

Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích

Fakulta rybnářství a ochrany vod

Ústav akvakultury a ochrany vod

Bakalářská práce

**Vliv přírodních extraktů na senzorické vlastnosti
a prodloužení skladovatelnosti masa pstruha
duhového (*Oncorhynchus mykiss*)**

Autor: Ondřej Tunys

Vedoucí bakalářské práce: Mgr. Zuzana Linhartová, Ph.D.

Konzultant bakalářské práce: Ing. Roman Lunda

Studijní program a obor: Zootechnika, rybnářství

Forma studia: Prezenční

Ročník: Třetí

České Budějovice, 2018

Prohlášení

Prohlašuji, že svoji bakalářskou práci jsem vypracoval samostatně pouze s použitím pramenů a literatury uvedených v seznamu citované literatury. Prohlašuji, že v souladu s § 47b zákona č. 111/1998 Sb. v platném znění, souhlasím se zveřejněním své bakalářské práce, a to v nezkrácené podobě, případně v úpravě vzniklé vypuštěním vyznačených částí archivovaných FROV JU. Zveřejnění probíhá elektronickou cestou ve veřejně přístupné části databáze STAG provozované Jihočeskou univerzitou v Českých Budějovicích na jejich internetových stránkách, a to se zachováním mého autorského práva k odevzdávanému textu do této kvalifikační práce. Souhlasím dále s tím, aby toutéž elektronickou cestou byly v souladu s uvedeným ustanovením zákona č. 111/1998 Sb. zveřejněny posudky školitele a oponentů práce i záznam o průběhu a výsledku obhajoby kvalifikační práce. Rovněž souhlasím s porovnáním textu mé kvalifikační práce s databází kvalifikačních prací na Theses.cz provozovanou Národním registrem vysokoškolských kvalifikačních prací a systémem na odhalování plagiátů.

V Českých Budějovicích dne

Ondřej Tunys

Poděkování

Touto formou bych rád poděkoval vedoucí mé bakalářské práce Mgr. Zuzaně Linhartové, Ph.D. a konzultantovi Ing. Romanu Lundovi za poskytnutí odborné pomoci při pokusech, při tvorbě písemné části bakalářské práce a za jejich ochotu a aktivní přístup. Dále bych rád poděkoval všem, kteří se na mém pokusu jakkoliv podíleli a společně tak pomohli ke vzniku této práce.

JIHOČESKÁ UNIVERZITA V ČESKÝCH BUDĚJOVICÍCH

Fakulta rybářství a ochrany vod

Akademický rok: 2016/2017

ZADÁNÍ BAKALÁŘSKÉ PRÁCE

(PROJEKTU, UMĚLECKÉHO DÍLA, UMĚLECKÉHO VÝKONU)

Jméno a příjmení: **Ondřej TUNYS**

Osobní číslo: **V15B020P**

Studijní program: **B4103 Zootechnika**

Studijní obor: **Rybářství**

Název tématu: **Vliv přírodních extraktů na senzorní vlastnosti
a prodloužení skladovatelnosti masa pstruha duhového
(*Oncorhynchus mykiss*)**

Zadávací katedra: **Ústav akvakultury a ochrany vod**

Z á s a d y p r o v y p r a c o v á n í :

Nejdůležitější charakteristikou kvality potravin, včetně rybího masa, je jejich čerstvost (Alasalvar a kol., 2011). Existuje bezpočet faktorů, které ovlivňují trvanlivost rybího masa: manipulace při výlovu, roční období, věk, vodní prostředí, správné zabití, kuchání, vyčištění břišní dutiny, teplota a způsob skladování, to jsou nejčastější prvotní faktory ovlivňující kvalitu a čerstvost (Nollet a Toldra, 2010). Ve snaze zvýšit spotřebu ryb je potřeba zajistit lepší prodej rybích produktů se stále vysokou kvalitou rybího masa. Rybí svalovina je však známá svou krátkou dobou trvanlivosti (Grau a kol., 2011). Biologické a chemické procesy v rybím masu se projevují ihned po usmrcení ryby a je tedy potřeba rybu co nejdříve a nejlépe zpracovat (FAO, 2005). Vzhledem k vyššímu pH rybí svaloviny a přítomnosti autolytických enzymů dochází k rychlému zhoršování kvality rybího masa, a to především důsledkem působení bakterií (Sivertsvik a kol., 2002), tím pádem je velký zájem potravinářského průmyslu vyvinout metody pro hodnocení rybí čerstvosti a prodloužení doby skladovatelnosti.

Pro zlepšení kvality, chutě a omezení růstu bakterií na rybím masu se používají různorodé druhy konzervačních látek. Jednou z možností je použití přirozeně se vyskytujících antimikrobiálních látek, tzv. přírodních aditiv, které mají navíc benefit v podobě antioxidačních účinků a jsou nazývány antioxidanty. Přítomnost antioxidantů v potravinách prodlužuje jejich trvanlivost a jejich užívání může mít příznivé účinky na lidské zdraví, neboť snižuje pravděpodobnost vzniku srdečně-cévních chorob a některých typů rakoviny. Mezi přírodní aditiva s antioxidačními účinky patří esenciální oleje a výtažky z rostlin a bylin (Bakkali a kol., 2008; Burt, 2004; Holley a Patel, 2005). Nejvíce studovanými přírodními antimikrobiálními látkami využívanými v potravinářství jsou výtažky z rozmarýnu (*Rosmarinus officinalis*), oregana (*Origanum glandulosum*), hřebíčku (*Syzygium aromaticum*), tymiánu (*Thymus vulgaris*), citrusových a bobulovitých plodů (Corbo a kol., 2008).

Hlavním cílem této práce bude zjistit vliv vybraných přirozených aditivních antioxidantů na sensorické vlastnosti a průběh biochemických, mikrobiálních, oxidačních/antioxidačních procesů na filetech pstruha duhového (*Oncorhynchus mykiss*) ve srovnání s kontrolou, která nebude ošetřena žádnou aditivní látkou. Analýzy, které budou použity pro posouzení kvality rybích filetů: mikrobiologické, sensorické, oxidační a změny textury a barvy svaloviny. Veškerá práce bude probíhat v Laboratoři výživy a ve Fakultní zpracovně ryb a rybích výrobků UAOV FROV JU České Budějovice.

Rozsah grafických prací: **dle potřeby (do 10 stran)**

Rozsah pracovní zprávy: **30 - 50 stran**

Forma zpracování bakalářské práce: **tištěná**

Seznam odborné literatury:

Alasalvar, C., Shanhidi, F., Miyashita, K., Wanasundra, U., 2011. Handbook of Seafood Quality, Safety and Health Applications. Willey-Blackwell, Ltd. 576 pp.

Bakkali, F., Averbeck, S., Averbeck, D., Idaomar, M., 2008. Biological effects of essential oil - a review. Food and Chemical Toxicology 46, 446 - 475.

Burt, S., 2004. Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods - a review. International Journal of Food Microbiology 94, 223 - 253.

Corbo, M.R., Speranza, B., Fillippone, A., Granatiero, S., Conte, A., Sinigaglia, M., Del Nobile, M.A., 2008. Study on the synergic effect of natural compounds on microbial quality decay of packed fish hamburger. International Journal of Food Microbiology 127, 261 - 267.

FAO (Food and Agricultural Organization), 2005. Post-harvest changes in fish. In: FAO Fisheries and Aquaculture Department, Rome, Italy.

<http://www.fao.org/fishery/topic/12320/en>. Navštíveno 25. září 2015.

Holley, R.A., Patel, D., 2005. Improvement in shelf-life and safety of perishable foods by plant essential oils and smoke antimicrobials. Food Microbiology 22, 273 - 292.

Grau, R., Sánchez, A.J., Girón, J., Iborra, E., Fuentes, A., Barat, J.M., 2011. Nondestructive assessment of freshness in packaged slice chicken breasts using SW-NIR spectroscopy. Food Research International 44: 331 - 337.

Nollet, L.M.L., Toldra, F., 2010. Seafood and Seafood Product Analysis. CRC Press. Boca Raton, 928 pp.

Sivertsvik, M., Jeksrud, W.K., Rosnes, J.T., 2002. A review of modified atmosphere packaging of fish and fishery products-significance of microbial growth, activities and safety. International Journal of Food Science and Technology 37, 107 - 127.

Vedoucí bakalářské práce: **Mgr. Zuzana Linhartová, Ph.D.**

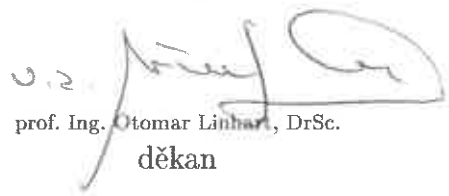
Ústav akvakultury a ochrany vod

Konzultant bakalářské práce: **Ing. Roman Lunda**


Ústav akvakultury a ochrany vod

Datum zadání bakalářské práce: **14. prosince 2016**

Termín odevzdání bakalářské práce: **4. května 2018**

0.2

prof. Ing. Otomar Linhart, DrSc.
děkan

L.S.


Ing. Jan Mráz, Ph.D.
ředitel

Ve Vodňanech dne 14. prosince 2016

Obsah

1. Úvod	9
2. Literární rešerše	10
2.1 Pstruh duhový	10
2.2 Charakteristika rybí svaloviny	11
2.2.1 Chemické složení rybí svaloviny	11
2.3 Senzorické vlastnosti a jejich určení.....	14
2.4 Skladovatelnost rybího masa a možnosti jejího prodloužení.....	16
2.4.1 Snížení teploty	16
2.4.2 Tepelné zpracování	16
2.5 Postmortální změny v rybí svalovině.....	17
2.5.1 Autolytické změny	17
2.5.2 Mikrobiální rozklad	18
2.6 Přírodní extrakty ovlivňující senzorické vlastnosti a prodloužení skladovatelnosti. 18	
2.6.1 Působení antioxidantů.....	19
2.6.2 Formy a výskyt přírodních antioxidantů.....	19
2.6.3 Použití antioxidantů	20
2.6.4 Inolens 4.....	20
3. Materiál a metodika	22
3.1 Testované ryby.....	22
3.2 Použitá aditiva.....	22
3.3 Metodika	22
3.3.1 Příprava pokusných ryb	22
3.3.2 Mikrobiologické analýzy	24
3.3.3 Senzorické analýzy	25
3.3.4 Oxidační analýzy	25

3.3.5 Měření barvy	26
3.3.6 Vyhodnocení výsledků	27
4. Výsledky	28
4.1 Mikrobiologické analýzy	28
4.2 Senzorické analýzy	29
4.3 Oxidační analýzy	33
4.4 Měření barvy.....	34
4.5 Shrnutí.....	36
5. Diskuze	37
6. Závěr	40
7. Přehled použité literatury	41
8. Abstrakt	47
9. Abstract	48

1. Úvod

Tato práce se zabývá vlivem přírodních extraktů na sensorické vlastnosti a prodloužení skladovatelnosti masa pstruha duhového (*Oncorhynchus mykiss*). Hlavní záměr práce je zkoumat zejména rozmarýnový extrakt a pokusit se dokázat díky jeho vhodné aplikaci na filety prodloužení skladovatelnosti a zlepšení sensorických vlastností a prokázat tak potenciál dalšího přírodního extraktu, který by mohl být využit místo syntetických antioxidantů.

Záměrně byl pro výzkum zvolen pstruh duhový, jelikož je oblíbený pro chutné maso a je řazen mezi gastronomicky významné sladkovodní druhy. Navíc ryby tvoří důležitou složku lidské potravy, jelikož obsahují velké množství zdraví prospěšných látek, které slouží jako prevence proti několika typům rakoviny, artritidě, kardiovaskulárním a zánětlivým onemocněním (Dungel a Řehák, 2011; Lund, 2013; Sampels a kol., 2014).

Za posledních 50 let se konzumace ryb na osobu zdvojnásobila a i díky rostoucímu množství lidí ve světě je tedy poptávka mnohem větší (FAO, 2016a). V České republice se však konzumace ryb pohybuje stále pouze okolo 5,5 kg ryb na osobu za rok (ČSÚ, 2016). Díky vysoké produkci kapra obecného (88,4 %) zaujímá celková produkce lososovitých ryb na našem území pouhých 3 %. Ve skutečnosti se jedná ročně zhruba o 670 tun (Ženíšková a Chalupa, 2016). Světová produkce pstruha duhového vzrostla od padesátých let exponenciálně. V současné době se ročně vyprodukuje kolem 813 000 tun. Na tom mají značný podíl významní producenti a zároveň největší exportéři Norsko a Chile. Neopomíjenými producenty jsou také Francie, Itálie, Dánsko, Německo a Španělsko (FAO, 2017).

V dnešní době má zákazník mnoho možností výběru, kde nakupovat. Pro získání konkurenční výhody je nutné, aby byla ryba co nejlépe připravena k prodeji. Při výběru je nejprve zákazník ovlivněn vzhledem, vůní a případně i texturou ryby. Následně hodnotí i chuť (Bourne, 2002). Také trvanlivost je důležitým aspektem, a ta, jak je známo, není příliš vysoká. Je tedy na místě prodloužení skladovatelnosti za použití správného přístupu od šetrného zacházení až k vhodnému uskladnění. Ke zvolení vhodných prostředků je nutné se seznámit s rozkladnými procesy a dalšími riziky zkracující trvanlivost. V postmortálním stádiu na rybu působí mnoho jevů. Hlavní z nich jsou autolytický a mikrobiální rozklad. Některé faktory trvanlivosti lze však ovlivnit ještě v živém stádiu ryb (Halver a Hardy, 2002; Vácha, 2013).

2. Literární rešerše

2.1 Pstruh duhový

Pstruh duhový, řazený do čeledi lososovitých ryb, se podle Gerstmaiera a Romiga (2003) vyznačuje zejména podlouhlým, z boků zploštělým tělem, které je započato středně velkou tupě zakončenou hlavou. Na ní se vyskytují v poměru k hlavě velká ústa končící u zadního okraje oka. Obvyklá délka těla se pohybuje v rozmezí od 25 do 50 cm (výjimečně až 70 cm) o hmotnosti do 7 kg.



Obr. 1: Pstruh duhový (*Oncorhynchus mykiss*) (foto autor)

Tento druh se velmi osvědčil jak pro konzum díky kvalitě masa, tak pro sportovní rybolov, díky své dravosti. Ve srovnání s ostatními lososovitými rybami je vhodnější pro umělý odchov (Gerstmaier a Romig, 2003). Vystačí si s menším prostorem, zvládá nasycení kyslíkem od $6 \text{ mg}\cdot\text{l}^{-1}$, snáší krátkodobě i vyšší teploty kolem $25 \text{ }^\circ\text{C}$ a nevádí mu ani mírný zákal vody (Pokorný a kol., 1998). Dobře se adaptuje na granulovaná krmiva a do tržní velikosti se dá odchovat zhruba za 12 – 18 měsíců, kdy dosahuje hmotnosti 280 – 400 g. Optimální velikost ryb se však v celosvětovém měřítku mění. Pstruzi produkovaní na trh v USA mívají hmotnost 450 – 600 g, v Evropě 1 – 2 kg, v Kanadě, Chile, Norsku, Švédsku a Finsku 3 – 5 kg. Preference v barvě masa se z globálního hlediska také liší. USA upřednostňují bílé maso, ale Evropa a další části světa dávají předost růžovému masu (FAO, 2017; Gerstmaier a Romig, 2003).

Ideální podmínky jsou proudné vody s nasycením kyslíkem od $9 - 11 \text{ mg}\cdot\text{l}^{-1}$ a teplotě $14 - 17 \text{ }^\circ\text{C}$ (Pokorný a kol., 1998). Přírozenou potravu tvoří bentos (larvy hmyzu), náletový hmyz, žížaly a drobné rybky, ve stojatých vodách pak většinou plankton (Hanel a Lusk, 2005).

2.2 Charakteristika rybí svaloviny

Rybí svalovina tvoří tzv. aktivní složku pohybového aparátu. U ryb jsou známy tři typy svaloviny, a to svalovina hladká, příčně pruhovaná kosterní a příčně pruhovaná srdeční (Baruš a Oliva, 1995).

Trup je tvořen svalovinou příčně pruhovanou, která je navíc dělená na segmenty. Jednotlivé části se nazývají myomery a zaujímají tvar písmene „M“. Mezi nimi se nachází vazivové přepážky zvané myosepty (Baruš a Oliva, 1995). Významnou vazivovou přepážkou je *septum horizontale* na bocích rozdělující svalovinu trupu a ocasu na ventrální a dorzální část (Kardong, 2009; Saxena a Saxena, 2008).

Největší a nejdůležitější je tzv. boční sval (*musculus lateralis major*). I tento sval je dělen na myomery a myosepta a jeho hlavní funkcí je pohyb (Dvořák a kol., 2014)

2.2.1 Chemické složení rybí svaloviny

Ryby, stejně tak jako další živočichové, přijímají potravu se záměrem uspokojení jejich energetických potřeb. Pro dobrý růst ryb musí potrava obsahovat adekvátní energetický zdroj, aminokyseliny, mastné kyseliny, vitaminy a minerály. Lososovité ryby jsou poikiloternní, tudíž jejich metabolismus je ovlivněn teplotou vody. Zároveň je snižena metabolická poptávka pro udržení tělesné teploty. Další výhodou života ve vodním prostředí je snížená potřeba energie na pohyb a bezproblémového vyloučení odpadního amoniaku přímo do vody. Proto je jejich využití energie a proteinů efektivnější než u pozemských zvířat (Smith, 1989).

Zastoupení látek je v těle ryb a savců stejné. U všech najdeme proteiny, lipidy, sacharidy, minerální látky a hlavně vodu. Chemické složení se ale velmi liší, a to jak mezi skupinou ryb a savců, tak i mezi samotnými druhy v rámci skupin (Vácha, 2013). Rozdíly v zastoupení jednotlivých látek a energie jsou ovlivněny typem a množstvím potravy, pohlavním dozráváním spojeným s výtěrem a též například migrací. Tyto projevy jsou viditelné hlavně u mořských ryb (Faria, 1984). Hardy (1989) uvádí jako další možné aspekty k ovlivnění chemického složení ryb rozdílný věk, pohlaví, roční období a místo výskytu.

2.2.1.1 Voda

Hlavní složku rybí svaloviny tvoří voda. V rybí filetě se množství pohybuje okolo 80 %. V závislosti na druhu ryby se hodnota může pohybovat v rozmezí 30 – 90 %. Voda

se u živých ryb pevně váže na protein a nemůže být vyloučena ani při vysokém tlaku. Po zmrazení či delším chlazení se tato schopnost vytrácí, což negativně ovlivňuje kvalitu rybího masa (FAO, 2001).

2.2.1.2 Proteiny

Významné zastoupení mají ve svalech bílkoviny (proteiny). Množství se pohybuje obvykle mezi 15 až 20 % (FAO, 2001). Jak zjistila Rudkowska a kol. (2010) a Pilon a kol. (2011), rybí proteiny pozitivně působí na lidské zdraví a je dosti možné, že se podaří dokázat jejich léčebnou významnost podobnou jako u rybích lipidů.

Vácha (2013) dělí proteiny podle funkce a výskytu do 3 kategorií: strukturální, sarkoplazmatické a pojivových tkání. Z celkového množství zaujímají zhruba 70 – 80 % proteiny strukturální (aktin, aktomyozin, myozin a tropomyozin). Ty jsou důležité pro pohyb svalů. Jejich struktura se podle podmínek prostředí mění. Při vysušování masa (např. během zmrazování nebo chlazení) dochází ke změně rozpustnosti myofibrilárních proteinů. U aplikování velkého množství soli nebo vysoké teploty dochází k denaturaci, tedy k nevratné změně (Vácha a kol., 1998). Sarkoplazmatické proteiny (globulin, myoalbumin a enzymy) tvoří 25 – 30 % všech proteinů. Většina z nich jsou enzymy napomáhající buněčnému metabolismu. Poslední složkou, která tvoří pouhých 3 %, jsou proteiny pojivových tkání, ke kterým řadíme kolagen. Fyzikální a chemické vlastnosti těchto proteinů jsou odlišné podle tkání, ve kterých se vyskytují. Množství kolagenu a jeho typ má vliv na pohybovou aktivitu ryb a s tím i související texturu svaloviny (Vácha, 2013).

Všechny proteiny jsou tvořeny řetězci z přibližně 20 aminokyselin spojených dohromady vytvářející jednu dlouhou molekulu (Wilson a Halver, 1986). Aminokyseliny jsou naprosto nezbytné pro udržení dobrého zdravotního stavu. Není však důležitá pouze jejich přítomnost, ale též poměr, aby byla výživa plně využita. Esenciální aminokyseliny, nazývané lysin a methionin, se obecně nacházejí ve vysokých koncentracích v rybích bílkovinách, na rozdíl například od proteinů z obilovin. Rybí bílkovina poskytuje dobrou kombinaci aminokyselin, která je velmi vhodná pro lidské výživové potřeby a dokáže se vyrovnat hodnotám, které poskytuje vepřové, drůbeží i hovězí maso, mléko a vejce (FAO, 2001).

2.2.1.3 Lipidy

Lipidy jsou u ryb základní složkou energie, čímž se odlišují od suchozemských obratlovců, kteří využívají zejména sacharidy (Helfman a kol., 1997). Dále jsou u ryb významné tím, že jsou důležitým zdrojem esenciálních mastných kyselin a rozpouštějí vitamíny A, D, E, K (Henderson a Tocher, 1987).

Lipidy obsažené v rybách jsou velmi důležité hlavně pro jejich konzumenty, jelikož obsahují polynenasycené mastné kyseliny (PUFA), které jsou zdrojem pro omega-3 a omega-6 mastné kyseliny významně napomáhající správnému chodu organismu. Velice známé jsou kyselina dokosahexanová (DHA) a eikosapentaenová (EPA). Ty slouží jako významný zdroj právě omega-3 mastných kyselin. Omega-3 mastné kyseliny, respektive jejich produkty, významně zlepšují stav imunitního systému a centrální nervové soustavy, podporují růst a vývoj a působí pozitivně proti kardiovaskulárním chorobám a zánětům. Naopak prozánětlivé účinky mají omega-6 mastné kyseliny čímž se zvyšuje například bolest nebo horečky (Calder, 2001; Sargent a kol., 2002).

Vácha (2013) uvádí, že oba typy mastných kyselin jsou však pro lidský organismus důležité, ale je potřeba dbát na správný poměr těchto látek. Poměr omega-3 ku omega-6 by se měl pohybovat v rozmezí od 1 : 1 až 1 : 4. Díky tomu se dá lehce určit, proč je v České republice tak vysoký výskyt kardiovaskulárních chorob, jelikož poměr českého konzumenta je v průměru 1 : 40 ve prospěch omega-6 mastných kyselin.

Jak nám v doplnění těchto zdravích prospěšných látek napomůže pstruh duhový, uvádí Zajíc a kol. (2011). EPA + DHA je u pstruha duhového ve svalovém tuku zastoupeno 25,2 %. Suma omega-3 masných kyselin je 33,2 % a omega-6 mastných kyselin 8 %. Poměr omega-3 ku omega-6 je tedy 4,2.

2.2.1.4 Sacharidy

Sacharidy jsou v rybí svalovině zastoupeny pouze v malém množství. Nejsou příliš důležitou energetickou složkou, což je vyvoditelné i ze špatné schopnosti ryb sacharidy trávit (Fänge a Grove, 1979).

2.2.1.5 Vitamíny

Vitamíny jsou důležité pro správné fungování organismu. Pro ryby je důležité přijímat vitamíny či provitamíny v potravě (jak rostlinné, tak živočišné), protože nejsou schopny

si je vytvořit, tedy kromě vitamínu C. Nedostatek ale i nadbytek vitamínů se projevuje zhoršením zdravotního stavu (Spurný, 2000).

Ryby jsou pro člověka významným zdrojem vitamínu D. Zanedbatelné nejsou ani vitamíny A, E, K, B₆ a B₁₂. Jejich množství je ale ovlivněno druhem ryb, jejich potravou a zpracováním (Matila a kol., 1995; Lu a kol., 2007; Halver, 2002).

2.2.1.6 Minerální látky

Santosh (2002) uvádí, že ryby jsou známy svým poměrně vysokým obsahem vápníku a fosforu. Naopak sodíku nalezneme v rybí svalovině málo.

Množství zmíněných a některých dalších minerálů v rybí svalovině shrnuje FAO (2001) v tabulce 1 uvedené níže.

Tab. 1: Shrnutí a hodnoty majoritních minerálů v rybí svalovině (FAO, 2001)

Prvek	Průměrná hodnota [mg/100g]	Rozsah hodnot [mg/100g]
Vápník	79	19 – 881
Fosfor	190	68 – 550
Sodík	72	30 – 134
Draslík	278	19 – 502
Hořčík	38	5 – 452
Síra	191	130 – 257
Chlor	197	3 – 761

Minerály ryby přijímají potravou, kůží a přes žábry. Slouží jako stavební látky pro kosti a ovlivňují mnoho fyziologických funkcí v těle organismu jako například osmoregulaci nebo dýchání. Stejně tak jako u vitamínů vede jejich nedostatek nebo špatný poměr ke zhoršení zdravotního stavu (Spurný, 2000)

2.3 Senzorické vlastnosti a jejich určení

Senzorická analýza je spjata se dvěma pojmy – organoleptický a sensorický. Pojem organoleptický se užívá ve smyslu, kdy podněty působí na receptory. Vzruchy z těchto receptorů jsou nervovými vlákny přenášeny do centrální nervové soustavy, kde se následně vyvolá počitek, který je zpracován a porovnán s dosavadními zkušenostmi. Tím se vytváří vjem. Ve spojitosti s vjemy užíváme pak pojem sensorický (Pokorný, 1997).

Buňka a kol. (2010) definují, že sensorické vlastnosti se určují prostřednictvím analýzy hodnocení potravin, kdy jednotlivé vlastnosti dané potraviny určí naše smysly (zrak, čich, chuť, hmat a případně i sluch) za spolupráce s centrálním nervovým systémem.

Nejdůležitější smysly pro sensorickou analýzu jsou chuť a čich, jelikož jejich funkci nelze spolehlivě nahradit žádnou chemickou ani fyzikální metodou. Navíc právě chuť a vůně patří spolu s konzistencí a vzhledem ke čtyřem hlavním znakům sensorické jakosti potravin. Zákazník se podle těchto vjemů a dosavadních zkušeností rozhoduje, zda zakoupit, či nezakoupit produkt. Navíc je to dáno i ze samotné podstaty přežití člověka, kdy již v dávných dobách smysly napomáhaly před pozřením například jedovaté či zkažené a tudíž nebezpečné potraviny (Ingr a kol; 1993; Pokorný, 1997).

Bourne (2002) tvrdí, že konzument se při výběru ryb rozhoduje podle čtyř kritérií:

1. Organoleptické vlastnosti masa ryb: sem patří vzhled (tvar, velikost, barva, lesk), chuť společně s vůní (komplexní vnímání označované jako příchut') a texturu, která je vnímána především hmatem při doteku s potravinou a někdy i sluchem například při křupavosti.

2. Čerstvost: ta je hodnocena několika provázanými faktory (mikrobiologický stav, stupeň oxidace, výskyt biogenních aminů). Hodnotí se tedy pokročilost procesu kažení.

3. Nutriční parametry: zde jsou zahrnuty makronutrienty (proteiny, sacharidy, lipidy a voda) a mikronutrienty (vitamíny, minerální látky, vláknina, ...)

4. Hygienická kvalita: hodnocení podle výskytu a koncentrace cizorodých látek

Vácha (2013) zmiňuje několik principů nejpoužívanějších metod sensorického hodnocení. Jednoduchou metodou je rozlišovací metoda, kam se řadí párová nebo trojúhelníková zkouška. Běžné a mezinárodně standardizované jsou pořadové metody nebo hodnocení srovnáním se standardem. Nejčastější jsou však hodnocení s použitím stupnic, kde se hodnotí například podle kvality, intenzity, příjemnosti apod. Sem patří kategorové ordinální stupnice a grafické stupnice. Při tomto testování se rozlišuje i intenzita jednotlivých pocitů a chutí jako například nesladké, málo sladké, velmi sladké.

2.4 Skladovatelnost rybího masa a možnosti jejího prodloužení

Z ryb můžeme připravit mnoho chutných pokrmů, ale musí se brát v potaz, že trvanlivost není tak vysoká jako u většiny jiných druhů masa. Právě naopak ryby podléhají rychlému kažení a stávají se tedy z přínosného produktu až produktem zdraví nebezpečným. Během zpracování, přepravování a skladování vyžadují tedy zvláštní péči, aby se podařilo udržet jejich kvalitu a trvanlivost a zabránilo se tak plýtvání. Pro splnění těchto kritérií je v dnešní době používáno několik metod. Účinné způsoby jsou snížení teploty (chlazení a zmrazování), tepelné zpracování (konzervování, vaření, uzení), snížení množství vody (sušení, solení, uzení) nebo změny uskladnění (balení, chlazení). Ryby lze také přepravovat živé nebo naopak již ve formě nějakého výrobku (FAO, 2016b)

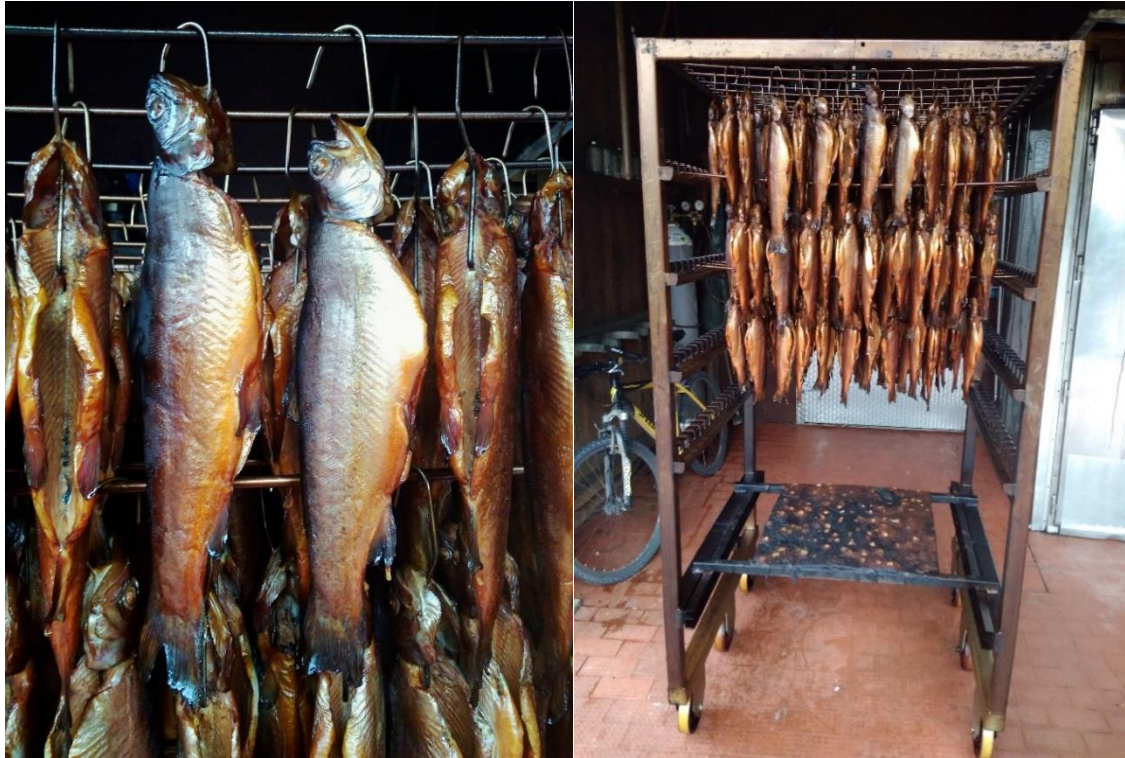
2.4.1 Snížení teploty

Na mikrobiologickou a enzymatickou aktivitu nejmarkantněji působí teplota. Je dobře známo, že tato aktivita se dá snížit nízkou teplotou. Spousta bakterií přestává růst, když teplota klesne pod 10 °C a zejména pak pod 0 °C. Mikrobiální rozvoj je hlavní příčinou kažení ryb a výrobků z nich. Z toho tedy vyplývá, že skladovatelnost se dá prodloužit při nízké teplotě a navíc je matematicky a vědecky podloženo, že s nižší teplotou se doba skladovatelnosti prodlužuje. Pro větší zefektivnění chlazení byl vynalezen způsob tzv. superchlazení, což je metoda, při které se provede nástřík předchlazené vody na ryby, čímž se na povrchu těla vytvoří slabá vrstvička ledu zabraňující styku chlazené ryby s prostředím. Stále je využívána i klasická metoda, kdy jsou ryby zakryty ledem. Led zajišťuje chlad po celé ploše těla a navíc díky jeho odtávání se udržuje vlhký povrch ryb, což brání dehydratování a s tím spojenou ztrátu hmotnosti (Vácha, 2013).

Další možností je zmrazení. To sebou nese ale několik nevýhod. Při procesu zmrazování dochází k dehydrataci, narušení buněčných komponent a krevního řečiště. Navíc po následném rozmrazení se snižuje obsah glykogenu a naopak se zvyšuje obsah laktátu a koncentrace Ca^{2+} kolem myofibril. Také se dočasně zvýší tuhost masa a riziko oxidační degradace masa (Fauconneau a kol., 2002).

2.4.2 Tepelné zpracování

Mezi nejstarší metody prodlužující trvanlivost ryb patří uzení. Účinek konzervace je u tohoto způsobu poměrně malý a je založen zejména na částečném odpaření vody a omezení činnosti mikroorganismů (Vácha, 2013).



Obr. 2: Uzený pstruh duhový (*Oncorhynchus mykiss*) na háčích a na udírenském stojanu (foto autor)

Cardinal a kol. (2001) uvádí, že uzení je nejen k prodlužování trvanlivosti, ale též k pozitivnímu ovlivnění organoleptických vlastností, ale v tomto případě jsou ryby často předem nasoleny.

V současné době jsou nejčastěji užívány 2 typy uzení – studeným kouřem a teplým kouřem. Uzení studeným kouřem má sice výhodu v dosažení požadované chuti se sníženými náklady, ale teplota uzení pohybující se obvykle pod třiceti stupňů není dostatečná pro zahubení mikroorganismů. Naopak metoda uzení teplým kouřem účinně odstraňuje mikroorganismy a zaručuje i dobrou chuť. Probíhá za teploty okolo osmdesáti stupňů a nejčastěji se používá tvrdé, zejména dubové dřevo nebo piliny (Arvanitoyannis a Kotsanopoulos, 2012; Vácha, 2013).

2.5 Postmortální změny v rybí svalovině

2.5.1 Autolytické změny

Autolýza neboli proces samovolného rozkladu je jev, který se objevuje s okamžikem usmrcení ryby. Tyto změny nastávají díky enzymatickému působení na lipidy, bílkoviny a uhlohydráty (Halver a Hardy, 2002). Ačkoliv se jedná o rozklad, který se projevuje

zejména negativním vlivem na texturu masa a ztrátou vody, nedochází k vzniku pachuti či zápachu (Hansen a kol., 1996). To, jakou rychlostí se bude kažení rozvíjet, se dá ovlivnit různými způsoby. Důležité je po usmrcení ryby co nejdříve odstranit vnitřnosti, jelikož působení trávicích enzymů v zažívacím traktu se může rychle negativně promítnout na samotné svalovinu. Dalším faktorem je teplota. Bylo prokázáno, že nejvyšší enzymatická činnost se u ryb pohybuje při cca 20 °C. Je tedy vhodné ryby co nejrychleji zchladit (Vácha, 2013).

Celý proces je doprovázen třemi fázemi posmrtného tuhnutí (*rigor mortis*). Díky zastavení přísunu kyslíku (O₂) se spotřebovává adenosintrifosfát (ATP) a naopak se uvolňuje Ca²⁺. Tím se uvolní vazebná místa na aktinu a dojde k ztuhnutí. Zdroj glykogenu sloužící k tvorbě ATP se také vyčerpá, čímž dojde k nárůstu kyseliny mléčné, a tím tedy ke snížení pH. U ryb je však snížení pH nepatrné, nedochází tedy k dostatečnému okyselení, které by mohlo efektivně bránit mikrobiálnímu rozkladu (Sampels a kol., 2014).

2.5.2 Mikrobiální rozklad

Každá syrová potravina podléhá rozkladu díky tlaku mikroorganismů. Rybí svalovina je ze své podstaty sterilní, což se ale nedá říct o kůži (hlenu), žábrách a zažívacím traktu, které bakteriemi naopak oplývají a svalovinu kontaminují (Arias, 2009; Halver a Hardy, 2002). Na rozvoji mikroorganismů se také podílí ve srovnání se savci vyšší procentuální obsah vody v rybí svalovinu. Navíc se u ryb projevuje výskyt většího spektra bakterií. K tomu dochází díky možnému širšímu působení teplot (obvykle 0 – 40 °C).

Vliv na výskyt a druhovou rozmanitost mikroorganismů má podle Ariase (2009) geografická poloha, kvalita a teplota vody, roční období a způsob chovu či lovu ryb. Na intenzitu jejich působení v postmortálním stavu ryb a při jejich zpracování má následně vliv pH, kyslík, původní zastoupení mikroflóry, způsob, teplota a doba skladování a kuchyňská úprava (Lucera a kol., 2012).

2.6 Přírodní extrakty ovlivňující senzorické vlastnosti a prodloužení skladovatelnosti

Hudson (1990) a Velíšek (2000) uvádí, že spontánní reakce mezi masem a atmosférickým kyslíkem způsobuje mnoho degradačních procesů (například žluknutí

tuků) negativně ovlivňujících trvanlivost produktu. Zejména pak rybí maso je díky značnému obsahu vysoce nenasycených mastných kyselin (HUFA) a n-3 PUFA velmi ovlivněné touto degradací (Medina a kol., 2009). Ke zpomalení těchto procesů napomáhají přírodní antioxidanty, které jsou sice přítomné prakticky ve všech potravinářských komoditách, ale při jejich zpracování jsou většinou vyčerpány. Dochází k tomu buď fyzicky, chemickou degradací nebo z povahy samotného procesu bez přičinění člověka. V zájmu výrobce i konzumenta je prodloužit trvanlivost. Toho lze dosáhnout zkombinováním přírodních produktů obsahujících antioxidanty s potravinou, u které chceme oddálit kažení (Hudson, 1990). Kromě přírodních antioxidantů existuje samozřejmě mnoho syntetických, ale ty jsou podle Vrbové (2008) díky tlaku zákazníka na ústupu.

2.6.1 Působení antioxidantů

Přírodní antioxidanty jsou velmi rozmanité a jejich výskyt je v různých rostlinách od kořenů až po plody. Navíc se jejich působení projevuje již při velmi nízkých koncentracích a krátkodobé aplikaci. Jejich vlastnosti jako je barva, vůně a chuť mohou negativně či pozitivně ovlivnit organoleptické vlastnosti výsledného produktu. Nicméně je prokázáno, že mají pozitivní vliv na lidské zdraví, jelikož redukují škodlivé účinky volných radikálů, které způsobují například arteriosklerózu, poškozují ledvinové, mozkové a srdeční buňky, narušují genetickou informaci a imunitní systém a podporují stárnutí. Přírodní antioxidanty také ovlivňují krevní tlak a hodnotu glukózy v krvi. Prokázáno bylo i protizánětlivé, antimikrobiální a protinádorové působení (Škeříková a kol., 2004; Madhavi a kol., 1995).

2.6.2 Formy a výskyt přírodních antioxidantů

Přírodní antioxidanty se vyskytují v mnoha formách jako například vitaminy (vitamin A, C, E, cholin), karotenoidy (alfa-karoten, beta-karoten, gama-karoten, lykopen, lutein, kapsantin, zeaxantin, kryptoxantin), minerály (zinek, selen,...). Jsou ve velkém množství v rostlinách, ale cíl mají stejný – boj proti volným radikálům a jejich oxidativním účinkům (Passwater, 2002; Jordán a Hemzalová, 2001).

Mezi potraviny bohaté na přírodní antioxidanty můžeme zařadit například lesní plody, byliny a koření, ovoce, zeleninu a další (Jordán a Hemzalová, 2001).

Mezi lesní plody s antioxidantními účinky patří borůvky, jahody, maliny, brusinky. Zejména pak borůvka má vysoký antioxidantní účinek díky vysokému obsahu kyseliny

askorbové (25,2 mg ve 100 g), lykopenu (16,5 mg ve 100 g) a kvercetin (12,57 mg ve 100 g). Z bylin a koření jako antioxidanty poslouží rozmarýn, šalvěj, máta peprná, oregano, kopr či tymián. Z ovoce pak třešně, rozinky, hrozny, jablka, broskve, švestky, blumy, citrusy nebo kiwi. Opomenout bychom neměli hlavně pomeranč díky významnému množství rutinu (168 mg ve 100 g) a kyseliny askorbové (58,51 mg ve 100 g). V rámci zeleniny patří k nejvýznamnějším paprika a špenát, jelikož u obou je hodnota lykopenu 250 mg ve 100 g a kyseliny askorbové přes 50 mg ve 100 g. Neměl by se opomenout ani česnek, cibule, listová zelenina, zelí, brokolice, kapusta, růžičková kapusta, sladké brambory, červená řepa, mrkev, hrách, řeřicha nebo tykev (Hiemer a kol., 2007; Jordán a Hemzalová, 2001).

2.6.3 Použití antioxidantů

Antioxidanty jsou u masných výrobků používány podle toho, zda jsou rozpustné ve vodě nebo v tucích. Dále se musí stanovit vhodná koncentrace roztoku a způsob aplikace. V současné době se provádí přidání patřičné látky do krmiva nebo přímo na maso v postmortálním stavu během zpracování (Tanabe a kol., 2002; Ucak a kol., 2011). Pro dosažení efektivního výsledku prodloužení skladovatelnosti se většinou použití antioxidantů kombinuje s dalšími způsoby skladování (chlazení, mrazení, modifikovaná atmosféra, vakuování...) (Sampels a kol., 2014).

2.6.4 Inolens 4

Inolens 4 je extrakt z rozmarýnu, který je možné užívat jako přírodní antioxidant. Obecně se u extraktů z rozmarýnu řeší problém, že silně zapáchají a mají hořkou chuť, což by bylo těžce slučitelné s nějakou potravinou bez ztráty zájmu zákazníka. Pro vyřešení tohoto problému bylo provedeno mnoho pokusů na mnoha různých rostlinách rozmarýnu. Jako vhodné řešení se vybraly ty rostliny, které obsahují malé množství esenciálních olejů, čímž se sníží zápach. Díky tomu je možné tento extrakt zvaný Inolens 4 používat jak v kombinaci s mnoha potravinami, tak i například v kosmetických produktech. Vzhledem k tomu, že je tato látka rozpustná v olejích, je její využití vhodné pro oleje s PUFA či n-3 mastnými kyselinami vyskytující se právě v rybách (Hadolin Kolar, 2008).



Obr. 3: Rozmarýn (foto autor)

3. Materiál a metodika

Bakalářská práce je zaměřena na „Vliv přírodních extraktů na senzorycké vlastnosti a prodloužení skladovatelnosti masa pstruha duhového“. Práce proběhla ve spolupráci Fakulty rybářství a ochrany vod na Jihočeské univerzitě v Českých Budějovicích (FROV JU), Ústav akvakultury a ochrany vod. Projekt byl zaměřen na zkoumání zemědělských plodin využitelných jako přírodní antioxidanty (pro prodloužení skladovatelnosti) a zdraví prospěšné látky přidávané do potravin.

Celý pokus byl založen na prvotním vypracování rešerše o přírodních látkách s antioxidačními účinky, které jsou vhodné pro použití v kombinaci s rybami a produkty z nich. Z vypracované rešerše byl vybrán Inolens 4 (přírodní extrakt z rozmarýnu). Poté se nakoupil veškerý potřebný materiál k provedení pokusu a před samotným pokusem se zvolily vhodné testovací koncentrace Inolensu 4. Ty byly určeny na základě senzoryckého testu na rybí svalovinu.

3.1 Testované ryby

Pro tento pokus byly použity čerstvé ryby druhu pstruh duhový (*Oncorhynchus mykiss*) o hmotnosti v rozmezí 0,25 – 0,35 kg, které byly zakoupeny v podniku Lesy a rybníky města České Budějovice s.r.o.

3.2 Použitá aditiva

Inolens 4: přírodní rozmarýnový extrakt

Výrobce: Vitiva d.d. (Slovinsko)

Složení: tekutina - extrakt z rozmarýnu klasifikovaný jako potravní aditivum (antioxidant) v souladu s EU Regulation 1333/2008

Aplikace: doporučené dávkování 20 ml·l⁻¹

Testované koncentrace: 5, 10 a 20 ml·l⁻¹

3.3 Metodika

3.3.1 Příprava pokusných ryb

Během nákupu bylo vybráno 50 kusů ryb o tržní velikosti v rozmezí 0,25 – 0,35 kg a kvalitě odpovídající pokusu. Na samotný pokus bylo následně vybráno 40 nejlepších kusů. Ryby byly dovezeny do budovy ZR spadající pod FROV. Zde proběhlo jejich

zvážení a poté usmrcení standartním způsobem: omrácením úderem tupým předmětem do temena hlavy a přeříznutím žaberních oblouků pro celkové vykrvení ryby. Ryby se zpracovávaly po skupinách (10 ryb na skupinu). Po usmrcení přišlo na řadu rozříznutí břišní dutiny od řitního otvoru k hlavě pro vyjmutí vnitřních orgánů. Následovalo odříznutí hlavy a pečlivá filetace vhodně nabroušeným filetovacím nožem, která pro dosažení co nejpodobnější kvality a výtěžnosti byla prováděna jedním člověkem. Takto získané filety byly důkladně omyty pitnou vodou.

Jednotlivé filety byly označeny dle levé/pravé (LF/RF) filety ryb a dle ředění extraktu Inolens 4: a) kontrola (bez přídavku aditiva), b) Inolens 0,5 %, c) Inolens 1,0 % a d) Inolens 2,0 %. V nerezových nádobách byla provedena desetiminutová koupel filet v příslušných ředěních. Poté následovalo pětiminutové okapání na rošttech. U kontroly se prováděla koupel pouze ve vodě.



Obr. 4: Filety po koupeli umístěné na roštu (foto Zuzana Linhartová)

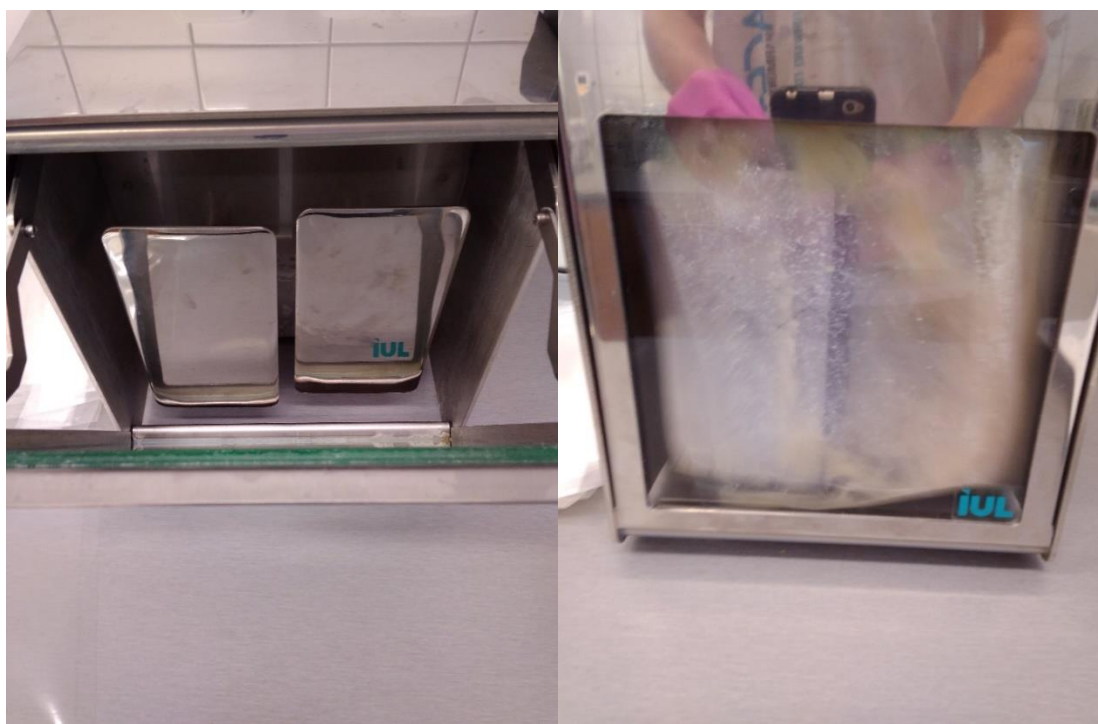
Z každé filety se následně odkrojilo 5 g svaloviny a zamrazilo (- 80 °C) pro další analýzy. Následovalo přidělení čísla každé filetě a skupině, vakuové zabalení do vakuových sáčků a umístění do chladicího zařízení. V pravé lednici byly ponechány pravé filety (určeny pro mikrobiologickou analýzu svaloviny), v levé lednici byly levé

filety (určeny na senzoricou analýzu svaloviny a analýzu barvy). Skladování v lednicích probíhalo při teplotě 4 ± 1 °C.

Značení uvedeno na příkladu: LF1I1 (left fillet number of fish 1; inolnes; concentracion 1 %) 1 skupina dle skladování a zpracování, 1 aditivum se 3 ředěními a C0 (kontrola bez aditiv) - 10 ryb na skupinu, dohromady 40 ryb na celý experiment.

3.3.2 Mikrobiologické analýzy

K mikrobiologické analýze byly použity pravé filety. První analýza byla provedena v den zpracování (0. den). Další analýzy se uskutečnily 6., 8. a 10. den skladování. Na počátku se 10 g filety navážených na analytických vahách vložilo společně s v odměrném válci odměřenými 90 ml peptonové vody (0.1 % peptone water, Sigma-Aldrich, Praha, Česká Republika) do speciálního umělohmotného sáčku s filtrem, čímž jsme získali ředění 10^{-1} . Tento sáček byl vložen na 90 sekund do stomachru IU 500, jehož funkcí je nasimulování mechanického trávení žaludku, čehož se docílí pomocí 2 pohyblivých ramen, a tím bylo dosaženo potřebného zhomogenizování vzorku.



Obr. 5: Stomacher před použitím (vlevo) a v akci (vpravo) (foto autor)

Následně se pipetou odebral vzniklý přefiltrovaný roztok a byl podroben druhému ředění (1 ml již ředěného roztoku a 9 ml peptonové vody). Každý vzorek měl 3 ředění (3 opakování). Každé ředění bylo krátce promícháno na vortexu a poté se odebral 1 ml

na Petriho misku. Petriho misky byly předem označeny pro příslušné ředení. Po aplikaci se každý roztok zalil předeřhřátým PCA (Plate Count Agar) agarem v množství 20 ml. Agar se nechal několik minut tuhnout. Takto připravené misky byly umístěny dnem vzhůru do inkubátoru na dobu 72 hodin při teplotě 30 °C. Po této době byly na všech miskách spočítány bakterie tvořící kolonie (TVC – Total Viable Counts) a přepočteny na logaritmus jednotek tvořících kolonie na gram ($\log \text{CFU} \cdot \text{g}^{-1}$).

3.3.3 Senzorické analýzy

Senzorické analýzy byly prováděny na levých filetách. Stejně jako mikrobiologická analýza byla i tato provedena 0., 6., 8. a 10. den skladování. Testované byly filety v uvařeném i syrovém stavu a otestovány deseti proškolenými hodnotiteli senzorických vlastností z FROV. Ti byli jednotlivě rozmístěni v předem připravených kójkách, kde měli nachystané vzorky ryb, archy pro zaznamenávání svých hodnocení a rohlík se sklenicí vody pro neutralizování chuti mezi jednotlivými degustacemi. Zanesení výsledků mohl každý udělat podle svého uvážení. Nikdo nebyl nijak ovlivňován a ani limitován časem. Hodnocení vařeného a syrového masa probíhalo zvlášť, aby nedocházelo k ovlivnění hodnotitelů různými pachy. U vařeného masa se hodnotila vůně, chuť, pachů a konzistence. Jednotlivé parametry byly hodnoceny přiřazením bodu ve 100 mm hédonické stupnici (0 mm = velmi dobrá čerstvá kvalita; 100 mm = zkažená kvalita). U syrového masa se hodnotila textura, vůně, barva a celková přijatelnost pro zákazníka, a to hodnotami 1 – 5 (5 = nejlepší kvalita; 1 = nepřijatelná kvalita ke konzumaci). Jako standard byly používány 2 filety, které se uskladnily navíc a byly zmrazeny hned v den 0. Pro žádný vzorek nebyla použita žádná dochucovadla. Všechny výsledky byly následně zpracovány a statisticky vyhodnoceny.

3.3.4 Oxidační analýzy

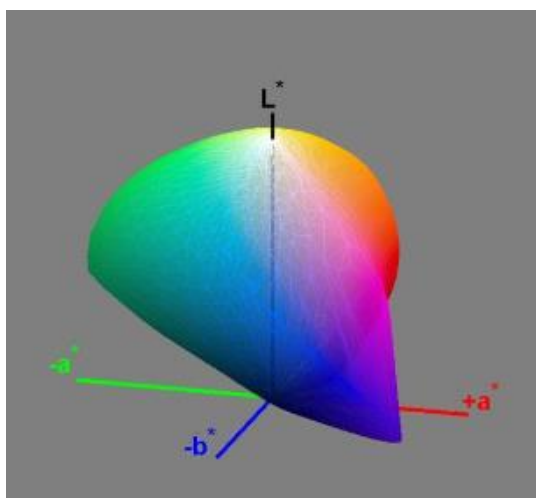
Testování oxidační analýzy lipidů probíhalo 0., 8., 10. a 14. den skladování za pomoci metody Thiobarbituric acid reactive substances (TBARS), což je metoda zkoumající zabarvení způsobené reakcí jednoho ze sekundárních produktů lipidové peroxidace, který reaguje s kyselinou 2-thiobarbiturovou (TBA). Tato kyselina reaguje s malondialdehydem (MDA) za vzniku barevného komplexu, který je následně vyhodnocen na spektrofotometru.

Pro tuto metodu byly vyhrazeny vzorky, které byly uskladněny v -80 °C právě pro tuto analýzu. Vzorky se po vyjmutí z mrazícího zařízení nechaly krátce při pokojové

teplotě rozmrznout. Vždy byl nejprve na analytických vahách navážen 1 g svaloviny, k němu se přidalo 0,2 ml butylovaného hydroxytoluenu (BHT) a 9,1 ml kyseliny trichloroctové/kyseliny trihydrogenfosforečné (TCA/H₃PO₄). Vše bylo provedeno ve dvou opakováních. Tato směs se promíchala (rozsekala) v mixéru (30 sekund). Vzniklý roztok se přefiltroval pomocí filtračního papírku do kádinky. Během filtrace byly pro každý vzorek připraveny 2 zkumavky (test, blank). Do testovací se pomocí pipety aplikovalo 1,5 ml TBA a do slepého vzorku 1,5 ml H₂O. Do každé z nich se následně přidalo 1,5 ml již přefiltrovaného vzorku. Každá řádně označená zkumavka se krátce zvortexovala a na 30 minut vložila do ohřívacího zařízení nastaveného na teplotu 85 °C. Po uplynutí stanovené doby se každý vzorek třikrát (pro eliminování odchylek) po 200 µl napipetoval do mikrotitrační destičky (96 jamek) a vložil do spektrofotometrického přístroje značky Ependorf. Absorbance byla stanovena při vlnové délce 550 nm. Výsledky byly zprůměrovány a statisticky vyhodnoceny.

3.3.5 Měření barvy

Měření barvy probíhalo u 5 filet na skupinu 0. a 7. den skladování. Využit byl barevný spektrofotomert CM-600D Konica Minolta. Toto měření bylo provedeno díky předpokladu zbarvení filety způsobené silně zeleně zbarveným rozmarýnovým extraktem a změnou barvy po 7 dnech skladování. Pro objektivnější výsledky byla fileta měřena v 5 bodech: ve 3 místech podél hřbetní části (A-přední, B-střední a C-ocasní) a 2 místech podél břišní části (D-přední a E-ocasní). Kolorimetrická data byla vyhodnocena metodou CIE L^* - parametr měrné světlosti určující zda se jedná o tmavou nebo světlou barvu, a^* - osa s barvami od zelené po červenou a b^* - osa s barvami od modré po žlutou.



Obr. 6: Zobrazení barevného spektra pro metodu CIE (Hunt, 1998)

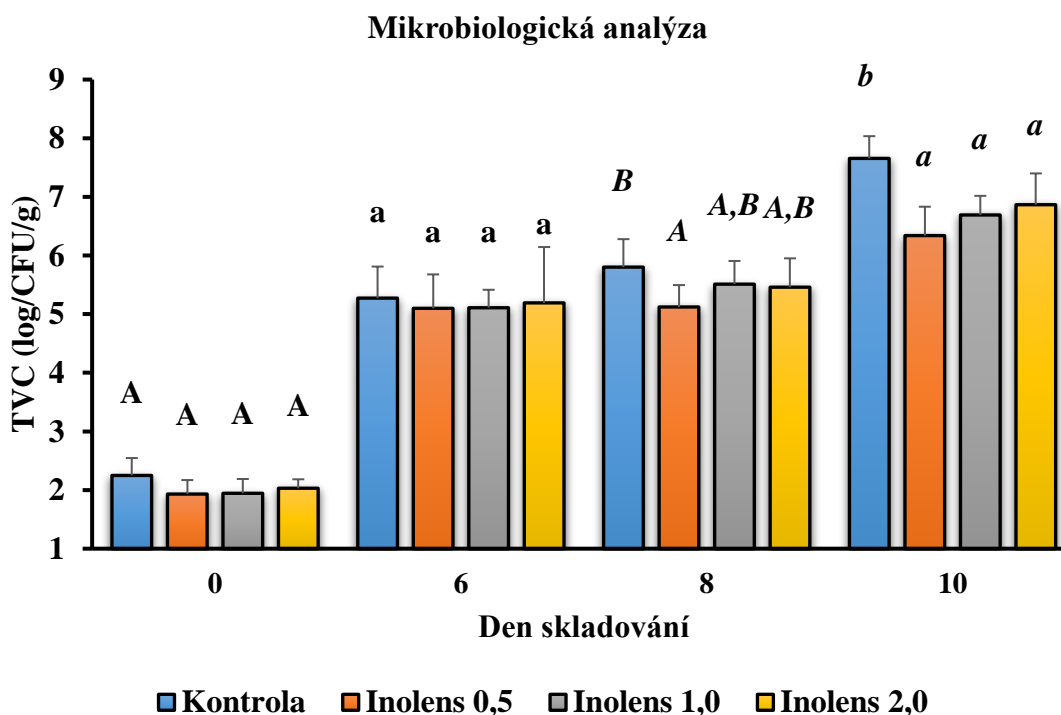
3.3.6 Vyhodnocení výsledků

Veškeré výsledky ze všech analýz byly průběžně zaznamenávány, následně patřičným způsobem zpracovány a nakonec vyhodnoceny v softwarovém programu Statistika 12 CZ. Ze všech podkladů bylo následně vypracováno finální vyhodnocení podložené grafickým znázorněním.

4. Výsledky

4.1 Mikrobiologické analýzy

Výsledky mikrobiologické analýzy jsou vyjádřeny jako $\log \text{CFU} \cdot \text{g}^{-1}$, tedy jako dekadický logaritmus kolonií tvořící jednotky. Hodnoty pro jednotlivé dny jsou vyobrazeny v grafu č. 1. Z grafu můžeme vyčíst, že počet mikroorganismů je rostoucí s přibývajícím dnem. Hned na samotném počátku pokusu (0. den) se získané hodnoty pohybovaly v rozmezí $1,93 - 2,25 \log \text{CFU} \cdot \text{g}^{-1}$. 6. den měření už byly naměřeny hodnoty značně vyšší, konkrétně od $5,10$ do $5,27 \log \text{CFU} \cdot \text{g}^{-1}$. O dva dny později vrostly hodnoty na rozmezí $5,12 - 5,80 \log \text{CFU} \cdot \text{g}^{-1}$. K překročení přípustné hranice ke konzumaci sladkovodních ryb, která je stanovena na $7 \log \text{CFU} \cdot \text{g}^{-1}$, došlo až 10. den. Vyšší hodnoty byly zjištěny u kontroly ($7,66 \pm 0,42 \text{CFU} \cdot \text{g}^{-1}$). Hodnoty pro Inolens 0,5; 1,0 a 2,0 vykazovaly hodnoty pod $7 \log \text{CFU} \cdot \text{g}^{-1}$ a byly tudíž stále vhodné ke konzumaci.



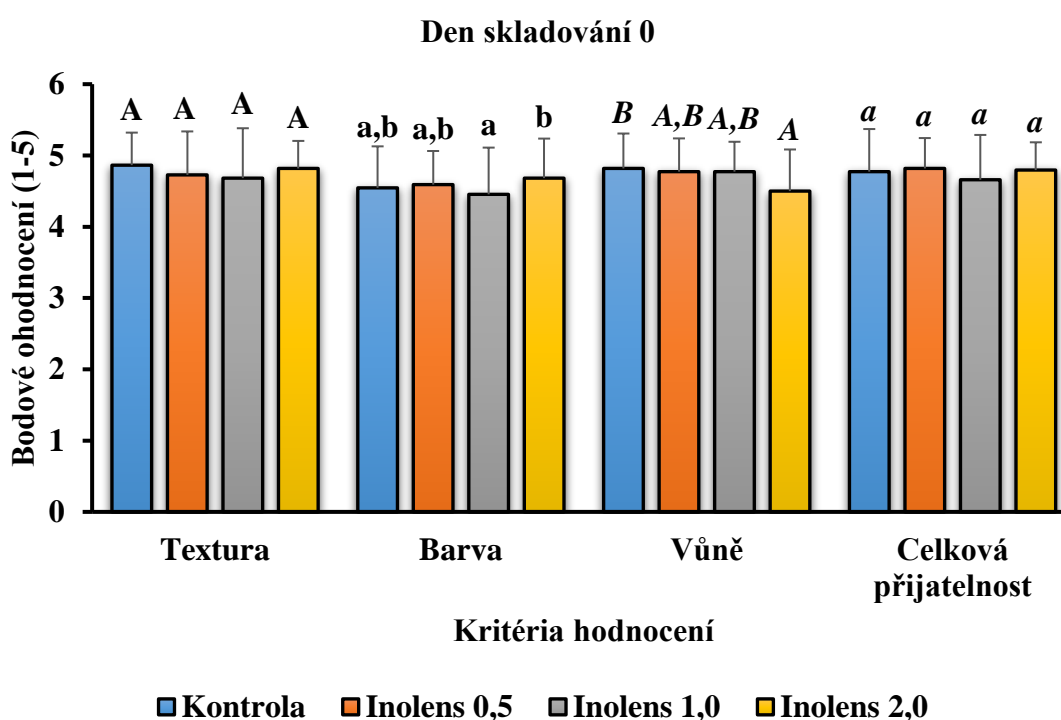
Graf č. 1: Nárůst TVC ($\log \text{CFU/g}$) pro kontrolu a 3 skupiny Inolensu o různém ředění v závislosti na době skladování

Předpokladem tohoto zkoumání bylo, že při použití rozmarýnového extraktu Inolens 4 bude dosaženo prodloužení trvanlivosti. Tento předpoklad se naplnil.

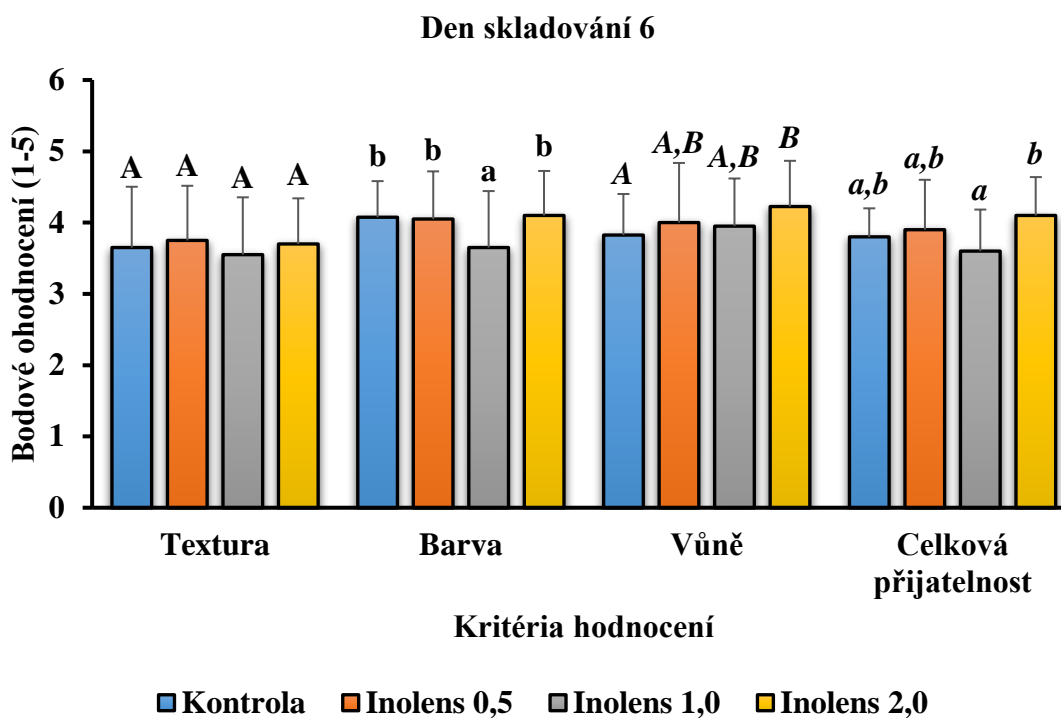
4.2 Senzorické analýzy

Tato analýza byla rozdělena na 2 oblasti: jaký byl vývoj u syrových filet a u vařených filet z hlediska organoleptických vlastností.

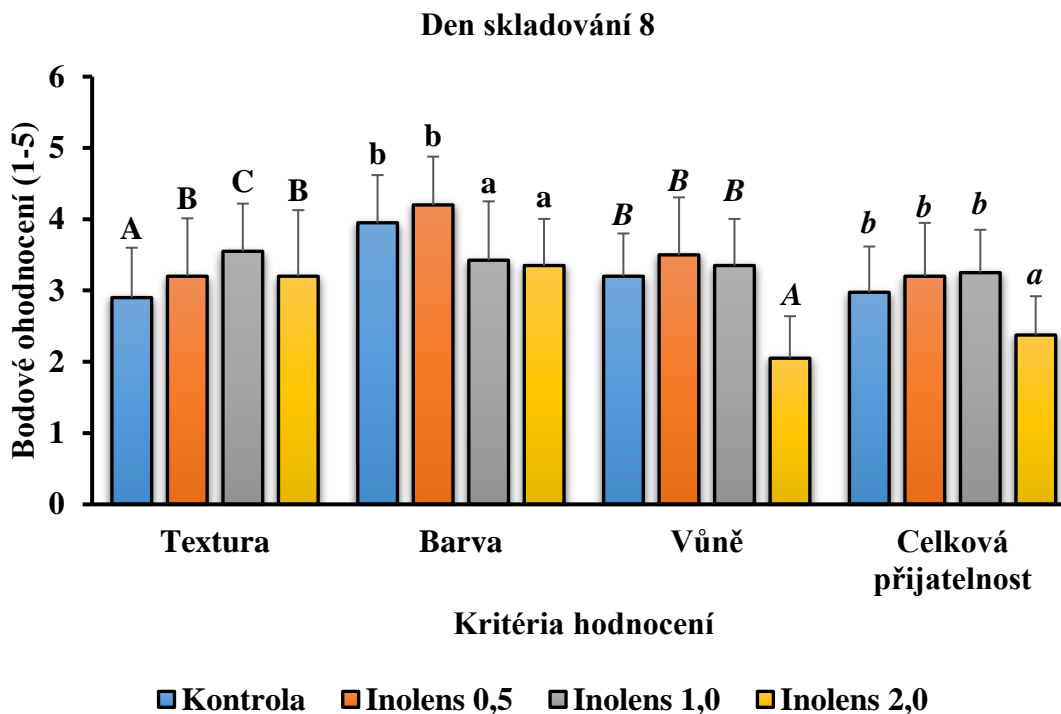
Nejprve začneme u syrových filet, kde byla hodnocena textura, vůně, barva a celková přijatelnost, a to na základě bodového ohodnocení (1 – 5 bodů), kde nejvyšší kvalita je ohodnocena nejvíce body. Stejně tak jako u mikrobiologické analýzy byl první pokus u sensorické analýzy proveden již v den zpracování ryb (0. den). Z výsledků v grafu č. 2 je možné vyčíst, že v den 0 všechny parametry byly s velmi vysokým ohodnocením dosahující téměř maximálního množství bodů. V 6. den pokusu už byly výsledky hodnocení o něco horší. Nejnižší průměrnou hodnotu 3,55 bodů získala textura u Inolensu 1,0, naopak nejvyšší 4,23 bodů bylo uděleno za vůni u Inolensu 2,0. Do 8. dne došlo k bodovému poklesu v celkovém hodnocení u všech vzorků (2,38 – 3,25 bodů). Překvapivě nejnižší průměrná hodnota připadla na vůni u Inolensu 2,0, kde při předchozím hodnocení (6. den) dostala naopak hodnocení nejvyšší. 10. den se bodové ohodnocení podle očekávání opět snížilo a celkově bylo v intervalu 2,30 (Inolens 2,0) – 2,88 (Inolens 1,0).



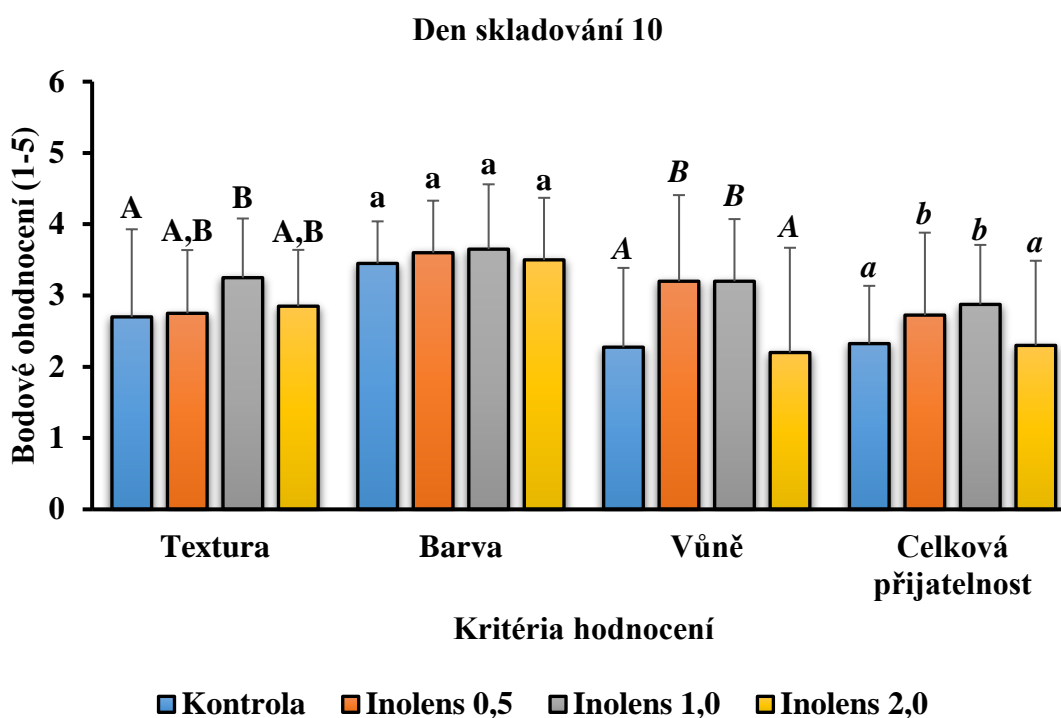
Graf č. 2: Bodové ohodnocení textury, barvy, vůně a celkové přijatelnosti u syrových filet u kontroly a filet s použitím Inolensu 0,5; 1,0; 2,0 v den skladování 0



Graf č. 3: Bodové ohodnocení textury, barvy, vůně a celkové přijatelnosti u syrových filet u kontroly a filet s použitím Inolensu 0,5; 1,0; 2,0 v den skladování 6



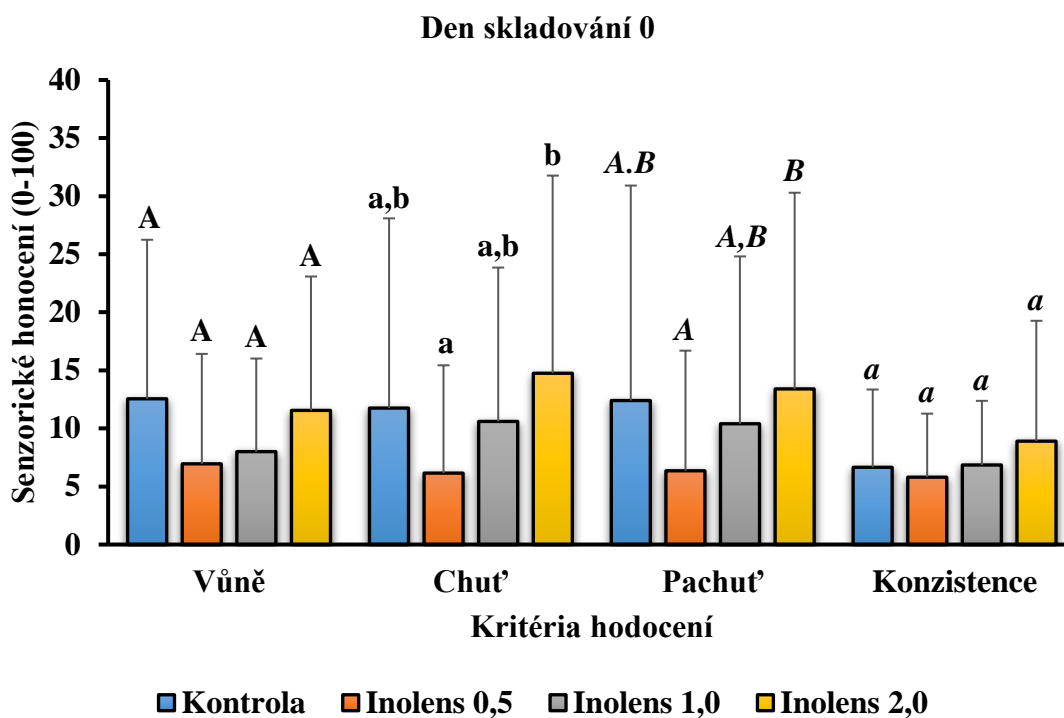
Graf č. 4: Bodové ohodnocení textury, barvy, vůně a celkové přijatelnosti u syrových filet u kontroly a filet s použitím Inolensu 0,5; 1,0; 2,0 v den skladování 8



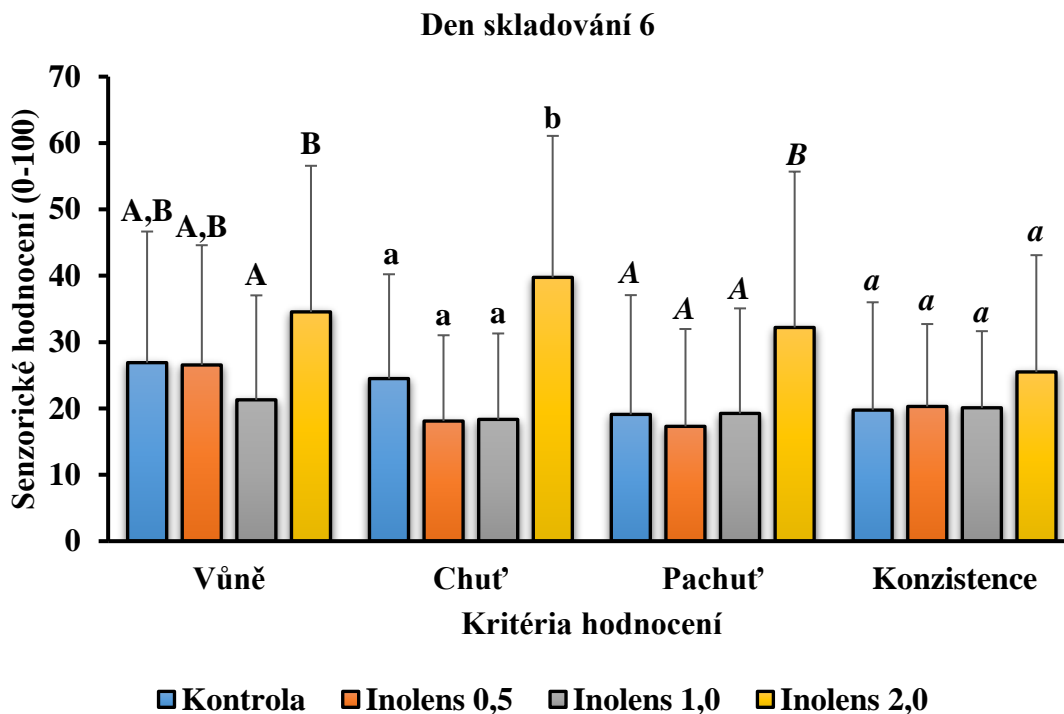
Graf č. 5: Bodové ohodnocení textury, barvy, vůně a celkové přijatelnosti u syrových filetu u kontroly a filetu s použitím Inolensu 0,5; 1,0; 2,0 v den skladování 10

Druhá část senzorycké analýzy je zaměřena na vařené filety. U nich se hodnotila vůně, chuť, pachut' a celková přijatelnost, a to podle přidělení bodu v 100 mm hédonické stupnici, kde 0 odpovídá nejlepšímu výsledku a 100 nejhoršímu. Pokus byl naplánován na 0., 6., 8. a 10. den, ale 10. den z hlediska bezpečnosti konzumenta bylo testování zrušeno. Z celkového grafického přehledu (Graf č. 6 – 8) je vidět, že všechny parametry jsou níže hodnocené (= vysoká kvalita), a to zejména v den 0, kdy žádný nepřekračuje hodnotu 15,47. Nicméně takové hodnocení bylo docela předpokládáno. 6. den už je patrné významné zhoršení kvality, kde nejnižší počet bodů je u pachuti (17,30 – Inolens 0,5) a naopak nejvyšší u chuti (39,75 – Inolens 2,0). V den 0 a 6 má téměř vždy nejhorší výsledky ve všech kategoriích Inolens 2,0. 8. den už jsou špatné výsledky u kontroly a Inolensu 2,0. Inolens 0,5 téměř ve všech kategoriích a dnech dosahuje nejlepších výsledků. V desátý den se průběh očekával úměrně narůstající podle přechozích dní, ale jak již bylo zmíněno výše, z hlediska bezpečnosti byl pokus zrušen.

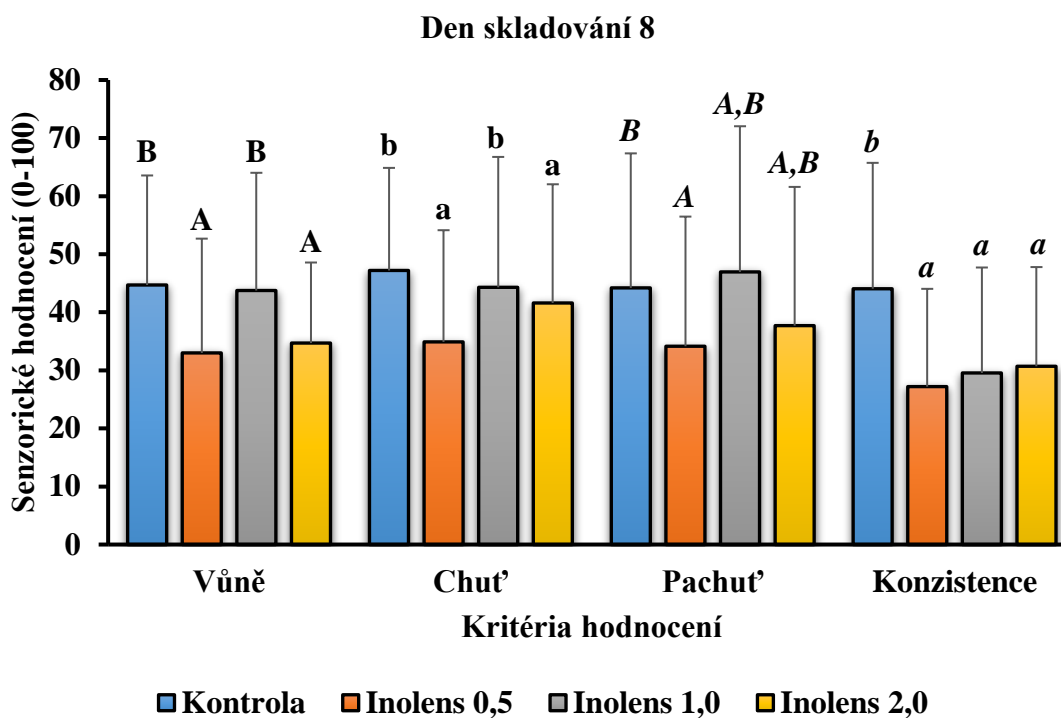
U grafického znázornění je záměrně zvolena odlišná maximální hodnota osy y u všech tří grafů pro lepší orientaci v rozdílech mezi jednotlivými hodnotami.



Graf č. 6: Bodové ohodnocení vůně, chuti, pachuti a konzistence u vařených filet u kontroly a filet s použitím Inolensu 0,5; 1,0; 2,0 v den 0



Graf č. 7: Bodové ohodnocení vůně, chuti, pachuti a konzistence u vařených filet u kontroly a filet s použitím Inolensu 0,5; 1,0; 2,0 v den 6



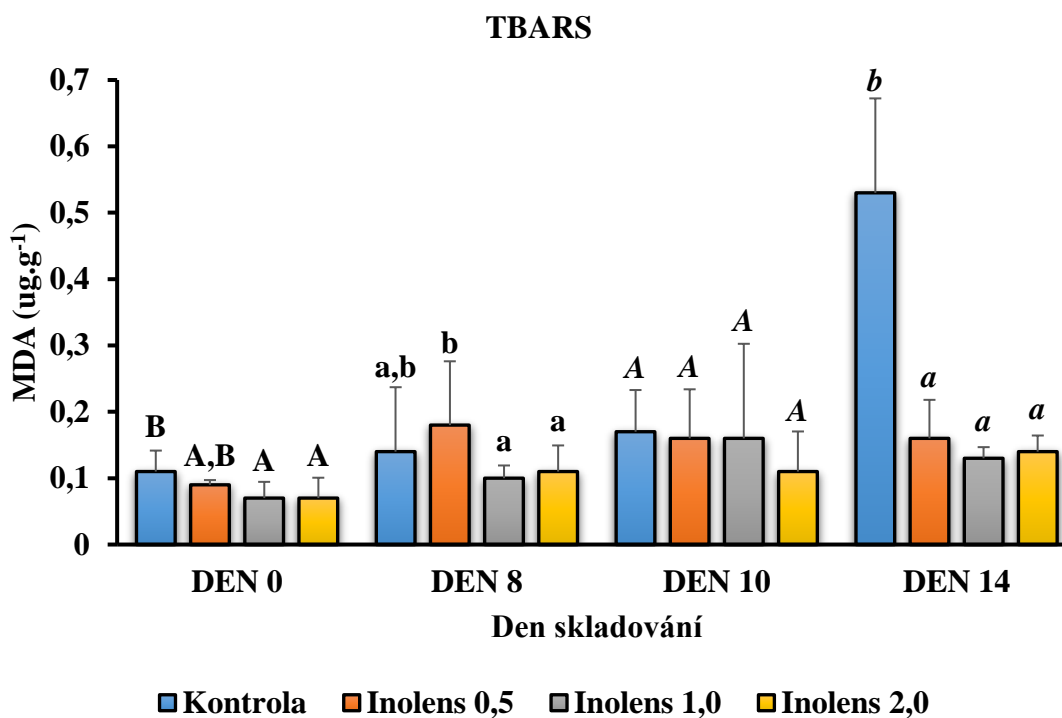
Graf č. 8: Bodové ohodnocení vůně, chuti, pachuti a konzistence u vařených filet u kontroly a filet s použitím Inolensu 0,5; 1,0; 2,0 v den 8

Z celkového hodnocení můžeme říct, že Inolens 0,5 a 1,0 během skladování dosáhly nejlepších výsledků během sensorické i mikrobiologické analýzy.

4.3 Oxidační analýzy

U oxidační analýzy byl vysledován rostoucí trend s významnými rozdíly mezi kontrolou a vzorky s Inolensem a to zejména v posledních dnech pokusu. Podrobněji jsou výsledky zmíněny níže.

V prvním testovacím dni se u TBARS analýzy u kontrolní skupiny ($0.11 \pm 0.03 \mu\text{g MDA g}^{-1}$) projevily výsledky znatelně vyšší než u skupin Inolens 1,0 ($0.07 \pm 0.02 \mu\text{g MDA g}^{-1}$) a Inolens 2,0 ($0.07 \pm 0.02 \mu\text{g MDA g}^{-1}$). Výsledky TBARS během skladování rostly a dosáhly významně větších ($p > 0,05$) hodnot v kontrole ($0.53 \pm 0.14 \mu\text{g MDA g}^{-1}$) než u všech koncentrací Inolensu ($0.13 - 0.16 \mu\text{g MDA g}^{-1}$). Nejnižší TBARS hodnota byla získána ze skupiny obsahující Inolens.



Graf č. 9: Výsledky spektrofotometrického vyhodnocení oxidativních procesů lipidů v závislosti na čase

4.4 Měření barvy

Měření barvy probíhalo na 5 místech na filetě (A – E) za pomoci metody CIE, kde L^* znamená světlost (lightness), a^* osa zelená až červená a b^* osa modrá až žlutá. Díky tomuto zobrazení v prostoru můžeme každé barvě přiřadit určitou souřadnici, což nám umožňuje jednotlivé barvy porovnávat. Pokud bychom chtěli různé dvě barvy porovnávat, stačí pouze vypočítat vzdálenost daných 2 souřadnic. Pro naše zkoumání postačilo pouze vyhodnotit, jakým směrem se naše souřadnice pohybují, tedy jak se barvy a jejich světlost mění v závislosti na čase.

Výsledky jednoznačně potvrdily, že filety ze všech skupin během skladování zesvětlaly, nepatrně zčervenaly a zežloutly. Naplnil se i předpoklad, že silně zelený extrakt z rozmarýnu ovlivní barvu svaloviny u skupiny Inolensu 2,0 v den 0. Výsledky u Inolensu 0,5 a 1,0 byly podobné kontrolnímu vzorku. Také se zjistilo, že zelené zbarvení rozmarýnového extraktu časem vyprchává, a tudíž nemá negativní vliv na zbarvení filet, což nám potvrdily výsledky ze 7. dne skladování, kdy a^* hodnoty u skupiny Inolensu 2,0 převyšovaly hodnoty téhož ředění z dne 0 a stejně tak u kontroly v 7. den skladování.

Všechny výsledky k porovnání jsou včetně možných odchylek zaznamenány v tabulkách číslo 2 (výsledky z 0. dne) a 3 (výsledky ze 7. dne).

Tab. 2: Naměřená kolorimetrická data (v 5 bodech na filetě A – E) u 4 experimentálních skupin (kontrola; Inolens 0,5; Inolens 1,0 a Inolens 2,0) hodnocených podle CIE L^* - světlost (lightness), a^* - červenost (osa zelená – červená) a b^* - žlutost (osa modrá - žlutá) v 0. den skladování

		Jednotlivé skupiny testované v 0. den			
Parametry	Pozice	Kontrola	Inolens 0,5	Inolens 1,0	Inolens 2,0
L^*	A	54.04 ± 2.17	55.71 ± 3.59	56.85 ± 3.84	55.44 ± 1.41
	B	54.12 ± 3.37	54.02 ± 4.78	55.29 ± 2.00	53.84 ± 1.93
	C	53.56 ± 3.90	52.44 ± 3.51	54.27 ± 0.93	54.28 ± 5.22
	D	59.51 ± 1.93	62.97 ± 3.14	60.51 ± 1.88	55.89 ± 1.86
	E	55.80 ± 1.78	55.38 ± 3.20	52.58 ± 2.26	52.20 ± 2.65
a^*	A	-2.76 ± 0.72	-2.78 ± 0.53	-2.69 ± 0.40	-3.39 ± 0.29
	B	-2.41 ± 0.57	-2.36 ± 0.55	-2.18 ± 0.24	-2.80 ± 0.44
	C	-1.99 ± 0.67	-1.54 ± 0.78	-2.02 ± 0.47	-2.19 ± 0.46
	D	-1.82 ± 1.26	-1.61 ± 0.56	-2.38 ± 0.35	-2.51 ± 0.55
	E	-1.48 ± 0.51	-1.03 ± 0.46	-1.04 ± 0.37	-1.50 ± 0.55
b^*	A	6.63 ± 2.54	6.38 ± 2.94	6.69 ± 2.44	6.55 ± 1.58
	B	6.88 ± 2.15	6.68 ± 2.12	8.45 ± 0.91	6.99 ± 0.42
	C	7.84 ± 2.31	8.82 ± 3.31	8.27 ± 0.80	8.85 ± 1.90
	D	11.18 ± 1.36	10.92 ± 1.02	9.94 ± 1.20	9.65 ± 2.07
	E	7.18 ± 2.96	8.62 ± 0.88	7.02 ± 1.45	7.08 ± 0.47

Tab. 3: Naměřená kolorimetrická data (v 5 bodech na filetě A – E) u 4 experimentálních skupin (kontrola; Inolens 0,5; Inolens 1,0 a Inolens 2,0) hodnocených podle CIE L^* - světlost (lightness), a^* - červenost (osa zelená – červená) a b^* - žlutost (osa modrá - žlutá) v 7. den skladování

		Jednotlivé skupiny testované v 7. den			
Parametry	Pozice	Kontrola	Inolens 0,5	Inolens 1,0	Inolens 2,0
L^*	A	56.54 ± 2.05	57.40 ± 2.31	58.95 ± 3.3	57.70 ± 1.95
	B	55.81 ± 2.03	56.35 ± 3.96	58.73 ± 3.61	55.22 ± 0.86
	C	56.26 ± 2.67	57.45 ± 3.86	57.20 ± 3.20	54.83 ± 2.18
	D	62.25 ± 1.62	61.90 ± 1.94	63.06 ± 2.53	57.32 ± 1.88
	E	53.89 ± 1.12	53.38 ± 3.82	55.31 ± 4.72	52.67 ± 3.00
a^*	A	-2.55 ± 0.94	-2.23 ± 0.82	-2.78 ± 0.59	-2.41 ± 0.27
	B	-1.95 ± 1.07	-1.79 ± 0.91	-2.19 ± 0.32	-1.91 ± 0.29
	C	-1.90 ± 0.85	-1.43 ± 0.78	-2.08 ± 0.28	-1.65 ± 0.35
	D	-2.15 ± 1.03	-1.63 ± 1.42	-2.59 ± 0.20	-1.84 ± 0.93
	E	-0.91 ± 0.53	-0.65 ± 1.08	-1.20 ± 0.56	-0.80 ± 0.64
b^*	A	8.25 ± 2.63	8.09 ± 2.34	8.25 ± 0.84	6.61 ± 0.76
	B	8.50 ± 2.36	8.27 ± 2.49	9.09 ± 1.06	5.81 ± 0.65
	C	9.61 ± 3.02	10.03 ± 2.25	7.94 ± 1.21	6.96 ± 0.24
	D	10.86 ± 2.18	11.11 ± 1.04	11.26 ± 1.06	8.99 ± 1.39
	E	8.45 ± 2.56	8.67 ± 1.65	8.78 ± 1.68	7.36 ± 0.76

4.5 Shrnutí

Výsledky z celé studie prokázaly, že působení přírodního antioxidačního rozmarýnového extraktu Inolens 4 při všech zvolených koncentracích (0,5; 1,0 a 2,0 %) se projevilo efektivně jako inhibitor oxidace lipidů. Dále se prokázalo zpomalení negativního chemického působení ve svalovině ryb a oddálení a snížení intenzity nástupu růstu mikroorganismů. Také hodnoty z testování barvy prokazovaly relativně pozitivní výsledky, jež při nižších koncentracích Inolensu nevykazovaly významnou změnu. I hodnotitelé pro sensorickou analýzu označili nižší koncentrace Inolensu u syrové i vařené filety obdobně jako kontrolu.

Z celkových výsledků se dá Inolens 4 označit jako hodnotný antioxidant, který bez významně znatelných změn na rybí svalovině může při vhodném skladování v chladicím zařízení a při zavakuování umožnit skladovatelnost přes 10 dní, což je prokazatelně více než u kontroly.

5. Diskuze

Ze všech naměřených hodnot je patrné, že výsledky pokusu, kde byly jednotlivé filety podrobeny lázni rozmarýnového extraktu (zejména u koncentrací 0,5 a 1,0 %), dopadly pozitivně. Podobný pokus provedl Gao a kol. (2014), který také aplikoval rozmarýnový extrakt přímo na filety. Nicméně jako testovaný druh ryby zvolil vidlatku skvrnitou (*Trachinotus ovatus*) a extrakt o koncentraci 0,2 % aplikovaný na 30 minut. V mikrobiologické analýze zjistil, že až do šestého dne nedošlo ke statisticky významnému rozdílu ($p \geq 0,05$) mezi vzorky s extraktem a kontrolou. Devátý den však vzorky kontroly vykazaly oproti rozmarýnovému extraktu rapidní zhoršení ($6,54 \pm 0,31 \log \text{CFU} \cdot \text{g}^{-1}$), ale teprve dvanáctý den došlo u kontroly k překročení bezpečného limitu pro konzumaci ($7 \log \text{CFU} \cdot \text{g}^{-1}$), což nejen opět potvrdilo pozitivní vliv rozmarýnového extraktu, ale zároveň poukázalo na věrohodnost našich výsledků díky podobnému vývoji. V souladu s našimi výsledky byly i ty od Li a kol. (2012), kteří studovali účinek 2% extraktu z rozmarýnu na karasovi stříbřitém (*Carassius carassius*), na němž mikrobiální zhoršení bylo zpožděno asi 5 dní. Jiang a kol. (2011) zjistili, že rozmarýnový extrakt má silnou antibakteriální účinnost proti grampozitivním i gramnegativním bakteriím. Také Emir Coban a Ozpolat (2013a) uvádějí, že extrakt z rozmarýnu je účinný při snižování růstu bakterií. Mahmoud a kol. (2004) uvádí, že různé esenciální oleje celkově snížily růst aerobních, mezofilních a psychrotrofních bakterií. Podobně Oğuzhan Yildiz (2015) potvrdil, že tymiánový a rozmarýnový olej účinně potlačily růst celkové aerobní flóry. Podobné výsledky byly zaznamenány v dalších nedávných studiích (Ucak a kol., 2011; Erkan, 2012)

Trochu odlišný pokus provedl Frangos a kol. (2010), když vyzkoušeli místo rozmarýnu aplikovat na filety pstruha duhového extrakt ze soli a oreganového oleje 0,4 %. U vzorku, který zavakuovali a uskladnili při teplotě $4 \pm 0,5 \text{ }^\circ\text{C}$, se podařilo dosáhnout zpomalení mikrobiálního růstu tak značně, že překročení meze $7 \log \text{CFU} \cdot \text{g}^{-1}$ nastalo až osmnáctý den a ve srovnání s nezavakuovanou kontrolou se dosáhlo prodloužení trvanlivosti o 11 dní.

U senzoričké analýzy výsledky ukazují, že chuť a barva rozmarýnu nemá žádné negativní vlivy na senzoričké vlastnosti, ale naopak se prokázalo mírné zlepšení. Podobné výsledky v zápachu a chuti dokumentovaly Emir Çoban a Pelin Can (2013b) u uzeného pstruha duhového, kterého vyhodnotili jako rybu "dobré kvality". Oğuzhan Yildiz (2015)

zlepšil senzoričnou kvalitu uzených pstruhů duhových použitím esenciálních olejů z rozmarýnu a tymiánu. Li a kol. (2012) zlepšil chuť a strukturu pro změnu u karase stříbřitého (*Carassius carassius*) díky použití 0,2% extraktu z čajových polyfenolů a 0,2% extraktu z rozmarýnu a skladování při 4 ± 1 °C. Obdobné výsledky byly zaznamenány v dalších nedávných studiích (Ucak a kol., 2011; Erkan, 2012; Emir Çoban a Özpolat, 2013a).

Při zkoumání barevnosti filet na 5 různých místech bylo v naší studii zjištěno, že dochází k zesvětlení a mírnému zežloutnutí a zčervenání. Na začátku experimentu se projevilo i silné zbarvení Inolensu. Ve studii Tironi a kol. (2013) výtažek z rozmarýnu částečně zabránil ztrátě červené barvy ve svalovině ryby *Pseudoperca semifasciata*. Obdobné barevné proměny v závislosti na době skladování a ošetření (rozmarýnový olej 0,2; 1,0 a 2,0 %) u pstruha duhového byly zjištěny Peirettim a kol. (2012). Podobnou variabilitu a ztrátu barvy v rybí svalovině zdokumentoval Li a kol. (2012).

Při měření barevnosti svaloviny se však projeví rozdíly se studií od Gao a kol. (2014), což bylo zřejmě způsobeno nižší zvolenou koncentrací extraktu a hlavně značně odlišným druhem testované ryby.

I analýza TBARS byla ve srovnání s informacemi z podobných pokusů se srovnatelným průběhem. Na počátku testování se u kontrolní skupiny projeví výsledky znatelně vyšší než u skupin Inolens 1,0 a Inolens 2,0. Výsledky během skladování stále rostly, až nakonec výsledky kontrolního vzorku dosáhly významně větších ($p > 0,05$) hodnot v kontrole než u všech koncentrací Inolensu. K podobným výsledkům došli i Ojagh a kol. (2010) a Li a kol. (2012).

Víceméně srovnatelné výsledky týkající se antioxidačního účinku silic nebo extraktů aplikovaných u pstruha duhového zveřejnil i Emir Çoban a Özpolat (2013a). Cadun a kol. (2008) zkoumal účinek extraktu z rozmarýnu na kvalitu marinovaných hlubokomořských růžových krevet během skladování v chladničce a ukázalo se, že přidání extraktu z rozmarýnu snížilo hodnoty TBA ve srovnání s kontrolní skupinou. Také Serdaroğlu a Felekoğlu (2005) pozorovali inhibici TBA pomocí tohoto rozmarýnového a cibulového extraktu.

TBARS se vyvíjelo podobně až do čtrnáctého dne i u Gao a kol. (2014), kdy v našem případě byly hodnoty u kontroly mnohonásobně vyšší než nejvyšší hodnota vzorku

s extraktem, ale Gao a kol. (2014) měl výsledky během patnáctého dne u kontroly také vyšší, ale pouze lehce přes 10 % než rozmarýnový extrakt.

Hernández a kol. (2014) provedl pokus poněkud odlišněji, a to tak, že rozmarýnový extrakt aplikoval přímo do krmiva, ale následně též prováděl jednotlivé analýzy na filetech. Testovanou rybou byl mořan zlatý (*Sparus aurata*). I přes odlišný způsob aplikace bylo dosaženo úspěchu. Nejlépe se osvědčila dávka extraktu 600 mg na kilogram. Při testování mikrobiologické analýzy, která probíhala podobně, tedy až na inkubaci po dobu 2 dní a teplotě 20 °C, vykazovaly vzorky podobné výsledky ve srovnání s kontrolou, nicméně došlo k prodloužení skladovatelnosti o jeden den. Metoda TBARS prokázala zpomalení negativního vlivu oxidace lipidů. A co se zbarvení týče, prokázalo se lehké zežloutnutí.

Podobný test aplikace rozmarýnového extraktu na mořanovi zlatém prostřednictvím krmiva provedl Álvarez a kol. (2012), který též aplikoval 600 mg extraktu na kilogram krmiva. Jeho výsledky demonstrovaly vliv extraktu na lipidovou oxidaci ještě po 21 dnech skladování na ledě. Prokázal lepší senzoričké vlastnosti a prodloužení skladovatelnosti ze 14 na 15 dní.

6. Závěr

Cílem této bakalářské práce bylo najít a otestovat přírodní antioxidant, který by prodloužil dobu skladovatelnosti a negativně neovlivnil maso pstruha duhového. Po vypracování rešerše se jako potenciálně vhodný kandidát zvolil přírodní rozmarýnový extrakt zvaný Inolens 4. Následná studie prokázala, že extrakt o zvolených koncentracích 0,5; 1,0 a 2,0 % přinesl ve srovnání s kontrolou nezpochybnitelně lepší výsledky.

Extrakt byl aplikován na filety formou desetiminutové lázně v příslušných koncentracích následovanou pětiminutovým okapáním na roštích. Díky dobrému zacházení s rybami a následně i filety a též díky skladování v lednici v zavakuovaném stavu extrakt účinně prodloužil jejich skladovatelnost. Prokazatelných výsledků bylo dosaženo při mikrobiologické analýze, kdy vzorky s rozmarýnovým extraktem vykázaly lepší hodnoty než kontrolní vzorky, a to ve všech měřených dnech a všech ředěních. Stejně tak se prokázalo účinné inhibování oxidace lipidů a zpomalení chemických změn ve svazech. Při metodě TBARS se prokázal rostoucí trend po celou dobu testování, ale zároveň se opět potvrdil pozitivní vliv Inolensu 4. Zejména pak čtrnáctý den testování, kdy kažení kontrolního vzorku prokazatelně dosahovalo značně pokročilejšího stádia než všechny ostatní vzorky s extraktem. Naopak mírné obavy z negativního ovlivnění sensorických vlastností filet se nepotvrdily. Dle zpracovaných výsledků všech hodnotitelů se ukázalo, že rozmarýnový extrakt nejenže sensorické vlastnosti nezhoršuje, ale naopak v několika hodnocených kritériích vykázal hodnoty lepší. Ani tmavě zelené zbarvení používaného extraktu nemělo kromě počátečního testování u nejsilnějšího roztoku téměř žádný vliv. U všech koncentrací se ale s postupem času prokázala degradace zeleného zbarvení.

Výsledky této práce tedy poukázaly na potenciál získání zákazníků díky zlepšení sensorických vlastností ryby nebo také prokázáním vysoké nutriční hodnoty Inolensu 4. Za zmínku také stojí jeho zdraví prospěšné účinky a možnost jeho využití místo v dnešní době již ne příliš oblíbených chemických antioxidantů. Důležité je také neopomenout prokázané prodloužení skladovatelnosti, což ocení nejen zákazníci, ale i zpracovatelé a prodejci. Navíc se tím částečně může podařit alespoň mírně zredukovat plýtvání potravinami.

7. Přehled použité literatury

- Álvarez, A., García García, B., Jordán, M.J., Martínez-Conesa, C., Hernández, M.D., 2012. The effect of diets supplemented with thyme essential oils and rosemary extract on the deterioration of farmed gilthead seabream (*Sparus aurata*) during storage on ice. *Food chemistry* 132, 1395 – 1405.
- Arias, C., 2009. Chilled and frozen raw fish. In: Fernandes, R. (Ed.), *Fish and seafood – microbiology handbook*. Leatherhead publishing, Leatherhead, UK, pp. 1 – 28.
- Arvanitoyannis, I.S., Kotsanopoulos, K.V., 2012. Smoking of Fish and Seafood: History, Methods and Effects on Physical, Nutritional and Microbiological Properties. *Food and Bioprocess Technology* 5 (3), 831 – 853.
- Baruš, V., Oliva, O., 1995. *Fauna ČR a SR. Mihulovci (Petromyzontes) a ryby (Osteichthyes)*. Academia, Praha, 625 s.
- Bourne, M., 2002. *Food Texture and Viscosity*, 2 ed. Academic Press, London, UK, 427 pp.
- Buňka, F., Hrabě, J., Vospěl, B., 2010. *Senzorická analýza potravin I. Vyd.2. Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně*, 157 s.
- Cadun, A., Kisla, D., Cakli, S., 2008. Marination of deep-water pink shrimp with rosemary extract and the determination of its shelf-life. *Food Chemistry* 109, 81 – 87.
- Calder, P.C., 2001. Polyunsaturated fatty acids, inflammation, and immunity. *Lipids* 36 (9), 1007 – 1024.
- Cardinal, M., Knockaert, C., Torrissen, O., Sigurgisladottir, S., Morkore, T., Thomassen, M., Luc Vallet, J., 2001. Relation of smoking parameters to the yield, colour and sensory quality of smoked Atlantic salmon (*Salmon salar*). *Food Research International* 34 (6), pp. 537 – 550.
- ČSÚ (Český statistický úřad), 2016. [online]. *Spotřeba potravin 2015*. Český statistický úřad [cit. 2017-10-22]. Dostupné na WWW: <https://www.czso.cz/documents/10180/32782524/2701391601.pdf/ceb2a48c-c8b3-4383-b684-f12ff8bcd1fe?version=1.0>
- Dungel, J., Řehák, Z., 2011. 2. vyd. *Atlas ryb, obojživelníků a plazů České a Slovenské republiky*. Academia, nakladatelství Akademie věd České republiky, s. 73 – 74.
- Dvořák, P., Pyszko, M., Velíšek, J., Dvořáková Líšková, Z., Andreji, J., 2014. *Anatomie a fyziologie ryb*. V: Dvořák, P., Pyszko, M., Andreji, J., *Pohybový systém (Apparatus*

locomotorius), Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích, Fakulta rybářství a ochrany vod, s. 27 – 43.

Emir Çoban, Ö., Özpolat, E., 2013a. [online]. The effects of different concentrations of rosemary (*Rosmarinus officinalis*) extract on the shelf life of hot-smoked and vacuum-packed *Luciobarbus esocinus* filets. *Journal of Food Processing and Preservation* 37, 269 – 274. [cit. 2018-02-22]. Dostupné na WWW: <https://doi.org/10.1111/j.1745-4549.2011.00645.x>

Emir Çoban, O., Pelin Can, O., 2013b. [online]. The effect of active packaging film containing rosemary extract on the quality of smoked rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Journal of Aquatic Food Product Technology* 22, 361 – 370. [cit. 2018-03-18]. Dostupné na WWW: <http://dx.doi.org/10.1080/10498850.2011.652766>

Erkan, N., 2012. The effect of thyme and garlic oil on the preservation of vacuum-packaged hot smoked rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Food and Bioprocess Technology* 5. 1246 – 1254.

Faira, S., 1984. *The Northeast Seafood book, A Manual od Seafood Products, Marketing and Utilization*, Massachusetts Division of Marine Fisheries, Boston, USA, 315 pp.

Fange, R., Grove, D., 1979. Digestion. In: Hoar, W.S., Randall, D.J., (Eds), *Fisch physiology. Bioenergetics and growth*. Academic Press, New York, USA, pp. 161 – 260.

FAO, 2001. [online]. The composition of fish. Torry Research Station. 38 [cit. 2017-10-22]. Dostupné na WWW: <http://www.fao.org/wairdocs/tan/x5916e/x5916e01.htm#TopOfPage>

FAO, 2016a. [online]. FAO Aquaculture newsletter. No. 55 [cit. 2017-6-21]. Dostupné na WWW: <http://www.fao.org/3/a-c0382e.pdf>

FAO, 2016b. *The State of World Fisheries and Aquaculture 2016. Contributing to food security and nutrition for all*. Rome, 200 pp.

FAO, 2017. [online]. Cultured Aquatic Species Information Programme [cit. 2018-3-29]. Dostupné na WWW: http://www.fao.org/fishery/culturedspecies/Oncorhynchus_mykiss/en#tcNA00FE

Fauconneau, B., Alami-Durante, H., Laroche, M., Marcel, J., Vallot, D., 2002. Growth and quality of carp. Pracovní interní materiál. INRA, *Fish Physiology*, 25 pp.

Gao, M., Feng, L., Jiang, T., Zhu, J., Fu, L., Yuan, D., Li, J., 2014. The use of rosemary extract in combination with nisin to extend the shelf life of pompano (*Trachonotus ovatus*) fillet during chilled storage. *Food control* 37, 1 – 8.

- Gerstmeier, R., Romig, T., 2003. Sladkovodní ryby Evropy Pro přátele přírody a sportovní rybáře. Víkend, 366 s.
- Halver, J.E., Hardy, R.W., 2002. Fish Nutrition (Third edition). Academic Press, 756 – 769.
- Hanel, L., Lusk, S., 2005. Ryby a mihule České republiky: rozšíření a ochrana. Český svaz ochránců přírody Vlašim, s. 310 – 312.
- Hadolin Kolar, M., 2008. Rosemary Extract, Inolens® - Where Nature and Science Meet. Acta Horti 778, 37 – 44.
- Halver, J.E., 2002. The Vitamins. In: Halver, J.E., Hardy, R.W., 2002. Fish Nutrition (Third edition). Academic Press, 824 pp.
- Hansen, L.T., Gill, T., Rontved, S.D., Huss, H.H., 1996. Importance of autolysis and microbiological activity on quality of cold-smoked salmon. Food Research International 29, 181 – 188.
- Hardy, R.W., 1989. In: Lovell, R.T., Nutrition and Feeding of Fish. Van Nostrand Reinhold, 185 pp.
- Helfman, S.G., Collette, B.B., Facey, E.D., 1997. The diversity of fishes. Blackwell Science, Oxford, UK, 528 pp.
- Henderson, R.J., Tocher, D.R., 1987. The lipid composition and biochemistry of freshwater fish. Progress in Lipid Research. 26, 281 – 347.
- Hernández, A., García García, B., Jordán, M.J., Hernández, M.D., 2014. Improved Conservation of gilthead seabream (*Sparus aurata*) in ice storage. The influence of doses of rosemary extract added to feed. Aquaculture 426 – 427, 31 – 40.
- Hiemer, J., Marová, I., Illek, J., 2007. Množství antioxidantů a antioxidační kapacita vybraných druhů potravin. Výživa a potraviny. (6/2007), s. 150 – 151.
- Hudson, B.J., 1990. Food Antioxidants. Springer Science & Business Media, 317 pp.
- Hunt, R.W.G., 1998. Measuring colour. Fountain Press Ltd, 336 pp.
- Jiang, Y., Wu, N., Fu, Y.J., Wang, W., Luo, M., Zhao, C.J., Zu Y.G., Liu X.L., 2011. [online]. Chemical composition and antimicrobial activity of the essential oil of Rosemary. Environmental Toxicology and Pharmacology 32, 63 – 68. [cit. 2018-03-13]. Dostupné na WWW: <https://doi.org/10.1016/j.etap.2011.03.011>

- Jordán, V., Hemzalová, M., 2001. Antioxidanty zázračné zbraně, Nakladatelství Jota s.r.o., 154 s.
- Kardong, K.V., 2009. Vertebrates: Comparative Anatomy, Function, Evolution. The McGraw Hill Companies, New York, USA, 523 pp.
- Li, T.T., Li, J. R., Hu, W. Z., Zhang, X.G., Li, X. P., Zhao, J., 2012. [online]. Shelf-life extension of crucian carp (*Carassius auratus*) using natural preservatives during chilled storage. *Food Chemistry* 135, s. 140 – 145. [cit. 2018-03-13]. Dostupné na WWW: <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2011.10.029>
- Lu, Z., Chen, T.C., Zhang, A., Persons, K. S., Kohn, N., Berkoeitz, R., Martinello, S., Holick, M.F., 2007. An evaluation of the vitamin D-3 content in fish: Is the vitamin D content adequate do satisfy the dietary requirement for vitamin D. *Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology*. 103, 642 – 644.
- Lucera, A., Costa, C., Conte, A., Matteo, A., 2012. Food application of natural antimicrobial compounds. *Frontiers in Microbiology* 3, 1 – 13.
- Lund, E.K., 2013. [online]. Health benefits of seafood; Is it just fatty acids? *Food chemistry* 140 (3), 413 – 420. [cit. 2018-02-02]. Dostupné na WWW: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0308814613000575>
- Madhavi, D.L., Deshpande, S.S., Salunkhe, D.K., 1996. Food antioxidants: technological, toxicological, and health perspectives. Marcel Dekker, New York, 490 pp.
- Mahmoud, B.S.M., Yamazaki, K., Miyashita, K., Shin, I.S., Dong-Suk, C., Suzuki, T., 2004. [online]. Bacterial microflora of carp (*Cyprinus carpio*) and its shelf-life extension by essential oil compounds. *Food Chemistry* 21, 656 – 662. [cit. 2018-01-25] Dostupné na: <https://doi.org/10.1016/j.fm.2004.03.001>
- Mattila, P., Piironen, V., Uusi-Rauva, E., Koivistoinen, P., 1995. Cholecalciferol and 25hydroxycholecalciferol contents in fish and fish products. *Journal of Food Composition and Analysis* 8 (3), 232 – 243.
- Medina, I., Gallardo, J.M., Aubourg, S.P., 2009. Quality preservation in chilled and frozen fish products by employment of slurry ice and natural antioxidants. *International Journal of Food Science and Technology* 44 (8), 1467 – 1479.
- Oğuzhan Yildiz, P., 2015. [online]. Effect of essential oils and packaging on hot smoked rainbow trout during storage. *Journal of Food Processing and Preservation* 39, 806 – 815. [cit. 2018-01-15]. Dostupné na WWW: <http://dx.doi.org/10.1111/jfpp.12291>

- Ojagh, S.M., Rezaei, M., Razavi, S.H., Hosseini, S.M.H., 2010. [online]. Effect of chitosan coatings enriched with cinnamon oil on the quality of refrigerated rainbow trout. Food Chemistry 120, 193 – 198. [cit. 2017-12-04]. Dostupné na WWW: <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2009.10.006>
- Passwater, R., 2002. O antioxidantech. Pragma, 94 s.
- Peiretti, P.G., Gai, F., Ortoffi, M., Aigotti, R., Medana, C., 2012. [online]. Effects of rosemary oil (*Rosmarinus officinalis*) on the shelf-life of minced rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) during refrigerated storage. Foods 1, 28 – 39. [cit. 2018-03-15]. Dostupné na WWW: <https://doi.org/10.3390/foods1010028>
- Pokorný, J., 1997. Metody senzoričké analýzy potravin a stanovení senzoričké jakosti, Ústav zemědělských a potravinářských informací, 195 s.
- Pokorný, J., Adámek, Z., Dvořák, J., Šrámek, V., 1998. Pstruhařství. Informatorium Praha, s. 21 – 22.
- Sampels, S., Levý, E., Mráz, J., Vejsada, P., Zajíc, T., 2014, Kvalita a gastronomie ryb a rybích výrobků, Jihočeská Univerzita v Českých Budějovicích, Fakulta rybářství a ochrany vod, 247 s.
- Santosh, P.L., 2002. The Minerals. In: Halver, J.E., Hardy, R.W., 2002. Fish Nutrition (Third edition). Academic Press, 824 pp.
- Sargent, J.R., Tocher, D.R., Bell, J.G., 2002. The Lipids. In: Halver, J.E., Hardy, R.W., 2002. Fish Nutrition (Third edition). Academic Press, 824 pp.
- Saxena, R.K., Saxena, S., 2008. Comparative Anatomy of Vertebrates. Anshan, Kent, USA, 479 pp.
- Serdaroğlu, M., Felekoğlu, E., 2005. Effects of using rosemary extract and onion juice on oxidative stability of sardine (*Sardina pilchardus*) mince. Journal of Food Quality 28, 109 – 120.
- Smith, R.R., 1989. Nutritional energetics. In: Halver, J.E., 2002. Fish nutrition, 2nd Ed. Academic Press, New York, pp. 2 – 28.
- Spurný, P., 2000. Ichtyologie (Obecná část). Mendelova zemědělská a lesnická univerzita v Brně, Brno, 138 s.
- Škeříková, V., Grynová, L., Jandera, P., 2004. Využití coulometrického detektoru coularray pro analýzu přírodních antioxidantů. Chem. listy 98, 343 – 348.

- Tanabe, H., Yoshida, M., Tomita, N., 2002. Comparison of the antioxidant activities of 22 commonly used culinary herbs and spices on the lipid oxidation of pork meat. *Animal Science Journal*. 73, pp. 389 – 393.
- Tironi, V., Tomás, M., Añón, M., 2009. [online]. Lipid and protein changes in chilled sea salmon (*Pseudoperca semifasciata*): effect of previous rosemary extract (*Rosmarinus officinalis* L.) application. *International Journal of Food Science and Technology* 44, 1254 – 1262. [cit. 2018-03-15]. Dostupné na WWW: <http://dx.doi.org/10.1111/j.1365-2621.2009.01955.x>
- Ucak, I., Ozogul, Y., Durmus, M., 2011. The effect of rosemary extract combination with vacuum packing on the quality changes of Atlantic mackerel fish burgers. *International Journal of Food Science and Technology* 46 (6). 1157 – 1163.
- Vácha, F., Prošková, A., Kučera, J., 1998. Aminokyselinové složení vybraných druhů sladkovodních ryb. *Sborník Jihočeské univerzity. Zootechnická řada 2/XV. Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích, Zemědělská fakulta, České Budějovice*, s. 79 – 89.
- Vácha, F., 2013. *Obecná část*. V: Vácha, F., Vejsada, P., 2013. *Zpracování ryb*. Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích, Fakulta rybářství a ochrany vod, 178 s.
- Velíšek, J., 2002. *Chemie potravin 3*, 2. vyd. Osis, 368 s.
- Vrbová, T., 2008. *Víme co jíme? aneb: průvodce „Ěčky“ v potravinách*, Ecohouse, 280 s.
- Wilson, R.P., Halver, J.E., 1986. Protein and amino acid requirements of fishes. *Ann. Rev. Nutr.* 6, pp. 225 – 244.
- Zajíc, T., Mráz, J., Kozák, P., Picková, J., 2011. Možnosti produkce sladkovodních ryb s vysokým obsahem omega-3 mastných kyselin. *Edice metodik, Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích, Fakulta rybářství a ochrany vod, Vodňany*, č. 112, 34 s.
- Ženíšková, H., Chalupa, P., 2016. *Situační a výhledová zpráva ryby* [online]. Ministerstvo zemědělství ČR, Praha. [cit. 2017-10-20]. Dostupné na WWW: http://eagri.cz/public/web/file/507825/SVZ_Ryby_2016.pdf

8. Abstrakt

Tato bakalářská práce hodnotí účinky přírodního rozmarýnového extraktu "Inolens 4" na mikrobiologickou kvalitu, senzorické atributy, změnu zbarvení a oxidativní působení u filet pstruha duhového (*Oncorhynchus mykiss*). Hodnocení je vyjádřeno ve srovnání s kontrolním vzorkem (bez aditiva). Jednotlivé analýzy probíhaly v různé dny (0, 3, 6, 10 a 14 dnů). Mikrobiologická analýza vykazovala v jednotlivých dnech (0., 6., 8. a 10.) hodnoty v rozmezí 1,93 – 2,25; 5,10 – 5,27; 5,12 – 5,80 a 6,34 – 7,66 log CFU·g⁻¹. K překročení přípustné hranice ke konzumaci sladkovodních ryb (7 log CFU·g⁻¹) došlo 10. den pouze u kontroly. Naopak Inolens 0,5 dosáhl nejlepšího výsledku. Také senzorické analýzy ukázaly, že Inolens 0,5 dosáhl nejlepších výsledků ve všech smyslových attributech (vůně, chuť, pachů, konzistence) u vařené ryby. Též analýza TBARS vyhodnocující oxidaci lipidů dokázala, že aplikace extraktu "Inolens 4" měla pozitivní účinek, což vedlo k inhibici oxidačních procesů ve svalovině. Celkově tedy veškeré výsledky tohoto zkoumání prokázaly, že přírodní extrakt "Inolens 4" má antioxidační účinky prodlužující skladovatelnost masa pstruha duhového při vhodném skladování (zavakuování a zchlazení při 4 ± 1 °C) až na 10 dní a má mírný vliv na zlepšení senzorických vlastností.

Klíčová slova: antioxidant, Inolens 4, pstruh duhový, mikrobiologická analýza, senzorická analýza, oxidace lipidů

9. Abstract

This bachelor thesis evaluates the effects of natural rosemary extract "Inolens 4" on microbiological quality, sensory attributes, colour change and oxidative effect of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). The evaluation is expressed in comparison with the control sample (no additive). Individual analyses took place in different days (0, 3, 6, 10 and 14 days). The microbiological analysis showed values in the range of 1.93 - 2.25; 5.10 - 5.27; 5.12 - 5.80 and 6.34 - 7.66 log CFU·g⁻¹ on days 0, 6, 8 and 10. The limit for freshwater fish consumption (7 log CFU·g⁻¹) was exceeded on 10th day of storage. On the contrary Inolens 0.5 achieved the best result. Sensory analyses also showed that Inolens 0.5 achieved the best results in all sensory attributes (odour, taste, aftertaste, consistency) of cooked fish. Also TBARS analysis evaluating lipid oxidation proved that the application of Inolens 4 extract had a positive effect causing an inhibition of oxidative processes in the muscle. Therefore all the results of this study have shown that the natural extract "Inolens 4" has antioxidant effects extending the storage of rainbow trout meat in combination with suitable storage (vacuum and cooling at 4 ± 1 °C) for up to 10 days. Moreover it has a mild effect on the improvement of sensory properties.

Key words: antioxidant, Inolens 4, rainbow trout, microbiological analysis, sensory analysis, lipid oxidation