.
- Xiao, L. (2010.) Evaluation of extraction methods for recovery of fatty acids from marine products



## 9. Prilozi

Prilog 1. Tablični prikaz prosječnih vrijednosti suhe tvari i ukupne masti u svježoj srdeli

|           | R          | Fa         | Fb         | Fc         | Fd         |
|-----------|------------|------------|------------|------------|------------|
| Suha tvar | 23.93±0.40 | 23.92±1.08 | 22.57±0.76 | 22.42±1.38 | 22.90±0.40 |
| Masti     | 1.46±0.43  | 2.05±0.77  | 1.74±0.35  | 1.55±0.05  | 1.55±0.04  |

Prilog 2. Prosječne vrijednosti skupina masnih kiselina (%) u ukupnim mastima u svježoj srdeli (tijekom skladištenja u trajanju od 5 dana)

| Skupine masnih kiselina | R          | Fa          | Fb         | Fc         | Fd        |
|-------------------------|------------|-------------|------------|------------|-----------|
| Σ Zasićene              | 66.3±9.73  | 60.07±11.39 | 62.97±9.99 | 64.53±4.52 | 62.73±4.4 |
| Σ Mononezasićene        | 29.77±5.77 | 30.67±6.04  | 31.63±4.7  | 31.1±5.37  | 32.4±3.53 |
| Σ PUFA                  | 3.3±2.94   | 8.57±7.54   | 4.7±4.84   | 3.5±1.41   | 4.17±1.61 |
| Σ HUFA                  | 1.67±2.09  | 5.9±6.01    | 2.67±3.28  | 1.73±0.93  | 2.13±1.01 |

Prilog 3. Prosječne vrijednosti skupina masnih kiselina (g MK/100 g ribe) u svježoj srdeli (tijekom skladištenja u trajanju od 5 dana)

| Skupine MK% težine ribe | R         | Fa        | Fb        | Fc        | Fd        |
|-------------------------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|
| Σ Zasićene              | 0.78±0.06 | 0.88±0.14 | 1.31±0.16 | 0.97±0.01 | 0.99±0.05 |
| Σ Mononezasićene        | 0.35±0.03 | 0.45±0.05 | 0.66±0.08 | 0.47±0.01 | 0.51±0.04 |
| Σ PUFA                  | 0.04±0.03 | 0.13±0.1  | 0.1±0.09  | 0.05±0.01 | 0.07±0.01 |
| Σ HUFA                  | 0.02±0.02 | 0.09±0.09 | 0.06±0.07 | 0.03±0.01 | 0.03±0.01 |

Prilog 4. Prosječne vrijednosti skupina masnih kiselina (g MK/100 g suhe tvari ribe) u suhoj tvari kod svježe srdele (tijekom skladištenja u trajanju od 5 dana)

| Skupine MK% u suhoj tvari | R         | Fa        | Fb        | Fc        | Fd        |
|---------------------------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|
| Σ Zasićene                | 3.3±0.24  | 3.48±0.56 | 5.93±0.75 | 4.5±0.03  | 4.42±0.23 |
| Σ Mononezasićene          | 1.48±0.14 | 1.78±0.18 | 2.98±0.37 | 2.17±0.04 | 2.28±0.19 |
| Σ PUFA                    | 0.16±0.14 | 0.5±0.39  | 0.44±0.42 | 0.24±0.03 | 0.29±0.06 |
| Σ HUFA                    | 0.08±0.1  | 0.34±0.34 | 0.25±0.31 | 0.12±0.04 | 0.15±0.04 |

Prilog 5. Tablični prikaz prosječnih vrijednosti suhe tvari i ukupne masti u smrznutoj srdeli

|           | R         | F1         | F2         | F3                 | F4         | F5        |
|-----------|-----------|------------|------------|--------------------|------------|-----------|
| Suha tvar | 23.93±0.4 | 24.63±0.47 | 23.07±0.61 | 25.2±1.142.37±0.14 | 23.83±0.35 | 22.9±0.16 |
| Masti     | 1.46±0.43 | 1.93±0.24  | 1.22±0.02  | 2.37±0.14          | 2.12±0.02  | 1.6±0.35  |

Prilog 6. Prosječne vrijednosti skupina masnih kiselina (%) u ukupnim mastima u smrznutoj srdeli (tijekom skladištenja u trajanju od 120 dana)

| Skupine masnih kiselina | R          | F1         | F2        | F3         | F4         | F5        |
|-------------------------|------------|------------|-----------|------------|------------|-----------|
| Σ Zasićene              | 66.3±9.73  | 60.77±7.37 | 67.4±2.42 | 57.3±10.9  | 54.4±2.5   | 59.4±8.93 |
| Σ Mononezasićene        | 29.77±5.77 | 34.1±8.23  | 30.3±1.18 | 35.1±13.58 | 34.93±4.46 | 30.87±8   |
| Σ PUFA                  | 3.3±2.94   | 4.37±3.37  | 1.5±0.67  | 7.1±4.18   | 10.17±2.17 | 9.33±4.24 |
| Σ HUFA                  | 1.67±2.09  | 1.7±1.09   | 0.13±0.23 | 3.93±2.35  | 18.03±1.76 | 6.57±3.21 |

Prilog 7. Prosječne vrijednosti skupina masnih kiselina (g MK/100 g ribe) u smrznutoj srdeli (tijekom skladištenja u trajanju od 120 dana)

| Skupine MK% težine ribe | R         | F1        | F2     | F3        | F4        | F5        |
|-------------------------|-----------|-----------|--------|-----------|-----------|-----------|
| Σ Zasićene              | 0.78±0.06 | 1.01±0.08 | 0.84±0 | 1.38±0.12 | 1.14±0.02 | 0.94±0.1  |
| Σ Mononezasićene        | 0.35±0.03 | 0.57±0.05 | 0.38±0 | 0.85±0.12 | 0.73±0.02 | 0.49±0.09 |
| Σ PUFA                  | 0.04±0.03 | 0.07±0.04 | 0.02±0 | 0.17±0.03 | 0.21±0.04 | 0.15±0.05 |
| Σ HUFA                  | 0.02±0.02 | 0.03±0.01 | 0±0    | 0.09±0.05 | 0.15±0.03 | 0.1±0.04  |

Prilog 8. Prosječne vrijednosti skupina masnih kiselina (g MK/100 g suhe tvari ribe) u suhoj tvari kod smrznute srdele (tijekom skladištenja u trajanju od 120 dana)

| Skupine MK% u suhoj tvari | R         | F1        | F2        | F3        | F4        | F5        |
|---------------------------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|
| Σ Zasićene                | 3.3±0.24  | 4.18±0.33 | 3.53±0.01 | 5.78±0.48 | 4.71±0.07 | 4.15±0.43 |
| Σ Mononezasićene          | 1.48±0.14 | 2.35±0.19 | 1.59±0.01 | 3.54±0.52 | 3.03±0.09 | 2.16±0.4  |
| Σ PUFA                    | 0.16±0.14 | 0.3±0.17  | 0.08±0.02 | 0.72±0.14 | 0.88±0.15 | 0.65±0.2  |
| Σ HUFA                    | 0.08±0.1  | 0.12±0.06 | 0.01±0.01 | 0.4±0.19  | 0.61±0.12 | 0.46±0.18 |

Prilog 9. Multivarijantna analiza podataka dana i replika

| Efekt    | Univarijantni test značajnosti za masti<br>Sigma-ograničena parametrizacija<br>Efektivna hipoteza dekompozicije |    |          |          |              |
|----------|---|----|----------|----------|--------------|
|          | SS  | df | MS       | F        | Značajnost F |
| Dani     | 3.34560   | 9  | 0.371734 | 0.074439 | 0.999805     |
| Replika  | 0.16800   | 2  | 0.084000 | 0.016821 | 0.983335     |
| Pogreška | 94.88250  | 19 | 4.993816 |          |              |

Prilog 10. Lavenov test za homogenost varijance kod ukupnih masti u srdeli tijekom cijelog vremena skladištenja

|       | Lavenov test za homogenost varijance<br>Efekt: Dani<br>Stupnjevi slobode za sve F: 9, 20 |           |          |                     |
|-------|--|-----------|----------|---------------------|
|       | <i>MS</i>  | <i>MS</i> | <i>F</i> | <i>Značajnost F</i> |
| Masti | 0.098927   | 0.020187  | 4.900541 | 0.001496            |

Prilog 11. Lavenov test za homogenost varijance kod zasićenih masnih kiselina u srdeli tijekom cijelog vremena skladištenja

|                    | Lavenov test za homogenost varijance<br>Efekt: Dani<br>Stupnjevi slobode za sve F: 9, 20 |           |          |                     |
|--------------------|--|-----------|----------|---------------------|
|                    | <i>MS</i>  | <i>MS</i> | <i>F</i> | <i>Značajnost F</i> |
| Zasićene MK u ribi | 0.005390   | 0.001481  | 3.639641 | 0.007723            |

Prilog 12. Lavenov test za homogenost varijance kod mononezasićenih masnih kiselina u srdeli tijekom cijelog vremena skladištenja

|                          | Lavenov test za homogenost varijance<br>Efekt: Dani<br>Stupnjevi slobode za sve F: 9, 20 |           |          |          |
|--------------------------|--|-----------|----------|----------|
|                          | <i>MS</i>  | <i>MS</i> | <i>F</i> | <i>p</i> |
| Mononezasićene MK u ribi | 0.002632   | 0.000527  | 4.990372 | 0.001343 |

Prilog 13. Lavenov test za homogenost varijance kod PUFA u srdeli tijekom cijelog vremena skladištenja

|             | Lavenov test za homogenost varijance<br>Efekt: Dani<br>Stupnjevi slobode za sve F: 9, 20 |           |          |                     |
|-------------|--|-----------|----------|---------------------|
|             | <i>MS</i>  | <i>MS</i> | <i>F</i> | <i>Značajnost F</i> |
| PUFA u ribi | 0.001788   | 0.000405  | 4.409412 | 0.002758            |

Prilog 14. Lavenov test za homogenost varijance kod HUFA u srdeli tijekom cijelog vremena skladištenja

|             | Lavenov test za homogenost varijance<br>Efekt: Dani<br>Stupnjevi slobode za sve F: 9, 20 |           |          |                     |
|-------------|--|-----------|----------|---------------------|
|             | <i>MS</i>  | <i>MS</i> | <i>F</i> | <i>Značajnost F</i> |
| HUFA u ribi | 0.001293   | 0.000278  | 4.653267 | 0.002027            |

Prilog 15. Lavenov test za homogenost varijance kod zasićenih masnih kiselina u suhoj tvari tijekom cijelog vremena skladištenja

|                           | Lavenov test za homogenost varijance |           |          |                     |
|---------------------------|--------------------------------------|-----------|----------|---------------------|
|                           | Efekt: Dani                          |           |          |                     |
|                           | Stupnjevi slobode za sve F: 9, 20    |           |          |                     |
|                           | <i>MS</i>                            | <i>MS</i> | <i>F</i> | <i>Značajnost F</i> |
| Zasićene MK u suhoj tvari | 0.100539                             | 0.026852  | 3.744157 | 0.006679            |

Prilog 16. Lavenov test za homogenost varijance kod mononezasićenih masnih kiselina u suhoj tvari tijekom cijelog vremena skladištenja

|                                 | Lavenov test za homogenost varijance |           |          |                     |
|---------------------------------|--------------------------------------|-----------|----------|---------------------|
|                                 | Efekt: Dani                          |           |          |                     |
|                                 | Stupnjevi slobode za sve F: 9, 20    |           |          |                     |
|                                 | <i>MS</i>                            | <i>MS</i> | <i>F</i> | <i>Značajnost F</i> |
| Mononezasićene MK u suhoj tvari | 0.048853                             | 0.009651  | 5.062218 | 0.001232            |

Prilog 17. Lavenov test za homogenost varijance kod PUFA u suhoj tvari tijekom cijelog vremena skladištenja

|                    | Lavenov test za homogenost varijance |           |          |                     |
|--------------------|--------------------------------------|-----------|----------|---------------------|
|                    | Efekt: Dani                          |           |          |                     |
|                    | Stupnjevi slobode za sve F: 9, 20    |           |          |                     |
|                    | <i>MS</i>                            | <i>MS</i> | <i>F</i> | <i>Značajnost F</i> |
| PUFA u suhoj tvari | 0.031761                             | 0.007401  | 4.291508 | 0.003211            |

Prilog 18. Lavenov test za homogenost varijance kod HUFA u suhoj tvari tijekom cijelog vremena skladištenja

|                    | Lavenov test za homogenost varijance |           |          |                     |
|--------------------|--------------------------------------|-----------|----------|---------------------|
|                    | Efekt: Dani                          |           |          |                     |
|                    | Stupnjevi slobode za sve F: 9, 20    |           |          |                     |
|                    | <i>MS</i>                            | <i>MS</i> | <i>F</i> | <i>Značajnost F</i> |
| HUFA u suhoj tvari | 0.022380                             | 0.005010  | 4.467396 | 0.002561            |