

ZASADY DOBREJ PRAKTYKI W PRZETWÓRSTWIE RYBNYM



ZASADY DOBREJ PRAKTYKI

W

PRZETWÓRSTWIE RYBNYM

Monografia pod redakcją
Miroslawa Różyckiego
i Magdaleny Podolskiej

Podręcznik opracowano w ramach projektu SeaQual "Bezpieczeństwo i jakość żywności pochodzenia morskiego w aspekcie zagrożeń zoonotycznych i toksykologicznych: ocena ryzyka, monitoring i przeciwdziałanie" współfinansowanego przez Narodowe Centrum Badań i Rozwoju w ramach programu „Środowisko naturalne, rolnictwo i leśnictwo” BIOSTRATEG (grant nr BIOSTRATEG2/296211/4/NCBR/2016).

Puławy, 2019

Wydawca: Państwowy Instytut Weterynaryjny – Państwowy Instytut Badawczy
Al. Partyzantów 57, 24-100 Puławy
Praca zbiorowa pod redakcją Mirosława Różyckiego i Magdaleny Podolskiej.

Autorzy:

mgr inż.	Aneta	Bełcik	
dr	Ewa	Bilska - Zając	
dr hab.	Tomasz	Cencek	prof. PIWet-PIB
mgr	Katarzyna	Grądziel - Krukowska	
prof. dr hab.	Jan	Horbowy	
dr hab.	Jacek	Karamon	prof. PIWet-PIB
lek. wet	Maciej	Kochanowski	
mgr inż.	Katarzyna	Komar - Szymczak	
mgr inż.	Iwona	Mizak	
dr	Katarzyna	Nadolna - Ałtyn	
mgr	Joanna	Pawlak	
dr inż.	Bogusław	Pawlikowski	
dr hab.	Agnieszka	Pękala - Safińska	
dr hab.	Magdalena	Podolska	prof. MIR-PIB
dr	Mirosław	Rózycki	
dr hab. inż.	Joanna	Szlinder - Richert	prof. MIR-PIB
dr hab.	Beata	Szostakowska	
dr inż.	Olga	Szulecka	
dr hab. inż.	Zygmunt	Usydus	prof. MIR-PIB
dr	Anna	Wąs - Barcz	

Spis treści

Przedmowa	7
Część I – Ryby i produkty rybne	8
1. Jakość żywności pochodzenia morskiego w aspekcie zagrożeń zoonotycznych	8
1.1. Definicje	8
1.2. Wstęp	14
1.2. Specyfika rynku polskiego	16
2. Zasoby rybackie Bałtyku – stan i zasady zarządzania	18
2.1. Potrzeba zarządzania zasobami rybackimi	18
2.2. Koncepcja maksymalnych podtrzymywalnych połowów (MSY) i biologiczne punkty odniesienia (BRP)	21
2.3. Zarządzanie zasobami - Wspólna Polityka Rybacka i proces doradztwa ICES	23
2.4. Dane i metody oceny stanu zasobów	26
2.5. Dynamika zasobów i kwot połowowych podstawowych stad Bałtyku	27
3. Ryby i produkty rybne – zanieczyszczenia chemiczne	36
3.1. Zanieczyszczenia występujące w produktach rybnych – rodzaje, źródła, obowiązujące przepisy	36
3.1.1. Zanieczyszczenia organiczne	38
3.1.2. Metale	42
3.2. Dane dotyczące zanieczyszczenia ryb i produktów rybnych obecnych na polskim rynku	43
3.2.1. Metale toksyczne (rtęć, kadm, ołów)	43
3.2.2. Polichlorowane bifenyle (ndl-PCB)	46
3.2.3. Pestycydy chloroorganiczne	48
3.2.4. Dioksyiny + dioksynopodobne PCB (PCDD/F + dlPCB).....	48
3.3. Bezpieczeństwo produktów z dorsza w aspekcie zanieczyszczeń chemicznych: wyniki projektu SeaQual	51
3.3.1. Poziomy zanieczyszczeń w filetach z dorsza	53
3.3.2. Stężenia zanieczyszczeń w wątrobach pobranych z dorsza.....	56

3.3.3. Stężenia zanieczyszczeń w produktach z dorsza pochodzącego z Bałtyku	59
3.4. Migracja substancji chemicznych z opakowań do żywności: wyniki projektu SeaQual	60
3.4.1. Migracja nonylofenoli z opakowań stosowanych w przemyśle rybnym do produktu.....	62
3.4.2. Migracja bisfenolu A z opakowań stosowanych w przemyśle rybnym do produktu.....	65
3.4.3. Migracja ftalanów z opakowań stosowanych w przemyśle rybnym do produktu.....	67
3.5. Ocena narażenia konsumentów na zanieczyszczenia pochodzące z produktów rybnych.....	68
4. Kontrola jakości ryb i produktów rybnych	72
4.1. Wybrane czynniki wpływające na jakość produktów rybnych	78
4.2. Identyfikacja gatunku ryb w produktach rybnych na podstawie analizy DNA	84
4.3. Zagrożenia biologiczne	90
4.4. Wykrywanie i identyfikacja nicieni Anisakidae - metody niedestrukcyjne.....	100
4.5. Wykrywanie i identyfikacja nicieni Anisakidae - metody destrukcyjne.....	108
4.6. Badania molekularne do identyfikacji gatunkowej nicieni	114
4.7. Identyfikacja gatunku nicieni metodą RCR - RFLP	119
4.8. Modelowanie infekcji pasożytniczej	126
4.9. Kryteria określania stopnia zarażenia ryb pasożytami i warunki ich inaktywacji.....	135
4.10. Wybrane czynniki chorobotwórcze i choroby ryb	145
4.11. Zanieczyszczenie mikrobiologiczne	162
4.12. Identyfikacja zagrożeń w układzie produkt - zagrożenie.....	184

Część II Technologia przetwórstwa rybnego z uwzględnieniem aspektów prawnych, bezpieczeństwa i jakości żywności.....	195
5. Prawo żywnościowe, ze szczególnym uwzględnieniem zagadnień dotyczących pasożytów oraz identyfikowalności.....	195
6. Procesy technologiczne stosowane w przetwórstwie rybnym, z uwzględnieniem aspektów bezpieczeństwa i jakości żywności.....	209
6.1. Wymagania ogólne dotyczące postępowania ze świeżymi produktami rybołówstwa w zakładzie przetwórczym.....	209
6.2. Proces mrożenia produktów rybołówstwa.....	219
6.3. Wpływ procesu mrożenia na przeżywalność larw nicieni z rodziny Anisakidae.....	246
Literatura.....	255
Wykaz fotografii.....	267
Wykaz tabel.....	270
Wykaz rysunków.....	273

Przedmowa

Ryby są produktem poszukiwanym i cenionym ze względu na walory smakowe i wartość odżywczą. Jednocześnie ryby są produktem specyficznym, ze względu na zdolność do szybkiego tzw. „psucia”.

Przyczyna tego zjawiska związana jest m.in. z tym, iż ryby należą do zwierząt zmiennocieplnych i zazwyczaj żyją w temperaturach niższych niż pozostałe gatunki zwierząt. Oznacza to, że bakterie występujące na powierzchni ich ciała również przystosowane są do takich warunków i mogą się namnażać nawet w warunkach chłodniczych, a szczególnie szybko namnażają się w wyższych temperaturach. Za tzw. „psucie” się mięsa ryb odpowiadają także enzymy obecne w mięśniach i podobnie jak w przypadku bakterii ich aktywność rośnie po przeniesieniu z wody do wyższych temperatur, co skutkuje przyspieszeniem przemian autolitycznych. Skład chemiczny mięsa ryb jest bardzo zróżnicowany, w zależności od gatunku, cyklu rozwojowego, rejonu i sezonu połowu, intensywności odżywiania się oraz płci. Zawartość białka jest zmienna, mieści się w granicach od 12 do 25% (średnio 18%). Zawartość tłuszczu waha się od 2 do 28%, wody od 50 do 80%, sole mineralne ok. 5% a węglowodany stanowią ok. 0,4%.

Wartość odżywcza ryb związana jest z wysoką przyswajalnością białka sięgającą 97%, i tłuszczu bogatego w nienasycone kwasy tłuszczowe, który przyswajalny jest w 91%.

Ryby stanowią pożądane źródło pokarmu dla ludzi. Błędy w procesie obróbki ryb mogą powodować zagrożenie dla konsumentów. Aby temu zapobiec niezbędne jest właściwe postępowanie z rybami wprowadzanymi na rynek z przeznaczeniem do konsumpcji. Mięso ryb ze względu na swą wartość odżywczą powinno jak najczęściej gościć na naszych stołach, musi ono jednak spełniać wymagania związane z zapewnieniem jej bezpieczeństwa i odpowiedniej jakości. Mamy nadzieję że opracowany w ramach projektu SeaQual *Podręcznik dobrej praktyki w przetwórstwie rybnym* pomoże Państwu w działaniach podejmowanych na rzecz poprawy jakości i bezpieczeństwa ryb i produktów rybnych.

Zespół SeaQual

Część I – Ryby i produkty rybne

1. Jakość żywności pochodzenia morskiego w aspekcie zagrożeń zoonotycznych

Mirosław Różycki, Ewa Bilaska - Zajac, Maciej Kochanowski, Tomasz Cencek

1.1. Definicje

- **Aktywność wody:** Stosunek ciśnienia pary wodnej nad powierzchnią roztworu do ciśnienia nad powierzchnią czystej chemicznie wody przy tym samym ciśnieniu atmosferycznym i temperaturze. Aktywność wody określa dostępność wody w produkcie do rozwoju mikroorganizmów. Przy niskich wartościach szybkość wzrostu drobnoustrojów zmniejsza się. Poniżej wartości aktywności minimalnej wzrost drobnoustrojów zostaje zahamowany. Większość drobnoustrojów może rosnąć w środowiskach, których aktywność wody wynosi minimalne 0,91, a optymalna wartość to 0,99. W przypadku drożdży i grzybów strzępkowych wartość minimalna 0,88–0,80, dla bakterii halofilnych wskaźnik ten sięga poziomu 0,75.
- **Analiza zagrożeń:** Proces gromadzenia i oceny informacji o zagrożeniach i warunkach prowadzących do ich obecności w celu podjęcia decyzji, które są istotne dla bezpieczeństwa żywności, a zatem powinny zostać uwzględnione w planie HACCP (Hazard Analysis and Critical Control Points).
- **Biotoksyny:** Substancje trujące naturalnie występujące w rybach i produktach rybołówstwa lub gromadzone przez zwierzęta żerujące na sinicach wytwarzających toksyny lub w wodzie zawierającej toksyny wytwarzane przez takie organizmy.
- **Chłodzenie:** Proces obniżenia temperatury produktów rybołówstwa do temperatury zbliżonej do temperatury topniejącego lodu.
- **Chora ryba:** Ryba, na której widoczne są zmiany patologiczne lub inne nieprawidłowości wpływające na bezpieczeństwo i jakość.
- **Czysta woda:** Oznacza wodę z dowolnego źródła, w którym szkodliwe zanieczyszczenia mikrobiologiczne, substancje i / lub toksyczny plankton nie występują w takich ilościach, które mogą mieć wpływ na bezpieczeństwo ryb i ich produktów przeznaczonych do spożycia przez ludzi.
- **Dekompozycja:** Zmiany jakościowe ryb i ich produktów, w tym procesy rozkładu, zmiany tekstury powodujące trwałą i wyraźną, nieprzyjemny zapach lub smak.

- Dezynfekcja: Redukcja za pomocą środków chemicznych i / lub metod fizycznych liczby mikroorganizmów w środowisku do poziomu, który nie zagraża bezpieczeństwu żywności lub jej przydatności do spożycia.
- Drzewo decyzyjne: Sekwencja pytań zastosowanych do każdego etapu procesu ze zidentyfikowanym zagrożeniem w celu określenia, które etapy procesu są krytycznymi punktami kontroli (CCP).
- Działanie korygujące: Każde działanie, które należy podjąć, gdy wyniki monitorowania w Krytyczny punkt kontroli (CCP) wskazują na utratę kontroli.
- Filet: Zespół mięśni szkieletowych wraz z okrywającą je skórą lub bez skóry, odcięty wzdłuż kręgosłupa z jednej strony ryby, bez pasa barkowego, płetw, żeber i błony otrzewnej.
- Glazura: Cienka, ochronna warstwa lodu uformowana na powierzchni zamrożonego produktu poprzez rozpylenie go lub zanurzenie w czystej wodzie morskiej, wodzie pitnej lub wodzie pitnej z udziałem zatwierdzonych dodatków, zależnie od potrzeb.
- Granica krytyczna: Kryterium oddzielające akceptowalność od niedopuszczalności produktu.
- Kondensaty dymu: Produkty otrzymywane przez kontrolowaną degradację termiczną drewna w ograniczonej ilości tlenu (piroliza), późniejszą kondensacją powstałych par dymu i frakcjonowanie otrzymanych produktów ciekłych. Środki aromatyzujące: Kondensaty dymu albo mieszanki sztucznych aromatów wytworzone przez zmieszanie chemicznie zdefiniowanych substancji w znanych ilościach lub dowolną kombinacją obu (preparatów dymnych). Środki aromatyzujące mogą być wprowadzane dowolnymi metodami (np. zanurzanie, natrykiwanie, wstrzykiwanie, moczenie).
- Krytyczny punkt kontroli (CCP): Etap, w którym można zastosować kontrolę i ma ona zasadnicze znaczenie dla zapobiegania lub wyeliminowania zagrożenia bezpieczeństwa żywności lub zmniejszenia go do akceptowalnego poziomu.
- Monitoring: Czynność przeprowadzenia zaplanowanej sekwencji obserwacji lub pomiarów parametrów kontrolnych w celu oceny czy CCP jest pod kontrolą.
- Nastryk: Proces nastrykiwania solanki bezpośrednio do mięsa ryb.
- Obiekt: Pomieszczenia, w których ryby i produkty rybołówstwa są przygotowywane, przetwarzane, chłodzone, mrożone, pakowane lub przechowywane (w tym pomieszczenia na statkach).

- Okres trwałości: Okres, w którym produkt zachowuje bezpieczeństwo mikrobiologiczne i chemiczne oraz właściwości sensoryczne w określonej temperaturze przechowywania. Zależy od zidentyfikowanych zagrożeń dla produktu, metod utrwalania, sposobu pakowania i innych czynników spowalniających procesy psucia, które mogą być stosowane.
- Oparzelina chłodnicza (wysuszka): Utrata wody w produktach zamrożonych poprzez odparowanie. Głęboka wysuszka niekorzystnie wpływa na wygląd i teksturę powierzchni produktu i jest powszechnie znana jako „oparzeliny”.
- Pakowanie w atmosferze modyfikowanej (MAP): Metoda pakowania produktów w hermetycznym opakowaniu, w którym skład mieszaniny gazowej różni się od normalnego składu powietrza.
- Pestycydy: Substancje chemiczne przeznaczone do zapobiegania, niszczenia, przyciągania, odstraszania lub kontrolowania wszelkich szkodników, w tym niepożądanych gatunków roślin lub zwierząt podczas produkcji, przechowywania, transportu, dystrybucji i przetwarzania żywności, artykułów rolnych lub pasz dla zwierząt lub które mogą być podawane zwierzętom w celu ograniczenia ektopasożytów. Termin ten zazwyczaj nie obejmuje nawozów, składników odżywczych dla roślin i zwierząt, dodatków do żywności i leków weterynaryjnych.
- Pozostałości pestycydów: Każda określona substancja zawarta w żywności, artykułach rolnych lub paszach dla zwierząt, wynikająca ze stosowania pestycydów. Określenie to obejmuje dowolne pochodne pestycydu, takie jak produkty konwersji, metabolity, produkty reakcji i zanieczyszczenia uważane za mające znaczenie toksykologiczne.
- Pozostałości: Wszelkie obce substancje, w tym ich metabolity, które pozostają w rybach przed połowem w wyniku zastosowania lub przypadkowego narażenia.
- Proces zamrażania: Proces mający na celu obniżenie temperatury produktu do temperatury równej lub niższej od -18°C . Pozwala w maksymalnym stopniu zachować odżywcze, i organoleptyczne walory produktów.
- Produkcja podstawowa: Produkcja, uprawa lub hodowla produktów podstawowych, w tym zbioru, dojenie i hodowla zwierząt gospodarskich przed ubojem. Oznacza także łowiectwo i rybołówstwo oraz zbieranie runa leśnego.
- Produkty akwakultury: Organizmy wodne na dowolnym etapie ich cyklu życia, pochodzące z dowolnej działalności w zakresie akwakultury lub otrzymywane z nich produkty.

- Produkty rybołówstwa mrożone: Produkty, które zostały poddane procesowi zamrażania wystarczającemu do obniżenia temperatury całego produktu do poziomu -18°C lub niżej, aby zachować ich cechy jakościowe.
- Produkty rybołówstwa: Organizmy wodne pochodzące z dowolnej działalności połowowej lub otrzymywane z nich produkty.
- Prześwietlanie: Prześwietlanie filetów rybnych na półprzezroczystym blacie, podświetlonym od dołu w celu wykrycia pasożytów i innych wad jakościowych.
- Punkt izoelektryczny (pI): Wartość pH, przy której białka posiadających kationowe i anionowe grupy funkcyjne zawierają średnio tyle samo ładunków dodatnich co ujemnych, na skutek czego ładunek całkowity całej populacji wynosi zero.
- Rozdrobnienie: Cięcie, gniecenie, szarpanie lub przecieranie surowca, półproduktu lub produktu przez sita celem uzyskanie pożądanych wymiarów i kształtów cząsteczek.
- Ryby całe: Ryba w stanie takim, w jakim została złowiona.
- Ryby: tradycyjna nazwa zmiennocieplnych, wodnych kręgowców, oddychających skrzelami i poruszających się za pomocą płetw. Obejmuje bezżuchowce krągłousto (*Cyclostomata*) oraz ryby właściwe (*Pisces*).
- Sanityzacja: Fizyczne usuwanie brudu, resztek, tłuszczu lub innych niepożądanych substancji.
- Separacja: Oddzielenie tkanki mięśniowej z ryb patroszonych, a także z odpadów kostnych po filetowaniu ryb, poprzez mechaniczne oddzielenie tkanki mięśniowej od części kostnych, ości i skóry.
- Separator: Urządzenie mechaniczne używane do oddzielania mięsa ryb od ości i skóry.
- Skala pH: Ilościowa skala kwasowości i zasadowości roztworów wodnych związków chemicznych.
- Solanka: Wodny roztwór soli.
- Solenie: Utrwalanie surowca za pomocą chlorku sodu, ewentualnie z dodatkiem zatwierdzonych substancji dodatkowych.
- Statek mroźnia: Każdy statek, na którym produkty rybołówstwa poddaje się zamrożeniu, w miarę potrzeb, po przeprowadzeniu ich obróbki wstępnej jak odkrwawienie, odgłowienie, patroszenie i usunięcie płetw, a następnie, w razie konieczności, pakowaniu w opakowaniach jednostkowych lub zbiorczych.

- Statek przetwórnia: Każdy statek, na którym produkty rybołówstwa poddaje się jednej lub kilku operacji (filetowanie, porcjowanie, oskórowanie, odłuszczenie, mielenie lub przetwarzanie), po których odbywa się pakowanie jednostkowe lub zbiorcze oraz, w razie konieczności, chłodzenie lub mrożenie.
- Substancje chemiczne: Każda substancja naturalna lub syntetyczna, która może wpływać na żywe ryby, jej patogeny, wodę, sprzęt używany do produkcji.
- Surowce: Świeże lub mrożone produkty rybołówstwa i / lub ich części, które mogą być wykorzystane do produkcji produktów rybnych przeznaczonych do spożycia przez ludzi.
- Środek kontrolny: Każde działanie, które można zastosować, aby zapobiec lub wyeliminować zagrożenie bezpieczeństwa żywności lub zmniejszyć je do akceptowalnego poziomu.
- Środki aromatyzujące: Kondensaty dymu albo mieszanki sztucznych aromatów wytwarzane przez zmieszanie chemicznie zdefiniowanych substancji w znanych ilościach lub dowolną kombinacją obu (preparatów dymnych). Środki aromatyzujący mogą być wprowadzane dowolnymi metodami (np. zanurzanie, natryskiwanie, wstrzykiwanie, moczenie).
- Świeże produkty rybołówstwa: Produkty rybołówstwa, które nie zostały poddane żadnym zabiegom konserwującym poza chłodzeniem.
- Tusza: Ryba patroszona bez głowy, pasa barkowego i płetw piersiowych, część ryby pozostała po odgłowieniu i wypatroszeniu.
- Wada: Cecha jakościowa powodująca, że produkt, nie spełnia zasadniczych wymagań jakościowych odpowiednich norm, np. odnośnie składu i / lub oznakowania.
- Walidacja: Uzyskanie dowodów, że elementy programu HACCP są skuteczne.
- Warunki wstępne: Wymagane warunki przed wprowadzeniem systemu HACCP w celu zapewnienia, że zakład przetwórstwa ryb działa zgodnie z zasadami higieny żywności, i odpowiednimi przepisami dotyczącymi bezpieczeństwa żywności.
- Weryfikacja: Zastosowanie metod, procedur, testów i innych ocen, oprócz monitorowania w celu określenia zgodności z planem HACCP.
- Wędzenie: Proces utrwalania surowca uprzednio solankowanego przez podsuszanie, i nasycanie składnikami dymu wędzarniczego, ewentualnie również przez ogrzanie powodujące denaturację białek mięsniowych.

- Wędzenie na gorąco: Wędzenie ryb w dymie wędzarniczym o temperaturze wyższej niż 60°C to proces, w którym ryby są wędzone w odpowiedniej kombinacji temperatury i czasu wystarczającej do spowodowania całkowitej koagulacji białek w mięsie ryb. Wędzenie na gorąco jest na ogół wystarczające do zabicia pasożytów, do niszczenia niezarodnikujących patogenów bakteryjnych.
- Wędzenie na zimno: Wędzenie ryb w dymie wędzarniczym o temperaturze nie wyższej niż 30°C to proces traktowania ryb dymem za pomocą kombinacji czasu i temperatury, która nie spowoduje znaczącej koagulacji białek w mięsie ryb, ale spowoduje istotne zmniejszenie aktywności wody.
- Woda chłodzona: Woda czysta chłodzona odpowiednim systemem chłodniczym.
- Woda pitna: Woda słodka nadająca się do spożycia przez ludzi zgodnie z aktualnymi wymaganiami prawa.
- Wstępnie przetworzone produkty rybołówstwa: Nieprzetworzone produkty, poddane operacjom naruszającym ich strukturę anatomiczną, np. odgławianiu, patroszeniu, porcjowaniu, filetowaniu, odskórzaniu, i/lub rozdrabnianiu.
- Zagrożenie: Czynniki biologiczny, chemiczny lub fizyczny lub stan pożywienia, który może powodować niekorzystny wpływ na zdrowie.
- Zanieczyszczenia: Wszelkie czynniki biologiczne lub chemiczne, ciała obce lub inne substancje, wprowadzone lub występujące w rybach i ich produktach, które nie zostały celowo dodane do żywności, a mogą zagrozić bezpieczeństwu żywności lub jej przydatności.
- Zanieczyszczenie mikrobiologiczne: Obecność, wzrost i/lub przeżycie drobnoustrojów chorobotwórczych.

1.2. Wstęp

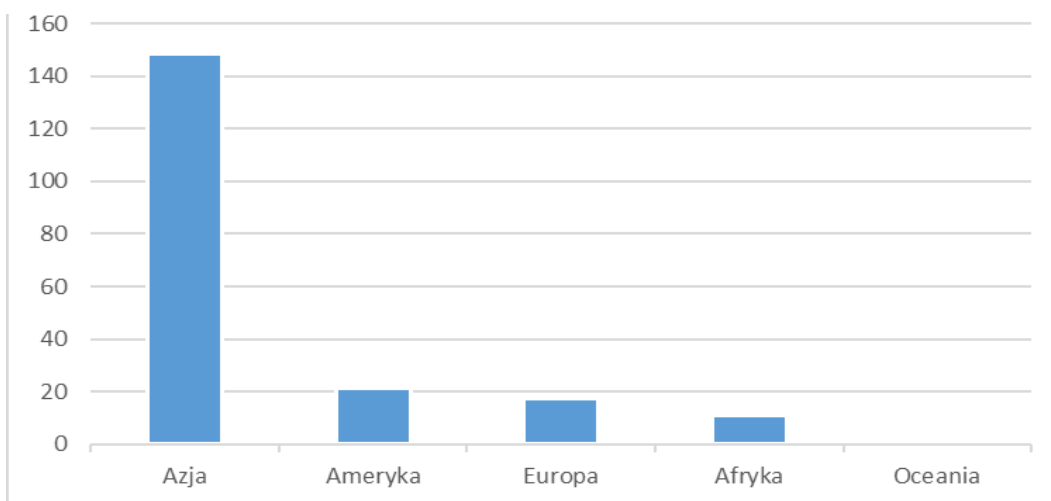
Ryby są produktem poszukiwanym i cenionym ze względu na walory smakowe i wartość odżywczą. Jednocześnie ryby (zwłaszcza świeże) są produktem specyficznym, ze względu na zdolność do szybkiego psucia ze względu na skład białek tkanek mięśniowych ryb, środowisko naturalne i sposób pozyskania.

Skład chemiczny mięsa ryb jest bardzo zróżnicowany. Zawartość białka jest zmienna i wynosi średnio ok. 18%, wykazując wahania w zależności od gatunku ryb, pory połowu oraz płci. Wahania te mieszczą się w granicach 12-25%. Zawartość tłuszczu waha się od 2 do 28%, wody od 50 do 80%, węglowodany stanowią około 0,4%. Reszta to sole mineralne w ilości ok. 5%.

Białko ryb cechuje się wysoką przyswajalnością sięgającą 97%. Tłuszcz ryb, bogaty w nienasycone kwasy tłuszczowe, jest przyswajalny w 91%.

Ryby stanowią pożądane źródło pokarmu dla ludzi. Jednocześnie nieprawidłowe postępowanie z rybami może stanowić zagrożenie dla konsumentów. Aby temu zapobiec niezbędna jest ich prawidłowa ocena sanitarno-weterynaryjna przed wprowadzeniem do obrotu z przeznaczeniem do konsumpcji.

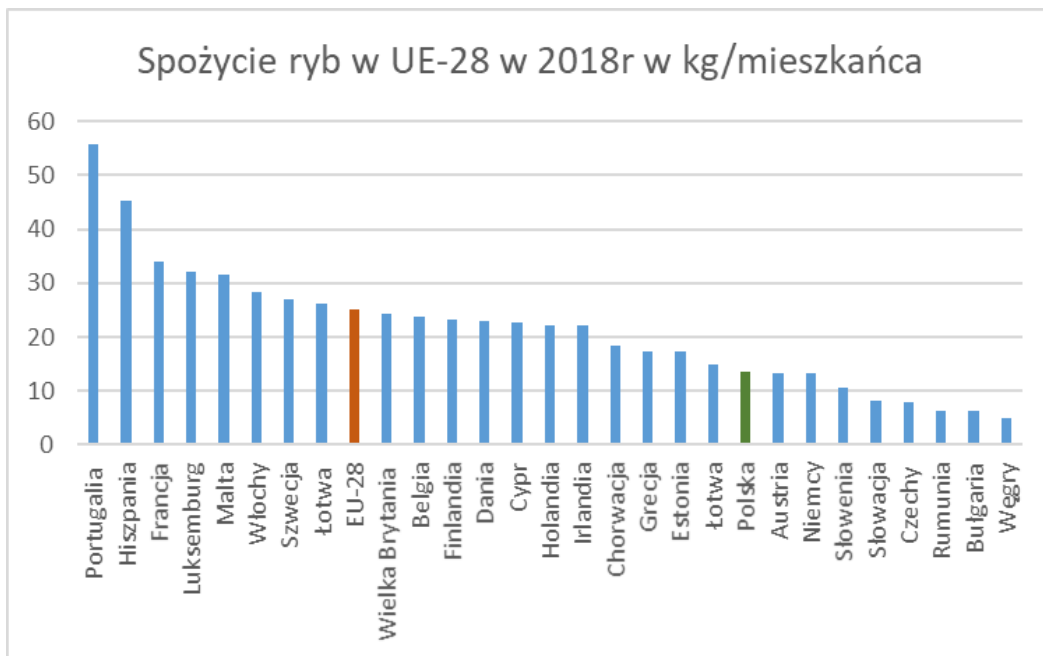
Mięso ryb ze względu na swą wartość odżywczą powinno jak najczęściej gościć na naszych stołach, musi ono jednak spełniać wymagania związane z bezpieczeństwem i jakością. Obecnie Według FAO światowe spożycie ryb i owoców morza na jednego mieszkańca wynosi około 19 kg, z tendencją wzrostową od 2005 r (Tidwell i Allan 2001). Konsumpcja owoców morza rośnie w Ameryce Północnej i Środkowej, w Oceanii i w Europie.



Rys. 1. Światowa produkcja ryb w 2015 r. (źródło: FAO).

Najwięcej ryb jest produkowanych w krajach azjatyckich, a strukturę światowej produkcji ilustruje rys. 1.

Konsumpcja ryb przez mieszkańca w UE (UE-28) jest nieco wyższa niż w całej Europie i wyniosła 25,1 kg w 2018 r. (rys. 2).



Rys. 2. Spożycie ryb UE (UE – 28) w 2018 r. w kg/mieszkańca (źródło - https://ec.europa.eu/fisheries/6-consumption_en).

Tabela 1. Główne gatunki ryb i owoców morza, ich spożycie w UE oraz źródła pozyskania (Źródło EUMOFA 2017).

Główne gatunki ryb konsumpcyjnych i ich spożycie w UE			
Gatunek	w kg/mieszkańca	% wolnożyjące	% hodowlanych
Tuńczyk	2,77	99%	1%
Dorsz	2,32	99%	1%
Łosoś	2,17	0%	100%
Mintaj	1,55	100%	0%
Śledź	1,38	100%	0%
Małże	1,33	11%	89%
Makrela	1,07	100%	0%
Morszczuk	1,00	100%	0%
Kalmar	0,71	100%	0%
Krewetki tropikalne	0,67	24%	76%

Aby lepiej zrozumieć specyfikę spożycia ryb w UE przedstawiono tabelę 1, ilustrującą preferencje konsumenckie w odniesieniu do głównych gatunków ryb spożywanych w UE.

1.2. Specyfika rynku polskiego

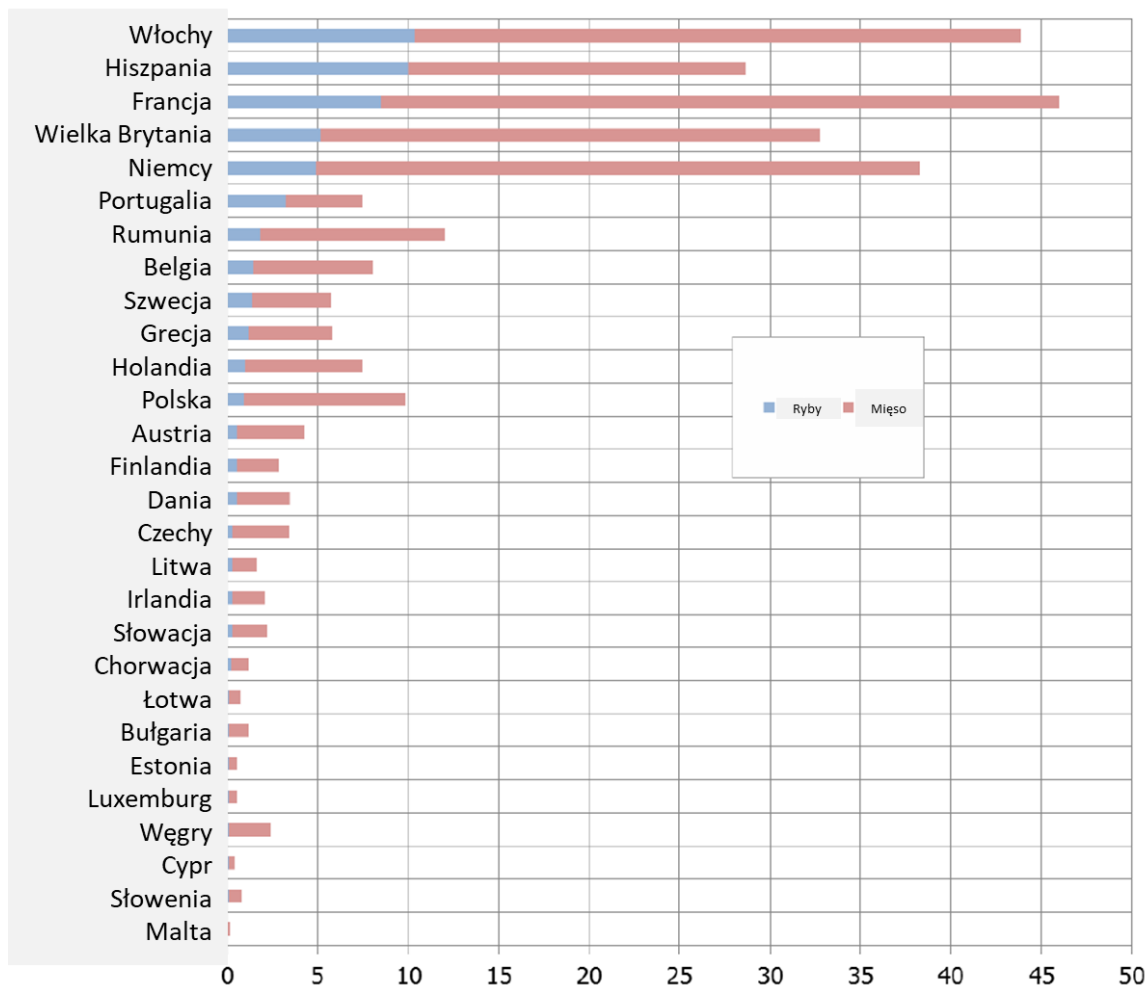
Pod względem wydatków domowych przeznaczonych na zakupy ryb i produktów rybnych, Polska znajduje się poza europejską czołówką. Przeciętnie Polak wydaje na zakup ryb i produktów rybnych około 24 EUR rocznie, co stawia nas na 26. miejscu przed Bułgarią i Węgrami. Ponad 45% konsumentów woli kupować świeże i mrożone ryby, podczas gdy reszta preferuje produkty przetworzone (Pettersen 2015).

W 2017 r., według wstępnych danych, bilansowe spożycie ryb i owoców morza wyniosło w przeliczeniu na mieszkańca 12,52 kg i było o 4,5% mniejsze niż w roku poprzednim. Spadek spożycia dotyczył wyłącznie ryb morskich (o 7,7% do 9,57 kg/mieszkańca), przy wzroście konsumpcji owoców morza (o 14,9% do 0,48 kg/mieszkańca) i ryb słodkowodnych (o 6,7% do 2,47 kg/mieszkańca). W odniesieniu do konserw rybnych, konsumenci preferują tradycyjne gatunki ryb, jak śledzie, makrele i szproty, popyt w tym sektorze pozostaje stabilny. Udział świeżych ryb sprzedawanych konsumentom różni się w zależności od kanału dystrybucji np. filety rybne sprzedawane są głównie przez supermarkety, podczas gdy ponad 50% ryb patroszonych sprzedawanych jest w tradycyjnej sprzedaży na rynkach lokalnych i stoiskach rybnych. Chociaż większość asortymentów mrożonych ryb jest w opakowaniach jednostkowych, wielu konsumentów nadal woli kupować ryby mrożone w formie „luzem” na wagę.

Ponad 78% konsumentów w wieku powyżej 50 lat spożywa ryby przynajmniej raz w tygodniu. Konsumpcja ryb jest najwyższa w grupach osób z wyższym wykształceniem i z wyższymi dochodami (Pettersen 2015). Należy dodać, że wielkość spożycia ryb w Polsce podlega sezonowym wahaniom i osiąga szczyt w okresie świąt Bożego Narodzenia i Wielkanocy. Hipermarkety, supermarkety, sklepy dyskontowe i sklepy spożywcze są głównymi kanałami dystrybucji produktów rybnych w Polsce, choć tradycyjne sklepy rybne są nadal popularne, zwłaszcza w mniejszych miastach i na wsi.

Podział między konsumpcją ryb w gospodarstwach domowych i poza nimi wynosi odpowiednio 8:2. Należy jednak zauważyć, że sektor spożycia ryb poza domem nieznacznie wzrasta.

W oparciu o dane przedstawione w sprawozdaniu UE na temat rynku rybnego z 2016 r. należy stwierdzić, że wydatki w UE na produkty rybołówstwa i akwakultury były niższe niż w przypadku mięsa i innych środków spożywczych i osiągnęły 53,8 mld EUR, co stanowi zaledwie jedną czwartą wydatków na mięso w wysokości 220 mld EUR. Strukturę wydatków na mięso czerwone i produkty rybołówstwa ilustruje rys. 3.



Rys. 3. Wydatki na produkty z mięsa czerwonego i ryb w UE (UE – 28) na podstawie danych EUROSTAT (<https://ec.europa.eu/eurostat/statistics>) w mld EUR.

2. Zasoby rybackie Bałtyku – stan i zasady zarządzania

Jan Horbowy

2.1. Potrzeba zarządzania zasobami rybackimi

W latach 2011-2016 światowe rybołówstwo morskie złowiło ok. 80 mln t ryb i owoców morza rocznie. Wzrosło też znaczenie ryb w odżywianiu człowieka, czego wyrazem jest wzrost ich konsumpcji do ponad 20 kg na osobę w 2015-2016 r. (FAO 2018). Wysokie, utrzymujące się przez dłuższy okres połowy nie byłyby możliwe, gdyby zarządzający rybołówstwem (np. komisje rybackie, porozumienia dwustronne, państwa nadbrzeżne) nie prowadzili odpowiedniego zarządzania eksploatowanymi stadami poprzez stosowanie środków ochronnych i regulujących rybołówstwo.

Należy pamiętać, że zasoby żywe, choć odnawialne (stado ma zdolność do odtwarzania się, pod warunkiem, że nie zostanie zredukowane poniżej pewnego poziomu progowego, niezbędnego do powodzenia rozrodu), są jednak wyczerpywalne (istniejący potencjał techniczno-połowowy jest zdolny zredukować biomasę stada do bardzo niskiego poziomu i zagrozić jego istnieniu) – z tego ostatniego faktu zdano sobie sprawę stosunkowo niedawno.

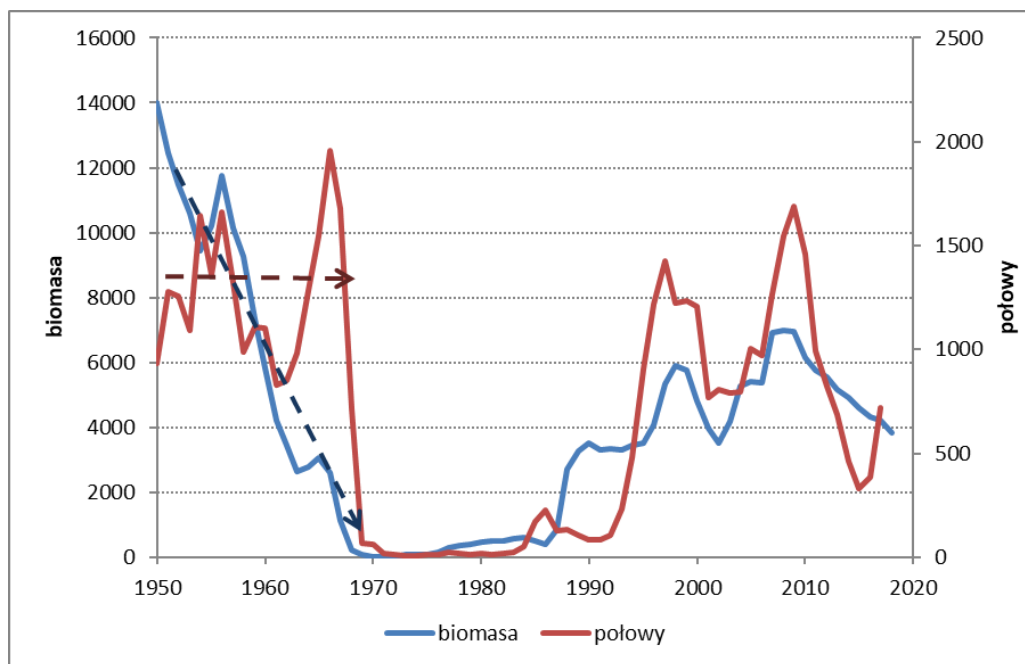
Do podstawowych sposobów zarządzania należy ustalanie (zwykle coroczne) kwot (limitów) połowowych lub ograniczanie nakładu połowowego. Często stosowane są też tzw. techniczne środki ochronne, np.: ustalenie minimalnej wielkości oczka w sieci, wprowadzanie narzędzi połowowych mających wysokie właściwości selektywne, ograniczanie przyłowy wybranych gatunków, wprowadzanie okresów i rejonów zamkniętych dla rybołówstwa.

Celem niniejszego rozdziału jest

- a) opis stanu zasobów ważniejszych ekonomicznie ryb bałtyckich,
- b) opis procesu zarządzania tymi zasobami, w tym metod oceny ich stanu,
- c) pokazanie, że racjonalne zarządzanie zasobami jest niezbędne, w celu utrzymania zasobów na odnawialnym poziomie i umożliwienie ich wykorzystania następnym pokoleniom.

Zacznijmy od przedstawienia punktu c) – konieczności racjonalnego zarządzania zasobami. Celem racjonalnego zarządzania jest nie tylko przysporzenie korzyści dla środowiska naturalnego (poprzez pozostawianie eksploatowanych stad w dobrym stanie), lecz także dla rybołówstwa, poprzez umożliwienie mu wydajnych i opłacalnych ekonomicznie połowów w dłuższej perspektywie, a tym samym i konsumentów - odbiorców rybackich połowów.

Niekiedy można usłyszeć opinie z kręgów rybackich: nam nie są potrzebne badania naukowe, my oceniamy stan stad na podstawie tego, co mamy w sieciach i to nam wystarczy. To, co widać w połowach, to bardzo istotna informacja – jedna z podstawowych, na których opieramy się w ocenie stanu zasobów. Jednakże najczęściej jest to informacja niewystarczająca do oceny stanu stada, gdyż informacje wynikające jedynie z efektywności rybołówstwa mogą nie odzwierciedlać stanu zasobów – możliwe są dobre połowy i wydajności przy niskich zasobach, co w dalszej konsekwencji może prowadzić do załamania się stada, a tym samym i połowów (Horbowy 2016a). Podobnie mechanizmy ekonomiczne nie są wystarczające do regulacji rybołówstwa – zwykle na zmniejszone wydajności reaguje ono zwiększeniem swej intensywności (nakładu połowowego), a z czasem i wzrostem cen ryb. Zacznijmy zatem od przykładów pokazujących historię eksploatacji stad i jej konsekwencje. Te przykłady uzasadniają potrzebę badań naukowych i zarządzania zasobami na podstawie wyników tych badań. Na rysunku 4 przedstawiono dynamikę biomasy i połowów śledzi norweskich wiosennego tarła. W latach 60. XX w. biomasa tego stada systematycznie się obniżała, ale mimo to prowadzono bardzo wysokie połowy, znacznie przekraczające ówczesną produktywność stada. W efekcie biomasa spadła niemal do zera i utrzymywała się na bardzo niskim poziomie przez ok. 20 lat – w tym czasie połowy stada zostały wstrzymane. Dopiero po 20 latach obserwowano początki odbudowy stada – z tych doświadczeń wyciągnięto wnioski i obecnie stado jest odławiane zgodnie z racjonalnym planem zarządzania.



Rys. 4. Biomasa stada rozrodczego i połowy (tys. t) śledzi norweskich wiosennego tarła w okresie 1950-2018. Strzałki z linią przerywaną pokazują trend połowów (stosunkowo stabilny) i systematyczny spadek biomasy. Dane wg ICES (2018) i Horbowy (2016a).

Innym przykładem wyczerpywalności zasobów jest dorsz kanadyjski z wód na wschód i północ od Nowej Funlandii (NAFO Divs. 2J3KL). Po wprowadzeniu 200-milowych stref ekonomicznych i wycofaniu obcych flot nastąpiła rozbudowa rybołówstwa kanadyjskiego, choć były sygnały o obniżającej się biomase stada. W latach 80. XX w. odławiano ok. 250 tys. t tych dorszy rocznie, jednakże 1993 r. przyniósł katastrofę – biomasa okazała się bardzo niska (kilka tys. t) i wprowadzono (po raz pierwszy od 400 lat) zakaz połowów (Horbowy 2016a). W konsekwencji pracę straciło ponad 40 tys. osób, a sygnały o odbudowywaniu się zasobów zaobserwowano dopiero po prawie dwóch dekadach (DFO 2015; Rose i Rowe 2015). Myers i in. (1996) wykazali, że główną przyczyną załamania się tego stada była zbyt intensywna eksploatacja.

2.2. Koncepcja maksymalnych podtrzymywalnych połowów (MSY) i biologiczne punkty odniesienia (BRP)

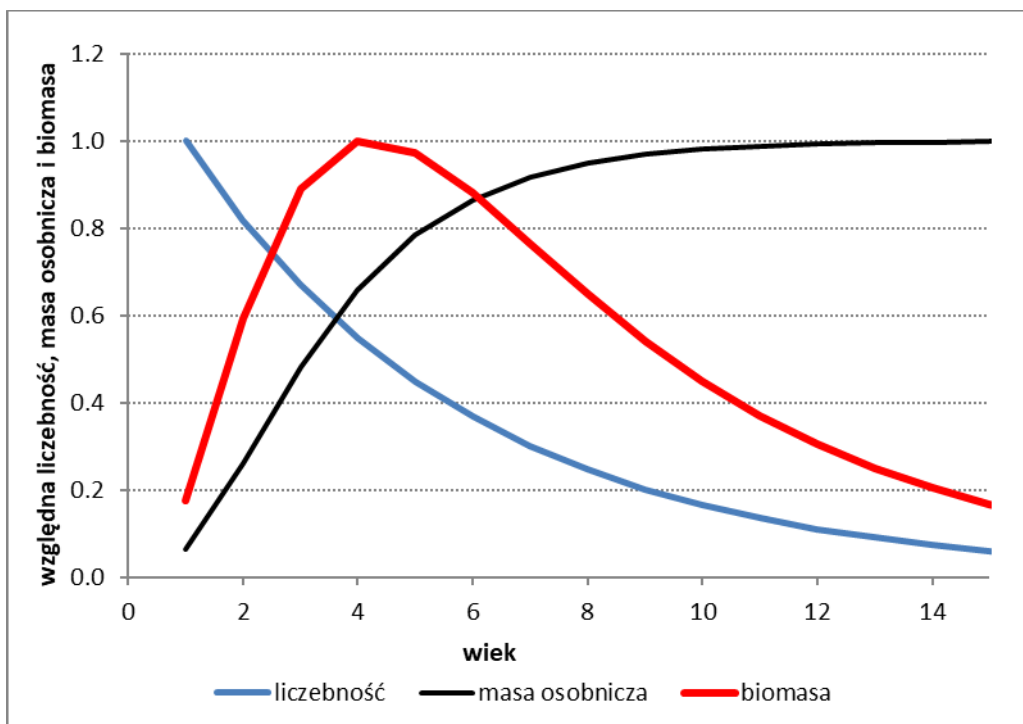
Racjonalne zarządzanie zasobami ma na celu utrzymanie ich odnawialności oraz realizację wybranych celów gospodarowania, zwykle wyspecyfikowanych w planie zarządzania zasobami. Często takim celem jest maksymalizacja wysokości połowów w skali wielolecia, co może dać maksymalnie wysokie korzyści rybołówstwu i konsumentom. Podstawy procesu optymalizacji połowów przedstawiono na rys. 5 i opisano poniżej, więcej szczegółów zamieszczono w Kompowski i Horbowy (Kompowski i Horbowy 1997) oraz Horbowy (Horbowy 2016a). Rozważmy nowo urodzone pokolenie ryb. Liczebność tych ryb będzie przez cały czas się zmniejszać z powodu śmiertelności naturalnej (zakładamy, że stado nie jest eksploatowane). Z kolei średnia masa osobnicza będzie zwykle rosła – w pierwszych latach życia dość szybko, a później (w miarę starzenia się ryb) coraz wolniej. W efekcie biomasa tego pokolenia będzie początkowo rosła, gdyż tempo wzrostu osobniczego będzie przeważało nad tempem śmiertelności. W pewnym czasie biomasa pokolenia osiągnie swoją maksymalną wielkość, po czym zacznie się zmniejszać, gdy tempo śmiertelności ryb zacznie przeważać nad tempem wzrostu. Znalezienie wieku, w którym biomasa pokolenia osiąga największą wartość (oznaczymy taki wiek jako t_{max}), ma duże znaczenie, gdyż ten wiek stanowić może dobry punkt odniesienia do właściwego gospodarowania zasobami.

Rozpoczęcie eksploatacji stada w wieku większym od t_{max} spowoduje, że stracimy już znaczną część biomasy pokolenia wskutek samej śmiertelności naturalnej. Z kolei zbyt intensywne odławianie w wieku dużo niższym od t_{max} może doprowadzić do sytuacji, w której wyłowimy to pokolenie zanim zdąży dorosnąć do optymalnej wielkości. Znalezienie odpowiedniego wieku pierwszego odłowu i dobranie adekwatnej wysokości śmiertelności połowowej (F), to jedno z ważnych zadań racjonalnego zarządzania zasobami, przy czym zwykle szukane parametry wyznaczamy na podstawie matematycznych modeli oddziaływania zasobów i rybołówstwa.

Można pokazać, że powyższe rozważania dotyczące jednego pokolenia przekładają się na całe stado, składające się z szeregu pokoleń ryb. Jednocześnie są one dobrym punktem wyjścia do **koncepcji MSY** (maksimum sustainable yield), tj. maksymalnych podtrzymywalnych połowów. Zgodnie z tą zasadą przy określonej selektywności rybołówstwa (wynikającej m. in. z wieku pierwszego odłowu ryb) istnieje śmiertelność połowowa, która pozwala otrzymywać maksymalne podtrzymywalne połowy w okresie wielolecia. W teorii

otrzymujemy wtedy największe możliwe połowy w ujęciu wieloletnim, przy czym występuje nisko ryzyko załamania się zasobów wskutek ich przełowienia, więc jest uwzględniona zasada przezorności. Śmiertelność połowowa odpowiadająca połowom MSY oznaczana jest zwykle F_{msy} .

Do eksploatacji zasobów zgodnie z koncepcją MSY społeczność międzynarodowa zobowiązała się w roku 2002 w deklaracji johannesburskiej (UN 2002). Stan ten miał być osiągnięty do 2015 roku, jednak okazało się to niemożliwe i nową datą eksploatacji zasobów zgodnie z zasadą MSY jest 2020 r.



Rys. 5. Liczebność, masa osobnicza i biomasa pokolenia ryb jako funkcja wieku na przykładzie dorsza wschodniobałtyckiego. Wartości względne, dane z Horbowy (2005).

Oceniając stan zasobów zwykle odnosimy go do tzw. biologicznych punktów odniesienia (biological reference points, BRP). Jednym z takich punktów – będącym często celem zarządzania – jest przedstawiona wyżej śmiertelność połowowa F_{msy} prowadząca do MSY. Do biologicznych punktów odniesienia zaliczają się też punkty ograniczające (tzw. limit reference points), których nie powinniśmy przekraczać ze względu na ryzyko załamania się produktywności stada, zwłaszcza jego uzupełnienia. Punkty te są wyznaczone w oparciu

o zasadę przezornego zarządzania zasobami (zasada przezorności, precautionary approach). Zasada ta została ogłoszona podczas Konferencji ONZ nt. Środowiska i Rozwoju w Rio de Janeiro w 1992 roku. Jej istotą jest uwzględnienie w gospodarowaniu zasobami faktu, że nasza wiedza o procesach zachodzących w eksploatowanych stadach jest niepełna, a ocena stanu zasobów jest oceną przybliżoną. W praktyce oznacza to często korygowanie konkluzji wynikających z oceny stanu zasobów, uwzględniając losowy błąd danych biostatystycznych oraz błąd procesu. W konsekwencji biologiczne punkty odniesienia są wyznaczone w ten sposób, że jeżeli stado i jego eksploatacja nie przekraczają tych punktów, to istnieje duże prawdopodobieństwo (ok. 90-95%), że stado nie zostanie przełowione. Zgodne z zasadą przezorności zalecenia odnośnie intensywności eksploatacji czy kwot połowowych dla poszczególnych stad mogą być, i na ogół są, bardziej restrykcyjne od zaleceń z lat przed wprowadzeniem zasady. Uwzględniają one jednak ewentualność przeszacowania stanu zasobów i potencjału produkcyjnego stad, co pociągnęłoby za sobą ustalenie zbyt wysokich limitów połowowych, mogących prowadzić do przełowienia stada.

Dla poszczególnych stad określa się na ogół dwa biologiczne punkty odniesienia, wynikające z zasady przezorności (wskaźnik *lim* od limit):

- biomasę, poniżej której stado nie powinno być obniżane wskutek eksploatacji, B_{lim} ,
- śmiertelność połowową, której w eksploatacji stada nie powinno się przekraczać, F_{lim} .

W praktyce oceny stanu zasobów i punktów odniesienia są obarczone pewnym błędem. Stąd używa się operacyjnych punktów odniesienia B_{pa} i F_{pa} (wskaźnik *pa* od precautionary approach). Są one tak wyznaczone, że gdy nasze oceny biomasy i F nie przekraczają tych punktów, to istnieje wysokie prawdopodobieństwo, że nie są przekroczone punkty B_{lim} i F_{lim} . Oceny biologicznych punktów odniesienia (zarówno w stosunku do zasady przezorności, jak i MSY) mogą się zmieniać wraz ze zmianami zachodzącymi w stadach ryb i ich środowisku, a także wraz z pogłębianiem naszej wiedzy o dynamice rozważanych zasobów.

2.3. Zarządzanie zasobami – Wspólna Polityka Rybacka i proces doradztwa ICES

Początki Wspólnej Polityki Rybackiej (WPR) Unii Europejskiej sięgają lat 70. ub. wieku. Potem WPR była wielokrotnie reformowana, a ostatnie zmiany wprowadzono w życie w 2014 roku (Rozporządzenie Parlamentu Europejskiego i Rady (UE) 1380/2013). Celem WPR

jest m. in. zagwarantowanie, że **rybołówstwo** i akwakultura będą **ekologicznie, gospodarczo i społecznie zrównoważone** i że będą źródłem zdrowej żywności dla obywateli UE. Realizacja WPR wymaga regularnych badań naukowych i informacji o stanie stad i ich produktywności, aby móc prowadzić racjonalne (zrównoważone ekologicznie) wielkości odłowów. Na doradcę naukowego Komisji Europejskiej została wybrana Międzynarodowa Rada do Badań Morza (ICES).

Podstawą doradztwa naukowego ICES jest m. in. Deklaracja Johannesburgska, w której strony, w tym UE, zobowiązały się do eksploatacji zasobów zgodnej z zasadą MSY. Wpisując się w Deklarację Johannesburgską, Unia Europejska z pomocą ICES opracowała i w 2016 roku wdrożyła wieloletni **Plan zarządzania zasobami Bałtyku** (Rozporządzenie Parlamentu Europejskiego i Rady (EU) 2016/1139), w którym wyznaczono parametry zasady MSY, w tym śmiertelność połowową F_{msy} , prowadzącą do maksymalnych podtrzymywalnych połowów, oraz zakresy śmiertelności połowowej w otoczeniu F_{msy} , umożliwiające połowy na poziomie nie niższym niż 95% MSY. Zakresy są wyznaczone przez tzw. F_{dolne} i $F_{górne}$ - stosując F_{dolne} utrzymujemy biomasę stada wyższą niż prowadząca do MSY, natomiast stosując $F_{górne}$ utrzymujemy biomasę niższą od prowadzącej do MSY, ale w granicach zasady przezorności, tzn. przy niewielkim ryzyku załamania się uzupełnienia stada. Przy tym połowy odpowiadające F_{dolne} i $F_{górne}$ są podobne. Zakresy śmiertelności połowowej umożliwiają bardziej elastyczne zarządzanie zasobami i rozsądne przekraczanie F_{msy} , gdy jest to uzasadnione ważnymi przyczynami ekologicznymi (np. w przypadku konieczności zmniejszenia presji dorsza na śledziowate, gdyby stan zasobów tych ostatnich był niski) lub łagodzeniem zbyt dużych zmian kwot połowowych.

Opracowywana przez ICES ekspertyza przedstawia stan zasobów na podstawie wieloletnich badań, określa zalecane kwoty połowowe i ewentualnie inne (tzw. techniczne) środki ochrony zasobów. ICES ocenia stan stad i eksploatacji, odnosząc ich aktualne biomasy i śmiertelności połowowe zarówno do parametrów wynikających z zasady MSY, jak i do wartości progowych wynikających z zasady przezorności – te ostatnie nie powinny być przekraczane, jeśli chcemy utrzymać w miarę stabilne oraz produktywne zasoby i rybołówstwo. Wartości progowe najczęściej wyznaczane są na podstawie wieloletniej dynamiki i produktywności stad oraz ich reakcji na intensywność eksploatacji i warunki środowiska. Jeżeli aktualna biomasa stada jest niższa od odpowiedniej wartości progowej (tzw. B_{lim}), to określamy stado jako „mające zmniejszoną zdolność do odnawiania”. Natomiast w przypadku,

gdy śmiertelność połowowa przewyższa wartość progową (tzw. F_{lim}), to eksploatację stada określamy jako „niezrównoważoną”.

Sformułowane opinie i zalecenia są stanowiskiem i odpowiedzią ICES na skierowane przez Unię Europejską, komisje rybackie i państwa członkowskie Rady zapytania i prośby o doradztwo. Przedstawione wyniki są jedynie końcowym etapem długiego procesu oceny stanu zasobów i formułowania zaleceń odnośnie zarządzania nimi. Proces ten zaczyna się w instytutach naukowych poszczególnych państw od całorocznego zbioru odpowiednich danych biologicznych i statystycznych, prowadzenia międzynarodowo koordynowanych rejsów badawczych, a następnie opracowywania zebranych danych, w tym określania interakcji pomiędzy gatunkami. Kolejnym etapem oceny zasobów są prace odpowiednich dla danych akwenów grup eksperckich ICES, podczas których wykonywana jest ocena stanu zasobów i prognoza ich wielkości przy różnych wariantach eksploatacji. Podstawą obliczeń są matematyczne modele dynamiki populacji oraz narzędzia do prognozowania biomasy stad i połowów, rozwijane i testowane w ramach badań naukowych, a oceniane przez specjalnie powołane grupy eksperckie bądź studyjne. Następnie wyniki badań i analiz są opiniowane przez niezależnych recenzentów, a ewentualne błędy i niedociągnięcia poprawiane. Wreszcie na podstawie syntezy wyników badań formułowane są zalecenia ICES dla poszczególnych stad przez specjalnie powołaną do tego celu grupę naukowców i ekspertów, reprezentujących państwa członkowskie. Zalecenia są zwykle przedstawiane w ujęciu uwzględniającym powiązania pomiędzy gatunkami i wpływ eksploatacji na cały ekosystem. W wybranych etapach opisywanego procesu biorą udział obserwatorzy z Komisji Europejskiej, organizacji rybackich i pozarządowych. Ostateczną instancją weryfikującą wykonane prace w ramach ICES jest Komitet Doradczy do Zarządzania (ACOM). Celem tak długiego procesu jest możliwie najlepsze doradztwo naukowe, wielokrotnie weryfikowane i wypracowane we współpracy z odbiorcami tego doradztwa.

Obecnie ICES zaleca wielkość dopuszczalnych połowów (TAC), w hierarchii następujących opcji, uzgodnionych z odbiorcami doradztwa naukowego:

1. TAC wynikające z planu zarządzania zasobami.
2. Jeśli takiego planu nie ma lub nie został on określony przez ICES jako zgodny z zasadą przezorności, to proponowane jest TAC wynikające z zasady MSY.
3. Jeśli nie ma ani planu zarządzania zasobami, ani nie zostały wyznaczone parametry prowadzące do MSY, to proponowane jest TAC określone zasadą przezorności.

2.4. Dane i metody oceny stanu zasobów

Racjonalne zarządzanie stadami wymaga znajomości ich aktualnego stanu (tzn. wielkości biomasy, potencjału reprodukcyjnego, struktury wiekowej czy wielkościowej) w celu określenia sposobu dojścia do stanu pożądanego, określonego np. przedstawionymi wyżej biologicznymi punktami odniesienia.

Ocena stanu zasobów rybackich w miarę możliwości prowadzona jest w oparciu o modele matematyczne, przedstawiające wpływ eksploatacji na zasoby, ich wzajemne powiązania (np. oddziaływania typu drapieżnik – ofiara, na Bałtyku to zwłaszcza wpływ dorsza na przeżywalność śledzi i szprotów) oraz wpływ czynników środowiskowych. Dla stad bałtyckich stosowane są najczęściej dwa modele: model XSA (eXtended Survivors Analysis) (Shepherd 1999) i model SAM (State-space Assessment Model) (Nielsen i Berg 2014) w modelu SAM śmiertelność połowowa jest traktowana jako tzw. błądzenie przypadkowe. Podstawą stosowania modeli matematycznych są wieloletnie badania nad biologią i eksploatacją ryb prowadzone przez instytuty badawcze państw eksploatujących dane stado. Badania te umożliwiają zebranie szerokiego zakresu danych, obejmujących wiele lat. Dane zbierane dla stad bałtyckich i potrzebne do stosowanych tu metod oceny zasobów obejmują:

- wielkość i skład gatunkowy połowów,
- standaryzowaną wydajność połowów oraz nakład połowowy,
- rozkład długości i wieku w połowach rybackich i badawczych,
- masy osobnicze wg wieku,
- dojrzałość płciową ryb wg wieku,
- wskaźniki wielkości biomasy i liczebności stad wg wieku ryb, ze szczególnym uwzględnieniem ryb młodych, wyznaczone w trakcie rejsów badawczych (na Bałtyku zwykle pomiary hydroakustyczne dla śledzi i szprotów oraz rejsy badawcze z zaciągami dennymi dla dorszy i płastug).

Tak duży zakres danych umożliwia zastosowanie do oceny stanu zasobów ważniejszych stad metod opartych na strukturze wiekowej połowów komercyjnych i badawczych. Do kalibracji metod używa się hydroakustycznych ocen biomasy ryb śledziowatych oraz wskaźników wielkości zasobów dorszy i płastug, uzyskanych metodą połowów badawczych za

pomocą zaciągów dennych. Wiarygodność ocen dynamiki stad jest sprawdzana m. in. stosując analizę retrospekcyjną.

Wartości współczynników śmiertelności naturalnej śledzi i szprotów uwzględniają śmiertelność spowodowaną wyjadaniem śledziowatych przez dorsze (śmiertelność ta zwykle oznaczana jest przez M_2), poprzez uzależnienie tych współczynników od stanu stada dorszy.

W związku z mającym miejsce w ubiegłych latach niepełnym raportowaniem połowów dorszy, prowadzono korektę połowów oficjalnych, aby otrzymać połowy bliższe rzeczywistości. Posługiwano się metodami analitycznymi lub szacunkami eksperckimi. Dostępne dane wskazują, że począwszy od 2010 roku nieraportowanie połowów dorszy było stosunkowo małe.

Do obliczeń punktów referencyjnych – zwłaszcza związanych z zasadą MSY – można zastosować metodę zrównoważonych krzywych odłowu i biomasy (Horbowy i Luzeńczyk 2012) lub program Eqsim (ICES 2014) oparty na długoterminowych symulacjach stanu zasobów i połowów z uwzględnieniem procesów losowych, zwłaszcza w procesie rekrutacji.

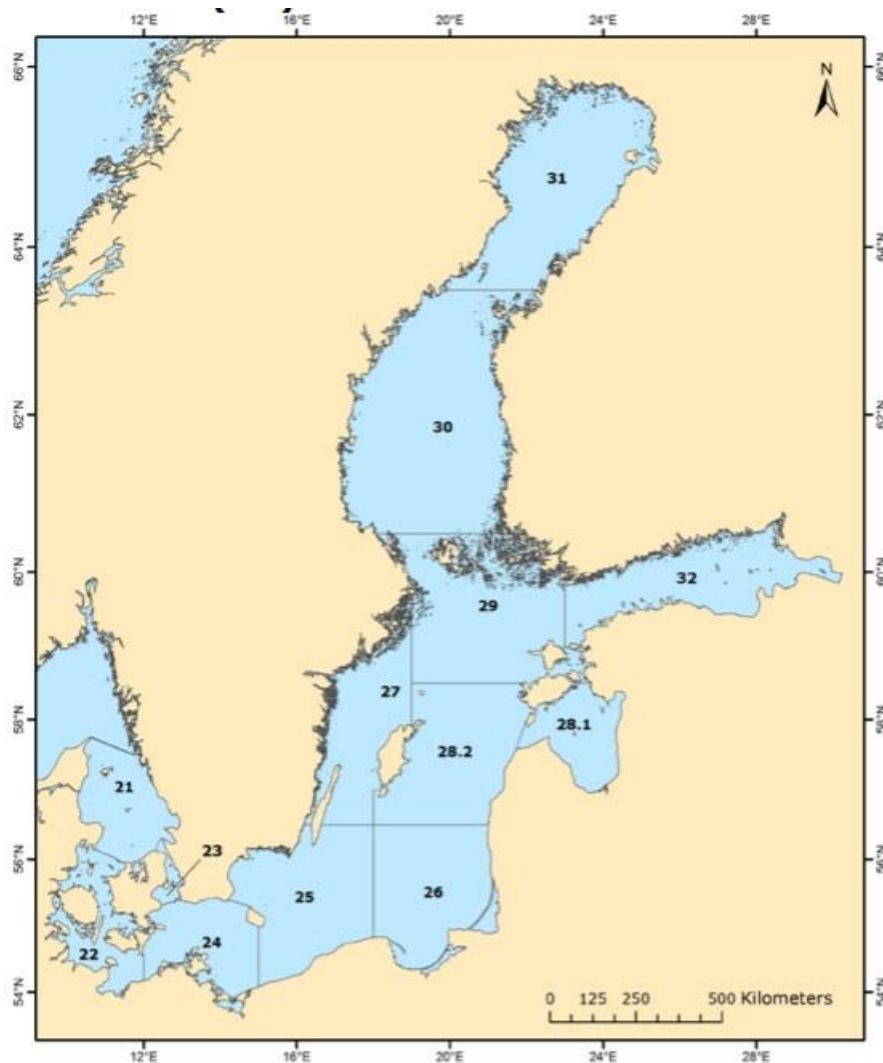
W przypadku stad dla których nie osiągnięto zadowalających wyników w analitycznej (tj. za pomocą modelu matematycznego) ocenie stanu zasobów ich stan ocenia się głównie na podstawie wyników rejsów badawczych.

2.5. Dynamika zasobów i kwot połowowych podstawowych stad Bałtyku

Poniższej przedstawiono dynamikę stad dorszy, śledzi i szprotów, które są podstawą polskich połowów bałtyckich. Do tych stad należą: stado dorszy wschodnio-bałtyckich (podobszary 24+25-32), stado śledzi centralnego Bałtyku (podobszary 25-29+32) oraz stado szprotów całego Bałtyku (podobszary 22-32) (rys. 6.). Ponadto opisano stada o mniejszym znaczeniu dla polskiego rybołówstwa, tj. stada dorszy zachodniego Bałtyku (podobszary 22-24) i śledzi podobszarów 20-24 (Skagerrak, Kattegat i zachodni Bałtyk). Przedstawiono dynamikę połowów, biomasy stad tarłowych, liczebności uzupełnienia i intensywność eksploatacji. Dynamika stad jest przedstawiona na podstawie prac wykonywanych w międzynarodowej współpracy naukowej w ramach Międzynarodowej Rady do Badań Morza (ICES 2019).

Wymienione w dalszej części artykułu podobszary statystyczne 22-24 obejmują wody Bałtyku na zachód od Bornholmu, a podobszary 25-32 – wody na wschód od Bornholmu.

Mówiąc o biomacie stada będziemy mieli na myśli biomasę stada rozrodczego, tj. przystępującego do tarła. Połowy są definiowane jako wyładunki plus odrzuty (połowy niechciane) – jeśli masa odrzutów jest nieznaczną, to przyjmuje się, że połowy są równe wyładunkom.



Rys. 6. Mapa Bałtyku z podziałem na podobszary definiowane przez ICES.

Stada dorszy

Podobszar 24 jest miejscem mieszania się stad dorszy zachodnio-bałtyckich i dorszy wschodnio-bałtyckich, jednak zazwyczaj dorsze poławiane w tym rejonie zaliczono do stada zachodniego. W 2015 r. zdecydowano się wydzielić w tym podobszarze połowy obu stad dorszy na podstawie ich cech biologicznych (cechy genetyczne i charakterystyka otolitu) oraz wydzielone ryby przypisać do odpowiadających im stad. W konsekwencji w ocenach zasobów

zastosowano odpowiednio zmodyfikowane dane, odzwierciedlające lepiej niż dotąd populacje biologiczne. Mieszanie się obu stad dorszy w podobszarze 24 było znane od dawna, jednak w ostatnich latach nabrało większej dynamiki i – dysponując już środkami technicznymi do rozdzielania połowów obu stad - uznano za stosowne zmodyfikowanie zasad oceny. Po roku 2000 względny udział dorszy wschodnio-bałtyckich w połowach w podobszarze 24 wzrósł z ok. 40-50% na początku okresu do 70-80% w ostatnich latach.

Stado dorszy zachodnio-bałtyckich (podobszary 22-24)

Najwyższą biomasę rzędu 40 tys. ton obserwowano w drugiej połowie lat 90. Następnie biomasa obniżała się wskutek mało liczebnych pokoleń i dużej intensywności eksploatacji, przekraczającej kilkukrotnie poziom F_{msy} . Przy tak intensywnej eksploatacji biomasa stada jest silnie zależną od uzupełniających ją pokoleń. W ostatnich latach około 70% biomasy i połowów było opartych na rybach w wieku 2 i 3 lat. Spadek biomasy został powstrzymany urodzeniem się w 2016 roku bardzo liczebnego pokolenia. Będzie ono podstawą ponad 70% biomasy i połowów w latach 2020-2021.

Po roku 2000 połowy tego stada zmalały z ok. 40 do 5 tys. ton, odzwierciedlając trend zmian biomasy. Polska w podobszarze 24 łowi niewiele, zwykle poniżej tysiąca ton dorszy, większość z nich to migrujące tam dorsze ze stada wschodnio-bałtyckiego. Oceniając stan zasobów tego stada, uwzględniono połowy rekreacyjne (1-3 tys. ton w ostatnich 20 latach, co stanowiło do ok. 25% połowów całkowitych), które w całości zaliczono do dorszy zachodnio-bałtyckich. W 2017-2018 r. połowy rekreacyjne znacznie spadły i wynosiły 1.3-1.6 tys. ton.

Stado dorszy wschodnio-bałtyckich (podobszary 24+25-32)

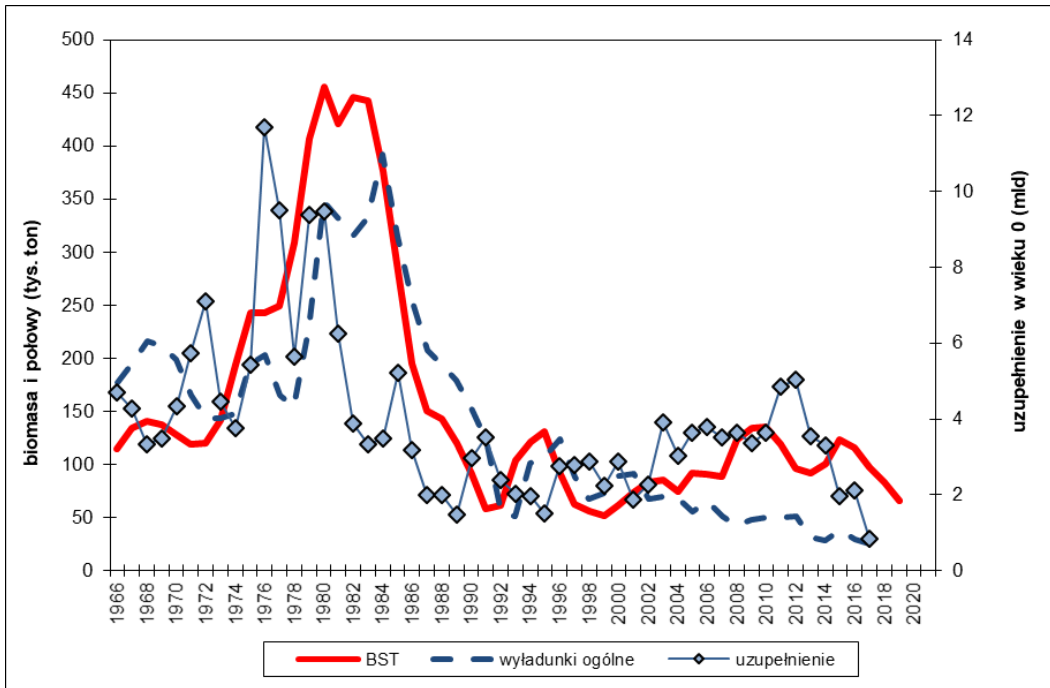
Biomasa stada rozrodczego (rys. 7) najwyższe wartości, rzędu 450-500 tys. ton, osiągała w pierwszej połowie lat 80. ubiegłego wieku. Było to spowodowane urodzeniem się kilku bardzo liczebnych pokoleń dorszy, czemu sprzyjały dogodne do rozwoju ikry warunki środowiska. A te w przypadku dorszy w znacznym stopniu zależą od wlewów bardziej zasolonej i natlenionej wody z Morza Północnego do Bałtyku. W latach 70. takie wlewy były częste i silne. Wraz ze wzrostem biomasy rozbudowano rybołówstwo dorszowe i połowy stada wzrosły 2-3 krotnie, sięgając prawie 400 tys. ton w połowie dekady lat 80 (rys. 7). Jednakże wzrost intensywności eksploatacji stada (mierzony śmiertelnością połowową ryb) był zbyt duży

w stosunku do jego produktywności, która jednocześnie uległa zmniejszeniu wskutek rzadszych wlewów, a tym samym mniejszej liczebności nowo rodzonych pokoleń dorszy. W rezultacie biomasa stada ulegała szybkiemu obniżaniu i w latach 90. stanowiła zaledwie ok. 20% rekordowego poziomu opisywanego wyżej. Wobec utrzymującego się przez kilkanaście lat niskiego poziomu biomasy, Unia Europejska przyjęła i w roku 2007 wdrożyła plan odbudowy zasobów dorszy, który polegał m. in. na znacznej redukcji presji połowowej. Stado zareagowało bardzo szybko i już po kilku latach obserwowano prawie trzykrotny wzrost biomasy. Jednakże po roku 2012 następował szybki spadek biomasy stada, która obecnie ma jedną z najniższych wartości w historii obserwacji. Na ten spadek złożyło się kilka przyczyn: szybkie obniżanie się tempa wzrostu, niska kondycja dorszy mierzona współczynnikiem kondycji Fultona, gwałtowny wzrost zarażenia dorszy nicieniami z rodziny Anisakidae występującymi w wątrobie (z kilku do kilkudziesięciu %), wzrost śmiertelności naturalnej będący wynikiem prawdopodobnie wspomnianej niskiej kondycji i zarażenia pasożytami (Horbowy i in. 2016; Horbowy 2016b.). W efekcie biomasa ryb o rozmiarze handlowym (≥ 35 cm) jest najniższa w historii. Niskie tempo wzrostu dorszy jest w znacznym stopniu spowodowane powiększaniem się stref beztlenowych lub o niskiej zawartości tlenu w Bałtyku – to powoduje zmniejszenie ilości pokarmu dla dorsza w strefie przydennej, mając wpływ na wzrost osobniczy. W ciągu kilkunastu lat masy osobnicze dorszy zmniejszyły się o ok. 50% (rys. 8).

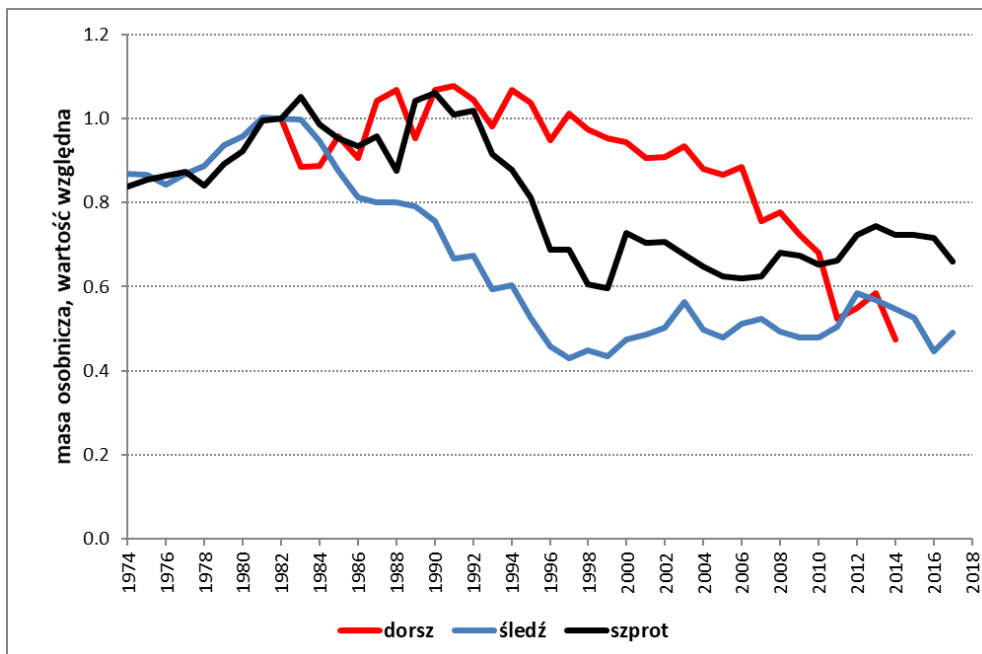
Wraz ze spadkiem biomasy obniżały się ogólne połowy stada, w tym połowy Polski. Polskie połowy najczęściej stanowiły 20-30% połowów ogólnych. Połowy oficjalne są w niektórych latach niższe niż przedstawione na rys. 7, ze względu na niepełne raportowanie połowów. W związku z tym ICES powiększała połowy oficjalne z lat 2000-2007 o połowy nieraportowane, szacowane na ok. 35-45% połowów oficjalnych. Wg ocen ICES nieraportowanie połowów w latach 2008-2009 roku było niewielkie (ok. 6%), a dla lat 2010-2018 przyjęto pełne raportowanie połowów. Jednakże ICES ma jedynie niepełne dane o wielkości połowów nieraportowanych i ich skala była prawdopodobnie wyższa niż wskazano wyżej, szczególnie w latach wcześniejszych. Śmiertelność połowowa dorszy była przez lata wysoka, znacznie przekraczając poziom F_{msy} , ostatnio jednakże zmalała i jest niższa od śmiertelności naturalnej.

Po roku 2000 zarządzanie stadem było oparte na zasadzie przezorności, zasadzie MSY lub na planie zarządzania dla Bałtyku. Doradzane przez ICES kwoty połowowe dla tego stada

po roku 2000 oscylowały w granicach zera – 70 tys. ton, ale uzgodnione TAC i połowy często przekraczały ten poziom, co nie sprzyjało odbudowie zasobów. Jednakże w ostatnich latach TAC nie było w pełni wykorzystane ze względu na bardzo zły stan zasobów.



Rys. 7. Biomasa, wyladunki (tys. ton) i uzupełnienie dorszy wschodnio-bałtyckich (mld sztuk) w okresie 1966-2019.



Rys. 8. Wzrost osobniczy dorszy, śledzi i szprotów w okresie 1974-2018 (wartości względne, 1982 przyjęto jako 1).

Stado śledzi wiosennych podobszarów 20-24

Biomasa rozrodczej części stada najwyższe wartości rzędu 300 tys. ton osiągała na początku lat 90., następnie zmalała do poniżej 100 tys. ton pod koniec ubiegłej dekady i wahała się wokół niskich wartości. Ocena wielkości biomasy w roku 2019 to 70 tys. ton, jedna z najniższych wartości od początku lat 90. Na spadek biomasy wpłynęło m. in. niskie uzupełnienie stada w okresie od połowy ub. dekady. Śmiertelność połowowa była przez lata wysoka, zwykle w granicach 0.5 – 0.6, znacznie przewyższając punkty referencyjne. Po roku 2010 śmiertelność połowowa obniżyła się do ok. 0.35-0.4, jednak nadal była wyższa od wartości F_{msy} równej 0.31.

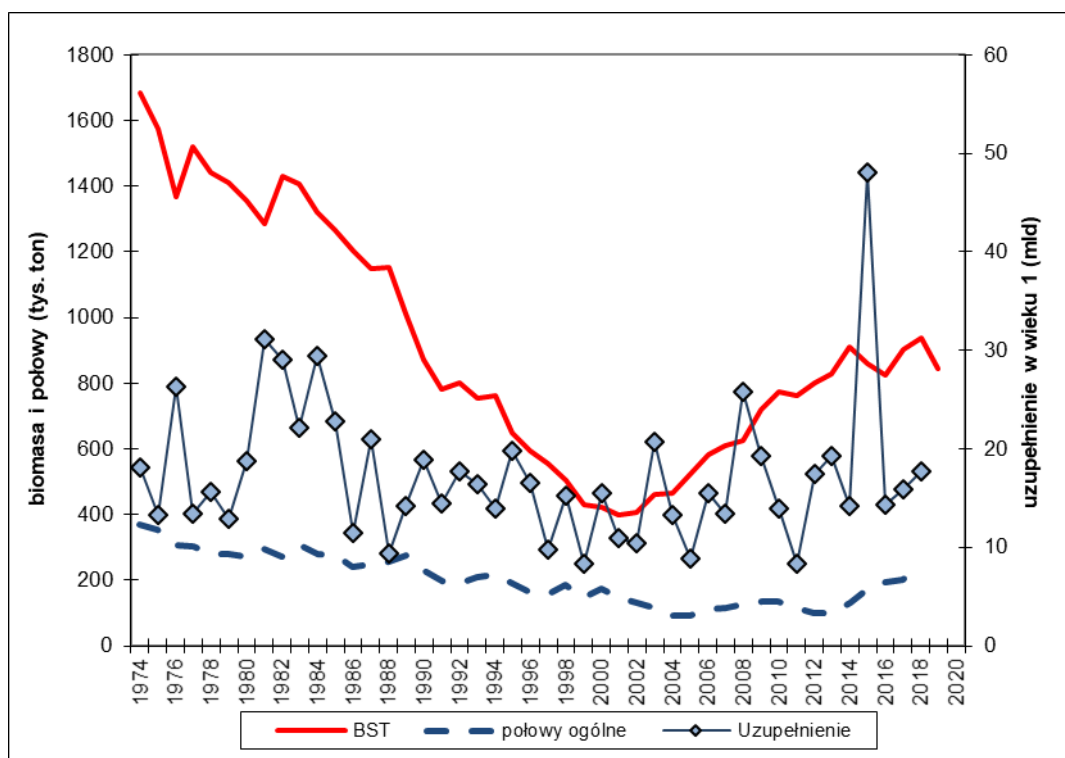
Połowy stada malały w tempie jeszcze wyższym niż biomasa – z poziomu prawie 200 tys. ton na początku lat 90. do 40-50 tys. ton w obecnej dekadzie. Stado to ma dla polskiego rybołówstwa stosunkowo małe znaczenie, ostatnio łowimy 2-3 tys. ton tych śledzi, co stanowi ok. 6% połowów tego stada. Zalecane kwoty połowowe w obecnej dekadzie wynosiły od zera do prawie 60 tys. ton. Uzgodnione TAC i połowy na ogół nie przekraczały znacząco zalecanych kwot.

Stado śledzi centralnego Bałtyku (podobszary 25-29 i 32, bez Zatoki Ryskiej)

Biomasa rozrodczej części stada najwyższe wartości rzędu 1.6 mln ton osiągała w połowie lat 70. – był to okres dość dobrego uzupełnienia stada i stosunkowo niskiej śmiertelności połowowej (rys. 9). Z początkiem lat 80. nastąpiło znaczne zmniejszenie się tempa wzrostu śledzi, które w połączeniu z występującym kilka lat później spadkiem uzupełnienia stada doprowadziło do ok. czterokrotnego spadku biomasy na przełomie wieków. Ze spadkiem biomasy zmniejszały się połowy stada, ale wolniej niż obniżała się biomasa, co skutkowało ponad dwukrotnym wzrostem śmiertelności połowowej. Obniżanie się tempa wzrostu śledzi zatrzymało się w końcu lat 90. - do tego czasu masy osobnicze zmniejszyły się o ok. 50% i w następnych latach wahały się wokół niskiego poziomu (rys. 8). Wzrost biomasy stada obserwowany po roku 2000 wynikał z pewnej poprawy liczebności pokoleń oraz ze znacznego zmniejszenia się intensywności eksploatacji, która zmalała ostatnio do 0.2-0.3, czyli poziomu bliskiego F_{msy} , ocenionego na 0.22. Obecnie biomasa stada jest bliska średniej wieloletniej, a jej utrzymanie przez kilka lat na tym poziomie zawdzięczamy w dużym stopniu bardzo liczebnemu pokoleniu urodzonemu w 2014 roku. Stado jest określane jako odławiane w sposób „zrównoważony” i z „pełną zdolnością do odnawiania”.

Połowy stada w okresie 1974-2005 systematycznie malały - z ponad 300 tys. ton w latach 70. do zaledwie 90 tys. ton w latach 2004 - 2005 (rys. 9). Następnie połowy na ogół rosły i w roku 2018 złowiono ponad 244 tys. ton śledzi, najwięcej od prawie 30 lat. Połowy Polski wykazują trend zmian zbliżony do połowów ogólnych i zwykle wynoszą ok. 20% tych połowów.

Po roku 2000 zarządzanie stadem było oparte na zasadzie przezorności, zasadzie MSY lub ostatnio na planie zarządzania dla Bałtyku. Doradzane przez ICES kwoty połowowe wahały się w tym okresie od 60 do ok. 270 tys. ton. Uzgadniane TAC i połowy były na ogół zbliżone do kwot doradzanych przez ICES, ale w niektórych latach je dość znacznie przewyższały.



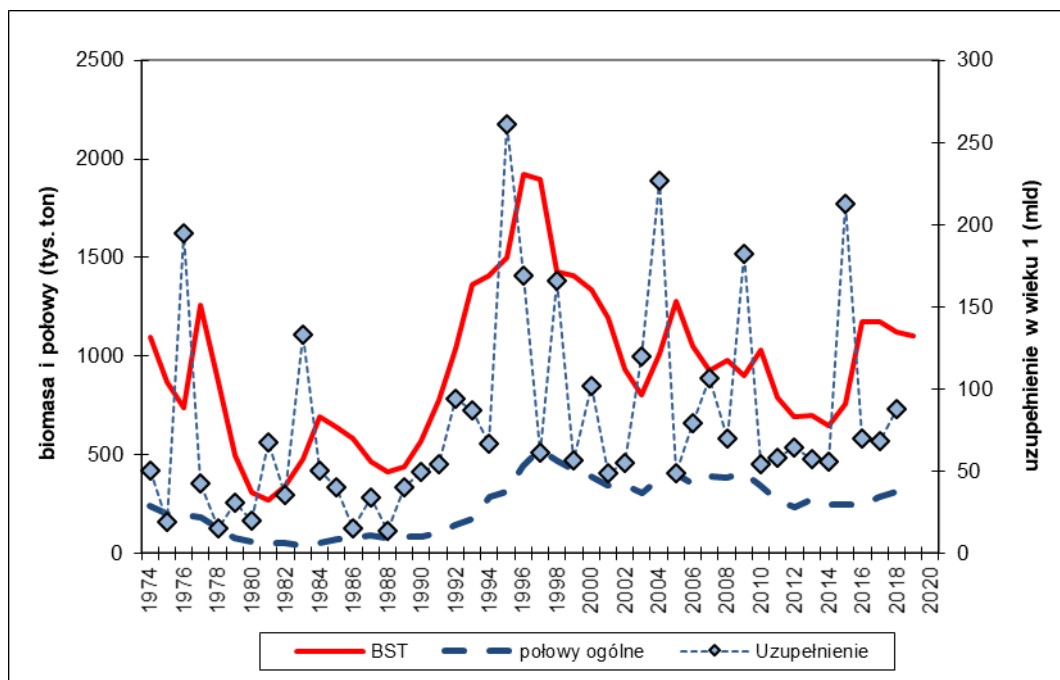
Rys. 9. Biomasa, połowy (tys. ton) i uzupełnienie śledzi centralnego Bałtyku (mld sztuk) w okresie 1974-2019.

Stado szprotów całego Bałtyku (podobszary 22-32)

Biomasa stada szprotów w dużym stopniu zależy od biomasy dorszy, ze względu na intensywne oddziaływanie typu drapieżnik – ofiara; szprot jest ważnym elementem pokarmu dorsza. W rezultacie w latach 80., gdy biomasa dorszy była wysoka, zasoby szprotów były niewielkie, podlegając w tym okresie intensywnemu wyjadaniu przez dorsze. Wraz ze zmniejszaniem się stada dorszy ich presja na szproty malała i przeżywalność szprotów zwiększała się. Jednocześnie w latach 90. urodziło się kilka bardzo liczebnych pokoleń szprotów, co w połączeniu ze zmniejszoną presją ze strony dorszy doprowadziło do rekordowego wzrostu biomasy rozrodczej stada, osiągającej w połowie lat 90. prawie 2 mln ton (rys. 10). Przy tak dużej biomasy stada rozbudowano rybołówstwo szprota, przy czym państwa skandynawskie łowiły głównie z przeznaczeniem ryb na mączkę, natomiast państwa pozostałe głównie z przeznaczeniem na konsumpcję, choć i tam (np. w Polsce) rozwijano rybołówstwo „mączkowe”. Wzrost połowów był bardzo szybki, Szwecja i Dania zwiększyła połowy kilkunastokrotnie, a połowy w 1997 roku osiągnęły rekordową wielkość przekraczając pół mln ton. W efekcie wzrostu połowów wzrosła śmiertelność połowowa, która po roku 2000 wahała się w granicach na ogół 0.3-0.5, przewyższając znacznie F_{msy} , oceniane na 0.26. Poza tym, podobnie jak w przypadku dorszy i śledzi, po roku 1992 znacznie zmalało tempo wzrostu szprotów (o ok. 40%) i te niższe masy osobnicze utrzymują się do dziś (rys. 8). Wzrost śmiertelności połowowej i spadek tempa wzrostu osobniczego doprowadziły do spadku biomasy do poziomu poniżej 1 mln ton na początku obecnej dekady. Dalsze obniżanie się biomasy stada było m. in. wynikiem niskiego uzupełnienia stada w kolejnych 5-ciu latach. Dopiero w 2014 roku urodziło się bardzo liczebne pokolenie szprotów, które spowodowało duży wzrost biomasy, przewyższającej obecnie o ok. 20% średnia wieloletnią.

Połowy stada odzwierciedlają w znacznym stopniu jego dynamikę, ale po roku 1990 ich intensywność była wyższa niż poprzednio (rys. 10). W obecnym stuleciu zwykle wahały się w granicach 250-400 tys. ton. Połowy polskie wynoszą średnio 22% połowów ogólnych, jesteśmy największym eksploratorem szprotów.

Po roku 2000 zarządzanie stadem było oparte na zasadzie przezorności, zasadzie MSY lub ostatnio na planie zarządzania dla Bałtyku. Zalecane przez ICES kwoty połowowe po roku 2000 zwykle mieściły się w granicach 200-500 tys. ton, uzgadniane TAC i połowy były na ogół do tych kwot zbliżone.



Rys. 10. Biomasa, połowy (tys. ton) i uzupełnienie szprotów całego Bałtyku (mld sztuk) w okresie 1974-2019.

3. Ryby i produkty rybne – zanieczyszczenia chemiczne

Joanna Szlinder - Richert, Zygmunt Usydus

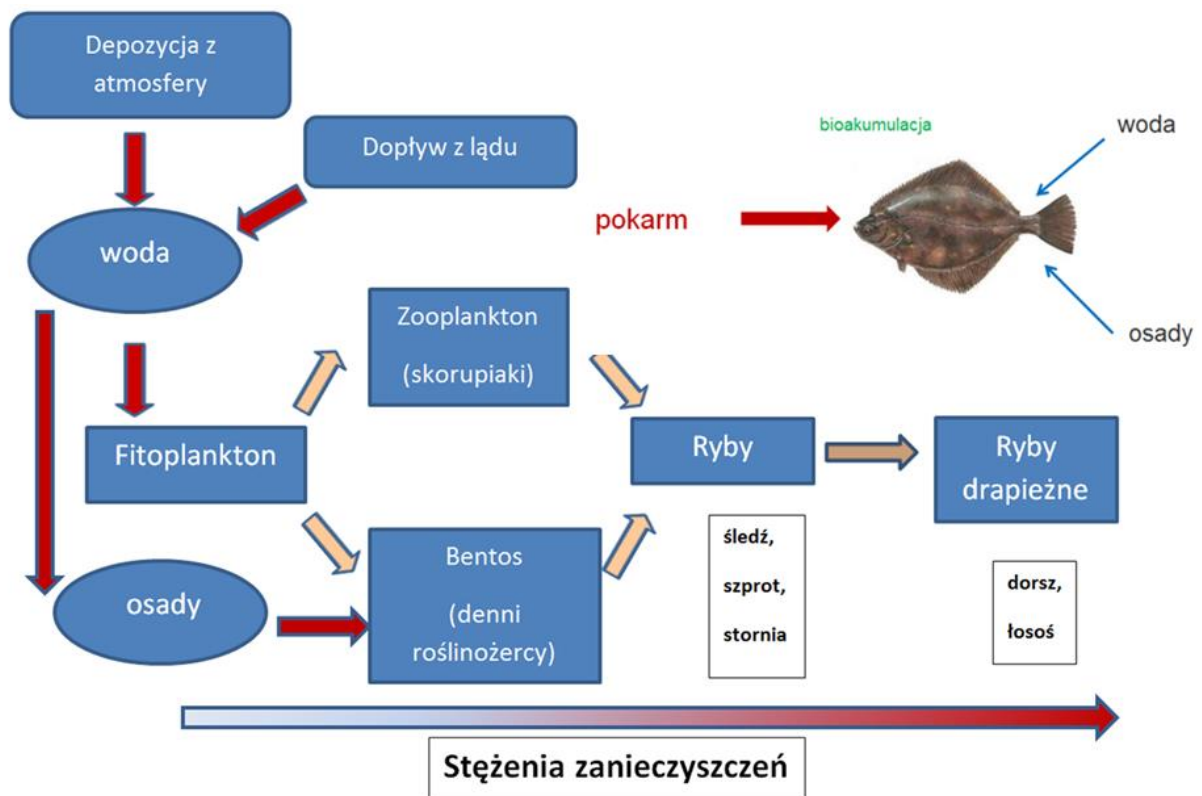
3.1. Zanieczyszczenia występujące w produktach rybnych – rodzaje, źródła, obowiązujące przepisy

Ryby i przetwory rybne oprócz swych niewątpliwych walorów odżywczych i prozdrowotnych (białko bogate w niezbędne aminokwasy - lizyna, metionina, cystyna, treonina i tryptofan, mikro i makroelementy - wapń, fosfor, fluor, jod, tłuszcze będące cennym źródłem energii, witaminy rozpuszczalne w tłuszczach oraz niezbędne nienasycone kwasy tłuszczowe w tym EPA i DHA występujące naturalnie tylko w żywności pochodzenia wodnego), zawierają także substancje niepożądane. Substancje te mogą być obecne w surowcu, do którego mogą przenikać ze środowiska, ale mogą być też wprowadzone w sposób niezamierzony podczas procesu przetwarzania surowca. Związki te są pobierane wraz z żywnością przez konsumentów i mogą stanowić dla nich ryzyko zdrowotne. W ciągu ostatnich lat przyjęto nowy paradygmat bezpieczeństwa żywności, który przyznaje, że życie nie może być wolne od ryzyka, ale ryzyko musi być naukowo i ilościowo zarządzane, a informacja o nim musi być przekazywana konsumentom, tak aby umożliwić im dokonanie właściwych wyborów. Proces ten, znany jako analiza ryzyka, został włączony do łańcucha żywnościowego. Analiza ryzyka opiera się o zapewnienie identyfikowalności surowca w łańcuchu dostaw oraz harmonizacji norm jakości i bezpieczeństwa żywności. Unikanie ryzyka lub zapobieganie mu u źródła jest coraz bardziej przestrzegane w całym łańcuchu „od wody do stołu” (James 2013). Stąd prawodawstwo wprowadza normy dotyczące jakości żywności, w tym dopuszczalne limity zanieczyszczeń.

Do zanieczyszczeń występujących w produktach rybnych, które mogą stanowić o ryzyku związanym z ich spożyciem należą przede wszystkim: metale toksyczne (rtęć, ołów, kadm), polichlorowane bifenyle (PCB), pestycydy chloroorganiczne, polichlorowane dibenzo-p-dioksyny i dibenzofurany (PCDD/F), wielopierścieniowe węglowodory aromatyczne (WWA). Dla związków tych obowiązują limity stężeń, które nie mogą być przekroczone w wprowadzanej na rynek żywności.

Większość z tych zanieczyszczeń jest klasyfikowanych jako trwale zanieczyszczenia organiczne. Oznacza to, że ze względu na swoje fizykochemiczne właściwości, substancje te nie ulegają w środowisku szybkiej degradacji i dlatego mogą być w nim obecne nawet długo po tym kiedy zaprzestano ich emisji. Za najbardziej groźne dla zdrowia uważa się te związki

które poza tym, że są trwałe w środowisku, wykazują również zdolność do kumulowania się w tkankach organizmów żywych oraz wykazują toksyczność. Ta grupa związków często jest określana z języka angielskiego jako PBT, czyli Persistent (trwałe), Bioaccumulative (wykazujące zdolność do bioakumulacji) and Toxic chemical (toksyczne). Emisja zanieczyszczeń do środowiska w znacznej mierze związana jest z działalnością człowieka. Substancje odprowadzane do atmosfery, gleby i wód ulegają skomplikowanym procesom obiegu w środowisku i mogą rozprzestrzeniać się na duże odległości. W środowisku morskim, związki chemiczne, które nie są dobrze rozpuszczalne w wodzie, gromadzą się w osadach i są wprowadzane do łańcucha pokarmowego. Jak pokazano na schemacie poniżej ryby są ekspozowane na zanieczyszczenia obecne w środowisku morskim poprzez wodę, kontakt z osadami oraz pokarm, jednak główną drogą narażenia jest pokarm.



Rys. 11. Transfer zanieczyszczeń w środowisku morskim.

Ryby, w kontekście zanieczyszczeń najczęściej są kojarzone z rtęcią, dioksynami i polichlorowanymi bifenylami.

3.1.1. Zanieczyszczenia organiczne

Polichlorowane bifenyle

Polichlorowane bifenyle są syntetycznymi związkami chemicznymi, których produkcję na skalę przemysłową rozpoczęto na przełomie 1929 i 1930 roku. Poza celowym otrzymywaniem, niewielkie ilości PCB mogą powstawać samorzutnie np. podczas spalania odpadów, chlorowania wody pitnej i ścieków, czy wybielania miazgi celulozowej chlorem. Dzięki właściwościom fizykochemicznym PCB, m.in. dobrej rozpuszczalności w olejach, wysokiej temperaturze zapłonu, niskiej prężności par, niskim przewodnictwie elektrycznym, wysokim przewodnictwie ciepła i dużej oporności na działanie czynników chemicznych, związki te znalazły szerokie zastosowanie w przemyśle. Były one stosowane przede wszystkim jako dielektryki w transformatorach i kondensatorach dużej i średniej mocy, wymiennikach ciepła, układach hydraulicznych, jako składniki olejów smarowych oraz cieczy chłodząco-smarujących. Związki te wykazują wielokierunkową toksyczność w stosunku do organizmów żywych. Jest to grupa 209 związków (kongenerów) o podobnej strukturze chemicznej, ale różniących się liczbą i miejscem podstawienia atomów chloru w cząsteczce. Spośród tych 209 związków w żywności oznaczanych jest 18 związków podzielonych na dwie grupy: dioksynopodobne polichlorowane bifenyle (dl-PCB- 12 kongenerów) oraz niedioksynopodobne polichlorowane bifenyle (ndl-PCB- 6 kongenerów), nazywane także czasami wskaźnikowymi PCB. Obecnie ich stosowanie i produkcja są zakazane w UE.

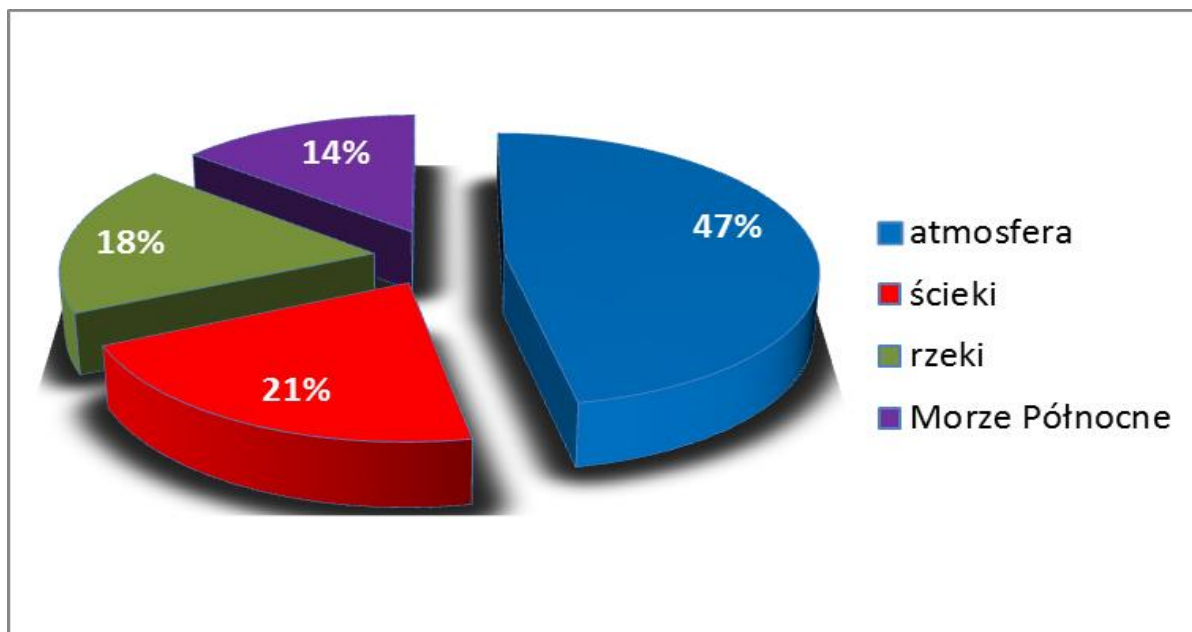
Dioksyny

Termin dioksyny jest natomiast powszechnie stosowany dla dwóch grup związków, tj. polichlorowanych dibenzodioksyn (PCDD) i polichlorowanych dibenzofuranów (PCDF), które także mają podobną strukturę chemiczną i wspólny mechanizm działania toksycznego.

Limity ustalone dla żywności dotyczą łącznie sumy 17 kongenerów. Dodatkowo wyznaczono limit dla sumy PCDD/F i dl-PCB. PCDD/F w przeciwieństwie do PCB, nigdy nie były celowo produkowane, ale są wprowadzane do środowiska w sposób niezamierzony.

Związki te powstają jako produkty uboczne podczas prowadzenia rozmaitych procesów przemysłowych, w szczególności związanych z procesami spalania. Duże ich ilości powstają także w gospodarstwach domowych podczas spalania odpadów. Związki te mogą też powstawać w środowisku w efekcie procesów naturalnych, dlatego niemożliwe jest

powstrzymanie ich emisji do środowiska. Na rysunku pokazano drogi emisji tych zanieczyszczeń do Morza Bałtyckiego.



Rys. 12. Źródła emisji dioksyn do Morza Bałtyckiego.

Na działanie dioksyn ludzie mogą być narażeni z różnych źródeł. Jednak w Polsce w ponad 90 % źródło dioksyn stanowi żywność, w tym ryby ok. 7 % (FAO/WHO 2010).

PCDD/F oraz PCB zostały uznane przez Międzynarodową Agencję do Badań nad Nowotworami (IARC) za kancerogeny z grupy A, co w zakresie ich potencjalnego działania nowotworowego stawia je na równi z takimi związkami, jak benzo(a)piren, aflatoksyny i nitrozoaminy. Jednak mechanizm ich toksycznego działania obejmuje także działanie na skórę czy na układ endokryny oraz działanie embriotoksyczne. Związki te zdobyły „złą sławę” za sprawą kilku incydentów, spośród których jako najbardziej spektakularne, można wymienić:

- 1968 Japonia olej ryżowy przypadkowo zanieczyszczony wyciekami z wymiennika ciepła – padłe kurczęta, nowotwory wątroby u ludzi
- 1979 Tajwan – podobny incydent
- 1989 afera dioksynowa w Belgii – karma dla kurcząt zanieczyszczona olejem silnikowym – zatrucia kurcząt.

Mimo iż afery określane były mianem „dioksynowych”, w rzeczywistości przyczyną skażenia były związki z grupy dl-PCB, które jednak przy ocenie ryzyka traktowane są jako jedna grupa wraz z PCDD/F, ze względu na wspólny mechanizm toksyczności. W tabeli

poniżej zebrano limity obowiązujące dla PCDD/F i PCB w żywności. Stężenia PCDD/F i dl-PCB są wyrażane w tzw. równoważnikach toksyczności TEQ (ang. Toxic Equivalent) będących sumą iloczynów stężeń poszczególnych kongenerów i ich współczynników toksyczności TEF (ang. Toxicity Equivalency Factor), wyznaczonych przez Światową Organizację zdrowia.

Tabela 2. Dopuszczalne poziomy zawartości dioksyn + dl PCB i ndl-PCB*.

Rodzaj zanieczyszczenia	Dopuszczalny poziom obowiązujący do 2012 r. przy TEF ₁₉₉₈	Dopuszczalny poziom obowiązujący od 1.01.2012 przy TEF ₂₀₀₅
Mięso ryb i produktów z nich otrzymywanych		
Suma dioksyn (WHO-PCDD/F-TEQ)	4 ng/kg świeżej masy	3,5 ng/kg świeżej masy
Suma dioksyn i polichlorowanych bifenyli o właściwościach podobnych do dioksyn (WHO-PCDD/F + dl-PCB-TEQ)	8 ng/kg świeżej masy	6,5 ng/kg świeżej masy
Suma wskaźnikowych polichlorowanych bifenyli (ndl-PCB)	-	75 µg/kg świeżej masy
Tkanka mięśniowa węgorza		
Suma dioksyn (WHO-PCDD/F-TEQ)	4 ng/kg świeżej masy	3,5 ng/kg świeżej masy
Suma dioksyn i polichlorowanych bifenyli o właściwościach podobnych do dioksyn (WHO-PCDD/F + dl-PCB-TEQ)	12 ng/kg świeżej masy	10 ng/kg świeżej masy
Suma wskaźnikowych polichlorowanych bifenyli (ndl-PCB)	-	300 µg/kg świeżej masy
Wątroby ryb i produkty z niej otrzymywane		
Suma dioksyn + dl-PCB		20 ng/kg świeżej masy
Suma wskaźnikowych PCB (ndl-PCB)		200 µg/kg świeżej masy

*nie dioksynopodobne polichlorowane bifenyle – PCB wskaźnikowe

Pestycydy chloroorganiczne

Pestycydy są to substancje używane w rolnictwie do zwalczania szkodników upraw (głównie owadów), często nazywane są również „środkami szkodnikobójczymi”. Niestety niektóre z dawniej stosowanych pestycydów okazały się być toksyczne dla człowieka i ich produkcja oraz stosowanie zostało zakazane lub bardzo ograniczone. Mimo to są na tyle trwałe w środowisku

iż nadal możemy je znaleźć w żywności (Roots 2001; Fleming i in. 2006). Do najpopularniejszych pestycydów chloroorganicznych należą:

DDT pełna nazwa chemiczna to 1,1,1-trichloro-2,2-bis(p-chlorofenyletan), znany pod nazwą handlową Azotox. Ulega przemianom tworząc pochodne: DDE, DDD i inne. Wykorzystywany był od początku lat 40. do początku lat 60. XX wieku jako środek owadobójczy. Okazało się, że DDT jak i jego pochodne to bardzo trwałe związki, mające zdolność kumulowania się we wszystkich organizmach i wykazujące wysoką toksyczność, w związku z czym jego stosowanie w rolnictwie zostało zakazane (Beketov i in. 2013; Kohler i Triebkorn 2013). Stężenie tego związku często jest określane jako Σ DDT, czyli suma DDT i jego pochodnych.

HCH heksachlorocykloheksan występuje w postaci kilku izomerów, ale największe znaczenia ma izomer γ (znany pod nazwą handlową Lindan) wykazujący działanie owadobójcze. Od 2000 roku techniczny HCH praktycznie przestał być stosowany. Jego stężenie w próbkach często jest wyrażane jako Σ HCH, czyli suma kilku izomerów.

HCB heksachlorobenzen był stosowany jako środek grzybobójczy. Jego stosowanie jako środka ochrony roślin zostało zakazane w UE w 1988 roku. Związek ten jest natomiast używany w produkcji chlorowanych rozpuszczalników organicznych (np. tetrachloroetylen, trójchloroetylen i czterochloru węgla).

Przepisy unijne nie określają dopuszczalnych zawartości pestycydów chloroorganicznych w tkance mięśniowej ryb. Dopuszczalne zawartości tych zanieczyszczeń w żywności pochodzenia zwierzęcego określają Dyrektywa Komisji 97/71/WE oraz Rozporządzenie (WE) nr 396/2005 Parlamentu Europejskiego i Rady.

Polibromowane opóźniacze zapłonu (BFR)

Polibromowane etery difenyłowe (PBDE) i heksabromododekan (HBCDD) są bromowanymi środkami zmniejszającymi palność, które są dodawane do szerokiej gamy polimerów i żywic i były pierwszą grupą BFR wykrytych w środowisku. Produkcja dwóch komercyjnych mieszanek PBDE została zakazana w Europie, podczas gdy deca-PBDE jest nadal w użyciu. PBDE są to substancje trwałe, toksyczne dla ludzi i zwierząt oraz wykazujące wysoki potencjał do biokumulacji i biomagnifikacji w łańcuchu pokarmowym (Birnbaum i Staskal 2004). Ich okres półtrwania w organizmie człowieka sięga 12 lat co sprzyja występowaniu licznych oddziaływań toksycznych. Związki te między innymi wykazują działanie podobne do hormonów tarczycy i płciowych i są toksyczne dla układu nerwowego i rozrodczego.

Wykazano również zależność pomiędzy ich występowaniem we krwi a niepłodnością. Ponadto ekspozycja prenatalna na te związki przyczynia się do zaburzeń koordynacji ruchowej oraz deficytów uwagi i zdolności poznawczych u dzieci (Abdallah i Harrad 2014). Jednak Europejski Urząd ds. Bezpieczeństwa Żywności, EFSA, zaleca monitorowanie ich poziomów w żywności.

Nonylofenole i bisfenol A

Nonylofenole (NP) i bisfenol A (BPA) to ksenobiotyki sklasyfikowane jako substancje zaburzające gospodarkę hormonalną (Rempel i Schlenk 2008), wskazane przez HELCOM (Komisja Ochrony Środowiska Morskiego Bałtyku - Komisja Helsińska) jako substancje niebezpieczne o szczególnym znaczeniu. BPA to organiczny związek chemiczny stosowany w produkcji tworzyw sztucznych. NP pochodzi głównie z rozkładu etoksylovaných nonylofenoli, które są szeroko stosowane jako przemysłowy środek powierzchniowo czynny. Zarówno w środowisku naturalnym jak i w oczyszczalniach ścieków ulegają one przemianom w wyniku których powstają związki krótkołańcuchowe, a w końcowym etapie 4-nonylofenol (4-NP) – związek o właściwościach hydrofobowych, łatwo wiążący się z osadami bogatymi w materię organiczną, akumulujący się w tkankach z dużą zawartością tłuszczu i dzięki temu mogący przez dekady utrzymywać się w środowisku (Soares i in. 2008). Zanieczyszczenie środowiska 4-NP budzi niepokój ponieważ działa on jako ksenoestrogen zaburzający sygnalizację hormonalną w organizmach zwierzęcych.

NP i BPA mogą dostawać się do żywności nie tylko przenikając ze środowiska, ale również mogą być uwalniane z opakowań.

3.1.2. Metale

Źródła metali toksycznych, w tym także metylortęci (toksyczna forma rtęci występująca m.in. w rybach), w naturalnym środowisku przyrodniczym związane są głównie z takimi procesami jak: wietrzenie skał, erupcja wulkanów, parowanie oceanów, pożary lasów. Jednak różnorodna działalność człowieka stwarza obecnie możliwość jeszcze większego narażenia środowiska na (toksyczne) metale śladowe. Źródłami antropogenicznego skażenia środowiska metalami toksycznymi są różne gałęzie przemysłu, energetyka, komunikacja, gospodarka komunalna, wysypiska odpadów, nawozy i odpady stosowane do nawożenia.

Dopuszczalne zawartości metali toksycznych w rybach określa Rozporządzenie Komisji (WE) nr 1881/2006 i dla tkanki mięśniowej ryb są one następujące:

Dla ołowiu - 0,30 mg/kg

Dla kadmu - 0,05 mg/kg (dla takich ryb jak np.: węgorz, sardynka, tuńczyk – 0,1 mg/kg)

Dla rtęci - 0,50 mg/kg (dla takich ryb jak np.: węgorz, halibut, tuńczyk – 1,0 mg/kg)

Narażenia na rtęć wiąże się z takimi efektami jak:

- niezdolność chodzenia,
- zaburzenia mowy,
- ślepota,
- bezsenność,
- utrata przytomności.

Najbardziej spektakularne, niekorzystne incydenty skażenia rtęcią to:

- 1970 Japonia – ścieki przemysłowe odprowadzane do Zatoki Minamata spowodowały zatrucia rtęcią ryb, a następnie ludzi,
- 1956 Irak – pszenica poddana zabiegom fungicydami z rtęcią, spowodowała skażenie rtęcią mąki, a następnie zatrucie ludzi chlebem z tej mąki.

3.2. Dane dotyczące zanieczyszczenia ryb i produktów rybnych obecnych na polskim rynku

Morski Instytut Rybacki - Państwowy Instytut Badawczy (MIR-PIB) prowadził badania zanieczyszczeń ryb i produktów rybnych z polskiego rynku w różnych projektach i programach badawczych. Były to badania monitoringowe w latach 1995-2003 zlecane przez MRiRW, granty z Narodowego Centrum Nauki, badania statutowe, badania w ramach monitoringu ichtiofauny i projekty zlecane przez ARiMR. Badania obejmowały oznaczenia zawartości metali toksycznych, pestycydów chloroorganicznych, polichlorowanych bifenoli, wielopierścieniowych węglowodorów aromatycznych i w ostatnich latach także dioksyn.

3.2.1. Metale toksyczne (rtęć, kadm, ołów)

Poniżej w tabelach i na wykresach przedstawiono wyniki badań wykonanych w MIR od 1995 roku. Wyniki badań odnoszą się do śledzi, szprotów, dorszy i łososi oraz wątrób dorszy. W przypadku śledzi, łososia i dorsza badane były filety bez skóry, a w przypadku szprota próbki do badań stanowiły tuszki.

Tabela 3. Zestawienie zawartości metali w 3 podstawowych gatunkach ryb z Bałtyku i w wątrobach dorszowych na podstawie badań w latach 1995 - 2000.

Związki	Rodzaj próbek	Liczba próbek	Wartości stężeń [mg/kg]			
			średnia	Min - Max	Mediana	90-percentyl
rtęć kadm ołów	Śledź	323	0,036 0,011 0,024	0,003- 0,00-0,046 0,00-0,12	0,035 0,009 0,014	0,049 0,02 0,042
rtęć kadm ołów	Szprot	214	0,024 0,021 0,022	0,004- 0,00-0,068 0,00-0,16	0,017 0,019 0,017	0,027 0,031 0,036
rtęć kadm ołów	Dorsz /filet/	159	0,047 0,003 0,015	0,004- 0,00-0,044 0,00-0,108	0,033 0,0016 0,009	0,081 0,012 0,027
rtęć kadm ołów	Dorsz /wątroba/	51	0,034 0,02 0,032	0,004-0,115 0,003-0,05 0,00-0,133	0,028 0,019 0,021	0,055 0,028 0,06

W odniesieniu do Rozporządzenia Komisji (WE) nr 1881/2006, w żadnej z badanych próbek ryb nie stwierdzono przekroczeń zawartości rtęci i ołowiu. Zawartość kadmu została przekroczona w 5 próbkach szprot, jednakże przekroczenie stwierdziliśmy w próbkach z lat 90. XX wieku. Po 2000 roku nie stwierdzono w badaniach MIR-PIB żadnych przekroczeń obowiązujących limitów tego metalu.

W latach 2008-2010 w MIR-PIB badano także popularne na polskim rynku asortymenty przetworów rybnych, reprezentujących takie grupy towarowe jak: konserwy, ryby wędzone, marynaty i ryby solone. Asortymenty konserw rybnych stanowiły produkty z ryb bałtyckich (śledź, szprot) oraz innych (sardynka, tuńczyk, makrela). Wyniki badań przedstawiono w tabeli 5.

Tabela 4. Zestawienie zawartości metali w 3 podstawowych gatunkach ryb z Bałtyku i w wątrobach dorszowych na podstawie badań w latach 2001-2003.

Związki	Rodzaj próbek	Liczba próbek	Wartości stężeń [mg/kg]			
			średnia	Min - Max	Mediana	90- percentyl
rtęć kadm ołów	Śledź	54	0,023 0,006 0,02	0,005-0066 0,00-0,014 0,00-0,06	0,020 0,005 0,011	0,039 0,012 0,012
rtęć kadm ołów	Szprot	41	0,014 0,015 0,03	0,005- 0,006- 0,00-0,15	0,015 0,013 0,03	0,020 0,022 0,056
rtęć kadm ołów	Dorsz /filet/	30	0,039 0,0001 0,03	0,014- 0,00-0,002 0,00-0,10	0,031 0,00 0,03	0,057 0,00 0,039
rtęć kadm ołów	Dorsz /wątroba/	10	0,025 0,021 0,065	0,002- 0,006- 0,044-	0,016 0,011 0,061	0,024 0,037 0,088
rtęć kadm ołów	Łosoś	9	0,071 0,0013 0,027	0,034-0,115 0,00-0,004 0,01-0,043	0,059 0,00 0,028	0,10 0,004 0,042

Tabela 5. Średnie zawartości metali w badanych przetworach rybnych

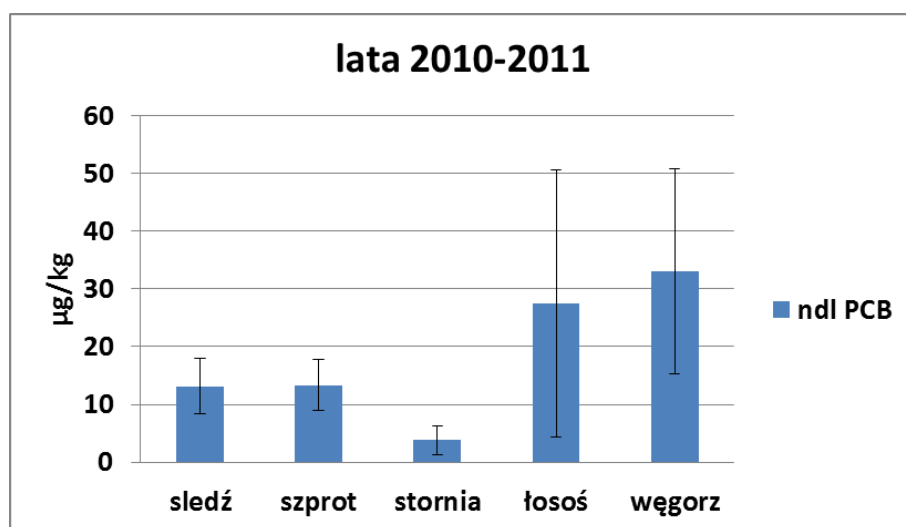
	Makreła wędzona	Szprot wędzony	Śledź wędzony	Łosoś wędzony bałtycki	Łosoś wędzony norweski	Pstrąg wędzony	solone filety śledziowe	Smażona makreła marynow.	Konserwy
Rtęć (Hg)	50,1 (10,0)	25,7 (9,9)	68,0 (27,1)	71,0 (19,5)	39,8 (10,5)	45,7 (14,7)	48,1 (16,6)	52,4 (19,8)	31,0 (12,8)
Kadm (Cd)	19,2 (9,8)	42,6 (7,6)	43,0 (6,8)	8,0 (2,0)	8,8 (6,3)	7,8 (7,7)	19,0 (10,5)	10,5 (9,6)	19,0 (9,8)
Ołów (Pb)	5,4 (8,8)	9,5 (10,0)	16,0 (27,6)	2,0 (0,0)	3,1 (6,5)	1,2 (0,0)	19,4 (30,0)	1,1 (0,0)	29,0 (25,0)

wartości w nawiasie to odchylenie standardowe

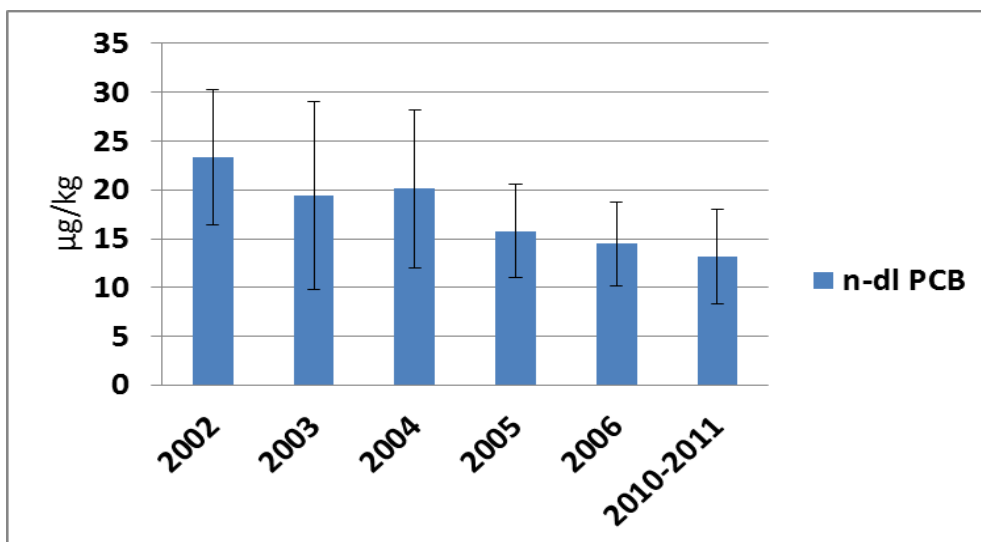
Ocenę zawartości metali toksycznych w produktach rybnych dokonano w odniesieniu do wartości dopuszczalnych, określonych w Rozporządzeniu Komisji (WE) nr 1881/2006 z dn. 19 grudnia 2006 r. W żadnej z badanych próbek konserw rybnych nie stwierdzono przekroczeń zawartości ołowiu, rtęci. Przekroczenia zawartości kadmu stwierdzono w pięciu próbkach szprota wędzonego (na 10 badanych próbek tego asortymentu) i w trzech próbkach badanych konserw z sardynki (na 10 badanych próbek tych konserw). Konserwy z sardynki charakteryzowały się też najwyższą zawartością ołowiu. Podwyższoną zawartość kadmu stwierdzano też w wędzonym śledziu. W pozostałych produktach rybnych średnie zawartości metali toksycznych układały się na niskich poziomach.

3.2.2. Polichlorowane bifenyly (ndl-PCB)

Poniżej pokazano średnie stężenia polichlorowanych bifenyli (ndl-PCB: suma kongenerów 28, 52, 101, 151, 153, 138 i 180) w kilku gatunkach ryb bałtyckich poławianych w latach 2010-2011. Próbkę do badań stanowiły filety bez skóry, a w przypadku szprota tuszki. Na przykładzie śledzia pokazano także zmienność stężeń w czasie.



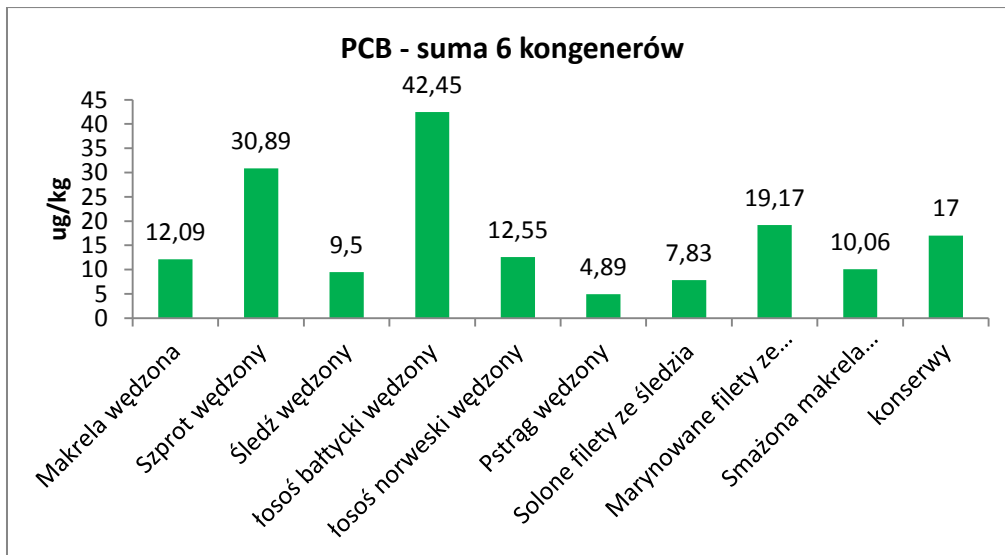
Rys. 13. Średnie zawartości PCB w rybach bałtyckich.



Rys. 14. Zmiany stężeń ndl-PCB w próbkach śledzia.

W badaniach nie obserwowano przekroczeń dopuszczalnych limitów ndl-PCB, w rybach poławianych w Polskich Obszarach Morskich.

W latach 2008-2010 w MIR-PIB badano także zawartość ndl-PCB w popularnych na polskim rynku przetworach rybnych, reprezentujących takie grupy towarowe jak: konserwy, ryby wędzone, marynaty i ryby solone ze śledzia i smażoną makrelę marynowaną.



Rys. 15. Zawartość Σ PCB w popularnych na polskim rynku produktach rybnych.

Prezentowane wyniki zawartości PCB₆ (suma kongenerów IUPAC nr 28, 52, 101, 138, 153, 180) w badanych produktach są niskie w stosunku do zalecanych wartości dopuszczalnych obowiązujących w niektórych krajach Unii Europejskiej (FAO FC 1989). W żadnej z badanych próbek nie stwierdzono przekroczeń wartości dopuszczalnych. Najwyższe średnie zawartości

Σ PCB₆ stwierdzono dla bałtyckiego łososia wędzonego (42,65 $\mu\text{g}/\text{kg}$) i dla szprota wędzonego (30,89 $\mu\text{g}/\text{kg}$).

3.2.3. Pestycydy chloroorganiczne

Stężenia pestycydów w badanych w MIR-PIB rybach bałtyckich z polskich wód były niezwykle niskie w stosunku do dopuszczalnych limitów. W przypadku DDT, dla którego stosuje się limit 1000 $\mu\text{g}/\text{kg}$, najwyższe zmierzone poziomy w dorszu wynosiły 7 $\mu\text{g}/\text{kg}$, a w śledziu 30 $\mu\text{g}/\text{kg}$. W przypadku HCB limit wynosi 100 $\mu\text{g}/\text{kg}$, podczas gdy poziomy tego zanieczyszczenia w dorszach wynosiły około 0,5 $\mu\text{g}/\text{kg}$, w śledziu i szprocie około 4 $\mu\text{g}/\text{kg}$. Stężenia lindanu w śledziu, szprocie i dorszu wahały się od 0,2 do 2 $\mu\text{g}/\text{kg}$, podczas gdy limit tego zanieczyszczenia wynosi 200 $\mu\text{g}/\text{kg}$.

W latach 2008-2011 prowadzono badania pestycydów chloroorganicznych w rybach z polskiego rynku i popularnych produktach rybnych. W tabeli przedstawiono dane dla sumy DDT 8.

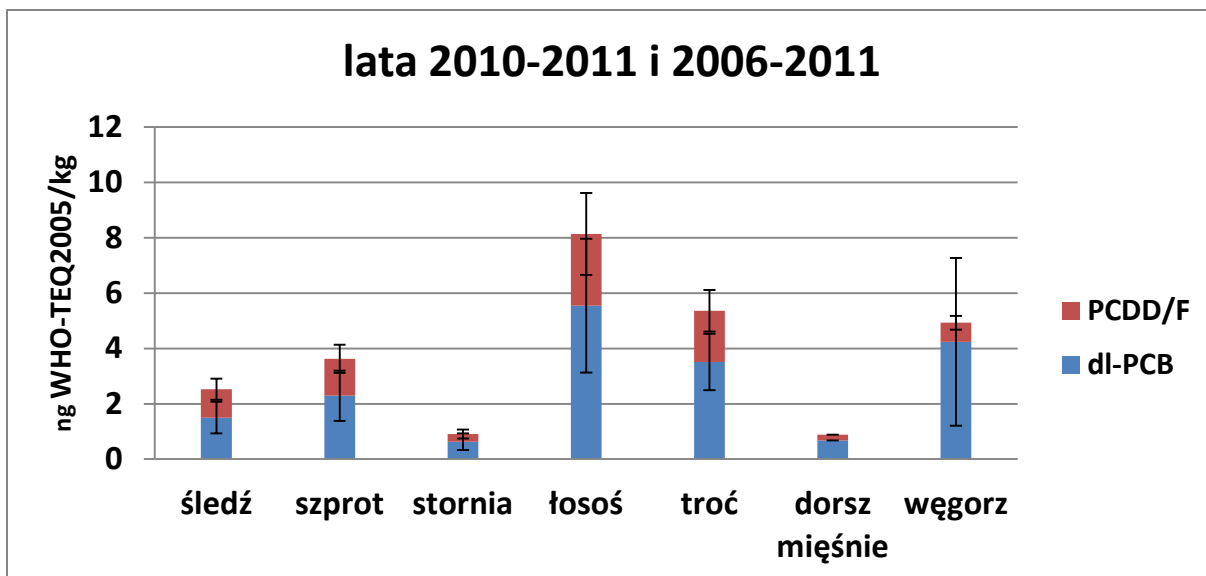
3.2.4. Dioksyiny + dioksynopodobne PCB (PCDD/F + dlPCB)

Poszczególne kongenery dioksyn i dl-PCB różnią się stopniem toksyczności. Dlatego, w celu ujednoczenia podejścia do szacowania ryzyka związanego z narażeniem na te związki, na początku lat 90-tych XX wieku przyjęto koncepcję tzw. „współczynników toksyczności” (ang. Toxicity Equivalency Factor – TEF). Zgodnie z nią, opierając się na dostępnych wynikach badań toksyczności różnych kongenerów PCDD/F i dl-PCB, odniesiono je do najbardziej toksycznej dioksyiny, której przyznano wartość TEF równą 1. Wyznaczone przez Światową Organizację Zdrowia (WHO) wartości TEF dla pozostałych kongenerów wynoszą od 0,00001 do 1. Dla danej próbki, wartość stężenie PCDD/F i dl-PCB wyraża się w równoważnikach toksyczności (TEQ), które są sumą iloczynów stężeń poszczególnych kongenerów i ich współczynników toksyczności TEF. Dalsze badania doprowadziły do zmian współczynników toksyczności TEF dla niektórych kongenerów i dlatego przy interpretacji wyników badań posługujemy się albo TEF₁₉₉₈ albo TEF₂₀₀₅. W ślad za tym zmieniły się także dopuszczalne wartości TEQ i przy TEF₁₉₉₈ dla PCDD/F + ndlPCB dla ryb wynosiły 8 TEQpg/g a przy TEF₂₀₀₅ zgodnie z Rozporządzeniem Komisji (UE) nr 1259/2011 wynoszą 6,5 TEQpg/g.

Tabela 6. Średnie zawartości Σ DDT w rybach i przetworach rybnych na polskim rynku.

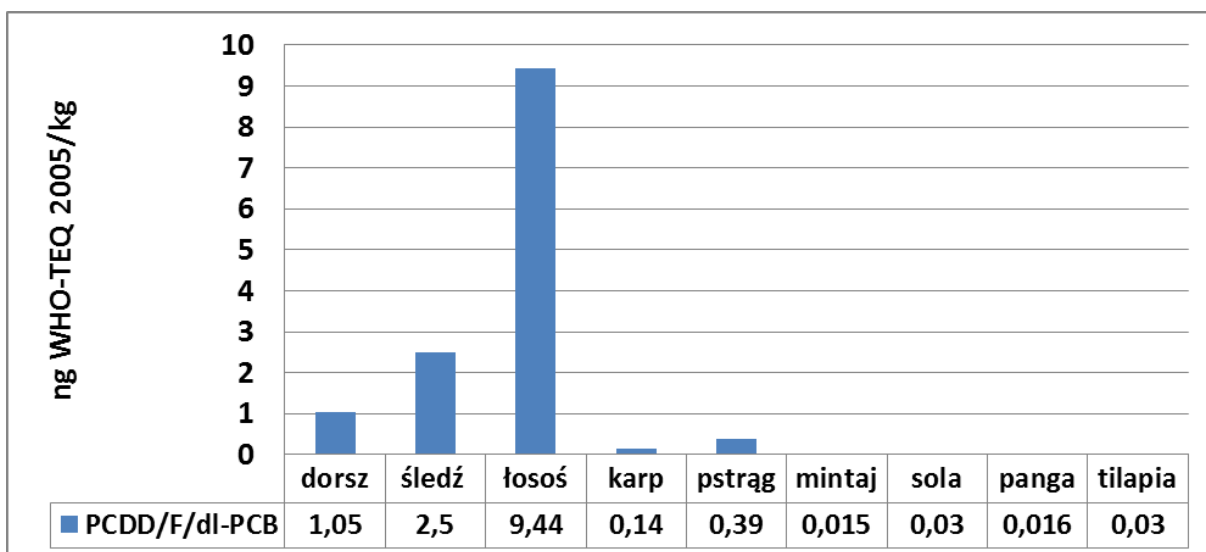
Gatunek ryby lub nazwa przetworu	Zawartość [mg/kg]	% wartości dopuszczalnej
Łosoś bałtycki	0,051	5,1
Śledź bałtycki	0,017	1,7
Dorsz bałtycki	0,00033	0,033
Karp hodowlany	0,008	0,8
Pstrąg hodowlany	0,005	0,5
Mintaj oceaniczny	0,000034	0,0034
Panga hodowlana (import)	0,0003	0,03
Tilapia hodowlana (import)	0,0005	0,05
Makrela wędzona	0,005	0,5
Szprot wędzony	0,01	1,0
Łosoś bałtycki wędzony	0,05	5,0
Łosoś norweski hodowlany - wędzony	0,01	1,0
Pstrąg wędzony	0,005	0,5
Filety śledziowe w oleju	0,01	1,0
Filety z makreli w oleju	0,0026	0,26
Sardynka w oleju	0,0019	0,19
Tuńczyk w oleju	0,00032	0,032
Paprykarz szczeciński	0,0074	0,74
Filety z makreli w sosie pomidorowym	0,0016	0,16
Solone filety ze śledzia	0,0045	0,45
Marynowane płaty śledziowe	0,0078	0,78

Poniżej na rysunku pokazano stężenia PCDD/F + dIPCB w szprotach, łososiach i śledziach poławianych w Polskich Obszarach Morskich. Dane za lata 2006 – 2011 uzyskano z PIW w Puławach.

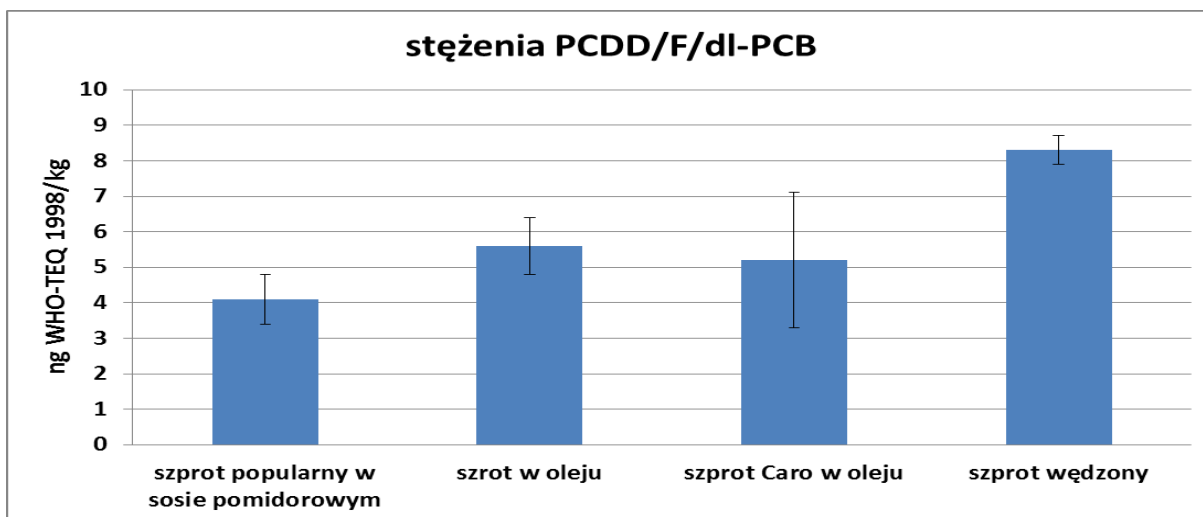


Rys. 16. Średnie zawartości dioksyn w różnych gatunkach ryb.

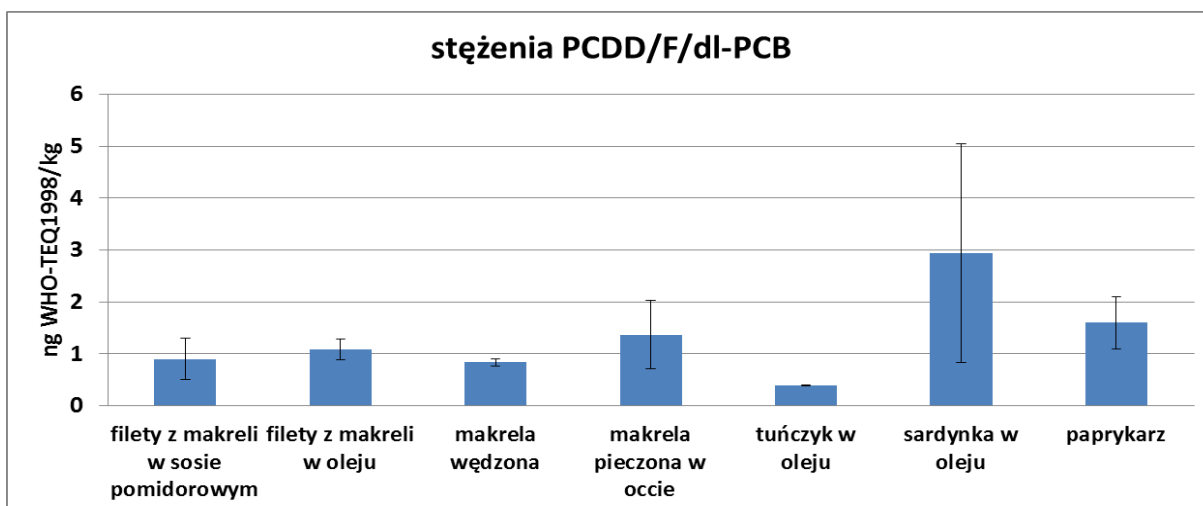
Na kolejnych wykresach zaprezentowano wyniki badań stężeń PCDD/F/dl-PCB także w próbkach innych gatunków ryb popularnych na polskim rynku, oraz produktów obejmujących: konserwy, ryby wędzone, marynaty i ryby solone.



Rys. 17. Zawartości dioksyn w rybach na polskim rynku



Rys. 18. Zawartość dioksyn w konserwach ze szprotka.



Rys. 19. Zawartość dioksyn w różnych produktach z polskiego rynku.

3.3. Bezpieczeństwo produktów z dorsza w aspekcie zanieczyszczeń chemicznych: wyniki projektu SeaQual

Dorsz atlantycki (*Gadus morhua*) to drapieżna ryba morska występująca w północnej części Oceanu Atlantyckiego oraz w morzach Europy północnej, ceniona przez konsumentów. Zgodnie ze sprawozdaniem EUMOFA z 2017 r. spożycie dorsza w UE wynosiło 2,32 kg na mieszkańca w 2015 r (EUMOFA 2017). Pod względem częstotliwości spożycia dorsz był drugim najbardziej popularnym wyborem spośród gatunków dostępnych na rynku UE. Najczęściej spotykane na rynku produkty z dorsza to mrożone lub świeże filety, jednak także produkty z wątroby dorsza są cenione przez niektóre grupy konsumentów. Celem projektu

SeaQual było m.in. zbadanie poziomów zanieczyszczeń chemicznych w mięśniach i wątrobach dorsza w celu określenia ich zgodności z prawodawstwem UE.

Zanieczyszczenia badano w tkance mięśniowej oraz wątrobach dorszy pochodzących z połowów realizowanych w ramach projektu oraz w produktach pochodzących z rynku (filety mrożone z dorsza i dorsza czarnego oraz produkty z wątroby dorsza). Ponadto oznaczano zawartość tłuszczu w mięśniach i wątrobach ryb.

Uzyskane wyniki i odniesienie ich do wartości referencyjnych wskazuje, że poziomy zanieczyszczeń w mięśniach dorsza nie stanowią zagrożenia dla zdrowia konsumentów. Natomiast poziomy substancji niepożądanych w wątrobie dorsza oraz w badanych produktach z wątrób są znacznie wyższe niż w tkance mięśniowej i odnotowuje się przekroczenie dopuszczalnych limitów niektórych zanieczyszczeń.

Próbki dorsza pobierano podczas rejsów badawczych r/v BALTICA i połowów komercyjnych (kutry). Próbki ryb pobrano w kwietniu 2016 r. z pięciu obszarów Morza Bałtyckiego: Zatoka Gdańska (ZG), Rynna Słupska (RS), łowisko KołobrzESCO-Darłowskie (KD), Południowy Bornholm (BPd)) i północny Bornholm (BPn) oraz dla porównania z Morza Norweskiego (FAOII2a). Charakterystykę ryb pobranych z poszczególnych łowisk podano w tabeli 7.

Tabela 7. Dane dotyczące badanych ryb.

Miejsce poboru próbek	Długość ryb (cm) Min-Max	Masa ryb (g) Min-Max	Masa wątroby (g) Min-Max
ZG	30-60	482.0-1885.2	29.6-104.8
RS	36-46	468.3-1010.2	32.6-77.0
KD	35-45	389.7-838.5	20.8-36.2
BPd	39-51	579.4-1298.0	32.6-55.0
BPn	30-48	278.3-1117.7	18.6-70.4
FAOII2a	68-89	2376.5-5820.3	69.0-377.5

Badane produkty z dorsza (konserwowane wątroby z dorsza, mrożone filety z dorsza z Morza Bałtyckiego, mrożone filety z dorsza czarnego) zakupiono na targu rybnym w Gdyni w kwietniu 2018 roku. Analizie poddano cztery asortymenty konserw z wątroby dorsza złowionego w Morzu Bałtyckim: wątróbkę po kaukasku w oleju, wątróbkę w sosie własnym, wątróbkę po węgiersku w sosie warzywnym i pasztet z wątróbek.

3.3.1. Poziomy zanieczyszczeń w filetach z dorsza

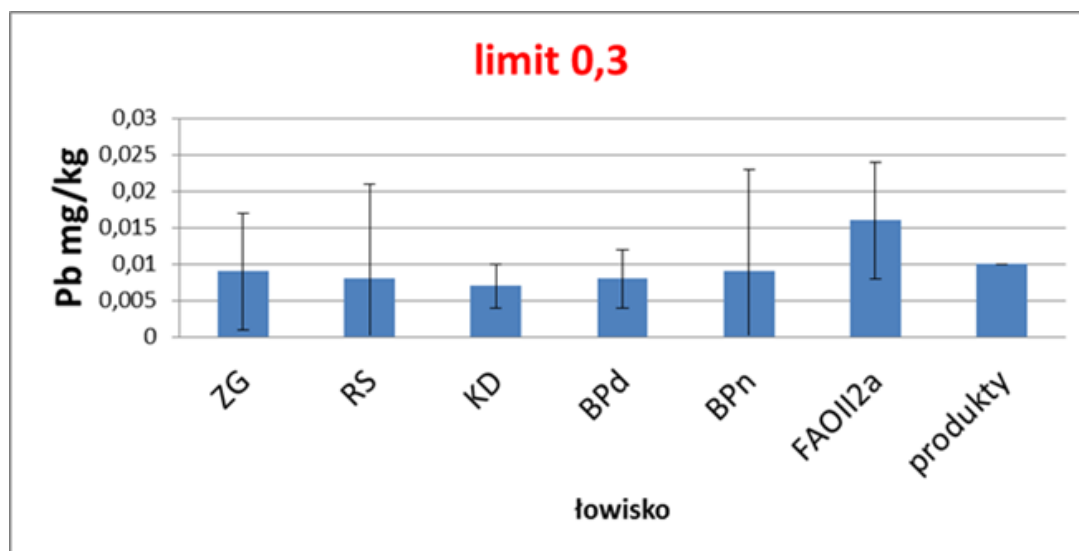
Metale

Na wykresach poniżej zaprezentowano średnie stężenia rtęci, ołowiu i kadmu w filetach przygotowanych z dorsza atlantyckiego pochodzącego z różnych łowisk na Morzu Bałtyckim oraz z łowiska na Morzu Norweskim. Średnie stężenie rtęci i kadmu zależnie od obszaru połowowego wahało się odpowiednio od 0,05 do 0,09 mg/kg i od 0,002 do 0,003 mg/kg. Oznacza to, że stężenia tych metali w tkance mięśniowej dorsza w badaniu z 2016 roku były ponad dziesięciokrotnie niższe niż dopuszczalne limity ustanowione w Rozporządzeniu Komisji nr 1881/2006. Średnie poziomy ołowiu w tkance mięśniowej dorsza były również ponad dziesięciokrotnie niższe niż dopuszczalne granice i wahały się od 0,006 do 0,016 mg/kg, jednak filety z dorsza złowionego na Morzu Norweskim zawierały wyższe poziomy ołowiu w porównaniu z filetami z dorsza złowionego na Morzu Bałtyckim. Stężenia badanych metali w pobranych z rynku filetach z dorsza czarnego były na porównywalnym poziomie jak w przypadku filetów z dorsza atlantyckiego i wynosiły:

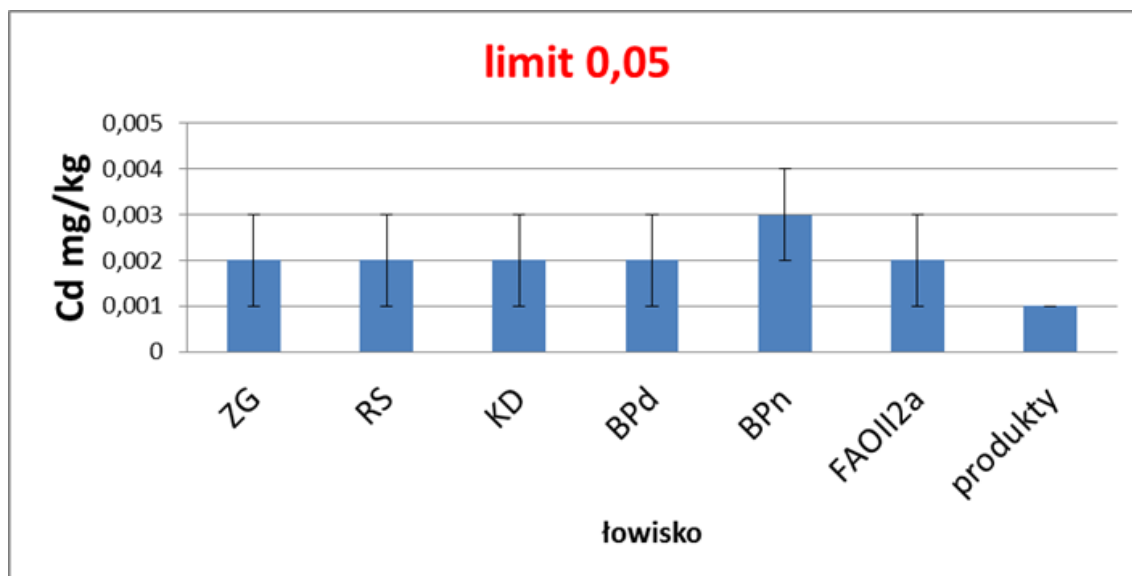
ołów $0,011 \pm 0,002$ mg/kg mm

kadm $0,001 \pm 0,000$ mg/kg mm

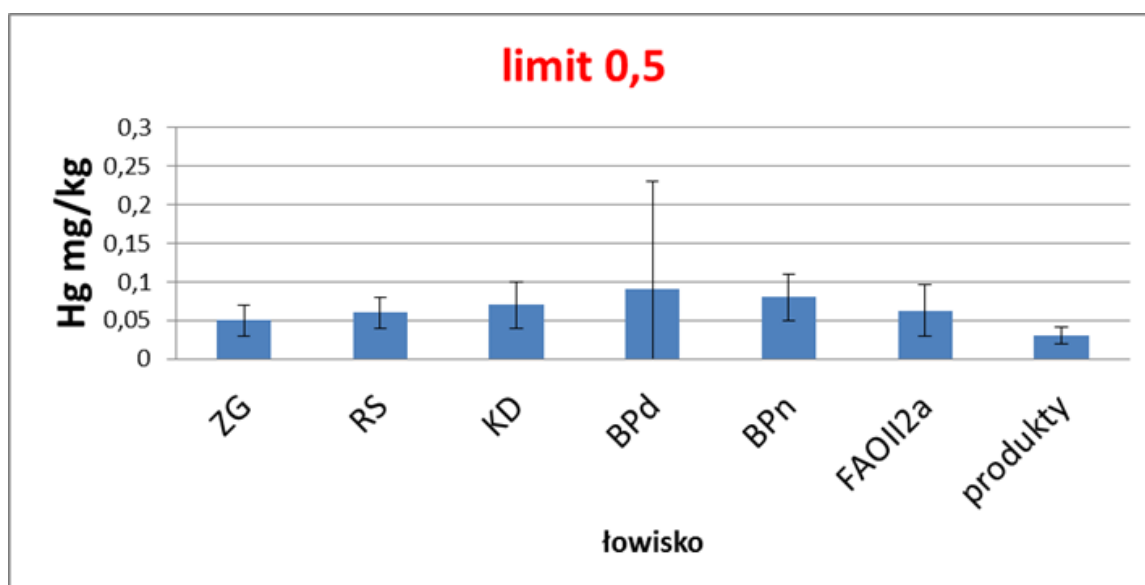
rtęć $0,051 \pm 0,009$ mg/kg mm



Rys. 20. Zawartość ołowiu w mięśniach dorsza w zależności od łowiska.



Rys. 21. Zawartość kadmu w mięśniach dorsza w zależności od łowiska.



Rys. 22. Zawartość rtęci w mięśniach dorsza w zależności od łowiska.

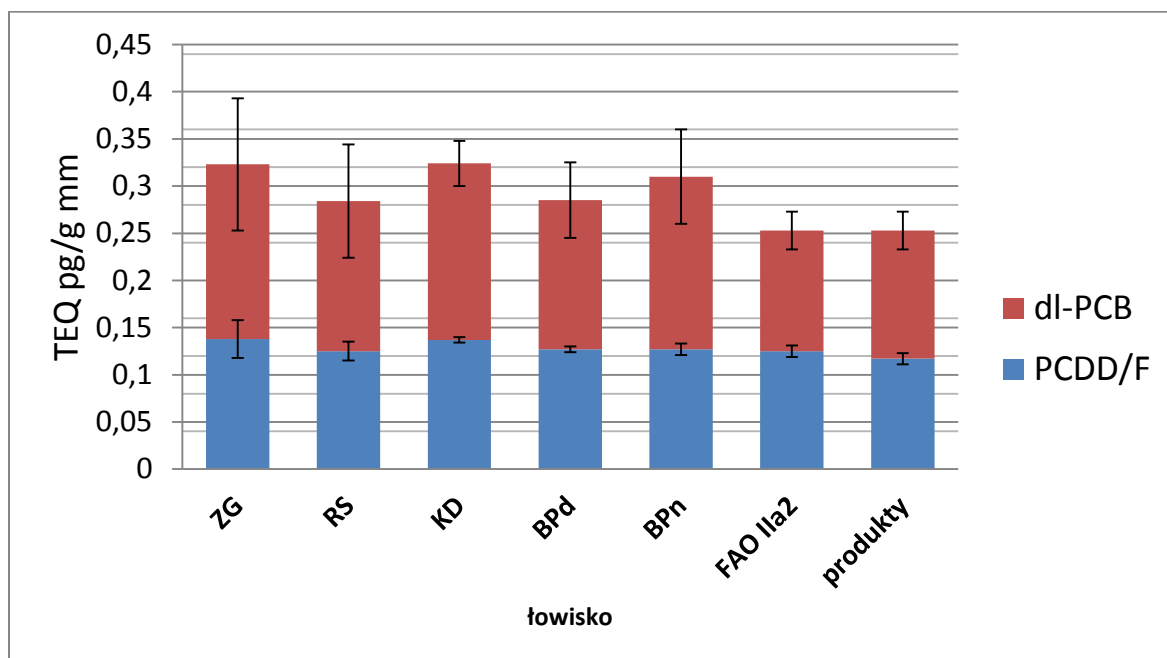
Dioksyny i polichlorowane bifenyle

Wszystkie badane próbki były zgodne z wymaganiami Rozporządzenia Komisji (UE) nr 1259/2011 a średnie stężenia badanych zanieczyszczeń w tkance mięśniowej dorsza z Morza Bałtyckiego były znacznie niższe niż u innych gatunków ryb z tego obszaru (Burreau i in. 2006; Pandelova i in. 2008; Parmanne i in. 2006; Struciński i in. 2013; Szlinder - Richert i in. 2009). Średnie stężenia ndl-PCB w filetach z dorsza były bardzo niskie w porównaniu z dopuszczalnym limitem i mieściły się w zakresie od 0,8 do 1,2 ngg, natomiast średnie stężenia dioksyn wahały się od 0,25 do 0,33 TEQ pg/g. Najniższe średnie stężenie ndl-PCB wykazano

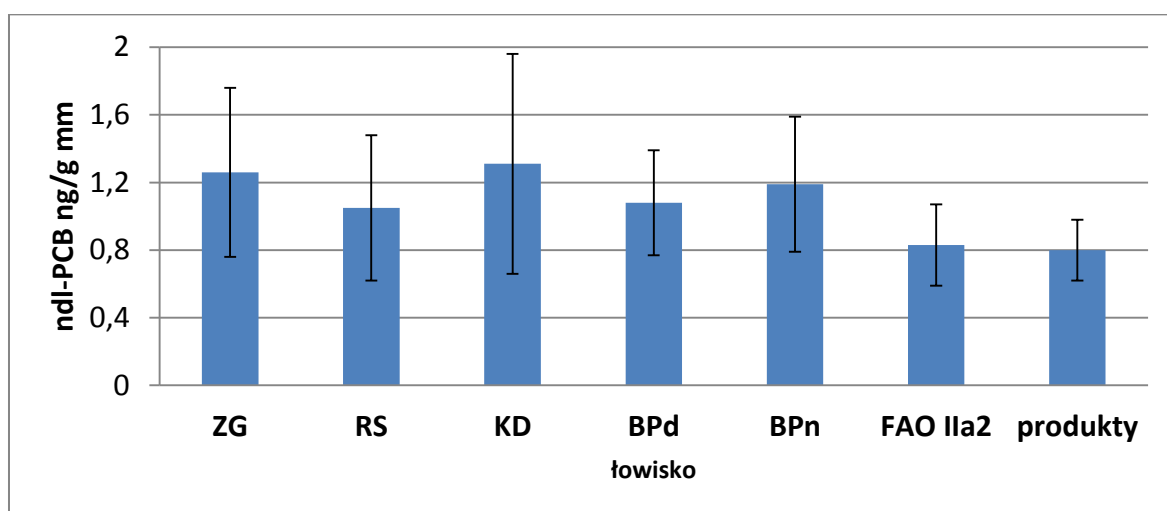
w próbce dorsza z Morza Norweskiego. Równie niskie stężenia zanieczyszczeń stwierdzono w filetach z dorsza czarnego i wynosiły:

ndl-PCB 0,7 ng/g,

PCDD/F/dl-PCB 0,239 TEQ pg/g



Rys. 23. Stężenia dioksyn w filetach z dorsza atlantyckiego w zależności od łowiska.

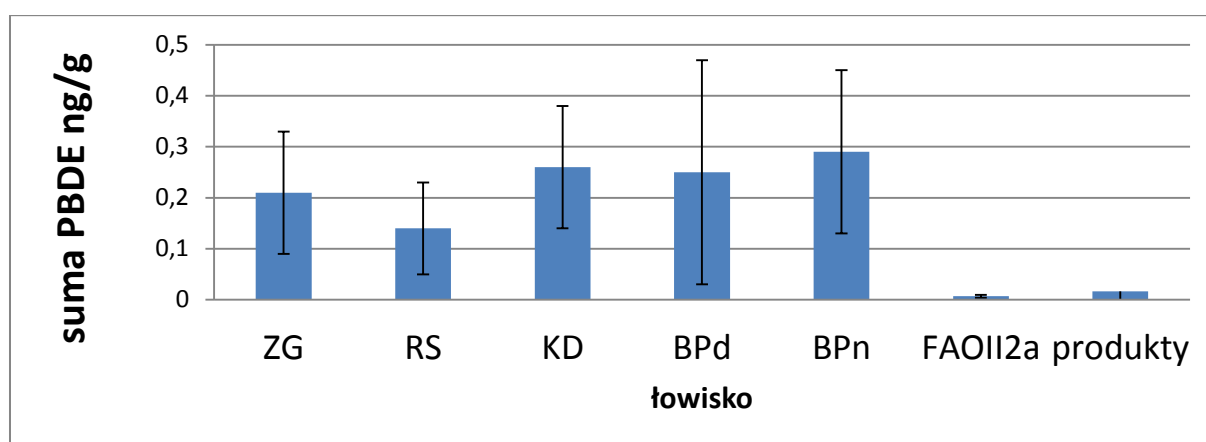


Rys. 24. Stężenia wskaźnikowych PCB w filetach z dorsza atlantyckiego w zależności od łowiska.

Polibromowane opóźniacze zapłonu

Średnie stężenia PBDE w filetach z dorsza były niższe niż u innych gatunków ryb z Morza Bałtyckiego (Burreau i in. 2006; Szlinder - Richert i in. 2010). W przypadku dorsza niższe stężenia stwierdzono w filetach z dorsza złowionego na Morzu Norweskim (0,007 ng/g) niż w

filetach z dorsza złowionego w Morzu Bałtyckim (0,15-0,30 ng/g). Średnie stężenia HBCDD w mięśniach dorsza były bardzo podobne niezależnie od rejonu połowu i wynosiły około 0,02 ng/g. Ze względu na fakt, że w przypadku HBCDD mięśnie ryb nie są tkanką, w której w największym stopniu kumuluje się to zanieczyszczenie, a dane, dostępne w literaturze naukowej często dotyczą całej ryby (nie tylko tkanki mięśniowej), zatem porównania między gatunkami są trudne. Stężenia HBCDD mierzone w tkance mięśniowej dorsza z Morza Bałtyckiego były dziesięciokrotnie niższe niż zmierzone w całych śledziach atlantyckich (0,26 ng/g) (Shaw i in. 2009), ale zbliżone do stężeń w mięśniach płoci (0,03 ng/g) i okonia (0,013 ng/g) pobranych w 2014 r. w polskich wodach przejściowych (dane niepublikowane MIR-PIB).



Rys. 25. Zawartość PBDE w mięśniach dorsza pochodzącego z różnych łowisk.

Nonylofenole (NP) i Bisenol A (BPA)

BPA i NP mierzono tylko w próbkach dorsza z Morza Bałtyckiego. Stężenia BPA we wszystkich przebadanych próbkach były poniżej limitu oznaczalności metody, czyli poniżej 1,7 ng/g. Średnie stężenia NP wahały się natomiast od 5 ng/g (Rynna Słupska) do 35 ng/g (Bornholm Północny).

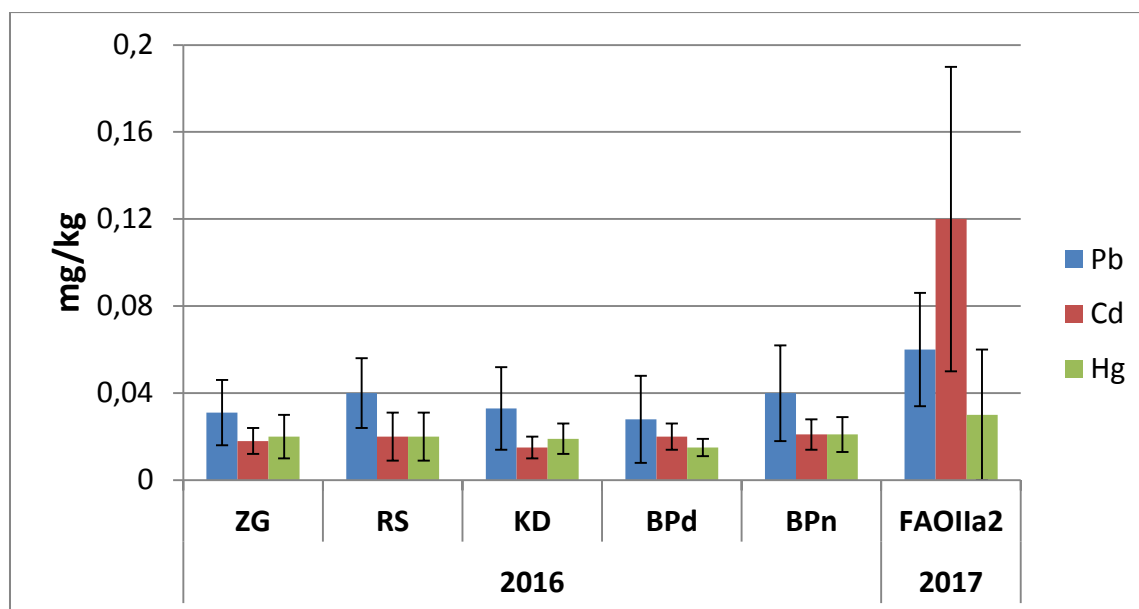
3.3.2. Stężenia zanieczyszczeń w wątrobach pobranych z dorsza

Stężenia większości zanieczyszczeń były znacznie wyższe w wątrobach dorsza niż w filetach.

Metale w wątrobach dorsza

Średnie stężenia ołowiu (0,03-0,06 mg/kg) i rtęci (0,02-0,03 mg/kg) były nadal poniżej dopuszczalnych limitów określonych w Rozporządzeniu Komisji (WE) nr 1881/2006 we

wszystkich badanych próbkach wątroby dorsza. Natomiast średnie stężenia kadmu były poniżej dopuszczalnych limitów tylko w wątrobie dorsza złowionego w Morzu Bałtyckim, podczas gdy w przypadku wątroby dorsza pobieranego w Morzu Norweskim przekroczenia limitu odnotowano w 8 z 10 badanych próbek.



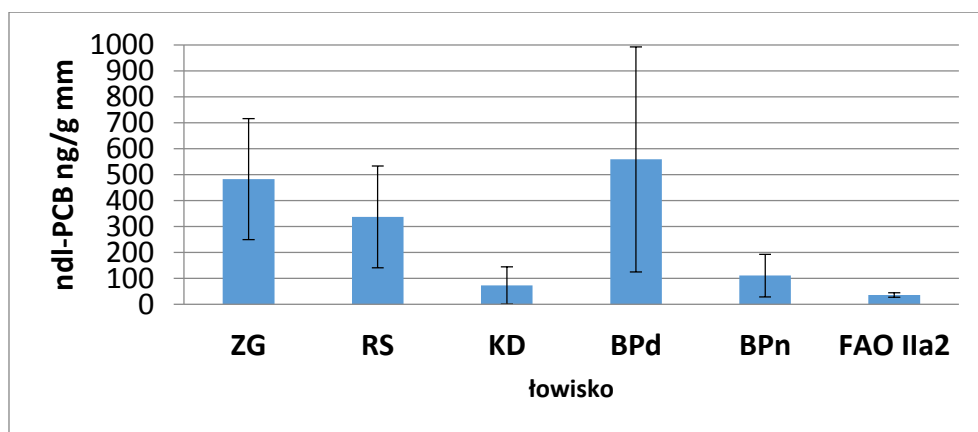
Rys. 26. Zawartości metali toksycznych (ołowiu, kadmu i rtęci) w wątrobie dorsza w zależności od łowiska.

Dioksyny i polichlorowane bifenyle w wątrobach dorsza

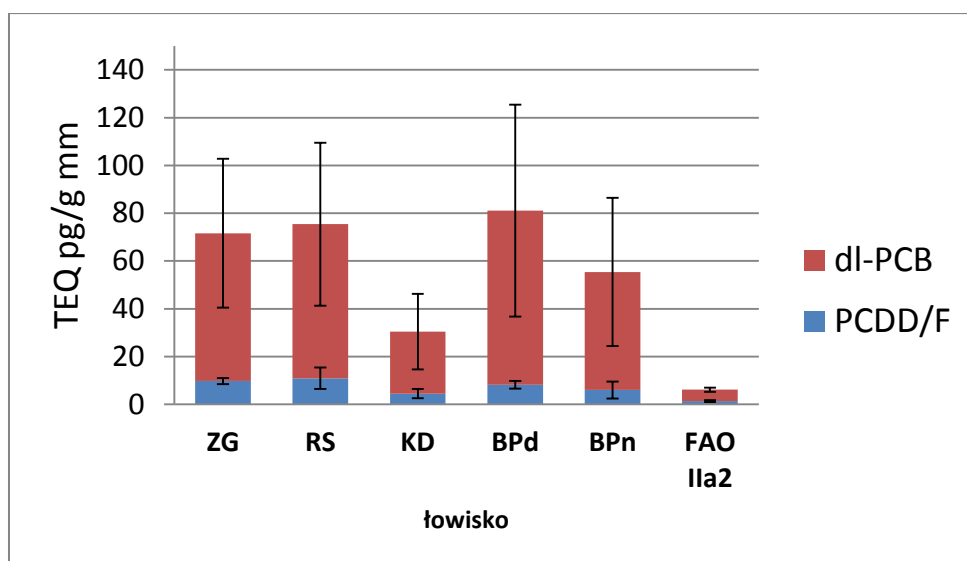
W przypadku wątroby dorsza stwierdzono wyraźne różnice w poziomach zanieczyszczeń między osobnikami z różnych obszarów połowowych. Poziomy ndlPCB były porównywalne w wątrobach dorsza pobranego na Morzu Norweskim (FAOIIa2), w środkowej części polskiego wybrzeża oraz w wodach na północ od Bornholmu i statystycznie znacznie niższe niż w wątrobach dorsza złowionych w pozostałych badanych obszarach. W wątrobach dorsza z trzech łowisk (Zatoka Gdańska, Rynna Słupska, Bornholm Południowy) średnie stężenia ndl-PCB były wyższe niż dopuszczalne limity ustanowione w Rozporządzeniu Komisji (WE) nr 1881/2006 (200 ng/g).

Stężenia PCDD / Fs i dl-PCB były znacznie wyższe w wątrobach dorsza z Morza Bałtyckiego niż w dorszach pobranych na Morzu Norweskim. Spośród wątrób dorsza pobieranych w Morzu Bałtyckim najniższe poziomy PCDD/F i dl-PCB obserwowano w wątrobach ryb pobranych w środkowej części polskiego wybrzeża, jednak nadal zawierały wyższe poziomy tych zanieczyszczeń niż wątroby dorsza pobieranego na Morzu Norweskim. Wszystkie badane

wątroby dorsza złowionego na Morzu Norweskim były zgodne z wymaganiami Rozporządzenia Komisji (UE) nr 1259/2011. Natomiast całkowite poziomy TEQ PCDD/Fs i dl-PCB przekroczyły dopuszczalny limit we wszystkich badanych wątrobach dorsza łowionego na Morzu Bałtyckim. Średnie poziomy sumy PCDD/Fs i dl-PCB w wątrobach dorsza złowionych w Morzu Bałtyckim były kilkakrotnie wyższe niż dopuszczalny limit tych substancji (20 TEQ pg/g) i wahały się od 30 do 80 TEQ pg/g.



Rys. 27. Stężenia wskaźnikowych polichlorowanych bifenyli w wątrobach dorsza atlantyckiego w zależności od łowiska.



Rys. 28. Stężenia PCDD/F i dl-PCB w wątrobach dorsza atlantyckiego w zależności od łowiska.

Polibromowane opóźniacze zapłonu w wątrobach dorsza

Średnie stężenia zarówno PBDE jak i HBCDD były wyraźnie niższe w wątrobie dorsza złowionego na Morzu Norweskim niż w wątrobach dorsza z Morza Bałtyckiego. Średnie stężenia PBDE w wątrobach dorsza złowionego w Morzu Bałtyckim wahały się od 6,3 ng /g

(Rynna Słupska) do 14,3 ng/g (środkowa część polskiego wybrzeża), a średnie stężenia HBCDD wahały się od 15,2 do 22,1 ng/g w wątrobie dorsza łowionego w Morzu Bałtyckim i były znacznie wyższe niż w wątrobach dorszy złowionych w Morzu Norweskim (2,7 ng/g).

3.3.3. Stężenia zanieczyszczeń w produktach z dorsza pochodzącego z Bałtyku

Zbadano także cztery asortymenty konserw z wątrób dorsza. Badania wykonano w zawartości konserwy po zlaniu oleju oraz w samym oleju. Średnie stężenia badanych zanieczyszczeń w wątrobach (z pominięciem oleju) podano poniżej.

Polichlorowane bifenyle wskaźnikowe

- Wątróbka po kaukasku 108,9 ng/g
- Wątróbka w sosie własnym 156,8 ng/g
- Wątróbki po węgiersku 48,48 ng/g
- Pasztet z wątróbek 181,4 ng/g

Wartość dopuszczalna określona dla produktów z wątrób dorszowych (200 ng/g) nie została przekroczona w żadnym z badanych asortymentów.

PCDD/F i dl-PCB:

- Wątróbka po kaukasku 20,83TEQ pg/g
- Wątróbka w sosie własnym 28,97 TEQ pg/g
- Wątróbki po węgiersku 15,45 TEQ pg/g
- Pasztet z wątróbek 33,12 TEQ pg/g

Wartość dopuszczalna określona dla produktów z wątrób dorszowych (20 TEQ pg/g) została przekroczona w 3 z 4 badanych asortymentów.

PBDE

- Wątróbka po kaukasku 2,26 ng/g
- Wątróbka w sosie własnym 4,11 ng/g
- Wątróbki po węgiersku 3,44 ng/g
- Pasztet z wątróbek 4,59 ng/g

HBCDD

- Wątróbka po kaukasku	1,67 ng/g
- Wątróbka w sosie własnym	3,12 ng/g
- Wątróbki po węgiersku	1,54 ng/g
- Paszтет z wątróbek	2,44 ng/g

Zgodnie z oczekiwaniami stężenia zanieczyszczeń w wątrobach po obróbce technologicznej były niższe niż w wątrobach surowych pobranych z ryb. Wysokie stężenia zanieczyszczeń w oleju zlanym z konserw świadczą o migracji zanieczyszczeń z surowca do oleju.

Podsumowując informacje przedstawione w rozdziale 3 można stwierdzić, iż uzyskane wyniki wskazują na to, że filety z dorsza atlantyckiego spełniają wymagania prawne w odniesieniu do dopuszczalnych limitów substancji niepożądanych.

Wyniki badań wykazały, że:

- w odniesieniu do filetów z dorsza ryzyko przekroczenia w surowcu poziomów zanieczyszczeń limitowanych legislacyjnie jest znikome
- w przypadku przetwarzania wątrób z dorsza ryzyko, że w produkcji przekroczone zostaną normy dotyczące pewnych grup zanieczyszczeń jest duże, mimo iż wykazano, że proces obróbki technologicznej znacznie zmniejsza ich poziom w produkcie w stosunku do surowca; w przypadku wątrób z dorsza poławianych na Bałtyku istnieje ryzyko przekroczenia dopuszczalnych poziomów dioksyn i dl-PCB, natomiast w przypadku dorsza poławianego w Morzu Norweskim istnieje ryzyko przekroczenia dopuszczalnych poziomów dla kadmu;
- najniższe poziomy dioksyn zmierzono w próbkach wątrób dorsza pochodzącego ze środkowego wybrzeża (łowisko Kołobrzewsko-Darłowskie).

3.4. Migracja substancji chemicznych z opakowań do żywności: wyniki projektu SeaQual

Potencjalnymi źródłami zanieczyszczeń jakie mogą się pojawić w żywności są opakowania, z których substancje szkodliwe mogą migrować do produktu. W przypadku produktów żywnościowych opakowanie pełni wiele praktycznych funkcji takich jak zabezpieczenie przed czynnikami zewnętrznymi, przedłużenie trwałości produktu, dlatego też poszukuje się materiałów, które zapewnią wysoką jakość i bezpieczeństwo żywności. W celu zapewnienia pożądanych cech materiałów stosowanych do pakowania żywności dodaje się do nich szeregu składników. Związki chemiczne obecne w opakowaniu zarówno te dodawane intencjonalnie

jak i produkty uboczne procesu polimeryzacji czy zanieczyszczenia z materiałów wyjściowych mając kontakt z żywnością mogą do niej przenikać. Stąd istnieje potrzeba szacowania ryzyka związanego z ekspozycją konsumentów na ich działanie.

Prawodawstwo określa substancje, które mogą być dodane do żywności. Przy dopuszczaniu substancji jako dodatku do żywności zwraca się jednak głównie uwagę na jej genotoksyczność. Badania naukowe wykazują jednak, że równie groźne mogą być substancje, które powodują zaburzenia działania układu hormonalnego, indukując wielokierunkowe efekty niepożądane. Do tej grupy substancji należą m. in.: bisfenol A, nonylofenole, ftalany, których uwalnianie się z opakowań do żywności wykazano badaniami. Substancje te mogą wywoływać negatywne działanie na organizm nawet w bardzo niskich dawkach, dlatego ustalono dla nich dzienne dopuszczalne dawki (TDI- Tolerably Daily Intake), choć określenie ilości „bezpiecznej” jest niezwykle trudne. Zdarza się też, jak miało to miejsce niedawno w przypadku BPA, że wyznaczony limit jest obniżany ze względu na nowe wyniki badań.

Nonylofenole stosowane są do produkcji fosforanowych antyutleniaczy, które rozkładają wodoronadtlenki, chronią gumę oraz działają jako stabilizatory tworzyw sztucznych i elastomerów. Ich zawartość w opakowaniach może być bardzo różna, przykładowo

- 0,03 µg/g -butelki na wodę PET

- 287 µg/g- folia ochronna PCV

Bisfenol A najpowszechniej występuje w produktach z plastiku wykonanego z poliwęglanów, w papierze termicznym do drukarek fiskalnych i jako powłoka wewnątrz puszek. BPA ma budowę zbliżoną do żeńskiego hormonu płciowego – estrogenu, dlatego może oddziaływać na jego funkcjonowanie. W przypadku narażenia przewlekłego na działanie bisfenolu A w małych dawkach obserwowano efekty toksyczne u zwierząt, zwłaszcza w okresie okołoporodowym. Stwierdzono statystycznie istotne korelacje między występowaniem chorób układu sercowo-naczyniowego, cukrzycą i zwiększonym obciążeniem organizmu poprzez BPA. BPA miał wpływ na molekularne markery dla tych chorób w stężeniach *in vivo* 10 µg/kg i *in vitro* z użyciem ludzkich komórek 0,023 µg/kg. W ostatnim czasie niepokój budziły doniesienia o uwalnianiu się tego związku do żywności przeznaczonej dla dzieci.

W przemyśle wykorzystywane są także różne rodzaje soli kwasu ftalowego (ftalany), w tym ftalan dibutyłu (ftalan dwubutyłu, DBP), ftalan dietylu (DEP), ftalan dimetylu (DMP), ftalan dwuizobutyłu/diizobutyłu (DIBP), ftalan diizononylowy (DINP), diizodecylowy (DIDP)

oraz inne. Ftalany są organicznymi lipofilowymi związkami, które są głównie stosowane jako plastyfikatory w celu zwiększenia elastyczności z tworzyw sztucznych, ale dodawane są także do farb drukarskich i lakierów.

Stopień migracji związków chemicznych z opakowań do żywności zależy od wielu czynników takich jak:

- cechy fizykochemiczne produktu: zawartość tłuszczu, stopień rozdrobnienia, pH
- powierzchnia kontaktu produktu z opakowaniem
- warunki przechowywania.

W ramach projektu SeaQual przeprowadzono badania mające na celu ocenę czy wybrane rodzaje opakowań stosowanych w przemyśle rybnym przyczyniają się do ekspozycji konsumentów na działanie: bisfenolu A, ftalanów oraz nonylfenoli, związków zaliczanych do grupy substancji zaburzających działanie układu hormonalnego. Pierwotnie przypisywano im głównie toksyczność związaną z reprodukcją. Obecnie wiązane są z różnorodnymi skutkami, takimi jak choroby sercowo-naczyniowe, otyłość, cukrzyca, nowotwory.

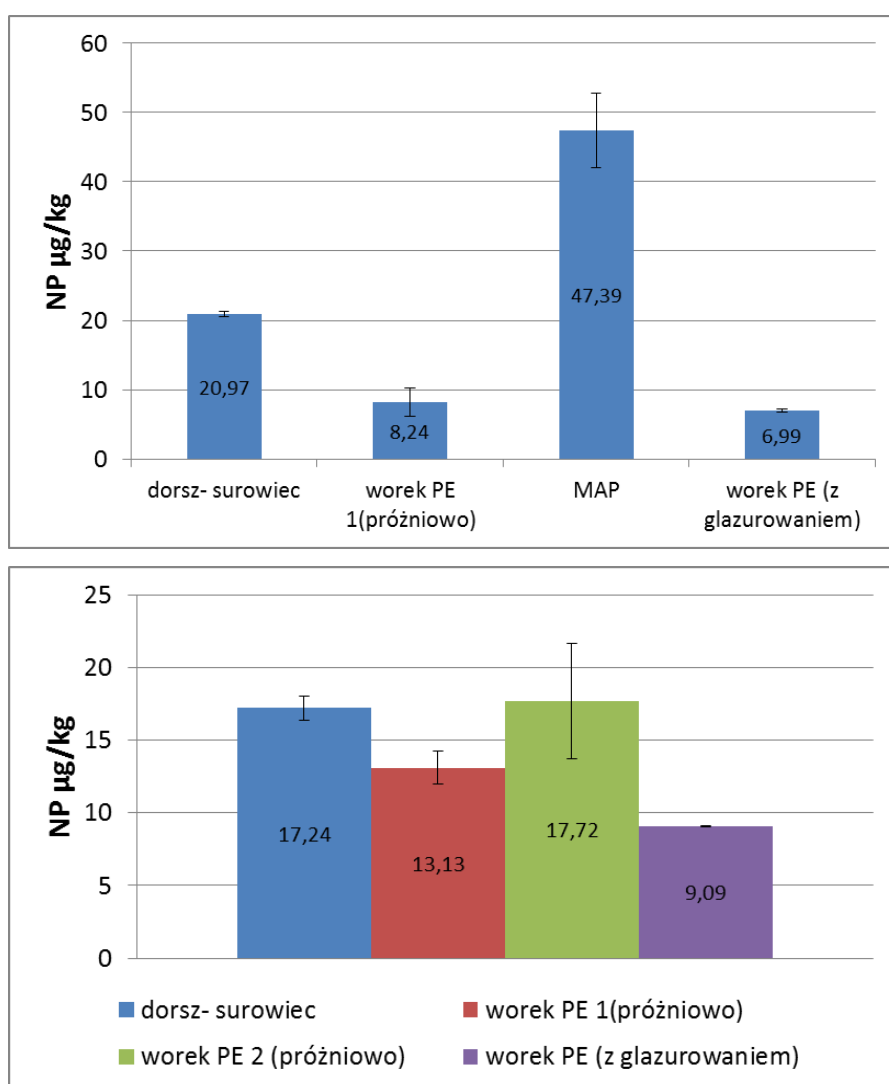
Badania objęły zarówno opakowania służące w przemyśle rybnym do długotrwałego przechowywania produktów (konserwy, worki PE do mrożenia) jak i opakowania służące do krótkotrwałego przechowywania żywności (opakowania plastikowe, pakowanie w atmosferze modyfikowanej MAP). Poziomy substancji mierzono w surowcu przed pakowaniem i w gotowym produkcie. Testowano produkty z ryby o niskiej i wysokiej zawartości tłuszczu (dorsz, łosoś, śledź). Badania prowadzono na filetach oraz mięsie rozdrobnionym, z uwagi na zwiększoną powierzchnię kontaktu opakowania z produktem. W przypadku produktów mrożonych testowano wpływ procesu glazurowania na stopień migracji zanieczyszczeń z opakowania do produktu. Stężenia zanieczyszczeń zmierzone w badanych produktach rybnych porównano z dostępnymi danymi literaturowymi oraz odniesiono do dziennego dopuszczalnego spożycia wyznaczonego dla poszczególnych substancji.

3.4.1. Migracja nonylofenoli z opakowań stosowanych w przemyśle rybnym do produktu

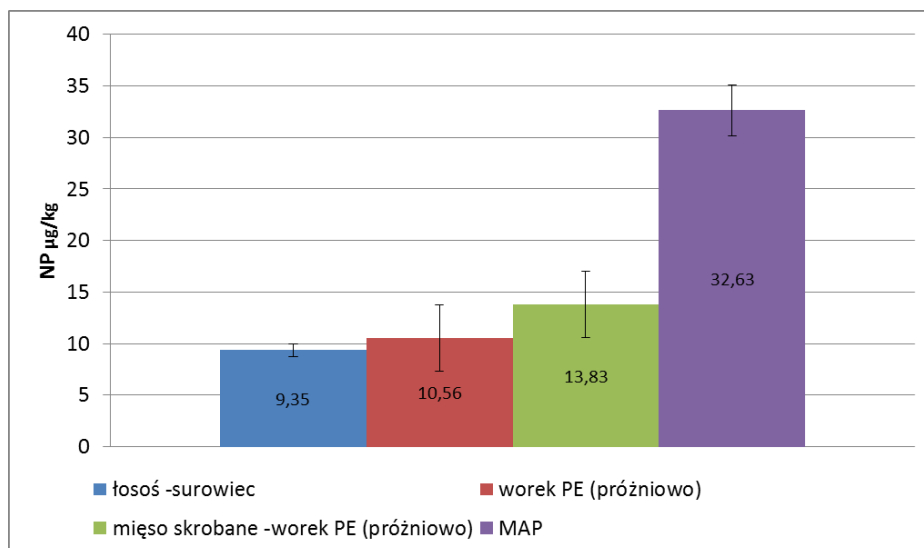
Testowano migrację NP:

- z worków polietylenowych do mrożonych, glazurowanych filetów z dorsza
- z worków polietylenowych do nieglazurowanych mrożonych filetów z dorsza i łososia pakowanych próżniowo
- z worków polietylenowych do skrobanego mięsa z łososia pakowanego próżniowo

- z opakowań do pakowania w atmosferze modyfikowanej (MAP) do filetów z dorsza i łososia. W tym celu z linii produkcyjnej pobierano surowiec i gotowy produkt. Oznaczenia wykonano w surowcu oraz w produktach. Produkty przechowywano zgodnie z zaleceniami na opakowaniu. Oznaczenia w produktach wykonano w przypadku produktów pakowanych w atmosferze modyfikowanej w dniu kiedy kończył się ich termin przydatności do spożycia, a w przypadku produktów mrożonych po trzech miesiącach przechowywania w zamrażarce (-18°C). Wyniki eksperymentów przedstawiono na rysunkach 29 i 30. Dodatkowo zmierzono poziom zanieczyszczeń w konserwie ze śledzia, po 3 miesiącach od daty produkcji.



Rys. 29. Porównanie stężeń NP w filetach z dorsza surowych oraz pakowanych.



Rys. 30. Porównanie stężeń NP w mięsie łososia przed pakowaniem i po pakowaniu.

Wnioski z eksperymentu

- ✓ Najwyższe stężenia NP stwierdzono w produktach pakowanych w atmosferze modyfikowanej. Zarówno w przypadku dorsza jak i łososia stężenia w produkcie były wyraźnie wyższe niż w surowcu przed opakowaniem.
- ✓ Stężenia NP w produktach mrożonych pakowanych w worki PE były w przypadku łososia porównywalne jak stężenia w surowcu, a w przypadku dorsza porównywalne jak w surowcu lub niższe; spadek stężeń zanieczyszczeń można tłumaczyć ich wyciekaniem podczas rozmrażania.

Stężenia NP w filetach mrożonych z dorsza przygotowanych w ramach projektu wahały się w granicach od około 7 do 18 µg/kg i były porównywalne do stężeń zmierzonych w produktach pozyskanych z rynku, które przedstawiały się następująco:

Dorsz bałtycki filet: 14,02 µg/kg

Dorsz bałtycki polędwica : 7,86 µg/kg

Dorsz czarny: 9,39 µg/kg

Zakres stężeń NP w produktach rybnych, zmierzonych w ramach projektu był następujący:

Filety z dorsza : 8,24- 47,39 µg/kg

Produkty z łososia: 10,56- 32,63 µg/kg

Konserwy ze śledzia: 19, 53- 20,6 µg/kg

Dla porównania dane literaturowe dla innych produktów wskazują na następujące zakresy stężeń:

Mineralna woda butelkowana: 78 ng/l

Napój mleczny w kartonie: 40 µg/kg

Mleko sterylizowane w butelce HDPE: 32,3 µg/kg

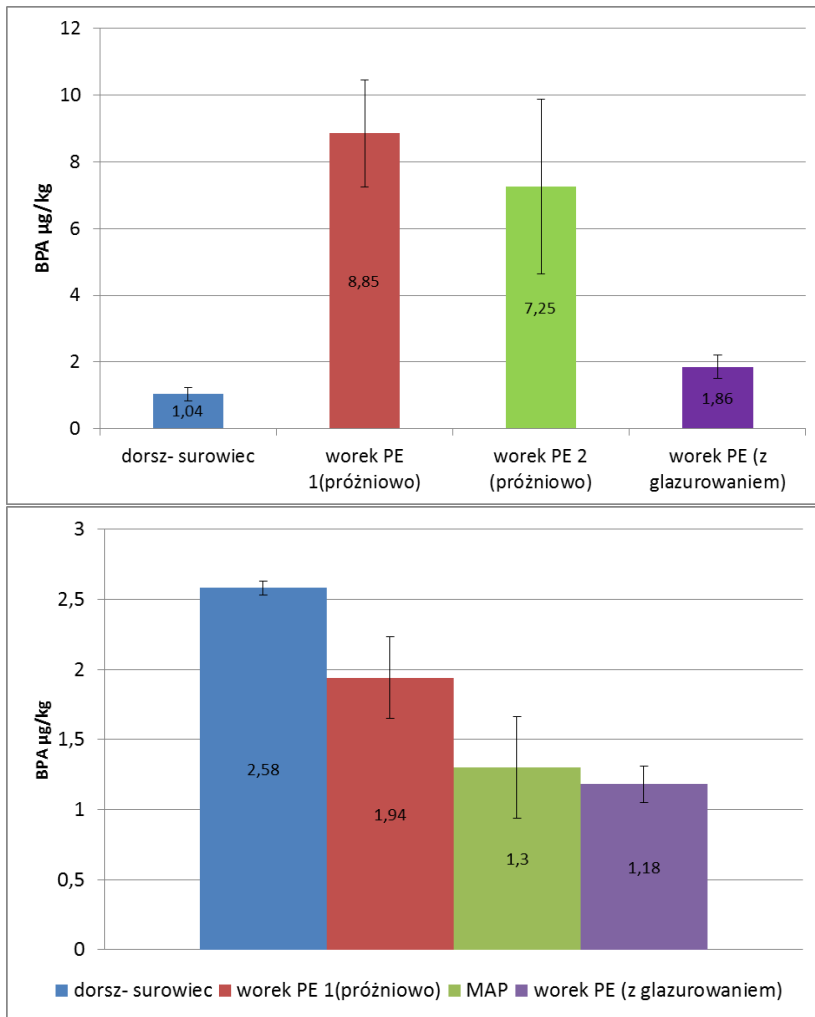
3.4.2. Migracja bisfenolu A z opakowań stosowanych w przemyśle rybnym do produktu

Testowano migrację BPA:

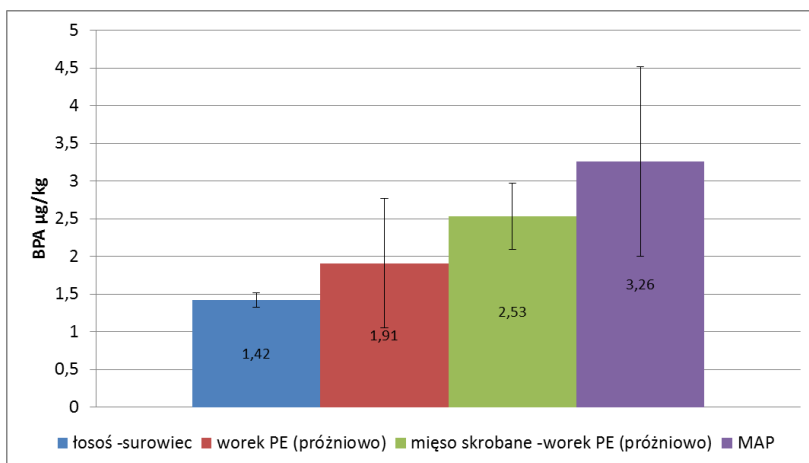
- z worków polietylenowych do mrożonych, glazurowanych filetów z dorsza
- z worków polietylenowych do nieglazurowanych mrożonych filetów z dorsza i łososia pakowanych próżniowo
- z worków polietylenowych do skrobanego mięsa z łososia pakowanego próżniowo
- z opakowań do pakowania w atmosferze modyfikowanej (MAP) do filetów z dorsza i łososia.

W tym celu z linii produkcyjnej pobierano surowiec i gotowy produkt. Oznaczenia wykonano w surowcu oraz w produktach. Produkty przechowywano zgodnie z zaleceniami na opakowaniu. Oznaczenia w produktach wykonano w przypadku produktów pakowanych w atmosferze modyfikowanej w dniu kiedy kończył się ich termin przydatności do spożycia, a w przypadku produktów mrożonych po trzech miesiącach przechowywania w zamrażarce (-18°C). Wyniki eksperymentów przedstawiono na rysunkach 31 i 32.

Dodatkowo zmierzono poziom zanieczyszczeń w konserwie ze śledzia, po upływie 3 miesięcy od daty produkcji.



Rys. 31. Porównanie stężeń BPA w filetach z dorsza surowych oraz pakowanych.



Rys. 32. Porównanie stężeń BPA w mięsie lososia przed pakowaniem i po pakowaniu.

Wnioski z eksperymentu

- ✓ W przypadku produktów z łososia najwyższe stężenia BPA zmierzono w produktach pakowanych w atmosferze modyfikowanej, jednak w tym przypadku różnica w stężeniu między surowcem a produktem nie była tak znaczna jak w przypadku NP.
- ✓ W przypadku produktów dorsza, mrożonych z zastosowaniem glazurowania, zmierzone stężenie zanieczyszczeń było niższe w produkcie niż w surowcu, podobnie jak stężenie w produkcie pakowanym z zastosowaniem atmosfery modyfikowanej, które też było niższe niż w surowcu.
- ✓ W przypadku mrożonych produktów z dorsza pakowanych bez glazurowania do worków PE, w przypadku dwóch rodzajów worków stężenie BPA w produkcie było wielokrotnie wyższe niż w surowcu.

Zakres stężeń BPA w produktach z ryb, zmierzonych w ramach projektu był następujący:

Filety z dorsza : 1,3-8,85 $\mu\text{g}/\text{kg}$

Produkty z łososia: 1,91-3,26 $\mu\text{g}/\text{kg}$

Konserwy ze śledzia: 2,08-3,04 $\mu\text{g}/\text{kg}$

Dla porównania dane literaturowe podają, że w Japonii żywność w puszkach zawierała do 842 $\mu\text{g}/\text{kg}$ BPA a napoje w puszkach z rynku kanadyjskiego od 0,032- 4,5 $\mu\text{g}/\text{L}$.

3.4.3. Migracja ftalanów z opakowań stosowanych w przemyśle rybnym do produktu

Prowadzono także badania zawartości ftalanów w różnych produktach rybnych. Przebadano produkty ze śledzia pakowane w plastikowe pudełka, konserwy ze śledzia. Porównano także stężenia ftalanów w surowcu i produktach z dorsza i łososia pakowanych w atmosferze modyfikowanej.

W ramach projektu oznaczano następujące ftalany:

- ftalan di-butylu DBP,
- ftalan bis(2-etyloheksylu) DEHP,
- ftalan di-isononylu DINP,
- ftalan benzobutylu BBP,
- ftalan di-n-oktylu DNOP,
- ftalan di-isododecylu DIDP.

Stężenia BBP, DNOP i DIDP były we wszystkich badanych próbkach poniżej limitu oznaczalności metody.

Uzyskane wyniki przedstawiono w tabeli 8.

Tabela 8. Zawartość ftalanów w przebadanych produktach .

Rodzaj próbki	DBP $\mu\text{g}/\text{kg}$	DEHP $\mu\text{g}/\text{kg}$	DINP $\mu\text{g}/\text{kg}$
Filet z dorsza (przed opakowaniem)	264,9 \pm 22,8	131,1 \pm 5,4	73,4 \pm 7,8
Filet z dorsza pakowany w MAP	103,8 \pm 29,3	48,4 \pm 29,6	61,3 \pm 17, 8
Filet z łososia (przed opakowaniem)	152,1 \pm 27,2	69,8 \pm 11,8	171,7 \pm 31,6
Filet z łososia pakowany w MAP	204,0 \pm 54,5	119,0 \pm 55,2	324,7 \pm 53,8
Koreczki po meksykańsku	483,2 \pm 204,7	166,6 \pm 103,6	87,4 \pm 19,7
Koreczki ze śledzia z cebulką	252,4 \pm 108,8	126,5 \pm 54,6	89,6 \pm 82,1
Śledź solankowany mrożony	392,9 \pm 22,8	141,7 \pm 9,1	422,9 \pm 50,3
Śledź konserwa	227,5 \pm 8,1	97,6 \pm 7,4	294,5 \pm 30,4

Średnie stężenia badanych ftalanów były niższe w badanych produktach z łososia i dorsza niż w surowcu. Najwyższe stężenia DBP i DEHP zaobserwowano w produktach ze śledzia pakowanych w plastikowe pudełka, przy czym były one porównywalne ze stężeniami wzmiernymi w śledziach solankowanych, niepakowanych.

Przeprowadzone eksperymenty i przedstawiona w dalszym rozdziale ocena narażenia konsumentów wskazują, że przebadane opakowania, stosowane w przetwórstwie ryb nie stanowią zagrożenia dla zdrowia konsumentów.

3.5. Ocena narażenia konsumentów na zanieczyszczenia pochodzące z produktów rybnych

Jak wspomniano we wcześniejszych rozdziałach żywność zawiera substancje niepożądane, które mogą przenikać do niej ze środowiska lub mogą dostawać się do niej na różnych etapach produkcji. W celu ochrony zdrowia konsumenta ustalono limity substancji szkodliwych w żywności i produkty, które nie spełniają ustalonych kryteriów nie powinny być wprowadzane na rynek. W związku z tym jednak, iż całkowite uniknięcie narażenia konsumentów na zanieczyszczenia poprzez żywność jest niemożliwe, prowadzone są badania toksykologiczne,

których wyniki służą do oceny ryzyka oraz wyznaczenia tzw. tolerowanych dawek substancji niepożądanych, których przyjęcie nie wiąże się z nieakceptowalnym ryzykiem dla zdrowia. Należy podkreślić, że daną substancję konsument przyjmuje z różnych źródeł (różne rodzaje produktów). Poniżej zebrano informacje dotyczące wyznaczonych dla poszczególnych zanieczyszczeń tolerowanych dawek pobrania, które są definiowane w odniesieniu do kg masy ciała. Na ich podstawie wyliczono dawkę substancji jaka może być pobrana przez konsumenta o masie 60 kg. Na podstawie przedstawionych w niniejszym opracowaniu danych oraz innych danych którymi dysponuje MIR-PIB, oszacowano także dawkę substancji jaką przyjmie konsument, spożywając porcję produktu rybnego równą tygodniowemu spożyciu ryb w Polsce (około 0,27 kg).

Tolerowane dawki wyrażane są dla niektórych zanieczyszczeń jako tygodniowa dawka pobrania lub dzienna dawka pobrania. W przypadku gdy dla zanieczyszczenia wyznaczono dzienną dawkę pobrania przeliczano ją na tygodniową mnożąc przez siedem. W tabeli 9 zestawiono dawkę zanieczyszczeń wynikającą ze spożycia 0,27 kg różnych produktów rybnych z dopuszczalnym dla konsumenta o masie 60 kg tygodniowym pobraniem poszczególnych zanieczyszczeń.

Tabela 9. Tolerowane dawki pobrania zanieczyszczeń.

Związek	Tolerowane dzienne pobranie na kg masy ciała	Tolerowane tygodniowe pobranie na kg masy ciała	Dopuszczalne tygodniowe pobranie dla konsumenta o masie 60 kg
BPA	4 µg	28 µg	1680 µg
NP	5 µg	35 µg	2100 µg
DnBP	0,01 mg	0,07 mg	4,2 mg
DEHP	0,050 mg	0,35 mg	21 mg
DINP+DIDP	0,15 mg	1,05 mg	63 mg
PBDE		0,7 µg	42 µg
PCDD/F/dl-PCB		14 pg WHO-TEQ	840 pg WHO-TEQ
Pb		0,025 mg	1,5 mg
Cd		0,007 mg	0,42 mg
Hg		0,0016 mg	0,096 mg
∑DDT		0,035 mg	2,1 mg

Tabela 10. Dawki pobrania zanieczyszczeń z przeciętną dietą tygodniową

Produkt	Dawka zanieczyszczenia obecna w 0,27 kg produktu										
	BPA µg	NP µg	DnBP mg	DEHP mg	DINP/ DIDP mg	PBDE µg	PCDD/F/ dl-PCB pg	Pb mg	Cd mg	Hg mg	ΣDDT mg
śledź	0,8	5,4	0,130	0,046	0,108	0,324	940	0,005	0,003	0,008	0,008
szprot						0,432	1300	0,01	0,004	0,005	0,02
łosoś (MAP)	0,95	8,5	0,055	0,032	0,088	0,675	1700	0,02	0,001	0,005	0,120
dorsz (MAP)	0,35	13,5	0,030	0,014	0,017	0,081	90	0,004	0,001	0,01	0,002
łosoś mrożony	0,54	4,05	0,040	0,019	0,047	0,675	1700	0,01	0,001	0,005	0,120
dorsz mrożony	0,52	4,60	0,072	0,035	0,020	0,081	90	0,004	0,001	0,01	0,002

Należy zrobić zastrzeżenie, że wyliczenia oparte są o średnie stężenia. W przypadku niektórych produktów, jak np. produkty z łososia należy spodziewać się dużego rozrzutu wyników zawartości zanieczyszczeń.

Podane w tabeli 10 wartości to szacowane dawki zanieczyszczeń jakie przyjmuje polski konsument wraz z produktami rybnymi, przy założonym średnim rocznym spożyciu ryb w Polsce. Porównując te wartości z tolerowanymi dawkami obliczonymi dla konsumenta o masie 60 kg (tabela 9) można zauważyć, że wartości te w większości przypadków są niskie. Szacowane pobranie zanieczyszczeń z produktami rybnymi zbliża się do dawek tolerowanych w przypadku niektórych produktów dla dioksyn. Jednak na uwagę zasługuje fakt, że te same zanieczyszczenia są przyjmowane wraz z innymi grupami żywności. Dla przykładu poniżej przedstawiono procentowy udział dioksyn pobieranych z różnymi grupami żywności (dane ekspertów FAO).

Tabela 11. Procentowy udział dioksyn pobieranych z różnymi grupami żywności w diecie wybranych krajów na podstawie danych z konsultacji FAO/WHO (Report of joint FAO/WHO 2010).

Kraj	Ryby	Mięso	Prod. mleczne	Jaja	Inne produkty
Australia	39	11	31	2	8
Polska	7	43	35	9	6
Finlandia	63	6	16	4	11
Włochy	35	32	26	7	
Holandia	2	20	39	4	35
Nowa Zelandia	7	40	19		24
Norwegia	46	14	22	12	6
Szwecja	34	31	19	2	14
Anglia	6	20	25	4	45
USA	7	53	35		3

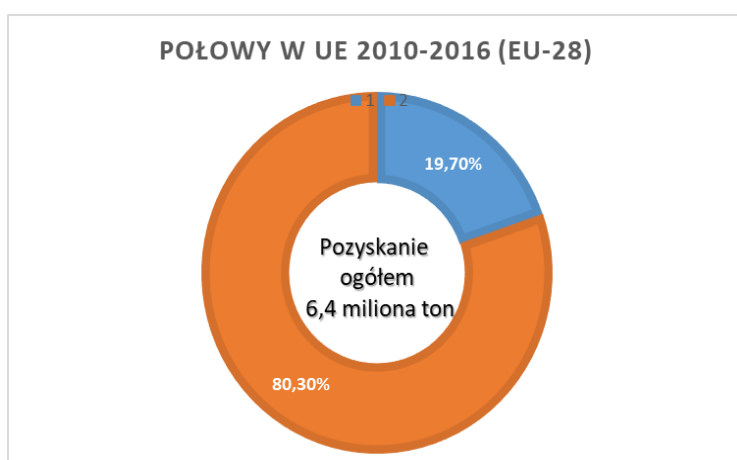
W związku z niskim spożyciem, pobranie w Polsce dioksyn z rybami wynosi tylko 7 %, a np. w Finlandii 63 %. W Polsce najczęściej dioksyn pobieranych jest z mięsem, ale też spożywamy go dużo więcej niż ryb.

4. Kontrola jakości ryb i produktów rybnych

Mirosław Różycki, Aneta Bełcik, Iwona Mizak, Ewa Bilaska - Zajac, Anna Wąs - Barcz, Maciej Kochanowski, Jacek Karamon, Katarzyna Grądziel - Krukowska, Tomasz Cencek, Magdalena Podolska, Jan Horbowy, Katarzyna Nadolna - Allyn, Joanna Pawlak, Agnieszka Pękala - Safińska, Beata Szostakowska

Kontrola jakości ryb w kierunku oceny zmian powstałych w wyniku niewłaściwego obchodzenia się z produktem, jego zepsucia, namnożenia bakterii, obecności pasożytów, zmian powstałych w wyniku chorób ryb, jest praktyką stosowaną już od stuleci. Stały nadzór nad pozyskiwaniem i sprzedażą ryb istniał już w starożytnym Rzymie (Peuriere 2002). Historycznie nadzór nad jakością ryb najlepiej był rozwinięty w Związku Hanzeatyckim (Ellermeyer 1984). Już w owym czasie producenci nie mogli sobie pozwolić na obniżenie jakości sprzedawanych ryb lub stworzenie zagrożenia dla konsumentów. Już samo powstanie zagrożenia wiązało się z utratą rynku zbytu oraz karami administracyjnymi dla ówczesnych kupców. Podobnie wygląda sytuacja w obecnych czasach. Ryby są produktem wyjątkowo podatnym na zepsucie, dlatego w celu przedłużenia ich trwałości opracowano i wdrożono wiele metod ich utrwalania. Najczęściej stosowane metody utrwalania ryb to: solenie, suszenie, mrożenie, wędzenie, marynowanie, obróbka cieplna (pasteryzacja, sterylizacja) i inne.

W chwili obecnej produkty rybołówstwa dostarczają prawie połowę masy mięsa pochodzącego od wszystkich gatunków zwierząt stałocieplnych. W wielu krajach białko ryb jest jedynym źródłem białka zwierzęcego dla ludności. Produkcja i połowy organizmów wodnych w Europie na cele żywnościowe osiągnęła wartość 6,4 miliona ton, z czego produkty rybołówstwa morskiego stanowiły ponad 80% (rys.33).



Rys. 33. Połowy w UE 2010-2016 (<https://ec.europa.eu/eurostat/statistics>).

Produkcja ryb hodowlanych przy jednoczesnej tendencji spadkowej produkcji ryb morskich staje się, coraz bardziej dochodowa. Koszt produkcji ryb w akwakulturach jest dużo niższy niż produkcji mięsa zwierząt stałocieplnych (ze 100 kg paszy uzyskuje się średnio 65 kg łososia, a tylko 20 kg drobiu i 13 kg wieprzowiny). Jednak w dalszym ciągu większość ryb pochodzi z połowów morskich (Tomasso i New 1999; Chassot i in. 2010).

W warunkach gospodarki rynkowej to producenci są odpowiedzialni za jakość produktu (Rodrigues i Domingos 2008). W przypadku ryb i produktów rybnych odpowiedzialność ta może być wieloetapowa. Ryby w trakcie drogi do konsumenta często są włączane w szereg operacji i transakcji, z których każda może spowodować spadek jakości produktu. Przykładowo jakość ryb lodowanych w czasie pierwszej transakcji (market rybny) jest znacząco wyższa niż w chwili, gdy trafią one na stół (Verbeke i in. 2007). Podobnie wygląda sytuacja w przypadku ryb mrożonych. Samo pojęcie jakości nie jest jednoznaczne. Producenci bardzo często wyznaczają własne standardy np. do produkcji konserw najlepszy rozmiar ryb wynosi pomiędzy 12-15 cm i ten standard jest oczekiwany przez producenta konserw, lecz nie przez rybaka czy konsumenta.

W ostatnich latach narodowe i międzynarodowe organizacje standaryzacyjne wyznaczały (również pod presją zrzeszeń konsumenckich) standardy dla ryb i produktów rybnych. Na bazie tych wyznaczonych standardów opiera swe działanie kontrola jakości. Do niedawna pod pojęciem kontrola jakości (QC -Quality Control) rozumiano wszelkie działania podejmowane przez różne organizacje, które zajmowały się bezpieczeństwem i jakością wyrobu. W ostatnich latach pojęcie kontrola jakości zostało rozszerzone o wiele innych terminów, często zaczerpniętych z terminologii technicznej stosowanej w przedsiębiorstwach niezwiązanych z żywnością. Terminy te zostały włączone na użytek producentów i konsumentów w ostatniej dekadzie. Przykładami takich terminów może być: QAS – System zapewnienia jakości (Quality Assurance System), TQM – Zarządzanie przez jakość (Total Quality Management) oraz HACCP- Analiza zagrożeń w krytycznych punktach kontroli (Hazard Analysis Critical Control Points) (Golomski 1993; Lupin i in. 2010; van Heerden i Jooste 2018).

W związku z potrzebą ujednolicenia terminologii związanej z jakością każdy kraj posiada własną jednostkę zajmującą się problemami standaryzacji np.: w Polsce jest to Polski Komitet Normalizacyjny, a w Wielkiej Brytanii British Standardization Institution itd. w Europie nadrzędną jednostką zajmującą się problemami standaryzacji na poziomie Unii Europejskiej jest European Committee for Standardization (CEN) oraz Międzynarodowa

Organizacja Standaryzacji (ISO - International Standards Organization). Organizacje te zajmują się ustalaniem i definiowaniem standardów np.: zgodnie z ISO QC – quality control, zespół wszystkich operacji i czynności użytych w celu spełnienia wymagań jakości.

Przy określeniu bezpieczeństwa produktów żywnościowych główne znaczenie mają pojęcia QA i QC oraz system Analizy Zagrożeń i Krytyczne Punkty Kontroli (HACCP) (Hui 2018). Aby wymagana jakość mogła być spełniona istnieje potrzeba poznania czynników wpływających na nią oraz metod oceny tych czynników. W przypadku produktów rybnych jest tych czynników znacznie więcej niż w przypadku innych rodzajów żywności.

Warunki wstępne:

Aby uzyskać produkt o odpowiedniej jakości niezbędne jest spełnienie kilku warunków wstępnych związanych z miejscem pozyskania surowca, jego wstępnego przetworzenia i warunkami higienicznymi. Wymagania te zostały określone w przepisach (Kobelt 2005). Poniżej przedstawiono wyciąg z przepisów krajowych i wspólnotowych określających wymagania dla produkcji ryb i produktów rybołówstwa.

Wymogi dotyczące statków:

Poniżej przedstawiono wyciąg z Rozporządzenie (WE) nr 852/2004 Parlamentu Europejskiego i Rady z dnia 29 kwietnia 2004 r. w sprawie higieny środków spożywczych. Statki muszą być zaprojektowane i skonstruowane w sposób uniemożliwiający zanieczyszczenie produktów wodą zęzową, ściekami, dymem, paliwem, olejem, tłuszczem czy innymi niepożądanymi substancjami. Powierzchnie, z którymi stykają się produkty rybołówstwa muszą być wykonane z odpowiedniego materiału odpornego na korozję, gładkiego i łatwego do oczyszczenia. Powłoki powierzchniowe muszą być trwałe i nietoksyczne

Urządzenia i materiały używane do prac przy produktach rybołówstwa muszą być wykonane z materiału odpornego na korozję, gładkiego oraz łatwego do oczyszczenia i dezynfekcji. W przypadku gdy statki posiadają ujęcia wody używanej do produktów rybołówstwa, ujęcia te muszą być usytuowane w miejscu uniemożliwiającym zanieczyszczenie instalacji wodociągowej.

Statki mające za zadanie utrzymanie świeżych produktów rybołówstwa przez ponad 24 godziny muszą posiadać pomieszczenia towarowe, zbiorniki lub kontenery do przechowywania produktów rybołówstwa w temperaturach ustanowionych w sekcji VIII załącznika III do Rozporządzenia (WE) nr 852/2004.

Pomieszczenia towarowe muszą być oddzielone od komór silnikowych oraz od pomieszczeń mieszkalnych załogi za pomocą ścian działowych, wystarczających do zapobiegania zanieczyszczeniu składowanych produktów rybołówstwa. Pomieszczenia towarowe i kontenery używane do składowania produktów rybołówstwa muszą zapewniać ich zachowanie w dostatecznych warunkach higienicznych oraz, w razie potrzeby, aby woda powstała wskutek topnienia lodu nie pozostawała w styczności z produktami rybołówstwa.

Na statkach wyposażonych w aparaturę do schładzania produktów rybołówstwa w oziębianej czystej wodzie morskiej, zbiorniki muszą być wyposażone w urządzenia do osiągnięcia jednolitej temperatury w całych zbiornikach. Urządzenia takie muszą osiągać współczynnik chłodzenia zapewniający, że mieszanka ryb i czystej wody morskiej osiągnie temperaturę nie wyższą niż 3°C w sześć godzin po załadowaniu, oraz nie więcej niż 0°C po 16 godzinach, a także muszą umożliwiać kontrolę oraz, w razie konieczności, rejestrowanie temperatur.

Statki, na których prowadzone jest zamrażanie, muszą być wyposażone w urządzenia do zamrażania, umożliwiające szybkie obniżenie temperatury do otrzymania temperatury rdzenia nie wyższej niż -18°C; muszą posiadać urządzenia mroźnicze umożliwiające utrzymanie produktów rybołówstwa w pomieszczeniach magazynowych w temperaturze nie wyższej niż -18°C. Pomieszczenia magazynowe muszą być wyposażone w urządzenie do rejestracji temperatury, w miejscu, w którym jego odczytanie nie będzie utrudnione. Czujnik temperatury czytnika musi znajdować się w takim miejscu pomieszczenia magazynowego, w którym temperatura jest najwyższa;

Statki przetwórcze:

Obszar odbioru, zarezerwowany do przyjęcia produktów rybołówstwa na pokład, musi być zaprojektowany w sposób umożliwiający oddzielenie każdego kolejnego odłowu. Obszar ten musi być łatwy do oczyszczenia oraz zaprojektowany w sposób zapewniający produktom ochronę przed słońcem czy żywiołami, a także przed wszelkimi źródłami zanieczyszczeń.

System transportu - higieniczny system transportu produktów rybołówstwa z obszaru odbioru do obszaru roboczego, a obszary robocze powinny być wystarczająco duże w celu higienicznego przygotowywania i przetwarzania produktów rybołówstwa, łatwe do oczyszczenia i dezynfekcji, oraz zaprojektowane i zaplanowane w sposób zapobiegający zanieczyszczeniu produktów.

Składowanie wyrobów:

Powierzchnie do składowania wyrobów gotowych, wystarczająco duże i zaprojektowane w sposób umożliwiający ich łatwe czyszczenie. Jeżeli na statku znajduje się urządzenie do przetwarzania odpadów, zapewnione musi zostać oddzielne pomieszczenie do składowania takich odpadów.

Składowanie opakowań:

Miejsce do składowania opakowań, oddzielone od obszarów roboczych do przygotowywania i przetwarzania produktów;

Specjalne wyposażenie do usuwania odpadów i produktów rybołówstwa niezdatnych do spożycia przez ludzi, bezpośrednio do morza lub, jeżeli wymagają tego okoliczności, do wodoszczelnego zbiornika zarezerwowanego do tego celu. Jeżeli na pokładzie dokonuje się składowania i przetwarzania odpadów w celu doprowadzenia ich do higienicznego stanu, konieczne jest wydzielenie do tego odrębnej powierzchni. Ujęcie wody usytuowane w miejscu uniemożliwiającym zanieczyszczenie instalacji wodociągowej.

Urządzenia do mycia:

Urządzenia do mycia rąk dla pracowników dokonujących obróbki niepakowanych produktów rybołówstwa, wyposażone w kurki zaprojektowane w sposób uniemożliwiający rozprzestrzenianie się zanieczyszczeń.

Powierzchnia kontaktu z rybami i produktami rybołówstwa:

Powierzchnie, z którymi stykają się produkty rybołówstwa muszą być wykonane z odpowiedniego materiału odpornego na korozję, gładkiego i łatwego do oczyszczenia. Powłoki powierzchniowe muszą być trwałe i nietoksyczne.

Urządzenia i materiały używane do prac przy produktach rybołówstwa muszą być wykonane z materiału odpornego na korozję, gładkiego oraz łatwego do oczyszczenia i dezynfekcji.

W przypadku gdy statki posiadają ujęcia wody używanej do produktów rybołówstwa, ujęcia te muszą być usytuowane w miejscu uniemożliwiającym zanieczyszczenie instalacji wodociągowej.

Operacje na statkach powinny być przeprowadzane z zachowaniem zasad higieny.

Podczas użytkowania, elementy wyposażenia statków lub kontenery do przechowywania produktów rybołówstwa muszą być utrzymane w czystości oraz w dobrym stanie technicznym,

w szczególności nie mogą one być zanieczyszczone paliwem czy wodą zęzową.

Skrzynki z tworzywa sztucznego przeznaczone do przechowywania produktów rybołówstwa powinny być czyste i nieuszkodzone, mieć konstrukcję umożliwiającą łatwe mycie i dezynfekcję oraz myte i dezynfekowane po każdym użyciu odpowiednimi preparatami, dopuszczonymi do mycia powierzchni mających kontakt z żywnością.

Niedopuszczalne jest magazynowanie w pomieszczeniach statków, ładowniach, zbiornikach, pojemnikach lub kontenerach przedmiotów lub produktów, które mogą pogorszyć jakość produktów rybołówstwa.

Wyładunek:

Po wyładunku produktów rybołówstwa pomieszczenia statków, kontenery, zbiorniki oraz narzędzia i sprzęt, które miały bezpośredni kontakt z produktami rybołówstwa, z wyłączeniem narzędzi połowowych, myje się przy użyciu wody pitnej lub czystej wody morskiej.

Pojemniki lub kontenery po każdym użyciu myje się wodą pitną dla ludzi lub czystą wodą morską.

Mycie i odkażanie:

Na statkach rybackich przeprowadza się mycie, odkażanie, deratyzację lub dezynsekcję, jeżeli jest to konieczne.

Środki używane do odkażania, deratyzacji, dezynsekcji oraz środki myjące powinny być: dopuszczone do obrotu, zabezpieczone przed dostępem osób nieupoważnionych, przechowywane w sposób uniemożliwiający zanieczyszczenie produktów rybołówstwa, stosowane w sposób uniemożliwiający skażenie produktów rybołówstwa. Należy prowadzić dziennik mycia i dezynfekcji statku, w którym prowadzone są zapisy z wykonanych czynności.

4.1. Wybrane czynniki wpływające na jakość produktów rybnych

Mirosław Różycki, Aneta Bełcik, Iwona Mizak, Ewa Bilaska - Zajac

Pierwszym czynnikiem wpływającym na jakość końcową produktu jest tzw. jakość wewnętrzna (IQ – intrinsic quality) (Granato i in. 2014).

Jakość wewnętrzna jest sumą czynników wpływających na stan złowionych ryb. Większość ryb, które znajdują się na naszym stole to ryby złowione w środowisku naturalnym (z wyłączeniem hodowli stawowych, jeziorowych czy morskich), wpływ działalności człowieka na ich jakość jest stosunkowo niewielki lub nie ma go wcale.

Przetwórcy ryb są w znacznie gorszym położeniu niż producenci mięsa przetwarzając wieprzowinę i wołowinę wybranych ras np. mięsnych. W przypadku wieprzowiny czy wołowiny jakość wewnętrzna jest osiągana poprzez odpowiednie żywienie lub dobór genetyczny w zależności od preferencji konsumenckich (rasy mięsne lub rasy o większej zawartości tłuszczu). W gospodarce rybnej związanej z połowami na morzu trudno jest otrzymać produkt, który spełniałby wszystkie oczekiwane przez producentów i konsumentów parametry. W celu uzyskania jak najlepszego produktu dwa rodzaje kontroli są sprawowane bezpośrednio na statku.

Kontrola połowu:

Pierwszy rodzaj kontroli to selektywny wybór łowisk, terminów odłowów oraz metod odłowu np. rodzaj sieci. W zależności od pory roku zmieniają się tereny łowisk ryb, zmienia się też biologia ryb, np. wczesną wiosną wiele gatunków ryb przechodzi okres tarła. Chcąc pozyskać ryby o najwyższej wartości, niezbędna jest znajomość ich fizjologii, terminów połowów oraz łowisk (Da-Rocha i in. 2018).

Sortowanie. Drugi rodzaj kontroli to selekcja i sortowanie złowionego materiału, składającego się z mieszaniny ryb. Materiał ten jest sortowany wg pożądaných rodzajów jakości. Główne czynniki wpływające na jakość ryb to rodzaj ryb (gatunek), rozmiar, płeć, kondycja, stopień zapasozyczenia, obecność naturalnych toksyn, skażenie środowiska czy też zmiany jednostkowe w postaci np. nowotworów.



Fot. 1. Zmiany chorobowe okolicy oczodołu u dorsza (fot. A. Pękala - Safińska).

Gatunek ryb :

Wiadomo, że niektóre gatunki ryb są bardziej poszukiwane przez konsumentów niż inne. Preferencje regionalne są bardzo zróżnicowane. Zasadą jest, że „lubimy to co znamy”.

W pewnym stopniu o tym, co ludzie uważają za „jakość” jest pochodną dostępności na rynku. Ryby takie jak łosoś (*Salmo salar*) czy halibut (*Hipoglossus hipoglossus*) były dawniej uważane za gatunki jakościowo gorsze. Wraz z redukcją połowów ich wartość wzrosła. Wartość rynkowa ryb może być też wypadkową np.: ryzyka i egzotyki, tak się dzieje w przypadku potraw typu "fugu" z ryb rozdymkowatych należących do rodziny *Tetraodontidae*. Zasadniczo obowiązuje zakaz spożywania ryb trujących z następujących rodzin: *Tetraodontidae*, *Molidae*, *Diodontidae*, *Canthigasteridae* (Rozporządzenie Komisji (WE) 1020/2008). Jednak potrawy fugu mogą być przygotowywane wyłącznie przez najlepszych i najbardziej doświadczonych kucharzy i to po uprzednim gruntownym przeszkoleniu u największych mistrzów; trzewia tych ryb zawierają silną truciznę - tetradotoksynę; kilka miligramów tej substancji wywołuje paraliż układu nerwowego, co zwykle kończy się śmiercią po 15 minutach. Jako ciekawostkę można dodać, że tej samej trucizny używają kapłani voodoo do przyrządzenia wywaru, dla „zombie”. Potrawy z fugu są właściwie dostępne tylko w Japonii i Korei a cena 1 porcji wynosi ok. 100 \$ (Kanoh i in. 1984; Tan 2002).

Coraz częściej zdarza się, że nieuczciwi producenci fałszują deklarowany skład produktu. Robią to w celu osiągnięcia większych zysków. Zdarza się, że towar deklarowany jako tuńczyk jest zastępowany przez tańszy surowiec „bonito” (sarda), krewetki wolnożyjące zastępowane są hodowlanymi, mięso z zębacza czerwonego zastępowane jest mięsem z zębacza smugowego, Koryfena - złocicą, włócznika - rekinem ostronosym, dorsza - czarniakiem i itd. (Lin i Hwang 2008a; Lin i Hwang 2008b). Nawet doświadczony inspektor bez pomocy dobrze wyposażonych laboratoriów diagnostycznych nie jest w stanie zidentyfikować pochodzenia gatunkowego produktów rybnych typu: filet, kostka rybna, paluszki rybne, mięso mielone z ryb czy burgery rybne (Learson 1970; Hardy i in. 2011; Lago i in. 2014). Zmiana składu bardzo często jest nie do rozpoznania przez konsumenta, a działa na jego niekorzyść (Learson 1970; Lundstrom 1979; Lago i in. 2014).

Obecnie do identyfikacji gatunkowości, stosowane są różne metody które można usystematyzować jako: organoleptyczne, serologiczne, immunoenzymatyczne, elektroforetyczne, chromatograficzne oraz techniki molekularne z użyciem łańcuchowej reakcji polimerazy. W większości przypadków prosta podmiana gatunkowa np. zastąpienie mięsa gatunku droższego mięsem tańszym nie stanowi bezpośredniego zagrożenia dla życia. Jednak w niektórych przypadkach, podmiany mogą być niebezpieczne dla zdrowia konsumentów. Przykładem jest kostropak (*Ruvettus pretiosus*) (z ang. oilfish), w którym obecne są woski nietrawione przez człowieka, często sprzedawany jako ryba maślana (z ang. butterfish).

Obecnie do identyfikacji przynależności gatunkowej ryb stosowane są różne metody, które można usystematyzować jako: organoleptyczne, serologiczne, immunoenzymatyczne, elektroforetyczne, chromatograficzne oraz techniki molekularne z użyciem łańcuchowej reakcji polimerazy (PCR).

Metody organoleptyczne:

Badaniem podstawowym wykonywanym w celu określenia przynależności gatunkowej ryb i produktów rybnych jest badanie organoleptyczne. W trakcie tego badania zwraca się uwagę na budowę anatomiczną, kształt filetów, barwę tkanki mięśniowej i jej zapach, teksturę, budowę łusek, ości etc. Wystarczy jednak, by produkt został poddany obróbce, a określenie gatunku staje się utrudnione lub niemożliwe. Wadą badania organoleptycznego jest również jego subiektywność.

Metody serologiczne:

W latach 50. ubiegłego stulecia do określenia gatunkowości zaczęto stosować testy serologiczne oparte na reakcji antygen – przeciwciało. Wadą metod serologicznych jest występowanie reakcji krzyżowych pomiędzy blisko spokrewnionymi gatunkami.

Metody immunoenzymatyczne – test ELISA:

Test ELISA należy do metod immunoenzymatycznych. Test ten wykorzystywany jest do wykrywania antygenów (mioglobiny) w badanym materiale. Test ELISA jest przeprowadzany na mikropłytkach ze studzienkami. Powierzchnię studzienek opłaszczą się gatunkowo specyficznymi przeciwciałami skierowanymi przeciwko termostabilnym białkom tkanki mięśniowej. Następnie do studzienek wprowadzana jest badana próbka. W czasie inkubacji zawarte w próbce antygeny zostają związane z przeciwciałami. Po wypłukaniu nadmiaru antygeny, do studzienek wprowadza się specyficzne przeciwciała monoklonalne znakowane enzymem, skierowane przeciwko specyficznym gatunkowo termostabilnym białkom mięśni. W czasie kolejnej inkubacji przeciwciała te wiążą się z antygenem. Po kolejnym płukaniu do studzienek dodaje się substrat. W wyniku reakcji enzymatycznej substrat jest rozkładany i pojawia się zabarwienie sygnalizujące obecność badanego białka. Zmiana barwy jest podstawą identyfikacji gatunkowości produktu. Odczyt wyniku badania możliwy jest za pomocą spektrofotometru (czytnika do testów ELISA) lub optycznie na podstawie zmiany zabarwienia. Wadą testu ELISA jest możliwość wystąpienia reakcji krzyżowych w przypadku blisko spokrewnionych gatunków.

Metody chromatograficzne:

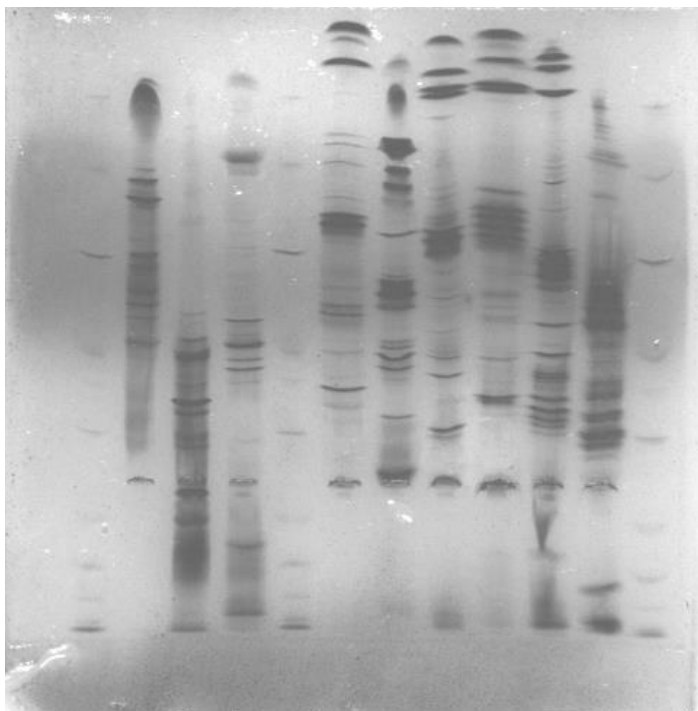
Chromatografia jest techniką analityczną służącą do rozdzielania i badania składu mieszanin związków chemicznych. Zasady chromatografii zostały opracowane na początku XX w. przez Michaiła Cwieta. Zasadą chromatografii jest rozdział mieszaniny na poszczególne składniki, a następnie detekcja tych składników. Rozdział substancji następuje w wyniku przepuszczenia roztworu badanej mieszaniny przez fazę rozdzielczą (złożę) lub ekstrakcję. W identyfikacji gatunków najczęściej stosowana jest wysokosprawna chromatografia cieczowa (HPLC – High Performance Liquid Chromatography) z zastosowaniem różnych detektorów. Przy użyciu HPLC identyfikacji gatunkowości mięsa lub produktów dokonuje się na podstawie oznaczenia obecności termostabilnych peptydów.

Metody elektroforetyczne:

Do badania gatunkowości znalazły zastosowanie również metody elektroforetyczne. Przy użyciu metod elektroforetycznych oznacza się masę cząsteczkową białek lub wartość ich punktu izoelektrycznego. Najczęściej do identyfikacji gatunków stosuje się ogniskowanie izoelektryczne (IEF).

Metoda IEF polega na rozdzieleniu białek w żelu ze względu na wartość ich punktu izoelektrycznego. Białka poszczególnych gatunków zwierząt mogą mieć podobną masę cząsteczkową, zbudowane są jednak z różnych aminokwasów. Nawet w przypadku blisko spokrewnionych gatunków, sekwencja aminokwasów w podobnych funkcyjnie białkach może być różna. W takim przypadku różna będzie też prezentacja grup COO⁻ i NH⁺. Ogniskowanie izoelektryczne zachodzi w żelach poliakrylamidowych nasączonych amfolitami. Pod wpływem prądu obecne w żelu amfolity zostają uporządkowane i tworzą gradient pH, który zmienia się w sposób ciągły. Wartość pH żelu jest najwyższa przy katodzie a najniższa przy anodzie. Po ustaleniu gradientu pH na żel nanoszone są próbki. Rozdział elektroforetyczny zachodzi pod wpływem działania prądu o niewielkim natężeniu (utrzymuje liniowe przemieszczanie się białek). Białka wykazują cechy amfoteryczne tzn. w zależności od pH środowiska w jakim się znajdują mogą być słabymi kwasami lub zasadami. Dzięki tej właściwości migrują w polu elektrycznym w kierunku pH przeciwnego ich ładunkowi. W trakcie przemieszczania się w żelu docierają do granicy pH, w którym białka stają się obojętne elektrycznie i przestają się przemieszczać. Białka przestają migrować w żelu w chwili, gdy znajdą się w miejscu, w którym pH buforu jest równe pI białka. Po zakończeniu elektroforezy żele są barwione i poddawane analizie. Analiza rozdziałów elektroforetycznych możliwa jest w oparciu o porównanie położenia prążków białkowych z rozdziałem wzorca. Wzorcami są białka o znanym pI lub wzorzec gatunku. Analizę żeli można wykonać za pomocą densytometru i odpowiedniego oprogramowania komputerowego. Zastosowanie tej techniki pozwala na zróżnicowanie białek określanych innymi technikami jako homogeniczne. Zaletą metody jest wysoka zdolność rozdzielczą, wadą zaś brak możliwości badania białek zdenaturowanych.

W chwili obecnej różne metody mają zastosowanie do identyfikacji gatunkowości, jedną z metod stosowanych w Państwowym Instytucie Weterynaryjnym jest izoogniskowanie (IEF) białek w gradiencie pH (Różycki i in. 2018). Przykład zastosowania izoogniskowania do różnicowania gatunków ryb przedstawiono na fotografii poniżej.



Fot. 2. Obraz w żelu 3-9 IEF białek różnych gatunków ryb. Kolejno od lewej: standard pI, dorsz, makrela, śledź, standard pI, sum, szczupak, karaś, karp, tolpyga, pstrąg, standard pI (fot.M. Różycki).

Materiał do badań metodą IEF stanowią próbki tkanki mięśniowej ryb o masie 5g, które następnie poddaje się homogenizacji z 5 ml wody w homogenizatorze obrotowym Politron 3000 przy 10000 obr./min przez 5 min./ chłodzenie lodem/. Homogenat należy oczyścić przez wirowanie w wirówce szybkoobrotowej typu Beckman 12 000 obr./min przez 10 min w temperaturze 4° C. Uzyskany supernatant nanosi się na żele aplikatorami grzebieniowymi o pojemności 1 µl i poddaje elektroforezie. Rozdziały elektroforetyczne wykonuje się w aparacie PhastSystem na żelach PhastGel IEF pH 3-9. Zastosowanie mają zwykle gotowe żele poliakrylamidowe (5% T, 3% C) nasączone Pharmalyte (jako nośnik amfolitów - kopolimerów glicyny, glicyloglicyny i epichlorohydryny) o gradiencie pH 3-9. Rozdziały elektroforetyczne prowadzone są dwuetapowo. W pierwszym etapie elektroforezy ustala się gradient pH, przy następujących parametrach 2000V, 2,5mA, 3,5 W 15⁰C, 75AVh. Po ustaleniu gradientu na żele nanoszone są próbki i kontynuuje się rozdziały przy 2000V, 3mA, 4 W, 15⁰ C, 410AVh. Po zakończeniu elektroforezy żele barwi się barwnikiem R-250 i podaje analizie. Analiza rozdziałów elektroforetycznych polega na porównaniu położenia prążków białkowych z rozdziałem wzorca (fot.3). Wzorcami mogą być białka o znanym pI lub wzorce białka mięśniowych danego gatunku.

4.2. Identyfikacja gatunku ryb w produktach rybnych na podstawie analizy DNA

Anna Wąs - Barcz

Identyfikacja gatunku na podstawie DNA związana jest bezpośrednio z ideą Barkodingu, która ukształtowała się stosunkowo niedawno, w pierwszych latach XXI wieku. W 2003 roku w Kanadzie w Instytucie Bioróżnorodności Uniwersytetu Guelph, Paul Hebert opracował założenia systemu pozwalającego na ustalanie gatunku organizmu poprzez identyfikowanie bardzo krótkich fragmentów genomu (sekwencji DNA). Mechanizm działania barkodingu można porównać z odczytywaniem „kodu paskowego DNA”, czyli odczytywaniem kolejności poszczególnych nukleotydów we wskazanych fragmentach genów. Kolejność ta jest charakterystyczna dla poszczególnych gatunków. Standardowo analizy barkodingu skupiają się na DNA mitochondrialnym (mtDNA). Powodem tego jest znacznie wyższy poziom zróżnicowania genetycznego sekwencji DNA mitochondrialnego w stosunku do jądrowego (nDNA). Atutem jest również możliwość łatwiejszej izolacji materiału genetycznego, gdyż mtDNA występuje w większej ilości kopi w komórce w porównaniu z jedną kopią DNA jądrowego. Ponadto kuliste formy mtDNA są bardziej odporne na procesy degradacji, co jest kluczowym punktem w przypadku analizy prób archiwalnych lub materiałów przetworzonych (np. przetworzone produkty spożywcze). Analizowane fragmenty genów muszą charakteryzować się odpowiednio wysoką zmiennością, by możliwe było odróżnianie poszczególnych gatunków. Jednak muszą jednocześnie zawierać rejony wysoce konserwatywne (niezmienione w toku ewolucji), identyczne dla wszystkich analizowanych grup. Tego wymagają podstawowe techniki analityczne w ramach, których stosowane są kilkunasto- lub kilkudziesięcionukleotydowe startery reakcji (startery uniwersalne), zapoczątkowujące syntezę łańcucha kwasu nukleinowego (DNA). W przypadku organizmów zwierzęcych ustaloną, analizowaną sekwencją jest gen kodujący I podjednostkę oksydazy cytochromowej (COI, *coxI*) o długości 648 par zasad (Hebert i in. 2003a; Hebert i in. 2003b). W nielicznych sytuacjach, kiedy podobieństwo między spokrewnionymi gatunkami bywa bardzo wysokie, dodatkowo można stosować inne sekwencje np. genu cytochrom B (*CytB*) lub sekwencje genu kodującego podjednostkę rybosomalną (16S rRNA).

Do identyfikacji gatunkowej wykorzystywane są różne techniki molekularne, podstawę stanowi jednak polimerazowa reakcja łańcuchowa (PCR). Polega ona na powielaniu (amplifikacji) w wielu kopiach wyznaczonej (okolonej starterami reakcji)

sekwencji DNA, w wyniku następujących po sobie kolejno etapach 1. przyłączania się starterów nukleotydowych do jednoniciowej matrycy DNA, 2. syntezy oczekiwanego fragmentu DNA (dwuniciowa struktura) i 3. denaturacji powstałej sekwencji dwuniciowej do struktury jednoniciowej. Zgodnie z założeniami barkodingu, fragmenty łańcucha DNA do których przyłączają się startery reakcji muszą być identyczne lub bardzo podobne u grup gatunków, które chcemy analizować (startery uniwersalne). Natomiast fragment DNA okolony starterami powinien charakteryzować się maksymalnie dużą zmiennością międzygatunkową. Zamplifikowane fragmenty DNA poddawane są następnie sekwencjonowaniu, czyli odczytaniu kolejności poszczególnych nukleotydów w analizowanym fragmencie łańcucha DNA. Finalnie uzyskiwane sekwencje porównywane są z zasobami w bazach danych, gdzie gromadzone są wzorcowe sekwencje dla analizowanych dotąd gatunków. Utworzeniem takich baz (<http://boldsystems.org> - ponad 261 tys. gatunków) zajęło się ustanowione w 2004 roku Consortium for the Barcode of Life (CBOL) (Mirek i in. 2007). Prace realizowane w tym zakresie prowadzone są w ramach jednej z pięciu funkcjonujących grup roboczych - Database Working Group. Podjęte przez konsorcjum działania prowadzone są na poziomie międzynarodowym. Powszechnie dostępne są również zasoby Banku Genów, nad którymi nadzór prowadzi National Center for Biotechnology Information (NCBI <https://www.ncbi.nlm.nih.gov>). Procedury związane z rutynową identyfikacją produktów spożywczych pod kątem przynależności gatunkowej wymagają maksymalnego ograniczenia w zakresie czasochłonności oraz kosztów analizy. Nie zawsze istnieje potrzeba dokładnej identyfikacji gatunku – wystarczy potwierdzenie lub wykluczenie występowania ustalonego gatunku lub określenie grupy (Rodziny/Family lub Rodzaju/Genus) danego gatunku. Ponadto czasami w składzie niektórych produktów deklarowane są mieszanki różnych gatunków, których udział procentowy należy ustalić. Z tego względu procedury barkodingu są modyfikowane i zastępowane innymi technikami np.: rozdziałem produktów PCR na żelach/nośnikach o wysokiej rozdzielczości do 1-2 pary zasad (Bottero i in. 2003), ilościową reakcją łańcuchową polimerazy – qPCR (Demirhan i in. 2012) czy pyrosekwencjonowaniem (De Battisti i in. 2014), a klasyczny gen COI zastępowany najczęściej CytB lub 16S rRNA. W ramach projektu SeaQual w MIR-PIB i w A&A Biotechnology opracowano procedury i metodykę potwierdzania autentyczności produktów rybnych zgodnie z deklarowanym surowcem. Metodyka identyfikacji gatunku produktów rybnych była prowadzona w oparciu o przygotowany protokół pyrosekwencjonowania 5 komercyjnych, najczęściej

mylonych/podmienianych gatunków ryb dorszowatych (rodzina Gadidae: dorsz atlantycki - *Gadus morhua*, czarniak - *Pollachius virens*, rdzawiec - *Pollachius pollachius*, plamiak - *Melanogrammus aeglefinus*, witlinek - *Merlangius merlangus*). Uwzględniając rejony wykazujące całkowite podobieństwo (rejony konsensusowe) i rejony o dużym zróżnicowaniu (bogate w jednonukleotydowe różnice), zaprojektowano układ starterów do polimerazowej reakcji łańcuchowej (PCR)

(DorszFor2: 5'GGAGGCTTTGGGAACTGACTCATTC-3',

DorszRevBiot: 5'[Btm]CCCCAGCATGAGCGAGGTTTC-3')

i do pyrosekwencjonowania (DorszDiagF: 5'TTAGCATCATCTGGTGTAG AAG-3')

dla fragmentu genu COI.

Ustalono również warunki prowadzenia tych reakcji (Tabela 11, 12).

Tabela 12. Skład mieszaniny reakcyjnej do reakcji PCR

PCR Mix Plus HGC (A7A Biotechnology)	12,5 µl
starter DorszFor2 10uM	0,5 µl
starter DorszRevBiot 10uM	0,5 µl
matryca DNA	10 ng
woda	uzupełnić do 25 µl

Tabela 13. Profil temperaturowo-czasowy do reakcyjnej do reakcji PCR.

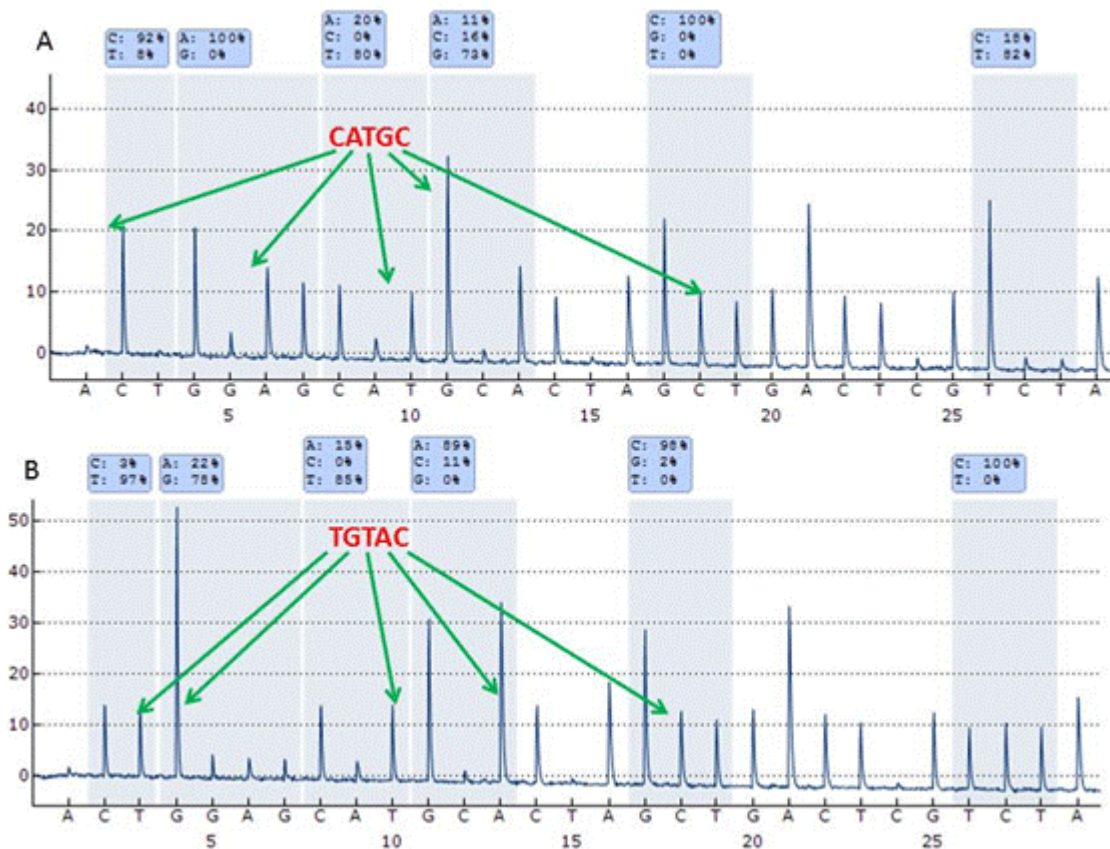
94° C	3 min	
94° C	15 s	X 35 cykli
60° C	30 s	
72° C	30 s	
4° C		

Reakcja PCR obejmowała fragment o długości 195 par zasad, który następnie objęty był pyrosekwencjonowaniem w obrębie 28 nukleotydów (kolejność dozowania nukleotydów: GCTGGAGCATGCACTAGCTGTACATCGTCATA). Ustalając warunki analizy typu AQ Assay (w ramach pyrosekwencjonowania) przeprowadzono proces jej walidacji by wykazać brak interakcji między starterami reakcji PCR, starterem sekwencyjnym i mieszaniną reakcyjną PCR. Opracowane procedury i metodyka pozwalają w szybki sposób zidentyfikować gatunek świeżych i przetworzonych produktów żywnościowych dla

wymienionych gatunków ryb dorszowatych na podstawie mutacji punktowej w analizowanej sekwencji DNA (Tabela 14, Rysunek 34).

Tabela 14. Charakterystyczne gatunkowo mutacje punktowe w poddanej pyrosekwencjonowaniu 28 nukleotydowej sekwencji genu COI.

gatunek	mutacje punktowe
dorsz atlantycki <i>Gadus morhua</i>	TGTAC
czarniak <i>Pollachius virens</i>	CATGC
rdzawiec <i>Pollachius pollachius</i>	CAAGG
plamiak <i>Melanogrammus aeglefinus</i>	TATTT
witlinek <i>Merlangius merlangus</i>	CACGT



Rys. 34. Pyrogramy czarniaka (A) i dorsza atlantyckiego (B), sekwencja zaznaczone kolorem czerwonym opowiadają mutacjom punktowym w analizowanym fragmencie genu COI czarniaka i dorsza atlantyckiego, pozwalającym identyfikować i rozróżniać analizowane gatunki.

Skuteczność opracowanej metody identyfikacji gatunku przy użyciu pyrosekwencjonowania walidowano ustalając przynależność gatunkową produktów spożywczych deklarowanych, jako produkty z dorsza (*Gadus morhua*) i czarniaka (*Pollachius virens*). Weryfikacji poddano mrożone produkty dorsza atlantyckiego i bałtyckiego oraz czarniaka (5, 3 i 10 paczek odpowiednio) jak również wątróbki i pasztety z dorsza (12 i 1 puszek odpowiednio). Łącznie przeprowadzono analizę pyrosekwencjonowania dla 68 próbek. We wszystkich przypadkach potwierdzono zgodność produktu z deklarowanym surowcem.

Rozmiar ryb:

Drugim czynnikiem, który ma wpływ na ocenę wartości ryb jest ich rozmiar. Ryby większe tego samego gatunku z reguły uzyskują wyższą cenę. Sytuacja ta jest jeszcze bardziej wyraźna w przypadku krewetek, krabów, homarów czy porcji wycinanych z dużych ryb takich gatunków jak halibut (do 316 kg), łosoś (do 46 kg) lub węgorz (do 9 kg) (Ferber i in. 2017). Większe ryby są bardziej pożądane przez konsumentów ze względów estetycznych i kulinarnych. Większy rozmiar ryb zawsze jest związany z wiekiem ryby i nagromadzeniem niebiałkowych związków azotowych m.in. tlenu trójmetyloaminy (TMAO), nadającym potrawom specyficzny smak i zapach. U ryb poławianych w rejonach arktycznych zawartość TMAO w tkance mięśniowej jest większa. Ryby młode zawierają mniej TMAO niż dorosłe. Zimą zawartość TMAO w mięśniach jest ok. 2-krotnie większa niż latem. Po odłowieniu TMAO ulega redukcji (pod wpływem enzymów endogennych lub bakteryjnych) do trójmetyloaminy (TMA) - odpowiedzialnej za zapach rybi. Z punktu widzenia technologii większy rozmiar ryb oznacza większy udział części jadalnych, mniejsze straty, niższy jednostkowy koszt obróbki a cena końcowa jest z reguły wyższa. Z drugiej jednak strony producent czy sprzedawca może mieć kłopot ze zbyciem dużych okazów pstrągów, łososi, małż czy też ostryg. Spowodowane to może być zbyt wysoką ceną jednostkową, jaką konsument musi za nie zapłacić. W przetwórstwie maszyny filetujące lub tnące są przystosowane do obróbki ryb o najczęściej spotykanych wymiarach. Wydajność tego typu maszyn w dużej mierze zależy od prawidłowego sortowania, doboru łowiska i rodzaju sieci.

Płeć:

Płeć w przypadku ryb również odgrywa rolę przy ocenie jakości. Z reguły samce ryb są większe i bardziej pożądane w przetwórstwie, lecz nie zawsze. W przypadku konserw otrzymanych z samic gromadnika (*Mallotus villosus*) różnią się one całkowicie od konserw otrzymanych z samców, są bardziej smakowite i uzyskują wyższą cenę rynkową (Ings i in. 1997).

Kondycja i podstawowy skład chemiczny ryb:

Kolejnym czynnikiem odgrywającym istotną rolę w przypadku oceny ryb jest ich kondycja i skład. Ryby ulegają sezonowym zmianom składu chemicznego. W pewnych okresach ryby mają mniejszą zawartość tłuszczu a mięso ich staje się wodniste, zmniejsza się ilość białka. Ryby takie są przez fachowców oceniane jako ryby „po sezonie” lub ryby w słabej kondycji. Ryby w słabej kondycji źle się przechowują i sprzedają, nie nadają się do przetwórstwa i często powodują obniżenie jakości produktu finalnego. Słaba kondycja ryb jest wynikiem ich stadium fizjologicznego.

Tuż przed okresem tarła rezerwy energetyczne zgromadzone w wątrobie i mięśniach ryb zostają uruchomione i wykorzystane do rozwoju gonad. Zdarza się, że ryby przed rozpoczęciem tarła a także bezpośrednio po ukończeniu tarła nie odżywiają się.

Mięso ryb białych w słabej kondycji po ugotowaniu jest miękkie, wodniste i ciągliwe. W ekstremalnych przypadkach u takich gatunków ryb jak halibut (*Hipoglossus hipoglossus*) czy sola (*Solea solea*) zmiany składu białkowego prowadzą do galaretowatości mięsa, które w tym stanie jest całkowicie nieprzydatne do spożycia.

Gdy ryby zaczynają się ponownie odżywiać ich masa i skład powracają do normy. Najwyraźniejszej zmiany składu chemicznego występują u ryb pelagicznych takich jak sardynki, szproty, śledzie czy makrele. Wahania zawartości tłuszczu wśród ryb tych gatunków są wyjątkowo duże. Zawartość tłuszczu w mięsie tych gatunków może ulegać zmianom od 1% do 25% masy ciała. Najniższy poziom tłuszczu jest obserwowany w okresie tarła lub bezpośrednio po nim, a najwyższy pod koniec sezonu odżywiania. Zawartość tłuszczu ma ogromne znaczenie zarówno dla przetwórstwa jak i dla konsumentów. Większa zawartość tłuszczu jest oczekiwana przez producentów konserw, wpływa ona na smakowitość produktu otrzymanego z ryb tłustych. Jednak nie zawsze wyższa zawartość tłuszczu wpływa pozytywnie na jakość produktu np. w przypadku konserw wyprodukowanych ze szprotów o zbyt dużej zawartości tłuszczu, duża ilość wydzielonego w wycieku termicznym tłuszczu obniża jakość produktu. W czasie intensywnego żerowania, tłuszcz w dużych ilościach, bardzo szybko

odkłada się tuż pod skórą ryb. Ryby o takiej kondycji nie nadają się do marynowania. Również w czasie mrożenia ryby o zbyt dużej zawartości tłuszczu są bardziej podatne na uszkodzenia. Ryby o słabej kondycji cechują się znacznie obniżoną trwałością i szybkim spadkiem jakości w czasie lodowania. Zjawisko to związane jest prawdopodobnie z podwyższeniem pH tkanki ryb i obniżoną zawartością glikogenu. Bakterie powodujące psucie ryb są bardziej aktywne w środowisku o wyższym pH (Tarr 1954; Gennari i in. 1981; Hashimoto 2017). Istnieją jeszcze inne czynniki wpływające na potrzebę tego typu kontroli, bowiem utrata wartości ryb w późniejszym procesie mrożenia w przypadku ryb tłustych jak sardynki, czy śledzie, jest wyższa niż w przypadku ryb chudych.

4.3. Zagrożenia biologiczne

Mirosław Różycki, Maciej Kochanowski, Ewa Bilka - Zajac, Jacek Karamon, Katarzyna Grądziel - Krukowska, Tomasz Cencek,

Pasożyty:

Kolejnym kryterium określającym jakość ryb jest obecność pasożytów. Przed przystąpieniem do przetwarzania oraz w czasie przetwarzania surowce i produkty rybne powinny być poddawane oględzinom celem wykluczenia następujących pasożytów:

- a) larwy przywr patogennych a zwłaszcza *Opisthorchis felineus* i *O. viverrini*,
- b) larwy tasiemców z rodzaju *Diphyllobothrium*,
- c) larwy nicieni z rodzaju *Anisakis*, *Contracaecum*, *Pseudoterranova*,
- d) cysty sporowca *Kudoa* sp.,
- e) przywry z rodzaju *Didimozonidae*, *Gyrodactylus*,
- f) larwy nicieni *Philometroides*,
- g) larwy tasiemców z rodziny *Tetrarhynchidae*,
- h) pasożytnicze skorupiaki.

Pasożyty wywodzą się z wielu grup systematycznych bezkręgowców. Obok form wolnożyjących istnieje wiele pasożytów wśród pierwotniaków, skorupiaków i nicieni. Istnieją całe grupy systematyczne złożone wyłącznie z pasożytów. Należą do nich przywry, tasiemce, kolcogłowy a z pierwotniaków sporowce. Ryby są szczególnie podatne na zarażenie pasożytami ze względu na środowisko w jakim żyją. Środowisko wodne jest szczególnie sprzyjające rozwojowi pasożytów. Według obliczeń niemieckiego badacza Arndta w Środkowej Europie żyje około 40 000 gatunków zwierząt, z czego 10 000 gatunków, czyli

25% to pasożyty (Arnd i in. 1980). W środowisku wodnym stosunek gatunków wolnożyjących do pasożytniczych kształtuje się jeszcze bardziej na korzyść pasożytów. W wodach śródlądowych i przybrzeżnych morskich Środkowej Europy żyje około 6000 gatunków zwierząt z tego 3900 stanowią pasożyty, czyli jest ich ponad 56%.



Fot. 3. Pasożyty zewnętrzne *Trifur tortuosus* (fot. Z. Socha).

W tym znajdują się gatunki patogenne dla ludzi. Pierwotniaki stanowią najliczniejszą grupę pasożytów ryb. Niektóre gatunki w warunkach hodowli stawowej są groźnym czynnikiem powodującym masowe wymieranie ryb lub obniżenie ich jakości. W przetwórstwie ryb morskich najczęściej spotykanymi pierwotniakami pasożytniczymi występującymi w mięsie i narządach jadalnych ryb są gatunki *Cocidiomorpha* i *Cnidosporidia*. Gatunki z rodzaju *Eimeria* należą do najważniejszych pasożytów ryb. Występują wewnątrz komórek żywiciela w różnych jego narządach jak gonady, wątroba, pęcherz pławny, jelito. Pasożyty te są często spotykane w jądrami ryb śledziowatych (śledź, szprot, sardynka) (Monstad 1989). Zaatakowane ryby mają gonady barwy szarej o guzowatej powierzchni. Zmiany najczęściej obserwowane są wiosną i dotyczą niekiedy 80% populacji śledzi. Pasożyty te nie są szkodliwe dla ludzi, lecz mogą powodować zanieczyszczenie filetów sporami do tego stopnia, że mogą stać się

przyczyną ich ograniczonej przydatności do spożycia, przykładem jest "paprykarz szczeciński" produkowany w latach 80. ubiegłego stulecia przez Gryf Szczecin z błękitka falklandzkiego (*Micromesistius poutassou*). Obecne w mięśniach ryb cysty sporowców z rodzaju *Kudoa* sp. powodują niskie zainteresowanie konsumentów rybami. Pasożyty *Kudoa* sp. bytują w mięśniach ryb, obecność ich w tkankach żywej ryby powoduje nekrozę tkanek okalających cystę (Whitaker i Kabata 1987). Zmiany wywołane są przez enzymy wydzielane przez cysty *Kudoa* sp.. Enzymy te powodują lizę tkanki mięśniowej ryb (Whipps i Diggles 2006). W przypadku ryb chłodzonych lodem zmiany te widoczne są już po kilku godzinach. Filety, które nawet początkowo nie wykazywały zmian wywołanych przez *Kudoa* sp., po dłuższym okresie składowania ich w stanie zamrożonym po rozmrożeniu rozpadają się.

Nie bez znaczenia w ocenie ryb odgrywają płazińce z rodzaju *Tetrarhynchidae*. Larwy tych tasiemców często występują w mięśniach ryb. Gatunkiem najczęściej atakowanym przez te pasożyty jest mintaj. Obecność larw tych tasiemców niejednokrotnie powoduje dyskwalifikację produktów pochodzących z mintaja. Mięśnie ryb zarażonych, bardzo często mają konsystencję luźną, co niejednokrotnie jest przyczyną ich dyskwalifikacji. Obecność pasożytów oraz zmiany wywołane przez nie budzą wstręt u konsumentów i często stają się przyczyną dyskwalifikacji produktu.

Badanie parazytologiczne selekcja i unieszkodliwienie patogennych pasożytów oraz taki sposób postępowania, który ma na celu zabezpieczenie przed zarażeniem jest praktyką stosowaną zarówno na statkach jak i w portowych laboratoriach weterynaryjnych. Pomimo tych zabiegów wciąż zdarzają się przypadki zarażenia pasożytami. W Polsce badania w kierunku obecności patogennych dla ludzi pasożytów w mięśniach ryb przeprowadza się w oparciu o wytyczne zawarte w wycofanej już normie „Ryby i inne zwierzęta wodne świeże i mrożone -- Oznaczanie zapasożycenia i kryteria oceny” (PN-A-86733). Norma ta powstała na bazie zarządzeń Dyrektora Zjednoczenia Gospodarki Rybnej z lat 70 ubiegłego wieku. W normie tej brak jest jednak kompleksowego i jednoznacznego omówienia metod badania i interpretacji uzyskanych wyników, przewiduje ona jednak szerszy zakres badań niż Rozporządzenie (WE) nr 853/2004 Parlamentu Europejskiego i Rady z dnia 29 kwietnia 2004 r. oraz Rozporządzenie Komisji (WE) nr 1441/2007 z dnia 5 grudnia 2007 r. zmieniające Rozporządzenie Komisji (WE) nr 2073/2005 w sprawie kryteriów mikrobiologicznych dotyczących środków spożywczych.

Dla wielu pasożytów człowiek i inne zwierzęta stałocieplne są żywicielami ostatecznymi. W Polsce stosunkowo rzadko występują zarażenia pasożytnicze wywołane przez

Pasożyty ryb. Dzieje się tak z powodu naszych zwyczajów kulinarnych - rzadko jada się rybę na surowo. Zagrożenie istnieje w przypadku spożywania potraw z ryb przygotowanych zgodnie z tradycjami kuchni ludów Dalekiego Wschodu (ryby surowe) (Weir 2005). Istnieje cała dziedzina nauki zajmująca się patologiami wywołanymi przez zwyczaje kulinarne. Nauka ta nosi nazwę opsopatologii. Przewiduje się, że spożycie ryb będzie wzrastać, a więc wzrastać będzie również możliwość zarażenia człowieka pasożytami przenoszonymi przez ryby (Wiwanitkit 2012).

Tasiemce niebezpieczne dla człowieka należą do rzędu *Pseudophyllidea* rodziny *Diphylobotridae*. Największym spośród tasiemców atakujących człowieka jest bruzdogłowiec szeroki (*Diphylobotrium latum*) (Waloch 2011; Durrani i Blazar 2019). Tasiemiec ten umiejscawia się w jelicie cienkim człowieka osiągając niejednokrotnie długość do 12 m. Żywicielami pośrednimi dla tego tasiemca są ryby słodkowodne, takie jak szczupak, okoń, łosoś, troć, węgorz oraz ryby zamieszkujące wody słonawe (Zalew Wiślany) (Waloch 2011). Stadium larwalne tasiemca umiejscawia się w ciele ryby w gonadach i mięśniach. Plerocerkoid jest kształtu robakowatego, jego rozmiar wynosi ok. 30 mm, w części głowowej wyraźnie zaznaczone są bruzdy. Na zdjęciu poniżej przedstawiono plerocerkoidy *Diphylobotrium* wyizolowane z mięśni ryb.

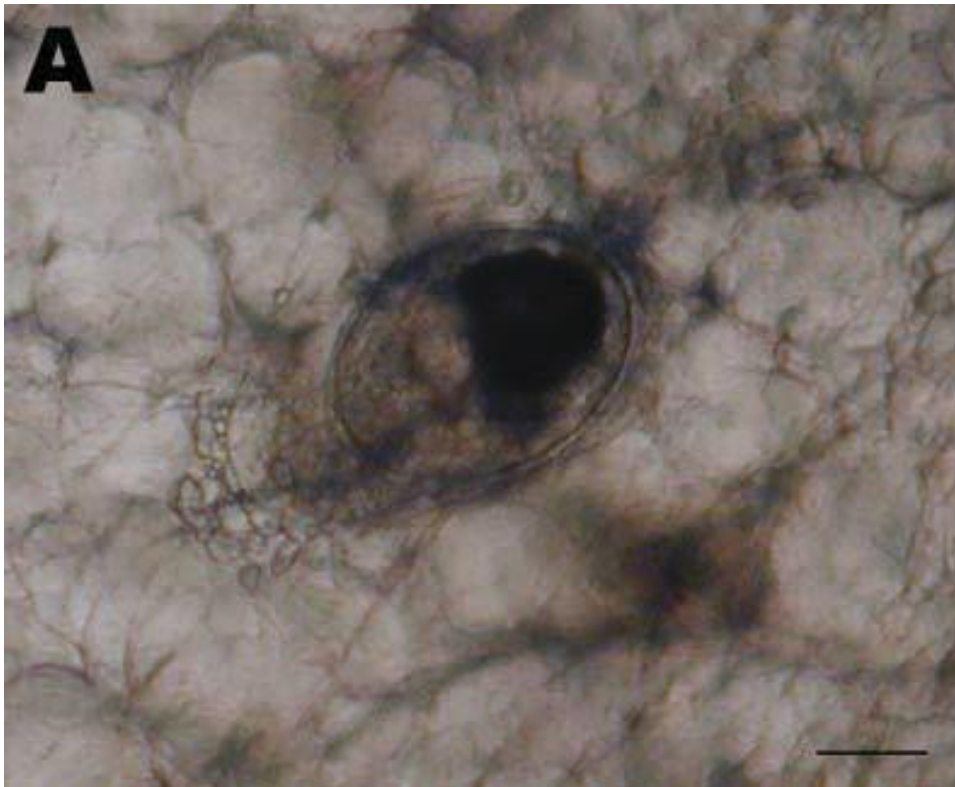


Fot. 4. Plerocerkoidy *Diphylobotrium* (fot. T. Awakura).

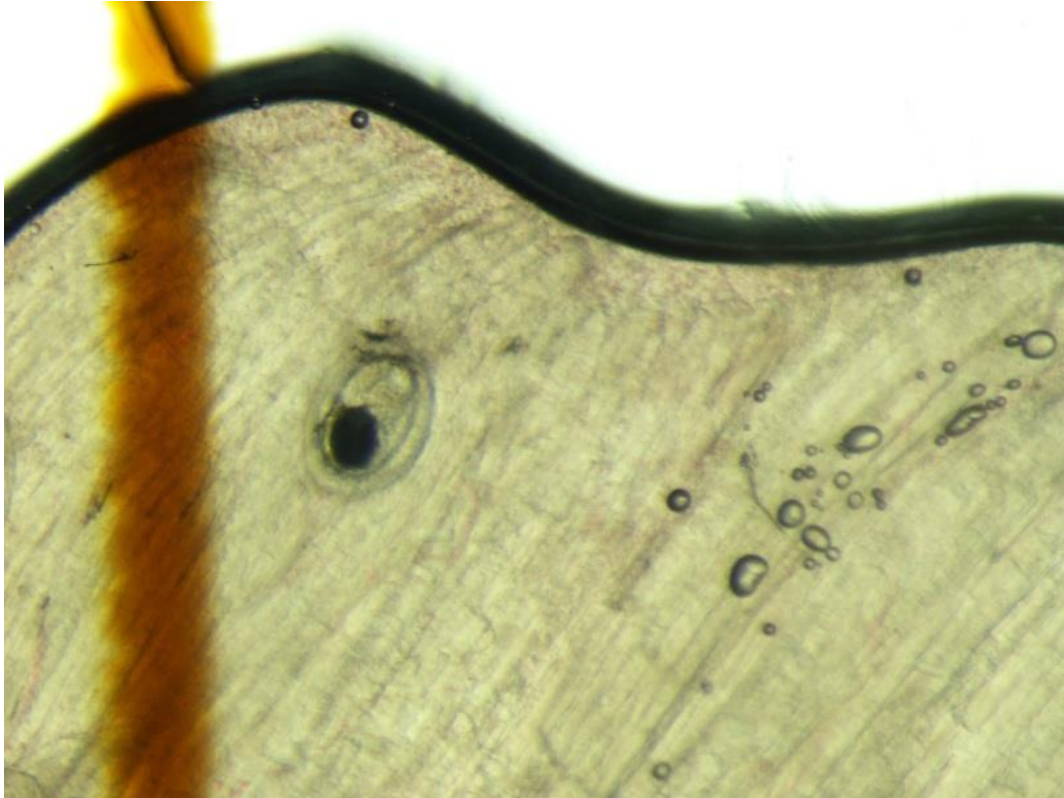
Inwazje bruzdogłowca szerokiego w Polsce notowane są stosunkowo rzadko. Ogniska endemiczne tego tasiemca to okolice Petersburga, Karelia, Finlandia, delta Dunaju, jeziora

Szwajcarii, Syberia, oraz w USA okolice Wielkich Jezior. W Polsce Warmia i Mazury są terenami, gdzie zdarzają się zarażenia wywołane tym tasiemcem. Zarażenia następują najczęściej wśród ludności rybackiej spożywającej przyrządzony domowym sposobem kawior z ikry szczupaka i innych ryb. Objawy chorobowe pojawiają się w ok. 10 dni po spożyciu surowych ryb lub produktów rybnych. Dominują objawy ze strony przewodu pokarmowego, bóle skurczowe przewodu pokarmowego z naprzemiennymi biegunkami. Diagnostyka opiera się na badaniu koproskopowym - sedymentacja i oglądanie pod mikroskopem. Objawy chorobowe to anemia, wychudzenie i awitaminoza B₁₂.

Innym zagrożeniem są choroby wywoływane przez przywry digenetyczne. Według danych WHO przeszło 40 gatunków przywr należących do 11 rodzajów zagraża człowiekowi za pośrednictwem ryb (WHO 2017). Najbardziej rozpowszechnionym gatunkiem przywr jest przywra kocia *Opisthorchis felineus*. Przywra ta występuje na terenie Europy i Azji (Reploh i Bender 1966). W ostatnich latach obserwowano masowe zarażenie na terenie Włoch po spożyciu carpaccio z lina (Pozio i in. 2013). Żywicielem pośrednim jest ślimak *Bithynia leychi* oraz ryby karpowate: płóc, lin, jaź, leszcz, wzdręga, karp. W mięśniach ryb karpowatych osiedlają się incystowane metacerkarie wyglądające jak czarne punkciki.



Fot. 5. Metacerkarie *Opisthorchis felineus* w tkance mięśniowej lina (*Tinca tinca*) z jeziora Bosena (środkowe Włochy region Lacio) (fot. E. Pozio).



Fot. 6. Metacerkarie *Opisthorchis felineus* w tkance mięśniowej lina (*Tinca tinca*) z jeziora Bosena (środkowe Włochy region Lacio) w kompresorze powiększenie 40x (fot. E. Pozio).

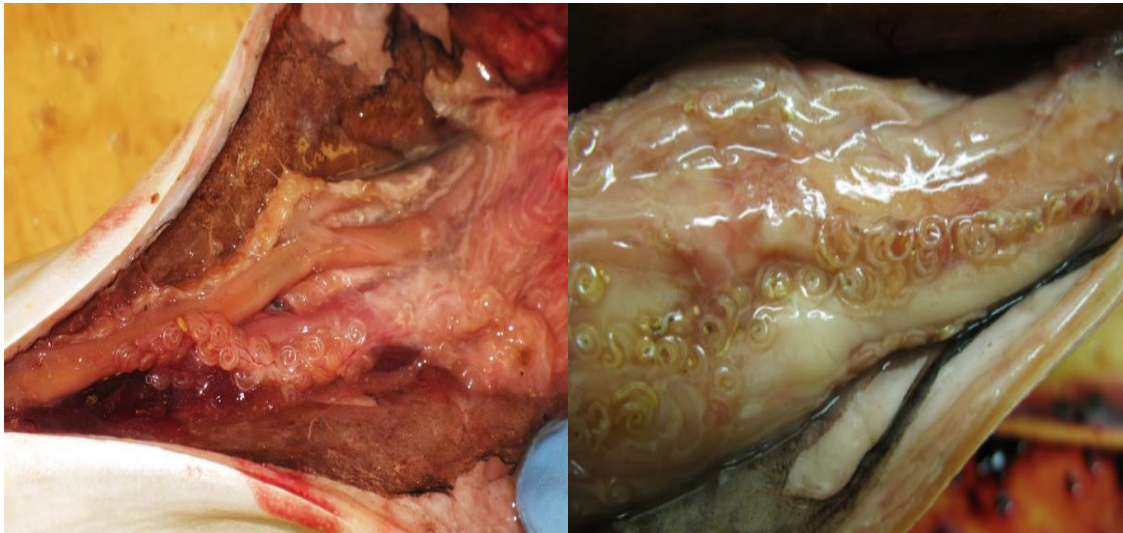
Ludzie zarażają się wskutek spożycia mięśni ryb zawierających żywe metacerkarie przywr. U ludzi przywry te rozwijają się w drogach żółciowych, powodując zaburzenia w wydzielaniu enzymów wątrobowych oraz niejednokrotnie doprowadzając do marskości wątroby (Kovshirina i in. 2019). Na terenie Europy endemiczne występowanie przywry kociej stwierdzono w okolicach rzek: Dunaj, Dniestr, Dniepr, Don, Wołga, w Azji Ob i Irtysz. Na terenie Polski w okolicach Zalewu Wiślanego i Olsztyna. Metacekarie przywry kociej są odporne na działanie niskiej temperatury, -10°C zabija je dopiero po 10 dniach składowania w tej temperaturze. Temperatura $+70^{\circ}\text{C}$ zabija je po 8 minutach. W przypadku przywry kociej brak jest skutecznego leczenia, jedynym sposobem zapobiegania wystąpieniu tej choroby jest prawidłowo prowadzona profilaktyka. Nie należy spożywać ryb surowych, półsurowych, suszonych, lub lekko solonych.

Nicienie patogenne:

Podstawowe informacje dotyczące nicieni z rodzaju *Anisakis*, zagrożeń związanych ze spożyciem mięsa ryb zawierających żywe larwy, metod inaktywacji oraz podstaw prawnych dotyczących występowania tych pasożytów u ryb.

Nicienie są typem zwierząt bezkręgowych, z których większość prowadzi pasożytniczy tryb życia. Do najbardziej inwazyjnych dla człowieka należą nicienie z rodzaju *Anisakis*, *Pseudoterranova* i *Contracaecum*. Spośród wyżej wymienionych na szczególną uwagę zasługują larwy *Anisakis simplex*, które ze względu na częste występowanie w tuszach śledzi bywają nazywane robakami śledziowymi. Pasożyty te należą do rodziny Anisakidae. Najnowsze badania wykazały istnienie populacji gatunków bliźniaczych *A. simplex* i *A. pegreffii*. Postacie dojrzałe płciowo mają długość 20 - 70 mm, średnicę 1 mm, barwę białą lub jasno kremową. Samce są nieco mniejsze od samic. Ciało larw pokryte jest poprzecznie prążkowaną kutikulą. Cykl rozwojowy *A. simplex* jest złożony. Nicienie te pasożytują najczęściej u ssaków morskich, ryb morskich i skorupiaków. Ich żywicielami ostatecznymi są najczęściej delfiny białonose, butlonosy, wale, białuchy, morświny i płetwale karłowate. W ostatnich latach obserwuje się zwiększenie występowania pasożytów w odławianych rybach. Prawdopodobnie przyczyną tego jest wzrost populacji ssaków morskich. Zapłodnione jaja zostają złożone przez samicę do przewodu pokarmowego żywiciela ostatecznego i wraz z jego kałem dostają się do wody, gdzie w temperaturze 5 - 7°C po 20 - 27 dniach wylęgają się larwy I stadium otoczone pochwą oskórkową i zdolne do pływania. Dalszy rozwój wymaga żywiciela pośredniego, którym są skorupiaki morskie. Po wykluciu się pierwszej formy larwalnej - stadium L1, dochodzi do wylinek, które prowadzą do powstania form L2 oraz L3. Pasożyt w stadium L3 jest zdolny do zarażenia żywiciela ostatecznego. W cyklu rozwojowym *A. simplex* mogą występować także żywiele parateniczni u których nie dochodzi do zmiany stadium rozwojowego pasożyta, np. ryby lub głowonogi spożywające zarażone skorupiaki. W ich organizmach larwa w stadium L3 umiejscawia się głównie pod otrzewną, pod torebką wątroby czy też między gonadami.

Po odłowieniu ryb, jeśli nie zostaną one od razu wytrzewione, larwy migrują z jamy ciała do mięśni, gdzie ich obecność stwarza ryzyko zarażenia się człowieka (Toro i in. 2004). Badanie wzrokowe jamy ciała ryby, polega na oglądaniu powierzchni jamy ciała oraz narządów zwłaszcza wątroby i gonad. Jest to badanie nieniszczące, ale zastosowanie badania wzrokowego jest niezwykle trudne w przypadku badania ryb o ciemnej tkance mięśniowej oraz nieprzydatne w stosunku do mocno przetworzonych produktów rybnych.



Fot. 7. Zdjęcia przedstawiają liczne larwy L3 *A. simplex* w jamie ciała makreli atlantyckiej (fot. M. Kochanowski)

Zarażenie pasożytnicze człowieka wywołane przypadkowym spożyciem larw nicieni należących do rodziny Anisakidae określane jest mianem anisakidozy (lub anisakiozy, w odniesieniu do larw z rodzaju *Anisakis*). Czynnikiem etiologicznym są najczęściej larwy *A. simplex* i *A. pegreffii* (Audicana i Kennedy 2008; Mattiucci i in. 2013). Larwy z rodzaju *Contracaecum* i *Pseudoterranova* stanowią również zagrożenie dla zdrowia konsumentów lecz przypadki zarażenia ludzi notowano rzadziej niż w przypadku *Anisakis* spp.

Po raz pierwszy schorzenie wywołane przez patogenne nicienie - anisakioza zostało opisane przez Leuckarta na Grenlandii w 1876 r. Bliższe informacje na jego temat pochodzą z lat 60. ubiegłego stulecia, z publikacji Van Thiel (Van Thiel 1960; Van Thiel 1967). W Holandii doszło wówczas do masowych zarażeń spowodowanych spożyciem lekko solonych śledzi, co było przyczyną wystąpienia 154 przypadków tej choroby. Anisakioza najczęściej występuje w regionach, gdzie tradycyjnie spożywa się ryby surowe. Z ponad 20 000 opisanych przypadków 90% miało miejsce w Japonii, gdzie każdego roku notuje się około 2000 zachorowań. W Europie najwięcej zarażeń *A. simplex* stwierdza się w Hiszpanii, Holandii i Niemczech. Najczęściej powodem wystąpienia choroby jest konsumpcja zarażonych łososi, dorszy, śledzi, tuńczyków, makreli, sardynek i soli (Adley 2006). Biorąc pod uwagę wzrost zainteresowania potrawami zawierającymi surowe mięso ryb, takimi jak sushi, maki-sushi, sashimi, kamambuko, cebiche, boquerones, holenderskie solone i wędzone śledzie itp., trzeba liczyć się z tym, że ryzyko wystąpienia choroby wzrośnie również w innych rejonach Europy, w tym w Polsce. Do zarażenia *A. simplex* dochodzi, gdy obecne w tkance mięśniowej

ryb żywe larwy w stadium L3 zostaną spożyte przez człowieka. Po dostaniu się do przewodu pokarmowego człowieka larwy L3 mogą powodować rozwój choroby – anisakiozy. W zależności od lokalizacji rozróżnia się różne postacie choroby: żołądkową, jelitową, gardłową oraz zlokalizowaną poza przewodem pokarmowym. Do najważniejszych należą anisakioza żołądkowa i jelitowa, w przebiegu, których błonę śluzową tych narządów uszkadzają wnikające w nią larwy. Odbywa się w wyniku działania enzymów proteolitycznych wydzielanych przez gruczoły grzbietowe i komórki wydzielnicze larw *A. simplex* (proces ten może trwać od 4 h do 6 dni). W tym czasie antygeny wydzielnicze, powierzchniowe i somatyczne pasożyta oraz wnikające w ścianę przewodu pokarmowego larwy powodują reakcje ze strony układu immunologicznego zrażonego człowieka. Indukuje to powstanie obrzęku, a nawet martwicy ściany narządu oraz ziarniniaków eozynofilnych w miejscu wniknięcia larwy. W Japonii większość przypadków dotyczy anisakiozy żołądkowej, podczas gdy w Europie postać jelitowa jest najpowszechniejsza. Typowe objawy zarażenia ujawniają się już po kilku godzinach od spożycia ryby z larwami *A. simplex*. Kliniczne objawy anisakiozy u ludzi zależą głównie od miejsca lokalizacji larw *A. simplex*. W postaci pokarmowej (żołądkowej lub jelitowej) anisakioza objawia się najczęściej w fazie ostrej: nudnościami, bólami brzucha, wymiotami, biegunką i podwyższoną temperaturą ciała. W sprzyjających warunkach larwy penetrują błonę śluzową przewodu pokarmowego lokalizując się następnie w trzustce, wątrobie, śledzionie lub płucach. Mogą one również przekształcać się w ścianie jelita lub żołądka do stadium L4. Najczęściej jednak wnikają do błony śluzowej żołądka lub jelit, gdzie w obrazie endoskopowym stwierdza się zwinięte pasożyty, a dookoła nich nacieczenie komórek eozynofilnych. Larwy produkują czynnik, który uaktywnia białe krwinki, w wyniku czego dochodzi do zmian naciekowych w miejscu wniknięcia pasożyta, co często prowadzi do zmian ropowiczych, których usunięcie jest możliwe na drodze operacyjnej. Ocena rozległości zniszczeń najczęściej dokonywana jest podczas operacyjnego lub endoskopowego usunięcia larw. Obecność *A. simplex* w błonie śluzowej przewodu pokarmowego może doprowadzić do ostrego stanu zapalnego oraz ognisk martwiczych w miejscu ich wniknięcia. Pojawia się wówczas ryzyko perforacji ścian układu pokarmowego. Nieleczona anisakioza może przebiegać w postaci przewlekłej, wówczas występują objawy wrzodowe, które mogą trwać kilka miesięcy. Alergeny larwy L3 mogą powodować także reakcję nadwrażliwości zależną od przeciwciał IgE (najczęściej pokrzywka skórna, a także alergiczne zapalenie spojówek, astma oskrzelowa), łącznie z zagrażającym życiu wstrząsem anafilaktycznym. Należy podkreślić, że takie reakcje mogą wystąpić u ludzi uczulonych również w przypadku spożycia

przetworzonych już produktów rybnych (nawet produktów sterylizowanych), w których stwierdza się obecność białek pasożyta. Alergeny *A. simplex* uważane są obecnie za najpowszechniej występujące w żywności tzw. ukryte alergeny. Jak dotąd wyróżniono 12 alergenów *A. simplex* oraz kilkanaście nowych prawdopodobnych alergenów, lecz nie wszystkie zostały dobrze poznane i scharakteryzowane. Alergeny *Anisakis* wchodzi w skład antygeny wydalniczo-wydzielniczego, który jest wydzielany przede wszystkim podczas wnikania larwy w ścianę przewodu pokarmowego gospodarza (Ani s 1, Ani s 4, Ani s 5, Ani s 6, Ani s 7, Ani s 8, Ani s 9); antygeny kutikularnego (powierzchniowe) chroniące larwę przed enzymami trawiennymi; oraz antygeny somatycznego, który buduje strukturę larwy (Ani s 2, Ani s 3). Alergeny antygeny somatycznego i kutikularnego oddziałują na żywiciela podczas wnikania larw w ścianę przewodu pokarmowego. Ponadto stwierdza się je też w zanieczyszczonej żywności. Alergeny antygeny wydalniczo-wydzielniczego oddziałują zazwyczaj podczas wnikania larwy w tkanki żywiciela. Wśród alergenów można wyróżnić główne (Anis 1, Anis 2, Anis 3, Anis 7) – uczulające ponad 50% pacjentów oraz alergeny słabe (Anis 4, Anis 5, Anis 6, Anis 8, Anis 9, Anis 10) – uczulające mniej niż 50%. Z badań wynika, że alergeny antygeny wydalniczo-wydzielniczego charakteryzują się silniejszymi właściwościami alergennymi niż alergeny antygeny somatycznego, czy kutikularnego. Może to wynikać z wyższego stężenia alergenów w wyciągu antygeny wydzielniczo-wydalniczego lub z większej zdolności tego antygeny do wiązania specyficznych przeciwciał IgE. Ze względu na termostabilne właściwości niektórych alergenów *A. simplex* uważa się, że martwe larwy mogą powodować reakcje alergiczne. Reakcje na alergeny *Anisakis* nie są sprawdzane w standardowych testach uczuleniowych, dlatego sytuacje te mylnie rozpoznawane są jako uczulenie na mięso ryb. Nawet śladowe ilości czynnika alergizującego w spożywanym pokarmie mogą wywołać nadmierną odpowiedź immunologiczną (Andreu-Ballester i in. 2008). Co ciekawe, nie tylko konsumpcja ryb zawierających antygen pasożyta stanowi zagrożenie, ale też mięso zwierząt, karmionych mączkami rybnymi, zawierającymi alergen *A. simplex* może spowodować wystąpienie objawów uczuleniowych. Proces produkcji mączek rybnych powoduje, że znajdujące się tam larwy zamierają pod wpływem wysokich temperatur, jednakże czynnik alergizujący nie ulega inaktywacji. Ponadto fakt, iż jest on odporny na działanie enzymów trawiennych powoduje, że jest on nadal aktywny w tkankach zwierząt, które spożywały mączkę rybną. U ludzi niewrażliwych na antygen *A. simplex* spożycie ryb zawierających pasożyty może być bezobjawowe (Boye i Godefroy 2010). Opisano przypadki, gdzie podczas zabiegu endoskopowego bądź też operacji chirurgicznej, ze śluzówki żołądka

usuwane były przypadkowo wykryte larwy *A. simplex*. Interwencja medyczna jest wymagana w sytuacjach, które zagrażają zdrowiu lub życiu człowieka, przy wystąpieniu odczynów zapalnych i martwicy. Oprócz metody operacyjnej stosuje się również leczenie farmakologiczne. Lekami z wyboru są albendazol i mebendazol, jednak ich skuteczność jest kwestionowana (Asami i in. 1965; Carlin i in. 2018). Zapobieganie zarażeniom, podobnie jak w przypadku innych robaczyc, polega na wykluczeniu pasożytów z łańcucha żywnościowego lub na inaktywacji larw *A. simplex*. Jedynie spożywanie ryb poddanych odpowiedniej obróbce termicznej jest w stanie uchronić konsumenta od anisakidozy. Ryby i produkty rybne trafiające na rynek Polski oraz innych krajów Unii Europejskiej (UE) muszą spełniać wymagania bezpieczeństwa żywności. Zgodnie z prawodawstwem UE sposób postępowania z produktami rybołówstwa określają Rozporządzenie (WE) nr 854/2004 Parlamentu Europejskiego i Rady z dnia 29 kwietnia 2004 r. oraz Rozporządzenie Komisji (WE) nr 2074/2005. Powyższe przepisy dotyczą jednak tylko pasożytów widocznych.

Nie sposób zatem odnosić się do nich przy badaniu ryb na obecność pasożytów wewnętrznych, tym bardziej, iż nie jest możliwe przebadanie każdej ryby pojedynczo. Ocenę partii ryb lub produktów rybnych pod względem występowania pasożytów wewnętrznych wydaje się na podstawie badania próbki reprezentatywnej. Badanie przeprowadza się najczęściej oglądając tkanki mięśniowe ryb (filety) na podświetlanym blacie lub pod kompresorem z podświetleniem.

4.4. Wykrywanie i identyfikacja nicieni Anisakidae - metody niedestrukcyjne

Magdalena Podolska, Katarzyna Nadolna - Altn, Joanna Pawlak, Mirosław Różycki,
Agnieszka Pękala - Safińska

Kontrola wzrokowa - niedestrukcyjne badanie ryb lub produktów rybołówstwa za pomocą optycznych przyrządów powiększających lub bez nich, w dobrych warunkach oświetleniowych dla ludzkiego wzroku, w razie potrzeby obejmujące badanie pod światło.

Kontrola wzrokowa obejmuje jamy brzuszne, wątroby i ikry przeznaczone do spożycia przez ludzi. Powinna być przeprowadzona podczas produkcji przez wykwalifikowany personel.

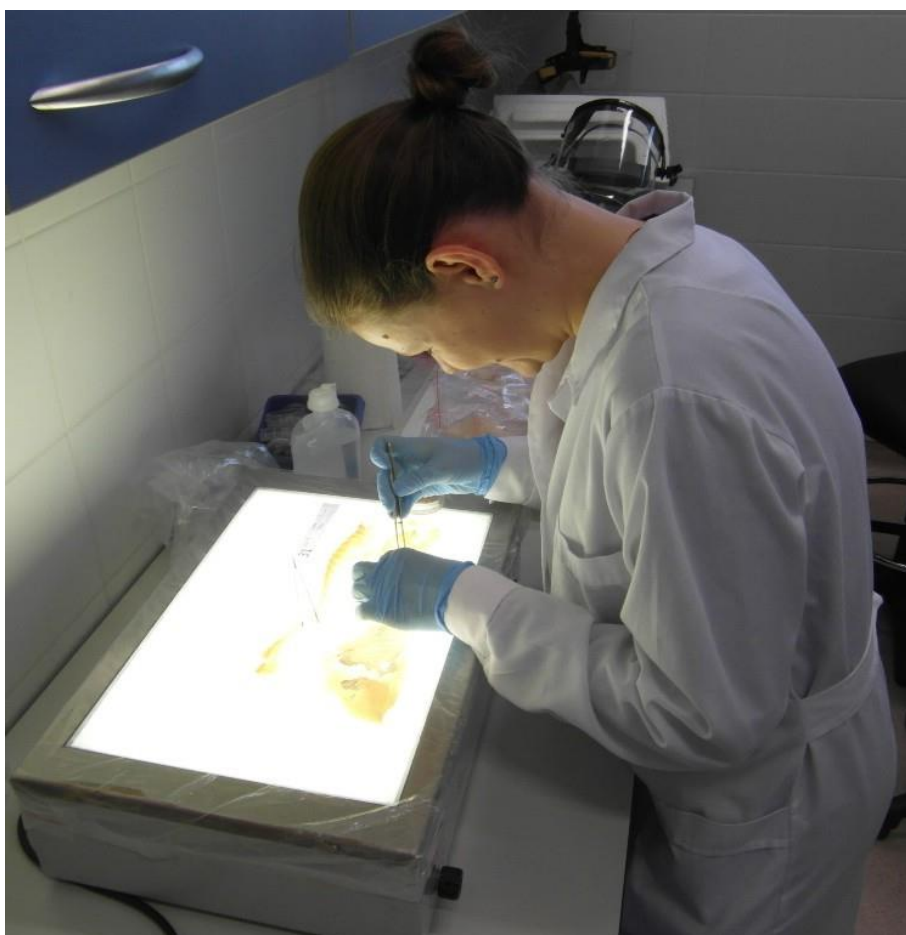


Fot. 8. Dorsz -wątroba (fot. K. Nadolna - Altyn)

Metoda kompresorowa pozwala wykryć w mięśniach badanych ryb obecność pasożytów takich jak cysty pierwotniaków, np. *Kudoa alliardii*, plerocerkoidy tasiemców, metacerkarie przywr, larwy nicieni oraz części pasożytniczych skorupiaków zagłębione w tkance mięśniowej. Ryby całe, patroszone, odgławiane, tusze, kawałki ryb poddaje się filetowaniu. Filety ze skórą odskórza się, w przypadku ryb z ciemną otrzewną należy usunąć błonę otrzewną. Próbkę o masie około 250 g każda, umieszcza się kolejno w kompresorze, a następnie dociska tak, aby odległość pomiędzy dwoma płytami szklanymi wynosiła w przybliżeniu 5 mm. Źródło światła umieszczone pod kompresorem powinno zapewnić natężenie oświetlenia w granicach 50 luksów. Przeglądając preparat szuka się pasożytów w próbce. Suma zliczonych pasożytów podzielona przez liczbę próbek daje średnią liczbę pasożytów w jednej próbce o masie 250 g. Uzyskany wynik wskazuje na stopień zarażenia.



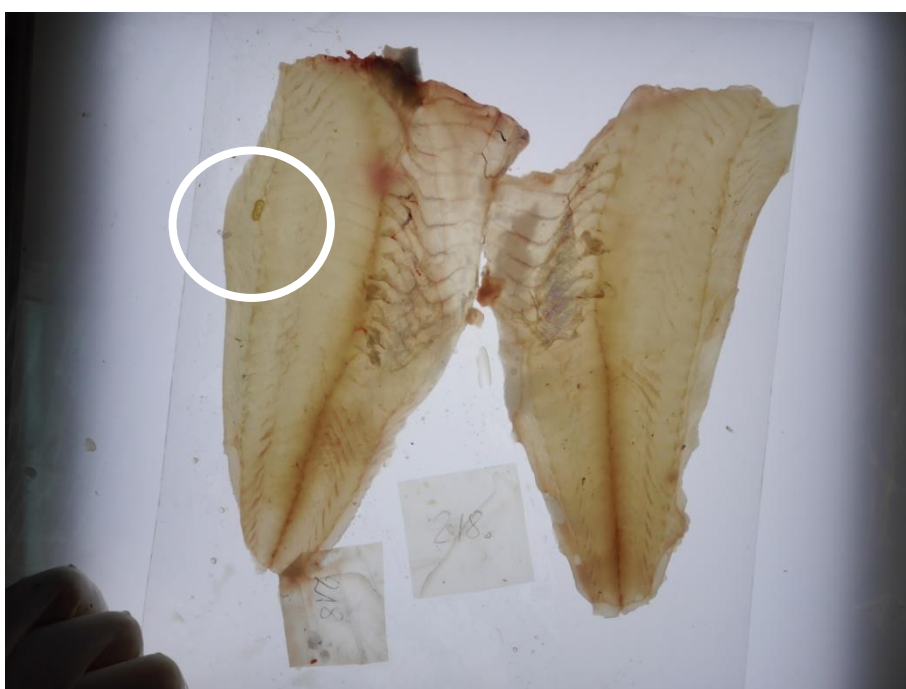
Fot. 9. Badanie tkanki mięśniowej ryb z użyciem podświetlanego kompresora badanie na statku (fot. K. Nadolna - Altn).



Fot. 10. Metoda kompresorowa z zastosowaniem podświetlenia (światło białe lub UV) (fot. K. Nadolna - Altn)



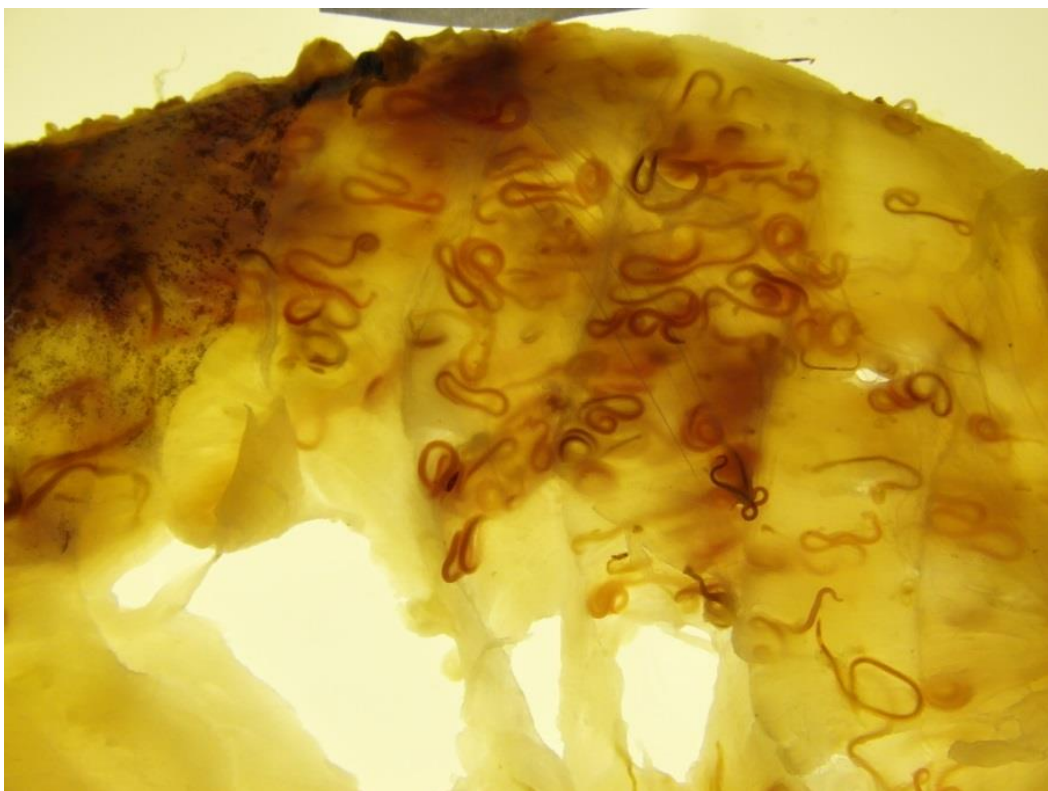
Fot. 11. Filet z dorsza na podświetlanym blacie larwa *Anisakis* sp. widoczna w tkance mięśniowej (fot. A. Pękala - Safińska).



Fot. 12. Filety z dorsza na podświetlanym blacie z widoczną larwą *Anisakis* sp. (fot. A. Pękala - Safińska).



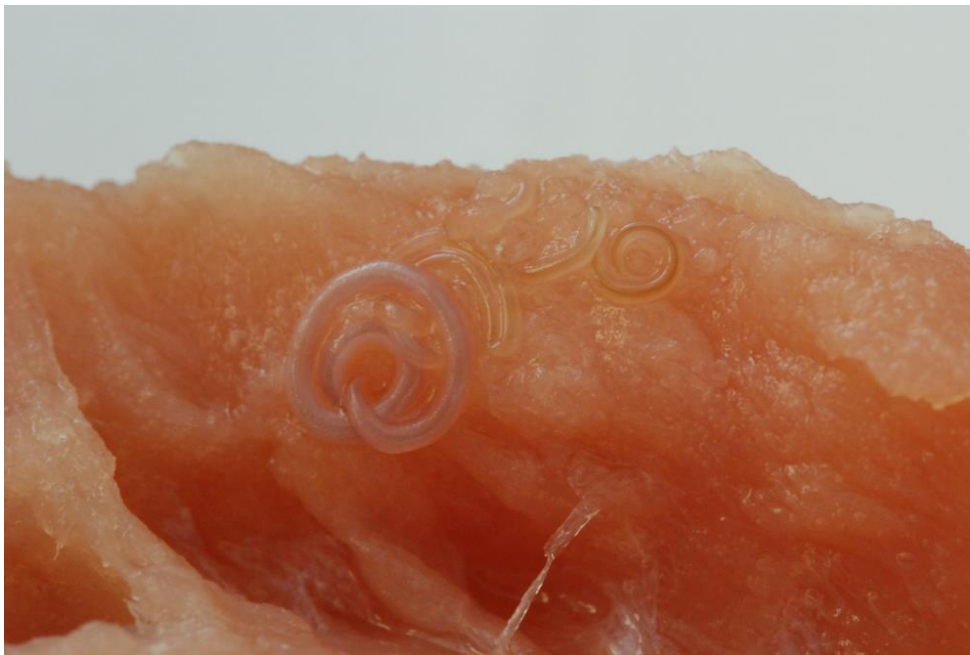
Fot. 13. Larwa nicienia w filecie z dorsza bałtyckiego (fot. M. Podolska)



Fot. 14. Skupisko nicieni w dorszu atlantyckim (fot. M. Podolska)



Fot. 15. Larwy nicieni wyizolowane z dorsza atlantyckiego (fot. M. Podolska)



Fot. 16. Skupisko larw nicieni w tkance mięśniowej łososia (fot. E. Bilaska - Zając).

Filety poddane mrożeniu można poddać badaniu z użyciem światła ultrafioletowego. W świetle tym martwe larwy emitują błękitną fluorescencję.



Fot. 17. Filet z dorsza - w świetle UV widoczna fluorescencja larwy *Anisakis* sp. (fot. M. Różycki).

Identyfikacja taksonomiczna:

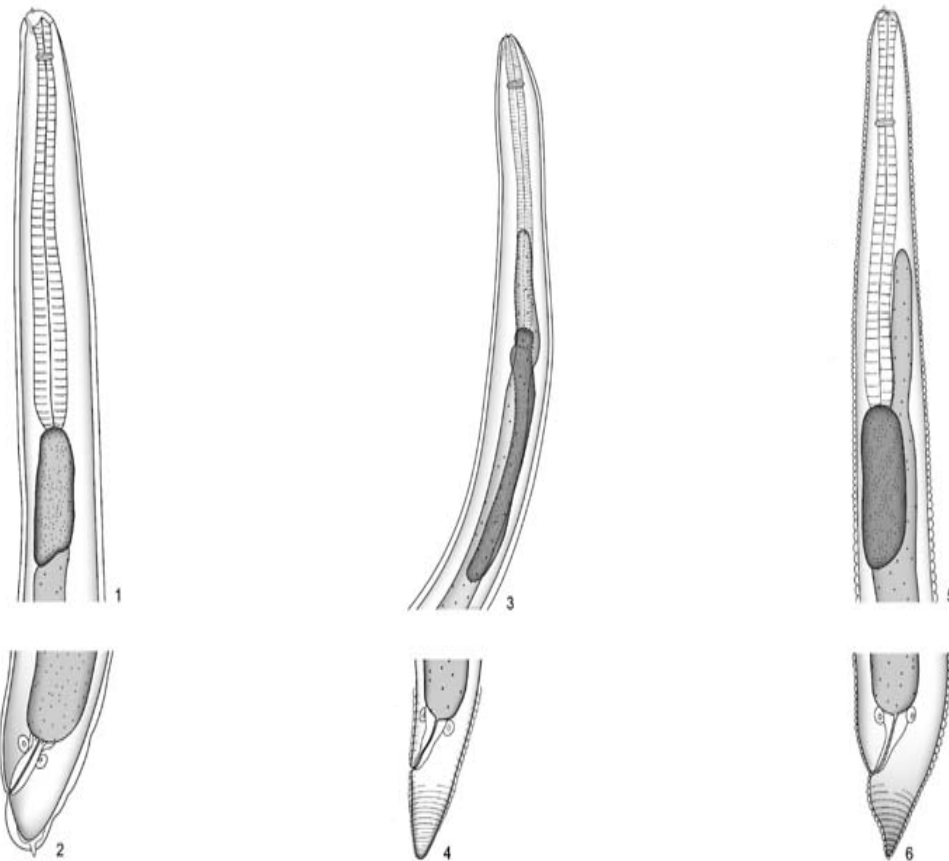
Na podstawie cech anatomicznych i morfologicznych możliwa jest identyfikacja nicieni Anisakidae do rodzaju (Berland 1961; Berland 1981; Fagerholm 1982).

W tabeli poniżej przedstawiono szybką metodę wstępnej identyfikacji pasożytów

Tabela 15. Prosta i szybka metoda wstępnej identyfikacji larw (L3) Anisakidae (do rodzaju) (fot. K. Nadolna - Altyn).

BARWA	KSZTAŁT	WIELKOŚĆ (mm)	RODZAJ	FOT.
biała, kremowa	spiralnie zwinięte, prosty „żołądeczek”	dł. 19-36 szer. 0.3-0.6	<i>Anisakis</i>	
żółto-brązowa, odcień czerwieni	grube, masywne, „żołądeczek” z jednym, krótkim wyrostkiem	dł. 25-50 szer. 0.3-1.2	<i>Pseudoterranova</i>	
żółta, beżowa, rudawa	drobne, cienkie, „żołądeczek” z dwoma wyrostkami	dł. 10-22 szer. 0.2-0.3	<i>Contracaecum</i>	

Dokładna identyfikacja jest możliwa przy zastosowaniu metod molekularnych.



Rys. 35. Schemat budowy nicieni Anisakidae (larwy III stadium): *Anisakis simplex* (1, 2); *Contracaecum osculatum* (3, 4); *Pseudoterranova decipiens* (5, 6).

4.5. Wykrywanie i identyfikacja nicieni Anisakidae - metody destrukcyjne

Mirosław Różycki, Ewa Bilaska - Zajac, Maciej Kochanowski, Katarzyna Grądziel - Krukowska, Jacek Karamon Tomasz Cencek,

Inną metodą stosowaną do badania w kierunku obecności nicieni jest wytrawianie tkanki mięśniowej ryb w sztucznym soku żołądkowym. Schemat postępowania oparty jest na zasadzie badania mięsa świń na obecność włośni. Próbkę reprezentatywną o masie 200 g poddaje się delikatnemu rozdrobnieniu bez użycia noży czy nożyczek, a następnie umieszcza się w zlewce z płynem trawiącym, złożonym z wody – 2 l, kwasu HCL 25% – 16 ml i pepsyny 2000 FIP – 10 g. Należy mieć na uwadze, że rozmieszczenie larw w tkance mięśniowej nie jest równomierne i większość larw występuje w płatach brzusznych. Zlewkę z płynem oraz próbkę umieszcza się na mieszadle magnetycznym, które ma utrzymywać delikatne mieszanie w granicach 200 - 300 obrotów oraz temperaturę płynu 40 - 44°C. Proces wytrawiania w tych

warunkach trwa od 0,30 - do 1h, w zależności od rodzaju i stopnia rozdrobnienia próbki. Po rozpuszczeniu tkanki mięśniowej płyn przelewa się przez sitko o średnicy oczek 180 μm , jeśli w tkance mięśniowej ryby znajdowały się larwy *A. simplex*, pozostają one na sitku. Badania walidacyjne wykazały, że metodą kompresorową wykrywa się około 50% pasożytów, natomiast metodą wytrawiania ponad 75%.



Fot. 18. Wytrawianie tkanki mięśniowej w sztucznym soku żołądkowym (fot. M. Różycki).

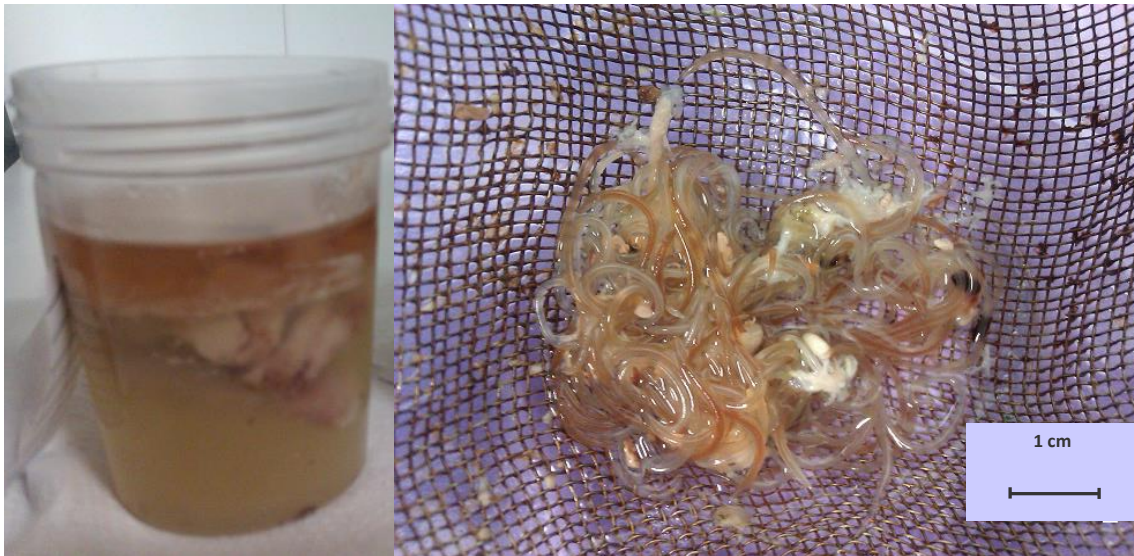


Fot. 19. Wytrawianie tkanki mięśniowej w sztucznym soku żołądkowym - przelewanie przez sitko (fot. M. Różycki).



Fot. 20. Larwy nicieni widoczne na sitku po procesie trawienia w sztucznym soku żołądkowym (fot. K. Grądział - Krukowska).

Nie tylko tkanka mięśniowa jest badana na obecność larw, czasem wykonuje się również badanie wątrób dorszowych na obecność pasożytów. Metodami z wyboru są tu metoda makroskopowa i metoda wytrawiania. Ze względu na specyfikę materiału badanie można przeprowadzić metodą trawienia w temperaturze pokojowej pozostawiając zalane sztucznym sokiem żołądkowym wątroby na noc.



Fot. 21. Wytrawianie wątrób dorsza w sztucznym soku żołądkowym bez użycia mieszadła magnetycznego (fot. K. Nadolna - Altyn).

Materiał do badań stanowiły ryby pozyskane w czasie rejsów badawczych r/v Baltica w latach 2016-2017. W 2018 r. zakończono badania tkanki mięśniowej dorszy pozyskanych na łowiskach Zatoki Gdańskiej, Rynny Słupskiej, KołobrzESCO-Darłowski, Bornholmu Północnego i Południowego. Badania wykonano zgodnie z opracowanym schematem. W pierwszym etapie bezpośrednio po złowieniu ryby były poddane badaniu makroskopowemu, następnie ryby były filetowane. Filety poddano badaniu metodą prześwietlania. Przygotowane filety oznakowano i poddano zamrożeniu do dalszych badań. Po rozmrożeniu w laboratorium filety (prawy i lewy) zostały podzielone na części technologiczne a każdą część badano indywidualnie z kolejno wykonując: oglądanie w świetle przechodzącym - prześwietlania z kompresją, prześwietlania z kompresją w świetle UV oraz trawieniu w sztucznym soku żołądkowym. Pozyskane w trakcie badania pasożyty zostały zidentyfikowane na podstawie cech morfologicznych.

Wyniki badań przedstawiono w tabeli poniżej.

Tabela 16. Wyniki badania ryb różnymi metodami.

Badanie makroskopowe/badane na statku			
Łowisko	Liczba zbadanych ryb	Liczba ryb zarażonych	% zarażonych ryb
Rynna Słupska	236	5	2,1
Kołobrzeg–Darłowo	203	4	2,0
Bornholm	231	9	3,9
Zatoka Gdańska	265	5	1,9
Razem	935	23	2,5
Prześwietlanie z kompresją/ badane w PIWet-PIB			
Łowisko	Liczba zbadanych ryb	Liczba ryb zarażonych	% zarażonych ryb
Rynna Słupska	236	6	2,5
Kołobrzeg–Darłowo	203	4	2,0
Bornholm	231	10	4,3
Zatoka Gdańska	265	5	1,9
Razem	935	25	2,7
Prześwietlanie UV / badane w PIWet-PIB			
Łowisko	Liczba zbadanych ryb	Liczba ryb zarażonych	% zarażonych ryb
Rynna Słupska	236	7	3,0
Kołobrzeg–Darłowo	203	4	2,0
Bornholm	231	12	5,2
Zatoka Gdańska	265	6	2,3
Razem	935	29	3,1
Badanie metodą wytrawiania wspomaganego mieszadłem magnetycznym/ badane w PIWet			
Łowisko	Liczba zbadanych ryb	Liczba ryb zarażonych	% zarażonych ryb
Rynna Słupska	236	7	3,0
Kołobrzeg–Darłowo	203	4	2,0
Bornholm	231	12	5,2
Zatoka Gdańska	265	5	1,9
Razem	935	28	3,0

Wyizolowane larwy zostały zabezpieczone i przekazane do Biobanku. W 2018 r zakończono prace związane z badaniami wątroby dorszowych na obecność pasożytów. Łącznie badaniu poddano 624 wątroby, pasożyty stwierdzono w 343 próbkach, co stanowi 54% wszystkich badanych prób. Liczba larw wahała się od 1 do 173. Średnia liczba larw w wątrobie wyniosła 7,7 a mediana 1. Wyizolowane larwy zostały zabezpieczone i przekazane do Biobanku.

Larwy nicieni pozyskane z filetów dorszy zostały poddane ekstrakcji DNA, a następnie identyfikacji gatunkowej metodą RFLP -PCR. Poddane badaniom larwy nicieni w większości dały specyficzne prążki, które zgodnie z zastosowaną metodyką RFLP zostały zidentyfikowane jako larwy *Anisakis spp.* a w 3 przypadkach jako *Pseudoterranova*. Produkty amplifikacji fragmentu ITS z poszczególnych larw poddano sekwencjonowaniu.

Porównanie uzyskanych sekwencji w bazie BLASTn wykazało, że DNA z analizowanych larw nicieni (zaklasyfikowanych na podstawie cech morfologicznych jako *Anisakis simplex*) charakteryzuje się 100% podobieństwem do *Anisakis simplex* s.s. W przypadku larw zidentyfikowanych na podstawie cech morfologicznych jako *Pseudoterranova decipiens* DNA wyizolowane z larw określonych wstępnie jako *Pseudoterranova decipiens* wykazało natomiast od 98-99,95 identyczność do referencyjnej sekwencji z bazy Gen Bank.

Z każdej próbki izolatów larw z wątrób dorszowych pobrano larwy do identyfikacji. Larwy pozyskane z wątrób dorszy w badaniu RFLP oraz sekwencjonowaniu zidentyfikowano jako larwy *Contracaecum osculatum*. Uzyskane sekwencje z wybranych próbek DNA larw porównano z referencyjnymi sekwencjami *Anisakis simplex*, *Pseudoterranova decipiens* i *Contracaecum osculatum* z bazy GenBank w programie Geneious R7 (fasta file/image). Analiza porównania wykazała 100% identyczność larw z wątrób dorszy do referencyjnych sekwencji z bazy Gen Bank *Contracaecum osculatum*.

4.6. Badania molekularne do identyfikacji gatunkowej nicieni

Beata Szostakowska A&A Biotechnology

W ramach projektu SeaQual w firmie A&A Biotechnology opracowany został zestaw do identyfikacji przedstawicieli nicieni z rodziny Anisakidae występujących w Bałtyku i Pn. Atlantyku:

- *Anisakis simplex*, *A. pegreffii*,
- *Pseudoterranova decipiens*, *P. krabbei*
- *Contracaecum osculatum*

oraz

- *Hysterothylacium aduncum* (gatunku pokrewnego, z rodziny Raphidascarididae (nadrodzina Ascaridoidea). Larwy nicieni tego gatunku, aczkolwiek nie stanowią zagrożenia dla zdrowia ludzi, są podobne morfologicznie i mogą znajdować się w mięśniach i trzewiach ryb morskich)

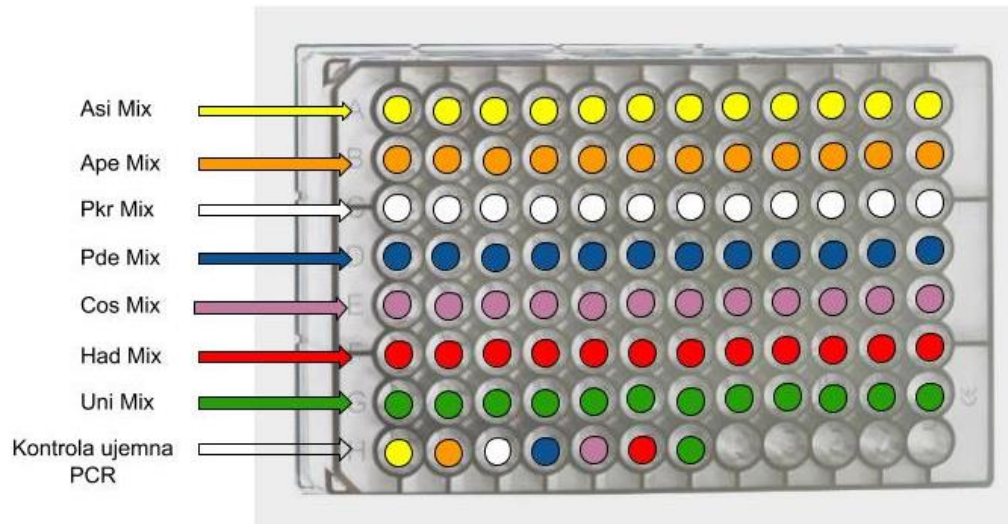
Zestaw (Anis Sensitive Sniper Real-Time PCR kit, nr kat 1027-120) służy do szybkiej identyfikacji gatunkowej tych nicieni w oparciu o wysoce specyficzną amplifikację fragmentu genomowego DNA z regionu ITS1/ITS2. Rekomendowane stężenie specyficznego DNA wynosi 20 ng.

Jest on przydatny zwłaszcza w przypadkach gdy spodziewana ilość specyficznego DNA jest mała, np. gdy nicienie przeznaczone do identyfikacji uzyskiwano z ryb uprzednio zamrożonych i po rozmrożeniu trawionych sztucznym sokiem żołądkowym, gdyż procedury te mogą uszkodzić DNA.

Zestaw zawiera gotowe do użytku mieszaniny reakcyjne PCR zawierające odpowiednie startery do identyfikacji każdego z wymienionych gatunków pasożytów:

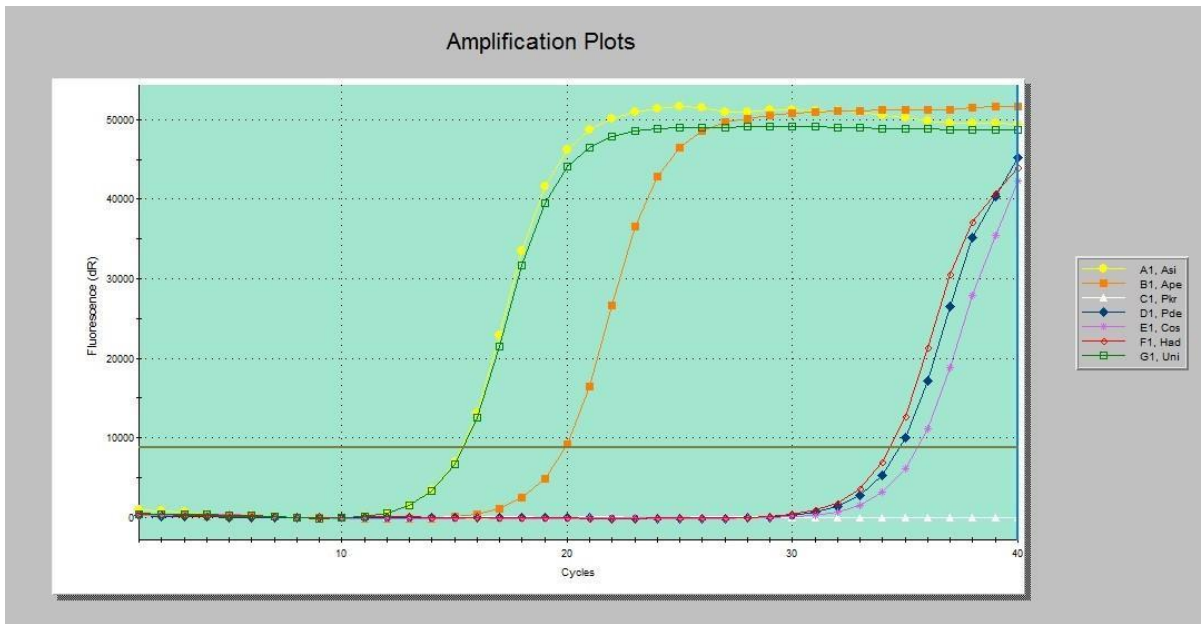
- Asi 2x Mix PCR * (mieszania do identyfikacji *Anisakis simplex*)
- Ape 2x Mix PCR * (mieszania do identyfikacji *A. pegreffii*)
- Pde 2x Mix PCR * (mieszania do identyfikacji *Pseudoterranova decipiens*)
- Pkr 2x Mix PCR* (mieszania do identyfikacji *P. krabbei*)
- Cos 2x Mix PCR * (mieszania do identyfikacji *Contracaecum osculatum*)
- Had 2x Mix PCR * (mieszania do identyfikacji *H. aduncum*)
- UNI 2x Mix PCR * (mieszanie do identyfikacji wszystkich Anisakidae)

W celu określenia gatunku pasożyta, z wyizolowanym DNA, wykonuje się równolegle 7 reakcji PCR (z każdą z powyższych mieszanin). Podczas jednego badania można wykonać jednocześnie identyfikację 12 nicieni (Rys. 36).

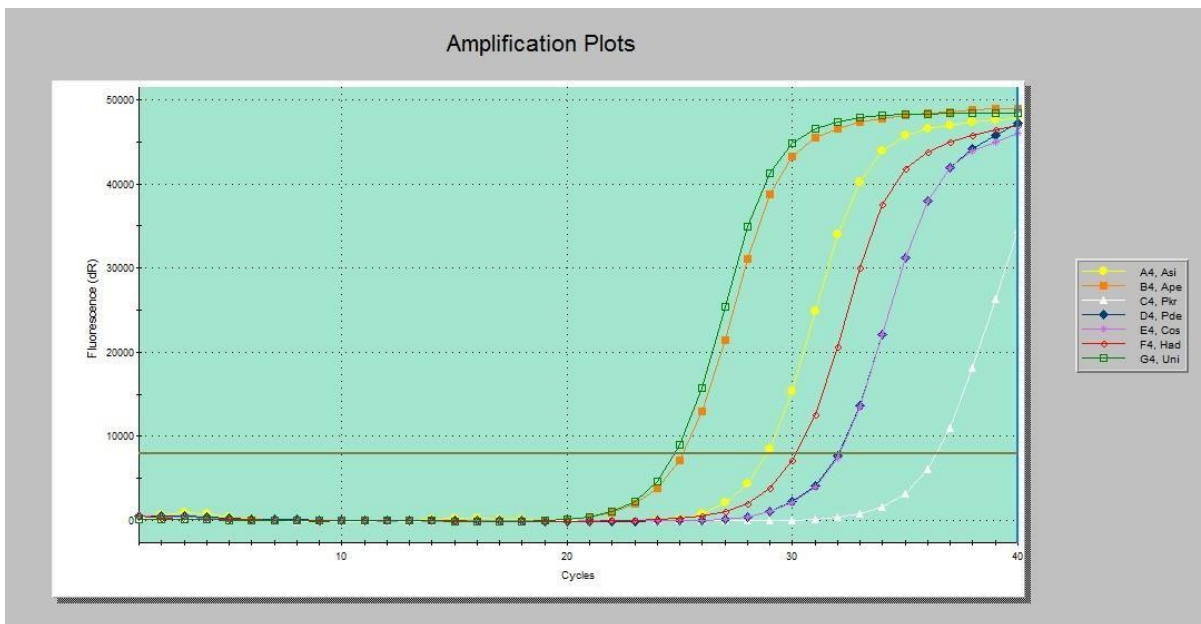


Rys. 36. Schemat płytki do przeprowadzenia reakcji dla 12 matryc.

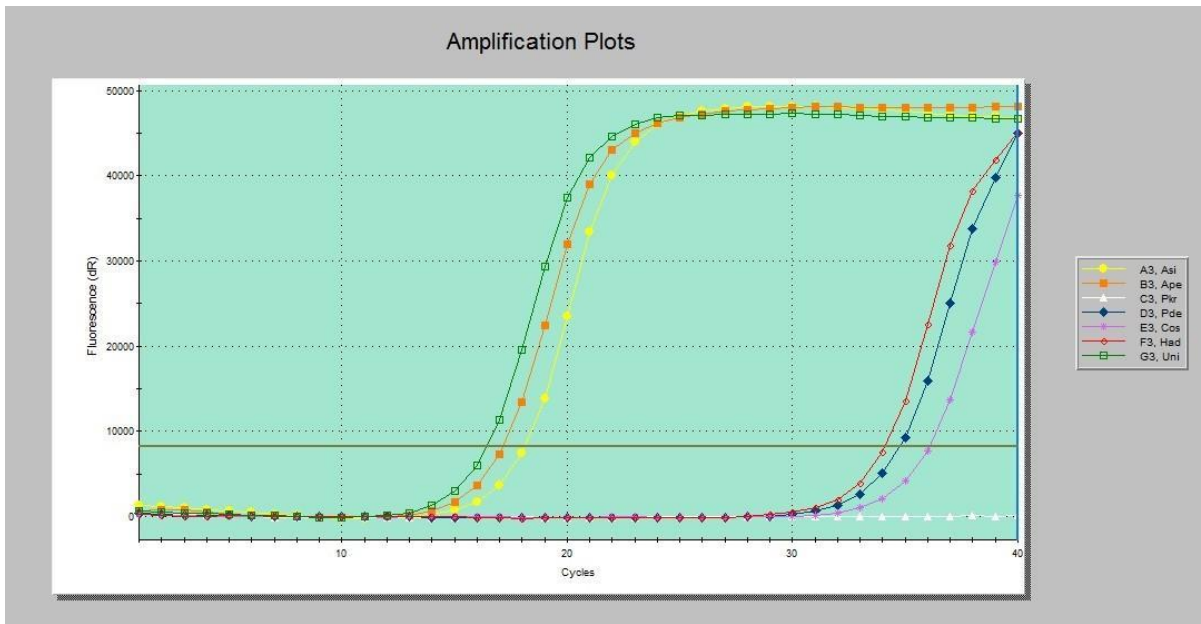
Wyniki badania obserwuje się w czasie rzeczywistym (Rys. 37, 38). Badanie pozwala również wykryć osobniki hybrydowe (Rys. 39).



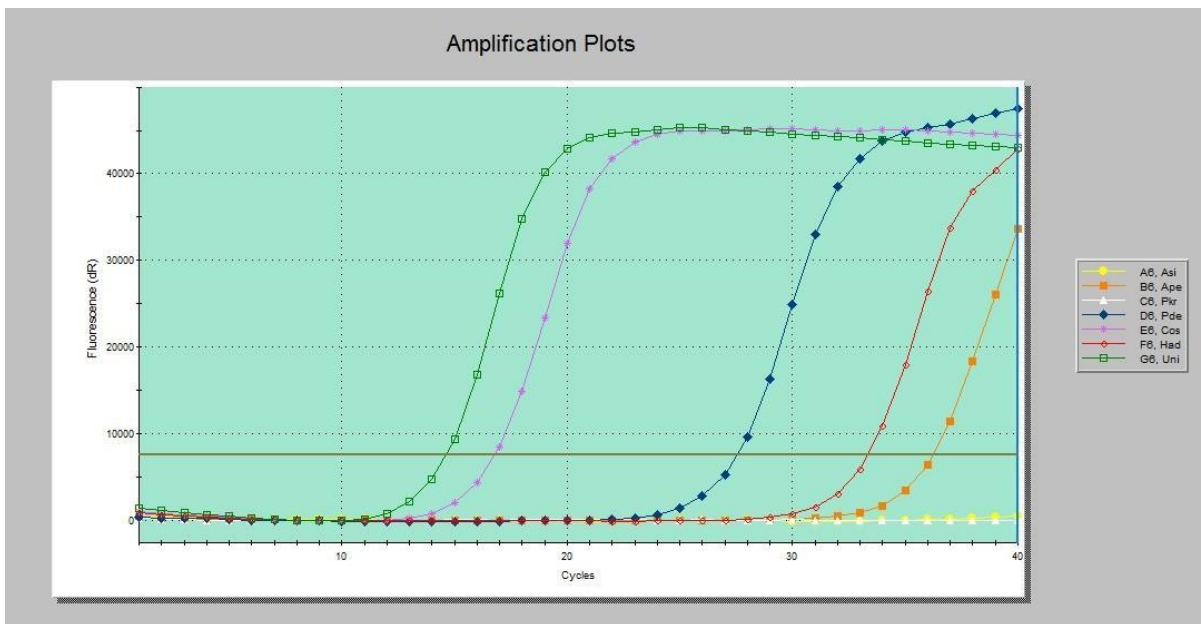
Rys. 37. Wynik uzyskany dla *Anisakis simplex s. s.*



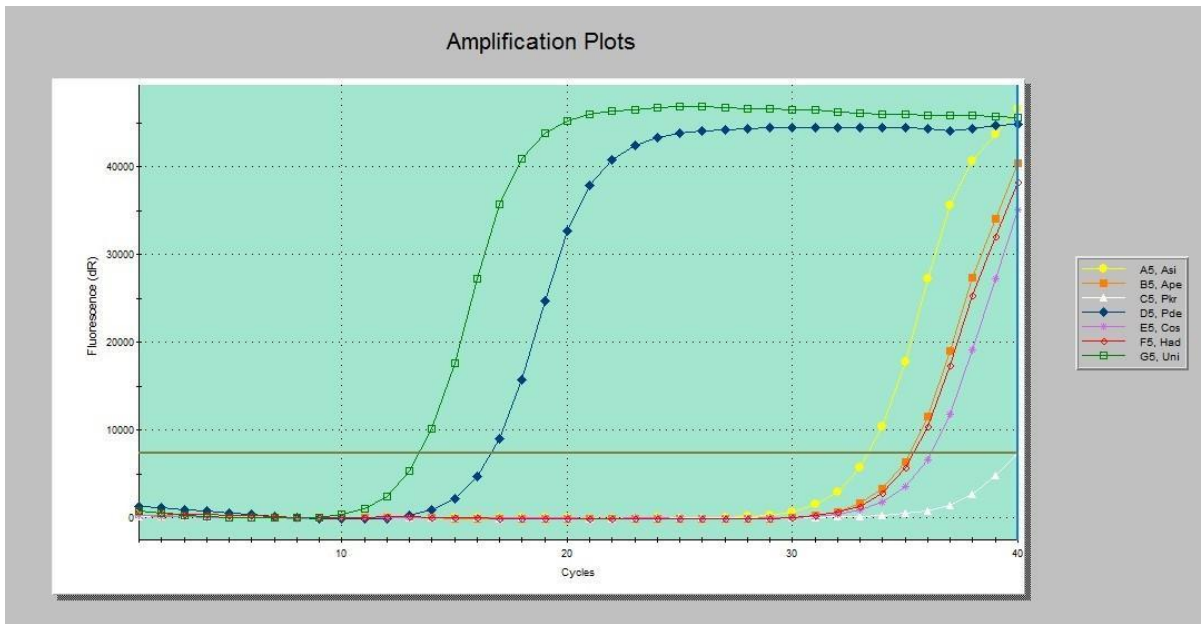
Rys. 38. Wynik uzyskany dla *Anisakis pegreffii.*



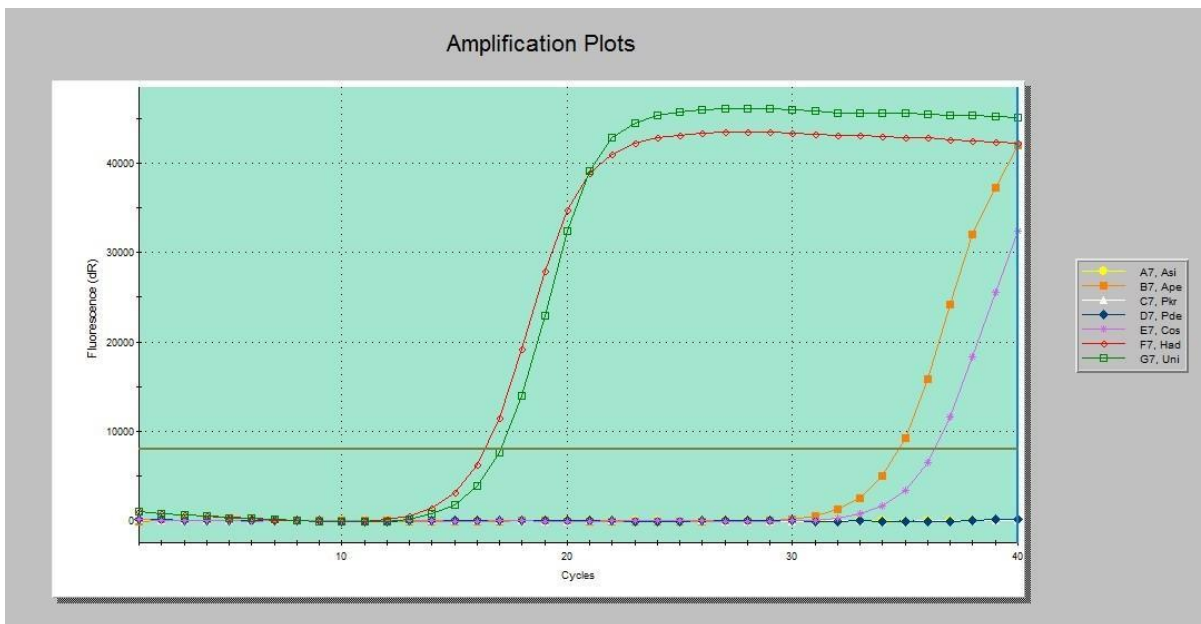
Rys. 39. Wynik uzyskany dla hybrydy *Anisakis simplex/A. pegreffii*.



Rys. 40. Wynik uzyskany dla *Contracaecum osculatum*.



Rys. 41. Wynik uzyskany dla *Pseudoterranova decipiens*.



Rys. 42. Wynik uzyskany dla *Hysterothylacium aduncum*.

4.7. Identyfikacja gatunku nicieni metodą RCR - RFLP

Ewa Bilaska - Zajac, Mirosław Różycki, Aneta Belcik

Metodą dotychczas stosowaną do molekularnej identyfikacji larw jest metoda PCR –RFLP opracowana przez Europejskie Laboratorium Referencyjne ds. Pasożytów (EURLP) w Rzymie. Schemat wykonania badania metodą PCR - RFLP przedstawiono poniżej.

Technika PCR – RFLP (ang. Polymerase Chain Reaction – Restriction Fragment Length Polymorphism) składa się z dwóch etapów: pierwszym jest podstawowa reakcja PCR, w której poddaje się amplifikacji wybrany fragment DNA z wyizolowanego z pasożyta całościowego DNA. Kolejno po namnożeniu odpowiedniego fragmentu przeprowadza się trawienie za pomocą enzymów restrykcyjnych (RFLP). Enzymy restrykcyjne są to białka, które rozpoznają, a następnie przecinają określoną krótką sekwencję nukleotydową. Jeśli w obrębie takiej sekwencji nastąpi zmiana (mutacja) - miejsce cięcia zniknie i uwidoczni się to we wzorze prążków, powstałych po rozdzieleniu produktów reakcji PCR – RFLP w żelu. Może się również zdarzyć, że w skutek mutacji powstaną nowe miejsca restrykcyjne, co również uwidoczni się za pomocą tej metody. W badaniu metodą PCR-RFLP wykorzystuje się podstawowe narzędzia biologii molekularnej takie jak: izolacja DNA, reakcja PCR, elektroforeza pozioma.

Poniżej zestawiono wszystkie odczynniki niezbędne do wykonania badania:

Etap I – izolacja DNA

Zestaw do izolacji DNA Promega IQ system kit

Etap II - reakcja PCR:

Odczynniki:

- 200uM dNTP
- Polimeraza Tag 1U/1µl
- Bufor KCl (bez MgCl)
- 25 mM MgCl₂
- startery syntetyzowane
- woda iniekcyjna (sterylna) lub nuclease free water

Etap III - elektroforeza:

- woda destylowana,
- agarozą,
- bromek etydyny
- bufor do elektroforezy 10 x TBE,
- bufor obciążający,
- marker – GeneRuler™ 100 bp DNA Ladder lub Gene Ruler Low Range
- materiały odniesienia: wyizolowane DNA larw Anisakidae

Etap IV – trawienie enzymami restrykcyjnymi

- enzym restrykcyjny Hha I,
- enzym restrykcyjny HinfI,
- bufor do enzymów restrykcyjnych,
- woda (nuclease free)

Etap V – elektroforeza produktów trawienia

- agarozą (high resolution)
- bufor do elektroforezy TBE 1x
- bromek etydyny
- marker – 50 bp
- aparat do elektroforezy

Badanie PCR-RFLP służy identyfikacji gatunkowej wykrytych w rybach lub produktach rybnych larw z rodziny Anisakidae. Badaniu poddaje się wyizolowaną z próbki larwę, którą umieszcza się w czystej probówce typu Eppendorf. Następnie przystępuje się do izolacji z niej kwasu dezoksyrybonukleinowego (DNA) z użyciem kitu PROMEGA IQ system. Procedura ekstrakcji DNA powinna być wykonywana w temperaturze pokojowej wg instrukcji producenta. Podczas każdej izolacji należy użyć jednej larwy referencyjnej, jako kontroli pozytywnej tego etapu.

Ekstrakcja DNA

Przed przystąpieniem do izolacji przygotować bufor inkubujący IB+ dla wykonywanej liczby próbek według poniższej tabeli 17 oraz bufor lizujący wg tabeli 18.

Tabela 17. Objętość odczynników do roztworu buforu inkubującego na jedną próbkę.

IB+	Objętość na pojedynczą próbkę (μl)
Incubation Buffer (Promega, DC6701)	80
DTT	10
Proteinaza K	10
Razem	100

Tabela 18. Objętość odczynników do roztworu buforu lizującego na jedną próbkę.

LB+	Objętość na pojedynczą próbkę (μl)
Lysis buffer	297
DTT	3
Razem	300

1. Pojedynczą larwę Anisakidae umieścić w czystej 1,5 ml probówce Eppendorfa.
2. Dodać 100 μl IB+
3. Inkubować na termobloku w temperaturze 55°C przez 30 – 60 minut, podczas inkubacji wytrząsać 1400 vib/1min
4. Po inkubacji próbki zwirować przez kilka sekund.
5. Dodać 200 μl LB+ oraz 10 μl magnetycznych kuleczek (paramagnetic resin).
6. Delikatnie przez wytrząsanie wymieszać zawartość próbki.
7. Inkubować w temperaturze 25°C przez 5 – 10 minut na termobloku. Podczas inkubacji wytrząsać.
8. Przenieść próbki do magnetycznych statywów.
9. Po 30 – 60 sekundach ostrożnie otworzyć próbki.
10. Usunąć płyn z nad magnetycznych kuleczek, uważając, aby nie naruszyć ich struktury.
11. Dodać 100 μl LB+, delikatnie rozmieszać na wortexie.
12. Wstawić z powrotem w magnetyczne statywy i powtórnie usunąć płyn z nad magnetycznych kuleczek.

13. Dodać 100 µl Washing Buffer, delikatnie rozmieszać za pomocą wortexu, wstawić próbówki do magnetycznego statywu i usunąć z nad kuleczek fazę płynną.
14. Krok 13 powtórzyć 3 krotnie.
15. Po ostatecznym usunięciu WB z nad magnetycznych kuleczek pozostawić próbówki otwarte przez 15 – 20 minut, aż do całkowitego wysuszenia alkoholu.
16. Dodać 100 µl Elution Buffer, delikatnie potrząsnąć.
17. Inkubować na termobloku w temperaturze 65°C przez 5 minut, podczas inkubacji wytrząsać.
18. Umieścić próbówki w magnetycznych statywach.
19. Delikatnie przenieść fazę płynną (DNA) z nad kuleczek do nowych uprzednio oznaczonych ependorf.

Reakcja PCR:

Do reakcji PCR należy przygotować mieszaninę reakcyjną wg objętości podanych w tab.20.

Tabela 19. Sekwencje nukleotydowe.

Sekwencja nukleotydowa	Kod	Amplifikowana sekwencja
5'GTAGGTGAACCTGCGGAAGGATCATT3'	NC5	ITS
5'TTAGTTTCTTTTCCTCCGCT'	NC2	

Tabela 20. Skład mieszaniny reakcyjnej.

	Substrat	Objętość(µl)
1	200uM dNTP	5
2	Polimeraza Tag 1U/1µl	1
3	Bufor	5
4	25 mM MgCl ₂	6
5	Woda iniekcyjna	22
6	NC2	0,5
6	NC5	0,5

Przygotować mieszaninę na odpowiednią liczbę próbek. Umieścić po 40 µl mieszaniny w próbkach do PCR, a następnie do każdej dodać 10 µl badanego DNA. Próbkę poddać wirowaniu w mikrowirówce przez kilka sekund, a następnie wstawić do termocyklera. Ustawić odpowiedni program czasowo - temperaturowy (Tabela 21).

Tabela 21. Parametry pracy termocyklera w programie do amplifikacji fragmentu genu ITS.

Etap	Temperatura	Czas
1	95°C	4 minuty
2	95°C	10 sekund
3	55°C	30 sekund
4	72°C	30 sekund
5	Powtórzenie etapów 2-4	35 x
6	72°C	3 minuty
7	12°C	Pauza

Elektroforeza:

Przygotować bufor roboczy 1 x TBE z roztworu stężonego 10 x TBE w następujący sposób: do 900 ml wody destylowanej dodać 100 ml buforu 10 x TBE.

Przygotowanie żelu do elektroforezy:

Odmierzyć 150 ml buforu 1 x TBE do żaroodpornej butelki o poj. 400 ml i dodać 2,25g agarozy. Rozpuścić na gorąco w kuchence mikrofalowej. Ostudzić agarozę do temp około 60°C i dodać 7 µl bromku etydyny. Płynną agarozę przelać do formy i poczekać, aż uformuje się żel.

Żel umieścić w basenie aparatu do elektroforezy i zalać buforem 1 x TBE. Żel musi być zanurzony w buforze. Do probówek z badanym materiałem dodać po 5 µl buforu obciążającego, a następnie wymieszać. Nanieść po 10 µl próbki badanego materiału do studzienek. Marker w ilości 2,5 - 4 µl nanieść do skrajnych studzienek. Elektroforezę przeprowadza się pod napięciem 100V, przez ok. 60 min. Odczyt wyników wykonuje się w transiluminatorze. Próbki, w których zaobserwowano na żelu produkty amplifikacji o wielkościach podanych w tabeli 22 przeznacza się do następnego etapu badania, czyli cięcia enzymami restrykcyjnymi HhaI oraz Hinfl.

Tabela 22. Wielkości produktów reakcji PCR po amplifikacji genu ITS.

Gatunek Anisakidae								
	<i>A. pegreffi</i>	<i>A. simplex</i> s.s.	<i>A. simplex</i> C	<i>A. ziphidarium</i>	<i>A. physeteris</i>	<i>A. typica</i>	<i>A. simplex</i> A	<i>Pseudoterranova</i> spp. (<i>P. decipiens</i> s.s.)
Wielkość produktu amplifikacji ITS (pz)	951	951	953	931	898	956	926	906

Cięcie produktów amplifikacji enzymami restrykcyjnymi:

Przygotować mieszaninę zgodnie z instrukcją producenta enzymu.

Do mieszaniny dodać 10ul produktu PCR.

Następnie inkubować na termobloku w temperaturze 37°C przez 3h.

Produkty cięcia enzymami restrykcyjnymi rozdzielić elektroforetycznie.

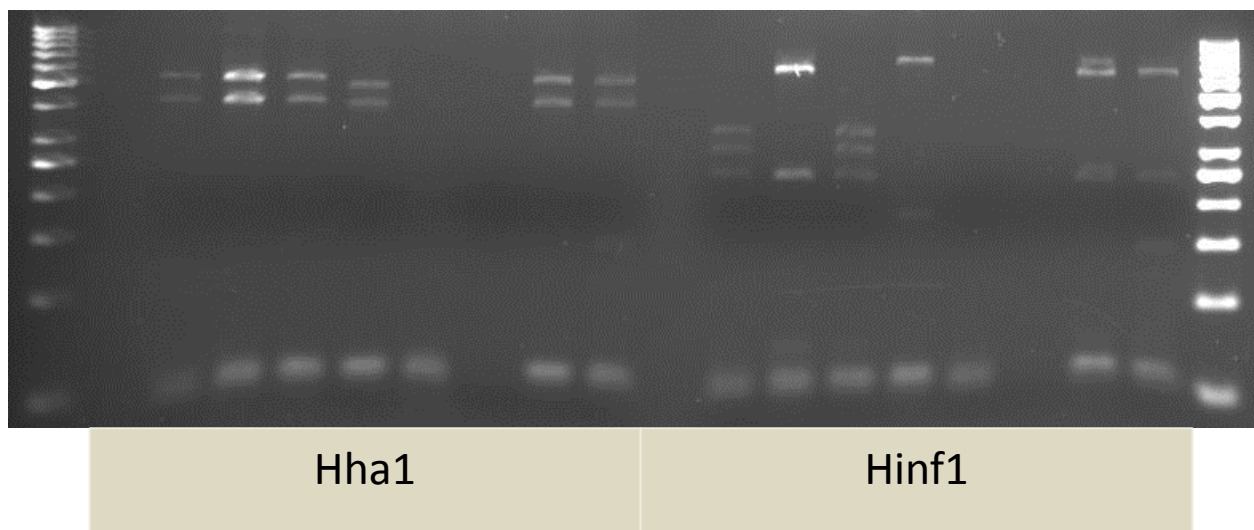
Przygotować 3 % żel agarozowy analogicznie do poprzedniego.

Elektroforezę przeprowadzić pod napięciem 80-100 V przez 50-90 minut.

Tabela 23. Produkty cięcia enzymami restrykcyjnymi dla poszczególnych gatunków larw Anisakidae.

Produkty po cięciu enzymami restrykcyjnymi		
Enzym restrykcyjny	Hinfl	HhaI
<i>A. pegreffi</i>	34, 67, 235, 284, 331	419, 532
<i>A. simplex</i> s.s.	34, 67, 235, 615	419, 532
<i>A. simplex</i> C	34, 67, 237, 615	142, 279, 532
<i>A. ziphidarium</i>	34, 273, 292, 332 413, 518	413, 518
<i>A. physeteris</i>	34, 241, 263, 360	385, 513
<i>A. typica</i>	34, 328, 594	103, 153, 180, 212, 308
<i>A. simplex</i> A	34, 269, 288, 335	137, 272, 517
<i>Pseudoterranova</i> spp. (<i>P. decipiens</i> s.s.)	35, 179, 693	413, 493

Identyfikację gatunkową opiera się na analizie wielkości prążków uzyskanych podczas rozdziału elektroforetycznego produktów cięcia enzymami restrykcyjnymi wg tabeli 23.



Fot. 22. Przykładowe zdjęcie żelu. Studzienka 1, 20 – marker 50-100pz, 2, 8, 11, 17 – pusta studzienka, 7, 16 – kontrole negatywne. 3,12 - *A. pegreffii*; 4, 9, 10, 13, 18, 19 - *A. simplex s.s.*; 5, 14 - *A. pegreffii*; 6, 15 - *Pseudoterranova decipiens* (fot. E. Bilka).

4.8. Modelowanie infekcji pasożytniczej

Magdalena Podolska, Jan Horbowy

Poziom infekcji pasożytniczej najczęściej definiowany jest poprzez ekstensywność (procent zarażonych osobników w próbie) i intensywność zarażenia (średnia liczba pasożytów u zarażonych osobników). Zarówno ekstensywność jak i intensywność zarażenia mają rozkłady różne od rozkładu normalnego i w związku z tym analiza zależności tych zmiennych od badanych parametrów (zmiennych objaśniających) wymaga podejścia wykraczającego poza standardowe modele liniowe. Dobrym narzędziem do analizy tych zależności są Uogólnione Modele Liniowe (GLM). Zaletą stosowania tych modeli w analizie danych biologicznych są adekwatne założenia postaci rozkładów zmiennych modelowanych, brak założenia o stałości ich wariancji oraz możliwość jednoczesnego uwzględniania wielu zmiennych objaśniających w analizie statystycznej. Możliwość założenia innego niż normalny rozkładu zmiennej zależnej pozwala na właściwe modelowanie ekstensywności (rozkład dwumianowy) oraz intensywności zarażenia (rozkład ujemny dwumianowy). W zależności od rozkładu zmiennej zależnej można użyć różnych funkcji wiążących ją ze zmiennymi objaśniającymi.

W publikacjach dotyczących badań parazytofauny ryb, jest niewiele danych na temat zarażenia dorszy nicieniami Anisakidae w Polskich Obszarach Morskich Bałtyku. Na przełomie lat 80. i 90. XX wieku, odsetek dorszy bałtyckich zarażonych tymi pasożytami nie przekraczał 4%. Średnia intensywność zarażenia ryb wynosiła ok. 10. Stwierdzono wówczas obecność patogennych larw nicieni *Contracaecum osculatum*, *Anisakis simplex* i *Pseudoterranova decipiens*. W kolejnych dwóch dekadach nie prowadzono systematycznych badań poświęconych występowaniu nicieni z Anisakidae u dorszy poławianych w POM.

W roku 2011 w MIR-PIB podjęto badania nad parazytofauną dorsza z południowego Bałtyku, których celem była ocena zmian dynamiki zarażenia dorsza nicieniami Anisakidae, z uwzględnieniem czynników biologicznych, czasowych i przestrzennych. Gatunki pasożytów należące do tej rodziny wykazują potencjał zoonotyczny i stanowią zagrożenie dla ludzkiego zdrowia. Wyniki analiz parazytologicznych wykazały, że ekstensywność zarażenia dorszy larwami nicieni Anisakidae znacznie wzrosła w ostatnich dwóch dekadach. W wątrobach badanych ryb najczęściej stwierdzano obecność larw *Contracaecum* sp. a odsetek zarażonych dorszy osiągnął niemal 11%, co stanowiło wartość czterokrotnie wyższą, w porównaniu z danymi z lat 1987-1993 (2.6%).

Do analizy ekstensywności i intensywności zarażenia dorszy nicieniami Anisakidae (larwy *Anisakis simplex* i *Contracaecum osculatum* obecne w wątrobach ryb) oraz oceny wpływu obecności nicieni w wątrobie na kondycję dorsza opracowano i zastosowano uogólnione modele liniowe (GLM, pakiet statystyczny GenStat):

(1) ekstensywność = rok + rejon + długość + długość² + błąd losowy;

(2) intensywność = rok + rejon + długość + długość² + błąd losowy;

(3) kondycja = rok + rejon + długość + gon + żołądek + N_nicieni + błąd losowy;

gdzie:

kondycja - współczynnik kondycji Fultona (FCF)

rejon - rejon połowu/kwadrat ICES;

rok - rok połowu;

długość - długość całkowita ryby;

gon - stadium dojrzałości gonad ryby;

żołądek - stopień wypełnienia żołądka ryby;

N_nicieni - całkowita liczba nicieni w wątrobie ryby.

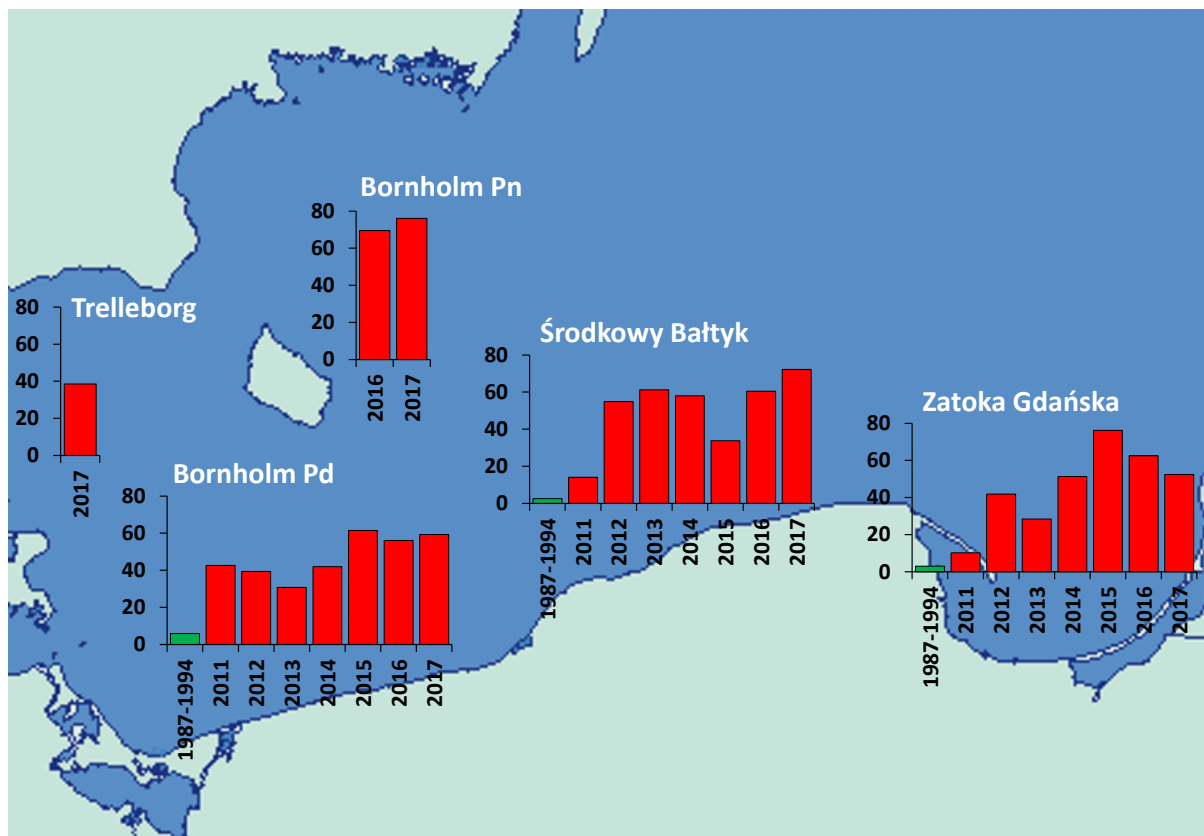
W modelu ekstensywności zarażenia dorszy założono dwumianowy rozkład zmiennej zależnej i funkcję wiążącą typu logit. W modelu intensywności zarażenia - rozkład ujemny dwumianowy zmiennej zależnej i logarytmiczną funkcję wiążącą. W modelu kondycji dorsza - rozkład normalny zmiennej zależnej i funkcję wiążącą identycznościową.

Do modelowania wykorzystano dane pozyskane z rejsów badawczych, realizowanych w ramach projektu SeaQual w latach 2016-2017 oraz (jako materiał porównawczy) dane MIR-PIB z lat 2011-2015. Do oceny zmian ekstensywności zarażenia dorszy nicieniami Anisakidae, zachodzących na przestrzeni lat wykorzystano również dane historyczne (1987-1994, B. Szostakowska A&A Biotechnology.).

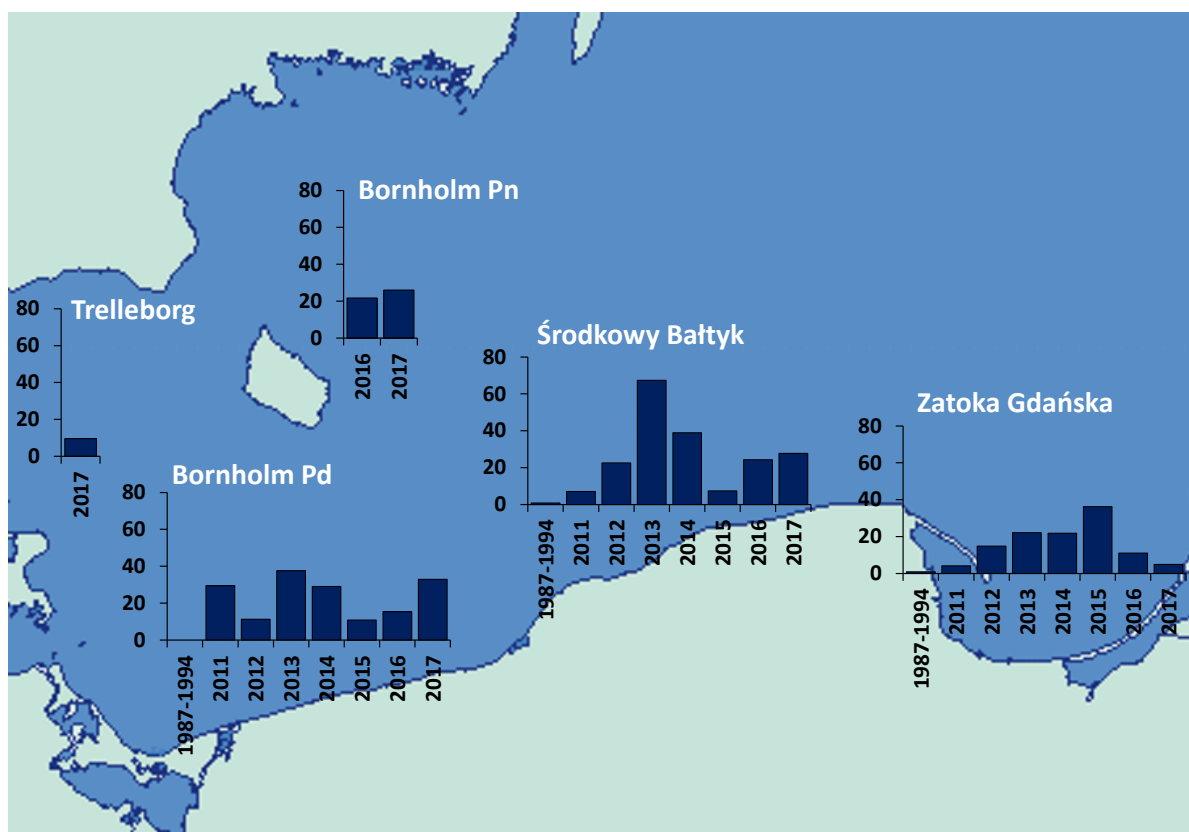
Efekt czynników przedstawiony jest w odniesieniu do pierwszego poziomu analizowanego czynnika (tzw. parametryzacja rogowa). W takiej parametryzacji efekty poziomów czynników są przyjęte jako różnice pomiędzy efektem poziomu danego czynnika, a efektem pierwszego poziomu czynnika. Model statystyczny dopasowywano drogą eliminacji krokowej.

Wszystkie zmienne i czynniki analizowane w modelu ekstensywności zarażenia dorszy nicianiami Anisakidae były wysoce istotne statystycznie i wyjaśniały 72% (*A. simplex*) oraz 84% (*C. osculatum*) dewiancji (w GLM jest to odpowiednik wariancji). Model intensywności zarażenia wyjaśniał 36% (*A. simplex*) i 30% (*C. osculatum*) dewiancji.

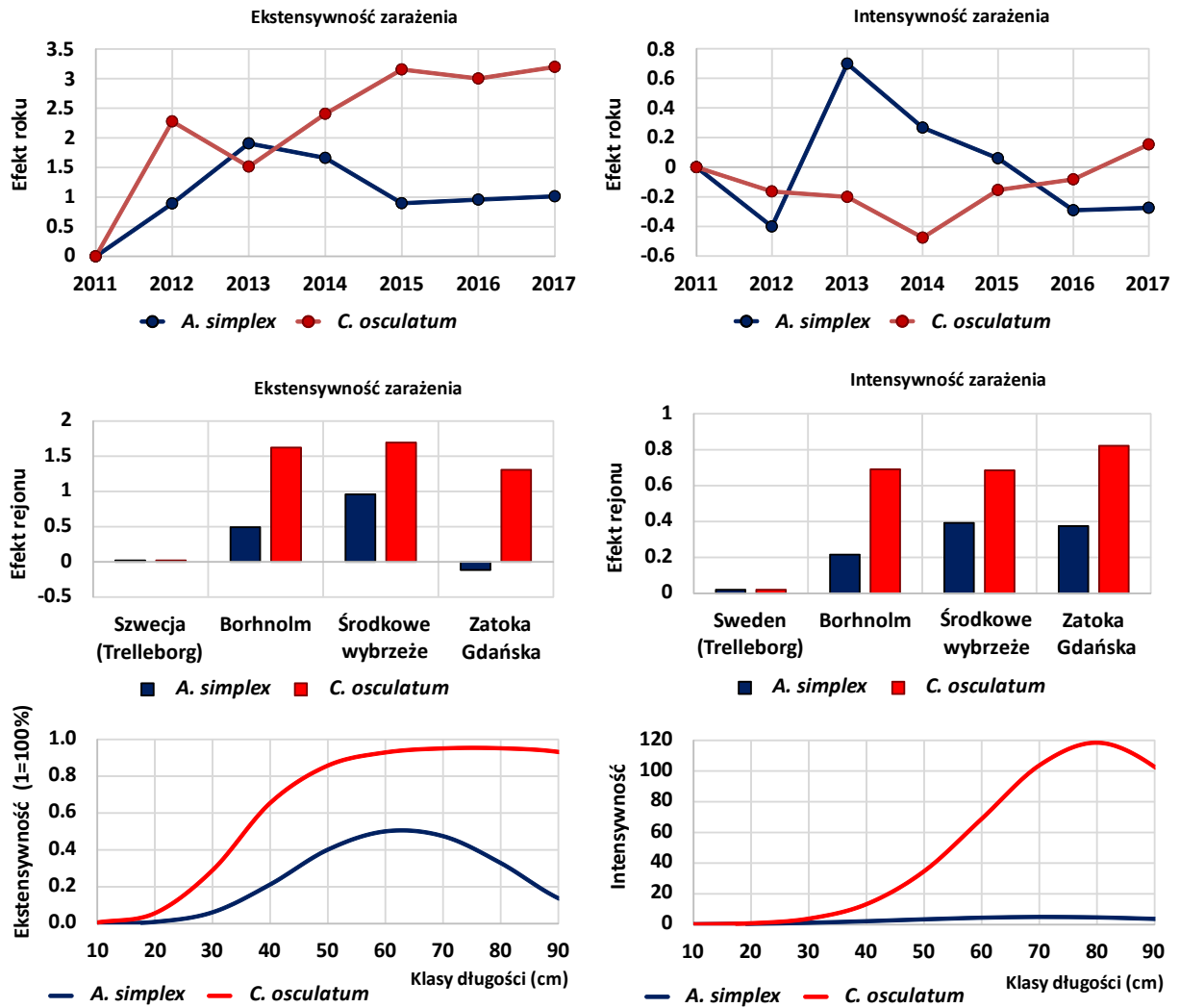
Ekstensywność i intensywność zarażenia dorszy larwami *A. simplex* była najwyższa w roku 2013 i malała w kolejnych latach. W przypadku *C. osculatum*, ekstensywność i intensywność zarażenia wykazywała znaczny trend rosnący w latach 2011-2017 (rys 43). Zarówno odsetek zarażonych dorszy jak i intensywność zarażenia była istotnie zależna od długości ryb ($p < 0.001$) i przybierała kształt krzywoliniowy, osiągając najwyższe wartości w przedziale długości 60-80 cm a następnie spadała (rys. 44). Spadek ten może wskazywać na wyższą śmiertelność starszych, bardziej zarażonych ryb.



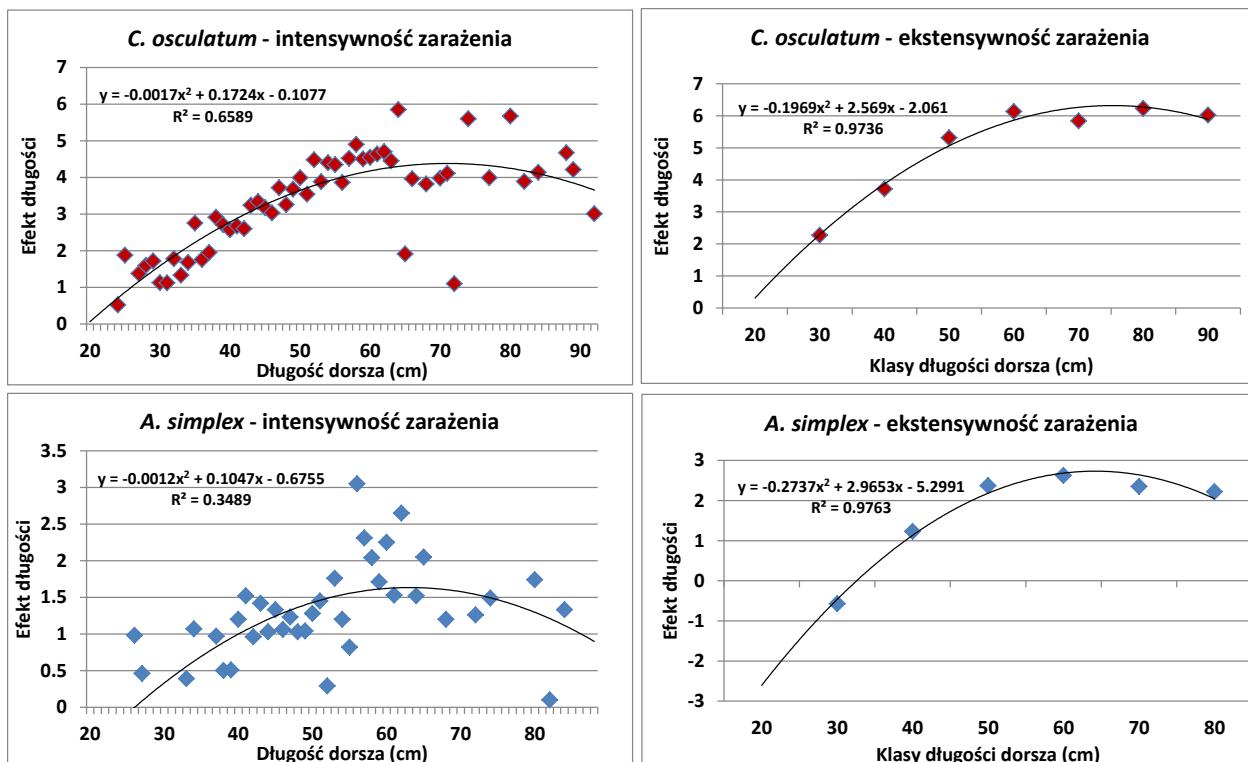
Rys. 43. *C. osculatum* w wątrobach dorszy. Ekstensywność zarażenia w latach 1987 – 2017 (klasy długości 35+ cm).



Rys. 44. *A. simplex* w wątrobach dorszy. Ekstensywność zarażenia w latach 1987 – 2017 (klasy długości 35+ cm).

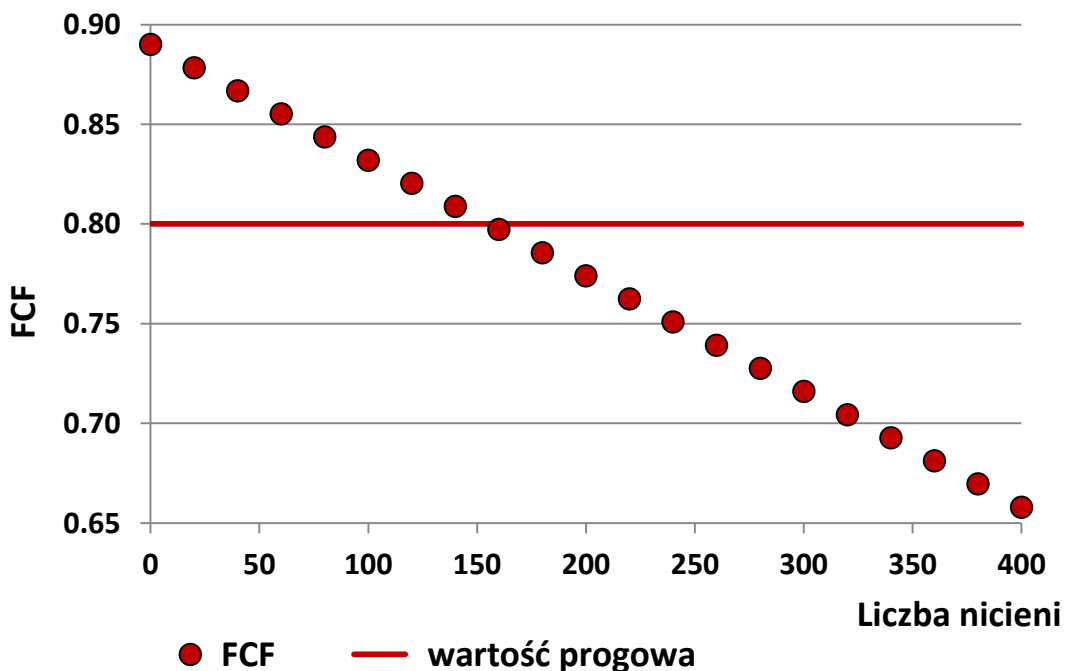


Rys. 45. Efekty roku i rejonu w modelach ekstensywności i intensywności zarażenia dorsza nicieniami *A. simplex* i *C. osculatum* (górny i środkowy panel) oraz zależność intensywności zarażenia od długości dorsza (dolny panel).



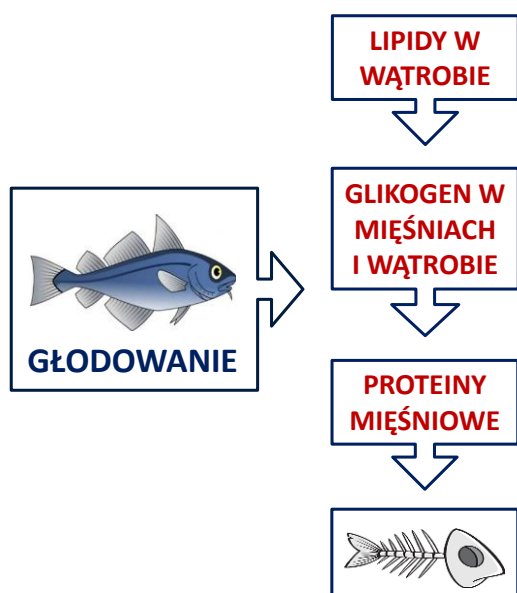
Rys. 46. Efekty długości w modelach GLM częstości i intensywności zarażenia dorsza nicieniami *A. simplex* i *C. osculatum* oraz paraboliczne linie trendu dopasowane do efektów.

Analiza danych wykazała, że już sama obecność nicieni w wątrobie negatywnie wpływa na kondycję dorsza – współczynniki kondycji ryb zarażonych są istotnie niższe niż osobników wolnych od pasożytów. Model kondycji dorsza wyjaśniał 22% dewiancji. Współczynnik kondycji (FCF) w sposób istotny statystycznie malał wraz ze wzrostem liczby nicieni w wątrobie dorsza (rys 45). Średnio, wzrost intensywności zarażenia o 20 pasożytów, prowadził do redukcji FCF o 1%. Współczynnik kondycji dorsza o najwyższej intensywności zarażenia (385 nicieni) był 20% niższy niż u osobników niezarażonych. Wartość progowa FCF wynosi 0.8 - spadek współczynnika kondycji poniżej tej wartości prowadzi do znacznego wzrostu śmiertelności naturalnej ryb (rys. 47).



Rys. 47. Zależność pomiędzy kondycji (FCF) od intensywności zarażenia dorsza nicieniami *A. simplex* i *C. osculatum*.

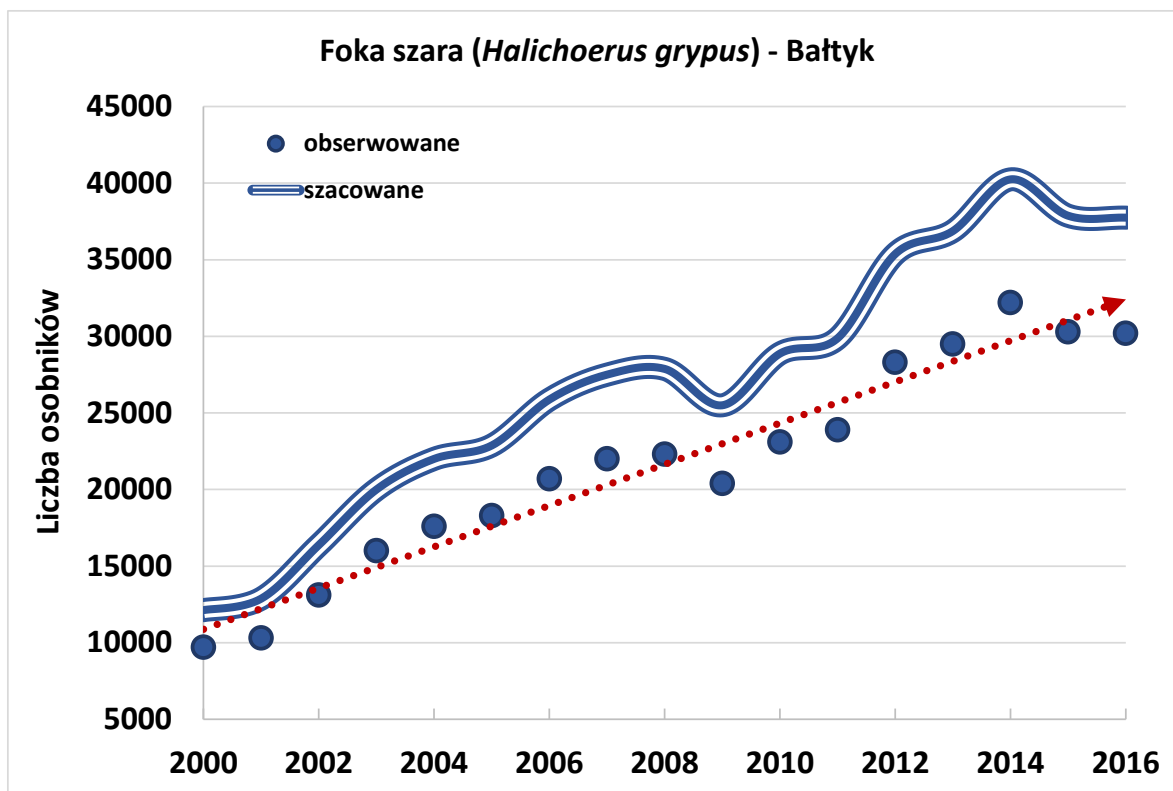
To niekorzystne zjawisko ma wyjaśnienie fizjologiczne: dorsz jest rybą chudą, gromadzącą rezerwy białkowe w mięśniach szkieletowych, podczas gdy główne rezerwy energetyczne są przechowywane w wątrobie, w postaci lipidów. W przypadku niedoboru pokarmu, u dorsza mobilizowane są najpierw lipidy zgromadzone w wątrobie, następnie glikogen w wątrobie i tkance mięśniowej a na końcu proteiny mięśniowe. Larwy nicieni uszkadzają miąższ wątroby, naczynia krwionośne i drogi żółciowe zarażonych ryb. Znaczna redukcja zawartości tłuszczu w wątrobie może zmniejszać szanse dorsza na przetrwanie okresów ograniczonej dostępności pokarmu i w konsekwencji do wzrostu śmiertelności zarażonych ryb (rys. 48).



Rys. 48. Schemat przyczyn wzrostu śmiertelności dorszy.

Stan zasobów dorsza znacząco się pogorszył w ostatnich latach: biomasa stada dorsza wschodnio-bałtyckiego (główne stado dorszy eksploatowane przez Polskę, wody południowego Bałtyku na wschód od Bornholmu) jest jedną z najniższych w historii obserwacji. Nie tylko biomasa stada, ale i kondycja dorszy są bardzo niskie.

W kontekście dużych zmian biomasy dorszy, uzyskane wyniki dostarczyły wielu danych, dzięki którym można zidentyfikować nieznane dotąd mechanizmy i interakcje, wpływające na stan zasobów tego gatunku. Obserwowany w ostatnich latach znaczny wzrost ekstensywności zarażenia dorsza *C. osculatum* może mieć związek ze wzrostem liczebności foki szarej *Halichoerus grypus* w Bałtyku, która jest żywicielem ostatecznym tego gatunku pasożyta. Według danych HELCOM, wskaźnik liczebności populacji foki szarej w Bałtyku w roku 2016 wynosi 30 000 (HELCOM 2016) (rys. 49). Wartość ta stanowi 60 – 80% całkowitej liczebności, która waha się w granicach 37 500 – 50 000.



Rys. 49. Liczebność populacji foki szarej *H. grypus* w Bałtyku (źródło - HELCOM 2016)

4.9. Kryteria określania stopnia zarażenia ryb pasożytami i warunki ich inaktywacji

Mirosław Różycki

W Polsce, podobnie jak w pozostałych krajach europejskich, brakuje jednoznacznych kryteriów oceny występowania pasożytów u ryb. Obecny system oceny nie dopuszcza do konsumpcji ryb w których znaleziono pasożyty. Jest to rozwiązanie dość drastyczne z tego względu, że o jakości partii ryb może decydować obecność już jednego pasożyta. Do niedawna w Europie obowiązywała Dyrektywa Rady 91/493/EWG z dnia 22 lipca 1991 r. ustanawiająca warunki zdrowotne dotyczące produkcji i wprowadzania do obrotu produktów rybołówstwa. Lakoniczna informacja zawarta w rozdziale 5 „Warunki dotyczące pasożytów” ustalała: podczas produkcji, a przed ich przekazaniem do spożycia przez ludzi, ryby i produkty rybne muszą być poddane wzrokowej kontroli w celu wykrycia i usunięcia jakichkolwiek widocznych pasożytów; ryby lub ich części, które są w oczywisty sposób zarażone pasożytami, a które usunięto, nie mogą być kierowane na rynek, jako produkt do spożycia przez ludzi. Zasady badania i kryteria oceny miały zostać opracowane. Niestety, nigdy się nie ukazały. Zgodnie z wymaganiami obowiązującego obecnie w UE Rozporządzenia (WE) nr 853/2004 Parlamentu Europejskiego i Rady z dnia 29 kwietnia 2004 r. ryby i produkty rybne muszą być poddane mrożeniu w celu zabicia żywotnych postaci pasożytów, które mogłyby stanowić zagrożenie dla zdrowia konsumentów. W przypadku pasożytów innych niż przywry mrożenie musi obejmować obniżenie temperatury we wszystkich częściach produktu przynajmniej do -20°C przez okres nie krótszy niż 24 godziny; lub -35°C przez okres nie krótszy niż 15 godzin.

Produkty poddane takiemu procesowi zamrażania muszą być albo produktem surowym albo gotowym do konsumpcji. Dotyczy to również ryb spożywanych w stanie surowym albo prawie surowym, np. 'maatje' ("matjas holenderski"), ryb gatunków wędzonych na zimno: śledź, makrela, szprot, łosoś atlantycki i pacyficzny (dziki) oraz marynowanych i/lub solonych śledzi, gdy proces przetwórczy jest niewystarczający do zabicia larw nicieni. Opracowana w latach 80 - tych XX w. przez Morski Instytut Rybacki, wycofana już Polska Norma PN-93/A-86733 „Ryby i inne zwierzęta wodne świeże i mrożone” zawierała wytyczne wg których oznaczanie stopnia zarażenia ryb pasożytami i kryteria oceny były znacznie dokładniejsze i stanowiły wykładnię oceny przydatności ryb pod względem występowania pasożytów. Według tej normy stopień zarażenia ryb może być oceniany w czterostopniowej skali. Należy jednak pamiętać, iż ryby świeże z pasożytami szkodliwymi dla ludzi nie mogą być przeznaczone bezpośrednio do spożycia, obrotu handlowego, przetwórstwa wykorzystującego technologie

nieunieszkodliwiający pasożyty. Jeżeli to możliwe, obróbka powinna zakładać także redukcję liczby nicieni, a w każdym przypadku ich unieszkodliwienie. Ryby ze skupiskami pasożytów odrażających powinny być odpowiednio opracowane i wysortowane. Ryby bez pasożytów nadają się do wszechstronnego wykorzystania, a pozostałe przeznaczone na cele pozakonsumpcyjne. Partie ryb o silnym stopniu zarażenia nie nadają się do obrotu i przetwórstwa. Mogą one być użyte do produkcji mączki paszowej, względnie, jako karma dla zwierząt, po unieszkodliwieniu inwazyjnych form pasożytów. Do dnia dzisiejszego Inspekcja Weterynaryjna posiłkuje się wytycznymi tej normy przy ocenie ryb. Istnieje pilna potrzeba opracowania nowych kryteriów w oparciu o naukową opinię i oszacowanie ryzyka, przedstawione przez komitet naukowy Europejskiego Urzędu ds. Bezpieczeństwa Żywności (EFSA) w 2010 r (Hazards 2010). W obecnej sytuacji, za wyjątkiem łososi hodowlanych, żaden z gatunków ryb poławianych w morzach ani żaden obszar połowowy nie może być uznany za wolny od larw *Anisakis* spp. Konieczne jest podjęcie badań mających na celu ustalenie wpływu różnych metod hodowli ryb na ich stopień zarażenia larwami, w szczególności w odniesieniu do produktów, które mają być spożywane na surowo z ryb hodowlanych. Niezbędne jest również zebranie danych dotyczących cyklu rozwojowego pasożytów, ich rozmieszczenia geograficznego, sezonowości zarażeń i anatomicznej lokalizacji pasożytów w poławianych rybach.

Reasumując, należy spodziewać się, iż zmiany kulturowe, żywieniowe oraz wzrost liczby ryb zarażonych może w sposób znaczący zwiększyć ryzyko związane z występowaniem *A. simplex*. Aby temu zapobiec konieczne jest powstanie jasnych i jednoznacznych uregulowań prawnych w zakresie badania parazytologicznego ryb. Regulacje te są również niezbędne dla prawidłowego funkcjonowania Inspekcji Weterynaryjnej. Podejmując decyzję lekarz weterynarii powinien mieć jasną wykładnię prawną, przepisy i kryteria, na które może się powołać. Obecnie trwają prace nad nowymi normami ISO (ISO/CD 23036-1; ISO/CD 23036-2) dla wykrywania tych pasożytów.

W tabelach poniżej przedstawiono wybrane dane literaturowe dotyczące inaktywacji pasożytów chorobotwórczych dla człowieka w rybach i produktach rybnych (Franssen i in. 2019).

Tabela 24. Wybrane czynniki inaktywujące formy dyspersyjne patogennych pasożytów chorobotwórczych w żywności morskiego pochodzenia – obróbka termiczna.

Forma dyspersyjna	Warunki	Metoda	Efekt	Redukcja log.	Matryca	Referencje
<i>Anisakis</i> spp.						
Larwa	≥60 °C; 1 min 60 °C; 10 min, filet 3 cm grubości 70 °C; 7 min, fillet 3 cm thick	Podgrzanie	Zabicie	Nie opisano	Ryby morskie	(Wootten i Cann 1980)
	60 °C; 700-W mikrofalówka	Żywotność larw (oceniata w świetle UV)	Zabija 69% larw <i>Anisakis</i> , początkowa liczba log: 1.81 Zabija 89% larw <i>Anisakis</i> ; początkowa liczba w log: 1.91	0.51 0.96	Ryba: Atheresthes stomias, filety	(Adams i in. 1999)
	77 °C; 700-W mikrofalówka	Żywotność larw (oceniata w świetle UV) i pod mikroskopem po stymulacji mechanicznej i kwasem octowym	Zabija 100% <i>Anisakis</i> larw	1.78	Ryba: Atheresthes stomias, filety	
	70 °C; 3 min (ogrzewanie mikrofalowe 1000 W)	Żywotność larw (oceniata w świetle UV) i pod mikroskopem	Zabija 100% <i>Anisakis</i> (L3)	1.08	Filety z morszczuka w kanapkach	(Vidacek i in. 2011)
Larwa	-35 °C; 15 h; a następnie-18 °C; 24 h	Mrożenie (ocena ruchu po stymulacji igłą preparatywną)	Zabija larwy <i>Anisakis</i> , 6 z 3545 pozostało żywe po 1h mrożenia; po 24 h nie stwierdzono żywych larw	2.77	Łosoś Sokey	(Deardorff i Throm 1988)

Forma dyspersyjna	Warunki	Metoda	Efekt	Redukcja log.	Matryca	Referencje
Larwa	-20 °C; efektywny czas mrożenia w zadanej temperaturze = 24 h; -35 °C; efektywny czas mrożenia w zadanej temperaturze = 15 h;	Mrożenie (ocena ruchu po stymulacji igłą preparatywną)	Nie stwierdzono żywych larw <i>A. simplex</i>		śledź bałtycki, dorsz atlantycki	(Podolska i in. 2019)
<i>Clonorchis sinensis</i>						
Meta-cerkaria	-12 °C; 18 dni	Mrożenie ocena żywotności w doświadczalnym zarażeniu szczurów	Metacerkarie sporadycznie uszkodzone	0.00	Ryba	(Fan 1998)
	-12 °C; 10 dni	Mrożenie ocena żywotności w doświadczalnym zarażeniu szczurów	Metacerkarie sporadyczne uszkodzenia większość żywa	0.00		
	-20 °C, 7 dni	Mrożenie ocena żywotności w doświadczalnym zarażeniu szczurów	100% szczurów zainfekowanych	0.00	Ryba	
	-12 °C, 20 dni	Mrożenie ocena żywotności w doświadczalnym zarażeniu szczurów	Eliminacja zakaźności dla królików, dawka zakaźna 160 metacerkarii	2.20		
	-20 °C przez 3 dni, zamrażanie i rozmrażanie przez następne 4 dni	Mrożenie ocena żywotności w doświadczalnym zarażeniu szczurów	Eliminacja zakaźności dla szczurów dawka zakaźna 400 metacerkarii	2.60		

Forma dyspersyjna	Warunki	Metoda	Efekt	Redukcja log.	Matryca	Referencje
<i>Diphyllbothrium</i> spp.						
Plerocerkoid	-10; 5 min	Doświadczalne zarażenie chomików	Całkowita inaktywacja	Nie opisano.	Filety rybne z wyizolowanymi plerocerkoidami	(Salminen 1970)
<i>Heterophyidae</i>						
Metacerkarie	-10 °C lub -20 °C; 30 h	Ruch	Nie efektywny, metacerkarie przeżywają proces	0.00	Tkanki ryb	(Hamed i Elias 1970)
<i>Opistorchis</i> spp.						
Metacerkariae	-28 °C; 20 h	Nie opisano	Żywotność zredukowana ale nie całkowicie	Nie opisano	Całe ryby	(Fattakhov 1989)
	-35 °C; 8 h					
	-40 °C; 2 h					

Tabela 25. Wybrane czynniki inaktywujące formy dyspersyjne patogennych pasożytów w żywności morskiego pochodzenia – kombinacja czynników marynowanie, solenie, fermentacja.

Forma dyspersyjna	Warunki	Metoda	Efekt końcowy	Redukcja log.	Matryca	Referencje
<i>Anisakis</i>						
Larwy	Marynowanie w 2.6% kwas octowy 5–6% soli w czasie 12 tygodni Marynowanie 2.6% kwasie octowym 8–9% soli przez 6 tygodni	n.s.	Inaktywuje larwy	n.s.	Śledź	(Doyle 2003)
	6% kwas octowy (v/v) (vinegar); 12% salt for 13 days, 4 °C 10% kwas octowy; 12% NaCl 5 dni 20% kwas octowy; 12% NaCl 3 dni 30% kwas octowy; 12% NaCl 3 dni 40% kwas octowy; 12% NaCl 2 dni	Ocena ruchliwości i zarażanie szczurów	Inaktywuje larwy	1.78	Anchovies	(Sanchez-Monsalvez i in. 2005)
	Solanka 6.3% soli 3.7% kwasu octowego w fazie wodnej 28 dni	Ocena ruchliwości	Inaktywuje larwy	n.s.	Śledź	(Karl i in. 1994)
	5% NaCl; >17 tygodni 6-7% NaCl; 10 – 12tygodni	Ocena ruchliwości	Inaktywuje larwy	n.s.	Śledź	(Karl i in.1994)

Forma dyspersyjna	Warunki	Metoda	Efekt końcowy	Redukcja log.	Matryca	Referencje
<i>Anisakis</i>						
	6% kwas octowy, 10% NaCl /24 h a następnie dodanie oleju słonecznikowego i chłodzenie 4 °C /13 dni	Ocena ruchliwości	Inaktywuje larwy	n.s.	Śledź	(Arcangeli i in. 1996)
	Śledź marynowany Bismarck; 28 dni	Ocena ruchliwości w 1% kwasie solnym i barwienie	Inaktywuje larwy	≥2.60	Śledź	(Karl i in. 1994)
	21% NaCl; 15 days	Ocena ruchliwości	Inaktywuje larwy <i>Anisakis pegreffii</i>	n.s.	Śledź	(Anastasio i in. 2016)
	13% NaCl solanka; 5°C; 24 h a następnie dojrzewanie w soli w 5°C przez 15 dni	Ocena ruchliwości	Inaktywuje larwy <i>Anisakis</i>	n.s.	Dorsz	(Smaldone i in. 2017)
<i>Clonorchis sinensis</i>						
Meta-cercarie	3 g NaCl / 10 g / rybę/ 8 dni	Zarażanie szczurów	Inaktywuje metacercarie	n.s.	Ryby słodkowodne	(Fan 1998)
<i>Opistorchis viverrini</i>						
Meta-cercariae	7.5% NaCl, zalewa ryżowa/ 3 dni chłodzenia plus 4 dni fermentacji w temperaturze pokojowej	Zarażanie chomików	Inaktywacja	n.s.	Fermentowane ryby (<i>pla-som</i>)	(Onsurathum i in. 2016)

n.s – nie zastosowano

Tabela 26. Wybrane czynniki inaktywujące formy dyspersyjne patogennych pasożytów w żywności morskiego pochodzenia - obróbka wysokim ciśnieniem.

Forma dyspersyjna	Warunki	Metoda oceny	Efekt końcowy	Redukcja log	Matryca	Referencje
<i>Anisakis simplex</i>						
Larwy	140 MPa; 1 h	Ocena ruchliwości i barwienie	Inaktywacja	MLL*	Okoń nilowy	(Molina-Garcia i Sanz 2002)
	150 MPa; 30 min					
	200 MPa; 10 min					
	170 MPa; 3 x 2 min					
	180 MPa; 2 x 2 min					
	190 MPa; 15 min					
	100 MPa; 5 min	Ocena ruchliwości	8% larw nadal inwazyjnych	MLL	Filet z makreli	(Brutti i in. 2010)
	200 MPa; 5 min		97% larw nie inwazyjnych			
	300 MPa; 5 min		100% inaktywacja			
<i>Cryptosporidium</i>						
Oocysty	400 MPa; 3 min	Zarażanie myszy	Redukcja inwazyjności o 40%	MLL	Ostrygi	(Collins i in. 2005)
	370 MPa; 3 min		57%			
	480 MPa; 3 min		57%			
	305 MPa; 3 min		48%			
	550 MPa; ≥3 min		≥65%			
	400 MPa; 30 sec					

MLL - mała liczba larw – nie logarytmowano

Tabela 27. Wybrane czynniki inaktywujące formy dyspersyjne patogennych pasożytów w żywności morskiego pochodzenia – napromieniowanie.

Forma dyspersyjna	Warunki	Metoda oceny	Efekt końcowy	Redukcja log	Matryca	Referencje
<i>Anisakis simplex</i>						
Larwy	3-6 kGy	Ocena ruchliwości	6 kGy : redukcja znaczna jednak część pozostaje żywa	n.s.	Solony śledź	(Mameren i Houwing 1968)
<i>Clonorchis sinensis</i>						
Metacerkarie	0.01-0.20 kGy (¹³⁷ Cs ; ⁶⁰ Co)	Zarażanie szczurów i świnek morskich	MED - 0.15 kGy; całkowita redukcja inwazyjności. LD ₅₀ na poziomie 0.05 kGy	n.s	Ryby	(Lee i in.1989)
<i>Opisthorchis viverrini</i>						
Metacerkarie	0.05-0.1 kGy (⁶⁰ Co)	Zarażanie chomików, królików i kotów	MED: 0.1 kGy	n.s	Ryby	(Sornmani i in. 1993)
<i>Paragonimus westermani</i>						
Metacerkarie	0.05-0.1 kGy (⁶⁰ Co)	Zarażanie myszy	MED : 2.5 kGy		Kraby	(Sornmani i in. 1993)

Histamina

Histamina jest aminą biogenną, powstaje w wyniku dekarboksylacji histydyny. Histamina dość często występuje w produktach żywnościowych takich jak sery, wino, ryby i przetwory rybne. Szczególnie dużo histaminy może powstać w przypadku produktów z ryb o ciemnym mięsie (makrela, tuńczyk, śledź). Spożycie produktów zawierających podwyższoną zawartość histaminy może wywołać objawy zatrucia łącznie z zejściem śmiertelnym (Wilson i in. 2012). Wymagania Komitetu Kodeksu Żywnościowego d/s Ryb i Przetworów Rybnych FAO/WHO i krajowe określają 20 mg/100g produktu rybnego jako dopuszczalną maksymalną zawartość histaminy. Zgodnie z obowiązującym Rozporządzeniem Komisji (WE) nr 2073/2005 z dnia 15 listopada 2005 r. w sprawie kryteriów mikrobiologicznych dotyczących środków spożywczych, dopuszczalne limity zawartości histaminy wynoszą:

– dla produktów z gatunków ryb o podwyższonym poziomie histydy w wprowadzanych do obrotu w ciągu przydatności do spożycia jakość zadowalająca będzie, jeśli spełnione są następujące wymogi:

1. średnia zaobserwowana wartość jest $\leq m$,
2. nie więcej niż c spośród n zaobserwowanych wartości mieści się w przedziale pomiędzy m i M,
3. żadna z zaobserwowanych wartości nie przekracza limitu M,

gdzie: n – liczba próbek, c- liczba próbek dających wartości między m a M

Dla produktów rybołówstwa, które poddano zabiegowi enzymatycznego dojrzewania w solance wyprodukowanych z gatunków ryb o podwyższonym poziomie histydy jakość niezadowalająca będzie, jeśli średnia zaobserwowana wartość histaminy przekracza m więcej niż c spośród n zaobserwowanych wartości lub co najmniej jedna z zaobserwowanych wartości jest $>M$

Tabela 28. Kryteria oceny produktów rybnych na obecność histaminy.

Rodzaj żywności	Czynnik	Plan pobierania próbek		Limity [mg/kg]		Metoda referencyjna	Etap na którym kryterium ma zastosowanie
		n	c	m	M		
Produkty rybołówstwa z gatunków ryb, u których występuje wysoki poziom histydy	Histamina	9	2	100	200	HPLC	Produkty wprowadzane na rynek w ciągu ich dopuszczalnego okresu przechowywania
Produkty rybołówstwa, które poddano w solance działaniu przyspieszającemu dojrzewanie przy zastosowaniu enzymów, wyprodukowane z gatunków ryb, u których występuje wysoki poziom histydy	Histamina	9	2	200	400	HPLC	Produkty wprowadzane na rynek w ciągu ich dopuszczalnego okresu przechowywania

Histamina w produktach rybnych z gatunków ryb, o podwyższonym poziomie histydyny:

— jakość zadowalająca, jeśli spełnione są następujące wymagania:

- 1) stwierdzona średnia wartość jest $\leq m$;
- 2) maksimum cs spośród n wartości są pomiędzy m i M;
- 3) żadna stwierdzona wartość nie przekracza M,

— jakość niezadowalająca, jeśli stwierdzone średnie zawartości histaminy przekraczają m więcej niż wartość c spośród n wartości c lub chociaż jedna z wartości jest $> M$.

4.10. Wybrane czynniki chorobotwórcze i choroby ryb

Magdalena Podolska, Katarzyna Nadolna - Alтын, Agnieszka Pękala - Safińska

Problem występowania chorób dotyczy wielu gatunków ryb, również tych o istotnym znaczeniu gospodarczym. Obecność zmian patologicznych odgrywa istotną rolę przy ocenie walorów konsumpcyjnych ryb, czego konsekwencją może być obniżenie jakości produktów rybołówstwa lub ich eliminacja z rynku. Choroby ryb stanowią nie tylko problem ekonomiczny, ale są odzwierciedleniem niekorzystnych zmian, zachodzących w środowisku Morza Bałtyckiego.

Rejestracja zewnętrznych objawów chorób ryb jest od wielu lat wykorzystywana w zintegrowanych programach monitoringu ekosystemu. Pierwsze doniesienia o występowaniu zmian patologicznych u ryb bałtyckich pojawiały się już na początku ubiegłego stulecia. W późniejszych latach rozszerzono ich zakres, uwzględniając czasowe i przestrzenne trendy występowania chorób ryb. Regularny monitoring występowania zewnętrznych objawów chorobowych u ryb jest prowadzony jedynie przez trzy kraje nadbałtyckie: Niemcy, Polskę i Rosję. Programem monitoringowym objęte są następujące gatunki ryb: dorsz *Gadus morhua*, stornia *Platichthys flesus*, zimnica *Limanda limanda*, śledź *Clupea harengus* i szprot *Sprattus sprattus*. Morski Instytut Rybacki - PIB rozpoczął obserwacje zewnętrznych zmian patologicznych u ryb bałtyckich w roku 1980 a od roku 1994 prowadzi systematyczny monitoring w tym zakresie. Metodologia stosowana w programie monitoringu realizowanym w MIR została opracowana w oparciu o zalecenia Międzynarodowej Rady Badań Morza (ICES), która zajmuje się koordynacją badań w skali międzynarodowej. Narodowe raporty o występowaniu zewnętrznych objawów chorobowych u ryb sporządzane są corocznie i przedstawiane na spotkaniach Grupy Roboczej ICES Working Group on Pathology and Diseases of Marine Organisms (WGPDMO).

Jednostki chorobowe/objawy chorobowe:

Limfocystoza:

Choroba o podłożu wirusowym, wywołana przez Iridovirus (Wolf i in. 1966). Limfocystoza w początkowym stadium infekcji objawia się powstawaniem pojedynczych drobnych guzków (białych lub różowawych) na powierzchni skóry i płetw ryb (głównie płastug) (fot. 23 i 24).



Fot. 23. Limfocystoza u storni (fot. M. Wyszyński).



Fot. 24. Limfocystoza u storni (fot. M. Wyszyński).

W zaawansowanych stadiach choroby, guzki często występują w zgrupowaniach i mogą obejmować znaczną powierzchnię ciała ryb. Limfocystoza znajduje się na liście chorób rekomendowanych przez ICES do monitoringu zmian patologicznych u ryb (Sindermann i in. 1980; Bucke 1996).

Owrzodzenia:

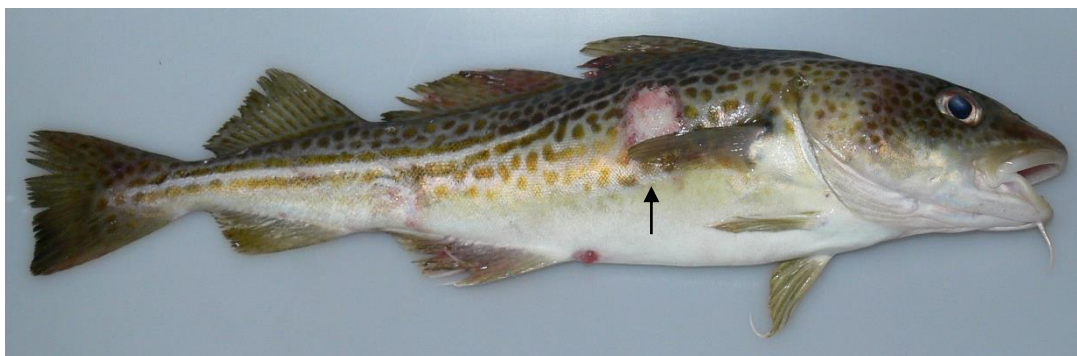
Zmiany kliniczne w postaci ubytków skóry i/lub owrzodzeń występują u wielu gatunków ryb i należą do najczęściej obserwowanych u storni (fot. 25 i 26) i dorszy bałtyckich (fot. 27-31).



Fot. 25. Owrzodzenia u storni (fot. M. Wszyński).



Fot. 26. Owrzodzenia u storni (fot. M. Wszyński).



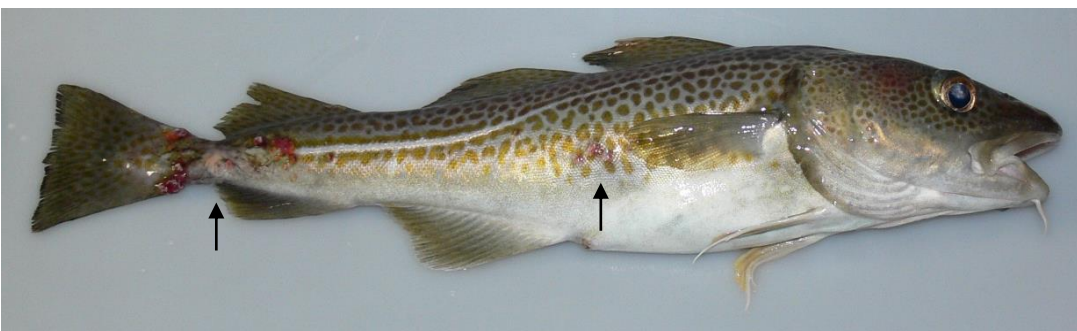
Fot. 27. Owrzodzenia u dorsza: zmiany w obrębie naskórka (fot. M. Wszyński).



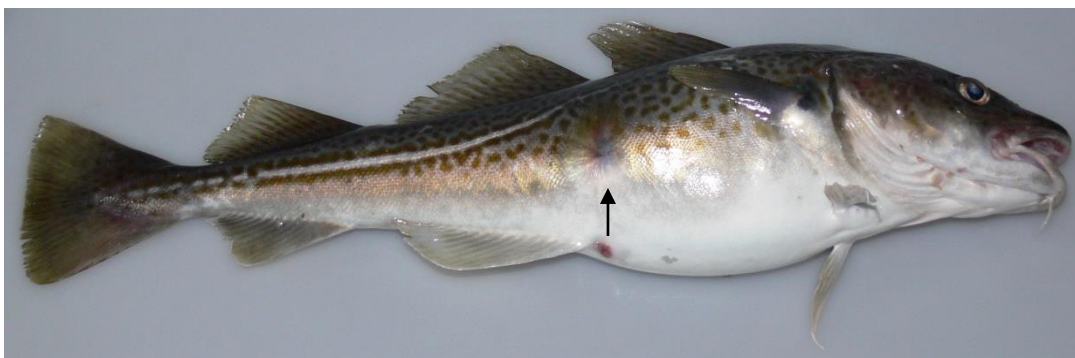
Fot. 28. Owrzodzenia u dorsza: ubytki w obrębie skóry właściwej (fot. M. Wszyński).



Fot. 29. Owrzodzenia u dorsza: ogniska martwicze i ubytki drążące w głąb mięśni (fot. M. Wszyński).



Fot. 30. Owrzodzenia u dorsza: owrzodzenie zablizniające się (fot. M. Wszyński).



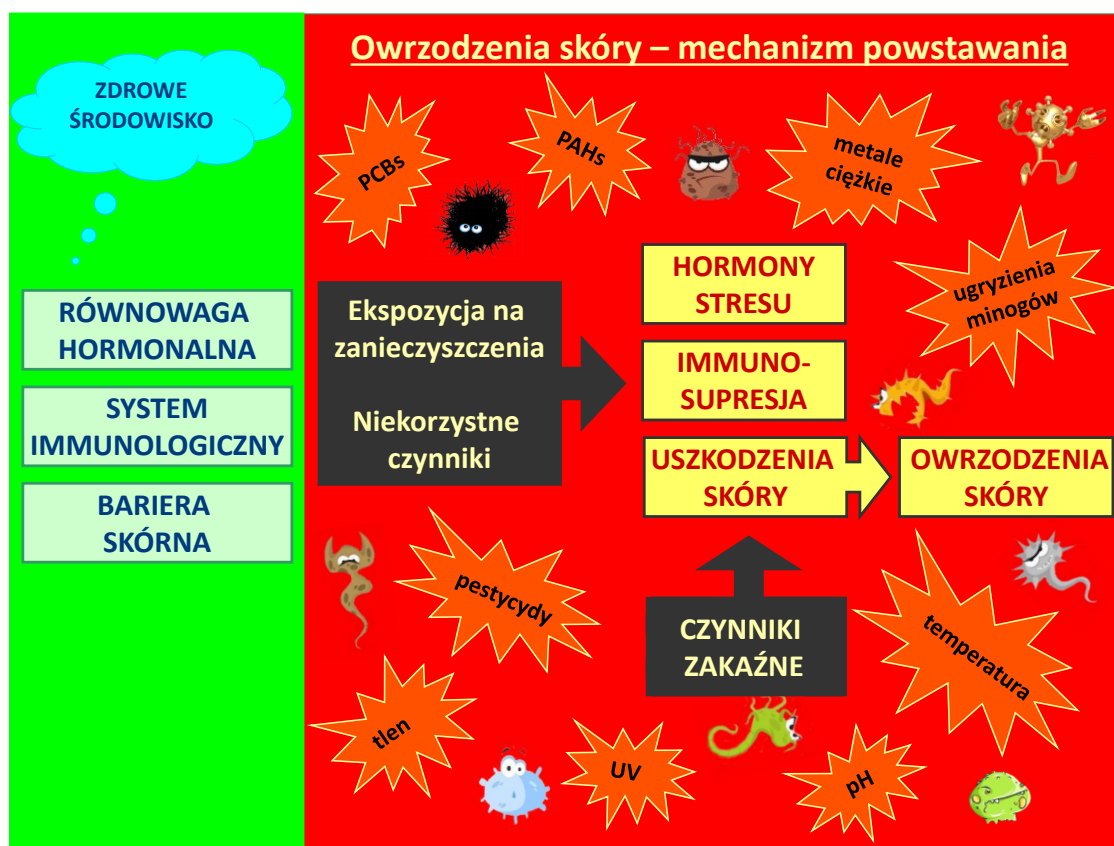
Fot. 31. Owrzodzenia u dorsza: blizna (fot. M. Wyszyński).

Owrzodzenia klasyfikowane są zgodnie z następującą skalą:

1. Obumieranie naskórka, rozpulchnienie naskórka, nastroszenie i utrata łusek, zaczerwienienie bez ran (fot. 27).
2. Ubytki w obrębie skóry właściwej (fot. 28).
3. Ogniska martwicze i ubytki drążące w głąb mięśni (fot. 29).
4. Owrzodzenia zablizniające się (fot. 30).
5. Blizna (fot. 31).

Jednym z czynników etiologicznych, prowadzących do powstania owrzodzeń u ryb są infekcje wywołane przez bakterie, najczęściej z rodzaju *Vibrio* i *Aeromonas* (Larsen i in. 1978). Badania mikrobiologiczne przeprowadzone w latach 2007 i 2008 na próbkach pobranych z owrzodzonych tkanek dorszy bałtyckich wykazały obecność bakterii reprezentujących rodziny *Pseudomonadaceae*, *Aeromonadaceae*, *Alteromonadaceae* i *Vibrionaceae*. Z kilku próbek wyizolowano *Chryseobacterium meningosepticum* i *Acinetobacter* spp., które mogą być patogenne dla ludzi (Grawiński i in. 2009). Na rozwój owrzodzeń i zmian skórnych obserwowanych u ryb może mieć wpływ również szereg innych, niezakaźnych czynników. Powstawaniu ich mogą sprzyjać m.in. niekorzystne warunki środowiska (pH, promieniowanie ultrafioletowe, zmiany zasolenia i temperatury wody). Ponadto, wtórne infekcje bakteryjne mogą rozwinąć się także w wyniku przzerwania ciągłości skóry, które ma miejsce przy uszkodzeniach mechanicznych (fot 3F), wywołanych np. przez narzędzia połowowe (Mellergaard i Bagge 1998). Wiele doniesień naukowych wskazuje, że ekspozycja na toksyczne substancje (pestycydy, wielopierścieniowe węglowodory aromatyczne - PAHs, polichlorowane

bifenyle - PCBs i metale ciężkie) może prowadzić do uszkodzenia skóry, zwiększając jej podatność na infekcje bakteryjne, wirusowe i grzybicze (Sindermann 1977; Austin 2007). Oprócz bezpośredniego działania toksycznego na skórę, substancje chemiczne mogą zaburzać równowagę hormonalną, prowadząc do nadmiernego uwalnianie glikokorykosteroidów, znanych jako „hormony stresu”. Hormony sterydowe regulują wiele procesów fizjologicznych, m. in. odpowiedź immunologiczną, której zaburzenie może sprzyjać zwiększonej podatności ryb na infekcje (Barton i Iwama 1991; Noga 2000). Schemat ilustrujący mechanizm powstawania owrzodzeń skóry u ryb przedstawiono na rys. 50. Obecność owrzodzeń u ryb jest jednym z dobrze rozpoznanych wskaźników zanieczyszczenia środowiska morskiego (Noga 2000), a monitoring występowania tego typu zmian patologicznych jest rekomendowany przez ICES (Bucke i in. 1996).



Rys. 50. Mechanizm powstawania owrzodzeń skóry u ryb.

Deformacje szkieletu obserwowane są u wielu gatunków ryb. Do najczęściej spotykanych rodzajów deformacji należą:

- karłowatość (fot. 32),

- deformacje kręgosłupa:

lordoza - łukowate wygięcie kręgosłupa w stronę brzuszną (fot. 33),

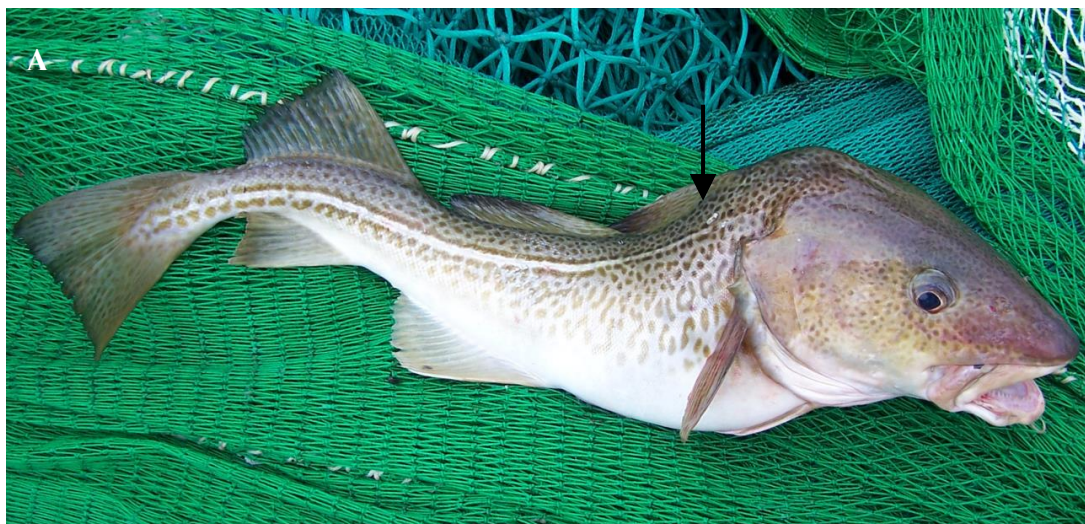
kifoza - łukowate wygięcie kręgosłupa w stronę grzbietową (fot. 34),

skrócenie trzonów kręgów (fot. 33 i 36),

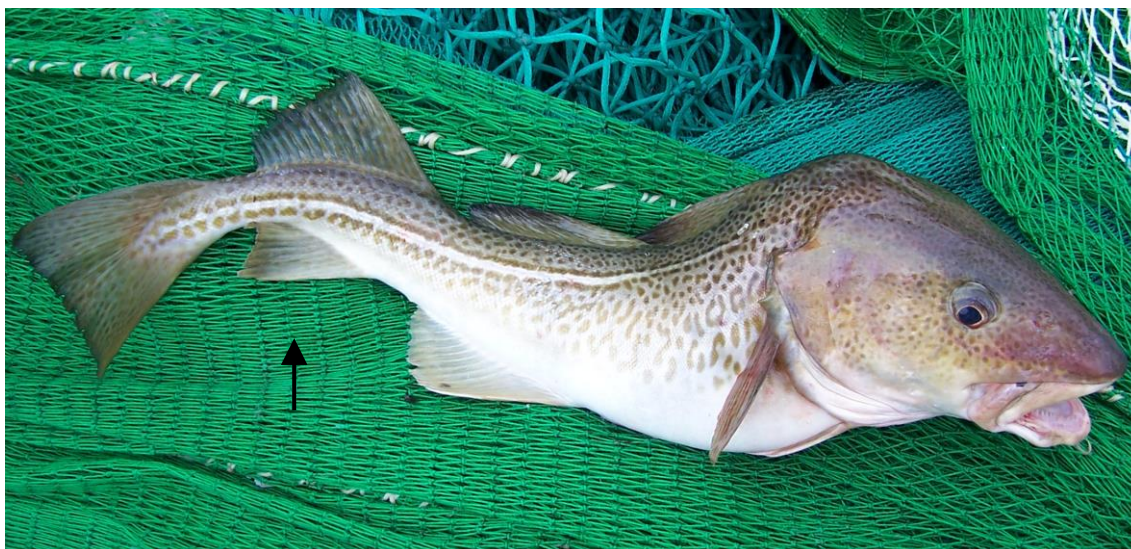
- mopsowatość – skrócenie szczęki górnej lub zuchwy (Fot. 38-40).



Fot. 32. Deformacja szkieletu (karłowatość) u dorsza (fot. M. Wszyński).



Fot. 33. Deformacje kręgosłupa u dorsza: lordoza - łukowate wygięcie kręgosłupa w stronę brzuszną (fot. M. Wszyński).



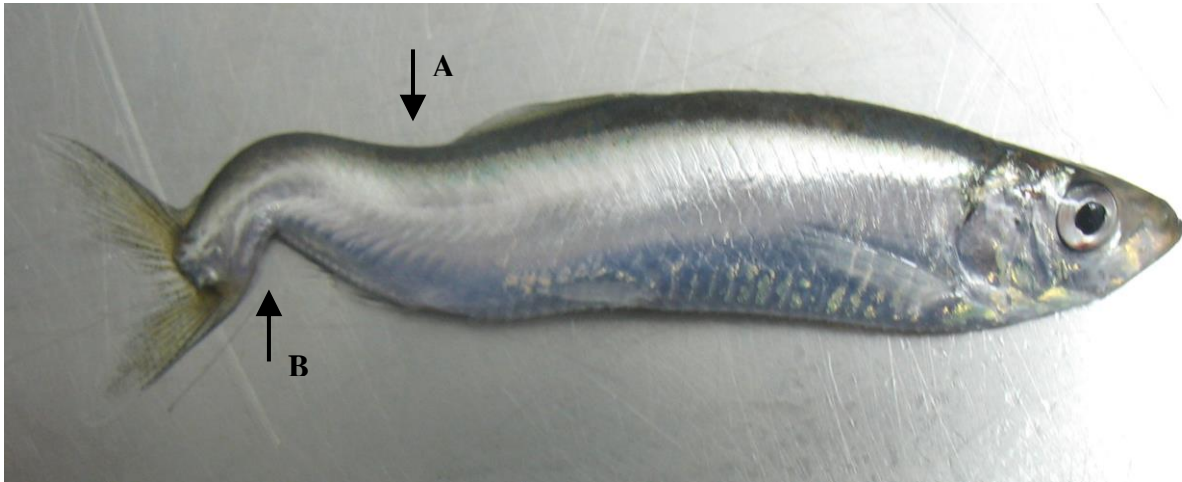
Fot. 34. Deformacje kręgosłupa u dorsza: kifoza - łukowate wygięcie kręgosłupa w stronę grzbietową (fot. M. Wszyński).



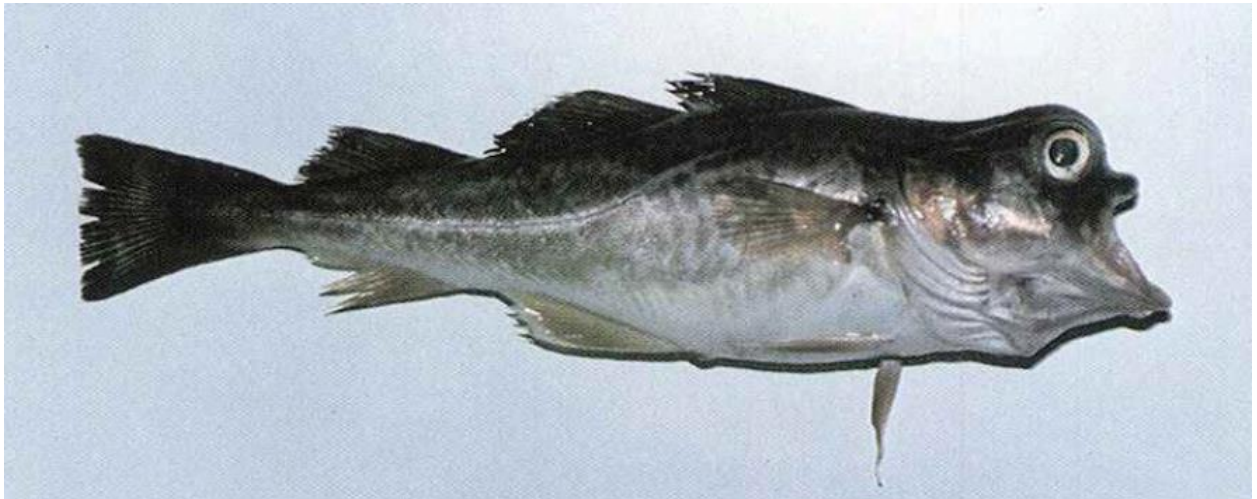
Fot. 35. Deformacje kręgosłupa u dorsza: skrócenie trzonów kręgów (fot. M. Wszyński).



Fot. 36. Deformacje kręgosłupa u dorsza: skrócenie trzonów kręgów (fot. M. Wszyński).



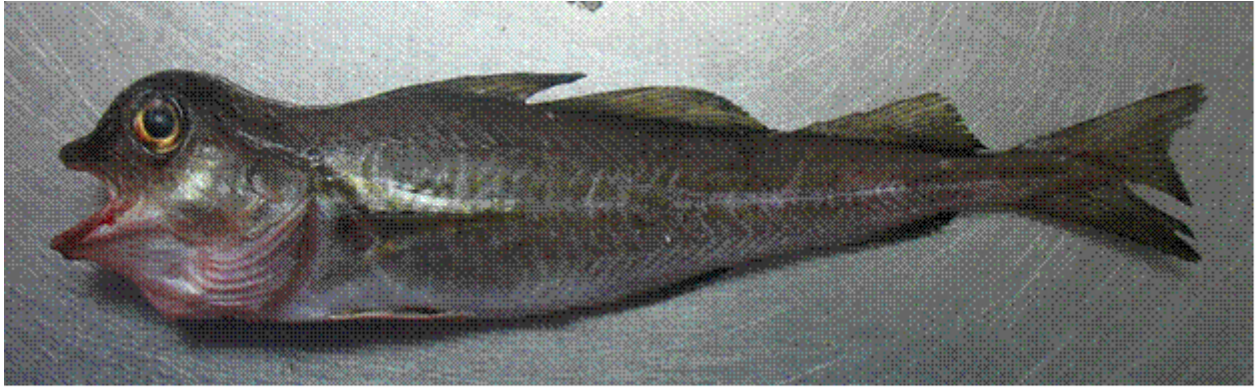
Fot. 37. Deformacje kręgosłupa u śledzia. A - lordoza - łukowate wygięcie kręgosłupa w stronę brzuszną; B - kifoza - łukowate wygięcie kręgosłupa w stronę grzbietową (fot. K. Nadolna - Altyn).



Fot. 38. Mopsowatość u dorsza (fot. M. Wyszynski).



Fot. 39. Mopsowatość u dorsza (fot. M. Wyszynski).

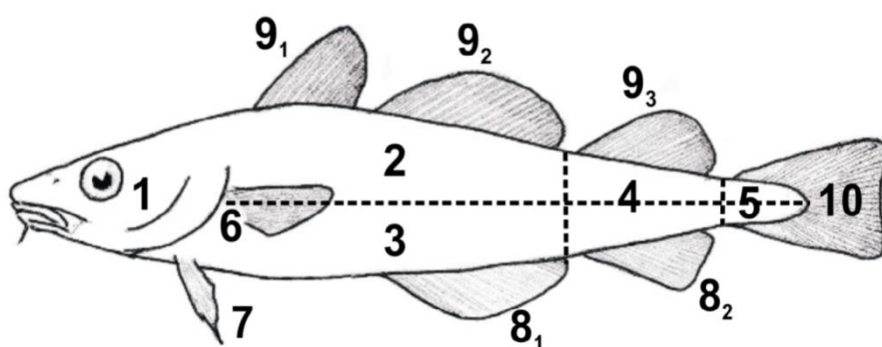
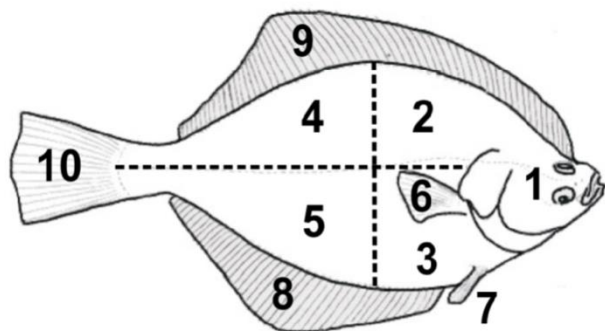


Fot. 40. Mopsowatość u dorsza (fot. M. Wyszyński).

Deformacje szkieletu mogą mieć podłoże genetyczne lub powstać we wczesnych stadiach życia ryb jako skutek niedoboru witamin i minerałów, bądź też działania niekorzystnych warunków środowiska (np. temperatury) oraz ekspozycji na zanieczyszczenia chemiczne (niektóre metale ciężkie, głównie kadm) obecne w wodzie morskiej (Lang i Dethlefsen 1994). Lang i Dethlefsen wykazali wyższą zawartość kadmu u dorszy bałtyckich z deformacjami szkieletu, w porównaniu z osobnikami rozwiniętymi prawidłowo. Obecność deformacji szkieletu u ryb jest uznawana przez wielu autorów za dobry bioindykator obecności zanieczyszczeń, zalecany przez ICES do wykorzystania w badaniach monitoringowych (Bengtsson 1979; Bucke 1996).

Procedura badania chorób ryb:

Obserwacje występowania zewnętrznych zmian patologicznych prowadzone były podczas rejsów r/v Baltica. Analizom poddawane zostały dorsze i płastugi, badane bezpośrednio po połowie (mrożenie lub chłodzenie ryb może zafałszować ocenę analizowanych zmian). Badania prowadzono w trakcie standardowych pomiarów długości ryb. Ryby zakwalifikowane jako chore, po określeniu rodzaju choroby i lokalizacji zmian według standardowego kodu (rys. 51), poddawano standardowym analizom ichtiologicznym.



Rys. 51. Schemat budowy morfologicznej ryb (plastugi, dorsz). Poszczególne partie ciała ryb oznakowano symbolami stosowanymi w monitoringu zewnętrznych zmian chorobowych.

Symbole badanych partii ciała ryb:

1 – głowa, 2 - tułów (część grzbietowa), 3 – tułów (część brzuszna), 4 - tułów (część tylna grzbietowa/przedogonowa), 5 - tułów (część tylna brzuszna/ogonowa), 6 - płetwa piersiowa (P), 7 - płetwa brzuszna (V), 8 – płetwa odbytowa (A) (1, 2 u dorsza), 9 – płetwa grzbietowa (D) (1, 2, 3 u dorsza), 10 – płetwa ogonowa (C).

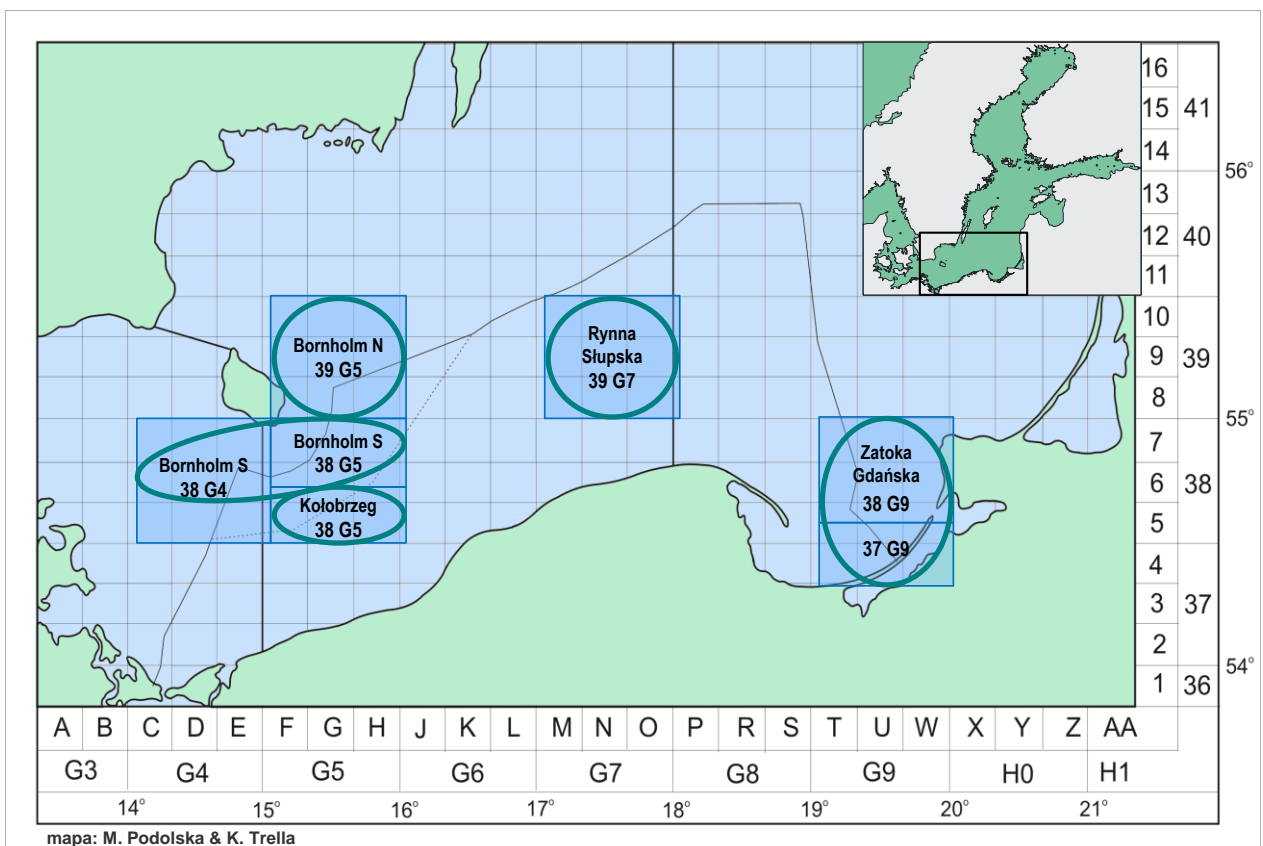
Uzyskane dane zostały zarejestrowane zgodnie z wzorcem przedstawionym poniżej z oznaczeniami kodowymi podanymi poniżej:

Zastosowane oznaczenia: Gatunek ryby: Dorsz - COD, Stornia - FLE.

Oznaczenie części ciała: Głowa - 1, Korpus ciała 2-5, Płetwy piersiowe - 6, Płetwy brzuszne - 7, Płetwa odbytowa -8, Płetwa grzbietowa -9, Płetwa ogonowa -10, Płetwa tłuszczowa -11, - Strona lewa -12, Strona prawa - 13, Góra - 14, Spód - 15

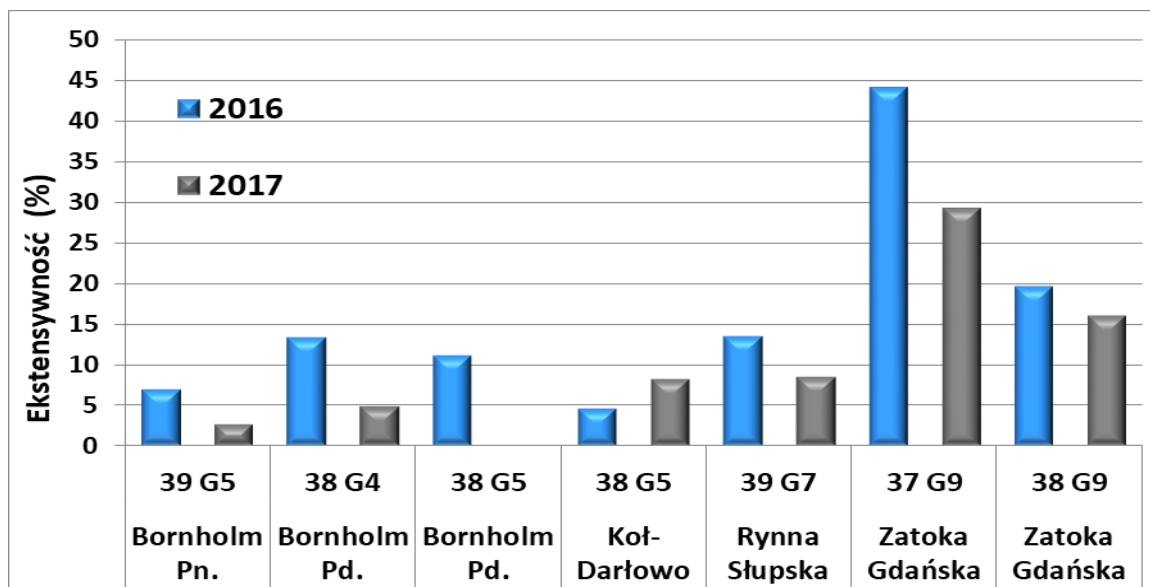
Nazwa choroby: Limfocystoza -10, Owrzodzenia 21-25 (1/ obumieranie naskórka, 2/ ubytki skóry, 3/ ogniska martwicze, 4/ owrzodzenia, 5/ blizna, Deformacje szkieletu 51-53 (1/ karłowatość, 2/ anomalie kręgosłupa, 3/ mopsowatość).

W latach 2016 - 2017 w ramach projektu SeaQual, przeprowadzono szczegółowe badania dotyczące stanu zdrowia dorsza bałtyckiego. Materiał do badań pozyskano podczas rejsów badawczych realizowanych na statku r.v. "Baltica". Badaniom poddano łącznie 1538 dorszy odłowionych w rejonie Bornholmu, Rynny Słupskiej, na łowisku kołobrzESCO - darłowskiM oraz w Zatoce Gdańskiej (rys. 52).



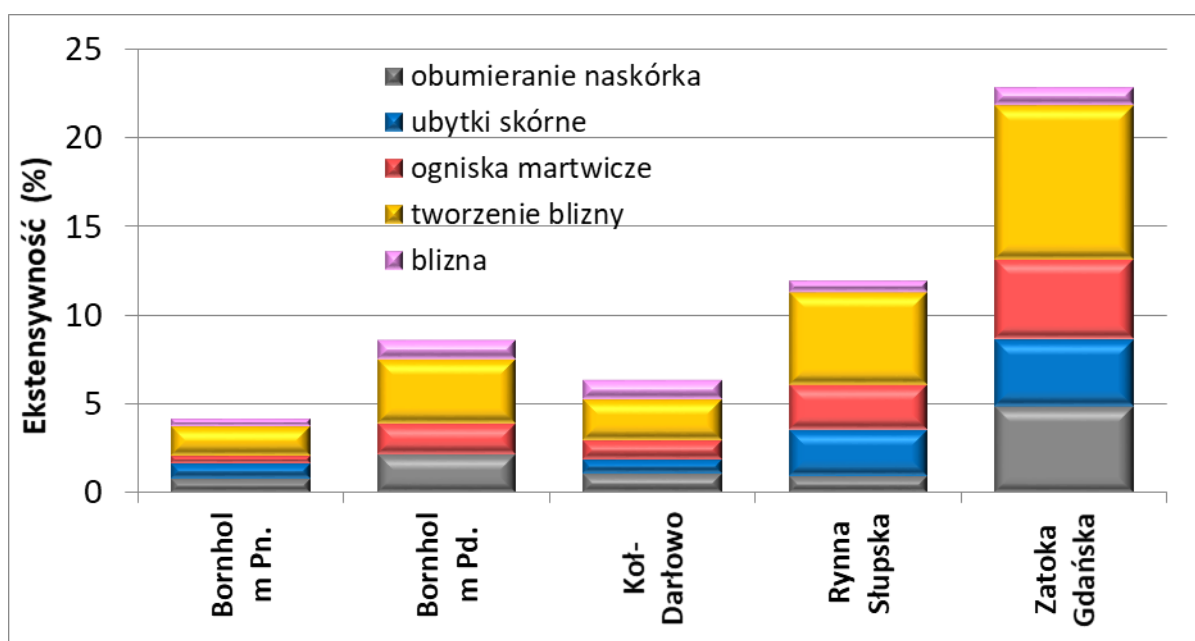
Rys. 52. Rejony połowu dorsza 2016-2017.

U badanych ryb zarejestrowano głównie owrzodzenia i deformacje szkieletu. Najczęściej notowane były owrzodzenia - ekstensywność występowania tych zmian chorobowych była najwyższa w rejonie Zatoki Gdańskiej, szczególnie w kwadracie ICES 37 G9 (rys. 53).



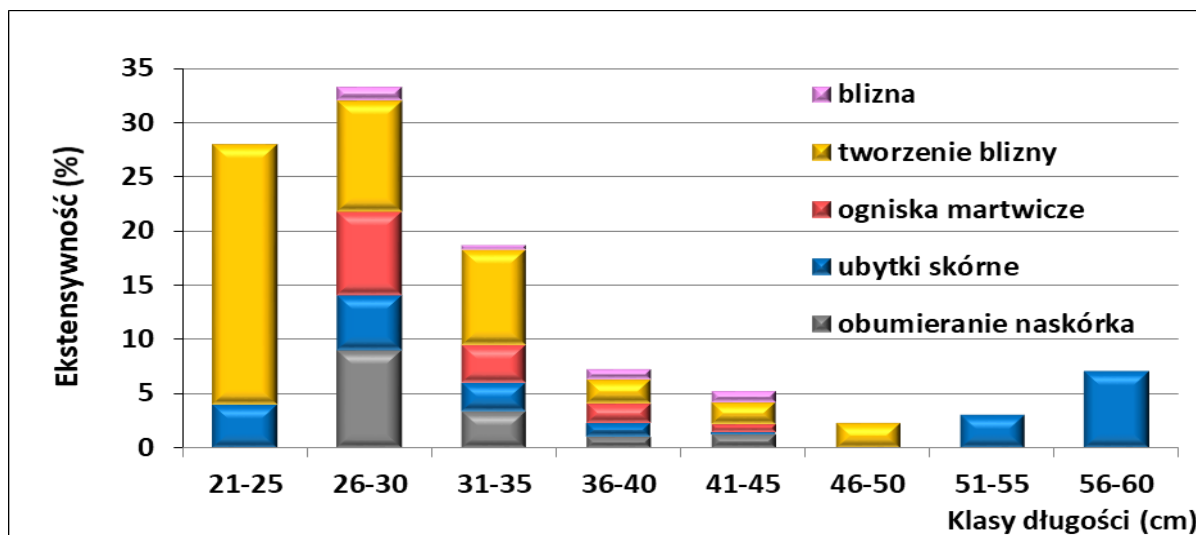
Rys. 53. Ekstensywność występowania owrzodzeń u dorszy według łowisk i kwadratów ICES.

Owrzodzenia u dorszy występowały we wszystkich stadiach (rys. 54).



Rys. 54. Stadia owrzodzeń stwierdzone u dorszy w latach 2016 - 2017 (według łowisk).

Zaobserwowano częste występowanie ognisk martwiczych (potencjalnie śmiertelnych dla ryb), szczególnie u dorszy odławianych w rejonie Zatoki Gdańskiej. Z drugiej strony, u wielu ryb notowano obecność zmian skórnych w stadium zablizniającego się oraz w stadium blizny, co wskazuje, że u niektórych osobników dochodzi do samoistnego wyleczenia. Bardzo wysoki odsetek małych dorszy (klasy długości 21 - 30) wykazywał objawy owrzodzeń, jednak większość zmian skórnych była w stadium tworzenia blizny (Rys. 55).



Rys. 55. Ekstensywność występowania owrzodzeń w klasach długości dorszy.

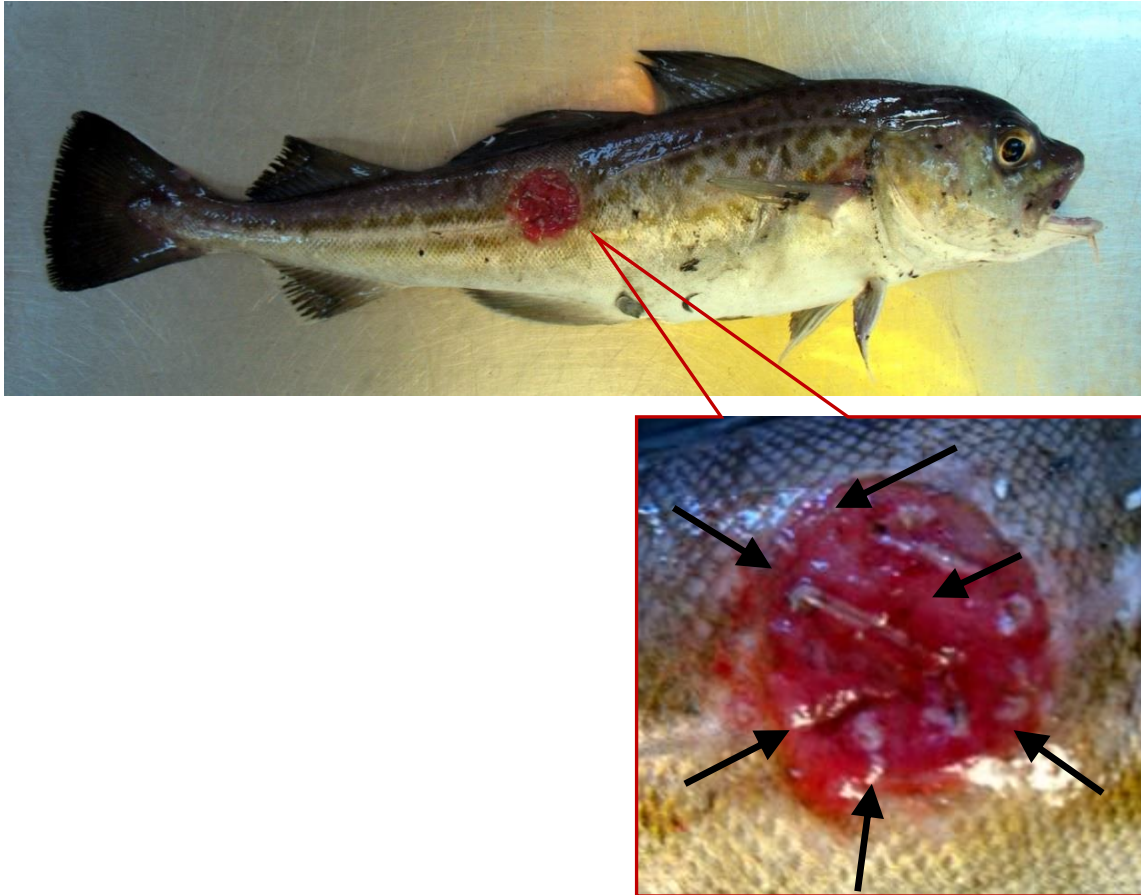
Jednym z czynników etiologicznych, prowadzących do powstania owrzodzeń u ryb są infekcje wywołane przez bakterie. Wtórne infekcje mogą rozwinąć się także w mechanicznych uszkodzeniach skóry, wywołanych np. przez narzędzia połowowe. Wyniki badań naukowych sugerują, że minogi mogą być wektorem przenoszącym (poprzez ugryzienia) florę bakteryjną na ryby. Najwyższy odsetek dorszy z owrzodzeniami wykazano w kwadracie ICES 37 G9 (Zatoka Gdańska, rejon Wisłoujścia). Podczas rejsów badawczych stwierdzono występowanie minoga rzeczno *Lampetra fluviatilis* w tym samym kwadracie. Uszkodzenia skóry u niektórych dorszy przybierały okrągły, regularny kształt. Wewnątrz rany, na jej obrzeżach, widoczne były liczne punktowe nacieki ropne (fot. 41-43).



Fot. 41. Uszkodzenie skóry dorsza (fot. Agnieszka Pękala - Safińska).



Fot. 42. Uszkodzenie skóry dorsza (fot. Agnieszka Pękala - Safińska).



Fot. 43. Uszkodzenie skóry dorsza. Wewnątrz rany widoczne punktowe nacieki ropne (fot. K. Nadolna - Altyn).

Charakterystyczny obraz tych uszkodzeń odpowiada kształtem aparatowi gębowemu minoga i sugeruje, że mogły one powstać w wyniku ugryzień (fot. 43).



Fot. 44. Otwór gębowy minoga rzeczego *Lampetra fluviatilis* z widocznymi zębami (fot. A. Lejk).

Kształt zmian skórnych (uszkodzeń z mikro owrzodzeniami) jest zupełnie inny niż otarcia powstałe wskutek uszkodzeń mechanicznych powstałych wskutek działania człowieka np. przez narzędzie połowowe (fot. 45 - 47).



Fot. 45. Mechaniczne uszkodzenia dorsza (fot. K. Nadolna - Altyn).



Fot. 46. Mechaniczne uszkodzenia dorsza (fot. K. Nadolna - Altyn).



Fot. 47. Mechaniczne uszkodzenia dorsza (fot. K. Nadolna - Altn).

4.11. Zanieczyszczenie mikrobiologiczne

Mirosław Różycki

Kolejnym czynnikiem w ocenie jakości ryb jest stopień zanieczyszczenia mikrobiologicznego. Bakterie, które znajdują się na rybach można zasadniczo podzielić na dwie grupy: patogenne dla człowieka i niepatogenne. Zasadniczo większość bakterii znajdujących na rybach jest niepatogenna dla człowieka, chociaż mogą one wpływać na szybkość rozkładu ryby po złowieniu. Bakterie niepatogenne są zwykle saprofityczną mikroflorą, która znajduje się normalnie w śluzie pokrywającym ciało ryb oraz w przewodzie pokarmowym. Bakterie te stanowią główną mikroflorę rozkładu ryb, ich obecność w sposób pośredni wpływa na jakość zdrowotną ryb i produktów rybnych, poprzez enzymatyczny rozkład aminokwasu histydyny do toksycznej histaminy. Bakterie patogenne mogą stanowić mikroflorę pochodzącą ze środowiska wodnego oraz mikroflorę, którą ryb zostają skażone w przetwórstwie. Do grupy patogennych bakterii pochodzących ze środowiska wodnego można zaliczyć bakterie z rodzaju *Clostridium botulinum*, *Vibrio* spp (*Vibrio parahaemolyticus*, *Vibrio cholerae*), *Aeromonas* spp (*Aeromonas hydrophila*), *Plesiomonas shigelloides* oraz *Listeria monocytogenes*. W przetwórstwie ryby mogą zostać dodatkowo skażone bakteriami z rodzaju: *Salmonella* spp, *Shigella* spp, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* oraz poprzednio wymienionymi.

Należy podkreślić, że ryby z widocznymi owrzodzeniami skóry i innymi zmianami patologicznymi są eliminowane już w trakcie połowu lub przygotowania do dystrybucji i nie mogą być dopuszczone do sprzedaży. Do konsumpcji publicznej mogą być przeznaczone wyłącznie ryby które nie stanowią zagrożenia dla konsumentów i spełniają odpowiednie normy higieniczne.

Ryby pozyskane w prawidłowy sposób i z niezanieczyszczonych łowisk nie stanowią zagrożenia mikrobiologicznego. Tkanka mięśniowa jest zasadniczo jałowa a skażenie następuje na dalszych etapach produkcji. Najczęstszą przyczyną dyskwalifikacji ryb i produktów rybnych jest występowanie pałeczek z grupy coli, pleśni i drożdży, gronkowców i enterokoków, co wskazuje na potrzebę poprawy warunków sanitarnych i higienicznych w przetwórstwie rybnym. Aby zwiększyć skuteczność nadzoru w higienie żywności nastąpiło przejście z systemu inspekcyjnego na system odpowiedzialności producenckiej. W zakresie higieny produkcji zgodnie z ideą nowego podejścia, odpowiedzialność za produkt ponosi producent. Odpowiedzialność ta odnosi się do produktu i warunków produkcji. Rozporządzenie Komisji (WE) nr 2073/2005 z dnia 15 listopada 2005 r. „w sprawie kryteriów mikrobiologicznych dotyczących środków spożywczych” wraz z późniejszymi nowelizacjami wprowadza pojęcie kryterium mikrobiologicznego, w odniesieniu do bezpieczeństwa żywności i do higieny procesu.

Bakterie znajdujące się na powierzchniach mających styczność z produktem od rąk i fartuchów poprzez noże, blaty, powierzchnie maszyn i narzędzi mogą stanowić źródło wtórnych zanieczyszczeń surowców, półproduktów oraz wyrobów gotowych. Zanieczyszczenie mikrobiologiczne powierzchni informuje nas o tym czy procesy mycia i dezynfekcji są skuteczne. Ze względu na to, że za końcowy produkt ponosi odpowiedzialność producent to również on sam ustala częstotliwość takiej kontroli. Wiemy, że na wynik badania wpływa wiele czynników, wiele zależy od metody badania, dlatego też do kryterium przyporządkowane są odpowiednie metody. Do badań powierzchni odnosi się Rozporządzenie Komisji (WE) nr 2073/2005 zgodnie z normą ISO 18593 (aktualnie: PN-EN ISO 18593:2018-08) pobierania próbek z powierzchni, metodą płytek kontaktowych i metodą wymazów.

Przy pobieraniu wymazów do badania stosuje się wymazówki, tampony z waty czasem odpowiednie gąbki. Zaletą metody jest możliwość pobrania próbek nawet z miejsc trudno dostępnych jak dozowniki, uszczelki czy zawory. Z powierzchni płaski próbki pobiera się stosując odpowiednie szablony o powierzchni 25 lub 100 cm². Próbki pobrane z powierzchni umieszcza się w jałowym płynie do wymazów (zwykle zbuforowana woda peptonowa). Gdy

próbki pobiera się z powierzchni które były dezynfekowane to należy pamiętać, by dodać płyny neutralizujące takie jak Tween 80, tiosiarczan sodu lub inne. Najczęściej w celu neutralizacji amin czwartorzędowych dodaje się Tween 80 lub lecytynę. Pobrane próbki należy przechowywać w temp. 4°C, próbki powinny być posiane na odpowiednie podłoża w czasie do 24h (fot. 48).



Fot. 48. Gotowe podłoża wymazowe.

W celu zabezpieczenia bakterii w czasie transportu często korzysta się z gotowych podłoży transportowych takich jak CultureSwab™ czy Transwab®.

Wadą badań mikrobiologicznych w ocenie czystości jest długotrwałość procedury badawczej, wyniki badań uzyskuje się często po 48h od pobrania próbek.

Ogólna liczba drobnoustrojów (OLD):

Kryterium to wskazuje na ogólny stan mikrobiologiczny produktu. Ogólna liczba bakterii nie wskazuje bezpośrednio na zagrożenia związane z zanieczyszczeniami produktu mikroflorą patogenną, lecz w wielu przypadkach pośrednio informuje o jego jakości, przewidywanej trwałości czy zanieczyszczeń powstałych po procesie obróbki termicznej. Wykonując badania w kierunku ogólnej liczby bakterii należy mieć na uwadze, iż skład podłoża oraz temperatura inkubacji mogą mieć wpływ na liczbę wyrosłych kolonii. Ogólna liczba drobnoustrojów (OLD) związana jest ze stanem sanitarnym zakładu, dobrym wskaźnikiem oceny skuteczności mycia i dezynfekcji jest OLD jednak ze względu na czasochłonność często badanie to zastępuje się testami szybszymi opartymi na reakcjach biochemicznych związanych z obecnością białek lub ATP.

Mając na uwadze potrzeby producentów wg Rozporządzenia Komisji (WE) nr 2073/2005 przedsiębiorca sektora spożywczego ma możliwość stosowania innych szybkich metod alternatywnych, pod warunkiem uzyskania wyników równoważnych. Metody te

określane jako alternatywne umożliwiają określenie stopnia zanieczyszczenia z pominięciem badań hodowlanych. Zwykle znajdują tu zastosowanie metody oparte na oznaczaniu stężenia ATP (adenozynotrójfosforan). Adenozynotrójfosforan jest magazynem energii wszystkich żywych komórek w tym komórek bakteryjnych. Obecność ATP świadczy o obecności różnych zanieczyszczeń organicznych. W tym ujęciu metody alternatywne są nawet dokładniejsze niż metody hodowlane. W reakcji luminescencji substrat - lucyferyna utlenia się w obecności oksydazy (lucyferazy). W wyniku reakcji powstaje oksylucyferyna, posiadająca podwyższony stan energetyczny, jest on jednak nietrwały i oksylucyferyna wraca do niższego stanu energetycznego, emitując światło. Pomiar emisji światła umożliwia określenie stanu czystości. Przy korzystaniu z tego typu urządzeń dobrze jest ustalić tzw. „tło oznaczenia”, wynikające z rodzaju surowca czy badanej powierzchni.

W badaniach czystości stosuje się również inne testy m.in. oparte na oznaczaniu: NAD(P). Niezależnie od wybranej metody należy mieć na uwadze, że alternatywne metody wymagają walidacji.

W tabeli poniżej przedstawiono wybrane testy do oceny skuteczności mycia i dezynfekcji.

Tabela 29. Przykładowe testy i zestawy do oceny skuteczności mycia i dezynfekcji.

Test	Określa w oparciu o	Metoda	Całkowity czas wykonania testu	Dostawca
AssureSwab	Pozostałości białkowe	Reakcja chemiczna	10 min.	Biocontrol Systems, Inc.
BIOPROBE®	Bakteryjne i mięśniowe ATP	ATP Bioluminescencja	1 min.	Contamination Sciences LLC
Hy-Lite® ATP Hygiene Monitoring System	Bakteryjne i mięśniowe ATP	ATP Bioluminescencja	2 min.	Neogen Corporation
Lightening™	Bakteryjne i mięśniowe ATP	ATP Bioluminescencja	11 sek.	IDEXX Laboratories, Inc.
PocketSwab with Charm LUM-T Meter	Bakteryjne i mięśniowe ATP	ATP Bioluminescencja	30 sek.	Charm Sciences, Inc.
SystemSure	Bakteryjne i mięśniowe ATP	ATP Bioluminescencja	2 min.	Becton Dickinson Microbiology Systems

Bakterie z grupy coli

W skład tej grupy wchodzi tlenowe oraz fakultatywne beztlenowce rozkładające glukozę z wytworzeniem gazu w czasie 4h/35°C. W skład grupy wchodzi ponad 20 gatunków łącznie z *Escherichia coli*. Bakterie te uważane są za jeden z głównych wskaźników stanu sanitarno-higienicznego, a zwłaszcza zanieczyszczeń kałowych. Bakterie te stanowią niejako indyktor ryzyka zakażenia innymi enteropatogennymi bakteriami. Wraz z rozwojem wiedzy dotyczącej tej grupy bakterii ustalono podział na bakterie z kałowe z grupy coli i bakterie niezwiązane z przewodem pokarmowym. W celu odróżnienia bakterii kałowych od innych form stosuje się test fermentacji laktozy na podłożu EC w temperaturze 44,5°C. Bakterie kałowe z grupy coli rozkładają laktozę z wytworzeniem gazu. Wynik pozytywny tego testu wskazuje na powinowactwo bakterii do środowiska panującego w przewodzie pokarmowym zwierząt. *E. coli* jest bakterią wchodzącą w skład normalnej mikroflory przewodu pokarmowego wszystkich zwierząt stałocieplnych. Z reguły bakterie te nie stanowią zagrożenia dla zdrowia. Niekiedy jednak zdarza się, że układ ten zostaje zachwiany i bakterie te stają się patogenami (Pomykała i in. 2012). Z roku na rok rośnie rola niektórych serotypów *E. coli* jako czynnika etiologicznego zatruc i zakażeń pokarmowych. Szczególnie istotną rolę w tym zakresie spełniają serotypy przynależne do grupy tzw. enterokrwotocznych (EHEC wywołujące krwotoczne zapalenie jelita grubego), w tym zwłaszcza zdolne do wytwarzania verocytotoksyn VT1 i/lub VT2 (verocytotoksyczne - VTEC), których najlepiej rozpoznany przedstawicielem jest serotyp określany jako O157:H7. U osób zarażonych *E. coli* O157:H7 mogą rozwinąć się groźne dla życia powikłania w postaci - krwotocznego syndromu uremicznego (HUS - haemolytic uremic syndrome), krwotocznego zapalenia jelita grubego (HC - haemorrhagic colitis), małopłytkowej plamicy zakrzepowej (TTP - thrombotic thrombocytopenic purpura), czasami prowadzące do zgonu. Inne serotypy *E. coli* odpowiedzialne są za zachorowania o przebiegu podobnym do shigellozy (EIEC), choroby podróżnej oraz biegunek niemowląt (ETEC i EPEC).

W zasadzie prawidłowo prowadzony proces obróbki cieplnej a następnie składowanie żywności w temperaturze poniżej 4,4°C zabezpiecza żywność przed namnożeniem tych bakterii. Poniżej przedstawiono niektóre czynniki ograniczające wzrost *E. coli* i *E. coli* O157H7 w żywności.

Tabela 30. Wybrane czynniki ograniczające wzrost *E. coli*

Czynnik	Wartość	Referencje
Min. a _w	0,95	(Padhye i Doyle 1992)
Min. pH	4,0	
Max. pH	9,0	
Max. %NaCl	6,5	
Min. temp.	7,0°C	
Max. temp.	49,4°C	

Tabela 31. Oporność cieplna *E. coli* O157:H7.

Temp. (°C)	Wartość D (min.)	Środowisko	Referencje
57.2	270	Mielona wołowina	(Padhye i Doyle 1992)
60.0	45	Mielona wołowina	
62.8	24	Mielona wołowina	
64.3	9.6	Mielona wołowina	

Listeria monocytogenes

L. monocytogenes bakterie z grupy listeria są szeroko rozpowszechnione w przyrodzie.

Środowisko wodne wykazuje stosunkowo duże zanieczyszczenie tymi bakteriami od 35% do 80%. Spośród listerii patogenne są dla człowieka i zwierząt *L. monocytogenes*. Stosunkowo często, bo w 25% przypadków stwierdzano *L. monocytogenes* w hodowlach pstrągów, wędzarniach itd. Bakterie te są bardzo odporne na wpływ środowiska, dobrze znoszą chłodzenie mrożenie, a nawet obróbkę termiczną pomimo, że nie wytwarzają spor (Gambarin i in. 2012).

Tabela 32. Czynniki ograniczające wzrost *Listeria monocytogenes*.

Czynnik	Wartość	Referencje
Min. a _w	0,92	(Embarek 1994)
Min. pH	4,4	
Max. pH	9,4	
Max. %NaCl	10	
Min. temp.	-0,4°C	
Max. temp.	45,0°C	

Na ogół uważa się, że niskie koncentracje tych bakterii do 10 komórek/g mogą być tolerowane w żywności, ze względu na powszechność ich występowania raczej trudno przyjąć limit zerowy. Dawka infekcyjna dla *L. monocytogenes* nie została jeszcze dokładnie ustalona, jednak uważa się, że wynosi ona w granicach 1000 komórek. Głównymi źródłami zakażenia oprócz ryb i ostryg surowych, ryb półsurowych i wędzonych są mleko surowe i pasteryzowane, sery z mleka niepasteryzowanego, lody, surowe warzywa, wyroby mięsne surowe fermentowane, wyroby mięsne typu metka. Większość osób przechodzi zakażenie bezobjawowo (Jordan i in. 2015). Jeśli jednak dojdzie do zakażenia może ono mieć ciężki przebieg. Zakażenia *L. monocytogenes* mogą przebiegać w postaci: zapalenia opon mózgowych (śmiertelność do 70%), posocznica „sepsa” (śmiertelność 50%), zakażenia prenatalne noworodków (śmiertelność ponad 80%).

Salmonella

Bakterie należące do tej grupy są przyczyną najczęściej występujących poważnych zatruc pokarmowych. W środowisku naturalnym bakterie te znajdują się w przewodach pokarmowych ssaków, ptaków, płazów, gadów. Nie występują w rybach, skorupiakach czy mięczakach. Ryby mogą zostać skażone bakteriami z grupy salmonella poprzez zrzuty ścieków komunalnych, bądź jako zakażenie wtórne podczas obróbki po odłowieniu. Zakażenia salmonellami produktów rybnych spotykane są w zakładach o niskim poziomie sanitarno higienicznym w których nie przestrzega się zasad Dobrej Praktyki Produkcyjnej (Jahncke 2016). Zakażenia tymi bakteriami mają przebieg ciężki. Wymioty nudności, bóle brzucha, biegunki, gorączka oraz bóle głowy dominują w ostrej postaci choroby. W postaci przewlekłej najczęściej spotyka się zapalenie stawów lub bezobjawowe nosicielstwo. Dawka infekcyjna jest bardzo niska i już kilka bakterii 15-20 może wywołać objawy chorobowe (Barralet i in. 2004).

Zapobieganie zakażeniom polega na prawidłowej obróbce cieplnej a następnie składowaniu w temperaturze nie wyższej niż 4°C, zapobieganiu zakażeniom wtórnym produktu, niedopuszczenia do styczności z produktem ludzi którzy są chorzy lub są nosicielami. W Polsce i większości krajów na bakterie Salmonella w żywności obowiązuje limit zerowy tzn. że bakterie te muszą być nieobecne w 25 g produktu.

Staphylococcus aureus

Gronkowiec *Staphylococcus aureus* jest kulistą bakterią układającą się w obrazie mikroskopowym w charakterystyczne grona, pary, łańcuszki. Głównym rezerwuarem gronkowców są ludzie i zwierzęta. Bakterie te znajdują się na skórze, włosach, w gardle u 50% populacji ludzi zdrowych. Gronkowce występują w ziemi, kurzu, ściekach odpadach. Gronkowiec złocisty jest jedną z bardziej odpornych bakterii na brak wody w podłożu (Simon i Sanjeev 2007). Bakterie te mogą namnażać się w takich warunkach w których inne bakterie patogenne nie rozwijają się. Bakterie te rozwijając się np. w produktach typu ryby solone, są zdolne do rozkładu naturalnych azotanów i produkcji karcynogennych nitrozamin. Gronkowce mogą produkować termostabilną enterotoksynę (Moon i in. 2017). Dawka infekcyjna enterotoksyny gronkowcowej wynosi poniżej 1 µg i produkowana jest przy poziomie zakażenia żywności bakteriami *S. aureus* w 10⁵/g. Objawy zatrucia enterotoksyną gronkowcową pojawiają się zwykle w czasie od 30 min do 6h po spożyciu żywności zawierającej toksynę. Do głównych objawów chorobowych należą wymioty, bóle brzucha, gwałtowne zmiany ciśnienia krwi, którym towarzyszą bóle głowy. Objawy te ustępują po około 6- 10 h w niektórych przypadkach powrót do zdrowia następuje po 2 dniach.

Zapobieganie zakażeniom polega na przestrzeganiu warunków produkcji, unikaniu zbędnych przestojów (zaburzenia cyklu produkcyjnego czas/temperatura) oraz wykluczeniu z produkcji osób które są nosicielami *S. aureus*.

Clostridium perfringens

C. perfringens jest jednym z najbardziej rozpowszechnionych w przyrodzie beztlenowców. Drobnoustroje te są szeroko rozpowszechnione w środowisku naturalnym, mogą być izolowane z gleby, wody i są często występującą mikroflorą przewodu pokarmowego zwierząt. Ze względu na swe zdolności wzrostu w warunkach beztlenowych, aktywność biochemiczną oraz ciepłooporność przetrwalników drobnoustroje te łatwo przeżywają procesy technologiczne stosowane w przemyśle mięsny i często występują w produktach mięsnych. Optymalnymi warunkami wzrostu dla *C. perfringens* są temperatura 43-45°C, pH 7,2-7,4 oraz niski potencjał oksydo-redukcyjny. W etiologii zatruc pokarmowych u ludzi *C. perfringens* odgrywają znaczną rolę i są uznawane za jeden z trzech głównych czynników powodujących zatrucia u ludzi po salmonelli i gronkowcach (Sabry i in. 2016).

Objawy zatrucia występują zwykle w 8-24 h od chwili spożycia pokarmu zawierającego w dużej liczbie bakterie *C. perfringens*. Zatrucie przebiega wśród typowych objawów. Objawy

zatrucia ustępują zwykle po 24 h, bardzo rzadko u osób starszych lub wrażliwych objawy mogą się utrzymywać przez okres 2-tyg. Śmiertelne zatrucia na tle *C. perfringens* obserwuje się bardzo rzadko. Dawka infekcyjna dla *C. perfringens* wynosi ok. 10^8 komórek bakteryjnych. Produkcja enterotoksyny związana jest bezpośrednio z procesem sporuklacji (Nakamura i Kelly 1968). Diagnostyka zatruc pokarmowych na tle *C. perfringens* polega na wywiadzie oraz wykryciu enterotoksyny w kale. By zmniejszyć do minimum ryzyko namnożenia *C. perfringens* należy przestrzegać kilku zasad dotyczących obróbki cieplnej produktów:

Produkty poddane obróbce cieplnej powinny być jak najszybciej (w czasie 2-3 godzin) schłodzone do temp. poniżej 10°C.

Produkty przeznaczone do spożycia na gorąco mogą być przechowywane w temperaturze co najmniej 60°C.

Produkty zamrożone lub schłodzone, bezpośrednio przed podaniem na gorąco powinny być podgrzane do uzyskania temp. wewnątrz produktu co najmniej 75°C.

Należy unikać rozmrażania lub przetrzymywania przechowywania produktów w temp. pokojowej.

Przestrzegać zasad higieny, w zakładach produkcyjnych nie powinno dochodzić do kontaktu żywności poddanej obróbce cieplnej z produktami surowymi.

Powierzchnie na których przeprowadza się wszelkie operacje związane z żywnością muszą być wolne od zanieczyszczeń ziemią czy kurzem.

Tabela 33. Wybrane czynniki ograniczające wzrost *C. perfringens*.

Czynnik	Wartość	Referencje
Min. a_w	0.93	(Talukdar i in. 2016)
Min. pH	5.0	
Max. PH	9.0	
Max. %NaCl	7	
Min. temp.	10°C (50°F)	
Max. temp.	52°C (125°F)	

Bacillus cereus

Zakażenia żywności tą bakterią są spotykane stosunkowo często i dotyczą wszystkich grup żywności. Laseczki *B. cereus* są często spotykane w glebie, na warzywach, żywności surowej, a nawet poddanej obróbce termicznej. Do zatruc dochodzi zwykle po spożyciu żywności poddanej obróbce termicznej, a następnie przetrzymywanej przez kilka godzin bez prawidłowo prowadzonego procesu schładzania. Zatrucia obserwuje się, gdy poziom *B. cereus* osiągnie ok. $10^6/g$. Typowy przebieg zatrucia jest następujący: po 4 - 16 h od chwili spożycia pokarmu pojawiają się bóle brzucha i biegunki, objawy te mogą utrzymywać się do 24 h (Schmitt i in. 1976). Przebieg zatrucia może być odmienny. W drugim typie zatrucia dominującymi objawami są ostre bóle brzucha, wymioty (brak biegunki) oraz bóle głowy. Czas inkubacji wynosi od 1 do 5 h (Osimani i in. 2018).

Metody zapobiegania zatruciom na tle *B. cereus*.

Należy unikać zbędnego przetrzymywania potraw w temp. pokojowej.

Starać się by posiłki były przygotowywane bezpośrednio przed spożyciem.

Po przygotowaniu posiłku należy go w miarę szybko schłodzić do temp. ok. $7,5^{\circ}C$.

Unikać schładzania dużych porcji, gdyż w ich centrum termicznym temperatura optymalna dla wzrostu *B. cereus* może się utrzymywać przez długi czas.

Produkty przed spożyciem podgrzewać w miarę szybko.

Tabela 34. Czynniki ograniczające wzrost *B. cereus*.

Czynnik	Wartość	Referencje
Min. a_w	0.92	(Bennett i Harmon 1988)
Min. pH	4.3	
Max. PH	9.3	
Max. %NaCl	18	
Min. temp.	$4^{\circ}C$	
Max. Temp.	$5^{\circ}C$	

Vibrio cholerae

Przecinkowiec cholery jest plejomorficzną pałeczką często przyjmującą postać przecinka, posiadającą jedną rzęskę na biegunie. Przecinkowiec cholery jest związany z organizmem człowieka i występuje w przewodzie pokarmowym u osób chorych i nosicieli. Obecność tych bakterii w wodzie jest skutkiem wydalania ich z organizmu człowieka. Mogą one znajdować się w różnych wodach lądowych oraz w przybrzeżnych wodach morskich (Kotlarska i in. 2018). Mimo dotychczasowych poglądów, że przecinkowiec cholery nie wzrasta w warunkach środowiska wodnego, sądzi się jednak, że niszą ekologiczną tych bakterii może być pancerz chitynowy zwierząt. Potwierdzeniem tej hipotezy jest fakt, że przecinkowiec cholery absorbuje się i wzrasta na chitynie, którą rozkłada wytwarzając chitynazę. Do zakażenia dochodzi zwykle po wypiciu wody lub zjedzeniu pokarmu zanieczyszczonego tą bakterią. Okres wylęgania choroby trwa zwykle od 1 do 5 dni (Kam i in. 1995). Objawy chorobowe wywołane przez przecinkowca *Vibrio cholerae* charakteryzują się niezmiernie obfitą biegunką, wymiotami, krańcowym odwodnieniem, skąpomoczem lub nawet w ciężkich przypadkach bezmoczem, śmierć następuje w wyniku odwodnienia i zapaści. Przecinkowiec cholery jest bardzo wrażliwy na działanie soku żołądkowego i dopiero jego neutralizacja przez np. wysokobiałkowy pokarm może doprowadzić do wystąpienia choroby. Szczególnie wrażliwa na zachorowania jest grupa ludzi, którzy przeszli operację żołądka, resekcję żołądka, biorą leki na nadkwasotę lub cierpią na niedokwasotę, ponadto ludzie z grupą krwi 0. Drobnoustrój ten wytwarza toksynę, która pod wieloma względami przypomina ciepłochwiejną toksynę TL enterotoksycznych szczepów *E. coli*.

Vibrio paraheamolyticus

Vibrio paraheamolyticus jest halofilnym drobnoustrojem związanym ze środowiskiem morskim bardzo szeroko rozpowszechnionym. Obecność *V. paraheamolyticus* stwierdzono w osadach dennych, rybach i skorupiakach w Europie Azji i Australii. Objawy chorobowe wywoływane są przez hemolityczne szczepy *V. paraheamolyticus*. Do głównych objawów chorobowych należą ostre bóle brzucha, nudności, biegunka, gorączka w ciężkich przypadkach w kale występuje domieszka krwi i śluzu (Semenza i in. 2017).

Zagrożenia związane z procesem technologicznym

Marynaty w zależności od technologii dzieli się na zimne, gotowane i smażone. W marynatach, przerwach i rybach solonych głównym czynnikiem hamującym wzrost mikroflory jest zmiana pH, zmniejszenie a_w a w zależności od technologii obróbka cieplna. Zagrożeniem w tego typu produktach jest możliwość namnażania *C. botulinum* z wytworzeniem toksyny.

Tabela 35. Współwystępowanie bakterii *Vibrio* wraz z innymi objawami klinicznymi.

Bakteria	Objawy kliniczne				
	Gastroenteritis	Wrzody	Zapalenie ucha	Pierwotne zakażenie krwi	Wtórne zakażenie krwi
<i>V. cholerae</i> O1	+++	+			
<i>V. cholerae</i> non-O1	+++	++	+	+	+
<i>V. mimicus</i>	++		+		
<i>V. fluvialis</i>	++				
<i>V. parahaemolyticus</i>	+++	+	+		+
<i>V. alginolyticus</i>	(+)	++	++	+	
<i>V. cincinnatiensis</i>				+	
<i>V. hollisae</i>	++			+	
<i>V. vulnificus</i>	+	++		++	++
<i>V. furnissii</i>	(+)				
<i>V. damsela</i>		++			
<i>V. metschnikovii</i>	(+)			(+)	
<i>V. carchariae</i>		+			

+++ = stosunkowo często, ++ = 6-100 przypadków; + = 1-5 przypadków, (+) =

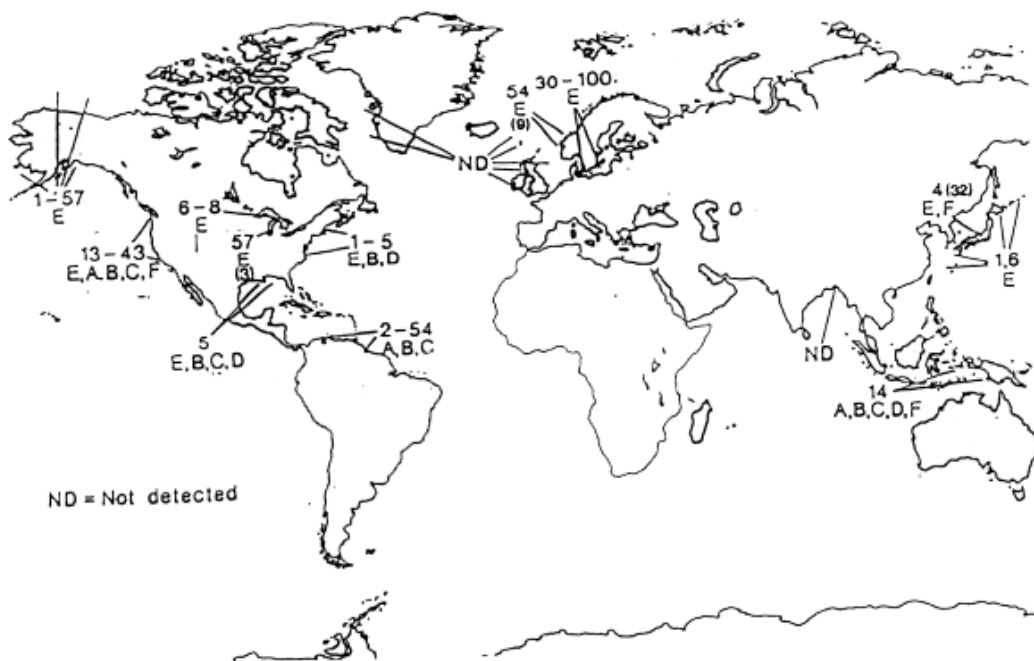
Współwystępowanie nie w pełni wyjaśnione (Pavia i in. 1989)

Tabela 36. Zagrożenie: *C. botulinum* - wytworzenie toksyny botulinowej.

Czynnik bakteryjny	Min. a _w	Min. pH	Maks. pH	Maks. % sól	Min. temp.	Maks. temp.	Wymagania tlenowe
<i>Clostridium botulinum</i> , typu A i proteolityczne B i F	0.935	4.6	9	10	10°	48°C	Beztlenowe**
<i>Clostridium botulinum</i> , typu E i nieproteolityczne B i F	0.97	5	9	5	3.3°	45°C	Beztlenowe**

Tabela 37. Czynniki limitujące wytwarzanie toksyny botulinowej - temperatura i czas ekspozycji.

Czynnik bakteryjny	Temperatura produktu	Maksymalny łączny czas ekspozycji
Wytwarzanie przetrwalników, wzrost i produkcja toksyny <i>Clostridium botulinum</i> typu A, i proteolityczne B i F	10-21°C około 21°C	12 h 4 h
Wytwarzanie przetrwalników, wzrost i produkcja toksyny <i>Clostridium botulinum</i> typu E, i nieproteolityczne B i F	3.3-10°C 11-21°C około 21°C	24 h 12 h 4 h



Rys. 56. Obszary występowania *C. botulinum* (FAO).

Ryby suszone

Suszenie ryb jest jedną z najstarszych technik utrwalania żywności. Czynnikiem utrwalającym jest niskie a_w – 0,85 czasem z dodatkiem soli. W tabelce poniżej przedstawiono typową mikroflorę

Produkty rybne pasteryzowane

Pasteryzacja jest procesem termicznym polegającym na ogrzewaniu surowca lub półproduktu do temperatury nie przekraczającej 100°C . Najczęściej mianem tym określa się produkty poddane obróbce w zakresie $65\text{--}85^{\circ}\text{C}$. W temperaturze tej bakterie chorobotwórcze zostają zniszczone a produkt staje się trwalszy i bezpieczniejszy. Często produkt zakwasza się do pH 4 co dodatkowo wydłuża jego trwałość. Cele pasteryzacji to podniesienie bezpieczeństwa produktu, wydłużenie trwałości produktu, eliminacja spor *C. botulinum* typu E oraz nieproteolitycznych typu B i F i innej patogennej mikroflory.

Zagrożenia związane z procesem pasteryzacji to:

Możliwość przeżycia bakterii patogennych w obecności braku hamującego wzrostu mikroflory zepsucia. Możliwość rekontaminacji w procesie chłodzenia. Długa trwałość pozwala na powolne namnażanie mikroflory.

Tabela 38. Przykłady występowania mikroflory w zależności od środowiska i pozyskania.

Drobnoustrój	Występowanie	Poziomy skażenia
<i>C. botulinum</i>	Wody zimne i arktyczne	Z reguły niski (<0.1przetrawnika/g ryby) niekiedy może dochodzić do 5.3/przetrawnika / g
Chorobotwórcze <i>Vibrio:</i> <i>V.cholerae</i> <i>V.paraheamoliticus</i> <i>V.vulnificus</i>	Występują w ciepłych wodach morskich (> 15°C)	10 ² - 10 ³ w mięczakach 10 ⁴ - 10 ⁸ w rybach odżywiających się mięczakami
<i>Aeromonas spp.</i>	Wszystkie wody	Z reguły niski niekiedy dochodzi do 10 ⁴ /ml wody morskiej i 10 ⁷ w ściekach
<i>Plesiomonas shigelloides</i>	Wszystkie wody ciepłe	Niekiedy do 10 ⁶ w surowcach nieprawidłowo przechowywanych
<i>Listeria monocytogenes</i>	gleba, osady denne	100/g produktów rybnych
<i>C. botulinum typ A, B</i>	gleba, osady denne	Niskie (<0.01 przetrawnika / 100g ziemi
<i>C. perfringens</i>	kurz, gleba, osady denne	10 ¹ –10 ³ / 100g gleba, osady denne
<i>Bacillus spp.</i>	gleba, osady denne	10 ¹ –10 ³ / 100g ziemi

Prezerwy rybne

Prezerwy rybne to przetwory powstałe z ryb solonych z dodatkiem innych środków spożywczych o zawartości soli w produkcie finalnym minimum 7%, w opakowaniach szczelnych przeznaczone do bezpośredniego spożycia. Do grupy prezerw zostały zaliczone prezerwy rybne w zalewach (olej, sos, solanka), pasty otrzymane z rozdrobnionego mięsa ryb solonych bądź wędzonych z dodatkiem gonad solonych lub solonych i wędzonych, wymieszanych z innymi środkami spożywczymi na jednolitą masę, kawiorzy otrzymane z ziaren ikry rybnej solonej wymieszanej z innymi środkami spożywczymi takimi jak wino, warzywa, owoce itp. opakowania prezerw powinny być szczelne i nie powinny wskazywać oznak bombażu. Prezerwy należą do produktów nietrwałych ich okres trwałości w temp. powyżej 8 a poniżej 18⁰C wynosi 8 dni, czas ten może być wydłużony w przypadku składowania w niższej temperaturze. Zaleca się by w przypadku prezerw przeprowadzać okresowo badanie szczelności podobnie jak dla konserw z pominięciem termostatowania.

Konserwy rybne

Kolejną często stosowaną metodą zabezpieczania ryb przed zepsuciem jest produkcja konserw. Pod pojęciem konserw pełnych rozumie się produkt w którym w czasie obróbki cieplnej zabito wszystkie spory laseczek tlenowych i beztlenowych. W przypadku produkcji konserw rybnych potencjał oksydoredukcyjny wsadu się obniża stwarzając korzystne warunki do namnażania spor. Większość konserw rybnych produkuje się z surowca rybnego niepoddanego wcześniej obróbce termicznej, w tak przygotowanym surowcu spory mają wyższą ciepłoporność niż w surowcu wstępnie poddanym smażeniu czy parowaniu. W przypadku konserw bardzo ważnym badaniem jest badanie szczelności. Zasady badania szczelności przedstawiono poniżej. Konserwę uznaje się za szczelną, gdy w określonych warunkach nie wydostaje się zawartość lub pęcherzyki gazu oraz taki, w którym na postawie oględzin nie stwierdzono nieszczelności.

Szczelność konserw – przegląd metod badań.

W zależności od zastosowanego opakowania rozróżnia się następujące metody badania szczelności:

- badanie na podstawie wycieku (konserwy w opakowaniach blaszanych i szklanych z wyjątkiem słoików typu Feniks)
- badanie na podstawie oględzin (konserwy w opakowaniach z tworzyw sztucznych i w słoikach typu Feniks)
- badanie na podstawie wydobywania się gazu (konserwy w opakowaniach blaszanych lub szklanych)
- kontrola podwójnej zakładki (konserwy w opakowaniach blaszanych).

Zasada oznaczeń:

Badania obejmują następujące etapy:

- przetrzymywanie konserw po częściowym upłynięciu treści w urządzeniu próżniowym, w środowisku o obniżonym ciśnieniu lub zanurzeniu w gorącej wodzie
- sprawdzanie czy wystąpił wyciek zawartości konserwy lub obserwacja czy wydobywają się pęcherzyki gazu
- badanie organoleptyczne polega na wzrokowej ocenie szczelności
- pomiar podwójnej zakładki.

Aparatura i materiały:

1. aparat próżniowy
2. eksykator próżniowy z manometrem
3. pompa olejowa
4. bibuła filtracyjna
5. źródło światła do badania wklęsłości wieczka
6. mikrometr i projektor

Wykonanie badań

Badanie szczelności na podstawie wycieku

Przed przystąpieniem do badań należy dokonać wstępnych oględzin opakowań i sprawdzić czy opakowania nie są uszkodzone (np.: wgniecione, korozja materiału itp.) z opakowań w których nie wykryto ww. uszkodzeń usunąć etykiety i dokładnie umyć szczotką w ciepłej wodzie z dodatkiem detergentu. Należy zwrócić uwagę na staranne oczyszczenie złączy puszek (szwy, pobocznicę i połączenia pobocznicy z denkiem i wieczkiem) oraz brzegów wieczka na słoiku.

Zawartość konserwy (tłuszcz, galareta, zalewa, olej) znajdującą się przy ściankach opakowania upłynnić, umieszczając puszki w wodzie o temperaturze 70°C na 5min lub w suszarce o temperaturze 70°C na 10 min. Lekko wytrząsając konserwy upewnić się, że zawartość uległa upłynnieniu. Następnie opakowania dokładnie osuszyć i przetrzeć watą nasączoną alkoholem etylowym. Pobocznicę puszki oraz miejsca zetknięcia wieczka ze szkłem słoika należy owinąć paskiem bibuły i opasać recepturką.

Badanie konserw metalowych

Puszki ustawić na bibule w eksykatorze próżniowym lub w aparacie próżniowym i za pomocą pompy olejowej wypompować powietrze do ciśnienia 135 hPa (100mm Hg). Po osiągnięciu żądanego ciśnienia puszki przetrzymać w aparacie przez 2-3 min. Następnie aparat stopniowo napęlić powietrzem do uzyskania normalnego ciśnienia. Po wyjęciu obejrzeć dokładnie całą puszkę, a zwłaszcza miejsca złączy, zwracając uwagę na ewentualny wyciek zawartości konserwy (zawilgocenie bibuły, tłuste plamy). Należy również sprawdzić ślad wycieku na bibule wyściełającej aparat. Miejsca złączy przetrzeć skrawkiem bibuły w celu sprawdzenia nieznacznych wycieków, cofających się w trakcie wyrównywania ciśnienia w aparacie. Z tymi puszkami, które wykazały nieznaczne wycieki, próbę szczelności przeprowadzić trzykrotnie.

Puszki, które są niecałkowicie wypełnione treścią (większa wolna przestrzeń w konserwie, dwukrotnie poddać próbie szczelności, stawiając konserwy raz na denku raz na wieczku.

Badanie konserw w opakowaniach szklanych:

Słoje ustawić wieczkami na bibule wyściełającej aparat próżniowy lub ekcykator i za pomocą pompy próżniowej wypompować powietrze do ciśnienia 535 hPa (400mm Hg). Po osiągnięciu żądanego ciśnienia utrzymać je przez 2-3min, a następnie aparat próżniowy stopniowo napełniać powietrzem do uzyskania normalnego ciśnienia. Sprawdzić, czy nie ma śladów wycieku na bibule wyściełającej aparat i owiniętej wokół zetknięcia wieczka ze słojem. Szczelność słoików typu Feniks należy badać na podstawie oględzin. Zdjąć obręczkę zaciskową i oświetlić wieczko. O szczelności słoja świadczy wklęsłość metalowego wieczka.

Badanie konserw w opakowaniach z tworzyw sztucznych

Badanie polega na wzrokowej ocenie szczelności. Opakowania z tworzyw sztucznych powinny na całej długości przylegać do produktu a folia powinna być napięta. Linia zgrzewu zamykającego opakowanie powinna być ciągła bez zniekształceń.

Badania konserw metalowych lub szklanych na podstawie wydobywania się gazu

Dopuszcza się wykonywanie badania szczelności opakowań przez zanurzenie konserw w szklanym naczyniu z wodą o temperaturze od 90 do 95°C tak, aby opakowanie było całkowicie przykryte warstwą wody o wysokości co najmniej 3 cm. Obserwacja trwająca 10min polega na sprawdzeniu czy spod szwów puszki lub wieczka nie wydobywają się pęcherzyki gazu.

Badanie podwójnej zakładki

Wycinki podwójnej zakładki należy pobierać wyłącznie z oznaczonych miejsc, w których wcześniej dokonywano pomiarów. Z puszek okrągłych z trzech punktów; z prostokątnych i trapezoidalnych z sześciu punktów (po jednym z każdego rogu i po jednym z każdego długiego boku). Wykonać należy następujące pomiary: długość i grubość szwu, zagłębienie, grubość wieczka i poboczniczy, długość haka poboczniczy i wieczka.

Interpretacja wyników

Na nieszczelność w puszcze lub słoiku wskazuje stwierdzenie zawilgocenia bibuły, tj. wycieku treści konserwy lub pojawienie się pęcherzyków gazu. Na nieszczelność słoików typu Feniks wskazuje brak wklęsłości wieczka. Na nieszczelność konserw w opakowaniach foliowych wskazują niezgrzane miejsca opakowania i nie przyleganie folii do produktu.

Konserwy, które nie wykazały ww. wad należy uznać za szczelne.

Do dalszych badań mikrobiologicznych należy przekazać tylko opakowania szczelne po ujemnej próbie termostatowej.

Farsze rybne

W grupie produktów rybnych nie można pominąć takich produktów jak farsz rybny czy mięso mielone z ryb. Produkty tego typu powinny znajdować się w stanie zamrożenia ze względu na wyjątkowo małą trwałość i podatność na zepsucie w stanie świeżym. Jako mięso mielone rozumie się rozdrobnione mięso ryb o wymiar cząstek od 3mm do 5mm, jako farsz rozumie się mięso z ryb z dodatkiem dozwolonych składników lub bez dodatków.

Produkty rybne wędzone

Podobnie jak suszenie i solenie, wędzenie należy do najstarszych technik zabezpieczających żywność przed zepsuciem. W procesie tym na produkt oddziałują ciepło i składniki dymu wędzarniczego. Stosunkowo krótki czas solenia przed wędzeniem nie wpływa na liczbę bakterii. Proces produkcji ryb wędzonych na gorąco przebiega w trzech etapach. W pierwszym etapie ryby są podsuszane, następnie pieczone i w trzecim etapie odbywa się wędzenie. W związku z różnicami w penetracji ciepła w procesie pieczenia do badania skuteczności wędzenia najlepiej jest pobierać ryby ze środka wsadu wędzarniczego. Ze względu na rodzaj mikroflory rozwijającej się na powierzchni ryb wędzonych na gorąco rozróżnia się psucie suche i wilgotne. Psucie wilgotne z reguły wywołane jest obecnością drożdży i pleśni, a psucie suche bakterii z rodzaju *Pseudomonas*. W produktach wędzonych na gorąco największe zagrożenie związane jest z obecnością *Clostridium botulinum* typ *E*. Ryby wędzone na zimno: W przypadku ryb wędzonych na zimno czynnikami konserwującymi są stężenie soli w rybie oraz stopień wysycenia dymem wędzarniczym. Proces wędzenia na zimno jest procesem długotrwałym niekiedy nawet do 3 tyg. Ryby wędzone powstałe w takim procesie cechują się długą trwałością (dotyczy to ryb silnie wędzonych). W przypadku stosowania łagodnego wędzenia na zimno (czas wędzenia 5-6h) trwałość ich jest bardzo krótka. W przypadku

produktów wędzonych na zimno istnieje możliwość wzrostu mikroflory w tym: *C. botulinum* typ E, *Staphylococcus aureus*, Enterobacteriaceae i *L. monocytogenes*. Ponadto istnieje możliwość przeżycia pasożytów chorobotwórczych.

Czynnikami stabilizującym w przypadku ryb wędzonych są zawarte w dymie fenole i krezole utrwalające żywność, nadające jej specyficzny kolor i smak. Do wędzenia wybierane są surowce rybne o najwyższej jakości.

Samo wędzenie odbywa się z użyciem dymu, który jest wytwarzany z drzew liściastych w procesie pirolizy w wytwornicach dymu w temp. od 200 do 425°C (temperatura żarzenia).

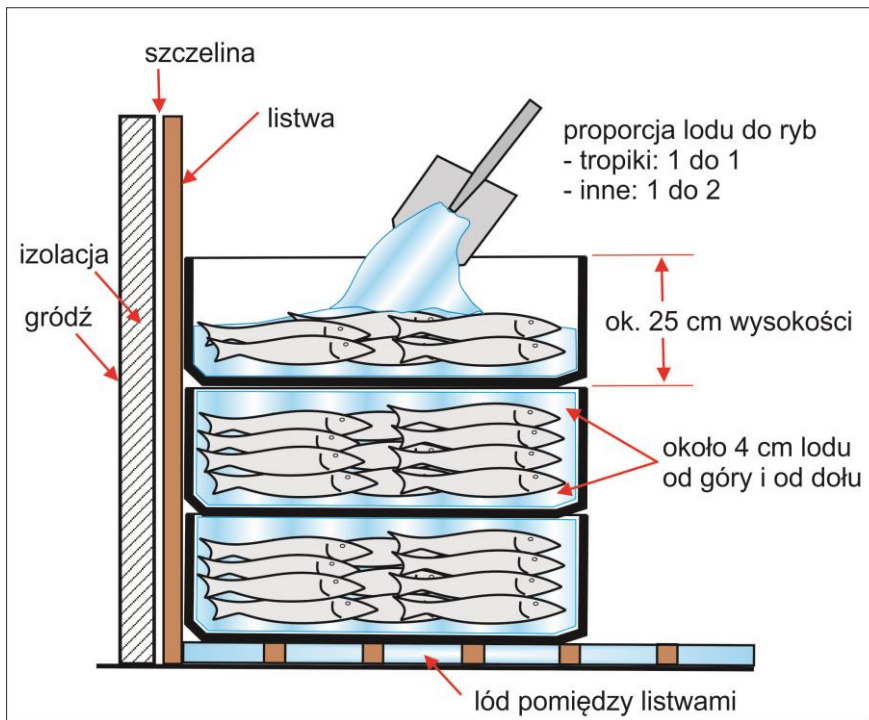
Pakowanie w zmodyfikowanej atmosferze:

Kolejną popularną metodą zabezpieczania ryb i produktów rybnych przed szybkim zepsuciem jest pakowanie próżniowe lub pakowanie w zmodyfikowanej atmosferze. W pakowaniu próżniowym następuje usunięcie powietrza i obniżenie ciśnienia. Modyfikacja atmosfery pakowania ma na celu zastąpienie tlenu innym, mniej reaktywnym gazem np. dwutlenkiem węgla lub azotem. W opakowaniach próżniowych lub w zmodyfikowanej atmosferze często sprzedawane są ryby świeże, wędzone na zimno, w plastrach lub na tackach. Modyfikacja atmosfery czy usunięcie tlenu przedłuża trwałość produktu niesie jednak za sobą ryzyko namnożenia mikroflory beztlenowej lub względnie beztlenowej. W takim środowisku mogą się rozwijać lub utrzymywać następujące drobnoustroje: *Bacillus cereus*, *Campylobacter* spp., *Clostridium botulinum*, *Clostridium perfringens*, *Listria monocytogenes*, *Staphylococcus aureus* oraz pasożyty. Pewną odmianą w składowaniu produktów rybnych są magazyny z kontrolowaną atmosferą. W magazynach tych obniżona jest zawartość tlenu na rzecz dwutlenku węgla.

Ryby świeże lodowane:

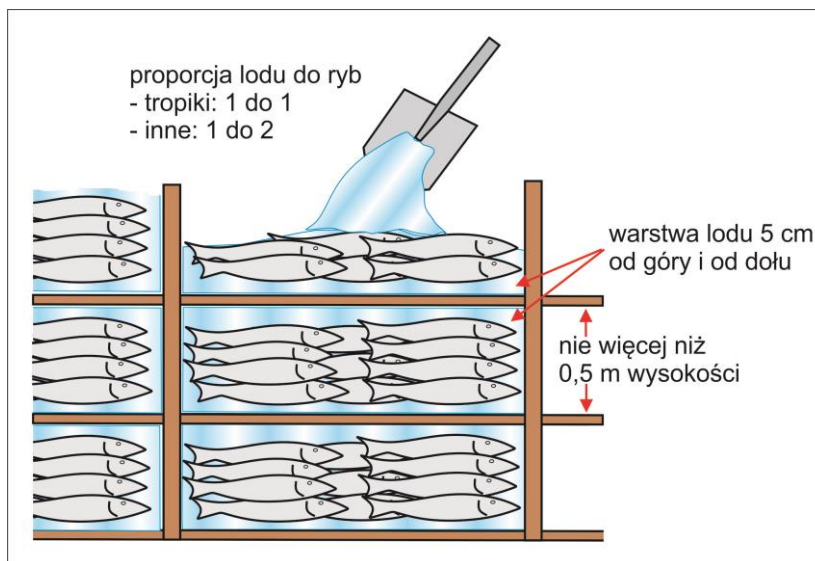
Lodowanie jest jedną z najpowszechniej używanych technik mających na celu przedłużenie świeżości ryb. Ryby bezpośrednio po złowieniu jeśli nie zostaną schłodzone lub w inny sposób zabezpieczone staną się niezdatne do spożycia w czasie 7-9 godzin. Zastosowanie lodu bezpośrednio po ich złowieniu wpływa na ich jakość znacząco przedłuża ich trwałość. Mimo, że lodowanie wydaje się być prostą i skuteczną techniką chłodzenia istnieje kilka zasad które powinny być spełnione aby było ono skuteczne i nie powodowało obniżenia ich jakości. Lód używany do schładzania ryb powinien być uzyskany z wody pitnej. W celu schłodzenia ryb na

dnie pojemnika należy ułożyć warstwę lodu o grubości około 4-5 cm, na niej umieścić warstwę ryb a następnie przykryć warstwą około 5 cm tak jak to przedstawiono na rysunkach poniżej.



Rys. 57. Zasady transportu ryb zasypanych lodem.

Należy pamiętać również o tym, by boki pojemnika były wyłożone lodem o tej samej grubości warstwy. Czynność tą należy powtórzyć dla każdej warstwy ryb. Regularnie należy sprawdzać warstwę lodu i uzupełniać stopiony lód.



Rys. 58. Zasady składowani ryb zasypanych lodem.



Fot. 49. Ryby zasypane lodem na targu rybnym (fot. M. Różycki).

Woda z pojemników powinna mieć swobodny odpływ, ale w sposób zapobiegający skażeniu ryb znajdujących się w pojemnikach poniżej.

4.12. Identyfikacja zagrożeń w układzie produkt - zagrożenie

Mirosław Różycki

W celu przybliżenia i ułatwienia analizy zagrożeń i wdrażania systemu HACCP poniżej przedstawiono wybrane zagrożenia w układzie produkt-zagrożenie.

Tabela 39. Identyfikacja zagrożeń w układzie produkt - zagrożenie.

Zagrożenia biologiczne, chemiczne i fizyczne w układzie											
Charakterystyka produktu			Biologiczne							Chemiczne	Fizyczne
Produkt	Sposób Pakowania	Składowanie i dystrybucja	Wahania czas/temp Umożliwiające wzrost bakterii	Wzrost <i>C. botulinum</i>	<i>S. aureus</i> toksyna	<i>S. aureus</i> bakterie	Możliwość przeżycia bakterii w procesie gotowania	Możliwość przeżycia bakterii w procesie pasteryzacji	Możliwość zanieczyszczenia bakteryjnego po procesie pasteryzacji	Dodatki np.: barwniki	Obecność kawałków metalu
Gotowane krewetki, kraby, ryby	Pakowane próżniowo lub w zmienionej atmosferze MAP, CAP, zamykane hermetycznie lub w oleju	Zamrożone	x				x			x	x
Gotowane krewetki, kraby, ryby	Pakowane próżniowo lub w zmienionej atmosferze MAP, CAP, zamykane hermetycznie lub w oleju	Niezamrożone	x	x			x			x	x
Gotowane krewetki, kraby, ryby	Inne nie: próżniowe, lub w zmienionej atmosferze MAP, CAP, zamykane hermetycznie lub w oleju	Wszystkie metody	x				x			x	x

Zagrożenia biologiczne, chemiczne i fizyczne w układzie												
Charakterystyka produktu			Biologiczne							Chemiczne	Fizyczne	
Pasteryzowane kraby, ryby, surimi	Pakowane próżniowo lub w zmienionej atmosferze MAP, CAP, zamykane hermetycznie lub w oleju	Zamrożone	x						x	x	x	x
Pasteryzowane kraby, ryby, surimi	Pakowane próżniowo lub w zmienionej atmosferze MAP, CAP, zamykane hermetycznie lub w oleju	Niezamrożone	x	x					x	x	x	x
Pasteryzowane kraby, ryby, surimi	Inne nie: próżniowe, lub w zmienionej atmosferze MAP, CAP, zamykane hermetycznie lub w oleju	Wszystkie metody	x						x	x	x	x
Wędzone	Wszystkie metody	Wszystkie metody	x	x							x	x
Sałatki, koktajle przygotowane z surowców gotowych do spożycia	Pakowane próżniowo lub w zmienionej atmosferze MAP, CAP, zamykane hermetycznie lub w oleju	Zamrożone	x								x	x

Zagrożenia biologiczne, chemiczne i fizyczne w układzie											
Charakterystyka produktu			Biologiczne							Chemiczne	Fizyczne
Sałatki, koktajle przygotowane z surowców gotowych do spożycia	Pakowane próżniowo lub w zmienionej atmosferze MAP, CAP, zamykane hermetycznie lub w oleju	Inne niż mrożone	x	x						x	x
Sałatki, koktajle przygotowane z surowców gotowych do spożycia	Inne nie: próżniowe, lub w zmienionej atmosferze MAP, CAP, zamykane hermetycznie lub w oleju	Wszystkie metody	x							x	x
Surowe hodowlane krewetki ostrygi ryby itd.,	Wszystkie metody	Wszystkie metody				x				x	x
Nadziewane kraby, krewetki i ryby i inne,	Wszystkie metody	Wszystkie metody	x							x	x
Ryby suszone	Wszystkie metody	Wszystkie metody	x		X					x	x
Surowe ostrygi, małże	Pakowane próżniowo lub w zmienionej atmosferze MAP, CAP, zamykane hermetycznie lub w oleju	Zamrożone	x							x	x

Zagrożenia biologiczne, chemiczne i fizyczne w układzie											
Charakterystyka produktu			Biologiczne							Chemiczne	Fizyczne
Surowe ostrygi, małże	Pakowane próżniowo lub w zmienionej atmosferze MAP, CAP, zamykane hermetycznie lub w oleju	Inne niż mrożone	x	x						x	x
Surowe ostrygi, małże	Inne nie: próżniowe, lub w zmienionej atmosferze MAP, CAP, zamykane hermetycznie lub w oleju	Wszystkie metody	x							x	x
Surowe ryby inne niż ostrygi, małże itd.	Pakowane próżniowo lub w zmienionej atmosferze MAP, CAP, zamykane hermetycznie lub w oleju	Zamrożone								x	x
Surowe ryby inne niż ostrygi, małże itd.	Pakowane próżniowo lub w zmienionej atmosferze MAP, CAP, zamykane hermetycznie lub w oleju	Inne niż mrożone	x	x						x	x
Surowe ryby inne niż ostrygi, małe itp.	Inne nie: próżniowe, lub w zmienionej atmosferze MAP, CAP, zamykane hermetycznie lub w oleju	Wszystkie metody								x	x

Zagrożenia biologiczne, chemiczne i fizyczne w układzie											
Charakterystyka produktu			Biologiczne							Chemiczne	Fizyczne
Produkty poddane niepełnej obróbce termicznej (częściowej)	Pakowane próżniowo lub w zmienionej atmosferze MAP, CAP, zamykane hermetycznie lub w oleju	Zamrożone	x							x	x
Produkty poddane niepełnej obróbce termicznej (częściowej)	Pakowane próżniowo lub w zmienionej atmosferze MAP, CAP, zamykane hermetycznie lub w oleju	Inne niż zamrożenie	x	x						x	x
Produkty poddane niepełnej obróbce termicznej (częściowej)	Inne nie: próżniowe, lub w zmienionej atmosferze MAP, CAP, zamykane hermetycznie lub w oleju	Wszystkie metody	x							x	x
Produkty gotowane	Pakowane próżniowo lub w zmienionej atmosferze MAP, CAP, zamykane hermetycznie lub w oleju	Zamrożone	x				x			x	x
Produkty gotowane	Pakowane próżniowo lub w zmienionej atmosferze MAP, CAP, zamykane hermetycznie lub w oleju	Inne niż zamrożenie	x	x			x			x	x

Zagrożenia biologiczne, chemiczne i fizyczne w układzie												
Charakterystyka produktu			Biologiczne							Chemiczne	Fizyczne	
Produkty gotowane	Inne nie: próżniowe, lub w zmienionej atmosferze MAP, CAP, zamykane hermetycznie lub w oleju	Wszystkie metody	x					x			x	x
Fermentowane, zakwaszane, w puszkach	Wszystkie metody	Wszystkie metody	x	x ^(*)							x	x

MAP =Modyfikowana atmosfera pakowania; CAP = kontrolowana atmosfera pakowania
 (*): kontrola tego zagrożenia nie musi być wprowadzona w planie HACCP dla produktów trwałych, zakwaszonych w konserwach.
 Opracowano na bazie wytycznych FDA - HACCP

Ocena jakości świeżych ryb

Tabela 40. Skala oceny świeżości ryb dorszowatych.

	Kryteria			
	Kategorie świeżości			Niedopuszczone (1)
	Ekstra	A	B	
Skóra	Jaskrawy, opalizujący pigment (z wyjątkiem karmazyna); brak odbarwienia	Pigment jaskrawy, ale niebłyszczący	Pigmentacja ulegająca procesowi odbarwienia i matowienia	Pigmentacja matowa (2)
Śluz naskórny	Wodnisty, przezroczysty	Lekko mętny	Mleczny	Żółtawoszary, nieprzezroczysty
Oko	Wypukłe (wypukliste); czarna, błyszcząca źrenica; rogówka przezroczysta	Wypukłe i lekko zapadłe; czarna, matowa źrenica; lekko opalizująca rogówka	Płaskie; opalizująca rogówka; nieprzejrzysta źrenica	Wklęsłe na środku; szara źrenica; rogówka mleczna (2)
Skrzela	W jaskrawym kolorze; brak śluzu	Mniejsze natężenie koloru; przezroczysty śluz	Brązowe/szare, ulegające odbarwieniu; gęsty, nieprzezroczysty śluz	Żółtawe; mleczny śluz (2)
Otrzewna (u ryb patroszonych)	Gładka; jaskrawa; trudna do oddzielenia od mięsa	Lekko matowa; można oddzielić od mięsa	Plamista; łatwo odchodzi od mięsa	Nie trzyma się mięsa (2)
Zapach skrzeli i jamy brzusznej:				
u dorszowatych innych niż gładzica	Zapach wodorostów,	Brak zapachu wodorostów; neutralny	Zapach fermentu; lekko kwaśny	Kwaśny
u gładzicy	Świeżooleisty, pieprzowy, ziemisty	Oleisty, zapach wodorostów lub lekkosłodkawy	Oleisty; zapach fermentu; stęchły, lekko zjełczały	Kwaśny
Mięso	Jędrne i elastyczne, powierzchnia gładka (3)	Mniej elastyczne	Lekko miękkie (flakowate), mniej elastyczne, woskowata (aksamitna) i matowa powierzchnia	Miękkie (flakowate) (2); łuski łatwo odchodzi od skóry, powierzchnia raczej pomarszczona <i>Dodatkowe kryteria dla żabnic z głowami</i>
Naczynia krwionośne				
(mięśnie brzuszne)	Ostre kontury, kolor jaskrawoczerwony	Ostre kontury; zaciemnienie krwi	Rozszerzone, kolor brązowy	Zupełnie (2) rozszerzone, kolor brązowy, żółknienie mięsa

(1) Kolumna ma zastosowanie do czasu podjęcia przez Komisję decyzji ustanawiającej kryteria dotyczące ryb nienadających się do spożycia przez ludzi, zgodnie z dyrektywą Rady 91/493/EWG.

(2) Lub w stanie bardziej zaawansowanego rozkładu.

(3) Mięso świeżej ryby przed stężeniem pośmiertnym nie będzie jędrne i elastyczne, lecz ryba zostanie zaliczona do kategorii Ekstra.

Tabela 41. Skala oceny Craft

Parametr jakości		Opis	Ocena
Wygląd	Skóra	Jasna, błyszcząca	0
		Raczej matowa, z początkami odbarwień	1
		Matowa, mętna	2
Szywność		Stężenie pośmiertne	0
		Sprężysta początki uelastycznienia	1
		Miękka, nietwarda	2
		Bardzo miękka	3
Oko	Rogówka	Czysta przejrzysta	0
		Opalizująca	1
		Mleczna	2
Kształt		Wypukła	0
		Płaska, lekko wklęsła	1
		Zapadła, z ubytkami ciała szklatego	2
		Barwa źrenicy	0
Barwa źrenicy		Nieprzezroczysta	1
		Szara	2
		Skrzela	Barwa
Barwa		Utrata koloru, początki odbarwienia	1
		Odbarwiona, brązowe plamki	2
		Brązowa, odbarwiona	3
Zapach		Świeży, zapach wodorostów, metaliczny	0
		Neutralny, trawiasty, stęchły, zleżały	1
		Drożdżowy, chlebowy, piwny, kwaśnego mleka	2
		Kwasu octowego, siarkowy, bardzo kwaśny	3
Śluz		Czysty, przejrzysty	0
		Mleczny	1
		Mleczny, ciemny, nieprzejrzysty	2
Filety	Barwa	Półprzezroczyste, niebieskawe	0
		Woskowe, mleczne	1
		Nieprzejrzyste, żółte, brązowe plamki	2
Krew	Barwa	Czerwona	0
		Ciemno-czerwona	1
		Brązowa	2
Indeks			0-23

Ocena jakości świeżych ryb ma ogromne znaczenie dla ustalania ich ceny oraz bezpieczeństwa ich spożycia. Ocena ta opiera się na badaniu organoleptycznym które zawsze będzie cechować pewna subiektywność. Aby ujednoczyć sposób oceny świeżości w UE stosuje się skalę przedstawioną w Rozporządzeniu Rady (WE) nr 2406/96. W tabeli 40 przedstawiono ocenę świeżości ryb dorszowatych. Inną skalą oceny jest skala Craft przedstawiająca podobny

system oceny dla innych gatunków ryb (Tabela 41). W przypadku wątpliwości co do świeżości ryb, można oznaczyć poziom ogólnego lotnego azotu zasadowego (TVB-N) i azotu trimetyloaminowego (TMA-N).

Etapy badania ryb:

I – etap badanie organoleptyczne, ocena świeżości na podstawie wyróżników: śluz, zapach, konsystencja, stężenie pośmiertne, barwa oka .

Świeżość ryby poznajemy po skrzelach i oczach. Jeżeli są ciemnoróżowe i przylegają do ciała, ryby są świeże. Jeżeli zbyt ciemne lub bladawe - nie. Ponadto oczy powinny być jasne, błyszczące i wypukłe. Matowe i zapadnięte oczy świadczą o złym stanie świeżości ryby. O świeżości ryby świadczą także łuski przylegające ściśle do skóry i mięso sprężyste, uginające się pod naciskiem, ale natychmiast wracające do poprzedniej formy. Śluz nie może być lepki, a mięso nie może mieć nieprzyjemnego zapachu.



Fot. 50. Etap I ocena skrzeli: barwa, konsystencja, sprężystość, zapach.



Fot. 51. Badanie jamy brzusznej: nacięcie w kształcie litery L , narządy wewnętrzne, zmiany barwy i zapachu, konsystencja (tekstura), obecność pasożytów.



Fot. 52. Nacięcie w kształcie litery L (fot. M. Różycki).

Badanie jamy brzusznej: nacięcie w kształcie litery L, narządy wewnętrzne, barwa, zmiany, zapach, konsystencja, obecność pasożytów



Fot. 53. Widoczne larwy *A. simplex* w jamie otrzewnowej (fot. M. Różycki).

Część II Technologia przetwórstwa rybnego z uwzględnieniem aspektów prawnych, bezpieczeństwa i jakości żywności

5. Prawo żywnościowe, ze szczególnym uwzględnieniem zagadnień dotyczących pasożytów oraz identyfikowalności

Olga Szulecka

Wprowadzenie

Od 1 maja 2004 roku, gdy Polska stała się członkiem Wspólnoty Europejskiej a następnie Unii Europejskiej, jest zobowiązana przestrzegać nie tylko krajowych, ale i unijnych przepisów prawnych, we wszystkich obszarach tego prawa, w tym prawa żywnościowego, złożonego z wielu dokumentów. Definicja prawa żywnościowego zawarta w Rozporządzeniu 178/2002/WE obejmuje *„przepisy ustawowe, wykonawcze i administracyjne regulujące sprawy żywności w ogólności, a ich bezpieczeństwo w szczególności, zarówno na poziomie Wspólnoty, jak i na poziomie krajowym. W rozporządzeniu 178/2002/WE podkreślono, że prawo żywnościowe „obejmuje wszystkie etapy produkcji, przetwarzania i dystrybucji żywności oraz paszy produkowanej dla zwierząt hodowlanych lub używanej do żywienia zwierząt hodowlanych”*. Zatem na obecnie obowiązujące polskich przetwórców ryb prawo żywnościowe składają się zarówno legislacje unijne, jak i krajowe przepisy prawa .

Zagadnienie prawa żywnościowego jest zatem bardzo złożone. Należy jednak pamiętać, iż pierwszeństwo nad krajowymi przepisami mają unijne rozporządzenia, które stosuje się wprost jako akty prawne. Unijne dyrektywy muszą być wprowadzone do krajowego prawa innymi aktami prawnymi, najczęściej ustawami, zaś unijne dokumenty niższej rangi jak decyzje, zalecenia czy opinie mają charakter informujący lub wyjaśniający. Prawo krajowe jako, że ma charakter podrzędny w stosunku do prawa unijnego, w ustawach i rozporządzeniach reguluje kwestie nieopisane w unijnych przepisach prawnych.

Od 1 stycznia 2003 r. zniesiono obligatoryjność norm i stosowanie Polskich Norm, na mocy art. 5 ust. 3 ustawy z dnia 12 września 2002 r. o normalizacji, stało się wówczas dobrowolne (Dz.U. 2002). Stosowanie Polskich Norm wynika obecnie głównie z porozumień handlowych pomiędzy podmiotami w procesie sprzedaży czy też innych ustaleń, np. regulaminów przyznawania nagród z zakresu jakości żywności. Fakt ten spowodował zmiany

we wcześniej stosowanych systemach produkcji, gdyż pozwolił na większą dowolność w użyciu składników czy nazewnictwie produktów. Zagadnienia te, po 2003 roku są regulowane w opracowywanych aktach prawnych.

Prawo żywnościowe obejmuje dwie zasadnicze kwestie związane z żywnością: jej bezpieczeństwo (często używa się pełnego terminu - bezpieczeństwo zdrowotne) oraz jej jakość (głównie jakość handlowa). Bezpieczeństwo żywności, zgodnie z ustawą z dnia 25 sierpnia 2006 r. o bezpieczeństwie żywności i żywienia, to „ogół warunków, które muszą być spełniane, dotyczących w szczególności:

- a) stosowanych substancji dodatkowych i aromatów,
- b) poziomów substancji zanieczyszczających,
- c) pozostałości pestycydów,
- d) warunków napromieniania żywności,
- e) cech organoleptycznych,

i działań, które muszą być podejmowane na wszystkich etapach produkcji lub obrotu żywnością – w celu zapewnienia zdrowia i życia człowieka” (Dz.U. 2006). Definicja ta przytacza dwa aspekty bezpieczeństwa żywności, jeden to cechy żywności związane zarówno z zastosowaniem określonych składników w produkcji, ale także składu fizykochemicznego żywności, np. zanieczyszczeń jakimi są metale ciężkie czy dioksyny. Drugi aspekt bezpieczeństwa żywności to czynności związane z postępowaniem z surowcem, półproduktem i produktem gotowym na wszystkich etapach produkcji i obrotu żywnością.

W przypadku produktów rybołówstwa i akwakultury są to zagadnienia dotyczące połowu i hodowli ryb oraz postępowania z rybami po wyjęciu ich z wody, następnie odpowiednich procesów przetwórczych, właściwego transportu i przechowywania oraz dystrybucji. Wiele czynników składa się na końcowe bezpieczeństwo produktu i stąd tak ważne jest przestrzeganie zagadnień Dobrej Praktyki Produkcyjnej (ang. GMP – Good Manufacturing Practice) i Dobrej Praktyki Higienicznej (ang. GHP – Good Hygienic Practice), a także wdrożenie systemu HACCP, czyli analizy zagrożeń i krytycznych punktów kontroli (ang. Hazard Analysis and Critical Control Points), które są wymagane przez przepisy prawa żywnościowego.

Główne unijne akty prawne dotyczące ogólnego prawa żywnościowego to wspomniane już rozporządzenie (WE) nr 178/2002 oraz rozporządzenia z tzw. „pakietu higienicznego”, które dotyczą zagadnień higieny i kontroli zarówno w przypadku produktów pochodzenia zwierzęcego, jak i roślinnego:

- Rozporządzenie (WE) nr 178/2002 Parlamentu Europejskiego i Rady z dnia 28 stycznia 2002 r. ustanawiające ogólne zasady i wymagania prawa żywnościowego, powołujące Europejski Urząd ds. Bezpieczeństwa Żywności oraz ustanawiające procedury w zakresie bezpieczeństwa żywności;
- Rozporządzenie (WE) nr 852/2004 Parlamentu Europejskiego i Rady z dnia 29 kwietnia 2004 r. w sprawie higieny środków spożywczych;
- Rozporządzenie (WE) nr 853/2004 Parlamentu Europejskiego i Rady z dnia 29 kwietnia 2004 r. ustanawiające szczególne przepisy dotyczące higieny w odniesieniu do żywności pochodzenia zwierzęcego;
- Rozporządzenie (WE) nr 854/2004 Parlamentu Europejskiego i Rady z dnia 29 kwietnia 2004 r. ustanawiające szczególne przepisy dotyczące organizacji urzędowych kontroli w odniesieniu do produktów pochodzenia zwierzęcego przeznaczonych do spożycia przez ludzi;
- Rozporządzenie (WE) nr 882/2004 Parlamentu Europejskiego i Rady z dnia 29 kwietnia 2004 r. w sprawie kontroli urzędowych przeprowadzanych w celu sprawdzenia zgodności z prawem paszowym i żywnościowym oraz regułami dotyczącymi zdrowia zwierząt i dobrostanu zwierząt.

Dokumenty te opisują główne zagadnienia dotyczące odpowiedzialności za wytwarzany produkt, aspektów higienicznych w zakresie produkcji poszczególnych rodzajów żywności, w tym produktów rybołówstwa i akwakultury, oraz zakresów urzędowej kontroli żywności na wszystkich etapach, produkcji, przetwarzania i obrotu.

W art. 14 pkt 1 i 2 rozporządzenia (WE) nr 178/2002 zawarto ważne zapisy, iż żaden niebezpieczny środek spożywczy nie może być wprowadzany na rynek. A jest on uznawany za niebezpieczny, jeżeli *„uważa się, że jest szkodliwy dla zdrowia i/lub nie nadaje się do spożycia przez ludzi”*. Zaś w art. 14 pkt. 7 tego rozporządzenia stwierdzono, iż *„żywność zgodna ze szczegółowymi przepisami wspólnotowymi regulującymi bezpieczeństwo żywności jest uważana za bezpieczną pod względem czynników objętych szczegółowymi przepisami Wspólnoty”*. Oznacza to, że spełniając wszystkie wymagania prawne odnośnie produkcji żywności na każdym z etapów łańcucha dostaw można uznać produkt gotowy oferowany konsumentowi za bezpieczny.

Należy także dodać, iż zagadnieniami bezpieczeństwa są objęte w rozporządzeniu (WE) nr 178/2002 również pasze dla zwierząt hodowlanych. Zgodnie z zapisami tego rozporządzenia w art. 17 pkt 1 to *„podmioty prowadzące przedsiębiorstwo spożywcze i podmioty działające na rynku pasz zapewniają, na wszystkich etapach produkcji, przetwarzania i dystrybucji w przedsiębiorstwach będących pod ich kontrolą, zgodność tej żywności lub pasz z wymogami prawa żywnościowego właściwymi dla ich działalności i kontrolowanie przestrzegania tych wymogów”*. Zaś w kolejnym punkcie stwierdzono, że *„Państwa członkowskie wprowadzają w życie prawo żywnościowe oraz monitorują i kontrolują przestrzeganie przez podmioty prowadzące przedsiębiorstwo spożywcze i podmioty działające na rynku pasz odpowiednich wymogów prawa żywnościowego na wszystkich etapach produkcji, przetwarzania i dystrybucji”*.

W art. 18 rozporządzenia (WE) nr 178/2002 ujęto wymagania odnośnie identyfikowalności – tj. *„możliwości śledzenia oznaczającej możliwość kontrolowania przemieszczania się żywności, paszy, zwierzęcia hodowlanego lub substancji przeznaczonej do dodania, lub która może być dodana do żywności lub paszy na wszystkich etapach produkcji, przetwarzania i dystrybucji”*. Wspomniane rozporządzenie w art. 18 stanowi, że należy zapewnić identyfikowalność *„żywności, pasz, zwierząt hodowlanych oraz wszelkich substancji przeznaczonych do dodania do żywności lub pasz, bądź które można do nich dodać na wszystkich etapach produkcji, przetwarzania i dystrybucji”*.

Każda osoba lub firma działająca na rynku żywności i pasz powinna móc zidentyfikować podmiot, od którego otrzymała żywność, pasze, zwierzę hodowlane lub substancję, którą można dodać do żywności lub pasz a także komu je dostarczyła. Tworzy się dzięki temu łańcuch powiązań *„jeden krok w tył – jeden krok w przód (ang. „one step back – one step forward”)*”, pozwalający na zapewnienie identyfikowalności w całym łańcuchu dostaw żywności, w przypadku ryb, od połowu lub ikry do odbiorcy końcowego.

Szczególne znaczenie ma identyfikowalność w przypadku konieczności wycofania żywności z łańcucha dostaw z uwagi na stwarzające przez nią zagrożenie dla zdrowia lub życia konsumentów. Zgodnie z art. 19 rozporządzenia (WE) nr 178/2002 *„jeżeli podmiot prowadzący przedsiębiorstwo spożywcze uważa lub ma podstawy, aby sądzić, że środek spożywczy przez niego przywożony, wyprodukowany, przetworzony, wytworzony lub rozprowadzany nie jest zgodny z wymogami w zakresie bezpieczeństwa żywności, natychmiast rozpocznie postępowanie w celu wycofania danej żywności z rynku, na którym ta żywność przestała znajdować się pod jego bezpośrednią kontrolą jako początkowego podmiotu prowadzącego*

przedsiębiorstwo spożywcze i powiadomi o tym właściwe władze”. By informacje o wycofaniu były skutecznie przekazywane między podmiotami muszą być opracowane w ustandaryzowany sposób (Szulecka 2011). Gdy produkt mógł dotrzeć już do konsumenta, podmiot jest zobowiązany skutecznie poinformować konsumentów o przyczynach wycofania oraz w razie konieczności musi odebrać od konsumentów niebezpieczny produkt. W przypadku produktów spożywczych o krótkim terminie przydatności do spożycia, np. ryb świeżych czy wędzonych, powiadomienie konsumentów o zaistniałym zagrożeniu oraz wycofanie produktu musi nastąpić bardzo szybko, by zminimalizować możliwość spożycia tego produktu. Tożsame wymogi dla pasz dla zwierząt są ujęte w art. 20 rozporządzenia (WE) nr 178/2002.

W celu powiadamiania o niebezpiecznej żywności oraz jej wycofania z rynku krajów Unii Europejskiej, na mocy rozporządzenia (WE) nr 178/2002, został stworzony system RASFF (ang. Rapid Alert System for Food and Feed) czyli system wczesnego ostrzegania o niebezpiecznych produktach żywnościowych i środkach żywienia zwierząt (UE 16/2011). Ma on na celu przekazywanie powiadomień alarmowych i informacyjnych o produktach niebezpiecznych lub też o odrzuceniu ich na granicy, z krajów członkowskich do punktu kontaktowego Komisji Europejskiej, gdzie są dalej przekazywane wszystkim krajom UE oraz krajom EFTA.

W raporcie dotyczącym wyników powiadomień systemu RASFF stwierdzono, że w 2017 roku odnotowano łącznie ponad 3700 (RASFF 2018) różnego rodzaju powiadomień o niebezpiecznej żywności lub paszach, co stanowi znaczny wzrost od 6 lat, w których notowano stały spadek tej liczby (UE 2018). Najwięcej powiadomień dotyczyło orzechów i produktów z nich wytworzonych, drobiu oraz produktów drobiowych, warzyw i owoców. Na czwartym miejscu tej listy znalazły się ryby i produkty rybne (łącznie 370 powiadomień), wraz mięczakami i ich produktami (130 powiadomień) oraz skorupiakami i ich produktami (104 powiadomienia) (co stanowi łącznie 604 powiadomienia) uplasowały się one na pierwszym miejscu listy RASFF-2018 (UE 2018). Ryby, skorupiaki i mięczaki są zatem tym rodzajem żywności, który powinien być objęty szczególną uwagą producentów, przetwórców oraz dystrybutorów w celu zapewnienia bezpieczeństwa konsumentom tych produktów.

W przypadku unijnego prawa żywnościowego ważnymi zagadnieniami są również aspekty związane z legislacją dotyczącą znakowania żywności. Obecnie główny dokument z tego zakresu to Rozporządzenie Parlamentu Europejskiego i Rady (UE) nr 1169/2011 z dnia 25 października 2011 r. w sprawie przekazywania konsumentom informacji na temat żywności (...). Określa ono jakie informacje powinny być umieszczone na opakowaniu produktu

żywnościowego oferowanego konsumentom. Są to: nazwa żywności, wykaz składników, ilość netto żywności, data minimalnej trwałości lub termin przydatności do spożycia, warunki przechowania lub użycia produktu, identyfikacja producenta czy wartość odżywcza. Wymagania dotyczące znakowania produktów rybołówstwa i akwakultury zawarto również w rozporządzeniu nr 1379/2013/UE z dnia 11 grudnia 2013 r. w sprawie wspólnej organizacji rynków produktów rybołówstwa i akwakultury (...), które uchyliło rozporządzenie (WE) nr 104/2000. W art. 35 rozporządzenia Parlamentu Europejskiego i Rady (UE) nr 1379/2013 określono, iż *„produkty rybołówstwa i akwakultury, (...) podlegające obrotowi w Unii, niezależnie od ich pochodzenia lub metody obrotu nimi, mogą być oferowane do sprzedaży konsumentowi finalnemu lub zakładowi żywienia zbiorowego jedynie wtedy, gdy odpowiednie oznaczenie lub etykietowanie zawiera:*

- a) handlowe oznaczenie gatunku i jego nazwę systematyczną;*
- b) metodę produkcji, w szczególności następujące sformułowania: „...złowione...” lub „...złowione w wodach śródlądowych...” lub „...wyhodowane...”;*
- c) obszar, na którym produkt został złowiony lub wyhodowany, oraz kategorię narzędzia połowowego użytego do połowów (...),*
- d) informację czy produkt został rozmrożony;*
- e) datę minimalnej trwałości, w stosownych przypadkach”.*

Wymagania te nie dotyczą przetworzonych lub sterylizowanych ryb, skorupiaków i mięczaków, kawioru, a także wszystkich mączek rybnych, makaronów, ekstraktów i soków z mięsa ryb, olejów i innych tłuszczów. Jednak inne rodzaje produktów rybołówstwa i akwakultury, np. ryby świeże schłodzone, mrożone, suszone, solone, wędzone a także gotowane skorupiaki i mięczaki, muszą być opatrzone powyższymi informacjami dostępnymi dla konsumentów. Dzięki temu zapisowi konsumenci, ale także wszystkie inne ogniwa łańcucha dostaw, mają wiedzę o dokładnym pochodzeniu produktu rybnego – akwenu, w którym były poławiane ryby morskie lub kraju pochodzenia ryb hodowlanych. Co w przypadku, gdy ok. 70% (Hryszko 2018) surowców do polskiego przetwórstwa pochodzi z innych krajów UE lub importu ma duże znaczenie.

Bardzo istotnym obszarem bezpieczeństwa żywności są zanieczyszczenia produktów spożywczych, zarówno pochodzące z samych surowców lub innych substancji dodawanych do produktów (np. metale ciężkie, dioksyny, pestycydy), jak i z procesu produkcyjnego (np. zanieczyszczenia mikrobiologiczne). Dopuszczalne limity poziomów związków chemicznych w żywności, takich jak dioksyny oraz polichlorowane bifenyle, metale ciężkie, azotany,

mikotoksyny, wielopierścieniowe węglowodory aromatyczne, melamina czy kwas erukowy określono w rozporządzeniu komisji (WE) nr 1881/2006 ustalającym najwyższe dopuszczalne poziomy niektórych zanieczyszczeń w środkach spożywczych. Z uwagi na ciągły rozwój badań analitycznych, np. bardziej skuteczną wykrywalność związków chemicznych czy też coraz większą wiedzę o ich szkodliwości rozporządzenie to podlega częstym zmianom. Laboratoria chemiczne badające żywność muszą być zatem zawsze na bieżąco z obowiązującymi przepisami prawa.

Obok zanieczyszczeń chemicznych o bezpieczeństwie zdrowotnym żywności stanowi także bezpieczeństwo mikrobiologiczne, a zatem jak najniższe poziomy mikroflory chorobotwórczej. Poziomy tych substancji są ujęte w rozporządzeniu Komisji (WE) nr 2073/2005 z dnia 15 listopada 2005 r. w sprawie kryteriów mikrobiologicznych dotyczących środków spożywczych. W przypadku produktów rybołówstwa i akwakultury rozporządzenie określa limity:

- a) *Listerii monocytogenes* w żywności gotowej do spożycia, w której możliwy jest wzrost *L. monocytogenes*, niebędącej żywnością przeznaczoną dla niemowląt ani żywnością specjalnego medycznego przeznaczenia (w przypadku produktów wprowadzanych do obrotu w ciągu okresu przydatności do spożycia – poniżej 100 jtk/g);
- b) *Listerii monocytogenes* w żywności gotowej do spożycia, w której możliwy jest wzrost *L. monocytogenes*, niebędącej żywnością przeznaczoną dla niemowląt ani żywnością specjalnego medycznego przeznaczenia (w przypadku produktów przed wyjściem żywności spod bezpośredniej kontroli przedsiębiorstwa sektora spożywczego, które jest jego producentem – nieobecne w 25 g);
- c) *Salmonelli* w gotowanych skorupiakach i mięczakach, żywych małżach szkarłupniach, osłonicach i głowonogach (nieobecne w 25 g);
- d) *E. coli* w żywych małżach, szkarłupniach, osłonicach i ślimakach morskich (maksymalnie jedna próbka na 5 może osiągać wynik między 230-700 MNP/100 g mięsa i płynu międzyskorupowego);
- e) Histaminy w produktach rybołówstwa z gatunków ryb o podwyższonym poziomie histydyny (maksymalnie 2 próbki na 9 mogą osiągnąć wynik między 100-200 mg/kg);
- f) Histaminy w produktach rybołówstwa (z wyjątkiem sosu rybnego poddanego fermentacji), które poddano zabiegowi enzymatycznego dojrzewania w solance, wyprodukowane z gatunków ryb o podwyższonym poziomie histydyny (maksymalnie 2 próbki na 9 mogą osiągnąć wynik między 200-400 mg/kg);

- g) Histaminy w sosie rybnym wytwarzanym na drodze fermentacji produktów rybołówstwa (żadna próbka nie może przekraczać 400 mg/kg);
- h) *E. coli* w produktach z gotowanych skorupiaków i mięczaków bez skorup i muszli (na końcu procesu produkcji – maksymalnie 2 na 5 próbek mogą osiągnąć wyniki między 1-10 MPN/g);
- i) Gronkowców koaguzao-dodatnich w produktach z gotowanych skorupiaków i mięczaków bez skorup i muszli (na końcu procesu produkcji – maksymalnie 2 na 5 próbek mogą osiągnąć wyniki między 100-1000 jtk/g).

Rozporządzenie nie określa limitów dla innych gatunków mikroorganizmów obecnych w produktach rybołówstwa i akwakultury, a takie limity były kiedyś stosowane w krajowych, uchylonych już rozporządzeniach oraz wycofanych normach. Brak tych limitów utrudnia producentom potwierdzenie bezpieczeństwa zdrowotnego oferowanych przez nich produktów. Obecnie stosowane procesowe podejście do bezpieczeństwa żywności zaleca przygotowanie i poprowadzenie procesu produkcyjnego, w taki sposób by minimalizować ryzyko jakiegokolwiek zanieczyszczenia żywności, a także poprzez zachowanie łańcucha chłodniczego niedopuszczenie do nadmiernego, zagrażającego zdrowiu i życiu konsumentów rozwoju mikroflory chorobotwórczej.

Obowiązujące obecnie prawo żywnościowe jest często zmieniane. Zestawienie rozporządzeń unijnych, do których wprowadza się najwięcej zmian z uwagi na opracowywanie nowych składników żywności lub pasz oraz rozwój metod badawczych wykrywających zanieczyszczenia podano w tabeli 42.

Zaprezentowana w tabeli 42 lista pokazuje, że kierunki zmian prawa żywnościowego to przede wszystkim rozwój badań w zakresie pestycydów i środków ochrony roślin, zagadnień dotyczących materiałów do kontaktu z żywnością, w tym szczególnie tworzyw sztucznych, a także ogromny rozwój w zakresie składników pasz oraz dodatków do żywności i nowych składników żywności. Wprowadzanie na rynek nowych składników żywności oraz dodatków do żywności wymaga ich przebadania w celu określenia ich bezpośredniego działania, np. czy nie stwarza zagrożenia dla zdrowia czy życia konsumentów. Jednakże substancje te są również monitorowane w aspekcie długotrwałych konsekwencji ich użycia i stąd maksymalne limity ich zastosowania ulegają zamianom na przestrzeni lat.

Tabela 42. Najczęściej zmieniane unijne przepisy prawne dotyczące bezpieczeństwa żywności.

Pestycydy	Rozporządzenie (WE) nr 396/2005 Parlamentu Europejskiego i Rady z dnia 23 lutego 2005 r. w sprawie najwyższych dopuszczalnych poziomów pozostałości pestycydów w żywności i paszy pochodzenia roślinnego i zwierzęcego oraz na ich powierzchni, zmieniające dyrektywę Rady 91/414/EWG
Środki ochrony roślin	Rozporządzenie Wykonawcze Komisji (UE) nr 540/2011 z dnia 25 maja 2011 r. w sprawie wykonania rozporządzenia Parlamentu Europejskiego i Rady (WE) nr 1107/2009 w odniesieniu do wykazu zatwierdzonych substancji czynnych
Dodatki paszowe	Rozporządzenie (WE) nr 1831/2003 Parlamentu Europejskiego i Rady z dnia 22 sierpnia 2003 r. w sprawie dodatków stosowanych w żywieniu zwierząt
Materiały do kontaktu z żywnością	Rozporządzenie (WE) nr 1935/2004 Parlamentu Europejskiego i Rady z dnia 27 października 2004 r. w sprawie materiałów i wyrobów przeznaczonych do kontaktu z żywnością oraz uchylające dyrektywy 80/590/EWG i 89/109/EWG
Tworzywa sztuczne do kontaktu z żywnością	Rozporządzenie Komisji (WE) nr 10/2011 z dnia 14 stycznia 2011 r. w sprawie materiałów i wyrobów z tworzyw sztucznych przeznaczonych do kontaktu z żywnością
Dodatki do żywności	Rozporządzenie Parlamentu Europejskiego i Rady (WE) nr 1333/2008 z dnia 16 grudnia 2008 r. w sprawie dodatków do żywności
Nowa żywność	Rozporządzenie Wykonawcze Komisji (UE) nr 2017/2470 z dnia 20 grudnia 2017 r. ustanawiające unijny wykaz nowej żywności zgodnie z rozporządzeniem Parlamentu Europejskiego i Rady (UE) nr 2015/2283 w sprawie nowej żywności

Unijne rozporządzenie (WE) nr 853/2004 dotyczy bezpieczeństwa zdrowotnego produktów pochodzenia zwierzęcego w tym ryb, skorupiaków i mięczaków. W związku z realizacją projektu SeaQual na szczególną uwagę zasługują tu zagadnienia dotyczące postępowania z produktami rybołówstwa w aspekcie zarażenia pasożytami. Wspomniane rozporządzenie (WE) nr 853/2004 w załączniku 3 sekcji VIII, rozdz. V „Normy zdrowotne dla produktów rybołówstwa” wskazuje, że oprócz zapewnienia zgodności z kryteriami mikrobiologicznymi przyjętymi zgodnie z rozporządzeniem 852/2004/WE, podmioty prowadzące przedsiębiorstwo spożywcze zobowiązane są zapewnić spełnienie wymagań dotyczących właściwości organoleptycznych produktów, przestrzegania poziomów histaminy, o których wspomniano wyżej, odpowiednich poziomów azotu lotnych zasad amonowych, eliminacji pasożytów obecnych w produkcie oraz właściwego postępowania z produktami

zawierającymi toksyny niebezpieczne dla zdrowia konsumentów. Kryteria dotyczące kontroli tych zagadnień są opisane w rozporządzeniu (WE) nr 854/2004 i tak spełniając wymagania odnośnie eliminacji pasożytów obecnych w produkcie, podmioty powinny prowadzić „*losowe badania w celu sprawdzenia zgodności z prawodawstwem wspólnotowym dotyczące pasożytów*”. Zaś rozporządzenie (WE) nr 853/2004 podaje, że „*podmioty prowadzące przedsiębiorstwo spożywcze zobowiązane są zapewnić, aby przed wprowadzeniem do obrotu, produkty rybołówstwa zostały poddane oględzinom w celu wykrycia widocznych pasożytów. Nie mogą one wprowadzać do obrotu w celu spożycia przez ludzi produktów rybołówstwa, które w sposób widoczny są zanieczyszczone pasożytami*”.

Według zapisów rozporządzenia (WE) nr 853/2004 „*przedsiębiorstwa sektora spożywczego wprowadzające do obrotu następujące produkty rybołówstwa pozyskane z ryb lub głowonogów:*

a) produkty rybołówstwa spożywane w stanie surowym; lub

b) produkty rybołówstwa marynowane, solone lub poddawane dowolnej innej obróbce, jeżeli dana obróbka jest niewystarczająca do zabicia żywotnych postaci pasożytów,

muszą dopilnować, aby surowiec lub produkt końcowy został poddany mrożeniu w celu zabicia żywotnych postaci pasożytów, które mogłyby stanowić zagrożenie dla zdrowia konsumentów. W przypadku pasożytów innych niż przywry mrożenie musi obejmować obniżenie temperatury we wszystkich częściach produktu przynajmniej do:

a) -20°C przez okres nie krótszy niż 24 godziny; lub

b) -35°C przez okres nie krótszy niż 15 godzin”.

Rozporządzenie przewiduje wyjątki od wymagania mrożenia ryb. Nie musi ono być prowadzone wówczas, gdy produkty rybołówstwa zostaną poddane przed konsumpcją obróbce cieplnej inaktywującej żywotne postacie pasożytów (co oznacza ogrzewanie środka termicznego produktu do temperatury 60°C lub wyższej przez co najmniej 1 minutę) lub były utrwalone w postaci mrożonej przez wystarczająco długo okres by inaktywować pasożyty. Ponadto mrożenie nie jest wymagane w przypadku ryb dla których zezwolą na to właściwe władze lub są dane epidemiologiczne wskazujące, że pochodzą z obszarów nie stanowiących zagrożenia dla zdrowia w odniesieniu do występowania pasożytów. Nie trzeba również mrozić ryb pozyskanych z akwakultury, które były utrzymywane w środowisku wolnym od żywotnych postaci pasożytów lub zezwala na taką procedurę właściwy organ, w tym przypadku powiatowy lekarz weterynarii, sprawujący nadzór nad gospodarstwem.

Zastosowanie mrożenia w celu inaktywacji pasożytów wymaga, zgodnie z rozporządzeniem (WE) nr 853/2004, wydania wraz z produktem, dokumentu określającego rodzaj mrożenia jakiemu poddano produkt. Wyjątek stanowi tu sprzedaż produktów konsumentom, którym takich informacji nie ma obowiązku przekazywać.

W preambule do rozporządzenia Komisji (WE) nr 2074/2005 dotyczącego urzędowych kontroli produktów podano, że *„aby zapobiec spożyciu przez ludzi ryb zawierających pasożyty, przedsiębiorstwa sektora spożywczego zobowiązane są prowadzić własne kontrole na wszystkich etapach produkcji produktów rybołówstwa, zgodnie z zasadami określonymi w rozdziale V D sekcji VIII załącznika III do rozporządzenia (WE) nr 853/2004”*. Rozporządzenie to, w celu ułatwienia kontroli obecności pasożytów w przedsiębiorstwach, definiuje pojęcia widocznego pasożyta, kontroli wzrokowej oraz badania pod światło, które ujęto je w tabeli 43.

Tabela 43. Pojęcia związane z kontrolą wzrokową obecności pasożytów w produktach rybołówstwa.

Widoczny pasożyt	Pasożyt bądź grupa pasożytów o rozmiarze, barwie i strukturze, które wyraźnie odróżniają się od tkanki rybnej
Kontrola wzrokowa	Niedestrukcyjne badanie ryb lub produktów rybołówstwa za pomocą optycznych przyrządów powiększających lub bez nich, w dobrych warunkach oświetleniowych dla ludzkiego wzroku, w razie potrzeby obejmujące badanie pod światło
Badanie pod światło	W przypadku płastug lub filetów rybnych poddanie obserwacji przy równoczesnym umieszczeniu ryby pod światło w zaciemnionym pomieszczeniu w celu wykrycia pasożytów

Źródło: Rozporządzenie (WE) nr 2074/2005, zał. II, sekcja I, rozdz. I.

Badania ankietowe przeprowadzone w projekcie SeaQual pokazują, że większość podmiotów przetwarzających dorsza dokonuje wizualnej oceny obecności pasożytów, stąd też muszą zapewnić w tych ocenach niezbędne warunki do kontroli wzrokowej obecności pasożytów.

Zgodnie z rozporządzeniem Komisji (WE) nr 2074/2005 kontrola wzrokowa ryb pod względem obecności pasożytów powinna być przeprowadzana na reprezentatywnej liczbie próbek. Wykwalifikowani pracownicy w zakładach przetwórczych oraz na statkach przetwórczych powinni określić skalę oraz częstotliwość kontroli biorąc pod uwagę typ produktów rybołówstwa, ich pochodzenie geograficzne oraz ich wykorzystanie. Kontrola wzrokowa wypatroszonych ryb powinna obejmować jamę brzuszną, wątrobę oraz ikrę. *„W zależności od stosowanego systemu patroszenia należy przeprowadzić kontrolę wzrokową:*

a) w przypadku patroszenia ręcznego, w sposób ciągły przez osobę patroszącą w czasie patroszenia i mycia;

b) w przypadku patroszenia mechanicznego, przez badanie próbek przeprowadzane na reprezentatywnej liczbie próbek nie mniejszej niż 10 ryb na partię”.

Rozporządzenie Komisji (WE) nr 2074/2005 określa także, że „kontrola wzrokowa filetów rybnych lub płatów rybnych musi być przeprowadzana przez wykwalifikowany personel podczas wykrawania i po filetowaniu lub cięciu na płaty”. W rozporządzeniu określono również postępowanie w przypadku gdy badanie indywidualne nie jest możliwe z powodu wielkości filetów lub czynności związanych z filetowaniem. Wówczas należy sporządzić plan pobierania próbek zgodnie z zapisami zawartymi w rozdziale II pkt. 4 sekcji VIII załącznika III do rozporządzenia (WE) nr 853/2004, który musi być zaakceptowany przez właściwy organ.

Na prawo żywnościowe składają się również krajowe akty prawne, które odwołują się w większości do rozporządzeń unijnych lub też regulują obszary nieopisane przez unijne legislacje a będące w gestii Państw Członkowskich. Z najważniejszych krajowych dokumentów z zakresu prawa żywnościowego wymienić należy następujące:

- a) Ustawę z dnia 25 sierpnia 2006 r. o bezpieczeństwie żywności i żywienia (Dz.U. 2006), która określa wymagania i procedury niezbędne dla zapewnienia bezpieczeństwa produktów żywnościowych jak i żywienia konsumentów, zgodnie z przepisami unijnymi w tym rozp. (WE) nr 178/2002. Ujęto w tej ustawie wiele pojęć związanych z zapewnieniem bezpieczeństwa zdrowotnego żywności, np. system HACCP, produkcja środków spożywczych, środek spożywczy szkodliwy dla zdrowia lub życia człowieka, itp.;
- b) Ustawę z dnia 16 grudnia 2005 r. o produktach pochodzenia zwierzęcego, która określa wymagania, jakie powinny spełniać produkty pochodzenia zwierzęcego wprowadzane na rynek, w tym produkty pochodzące z rolniczego handlu detalicznego oraz produkty, których wytwarzanie nie jest objęte rozporządzeniami unijnymi. Ustawa określa sposób przeprowadzania urzędowych kontroli w zakresie nieuregulowanym w przepisach unijnych (Dz.U. 2005);
- c) Ustawę z dnia 21 grudnia 2000 r. o jakości handlowej artykułów rolno-spożywczych, która reguluje zagadnienia dotyczące jakości handlowej artykułów rolno-spożywczych, w tym ich znakowania. Zdefiniowano w niej pojęcia dotyczące jakości żywności takie jak jakość handlowa czy artykuł rolno-spożywczy zafałszowany (Dz.U. 2000).

Ujęta we wspomnianej ustawie jakość handlowa to „*cechy artykułu rolno-spożywczego dotyczące jego właściwości organoleptycznych, fizykochemicznych i mikrobiologicznych w zakresie technologii produkcji, wielkości lub masy oraz wymagania wynikające ze sposobu produkcji, opakowania, prezentacji i oznakowania, nieobjęte wymaganiami sanitarnymi, weterynaryjnymi lub fitosanitarnymi*”. Definicja ta obejmuje wszystkie zagrożenia związane z żywnością, które nie dotyczą zagrożeń fizycznych, chemicznych lub mikrobiologicznych, ale mogą stanowić niebezpieczeństwo dla konsumenta lub wprowadzać go w błąd np. z powodu niewłaściwego oznakowania.

W obszarze znakowania żywności istotne jest także rozporządzenie Ministra Rolnictwa i Rozwoju Wsi z dnia 23 grudnia 2014 r. w sprawie znakowania poszczególnych rodzajów środków spożywczych. Jest to rozporządzenie wykonawcze do ustawy o jakości handlowej artykułów rolno-spożywczych i określa wymagania odnośnie znakowania niektórych grup produktów nieopisane w przepisach unijnych (Dz.U. 2014).

Ważnymi, choć uchylonymi już dokumentami, na które chętnie do dziś powołują się osoby związane z produkcją i badaniem żywności są dwa rozporządzenia. Pierwsze to rozporządzenie Ministra Rolnictwa i Rozwoju Wsi z dnia 24 maja 2004 r. w sprawie wymagań weterynaryjnych przy produkcji i dla produktów rybołówstwa. Rozporządzenie to zaczęło obowiązywać 13.06.2004 r. a zostało uchylone 20.08.2009 r (Dz.U. 2004). Obowiązywało ono w zakresie nieuregulowanym w przepisach unijnych. Jego szczegółowość pomagała pracownikom zakładów przetwórczych spełnić wymagania higieniczne w produkcji przetworów rybnych, bo określało ono wymagania dla różnych rodzajów przetwórstwa rybnego, np. dla zakładów produkujących konserwy rybne. W zakresie produktów rybołówstwa rozporządzenie było bardziej szczegółowym odpowiednikiem unijnych rozporządzeń (WE) nr 852 i 853, co było niezwykle ważne, w okresie gdy te dwa rozporządzenia były implementowane w zakładach przetwórstwa ryb, bo choć weszły one w życie 20 maja 2004 r. to zaczęły obowiązywać dopiero 1 stycznia 2006 r.

Drugim dokumentem jest rozporządzenie Ministra Zdrowia z dnia 13 stycznia 2003 r. w sprawie maksymalnych poziomów zanieczyszczeń chemicznych i biologicznych, które mogą znajdować się w żywności, składnikach żywności, dozwolonych substancjach dodatkowych, substancjach pomagających w przetwarzaniu albo na powierzchni żywności (Dz.U. 2003). Rozporządzenie obowiązywało krótko, bo od 19.03.2003 do 28.05.2004 r., jednak było na tyle istotne, że do dziś w laboratoriach badawczych można badać produkty rybne na zgodność z tym rozporządzeniem. Akt ten poprzedzały rozporządzenia o podobnym zasięgu tematycznym

i były one dla przetwórców pierwowzorem rozporządzeń unijnych z zakresu dozwolonych poziomów zanieczyszczeń chemicznych oraz mikrobiologicznych. Miały one bardziej szczegółowy zakres, np. określały jakim badaniom mikrobiologicznym powinna być objęta każda partia konserw rybnych a jakim przetwory rybne marynowane. Był to szerszy zakres badań niż obecnie, co pozwalało na potwierdzenie bezpieczeństwa produktu. Obecnie to producenci sami (poza spełnieniem wymagań unijnych wynikających z rozporządzenia (WE) nr 2073/2005, muszą określić termin przydatności do spożycia lub datę minimalnej trwałości produktów rybołówstwa i akwakultury, mając na względzie zagrożenia wynikające z surowca i samego procesu produkcyjnego oraz wyniki przeprowadzonych badań mikrobiologicznych. Pozwala to przetwórcom na większą swobodę w produkcji (np. przy tworzeniu specyfikacji produktów), ale wymaga również ścisłego panowania na wszystkich aspektami procesu produkcyjnego i dystrybucyjnego tak by zminimalizować ryzyko zagrożenia dla zdrowia i życia konsumentów

Podsumowanie

Przedstawione powyżej zestawienia przepisów prawnych stanowią jedynie wstęp do złożonego, zarówno na gruncie unijnym jak i krajowym, zagadnienia prawa żywnościowego. Wymienione unijne rozporządzenia oraz krajowe ustawy mają jeszcze wiele przepisów wykonawczych, które ustalają szczegółowe wytyczne postępowania podczas produkcji żywności w celu potwierdzenia bezpieczeństwa zdrowotnego oraz jakości produktów oferowanych konsumentom. Pracownicy zakładów przetwórczych zajmujący się zgodnością ich produktów z wymogami przepisów prawa muszą na bieżąco śledzić zmiany zarówno unijnych jak i krajowych aktów prawa żywnościowego. W spełnianiu przepisów prawa istotny jest także kontakt z nadzorującym zakład powiatowym inspektoratom weterynarii, których pracownicy poprzez procedury kontrolne, ale i stałą współpracę z pracownikami przetwórcami powinni pomóc spełnić wymagania prawa stawiane produktom rybołówstwa i akwakultury wprowadzanym na rynek.

6. Procesy technologiczne stosowane w przetwórstwie rybnym, z uwzględnieniem aspektów bezpieczeństwa i jakości żywności

6.1. Wymagania ogólne dotyczące postępowania ze świeżymi produktami rybołówstwa w zakładzie przetwórczym

Bogusław Pawlikowski, Katarzyna Komar - Szymczak

Na podstawie rozporządzenia (WE) nr 853/2004 Parlamentu Europejskiego i Rady z dnia 29 kwietnia 2004 r. do świeżych produktów rybołówstwa zaliczane są wszystkie produkty, w całości nieprzetworzone lub wstępnie przetworzone, nieopakowane, pakowane bez modyfikacji atmosfery lub pakowane w modyfikowanej atmosferze, które w celu przedłużenia ich trwałości, nie zostały poddane żadnemu działaniu utrwalającemu poza schładzaniem.

Natomiast wstępnie przetworzone produkty rybołówstwa są to produkty, poddane operacjom obróbki wstępnej naruszającym ich pierwotną strukturę anatomiczną, tj. odgławianiu, patroszeniu, filetowaniu, odskórzaniu, porcjowaniu, docinaniu (trymowaniu) i/lub rozdrabnianiu.

Świeże produkty rybołówstwa po złowieniu należy chronić przed zanieczyszczeniem oraz przed wpływem słońca i innych źródeł ciepła. Z tego względu produkty rybołówstwa po złowieniu możliwie jak najszybciej poddaje się schłodzeniu.

Produkty rybołówstwa po złowieniu stykają się z otoczeniem o wyższej temperaturze, co powoduje znaczne przyspieszenie procesów psucia. Dlatego jest konieczne zastosowanie szybkiego ich schłodzenia w wyniku czego następuje istotne przedłużenie fazy przygotowawczej cyklu rozwojowego drobnoustrojów. Temperatury chłodnicze bardziej wpływają na przedłużenie okresu generacji bakterii mezofilnych niż psychrofilnych. Decydujący wpływ na procesy psucia zachodzące w produktach rybołówstwa mają bakterie *Pseudomonas*.

W wypadku gdy schłodzenie nie jest możliwe, produkty rybołówstwa mogą być przechowywane na pokładzie statku rybackiego nie dłużej niż 8 godzin, a następnie jak najszybciej wyładowane i przechowywane na lądzie w temperaturze zbliżonej do temperatury topnienia lodu.

Schładzanie polega na obniżeniu temperatury produktów rybołówstwa w zakresie od 0 do 5°C, czyli do temperatury nie niższej niż temperatura topnienia lodu.

Lodowanie jest metodą schładzania produktów za pomocą rozdrobnionego lodu uzyskanego z wody pitnej lub z czystej wody morskiej, nie zawierającej zanieczyszczeń chemicznych i biologicznych, w ilościach szkodliwych dla zdrowia ludzkiego.

Trwałość świeżych produktów rybołówstwa zależy od wielu czynników, w tym od gatunku ryb, cyklu rozwojowego, intensywności odżywiania się i rodzaju pokarmu. Ryby o dużej aktywności metabolicznej i delikatnej strukturze tkanki mięśniowej, drobne ryby o dużej zawartości tłuszczu oraz ryby złowione za pomocą włoków pelagicznych, są bardziej narażone na procesy psucia i mają krótsze okresy trwałości niż ryby denne (płastugi), ryby duże o niskiej zawartości tłuszczu oraz ryby, w których proces stężenia pośmiertnego przebiega stosunkowo długo. Do innych czynników mających wpływ na trwałość świeżych produktów rybołówstwa należą: rejon i sezon połowu, metoda połowu oraz sposób przechowywania ryb na statku. Należy pamiętać, że trwałość świeżych produktów rybołówstwa zależy nie tylko od szybkości schłodzenia oraz ich jakości i kondycji wyjściowej, ale także od metod postępowania i warunków przechowywania ich na statku rybackim.

Procesy psucia się świeżych produktów rybołówstwa następują w wyniku:

- a) procesów biochemicznych z udziałem enzymów trawiennych, przebiegających w złowionych rybach w sposób niekontrolowany,
- b) procesów mikrobiologicznych z udziałem drobnoustrojów, znajdujących się na powierzchni i we wnętrznościach złowionych ryb.

W odniesieniu do świeżych produktów rybołówstwa obowiązuje zasada, że im temperatura przechowywania produktów jest bliższa temperatury topnienia lodu, tym wolniejszy jest przebieg procesów psucia wskutek biochemicznych i mikrobiologicznych procesów.

W przypadku gdy niepakowane świeże produkty rybołówstwa nie są rozprowadzane, wysyłane, wstępnie przetworzone lub przetwarzane, niezwłocznie po dostarczeniu do zakładu należy zapewnić przechowywanie ich w pojemnikach, pod warstwą lodu. Ubytki warstwy lodu przykrywającej produkty wskutek topnienia, powinny być sukcesywnie uzupełniane.

Pakowane świeże produkty rybołówstwa muszą zostać schłodzone do temperatury bliskiej temperaturze topnienia lodu.

Zakład przetwarzający świeże produkty rybołówstwa powinien być tak zaprojektowany aby przetwarzanie surowców rybnych odbywało się bez zbędnych opóźnień. Ogólny stan sanitarny zakładu, w którym przetwarzane są surowce rybne powinien wyróżniać się najwyższym poziomem wśród pozostałych zakładów przetwórstwa spożywczego. Zakład

przetwórczy powinien być pod każdym względem funkcjonalny, a jego konstrukcja oraz wyposażenie szczegółowo zaplanowane, ze zwróceniem szczególnej uwagi na wymagania sanitarno-higieniczne. Pomieszczenia przeznaczone do przetwarzania produktów rybołówstwa muszą być oddzielone od pozostałych obiektów nieprodukcyjnych w zakładzie. Posadzki tych pomieszczeń, wykonane z twardego i nienasiąkliwego materiału, powinny być wyposażone w odpowiednie instalacje odprowadzające ścieki produkcyjne. Stanowiska na których surowce rybne poddawane są obróbce wstępnej powinny być wykonane z materiałów nienasiąkliwych, odpornych na korozję, przystosowanych do prowadzenia poszczególnych operacji. Stoły i deski do filetowania ryb powinny być często i dokładnie myte oraz dezynfekowane. Tam gdzie jest to możliwe, stanowiska do obróbki wstępnej ryb powinny być podczas eksploatacji, w sposób ciągły splukiwane wodą pitną lub czystą wodą morską.

Niezależnie od stosowanych metod i warunków przetwarzania surowców rybnych w zakładzie przetwórczym, uzyskane produkty powinny być wysokiej jakości i bezpieczne dla konsumentów.

Procesy obróbki wstępnej, w tym odgławiania, patroszenia i filetowania, produktów rybołówstwa należy wykonywać możliwie jak najszybciej po wyłowieniu lub wyładowaniu na ląd. Niezwłocznie po wykonaniu operacji obróbki wstępnej produkty powinny być dokładnie umyte.

Filetowanie i porcjowanie produktów rybołówstwa należy wykonać w sposób uniemożliwiający zanieczyszczenie lub uszkodzenie wytworzonych filetów lub płatów. Produkty te nie mogą pozostawać na stołach roboczych dłużej niż jest to konieczne. Uzyskane filety należy umieścić w opakowaniach jednostkowych lub w opakowaniach zbiorczych, a następnie jak najszybciej schłodzić.

Linie do filetowania ryb powinny stanowić zwarte jednostki przetwórcze zorganizowane w taki sposób, aby ryby były przemieszczane ze stałą szybkością wzdłuż całej linii, bez zbędnych opóźnień. Należy stosować urządzenia obróbki wstępnej dostosowane do określonych gatunków ryb.

Stanowiska do podświetlania filetów bez skóry stosowane do wizualnej oceny stopnia ich zarażenia pasożytami powinny być często i dokładnie czyszczone i myte, ponieważ ciepło wydzielane podczas ich użytkowania powoduje intensyfikację procesów mikrobiologicznych na ich powierzchni.

Należy zwrócić uwagę, by przechowywanie i przetwarzanie surowców rybnych w temperaturach powyżej temperatury topniejącego lodu było ograniczone do niezbędnego minimum.

Pojemniki używane do transportu lub przechowywania niepakowanych, wstępnie przetworzonych świeżych produktów rybołówstwa, przykrytych warstwą lodu, muszą zapewniać, aby woda powstała w wyniku stopienia lodu nie miała kontaktu z tymi produktami.

Całe lub patroszone świeże produkty rybołówstwa można transportować i przechowywać na pokładzie statku w oziębianej wodzie. Można je także dalej transportować w oziębianej wodzie po wyładowaniu na ląd, do czasu ich dostawy do pierwszego zakładu na lądzie wykonującego inne czynności niż transport czy sortowanie.

Operacje wstępnego przetwarzania produktów rybołówstwa wykonuje się w sposób uniemożliwiający ich skażenie i zanieczyszczenie.

Do mycia (płukania) całych ryb przed obróbką wstępną, ryb ogłowionych i patroszonych, ryb przed i po filetowaniu, odkórzaniu, docinaniu (trymowaniu), a także do mycia maszyn i narzędzi służących do obróbki wstępnej powinna być zapewniona odpowiednia ilość wody pitnej lub czystej wody morskiej.

Wstępnie przetworzone produkty rybołówstwa powinny być przechowywane w chłodniczych pomieszczeniach, zapewniających temperaturę produktów w zakresie od 0 do 5°C. W pomieszczeniach powinien być umieszczony wykalibrowany termometr wskazujący temperaturę otoczenia. Zaleca się stosowanie termometrów z ciągłym pomiarem i rejestracją temperatury. Produkty powinny być przechowywane w pojemnikach, w warstwach, oddzielonych odpowiednią ilością drobno rozdrobnionego lodu lub mieszaniną lodu i wody.

Produkty rybołówstwa powinny być przechowywane w sposób, zapobiegający uszkodzeniom spowodowanym nadmiernym lub niewłaściwym wypełnieniem pojemników.

Postępowanie przy produkcji mrożonych filetów z dorsza bałtyckiego

Poniżej zamieszczono zasady i warunki produkcji mrożonych filetów z dorsza bałtyckiego w celu zapewnienia wysokiej jakości i bezpieczeństwa produktu.

Przed rozpoczęciem produkcji niezbędna jest kontrola stanu sanitarno-higienicznego pomieszczeń produkcyjnych, instalacji i urządzeń przetwórczych. W przypadku stwierdzenia niedociągnięć w tym zakresie, należy natychmiast podjąć działania w celu zapewnienia wymaganego stanu sanitarno-higienicznego procesu produkcji.

Następnie określona partia surowca (dorsz świeży patroszony z głową) jest przetransportowywana z magazynu chłodniczego do pomieszczenia produkcyjnego, w którym prowadzone są operacje obróbki wstępnej, w tym ogławianie, filetowanie i odskórzanie.



Fot. 54. Dorsze świeże patroszone przechowywane w lodzie.

Tusze patroszone dorsza po dostarczeniu ich na stanowiska obróbki wstępnej, są opłukane bieżącą wodą, a następnie poddane ogławianiu. W wyniku tej operacji tusze zostają pozbawione (cięciem prostym lub skośnym) głowy, pasa barkowego i płetw piersiowych, z płatami brzuszными ściętymi lub przeciętymi poza otwór odbytowy.



Fot. 55. Stanowiska do wstępnej obróbki ryb.

Podczas obróbki wstępnej, pracownicy powinni poddać każdą rybę wizualnej ocenie na ewentualną obecność pasożytów. W przypadku stwierdzenia obecności pasożytów, zarażone ryby powinny zostać wyeliminowane z dalszego toku produkcji. Po obróbce wstępnej, na transporterze wyposażonym w natrysk wodny, odbywa się płukanie i odciekanie tusz dorsza.

Uzyskane w wyniku obróbki wstępnej odgłowione tusze dorsza są pakowane do pojemników, stosowanych w transporcie międzyoperacyjnym, i ważone.



Fot. 56. Stanowisko ważenia ryb w pojemnikach.

Po zważeniu pojemniki wypełnione tuszami dorsza są transportowane na stanowiska filetowania lub (w zależności od ich przeznaczenia) przewożone do komory chłodniczej.

Filetowanie tusz dorsza może być prowadzone ręcznie na stanowiskach do filetowania lub mechanicznie z zastosowaniem odpowiednich maszyn do filetowania, np. typu Baader 187.



Fot. 57. Maszyna do filetowania tusz dorsza typu Baader 187.

Filetowanie polega na uzyskaniu płatów mięsa z odgłowionych tusz dorsza cięciem wykonanym równoległe do kręgosłupa oraz usunięciem błony otrzewnej i żeber, a pozostawieniem skóry i wyrostków ościstych kręgosłupa.



Fot. 58. Filety z dorsza bałtyckiego ze skórą.

Po filetowaniu, uzyskane filety z dorsza ze skórą są poddawane mechanicznej operacji odkórzania, np. za pomocą maszyny do odkórzania typu Baader 51.



Fot. 59. Maszyna do odkórzania filetów z dorsza typu Baader 51.

Po odkórzaniu, filety są poddawane płukaniu i odciekaniu. Następnie filety z dorsza po umieszczeniu w pojemnikach międzyoperacyjnych przetransportowane są na stanowisko ręcznego trymowania oraz prześwietlania celem wykrycia obecności pasożytów metodą wizualną.

Na stanowisku trymowania dokonywana jest korekta niedociągnięć i nieprawidłowości powstałych podczas mechanicznej obróbki ryb. Podczas trymowania zostają ręcznie usuwane pozostałości żeber, pasa barkowego, kręgosłupa, błony otrzewnej, płetw, krwiaków, przebarwień oraz luźnych ości. Przeprowadza się również wyrównywanie krawędzi ciec i docinanie filetów.

Skuteczną metodą w wykrywaniu obecności pasożytów w filetach z dorsza bez skóry jest ich prześwietlanie na odpowiednich blatach. Stanowiska do prześwietlania filetów powinny być często myte i czyszczone, aby zminimalizować aktywność drobnoustrojów na powierzchniach stykających się z filedami i by zapobiec osadzaniu się na nich organicznych zanieczyszczeń.

W przypadku stwierdzenia obecności pasożytów, należy je dokładnie usunąć z tkanki filetów, natomiast filety, w których obecne są pasożyty, w zależności od stopnia ich zarażenia

Pasożytami, należy poddać weryfikacji i ocenie odnośnie możliwości ich dalszego przetwarzania.

Kolejnym etapem jest ważenie i pakowanie filetów z dorsza do metalowych tac zamrażalniczych, np. po 6,5 kg masy netto filetów, po uprzednim wyłożeniu tac folią polietylenową. W przypadku stosowania metody *shatterpack*, każda pojedyncza warstwa filetów z dorsza jest oddzielona folią, w taki sposób, aby filety w tych warstwach nie stykały się ze sobą, umożliwiając łatwe ich oddzielenie.



Fot. 60. Zapakowane filety w tacy zamrażalniczej.

Następnie tace zamrażalnicze z filetami są umieszczone w urządzeniu do mrożenia, np. poziomej szafie kontaktowej i poddane szybkiemu mrożeniu do osiągnięcia w centrum bloku ryb zalecanej temperatury, najkorzystniej w przedziale $-25 \div -30^{\circ}\text{C}$. Czas mrożenia bloków filetów z dorsza w urządzeniu kontaktowym nie powinien przekraczać 4 godzin.



Fot. 61. Kontaktowa pozioma szafa zamrażalnicza.

Następnie zamrożone bloki filetów z dorsza są wyjęte z urządzenia zamrażalniczego, wybite z tac zamrażalniczych i zapakowane do opakowań transportowych.

Bloki filetów z dorsza są przetransportowane do komory mroźni, w którym przechowywane są w temperaturze poniżej -20°C , najkorzystniej w zakresie temperatur $25 \div -30^{\circ}\text{C}$.

6.2. Proces mrożenia produktów rybołówstwa

Bogusław Pawlikowski, Katarzyna Komar - Szymczak

Mrożenie należy do najbardziej efektywnych metod utrwalania żywności, w tym produktów rybołówstwa, i stanowi ważny etap przygotowania tych produktów do dalszego ich przetwarzania oraz dystrybucji.

Celem procesu mrożenia jest obniżenie temperatury produktów znacznie poniżej temperatury topniejącego lodu, w wyniku czego następuje zahamowanie procesów mikrobiologicznych a także enzymatycznych i biochemicznych przemian, powodujących znaczne obniżenie jakości oraz bezpieczeństwa produktów. W warunkach przemysłowych mrożenie przeprowadza się w różnych typach urządzeń lub instalacji, w taki sposób, aby możliwie szybko został przekroczony zakres temperatury od 0 do -5°C , w którym krystalizacji ulega ponad 70% wody zawartej w produkcie.

Podczas mrożenia w produkcie rybołówstwa mają miejsce procesy fizykochemiczne związane z przejściem wody w stan stały (krystalizacja) oraz denaturacja białek tkanki mięśniowej. Duży wpływ na jakość oraz bezpieczeństwo produktu finalnego mają: świeżość i kondycja surowca przed zamrożeniem a także metoda i prędkość procesu mrożenia.

W Zalecanym Międzynarodowym Kodeksie CAC/RCP 16-1978 „Ryby mrożone” oraz w krajowych, nieobligatoryjnych normach przedmiotowych i rozporządzeniach przyjmuje się, że najwyższą temperaturą mrożenia produktów rybołówstwa jest temperatura -18°C .

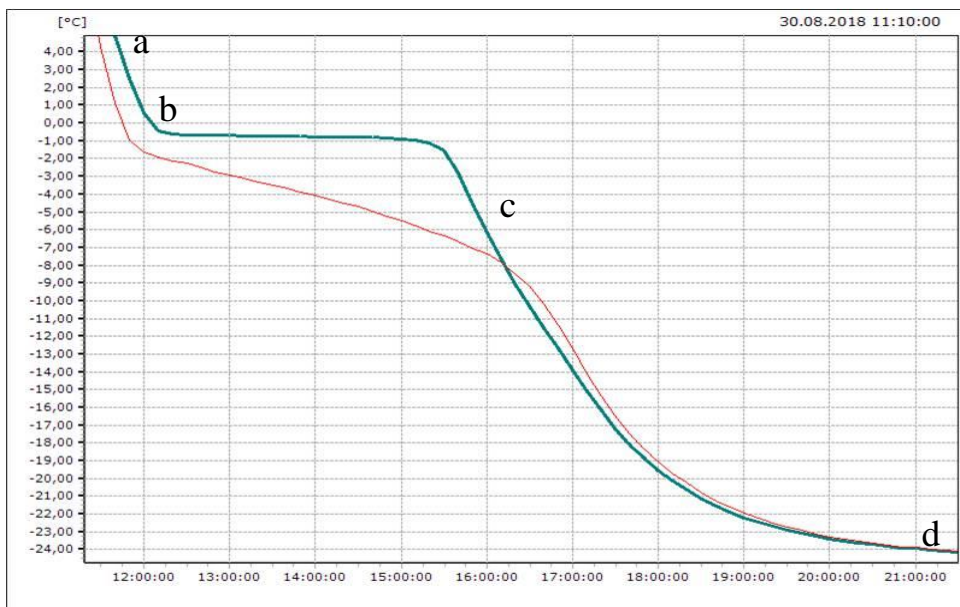
Jednak w praktyce produkcyjnej, w odniesieniu do produktów rybołówstwa, wymagane są jednak niższe temperatury mrożenia produktów rybołówstwa, poniżej -20°C , niezbędne dla zapewnienia bezpieczeństwa produktów ze względu na możliwość przeżycia pasożytów i ich larw.

Zgodnie z tymi wymaganiami, przetwórcie wprowadzające do obrotu produkty rybołówstwa spożywane w stanie surowym, marynowane, solone lub produkty poddawane innym obróbkom, które nie są wystarczające do zabicia żywotnych postaci pasożytów, muszą

poddać te produkty mrożeniu w celu zabicia tych pasożytów, które stanowią zagrożenie dla zdrowia konsumentów. Zgodnie z Rozporządzeniem Komisji (WE) nr 853/2004 Parlamentu Europejskiego i Rady z dnia 29 kwietnia 2004 r. w celu zabicia pasożytów mrożenie musi obejmować obniżenie temperatury we wszystkich częściach produktu do -20°C przez co najmniej 24 godziny lub do -35°C przez co najmniej 15 godzin.

Każdy proces mrożenia składa się z trzech etapów (rys. 59):

- a) obniżenie wyjściowej temperatury produktu do temperatury 0°C (odcinek a-b),
- b) zamrożenie wody w produkcie w zakresie temperatur $0 \div -5^{\circ}\text{C}$ (odcinek b-c),
- c) obniżenie temperatury produktu do temperatury poniżej -20°C (odcinek c-d).



Rys. 59. Etapy procesu mrożenia.

Do podstawowych czynników mających wpływ na przebieg procesu mrożenia produktów rybołówstwa należy zaliczyć:

- a) metoda i typ urządzenia zastosowanego do mrożenia,
- b) wielkość, kształt i wymiary produktu (głównie grubość),
- c) różnica temperatur między produktem a czynnikiem chłodzącym,
- d) współczynnik wymiany ciepła (α) między otoczeniem a produktem,
- e) współczynnik przewodzenia ciepła w produkcie (λ) charakteryzujący jego właściwości fizykochemiczne,
- f) opakowanie produktu.

Istotnym parametrem określającym proces mrożenia jest jego prędkość. Stosowane są różne definicje tempa mrożenia produktów rybołówstwa, z których najbardziej reprezentatywną jest tzw. tempo krystalizacji [$^{\circ}\text{C}/\text{godz.}$] fazy ciekłej (wody) w produkcji w zakresie temperatur od 0 do $-5,0^{\circ}\text{C}$. Tempo krystalizacji wody zawartej w produkcie w tym zakresie temperatur ma decydujący wpływ na końcową jakość i bezpieczeństwo mrożonych produktów rybołówstwa.

Na podstawie badań przeprowadzonych w MIR-PIB stwierdzono, że tempo mrożenia filetów z dorsza w szafie zamrażalniczej wyposażonej w jeden kompresor wynosi 1,1 [$^{\circ}\text{C}/\text{godz.}$], w komorze zamrażalniczej z dwoma kompresorami – 5,6 [$^{\circ}\text{C}/\text{godz.}$], a w tunelu kriogenicznym – powyżej 15,0 [$^{\circ}\text{C}/\text{godz.}$]. Wzrost tempa mrożenia zazwyczaj skutkuje wyższą jakością sensoryczną i korzystniejszymi właściwościami fizykochemicznymi zamrożonych produktów.

Nie ma ścisłych określeń odnoszących się do szybkiego lub wolnego przebiegu procesu mrożenia produktów rybołówstwa. Zależą one od właściwości samego produktu, stosowanych metod i urządzeń mrożenia a także obowiązujących wymagań i standardów. Zaleca się przede wszystkim, aby produkty rybołówstwa były możliwie szybko zamrożone do zadanej temperatury, równej lub niższej od -20°C .

Dla przykładu w Wielkiej Brytanii zaleca się, by mrożenie produktów rybołówstwa w decydującym etapie tego procesu w zakresie temperatur 0°C – -5°C przebiegało nie dłużej niż 2 godziny, ponieważ ten etap jest krytyczny dla zakresu i charakteru zmian denaturacyjnych białek w tkance ryb. Po tym etapie mrożenie produktów rybołówstwa powinno być kontynuowane do zadanej temperatury przechowywania.

Jeżeli w procesie mrożenia etap krystalizacji wody w produkcji trwa długo, np. 24 godziny, świadczy to o nieprawidłowej konstrukcji urządzenia i/lub jego niewłaściwej obsłudze, i w konsekwencji może spowodować znaczne pogorszenie jakości produktu gotowego.

Podwójne zamrażanie produktów rybołówstwa

Podwójne zamrożenie obejmuje etapy: zamrożenie produktu, rozmrożenie lub częściowe rozmrożenie i ponowne zamrożenie. Ta praktyka produkcyjna jest często stosowana do produkcji mrożonych produktów wytworzonych z surowców rybnych, uprzednio zamrożonych i przechowywanych luzem. Należy jednak pamiętać, stosując tę metodę, że nawet szybkie zamrożenie powoduje obniżenie jakości produktów, a ich rozmrożenie i ponowne zamrożenie powoduje dalsze niekorzystne zmiany ich jakości.

Z tego względu, dla zapewnienia wysokich standardów jakościowych wytwarzanych produktów zaleca się, aby podwójnemu zamrażaniu były poddawane tylko surowce o wysokiej początkowej jakości, np. ryby zamrożone szybko na statku rybackim, bezpośrednio po ich złowieniu.

Przechowywanie mrożonych produktów rybołówstwa

Mrożone produkty rybołówstwa nie mają nieograniczonej trwałości. Niskie temperatury przechowywania zamrażalniczego hamują mikrobiologiczne procesy psucia, lecz nie powstrzymują całkowicie reakcji biochemicznych i nie zapobiegają skutecznie procesom jęłczenia tłuszczów i ubytków wody, a nawet wywołują zmiany białek pogarszające jakość produktów. Trwałość produktów rybołówstwa zależy od stopnia zabezpieczenia przed utlenianiem i wysuszką, od jakości wyjściowej surowca oraz temperatury przechowywania.

Zalecany Code of Practice for Fish and Fishery Products CAC/RCP 52-2003 rekomenduje przechowywanie mrożonych produktów rybołówstwa w temperaturach odpowiednich dla gatunku ryb, rodzaju produktu oraz deklarowanego czasu przechowywania.

W Wielkiej Brytanii zalecana temperatura przechowywania wszystkich produktów rybołówstwa wynosi -30°C . W uzasadnionych przypadkach produkty mogą być przechowywane w wyższych temperaturach niż -30°C , pod warunkiem, że są przechowywane w stosunkowo krótkim okresie czasu. Międzynarodowy Instytut Chłodnictwa zaleca przechowywanie ryb wysokiej zawartości tłuszczu, jak śledź, sardynka, makrela, w temperaturze -24°C . W przypadku ryb o niskiej zawartości tłuszczu, przechowywanych przez jeden rok temperatura powinna wynosić -30°C .

Mroźnie powinny być dostosowane do przechowywania produktów rybołówstwa w temperaturze -30°C i tylko w uzasadnionych sytuacjach mogą być eksploatowane w temperaturach powyżej -30°C .

Według standardów FAO/WHO oraz normy PN-06/A-07005 okresy trwałości poszczególnych asortymentów mrożonych produktów rybołówstwa zależą od gatunku surowca oraz od zakresów temperatury przechowywania, które zawarte są w przedziałach: -18°C – -22°C , -22°C – -30°C oraz poniżej -30°C (Tabela 44) (PN-06/A-07005; CAC 2016).

Tabela 44. Okresy trwałości mrożonych produktów rybołówstwa według standardów FAO/WHO oraz normy PN-83/A-07005.

Surowiec	Okres trwałości (m-ce)		
	-18 ÷ -22°C	-22 ÷ -30°C	poniżej -30°C
Ryby tłuste (sardynka, łosoś)	4 4*	8 6*	12 8*
Ryby chude (dorsz, płamiak)	8 6*	18 8*	24 10*
Płastugi (sola, stornia)	9	18	24
Homary, kraby	6	12	15
Krewetki	6	10	12

* okresy trwałości według wymagań normy PN-83/A-07005

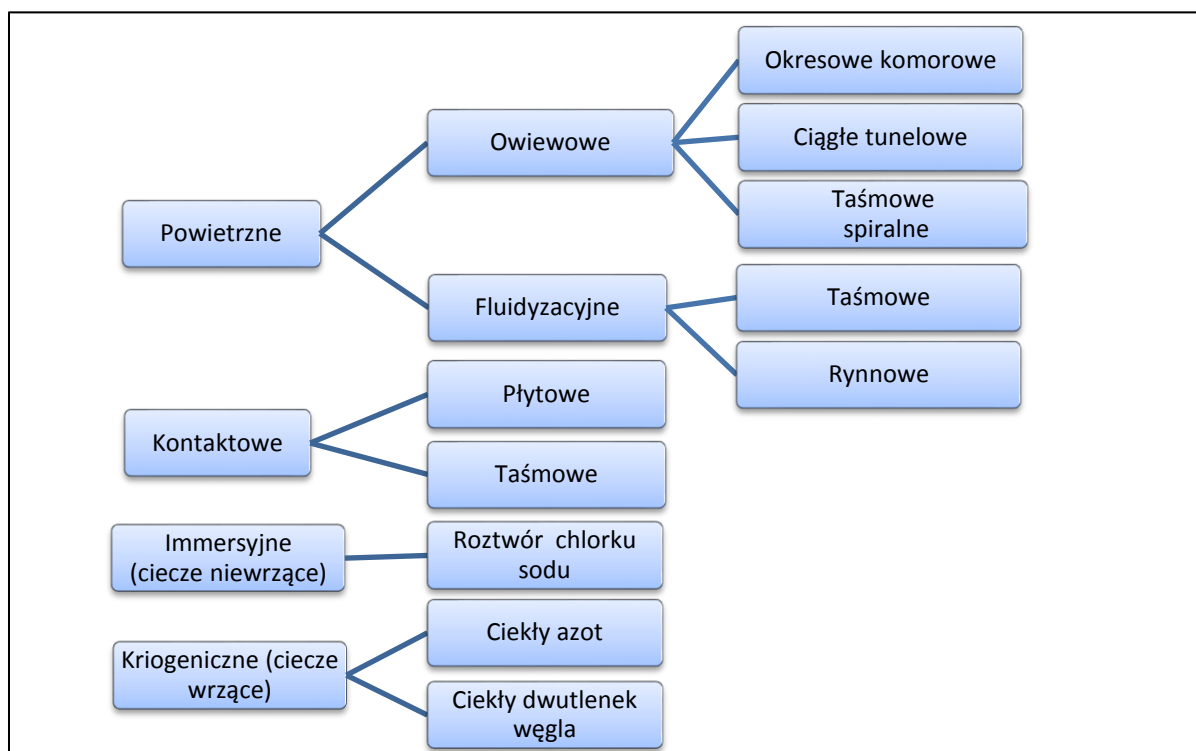
Metody mrożenia i stosowane urządzenia

W przetwórstwie rybnym stosuje się różne metody oraz typy urządzeń do zamrażania, zależnie od warunków produkcyjnych, rodzaju produktu i wymagań odbiorców. Sukcesywnie wprowadzane są także nowe rozwiązania, metody i typy urządzeń do mrożenia, które umożliwiają mrożenie surowców rybnych przy maksymalnym zachowaniu ich jakości wyjściowej, w postaci dostosowanej do procesu technologicznego lub wymagań odbiorcy. Inwestycje te często związane są z wyższymi nakładami finansowymi w porównywaniu z nakładami poniesionymi na zakup dotychczas użytkowanych urządzeń.

Metody mrożenia produktów rybołówstwa różnią się między sobą sposobem odprowadzania ciepła od produktu do czynnika chłodzącego, prędkością mrożenia, zapotrzebowaniem na energię oraz czynnikiem chłodniczym np. gazy do mrożenia kriogenicznego. Proces mrożenia produktów rybołówstwa można przeprowadzić następującymi metodami:

- a) mrożenie powietrzne,
- b) mrożenie kontaktowe,
- c) mrożenie immersyjne (w cieczach niewrzących),
- d) mrożenie kriogeniczne (w cieczach wrzących).

Metody mrożenia produktów żywnościowych oraz stosowane urządzenia przedstawiono na rys. 60 [http://wentylacja.com.pl/Attachment/metody-zamrazania-doc-1373]



Rys. 60. Metody mrożenia i stosowane typy urządzeń do mrożenia produktów żywnościowych.

Mrożenie powietrzne polega na bezpośrednim oddziaływaniu strumienia zimnego powietrza na produkty w zakresie temperatury od -20 do -40°C . Powietrze z uwagi na niski współczynnik wnikania ciepła jest złym czynnikiem chłodzącym. Z tego względu wzrost współczynnika wnikania ciepła powietrza uzyskuje się poprzez intensyfikację jego ruchu (cyrkulację). Wiąże się to ze zwiększonymi nakładami na napęd wentylatorów oraz dodatkowej mocy do odprowadzenia ciepła pracujących urządzeń. Zaletami tej metody są: proste rozwiązania konstrukcyjne urządzeń, łatwość obsługi i pewność użytkowania, uniwersalność zastosowanych rozwiązań, wysoki poziom warunków sanitarnych, stosunkowo niskie koszty eksploatacji w porównaniu z innymi metodami (Fot. 62 i 63).



Fot. 62. Szafa zamrażalnicza o działaniu okresowym.



Fot. 63. Tunel zamrażalniczy IQF firmy Octofrost (Szwecja).

Mrożenie kontaktowe polega na bezpośrednim kontakcie produktu z powierzchnią urządzenia (płyta), chłodzoną czynnikiem chłodniczym, o odpowiednio niskiej temperaturze, w zakresie od -25 do -35°C . Ze względu na wysoki współczynnik wnikania ciepła, uzyskuje się nawet 8-krotne skrócenie czasu zamrażania w stosunku do zamrażania produktu w tunelu powietrznym. W urządzeniach do mrożenia kontaktowego możliwe jest zwiększenie wydajności sprężarek oraz zmniejszenie zapotrzebowania energii w wyniku eliminacji wentylatorów. Zamrażarki kontaktowe mają wysokie wskaźniki wydajności mrożenia w odniesieniu do zajmowanej kubatury urządzenia. W tej metodzie wymagane jest stosowanie produktów o tych samych wymiarach, np. w postaci bloków, a także wymagane są duże nakłady pracy ręcznej związanej z operacjami za- i wyładunku produktów z urządzenia (Fot. 64).



Fot. 64. Urządzenie do mrożenia metoda kontaktową.

Zamrażanie zanurzeniowe w cieczach niewrzących (metoda immersyjna) odbywa się poprzez bezpośredni kontakt produktu z np. wodnym roztworem chlorku sodu lub chlorku wapnia. Zamrażanie odbywa się w temperaturze od -16°C do -18°C . Do zalet tej metody należy zaliczyć duży współczynnik wnikania ciepła oraz krótki czas zamrażania przy stosunkowo wysokiej temperaturze wrzenia czynnika chłodniczego. Wady to utrata barwy przez produkty wskutek absorpcji soli, niebezpieczeństwo intensywnej korozji urządzeń i stały spadek stężenia roztworu na skutek absorpcji wilgoci z otoczenia (Fot. 65).



Fot. 65. Mrożenie zanurzeniowe (immersyjne) produktów rybołówstwa.

Zamrażanie w cieczach wrzących (metoda kriogeniczna) odbywa się dzięki pobraniu przez ciekły czynnik chłodniczy (skroplone gazy) ciepła na odparowanie bezpośrednio z produktów zamrażanych. W tej metodzie stosowane są m.in. ciekły azot, powietrze i dwutlenek węgla. Metoda cechuje się wysokimi współczynnikami wnikania ciepła i krótkimi czasami zamrażania. Obecnie stosowana w przetwórstwie na niewielką skalę, głównie ze względu na wysokie nakłady inwestycyjne i koszty eksploatacji (Fot. 66).



Fot. 66. Tunel do mrożenia metodą kriogeniczną.

Według szacunkowej oceny, obecnie w krajowym przetwórstwie rybnym stosowane są głównie metody mrożenia za pomocą oziębionego powietrza (ok. 85%), następnie metody mrożenia kontaktowego (ok. 12%) oraz inne metody, w tym mrożenie kriogeniczne (ok. 3%).

Optymalizacja parametrów procesów mrożenia produktów rybołówstwa

Efektem każdego procesu technologicznego powinno być uzyskiwanie produktów o wysokiej jakości, przy zapewnieniu ich pełnego bezpieczeństwa. Ważnym i niezbędnym warunkiem spełnienia tych wymagań jest racjonalizacja i optymalizacja stosowanych procesów w przetwórstwie.

Pod pojęciem optymalizacja procesu mrożenia produktów rybołówstwa należy rozumieć działania ukierunkowane na poprawę efektywności procesu, jego przebiegu

i stosowanych parametrów z uwzględnieniem ponoszonych nakładów inwestycyjnych (modernizacyjnych) i eksploatacyjnych, przy zachowaniu wysokiej jakości i bezpieczeństwa produktów.

Z tego względu do podstawowych kryteriów, które należy brać pod uwagę przy optymalizacji procesu mrożenia należą, m.in.:

- metoda mrożenia i typ urządzenia,
- właściwości fizykochemiczne produktu,
- jakość sensoryczna produktu,
- bezpieczeństwo produktu,
- koszty eksploatacji, np. zużycie czynników chłodniczych.

W warunkach krajowego przetwórstwa procesom zamrażania poddawanych jest wiele gatunków surowców i asortymentów produktów rybołówstwa. Znaczącą pozycję wśród nich stanowią ryby dorszowate (np. dorsze bałtyckie) oraz drobne ryby pelagiczne (np. śledzie i szproty bałtyckie) w postaci całych ryb, tusz lub filetów (Fot. 67 - 70).



Fot. 67. Tusz z dorsza bałtyckiego



Fot. 68. Filety z dorsza bałtyckiego.



Fot. 69. Tuszki ze śledzia bałtyckiego.



Fot. 70. Płaty ze śledzia bałtyckiego.

W pracach dotyczących optymalizacji procesu mrożenia niezbędne jest zbadanie wpływu podstawowych parametrów, w tym temperatury i tempa mrożenia, na jakość i właściwości fizykochemiczne produktów rybołówstwa.

W zależności od zastosowanej metody mrożenia, typu urządzenia oraz temperatury mrożenia uzyskuje się produkty o określonej jakości sensorycznej i właściwościach fizykochemicznych, w tym wielkości wycieku po rozmrożeniu produktu.

Z tego względu dla określenia optymalnych warunków mrożenia należy poddać ocenie jakość mrożonych produktów, w tym wyróżników jakości sensorycznej, jak wygląd, barwa, zapach, smak, tekstura oraz wskaźników fizykochemicznych, w tym ubytków masy wskutek wycieku po rozmrożeniu produktów.

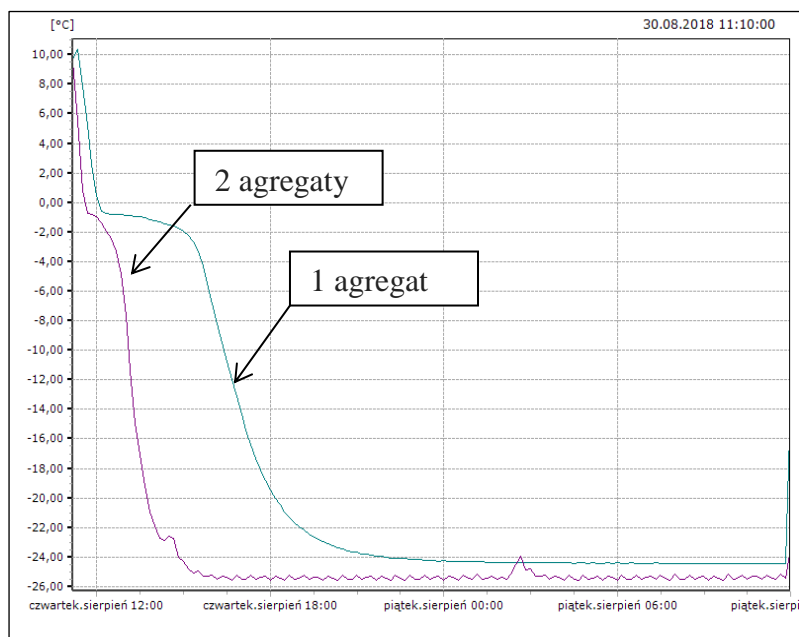
W zależności od profilu produkcji i wyposażenia technicznego zakładu przetwórczego procesy mrożenia produktów rybołówstwa mogą być prowadzone z zastosowaniem urządzeń o działaniu okresowym, np. zamrażarki komorowe, szafy kontaktowe lub urządzeń o działaniu ciągłym, np. tunele do mrożenia kriogenicznego.

Optymalizacja parametrów procesu mrożenia w zamrażarkach komorowych

W zależności od typu urządzenia procesy mrożenia produktów rybołówstwa w zamrażarkach komorowych, o działaniu okresowym, przebiegają zazwyczaj w zakresie temperatur $-18\div-40^{\circ}\text{C}$. Istotną cechą różniącą poszczególne typy tych urządzeń jest prędkość przebiegu procesu mrożenia.

Na rys. 61 przedstawiono przebieg zmian temperatury w filetach z dorsza mrożonych w temperaturze -25°C , w zamrażarkach komorowych wyposażonych w jeden agregat lub dwa agregaty chłodnicze. Na podstawie rys. 61 można stwierdzić, że zastosowanie zamrażarki wyposażonej w dwa agregaty chłodnicze, o prędkości mrożenia $0,09^{\circ}\text{C}/\text{min}$, znacznie skróciło proces mrożenia filetów z dorsza w porównaniu z zamrażarką wyposażoną w 1 agregat chłodniczy, o prędkości mrożenia $0,02^{\circ}\text{C}/\text{min}$.

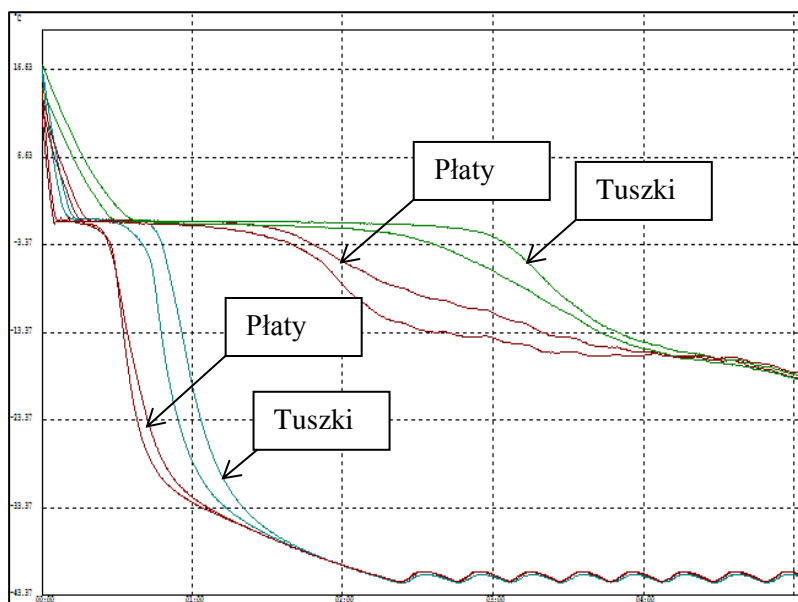
Szybki przebieg procesu mrożenia ma korzystny wpływ na jakość produktów, ponieważ przyczynia się do formowania drobnych kryształków lodu, nie uszkadzających struktury tkanki rybnej, podczas gdy wolny przebieg procesu mrożenia sprzyja tworzeniu się dużych kryształków lodu, niszczących pierwotną strukturę tkanki rybnej. Z tego względu, zaleca się stosowanie szybkiej metody mrożenia, ograniczającej niekorzystne zmiany w strukturze tkanki produktów rybołówstwa.



Rys. 61. Przebieg procesu mrożenia filetów z dorsza w temperaturze -25°C.

Przebieg procesu mrożenia zależy od właściwości fizykochemicznych produktu rybołówstwa, zwłaszcza jego kształtu, wielkości i wymiarów, w tym jego grubości.

Na rys. 62 i w Tabeli 45 scharakteryzowano przebieg mrożenia w zakresie temperatur: -18°C i -40°C, dwóch półproduktów ze śledzia, w postaci tuszek oraz płatów.



Rys. 62. Przebieg mrożenia tuszek i płatów śledziowych w temperaturze: -18°C i -40°C.

Z rys. 62 wynika, że w danej temperaturze proces mrożenia tuszek śledziowych przebiegał wolniej w porównaniu z mrożeniem płatów śledziowych. Mniejsza prędkość oraz dłuższy czas procesu mrożenia do zadanej temperatury -18°C lub -40°C spowodowany był większą masą oraz grubością tuszek w porównaniu z płatami ze śledzi.

W tabeli 45 przedstawiono wyniki przebiegu procesów mrożenia śledzi bałtyckich w zależności od temperatury oraz typu zastosowanego urządzenia.

Tabela 45. Przebieg procesu mrożenia śledzi bałtyckich w zależności od typu urządzenia.

Typ zamrażarki	Parametr	Tuszki		Płaty	
Zamrażarka komorowa (1 agregat)	Zadana temperatura	-18°C	-25°C	-18°C	-25°C
	Czas osiągnięcia zadanej temperatury	4h41'	3h15'	4h41'	2h53'
	Tempo mrożenia [$^{\circ}\text{C}/\text{min}$]	0,035	0,033	0,055	0,056
Zamrażarka komorowa (2 agregaty)	Zadana temperatura	-35°C	-40°C	-35°C	-40°C
	Czas osiągnięcia zadanej temperatury	1h32'	1h52'	0h45'	1h57'
	Tempo mrożenia [$^{\circ}\text{C}/\text{min}$]	0,155	0,155	0,231	0,231

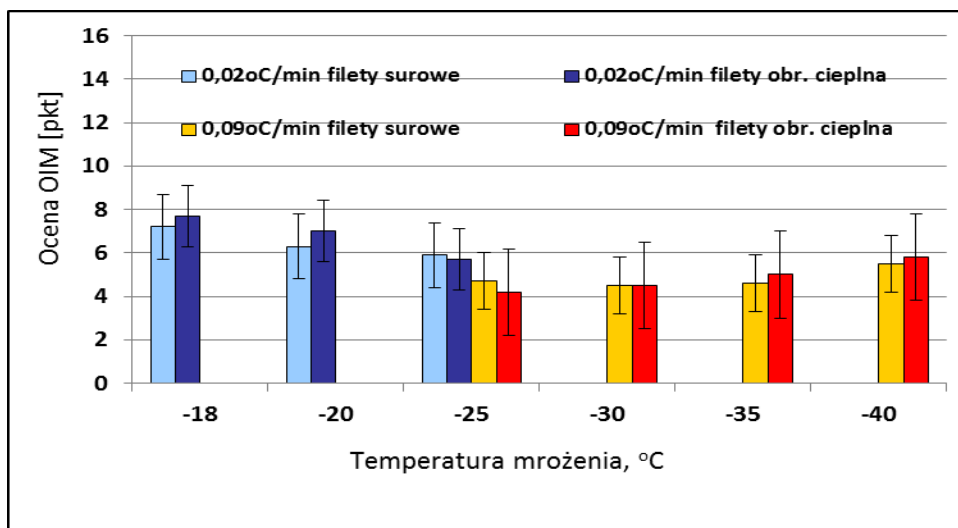
Z danych w tabeli 45 wynika, że czas i tempo procesów mrożenia zależały od typu zamrażarki komorowej (1 lub 2 agregaty), zadanej temperatury mrożenia a także od rodzaju produktu poddanego mrożeniu (tuszki lub płaty śledziowe).

Wynika z tego, że przy optymalizacji procesu mrożenia niezbędne jest uwzględnienie zarówno warunków technicznych dotyczących zastosowanych urządzeń jak i właściwości fizykochemicznych produktu, w tym jego kształtu, wielkości i wymiarów.

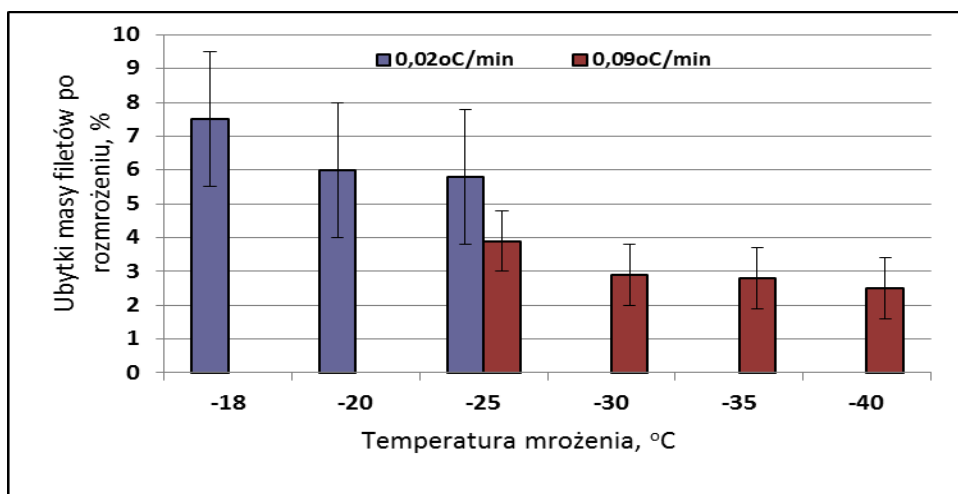
Optymalizacja procesu mrożenia określonego produktu wymaga zbadania i oceny wpływu zastosowanych parametrów procesu na jego jakość sensoryczną oraz wybrane wskaźniki fizykochemiczne. Do oceny jakości sensorycznej mrożonych filetów z dorsza można wykorzystać np. metodę punktową według standardów Quality Index Method (QIM). Ocenianymi wyróżnikami sensorycznymi filetów z dorsza są: zapach, barwa, konsystencja, smak po obróbce cieplnej, przebarwienia oraz rozwarstwienia filetów (tzw. *gapping*). Ważnym

wskaźnikiem przebiegu mrożenia jest także wielkość ubytku masy produktu wskutek wycieku po rozmrożeniu.

Wpływ temperatury i tempa mrożenia na jakość sensoryczną oraz ubytki masy filetów z dorsza przedstawiono na rys. 63 i 64.



Rys. 63. Jakość sensoryczna filetów z dorsza w zależności od temperatury i tempa mrożenia.



Rys. 64. Ubytki masy filetów z dorsza po rozmrożeniu w zależności od temperatury i tempa mrożenia.

Wyniki badań i ocen wykazały, że jakość sensoryczna filetów z dorsza zależały od temperatury i tempa mrożenia. Filety mrożone w zakresie temperatur $-18,0 \div -25,0^{\circ}\text{C}$ (tempo mrożenia $0,02^{\circ}\text{C}/\text{min}$) charakteryzowały się niższą jakością sensoryczną w porównaniu z filetami mrożonymi w zakresie temperatur $-25,0 \div -40,0^{\circ}\text{C}$ (tempo mrożenia $0,09^{\circ}\text{C}/\text{min}$). Z kolei jakość sensoryczna filetów mrożonych w zakresie temperatur $-25,0 \div -35,0^{\circ}\text{C}$ (tempo

mrożenia $0,09^{\circ}\text{C}/\text{min}$) była wyższa od jakości sensorycznej filetów mrożonych w temperaturze $-40,0^{\circ}\text{C}$ (tempo mrożenia $0,09^{\circ}\text{C}/\text{min}$) (rys. 64).

Ubytki masy filetów z dorsza po rozmrożeniu były około 50% mniejsze w próbach mrożonych w zakresie temperatur: $-25,0^{\circ}\text{C}$ – $-40,0^{\circ}\text{C}$ (tempo mrożenia $0,09^{\circ}\text{C}/\text{min}$) niż w filetach mrożonych w zakresie temperatur: $-18,0^{\circ}\text{C}$ – $-25,0^{\circ}\text{C}$ (tempo mrożenia $0,02^{\circ}\text{C}/\text{min}$) (rys. 63).

Stwierdzono także korzystny wpływ mrożenia w temperaturach $-25,0^{\circ}\text{C}$ – $-40,0^{\circ}\text{C}$ (tempo mrożenia $0,09^{\circ}\text{C}/\text{min}$) na barwę oraz teksturę tkanki filetów z dorsza w porównaniu z filetami mrożonymi w temperaturze $-18,0^{\circ}\text{C}$ – $-25,0^{\circ}\text{C}$ (tempo mrożenia $0,02^{\circ}\text{C}/\text{min}$).

Na podstawie przeprowadzonych badań i ocen stwierdzono, że dla zapewnienia wysokiej jakości i bezpieczeństwa mrożonych filetów z dorsza bałtyckiego oraz tusz i płatów ze śledzi bałtyckich procesy mrożenia tych produktów w urządzeniach typu zamrażarki komorowe o działaniu okresowym, powinny być prowadzone w zakresie temperatur $-25,0^{\circ}\text{C}$ – $-35,0^{\circ}\text{C}$, przy tempie mrożenia co najmniej $0,09^{\circ}\text{C}/\text{min}$.

Optimalizacja procesu mrożenia produktów rybołówstwa w warunkach produkcyjnych

W procesach mrożenia prowadzonych w warunkach produkcyjnych występuje wiele czynników technologiczno-technicznych i organizacyjnych, które powinny być brane pod uwagę w pracach związanych z optymalizacją tych procesów. W działaniach związanych z optymalizacją procesów mrożenia niezbędne jest uwzględnienie następujących czynników:

- a) stosowane surowce i wytwarzane z nich mrożone produkty,
- b) metoda mrożenia, typ urządzenia i jego parametry techniczne,
- c) ocena przebiegu obecnie stosowanych w praktyce produkcyjnej procesów mrożenia,
- d) zastosowanie określonych modyfikacji i rozwiązań optymalizujących parametry procesów mrożenia.

Problematyka optymalizacji procesów mrożenia produktów rybołówstwa w warunkach produkcyjnych została przedstawiona na przykładzie urządzeń do mrożenia kontaktowego i mrożenia kriogenicznego.

Proces mrożenia produktów rybołówstwa w kontaktowej zamrażarce płytowej

Przebieg procesów mrożenia w urządzeniu do mrożenia metodą kontaktową zależy od temperatury mrożenia, stopnia wypełnienia półek tacami z produktem i ich usytuowania oraz od rodzaju i masy półproduktu na tacach.

W urządzeniach kontaktowych produkty rybołówstwa, najczęściej tusze lub filety, są mrożone w postaci bloków, po uprzednim ułożeniu na tacach i owinięciu folią (Fot. 71 i 72).



Fot. 71. Zamrażarka kontaktowa firmy „DSI” A/S (Dania).



Fot. 72. Tuszki śledziowe ułożone na tacy do mrożenia kontaktowego.

Z przeprowadzonych testów procesu mrożenia produktów rybołówstwa w urządzeniu kontaktowym wynika, że przebieg krzywych mrożenia oraz tempo mrożenia zależą m.in. rodzaju surowca oraz od usytuowania czujników temperatury w blokach ryb ułożonych na tacach.

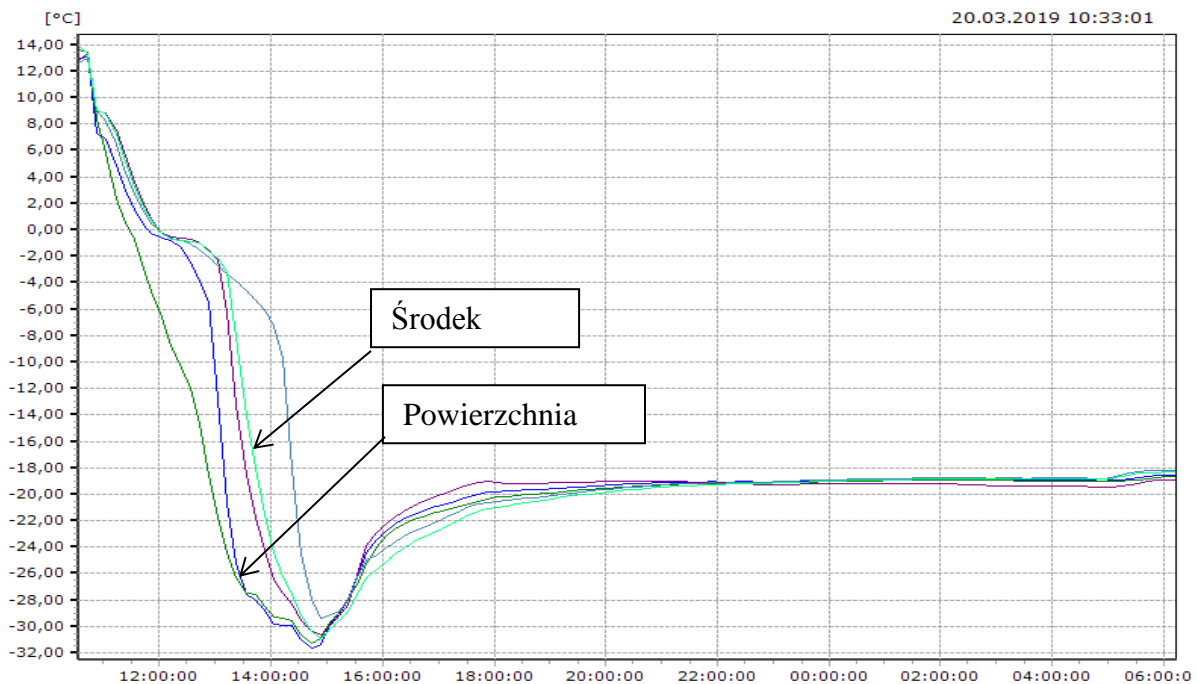
W tabeli 46 zamieszczono charakterystykę procesu mrożenia półproduktów ze śledzi bałtyckich w zamrażarce kontaktowej.

Tabela 46. Charakterystyka przebiegu procesów mrożenia tuszek i płatów ze śledzi w zamrażarce kontaktowej.

Parametr	Temperatura mrożenia -20°C			
	Tuszki (blok)		Płaty (blok)	
	Powierzchnia	Środek	Powierzchnia	Środek
Czas osiągnięcia temp. -20°C [h, min]	2h40'	3h00'	2h00'	2h20'
Tempo mrożenia [°C/min]	0,163	0,079	0,366	0,117

Z danych w tabeli 46 wynika, że tempo mrożenia tuszek śledziowych na powierzchni i w środku bloku wyniosło, odpowiednio: 0,163 i 0,079°C/min, natomiast w bloku płatów śledziowych tempo mrożenia na powierzchni i w środku bloku wyniosło, odpowiednio: 0,366 i 0,117°C/min. Zróżnicowane były także czasy dojścia do zadanej temperatury mrożenia (-20°C) w zależności od usytuowania ryb w bloku, które w przypadku tuszek śledziowych na powierzchni bloku wyniosły 160 min, a w środku bloku – 180 min.

Na rys. 65 przedstawiono przebiegi krzywych mrożenia tuszek śledziowych w zależności od miejsca usytuowania czujników temperatury w bloku ryb. Z przebiegu krzywych zmian temperatury wynika, że najwolniejszy spadek temperatury miał miejsce w środku bloku ryb, podczas gdy spadek temperatury na powierzchni bloku ryb następował szybciej. Wynika z tego, że przy wyznaczeniu optymalnych parametrów procesu mrożenia produktów rybołówstwa, należy brać uwagę punkty pomiarowe, w których spadek temperatury przebiega najwolniej (zazwyczaj jest to środek termiczny bloku ryb).



Rys. 65. Przebieg krzywych mrożenia tuszek śledziowych w zależności od miejsca usytuowania czujników temperatury w bloku ryb.

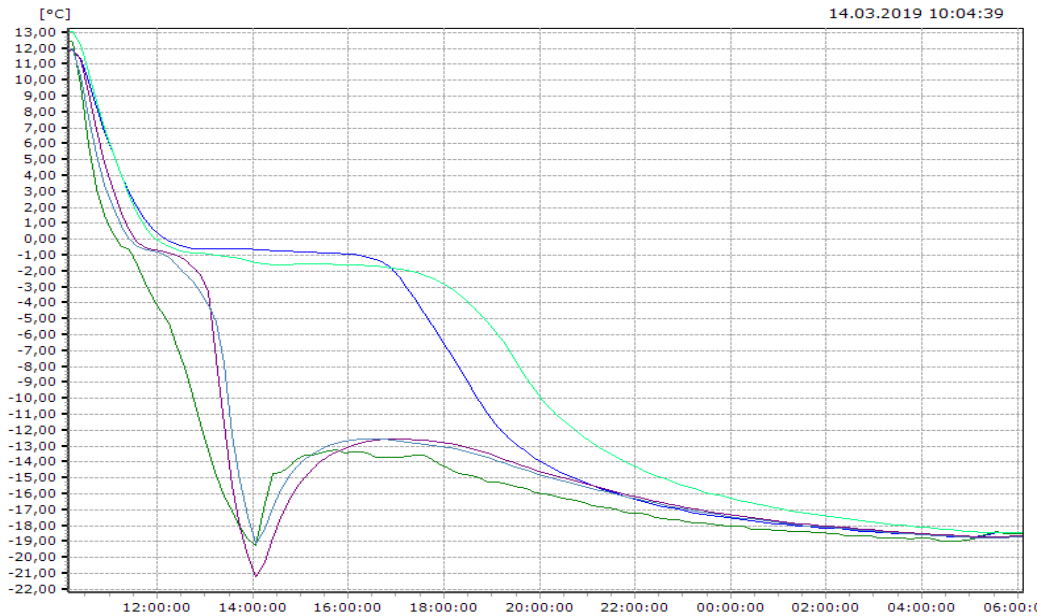
Istotny wpływ na przebieg procesu mrożenia produktów rybołówstwa mają warunki techniczne, dotyczące parametrów stosowanej instalacji chłodniczej. Od jej efektywności i poprawności działania zależy w dużej mierze jakość mrożonych produktów. Najefektywniejszym sposobem poprawy efektywności działania instalacji chłodniczych jest wyposażenie jej w nowoczesne sprężarki o odpowiedniej mocy. Przykładem może być modernizacja instalacji chłodniczej polegająca na zastosowaniu dodatkowego agregatu chłodniczego, w celu poprawy wydajności i efektywności funkcjonowania całej instalacji chłodniczej, zasilającej przemysłowe urządzenia do mrożenia produktów rybołówstwa.

Na rys. 66, 67, 68 i 69 zestawiono przebiegi procesów mrożenia tuszek śledziowych i filetów z dorsza w urządzeniu kontaktowym, przed i po modernizacji instalacji chłodniczej, polegającej na wyposażeniu jej w dodatkowy amoniakalny agregat chłodniczy. Z przebiegu krzywych zmian temperatury w blokach mrożonych produktów wynika, że przed modernizacją przebieg poszczególnych krzywych był zróżnicowany i niejednorodny w poszczególnych punktach pomiarowych w produkcie (rys. 66 i 67).

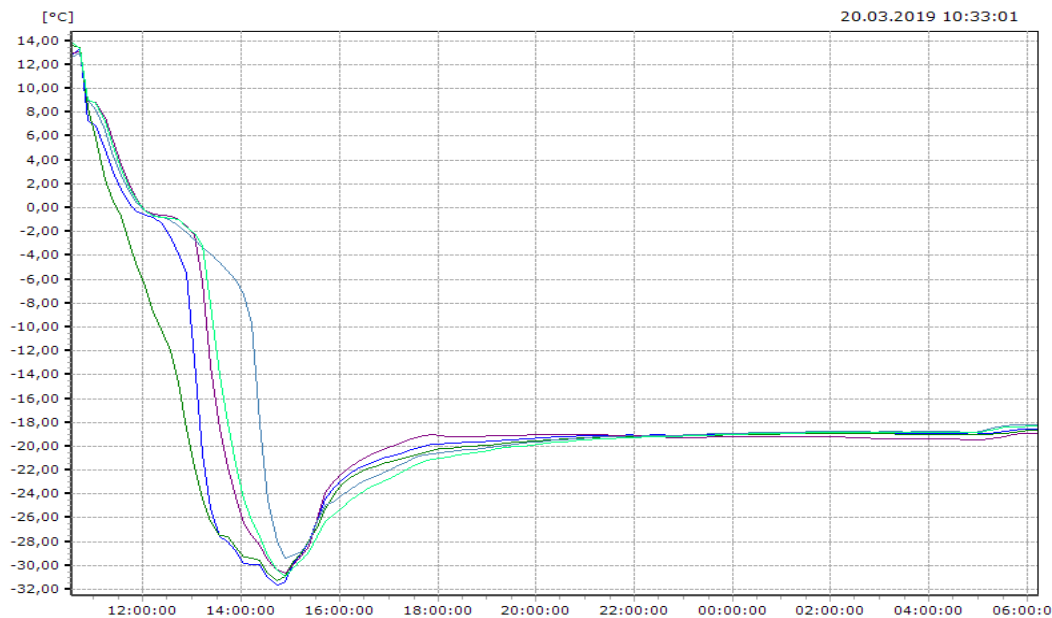
Zastosowanie nowego agregatu chłodniczego wpłynęło na poprawę efektywności działania instalacji chłodniczej, a tym samym urządzenia kontaktowego, w wyniku czego

nastąpiło wyraźne zmniejszenie stopnia zróżnicowania i niejednorodności przebiegu zmian temperatury w poszczególnych punktach pomiarowych w produkcie (rys. 68 i 69).

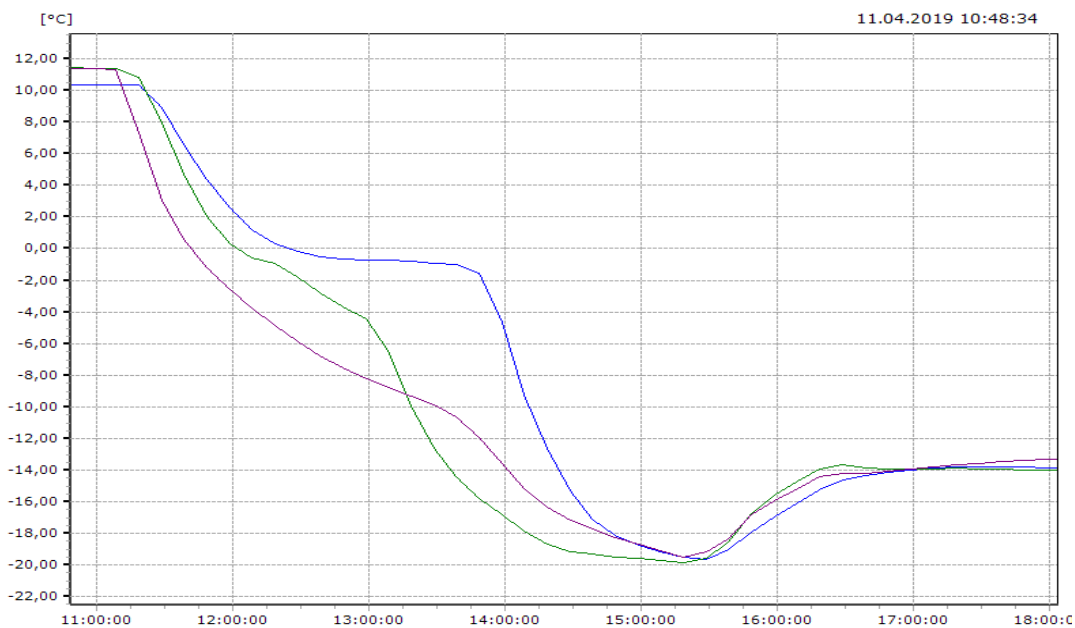
Najkorzystniejszym efektem zastosowanych rozwiązań było wyraźne obniżenie temperatury zamrażania produktów w urządzeniu kontaktowym z temperatury -20°C (przed modernizacją) do temperatury ok. -30°C (po modernizacji).



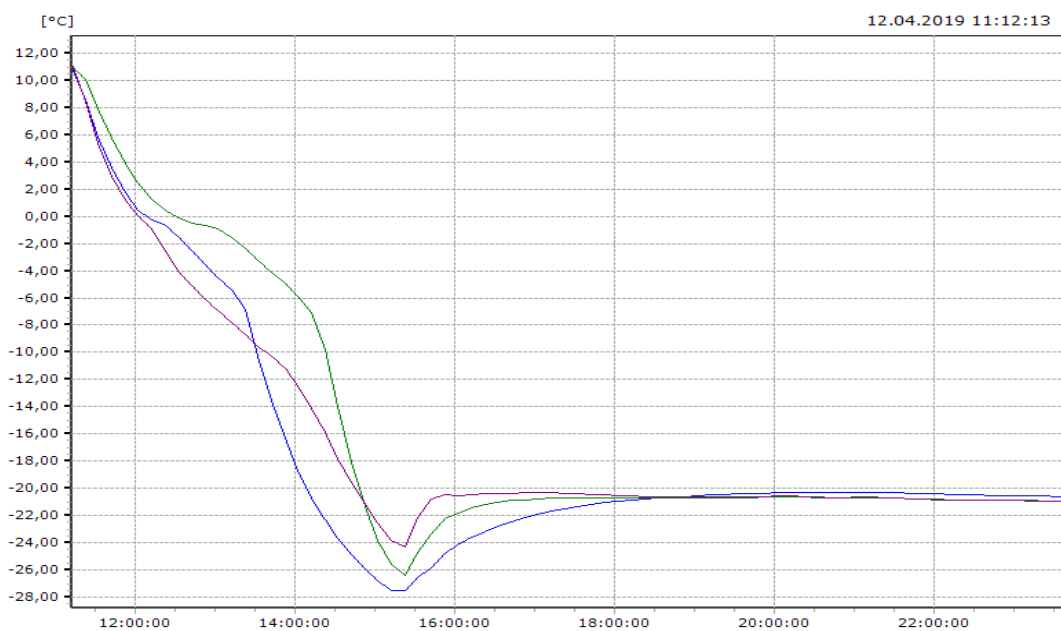
Rys. 66. Przebieg mrożenia tuszek śledziowych w urządzeniu kontaktowym przed modernizacją.



Rys. 67. Przebieg mrożenia tuszek śledziowych w urządzeniu kontaktowym po modernizacji.



Rys. 68. Przebieg procesu mrożenia filetów dorsza w urządzeniu kontaktowym przed modernizacją.



Rys. 69. Przebieg mrożenia filetów z dorsza w urządzeniu kontaktowym po modernizacji.

W tabeli 47 zamieszczono charakterystykę przebiegu procesów mrożenia tuszek ze śledzi bałtyckich i filetów z dorsza bałtyckiego w zamrażarce kontaktowej, przed i po modernizacji instalacji chłodniczej.

Tabela 47. Charakterystyka przebiegu procesów mrożenia tuszek ze śledzi i filetów z dorsza w zamrażarce kontaktowej, przed i po modernizacji instalacji chłodniczej.

Produkt	Wyszczególnienie	Przed modernizacją	Po Modernizacji
Tuszki śledziowe w blokach po 6,5 kg masy netto	Temperatura końcowa ryb po mrożeniu w urządzeniu [°C]	-18,8	-30,4
	Tempo mrożenia [°C/min]	0,047	0,085
Filety z/s z dorsza bałtyckiego w blokach po 7,0 kg masy netto	Temperatura końcowa ryb po mrożeniu w szafie [°C]	-19,6	-28,5
	Tempo mrożenia [°C/min]	0,055	0,086

Z danych zamieszczonych w tabeli 47 wynika, że modernizacja instalacji chłodniczej wyraźnie wpłynęła na poprawę przebiegu procesu mrożenia produktów rybołówstwa w urządzeniu kontaktowym. W wyniku modernizacji instalacji chłodniczej temperatura mrożenia tuszek ze śledzi i filetów z dorsza uległa obniżeniu od mrożenia w zakresie temperatur $-18,8\div-19,6^{\circ}\text{C}$ do mrożenia w zakresie temperatur $-28,5\div-30,4^{\circ}\text{C}$, natomiast tempo mrożenia wzrosło z zakresu $0,047\div0,055^{\circ}\text{C}/\text{min}$, do zakresu $0,085\div0,086^{\circ}\text{C}/\text{min}$.

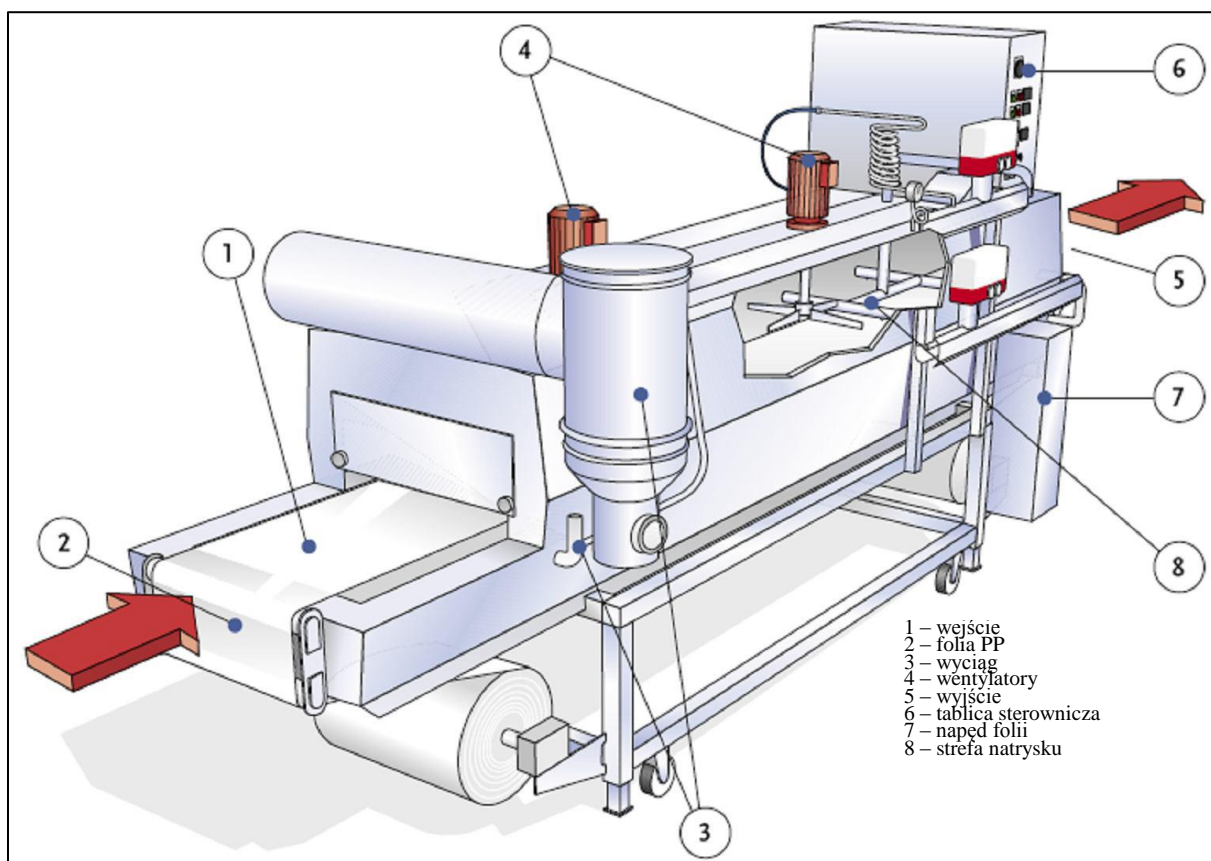
Parametry procesu mrożenia produktów rybołówstwa (filety z dorsza, tuszki śledziowe) w urządzeniu kontaktowym po modernizacji instalacji chłodniczej, zapewniały efektywny i optymalny przebieg procesu oraz uzyskanie wysokiej jakości, bezpiecznych produktów mrożonych.

Proces mrożenia produktów rybołówstwa w tunelu kriogenicznym

Proces mrożenia produktów rybołówstwa w tunelu kriogenicznym przebiega bardzo szybko ze względu na duży współczynnik przewodzenia ciepła oraz dużą różnicę temperatur między czynnikiem chłodniczym a produktem.

Czas zamrażania produktów trwa od 3 do 10 minut, a przy produktach o większych gabarytach - do 20 minut. Zaletą tej metody mrożenia jest brak negatywnego oddziaływania chemicznego czynnika (azotu) na produkt.

Na rys. 70 przedstawiony został schemat tunelu do mrożenia kriogenicznego typu „CRYOLINE SM” firmy „Linde” [materiały firmy Linde Gaz Polska Sp. z o.o.]



Rys. 70. Tunel kriogeniczny typu „CRYOLINE SM” (Linde).

Typowy tunel do mrożenia kriogenicznego posiada cztery strefy odpowiadające czterem etapom zamrażania produktów:

- a) **strefa I:** wstępne schładzanie produktu w strumieniu par azotu o temperaturze w zakresie $-20 \div -100^{\circ}\text{C}$,
- b) **strefa II:** schładzanie produktu w intensywnym strumieniu par azotu o temperaturze w zakresie $-100 - -190^{\circ}\text{C}$ za pomocą wentylatorów,
- c) **strefa III:** zamrażanie produktu przez bezpośredni natrysk azotu za pomocą dysz natryskujących,
- d) **strefa IV:** wyrównanie temperatury produktu w końcowej części urządzenia.

Produkty przeznaczone do mrożenia są transportowane przez tunel na przesuwnej taśmie wykonanej ze stali kwasoodpornej. Urządzenie zamrażalnicze zasilane jest poprzez system dysz, które natryskują ciekły azot bezpośrednio na produkt. Ciekły czynnik w zetknięciu z filetemi odparowuje. Powstała para dzieli się na dwa strumienie. Pierwszy (około 98% azotu) płynie w przeciwnym kierunku do kierunku taśmy i zasysany jest przez

wentylator zamontowany na początku podajnika. Drugi strumień (około 2% azotu) przepływa wzdłuż taśmy do wylotu tunelu, co zapobiega przedostaniu się powietrza do wnętrza urządzenia.

Produkcja filetów z dorsza bałtyckiego mrożonych w tunelu kriogenicznym obejmuje następujące etapy (Fot. 73 i 74):

- a) odlodowywanie i płukanie filetów w płuczce bębnowej,
- b) ociekanie filetów w azurowych skrzynkach,
- c) mrożenie filetów w tunelu kriogenicznym,
- d) glazurowanie filetów metodą zanurzeniową,
- e) pakowanie filetów do pudeł tekturowych z wkładem z folii PE,
- f) transport i przechowywanie filetów w komorze mroźni w temperaturze ok. -20°C .



Fot. 73. Filety z dorsza przed mrożeniem.

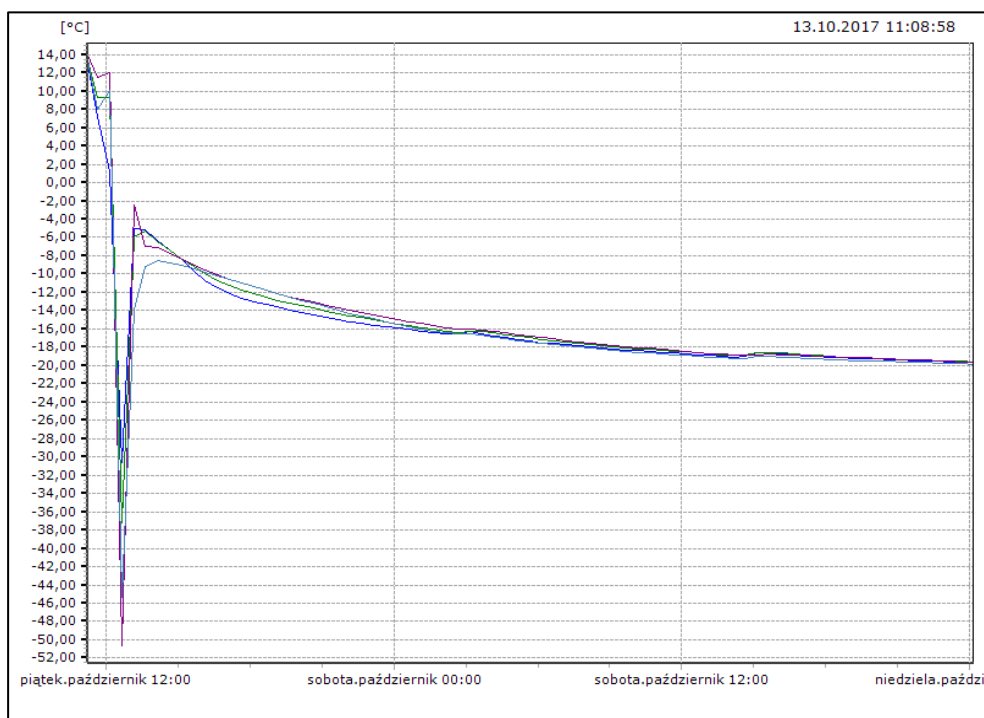


Fot. 74. Filety z dorsza po mrożeniu.

W badaniach dotyczących optymalizacji procesu mrożenia produktów rybołówstwa w tunelu kriogenicznym niezbędne jest uwzględnienie następujących parametrów i wskaźników:

- a) całkowity czas mrożenia,
- b) temperatura natrysku ciekłego azotu,
- c) temperatura stołu (przenośnika),
- d) zmiany temperatury w produkcie (w środku najgrubszej jego części),
- e) tempo mrożenia [$^{\circ}\text{C} / \text{min}$] = $T_2 - T_1 / t_2 - t_1$, gdzie $T_1 = 0,0^{\circ}\text{C}$, $T_2 = -5,0^{\circ}\text{C}$, $t_2 - t_1 =$ czas mrożenia w przedziale temperatur od $0,0$ do $-5,0^{\circ}\text{C}$,
- f) temperatura w produkcie po zakończeniu procesu mrożenia w tunelu,
- g) czas niezbędny do osiągnięcia w produkcie wymaganej temperatury, np. -20°C ,
- h) zużycie ciekłego azotu w przeliczeniu na kg masy produktu,
- i) zmiany masy produktu po mrożeniu oraz po glazurowaniu w odniesieniu do masy produktu przed mrożeniem.

Na rys. 71 przedstawiono przykładowy przebieg procesu mrożenia filetów z dorsza, natomiast w tabeli 48 zamieszczono charakterystykę procesu mrożenia filetów z dorsza w tunelu kriogenicznym „CRYOLINE SM” (LINDE).



Rys. 71. Przebieg procesu mrożenia filetów z dorsza w tunelu kriogenicznym.

Przebieg procesów mrożenia filetów z dorsza bałtyckiego zależy od zadanych parametrów, w tym czasu oraz temperatury natrysku ciekłego azotu. Np. tempo mrożenia filetów z dorsza w tunelu kriogenicznym, w zależności od zadanych parametrów, od 0,11°C/min do 0,21°C/min, przy zużyciu ciekłego azotu, w przedziale 0,11÷0,21 kg azotu /kg filetów.

Ubytki masy filetów bezpośrednio po procesie mrożenia w tunelu, w zależności od zadanych parametrów, były zróżnicowane i mieściły się w przedziale 0,0÷2,3%.

W Tabeli 48 zamieszczono charakterystykę procesu mrożenia filetów z dorsza bałtyckiego, gwarantującego optymalny przebieg procesu, z uwzględnieniem czasu, temperatury, wielkości zużycia czynnika kriogenicznego (azotu) a także ubytków masy filetów z dorsza po mrożeniu.

Na podstawie wyników testów, można stwierdzić, że podstawowe parametry procesu mrożenia filetów z dorsza bałtyckiego w tunelu kriogenicznym „CRYOLINE SM” (LINDE) są następujące:

- a) temperatura natrysku ciekłego azotu -75°C,
- b) temperaturze stołu -35°C,
- c) całkowity czas mrożenia w tunelu 8 min.

Tabela 48. Charakterystyka procesu mrożenia filetów z dorsza bałtyckiego w tunelu kriogenicznym „CRYOLINE SM” (LINDE).

Wyszczególnienie	Parametry	Wielkości
Tunel kriogeniczny	Temperatura natrysku / temperatura stołu [°C]	-75,0 / -35,0
	Temperatura środka filetów [°C] / czas mrożenia [min]	-12,3 / 8,0'
	Tempo mrożenia [°C/min]	0,15
	Zużycie azotu [N ₂ kg/kg filetów]	2,52
Komora-mroźnia	Temperatura w komorze [°C]	-20,4
	Temperatura w centrum filetów [°C] / czas mrożenia [min]	-20,1 / 360'
Masa filetów	Po mrożeniu [%]	99,6
	Po glazurowaniu [%]	104,6

Podsumowując przeprowadzone badania procesów mrożenia z wykorzystaniem przemysłowych urządzeń, należy stwierdzić, że zastosowanie w praktyce produkcyjnej zalecanych, optymalnych parametrów procesów mrożenia produktów rybołówstwa ma decydujący wpływ na zapewnienie ich wysokiej jakości oraz bezpieczeństwa.

6.3. Wpływ procesu mrożenia na przeżywalność larw nicieni z rodziny Anisakidae

Magdalena Podolska, Bogusław Pawlikowski, Katarzyna Nadolna - Ałtyn, Joanna Pawlak, Katarzyna Komar - Szymczak, Beata Szostakowska

Obecność pasożytów w surowcach i produktach rybnych stanowi potencjalne zagrożenie dla zdrowia konsumentów a także problem dla rybaków i przetwórców. Chorobę wywołaną przez nicienie z rodzaju *Anisakis* (a także *Contracaecum* i *Pseudoteranova*) określono mianem anisakidozy. Na świecie, do roku 2010, zarejestrowano 20 000 przypadków tej choroby (Hazards 2010). Spożycie ryb zawierających larwy nicieni Anisakidae i/lub ich alergeny może prowadzić do wystąpienia ostrej postaci anisakidozy, objawiającej się bólami brzucha, nudnościami, wymiotami i biegunką (Ishikura i in. 1993; Hochberg i Hamer 2010). Objawy te są skutkiem bezpośrednich uszkodzeń żołądkowo-jelitowych, wywołanych przez pasożyty aktywnie penetrujące błonę śluzową przewodu pokarmowego. Reakcje alergiczne mogą wystąpić również w przypadku spożycia zarażonych ryb poddanych obróbce termicznej, gdyż alergeny nicieni Anisakidae są termostabilne. Reakcją nadwrażliwości może być pokrzywka, obrzęk naczynioruchowy, astma, zapalenie spojówek a nawet zagrażający życiu wstrząs anafilaktyczny (Valero i in. 2003; Audicana i Kennedy 2008; Mehrdana i Buchmann 2017).

Ryzyko infekcji pasożytniczej można zminimalizować poprzez odpowiednie mrożenie surowców i produktów rybnych.

Rozporządzenie (WE) nr 853/2004 Parlamentu Europejskiego i Rady z dnia 29 kwietnia 2004 r. ustanawia dla przedsiębiorstw sektora spożywczego szczególne przepisy dotyczące higieny w odniesieniu do żywności pochodzenia zwierzęcego. Zagadnienia dotyczące wymogów odnośnie obróbki mającej na celu zabicie żywotnych postaci pasożytów w produktach rybołówstwa przeznaczonych do spożycia przez ludzi zostały wprowadzone do rozp. nr 853/2004 rozporządzeniem 1276/2011.

W części D rozdziału III sekcji VIII załącznika III do rozporządzenia (WE) nr 853/2004 przewidziano, że przedsiębiorstwa sektora spożywczego muszą dopilnować, aby określone produkty rybołówstwa, w tym produkty spożywane w stanie surowym lub prawie surowym, były poddawane mrożeniu w celu zabicia żywotnych postaci pasożytów, które mogą stanowić zagrożenie dla zdrowia konsumenta.

D. WYMOGI DOTYCZĄCE PASOŻYTÓW

1. Przedsiębiorstwa sektora spożywczego wprowadzające do obrotu następujące produkty rybołówstwa pozyskane z ryb lub głowonogów:

- a) produkty rybołówstwa spożywane w stanie surowym; lub
- b) produkty rybołówstwa marynowane, solone lub poddawane dowolnej innej obróbce, jeżeli dana obróbka jest niewystarczająca do zabicia żywotnych postaci pasożytów, muszą dopilnować, aby surowiec lub produkt końcowy został poddany mrożeniu w celu zabicia żywotnych postaci pasożytów, które mogłyby stanowić zagrożenie dla zdrowia konsumentów.

2. W przypadku pasożytów innych niż przywry mrożenie musi obejmować obniżenie temperatury we wszystkich częściach produktu przynajmniej do:

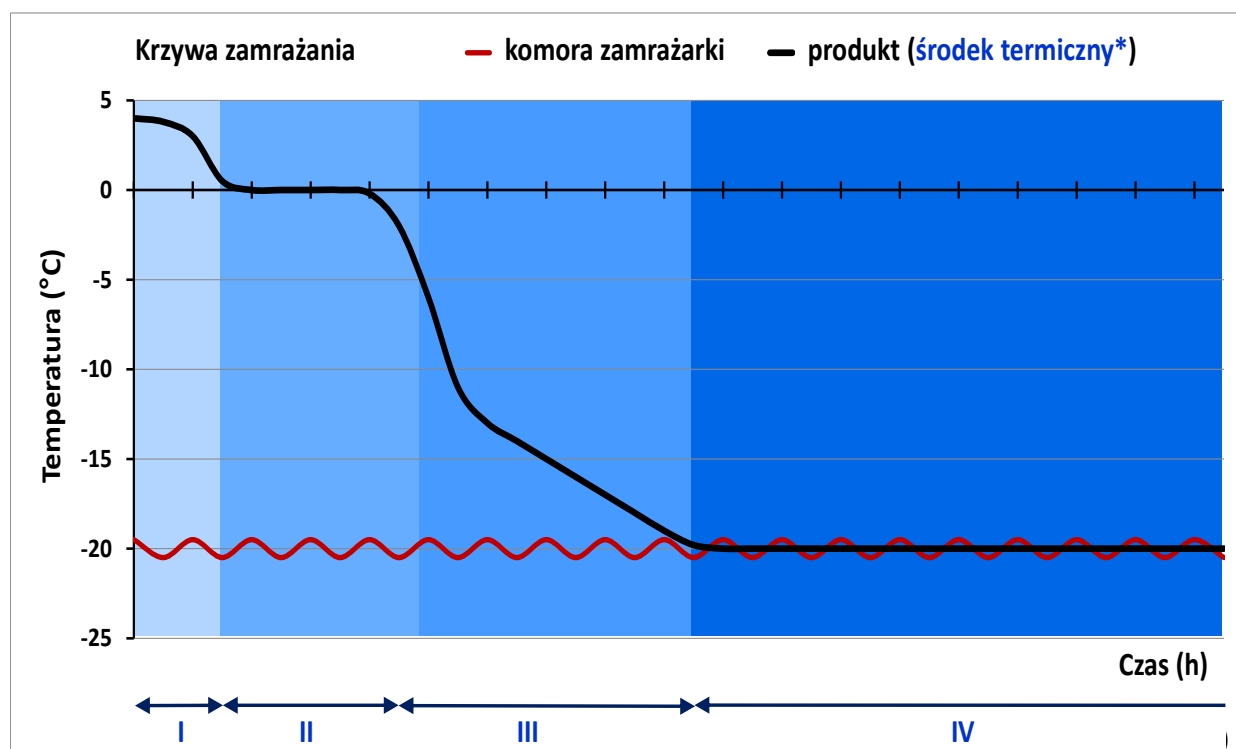
- a) $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ przez okres nie krótszy niż 24 godziny; lub
- b) $-35\text{ }^{\circ}\text{C}$ przez okres nie krótszy niż 15 godzin.

Obróbka termiczna produktów rybołówstwa jest najskuteczniejszym sposobem zabijania larw nicieni Anisakidae. Z drugiej strony, wyniki niektórych badań naukowych wskazują, że nicienie mają wysoką tolerancję na szeroki zakres temperatur oraz zdolność do przetrwania w temperaturach znacznie poniżej zera (Wharton i Aalders 2002; Adams i in. 2005; Oh i in. 2014). Zjawisko to jest efektem obecności trehalozy, która stanowi naturalny krioprotektant (Wharton i Aalders 2002).

Tempo zamrażania produktów rybnych zależy od wielu czynników, np. gatunku ryb (tłuste lub chude), rodzaju surowca (filety lub cała ryba), masy, objętości i struktury produktu, rodzaju opakowania i metody pakowania, mocy kompresora zamrażarki i stopnia jej wypełnienia (Deardorff i Throm 1988; Wharton i Aalders 2002; Adams i in. 2005). Zatem czas konieczny do osiągnięcia wymaganej temperatury wewnątrz produktu jest różny, zależy od w.w. parametrów i zwykle trwa wiele godzin. Schemat przebiegu procesu zamrażania przedstawiono na rysunku 72.

Należy podkreślić, że czas mrożenia przez 24 godz. w zadanej temperaturze (np. -20°C) nie jest równoznaczny z obniżeniem zadanej temperatury we wszystkich częściach produktu przez wymagany czas (24 godz.). Kwestią kluczową dla zapewnienia bezpieczeństwa mrożonej żywności pochodzenia morskiego jest określenie, jak długo powinien trwać proces mrożenia (od momentu umieszczenia produktu w zamrażarce), aby obniżyć temperaturę we

WSZYSTKICH CZĘŚCIACH PRODUKTU do -20°C i spełnić kryteria określone w rozporządzeniu (WE) nr 853/2004.



I – chłodzenie

II – krystalizacja

III – faza zamrażania

IV – utrzymywanie zadanej temperatury

* środek termiczny - najwolniej zamrażany punkt produktu

Rys. 72. Schemat przebiegu procesu zamrażania.

W MIR-PIB przeprowadzono badania, których celem była eksperymentalna ocena warunków czasowo - termicznych koniecznych do zabicia larw nicieni z rodziny Anisakidae (*Anisakis simplex*, *Pseudoterranova* spp.) (Podolska i in. 2019). Efektywność procesu mrożenia testowano na dwóch gatunkach ryb: dorsz *Gadus morhua* z północnego Atlantyku (Division 27.2.a.2) oraz śledź *Clupea harengus membras* z południowego Bałtyku (ICES Subdivision 24). Do eksperymentu mrożenia wykorzystano dwie zamrażarki:

- „wolno mrozącą” zamrażarkę jednosprężarkową (model LGT-4725, Liebherr, Niemcy), z konwencjonalnym (statycznym) systemem chłodzenia (moc sprężarki 433 W), bez cyrkulacji powietrza wewnątrz komory zamrażarki;

- „szybko mrożącą” zamrażarkę wyposażoną w dwa agregaty sprężarkowe (model MDF-U443-PE, Panasonic, Japonia) z kaskadowym układem chłodzenia (moc sprężarek 400 i 750 W) i wymuszoną cyrkulacją powietrza w komorze zamrażarki (tabela 49).

Tabela 49. Charakterystyka zamrażarek wykorzystanych do testów efektywności procesu mrożenia.

Zamrażarki	“wolno mrożąca”	“szybko mrożąca”
	Liebherr LGT-4725	Panasonic MDF U443-PE
liczba agregatów sprężarkowych	1	2
moc kompresora	433 W	400 W i 750 W
system chłodzenia	statyczny	Kaskadowy
cyrkulacja powietrza	brak	Wymuszona
temperatury testowane	-15°C	-20°C
	-18°C	-25°C
	-20°C	-35°C

Próbki odkórzonych filetów z dorsza (n=40) z widocznymi pasożytami oraz całe, niepatroszone śledzie (n=240), poddano działaniu temperatur -15°C, -18°C lub -20°C w "wolnej" zamrażarce oraz -20°C, -25°C lub -35°C w "szybkiej" zamrażarce. Przebieg zmian temperatury w próbach ryb i komorze zamrażarki rejestrowano za pomocą cyfrowego miernika temperatury Track Sense Pro „Ellab” (Dania), wyposażonego w bezprzewodowe loggery (fot. 75). Parametry mrożenia filetów z dorsza atlantyckiego i śledzia bałtyckiego przedstawiono w tabeli 50.



Fot. 75. Cyfrowy miernik temperatury Track Sense Pro „Ellab” wyposażony w bezprzewodowe loggery.

Tabela 50. Parametry mrożenia filetów z dorsza atlantyckiego (a) i śledzia bałtyckiego (b).

a) Filety z dorsza

Zamrażarka	Liebherr ("wolna")		Panasonic ("szybka")	
Temperatura zadana [°C]	-15	-20	-18	-25
Czas mrożenia [h]	24	24	24	24
Czas osiągnięcia zadanej temperatury [h, min]	6 h 15'	9 h 30'	3 h 45'	2 h 45'
Efektywny czas mrożenia w zadanej temperaturze [h, min]	17 h 45'	14 h 30'	20 h 15'	21 h 15'
Tempo mrożenia [°C/min]*	0.02	0.02	0.06	0.14

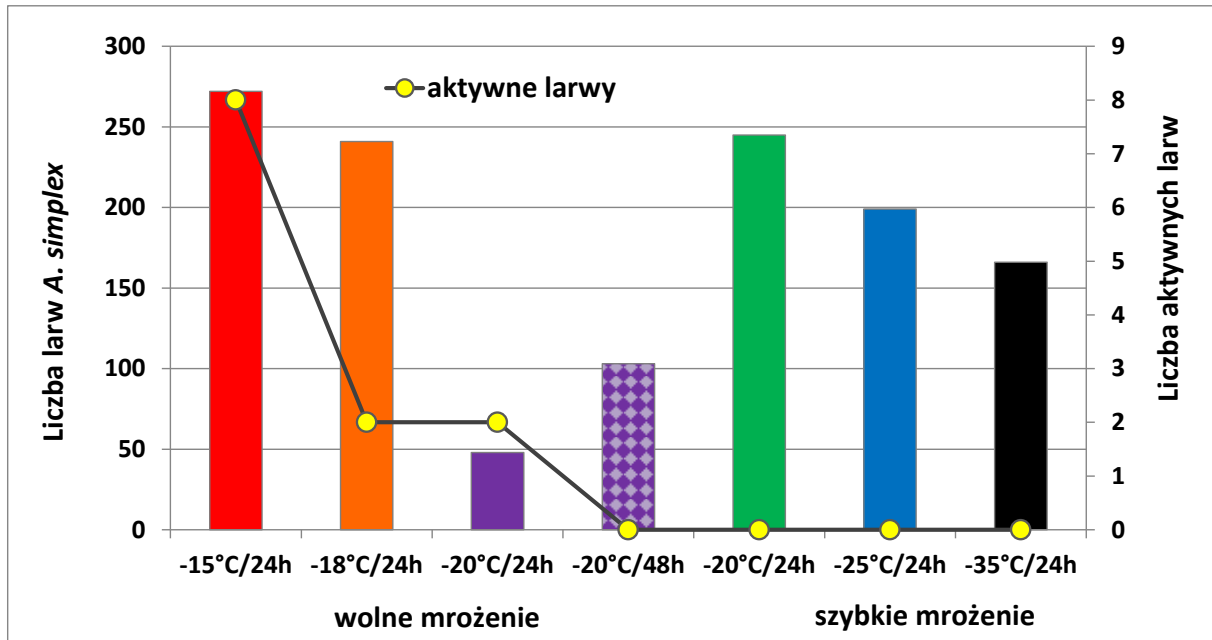
b) Śledź

Zamrażarka	Liebherr ("wolna")				Panasonic ("szybka")		
Temperatura zadana [°C]	-15	-18	-20	-20	-20	-25	-35
Czas mrożenia [h]	24	24	24	48	24	24	24
Czas osiągnięcia zadanej temperatury [h, min]	15 h 15'	20 h 15'	23 h 45'	23 h 30'	10 h 15'	6 h 15'	6 h 45'
Efektywny czas mrożenia w zadanej temperaturze [h, min]	8 h 45'	3 h 45'	15'	24 h 30'	13 h 45'	17 h 45'	17 h 15'
Tempo mrożenia [°C/min]*	0.01	0.01	0.01	0.01	0.02	0.04	0.07

Tempo mrożenia [°C /min] = $T_2 - T_1 / t_2 - t_1$, gdzie $T_1 = 0,0^\circ\text{C}$, $T_2 = -5,0^\circ\text{C}$, $t_2 - t_1 =$ czas mrożenia w przedziale temp. $0,0^\circ\text{C}$ i $-5,0^\circ\text{C}$

Po rozmrożeniu analizowanych prób ryb, poddano ocenie żywotność nicieni. Larwy wykazujące aktywność spontaniczną lub po stymulacji pincetą klasyfikowano jako żywe-aktywne. Nieruchome larwy inkubowano w termobloku w temperaturze 37°C przez 1,5 h, po czym ponownie oceniano ich aktywność. Larwy, które nadal nie wykazywały aktywności, umieszczano w mieszaninie barwiącej (zieleń malachitowa i roztwór pepsyny) i ponownie

inkubowano w termobloku (37°C, 1,5 h). Zieleń malachitowa intensywnie zabarwia martwe nicienie, podczas gdy żywe osobniki pozostają niezabarwione (Leinemann i Karl 1988). Na koniec larwy płukano 0,9% NaCl i obserwowano pod mikroskopem (AxioZoom V16) w celu oceny stopnia ich uszkodzenia (rys. 73).



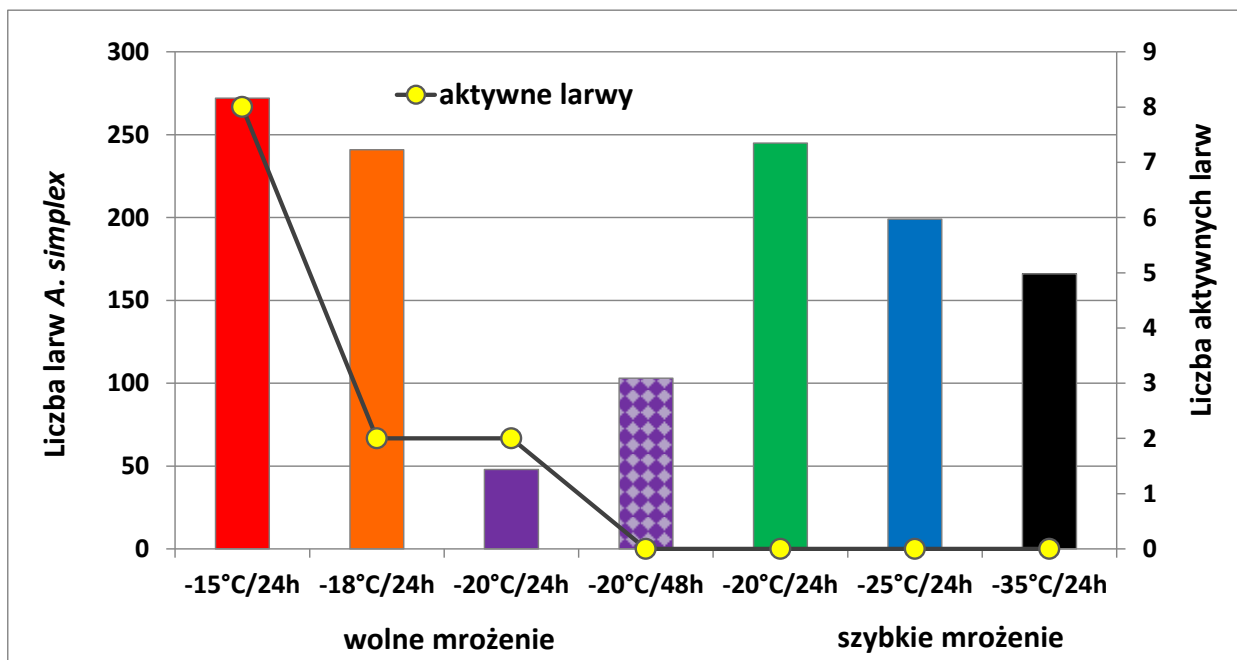
Rys. 73. Ocena przeżywalności larw nicieni Anisakidae.

W naturalnie zarażonych filetach z dorsza stwierdzono obecność 990 larw z rodzaju *Pseudoterranova*. Mniej liczne były larwy *A. simplex* (n = 72). Identyfikacja molekularna nicieni (analiza sekwencji rDNA) wykazała obecność trzech gatunków Anisakidae w filetach z dorsza: *Pseudoterranova krabbei* (gatunek dominujący), *P. decipens* oraz *A. simplex* sensu stricto (s. s.).

Wszystkie nicienie pozostawały nieruchome po mrożeniu w temp. -15°C i niższej przez 24 h. Po inkubacji w 37°C również nie zaobserwowano ich aktywności. Zastosowanie zieleni malachitowej wykazało zabarwienie każdego pasożyta. Uzyskane wyniki wskazują, że wszystkie larwy *Pseudoterranova* spp. i *A. simplex*, zamrożone w filetach z dorszami, były martwe.

Analiza śledzi wykazała obecność 1267 larw *A. simplex* (s. s.). Ruchliwość zaobserwowano u 12 pasożytów mrożonych w "wolnej" zamrażarce (24 h). Osiem larw podanych działaniu temp. -15°C oraz larwy mrożone w temp. -18°C (dwa osobniki) i -20°C (dwa osobniki), wykazywało spontaniczną aktywność po rozmrożeniu. Wszystkie pasożyty

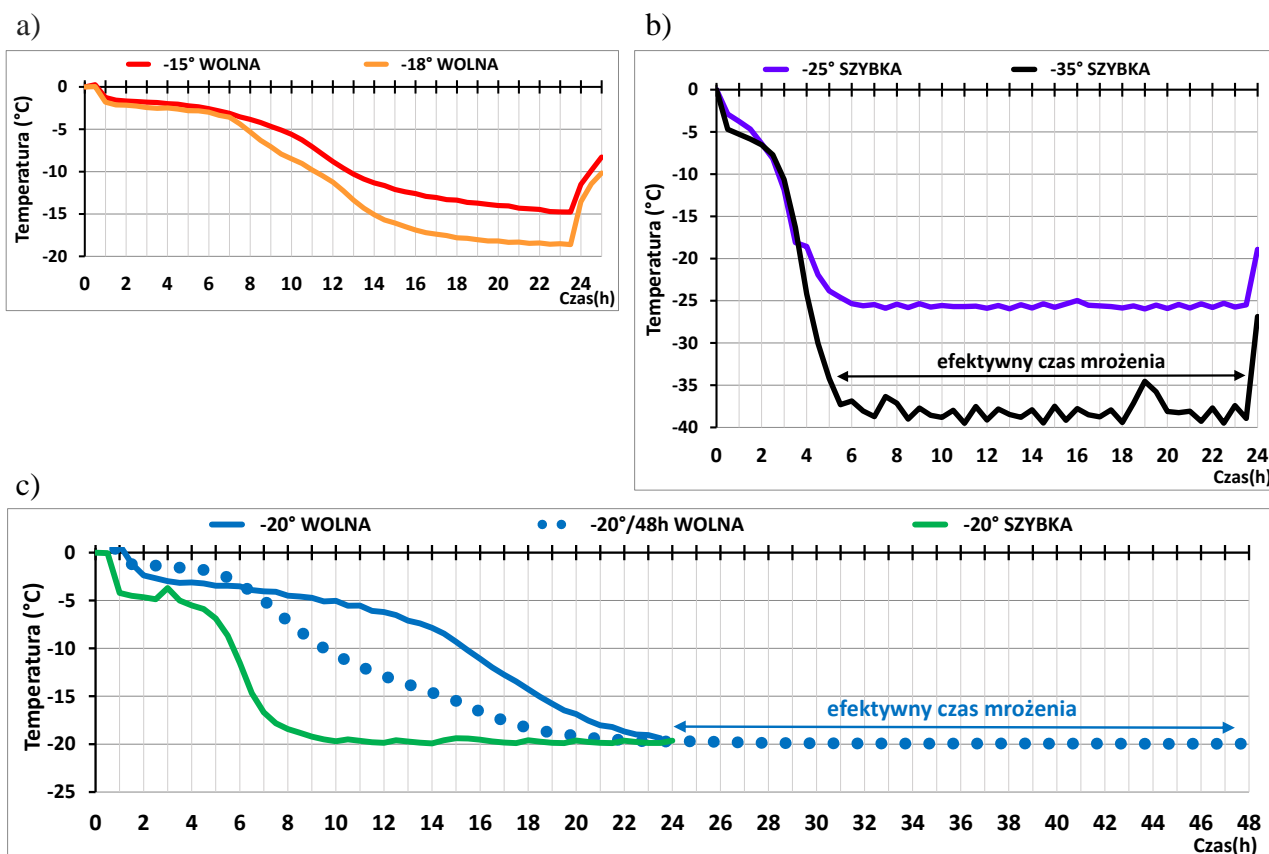
mrożone w "wolnej" zamrażarce w temperaturze -20°C przez 48 h oraz w "szybkim" urządzeniu w temperaturze $\leq -20^{\circ}\text{C}/24$ h były nieruchome po rozmrożeniu i absorbowały barwnik. Stymulacja pincetą i inkubacja w temperaturze 37°C nie wywoływała ich aktywności (rys. 74).



Rys. 74. Ocena aktywności larw *A. simplex* po mrożeniu.

Wyniki eksperymentu wykazały, że czas konieczny do osiągnięcia wymaganej temperatury w "wolnej" zamrażarce może być wielokrotnie dłuższy niż w szybko mrozącym urządzeniu. Docelowa temperatura została osiągnięta szybciej w filetach z dorsza niż w próbach całych, niepatroszonych śledzi. Wykazano, że larwy *A. simplex* przeżyły w śledziach poddanych mrożeniu w "wolnej" zamrażarce w temperaturze -20°C przez 24 h. Efektywny czas mrożenia w tych warunkach wynosił zaledwie 15 min. W tych samych warunkach czasowo-temperaturowych, ale w "szybkim" urządzeniu (o dwukrotnie wyższym tempie mrożenia), nie stwierdzono obecności żywych pasożytów. W tym przypadku, efektywny czas mrożenia wynosił ponad 13 h (tabela 50).

Spośród eksperymentalnie przetestowanych warunków czasowo-temperaturowych (-15°C , -18°C , $-20^{\circ}\text{C} / 24$ h, $-20^{\circ}\text{C} / 48$ h w „wolnej” zamrażarce oraz -20°C , -25°C , $-35^{\circ}\text{C} / 24$ h w „szybkiej” zamrażarce), jedynie dwa spełniały kryteria bezpieczeństwa określone w przepisach UE: $-35^{\circ}\text{C}/24$ h („szybka” zamrażarka) $-20^{\circ}\text{C}/48$ h („wolna” zamrażarka) (rys. 75).



Rys. 75. Krzywe przebiegu procesu mrożenia prób śledzi: a) - „wolna” zamrażarka, temp. -15°C, -18°C/24 h; b) - „szybka” zamrażarka, temp. -25°C, -35°C/24 h; c) - „szybka” zamrażarka, temp. -20°C /24 h, „wolna” zamrażarka, temp. -20°C/24h i, -20°C/48h.

Poprzez rejestrowanie parametrów mrożenia produktów rybnych można ocenić, w jakich warunkach wymagana temperatura zostanie osiągnięta we wszystkich częściach produktu i utrzymana przez wystarczająco długi czas. Odpowiedni monitoring procesu mrożenia i ocenę jego efektywności można przeprowadzić w niemal każdym zakładzie przetwórstwa rybnego. W rezultacie proces zamrażania można zoptymalizować tak, aby zapewnić zarówno odpowiednią jakość, jak i bezpieczeństwo produktów rybnych.

Literatura

- Abdallah MA, Harrad S (2014) Polybrominated diphenyl ethers in UK human milk: implications for infant exposure and relationship to external exposure. *Environment International*, 63, 130-136.
- Adams AM, Miller KS, Wekell MM, Dong, FM (1999) Survival of *Anisakis simplex* in microwave-processed arrowtooth flounder (*Atheresthes stomias*). *Journal of Food Protection*, 62(4), 403-409.
- Adams AM, Ton MN, Wekell MM, MacKenzie AP, Dong, FM (2005) Survival of *Anisakis simplex* in arrowtooth flounder (*Atheresthes stomia*) during frozen storage. *Journal of food protection*, 68(7), 1441-1446.
- Adley CC (2006) (Ed.) *Food-Borne Pathogens: Methods and Protocols*. Humana Press, Totowa New, Jersey
- Anastasio A, Smaldone G, Cacace D, Marrone R, Voi AL, Santoro M, Santoroc M, Cringolia G, Pozio E (2016) Inactivation of *Anisakis pegreffii* larvae in anchovies (*Engraulis encrasicolus*) by salting and quality assessment of finished product. *Food Control*, 64, 115-119.
- Andreu-Ballester JC, Pérez-Griera J, Ballester F, Colomer-Rubio E, Ortiz-Tarín I, Pelayo V, Rodero M, Cuéllar, C (2008) *Anisakis simplex* and *Kudoa* sp.: Evaluation of specific antibodies in appendectomized patients. *Experimental parasitology*, 119(3), 433-436.
- Arcangeli G, Galuppi A, Bicchieri M, Gamberini R, Presicce, M. (1996) Prove sperimentali sulla vitalità di larve del genere *Anisakis* in semiconserva ittiche. *Industria Conserve*, 71(4), 502-507.
- Arnd N, Renner E, Weisse F (1980) Review of Systematic Anthropology - Critical Remarks. *Z Ethnol* 105, 311-316.
- Asami K, Watanuki T, Sakai H, Imano H, Okamoto R (1965). Two cases of stomach granuloma caused by *Anisakis* - like larval nematodes in Japan. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 14(1), 119-123.
- Audicana MT, Kennedy MW (2008) *Anisakis simplex*: from obscure infectious worm to inducer of immune hypersensitivity. *Clinical Microbiology Reviews*, 21(2), 360-379.
- Austin B (2007) The Involvement of Pollution with Fish Health. In: Mothersill C, Mosse I, Seymour C (eds) *Multiple Stressors: A Challenge for the Future*. NATO Science for Peace and Security Series. Springer, Dordrecht, 13-30.
- Barralet J, Stafford R, Towner C, Smith P (2004) Outbreak of *Salmonella* Singapore associated with eating sushi. *Communicable Diseases Intelligence Quarterly Report*, 28(4), 527-528.
- Barton BA, Iwama GK (1991) Physiological changes in fish from stress in aquaculture with emphasis on the response and effects of corticosteroids. *Annual Review of Fish Diseases*, 1, 3-26.
- Beketov MA, Kefford BJ, Schäfer RB, Liess M (2013) Pesticides reduce regional biodiversity of stream invertebrates. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 110(27), 11039-11043.
- Bengtsson BE (1979) Biological variables, especially skeletal deformities in fish, for monitoring marine pollution. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London. B, Biological Sciences*, 286, 457-464.
- Bennett RW, Harmon S. (1988) *Bacillus cereus* Food Poisoning. In: Balows A, Hausler WJ, Ohashi M, Turano A, Lennete EH (eds) *Laboratory Diagnosis of Infectious Diseases*. Springer, New York, NY, 83-93.
- Berland B (1961) Nematodes from some Norwegian marine fishes. *Sarsia* 2, 1-50.
- Berland B (1981) An anisakid nematode larva with aberrant appendix. *Sarsia* 66(40), 317-318.

- Birnbaum LS, Staskal DF (2004) Brominated flame retardants: cause for concern? *Environmental Health Perspectives*, 112(1), 9-17.
- Bottero MT, Civera T, Nucera D, Turi RM (2003) Design of universal primers for the detection of animal tissues in feedstuff. *Veterinary Research Communications*, 27, 667-669.
- Boye JI, Godefroy SB (2010) Allergen management in the food industry. John Wiley Sons., Hoboken, N.J.
- Brutti A, Rovere P, Cavallero S, D'Amelio S, Danesi P, Arcangeli G (2010) Inactivation of *Anisakis simplex* larvae in raw fish using high hydrostatic pressure treatments. *Food Control*, 21(3), 331-333.
- Bucke D, Vethaak AD, Lang T, Møllergaard S (1996) Common diseases and parasites of fish in the North Atlantic: Training guide for identification. *ICES Techniques in Marine Environmental Sciences*, 19, 27 pp.
- Burreau S, Zebühr Y, Broman D, Ishaq R (2006) Biomagnification of PBDEs and PCBs in food webs from the Baltic Sea and the northern Atlantic Ocean. *Science of The Total Environment* 366(2-3), 659-672.
- CAC (2016) Code of Practice for Fish and Fishery Products CAC/RCP 52-2003 ISBN 978-92-5-105914-2.
- Carlin AF, Abeles S, Chin NA, Lin GY, Young M, Vinetz JM (2018) Case report: A common source outbreak of anisakidosis in the United States and postexposure prophylaxis of family collaterals. *The American journal of tropical medicine and hygiene*, 99(5), 1219-1221.
- Chassot E, Bonhommeau S, Dulvy NK, Mélin F, Watson R, Gascuel D, Le Pape O (2010) Global marine primary production constrains fisheries catches. *Ecology Letters*, 13(4), 495-505.
- Collins MV, Flick GJ, Smith SA, Fayer R, Croonenberghs R, O'Keefe S, Lindsay DS (2005) The effect of high-pressure processing on infectivity of *Cryptosporidium parvum* oocysts recovered from experimentally exposed eastern oysters (*Crassostrea virginica*). *Journal of Eukaryotic Microbiology*, 52(6), 500-504.
- Da-Rocha JM, García-Cutrín J, Gutiérrez MJ (2018) Mitigating unwanted catches in the southern Iberian hake stock fisheries: Improving fishing technology vs market control policies. *Scientia Marina*, 82(1), 63-74.
- De Battisti C, Marciano S, Magnabosco C, Busato S, Arcangeli G, Cattoli G (2013) Pyrosequencing as a tool for rapid fish species identification and commercial fraud detection. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 62(1), 198-205.
- Deardorff TL, Throm R (1988) Commercial blast-freezing of third-stage *Anisakis simplex* larvae encapsulated in salmon and rockfish. *The Journal of Parasitology*, 74(4), 600-603.
- Demirhan Y, Ulca P, Senyuva HZ (2012) Detection of porcine DNA in gelatine and gelatine-containing processed food products - Halal/Kosher authentication. *Meat science*, 90(3), 686-689.
- DFO 2015 Northern (NAFO Divs. 2J3KL) cod stock update. DFO Can. Sci. Advis. Sec. Sci. Resp. 2015/018.
- Doyle ME (2003) Foodborne Parasites: a Review of the Scientific Literature. Food Research Institute, University of Wisconsin-Madison, 1-32.
- Durrani MI, Blazar E (2019) Diphyllbothrium Latum (Diphyllbothriasis). In: StatPearls Publishing LLC.
- Dyrektywa Komisji 97/71/WE z dnia 15 grudnia 1997 r. zmieniająca załączniki do dyrektyw Rady 86/362/EWG, 86/363/EWG i 90/642/EWG w sprawie ustalania najwyższych dopuszczalnych poziomów pozostałości pestycydów, odpowiednio w zbożach i na ich

- powierzchni, w środkach spożywczych pochodzenia zwierzęcego i w niektórych produktach pochodzenia roślinnego, w tym owocach i warzywach.
- Dyrektywa Rady 91/493/EWG. Dyrektywa Rady z dnia 22 lipca 1991 r. ustanawiająca warunki zdrowotne dotyczące produkcji i wprowadzania na rynek produktów rybołówstwa. (91/493/EWG) (Dz.U. L 268 z 24.09.1991, str. 15 z późn. zm.) – uchylona 31.12.2005
- Dz.U. 2000. Ustawa z dnia 21 grudnia 2000 r. o jakości handlowej artykułów rolno-spożywczych (t.j. Dz. U. z 2018 r. poz. 2164 z późn. zm.).
- Dz.U. 2002. Ustawa z dnia 12 września 2002 r. o normalizacji (t.j. Dz.U. z 2015 r., poz. 1483).
- Dz.U. 2003. Rozporządzenie Ministra Zdrowia z dnia 13 stycznia 2003 r. w sprawie maksymalnych poziomów zanieczyszczeń chemicznych i biologicznych, które mogą znajdować się w żywności, składnikach żywności, dozwolonych substancjach dodatkowych, substancjach pomagających w przetwarzaniu albo na powierzchni żywności. (Dz.U. z 2003 r., nr 37, poz. 326) – uchylone 28.05.2004 r.
- Dz.U. 2004. Rozporządzenie Ministra Rolnictwa i Rozwoju Wsi z dnia 24 maja 2004 r. w sprawie wymagań weterynaryjnych przy produkcji i dla produktów rybołówstwa. (Dz.U. z 2004 r., nr 132, poz. 1418) – uchylone 20.08.2009 r.
- Dz.U. 2005. Ustawa z dnia 16 grudnia 2005 r. o produktach pochodzenia zwierzęcego (t.j. Dz. U. z 2019 r., poz. 824).
- Dz.U. 2006. Ustawa z dnia 25 sierpnia 2006 r. o bezpieczeństwie żywności i żywienia (t.j. Dz.U. 2018 r., poz. 1541 z późn. zm.).
- Dz.U. 2014. Rozporządzenie Ministra Rolnictwa i Rozwoju Wsi z dnia 23 grudnia 2014 r. w sprawie znakowania poszczególnych rodzajów środków spożywczych (Dz.U. z 2015 r., poz. 29 z późn. zm.).
- Ellermeyer J (1984) Research on the History of the Hanseatic League - German - Bohmbach J, Goetze J. *Hist Z* 238, 395-397.
- Embarek PKB (1994) Presence, detection and growth of *Listeria monocytogenes* in seafoods: a review. *International Journal of Food Microbiology*, 23(1), 17-34.
- EUMOFA (2017) The EU fish market. The Directorate-General for Maritime Affairs and Fisheries of the European Commission.
- Fagerholm HP (1982) Parasites of fish in Finland. VI. Nematodes. *Acta Academiae Aboensis*, B 40(6), 1–128.
- Fan PC (1998) Viability of metacercariae of *Clonorchis sinensis* in frozen or salted freshwater fish. *International Journal for Parasitology*, 28(4), 603-605.
- FAO 2018 The State of World Fisheries and Aquaculture 2018 - Meeting the sustainable development goals. Rome. Licence: CC BY-NC-SA 3.0 IGO.
- FAO FC 1989 The state of food and agriculture Dostęp online: <http://www.fao.org/3/a-t0162e.pdf>
- FAO/WHO 2010 Report of joint FAO/WHO expert consultation on the risks and benefits of fish consumption. Rome, 25-29 January 2010.
- Fattakhov RG (1989) Low-temperature regimens for the decontamination of fish of the larvae of *Opisthorchis*. *Meditainskaia Parazitologija i Parazitarnye Bolezni*, 5, 63-64.
- Ferter K, Rikardsen AH, Evensen TH, Svenning, MA, Tracey SR (2017) Survival of Atlantic halibut (*Hippoglossus hippoglossus*) following catch-and-release angling. *Fisheries Research*, 186, 634-641.
- Fleming LE, Broad K, Clement A, Dewailly E, Elmir S, Knap A, Pomponig SA, Smith S, Solo Gabriele H, Walsh P (2006) Oceans and human health: Emerging public health risks in the marine environment. *Marine Pollution Bulletin*, 53, 545-560.
- Franssen F, Gerard C, Cozma-Petruț A, Vieira-Pinto M, Jambrak AR, Rowan N, Paulsen P, Rożycki M, Tysnes K, Rodriguez-Lazaro D, Robertson L (2019) Inactivation of parasite

- transmission stages: Efficacy of treatments on food of animal origin. *Trends in Food Science Technology*, 83, 114-128.
- Gambarin P, Magnabosco C, Losio MN, Pavoni E, Gattuso A, Arcangeli G, Favretti M (2012) *Listeria monocytogenes* in Ready-to-Eat Seafood and Potential Hazards for the Consumers. *International Journal of Microbiology*.
- Gennari M, Cantoni C, Colombo A (1981) *Pseudomonas* spp. and Fish Deterioration. *Industrie Alimentari*. Pinerolo, 20(10), 685-690.
- Golomski WA (1993) Total quality management and the food industry: why is it important? *Food Technology*, 47, 74-79.
- Granato D, Cozzolino D, van Ruth SM (2014) Preface Special issue: Authenticity, typicality, traceability and intrinsic quality of food products. *Food Research International*, 60, 1-1.
- Grawiński E, Podolska M, Kozińska A, Pękala A (2009) Bakterie chorobotwórcze dla ryb i człowieka izolowane od dorszy bałtyckich. *Życie Weterynaryjne*, 84, 409-416.
- Hamed MGE, Elias AN (1970) Effect of food-processing methods upon survival of the Trematode *Heterophyes* sp. in flesh of mullet caught from brackish Egyptian waters. *Journal of Food Science*, 35, 386-388.
- Hardy CM, Adams M, Jerry DR, Morgan MJ, Hartley DM (2011) DNA barcoding to support conservation: species identification, genetic structure and biogeography of fishes in the Murray - Darling River Basin, Australia. *Marine and Freshwater Research*, 62(8) 887-901.
- Hashimoto K (2017) The causes determining the deterioration of fish meat quality for the frozen sashimi products of mackerels. *Nippon Suisan Gakkaishi*, 83(5), 840.
- EFSA Panel on Biological Hazards (BIOHAZ) (2010) Scientific Opinion on risk assessment of parasites in fishery products. *EFSA Journal*, 8(40), 1543.
- Hebert PD, Cywinska A, Ball SL, Dewaard JR (2003a) Biological identifications through DNA barcodes. *Proceedings of the Royal Society of London. Series B: Biological Sciences*, 270(1512), 313-321.
- Hebert PDN, Ratnasingham S, deWaard JR (2003b) Barcoding animal life: cytochrome c oxidase subunit 1 divergences among closely related species. *Proceedings of the Royal Society of London. Series B: Biological Sciences*, 270(1), 96-99.
- HELCOM (2016) Population trends and abundance of seals. HELCOM core indicator report. Dostęp online: http://www.helcom.fi/Core%20Indicators/Population%20trends%20and%20abundance%20of%20seals_HELCOM%20core%20indicator%20report%202016_web%20version.pdf.
- Hochberg NS, Hamer DH, Hughes JM, Wilson ME (2010) Anisakidosis: perils of the deep. *Clinical Infectious Diseases*, 51(7), 806-812.
- Horbowy J (2005) The dynamics of Baltic fish stocks based of a multispecies stock production model. *Journal of Applied Ichthyology*, 21(30), 198-204.
- Horbowy J (2016a) Biologiczne i matematyczne podstawy zarządzania zasobami ryb – przegląd metod. 95-lecie Morskiego Instytutu Rybackiego: aktualne tematy badań naukowych, Tom I – Zasoby ryb i rybołówstwo Morski Instytut Rybacki – PIB, Gdynia, ISBN 978-83-61650-16-4, 7-16.
- Horbowy J (2016b) Effects of varying natural mortality and selectivity on the assessment of eastern Baltic cod (*Gadus morhua* Linnaeus, 1758) stock. *Journal of Applied Ichthyology*, 32(6), 1032-1040.
- Horbowy J, Luzeńczyk A (2012) The estimation and robustness of F_{MSY} and alternative fishing mortality reference points associated with high long-term yield. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 69(9), 1468-1480.

- Horbowy J, Podolska M, Nadolna-Ałtyn K (2016) Increasing occurrence of anisakid nematodes in the liver of cod (*Gadus morhua*) from the Baltic Sea: Does infection affect the condition and mortality of fish? *Fisheries research*, 179, 98-103.
- Hryszko K (2018) Krajowy rynek ryb stan, tendencje, problemy, perspektywy. *Przemysł Spożywczy*, 72(2), 14-17.
- Hui YH (2018) *Foodborne Disease Handbook: Volume II: Viruses, Parasites, Pathogens, and HACCP*. CRC Press, 533 pp.
- ICES (2014) Report of the Joint ICES-MYFISH Workshop to consider the basis for FMSY ranges for all stocks (WKMSYREF3). ICES CM 2014/ACOM:64. 156 pp.
- ICES (2019) ICES Advice. Baltic Sea ecoregion. W: Report of the ICES Advisory Committee, 2019.
- Ings DW, Horne JK, Schneider DC (1997) Influence of episodic upwelling on capelin, *Mallotus villosus*, and Atlantic cod, *Gadus morhua*, catches in Newfoundland coastal waters. *Fish Oceanography*, 6(1), 41-48.
- Ishikura H, Kikuchi K, Nagasawa K, Ooiwa T, Takamiya H, Sato N, Sugane K (1993) Anisakidae and anisakidosis. In: Sun T. (eds) *Progress in Clinical Parasitology Volume III*, Springer, New York, NY, 43-102.
- PN-EN ISO 18593:2018-08 Mikrobiologia łańcucha żywnościowego - Horyzontalne metody pobierania próbek z powierzchni
- ISO/CD 23036-1 Microbiology of the food chain - Methods for the detection of Anisakidae L3 larvae in fish and fishery products - Part 1: UV-press method [Under development].
- ISO/CD 23036-2 Microbiology of the food chain - Methods for the detection of Anisakidae L3 larvae in fish and fishery products - Part 2: Artificial digestion method [Under development].
- Jahncke ML (2016) Seafood Processing and Safety. *Foods*, 5(2), 34.
- James D (2013) Risks and benefits of seafood consumption. *Globefish Research Programme*, Volume 108, 1-28.
- Jordan K, Leong D, Alvarez-Ordóñez A (2015) *Listeria monocytogenes* in the food processing environment. *SpringerBriefs in Food, Health, and Nutrition*, 103pp.
- Kam KM, Leung TH, Ho YYP, Ho NKY, Saw TP (1995). Outbreak of *Vibrio cholerae* 01 in Hong Kong related to contaminated fish tank water. *Public Health*, 109(5), 389-395.
- Kanoh S, Noguchi T, Maruyama J, Hashimoto K (1984) Toxicity of the pufferfish *Fugu pardalis* ("higanfugu") landed at Tokyo Metropolitan Central Wholesale Market. *Bulletin of the Japanese Society of Scientific Fisheries*, 50, 985-990.
- Karl H, Roepstorff A, Huss HH, Bloemsmas B (1994). Survival of *Anisakis* larvae in marinated herring fillets. *International Journal of Food Science & Technology*, 29(6), 661-670.
- Kobelt H (2005) The community's new food hygiene law - National implementing regulations to the regulations (EC) Nos. 852/2004, 853/2004 and 854/2004. *Fleischwirtschaft* 85, 101-103.
- Köhler HR, Triebkor, R (2013) Wildlife ecotoxicology of pesticides: can we track effects to the population level and beyond? *Science*, 341(6147), 759-765.
- Kompowski A, Horbowy J (1997) Wstęp do teorii optymalnych połowów. *Akademia Rolnicza w Szczecinie*, Szczecin.
- Kotlarska E, Luczkiewicz A, Burzynski A (2018) *Vibrio cholerae* in the Polish coastal waters of the Baltic Sea-single case or a sign of climate warming? 4th Congress of Baltic Microbiologists, Gdańsk, 10-12.09 2018.
- Kovshirina YV, Fedorova OS, Vtorushin SV, Kovshirina AE, Ivanov SD, Chizhikov AV, Onishchenko SV, Ogorodova LM, Odermatt P (2019) Case Report: Two Cases of Cholangiocarcinoma in Patients with *Opisthorchis felinus* Infection in Western

- Siberia, Russian Federation. The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene, 100(3), 599 – 603.
- Lago FC, Alonso M, Vieites JM, Espiñeira M (2014) Fish and Seafood Authenticity - Species Identification. In: Boziaris IO (eds) Seafood Processing Technology, Quality and Safety, 419-452.
- Lang T, Dethlefsen V, 1994. Externally visible diseases and liverneoplasms in flounder (*Platichthys flesus*) of the southwestern Baltic Sea. In: Bylund G, Lönström LG (eds.) Diseases and Parasites of Flounder (*Platichthys flesus*) in the Baltic Sea, BMB Publication No.15, 39–47.
- Larsen JL, Jensen NJ, Christensen NO (1978) Water pollution and the ulcer syndrome in the cod (*Gadus morhua*). Veterinary Research Communications, 2 (1), 207-216.
- Learson RJ (1970) Collaborative study of a rapid electrophoretic method for fish species identification. 2. Authentic Flesh Standards. Journal of the Association of Official Analytical Chemists, 53, 7-9.
- Lee SH, Park YH, Sohn WM, Hong ST, Chai JY (1989) The effects of gamma irradiation on the survival and development of *Clonorchis sinensis* metacercariae. The Korean Journal of Parasitology, 27(3), 187-195.
- Leinemann M, Karl H (1988) Untersuchungen zur Differenzierung lebender und toter Nematodenlarven (*Anisakis* sp.) in Heringen und Heringserzeugnissen. Archiv Lebensmittelhygiene, 39, 147-150.
- Lin WF, Hwang DF (2008a) Application of species-specific PCR for the identification of dried bonito product (Katsuobushi). Food Chemistry, 106(1), 390-396.
- Lin WF, Hwang DF (2008b) A multiplex PCR assay for species identification of raw and cooked bonito. Food Control, 19(9), 879-885.
- Lundstrom RC (1979) Fish species identification by thin layer isoelectric focusing. Journal-Association of Official Analytical Chemists, 62(3), 624-629.
- Lupin HM, Parin MA, Zugarramurdi A (2010) HACCP economics in fish processing plants. Food Control, 21(8), 1143-1149.
- Mameren JV, Houwing H (1968) Effect of irradiation on *Anisakis* larvae in salted herring. In Elimination of Harmful Organisms from Food and Feed by Irradiation. International Atomic Energy Agency. Vienna 1968. Report of a Panel, 73-80.
- Mattiucci S, Fazii P, De Rosa A, Paoletti M, Megna AS, Glielmo A, De Angelis M, Costa A, Meucci C, Calvaruso V, Sorrentini I, Palma G, Bruschi F, Nascetti G (2013) Anisakiasis and gastroallergic reactions associated with *Anisakis pegreffii* infection, Italy. Emerging Infectious Diseases, 19(3), 496.
- Mehrdana F, Buchmann K (2017) Excretory/secretory products of anisakid nematodes: biological and pathological role. Acta Veterinaria Scandinavica, 59(1), 42.
- Møllergaard S, Bagge O (1998) Fishing gear-induced skin ulcerations in Baltic cod, *Gadus morhua* L. Journal of fish diseases, 21(3), 205-213.
- Mirek Z, Bieniek W, Sztorc A (2007) DNA barcoding – a new tool for description of biodiversity. Wiadomości Botaniczne, 51(3/4), 41–50.
- Molina-Garcia AD, Sanz PD (2002) *Anisakis simplex* larva killed by high-hydrostatic-pressure processing. J Food Prot 65, 383-388. Journal of Food Protection, 65(2), 383-388.
- Monstad T (1989) Biology and fisheries of the Norwegian spring spawning herring and blue whiting in the northeast Atlantic. Proceedings of the fourth Soviet-Norwegian Symposium Bergen, 12-16.06.1989.
- Moon HJ, Min KJ, Park NY, Park HJ, Yoon KS (2017) Survival of *Staphylococcus aureus* in dried fish products as a function of temperature. Food Science and Biotechnology, 26(3), 823-828.

- Myers RA, Barrowman NJ, Hoenig JM, Qu Z (1996) The collapse off cod in Eastern Canada: the evidence from tagging data. *ICES Journal of Marine Science*, 63, 629-640.
- Nakamura M, Kelly KD (1968) Incidence of *Clostridium perfringens* in fish and fish products. *Health Laboratory Science*, 5(2), 84-88.
- Nielsen A, Berg CW (2014) Estimation of time-varying selectivity in stock assessments using state-space models. *Fisheries Research*, 158, 96-101.
- Noga EJ (2000) Skin ulcers in fish: Pfiesteria and other etiologies. *Toxicological Pathology*, 28(6), 807-823.
- Oh SR, Zhang CY, Kim TI, Hong SJ, Ju SI, Lee SH, Kim SH, Cho JI, Ha SD (2014) Inactivation of *Anisakis* larvae in salt-fermented squid and pollock tripe by freezing, salting, and combined treatment with chlorine and ultrasound. *Food Control*, 40, 46-49.
- Onsurathum S, Pinlaor P, Haonon O, Chaidee A, Charoensuk L, Intuyod K, Boonmars T, Laummaunwai P, Pinlaor S (2016) Effects of fermentation time and low temperature during the production process of Thai pickled fish (*pla-som*) on the viability and infectivity of *Opisthorchis viverrini* metacercariae. *International Journal of Food Microbiology*, 218, 1-5.
- Osimani A, Aquilanti L, Clementi F (2018) *Bacillus cereus* foodborne outbreaks in mass catering. *International Journal of Hospitality Management*, 72, 145-153.
- Padhye NV, Doyle MP (1992). *Escherichia coli* O157: H7: epidemiology, pathogenesis, and methods for detection in food. *Journal of Food Protection*, 55(7), 555-565.
- Pandelova M, Henkelman B, Roots O, Simm M, Järv L, Benfenati E, Schramm KW (2008) Levels of PCDD/F and dioxin-like PCB in Baltic fish of different age and gender. *Chemosphere*, 71(2), 369-378.
- Parmanne R, Hallikainen A, Isosaari P, Kiviranta H, Koistinen J, Laine O, Rantakokko P, Vuorinen JP, Vartiainen T (2006) The dependence of organohalogen compound concentrations on herring age and size in the Bothnian Sea, northern Baltic. *Marine Pollution Bulletin*, 52(2), 149-161.
- Pavia AT, Bryan JA, Maher KL, Hester TR, Farmer JJ (1989) *Vibrio carchariae* Infection after a Shark Bite. *Annals of Internal Medicine*, 111(1), 85-86.
- Pettersen K (2015) Rybne perspektywy. Konsumpcja ryb wśród Polaków. *Przegląd Gastronomiczny*, 69(09).
- Peuriere Y (2002) Fisheries, property rights and regulation in ancient Rome: Nihil Noui Sub Mari. *Marine Resources: Property rights, economics and environment*, 14, 17-23.
- PN-06/A-07005 Produkty żywnościowe - Warunki klimatyczne i okresy przechowywania w chłodniach (Az1:2008).
- PN-93/A-86733 Ryby i inne zwierzęta wodne świeże i mrożone - Oznaczanie zapasozyczenia i kryteria oceny.
- Podolska M, Pawlikowski B, Nadolna-Ałtyn K., Pawlak J, Komar-Szymczak K, Szostakowska B (2019) How effective is freezing at killing *Anisakis simplex*, *Pseudoterranova krabbei*, and *P. decipiens* larvae? An experimental evaluation of time-temperature conditions. *Parasitology research*, 1-9.
- Pomykała R, Michalski M, Józwiak A, Osek J (2012) Microbiological and marine biotoxins contamination of raw Bivalve Molluscs Commercially Available in Poland. *Bulletin of the Veterinary Institute in Pulawy*, 56(4), 563-568.
- Pozio E, Armignacco O, Ferri F, Morales MAG (2013) *Opisthorchis felineus*, an emerging infection in Italy and its implication for the European Union. *Acta Tropica* 126(1), 54-62.

- The Rapid Alert System for Food and Feed RASFF (2018) Annual Report 2017. Luxembourg: Publications Office of the European Union, 2018, dostęp online: https://ec.europa.eu/food/sites/food/files/safety/docs/rasff_annual_report_2017.pdf.
- Rempel MA, Schlenk D (2008) Effects of environmental estrogens and antiandrogens on endocrine function, gene regulation, and health in fish. *International Review of Cell and Molecular Biology*, 267, 207-252.
- Reploh HD, Bender F (1966) Infection with the East-Asian liver fluke *Opisthorchis felineus* (in German). *Die Medizinische Welt*, 42, 2230-2232.
- Rodrigues J, Domingos T (2008) Consumer and producer responsibility: Comments. *Ecological Economics*, 66(2-3), 551-551.
- Roots O (2001) Halogenated environmental contaminants in fish from Estonian coastal areas. *Chemosphere*, 43(4-7), 623-632.
- Rose GA, Rowe S (2015) Northern cod comeback. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 72(12), 1789-1798.
- Rozporządzenie (WE) nr 178/2002 Parlamentu Europejskiego i Rady z dnia 28 stycznia 2002 r. ustanawiające ogólne zasady i wymagania prawa żywnościowego, powołujące Europejski Urząd ds. Bezpieczeństwa Żywności oraz ustanawiające procedury w zakresie bezpieczeństwa żywności (Dz.U. L 31 z 1.2.2002 r., str. 1, z późn. zm.).
- Rozporządzenie (WE) nr 1831/2003 Parlamentu Europejskiego i Rady z dnia 22 sierpnia 2003 r. w sprawie dodatków stosowanych w żywieniu zwierząt (Dz.U. L 268, 18.10.2003, s. 29 z późn. zm.).
- Rozporządzenie (WE) nr 852/2004 Parlamentu Europejskiego i Rady z dnia 29 kwietnia 2004 r. w sprawie higieny środków spożywczych (Dz.U. L 139 z 30.4.2004, s. 1 z późn. zm.).
- Rozporządzenie (WE) nr 853/2004 Parlamentu Europejskiego i Rady z dnia 29 kwietnia 2004 r. ustanawiające szczególne przepisy dotyczące higieny w odniesieniu do żywności pochodzenia zwierzęcego (Dz.U. L 139 z 30.4.2004, s. 55 z późn. zm.).
- Rozporządzenie (WE) nr 854/2004 Parlamentu Europejskiego i Rady z dnia 29 kwietnia 2004 r. ustanawiające szczególne przepisy dotyczące organizacji urzędowych kontroli w odniesieniu do produktów pochodzenia zwierzęcego przeznaczonych do spożycia przez ludzi (Dz.U. L 139 z 30.4.2004, s. 206 z późn. zm.).
- Rozporządzenie (WE) nr 882/2004 Parlamentu Europejskiego i Rady z dnia 29 kwietnia 2004 r. w sprawie kontroli urzędowych przeprowadzanych w celu sprawdzenia zgodności z prawem paszowym i żywnościowym oraz regułami dotyczącymi zdrowia zwierząt i dobrostanu zwierząt (Dz.U. L 165 z 30.4.2004, s. 1 z późn. zm.).
- Rozporządzenie (WE) nr 1935/2004 Parlamentu Europejskiego i Rady z dnia 27 października 2004 r. w sprawie materiałów i wyrobów przeznaczonych do kontaktu z żywnością oraz uchylające dyrektywy 80/590/EWG i 89/109/EWG (Dz.U. L 338 z 13.11.2004, s. 4 z późn. zm.).
- Rozporządzenie (WE) nr 396/2005 Parlamentu Europejskiego i Rady z dnia 23 lutego 2005 r. w sprawie najwyższych dopuszczalnych poziomów pozostałości pestycydów w żywności i paszy pochodzenia roślinnego i zwierzęcego oraz na ich powierzchni, zmieniające dyrektywę Rady 91/414/EWG (Dz.U. L 70 z 16.03.2005, s. 1 z późn. zm.).
- Rozporządzenie Komisji (WE) nr 2073/2005 z dnia 15 listopada 2005 r. w sprawie kryteriów mikrobiologicznych dotyczących środków spożywczych (Dz.U. L 338 z 22.12.2005, s. 1 z późn. zm.).
- Rozporządzenie Komisji (WE) nr 2074/2005 z dnia 5 grudnia 2005 r. ustanawiające środki wykonawcze w odniesieniu do niektórych produktów objętych rozporządzeniem (WE) nr 853/2004 i do organizacji urzędowych kontroli na mocy rozporządzeń (WE) nr 854/2004 oraz (WE) nr 882/2004, ustanawiające odstępstwa od rozporządzenia (WE)

- nr 852/2004 i zmieniające rozporządzenia (WE) nr 853/2004 oraz (WE) nr 854/2004 (Dz.U. L 338 z 22.12.2005, s. 27 z późn. zm.).
- Rozporządzenie Komisji (WE) nr 1881/2006 z dnia 19 grudnia 2006 r. ustalające najwyższe dopuszczalne poziomy niektórych zanieczyszczeń w środkach spożywczych (Dz.U. L 364 z 20.12.2006, s. 5 z późn. zm.). Rozporządzenie Komisji (WE) nr 1441/2007 z dnia 5 grudnia 2007 r. zmieniające rozporządzenie (WE) nr 2073/2005 w sprawie kryteriów mikrobiologicznych dotyczących środków spożywczych (Dz.U. L 322 z 7.12.2007, str. 12 z późn. zm.))
- Rozporządzenie Komisji (WE) nr 1020/2008 z dnia 17 października 2008 r. zmieniające załączniki II i III do rozporządzenia (WE) nr 853/2004 Parlamentu Europejskiego i Rady ustanawiającego szczególne przepisy dotyczące higieny w odniesieniu do żywności pochodzenia zwierzęcego oraz rozporządzenie (WE) nr 2076/2005 w odniesieniu do znakowania identyfikacyjnego, surowego mleka i przetworów mlecznych, jaj i przetworów jajecznych oraz niektórych produktów rybołówstwa. (Dz.U. L 277 z 18.10.2008, str. 8.
- Rozporządzenie Komisji (WE) nr 10/2011 z dnia 14 stycznia 2011 r. w sprawie materiałów i wyrobów z tworzyw sztucznych przeznaczonych do kontaktu z żywnością (Dz.U. L 12/1 z 15.01.2011, s. 1 z późn. zm.).
- Rozporządzenie Komisji (UE) nr 1259/2011 z dnia 2 grudnia 2011 r. zmieniające rozporządzenie (WE) nr 1881/2006 w odniesieniu do najwyższych dopuszczalnych poziomów dioksyn, polichlorowanych bifenyli o działaniu podobnym do dioksyn i polichlorowanych bifenyli o działaniu niepodobnym do dioksyn w środkach spożywczych (Dz.U. L 320 z 3.12.2011, str. 18 z późn. zm.).
- Rozporządzenie Parlamentu Europejskiego i Rady (WE) nr 1333/2008 z dnia 16 grudnia 2008 r. w sprawie dodatków do żywności (Dz.U. L 354 z 31.12.2008, s. 16 z późn. zm.).
- Rozporządzenie Parlamentu Europejskiego i Rady (UE) nr 1169/2011 z dnia 25 października 2011 r. w sprawie przekazywania konsumentom informacji na temat żywności, zmiany rozporządzeń Parlamentu Europejskiego i Rady (WE) nr 1924/2006 i (WE) nr 1925/2006 oraz uchylenia dyrektywy Komisji 87/250/EWG, dyrektywy Rady 90/496/EWG, dyrektywy Komisji 1999/10/WE, dyrektywy 2000/13/WE Parlamentu Europejskiego i Rady, dyrektyw Komisji 2002/67/WE i 2008/5/WE oraz rozporządzenia Komisji (WE) nr 608/2004 (Dz.U. L 304 z 22.11.2011, s. 18 z późn. zm.).
- Rozporządzenie Parlamentu Europejskiego i Rady (UE) nr 1379/2013 z dnia 11 grudnia 2013 r. w sprawie wspólnej organizacji rynków produktów rybołówstwa i akwakultury, zmieniające rozporządzenia Rady (WE) nr 1184/2006 i (WE) nr 1224/2009 oraz uchylające rozporządzenie Rady (WE) nr 104/2000 (Dz.U. L 354 z 28.12.2013, s. 1 z późn. zm.).
- Rozporządzenie Parlamentu Europejskiego i Rady (UE) nr 1380/2013 z dnia 11 grudnia 2013 r. w sprawie wspólnej polityki rybołówstwa, zmieniające rozporządzenia Rady (WE) nr 1954/2003 i (WE) nr 1224/2009 oraz uchylające rozporządzenia Rady (WE) nr 2371/2002 i (WE) nr 639/2004 oraz decyzję Rady 2004/585/WE (Dz.U. L 354 z 28.12.2013, str. 22 z późn. zm.).
- Rozporządzenie Parlamentu Europejskiego i Rady (EU) 2016/1139 z dnia 6 lipca 2016 r. ustanawiające wieloletni plan w odniesieniu do stad dorsza, śledzia i szprota w Morzu Bałtyckim oraz połowów eksploatujących te stada, zmieniające rozporządzenie Rady (WE) nr 2187/2005 i uchylające rozporządzenie Rady (WE) nr 1098/2007 (Dz.U. L 191 z 15.7.2016, str. 1 z późn. zm.).

- Rozporządzenie Rady (WE) nr 2406/96 z dnia 26 listopada 1996 r. ustanawiające wspólne normy handlowe w odniesieniu do niektórych produktów rybołówstwa (Dz.U. L 334 z 23.12.1996, str. 1 z późn. zm.).
- Rozporządzenie Wykonawcze Komisji (UE) nr 540/2011 z dnia 25 maja 2011 r. w sprawie wykonania rozporządzenia Parlamentu Europejskiego i Rady (WE) nr 1107/2009 w odniesieniu do wykazu zatwierdzonych substancji czynnych (Dz.U. L 153 z 11.6.2011, str. 1 z późn. zm.).
- Rozporządzenie Wykonawcze Komisji (UE) nr 2017/2470 z dnia 20 grudnia 2017 r. ustanawiające unijny wykaz nowej żywności zgodnie z rozporządzeniem Parlamentu Europejskiego i Rady (UE) nr 2015/2283 w sprawie nowej żywności (Dz.U. L 351 z 30.12.2017, str. 72 z późn. zm.).
- Różycki M, Chmurzyńska E, Bilska-Zajac E, Karamon J, Cencek T (2018) Isoelectric focusing of proteins in the pH gradient as a tool for identification of species origin of raw meat. *Journal of Veterinary Research*, 62(2), 151-159.
- Sabry M, Abd El-Moein K, Hamza E, Kader AF (2016) Occurrence of *Clostridium perfringens* types A, E, and C in fresh fish and its public health significance. *Journal of food protection*, 79(6), 994-1000.
- Salminen K (1970) The infestiveness of heat and cold exposed *Diphyllobothrium latum* plerocercoids on golden hamster. *Acta Veterinaria Scandinavica*, 11, 247-253.
- Sanchez-Monsalvez I, de Armas-Serra C, Martinez J, Dorado M, Sanchez A, Rodriguez-Caabeiro F (2005) A new procedure for marinating fresh anchovies and ensuring the rapid destruction of Anisakis larvae. *Journal of Food Protection*, 68(5), 1066-1072.
- Schmitt N, Bowmer EJ, Willoughby BA (1976) Food Poisoning Outbreak attributed to *Bacillus cereus*. *Canadian Journal of Public Health*, 67(5), 418-422.
- Semenza JC, Trinanés J, Lohr W, Sudre B, Löfdahl M, Martínez-Urtaza J, Nichols GL, Rocklöv J (2017) Environmental Suitability of *Vibrio* Infections in a Warming Climate: An Early Warning System. *Environmental Health Perspectives* 125(10), 107004.
- Shaw SD, Brenner D, Berger ML, Carpenter DO, Hong CS, Kannan K (2009) PCBs, PCDD/Fs, and organochlorine pesticides in farmed Atlantic salmon from Maine, eastern Canada, and Norway, and wild salmon from Alaska. *Environmental Science & Technology*, 40(17), 5347-5354.
- Shepherd JG (1999) Extended survivors analysis: An improved method for the analysis of catch-at-age data and abundance indices. *ICES Journal of Marine Science*, 56(5), 584-591.
- Simon SS, Sanjeev S (2007) Prevalence of enterotoxigenic *Staphylococcus aureus* in fishery products and fish processing factory workers. *Food Control*, 18(12), 1565-1568.
- Sindermann CJ, Bang FB, Christensen NO, Dethlefsen V, Harshbarger JC, Mitchel JR, Mulcahy MF (1980) The role and value of pathobiology in pollution effects monitoring programs [marine pollution, ulcer, fin erosion, tumours, skeletal anomalies, lymphocystis, invertebrate virus, marine fish, shellfish]. *Rapports et Proces-Verbaux des Reunions (Denmark)*, 179, 135-151.
- Sindermann CS (1977) Recent data on possible association of coastal/estuarine pollution with fish and shellfish diseases. *ICES Document CM/E:14* 33 pp.
- Smaldone G, Marrone R, Palma G, Sarnelli P, Anastasio A (2017) Preliminary study on the inactivation of anisakid larvae in baccalà prepared according to traditional methods. *Italian Journal of Food Safety*, 6(4), 6964.
- Soares A, Guieysse B, Jefferson B, Cartmell E, Lester JN (2008) Nonylphenol in the environment: A critical review on occurrence, fate, toxicity and treatment in wastewaters. *Environment International* 34(7), 1033-1049.

- Sornmani S, Impand P, Bunditsing C (1993) Irradiation of fish to control the infectivity of the liver fluke *Opisthorchis viverrini*. In Use of irradiation to control infectivity of food-borne parasites. International Atomic Energy Agency. Vienna 1993. 15-22.
- Struciński P, Piskorska-Pliszczynska J, Maszewski S, Góralczyk K, Warenik-Bany M, Mikołajczyk Sz, Czaja K, Hernik A, Ludwicki JK (2013) PCDD/Fs and DL-PCBs intake from fish caught in Polish fishing grounds in the Baltic Sea – Characterizing the risk for consumers. *Environment International*, 56, 32-41.
- Szlinder - Richert J, Barska I, Usydus Z, Ruczyńska W, Grabic R (2009) Investigation of PCDD/Fs and dl-PCBs in fish from the southern Baltic Sea during the 2002-2006 period. *Chemosphere*, 74(11), 1509-1515.
- Szlinder - Richert J, Barska I, Usydus Z, Grabiec R(2010) Polybrominated diphenyl ethers (PBDEs) in selected fish species from the southern Baltic Sea. *Chemosphere* 78, 695-700.
- Szulecka O (2011) Tracing the catch through the chain. In: *Environmental Effects on Seafood Availability, Safety and Quality Issues*, Edited by Elżbieta G. Daczkowska-Kozon, Bonnie Sun Pan, CRC Press, Taylor & Francis Group LLC, Boca Raton, USA: 323-341
- Talukdar PK, Udombijitkul P, Hossain A, Sarker MR (2016) Inactivation Strategies for *Clostridium perfringens* Spores and Vegetative Cells. *Applied and Environmental Microbiology*, 83(1), e02731-02716.
- Tan C (2002) Singapore and Fugu. *Scientist* 16, 21-21.
- Tarr HLA (1954) Microbiological deterioration of fish post mortem, its detection and control. *Bacteriological Reviews*, 18(1), 1-15.
- Tidwell JH, Allan GL (2001) Fish as food: aquaculture's contribution. Ecological and economic impacts and contributions of fish farming and capture fisheries. *EMBO Report*, 2(11), 958-963.
- Tomasso J, New MB (1999) Aquaculture in global fisheries production. *Fisheries - American Fisheries Society*, 24(5), 32.
- Toro C, Caballero ML, Baquero M, García-Samaniego J, Casado I, Rubio M, Moneo I (2004) High prevalence of seropositivity to a major allergen of *Anisakis simplex*, Ani s 1, in dyspeptic patients. *Clinical Diagnostic Laboratory Immunology*, 11(1), 115-118.
- UE (2018) The Rapid Alert System for Food and Feed 2017 Annual Report.
- UN (2002) World Summit on Sustainable Development (WSSD), Johannesburg, South Africa.
- Valero A, Terrados S, Diaz V, Reguera V, Lozano J (2003) Determination of IgE in the serum of patients with allergic reactions to four species of fish-parasite anisakids. *Journal of Investigational Allergology & Clinical Immunology*, 13(2), 94-98.
- Van Heerden MA, Jooste JL (2018) A Guide for Integrating Total Quality Management and Physical Asset Management in the Food Industry. *South African Journal of Industrial Engineering*, 29(4), 155-170.
- Van Thiel PH (1967) The "formation of the calotte" phenomenon in the larva of *Anisakis marina* (Linneus 1767) in the human serum. *Annales de Parasitologie Humaine et Comparee*, 42(6), 633-642.
- Van Thiel (1960) *Anisakis*. *Parasitology* 53, 16.
- Verbeke W, Vermeir I, Brunsø K (2007) Consumer evaluation of fish quality as basis for fish market segmentation. *Food Quality and Preference*, 18(4), 651-661.
- Vidacek S, De Las Heras C, Solas MT, García ML, Mendizábal A, Tejada M (2011) Viability and antigenicity of *Anisakis simplex* after conventional and microwave heating at fixed temperatures. *Journal of Food Protection*, 74(12), 2119-2126.
- Waloch M (2011) Cestode infections in Poland in 2009. *Przegląd epidemiologiczny*, 65, 285-288.

- Weir E (2005) Sushi, nematodes and allergies. *Cmaj*, 172(3), 329.
- Wharton DA, Aalders O (2002) The response of *Anisakis* larvae to freezing. *Journal of helminthology*, 76(4), 363-368.
- Whipps CM, Diggles BK (2006) *Kudoa alliaris* in flesh of Argentinian hoki *Macruronus magellanicus* (Gadiformes; Merlucciidae). *Diseases of Aquatic Organisms*, 69(2-3), 259-263.
- Whitaker DJ, Kabata Z (1987) Early Infection of *Merluccius productus* (Ayres) (Pisces, Teleostei) with *Kudoa thyrsites* (Gilchrist) (Myxozoa). *Canadian Journal of Zoology*, 65(4), 936-939.
- WHO (2017) Expert consultation to accelerate control of foodborne trematode infections, taeniasis and cysticercosis, Seoul, Republic of Korea, 17–19 May 2017 Meeting report.
- Wilson BJ, Musto RJ, Ghali WA (2012) A case of histamine fish poisoning in a young atopic woman. *Journal of General Internal Medicine*, 27(7), 878-881.
- Wiwatitkit V (2012) Gnathostomiasis and sushi ingestion. *The American Journal of Dermatopathology*, 34(6), 675.
- Wolf K, Gravell M, Malsberger RG (1966) *Lymphocystis* virus: isolation and propagation in centrarchid fish cell lines. *Science* 151(3713) 1004-1005.
- Wootten R, Cann DC (1980) Round Worms in Fish. The National Archives, Kew.

Wykaz fotografii

Fot. 1. Zmiany chorobowe okolicy oczodołu u dorsza.	79
Fot. 2. Obraz w żelu 3-9 IEF białek różnych gatunków ryb.	83
Fot. 3. Pasożyty zewnętrzne <i>Trifur tortuosus</i>	91
Fot. 4. Plerocercoidy <i>Diphylobotrium</i>	93
Fot. 5. Metacerkarie <i>Opisthorchis felineus</i> w tkance mięśniowej lina (<i>Tinca tinca</i>) z jeziora Bosena (środkowe Włochy region Lacio).	94
Fot. 6. Metacerkarie <i>Opisthorchis felineus</i> w tkance mięśniowej lina (<i>Tinca tinca</i>) z jeziora Bosena (środkowe Włochy region Lacio) w kompresorze powiększenie 40x.....	95
Fot. 7. Zdjęcia przedstawiają liczne larwy L3 <i>A. simplex</i> w jamie ciała makreli atlantyckiej	97
Fot. 8. Dorsz -wątroba.....	101
Fot. 9. Badanie tkanki mięśniowej ryb z użyciem podświetlanego kompresora badanie na statku	102
Fot. 10. Metoda kompresorowa z zastosowaniem podświetlenia (światło białe lub UV)	102
Fot. 11. Filet z dorsza na podświetlanym blacie larwa <i>Anisakis</i> sp. widoczna w tkance mięśniowej	103
Fot. 12. Filety z dorsza na podświetlanym blacie z widoczną larwą <i>Anisakis</i> sp.	103
Fot. 13. Larwa nicienia w filecie z dorsza bałtyckiego	104
Fot. 14. Skupisko nicieni w dorszu atlantyckim	104
Fot. 15. Larwy nicieni wyizolowane z dorsza atlantyckiego	105
Fot. 16. Skupisko larw nicieni w tkance mięśniowej łososia.	105
Fot. 17. Filet z dorsza - w świetle UV widoczna fluorescencja larwy <i>Anisakis</i> sp.	106
Fot. 18. Wytrawianie tkanki mięśniowej w sztucznym soku żołądkowym	109
Fot. 19. Wytrawianie tkanki mięśniowej w sztucznym soku żołądkowym - przelewanie przez sitko	109
Fot. 20. Larwy nicieni widoczne na sitku po procesie trawienia w sztucznym soku żołądkowym	110
Fot. 21. Wytrawianie wątrób dorsza w sztucznym soku żołądkowym bez użycia mieszadła magnetycznego.....	111
Fot. 22. Przykładowe zdjęcie żelu.....	125
Fot. 23. Limfocystoza u storni.	146
Fot. 24. Limfocystoza u storni.	146

Fot. 25. Owrzodzenia u storni	147
Fot. 26. Owrzodzenia u storni.	147
Fot. 27. Owrzodzenia u dorsza: zmiany w obrębie naskórka.....	148
Fot. 28. Owrzodzenia u dorsza: ubytki w obrębie skóry właściwej.....	148
Fot. 29. Owrzodzenia u dorsza: ogniska martwicze i ubytki drążące w głąb mięśni	148
Fot. 30. Owrzodzenia u dorsza: owrzodzenie zablizniające się	148
Fot. 31. Owrzodzenia u dorsza: blizna.....	149
Fot. 32. Deformacja szkieletu (karłowatość) u dorsza	151
Fot. 33. Deformacje kręgosłupa u dorsza: lordoza - łukowate wygięcie kręgosłupa.....	151
Fot. 34. Deformacje kręgosłupa u dorsza: kifoza - łukowate wygięcie kręgosłupa w stronę grzbietową	152
Fot. 35. Deformacje kręgosłupa u dorsza: skrócenie trzonów kręgów.	152
Fot. 36. Deformacje kręgosłupa u dorsza: skrócenie trzonów kręgów	152
Fot. 37. Deformacje kręgosłupa u śledzia.	153
Fot. 38. Mopsowatość u dorsza	153
Fot. 39. Mopsowatość u dorsza.	153
Fot. 40. Mopsowatość u dorsza.	154
Fot. 41. Uszkodzenie skóry dorsza.....	159
Fot. 42. Uszkodzenie skóry dorsza	159
Fot. 43. Uszkodzenie skóry dorsza. Wewnątrz rany widoczne punktowe nacieki ropne	160
Fot. 44. Otwór gębowy minoga rzeczno <i>Lampetra fluviatilis</i> z widocznymi zębami.....	160
Fot. 45. Mechaniczne uszkodzenia dorsza	161
Fot. 46. Mechaniczne uszkodzenia dorsza	161
Fot. 47. Mechaniczne uszkodzenia dorsza	162
Fot. 48. Gotowe podłoża wymazowe.	164
Fot. 49. Ryby zasypane lodem na targu rybnym.....	183
Fot. 50. Etap I ocena skrzeli: barwa, konsystencja, sprężystość, zapach.	192
Fot. 51. Badanie jamy brzusznej.	193
Fot. 52. Nacięcie w kształcie litery L.....	193
Fot. 53. Widoczne larwy <i>A. simplex</i> w jamie otrzewnowej.	194
Fot. 54. Dorsze świeże patroszone przechowywane w lodzie.	213
Fot. 55. Stanowiska do wstępnej obróbki ryb.	214
Fot. 56. Stanowisko ważenia ryb w pojemnikach.	215

Fot. 57. Maszyna do filetowania tusz dorsza typu Baader 187.....	216
Fot. 58. Filety z dorsza bałtyckiego ze skórą.	216
Fot. 59. Maszyna do odskórzania filetów z dorsza typu Baader 51.....	217
Fot. 60. Zapakowane filety w tacy zamrażalniczej.	218
Fot. 61. Kontaktowa pozioma szafa zamrażalnicza.	218
Fot. 62. Szafa zamrażalnicza o działaniu okresowym.	225
Fot. 63. Tunel zamrażalniczy IQF firmy Octofrost (Szwecja).....	225
Fot. 64. Urządzenie do mrożenia metoda kontaktową.	226
Fot. 65. Mrożenie zanurzeniowe (immersyjne) produktów rybołówstwa.	226
Fot. 66. Tunel do mrożenia metodą kriogeniczną.....	227
Fot. 67. Tusze z dorsza bałtyckiego	228
Fot. 68. Filety z dorsza bałtyckiego.	228
Fot. 69. Tuszki ze śledzia bałtyckiego.	229
Fot. 70. Płaty ze śledzia bałtyckiego.	229
Fot. 71. Zamrażarka kontaktowa firmy „DSI” A/S (Dania).	235
Fot. 72. Tuszki śledziowe ułożone na tacy do mrożenia kontaktowego.	235
Fot. 73. Filety z dorsza przed mrożeniem.	242
Fot. 74. Filety z dorsza po mrożeniu.	242
Fot. 75. Cyfrowy miernik temperatury Track Sense Pro „Ellab” wyposażony w bezprzewodowe loggery.....	250

Wykaz tabel

Tabela 1. Główne gatunki ryb i owoców morza, ich spożycie w UE oraz źródła pozyskania.	15
Tabela 2. Dopuszczalne poziomy zawartości dioksyn + dl PCB i ndl-PCB*.....	40
Tabela 3. Zestawienie zawartości metali w 3 podstawowych gatunkach ryb z Bałtyku i w wątrobach dorszowych na podstawie badań w latach 1995 - 2000.....	44
Tabela 4. Zestawienie zawartości metali w 3 podstawowych gatunkach ryb z Bałtyku i w wątrobach dorszowych na podstawie badań w latach 2001-2003.....	45
Tabela 5. Średnie zawartości metali w badanych przetworach rybnych.....	45
Tabela 6. Średnie zawartości Σ DDT w rybach i przetworach rybnych na polskim rynku.....	49
Tabela 7. Dane dotyczące badanych ryb.	52
Tabela 8. Zawartość ftalanów w przebadanych produktach	68
Tabela 9. Tolerowane dawki pobrania zanieczyszczeń.....	69
Tabela 10. Dawki pobrania zanieczyszczeń z przeciętną dietą tygodniową.....	70
Tabela 11. Procentowy udział dioksyn pobieranych z różnymi grupami żywności w diecie wybranych krajów na podstawie danych z konsultacji FAO/WHO.....	71
Tabela 12. Skład mieszaniny reakcyjnej do reakcji PCR.....	86
Tabela 13. Profil temperaturowo-czasowy do reakcyjnej do reakcji PCR.....	86
Tabela 14. Charakterystyczne gatunkowo mutacje punktowe w poddanej pyrosekwencjonowaniu 28 nukleotydowej sekwencji genu COI.	87
Tabela 15. Prosta i szybka metoda wstępnej identyfikacji larw (L3) Anisakidae (do rodzaju).	107
Tabela 16. Wyniki badania ryb różnymi metodami.	112
Tabela 17. Objętość odczynników do roztworu buforu inkubującego na jedną próbkę.	121
Tabela 18. Objętość odczynników do roztworu buforu lizującego na jedną próbkę.	121
Tabela 19. Sekwencje nukleotydowe.	122
Tabela 20. Skład mieszaniny reakcyjnej.	122
Tabela 21. Parametry pracy termocyklera w programie do amplifikacji fragmentu genu ITS.	123
Tabela 22. Wielkości produktów reakcji PCR po amplifikacji genu ITS.	124
Tabela 23. Produkty cięcia enzymami restrykcyjnymi dla poszczególnych gatunków larw Anisakidae.	124

Tabela 24. Wybrane czynniki inaktywujące formy dyspersyjne patogennych pasożytów chorobotwórczych w żywności morskiego pochodzenia – obróbka termiczna.	137
Tabela 25. Wybrane czynniki inaktywujące formy dyspersyjne patogennych pasożytów w żywności morskiego pochodzenia – kombinacja czynników marynowanie, solenie, fermentacja.	140
Tabela 26. Wybrane czynniki inaktywujące formy dyspersyjne patogennych pasożytów w żywności morskiego pochodzenia - obróbka wysokim ciśnieniem.	142
Tabela 27. Wybrane czynniki inaktywujące formy dyspersyjne patogennych pasożytów w żywności morskiego pochodzenia – napromieniowanie.	143
Tabela 28. Kryteria oceny produktów rybnych na obecność histaminy.	144
Tabela 29. Przykładowe testy i zestawy do oceny skuteczności mycia i dezynfekcji.	165
Tabela 30. Wybrane czynniki ograniczające wzrost <i>E. coli</i>	167
Tabela 31. Oporność cieplna <i>E. coli</i> O157:H7.....	167
Tabela 32. Czynniki ograniczające wzrost <i>Listeria monocytogenes</i>	167
Tabela 33. Wybrane czynniki ograniczające wzrost <i>C. perfringens</i>	170
Tabela 34. Czynniki ograniczające wzrost <i>B. cereus</i>	171
Tabela 35. Współwystępowanie bakterii <i>Vibrio</i> wraz z innymi objawami klinicznymi.....	173
Tabela 36. Zagrożenie: <i>C. botulinum</i> - wytworzenie toksyny botulinowej.	174
Tabela 37. Czynniki limitujące wytwarzanie toksyny botulinowej - temperatura i czas ekspozycji.....	174
Tabela 38. Przykłady występowania mikroflory w zależności od środowiska i pozyskania.	176
Tabela 39. Identyfikacja zagrożeń w układzie produkt - zagrożenie.	184
Tabela 40. Skala oceny świeżości ryb dorszowatych.....	190
Tabela 41. Skala oceny Craft	191
Tabela 42. Najczęściej zmieniane unijne przepisy prawne dotyczące bezpieczeństwa żywności.....	203
Tabela 43. Pojęcia związane z kontrolą wzrokową obecności pasożytów w produktach rybołówstwa.	205
Tabela 44. Okresy trwałości mrożonych produktów rybołówstwa według standardów FAO/WHO oraz normy PN-83/A-07005.	223
Tabela 45. Przebieg procesu mrożenia śledzi bałtyckich w zależności od typu urządzenia..	232
Tabela 46. Charakterystyka przebiegu procesów mrożenia tuszek i płatów ze śledzi w zamrażarce kontaktowej.	236
	271

Tabela 47. Charakterystyka przebiegu procesów mrożenia tuszek ze śledzi i filetów z dorsza w zamrażarce kontaktowej, przed i po modernizacji instalacji chłodniczej.	240
Tabela 48. Charakterystyka procesu mrożenia filetów z dorsza bałtyckiego w tunelu kriogenicznym „CRYOLINE SM” (LINDE).....	244
Tabela 49. Charakterystyka zamrażarek wykorzystanych do testów efektywności procesu mrożenia.	249
Tabela 50. Parametry mrożenia filetów z dorsza atlantyckiego (a) i śledzia bałtyckiego (b).	251

Wykaz rysunków

Rys. 1. Światowa produkcja ryb w 2015 r.	14
Rys. 2. Spożycie ryb UE (UE – 28) w 2018 r. w kg/mieszkańca	15
Rys. 3. Wydatki na produkty z mięsa czerwonego i ryb w UE (UE – 28) na podstawie danych EUROSTAT w mld EUR.....	17
Rys. 4. Biomasa stada rozrodczego i połowy (tys. t) śledzi norweskich wiosennego tarła w okresie 1950-2018.	20
Rys. 5. Liczebność, masa osobnicza i biomasa pokolenia ryb jako funkcja wieku na przykładzie dorsza wschodniobałtyckiego.	22
Rys. 6. Mapa Bałtyku z podziałem na podobszary definiowane przez ICES.	28
Rys. 7. Biomasa, wyladunki (tys. ton) i uzupełnienie dorszy wschodnio-bałtyckich (mld sztuk) w okresie 1966-2019.	31
Rys. 8. Wzrost osobniczy dorszy, śledzi i szprotów w okresie 1974-2018 (wartości względne, 1982 przyjęto jako 1).....	31
Rys. 9. Biomasa, połowy (tys. ton) i uzupełnienie śledzi centralnego Bałtyku (mld sztuk) w okresie 1974-2019.	33
Rys. 10. Biomasa, połowy (tys. ton) i uzupełnienie szprotów całego Bałtyku (mld sztuk) w okresie 1974-2019.	35
Rys. 11. Transfer zanieczyszczeń w środowisku morskim.	37
Rys. 12. Źródła emisji dioksyn do Morza Bałtyckiego.	39
Rys. 13. Średnie zawartości PCB w rybach bałtyckich.	46
Rys. 14. Zmiany stężeń ndl-PCB w próbkach śledzia.	47
Rys. 15. Zawartość Σ PCB w popularnych na polskim rynku produktach rybnych.....	47
Rys. 16. Średnie zawartości dioksyn w różnych gatunkach ryb.	50
Rys. 17. Zawartości dioksyn w rybach na polskim rynku	50
Rys. 18. Zawartość dioksyn w konserwach ze szprota.	51
Rys. 19. Zawartość dioksyn w różnych produktach z polskiego rynku.	51
Rys. 20. Zawartość ołowiu w mięśniach dorsza w zależności od łowiska.	53
Rys. 21. Zawartość kadmu w mięśniach dorsza w zależności od łowiska.....	54
Rys. 22. Zawartość rtęci w mięśniach dorsza w zależności od łowiska.	54
Rys. 23. Stężenia dioksyn w filetach z dorsza atlantyckiego w zależności od łowiska.	55
Rys. 24. Stężenia wskaźnikowych PCB w filetach z dorsza atlantyckiego w zależności od łowiska.	55

Rys. 25. Zawartość PBDE w mięśniach dorsza pochodzącego z różnych łowisk.	56
Rys. 26. Zawartości metali toksycznych (ołowiu, kadmu i rtęci) w wątrobie dorsza w zależności od łowiska.	57
Rys. 27. Stężenia wskaźnikowych polichlorowanych bifenyli w wątrobach dorsza atlantyckiego w zależności od łowiska.	58
Rys. 28. Stężenia PCDD/F i dl-PCB w wątrobach dorsza atlantyckiego w zależności od łowiska.	58
Rys. 29. Porównanie stężeń NP w filetach z dorsza surowych oraz pakowanych.	63
Rys. 30. Porównanie stężeń NP w mięsie łososia przed pakowaniem i po pakowaniu.	64
Rys. 31. Porównanie stężeń BPA w filetach z dorsza surowych oraz pakowanych.	66
Rys. 32. Porównanie stężeń BPA w mięsie łososia przed pakowaniem i po pakowaniu.	66
Rys. 33. Połowy w UE 2010-2016 (https://ec.europa.eu/eurostat/statistics).	72
Rys. 34. Pyrogramy czarniaka (A) i dorsza atlantyckiego (B).	87
Rys. 35. Schemat budowy nicieni Anisakidae (larwy III stadium).	108
Rys. 36. Schemat płytki do przeprowadzenia reakcji dla 12 matryc.	115
Rys. 37. Wynik uzyskany dla <i>Anisakis simplex</i> s. s.	116
Rys. 38. Wynik uzyskany dla <i>Anisakis pegreffii</i>	116
Rys. 39. Wynik uzyskany dla hybrydy <i>Anisakis simplex/A. pegreffii</i>	117
Rys. 40. Wynik uzyskany dla <i>Contracaecum osculatum</i>	117
Rys. 41. Wynik uzyskany dla <i>Pseudoterranova decipiens</i>	118
Rys. 42. Wynik uzyskany dla <i>Hysterothylacium aduncum</i>	118
Rys. 43. <i>C. osculatum</i> w wątrobach dorszy. Ekstensywność zarażenia w latach 1987 – 2017.	128
Rys. 44. <i>A. simplex</i> w wątrobach dorszy. Ekstensywność zarażenia w latach 1987 – 2017..	129
Rys. 45. Efekty roku i rejonu w modelach ekstensywności i intensywności zarażenia dorsza nicieniami <i>A. simplex</i> i <i>C. osculatum</i> oraz zależność intensywności zarażenia od długości dorsza	130
Rys. 46. Efekty długości w modelach GLM częstości i intensywności zarażenia dorsza nicieniami <i>A. simplex</i> i <i>C. osculatum</i> oraz paraboliczne linie trendu dopasowane do efektów.	131
Rys. 47. Zależność pomiędzy kondycji (FCF) od intensywności zarażenia dorsza nicieniami <i>A. simplex</i> i <i>C. osculatum</i>	132
Rys. 48. Schemat przyczyn wzrostu śmiertelności dorszy.	133

Rys. 49. Liczebność populacji fok szarej <i>H. grypus</i> w Bałtyku	134
Rys. 50. Mechanizm powstawania owrzodzeń skóry u ryb.	150
Rys. 51. Schemat budowy morfologicznej ryb (płastugi, dorsz)..	155
Rys. 52. Rejony połowu dorsza 2016-2017.	156
Rys. 53. Ekstensywność występowania owrzodzeń u dorszy według łowisk i kwadratów ICES.	157
Rys. 54. Stadia owrzodzeń stwierdzone u dorszy w latach 2016 - 2017 (według łowisk). ...	157
Rys. 55. Ekstensywność występowania owrzodzeń w klasach długości dorszy.....	158
Rys. 56. Obszary występowania <i>C. botulinum</i> (FAO).	175
Rys. 57. Zasady transportu ryb zasypanych lodem.	182
Rys. 58. Zasady składowani ryb zasypanych lodem.	182
Rys. 59. Etapy procesu mrożenia.	220
Rys. 60. Metody mrożenia i stosowane typy urządzeń do mrożenia produktów żywnościowych.	224
Rys. 61. Przebieg procesu mrożenia filetów z dorsza w temperaturze -25°C.....	231
Rys. 62. Przebieg mrożenia tuszek i płatów śledziowych w temperaturze: -18°C i -40°C. ..	231
Rys. 63. Jakość sensoryczna filetów z dorsza w zależności od temperatury i tempa mrożenia.	233
Rys. 64. Ubytki masy filetów z dorsza po rozmrożeniu w zależności od temperatury i tempa mrożenia.	233
Rys. 65. Przebieg krzywych mrożenia tuszek śledziowych w zależności od miejsca usytuowania czujników temperatury w bloku ryb.	237
Rys. 66. Przebieg mrożenia tuszek śledziowych w urządzeniu kontaktowym przed modernizacją.	238
Rys. 67. Przebieg mrożenia tuszek śledziowych w urządzeniu kontaktowym po modernizacji.	238
Rys. 68. Przebieg procesu mrożenia filetów dorsza w urządzeniu kontaktowym przed modernizacją.	239
Rys. 69. Przebieg mrożenia filetów z dorsza w urządzeniu kontaktowym po modernizacji.	239
Rys. 70. Tunel kriogeniczny typu „CRYOLINE SM” (Linde).	241
Rys. 71. Przebieg procesu mrożenia filetów z dorsza w tunelu kriogenicznym.	243
Rys. 72. Schemat przebiegu procesu zamrażania.	248
Rys. 73. Ocena przeżywalności larw nicieni Anisakidae.	252
	275

Rys. 74. Ocena aktywności larw <i>A. simplex</i> po mrożeniu	253
Rys. 75. Krzywe przebiegu procesu mrożenia prób śledzi	254