

Česká zemědělská univerzita v Praze

**Fakulta agrobiologie, potravinových a přírodních
zdrojů**

Katedra kvality a bezpečnosti potravin



**Fakulta agrobiologie,
potravinových a přírodních zdrojů**

**Využití silic pro prodloužení skladovatelnosti
chlazeného masa sumečka afrického**

Diplomová práce

Bc. Matouš Kotrbatý

Kvalita potravin a zpracování zemědělských produktů

doc. Ing. Pavel Klouček, Ph.D

© 2024 ČZU v Praze

Čestné prohlášení

Prohlašuji, že svou diplomovou práci " Využití silic pro prodloužení skladovatelnosti chlazeného masa sumečka afrického" jsem vypracoval samostatně pod vedením vedoucího diplomové práce a s použitím odborné literatury a dalších informačních zdrojů, které jsou citovány v práci a uvedeny v seznamu literatury na konci práce. Jako autor uvedené diplomové práce dále prohlašuji, že jsem v souvislosti s jejím vytvořením neporušil autorská práva třetích osob.

V Praze dne 21.04.2024

Poděkování

Rád bych touto cestou poděkoval vedoucímu diplomové práce panu doc. Ing. Pavlu Kloučkovi, Ph.D. za jeho trpělivost, odborné rady a podnětné diskuse, které mi pomohly lépe porozumět tématu. Dále bych chtěl poděkovat své rodině za jejich neustálou podporu, porozumění a motivaci v průběhu celého studia. Nakonec bych rád poděkoval Chandani za její pomoc v laboratoři.

Využití silic pro prodloužení skladovatelnosti chlazeného masa sumečka afrického

Souhrn

Tato diplomová práce se zabývala vlivem různých druhů silic, konkrétně silic tymiánu, hřebíčku a voňatky citronové, na skladovatelnost a sensorické vlastnosti chlazených rybích filetů sumečka afrického (*Clarias gariepinus*). Experimentální část práce zahrnovala kombinaci mikrobiologické a sensorické analýzy.

Ošetření masa bylo připraveno ve dvou variantách. Konkrétně se jednalo o směsi silice s jílovými nanočásticemi a silice ve formě vodné emulze. Oba druhy ošetření byly připraveny s 10% koncentrací jednotlivých silic. Pro výrobu jílové směsi byly použity jílové nanočástice typu hydrofilní bentonit a příslušná silice. Vodná emulze byla vytvořena smícháním silice s tweenem 80 a destilovanou vodou. Vzorky rybiho masa byly rozděleny do skupin a ošetřeny různými typy silic. Skladování masa probíhalo při 4 °C po dobu 15 dní a v intervalech 3 dní byla vyhodnocována data. Mikrobiologická analýza sledovala celkový počet mikroorganismů a přítomnost bakterií *Aeromonas spp.*

Výsledky ukázaly, že silice tymiánu měly nejlepší antibakteriální účinek. Silice hřebíčku také projevila inhibiční účinky, zatímco silice voňatky citronové nevykázala žádný antibakteriální účinek. Na základě mikrobiologické analýzy byly vybrány dvě silice (tymián a hřebíček) ve formě nanojílu a u tymiánové silice byla ještě testována emulze. K porovnání byla vybrána kontrola bez jakéhokoliv ošetření. Nejlepších organoleptických výsledků dosáhly kontrolní vzorky a sensorická analýza tak prokázala, že ošetření silicemi negativně ovlivnilo organoleptické vlastnosti masa. Zároveň ale byl zjištěn rozdíl v celkové přijatelnosti mezi vzorky ošetřených tymiánovou silicí, kdy směs jílu a silice dosáhla výrazně lepších výsledků než vodná emulze.

Klíčová slova: akvaponie, bakteriální patogeny, sensorická kvalita, skladování

Use of essential oils to extend the shelf life African catfish fillets

Summary

This thesis investigated the effect of different types of essential oils, namely thyme, clove, and lemongrass, on the shelf life and sensory properties of chilled fish fillets of African catfish (*Clarias gariepinus*). The experimental part of the thesis involved a combination of microbiological and sensory analysis.

The meat treatment was prepared in two variants. Specifically, these were mixtures of essential oil with clay nanoparticles and essential oil in the form of an aqueous emulsion. Both treatments were prepared with 10 % concentration of each essential oil. Hydrophilic bentonite-type clay nanoparticles and the corresponding essential oil were used to produce the clay mixture. The aqueous emulsion was made by mixing the essential oil with tween 80 and distilled water. The fish meat samples were divided into groups and treated with different types of essential oils. The meat was stored at 4°C for 15 days and data were evaluated at intervals of 3 days. Microbiological analysis monitored the total number of microorganisms and the presence of *Aeromonas spp.*

The results showed that thyme essential oil had the best antibacterial effect. Clove essential oil also showed inhibitory effects, while lemon balm essential oil showed no antibacterial effect. Based on microbiological analysis, two essential oils (thyme and clove) were selected in the form of nano-oil and the thyme essential oil was further tested for emulsion. A control without any treatment was selected for comparison. The control samples obtained the best organoleptic results and the sensory analysis thus showed that the essential oil treatment had a negative effect on the organoleptic properties of the meat. However, there was also a difference in overall acceptability between the samples treated with thyme essential oil, with the clay and essential oil mixture achieving significantly better results than the aqueous emulsion.

Keywords: aquaponics, bacterial pathogens, sensory quality, storage

Obsah

1	Úvod.....	8
2	Vědecká hypotéza a cíle práce.....	9
3	Literární řešerše	10
3.1	Silice.....	10
3.1.1	Extrakce silic	10
3.1.1.1	Lisování za studena	10
3.1.1.2	Destilace	10
3.1.1.3	Superkritcká fluidní extrakce	10
3.1.2	Využití silic	11
3.1.2.1	Využití silic v potravinářství	11
3.2	Složení silic.....	12
3.3	Tymián obecný (<i>Thymus vulgaris</i>).....	13
3.3.1	Využití silice tymiánu při skladování potravin	14
3.4	Hřebíček	14
3.4.1	Využití silice hřebíčku při skladování potravin.....	15
3.5	Voňatka citronová (<i>Cymbopogon citratus</i>).....	16
3.5.1	Využití silice citronové trávy při skladování potravin	17
3.6	Jílové nanočástice	17
3.6.1	Bentonit	18
3.7	Sumeček africký (<i>Clarias gariepinus</i>).....	19
3.7.1	Recirkulační akvakulturní systémy (RAS).....	19
3.7.2	Akvaponický chov.....	20
3.7.3	Zpracování rybího masa	20
3.7.3.1	Řezání vodním paprskem	21
3.7.3.2	Řezání ultrazvukem.....	21
3.8	Skladování rybího masa	22
3.8.4	Mražení.....	22
3.8.5	Chlazení.....	22
3.8.6	Modifikovaná atmosféra.....	23
3.9	Kontaminace rybího masa.....	23
3.9.1	Legislativa rybích produktů.....	24
3.10	Mikrobiologie rybího masa	25
3.11	<i>Aeromonas spp.</i>	25
4	Metodika.....	27
4.1	Příprava jílových nanočástic a emulze.....	27
4.2	Příprava vzorků rybího masa	28

4.3	Mikrobiologická analýza	29
4.4	Senzorická analýza.....	29
4.5	Vyhodnocení dat.....	31
5	Výsledky	32
5.1	Mikrobiologická analýza	32
5.1.2	Celkový počet mikroorganismů	32
5.1.3	Aeromonas spp.	34
5.2	Senzorická analýza.....	37
6	Diskuse.....	39
7	Závěr	42
8	Literatura	43

1 Úvod

V dnešní době se kladou stále větší požadavky na prodlužování trvanlivosti potravin s důrazem na zachování jejich kvality a bezpečnosti. Rybí maso, jakožto důležitá složka stravy pro mnoho lidí po celém světě, není výjimkou. Ryby jsou klíčovým zdrojem živočišných bílkovin pro miliardy lidí po celém světě, zejména v Asii a Africe, kde tvoří podstatnou část jídelníčku pro stovky milionů jedinců. V tropických oblastech jsou ryby tradičně považovány za důležitý zdroj bílkovin a dalších živin. Mezi tyto druhy patří i sumeček africký (*Clarias gariepinus*), který obývá hlavně Nil a jeho okolí. Rybí maso je známé svým bohatým obsahem živin, včetně důležitých mastných kyselin, které podporují zdraví srdce, mozku a dalších orgánů. Sumeček africký, dříve považovaný za nežádoucí druh, se v posledních letech stává stále populárnějším. Zachování jeho čerstvosti a bezpečnosti během skladování je proto jednou z priorit v potravinářském průmyslu (Khalili Tilami & Sampels 2018; Abdel – Mobdy et al. 2021).

V dnešní době preferují spotřebitelé potraviny, které jsou přírodní, postrádají syntetické chemické přísady, jsou minimálně zpracované a mají delší trvanlivost. Jedním z možných řešení je využití přírodních látek s antimikrobiální aktivitou, které se nacházejí v bylinách a rostlinách, a to buď samostatně nebo v kombinaci s dalšími ošetřeními. V této souvislosti nabízejí přírodní antimikrobiální látky, jako jsou silice, slibný potenciál. Tyto látky dokážou potlačit růst mikroorganismů, což zajistí prodlouženou trvanlivost potravin a současně minimalizuje potřebu syntetických konzervačních látek (Mihai & Popa 2013).

2 Vědecká hypotéza a cíle práce

Cílem diplomové práce je zhodnocení, zdali použití silic prodlužuje skladovatelnost chlazených filetů sumečka afrického a zároveň jestli silice negativně neovlivňují sensorické vlastnosti jeho masa.

Hypotézy:

H1: Silice prodlužují skladovatelnost masa sumečka afrického.

H2: Silice negativně neovlivňují chuť masa sumečka afrického.

3 Literární rešerše

3.1 Silice

3.1.1 Extrakce silic

Silice mají velmi komplexní a variabilní složení, které se skládá z mnoha látek, zejména uhlovodíků a kyslíkatých sloučenin. Při extrakci silic je tedy důležité zachování přirozeného poměru jednotlivých složek, které jsou zodpovědné za jejich charakteristické vlastnosti. Tohoto lze docílit zvolením vhodného extrakčního způsobu. Mezi konvenční metody lze zařadit lisování za studena, enfleuráž a destilaci vodou či vodní párou, tyto metody však mohou být málo efektivní a energeticky náročné. Tyto nedostatky vedly k rozvoji alternativních způsobů získávání silic jako je extrakce superkritickým plynem či kapalinou (Stratakos & Koidis 2016).

3.1.1.1 Lisování za studena

Lisování za studena představuje techniku, jež se často využívá k extrakci esenciálních olejů z citrusových plodů, jako jsou citron, pomeranč, bergamot a grapefruit. Proces začíná lisováním kůry, která je následně oddělena od ovoce, nakrájena a opětovně lisována. Tím vzniká směs esenciálních olejů a tekutin, jež se poté oddělí vhodným způsobem. Nevýhodou této metody je kratší doba trvanlivosti získaných silic ve srovnání s jinými extrakčními metodami (Malik 2019).

3.1.1.2 Destilace

Destilace je nejběžnější způsob získávání silic z rostlin, při kterém se využívá vroucí vody nebo vodní páry. Destilace pomocí vodní páry se zejména uplatňuje u materiálů citlivých na teplotu, které jsou nerozpustné ve vodě a mohou se rozkládat při varu. Proces spočívá v pouštění páry skrz sušený nebo čerstvý rostlinný materiál, což změkčuje buňky a umožňuje silicím se uvolnit ve formě páry. Uvolněné silice spolu s molekulami páry jsou poté ochlazeny v chladiči a shromážděny. Hlavními výhodami destilace vodní parou jsou jednoduchost a nízké náklady na zařízení. Vlastnosti silice zůstávají beze změny, protože její složky se nikdy nerozkládají. Tuto techniku lze rovněž použít pod tlakem (Majewska et al. 2019).

3.1.1.3 Superkritická fluidní extrakce

Superkritická fluidní extrakce (SFE) je v současné době považována za nejpoužívanější metodu extrakce a izolace silic z aromatických rostlin. Tato technologie poskytuje efektivní a rychlou extrakci za mírných teplot, eliminuje potřebu čisticích procesů a minimalizuje použití škodlivých organických rozpouštědel. Oxid uhličitý (CO₂) se stal ideálním rozpouštědlem díky

tomu, že je nevybušný, netoxický, snadně dostupný a je snadného ho odstranit z extrahovaných silic.

Superkritická kapalina vzniká, když teplota a tlak překročí kritické body kapaliny nebo plynu, čímž se eliminuje rozhraní mezi kapalinou a plynem a vytváří se homogenní kapalina. Superkritické kapaliny vykazují unikátní vlastnosti, jako je enormní zvýšení hustoty při relativně malé změně tlaku a teploty, což umožňuje selektivní extrakci cílových složek z komplexních směsí.

SFE přináší významné výhody v podobě selektivity, minimalizace tepelného rozkladu složek, možnosti zpětného získání rozpouštědla a vysokých výtěžků extrakce bez toxického odpadu (Majewska et al. 2019).

3.1.2 Využití silic

Silice jsou sekundárními metabolity rostlin. Tyto látky slouží rostlinám krom ochrany před býložravci také jako antivirotika, antimikrobiální látky a insekticidy. Silice tak našly uplatnění v mnoha odvětvích jako je lékařství, parfumerie, zemědělství a v neposlední řadě, díky svým antibakteriálním vlastnostem, i v potravinářství

V kosmetickém a parfumerickém průmyslu jsou silice vysoce ceněny pro svou schopnost obohatit výrobky o příjemnou vůni a zároveň poskytnout mnohostranné benefity pro tělo a pokožku. Jejich aromatické složky přispívají k atraktivitě kosmetických produktů a zvyšují jejich hodnotu na trhu. Důležitým faktorem je také jejich významné využití díky antimikrobiálním a antifungálním účinkům, což umožňuje minimalizovat použití dalších konzervačních látek v kosmetických přípravcích, jako jsou krémy, gely a masti (Sarkic & Stappen 2018).

V oblasti biomedicíny a farmacie mají léčivé a antiseptické účinky silic zásadní význam. Jsou důležitou složkou mnoha léčivých přípravků, včetně balzámových mastí, analgetik, sedativ a protizánětlivých léků. Stále probíhající výzkumy naznačují, že některé silice mají specifické léčivé vlastnosti, které mohou nejen předcházet, ale dokonce i léčit určité dysfunkce orgánů, což otevírá nové možnosti v oblasti léčebných postupů a terapií a posiluje jejich význam v lékařském kontextu (Baptista-Silva et al. 2020a).

3.1.2.1 Využití silic v potravinářství

V současné době se spotřebitelé přiklání k potravinám, které jsou přírodní, zbavené syntetických chemických přísad, minimálně zpracované a mají delší trvanlivost. Řešením může být využití přírodních látek s antimikrobiální aktivitou, které jsou obsaženy v bylinách a rostlinách, a to buď samostatně nebo v kombinaci. V nedávné době bylo provedeno několik studií, které ukázaly, že mnoho bylin disponuje antimikrobiálními vlastnostmi. Tyto byliny lze úspěšně využít v potravinářském průmyslu jako látky s antimykotickým, antibakteriálním

a antioxidačním účinkem. Ty tak inhibují růst patogenních mikroorganismů a zajišťují mikrobiologickou bezpečnost potravin (Mihai & Popa 2013).

Například pro prodloužení skladovatelnosti kuřecího masa byla využita kombinace oreganové silice a modifikované atmosféry. V průběhu studie byly sledovány mikrobiologické, fyzikálně-chemické a senzorycké vlastnosti. Kombinace modifikované atmosféry a oreganové silice vedla k významnému snížení mikrobiálních kolonií. Na základě senzoryckého hodnocení bylo zjištěno prodloužení trvanlivosti kuřecího masa o 5–6 dní (Chouliara et al. 2007).

U skladování polotvrdého sýrů kašar bylo využito folií, které byly obohaceny o silice tymiánu a hřebíčku. Během 60 dnů skladování se u kontrolních vzorků počet kolonií *E. coli*, *L. monocytogenes* a *S. aureus* zvýšil, zatímco u vzorků potažených folií došlo ke snížení počtu (Kavas et al. 2015).

Silice lze využít i při skladování zeleniny. V roce 2015 proběhl experiment, kde byly na kartonový tácek nanесeny silice oregana a skořice. Rajčata byla skladována po dobu 24 dní. Oproti kontrolním materiálům (komerčním polyethylenovým a konvenčním kartonovým táčkům) se ukázalo, že pevnost rajčat zůstala zachována a výskyt hniloby klesl na méně než 1 %. Kartonový tácek se silicemi také lépe udržoval barvu rajčat. Senzorycké analýzy potvrdily prodloužení trvanlivosti rajčat z 20 na 24 dní při teplotě 8 °C (Buendía et al. 2019).

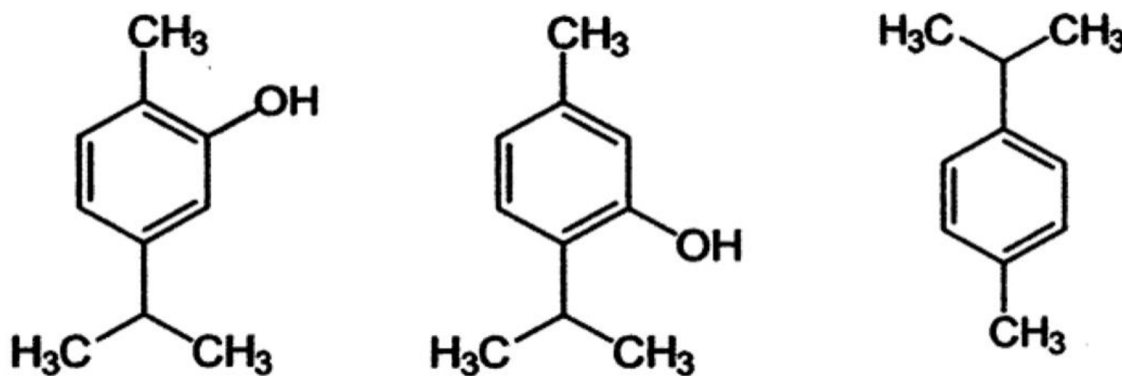
3.2 Složení silic

Silice představují komplexní přírodní směsi s rozmanitým složením. Nicméně, obecně lze říci, že silice obsahují mezi 20 až 60 složkami v různých koncentracích. Klíčové složky silic zahrnují terpeny, terpenoidy a fenylypropanoidy, které se liší svým biosyntetickým původem a přispívají k biologickým vlastnostem. Terpeny jsou složeny z jednotek isoprenu a tvoří základní stavební kameny těchto látek. Mezi nejčastěji přítomné terpeny patří monoterpeny (C10) a seskviterpeny (C15), které mohou tvořit více než 80 % silic. Terpenoidy jsou terpeny, které enzymaticky řízenou biochemickou modifikací ztrácejí svou methylovou skupinu a ta je poté nahrazena kyslíkem. Fenylypropanoidy jsou syntetizovány z aminokyseliny fenylalaninu, která se přeměňuje na kyselinu skořicovou. Redukcí karboxylové skupiny přítomné v této kyselině vzniká aldehyd, například skořicový aldehyd a další redukci vznikají monolignoly, jako je například eugenol a safrol. Tyto přírodní i syntetické fenylypropanoidy jsou v současnosti využívány pro své farmakologické vlastnosti v medicíně. Vedle terpenů obsahují silice také další skupiny chemických sloučenin, jako jsou alkoholy, aldehydy, ketony, kyseliny, fenoly, ethery a estery. Tyto složky jsou často považovány za chemicky nestabilní a mohou podléhat různým chemickým reakcím, jako je izomerizace (Baptista-Silva et al., 2020b; Da Silveira E Sá et al., 2014; Shahidi et Hossain, 2022; Verdeguer et al., 2020).

3.3 Tymián obecný (*Thymus vulgaris*)

Tymián obecný je kvetoucí rostlina z čeledi *Lamiaceae*, která původně pochází z jižní Evropy. Tento stálezelený keř nese malé, silně aromatické, šedozelené listy a fialové nebo růžové hrozny květů. Už po staletí se tymián používá v lidovém léčitelství pro jeho významné antimikrobiální a protizánětlivé účinky. V kuchyni se často využívá jako koření.

V roce 2021 byla provedena studie, která se zabývala složením a biologickou aktivitou silice tymiánu. Hlavními složkami silice, jejichž chemické vzorce lze vidět na **Obrázku 1**, byly thymol (48,1 %), p-cymen (11,7 %), 1,8-cineol (6,7 %), γ -terpinen (6,1 %) a karvakrol (5,5 %). Dále bylo zjištěno, že antimikrobiální aktivita byla střední nebo velmi silná s inhibičními zónami od 9,89 do 22,44 mm. Thymol a karvakrol projevují výrazný hydrofobní charakter, což jim umožňuje hromadit se v plazmatické membráně bakteriální buňky, ovlivňují tak integritu membrány a způsobují pokles membránového potenciálu (Galovičová et al. 2021).



Obrázek 1 Chemické struktury terpenů (thymolu, karvakrolu a p-cymenu) obsažených v tymiánové silici (Nieto 2020)

Ve studii z roku 2020 je antimikrobiální aktivita tymiánu popsána tak, že karvakrol má schopnost přes plazmatickou membránu ovlivňovat pH tím, že funguje jako protonový výměník. Tato schopnost je způsobena hydroxylovým radikálem. Karvakrol difunduje přes membránu do cytoplazmy buňky, kde uvolní svůj proton. Poté se navrácí zpět do buněčné membrány, aby přenesl draselný ion z cytoplazmy. Kationt se uvolní a karvakrol opět zachytí nový proton, čímž se cyklus opakuje. Výsledkem tohoto procesu je vyčerpání zásob ATP v buňce, což vede ke zhoršení životně důležitých procesů a následnému úhynu bakterie. Tímto způsobem vykazují thymol a karvakrol silnou antibakteriální aktivitu. Naopak, p-cymen, biologický prekurzor těchto dvou látek v tymiánové silici, neobsahuje hydroxylovou skupinu a projevuje menší antibakteriální aktivitu. Dále byl zjištěn synergický účinek mezi karvakrolem a p-cimemem, což může být způsobeno destabilizací bakteriální plazmatické membrány p-cimemem, čímž se podporuje vstup karvakrolu do buňky (Nieto 2020).

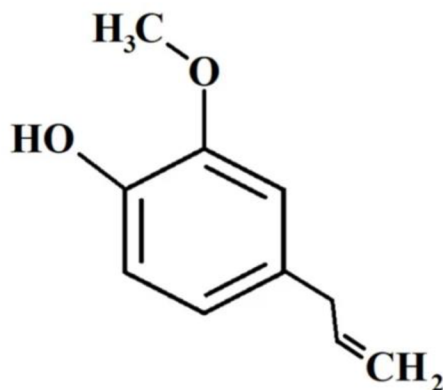
3.3.1 Využití silice tymiánu při skladování potravin

Účinnost tymiánu jako antibakteriální látky byla zkoumána v kontextu skladování kuřecího masa. Výzkum ukázal, že tymiánová silice během třídenního skladování významně snížila tvorbu DPPH (2,2-difenyl-1-pikrylhydrazyl) radikálů v mase. Tato silice také omezila peroxidaci lipidů a poškození sarkoplazmatických bílkovin, což prodloužilo trvanlivost masa až o 2 týdny. Dále bylo zjištěno, že tymiánová silice efektivně redukovala přirozenou mikroflóru v mase, čímž došlo až k 50% snížení celkového obsahu mikroorganismů ve srovnání s kontrolními vzorky (Fratianni et al. 2010).

Další studie zkoumala účinek aplikace tymiánové a vavřínové silice na kvalitu masa lufary dravé (*Pomatomus saltatrix*) během skladování na ledu po dobu 13 dnů. Hodnocení kvality masa během skladování zahrnovalo senzoryckou, chemickou, fyzikální, fyzikálně-chemickou a mikrobiologickou analýzu. Senzorické hodnocení ukázalo, že doba skladovatelnosti kontrolních vzorků lufary dravé, které byly skladovány v ledu, byla 9 dní, zatímco u ošetřených vzorků dosáhla 11 dní. Hodnoty celkového těkavého bazického dusíku a trimethylaminu dosahovaly přijatelného množství u kontrolních vzorků po dobu 9 dnů, a 13 dnů u ošetřených vzorků. Koncentrace peroxidu, volných mastných kyselin a kyseliny thiobarbiturové byly nižší u ošetřených vzorků než u kontrolních. Mikrobiální růst během skladování v ledu byl vyšší u kontrolních vzorků než u ošetřených. Závěry studie naznačují, že aplikace tymiánové a vavřínové silice prodlužuje dobu skladovatelnosti masa lufary dravé o 3 až 4 dny ve srovnání s kontrolními vzorky (Erkan et al. 2011).

3.4 Hřebíček

Hřebíček je sušený kalich s poupětem ze stromu hřebíčkovce kořeněného (*Syzygium aromaticum*). Tento středně velký strom z čeledi *Myrtaceae* je původem z moluckých ostrovů ve východní Indonésii (Cortés-Rojas et al. 2014). Základními složkami hřebíčkové silice jsou obvykle eugenol, β -karyofylen a menší podíly dalších látek, jako je benzylalkohol, avšak poměry se mohou značně lišit. Studie, které zkoumaly množství eugenolu v silici zjistily obsah látky v rozmezí od 47,64 do 88,58 %. Eugenol je pak zodpovědný za antibakteriální vlastnosti silice tím, že poškozuje buněčné stěny a membrány bakteriální buňky, inhibuje tvorbu biofilmu, narušuje syntézu DNA a způsobuje apoptózu zprostředkovanou oxidačním stresem (Chaieb et al. 2007). Chemickou strukturu eugenolu znázorňuje **Obrázek 2**.



Obrázek 2 Chemická struktura eugenolu (Ulanowska & Olas 2021)

3.4.1 Využití silice hřebíčku při skladování potravin

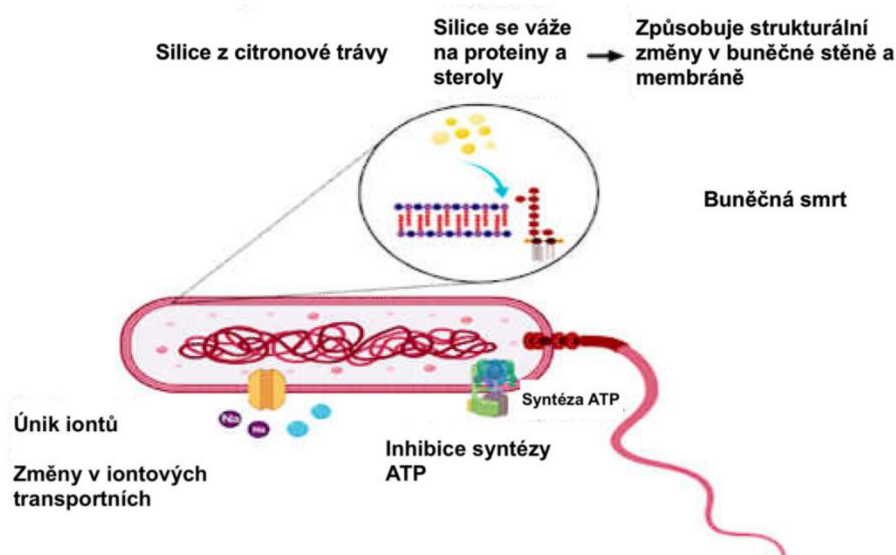
Ve studii z roku 2017 zkoumali účinky kombinace hřebíčkové silice a chitosanového povlaku na kvalitu a trvanlivost chlazených platýsů olivových (*Paralichthys olivaceus*). Průběžně bylo prováděno mikrobiologické, fyzikálně-chemické a senzorické hodnocení rybích vzorků během 15denního skladování v chladu. Bylo zjištěno, že růst mikrobů byl nejvýrazněji potlačen u vzorků s kombinovaným povlakem chitosanu a hřebíčkového oleje (Ch+CO), přičemž počet bakterií *Pseudomonas spp.*, bakterií mléčného kvašení, *Enterobacteriaceae* a bakterií produkujících H₂S byl výrazně nižší v porovnání s kontrolními vzorky. Fyzikálně-chemické vlastnosti, jako hodnoty thiobarbiturová kyseliny a celkového těkavého bazického dusíku, vykazovaly nižší hodnoty u vzorků s povlakem Ch + CO, což naznačuje lepší zachování čerstvosti. Závěrem bylo zjištěno, že kombinace povlaku Chitosanu a hřebíčkového oleje prodloužila trvanlivost ryb o 6 dní (Li et al. 2017)

Další studie se zabývala hodnocením možnosti využití aktivních nanokompozitních fólií, které kombinují sójový proteinový izolát (SPI), montmorillonit (MMT) a hřebíčkovou silici (CEO), k ochraně filetů tuňáka obecného (*Thunnus thynnus*) během skladování v chladu. Cílem bylo zkoumat, zda tyto fólie mohou omezit mikrobiální růst a oxidaci lipidů během skladování, a zároveň zjistit, zda dochází k migraci minerálů z obalu do potravin. Výsledky ukázaly, že fólie obsahující SPI, MMT, nebo obě tyto složky, dovedly účinně snižovat mikrobiální aktivitu a oxidaci lipidů během 17 dnů skladování při teplotě 2 °C. Dále se ukázalo, že přítomnost MMT ve fóliích může podporovat uvolňování účinných látek z hřebíčkové silice, což umocňuje jeho antimikrobiální a antioxidační účinky. Důležitým zjištěním také bylo, že nedochází k difuzi kovů z MMT do svaloviny ryb (Cheverría et al. 2017).

3.5 Voňatka citronová (*Cymbopogon citratus*)

Voňatka citronová, známá také jako citronová tráva, patří do čeledi *Poaceae*. Jedná se o rychle rostoucí trávu, které se především pěstují pro obsah silic. Díky své aromatické povaze je tato tráva široce využívána v potravinářském, farmaceutickém a kosmetickém průmyslu, což jí zajistilo velký obchodní zájem. Rostlina se množí pomocí semen a má tenké, kopinaté listy, které vypadají, jako by vyrůstaly přímo z půdy, bez viditelného stonku. I když je pěstování citronové trávy rozšířené po celém světě, Indie drží monopol na její produkci a vývoz (Mukarram et al. 2021).

Silice citronové trávy obsahují terpenoidní složky, jako jsou citral, α -terpinen, gerald, linalool, neral, α -pinen, myrcen a γ -terpinen. Tyto terpeny prokazují účinnost při inhibici bakterií díky svým cytotoxickým vlastnostem, které působí na buněčnou membránu a cytoplazmu. Tato aktivita vede k degradaci buněk, ztrátě enzymů, rozpadu fosfolipidové vrstvy a poškození genetického materiálu. Celková antibakteriální účinnost silice způsobuje strukturální změny, tvorbu sféroplastů, inhibici tvorby septa a vznik deformovaných buněk. Tyto procesy dále vedou k destrukci membránových proteinů, inhibici produkce ATP, zvýšení membránové propustnosti, úniku iontů a změnám v iontových transportních kanálech. Celý tento proces je zobrazen na **Obrázku 3**. Citronová tráva a její silice jsou proto prospěšné při konzervaci potravin, jako jsou šťávy, obiloviny, syrové maso a pečivo, neboť přispívají ke zlepšení jejich kvality a prodlužují trvanlivost (Faheem et al. 2022).



Obrázek 3 Účinek silice z citronové trávy na bakteriální buňku (Faheem et al. 2022).

3.5.1 Využití silice citronové trávy při skladování potravin

V roce 2021 proběhl výzkum, ve kterém se zkoumal vliv silice extrahované z citronové trávy na skladovatelnost rybích kuliček. U silice byla testována její antibakteriální účinnost proti vybraným grampozitivním a gramnegativním bakteriím, přičemž se hodnotily minimální inhibiční koncentrace (MIC) a minimální baktericidní koncentrace (MBC). Výsledky studie ukázaly, že některé bakterie, jako jsou *Bacillus cereus*, *Staphylococcus aureus* a *Micrococcus spp.*, vykazaly vysokou citlivost na tuto silici s dosažením významných inhibičních zón (40, 32 a 28 mm). Naopak u *Pseudomonas spp.*, *Salmonella typhimurium* a *E. coli* byly zaznamenány menší hodnoty inhibičních zón (20, 20 a 22 mm). Dále bylo zjištěno, že silice pozitivně ovlivnila snížení počtu mikroorganismů a prodloužila trvanlivost rybích kuliček během skladování v chladu. Senzorické vlastnosti rybích kuliček ošetřených silicí z citronové trávy byly ve srovnání s kontrolními vzorky lepší (Kamona & Alzobaay 2021).

Další studie zkoumala dopad přidavku pektinu a silice z citronové trávy na vlastnosti želatinových filmů a jejich schopnost udržet kvalitu kuřecích prsou. V rámci studie byla využita želatina z rybích kůží a pektin v různých poměrech (100:0; 75:25; 50:50 %), s a bez přidavku silice z citronové trávy. Výsledky naznačily, že přidání esenciálního oleje mělo významný vliv na různé fyzikálně-chemické vlastnosti filmu, jako jsou tloušťka, propustnost, průhlednost, obsah vody, pevnost v tahu a také antioxidační aktivita ($p < 0,05$). Hodnocení antibakteriální aktivity ukázalo, že jedlé filmy z biokompozitu želatiny a pektinu (v poměru 75:25 a 50:50) s přidavkem esenciálního oleje projevovaly inhibiční účinek na salmonely (Azizah et al. 2023).

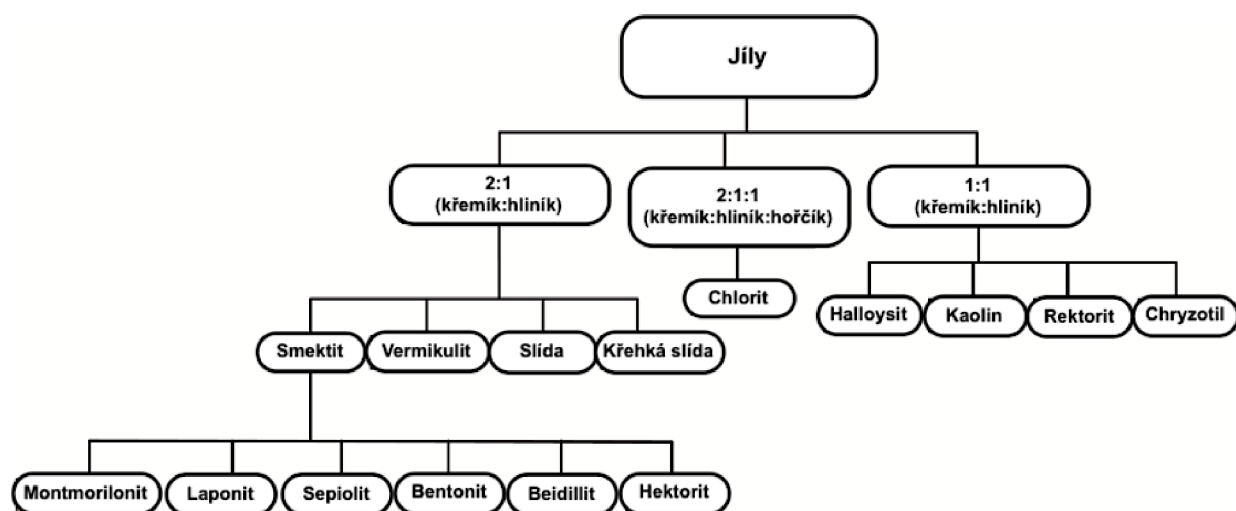
3.6 Jílové nanočástice

Jíly jsou minerály, které se vyskytují hojně na zemském povrchu a mají charakteristickou strukturu a složení. Chemicky jsou jíly klasifikovány jako hlinitokřemičitany, což jsou minerály obsahující různá množství hliníku, oxidu křemičitého, železa a hořčíku. Jejich vrstevnatá struktura a jemná velikost částic jsou klíčové pro jejich vlastnosti a použití v průmyslu.

Strukturně jsou jíly tvořeny deskami, které mohou být buď oktaedrické nebo tetraedrické. Oktaedrické listy obsahují hliník obklopený osmi atomy kyslíku, zatímco tetraedrické listy obsahují křemík obklopený čtyřmi atomy kyslíku. Tato struktura určuje vlastnosti jednotlivých typů jílu a jejich použití v průmyslových aplikacích.

Existují tři hlavní třídy jílových minerálů podle jejich chemického složení. U jílu zařazených do první třídy je poměr oxidu křemičitého a oxidu hlinitého 2:1 a nazývají se fylosilikáty/pyrofylity. Do druhé třídy patří chloritový jíl, u kterého je poměr oxidu křemičitého: oxidu hlinitého: hořčíku 2:1:1. V poslední třetí třídě jsou jíly, jejichž poměr křemičitého a oxidu hlinitého je 1:1. Příkladem této kategorie jsou jíly jako halloysit, kaolinit a rektorit. Každá třída má své specifické vlastnosti a využití v průmyslových procesech, jako je

keramický průmysl, zemědělství a potravinářský průmysl (Nath et al. 2021). Na **Obrázku 4** je znázorněné rozdělení jílových minerálů.

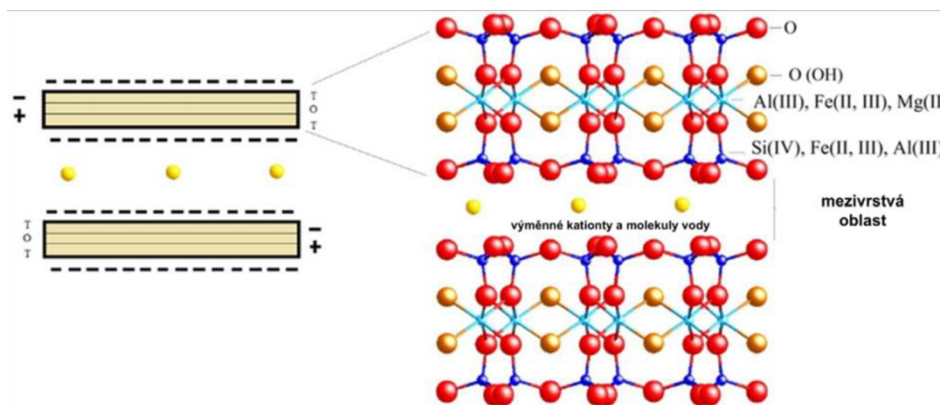


Obrázek 4 Rozdělení jílových minerálů (Nath et al. 2021)

3.6.1 Bentonit

V praktické části této práce byl použit jíl typu bentonit. Bentonit je složen převážně z montmorillonitu, který představuje přibližně 85–90 % jeho složení. Struktura bentonitu je znázorněna na **Obrázku 5**. Jedná se o minerál složený z dvojice tetraedrických vrstev oxidu křemičitého s jednou oktaedrickou vrstvou oxidu hlinitého uprostřed. Bentonite je nejčastěji využívaný přírodní anorganický minerál při výrobě funkčních materiálů. (Sun et al. 2019) Důvodem, proč je preferovaným materiálem jsou jeho schopnosti účinně reagovat s různými plyny, kapalinami a dalšími materiály. Tyto schopnosti ho činí ideální volbou pro výrobu různých druhů funkčních obalů. Mezi jeho hlavní funkce patří regulace vlhkosti, řízení plynů a dalších látek, poskytování bariéry proti vnějším vlivům a také vykazuje antimikrobiální aktivitu. Předpokládá se, že by tento materiál mohl snížit závislost na neobnovitelných fosilních polymerech (Punia Bangar et al. 2023).

Využitím bentonitu se zabývala studie z roku 2018. Cílem této studie bylo vytvořit biologicky odbouratelný obal na bázi maniokového škrobu s obsahem skořicové silice a nanočástic bentonitu sodného. Antibakteriální účinek obalu byl testovaný na vzorcích vepřových masových kuliček, skladovaných při pokojové teplotě. Výsledkem studie je, že bakteriální růst byl inhibován po dobu 96 hodin u kuliček ošetřené obalem z maniokového škrobu se skořicovým olejem a nanójilem. Oproti tomu kontrolní vzorky přesáhly bezpečné limity FDA už během 48 hodin (Jamareerat et al. 2018).



Obrázek 5 Struktura bentonitu (Barakan & Aghazadeh 2019)

3.7 Sumeček africký (*Clarias gariepinus*)

Statistika uvádí, že přibližně 2,6 miliardy lidí konzumuje alespoň 20 % živočišných bílkovin z ryb. V Asii a Africe dokonce více než 400 milionů jedinců získává alespoň polovinu těchto bílkovin právě z rybího masa. V tropických oblastech jsou ryby tradičně považovány za klíčový zdroj kvalitních bílkovin a dalších důležitých živin. Mezi tyto ryby patří i sumeček africký (*Clarias gariepinus*), sladkovodní druh, který se vyskytuje zejména v Nilu a jeho okolních rybolovných oblastech (Abdel-Mobdy et al. 2021).

Ryby jsou doporučovány pro pravidelnou konzumaci kvůli své vysoké nutriční hodnotě, zejména díky obsahu polynenasycených mastných kyselin n-3, které jsou klíčové pro lidskou výživu. Tyto mastné kyseliny mají řadu prospěšných účinků, včetně protizánětlivých vlastností a podpory správné funkce buněčných membrán, kardiovaskulárního systému, mozku a nervové tkáně. Rybí maso je také významným zdrojem bílkovin a dalších živin, jako jsou vitamíny rozpustné v tucích či mikroprvky (Khalili Tilami & Sampels 2018).

Díky nutričně hodnotnému složení rybího masa zájem o něj neustále roste. S rostoucí poptávkou po rybím masu se zároveň snižují světové zásoby ryb a mořských plodů, což vede k rostoucímu zájmu o akvakulturu a další způsoby chovu ryb. Sumeček africký se stává v posledních letech stále populárnějším, což zvýšilo jeho produkci a přispělo k jeho transformaci z nežádoucího na žádaný druh v mnoha afrických zemích (Abdel-Mobdy et al. 2021).

3.7.1 Recirkulační akvakulturní systémy (RAS)

Recirkulační akvakulturní systémy představují vnitřní zařízení pro chov ryb na pevnině. V těchto systémech jsou ryby umístěny v nádržích, které se nacházejí v kontrolovaném prostředí. K čištění vody se využívá filtrace, která odstraňuje metabolické odpady z rybí populace. Tato vyčištěná voda je poté recirkulována zpět do systému. Proces čištění vody probíhá pomocí mechanické a/nebo biologické filtrace, sterilizace a okysličováním. I když mohou RAS dosahovat různých úrovní sofistikovanosti a účinnosti, všechny mají společný znak, a to je vysoký stupeň (>90 %) opětovného využití vody. Recirkulační akvakulturní systémy jsou

mimořádně flexibilní a snadno upravitelné podle požadavků na chov konkrétního druhu ryb. Tyto systémy umožňují produkci jak sladkovodních, tak mořských druhů ryb, a to v teplé či studené vodě. Zároveň jak bylo uvedeno výše, jedná se uzavřené kontrolované prostředí s filtrací vody a je tedy vhodné i pro ryby, které jsou citlivé na kvalitu vody. Přestože RAS mají potenciál produkovat rozmanité druhy ryb, obvykle se využívají k chovu vysoce hodnotných ryb jako jsou sumec, úhoř, okoun, krevety, losos, mořský okoun, mořský vlk, jeseter, pstruh a tuňák. Vyšší provozní náklady jsou kompenzovány vysokou hustotou osazení a celoroční produkcí (Ahmed & Turchini 2021).

3.7.2 Akvaponický chov

Akvaponie je podtypem RAS, která spojuje akvakulturu, tedy chov ryb, a hydroponii, což je pěstování rostlin ve vodě bez půdy, do uzavřeného recirkulačního systému. V tomto symbiotickém prostředí je voda z nádrží, obohacená o živiny z rybiho odpadu, čerpána do biofiltru. Zde jsou odstraněny pevné látky a dojde k oxidaci anorganických sloučenin dusíku pomocí nitrifikačních bakterií. Tyto bakterie přeměňují amoniak a jiné dusičnany na nitráty, které jsou pro rostliny přirozeným zdrojem živin. Kořeny rostlin slouží jako filtr, absorbují živiny a čistí vodu, zatímco rostliny samy prosperují v živinami bohatém prostředí. Očištěná voda je pak opětovně vedena zpět do nádrže. Tím se vytváří uzavřený cyklus, ve kterém se ryby a rostliny vzájemně podporují (Short et al. 2017).

Tento systém není jen efektivní v produkci ryb a rostlin, ale má i další pozitivní dopady. Mimořádně účinně využívá vodu ve srovnání s tradičními zemědělskými metodami a přispívá k ochraně vodních ekosystémů snížením znečištění živinami. Díky svému uzavřenému charakteru je také mnohem odolnější vůči škůdcům a chorobám, což u rostlinné produkce vede k nižší spotřebě pesticidů a herbicidů (Pantanella 2018; Olanrewaju et al. 2022).

3.7.3 Zpracování rybiho masa

Zpracování ryb je nepostradatelnou součástí produkce rybích potravin, které zahrnuje mnoho fází, včetně příjmu, vykrvení, vykuchání, odstranění hlav, filetování, ořezávání a krájení. Další úkony mohou zahrnovat odstraňování šupin a stahování kůže. Po výlovu ryb je obvykle nutné provést předběžnou klasifikaci podle druhu a velikosti. Ryby se poté vykrví, aby se minimalizoval vliv krve na trvanlivost masa. Některé druhy ryb, jako je losos a pstruh, jsou po vykrvení chlazeny, což snižuje aktivitu bakterií a enzymů. Kromě toho je nezbytné ryby vykuchat. Následné zpracování se liší v závislosti na požadovaném konečném produktu, ať už se jedná o prodej ryb jako celku nebo jejich další zpracování na filety a menší kusy.

Proces porcování ryb je v porovnání s porcováním pevných potravin složitější kvůli odlišnostem. Při odstraňování nežádoucích částí jako jsou vnitřnosti, hlava, kosti a ploutve může výtěžnost ryby klesnout až na 30 %. V poslední době je snaha o zvýšení efektivity výroby

rybích produktů a čím dál tím více přechází k automatizaci. Mezi pokročilé způsoby řezání, které se začínají využívat během výroby patří řezání vodním proudem (WJC) a řezání pomocí ultrazvukových vibrací (UVAC). Tyto techniky zpracování jsou schopny dosáhnout vyšší přesnosti a kvality v porovnání s tradičním způsobem řezání (Fu et al. 2023).

3.7.3.1 Řezání vodním paprskem

Technologie řezání vodním paprskem se zdá být slibnou alternativou nabízející mnoho výhod oproti tradičním metodám. Pohyblivost a flexibilita umožňují řezání ve všech směrech a tím i zpracování komplikovaných zakřivených linií. Při řezání vodním paprskem nevznikají radiační zóny či teplo a je tak zajištěna čerstvost produktu a prodloužení jeho trvanlivosti. Navíc se eliminuje riziko křížové kontaminace a přenosu bakterií. Řezání vodním paprskem zahrnuje funkce zpracování a čištění, snižuje spotřebu vody a minimalizuje problémy s údržbou.

Moderní stroje pro řezání vodním paprskem se skládají z řídicí jednotky, stolu, polohového posuvného systému, vysokotlakého čerpadla a trysky. Tato technologie našla uplatnění při porcování ryb díky zvýšení efektivity výroby a výtěžku rybího filé. K tomu napomáhá i integraci robotů a vysoce přesné řezání masa. Přesto se stále potýká s výzvami jako je nízká řezná rychlost nebo vysoké náklady na údržbu. Faktory ovlivňující kvalitu výrobku jsou tlak a průtok vody, teplota rybího masa a mechanické vlastnosti vodního paprsku (Fu et al. 2023)

3.7.3.2 Řezání ultrazvukem

Systém řezání ultrazvukem (UVAC) využívá přerušovaného vibračního řezání, což efektivně snižuje řeznou sílu a zlepšuje kvalitu řezu. Tento inovativní systém se skládá z generátoru ultrazvukové energie, převodníku a řezného nástroje, který přeměňuje elektrickou energii na mechanickou vibrační energii. Tím dochází k zesílení vibrační energie do řezacího nástroje, což umožňuje snadné řezání materiálů s různou strukturou a minimalizuje energetické ztráty při pružných a plastických deformacích. Důležitým faktorem ovlivňujícím výkon UVAC jsou parametry zpracování, jako je rychlost ultrazvukových vibrací a rychlost řezání. Vyšší rychlost vibrací a nižší rychlost řezání obvykle slibují lepší výsledky. Studie rovněž ukázaly, že UVAC dokáže výrazně snížit třecí sílu díky své vlastnosti přerušovaného řezání a snížit tak teplotu při řezání.

Díky těmto vlastnostem se UVAC jeví jako vhodná alternativa k tradičním řezacím zařízením v robotických procesech porcování masa. Vysoký řezný výkon UVAC byl prokázán i při zpracování viskoelastických materiálů a jeho schopnost zachovat kvalitu a trvanlivost potravin představuje významnou výhodu pro masný průmysl. UVAC minimalizuje riziko kontaminace a potravin díky své lepší samočisticí schopnosti oproti konvenčním metodám, což

ho činí ideálním nástrojem pro operace porcování masa v masném průmyslu, nabízejícím nejen zvýšenou efektivitu, ale i zlepšenou kvalitu a bezpečnost potravin (Xu et al. 2023).

3.8 Skladování rybího masa

3.8.4 Mražení

Skladování ve zmraženém stavu je považováno za efektivní metodu pro dlouhodobé uchovávání masa. Nicméně toto opatření může mít nežádoucí vliv na jeho strukturu a chemické vlastnosti produktu. Během zamrazování vznikají krystalky, které mohou poškodit texturu masa a zvýšit riziko oxidace, což má za následek pokles jeho kvality. Rychlé a homogenní zmrazení přispívá k vytvoření menších a rovnoměrnějších krystalů ledu, což je klíčové pro zachování vysoké kvality masa. Existuje několik moderních technik zmrazování, jako je vysokotlaké zmrazování, kryogenní zmrazování, zmrazování ponořením do kapaliny a vzdušné šokové mrazničky. Teplota skladování se pohybuje od $-6\text{ }^{\circ}\text{C}$ až do $-40\text{ }^{\circ}\text{C}$, záleží na technologii zamrazování. Šokové mrazničky jsou nejjednodušší a velmi efektivní systémy pro produkty různých tvarů. Správné využití těchto technik může vést k optimálnímu zachování textury a kvality masa během jeho skladování (Sampels 2015).

3.8.5 Chlazení

I když je zmrazení účinnějším způsobem prodloužení trvanlivosti ryb, chlazené skladování si získává na popularitě mezi spotřebiteli díky dostupnosti chladicích řetězců a konceptů čerstvých mořských plodů. Chlazené ryby mají potenciál zachovat si původní chuť a texturu a nedochází k poškození ledovými krystalky během skladování (Hao et al. 2021).

Čerstvé ryby se obvykle udržují na drceném ledu, kdy je teplota masa mírně nad $0\text{ }^{\circ}\text{C}$. Chlazení je klíčové pro udržení čerstvosti a kvality ryb. Avšak nedochází k úplnému zastavení biochemických procesů, a proto je důležité chladit ryby co nejdříve po jejich ulovení. Například zpožděné chlazení pstruha duhového (*Oncorhynchus mykiss*) o 4 hodiny po ulovení zkrátilo dobu skladovatelnosti z 9–11 na 5–7 a po 8 hodinách dokonce na 1–3 dny (Rezaei et al. 2007). Vedle tradičních metod chlazení, jako jsou ledové vločky a chlazená mořská voda, se začínají uplatňovat nové technologie, jako je ledová kaše a průtokový led, které jsou účinnější při udržování nízkých teplot. Tyto technologie jsou často kombinovány s přísadami, jako jsou organické kyseliny a přírodní antioxidanty, které prodlužují trvanlivost ryb tím, že snižují oxidaci lipidů a mikrobiální růst. Studie naznačují, že přidání těchto přísad do chladicího média může výrazně prodloužit trvanlivost ryb a zachovat jejich kvalitu po delší dobu, což je klíčové pro minimalizaci ztrát v důsledku kazů a oxidace (Sampels 2015).

3.8.6 Modifikovaná atmosféra

Tato technologie využívá při skladování směsi plynů. Zvýšený podíl CO₂ se používá k potlačení běžných aerobních bakterií, jako jsou *Pseudomonas* a *Acinetobacter*. Kromě bakteriostatických vlastností má CO₂ také fungistatické vlastnosti. Dalšími typicky používanými plyny jsou kyslík (O₂), dusík (N₂) a oxid uhelnatý (CO). Pro rybí maso se v balení udržuje relativně vysoký podíl kyslíku, aby se zachovala jasně červená barva, což je pro spotřebitele znakem čerstvosti (Mireles Dewitt & Oliveira 2016).

Výzkumy ukazují, že modifikovaná atmosféra může výrazně prodloužit trvanlivost ryb. Například maso tresky obecné (*Gadus morhua*) lze, při teplotě 4 °C a upravené atmosféře skladování (75 % CO₂ a 25 % N₂) skladovat 55–60 dní. Podobné výsledky byly dosaženy i u dalších druhů, jako jsou losos a pstruh. Další výzkumy zkoumali použití antioxidantů, jako je rozmarýn a kyselina askorbová, a jejich kombinace s MAP, což by mohlo zvýšit stabilitu lipidů a barvy. Výsledky naznačují, že tato kombinace může významně zlepšit kvalitu a prodloužit trvanlivost ryb (Sampels 2015).

3.9 Kontaminace rybiho masa

Faktory ovlivňující mikrobiom ryb před odlovem jsou různé a zahrnují jak vnitřní, tak vnější faktory. Jedním z klíčových vnějších faktorů je vodní prostředí, může být zdrojem různých kontaminantů a patogenů, včetně antibiotikům rezistentních bakterií (ARB) a genů (ARG). Studie ukazují, že faktory jako teplota vody, sezónní změny a srážky mohou ovlivnit výskyt patogenů a reziduí antibiotik ve vodě. Dalším důležitým vnějším faktorem je sediment, který může sloužit jako vhodné prostředí pro růst bakterií a akumulaci kontaminantů jako jsou rezidua antibiotik a ARG. Množství těchto kontaminantů v sedimentu může být ovlivněné geografickou polohou, ale i časem odběru vzorku. Tyto faktory spolu s dalšími vnějšími a vnitřními faktory, jako jsou genetika ryb, dieta, stres a podmínky chovu, mohou mít vliv na mikrobiom ryb před odlovem, a nakonec i na kvalitu a bezpečnost rybích produktů.

Po odlovu je správný postup zpracování a manipulace klíčový pro bezpečnost rybích produktů. Mezi zdroje kontaminace po odlovu patří povrchy, které přicházejí do kontaktu s rybami (např. kráječ, pásový dopravník a nůž), povrchy, které nepřicházejí do styku s rybami (např. podlaha, odtok a stěny), personál (např. zástěry, rukavice a boty) a další (např. vzduch, led a voda). Hlavní pozornost je věnována lidským patogenům ve zpracovatelských zařízeních, která jsou hlavním zdrojem kontaminace ryb a rybích produktů. Studie ukázaly výskyt rezistentních patogenů ve zpracovatelských závodech, včetně mikroorganismů způsobujících kažení. Důležitou roli hraje i kontaminace na úrovni spotřebitelů a restaurací, kde se jako hlavní zdroje kontaminace uvádějí ruce, náčiní a další povrchy v kuchyních. Špatná manipulace s potravinami a nedostatečné dodržování hygienických postupů dále zvyšují riziko

kontaminace. Změny teplot během přepravy a skladování také představuje riziko pro bezpečnost rybích produktů (Sheng & Wang 2021).

3.9.1 Legislativa rybích produktů

V Evropě byla na základě nařízení Evropského parlamentu a Rady Evropské unie (ES) č. 178/2002, zaveden Evropský úřad pro bezpečnost potravin (EFSA) a přijaty postupy související s bezpečností potravin. Dále byly prostřednictvím nařízení ES č. 853/2004 stanoveny hygienické normy pro potraviny živočišného původu, včetně ryb, a v nařízení ES č. 854/2004 byla stanovena specifická pravidla pro organizaci úředních kontrol produktů živočišného původu určených k lidské spotřebě. Kromě toho nařízení ES č. 2074/2005 a nařízení ES č. 2406/96 upravují vizuální kontroly a kritéria čerstvosti produktů rybolovu a stanovují společné obchodní normy pro určité produkty rybolovu (Alejandro et al. 2019). Kritickou hodnotou CPM u neopraveného rybiho masa je pak 7 log KTJ/g, kterou doporučila Mezinárodní komise pro mikrobiologické specifikace potravin (ICMSF). Kritéria hodnocení čerstvosti ryb s tmavým masem masa jsou zobrazené v **Tabulce 1**.

Tabulka 1 Kritéria hodnocení čerstvosti ryb s tmavým masem dle ES č. 2406/96

Znak	Kritéria čerstvosti (podle nařízení (ES) č. 2406/1996)			
	Kategorie čerstvosti			Nevhodné pro výživu lidí
	EXTRA	A	B	
kůže	výrazná pigmentace, živé, lesklé a duhové barvy, zřetelný rozdíl mezi hřbetní a břišní stranou	bez lesku a třeptu, méně výrazné barvy, menší rozdíl mezi hřbetní a břišní stranou	matná, bez lesku, vybledlé barvy, při ohnutí ryby svráždělá kůže	velmi matná pigmentace, kůže se odděluje od masa
sliz	vodnatý, průhledný	lehce zakalený	mléčný	žlutavě šedý, neprůhledný
konzistence	velmi pevná, tuhá	dost tuhá, pevná	mírně měkká	měkká, ochablá
skřele	stříbřité	stříbřité, lehce načervenalé nebo nahnědlé	zhnědnutí a rozsáhlé krevní extravazace	žlutavé oko
oko	vypouklé, modročerná lesklá zornice, průhledná rohovka	vypouklé nebo lehce propadlé, tmavá zornice, lehce opalizující rohovka	ploché, zakalená zornice, rozsáhlé krevní extravazace v okolí oka	uprostřed vyduté, šedá zornice, mléčná rohovka
žábry	celé jasně purpurově červené barvy, bez slizu	méně jasné barvy, na okrajích bledší průhledný sliz	rozšiřující se, vybledávající, neprůhledný sliz	žlutavé, mléčný sliz
pach žaber	po čerstvých mořských řasách, pronikavý, jódový	bez pachu nebo bez pachu mořských řas, neutrální pach	masný, trochu šimý pach, pach po zkaženém slanině nebo shnilém ovoci	kyselý pach hniloby

3.10 Mikrobiologie rybího masa

Ryby ve svém mase obvykle neobsahují mikroorganismy, ty se typicky nacházejí pouze v kůži, žábřácích a trávicím traktu. Teprve po úhynu ryby dochází k rozšíření bakterií do masa. Počáteční mikrobiota rybího masa je charakteristická nízkou početností a vysokou diverzitou. Řada studií došla k závěru, že celkový počet životaschopných mikroorganismů v rybím mase obvykle dosahuje hodnot v rozmezí 3-4 log CFU/g. Kažení masa se pak projeví, když hodnota CPM překročí 7 log CFU/g. Původní mikrobiota zahrnuje širokou škálu rodů. Mezi nejčastěji vyskytující se gramnegativní rody patří *Pseudomonas*, *Shewanella*, *Psychrobacter*, *Pseudoalteromonas*, *Moraxella*, *Acinetobacter*, *Flavobacterium*, *Vibrio*, *Photobacterium* a *Aeromonas*, zatímco mezi grampozitivními rody nalezneme bakterie mléčného kvašení (BMK), *Micrococcus*, *Corynebacterium*, *Vagococcus*, *Bacillus* a *Clostridium*. V původní mikrobiální populaci se mohou vyskytovat i enterobakterie, stafylokoky, listerie a další mikroorganismy především jako kontaminační mikrobiota.

Složení původní mikrobioty je značně ovlivněno geografickým původem (mírný nebo tropický pás) a typem vody (mořská nebo sladká), kde tyto vodní organismy obývají. Ryby z chladných vod mírného pásma severního Atlantiku nebo Severního moře často obsahují psychrofilní a psychrotrofní gramnegativní mikroorganismy, jako jsou *Photobacterium*, *Shewanella*, *Psychrobacter* a *Pseudomonas*, zatímco ryby z teplejších vod temporálních oblastí, jako je Středozemní moře, mají podobné rody, ale s nižším výskytem psychrofilních mikroorganismů, jako je *Photobacterium*. Ryby z tropických vod mají obvykle podobné rody mikroorganismů, ale s vyšším podílem grampozitivních bakterií ve srovnání s rybami z mírného pásu. Ryby žijící ve sladkých vodách mají často vysoký výskyt *Pseudomonas*, *Aeromonas* a různých grampozitivních bakterií (Bevilacqua & Corbo 2016).

3.11 *Aeromonas spp.*

Aeromonas, je gramnegativní, fakultativně anaerobní tyčinkovitá bakterie, která patří do rodu *Aeromonadaceae*. Tato bakterie se běžně vyskytuje ve vodním prostředí. Svou přítomností může vyvolávat různé infekce u lidí, včetně gastroenteritidy, infekcí měkkých tkání, septikémií, hepatobiliárních infekcí, pleuropulmonálních infekcí, meningitidy, peritonitidy a hemolyticko-uremického syndromu. Rod *Aeromonas* zahrnuje psychrofilní a mezofilní bakterie, které mohou způsobovat nemoci jak u teplokrevných, tak u studenokrevných živočichů. Mezofilní druhy preferují teploty kolem 35-37 °C a jsou častou příčinou lidských infekcí, zatímco psychrofilní druhy se snadno množí při nižších teplotách okolo 22-25 °C a často napadají ryby. (De Silva et al. 2021) Mikroskopický snímek bakterie *Aeromonas* znázorňuje **Obrázek 6**.

Hlavními faktory virulence u *Aeromonas spp.* jsou různé extracelulární enzymy, jako jsou hydrolytické enzymy, serinová proteáza (ahp) a teplotně citlivá proteáza (epr), které

napomáhají šíření bakterie, zvyšují odolnost vůči imunitnímu systému hostitele a podporují vznik infekcí. Dále některé kmeny produkují lipázy, které způsobují rozpad plazmatické membrány erytrocytů hostitele během šíření bakterie v těle. Další virulentní faktory zahrnují nukleázy, elastázy a hemolyziny, které mohou poškozovat tkáň a způsobovat hemolýzu erytrocytů. Pórotvorný toxin aerocilin je hlavním virulentním faktorem, který u lidí způsobuje gastroenteritidu a otravu jídlem. Jeho aktivní forma vytváří póry v membránách buněk erytrocytů, což vede k jejich rozpadu (Majeed et al. 2023).

Studie provedená s cílem posoudit přítomnost *Aeromonas spp.* v syrových rybách a rybách určených k přímé spotřebě (RTE) se zaměřila na identifikaci faktorů virulence, které hrají klíčovou roli v jejich patogenitě. Celkem 125 vzorků syrových a RTE ryb bylo odebráno z různých rybích trhů a restaurací a testováno na přítomnost *Aeromonas*. Inkubace probíhala na speciálním médiu a izolované kolonie byly následně biochemicky potvrzeny a analyzovány na patogenitu. Výsledky ukázaly, že *Aeromonas spp.* byly přítomny v syrových rybách (40 % u volně žijících a 36 % u chovaných tilapií nilských) a v RTE rybách (16 % u smažené tilapie 28 %, u grilované tilapie a 20 % u smaženého sumečka). Identifikováno bylo několik druhů *Aeromonas*, přičemž většina izolátů produkovala faktory virulence, jako je hemolýza, proteáza a lipáza (Pessoa et al. 2022).

Aeromonas v současné době není zahrnuta v žádné směrnici pro mikrobiální kvalitu RTE potravin. Studie, která se zabývala prevalencí *Aeromonas* v RTE potravinách uvádí, že by mohl být navržen orientační limit 3–5 log CFU/g v potravinách určených k přímé spotřebě (Hoel et al. 2019).



Obrázek 6 Mikroskopický snímek bakterie *Aeromonas* (Yuan et al. 2021)

4 Metodika

V experimentální části této diplomové práce se zkoumal vliv různých druhů silic, konkrétně silic tymiánu, hřebíčku a voňatky citronové (lemongrass), na skladovatelnost a senzorké vlastnosti chlazených rybích filetů sumečka afrického (*Clarias gariepinus*). Pro tento experiment byla použita kombinace metod zahrnující mikrobiologickou a senzorkou analýzu. Během pokusu byla sledována mikrobiologická kvalita a bezpečnost skladovaných rybích filetů, konkrétně stanovení celkového množství mikroorganismů a detekce přítomnosti *Aeromonas spp.*

4.1 Příprava jílových nanočástic a emulze

Maso bylo pokryto dvěma různými typy ošetření, které obsahovaly přídavky silic. Konkrétně se jednalo o obaly s jílovými nanočásticemi a emulze. Oba druhy obalů byly připraveny s 10% koncentrací jednotlivých silic.

Pro výrobu jílového obalu byly použity jílové nanočástice s obchodním označením Nanoclay, hydrophilic bentonite (deklarované chemické složení $H_2Al_2O_6Si$, dodavatel Sigma-Aldrich, Saint Louis, USA), které byly smíchány s příslušnou silicí. Konkrétní množství jílu a silice bylo váženo na analytických vahách tak, aby výsledná koncentrace silice dosáhla 10 %. Poměry jílu a jednotlivých silic jsou uvedeny v **Tabulce 2**. Směsi jílu a silic byly následně ošetřené při teplotě 50 °C po dobu 24 hodin v uzavřené nádobě, aby došlo k vstřebání silice do jílu.

Tabulka 2 Poměry silice a jílu při přípravě jílového obalu

Silice	Výrobce	CAS	Množství silice (μl)	Množství jílu (mg)
Tymián	SAFC	8007-46-3	1 251	10 125
Hřebíček	Biomedica	800-34-8	1 113	10 125
Lemongrass	Sigma-Aldrich	8007-02-1	1 125	10 125

Vodná emulze byla vytvořena smícháním silice s tweenem 80 a destilovanou vodou. Pro dosažení 10% koncentrace v požadovaném množství 20 ml byla připravena směs v poměru 2 ml silice, 2 ml tween 80 a 16 ml destilované vody. Směs byla homogenizována pomocí homogenizátoru IKA Ultra-Turrax T 18 digital (IKA, Švédsko) po dobu přibližně 3 minut při otáčkách a následně přelita do uzavíratelných vialk o objemu 10 ml.

4.2 Příprava vzorků rybího masa

Pro účely této diplomové práce byly vybrány filety bez kůže ze sumečka afrického. Toto maso pocházelo z akvaponického chovu, konkrétně od výrobce AQUAPONIA s.r.o. Celkově bylo připraveno 135 vzorků o přibližné hmotnosti 5 g. Vzorky byly rozděleny na 3 skupiny. Jedna skupina byla ošetřena nanočásticemi, druhá emulzí a třetí skupina byla kontrolní. V prvních dvou skupinách byly vzorky ošetřeny silicí tymiánu, voňatky nebo hřebíčku. Kontrolní skupina obsahovala vzorky ošetřené buďto čistým jilem, destilovanou vodou nebo nebyly ošetřené vůbec.

Tabulka 3 Rozpis vzorků

Typ obalu	Silice	Den analýzy				
		3.	6.	9.	12.	15.
Jíl	Tymián (TJ)	A	A	A	A	A
		B	B	B	B	B
		C	C	C	C	C
	Lemongrass (LJ)	A	A	A	A	A
		B	B	B	B	B
		C	C	C	C	C
	Hřebíček (HJ)	A	A	A	A	A
		B	B	B	B	B
		C	C	C	C	C
Emulze	Tymián (TE)	A	A	A	A	A
		B	B	B	B	B
		C	C	C	C	C
	Lemongrass (LE)	A	A	A	A	A
		B	B	B	B	B
		C	C	C	C	C
	Hřebíček (HE)	A	A	A	A	A
		B	B	B	B	B
		C	C	C	C	C
Kontrola	Jíl (KJ)	A	A	A	A	A
		B	B	B	B	B
		C	C	C	C	C
	Voda (KV)	A	A	A	A	A
		B	B	B	B	B
		C	C	C	C	C
	Nic (KN)	A	A	A	A	A
		B	B	B	B	B
		C	C	C	C	C

Na všechny vzorky bylo nanesené stejné množství: 750 mg nanojílů nebo 750 μ l emulze/destilované vody a byly připraveny ve 3 opakování. Vzorky byly následně uzavřeny do petriho misky o velikosti 75 mm a utěsněny parafínovou páskou. Všechny vzorky byly

připraveny ve stejný den a byly skladované při 4 °C po dobu 15 dní. Detailní rozpis a označení vzorku lze vidět v **Tabulce 3**.

4.3 Mikrobiologická analýza

Vyhodnocení probíhalo každý 3. den (3., 6., 9., 12. a 15.). Vzorky byly vloženy do plastového sáčku určeného pro zpracování ve stomacheru a bylo přidáno takové množství peptonové vody, aby došlo 30násobnému zředění vzorku. Následně byl vzorek homogenizován ve stomacheru po dobu 40 sekund. Poté byl odebrán 1 ml homogenizovaného vzorku do mikrozkušavky. Z mikrozkušavky bylo následně pomocí spirálového dávkovače (výrobce) nanášeno 50 µl na petriho misku s Plate Count Agarem (PCA) nebo na selektivní agar pro *Aeromonas spp.* (ASA). Pro každý vzorek byly připraveny 2 petriho misky s PCA a ASA agarem. Kultivace mikroorganismů probíhala 40 hodin při 30 °C. Počty kolonií byly následně vyhodnocené pomocí počítačky kolonií Premium HR 90 (VWR, ČR).

4.4 Senzorická analýza

Cílem senzorické analýzy bylo určit, zdali silice nemají negativní vliv na organoleptické vlastnosti masa, případně jaká silice či typ obalu má lepší vliv na senzorické vlastnosti. Na základě mikrobiologické analýzy byly vybrány dvě silice (tymián a hřebíček) ve formě nanojílů a u tymiánové silice byla ještě testována emulze. K porovnání byla vybrána kontrola bez žádného ošetření. Jednalo se tedy o varianty ošetření TE, TJ, HJ a KN.

Příprava masa probíhala den před senzorickou analýzou, kdy byly celé filety ošetřeny silicemi. Postup byl shodný s procesem popsáním v kapitole 4.1. Každý kus masa byl obalen tak, aby byl pokryt celý povrch masa viz **obrázek 7**. Následně se maso zavakuovalo a skladovalo při teplotě 4 °C po dobu 24 h. Senzorická analýza byla realizována ve Výzkumném ústavu živočišné výroby v Uhřetěbově. Úprava masa byla provedena tak, že filety byly nejdříve upečeny při teplotě 70 °C, následně se vzorky rozdělili tak, aby každý hodnotitel měl 4 sety po



Obrázek 7 Filet obalený jílem se silicí

4 vzorcích. 1 set se skládal ze vzorků TE, TJ, HJ a KN. Po nakrájení filetů byly vzorky uloženy do skleniček s víčkem a dány opět do pece, kde se vzorky ohřívaly při teplotě 50 °C do doby, než začala sensorická analýza (cca 20 minut). Sensorické analýzy se účastnilo 8 proškolených hodnotitelů, kteří posuzovali vzorky dle 10 deskriptorů uvedených v **tabulce 4**.

Tabulka 4 Posuzované deskriptory při sensorické analýze

Deskriptor	Popis vlastnosti	Způsob hodnocení	Škála
Příjemnost vůně	Hedonické hodnocení přijatelnosti vůně	před konzumací vzorku	0 = nepřijatelné 100 = velmi přijatelné
Intenzita vůně rybího masa	Výskyt typické vůně pro rybí maso	před konzumací vzorku	0 = bez intenzity 100 = velmi intenzivní
Intenzita abnormální vůně	Výskyt nepřírozené vůně	před konzumací vzorku	0 = bez intenzity 100 = velmi intenzivní
Intenzita vůně koření	Výskyt vůně po koření	před konzumací vzorku	0 = bez intenzity 100 = velmi intenzivní
Konzistence	Textura vzorku při skusu	po pěti až deseti kousnutí stoličkami	0 = velmi nesoudržná či blátivá 100 = pevná na skusu
Příjemnost chuti	Hedonické hodnocení přijatelnosti chuti	po pěti až deseti kousnutí stoličkami	0 = nepřijatelné 100 = velmi přijatelné
Intenzita chuti rybího masa	Výskyt chuti typické pro rybí maso	po pěti až deseti kousnutí stoličkami	0 = bez intenzity 100 = velmi intenzivní
Intenzita abnormální chuti	Výskyt nepřírozené chuti	po pěti až deseti kousnutí stoličkami	0 = bez intenzity 100 = velmi intenzivní
Intenzita chuti koření	Výskyt chuti po koření	po pěti až deseti kousnutí stoličkami	0 = bez intenzity 100 = velmi intenzivní
Celková přijatelnost	Preference mezi předkládanými vzorky	po dokončení předchozích hodnocení	0 = nepřijatelné 100 = velmi přijatelné

4.5 Vyhodnocení dat

Výsledné hodnoty z mikrobiologické analýzy byly vyhodnoceny pomocí programu SPSS Statistics na hladině významnosti $\alpha = 0,05$. Pro vyhodnocení statistických rozdílů mezi jednotlivými ošetřeními byl použit ANOVA test doplněný Tukeyho *post-hoc* testem.

Výsledky senzorické analýzy byly vyhodnoceny ve statistickém Programu SAS (verze 9.4). Data byla analyzována prostřednictvím smíšeného lineárního modelu (MIXED) s použitím metody REML. Modelová rovnice zahrnovala pevný efekt způsobu ošetření a náhodný efekt hodnotitele. Data jsou prezentována v tabulce 8 jako čtverce nejmenšího průměru (LSM) s příslušnou standardní chybou (SEM). Rozdíly mezi jednotlivými skupinami byly hodnoceny Tukeyho *post-hoc* testem.

5 Výsledky

5.1 Mikrobiologická analýza

Mikrobiologickou analýzou byl hodnocen celkový počet mikroorganismů (CPM) a počet kolonií bakterií *Aeromonas spp.* (AS) v rybím mase, které bylo skladováno po dobu 15 dnů při teplotě 4 °C. Na začátku experimentu byla počáteční hodnota CPM 4,64 log KTJ/g a u AS 4,89 log KTJ/g. Vyhodnocení bylo provedeno každý 3. den skladování (tj. 3., 6., 9., 12. a 15.). Cílem mikrobiologické analýzy bylo zjistit, které ze silic tymiánu, hřebíčku a citronové trávy mají nejsilnější antimikrobiální účinek a zdali existují statisticky významné rozdíly v antibakteriálních účincích mezi různými typy ošetření (enkapsulace či emulze). Po předchozím odzkoušení různých koncentrací silic (2,5%, 5% a 10%) bylo zjištěno, že antibakteriální účinky zajišťovala pouze 10% koncentrace.

V **Tabulce 5** a jsou prezentované hodnoty CPM u vzorků ošetřených jednotlivými silicemi a v **Tabulce 6** jsou pak zahrnuté i typy aplikace (silice s nanojilem/emulze). **Tabulky 7 a 8** pak uvádějí hodnoty nárůstu *Aeromonas spp.* Všechny výsledky v tabulkách jsou prezentovány jako logaritmy KTJ/g.

5.1.2 Celkový počet mikroorganismů

Jak lze vyčíst z **Grafu 1**, během skladování byly zaznamenány podstatné rozdíly v nárůstu CPM mezi použitím jednotlivých silice. Nedošlo však k celkové inhibici mikroorganismů. **Graf 2** pak detailněji znázorňuje vliv typu ošetření na hodnoty CPM.

Tabulka 5 Hodnoty nárůstu CPM. dle jednotlivých druhů silic

Den skladování	Silice				Významnost
	Tymián	Hřebíček	Lemongrass	Kontrola	
3	6,18 ^b ±0,09	6,89 ^b ±0,22	8,79 ^a ±0,25	8,11 ^a ±0,26	<0,001
6	6,82 ^c ±0,03	7,43 ^b ±0,28	9,12 ^a ±0,02	9,13 ^a ±0,1	<0,001
9	7,65 ^b ±0,30	8,01 ^b ±0,31	9,12 ^a ±0,02	9,20 ^a ±0,1	<0,001
12	9,00 ±0,20	8,81 ±0,27	9,26 ±0,03	9,26 ±0,02	0,109
15	9,28 ±0,02	8,99 ±0,18	9,30 ±0,04	9,24 ±0,01	0,066

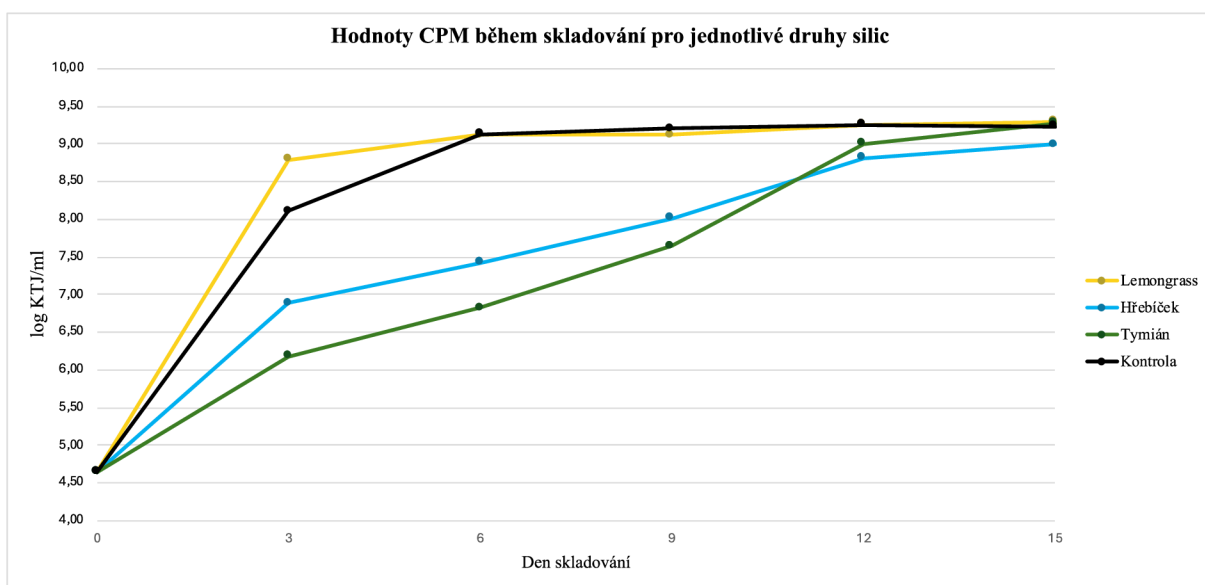
^{a, b, c} hodnoty označené různými symboly se navzájem statisticky liší ($P < 0,05$)

Tabulka 6 Hodnoty CPM dle daných typů ošetření

Den skladování	Typ ošetření									Významnost
	TJ	TE	HJ	HE	LJ	LE	KJ	KV	KN	
3	5,99 ^e ±0,04	6,38 ^e ±0,12	6,90 ^{bc} ±0,07	6,88 ^{de} ±0,08	8,44 ^{abc} ±0,47	9,14 ^a ±0,04	7,99 ^{bc} ±0,50	8,71 ^{ab} ±0,35	7,63 ^{cd} ±0,44	<0,001
6	6,81 ^b ±0,05	6,83 ^b ±0,02	7,26 ^b ±0,35	7,59 ^b ±0,45	9,14 ^a ±0,02	9,10 ^a ±0,02	9,14 ^a ±0,02	9,11 ^a ±0,03	9,13 ^a ±0,02	<0,001
9	7,63 ^b ±0,44	7,66 ^b ±0,44	8,02 ^{ab} ±0,46	8,00 ^{ab} ±0,46	9,11 ^a ±0,03	9,13 ^a ±0,03	9,15 ^a ±0,02	9,23 ^a ±0,02	9,23 ^a ±0,02	<0,001
12	8,77 ±0,39	9,23 ±0,01	8,78 ±0,39	8,85 ±0,40	9,23 ±0,02	9,30 ±0,05	9,24 ±0,02	9,23 ±0,03	9,31 ±0,06	0,429
15	9,33 ±0,01	9,24 ±0,04	9,21 ±0,03	8,77 ±0,36	9,38 ±0,05	9,22 ±0,02	9,18 ±0,01	9,22 ±0,02	9,30 ±0,01	0,067

a, b, c, d, e hodnoty označené různými symboly se navzájem statisticky liší (P < 0,05)

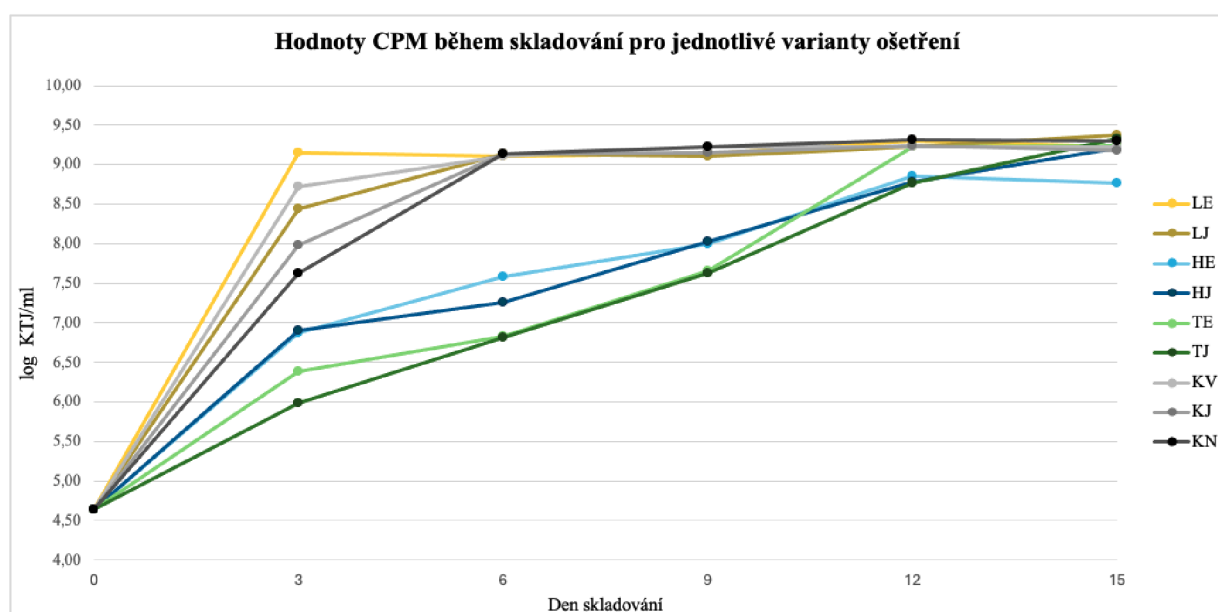
Po 3 dnech skladování nejlepších výsledků dosahovaly oba typy ošetření silic tymiánu a hřebíčková emulze. Nejnižší nárůst bakterií byl zaznamenán u vzorků s použitím silice tymiánu, konkrétně 5,99 log KTJ/g pro jílové částice (TJ) a 6,38 log KTJ/g pro emulzi (TE). Tento trend se opakoval i po 6 a 9 dnech skladování, kde vzorky s ošetřením TJ dosáhly po 6 dnech 6,81 log KTJ/g a 7,63 log KTJ/g po 9 dnech, zatímco vzorky TE dosáhly 6,83 log KTJ/g po 6 dnech a 7,66 log KTJ/g po 9 dnech.



Graf 1 Průměrné hodnoty CPM u jednotlivých druhů silic

Také u vzorků HE byl po 3 dnech zaznamenán nižší nárůst mikroorganismů než u kontrol, konkrétně 6,88 log KTJ/g. Naopak u vzorku HJ bylo naměřeno 7,90 log KTJ/g a nebyl tedy zjištěn žádný statistický rozdíl mezi tímto vzorkem a KN. Po 6 dnech skladování celkový počet mikroorganismů u vzorků HE a HJ dosáhl hodnot 7,59 a 7,26 log KTJ/g. Na základě statistické analýzy lze konstatovat, že po uplynutí této doby neexistuje významný rozdíl v antibakteriálním účinku silic hřebíčku a tymiánu. Po 9 dnech skladování dosáhly hodnoty CPM u vzorků HE 8,00 log KTJ/g a u HJ 8,02 log KTJ/g. V porovnání se silicí tymiánu jsou CPM o něco vyšší a však statisticky rozdílné nejsou.

Poslední testovanou silicí byla silice voňatky citronové. Ani u jedné z variant (LJ nebo LE) nebyl prokázán antibakteriální účinek. Podobně tomu pak bylo i ve 4. a 5. měření, provedeném 12. a 15. den, kdy nebyly zjištěny žádné rozdíly mezi silicemi a jejich typy ošetření.



Graf 2 Průměrné hodnoty CPM u jednotlivých typů ošetření

5.1.3 *Aeromonas spp.*

Souběžně s analýzou CPM probíhalo testování antibakteriálních účinků silic proti bakteriím *Aeromonas spp.* Obdobně jako u CPM nejlepších výsledků po 3 dnech skladování dosáhly obě varianty tymiánové silice, avšak neexistuje statisticky významný rozdíl mezi vzorky tymiánovou silicí a kontrolami KJ a KN. Nejmenší nárůst bakterií byl zaznamenán u vzorků TJ 5,89 log KTJ/g a druhý nejmenší u TE 6,43 log KTJ/g. Po 6 dnech skladování došlo v porovnání s kontrolami ke zpomalení růstu bakterií AS, kdy hodnoty TJ byly 7,60 log KTJ/g a TE 7,98 log KTJ/g. Posledním měřením, kdy ještě měla silice tymiánu vliv na růst AS bylo po 9 dnech skladování. U vzorků s úpravou TJ bylo napočítáno 8,46 log KTJ/g a u TE 8,62 log KTJ/g.

Tabulka 7 Hodnoty nárůstu *Aeromonas* spp. dle jednotlivých druhů silic

Den skladování	Silice				Významnost
	Tymián	Hřebíček	Lemongrass	Kontrola	
3	6,16 ^c ±0,09	7,22 ^b ±0,33	9,10 ^a ±0,02	7,42 ^b ±0,24	<0,001
6	7,79 ^c ±0,32	8,21 ^{bc} ±0,34	9,21 ^a ±0,02	8,34 ^{ab} ±0,19	0,002
9	8,54 ^b ±0,34	8,05 ^b ±0,34	9,10 ^a ±0,01	9,10 ^a ±0,01	0,002
12	9,21 ±0,03	8,68 ±0,26	9,24 ±0,03	9,10 ±0,14	0,063
15	9,21 ±0,02	9,15 ±0,03	9,25 ±0,02	9,22 ±0,01	0,054

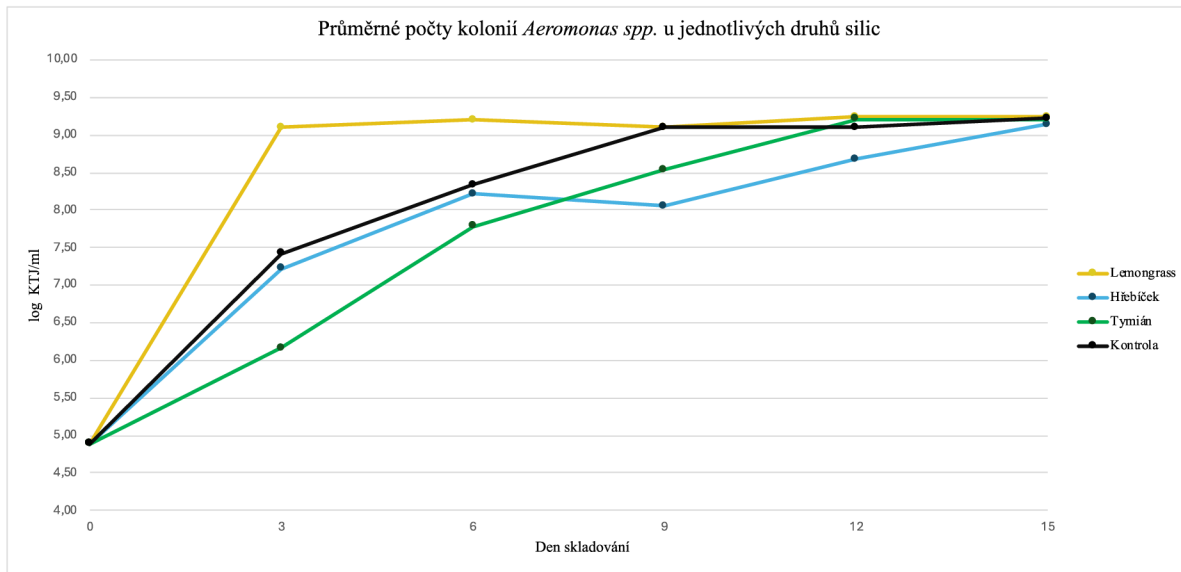
a, b, c hodnoty označené různými symboly se navzájem statisticky liší ($P < 0,05$)

Tabulka 8 Hodnoty nárůstu *Aeromonas* spp. dle daných typů ošetření

Den skladování	Typ ošetření									Významnost
	TJ	TE	HJ	HE	LJ	LE	KJ	KV	KN	
3	5,89 ^{def} ±0,07	6,43 ^{def} ±0,07	7,85 ^{abc} ±0,57	6,59 ^{cde} ±0,06	9,06 ^a ±0,01	9,14 ^a ±0,02	7,13 ^{bcd} ±0,38	8,31 ^{ab} ±0,46	6,83 ^{cde} ±0,05	<0,001
6	7,60 ^b ±0,45	7,98 ^{ab} ±0,47	7,63 ^b ±0,50	8,79 ^{ab} ±0,37	9,15 ^a ±0,02	9,26 ^a ±0,02	9,08 ^a ±0,01	9,08 ^a ±0,02	9,10 ^a ±0,02	<0,001
9	8,46 ^b ±0,47	8,62 ^b ±0,52	7,73 ^c ±0,50	8,37 ^b ±0,45	9,10 ^a ±0,02	9,11 ^a ±0,02	9,08 ^a ±0,01	9,07 ^a ±0,01	9,15 ^a ±0,02	0,040
12	9,27 ±0,02	9,15 ±0,03	8,68 ±0,38	8,67 ±0,40	9,26 ±0,06	9,22 ±0,03	9,10 ±0,02	9,15 ±0,03	8,80 ±0,44	0,397
15	9,20 ^{ab} ±0,03	9,21 ^{ab} ±0,03	9,10 ^b ±0,02	9,21 ^{ab} ±0,06	9,22 ^{ab} ±0,04	9,27 ^a ±0,01	9,24 ^{ab} ±0,02	9,17 ^{ab} ±0,03	9,26 ^{ab} ±0,01	0,022

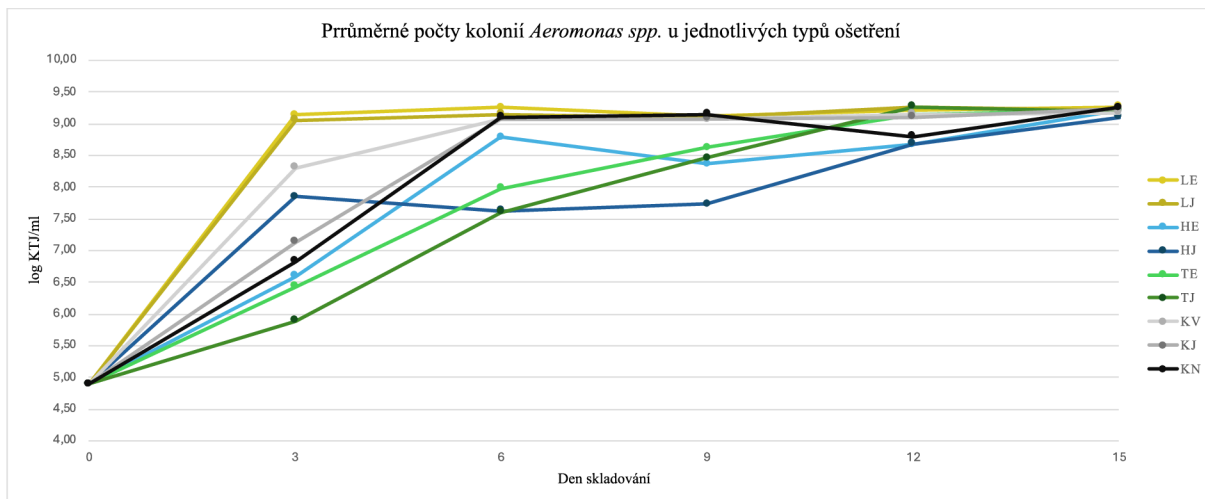
a, b, c, d, ... hodnoty označené různými symboly se navzájem statisticky liší ($P < 0,05$)

Maso ošetřené hřebíčkovou silicí zaznamenalo po 3 dnech větší nárůst kolonie AS než vzorky s tymiánem. Lepších inhibičních výsledků dosáhl vzorek HE v porovnání s HJ, kdy nárůst u masa s HE úpravou byl 6,59 log KTJ/g a s HJ 7,85 log KTJ/g. Po 6 dnech skladování došlo k vyššímu nárůstu AS u vzorků HE na hodnotu 8,79 log KTJ/g, zatímco u masa ošetřeného HJ se počet kolonií navýšil jen na 7,63 KTJ/g. Také po 9 dnech nedošlo k příliš velkému nárůstu bakterií a HJ mělo s hodnotou 7,73 log KTJ/g nejlepší výsledek ze všech typů ošetření. Vzorky HE s hodnotou 8,37 log KTJ/g dosáhly podobných výsledků jako maso ošetřené tymiánovou silicí.



Graf 3 Průměrné hodnoty nárůstu *Aeromonas spp.* dle druhů silic

V neposlední řadě byla testována i silice voňatky citronové, a jak lze vidět na **Grafech 3 a 4**, neprojeví se žádné antibakteriální účinky a měla tak ze všech testovaných silic nejvyšší nárůst bakterií AS v průběhu skladování. Od 12. dne skladování nebyl potvrzen vliv na růst bakterií AS ani u jednoho z použitých typů ošetření.



Graf 4 Průměrné hodnoty nárůstu *Aeromonas spp.* dle typů ošetření

5.2 Senzorická analýza

Data ze sensorické analýzy znázorněné v **Grafu 5** jasně naznačují, že kontrolní vzorek, který nebyl nijak ošetřený silicemi, dosáhl lepších organoleptických výsledků u většiny sledovaných deskriptorů. Při analýze přijatelnosti vůně vzorků se ukázalo, že kontrola (KN) převyšuje ostatní varianty, tj. hřebíček (HJ), tymián-jíl (TJ) a tymián-emulze (TE). Tyto typy ošetření dosahují nižších hodnocení, avšak mezi nejlépe hodnocenými vzorky ošetřených silicemi byl TJ. Dle dat uvedených v **Tabulce 8** nebyl mezi ním a KN zjištěn statisticky významný rozdíl. Nejintenzivnější vůně rybiho masa byla hned po KN zjištěna u TJ. V kategorii abnormální vůně byl nejhůře hodnocen vzorek TE, mezi vzorky TJ a HJ nebyl zjištěn staticky významný rozdíl a nejlépe hodnocena byla opět kontrola. Nejvýraznější chuť koření byla zaznamenána u vzorků HJ a TE. U masa s úpravou TJ byla intenzita vůně koření ohodnocena jako méně výrazná v porovnání s ostatními silicemi.

Tabulka 9 Hodnocení deskriptorů ze sensorické analýzy

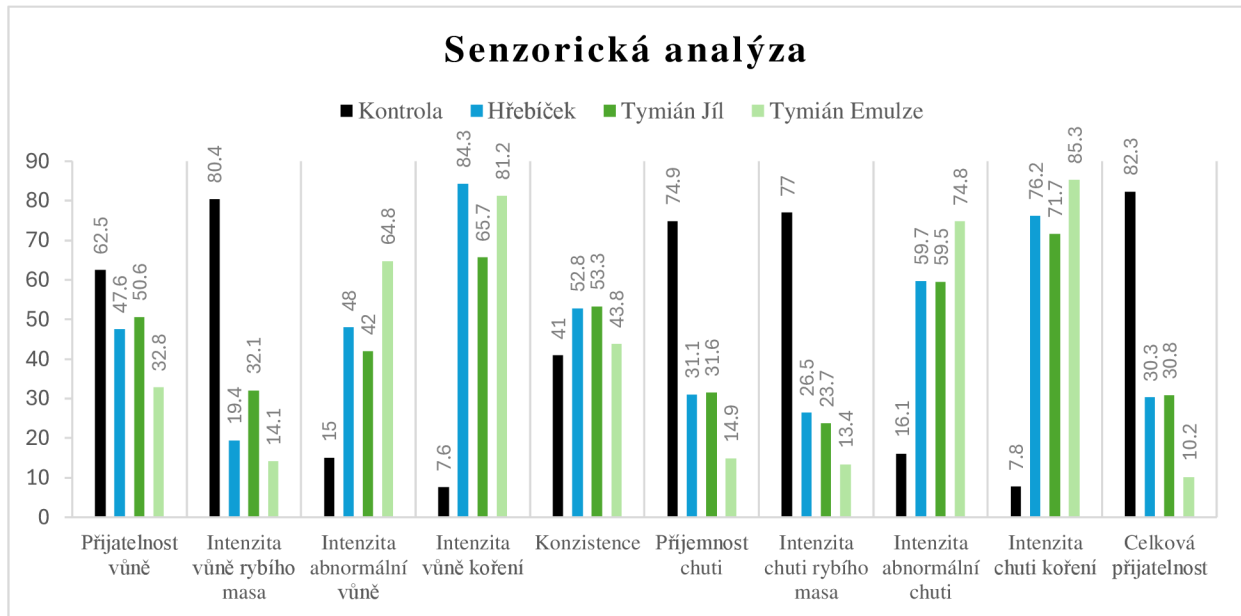
	Typ ošetření				SEM	Významnost
	Kontrola LSM	Hřebíček LSM	Tymián Jíl LSM	Tymián Emulze LSM		
Přijatelnost vůně	62,5 ^a	47,6 ^b	50,6 ^{ab}	32,8 ^c	4,45	<0,001
Intenzita vůně rybiho masa	80,4 ^a	19,4 ^c	32,1 ^b	14,1 ^c	3,75	<0,001
Intenzita abnormální vůně	15,0 ^c	48,0 ^b	42,0 ^b	64,8 ^a	7,20	<0,001
Intenzita vůně koření	7,6 ^c	84,3 ^a	65,7 ^b	81,2 ^a	2,93	<0,001
Konzistence	41,0 ^b	52,8 ^a	53,3 ^a	43,8 ^b	4,61	0,030
Příjemnost chuti	74,9 ^a	31,1 ^b	31,6 ^b	14,9 ^c	4,04	<0,001
Intenzita chuti rybiho masa	77,0 ^a	26,5 ^b	23,7 ^b	13,4 ^c	4,61	<0,001
Intenzita abnormální chuti	16,1 ^c	59,7 ^b	59,5 ^b	74,8 ^a	7,12	<0,001
Intenzita chuti koření	7,8 ^c	76,2 ^{ab}	71,7 ^b	85,3 ^a	3,92	<0,001
Celková přijatelnost	82,3 ^a	30,3 ^b	30,8 ^b	10,2 ^c	4,20	<0,001

^{a, b, c} hodnoty označené různými symboly se navzájem statisticky liší ($P < 0,05$)

Co se týče chuti masa, data jsou obdobná jako u vůně. KN vyniká ve své přijatelnosti chuti výrazně více než ostatní varianty. Nejhůře hodnoceným vzorkem ve většině sledovaných kategorií byl TE. Mezi vzorky HJ a TJ nebyly zjištěny statistické rozdíly v příjemnosti chuti, intenzitě rybiho masa, rybí chuti a chuti koření.

Celkově lze konstatovat, že kontrola dosáhla nejlepších hodnocení ve většině sledovaných kategorií a také v celkové přijatelnosti. Dalšími nejlépe hodnocenými variantami

jsou úpravy TJ a HJ. Naopak TE byla nejhůře hodnocenou variantou ve většině sledovaných deskriptorů a dosáhla i nejnižší celkové přijatelnosti.



Graf 5 Grafické znázornění dat ze senzoričké analýzy

6 Diskuse

V rámci této diplomové práce bylo zkoumáno, zdali má použití silic tymiánu, hřebíčku a citronové trávy vliv na skladovatelnost chlazených filetů ze sumečka afrického (*Clarias gariepinus*) a zároveň, jestli silice negativně neovlivňují senzoričné vlastnosti masa.

Z výsledků je patrné, že nejlepších hodnot dosáhla silice tymiánu. Použitím této silice pro prodloužení skladování rybího masa se zabývali i Javadian et al. (2017). Maso bylo podobně jako v případě experimentu v rámci této práce skladované po dobu 15 dní a každý 3. den probíhala kontrola. Během tohoto experimentu bylo rybí maso ošetřeno obalem z liposomů obohacených tymiánovou silicí. Studie uvádí, že maximální přípustnou hranici CPM 7 log KTJ/g, kterou doporučuje Mezinárodní komise pro mikrobiologické specifikace potravin, překročily některé ošetřené vzorky až 11. den skladování. V porovnání s kontrolou byla tato hodnota překročena o 5–6 dní později. V našem případě maso ošetřené tymiánovou silicí překročilo přípustnou hranici CPM po 6–7 dnech skladování. Avšak kontrolní vzorky nesplňovaly tuto hodnotu už po 1–2 dnech. Lze tedy konstatovat, že tymiánová silice během našeho experimentu také prodloužila skladovatelnost o 5–6 dní. Možným důvodem vyšších hodnot CPM mezi našimi výsledky a výsledky Javadian et al. (2017) může být krom rozdílného způsob ošetření i mikrobiologická kvalita masa, jelikož počáteční hodnota CPM u našich vzorků byla 4,64 log KTJ/g, za to u vzorků použitých ve zmíněné studii byla pouze 3,25 log KTJ/g.

K podobným výsledkům dospěla i studie Erkan et al. (2011), která se zabývala silicemi tymiánu a vavřínu a jejich vlivu na kvalitu masa lufary dravé (*Pomatomus saltatrix*) během skladování na ledu po dobu 13 dnů. Výsledkem studie bylo, že tymiánová silice byla účinnější proti bakteriím v porovnání se silicí vavřínu a kontrole. Zároveň dokázaly, že silice tymiánu může prodloužit skladovatelnost rybího masa o 3–4 dny.

Druhou silicí, u které byly zjištěny antibakteriální účinky byla silice hřebíčku. Dle výsledků má však v porovnání se silicí tymiánu horší inhibiční vlastnosti. Rao et al. (2017) porovnávali antibakteriální účinky hřebíčkové a tymiánové silice přidávaných do alginátového obalu. Tento typ obalu byl zkoušen na vzorcích masa pangase spodnookého (*Pangasianodon hypophthalmus*). Z jejich výzkumu vyplývá, že silice hřebíčku je v porovnání s tymiánovou silicí relativně méně účinná, nicméně stále existovaly signifikantní rozdíly mezi hřebíčkem a kontrolou.

Li et al. (2017) testovali účinky hřebíčkové silice v kombinaci s chitosanovým povlakem na kvalitu a trvanlivost chlazených filetů z platýse olivového (*Paralichthys olivaceus*). Účinky povlaku chitosanu v kombinaci s hřebíčkovou silicí byly zkoumány během 15denního skladování. Vzorek ošetřený chitosanovým obalem s hřebíčkovou silicí nepřesáhl v průběhu celého experimentu hodnotu 7 log KTJ/g a prodloužil tak skladovatelnost o 6 dní. V našem případě vzorky ošetřené HJ i HE překročily přípustnou hranici CPM přibližně už po 3 dnech

skladování, což je o 1–2 dny déle v porovnání s kontrolními vzorky. Příčinou rozdílných výsledků může být způsob ošetření. Samotný chitosanový obal zřejmě inhiboval růst bakterií a z výsledků vyplývá, že prodloužil skladovatelnost přibližně o 4 dny.

Poslední silicí, která byla v této diplomové práci testovaná je silice citronové trávy. Dle výsledků ani jedna z variant ošetření (LJ, LE) neměla žádný vliv na prodloužení skladovatelnosti rybího masa. Zhou et al. (2023), jejichž studie se zabývala účinkem kombinace silic citronové trávy či skořice s různými koncentracemi čajových polyfenolů zjistili, že rozdíl v nárůstu CPM nebyl mezi samotnou silicí a kontrolou výrazný. Hodnoty CPM u vzorků ošetřeného samotnou silicí citronové trávy dosahovaly 8,53 log KTJ/g, zatímco u kontrolních vzorků 8,68 log KTJ/g. Krom testování skladovatelnosti proběhlo testování antibakteriálních účinků in vitro. Účinnost silic byla testována pomocí testu inhibice růstu proti 4 bakteriím (*Escherichia coli*, *Listeria monocytogenes*, *Aeromonas hydrophila* a *Staphylococcus aureus*). Silice citronové trávy měla inhibiční účinek pouze vůči *Escherichia coli*. Mnohem lepších výsledků dosáhla až kombinace silice s čajovými polyfenoly. Výsledky ukázaly, že přidání čajových polyfenolů zvýšilo antioxidační a antimikrobiální aktivitu silice. Během konzervace mořských ryb tato kombinace mírně potlačila růst mikroorganismů a snížila viditelný rozpad a změny v chuti.

Důvod menší účinnosti citronové trávy proti kažení můžeme najít ve studii Kamona & Alzobaay (2021), která zkoumala vliv této silice na skladovatelnost rybích kuliček. V této studii byly zkoumány minimální inhibiční koncentrace (MIC) a minimální baktericidní koncentrace (MBC) vůči vybraným grampozitivním a gramnegativním bakteriím. Zatímco hodnoty MIC a MBC pro grampozitivní bakterie činily 3 a 6,5 %, pro gramnegativní bakterie dosahovaly hodnoty až 25 a 50 %. Například Saidi et al. (2012) ve své studii uvádějí hodnoty MIC a MBC tymiánové silice proti *E. coli* 0,625 a 1,25 %. Na základě vyšších hodnot MIC a MBC byly vzorky rybích kuliček ošetřené 5 a 10 µl/g a skladovány v chladu po dobu 15 dní. Nakonec bylo zjištěno, že silice snižují počet mikroorganismů a prodlužuje trvanlivost rybích kuliček během skladování.

Co se týče účinnosti silic vůči bakteriím *Aeromonas* spp., nejlépe si opět vedla silice tymiánu společně se silicí hřebíčku, zatímco silice citronové trávy i v tomto případě nevykazovala žádné inhibiční účinky. Jak je uvedeno výše, Zhou et al. (2023) také nezaznamenali žádné inhibiční účinky u této silice. Oproti tomu výsledky, které ve své studii uvádějí Starliper et al. (2015) naznačují opak. V této studii byl nejdříve proveden inhibiční test 12 silic proti *Aeromonas salmonicida subsp. salmonicida*. V tomto testu byla zkoumána mimo silice citronové trávy i silice tymiánu a hřebíčku. Nejsilnějších inhibičních účinků dosáhly silice tymiánu a citronové trávy, u kterých pak byla hodnocena i MBC vůči *Aeromonas* spp. Zde si pak lépe vedla silice citronové trávy, která dosáhla hodnot 0,1 – 0,65 %, zatímco tymiánová silice 2,11 – 2,22 %.

V neposlední řadě byla provedena senzorická analýza, pomocí které mělo být ověřeno, zdali silice negativně neovlivňují organoleptické vlastnosti masa. Na pečených filetech byly testované typy obalů TJ, TE, HJ a kontrola KN. Téměř ve všech hodnocených kategoriích vyšla nejlépe kontrola, včetně celkové přijatelnosti. Mezi TJ a HJ nebyly v celkové přijatelnosti zaznamenány statistické rozdíly. Nejhorší hodnoceným vzorkem, je obal TE. Je důležité poznamenat, že vzorky TJ byly celkově přijatelnější než vzorky TE, a tedy, že využití jílů slibuje do budoucna lepší senzorické vlastnosti než emulze. Dále lze konstatovat, že možnou příčinou negativní výsledků senzorické analýzy byla zřejmě příliš vysoká koncentrace silic (10 %).

Ve své studii se Hosny et al. (2020) zaměřili na vliv silic z citronové trávy, pomeranče a tymiánu na organoleptické vlastnosti hovězího masa. Použité koncentrace silic byly 0,5 % a 1 % na vzorek. V našem případě jsme v přepočtu na vzorek použili 1,5% koncentraci. Výsledky studie uvádí, že tymiánová silice už v 1% koncentraci měla nepříjemné organoleptické vlastnosti. Naopak silice z tymiánu a citronové trávy v koncentraci 0,5 % a pomerančová silice v koncentraci 1 % neměly negativní vliv na senzorické vlastnosti masa.

7 Závěr

V rámci této diplomové práce bylo podrobně zkoumáno použití silic tymiánu, hřebíčku a citronové trávy a jejich potenciální vliv na skladovatelnost chlazených filetů ze sumečka afrického (*Clarias gariepinus*). Výsledky naší studie naznačují, že tymiánová silice prokázala největší účinnost v prodloužení doby skladování rybího masa, což je v souladu s předchozími výzkumy. Naopak, silice hřebíčku vykazovala nižší účinnost, ale stále byly pozorovány signifikantní rozdíly oproti kontrolním vzorkům. Co se týče silice citronové trávy, nebyl prokázán žádný vliv na prodloužení skladovatelnosti masa.

Je však důležité zdůraznit, že vyšší koncentrace použitých silic mohou negativně ovlivnit senzorické vlastnosti masa. Tento fakt potvrzují jak naše vlastní výsledky, tak i předchozí studie, které naznačují, že příliš vysoké koncentrace silic mohou vést k nepříjemným organoleptickým vlastnostem masa. Významný rozdíl byl také pozorován v senzorických vlastnostech mezi použitím tymiánové silice v kombinaci s jílem a tymiánovou emulzí. Tento aspekt by měl být důkladně zohledněn při navrhování metod aplikace antimikrobiálních látek v potravinářském průmyslu, neboť senzorické vlastnosti hrají klíčovou roli v přijatelnosti potravin spotřebiteli.

Závěrem lze konstatovat, že použití silic představuje perspektivní možnost pro prodloužení skladovatelnosti chlazených filetů ze sumečka afrického. Nicméně je třeba brát v úvahu optimální koncentraci silice, aby nedošlo k negativním vlivům na senzorické vlastnosti masa. Další výzkumy by měly směřovat k optimalizaci koncentrací silic a zkoumání možných kombinací s dalšími látkami, které by mohly zlepšit účinnost a snížit případné negativní efekty na chuť a další senzorické vlastnosti.

8 Literatura

- Abdel- Mobdy HE, Abdel-Aal HA, Souzan SL, Nassar AG. 2021. Nutritional Value of African Catfish (*Clarias gariepinus*) Meat. Asian Journal of Applied Chemistry Research:31–39. Sciencedomain International.
- Ahmed N, Turchini GM. 2021. Recirculating aquaculture systems (RAS): Environmental solution and climate change adaptation DOI: 10.1016/j.jclepro.2021.126604. Available from <https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2021.126604> (accessed March 2024).
- Alejandro DJC-S, Luis DE-C, Rodolfo G-T, Mayra D-R, Ma. DLPS-C, Lilia S-M, Raquel G-B. 2019. Foodborne diseases, fish and the case of *Aeromonas* spp. African Journal of Agricultural Research **14**:617–628. Academic Journals.
- Azizah F, Nursakti H, Ningrum A, Supriyadi. 2023. Development of Edible Composite Film from Fish Gelatin–Pectin Incorporated with Lemongrass Essential Oil and Its Application in Chicken Meat. Polymers 2023, Vol. 15, Page 2075 **15**:2075. Multidisciplinary Digital Publishing Institute. Available from <https://www.mdpi.com/2073-4360/15/9/2075/htm> (accessed March 2024).
- Baptista-Silva S, Borges S, Ramos OL, Pintado M, Sarmiento B. 2020a. The progress of essential oils as potential therapeutic agents: a review. Journal of Essential Oil Research **32**:279–295. Taylor & Francis.
- Baptista-Silva S, Borges S, Ramos OL, Pintado M, Sarmiento B. 2020b. The progress of essential oils as potential therapeutic agents: a review. Journal of Essential Oil Research **32**:279–295. Taylor & Francis.
- Barakan S, Aghazadeh V. 2019. Separation and characterisation of montmorillonite from a low-grade natural bentonite: Using a non-destructive method. Micro and Nano Letters **14**:688–693. Institution of Engineering and Technology.
- Bevilacqua A, Corbo MR. 2016. The Microbiological Quality of Food 1. Woodhead Publishing.
- Buendía L et al. 2019. Innovative cardboard active packaging with a coating including encapsulated essential oils to extend cherry tomato shelf life DOI: 10.1016/j.lwt.2019.108584. Available from <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2019.108584> (accessed March 2024).
- Chaieb K, Hajlaoui H, Zmantar T, Kahla-Nakbi A Ben, Rouabhia M, Mahdouani K, Bakhrouf A. 2007. The chemical composition and biological activity of clove essential oil, *Eugenia caryophyllata* (*Syzygium aromaticum* L. Myrtaceae): A short review. Phytotherapy Research **21**:501–506. John Wiley and Sons Ltd.
- Chouliara E, Karatapanis A, Savvaidis IN, Kontominas MG. 2007. FOOD MICROBIOLOGY Combined effect of oregano essential oil and modified atmosphere packaging on shelf-life extension of fresh chicken breast meat, stored at 4 °C DOI: 10.1016/j.fm.2006.12.005. Available from www.elsevier.com/locate/fm (accessed March 2024).
- Cortés-Rojas DF, Fernandes De Souza CR, Oliveira P, Francisco D, Rojas C. 2014. Clove (*Syzygium aromaticum*): a precious spice Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine. Document heading Asian Pac J Trop Biomed **4**:90–96. Available from www.elsevier.com/locate/apjtb (accessed March 28, 2024).

- Da Silveira E Sá RDC, Andrade LN, De Oliveira RDRB, De Sousa DP. 2014. A Review on Anti-Inflammatory Activity of Phenylpropanoids Found in Essential Oils. *Molecules* 2014, Vol. 19, Pages 1459-1480 **19**:1459–1480. Multidisciplinary Digital Publishing Institute. Available from <https://www.mdpi.com/1420-3049/19/2/1459/htm> (accessed April 2024).
- De Silva LADS, Wickramanayake MVKS, Heo G-J. 2021. Virulence and antimicrobial resistance potential of *Aeromonas* spp. associated with shellfish DOI: 10.1111/lam.13489. Available from <https://academic.oup.com/lambio/article/73/2/176/6698267> (accessed March 2024).
- Echeverría I, López-Caballero E, Carmen Gómez-Guillén M, Mauri AN, Montero MP. 2017. Active nanocomposite films based on soy proteins-montmorillonite-clove essential oil for the preservation of refrigerated bluefin tuna (*Thunnus thynnus*) fillets DOI: 10.1016/j.ijfoodmicro.2017.10.003. Available from <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2017.10.003> (accessed March 2024).
- Erkan N, Tosun ŞY, Ulusoy Ş, Üretener G. 2011. The use of thyme and laurel essential oil treatments to extend the shelf life of bluefish (*Pomatomus saltatrix*) during storage in ice. *Journal fur Verbraucherschutz und Lebensmittelsicherheit* **6**:39–48. Birkhauser Verlag AG. Available from <https://link.springer.com/article/10.1007/s00003-010-0587-x> (accessed March 28, 2024).
- Faheem F, Liu ZW, Rabail R, Haq IU, Gul M, Bryła M, Roszko M, Kieliszek M, Din A, Aadil RM. 2022. Uncovering the Industrial Potentials of Lemongrass Essential Oil as a Food Preservative: A Review. *Antioxidants* 2022, Vol. 11, Page 720 **11**:720. Multidisciplinary Digital Publishing Institute. Available from <https://www.mdpi.com/2076-3921/11/4/720/htm> (accessed March 2024).
- Fратиани F, De Martino L, Melone A, De Feo V, Coppola R, Nazzaro F. 2010. Preservation of chicken breast meat treated with thyme and balm essential oils. *Journal of Food Science* **75**.
- Fu J, He Y, Cheng F. 2023. Intelligent Cutting in Fish Processing: Efficient, High-quality, and Safe Production of Fish Products. *Food and Bioprocess Technology* 2023 **17**:4 **17**:828–849. Springer. Available from <https://link.springer.com/article/10.1007/s11947-023-03163-5> (accessed March 2024).
- Galovičová L, Borotová P, Valková V, Vukovic NL, Vukic M, Štefániková J, Ďúranová H, Kowalczewski PŁ, Čmíková N, Kačániová M. 2021. *Thymus vulgaris* Essential Oil and Its Biological Activity. *Plants* 2021, Vol. 10, Page 1959 **10**:1959. Multidisciplinary Digital Publishing Institute. Available from <https://www.mdpi.com/2223-7747/10/9/1959/htm> (accessed March 2024).
- Hao R, Roy K, Pan J, Shah BR, Mraz J. 2021. Critical review on the use of essential oils against spoilage in chilled stored fish: A quantitative meta-analyses. *Trends in Food Science & Technology* **111**:175–190. Elsevier.
- Hoel S, Vadstein O, Jakobsen AN. 2019. The Significance of Mesophilic *Aeromonas* spp. in Minimally Processed Ready-to-Eat Seafood. *Microorganisms* 2019, Vol. 7, Page 91 **7**:91. Multidisciplinary Digital Publishing Institute. Available from <https://www.mdpi.com/2076-2607/7/3/91/htm> (accessed March 2024).

- Hosny E, Amin R, Nassif marionette. 2020. Antioxidant, Sensory and Antibacterial activities of some Essential oils in Beef Kofta. *Benha Veterinary Medical Journal* **38**:29–34. Egypt's Presidential Specialized Council for Education and Scientific Research.
- Iamareerat B, Singh M, Sadiq MB, Anal AK. 2018. Reinforced cassava starch based edible film incorporated with essential oil and sodium bentonite nanoclay as food packaging material. *Journal of Food Science and Technology* **55**:1953–1959. Springer India. Available from <https://link.springer.com/article/10.1007/s13197-018-3100-7> (accessed March 28, 2024).
- Javadian SR, Shahosseini SR, Ariaai P. 2017. The Effects of Liposomal Encapsulated Thyme Extract on the Quality of Fish Mince and *Escherichia coli* O157:H7 Inhibition During Refrigerated Storage. *Journal of Aquatic Food Product Technology* **26**:115–123. Taylor and Francis Inc.
- Kamona ZK, Alzobaay AHH. 2021. Effect of essential oil extract from lemongrass (*Cymbopogon citratus*) leaves on viability of some pathogenic bacteria and sensory properties of fish balls. *Iraqi Journal of Agricultural Sciences* **2021**:268–275.
- Kavas G, Kavas N, Saygili D. 2015. The Effects of Thyme and Clove Essential Oil Fortified Edible Films on the Physical, Chemical and Microbiological Characteristics of Kasha Cheese. *Journal of Food Quality* **38**:405–412. Blackwell Publishing Ltd.
- Khalili Tilami S, Sampels S. 2018. Nutritional Value of Fish: Lipids, Proteins, Vitamins, and Minerals. *Reviews in Fisheries Science & Aquaculture* **26**:243–253. Taylor & Francis.
- Li XP, Zhou MY, Liu JF, Xu YX, Mi HB, Yi SM, Li JR, Lin H. 2017. Shelf-life extension of chilled olive flounder (*Paralichthys olivaceus*) using chitosan coatings containing clove oil. *Journal of Food Processing and Preservation* **41**:e13204. John Wiley & Sons, Ltd. Available from <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1111/jfpp.13204> (accessed March 2024).
- Majeed S, De Silva LADS, Kumarage PM, Heo GJ. 2023. Occurrence of potential virulence determinants in *Aeromonas* spp. isolated from different aquatic environments. *Journal of Applied Microbiology* **134**:1–12. Oxford Academic. Available from <https://dx.doi.org/10.1093/jambio/lxad031> (accessed March 2024).
- Majewska E, Kozłowska M, Gruczynska-Sekowska E, Kowalska D, Tarnowska K. 2019. Lemongrass (*Cymbopogon citratus*) Essential Oil: Extraction, Composition, Bioactivity and Uses for Food Preservation – a Review. *Polish Journal of Food and Nutrition Sciences* **69**:327–341. Polish Academy Sciences. Institute of Animal Reproduction and Food Research.
- Malik S. 2019. *Essential Oil Research: Trends in Biosynthesis, Analytics, Industrial Applications and Biotechnological Production*. Springer.
- Mihai AL, Popa ME. 2013. Essential oils utilization in food industry-a literature review.
- Mireles Dewitt CA, Oliveira ACM. 2016. Modified Atmosphere Systems and Shelf Life Extension of Fish and Fishery Products. *Foods* 2016, Vol. 5, Page 48 **5**:48. Multidisciplinary Digital Publishing Institute. Available from <https://www.mdpi.com/2304-8158/5/3/48/htm> (accessed April 2024).
- Mukarram M, Choudhary S, Khan MA, Poltronieri P, Khan MMA, Ali J, Kurjak D, Shahid M. 2021. Lemongrass Essential Oil Components with Antimicrobial and Anticancer Activities. *Antioxidants* 2022, Vol. 11, Page 20 **11**:20. Multidisciplinary Digital

- Publishing Institute. Available from <https://www.mdpi.com/2076-3921/11/1/20/html> (accessed March 2024).
- Nath D, Pal K, Sarkar P. 2021. Nanoclay-based active food packaging systems: A review DOI: 10.1016/j.fpsl.2021.100803. Available from <https://doi.org/10.1016/j.fpsl.2021.100803> (accessed March 2024).
- Nieto G. 2020. A Review on Applications and Uses of Thymus in the Food Industry. *Plants* 2020, Vol. 9, Page 961 **9**:961. Multidisciplinary Digital Publishing Institute. Available from <https://www.mdpi.com/2223-7747/9/8/961/html> (accessed March 2024).
- Olanrewaju GO, Sarpong DD, Aremu AO, Ade-Ademilua EO. 2022. Growth performance and nutritional composition of *Clarias gariepinus* in flood-and-drain aquaponics coupled with three species of leafy vegetable. bioRxiv:2022.10.06.511190. Cold Spring Harbor Laboratory. Available from <https://www.biorxiv.org/content/10.1101/2022.10.06.511190v1> (accessed April 2024).
- Pantanella E. 2018. Aquaponics Production, Practices and Opportunities. Pages 191–248 *Sustainable Aquaculture*. Springer, Cham. Available from https://link.springer.com/chapter/10.1007/978-3-319-73257-2_7 (accessed December 2021).
- Pessoa RBG, Oliveira WF de, Correia MT dos S, Fontes A, Coelho LCBB. 2022. *Aeromonas* and Human Health Disorders: Clinical Approaches. *Frontiers in Microbiology* **13**:868890. Frontiers Media S.A. Available from www.frontiersin.org (accessed March 2024).
- Punia Bangar S, Ilyas RA, Chowdhury A, Navaf M, Sunooj KV, Kumar Siroha A. 2023. Bentonite clay as a nanofiller for food packaging applications. *Trends in Food Science & Technology* **142**:104242. Available from <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2023.104242> (accessed March 2024).
- Rao BM, Jesmi D, Viji P. 2017. Chilled Storage of *Pangasianodon hypophthalmus* Fillets Coated with Plant Oil Incorporated Alginate Gels: Effect of Clove Leaf, Clove Bud, Rosemary and Thyme Oils. *Journal of Aquatic Food Product Technology* **26**:744–755. Taylor and Francis Inc.
- Rezaei M, Montazeri N, Langrudi HE, Mokhayer B, Parviz M, Nazarinia A. 2007. The biogenic amines and bacterial changes of farmed rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) stored in ice. *Food Chemistry* **103**:150–154. Elsevier.
- Saidi M, Ghafourian S, Zarin-Abaadi M, Movahedi K, Sadeghifard N. 2012. In vitro antimicrobial and antioxidant activity of black thyme (*Thymbra spicata* L.) essential oils. *Roumanian Archives of Microbiology and Immunology* **71**:61–69. Available from <https://europepmc.org/article/med/23210318> (accessed April 2024).
- Sampels S. 2015. The Effects of Storage and Preservation Technologies on the Quality of Fish Products: A Review. *Journal of Food Processing and Preservation* **39**:1206–1215. Blackwell Publishing Ltd.
- Sarkic A, Stappen I. 2018. Essential Oils and Their Single Compounds in Cosmetics—A Critical Review. *Cosmetics* 2018, Vol. 5, Page 11 **5**:11. Multidisciplinary Digital Publishing Institute. Available from <https://www.mdpi.com/2079-9284/5/1/11/html> (accessed March 2024).
- Shahidi F, Hossain A. 2022. Preservation of aquatic food using edible films and coatings containing essential oils: a review. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition* **62**:66–

105. Taylor and Francis Ltd. Available from <https://www.tandfonline.com/action/journalInformation?journalCode=bfsn20> (accessed April 2024).
- Sheng L, Wang L. 2021. The microbial safety of fish and fish products: Recent advances in understanding its significance, contamination sources, and control strategies. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety* **20**:738–786. Blackwell Publishing Inc.
- Short G, Yue C, Anderson N, Russell C, Phelps N. 2017. Consumer perceptions of aquaponic systems. *HortTechnology* **27**:358–366. American Society for Horticultural Science. Available from <https://journals.ashs.org/horttech/view/journals/horttech/27/3/article-p358.xml> (accessed December 2021).
- Starliper CE, Ketola HG, Noyes AD, Schill WB, Henson FG, Chalupnicki MA, Dittman DE. 2015. An investigation of the bactericidal activity of selected essential oils to *Aeromonas* spp. *Journal of Advanced Research* **6**:89–97. Elsevier.
- Stratakos AC, Koidis A. 2016. Methods for Extracting Essential Oils DOI: 10.1016/B978-0-12-416641-7.00004-3. Available from <http://dx.doi.org/10.1016/B978-0-12-416641-7.00004-3> (accessed March 2024).
- Sun M, Liu N, Ni S, Bian H, Fu Y, Chen X. 2019. Poplar Hot Water Extract Enhances Barrier and Antioxidant Properties of Chitosan/Bentonite Composite Film for Packaging Applications. *Polymers* 2019, Vol. 11, Page 1614 **11**:1614. Multidisciplinary Digital Publishing Institute. Available from <https://www.mdpi.com/2073-4360/11/10/1614/htm> (accessed March 2024).
- Ulanowska M, Olas B. 2021. Biological Properties and Prospects for the Application of Eugenol—A Review. *International Journal of Molecular Sciences* 2021, Vol. 22, Page 3671 **22**:3671. Multidisciplinary Digital Publishing Institute. Available from <https://www.mdpi.com/1422-0067/22/7/3671/htm> (accessed April 2024).
- Verdeguer M, Sánchez-Moreiras AM, Araniti F. 2020. Phytotoxic Effects and Mechanism of Action of Essential Oils and Terpenoids. *Plants* 2020, Vol. 9, Page 1571 **9**:1571. Multidisciplinary Digital Publishing Institute. Available from <https://www.mdpi.com/2223-7747/9/11/1571/htm> (accessed April 20, 2024).
- Xu W, He Y, Li J, Zhou J, Xu E, Wang W, Liu D. 2023. Robotization and intelligent digital systems in the meat cutting industry: From the perspectives of robotic cutting, perception, and digital development. *Trends in Food Science & Technology* **135**:234–251. Available from <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2023.03.018> (accessed March 2024).
- Yuan G, Zhu L, Jiang X, Zhang J, Pei C, Zhao X, Li L, Kong X. 2021. Diagnosis of co-infection with white spot syndrome virus and *Aeromonas veronii* in red swamp crayfish *Procambarus clarkii*. *Aquaculture* **532**:736010. Elsevier.
- Zhou Q, He D, Yu H, Yang JJ, Wu K, Duan X, Wu X, Han X. 2023. Increased antioxidant and antimicrobial activities of lemongrass and cinnamon essential oils with tea polyphenols and its application in the preservation of marine fish. *International Journal of Food Science and Technology* **58**:3996–4008. John Wiley and Sons Inc.

