

Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích

Fakulta rybářství a ochrany vod

Ústav akvakultury a ochrany vod

Diplomová práce

Prodloužení skladovatelnosti chlazených rybích výrobků

Autor: Bc. Róbert Pflug

Vedoucí bakalářské práce: Ing. Jan Mráz, Ph.D.

Konzultant bakalářské práce: Ing. Tomáš Zajíc, Ph.D.

Studijní program a obor: Zootechnika 103; obor Rybářství

Forma studia: Prezenční

Ročník: Třetí

České Budějovice, 2016

Prohlášení

Prohlašuji, že diplomovou práci na téma **Prodloužení skladovatelnosti chlazených rybích výrobků** jsem vypracoval samostatně pouze s použitím pramenů uvedených v seznamu citované literatury. Prohlašuji, že, v souladu s § 47b zákona č. 111/1998 Sb. v platném znění, souhlasím se zveřejněním své bakalářské práce, a to v nezkrácené podobě. Zveřejnění probíhá elektronickou cestou ve veřejně přístupné části databáze STAG provozované Jihočeskou univerzitou v Českých Budějovicích na jejích internetových stránkách, a to se zachováním mého autorského práva k odevzdanému textu této kvalifikační práce.

Souhlasím dále s tím, aby toutéž elektronickou cestou byly v souladu s uvedeným ustanovením zákona č. 111/1998 Sb. zveřejněny posudky školitele a oponentů práce i záznam o průběhu a výsledku obhajoby kvalifikační práce. Rovněž souhlasím s porovnáním textu mé kvalifikační práce s databází kvalifikačních prací Theses.cz provozovanou Národním registrem vysokoškolských kvalifikačních prací a systémem na odhalování plagiátů.

V Českých Budějovicích dne 5.5.2016

Róbert Pflug

Poděkování

Mé poděkování a uznání patří vedoucímu, Ing. Janu Mrázovi, Ph.D., za cenné metodické rady a trpělivost při tvorbě této práce. Touto cestou děkuji i konzultantovi, Ing. Tomášovi Zajícovi, Ph.D., za praktické vedení projektu.

Obsah

1	ÚVOD	6
2	LITERÁLNÍ PŘEHLED	7
2.1	SLOŽENÍ RYBÍ SUROVINY	7
2.2	PARAMETRY KVALITY MASA RYB	10
2.3	SKLADOVATELNOST RYBÍHO MASA	12
2.4	POSTMORTÁLNÍ ZMĚNY V MASE RYB	12
2.5	MOŽNOSTI PRODLOUŽENÍ SKLADOVATELNOSTI RYBÍCH VÝROBKŮ	22
3	MATERIÁL A METODIKA	39
3.1	DESIGN PROJEKTU	39
3.2	ADITIVA	41
3.3	METODIKA ANALÝZ SVALOVINY RYB	43
3.4	PRAKTICKÉ ŘEŠENÍ PROJEKTU	49
4	VÝSLEDKY	56
4.1	ETAPA I.	56
4.2	ETAPA II.	56
4.3	ETAPA III.	59
4.4	ETAPA IV.	61
4.5	ETAPA V.	69
4.6	ETAPA VI.	70
5	DISKUZE	71
5.1	ETAPA I.	71
5.2	ETAPA II.	71
5.3	ETAPA III.	72
5.4	ETAPA IV.	73
5.5	ETAPA V.	75
5.6	ETAPA VI.	76
6	ZÁVĚR	78
7	PŘEHLED POUŽITÉ LITERATURY	80
8	ABSTRAKT	94
9	ABSTRACT	95

1 ÚVOD

Ryby a mořské plody jsou jedny z nejdůležitějších zdrojů bílkovin v lidské výživě a jsou nutričně cennou a kvalitní potravinou (Dufossé a kol., 1997; Costa, 2013; Sampels a kol., 2014). V roce 2010 činila světová produkce rybolovu a akvakultury 148 miliónů tun vodních produktů (128 t určeno ke konzumu), z čehož vyplývá, že jsou tyto komodity významnou položkou dnešního potravinářského průmyslu (SOFIA, 2012). V důsledku růstu lidské populace se zvyšuje i poptávka po rybách (FAO, 2010). Nároky spotřebitelů na čerstvé výrobky s prodlouženou trvanlivostí a výrobky s přidanou hodnotou narůstají rovněž.

Čerstvé ryby a mořské produkty, vedle mnoha potravinářských výrobků, jsou velmi nestálé a snadno podléhající zkáze kvůli svému biologickému složení (Ashie a kol., 1996; Medina a kol., 2009). V důsledku mikrobiální činnosti a autolytických změn *post mortem* je ročně ztraceno 25% prvotních zemědělských produktů a produktů rybolovu (Gram a Dalgaard, 2002; Sivertstvik a kol., 2002). Potravinářské výrobky jsou neustále vystavovány kontaminaci mikroorganismy a plísněmi. Z tohoto důvodu je nezbytná konzervace potravin za účelem udržení jejich nutriční hodnoty a sensorických vlastností masa. Pokud jsou ryby a výrobky z nich ponechány bez konzervačních látek, kazí se rychleji (Gram, 2010). Vhodnými technologickými postupy ve výrobě lze údržnost rybí suroviny prodloužit (Sampels a kol., 2014).

Současným trendem je v potravinářství využívání přírodních sloučenin k prodloužení trvanlivosti syrového masa. Přímá aplikace přírodních látek do potravin je dnes nejčastějším způsobem prodlužujícím trvanlivost (Lucera a kol., 2012; Erkan, 2012). Tato aditiva jsou nejčastěji aplikována máčením, stříkáním, či nátěrem před balením výrobku. Efekt působí na potravinu v závislosti na použité účinné látce a vlastnostech vstupních surovin.

Cílem diplomové práce bude vytipovat a otestovat 7 aditiv založených přednostně na přírodní bázi, a to aplikací (koupelí) na chlazené rybí výrobky. Kromě analýz na abundanci mikroorganismů bude u vzorků stanovena úroveň oxidace proteinů a lipidů, posuzován bude i vliv koupelí s aditivními látkami na nutriční parametry svaloviny ryb a sensorické vlastnosti rybích výrobků. Postupnou selekcí budou vybrány 2 přípravky, u kterých bude hodnocena i jejich ekonomická náročnost v provozních podmínkách. Řešitely bylo stanoveno za cíl prodloužit dobu trvanlivosti vzorků svaloviny alespoň o 1 den.

2 LITERÁLNÍ PŘEHLED

2.1 Složení rybí suroviny

Maso ryb má pozitivní účinky na lidský organismus. Jeho konzumací se minimalizuje riziko kardiovaskulárních onemocnění snížením hladiny cholesterolu v krvi (Bud a kol., 2008). Rybí svalovina rovněž obsahuje velké množství stravitelných proteinů s vyváženou skladbou aminokyselin (Tab. 1). Je jedním z hlavních zdrojů esenciálních mastných kyselin (MK). Tuk ryb navíc obsahuje v tucích rozpustné vitamíny A, D a E, maso je dále zdrojem vitamínu B₁₂ (Lund, 2013). Z minerálních látek lze jmenovat jód, selen, železo a zinek.

Tab. 1: *Výtěžnost, energetická hodnota a živinové složení sladkovodních ryb (Převzato ze Sampels a kol., 2014).*

Druh	Poživatelný podíl [%]	Energetická hodnota [kJ/100g]	Voda [%]	Proteiny [%]	Lipidy [%]	Popeloviny [%]
Kapr obecný	55	632	72	19	7	1,3
Lín obecný	45	355	77	18	0,8	1,8
Cejn velký	56	523	77	17	5	1,2
Candát obecný	55	393	78	19	07	1,2
Okoun říční	38	372	80	18	0,8	1,3
Štika obecná	55	372	80	18	0,9	1,1
Pstruh duhový	50	435	78	19	2	1,2
Sumec velký	60	728	72	15	11	1,0
Úhoř říční	70	1252	61	13	26	1,0

2.1.1 Majoritní komponenty rybí svaloviny

Voda

Hlavní složkou rybího masa je voda (FAO, 2011). Obsah vody koreluje mezi 30 – 90 %. U čerstvých ryb je voda vázaná na protein. Po delší době skladování ovšem nejsou schopny proteiny tuto vodu ve svých strukturách uchovat a proto se z tkání vyvazuje. To má přímý dopad i na kvalitu konečného výrobku.

Proteiny

Složení a procentuální zastoupení proteinů a skladba aminokyselin jsou u ryb rozdílné dle vývojového stádia (Shearer 2001). O proteinech je obecně známo, že jsou z důvodu velkého množství dusíkatých látek náchylné k mikrobiálnímu znehodnocení (Dufossé, 1997). Jsou zdrojem dusíku pro heterotrofní organismy (Čegan a Korecká, 2008).

Rybí proteiny by mohly být významné z hlediska lidského zdraví stejně tak jako nutriční benefity lipidů (Pilon a kol., 2011; Lund, 2013). Na experimentální úrovni probíhá testování specifických bílkovin ryb, které mají (podobně jako omega 3 mastné kyseliny (MK)) protizánětlivé účinky. Rybí bílkoviny mohou pomoci konzumentovi při prevenci a léčbě některých nemocí (Pilon a kol., 2011).

Lipidy

Lipidy v organismu hrají významnou roli (Odstrčil, 2005). U ryb jsou významným zdrojem esenciálních mastných kyselin a vitaminů rozpustných v tucích. U ryb je obsah tuku a jeho složení druhově velmi specifické (Henderson a Tocher, 1987).

2.1.2 Minoritní komponenty rybí svaloviny

Sacharidy

Obsah sacharidů v rybí svalovině je obecně na úrovni do 1 % hmotnosti.

Vitamin D v mase ryb

Zdrojem tohoto vitamínu jsou právě produkty pocházející z akvakultury. Doporučená denní dávka (DDD) pro člověka je 30 µg. Mattila a kol. (1995) uvádí obsah D₃ mezi 0,5 – 30 µg na 100g svaloviny masa ryb. Množství vitamínu D ve svalovině je ovlivněno druhem (Mattila a kol., 1995), výživou ryb (Lock a kol., 2010) a typem kuchyňské úpravy (Lu a kol., 2007).

2.1.3 Minerální látky v rybím mase

Vápník

Vápník (spolu s fosforem) je nezbytným minerálem pro tvorbu kostí (Ilich a Kerstetter, 2000). Dostál a kol. (2005) shrnují, že lidské tělo obsahuje 1,2 – 1,5 kg vápníku. Rybí produkty jsou spolu s mléčnými výrobky významným zdrojem pro lidský organismus. Hansen a kol. (1998) pozorovali stejnou absorpci vápníku z ryb jako z mléka (na úrovni 23 %). Vstřebávání Ca zvyšuje vitamin D, proteiny a další produkty mléčného kvašení (Ilich a Kerstetter, 2000; Dostál a kol., 2005).

Selen

Jedná se o esenciální prvek, v lidském organismu podporuje funkci několika enzymů (Dostál a kol., 2005), působí na štítnou žlázu a má výborné antioxidační vlastnosti (Holben a Smith, 1999). Ryby a řasy jsou jedním z nejlépe dostupných zdrojů tohoto mikroprvku.

Fosfor

Fosfor je dalším prvkem, jehož zdrojem jsou produkty akvakultury. Množství fosforu v těle ovlivňuje stavbu a metabolismus kostí, rovněž se vyskytuje ve dvojvrstvě fosfolipidů buněčných membrán (Dostál a kol., 2005).

Další minerální látky

Další stopové prvky vyskytující se v mase ryb shrnuje FAO (20011) v Tab. 2.

Tab. 2: *Přehled a hodnoty vybraných minerálních látek vyskytujících se u ryb (FAO, 2011).*

Prvek	Průměrná hodnota [mg/100g]	Rozsah hodnot [mg/100g]
Sodík	72	30-134
Draslík	278	19-502
Magnesium	38	5-452
Síra	191	130-257
Chlór	197	3 - 761

2.2 Parametry kvality masa ryb

FAO (2005) definuje kvalitu dle normy ISO 8402 jako souhrn vlastností a charakteristik produktu nebo služeb, jež souvisí se schopností uspokojit potřeby. V případě rybích produktů to znamená mnoho aspektů, jako je čistota, výživa, bezpečnost, konzistence a mnoho dalších. Kvalitu potravin obecně lze kvantifikovat podle nároků konzumenta do 4 kategorií (Zpracováno dle Bourne, 2002):

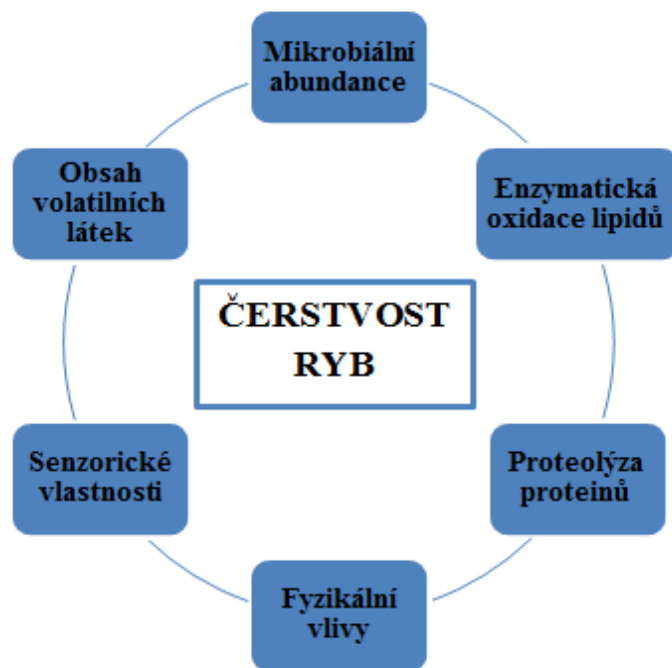
1. Senzorické vlastnosti masa

Ingr a kol. (1997) definuje sensorické vlastnosti jako takové, které člověk vnímá svými smysly, neboli vjemy, které jsou zpracovávány centrální nervovou soustavou. Existuje mnoho způsobů hodnocení rybí svaloviny, které jsou mimo jiné popsány například v metodických pokynech Vejsady a Váchy (2010). Mezi nejčastěji hodnocené organoleptické parametry rybího masa patří:

- Vůně
- Chuť
- Pachuť
- Konzistence

2. Čerstvost

Je hlavním zkoumaným parametrem při posuzování kvality a je dána kombinací mnoha vnitřních a vnějších aspektů (Olafsdóttir a kol., 1997). Rovněž je možné ji hodnotit z hlediska několika ukazatelů. Nejčastější faktory ovlivňující čerstvost ryb popisuje Obr. 1.



Obr. 1: Faktory ovlivňující čerstvost ryb (upraveno podle Olafsdóttir a kol., 1997).

3. Nutriční parametry svaloviny

Nutriční parametry jsou charakterizovány makronutrienty (zastoupení proteinů, sacharidů, lipidů včetně kompozice jejich mastných kyselin atd.) a mikronutrienty - vitamíny, minerály apod. (Sampels a kol., 2014). Nutriční parametry ryb jsou shrnuty v kapitole „Složení rybí suroviny“.

4. Hygienická nezávadnost

Hygienicky nezávadný produkt je takový, který není nebezpečný pro konzumenta. Tím se rozumí zejména přítomnost cizorodých látek v rybím masě (Sampels a kol., 2014) či patogenních mikroorganismů (Huss a kol., 2004).

2.3 Skladovatelnost rybího masa

Skladovatelnost potravin obecně je podle Doyle (1995) definovaná jako maximální doba nezávadnosti výrobku pro lidskou spotřebu. Pro ryby a rybí produkty je doba skladovatelnosti intervalem od vylovení ryby do chvíle, kdy už není vhodná k jídlu. Svalovina ryb je velmi neúdržná (Medina a kol., 2009; Sampels a kol., 2014). A to díky svému biologickému složení (Ashie a kol., 1996), způsobu skladování (Doyle, 1995) a aktivitě mikroorganismů, jež je hlavní příčinou znehodnocení rybí suroviny (Gram a Dalgaard, 2002). Hlavní příčiny rychlého rozšíření bakterií a biologické nestálosti ryb jsou následující:

- **Životní prostředí ryb:** Ryby jako poikilotermní živočichové žijí v teplotách v rozmezí zhruba 0 – 40 °C. V těchto teplotních hladinách se vyskytuje mnoho druhů bakterií (Liston, 1980).
- **Nebílkovinný dusík v mase:** Ten je pro růst mikroorganismů dobře dostupným zdrojem energie (Dufossé a kol., 1997; Vácha, 2000; Li a kol., 2012).
- **Minimální okyselení po smrti:** pH po smrti ryb klesne „pouze“ na 5,9 – 6,3 (Vácha a Buchtová, 2005). Taková změna ovšem rozvoj mikroorganismů nezastaví (Gram a Dalgaard, 2002).
- **Obsah vody:** velký obsah vody (a tím i vysoká vodní aktivita) ve svalovině rovněž přispívá k rychlejšímu rozvoji mikroorganismů (Vácha, 2000; Li a kol., 2012). Obsah vody v rybách se pohybuje mezi 30 až 90% (FAO, 2011).
- **Rozklad TMAO** (trimethylaminoxid): Tento jev je pozorován u mořských ryb. Anaerobní rozklad na DMA (dimethylamin) a TMA (trimethylamin) ve svalovině je živnou půdou pro mikroorganismy.
- **Přítomnost autolytických enzymů:** Tyto enzymy jsou ve svalovině ryb aktivní i *post mortem*. K enzymatickému rozkladu tkáně dochází po vyčerpání kyslíku v mase. (Hansen, 1996; Li a kol., 2012)

2.4 Postmortální změny v mase ryb

Chod procesů snižujících kvalitu masa ryb a rybích výrobků je ovlivněn celou řadou faktorů (Ghaly a kol., 2010; Lucera a kol., 2012). Znehodnocení definuje Gram a Dalgaard (2002) jako rozsah podmínek (pH, teplota, aktivita vody, ovzduší), ve kterých mohou růst specifické „kazící organismy“ a produkovat znehodnocující metabolity. Rovnováha fyziologických dějů se začne měnit okamžikem usmrcení ryby. Enzymatické kažení masa je

nevratný proces degradující energetické a stavební složky tělních struktur (Vácha a Buchtová, 2005). Fyzikální a chemické změny zapříčiněné mikroorganismy a enzymy končí úplným rozkladem (Vácha, 2000).

Znehodnocení rybích výrobků má za následek úbytek, či ztrátu esenciálních mastných kyselin, vitaminů rozpustných v tucích. Má vliv i na funkčnost bílkovin, dochází k produkci biogenních aminů, sulfidů, alkoholů, aldehydů, ketonů a organických kyselin s nepříjemnou chutí. Velká řada mikroorganismů působí nežádoucí účinky zhoršující organoleptické (vůni, barvu, zápach) a texturní vlastnosti konečného produktu (Ingr, 1994; Gram a Dalgaard, 2002; Vácha a Buchtová, 2005; Tiwari a kol., 2009; Hansen a kol, 1996).

Podle Ghaly a kol. (2010) mají na kažení ryb největší vliv tři základní mechanismy: enzymatická autolýza, mikrobiální růst a oxidativní procesy.

2.4.1 Autolytické změny

2.4.1.1 Vyměšování slizu

Sliz (*mucus*) je vylučován slizovými buňkami (Stephard, 1994). Vedle mnoha důležitých funkcí je pro živé ryby významný jako ochrana před pronikáním mikroflóry z vodního prostředí do tělních struktur. Vácha a Vejsada (2013) uvádí, že svalovina ryb je za života a bezprostředně po výlovu zpravidla sterilní.

Vyměšování slizu kůží ryby je však po úmrtí ryby intenzivnější a díky značnému množství dusíkatých látek poskytuje médium pro rozvoj mikroorganismů ohrožujících technologickou kvalitu masa. Množství a složení mikroflóry produkovaného slizu závisí na druhu ryby, životním prostředí, způsobu usmrcení a skladování ryb. Objem vyloučeného slizu může zaujímat až 3 % celkové tělesné hmotnosti ryby. Tvorba slizu se zastavuje s nástupem fáze *rigor mortis* (Vácha a Vejsada, 2013).

2.4.1.2 Posmrtné ztuhnutí (*Rigor mortis*)

Rigor mortis je přirozený jev nastávající krátce po úmrtí zvířete (Vácha, 2000; FAO, 2011). Projevuje se ztuhnutím svaloviny celého těla a ztrátou elasticity, kdy ztuhnutí svalových tkání u ryb obvykle začíná v ocasní partii a přechází dorzálně k hlavě. Nástup *Rigor mortis* je závislý na mnoha vnějších i vnitřních vlivech a rovněž doba trvání se liší (Roth a kol., 2006). V některých případech odeznívá *Rigor mortis* i 2-3 dny (Vácha a Buchtová, 2005).

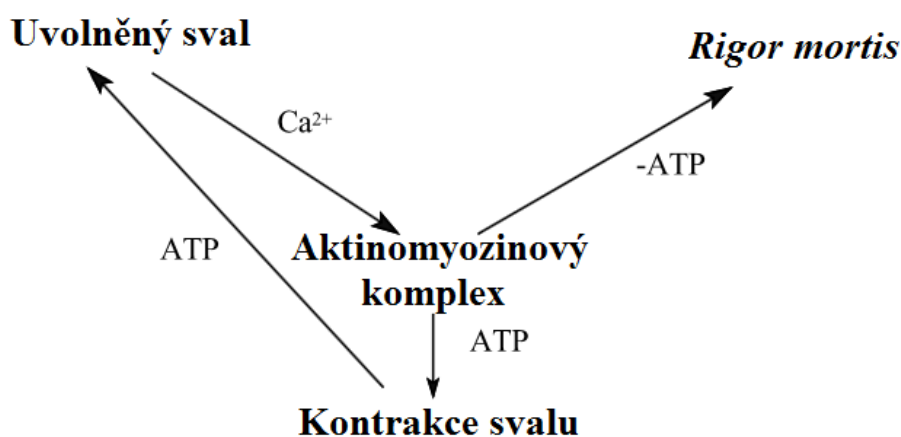
Vácha a Vejsada (2013) uvádí, že u ryb uhynulých udušením nastupuje *rigor mortis* rychleji, podle Mertena (2002) až třikrát rychleji. *Rigor mortis* je jedním z faktorů, který může mít významný vliv na kvalitu ryb mražených po výlovu (FAO, 2011; Vácha a Vejsada, 2013). Mezi další významné okolnosti ovlivňující posmrtné ztuhnutí dle Mertena (2002) patří druh, fyziologický stav, zdravotní stav, věk a velikost ryb a teplota prostředí.

Prodloužením nástupu posmrtného ztuhnutí lze v technologickém provozu docílit i oddálení dalších mikrobiologických a biochemických degradačních procesů ve svalovině ryb (Vácha a Vejsada, 2013). Lze říci, že tento stav zajišťuje “přirozenou údržnost“ masa (Merten, 2002).

Biochemické procesy ve svalovině

Během stavu *Rigor mortis* dochází vlivem nativních enzymů k postupnému odbourávání glykogenu a ATP - adenosin trifosfátu (Vácha a Buchtová, 2005; Wong, 2013). Z glykogenu ($[C_6H_{12}O_6]_n$) jsou odbourávány makroergické vazby, přičemž vzniká tepelná energie a tento zásobní polysacharid je degradován až na kyselinu mléčnou ($C_3H_6O_3$). Adenosin trifosfát (ATP) je postupně degradován přes adenosin difosfát (ADP), adenosin monofosfát (AMP) až na inozin monofosfát (IMP).

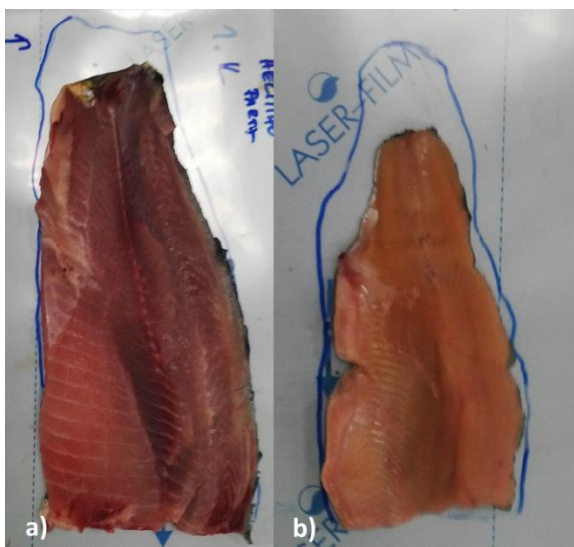
Současně, během těchto degradačních procesů vzniká aktinomyozinový komplex. A to spojením aktinu a myozinu (hlavních svalových vláken). Zároveň jsou z mitochondrií do sarkoplasmatického retikula uvolňovány ionty vápníku. Celkovou degradací glykogenu a ATP na kyselinu mléčnou a IMP je *rigor mortis* ukončen. Průběh tohoto stavu v mase ryb ilustruje Obr. 2 (Wong, 2013).



Obr. 2: Biochemický průběh *Rigor mortis*. ATP - adenosin trifosfát (Adaptováno podle Wong, 2013).

Důsledkem kumulace kyseliny mléčné ve svalovině klesá v rybím masu hodnota pH (Vácha a Buchtová, 2005; Roth a kol., 2012). Okyselení je velmi mírné, rozdílné v rámci druhů. Vácha a Buchtová (2005) uvádí pH masa ryb v rozmezí 7,05 – 7,35, v *rigoru* může poklesnout až k pH 5,9 - 6,3. V masu se pH ovšem vyrovná na neutrální až zásadité rychle zpět.

Smrštěná svalová vlákna po odeznění *rigor mortis* nejsou navíc schopna opětovného natáhnutí. To má za následek trvalé smrštění až o 52 % červené svaloviny a 15% bílé (Rora a kol, 2001) a ztrátu hmotnosti syrového materiálu až o 25 % (Obr. 3; Connell, 1990).



Obr. 3: Smrštění filetu kapra obecného (a) a pstruha duhového (b) v důsledku *rigor mortis*. (Foto A. Bořík).

2.4.1.3 Enzymatická autolýza

Ke kažení rybního masa v důsledku enzymatické činnosti dochází rovněž krátce po úmrtí ryby (Tab. 3). Ve struktuře masa pracují enzymy i po smrti a tak dochází k poruše velkých molekul a enzymatického rozkladu tkáně. Jde o nativní (přirozeně se vyskytující) enzymy, jež jsou schopny degradovat kvalitu rybního masa rychleji než u teplokrevných jatečných zvířat (Hansen a kol., 1996; Vácha a Buchtová, 2005; FAO, 2011).

Hansen a kol. (1996) pozoroval v prvních fázích enzymatické autolýzy změnu texturních vlastností masa ryb. Tyto enzymy ovšem neprodukovaly charakteristické nepříjemné zápachy a pachů. Největší vliv na texturu masa nastává podle Hansen a kol. (1996) až při vzniku metabolických produktů. Ty způsobují rozsáhlou autolýzu, která má za následek změkčení masa. Většina enzymů se nachází ve svalovině a vnitřnostech ryb (FAO,

1986; Ghaly a kol., 2010). Martinez a Gildberg (1988) uvádí, že rychlost rozkladu proteolytickými enzymy se snižuje, pokud jsou ryby skladovány při teplotě 0 ° C.

Tab. 3: *Autolytické změny a jejich efekt v tkáních mražených a chlazených ryb (Adaptováno podle FAO, 2005). ATP – adenosintrifosfát; ADP – adenosindifosfát; AMP – adenosinmonofosfát; IMP – inozinmonofosfát; TMAO – trimethylamin N-oxid.*

Enzym	Substrát	Efekt
Glykolytické enzymy	Glykogen	Produkce kyseliny mléčné vedoucí k poklesu pH
Autolytické enzymy podílející se na poruše nukleotidu	ATP; ADP; AMP; IMP	Postupná výroba hypoxantinu
Kathepsiny	Proteiny; peptidy	Změkčování tkáně
Chymotrypsin, trypsin Karboxy-peptidázy	Proteiny; peptidy	Praskání břišní stěny
Calpain	Myofibrilární proteiny	Změkčování tkáně
Kolagenázy	Pojivové tkáně	Změkčování a mezerovitost (gaping) tkání
Trimethylamin oxidáza Demethylázy	TMAO	Produkce formaldehydu

2.4.1.4 Oxidace tuků

Oxidace (neboli žluknutí) tuků v masě je častou příčinou nutričních ztrát zejména u ryb s vysokým obsahem tuku (Medina a kol., 2009; Sampels, 2013). Jedná se o reakci kyslíku s dvojnými vazbami nacházejícími se ve struktuře mastných kyselin. Rybí tuk je bohatý na polynenasycené mastné kyseliny (PUFA) a proto velice náchylný k oxidaci (Hultin, 1994; Odstrčil, 2005; Ghaly a kol., 2010). V průběhu oxidace dochází k nepříznivým změnám v chuti, barvě, textuře a nutričních hodnotách masa. Běžně je s tímto jevem spojen výskyt toxických látek ve svalovině (Dobarganes a Marques-Ruiz, 2003; Sampels, 2013). Přítomnost, či úroveň oxidace ve svalovině v průběhu zpracování a skladování ryb je

limitujícím prvkem určujícím dobu skladovatelnosti těchto surovin (Fraser a Summar, 1998; Sampels a kol., 2014).

Reaktivita MK vůči oxidaci

Reaktivitu mastných kyselin vůči oxidaci shrnul již Cosgrove a kol. (1987). Jak již bylo řečeno, nejnáchylnějšími jsou zmíněné n-3, n-6 a n-9 mastné kyseliny. S prodlužujícím se uhlíkovým řetězcem a se zvyšujícím se počtem dvojných vazeb ve struktuře reaktivita roste. N-3 mastné kyseliny jsou náchylnější, než n-6. N-6 jsou náchylnější, než n-9.

Triacylglyceroly jsou primárním zdrojem energie v těle, fosfolipidy jsou uloženy v buněčných membránách a organelech (zajištění permeability membrán). Důsledkem enzymatické degradace acylglycerolů či fosfolipidů se uvolňují do svaloviny i volné mastné kyseliny (FFA = free fatty acids). Fosfolipidy jsou obecně vícenasycené, než triacylglyceroly. Reaktivita vůči oxidaci by tedy byla následující:



Důležitým parametrem odolnosti rybího masa vůči žluknutí je podle Sampels a kol. (2014) podíl červené (tmavé) a bílé svaloviny u ryb. Distribuce těchto svalovin v těle je druhově velmi specifická.

U ryb s vyšším zastoupením červené svaloviny (losos) se projeví autooxidace i vizuálně. Oxidace pigmentů má za následek zašednutí svaloviny. V prvních fázích nemusí být výrobek zdravotně závadný, pro konzumenta ovšem ztrácí podle Faustman a Cassens (1990) na atraktivitě. Hnědnutí u „bílých ryb“ způsobují až produkty sekundární oxidace a působení neenzymatického hnědnutí - Maillardovou reakcí (Obšil a Pavlíček, 1997). Větší náchylnost tmavé svaloviny k oxidaci vychází z toho, že vlákna této svaloviny jsou vyživována aerobním oxidačním mechanismem, jak popisuje Underland a kol. (2005). Tmavá svalovina navíc obsahuje větší množství, k oxidaci senzitivních složek - tuku a hemových látek.

Průběh oxidace

Proces žluknutí může být samovolně iniciován mnoha spouštěči, jako jsou například sluneční záření, teplo či množství kovových iontů nebo radikálů přítomných v mase – oxidace startuje s aktivací molekulárního kyslíku (Frankel, 1985; Sampels a kol., 2014). I malé množství radikálů spouští řetězovou reakci autolýzy, jelikož přechodné kovy jsou primární

aktivátory molekulárního kyslíku. Jak píše Hultin (1994), ve svalovém systému je mechanismus oxidace zahájen na membránách v intracelulárních fosfolipidových frakcích.

Žluknutí zahrnuje 3 etapy volných radikálů (Frankel, 1985; Hultin, 1994; Kanner, 1994) Vlastní průběh oxidace demonstruje Tab. 4. V tučích se v průběhu oxidace formují lipidové radikály (L·). Tyto radikály mají za následek tvorbu peroxidů (LOO·) a hydroperoxidů (LOOH). Oxidaci charakterizuje tvorba nových lipidových radikálů. Nastává ireverzibilní řetězová reakce vedoucí k rychlé degradaci tuků. Jak píší Fraser a Summar (1998) a Sampels a kol. (2014), celý proces je ukončen terminační fází, ve které vznikají stabilní produkty v důsledku volně reagujících lipidových peroxidů. Dle Dobarganes a Marques-Ruiz (2003) je zapotřebí se problematice znehodnocených tuků vlivem oxidace ve vztahu k výživě a zdraví konzumenta věnovat.

Tab. 4: Průběh oxidace a její fáze (Adaptováno podle Kanner (1994) a Sampels a kol. (2014)). L· - lipidový radikál, LOO· - lipidový peroxid, LOOH – hydroperoxid.

Fáze	Schéma reakce	Krok
Iniciace	LH + iniciátor → L·	1.
Propagace	L· + O ₂ → LOO·	2.
	LOO· + LH → LOOH + L·	3.
Terminace	LOO· + LOO· → neradikální stabilní produkt	4.
	LOO· + LO· → neradikální stabilní produkt	5.
	LOO· + L· → neradikální stabilní produkt	6.

2.4.1.5 Biogenní aminy

Biogenní aminy jsou látky vznikající v rybách v důsledku bakteriální, či enzymatické dekarboxylace aminokyselin (Rodriguez a kol., 1999; Rezaei a kol., 2007). Tyto látky je nutné zmínit pro jejich možný toxický efekt pro konzumenta (Lehane, 2000), ačkoli jsou ryby a mořské plody doporučovány jako nezávadné zdraví prospěšné potraviny. U ryb se jedná zejména o histamin vznikající z histidinu (Sampels a kol., 2014). Otrava histaminem je rovněž známa jako „otrava makrelovitými rybami“ (angl. *scombroid fish poisoning*). Kumulování histidinu *post mortem* má za následek nevhodné skladování, či skladování za špatných podmínek. Podobně mohou vznikat i další aminy, jako jsou kadaverin z lysinu, putrescin z ornitinu, tyramin z tyrozinu či spermidin a spermin z tyrosinu (Sampels a kol., 2014).

Kromě makrely je zaznamenáno riziko rozvoje biogenních aminů i u dalších „komerčních“ druhů ryb jako jsou tuňáci, sardinky, sardele, nebo sledi (Hwang a kol., 1997). Podle literatury nejsou koncentrace histaminu v rybách pod 100 mg na kilo tržní ryby pro konzumenta nebezpečné. Frank (1985) uvádí, že se přirozeně vyskytuje histamin v koncentraci pod 1 miligram. Horní limit pro histamin v rybách upravuje Nařízení komise (EC) č. 2073/2005 na úroveň 200 mg/kg.

2.4.2 Mikrobiální aktivita v rybím mase

Mikrobiální aktivita je hlavní příčinou znehodnocení masa ryb a vodních organismů. (Ghaly a kol., 2010; Gram a Huss, 2000). Obecně je znehodnocení potravin v důsledku mikrobiální činnosti komplikací (ve skladování, zpracovatelském procesu) světového významu. Gram a Dalgaard (2002) uvádějí, že 25% všech vyprodukovaných potravin je mikroorganismy znehodnoceno a proto nemohou být zhodnoceny na trhu.

2.4.2.1 Náchylná rybí surovina

Jak již bylo řečeno, pro rozvoj mikroorganismu je rybí svalovina velice vhodným prostředím z důvodu jejího mírného okyselení během fáze *rigor mortis* (Vácha a Buchtová, 2005). K rozvoji mikrobiální složky přispívá oproti savcům i obecně větší procento vody ve svalovině a méně tukové a vazivové tkáně, která přirozeně rozvoji mikroorganismů z části brání. Živným substrátem pro mikroflóru je i zmíněný kožní sliz produkovaný rybou po usmrcení či úhynu. (Vácha, 2000). U ryb, jako poikilotermních živočichů, se navíc může „uplatnit“ široká škála bakterií (díky velké teplotní škále). Sampels a kol. (2014) dále upozorňuje na velké zastoupení nebiřkovinného dusíku, jež je výborným živným substrátem pro většinu kmenů bakterií.

Množství a druhové složení mikroorganismů se odvíjí od životního prostředí lovených či chovaných ryb (Gram a Huss, 2000; Davies a kol., 2001) a ročním obdobím (Novotný a kol., 2004). Činnost mikroorganismů a jejich metabolismus je ovlivněn celou řadou vnitřních (jako je pH, kyslík) a vnějších faktorů spjatými se skladováním. To zahrnuje teplotní podmínky, dobu uchování, relativní vlhkost, apod. (Lucera a kol, 2012). Podle Váchy a Buchtové (2005) jsou za nejbohatší zdroje vstupní cesty mikroorganismů žábra, trávicí trakt a povrchový sliz. Mikroorganismy, které osídľují svalovinu nejčastěji, popisuje Tab. 5. Na „všem syrovém“ se zároveň nachází tzv. „společenstvo kažení“, neboli „autochtonní společenstvo“ (Gram a

Huss, 1996). Některé z těchto mikroorganismů jsou schopny exponenciálního nárůstu na svalovině.

Tab 5: Kontaminační aktivita hlavních rodů bakterií (Převzato z Ghaly a kol., 2010).

Intenzita kažení	Mikroorganismy (rod)
Vysoká	<i>Pseudomonas</i>
Střední	<i>Moraxella</i>
	<i>Acinetobacter</i>
	<i>Alcaligenes</i>
Nízká (za zvl., podmínek)	<i>Aerobacter</i>
	<i>Lactobacillus</i>
	<i>Flavobacterium</i>
	<i>Micrococcus</i>
	<i>Bacillus</i>
	<i>Staphylococcus</i>

2.4.2.2 Původ mikroorganismů

Dle původu lze tyto bakterie u ryb rozdělit na autochtonní (přirozeně se vyskytující na těle či ve vnitřních strukturách ryby, Tab. 6) a alochtonní (nepůvodní, Tab. 7). Bakterie autochtonního původu se může negativně projevit u ryb v případě, že dojde k jejímu mechanickému poškození. Běžně je ale úroveň výskytu nízká a podle Feldhusen (2000) jsou rizika nemocí alimentárního původu zanedbatelná. Alochtonní bakterií může být kontaminováno vodní prostředí z různých zdrojů v průběhu technologického procesu (Sampels a kol., 2014). Právě tato kontaminace představuje rozsáhlé ohrožení zdraví v důsledku konzumace rybích produktů (Feldhusen, 2000).

Tab. 6: Autochtonní bakteriální patogeny u ryb. Cfu – jednotky tvořící kolonie. Adaptováno podle Huss (1997), upraveno podle Sampels a kol. (2014). P – patogenní.

Organismus	Teplotní optimum [°C]	Odhadovaná minimální infekční dávka
<i>Clostridium botulinum</i>	3 – 26	0,001 – 1g toxinu – letální dávka
<i>Vibrio cholerae</i> (P)	10 - 37	105 – 106 cfu. g ⁻¹
<i>Vibrio paraemolyticus</i> (P)		
<i>Vibrio vulnificus</i> (P)		
<i>Aeromonas</i> spp.	5 - 35	Není známo
<i>Plesiomonas shigelloides</i>	8 - 37	Není známo

Tab. 7: Alochtonní bakteriální patogeny u ryb. Cfu – jednotky tvořící kolonie. Adaptováno podle Huss (1997), upraveno podle Sampels a kol. (2014).

Organismus	Primární zdroj	Odhadovaná minimální infekční dávka
<i>Listeria monocytogenes</i>	Ptáci, půda, bahno, odpadní kal	Větší než 10 ² cfu. g ⁻¹
<i>Staphylococcus aureus</i>	Humánní původ	10 ⁵ – 10 ⁶ cfu. g ⁻¹
<i>Salmonella</i> spp.	Zaživací trakt suchozemských obratlovců	10 ² – 10 ⁶ cfu. g ⁻¹
<i>Shigella</i> spp.	Humánní původ	10 ¹ – 10 ² cfu. g ⁻¹
<i>Escherichia coli</i>	Humánní původ (fekální kontaminace)	10 ¹ – 10 ³ cfu. g ⁻¹
<i>Yersinia enterocolicata</i>	Všudypřítomný	10 ⁷ – 10 ⁹ cfu. g ⁻¹

2.4.2.3 Patogeny u ryb a zdraví konzumenta

Podle Lucery a kol. (2012) souvisí problém mikrobiálního rozvoje v potravinách se skutečností, že může být příčinou onemocnění z potravin. Jde o jedno z nejzávažnějších biologických rizik (Davies a kol., 2011; Huss a kol., 2004). Novotný a kol. (2004) uvádí, že infekce lidského organismu způsobené těmito patogeny přímou konzumací ryb jsou poměrně běžné. A to i bez zjevných příznaků infekce. Např. podle Koziny a Pekaly (2004) může tvořit *Schwannella putrefaciens* až 40% přirozené mikroflóry sladkovodních ryb, jedná se tedy o významný patogen.

2.5 Možnosti prodloužení skladovatelnosti rybích výrobků

Doba skladovatelnosti u čerstvých ryb má přímý dopad na ekonomiku ekonomiku (Rora a kol., 2001). Zachování kvality masa je důležitým kritériem pro jeho trvanlivost (Gill, 1996). Dodnes jsou užívány „historické“ techniky prodlužující skladovatelnost rybích výrobků, jako jsou solení, sušení, uzení. Jak uvádí Ghaly a kol. (2010), nové metody (chlazení, mražení, chemická konzervace) byly vyvinuty zejména z důvodu spotřebitelské poptávky po zachování sensorických vlastností výrobků, jako je textura, vzhled a chuť.

Čerstvost ryb je často udržována i kombinací jednotlivých konzervačních postupů. Například u vakuovaných hluboce chlazených výrobků dochází k inhibici jak bakteriálního růstu a iniciace oxidace, tak k zachování přirozené barvy produktu (Sivertsvik a kol., 2003; Sampels a kol., 2014). Technologie skladování se volí dle nároků na udržení čerstvosti konečného výrobku (Gallart a kol., 2007).

2.5.1 Teplotní podmínky

Je známo, že enzymatická a mikrobiální aktivita je značně ovlivněna zejména teplotou prostředí (Huss, 1995).

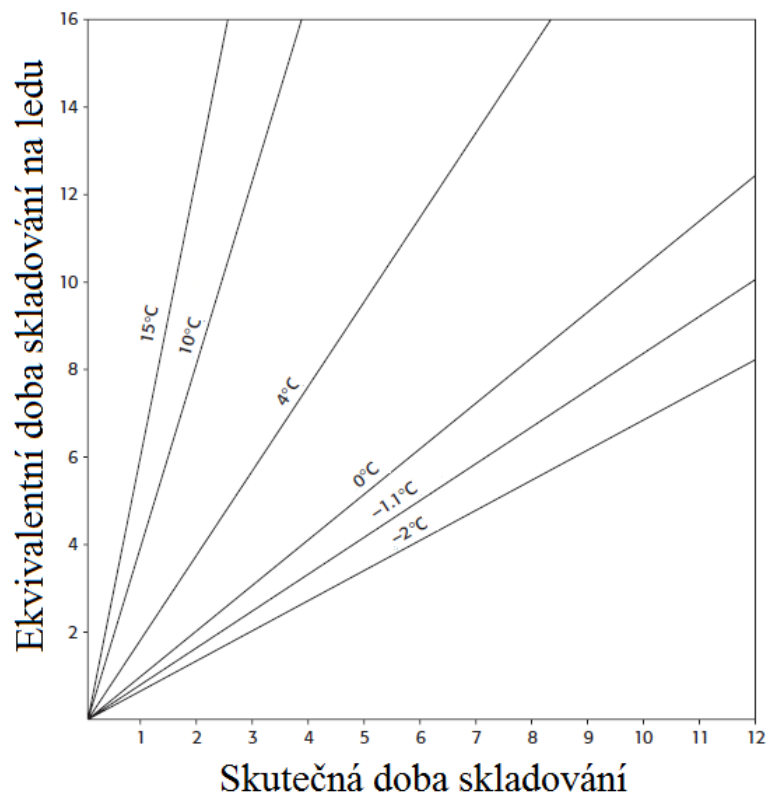
Trvanlivost rybích produktů lze skladováním při nízkých teplotách výrazně prodloužit, kazící procesy ve svalovině ryb jsou ovšem zchlazením či zmrazením omezeny pouze dočasně (Ashie a kol., 1996). Podle Doyle (1995) je teplota nejdůležitějším faktorem určujícím dobu skladovatelnosti u ryb.

2.5.1.1 Chlazení

Čerstvé maso je prodáváno chlazené při teplotě kolem 4 °C (Gill, 1996). Ve vyspělých zemích je běžným standardem uchovávat čerstvé produkty akvakultury na šupinkovém ledu (při teplotě kolem 0 °C), co nejdříve po usmrcení ryby (Doyle a kol., 1995). Rychlé zachlazení má zásadní význam zejména u „tučných“ ryb (Huss, 1995). Obr. 4 ilustruje ekvivalent skladování ryb na ledu vůči skutečné době skladovatelnosti v závislosti na skladovací teplotě.

Sampels a kol. (2014) upozorňuje v průběhu chlazení na riziko spojené s psychrotrofními bakteriemi, které se běžně vyskytují na rybách, či produktech pocházejících z chladných vod. Lze konstatovat, že zchlazené rybí výrobky pocházející z chladnějších vod jsou na mikrobiální kontaminaci více náchylné než produkty z teplejších oblastí a tudíž se kazí rychleji (Dalgaard, 1993). Významné pozitivum včasného zachlazení ryb je ovšem dle Rezaei a kol. (2007) nízké riziko projevu biogenních aminů.

Místo nejčastěji používaného šupinkového ledu lze ryby chladit pomocí chlazené mořské vody (RSW - refrigerated sea water; Ashie a kol., 1996) či ledové kaše (Medina a kol., 2009).



Obr. 4: *Ekvivalent skladování ryb na ledu (osa Y) vůči skutečné době skladovatelnosti v závislosti na teplotě skladování (osa X; upraveno dle Doyle, 1995). Hodnoty jsou uváděny ve dnech.*

2.5.1.2 Superchlazení

Uchování ryb a rybích výrobků při teplotách mezi -4 °C – 0 °C se nazývá superchlazení, hluboké chlazení (deep chilling) nebo částečné mražení (partial freezing; Huss, 1995). Bod mrazu se u potravinářských výrobků pohybuje totiž mezi $-0,5\text{ °C}$ a $-2,8\text{ °C}$ (Sampels a kol., 2014). Opět je významnou proměnnou kvality masa rychlost snižování teploty syrového materiálu, jelikož svalovina různých druhů ryb reaguje na teplotní šok odlišně (Kaale a kol., 2011; Sampels a kol., 2014).

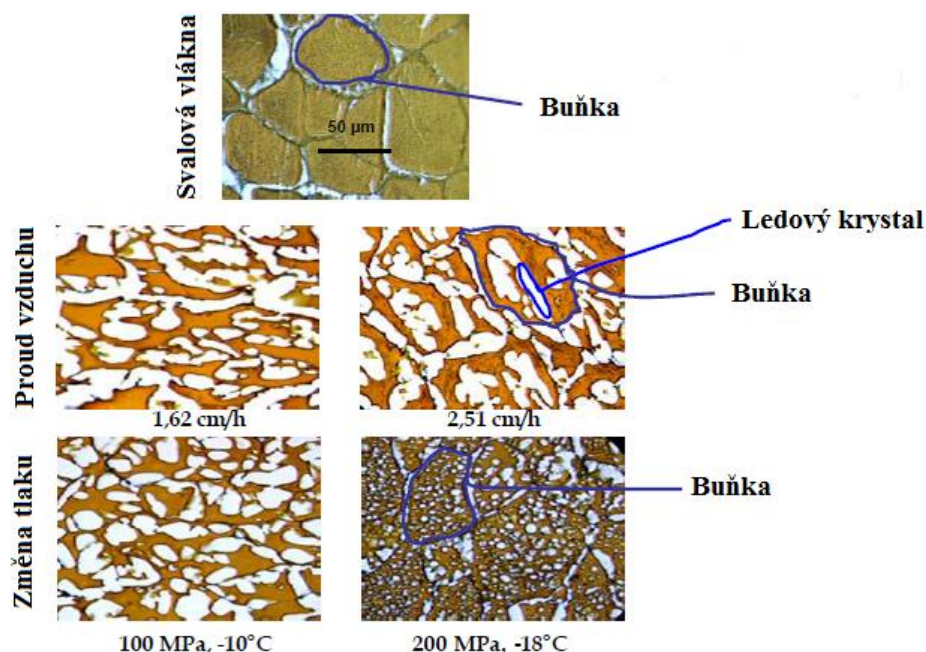
Významnou předností hlubokého chlazení je, že jsou mikrobiální a jiné autolytické projevy v mase v tomto případě významně potlačeny (Huss, 1995;). Hluboké chlazení má ovšem při nesprávné aplikaci znatelný negativní dopad na sensorické vlastnosti (Huss, 1995), zejména na texturu masa v důsledku vyplavení vody a narušení svalových vláken krystaly vzniklými ve struktuře (Bahudud a kol., 2008), jelikož povrchové struktury zachlazeného výrobku běžně zamrzají minimálně do hloubky 1 – 3 mm (Kaale a kol., 2012).

2.5.1.3 Mrazení

Mrazení je velmi účinný způsob dlouhodobého uchovávání potravin (Martino a kol., 1998) Podle Singh (2015) může právě mražení (oproti jiným zpracovatelským metodám používaných k uchování ryb) zachovat nejen technologickou kvalitu, ale i nutriční vlastnosti a chuť čerstvých ryb. Výrazně omezuje nebo zastavuje biochemické reakce v rybím mase (Alizadeh, 2007; Doughikollae, 2012; Singh, 2015)

Důležité je ovšem individuálně posoudit užití mrazírenské technologie díky velikostní a strukturální diverzitě ryb a výrobků z nich. Pokud jsou ryby mrazeny nesprávně, negativní důsledky se projeví obvykle po rozmrazení (texturní změny, dehydratace, enzymatická degradace), jak uvádí Singh (2015). Dnešní studie se zabývají vlivem rychlosti zmrazování produktu na tvorbu (velikost a distribuci) intracelulárních krystalů v mase, které podle mnoha autorů úzce souvisí s kvalitou mražených potravin (Alizadeh, 2007; Leygonie a kol., 2012). V mrazírenském procesu je podstatné dbát na rovnoměrné a rychlé snižování teploty, což má za následek vznik homogenních a malých ledových krystalů. Velké krystaly narušují

svalovinu nejen mechanicky, sekundárně ale mají i vliv na vodní aktivitu svaloviny a další kvalitativní ukazatele (Li a Sun, 2002; Alizadeh, 2007). Na obr. 5 je patrný vliv mrazírenské technologie na tvorbu intracelulárních krystalů ve svalovině lososa.



Obr. 5: Ledové krystaly ve tkáni lososa atlantského v průběhu mrazení vzduchem a pomocí tlaku (převzato z Alizadeh a kol., 2007; upraveno dle Doughikollae, 2012).

Sampels a kol. (2014) uvádějí ideální skladovací teplotu pro mražené ryby, která by měla být na úrovni -40°C . Proces rozmrazení hraje rovněž důležitou roli v kvalitě (Okamoto a Suzuki, 2002). Bylo dokázáno, že rychlé rozmrazování je nejlepší prevencí proti ztrátám parametrům kvality masa (oproti tradičnímu pozvolnému rozmrazování). K tomu se nejčastěji užívá technika tlakového rozmrazování (PAT = pressure assisted thawing).

Mrazírenské techniky

Mezi nové mrazírenské postupy užívané v akvakultuře lze zahrnout zmrazování vzduchové (ABF = air-blast freezing), kapalinové (LF = liquid freezing), kryogenní (NLF = nitrogen liquid freezing) a tlakové (PSV = pressure shift freezing) (Huss, 2011).

Vzduchový (tryskový) systém zmrazování ryb pracuje na jednoduché technologii zajišťující kvalitní a rychlé zmrazení ryb a jejich produktů nepravidelných tvarů na teplotu -20°C až -40°C (Hall, 2011). Výrobek určený k zamrazení je umístěn na posuvný pás, který

sune surovinu tunelem, ve kterém proudí ledový vzduch. Nevýhodou spojenou s výslednými senzorickými vlastnostmi je dle Alizadeh a kol. (2007) tvorba velkých extracelulárních krystalů.

Kapalinovým mrazením lze dosáhnout vnitřní teploty výrobku – 6°C až – 20°C. V průběhu mrazení jsou zmrazované výrobky impregnovány mrazícím médiem. To je nanášeno buď nástřikem či krátkodobou koupelí. Dle Huss (2011) je nejčastěji jako médium užívaná solanka (roztok anorganických solí NaCl, CaCl₂, či MgCl₂) či fridex (ethylenglykol).

Kryogenní zmrazování je užíváno pro potřeby nízkých teplot finálně zmrazeného výrobku. Technologický proces probíhá obdobně kapalinovému. Rozdíl spočívá pouze v užití jiných médií, jako je oxid uhličitý (CO₂) nebo tekutý dusík (N₂; - 196°C). Poměrně prudké zmrazení ovšem způsobuje tvorbu velkých krystalů (Alizadeh, 2007) nerovnoměrně distribuovaných ve výrobku (Martino a kol., 1998).

Tlakové zmrazování (Li a Sun, 2002). V tlakové komoře je postupně navyšován tlak (kolem 200 MPa). Při zvýšeném tlaku probíhá postupné zchlazování k teplotě blízké bodu mrazu. Poté je tlak z komory prudce uvolněn, což má za následek prudké zmrazení výrobku na teplotu přibližně – 20°C. Následuje transfer do konvečních mrazírenských boxů. Podle Doughikollae (2012) je právě mrazení tlakem z hlediska krystalů vzniklých ve svalovině nejšetrnější. To přímo souvisí i s texturními vlastnostmi a menšími ztrátami vody ze svaloviny (Chavalier a kol., 2000).

2.5.1.4 Sušení

Sušení je jednou z nejstarších konzervačních technik zabraňující znehodnocení ryb (Ghaly a kol., 2010, Oliviera a kol., 2012). Sušení ovlivňuje mnoho senzorických vlastností. Zároveň se ale jedná i dnes o oblíbený typ úpravy rybiho masa vyskytujících se v různých provedeních na celém světě (Brás a Costa, 2010; Sampels a kol., 2014). Obecně snížení vodní aktivity podle Singh (2015) inhibuje růst mikroorganismů a průběh chemické reakce, které se podílejí na samovolném kažení rybí suroviny. V sušení jako technologickém procesu má vliv na výslednou kvalitu opět mnoho faktorů, jako je druh a teplota ryby, obsah soli, vlhkost vzduchu, obsah tuku a výška svaloviny, která má být prosušena (Ismail a Wootton, 1992).

Mezi nejužívanější způsoby dehydratace produktu patří sušení s přívodem otepleného vzduchu, vakuové sušení a vakuové vymrazování – lyofilizace.

Podle Ismail a Wootton (1992) je nezbytné zaměřit se během sušícího procesu na vlhkost vzduchu. Při zvýšené vlhkosti nedochází k rovnoměrné evaporaci vody z povrchu

svaloviny. Nedostatek vlhkosti se projeví obvykle „napékaním“ povrchu ryb, kdy se tvoří tuhé krusty, zpod kterých opět voda neuniká, a rybí výrobek se uvnitř vaří. Při vlhkosti vzduchu 45 – 60% by mělo sušení probíhat rovnoměrně.

2.5.1.5 Uzení

Uzení je oblíbeným způsobem zpracování masných výrobků. U ryb je uzení tradiční metodou konzervace živočišných proteinů. Ovšem v oblibě jsou uzené ryby dosud. V poslední době jsou předmětem zkoumání antimikrobiální a antioxidační účinky kouře na trvanlivost produktů rychle podléhající zkáze (Flick, 2010; Arvanitoyannis a Kostanopoulost, 2012). Uzení má pochopitelně přímou vazbu na sensorické vlastnosti (Cardinal a kol., 2001; Hall, 2011). Nejčastěji se v potravinářství udí studeným (na Obr. 7), či teplým kouřem (na Obr. 6). Za studena nepřekročí okolní teplota v peci 33 °C, teplým kouřem je uzení prováděno od 80 °C (Arvanitoyannis a Kostanopoulost, 2010).



Obr. 6: Uzení pstruzi duhové (Foto autor).



Obr. 7: Filety lososa atlantského uzené studeným kouřem (Foto autor).

Uzení zvyšuje údržnost ryb v důsledku krátkodobé navýšení teploty a tím poklesu vlhkosti ve svalovině (Flick, 2010), a přítomnosti složek kouře vázaných v masě, které vznikají tepelným rozkladem ligninu (stavební složky dřeva). Nejvýznamnějšími jsou organické kyseliny, deriváty uhlovodíků a fenoly. Vliv na údržnost uzenin má i sůl, která se přidává v prvních krocích uzení (Cardinal a kol., 2001).

2.5.1.6 Rybí konzervy

Jedná se o velmi rozšířenou metodu konzervace ryb a jejich produktů. Ryby jsou uchovávány ve vzduchotěsných konzervách. Konzervy jsou následně tepelně sterilizovány (v teplotách na úrovni až 130 °C). Sampels a kol. (2014) uvádí, že je tímto krokem možno úspěšně inhibovat bakteriální růst uvnitř konzervy. Trvanlivost rybích konzerv lze prodloužit až na 5 let.

Významným rizikem u konzervovaného rybiho masa je podle Medina a kol. (2009) oxidace iniciována zvýšenou teplotou v průběhu sterilizace. Rovněž závisí na skladovacích podmínkách konzerv. Čím je teplota výrobku vyšší a doba skladování delší, tím jsou v produktu více degradované lipidy (Naseri a kol., 2001). Teplotou nejsou ovlivněny pouze lipidy ve svalovině, proteiny jsou rovněž náchylné k uvolňování biogenních aminů. Změny v nutriční hodnotě jsou běžným jevem při konzervování (Aubourg, 2001). Do jisté míry lze těmto efektům předejít (nebo je alespoň omezit) zvolením vhodného nálevu. Nejčastěji jsou jako bioprotektiva používané oleje s obsahem přírodních antioxidantů, jako mohou být například fenoly (Naseri a kol., 2001).

2.5.2 Aditiva

2.5.2.1 Solení

Solení je jedním z nejstarších způsobů úpravy trvanlivosti syrového materiálu (Oliviera a kol., 2012). Solené ryby jsou rovněž oblíbeným a tradičním pokrmem v mnoha přímořských státech. Konzumují se buďto v sušeném stavu, nebo „rehydratované“ (U tresek; Bjorkevoll a kol., 2004).

Vlivem osmotického tlaku soli dochází ke snižování vodní aktivity v mase ryb, což má za následek důrazné snížení aktivity bakterií a enzymů (Franglos, 2010; Oliviera a kol., 2012). Další výhodnou vlastností soli je, že většina, pro svalovinu patogenních organismů (bakterie, plísně, parazité), není schopna vysoce „slané“ prostředí přežít.

Sušené produkty z ryb se vyznačují typickými sensorickými vlastnostmi, jako je chuť, vůně, barva a v neposlední řadě u těchto částečně dehydratovaných výrobků textura (Bjorkevoll a kol., 2004). U těchto výrobků neustále sledovaným parametrem technologické kvality úroveň oxidace proteinů, jak uvádí Andersen a kol (2007).

2.5.2.2 Marinování

Základní součástí všech marinovaných syrových produktů akvakultury je ocet (McLay, 2003). Kyselina octová výrazně inhibuje mikrobiální procesy v rybích výrobcích v důsledku snížení pH okolního prostředí a následně i masa. Skrze svou účinnost se jedná o jeden z rozšířených způsobů dlouhodobého uchovávání celých ryb (Ozden, 2005) či rybích výrobků (Toyohara a kol., 1999). Marináda se používá v koncentracích 2-3% vodného roztoku, ovšem kompletní úhyn mikroorganismů je dle McLay (2003) nastává při koncentraci 15% roztoku. Riziko kontaminace mikroorganismy tedy stále přetrvává. Vzhledem k tomu, že jedním z prvních technologických kroků při marinování je i nasolení, jsou mikroorganismy ovlivněny i sníženou vodní aktivitou (Fuentes a kol., 2010). Jak dodává Sampels a kol. (2014) je vhodné kombinovat účinky kyseliny octové s jinou balírenskou či skladovací technikou. Z hlediska úpravy marinovaného produktu se rozlišují teplé, či studené marinády podle toho, zda jsou ryby před naložením do marinády tepelně opracovány, či nikoli (Vácha, 2000). U ryb je samozřejmostí změna sensorických parametrů svaloviny (Fuentes a kol., 2010).

2.5.3 „Nové“ prezervační techniky

2.5.3.1 Vysokotlaká ochrana

Technologicky se jedná o „nový“ způsob zpracování syrových masných produktů. Úprava masa tlakem (HPP – high pressure processing) zajišťuje vysokou kvalitu sensorických parametrů masa. Je jednou z metod vyvinutou z důvodu zachování přírodního aroma a vzhledu, které zákazník považuje za známku čerstvosti (Thakur a Nelson, 1998; Ghaly a kol., 2010). Fakt, že vysoký tlak zabíjí mikroorganismy osídlující potraviny, je ovšem znám již od roku 1899. Pro tyto vlastnosti je až v posledních letech široce užívanou metodou prezervace různých potravinářských výrobků (Barba a kol., 2012). Za poslední dvě dekády je tato technologie na vzestupu zejména pro výhody shrnuté Rastogi a kol. (2007):

1. Umožňuje zpracování potravin za teplotních podmínek okolního prostředí (bez nutnosti temperace).
2. Umožňuje prostupnost tlaku bez ohledu na velikost a tvar zpracovávaného výrobku (Thakur a kol., 1998).
3. Způsobí mikrobiální úhyn, což eliminuje použití chemických konzervantů - to má vliv na zlepšení hygienické kvality produktu.

Vysoký tlak obecně denaturuje proteiny. Jak uvádí Rastogi a kol. (2007), při tlakové hladině 100 – 300 MPa jsou ovšem změny způsobené deformací struktury proteinů vratné. Nevratně jsou proteiny v mase deformovány při tlaku nad 300 MPa. Z hlediska bakteriálního kažení je ale dle Rastogi a kol. (2007) svalovina sterilní po expozici tlaku 1200 MPa (Vysoká odolnost bakteriálních spor vůči tlaku; Thakur a Nelson, 1998).

Tlak vyvolává u živočišných výrobků změny svalových enzymů, zmiňovanou proteolýzu masa a změny v textuře masa (Rastogi a kol., 2007). Účinek tlaku závisí na době expozice a výši tlaku, hodnotě pH a dalších chemických charakteristikách masa. V případě bakterií platí, že gram -negativní bakterie jsou citlivější vůči působení tlaku, než gram -pozitivní. Vysokotlaká ochrana výrobků ovšem není dle Thakur a Nelson (1998) příliš efektivní z hlediska oxidačního a enzymatického kažení.

2.5.3.2 Modifikovaná atmosféra

MAP (modified atmosphere packaging) je metodou spočívající v nahrazení atmosférického prostředí skladovaných produktů plynem, nebo kombinací plynů. Pro uchování masa je oblíbenou metodou z důvodu minimálních ztrát na kvalitě výrobku (Jeremiah, 2001; Velu a kol., 2013). Pro vytvoření modifikované atmosféry jsou nejčastěji používané plyny: Kyslík (O₂), dusík (N₂), oxid uhlíčitý (CO₂) a oxid uhelnatý (CO).

Zvýšený obsah kyslíku v plynné směsi má u ryb za následek zachování červené barvy masa, jak uvádí Jeremiah (2001). Kyslíkem jsou zároveň inhibovány anaerobní bakterie. Dusík je v potravinářství užíván z důvodu zachování tvaru (a tudíž objemu) balených výrobků (Ashie a kol., 1996). CO₂ ve vhodném poměru v modifikované atmosféře široce působí baktericidně a fungicidně (Sivertsvik a kol., 2002; Ježek a Buchtová, 2010).

Jak uvádí Sivertsvik a kol. (2002), výrobek z ryb skladovaný v modifikované atmosféře při teplotách mezi 0 – 4°C může svou skladovatelnost až ztrojnásobit. Je ovšem nutné tuto techniku používat v kombinaci s jinými postupy (přidání aditivních látek, nízká teplota).

2.5.3.3 Ozařování

Záření je jednou z možností, jak účinně eliminovat či úplně zastavit rozvoj mikroflóry ohrožující kvalitu rybích výrobků (Ashie a kol., 1996; Kim a kol., 2005; Bengunur a Kaba, 2011). Pro své virocidní a fungicidní účinky je široce využíván i v jiných technologických odvětvích (Aquino, 2012). Legálně je ozařování prováděno až od roku 1973 pomocí záření gamma. Účinek záření spočívá v destrukci DNA patogenů. Jak uvádí Ashie a kol. (1996), expozice při dávkách již 1,5 – 2,5 kGy [J/Kg] má za následek efektivní regulaci *Escherichia coli*, *Salmonella* sp. či *Pseudomonas* sp. K úplné asanaci mikroorganismů dojde při dávce 50 kGy, ovšem, jak shrnul Ashie a kol. (1996), horní limit expozice je stanoven na 10 kGy.

V průběhu testování bylo potvrzeno mnoha autory vznik hydroxylových radikálů při vystavení výrobku záření (Jo a kol., 1999). Studie používání záření v technologickém procesu jsou rovněž frekventovaně orientovány na redukci biogenních aminů (Kim a kol., 2005). Tyto vedlejší účinky lze ovšem eliminovat při kombinaci záření s jinými metodami prezervace, jako je přidání antioxidantu při balení masa (Maltar a kol., 2013), nebo balení masa

v modifikované atmosféře (Kim a kol., 2005). Do budoucna se ovšem jistě jedná o perspektivní metodu k prodloužení údržnosti produktů akvakultury.

2.5.4 Antioxidanty

Jak již bylo zmíněno, oxidace lipidů je jedním z hlavních faktorů limitující kvalitu a přijatelnost masa masných výrobků (Morrissey a kol., 1998). Antioxidanty přidané do výrobku během zpracovatelského procesu se navíc podílí na zvyšování sensorické kvality produktu a jeho nutriční hodnoty (Kazimierczak a kol., 2008; Ucak a kol., 2011). Jedná se o nízkomolekulární látky a enzymy (Halliwell a Cuttidge, 1998).

U ryb je použití antioxidantů významné z hlediska vyššího obsahu oxidativních mastných kyselin v jejich tuku. Z tohoto důvodu je snaha o zahrnutí látek na bázi antioxidantů ve zpracovatelském procesu (Wood a kol., 2003; Li a kol., 2012, Sampels, 2013). Podle Blahe a kol. (2007) mají stále větší význam přírodní antioxidanty, jako jsou extrakty z ovoce, koření, či bylin.

2.5.4.1 Účinek působení

Pantelidis a kol. (2007) popisuje účinek antioxidantů jako „lapačů radikálů“, kterými jsou fenoly, antokyany a vitamin C. Jiné antioxidanty jsou schopny katalytické kovové ionty a singletový kyslík (reaktivní forma kyslíku) vyvázat a tím je odstranit (Halliwell a Cuttidge, 1998). Ovšem pouze v případě, že jsou radikály přítomny v nízkých koncentracích, v opačném případě průběh autooxidace pouze zpomalí.

Antioxidanty snižují aktivitu autolytických enzymů (Li a kol., 2012; Sampels, 2013). V neposlední řadě je nutné zmínit fakt, že přidání antioxidantů ve zpracovatelském procesu se z většiny nepodílí na degradaci buněk výrobků, jež v průběhu jiného typu konzervace vliv na pokles nutriční a sensorické kvality (Gray a Person, 1987).

2.5.4.2 Použití antioxidantů

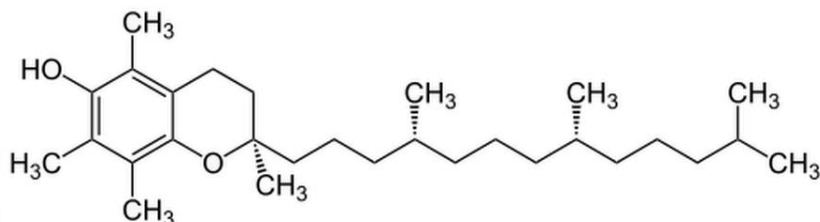
Dle Halliwell a Cuttidge (1998) jsou rozpustné buďto ve vodě, či tucích. To má přímou vazbu na způsob aplikace u masných výrobků. Důležité je rovněž stanovit ideální koncentraci a dobu aplikace dané látky (Ucak, 2011). Aplikována jsou nejčastěji

prostřednictvím krmiv podávaným brojlerům s obsahem aktivní látky (Olivové listy, vitamin E; Bostoglou a kol., 2010), či aplikací na maso v průběhu zpracování (Tanabe a kol., 2012).

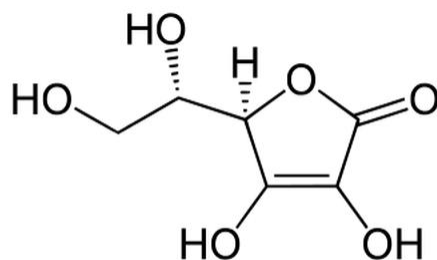
Antioxidanty v krmivech

Antioxidanty se přidávají do takových krmiv, které jsou bohaté na PUFA (Sampels, 2013). Jsou vedle zlepšených výživových vlastností pro ryby důležité pro stabilizaci lipidů v krmných směsích v průběhu skladování. Larrain a kol. (2008) zkoumali vliv prášku z brusinkové šťávy přidaného do krmení pro prasata, kdy potvrdili vztah mezi antioxidanty upraveným krmivem a nižší náchylnost zpracovávaného masa k oxidaci lipidů po porážce.

Častým přírodním aditivem je antioxidant rozpustný v tucích – vitamin E (Obr. 8). Ten je přidáván ve formě tokoferol acetátu (minerálního premixu; Frank, 2004). Jeho zahrnutí v krmivu má pozitivní efekt na oxidační stabilitu masa (Jensen, 1998). Vedle jeho schopnosti neutralizovat volné radikály podporuje činnost nervového systému a má pozitivní účinky na tvorbu pohlavních buněk, jak udává Serezli a kol. (2010). Z látek rozpustných v tucích jsou rovněž významné jako lapači radikálů karotenoidy, coby prekursorů vitaminu A. Karotenoidy, tokoferoly a tokotrienoly jsou přidávány jako reducenti singletového kyslíku. Nejpoužívanějšími substancemi se zabýval Morrissey a kol. (1998). Vitamin C (Obr. 9) je častým aditivem rozpustným ve vodě.



Obr. 8: *Strukturní vzorec α -tokoferolu.*



Obr. 9: *Strukturní vzorec kyseliny askorbové (vitaminu C).*

Antioxidanty aplikované „post mortem“

Jedná se o látky, které jsou lépe využitelné po porážce. U vitaminů se jedná o takové, které jsou rozpustné ve vodě a jejich použití by bylo v krmení pro ryby neefektivní (Sampels, 2013). Na maso a masné výrobky je možné aktivní látku, nebo látku obsaženou ve vodním roztoku přímo aplikovat několika způsoby. Výrobky pocházejícího z akvakultury jsou nejčastěji ošetřovány máčením, stříkáním, či nátěrem substancí obsahující aditivum (Lucera a kol., 2012).

V poslední době jsou na vzestupu antioxidanty přírodního původu, jako jsou různé druhy koření, bylin, ovoce, řas (Ucak a kol., 2011; Sampels, 2013), a využívání vedlejších „odpadních“ produktů z potravinářské výroby (Pazos a kol., 2006).

Antioxidační aditiva přidaná „post mortem“ jsou běžně používána v kombinaci s jinými skladovacími postupy. Nejčastěji s chlazením (Sallam, 2007; Li a kol., 2012), balením v modifikované atmosféře (Coban a Ozpolat, 2013), vakuu (Goulas a Kontominas, 2007; Ucak a kol., 2011), či mrazením (Brannan a Mah, 2007; Park a kol., 2009).

2.5.4.3 Antioxidanty přírodního původu

Využití antioxidačního potenciálu přírodních extraktů má několik výhod. Jednou z nich je nesyntetický původ. Většina těchto přírodních látek je zároveň široce používána ve zpracovatelských procesech jiných masných výrobků. Navíc jsou výrobky upravené přírodními sloučeninami mnohem atraktivnějšími pro konečného spotřebitele (Ucak a kol., 2011). Je známo mnoho rostlin obsahující přírodní polyfenoly o různých antioxidačních kapacitách, jimiž se mimo jiné zabývali Wojdylo a kol. (2007). Další předností přírodních látek je jejich účinnost při nízkých koncentracích a krátké expozici. Například použití 0,2% tymiánového oleje v kombinaci s modifikovanou atmosférou prodloužilo dobu trvanlivost filetu mořského okouna z 6 dní na 17 (Kostaki a kol., 2009). Podle Wojdylo a kol. (2007) mají rostliny obsahující antioxidační sloučeniny další biologické efekty uplatnitelné v medicíně, výživě, v kosmetice (aroma, barvení, repelenty).

Přírodní substance jsou známy svými pozitivními účinky na prevenci a léčbu zdravotních problémů (Giusti a Wrolstad, 2003). Zároveň je jejich produkce trvale udržitelná.

Koření a byliny

Je známo, že nejvýznamnější sloučeniny z hlediska ochrany před oxidací, nebo zpomalení jejího rozvoje jsou fenolické sloučeniny obsaženy v těchto plodinách (Sampels, 2013). Už při nízké koncentraci rozmarýnu (0,4 %) je možné docílit prodloužení nutriční kvality (Ucak a kol., 2011). Tanabe a kol. (2012) porovnávali účinek 22 běžně kulinářsky používaných bylin a koření u vepřového masa. Nejvyšší antioxidační kapacity bylo dosaženo použitím zázvoru a šalvěje. Zajímavostí je, přidání rozmarýnu, tymiánu, oregana a nového koření mělo za následek až 64% inhibici oxidace lipidů. Vedle antioxidačního účinku působí mnoho kořenin na sensorické vlastnosti výrobku. Goulas a Kontomias (2007) posuzovali vliv extraktu oregana na rybí filet z hlediska sensoriky vedle antioxidační kapacity. Panelem hodnotitelů nebyla prokázána sensorická odlišnost mezi vzorky.

Ovoce a bobule

Nejúčinnější složky ovocných plodů jsou nejen fenoly, ale i anthokyany a kyselina askorbová (vitamin C). Kromě příznivých účinků na lidské zdraví ovlivňují tyto přírodní substance i sensorické parametry výrobku (Pantelidis a kol., 2007). Příkladem jsou brusinky, které vedle antioxidačních vlastností hrají roli v prevenci a léčbě močového ústrojí, jak uvádí Howell (2007).

Osvědčila se široká škála extraktů z bobulí a ovoce, jako například brusinky, bezinky, černý rybíz, hrozen a další (Abuja a kol., 1998; Brannan a Mah, 2007). Extrakty z hroznů byly účinné u masa terestrických organismů již při aplikaci v koncentracích 0,1 %. Jedná se o velmi efektivní inhibitor primární i sekundární oxidace.

Jiné zdroje antioxidantů

Vedle bylin, koření, ovoce a dalších zdrojů byl rovněž testován antioxidační potenciál jiných přírodních substancí. Katechiny obsažené v zeleném čaji byly testovány mnoha autory na různých potravinářských výrobcích (Tang a kol., 2001). Jejich použití výrazně inhibuje oxidaci lipidů v červeném mase, drůbeži a svalovině ryb, kdy byly účinnější, než použití vitamínu E. Tyto vlastnosti extraktu čaje ověřil i Tang a kol. (2001) aplikací na mase makrely.

Další slibnou konzervační látkou testovanou pro své antioxidační vlastnosti je chitosan. Jedná se o deacetylovanou formu chitinu s prokázanými antibakteriálními a antifugicidními vlastnostmi (Vavříková a Vinšová, 2009). Dle výsledků dosavadních studií

nebyl prokázán negativní vliv použití chitosanu na senzoričké vlastnosti rybího masa (No a kol., 2007). Navíc je chitosan netoxický a biokompatibilní (Vavříková a Vinšová, 2009).

V současné době probíhá neustálé hledání nových přírodních látek a využívání „odpadů“ z potravinářské výroby, jako cibule (Benítez a kol., 2011), rýže (Min a kol., 2009) nebo rajčat (Shao a kol., 2012). Tyto vedlejší produkty lze buďto přímo zkrmovat jatečným zvířatům nebo použít jako aditiva v balírenském konzervačním procesu. Olej z rajčatových semínek byl Shao a kol. (2012) testován na brojlerech kuřat. Slupky a semínka lze rovněž zahrnout v krmných směsích pro tržní ryby dle Knoblich a kol. (2005) jako zdroj karotenoidů.

Pazos a kol. (2006) testovali přírodní fenoly z olejů vedlejších produktů ze zpracování hroznů a oliv. Aplikací vodního roztoku nástřikem a nátěrem na filety tresky potvrdily výborné antioxidační vlastnosti. Novinkou je frakcionizace antioxidantů z mořských řas (Ganesan a kol., 2008), jako využití lokálních zdrojů (Cox a kol., 2010).

2.5.5 Přírodní antimikrobiální sloučeniny

Jak již bylo zmíněno, aktivita mikroorganismů je hlavní příčinou znehodnocení produktů akvakultury. V důsledku mikrobiální aktivity dochází k degradaci esenciálních MK a vitamínů přirozeně se vyskytujících v tuku ryb, k deformaci struktury proteinů, k produkci biogenních aminů a v neposlední řadě k ovlivnění senzoričkých parametrů masa (Gram a Dalgaard, 2002).

I když jsou aditiva s označením „E“ účinné a levné, jsou v poslední době na vzestupu přípravky přírodního původu pocházející z obnovitelných zdrojů (Lucera a kol., 2012). Výhody plynoucí z používání přírodních látek při zpracování potravin byly shrnuty v kapitole zabývající se antioxidačními účinky aditiv.

2.5.5.1 Účinek a použití mikrobiálních látek

Účinky přírodních sloučenin aplikovaných ve zpracovatelském procesu na trvanlivost rybích výrobků se zabývá mnoho autorů (Tab. 8; Lucera a kol., 2012). Účinek působení závisí na aktivní látce v přípravku a způsobu její aplikace. Závisí i na stupni opracování ošetřovaného materiálu a zvoleném způsobu balení.

Odborná literatura rovněž potvrzuje účinnost antimikrobiálních aditiv při nízkých koncentracích. Opět se jedná o extrakty koření a bylin, ovoce a dalších přírodnin (Tiwari a kol., 2009; Franglos a kol., 2010). Erkan (2012) potvrdil lepší mikrobiální stabilitu vakuově baleného masa pstruha duhového předem ošetřeného 1% roztokem tymiánového a

česnekového oleje. U filetu pražmy postačovala koupel v 0,8% roztoku oleje z oregana k prodloužení trvanlivosti o více než 17 dnů z hlediska mikrobiální nezávadnosti (Goulas a Kontominas, 2007). Extrakty dužniny či semen různých druhů ovoce jsou rovněž prodlužovat mikrobiální nezávadnost (Corbo a kol., 2008).

Účinné látky lze použít v krmivech, či *post mortem*, jak uvádí Ucak a kol., 2011. Nejběžnějším způsobem přidávání antimikrobiálních aditiv do výrobku je však přímou aplikací, jak shrnuje Lucera a kol. (2012). A to máčením (Mahmoud a kol., 2004; Lohalaksabadeh and Sujarit, 2011) ve vodné lázni, či sprejováním nebo nátěrem (Yasin a Abou – Taleb, 2007) rybího výrobku vodným roztokem obsahujícím aktivní látku. Opět platí pravidlo, že kombinací skladovacích postupů lze docílit delší údržnosti výrobků (Tab. 8; Tiwari a kol., 2009; Lucera a kol., 2012). Nejfrekventovaněji používané balící techniky jsou pomocí modifikované atmosféry (Economou a kol., 2009; Mastromatteo a kol., 2010), či vakuově (Frangos a kol., 2010; Erkan a kol., 2012). Zajímavou studií je použití skořicového oleje natíraného ve formě želatiny (1%, 1,5% a 2%) na filety pstruha duhového, kdy došlo k zvýraznění textury a barvy masa (Andevari a Rezaei, 2011).

Rostlinné extrakty působí inhibičně na mikrobiální růst (Kanatt a kol., 2008). Li a kol. (2012) prokázali významný mikrobicidní účinek koupelí již nízkých koncentrací čajových polyfenolů (2%) a extraktu rozmarýnu (2%) v mase karase stříbřitého. Proti mikroorganismům účinně působily i koupele ve 2,5% vodných roztocích organických kyselin (octan sodný, mléčnan sodný a citrát sodný). Máčení v těchto roztocích přispělo k rozšíření skladovatelnosti zachlazených plátků lososa (z hlediska oxidace lipidů o 4 – 7 dní oproti kontrolám; Sallam, 2007).

Pro potřeby antimikrobiální ochrany se rovněž osvědčil chitosan (Vavříková a Vinšová, 2009; Ojagh a kol., 2010). Kanatt a kol. (2008) potvrdili schopnost inhibice mikroorganismů chitosanem v koncentraci začínající na úrovni 0,05 %. U vepřového salámu byli přidáním této látky schopni výrazně prodloužit jeho trvanlivost. Samovolné znehodnocení rybího masa velmi výrazně zpomaluje dle studia Del Nobile a kol., 2009 při skladování rybích výrobků ošetřených chitosanem pod modifikovanou atmosférou.

Tab. 8: Příklady aktivních látek experimentálně ověřených na produktech akvakultury (Podle Lucera a kol., 2012).

Produkt a skladovací podmínky	Přírodní sloučenina a testovaná koncentrace	Výsledek po ošetření	Reference
Pstruh duhový filet Vakuově balený	Oregánový olej 0,2 %; 0,4 %	Prodloužení doby trvanlivosti vakuově balených filetů na 11 – 12 dní oproti kontrole (5 dní) balené jako volně ložené	Frangos a kol., 2010
Pstruh duhový filet balený s pohlcovačem kyslíku	Oregánový olej 0,4 %	Antimikrobiální složka zvýšila z hlediska senzorických analýz dobu trvanlivosti	Mexis a kol., 2009
Rybí burgery Vakuově balené	Rozmarýnový extrakt 0,4 %; 0,8 %	Použití extraktu v kombinaci a vakuovým balením bylo z hlediska mikrobiologie velice efektivní	Ucak, 2011
Cípal filet smažený	Směs extraktu z tymiánu (0,2 %) a majoránky (2,5 %; 5 %)	Potvrzen velmi silný efekt proti <i>Enterobacteriaceae</i>	Yasin a Abou – Taleb (2007)
Mořský okoun filet Balený v modifikované atmosféře o různém plynovém složení	Tymiánový olej 0,2 %	Nejlepší kombinace zvyšující kvalitu masa byla s atmosférou o složení: 60 % CO ₂ , 30% N ₂ , 10% O ₂	Kostaki a kol., 2009
Krabí maso Vařené	Máčení v sodium-acetátu 1 %, 1,5 %, 2 %	2 minuty koupele ve 2 % roztoku zajistily 12 dní údržnosti oproti kontrole (6 dní)	Lohalaksabadeh a Sujarit (2011)
Loupané krevety Balené v modifikované atmosféře	Potíráno thymolem 500 ppm, 1000 ppm, 1500 ppm	Při koncentraci 1000 ppm byla oproti kontrole (5 dní) navýšena doba trvanlivosti o 9 dnů (14 dní) pod MAP	Mastromatteo a kol. (2010)

3 MATERIÁL A METODIKA

Diplomová práce byla uskutečněna v rámci projektu CZ.1.25/3.1.00/12.00124 „Prodloužení trvanlivosti chlazených výrobků z ryb“ Fakulty rybářství a ochrany vod v Českých Budějovicích (FROV JU) ve spolupráci se společností Rybářství Chlumeč nad Cidlinou, a.s. Pilotní projekt byl podpořen dotací Operačního programu Rybářství 2007 – 2013.

Cíle projektu byly stanoveny následující:

1. Ověřit použití aditivních látek, pokud možno čistě přírodního původu, na experimentálních rybách zpracovaných do různých distribučních provedení. Zaměřit se na použití aditiv, u kterých není nutné označení na etiketě symbolem „E“. Použít aditiva bez alergenů a vedlejších účinků.
2. Charakterizovat a popsat 2 aditivní přípravky nejlépe hodnocené v dílčích analýzách.
3. Zaměřit se na průběh biochemických a mikrobiálních procesů probíhající ve svalovině ryb po jejím ošetření v lázni.
4. Zhodnotit ekonomickou stránku použití aditivních látek pro provozní podmínky.
5. Prodloužit dobu trvanlivosti ryb a rybích výrobků (čerstvých či chlazených) nejméně o 1 den.

3.1 Design projektu

Experimentálně probíhalo testování aditivních přípravků v Laboratoři výživy na Ústavu akvakultury a ochrany vod v Českých Budějovicích, součásti FROV JU. V provozních podmínkách byly vybrané přípravky zkoušené na zpracovně ryb Rybářství

Chlumec nad Cidlinou, a.s. Chemické analýzy byly prováděny v laboratořích FROV JU. Mikrobiologické testy vyhodnocovala akreditovaná laboratoř ALS Czech Republic, s.r.o.

3.1.1 Experimentální ryby

Tržní ryby pocházely z chovu Rybářství Chlumec nad Cidlinou. Testování byly podrobeny 2 druhy ryb, oblíbené mezi českými spotřebiteli. Kapr obecný (*Cyprinus carpio*, Obr. 10) o tržní váze 1,5 - 2,5 kg a pstruh duhový (*Oncorhynchus mykiss*, Obr. 11) o tržní váze 0,25 – 0,35 kg. Celkem bylo zpracováno 211 kg tržních pstruhů a 330 kg tržních kaprů.

Vliv aditivních přípravků se posuzoval na filetech s kůží (u pstruha se šupinami, u kapra nikoli), a to volně ložených nebo vakuově balených. Dále byly lázně aplikovány u pstruhů kuchařských s hlavou. Ryby určené k analýzám byly zpracovávány na reprezentativní vzorky jak zpracovnou ryb v Chlumci nad Cidlinou, tak v technologickém zázemí laboratoře výživy.



Obr. 10: Tržní kapr obecný (Foto autor).



Obr. 11: Tržní pstruh duhový (Foto autor).

3.2 Aditiva

Aditivní přípravky byly vytipovány na počátku testování. Jednalo se o 7 komerčních výrobků, a to ANTIBAK, MIC – STAB, Bakont, SEA-i®F75, Misocarine LR, SAFE – A Plus a AMX – liquid (Tab. 9, Obr. 16). Všechna tato aditiva byla aplikována ve formě krátkodobých koupelí. Analýzy, kterým byla ošetřená svalovina podrobena (vyjma senzorické analýzy) poskytovaly možnost ověřit, zda není rybí výrobek závadný z hlediska hygienické a zdravotní bezpečnosti pro zákazníka. Velkou roli hrála v průběhu zkoumání senzorická analýza ošetřených vzorků.

Tab. 9: Charakteristika a technické informace aditiv.

Obchodní název	Výrobce	Složení	Značení na etiketách výrobku	Provedení	Doporučené použití
ANTIBAK	IDC-FOOD, s.r.o.	bioprotektor – přírodní produkt	NE	prášek	1 – 2 g.kg ⁻¹
MIC - STAB	Fimex spol. s.r.o.	Mléčnan draselný Octan draselný	E326 E261	vodný koncentrát	1- 2 % vodného roztoku
Bakont	IDC-FOOD, s.r.o.	Octan sodný Vláknina Erythorban sodný	E262 E316	prášek	2 – 4 g.kg ⁻¹
SEA-i@F75:	BIENCA S.A.	Aktivní enzymy na bázi laktoperoxidáz	NE	prášek	50 – 400 ppm
Misocarine LR	Vitablend Nederland B.V.	Extrakt z koření	Extrakt z koření	vodný koncentrát	2 – 3 % vodného roztoku
SAFE – A Plus	AMEREX spol. s.r.o.	Funkční metabolity a soli	NE	prášek	1 – 2 g.kg ⁻¹
AMX - liquid	AMEREX spol. s.r.o.	Octové extrakty a soli, organické kyseliny	Přítomnost octových extraktů	vodný roztok	přímá aplikace bez ředění

3.3 Metodika analýz svaloviny ryb

3.3.1.1 Mikrobiologická zkouška

Analýza CPM (celkový počet mikroorganismů) byla provedena po každém testování aditivních přípravků. Stanovení prováděla akreditovaná laboratoř společnosti ALS Czech Republic, s.r.o. (laboratoř. č. 1163) formou zakázky FROV JU. Ta poskytla dostatečné množství reprezentativního vzorku svaloviny (Obr. 12).

V posledních fázích projektu byly analýzy rozšířeny o stanovení legislativně sledovaných patogenů, a to bakterií *Escherichia coli*, *Salmonella* a *Listeria monocytogenes*. Tyto zkoušky byly provedené v poslední den potenciální trvanlivosti (standartní expirační doba + 1 den dle cílů pilotního projektu). Analýzy byly řešeny dle následujících norem:

ČSN EN ISO 4833

- Horizontální metoda pro stanovení celkového počtu mikroorganismů.
- Technika počítání kolonií vykultivovaných při 30°C na pevném substrátu za aerobních podmínek.

ČSN ISO 16649-2

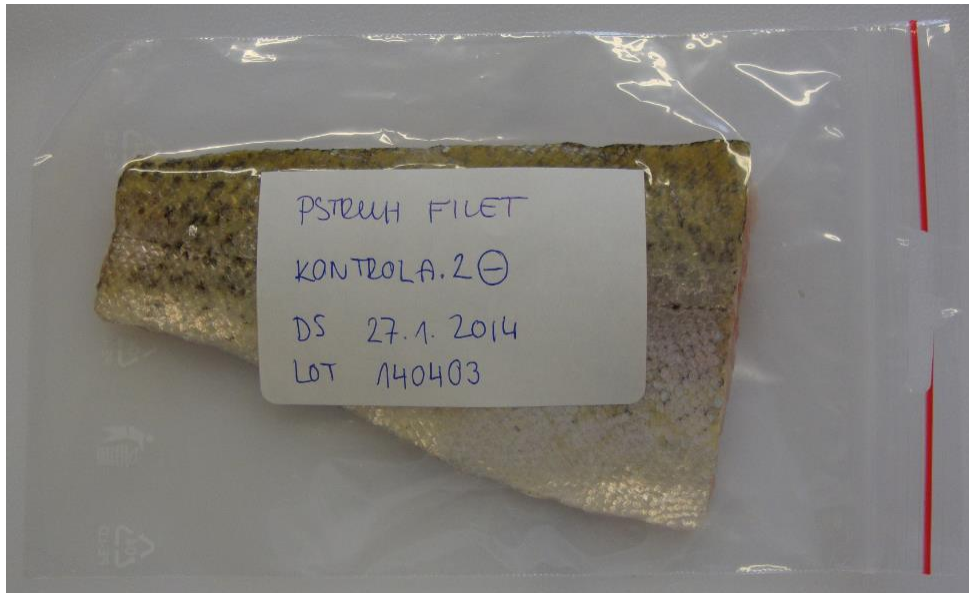
- Horizontální metoda stanovení beta-glukuronidázopozitivních *Escherichia coli*, část 2.
- Technika počítání kolonií vykultivovaných při +44°C s použitím 5-bromo-4-chloro-3-indolil beta -D-glukuronidu.

ČSN EN ISO 11290-1

- Horizontální metoda průkazu a stanovení počtu *Listeria monocytogenes*, část 1.
- Metoda průkazu.

ČSN EN ISO 6579

Horizontální metoda průkazu bakterií rodu *Salmonella*.



Obr. 12: Vzorek volně loženého filetu pstruha připraveno k odeslání na mikrobiální analýzu (Foto autor)

3.3.1.2 Statistické hodnocení vzorků

Dílčí výstupy testů byly analyzovány pomocí programů Statistica 10 a MS Excel. Prezentovaná data jsou průměrem \pm směrodatná odchylka. Pro rozlišení dvou skupin byl použit studentův t-test. Pro stanovení případného rozdílu mezi více skupinami byly výsledky vyhodnoceny jednocestnou analýzou variance, ANOVA, s následným post-hoc Tukeyho HSD testem. Rozdíly byly determinovány signifikantními při $p < 0,05$.

3.3.1.3 Oxidace proteinů

Stanovení úrovně oxidace proteinů probíhalo v laboratořích FROV JU dle metodiky Oliver a kol. (1987) (Obr. 13). Jedná se o spektrofotometrické stanovení koncentrace karbonylů. Ty jsou jedny z nejvýznamnějších látek vznikajících v důsledku oxidace proteinů a jejich množství vypovídá o stupni oxidace.

3.3.1.4 Extrakce tuku a kompozice mastných kyselin

Extrakce lipidů ze svaloviny se řídil Hary a Radina (1978). Následná příprava metylesterů z lipidů proběhla dle Appelquista (1968). Podle Fredriksson-Eriksson a Pickové (2007) proběhlo stanovení kompozice mastných kyselin plynovou chromatografií (chromatograf Trace Ultra FID, Thermo Scientific). Porovnávacím standardem byl GLC-68D ke stanovení jednotlivých vrcholů (peaků).



Obr. 13: *Extrakce tuku pro analýzy. Vlevo ve zkumavce vzorek ve třech fázích – v horní fázi je vyvázáno celkové množství tuku ze vzorku. Napravo dusík vháněn do vzorků s odebranou horní fází za účelem odpaření rozpouštědel (Foto autor).*

3.3.1.5 Oxidace lipidů

Analýza stupně oxidace ve svalovině výrobků byla rovněž realizována v experimentálním zázemí FROV JU. A to pomocí metody měření TBARS dle Millera (1998). Kyselina thiobarbiturová (TBA) reaguje s malondialdehydem v tuku ryb, který je produktem oxidace lipidů. Vzniklá růžová sloučenina je dále měřena spektrofotometricky.

3.3.1.6 Celkové nutriční složení

Analýza nutričního složení ryb ošetřených koupelemi proběhla opět ve spolupráci s akreditovanou laboratoří (ALS Czech Republic s.r.o.) formou zakázky. Stanoveny byly následující ukazatele (tzv. Big 7):

- tuk a z něj nasycené mastné kyseliny
- sacharidy a z nich cukry
- bílkoviny
- sůl
- energetická hodnota

Metody analýz nutričního složení

CZ_SOP_D06_04_458

Stanovení popele v potravinách gravimetricky spalováním při 550°C

CZ_SOP_D06_04_452

Stanovení sušiny gravimetricky.

CZ_SOP_D06_04_479

Stanovení obsahu sacharidů a energetických hodnot výpočtem z naměřených hodnot.

CZ_SOP_D06_04_482

Stanovení obsahu tuku pomocí NMR.

CZ_SOP_D06_04_202 (ČSN EN ISO 5509, ČSN EN ISO 15304)

Stanovení mastných kyselin metodou plynové chromatografie s FID detekcí a výpočet sum SAFA, MUFA, PUFA, TFA (celkové mastné kyseliny), Omega 3, Omega 6

CZ_SOP_D06_02_001

Stanovení prvků metodou ICP-OES a stechiometrické výpočty obsahů sloučenin z naměřených hodnot. Vzorek byl před analýzou homogenizován a mineralizován kyselinami a peroxidem vodíku.

CZ_SOP_D06_04_475

Stanovení N-látek podle Dumase

CZ_SOP_D06_04_223 (ČSN EN 12630)

Stanovení cukrů metodou kapalinové chromatografie s RI detekcí.

3.3.1.7 Senzorická analýza

V průběhu celého projektu byly senzorické analýzy řešeny třemi způsoby.

Provozní ověřování – toto testování senzorických parametrů prováděli řešitelé projektu a zaměstnanci zpracovny ryb. Jednalo se o interní orientační posouzení vlivu aditivních přípravků na základní senzorické vlastnosti. Tyto testy sloužily k místnímu posouzení, případně vyloučení přípravku k dalšímu testování.

Panel proškolených osob – Všechny posuzované vzorky byly po koupeli vakuově zabaleny a hodnocení bylo prováděno druhý, čtvrtý, sedmý a devátý den skladování. Zvolenou metodou bylo posouzení čtyř senzorických parametrů (vůně, chuť, pachů, konzistence) pomocí hédonické (nestrukturované) stupnice ke každému parametru (dle metodiky Vejsady a Váchy, 2010; Obr. 14). Na základě vjemu ze vzorku vnese hodnotitel bod na přímce, jež má 100 mm. Pravý okraj je chápán jako pozitivní a levý jako negativní. Vyhodnocení spočívá v naměření vnesených hodnot v milimetrech. Platí tedy, že čím nižší naměřená hodnota je (nebo je nulová), tím je parametr hodnocen lépe. Panel tvořilo 10 hodnotitelů.

<u>Senzorické hodnocení masa ryb</u>		
Jméno:	Datum:	Číslo vzorku:
VŮNĚ	-----	
CHUŤ	-----	
PACHUŤ	-----	
KONZISTENCE	-----	

Obr. 14: Úsečkový protokol – v tištěné verzi jsou úsečky dlouhé 10 cm.

Vzorky byly pro potřeby těchto senzorických analýz připraveny následovně: Do skleněných uzavíratelných nádob byly dány reprezentativní vzorky svaloviny. Sklenice byly nadepsány specifickým kódem známým pouze řešiteli. Před podáním posuzovateli byly plné vzorkovnice tepelně upraveny po dobu 20 minut při 180 °C (Obr. 15). Konzument obdržel k hodnocení vzorky uzavřené.



Obr. 15: *Vzorky po tepelné úpravě v elektrické troubě (Foto autor).*

3.4 Praktické řešení projektu

Praktické řešení projektu bylo řešiteli uspořádáno do šesti dílčích etap. Toto uspořádání bylo zvoleno pro přehlednost a možnost rychlého porovnání dosažených výsledků. Praktická realizace projektu trvala 18 měsíců. Rozdělení do etap je následující:

ETAPA I.

- Zvolení vhodných aditiv pro budoucí testování a kontaktování dodavatelů. Plánován byl rovněž design provedení projektu.

ETAPA II.

- První pokusy. Aplikované koncentrace přípravků dle doporučených koncentrací. Interní sensorická zkouška, mikrobiologická analýza.

ETAPA III.

- Úprava použitých koncentrací, doby expozice lázně v různých poměrech lázeň : rybí produkt. Selektce testovaných vzorků na základě interní sensorické zkoušky a mikrobiálních analýz.

ETAPA IV.

- Podrobnější ověření dvou vyselektovaných aditiv v praktických podmínkách. Podrobné sensorické analýzy, mikrobiologické analýzy, měření stupně oxidace tuků a proteinů a stanovení nutričních parametrů.

ETAPA V.

- Sensorická analýza v panelu proškolených osob.

ETAPA VI.

- Screening datasetu výsledků. Zhodnocení dosažených výstupů s cíli projektu. Vytvořena technická zpráva o realizaci projektu.

3.4.1.1 ETAPA I.

Fáze teoretických příprav včetně vytipování aditivních látek. Plánování praktického řešení projektu ve spolupráci se zpracovnou Rybářství Chlumec nad Cidlinou, a.s. Oslovení dodavatelů a naskladnění přípravků. Charakteristika a technické informace aditiv shrnuje Tab. 9, na Obr. 16 jsou vyfoceny v obchodním balení. Přehled plánovaných koncentrací udává Tab. 10.



Obr. 16: Obchodní balení a značení vybraných aditivních přípravků. Horní řada zleva: Antibak, MIC – STAB, SEA-i@F75, SAFE – A Plus (Foto T. Zajíc). Dolní řada zleva: Bakont, Misocarine, AMX – liquid (Foto autor).

3.4.1.2 ETAPA II.

V lednu 2014 započalo prvotní testování lázní s přidavkem aditiv v laboratorních podmínkách FROV JU. Ryby byly zpracované a vyprané na běžné zpracovatelské lince. V případě potřeby filet byly ryby filetovány ručně (Obr. 17). V první fázi testování byla použita koupel na pstruhovi – filetách (Obr. 18) i pouze kuchařských kusech (Obr. 19). Ke koupelím byly použity nerezové gastro nádoby (objem 5l). Vzorky ryb byly ponechány v lázni 10 minut (v jednom případě 30; Tab. 10). Po vyjmutí se vzorek nechal krátce okapat a byl zabalen dle potřeby (volně v uzavíratelných mikrotenových sáčcích nebo zavakuováním).

Tyto orientační testy předcházely internímu senzoričkému posouzení případného vlivu aditivní látky na organoleptickou jakost svaloviny pstruha. K následné selekci byly zohledněny i výstupy mikrobiologické analýzy volně loženého masa.

Tab. 10: *Plánovaná koncentrace a doba koupele vybraných aditiv pro ETAPU II.*

Přípravek	Koncentrace látky	Jednotky	Doba koupele [minuty]
ANTIBAK	1, 2, 4	g.l-1	10
MIC - STAB	10, 15, 20	ml.l-1	10
Bakont	2, 6, 10	g.l-1	10
SEA-i®F75:	2, 5, 5	g.l-1 g.l-1	10 30
Misocarine LR	20, 40, 60	ml.l-1	10
SAFE – A Plus	4, 6, 8	g.l-1	10
AMX - liquid	50, 100, 200	ml.l-1	10
KONTROLA	0		10



Obr. 17: *Pravý a levý filet s kůží – pstruh duhový (Foto autor).*



Obr. 18: *Reprezentativní vzorky svaloviny pstruha v lázni (Foto autor).*



Obr. 19: *Gastronádoby s celými rybami (Foto T. Zajíc).*

3.4.1.3 ETAPA III.

Výsledky předešlých testů poskytly představu o účincích jednotlivých koupelí. Aditivní přípravky byly testovány koupelemi o různých koncentracích, době expozice, poměrech objemu vody a biomasy vzorků, počtech koupelí, a to za účelem vyselektovat ze sedmi přípravků 2, kterými se bude možné zabývat podrobněji. Opět byly použity pouze vzorky pstruha. Tyto koupele probíhaly rovněž na úrovni laboratorního zkoumání v Českých Budějovicích.

V tomto testování byly zvolené dva poměry lázeň : vzorek, a to v poměrech 2:1 a 1:1. Připravená lázeň byla zároveň použita 1x, 2x a 3x. Upraveny byly rovněž koncentrace látek pro přípravu koupelí (Tab. 11). Opět proběhla interní sensorická zkouška a mikrobiologická analýza a následná selekce potencionálně účinných aditiv. Hodnotitelé ošetřeného masa byli zaměstnanci Rybářství Chlumec nad Cidlinou a.s.

Tab. 11: *Plánovaná koncentrace a doba koupele vybraných aditiv pro ETAPU III. Světleji jsou podbarveny upravované koncentrace.*

Přípravek	Koncentrace látky	Jednotky	Doba koupele [minuty]
ANTIBAK	1, 2, 4	g.l-1	10
MIC - STAB	10, 15, 20	ml.l-1	10
Bakont	10, 13, 16	g.l-1	10
SEA-i®F75:	2, 5	g.l-1	10
	5	g.l-1	30
Misocarine LR	20, 30, 60	ml.l-1	10
SAFE – A Plus	4, 6, 8	g.l-1	10
AMX - liquid	100, 150, 200	ml.l-1	10
KONTROLA	0		10

3.4.1.4 ETAPA IV.

Závěrečné testování proběhlo v provozním zpracovatelském zařízení Rybářství Chlumeck nad Cidlinou, a.s. Ryby byly zpracovány na zpracovatelské lince (při potřebě celých ryb) a následně manuálně filetovány. Dle výstupů předešlých analýz byly zvoleny 2 přípravky, a to Bakont (prášek) a AMX – liquid (roztok).

Pro přípravu koupelí se aktivní látka rozpustila v pitné vodě v plastovém odměrném válci. Následně byl tento roztok vmíchán do kádě. Rybí surovina byla uložena v perforovaných nerezových boxech v kádi s vodným roztokem o objemu 440 litrů (Obr. 20).

V lázni bylo rybí maso ponecháno po dobu 10 minut. V průběhu koupele se obsah nerezových boxů jednou až dvakrát promíchal. Po uplynulém čase se nechala rybí surovina odkapat. Celkově se jedna připravená lázeň použila ke koupeli celkem třikrát (viz výsledky). Po „ošetření“ rybí suroviny se vzorky balily, a to buď vakuově či volně a následně zchladily.



Obr. 20: Testování přípravků v provodných podmínkách Rybářství Chlumec nad Cidlinou, a.s. Vlevo filety pstruha, vpravo filety kapra (Foto P. Scheiner).

Provedené analýzy - ETAPA IV.

Tato finální etapa byla pro tento projekt stěžejní. Z tohoto důvodu bylo provedeno větší množství podrobnějších analýz zaměřených na kvalitu ošetřeného masa. Metodiky odběru vzorků a prováděných analýz jsou popsány výše v podkapitole „Metodika analýz svalovin ryb“ (viz kapitola „Design projektu“).

Mikrobiologická analýza

- Analýza CPM
- Test přítomnosti *Escherichia coli*, *Salmonella* spp., *Listeria monocytogenes*.

Oxidace lipidů a proteinů

Celkové nutriční složení

Kompozice mastných kyselin

3.4.1.5 ETAPA V.

V rámci 5. etapy bylo realizováno senzoričné hodnocení v panelu proškolených osob. Výstupy jsou interpretovány v kapitole „Výsledky“.

3.4.1.6 ETAPA VI.

V závěrečné etapě byly na základě dosažených výsledku zodpovězeny otázky a zhodnocení cílů projektu. Konečným výstupem je technická zpráva „Zpráva o vývoji nových výrobků z ryb – prodloužení trvanlivosti chlazených výrobků z ryb“. Do té je možno nahlédnout na internetových stránkách Ministerstva zemědělství.

4 VÝSLEDKY

4.1 ETAPA I.

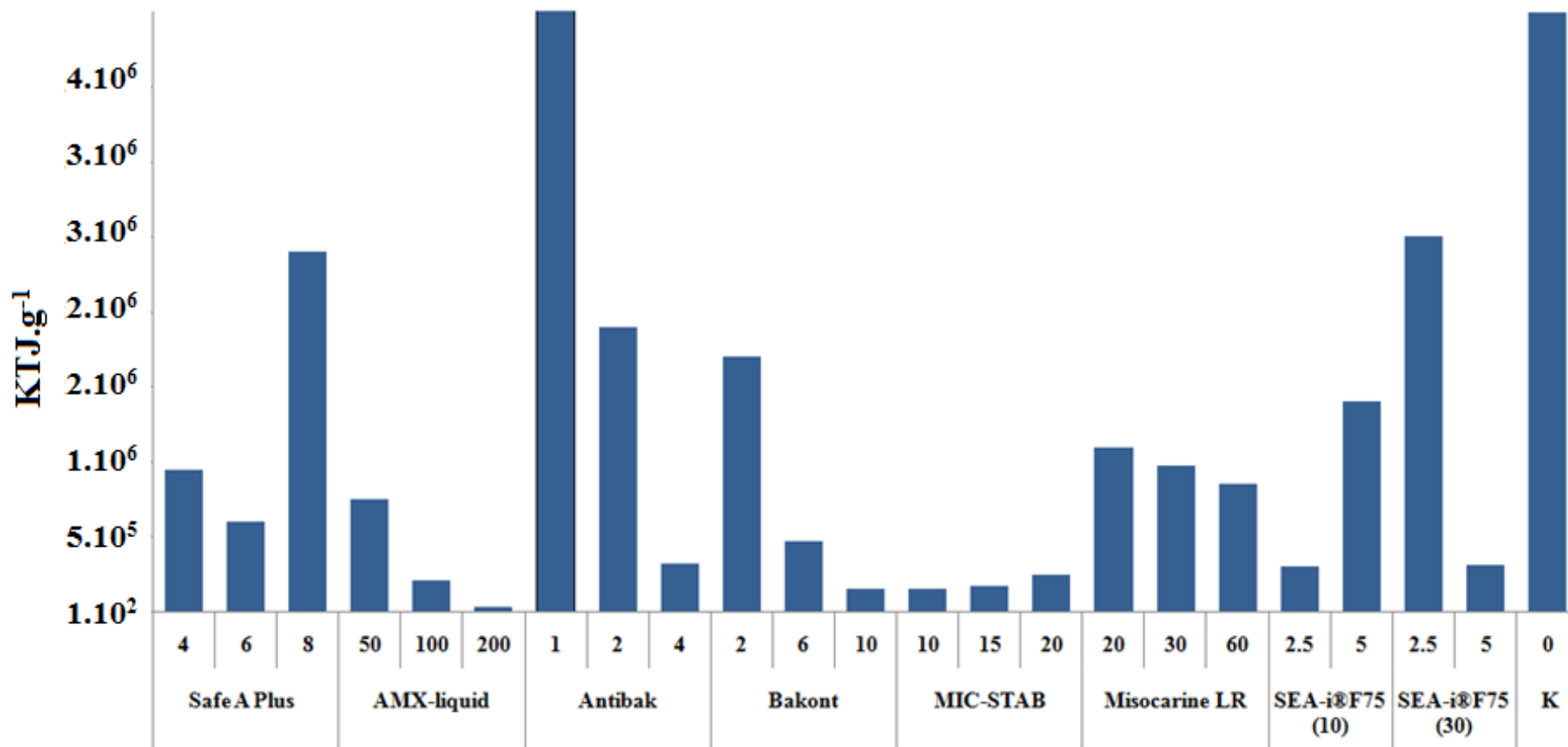
Výstupem 1. etapy byly přípravky určené pro testování popsané v metodice práce.

4.2 ETAPA II.

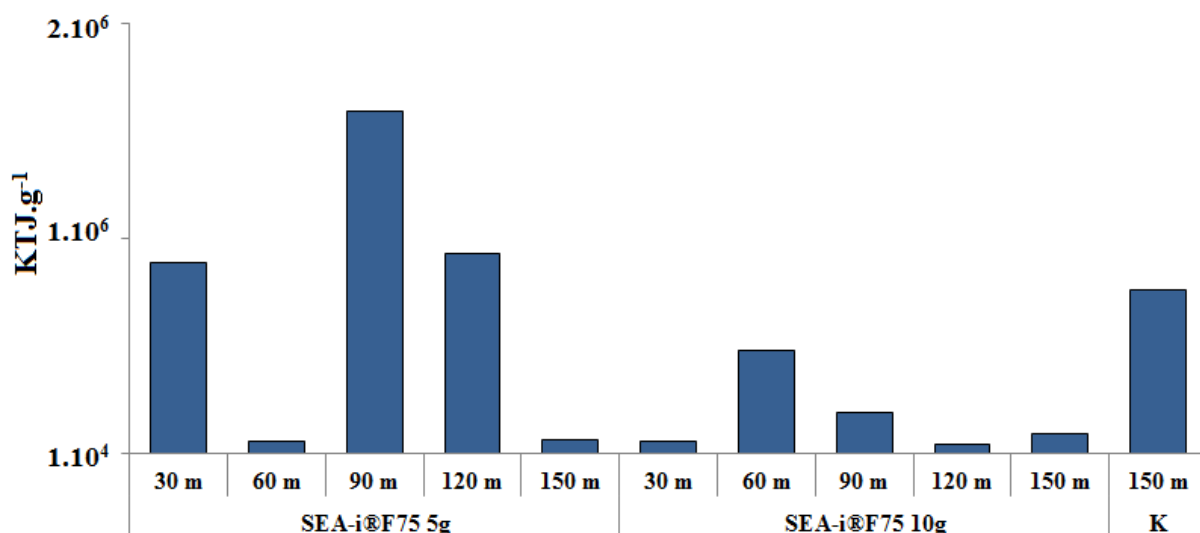
4.2.1 Mikrobiologická analýza

Graf 1 ilustruje výsledky analýz ošetřených filet pstruha po 6 dnech ponechání (5 dní + 1 dle cílů projektu). Vyřazené přípravky pro další testování byly **Safe A Plus**, **Antibak**, **MIC-STAB**.

Mikrobicidní účinnost aditiva SEA-i@F75 (coby enzymatického přípravku) je znázorněna grafu 2. Výsledky nepotvrdily jednoznačnou účinnost koupelí s obsahem této látky. Pro provozní náročnost byl **SEA-i@F75** rovněž z projektu vyřazen.



Graf 1: Obsah CPM [KTJ.g⁻¹] ve svalovině filetu pstruha po ošetření koupelí v lázni po 6 dnech. Osa x představuje jednotlivá aditiva v použitých koncentracích oproti kontrole (K). Číslo v závorce u aditiva SEA-i®F75 je dobou expozice přípravku v minutách.



Graf 2: Obsah CPM [KTJ.g⁻¹] ve svalovině filetu pstruha po ošetření koupelí v lázni s přípravkem SEA-i®F75 v koncentracích 5 a 10 g.l⁻¹ po dobu koupele 30, 60, 90, 120 a 150 minut oproti kontrole (K) po šesti dnech.

4.2.2 Interní senzoričká analýza

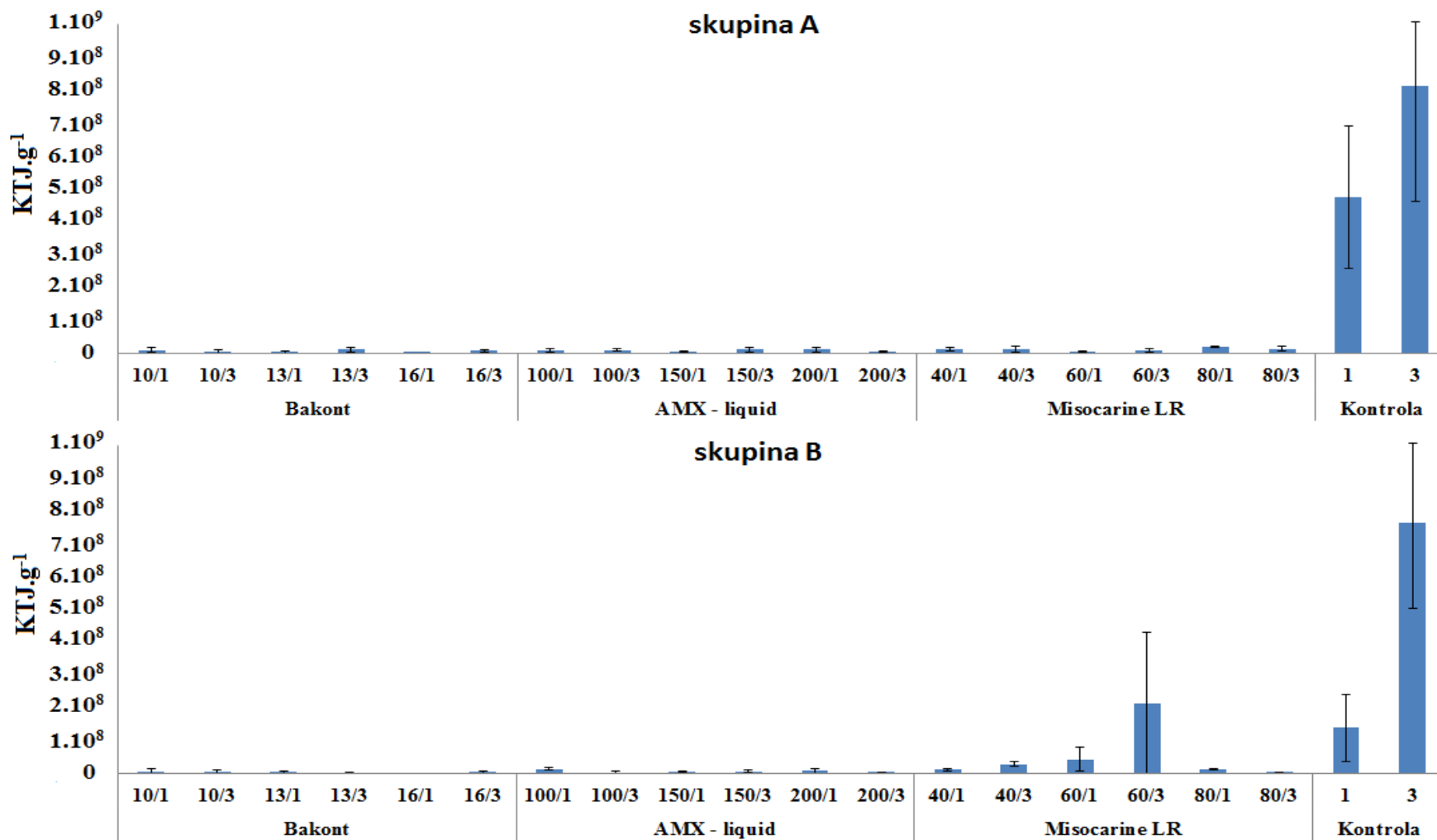
MIC-STAB byl vyřazený na základě nepříznivých vlivů na senzoričké vlastnosti ošetřované svaloviny. Vůně byla hodnotiteli klasifikována jako „nakyslá“.

Pro následující etapu testování byly ponechány po prvotní selekci **AMX – liquid**, **Bakont** a **Misocarine LR**.

4.3 ETAPA III.

4.3.1 Mikrobiologická analýza

Dle grafu 3 se jednotlivé přípravky výsledky lišily v obou zvolených poměrech vodní lázeň : ošetřovaná svalovina oproti kontrole. U požití Misocarinu LR byl velký rozptyl hodnot. **Misocarine LR** byl vyřazen z dalšího testování.



Graf 3: Obsah CPM [KTJ.g⁻¹] ve svalovině filetu pstruha po ošetření koupelemi s aditivními přípravky ve dvou poměrech oproti kontrole. A 1:1; B – 2:1 po šesti dnech. Na ose x nad názvem značí koncentraci lázně a číslo opakování koupele v dané koncentraci. Data jsou průměrem ± směrodatná odchylka (n=3).

4.3.2 Interní senzoričká analýza

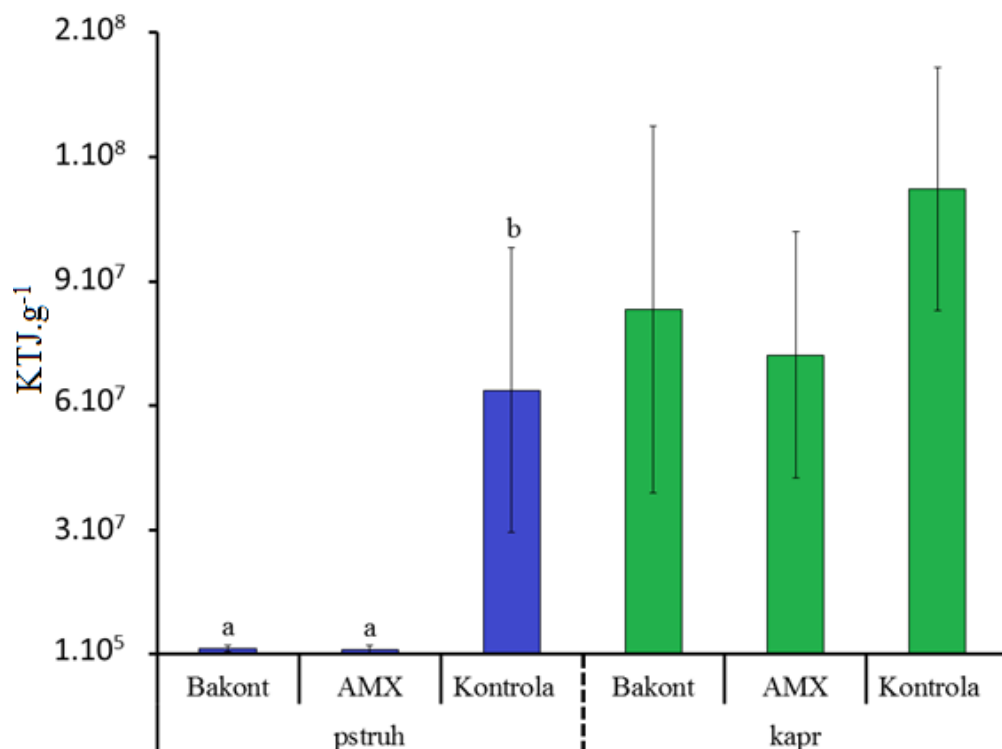
Zaměstnanci partnerského rybářství nebyli schopni rozeznat svalovinu ošetřenou přípravkem od kontroly.

Pro další testování byly použity **AMX – liquid** a **Bakont**.

4.4 ETAPA IV.

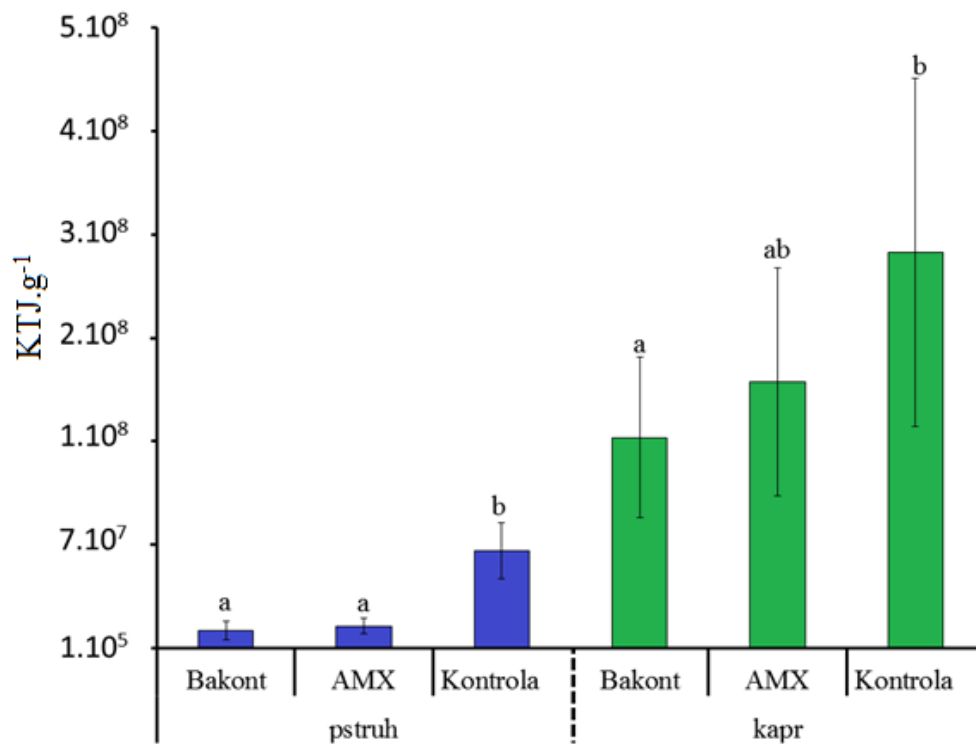
4.4.1 Mikrobiologická analýza

Bakont a AMX – liquid použité v koupeli měli vliv na snížení hodnoty CPM (Graf 4). U pstruha byl rozdíl v abundanci mikroorganismů u ošetřených ryb oproti kontrole singnifikantně menší. Statisticky neprůkazným bylo použití AMX-liquid na filetech kapra.



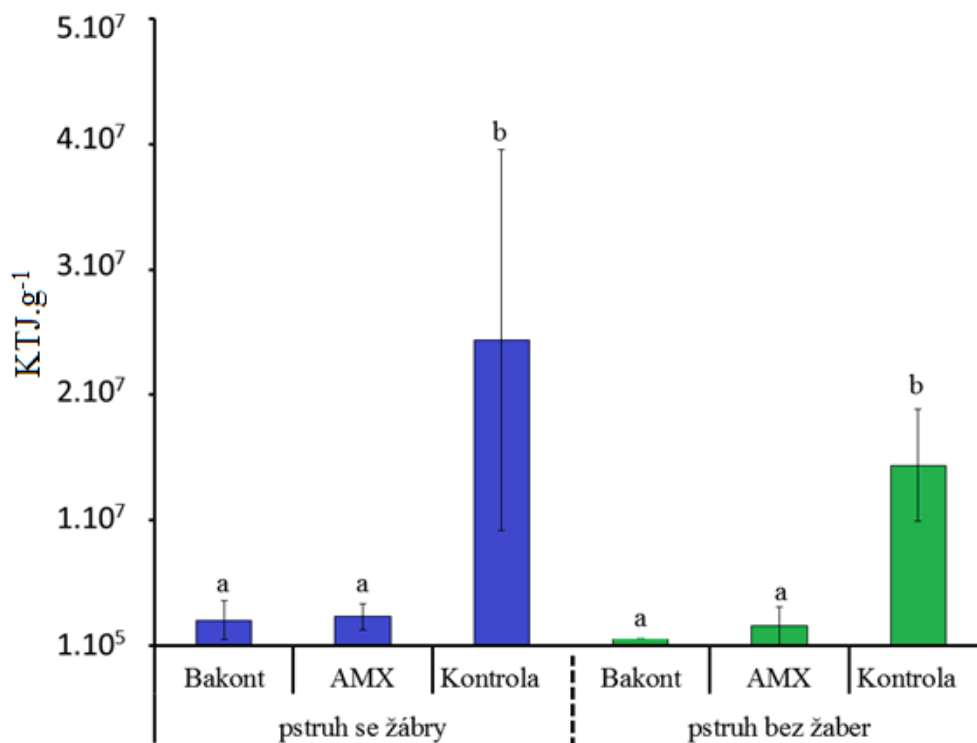
Graf 4: Analýza CPM [$KTJ \cdot g^{-1}$] ve vzorcích volně ložených a chlazených filet pstruha a kapra po pěti dnech. Data jsou průměrem \pm směrodatná odchylka ($n=6$). Rozdílná písmena nad grafy určují signifikantní odlišnost mezi skupinami ($p < 0,05$).

Použití vakua v kombinaci s koupelí ryb má u pstruha jednoznačný vliv. Tento jev nebyl pozorován u kapra (Graf 5).



Graf 5: Analýza CPM [KTJ.g⁻¹] ve vzorcích vakuově balených a chlazených filet pstruha a kapra po sedmi dnech. Data jsou průměrem ± směrodatná odchylka (n=6). Rozdílná písmena nad grafy určují signifikantní odlišnost mezi skupinami (p<0,05).

U ošetřených ryb lázni Bakont i AMX - liquid, s- i bez žaberního aparátu byla hodnota CPM nižší oproti kontrole (Graf 6). Rozdíl v kontrolách ryb se žaberním aparátem a bez žaber statisticky potvrzený nebyl.



Graf 6: Analýza CPM [KTJ.g⁻¹] ve vzorcích pstruha kuchaného s hlavou se žábry a bez žaber po šesti dnech. Data jsou průměrem ± směrodatná odchylka (n=2). Rozdílná písmena nad grafy určují signifikantní odlišnost mezi skupinami (p<0,05).

4.4.2 Rozbor přítomnosti patogenů

Escherichia coli – negativní

Salmonella spp. – negativní

Listeria monocytogenes - negativní

4.4.3 Oxidace lipidů

Vyšší úroveň oxidace (oproti pstruhovi) byla měřena u kapra (Tab. 12 a 13). U kapra se ovšem v obou případech (filet volně ložený, filet vakuově balený) jednalo o signifikantně potvrzený pokles u ošetřených vzorků oproti kontrole.

Tab. 12: Oxidace lipidů [$\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$] u filet pstruha a kapra volně ložených a chlazených ryb po pěti dnech. Data jsou průměrem \pm směrodatná odchylka ($n=4$). Rozdílná písmena u hodnot vyjadřují případnou signifikantní odlišnost mezi skupinami ($p < 0,05$).

Malondialdehyd [$\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$]	Aditivum	Kapr filet	Pstruh filet	Pstruh kuchaný
	Bakont [$10\text{g}\cdot\text{l}^{-1}$]	0,18 \pm 0,01 ^a	0,06 \pm 0,01	0,05 \pm 0,01
	AMX - liquid [$100\text{ml}\cdot\text{l}^{-1}$]	0,17 \pm 0,01 ^a	0,05 \pm 0,01	0,03 \pm 0,01
	Kontrola [0]	0,82 \pm 0,03 ^b	0,06 \pm 0,01	0,05 \pm 0,01

Tab. 13: Oxidace lipidů [$\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$] u filet pstruha a kapra vakuově balených a chlazených ryb po sedmi dnech. Data jsou průměrem \pm směrodatná odchylka ($n=4$). Rozdílná písmena u hodnot vyjadřují případnou signifikantní odlišnost mezi skupinami ($p < 0,05$).

Malondialdehyd [$\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$]	Aditivum	Kapr filet	Pstruh filet
	Bakont [$10\text{g}\cdot\text{l}^{-1}$]	0,22 \pm 0,02 ^a	0,04 \pm 0,03
	AMX - liquid [$100\text{ml}\cdot\text{l}^{-1}$]	0,25 \pm 0,01 ^a	0,09 \pm 0,02
	Kontrola [0]	0,11 \pm 0,01 ^b	0,05 \pm 0,01

4.4.4 Oxidace proteinů

Ve vzorcích nebyla v obou případech (Tab. 14 a 15) naměřena hodnota, která by se statisticky lišila od kontrolních vzorků.

Tab. 14: Oxidace proteinů [$\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$] u filetu pstruha a kapra volně ložených a chlazených ryb po pěti dnech. Data jsou průměrem \pm směrodatná odchylka ($n=4$).

Karbonyly [$\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$]	Aditivum	Kapr filet	Pstruh filet	Pstruh kuchaný
	Bakont [$10\text{g}\cdot\text{l}^{-1}$]	0,35 \pm 0,01	0,25 \pm 0,02	0,46 \pm 0,02
	AMX - liquid [$100\text{ml}\cdot\text{l}^{-1}$]	0,34 \pm 0,01	0,30 \pm 0,01	0,42 \pm 0,02
	Kontrola [0]	0,39 \pm 0,02	0,23 \pm 0,01	0,44 \pm 0,03

Tab. 15: Oxidace proteinů [$\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$] u filetu pstruha a kapra vakuově balených a chlazených ryb po sedmi dnech. Data jsou průměrem \pm směrodatná odchylka ($n=4$).

Karbonyly [$\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$]	Aditivum	Kapr filet	Pstruh filet
	Bakont [$10\text{g}\cdot\text{l}^{-1}$]	0,38 \pm 0,03	0,33 \pm 0,02
	AMX - liquid [$100\text{ml}\cdot\text{l}^{-1}$]	0,46 \pm 0,01	0,32 \pm 0,02
	Kontrola [0]	0,31 \pm 0,01	0,35 \pm 0,01

4.4.5 Celkové nutriční složení

Vliv na celkové nutriční složení nebyl prokázán (Tab. 16).

Tab. 16: Živinové složení svaloviny pstruha a kapra ve srovnání s neošetřenou kontrolou. Zvýrazněny jsou údaje, jež jsou povinně udávány na výrobcích podle ES č.1169 (2011). Data ošetřených vzorků jsou průměrem výsledků při použití Bakont a AMX – liquid ($n = 2$).

Ukazatel	Jednotka	Pstruh ošetřený	Pstruh kontrola	Kapr ošetřený	Kapr kontrola
bílkoviny	g.100g^{-1}	19,8	19,6	16	16,3
celkové sacharidy	g.100g^{-1}	< 0,3	< 0,3	< 0,3	< 0,3
popel při 550°C	g.100g^{-1}	1,12	1,08	0,765	0,83
sůl jako NaCl	g.100g^{-1}	0,147	0,142	0,17	0,162
sušina při 105°C	g.100g^{-1}	26,4	26,9	24,3	24,1
tuk	g.100g^{-1}	5,8	6,1	7,7	7,4
vlhkost	g.100g^{-1}	73,6	73,1	75,6	75,9
energetická hodnota	kJ.100g^{-1}	546	551	555	563
	kcal.100g^{-1}	130	131	133	131
energie z tuku	kJ.100g^{-1}	215	226	285	273
	kcal.100g^{-1}	51	54	68	65
SFA	g.100g^{-1}	1	1,1	2	1,9
MUFA	g.100g^{-1}	3,2	3,3	4,3	4,1
PUFA	g.100g^{-1}	1,5	1,6	1,3	1,3
TFA	g.100g^{-1}	< 0,1	< 0,1	< 0,1	< 0,1
$\Sigma n-3$	g.100g^{-1}	0,6	0,6	0,6	0,6
$\Sigma n-6$	g.100g^{-1}	0,9	0,9	0,7	0,7

4.4.6 Obsah tuku a kompozice mastných kyselin

Podle tabulek 17 a 18 nemělo z hlediska kompozice tuku ošetření masa dopad na kvalitu tuku.

Tab. 17: *Obsah tuku [%] a kompozice hlavních skupin mastných kyselin ve svalovině pstruha po ošetření aditivou ve srovnání s kontrolou. Data jsou průměrem ± směrodatná odchylka (n=6). HUFA – vysocenasycené mastné kyseliny.*

	Kontrola [%]	AMX - liquid [%]	Bakont [%]
Obsah tuku	7,02±0,3	6,38±0,4	6,37±0,3
SFA	16,63±2,3	15,42±3,2	15,67±2,8
MUFA	54,03±2,1	53,18±3,1	52,97±3,3
PUFA	29,28±1,8	31,34±2,6	31,36±3,2
n-3 PUFA	12,26±0,9	14,26±1,1	13,57±0,9
n-6 PUFA	17,02±0,9	17,07±1,0	17,79±1,2
n-3 HUFA	7,54±0,3	9,26±1,1	8,47±1,5
EPA+DHA	6,88±0,6	8,35±1,2	7,68±0,9
n-3/n-6	0,72±0,05	0,83±0,1	0,76±0,08

Tab. 18: Obsah tuku [%] a kompozice hlavních skupin mastných kyselin ve svalovině kapra po ošetření aditivou ve srovnání s kontrolou. Data jsou průměrem ± směrodatná odchylka (n=6). HUFA – vysocenenasycené mastné kyseliny.

	Kontrola [%]	AMX - liquid [%]	Bakont [%]
Obsah tuku	8,08±0,4	8,48±0,6	7,78±0,6
SFA	27,60±3,3	27,35±3,6	27,50±4,1
MUFA	54,15±5,5	54,50±3,8	54,52±5,3
PUFA	17,92±3,3	17,65±2,2	17,74±3,2
n-3 PUFA	7,21±1,3	7,85±1,2	8,52±1,6
n-6 PUFA	10,71±1,6	9,80±1,9	9,22±1,6
n-3 HUFA	4,51±0,9	4,30±0,8	3,62±0,9
EPA+DHA	3,59±0,6	3,03±0,5	2,53±0,3
n-3/n-6	0,67±0,05	0,80±0,06	0,92±0,09

4.5 ETAPA V.

- Senzorická analýzy pomocí panelu proškolených osob.

4.5.1 Senzorická analýza – panel proškolených osob

Dle hodnocení parametrů rybí ošetřené svaloviny oproti kontrole nebyl zjištěn statisticky průkazný rozdíl mezi skupinami (Tab. 19). Kontrolní vzorky devátý den po zpracování ryb se signifikantně odlišují. Z řad proškolených hodnotitelů byly některé vzorky hodnoceny jako „nepoživatelné“.

Tab. 19: Senzorické hodnocení svaloviny kapra panelem proškolených osob. Data jsou průměrem \pm směrodatná odchylka ($n=10$). Rozdílná písmena u hodnot znamenají případnou signifikantní odlišnost mezi skupinami (hladina významnosti $p<0,05$). Nižší hodnota znamená příznivější hodnocení.

	Vůně	Chuť	Pachut'	Konzistence	
Bakont	3,0 \pm 1,2	2,3 \pm 1,1	2,1 \pm 1,4	1,9 \pm 1,5	den 2
AMX - liquid	2,1 \pm 1,8	2,1 \pm 1,9	2,3 \pm 2,1	1,3 \pm 1,0	
Kontrola	2,8 \pm 2,0	2,7 \pm 1,4	3,0 \pm 2,5	2,0 \pm 2,2	
Bakont	1,8 \pm 1,6	1,1 \pm 0,8	0,5 \pm 0,4	1,2 \pm 0,8	den 4
AMX - liquid	2,1 \pm 1,5	2,1 \pm 1,9	2,0 \pm 2,1	2,4 \pm 2,1	
Kontrola	3,2 \pm 1,5	2,8 \pm 3,3	3,0 \pm 3,8	3,2 \pm 3,2	
Bakont	3,4 \pm 2,2	2,6 \pm 2,5	2,0 \pm 2,6	2,4 \pm 1,8	den 7
AMX - liquid	3,3 \pm 2,6	2,6 \pm 2,0	2,0 \pm 2,0	2,5 \pm 2,1	
Kontrola	3,9 \pm 2,3	2,2 \pm 2,1	1,4 \pm 0,8	2,6 \pm 2,2	
Bakont	2,3 \pm 0,9 ^b	1,9 \pm 1,2 ^b	1,5 \pm 1,5 ^b	3,0 \pm 2,2	den 9
AMX - liquid	1,9 \pm 1,0 ^b	1,3 \pm 1,0 ^b	1,5 \pm 1,1 ^b	2,1 \pm 1,7	
Kontrola	5,9 \pm 1,7^a	4,9 \pm 3,3^a	4,6 \pm 3,2^a	3,9 \pm 2,1	

4.6 ETAPA VI.

Finanční náročnost na zahrnutí aditiv ve zpracovatelském procesu shrnuje tabulka 20.

Tab. 20: Ekonomická náročnost technologie (převzato ze Zajíc, 2014).

	AMX - liquid	BAKONT
Koncentrace	100 ml.l ⁻¹	10 g.l ⁻¹
Cena za jednotku	59 Kč.l ⁻¹	80 Kč.kg ⁻¹
Cena za litr lázně	5,90 Kč	0,80 Kč
Použití lázně	min. 3x	
Poměr lázeň:filet	1:1	
Poměr lázeň:kuchaný pstruh	2:1	
Nárůst ceny ošetřených filet	+1,97 Kč.kg⁻¹	+0,27 Kč.kg⁻¹
Nárůst ceny ošetřených kuchaň pstruhů	+3,93 Kč.kg⁻¹	+0,53 Kč.kg⁻¹

5 DISKUZE

5.1 ETAPA I.

Při výběru látek, jež byly použity pro testování přímé aplikace na čerstvé rybí maso, byli osloveni výrobci, případně dodavatelé jednotlivých aditiv. V dostupné odborné literatuře není dohledatelná podobná studie o použití podobných přípravků u ryb českými autory. Z tohoto důvodu byly v první etapě testování zvolené výrobcem doporučené koncentrace aditiv. Výsledky ovšem korespondovaly s faktem, že použití antimikrobiálních aditiv je efektivní již v malých koncentracích (Yasin a Abou-Taleb, 2007; Lohalaksabadeh a Sujarit, 2011).

5.2 ETAPA II.

5.2.1 Mikrobiologická analýza a interní senzorická analýza

Na základě prvních výsledků mikrobiologických rozborů bylo rozhodnuto o vyřazení **Safe A Plus** a **Antibak**, a v mikrobiologické zkoušce, ve srovnání s dalšími testovanými přípravky, neobstály.

Tato analýza byla doplněna neformální interní senzorickou zkouškou, kterou z hlediska vůně - „nakyslého aroma“ ošetřeného masa neobstál přípravek **MIC-STAB**. Senzorické analýzy, které doprovázely „technologické“ hodnocení masa byly prováděny z toho důvodu, že použití přírodních látek má velmi často přímou vazbu na senzorické parametry masa (Gram a Dalgaard, 2002). Octan draselný obsažen v MIC-STABu je vysvětlením jeho projevu na testovaných vzorcích. Dalo se ovšem předpokládat, že tento výrobek neobstojí, „Lehce octovou“ vůni výrobku referuje i produktový list aditiva. Ovšem je nutno poznamenat, že přípravek Bakont je aditivem na bázi octových extraktů taktéž. Negativní senzorické projevy ovšem nebyly zaznamenány, jako u výsledků autorů VanDeWalle (2010) či Velenzuela-Martinez a kol. (2010).

Jistá „pozornost“ byla věnována přípravku **SEA-i®F75**. Dle doporučení výrobce se požadovaný účinek dostaví až po nějaké době, Výhodou potenciálního uvedení tohoto přípravku do zpracovatelského procesu je skutečnost, že jeho použití není

nutné uvést na etiketách. Výsledky mikrobiálního testování tohoto aditiva nedemonstrují ovšem žádný vztah mezi použitou dávkou aktivní látky v koupeli a rozvojem mikroorganismů. V důsledku těchto nevyrovnaných výsledků a ceny aditiva byl tento extrakt rovněž vyřazen.

5.3 ETAPA III.

5.3.1 Mikrobiologická analýza

Výsledky obdržené akreditovanou laboratoří opět potvrzují významnou přednost přírodních antimikrobiálních látek – a to použití aditiv v malé koncentraci po dobu krátké expozice (Kostaki a kol., 2009). Zvolený způsob aplikace (tedy máčením) rovněž potvrzuje tvrzení, že se jedná o jeden z nejspolehlivějších způsobů inkorporace aditiva (No a kol., 2007; Sallam, 2007; Maxis a kol., 2009; Tiwari, 2009; Lucera a kol., 2012). Lze konstatovat, že poměr lázně a biomasy rybích vzorků (1:1; 2:1) výrazně neovlivnil účinek AMX-liquid a Bakont.

Z hlediska mikrobiální odolnosti byl shledán přípravek **Misocarine LR** jako „nestabilní“. Při poměru lázeň svalovina 2:1 docházelo k nárůstům hodnot mikroorganismů a lze usuzovat, že jakási pufrací schopnost proti mikroorganismům je menší ve srovnání se „stabilními“ AMX-liquid a Bakont.

5.3.2 Interní senzorická analýza

Výstupem bylo pouze potvrzení hypotézy, že ani jeden z přípravků přímo neovlivňuje senzorický projev masa po jeho vystavení aktivní látce. Konzumenti nebyli schopni rozeznat maso, které bylo ošetřené antimikrobiální koupelí od kontroly ponechanou pouze ve vodě.

5.4 ETAPA IV.

5.4.1 Mikrobiologická analýza

Vzorky volně ložené, chlazené

Dle mikrobiologické analýzy a statistického srovnání lze konstatovat velkou účinnost použití aditiv u filetů pstruhů. Koupel pro filety kapra ovšem nebyla dostačující. Jedním z důvodů nízké účinnosti AMX-liquid a Bakont by mohla být skutečnost, že svalovina kapra má pevnější skrukturu, což má za následek sníženou inkorporační kapacitu pro aditiva, která „pracují“ ve svalovině i po okapání svaloviny po koupeli. Jelikož je kapr majoritně zpracovávanou rybou na českém trhu, mělo by být jeho maso předmětem podrobnějšího testování. 10 minut expozice aktivní látky je evidentně nedostačující a v budoucnu by měl být nalezen kompromis mezi dobou expozice a koncentrací aktivní látky, který by aktivněji redukoval abundanci mikroorganismů a zároveň neměl negativní dopad na sensorické vlastnosti masa.

Vakuově balené vzorky, chlazené

Opět byla potvrzena hypotéza antimikrobiálních účinků 2 vybraných aditiv u pstruha. Vůči kontrole opět ošetřené maso vykazovalo signifikantní pokles rozvoje mikroflóry masa. U kapra byly výsledky opět nepřesvědčivé. V kombinaci s vakuem se v úrovni mikroorganismů lišily vzorky ošetřené přípravkem Bakont. Nicméně je zde potvrzen fakt, že kombinace skladovatelských technik, tomto případě s balením do vakua, inhibuje autolytické procesy (Ucak a kol., 2011; Erkan, 2012; Coban a Ozpolat, 2013).

Pstruzi – celé ryby s hlavou bez a s žábry.

Rybářství Chlumeck nad Cidlinou a.s. distribuje a obchoduje se pstruhem kuchařským s hlavou a žábry, které jsou branou vstupu mikroorganismů u skladovaných ryb. Strategie prodeje takto upravených ryb spočívá v navýšení prodejní hmotnosti. Jak ale potvrzují dosažené výsledky, v kontrole byl vyšší rozvoj mikroflóry u ryb s žábry ponechanými, než bez žaber. Významným zjištěním tohoto projektu ovšem bylo, že po koupeli v antimikrobiální substanci je mikroflora i u ryb se žábry významně a statisticky průkazně inhibována.

5.4.2 Rozbor přítomnosti patogenů

Mezi pozitivní zjištění patří skutečnost, že v testovaných vzorcích nebyla zjištěna přítomnost *Escherichia coli*, *Salmonella* spp., ani *Listeria monocytogenes*. Výrobky ošetřené AMX-liquid nebo Bakont dodržují tedy zásady provozní hygieny a skladování.

5.4.3 Oxidace lipidů

Posuzovány byly ošetřené vzorky filetu pstruha a kapra zachlazené volně ložené a ve vakuovém balení. Jako volně ložený byl testován i pstruh kuchaný. V obou případech byl statisticky prokázán vliv obou aplikovaných aditiv na rozvoj oxidace lipidů u filetu kapra. U filetu pstruha nebyl rozdíl signifikantní, úroveň oxidace ovšem byla na stejně nízké úrovni. Zajímavé je, že koncentrace malondialdehydu v kontrole (bez ošetření aditivou) u pstruha byla až 4x nižší, než u ošetřených vzorků kapřích filet.

5.4.4 Oxidace proteinů

Stanovením karbonylů bylo dosaženo obdobných závěrů, jako v případě posouzení oxidace lipidů v masě ošetřených ryb. I přesto, že oxidace proteinů v masě ryb není primární problém v procesu skladování rybiho masa, lze říci, že i použití nízkých koncentrací (AMX-liquid – 100 ml/l; Bakont – 10 g/l) ovlivňuje antioxidační kapacitu masa u podobně orientovaných prací (Abuja a kol., 1998; Tanabe a kol., 2002). Autooxidační kapacita nebyla v tomto testování statisticky ovlivněna přímou aplikací přípravků. Opět proběhla analýza vzorků chlazených volně ložených a chlazených vzorků uchovávaných ve vakuové atmosféře.

5.4.5 Celkové nutriční složení

Stanovení „big 7“ ukazatelů provedené formou zakázky ALS Czech Republic s.r.o. mělo pouze doplňující charakter. Případný dopad na nutriční složení nebyl v našem případě pozorován. Na základě obdržených výsledků si můžeme být ovšem jisti a konstatovat, že živinová kvalita není použitím aditiv v koupeli jakkoli ohrožena.

5.4.6 Obsah tuku a kompozice mastných kyselin

Výsledky nepotvrzují domněnku, že by „náchylné“ mastné kyseliny byly ohroženy v důsledku aplikace aditiv. Vlivem antioxidantů může být totiž kvalita tuků ovlivněna (Kamal-Eldin a Picková, 2008). Negativní dopad na nutriční parametry ale nezaznamenal například ani Kazimierczak a kol. (2008).

5.5 ETAPA V.

5.5.1 Senzorická analýza

Dvě na sobě nezávislá sensorická analytika měla ověřit, zda mají aditiva vliv na sensorické vlastnosti výrobku. O změnách v sensorických vlastnostech v důsledku použití přídatných látek píše i Pantelidis a kol., 2007 nebo Ghaly a kol. (2010). Na druhou stranu mohou přírodní extrakty v mase zvýšit, či stabilizovat sensorické parametry konečného produktu (Ucak a kol., 2011).

5.5.1.1 Panel proškolených osob

Jedním z pozitivních zjištění byly výsledky analýzy hodnocené panelem proškolených osob. Toto hodnocení nepotvrdilo jakýkoliv vliv aditivních přípravků na sensorickou kvalitu svaloviny kapra. Podobné studie rovněž hypotézu ovlivňování sensoriky máčených produktů nepotvrdily (Goulas a Kontomias, 2007). Ochutnávky masa kapra ponechaného vakuově balené po dobu devíti dní ovšem přinesly jiná zjištění. Statisticky „lepší“ hodnocení získaly vzorky ošetřené aditivními přípravky u parametrů – vůně, chuť, pachut'. Nutno ovšem dodat, že v některých případech byly servírované vzorky hodnoceny jako „nepoživatelné“. Devátý den jsou 2 dny po expiraci.

5.6 ETAPA VI.

- 1. Ověřit použití aditivních látek, přednostně přírodního původu, na zpracovaných rybách. Zaměřit se na použití aditiv, u kterých není nutné označení na etiketě symbolem „E“. Použít aditiva bez alergenů a vedlejších účinků.**

Nejvhodnějšími látkami z hlediska antimikrobiální účinnosti, vlivů na senzorické aspekty ošetřovaného masa a provozní náročnosti byly Bakont (prášek) a AMX-liquid (roztok). Při použití těchto aditiv nebyl prokázán jakýkoliv vliv na zdraví konzumenta. Bakont obsahuje dvě látky s označením „E“, ty jsou ovšem rovněž klasifikovány jako, dle současné úrovně znalostí, neškodné. Jak bylo zmíněno, k aplikaci Bakontu byl použit prášek bez látky E 316 – erytrobanu sodného. U použití AMX-liquid je povinné uvádět na etiketě „octové aroma“.

- 2. Charakterizovat a popsat 2 aditivní přípravky nejlépe hodnocené v dílčích analýzách.**

V metodice této práce jsou přípravky Bakont a AMX-liquid podrobně charakterizovány.

- 3. Zaměřit se na průběh biochemických a mikrobiálních procesů probíhající ve svalovině ryb po jejím ošetření v lázni.**

Bakont a AMX-liquid přidaný do vodné lázně významně potlačují rozvoj mikroflóry masa ryb. Trvalejšího omezení mikrobiálních procesů lze docílit kombinací skladovacích a balících postupů, jako je skladování ve vakuu. Obě aditiva neovlivňují přirozené senzorické parametry svaloviny ryb.

- 4. Zhodnotit ekonomickou stránku použití aditivních látek pro provozní podmínky.**

Cena za 1 litr lázně se u těchto dvou přípravků liší (Bakont – 0,80 Kč; AMX – liquid – 5,90 Kč). V obou případech se používání jednotlivých přípravků promítá do ekonomiky a je na managementu distribuce posoudit, zda má význam používat tyto přípravky v případě, že jde o prodloužení trvanlivosti o 1 den.

- 5. Prodloužit dobu trvanlivosti ryb a rybích výrobků (čerstvých či chlazených) nejméně o 1 den.**

I tento fakt lze na základě dílčích výsledků deklarovat. U filetů kapra ošetřených lázní s obsahem aditiva Bakont ovšem lze docílit prodloužení jejich tržní upotřebitelnosti v kombinaci s vakuovým balením.

6 ZÁVĚR

Tato diplomová práce měla za cíl vytipovat a otestovat celkem 7 aditiv, potencionálně vhodných k prodloužení technologické a sensorické kvality rybích výrobků. Počet těchto látek byl cíleně redukován až na 2 na základě analýz CPM a interních sensorických analýz. Aditiva **Bakont** a **AMX – liquid** byla následně podrobena detailnějšímu testování i v kombinaci s jiným typem skladování. Celý projekt trval od vytipování do sestavení technické zprávy 18 měsíců.

Výborných výsledků bylo dosaženo aplikací aditiva Bakont. Vzorky ryb ošetřené právě lázní s tímto přípravkem vykazovaly signifikantně nižší abundanci mikroorganismů ve všech testováních oproti kontrole (lázeň pouze s vodou). Na chlazené volně ložené, chlazené vakuové filety pstruha či celé ryby kuchaňé s hlavou s- nebo bez žaber měla koupel jednoznačný pozitivní vliv. U kapřích filet se účinek koupelí jednoznačně projevil pouze v kombinaci s vakuem.

AMX – liquid byl rovněž statisticky neúčinný na filet kapra chlazeného volně loženého. Podobně jako u Bakontu se účinek na inhibici mikroorganismů projevil v kombinaci s vakuem. Tento pokles mikroflóry po ošetření svaloviny ovšem opět nebyl průkazný statisticky. Opět se koupel s obsahem AMX – liquid osvědčila u celých ryb pstruha duhového kuchaňého s hlavou s- nebo bez žaber.

Z hlediska sensorických vlastností nebylo u těchto dvou přípravků v žádném z analytik zaznamenáno, že by mohl mít jeden z přípravků vliv na ošetřenou svalovinu.

V průběhu testování byly optimalizovány ideální koncentrace přípravků Bakont a AMX liquid k ošetření rybí svaloviny. Vzhledem k potencionálnímu benefitu pro management prodeje ryb a rybích výrobků není ekonomická a provozní náročnost technologie vysoká.

V průběhu projektu (1.7.2013) byla vydána příloha II. Nařízení komise (EU) č. 1129/2011 ze dne 11. listopadu 2011, která znemožňuje použití přípravku Bakont pro čerstvé rybí výrobky. Respektive látky, kterou Bakont obsahuje. Jedná se o erytroban sodný (antioxidant a stabilizátor barev, E 316). Situace byla vyřešena zakázkovým odstraněním této látky z přípravku. Tento Bakont obsahoval pouze účinnou látku octan sodný (E 262). Z legislativního hlediska lze tedy ve zpracovatelském provozu

přípravek Bakont použit v případě, že jedho technický list nebude obsahovat zmíněný erytroban. Použití AMX – liquid není ovšem ve zpracovatelském procesu nikterak legislativně omezen.

V případě aditiva AMX-liquid bude nutné zaměřit se na stanovení ideální koncentrace a dobu koupele pro kapří maso jako nejvýznamnější sladkovodní komoditu na českém trhu. Na základě provedeného množství analýz včetně ekonomického zhodnocení lze konstatovat, že byly cíle projektu naplněny.

7 PŘEHLED POUŽITÉ LITERATURY

- Abuja, P. M., Murkovic, M., Pfanhauser, W., 1998. Antioxidant and prooxidant activities of elderberry (*Sambucus nigra*) extract in low-density lipoprotein oxidation. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 46 (10). 4091 – 4096.
- Aleman, M. P., Kaluda, K., Uchiyama, H., 1982. Partial freezing as a means of keeping freshness of fish. *Bulletin of Tokai Regional Fisheries Research*. 106. 11-26.
- Alizadeh, E., Chapleau, N., De Lamballerie, M., Me-Bail, A., 2007. Effect of different freezing processes on the microstructure of Atlantic salmon (*Salmo salar*) fillets. *Innovative Food Science And Emerging Technology*. 8, 493 – 499.
- Andersen, E., Andersen, M. L., Baron, C. P., 2007. Characterization of oxidative changes in salted herring (*Clupea harengus*) during ripening. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 55 (23), 9545 – 9553.
- Andersen, E., Jul, M., Riemann, H., 1965. *Industriell levnedsmiddelkonservering*. Teknisk Forlag, Copenhagen. 1359 s.
- Andevari, G. T., Rezaei, M., 2011. Effect of gelatin coating incorporated with cinnamon oil on the quality of fresh rainbow trout in cold storage. *International Journal of Food Science and Technology*. 46, 2305 – 2311.
- Appelqvist, L. A., 1968. Rapid methods of lipid extraction and fatty acid methyl ester preparation for seed and leaf tissue with special remarks on preventing accumulation of lipid contaminants. *Royal Swedish Academy of Science*. 28, 551 – 570.
- Aquino, K. A. S., 2012. Sterilization by gamma irradiation, gamma radiation. *Federal University of Pernambuco – Department of Nuclear Energy*. 9, 171 – 208.
- Arvanitoyannis, I. S., Kostanopoulos, K. V., 2012. Smoking of fish and seafood: History methods and effect on physical, nutritional and microbiological properties. *Food and Bioprocess Technology*. 5 (3), 831- 853.
- Ashie, I. N., Smith, J. P., Simpson, B. K., 1996. Spoilage and shelf-life extension of fresh fish and shellfish. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*. 36, 87 – 121.
- Ashton, I. P., 2002. Understanding lipid oxidation in fish. In: Bremner, H. A.. *Safety and quality issues in fish processing*. Woodhead Publishing, 2002. 507 s.
- Aubourg, S. P., 2001. Review: Loss quality during manufacture of canned fish products. *Food Science and Technology International*. 7, 199 – 215.
- Bahuaud, D., Morkore, T., Langsrud, O., Sinnes, K., Veiseth, E., Ofstad, R., Thomassen, M. S., 2008. Effect of – 1,5 degrees C superchilling on quality of Atlantic salmon (*Salmo salar*) pre - rigor fillets: Cathepsin activity, muscle histology, texture and liquid leakage. *Food Chemistry*. 111, 329 – 339.

- Benítez, V., Mollá, E., Martín-Cabreias, M. A., Aquilera, Y., López-Andréu, F. J., Cools, K., Terry, L. A., Estaban, R. M., 2011. Characterization of industrial onion wastes (*Allium cepa* L.): Dietary fibre and bioactive compounds. *Plant Foods for Human Nutrition*. 66 (1), 48 – 57.
- Bjorkevoll, I., Olsen, J. V., Olsen, R. L., 2004. Rehydration of salt-cured cod using injection and tumbling technologies. *Food Research International*. 37 (10), 925 – 931.
- Blahe, S. D., Xu, Z., Prinyawiwatkul, W., King, J. M., Godber, J. S., 2007. Oregano and rosemary extract inhibit oxidation of long-chain fatty-acids in menhaden oil. *Journal of Food Science*. 72, 504 – 508.
- Botsoglou, E., Alexandros, G., Christaki, E., Bostoglou, N., 2010. Effect of dietary olive leaves an/or α -tocopheryl acetate supplementation on microbial growth and lipid oxidation of turkey breast fillets during refrigerated storage. *Food Chemistry*. 121, 17 – 22.
- Bourne, M., 2002. Food texture and viscosity. Academic Press, London. 2. vydání, 427 s.
- Brannan, R. G., Mah, E., 2007. Grape seed extract inhibits lipid oxidation in muscle from different species during refrigerated and frozen storage and oxidation catalyzed by peroxynitrite and iron/ascorbate in pyrogallol red model system. *Meat Science*. 77 (4), 540 – 546.
- Brás, A., Costa, R., 2010. Influence of brine salting prior to pickle salting in the manufacturing of various salted-dried fish species. *Journal of Food Engineering*. 100 (3), 490 – 495.
- Brewer, S., 2009. What is oxidation, and how does it later food product, University of Illinois, Department of Food Science and Human Nutrition. s. 198.
- Bud, I., Ladosi, D., Reka, S. T., Negrea, O., 2008. Study concerning chemical composition of fish meat depending on the considered fish species. *Zootehnie si Biotehnologii*. 41 (2), 201 – 206.
- Cardinal, M., Knockaert, C., Torrissen, O., Sigurgisladottir, S., Morkore, T., Thomassen, M., Vallet, J. L., 2001. Relation of smoking parameters to the Šeld, colour and sensory quality of smoked Atlantic salmon (*Salmo salar*). *Food Research International*. 34 (6), 537 – 550.
- Coban, O. E., Ozpolat, E., 2013. The effect of different concentrations of rosemary (*Rosmarinus officinalis*) extract on the shelf life of hot-smoked and vacuum-packed *Luciobarbus esocinus* fillets. *Journal of Food Processing and Preservation*. 37 (3), 269 – 274.
- Connell, J. J., 1990. Control of fish quality. Fishing News Books. 3. vydání. 227 s.
- Corbo, m. R., Speranza, B., Filippone, A., Granatiero, S., Conte, A., Sinigaglia, M., Del Nobile, M. A., 2008. Study on the synergic effect of natural compounds on the microbial quality decay of packed fish hamburger. *International Journal of Food Microbiology*. 127, 261 – 267.
- Cosgrove, J. P., Church, D. F., Pryor, W. A., 1897. The kinetics of the autooxidation of polyunsaturated fatty-acids. *Lipids*. 22 (5), 299 – 304.
- Costa, A. C., 2013. *Escherichia coli* in seafood: A brief overview. *Advances in Bioscience and Biotechnology*. 4, 450 – 454.

- Cox, S., Abu-Ghannam, N., Gupta, S., 2010. An assessment of the antioxidant and antimicrobial activity of six species of edible Irish seaweeds. *International Food Research Journal*. 17, 205 – 220.
- Čegan, A., Korecká, L., 2008. *Biochemie pro bakalářské studium chemie a technické chemie*. Univerzita Pardubice, Fakulta chemicko-technologická. 62 s.
- ČSN EN ISO 11290-1 (560093), 1999. Mikrobiologie potravin a krmiv – Horizontální metoda průkazu a stanovení počtu *Listeria monocytogenes* – část 1: Metoda průkazu. Český normalizační institut. 28 s.
- ČSN EN ISO 12630 (560421), 1999. Ovocné a zeleninové šťávy – Stanovení obsahu glukózy, fruktózy, sorbitolu a sacharózy – Metoda využívající HPLC. Český normalizační institut. 20 s.
- ČSN EN ISO 15304 (588808), 2002. Živočišné a rostlinné tuky a oleje – Stanovení obsahu trans-izomerů mastných kyselin rostlinných tuků a olejů – Metoda plynové chromatografie. Český normalizační institut. 36 s.
- ČSN EN ISO 4833-1 (560083), 2014. Mikrobiologie potravinového řetězce – Horizontální metoda pro stanovení počtu mikroorganismů – část 1: Technika přelivem a počítání kolonií vykultivovaných při 30°C. Český normalizační institut. 12 s.
- ČSN EN ISO 5509 (558767), 2001. Živočišné tuky a oleje – Příprava methylesterů mastných kyselin. Český normalizační institut. 40 s.
- ČSN EN ISO 6579 (560088), 2002. Mikrobiologie potravin a krmiv – Horizontální metoda průkazu bakterií rodu *Salmonella*. Český normalizační institut. 32s.
- ČSN ISO 16649-2 (560079), 2003. Mikrobiologie potravin a krmiv – Horizontální metoda počtu β -glukoridázopozitivních *Escherichia coli* – část 2: Technika počítání kolonií vykultivovaných při 44 °C s použitím 5-bromo-4chloro-3-indolyl- β -D-glukorinu. Český normalizační institut. 12 s.
- Dalgaard, P., 1993. Evaluation and prediction of microbial fish spoilage. Royal Veterinary and Agricultural University. 143 stran.
- Davies, A. R., Capell, C., Jehanno, D., Nychas, J. E., Kirby, R. M., 2001. Incidence of foodborne pathogens on European fish. *Food Control*. 12, 67 – 71.
- Del Nobile, M. A., Di Benedetto, N., Suriano, N., Conte, A., Corbo, A., M. R., Sinigaglia, M., 2009. Combined effect of chitosan and MAP to improve the microbial quality of Amaranth homemade fresh pasta. *Food microbiology*. 26, 587 – 591.
- Dobarganes, C., Margues-Ruiz, G., 2003. Oxidized fats in foods. *Current Opinion in Clinical Nutrition and Metabolic Care*. 6 (2), 157 – 163.
- Dostál, J., Paulová, H., Slanina, J., Táborská, E., 2005. *Biochemie pro bakaláře*. Masarykova univerzita v Brně. 174 s.

- Doughikollaee, E. A., 2012. Freezing/ Thawing and Cooking of Fish. Health and Social Aspects of the Food Industry. 208 – 219.
- Doyle, J. P., 1995. Seafood Shelf Life as a Function of Temperature. Alaska Sea Marine Grant Advisory Program, 2. vydání. 30, 6 s.
- Dufassé, L., De La Broise, D., Guerard, F., 1997. Fish protein hydrolysates as nitrogen sources for microbial growth and metabolite production. Recent Research Developments in Microbiology. 1, 365 – 381.
- Ecomonou, T., Pournis, N., Ntzimani, A., Savvaidis, I., N., 2009. Nisin-EDTA treatments and modified atmosphere packaging to increase fresh chicken meat shelf-life. Food Chemistry. 14, 1470 – 1476.
- Erkan, N., 2012. The effect of thyme and garlic oil on the preservation of vacuum-packaged hot smoked rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). Food Bioprocesses Technology. 5, 1246 – 1254.
- FAO, 1986. Strategy for fisheries management and development. 26 s.
- FAO, 2005. Aquaculture production. FAO Yearbook of Fishery Statistics. 73 s.
- FAO, 2005. Quality of fish and fish product. Topic fact sheets in: FAO Fisheries and Aquaculture Department. Dostupné na www.fao.org/fishery/topic/1521/en [Shlédnuto dne 16. 4. 2015].
- FAO, 2010. Aquaculture newsletter, Roma. 52 s.
- FAO, 2011. The composition of fish. Torrey Research Station. 38. Dostupné na <http://www.fao.org/wairdocs/tan/x5916e/x5916e00.htm#Contents> [Shlédnuto 7.8. 2014].
- Faustman, C., Cassens, R. G., 1990. The biochemical basis for discoloration in fresh meat: a review. Journal of Muscle Food. 1, 217 – 243.
- Feldhusen, F., 2000. The role of seafood in bacterial foodborne diseases. Microbes and Infection. 2, 1651 – 1660.
- Flick, G. J., 2010. Smoked fish, Part III.: Smoking, storage, microbiology. Global Aquaculture Alliance. 8, 31-32.
- Frangos, L., Pyrogotou, N., Giatrakou, V., Ntzimani, A., Savvaidis, I. N., 2010. Combined effect of salting, oregano oil and vacuum-packaging and the shelf-life of refrigerated trout fillets. Food Microbiology. 27, 115 – 121.
- Frank, H. A., 1985. Use of monographs to estimate histamin formation in tuna In: histamine formation in marine product: production by bacteria, measurement and prediction of formation. FAO Fisheries Technical Paper, Food and Agriculture Organization of the United Nations, Rome, Italy. 252, 18 – 20.
- Frank, J., 2004. Dietary phenolic compounds and vitamin E bioavailability: Model studies in rats and humans in: Acta universitatis agriculturae suecia. Swedish university of Agriculture, Upsala, Sweden. 446 s.

- Frankel, E. N., 1985. Chemistry of free radical and singlet oxidation of lipids. *Progress in Lipid Research*. 23, 197 – 221.
- Fraser, O., Sumar, S., 1998. Compositional changes and spoilage in fish. *Nutrition and Food Science*. 5, 275 – 279.
- Fredriksson, E. S., Pickova, J., 2007. Fatty acids and tocopherol levels in: *M. Longissimus dorsi* of beef cattle in Sweden – A comparison between seasonal doets. *Meat Science*. 76, 746 – 754.
- Fuentes, A., Fernández-Segovia, I., Barat, J. M., Serra, J. A., 2010. Physicochemical characterization of some smoked and marinated fish products. *Journal of Food Processing and Preservation*. 34 (1), 83 – 103.
- Gallart-Jornet, L., Rustad, T., Barat, J. M., Fito, P., Eschriche, I., 2007. Effect of superchilled storage on the freshness and salting behaviour of Atlantic salmon (*Salmo salar*). *Food Chemistry*. 104 (4), 1268 – 1281.
- Ganesan, P., Kumar, C. S., Bhaskar, N., 2008. Antioxidant properties of methanol extract and its solvent fractions obtained from selected Indian red seaweeds. *Bioresource Technology*. 99 (8), 2717 – 2723.
- Ghaly, A. E., Dave, D., Budge, S., Brooks, M. S., 2010. Fish spoilage mechanism and preservation techniques: review. *American Journal of Applied Sciences*. 7, 859 – 877.
- Gill, C. O., 1996. Extending the storage life of raw chilled meats. *Meat Science*. 46, 99 – 109.
- Gilles, G., 2009. Dry cured ham quality as related to lipid quality of raw material and lipid changes during processing: a review. *Grasas Y Aceites*. 60, 297 – 307.
- Giusti, M. M., Wrolstad, R. E., 2003. Acylated anthocyanins from edible sources and their applications in food systems. *Biochemical Engineering Journal*. 14 (3), 217 – 225.
- Goulas, A. E., Kontominas, M. G., 2007. Combined effect of light salting, modified atmosphere packaging and oregano essential oil on the shelf-life of sea bream (*Sparus aurata*): Biochemical and sensory attributes. *Food Chemistry*. 93, 511 – 520.
- Goulas, A. E., Kontominas, M., G., 2007. Combined effect of light salting, modified atmosphere packaging and oregano essential oil on the shelf-life of sea bream (*Sparus aurata*): biochemical and sensory attributes. *Food Chemistry*. 100, 287 – 296.
- Gram, L., 2010. Microbiological Spoilage of Fish and Seafood Products. *Food Microbiology and Food Safety*. 5, 87 – 119.
- Gram, L., Dalgaard, P., 2002. Fish spoilage bacteria – problems and solutions. *Current opinion in Biotechnology*. 13, 262 – 266.
- Gram, L., Huss, H. H., 1996. Microbial spoilage of fish and fish product. *International Journal of Food Microbiology*. 33, 121 – 137.
- Gram, L., Huss, H. H., 2000. Fresh and Processed Fish and Shellfish in: Parker, B., Gould, G. W., 2000. *The Microbial Safety and Quality of Foods*. S. 472 – 506.

- Gray, J. I., Gomaa, E. A., Buckley, D. J., 1996. Oxidative quality and shelf life of meats. *Meat Science*. 43, 111 – 123.
- Gray, J. I., Pearson, A. M., 1984. Rancidity and warmed-over flavor. *Advanced Meat Research*. 3, 221 – 269.
- Hall, G., 2011 (*). Preservation by curing (drying, salting and smoking) In: Hall, G. (Eds.), 2011. *Fish Processing Sustainability and New Opportunities*. Wiley-Blackwell, West Sussex. p. 51 – 76.
- Hall, G., 2011. Freezing and chilling of fish and fish product In: Hall, G., 2011. *Fish processing sustainability and new opportunities*. Wiley Blackwell – West Sussex. 77 – 97.
- Halliwell, B., Cuttridge, J. M. C., 1988. *Free radicals in biology and medicine*, 2. vydání. Clarendon Press, Oxford, UK. 888 s.
- Hansen, M., Thilsted, S. H., Sandstrom, B., Kongsbak, K., Larsen, T., Jensen, M., Sorensen, S. S., 1998. Calcium absorption from small soft-boned fish. *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology*. 12 (3), 148 – 154.
- Hansen, T. L., Gill, T., Rontved, S. D., Huss, H. H., 1996. Importance of autolysis and microbial activity on quality of cold-smoked salmon. *Food Research International*. 29, 181 – 186.
- Hara, A., Radin, N. S., 1978. Lipid extraction of tissues with a low toxicity solvent. *Analytical Biochemistry*. 90, 420 – 426.
- Henderson, R. J., Tocher, D. R., 1987. The lipid composition and biochemistry of freshwater fish. *Progress in Lipid Research*. 26, 281 – 347.
- Holben, D. H., Smith, A. M., 1999. The diverse role of selenium within selenoproteins: A review. *Journal of the American Dietetic Association*. 99 (7), 836 – 843.
- Howell, A. B., 2007. Bioactive compounds in cranberries and their role in prevention of urinary tract infections. *Molecular Nutrition and Food Research*. 51 (6), 732 – 737.
- Hultin, H. O., 1994. Oxidation of lipids in seafood in: *Seafoods: Shalidi, F., Botta, J. R., 1994. Chemistry, processing, technology and quality*. s. 49 – 74.
- Huss, H. H., 1995. Quality and quality changes in fresh fish In: *FAO Fisheries Technical Paper (348)*. 195 s. Dostupné na <http://www.fao.org/docrep/v7180e/V7180E00.HTM> [Shlédnuto 2.2.2015]
- Huss, H. H., 1997. Control of indigenous pathogenic bacteria in seafood. *Food Control*. 8, 91 – 98.
- Huss, H. H., Ababouch, L., Gram, L., 2004. Assessment and management of seafood safety and quality. *Fao Fisheries Technical Paper (444)*. 44 s.
- Hwang, D. F., Chang, S. H., Shiua, C. Y., Tuu.jyi, C., 1997. High performance liquid chromatographic determination of biogenic amines in fish implicated in food poisoning. *Journal of Chromatography B: Biomedical Sciences and Applications*. 693, 23 – 30.
- Chevalier, D., Le-Bail, A., Simpson, B. K., Ghoul, M., 2000. Effect of pressure shift freezing, airblast freezing and storage on some biochemical and physical properties of Turbot (*Scophthalmus maximus*). *Food Science And Technology*. 33 (8). 570 – 577.

- Ilich, J. Z., Kerstetter, J. E., 2000. Nutrition in bone health revisited: A story beyond calcium. *Journal of the American College of Nutrition*. 19 (6), 715 – 737.
- Ingr, I., 1994. Hodnocení a zpracování ryb. Vyská škola zemědělská, Brno. 106 s.
- Ingr, I., Pokorný, J., Valentová, H., 1997. Senzorická analýza potravin. Mendelova Univerzita v Brně, 1. vydání. 101 s.
- Ismail, N., Wootton, M., 1992. Fish salting and drying: A review. *Asean Food Journal*. 4, 175 – 183.
- Jensen, C., Skibsted, L. H., Bertelsen, G., 1998. Oxidative stability of frozen stored raw pork chops, chill stored pre-frozen raw pork chops, and frozen stored pre-cooked sausages in relation to dietary CuSO₄, rapeseed oil and vitamin E. *Zeitschrift für Lebensmittel Untersuchung und Forschung*. 207, 363 – 368.
- Jeremiah, L. E., 2001. Packaging alternatives to deliver fresh meats using short or long-term distribution. 34 (9), 749 – 772.
- Jeremiah, L. E., 2001. Packaging alternatives to deliver fresh meats using short – or long – term distribution. *Food Research International*. 34 (9), 749 – 772.
- Ježek, F., Buchtová, H., 2010. Shelf-life of chilled muscle tissue of the common carp. (*Cyprinus carpio* L.) packaged in carbon monoxide enriched modified atmosphere. *University of Veterinary and Pharmaceutical Sciences Brno*. 79, 117 – 125.
- Jo, C., Lee, J. I., Ahn, D. U., 1999. Lipid oxidation, color changes and volatiles production in irradiated pork sausage with different fat content and packaging during storage. *Meat Science*. 51 (4), 355 – 361.
- Jobling, M., Koskela, J., Savolainen, R., 1998. Influence of dietary fat level and increased adiposity on growth and fat deposition in rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*. *Aquaculture research*. 29, 601 – 607.
- Johansen, S. J. S., Jobling, M., 1998. The influence of feeding regime on growth and slaughter traits of cage-reared Atlantic salmon. *Aquaculture International*. 6, 1 – 17.
- Kaale, L. D., Eikevik, T. M., Rustad, T., Kolsaker, K., 2011. Superchilling of food: A review. *Journal of Food Engineering*. 107, 141 – 146.
- Kaale, L. D., Eikevik, T. M., Rustad, T., Nordtvedt, T. S., Bardal, T., Kjorsvik, E., 2013. Ice crystal development in pre-rigor Atlantic salmon fillets during superchilling process and following storage. *Food Control*. 31, 491 – 498.
- Kalač, P., Špička, J., 2006. Složení lipidů sladkovodních ryb a jejich význam v lidské výživě. Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích.
- Kamal, M., Motohiro, T., Itakura, T., 1986. Inhibitory effect of samin sulfate on the growth of molds. *Bulletin of the Japanese Society for the Science of Fish*. 52, 1061 – 1064.
- Kamal-Eldin, A., Pickova, J., 2008. Balance between polyunsaturated fatty acids and antioxidants in nutrition. *Lipid Technology*. 20 (4), 80 – 83.

- Kanatt, S. R., Chander, R., Sharma, A., 2008. Chitosan glucose complex – A novel food preservative. *Food Chemistry*. 106, 521 – 528.
- Kanatt, S. R., Chanderm R., Sharma, A., 2008. Chitosan glucose complex – A novel food preservative. *Food Chemistry*. 106, 521 – 528.
- Kanner, J., 1994. Oxidative processes in meat and meatproduct – quality implications. *Meat Science*. 36, 169 – 189.
- Kazimierczak, R., Hallman, E., Rusaczek, A., Rembiakowska, E., 2008. Antioxidant content in black currants from organic and conventional cultivation. *Electronic Journal of Polish Agricultural Universities*. 11 (2), 28.
- Kim, J. H., Ahn, H. J., Lee, J. W., Park, H. J., Ryu, G. H., Kang, I. J., Byun, W., 2005. Effect of gamma irradiation on the biogenic amines in pepperoni with different packaging conditions. *Food Chemistry*. 89 (2), 199 – 205.
- Klouda, P., 2005. *Základy biochemie*. Pavel Klouda, Ostrava. 144 s.
- Knoblich, M., Anderson, B., Latshaw, D., 2005. Analyses of tomato peel and seed byproduct and their use as a source of carotenoids. *Journal of the Science of Food and Agriculture*. 85 (7), 1166 – 1170.
- Kostaki, M., Giatrakou, V., Savvaidis, I. N., Kontomidas, M. G., 2009. Combined effect of MAP and thyme essential oil on the microbiological, chemical and sensory attributes of organic allyagua cultured sea bass (*Dicentrarchus labrax*) fillets. *Food Microbiology*. 26, 475 – 482.
- Kozinska, A., Pekala, A., 2004. First isolation of *Schwannella putrefaciens* from freshwater fish – a potential new pathogen of the fish. *Bulletin – European Association of Fish Pathologists*. 4, 199 – 204.
- Krogdahl, A., Hemre, G. I., Mommsen, T. P., 2005. Carbohydrates in fish nutrition: digestion and absorption in postlarval stages. *Aquaculture Nutrition*. 11 (2), 103 – 122.
- Larrain, R. E., Krueger, C. G., Richards, M. P., Reed, J. D., 2008. Color changes and lipid oxidation in pork product made from pigs fed with cranberry juice powder. *Journal of Muscle Foods*, 2008. 19, 17 – 33.
- Larsen, T., Thilsted, S. H., Kongsbag, K., Hansen, M., 2000. Whole small fish as a rich calcium source. *British Journal of nutrition*. 83 (2), 191 – 196.
- Lehane, L., 2000. Update on histamine fish poisoning. *The Medical Journal of Australia*. 173, 149 – 152.
- Leygonie, C., Britz, T. J., Hoffman, L. C, 2012. Impact of freezing and thawing on the quality of meat: Review. *Meat Science*. 91 (2), 93 – 98.
- Li, B., Sun, D. W., 2002. Novel methods for rapid freezing and thawing on the quality of meat: Review. *Meat Science*. 91, 93 – 98.

- Li, T., Li, J., Hu, W., Zhang, X., Li, X., Zhao, J., 2012. Shelf-life extension of crucian carp (*Carrasius auratus*) using natural preservatives during chilled storage. *Food Chemistry*. 135, 140 – 145.
- Liston, J., 1980. Microbiology in fishery science In: Connel, J. J. (Eds). *Advances in Fishery Science and Technology*. Fishing News Books, Farnham, UK. 138 – 157.
- Lock, E. J., Waagbo, R., Wendelaar Bonga, S., Flik, G., 2010. The significance of vitamin D for fish: a review. *Aquaculture Nutrition*. 16 (1), 100 – 116.
- Lohalaksanadech, S., Sujarit, C., 2011. Shelf life extension of refrigerated storage of blue swimming crab meat (*Portunus spelagicus*) by dipping in sodium acetate in: *Congress on science and technology of Thailand*. Bangkok, 10. 12. 2011. 1 – 6.
- Lu, Z., Chen, T. C., Zhang, A., Persons, K. S., Kohn, N., Berkoeitz, R., Martinello, S., Holick, M. F., 2007. An evaluation of the vitamin D-3 content in fish: Is the vitamin D content adequate to satisfy the dietary requirement for vitamin D. *Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology*. 103, 642 – 644.
- Lucera, A., Costa, C., Conte, A., Matteo, A., 2012. Food application of natural antimicrobial compounds. *Frontiers in Microbiology*. 3, 1-13.
- Lund, E. K., 2013. Health benefits of seafood – Is it just the fatty acids? *Food Chemistry*. 140 (3), 413 – 420.
- Mahnoud, B. S. M., Yamazaki, K., Miyashita, K., Il-Shik, S., Dong-Suk, Ch., Suzuki, T., 2004. Bacterial microflora of carp (*Cyprinus carpio*) and its shelf-life extension by essential oil compounds. *Food Microbiology*. 657 – 666.
- Maltar, S. N., Ljubic – Beer, B., Laskaj, R., Aadrovic, J., Dzaja, P., 2013. Effect of gamma radiation on histamine production, lipid peroxidation and antioxidant parameters during storage at two different temperatures in sardine (*Sardina pilchardus*). *Food Control*. 34, 132 – 137.
- Martinez, A., Gildberg, A., 1988. Autolytic degradation of belly tissue in anchovy (*Engraulis encrasicolus*). *International Journal of Food Science and Technology*. 23, 185–194.
- Martino, M. N., Otero, L., Sanz, P. D., Zaritzky, N. E., 1998. Size and location of ice crystals in pork frozen by high-pressure-assisted freezing as compared to classical methods. *Meat Science*. 50 (3), 303 – 313.
- Masniom, P., 2011. Deterioration and shelf-life extension of fish and fishery product by modified atmosphere packaging. *Songklanakarin Journal of Science and Technology*. 33 (2), 181 – 192.
- Mastromatteo, M., Danza, A., Conte, A., Muratore, G., DelNobile, M. A., 2010. Shelf life of ready to use peeled shrimps as affected by thymol essential oil and modified atmosphere packaging. *International Journal of Food Microbiology*. 144, 250 – 256.
- Mattila, P., Piironen, V., Uusi-Rauva, E., Koivistoinen, P., 1995. Cholecalciferol and 25-hydroxycholecalciferol contents in fish and fish products. *Journal of Food Composition and Analysis*. 8 (3), 232 – 243.

- McLay, R., 2003. Marinades. Torry Advisory Notes 56. Dostupné na <http://www.fao.org/wairdocs/tan/x5932E/x5932e00.htm> [Shlédnuto 3.5.2015].
- Medina, I., Gallardo, J., M., Auborg, S., P., 2009. Quality preservation in chilled and frozen fish product by employment of slurry ice and natural antioxidants. *International Journal of Food Science and Technology*. 44, 1467 – 1479.
- Merten, M., 2002. *Zpracování ryb*. Informatorium Praha, 235 s.
- Mexis, S. F., Chouliara, E., Kontominas, M. G., 2009. Combined effect of an oxygen absorber and oregano essential oil on shelflife extension of rainbow trout fillets stored at 4°C. *Food Microbiology*. 26, 598 – 605.
- Miller, D. D., 1998. *Food chemistry: a laboratory manual*. Wiley Interscience, New York, USA. 168 s.
- Min, B., Chen, M. H., Green, B. W., 2009. Antioxidant activities of purple rice bran extract and its effect on the quality of low-NaCl, phosphate-free patties made from channel fish (*Ictalurus punctatus*) belly flap meat. *Journal of Food Science*. 74, 268 – 277.
- Morris, P. C., 2001. The effect of nutrition on the composition of farmed fish In... Kestin, S. C., Warris, P. D., (Ed.). *Farmed Fish quality*. Fish New Books, Oxford. 381 – 402.
- Morrissey, P., A., Sheehy, P. J. A., Galvin, K., Kerry, J. P., Buckley, D. J., 1998. Lipid stability in meat and meat product. *Meat Science*. 49, 73 – 86.
- Mráz, J., Pickova, J., 2009. Differences between lipid content and composition of different parts of fillets from crossbred farmed carp (*Cyprinus carpio*). *Fish Physiology and Biochemistry*. 35 (4), 625 – 623.
- Nařízení Evropského parlamentu a rady (EU) č. 1169/2011 ze dne 25. října 2011 o poskytování informací spotřebitelům.
- Nařízení komise (EC) č. 2073/2005 z 15. listopadu 2005 o mikrobiologických kritériích pro potraviny.
- Nařízení komise (EU) č. 1129/2011 ze dne 11. listopadu 2011 týkající se potravinářských aditiv.
- Naseri, M., Rezaei, M., Moieni, S., Hosseini, H., Eskandari, S., 2011. Effect of different filling media on the oxidation and lipid quality of canned silver capr (*Hypophthalmichthys molitrix*). *International Journal of Food Science and Technology*. 46 (6), 1149 – 1156.
- Nixon, P. A., 1971. Temperature integration as a means of assessing storage conditions In: Report on quality in fish product. Fishing Industry Board. S. 34 – 44.
- No, H. K., Meyers, S. P., Prinyawiwatkul, W., Xu, Z., 2007. Applications of chitosan for improvement of quality and shelf-life of foods: A review. *Journal of Food Science*. 72 (5), 87 – 100.
- Novotný, L., Dvorská, L., Lorencová, A., Beran, V., Pavlík, I., 2004. Fish: potential of bacterial pathogens for human beings. *Veterinary Medicine*. 49, 343 – 358.
- Obšil, T., Pavlíček, Z., 1997. Glykace proteinů a fosfolipidů: Maillardova reakce in vivo. *Chemické listy*. 91, 558 – 569.
- Odstrčil, J., 2005. *Biochemie*. Národní centrum ošetrovatelství a nelékařských oborů, Brno. 161 s.

- Ojagh, S. M., Rezaei, M., Razavi, S., H., Hosseini, S. M. H., 2010. Effect of chitosan coatings enriched with cinnamon oil on the quality of refrigerated rainbow trout. *Food Chemistry*. 120, 193 – 198.
- Okamoto, A., Suzuki, A., 2002. Effect of high hydrostatic pressure-treating on pork meat. *Trends in High Pressure Bioscience and Biotechnology*. 19, 571 – 576.
- Olafsdóttir, G., Martinsdóttir, E., Oehlenschläger, J., Dalgaard, P., Jensen, B., Undeland, I., Mackie I. M., Henahan, G., Mielsen, J., Nilsen, H., 1997. Methods of evaluate fish freshness in research and industry. *Trends in Food Science and Technology*. 8, 258 – 265.
- Oliver, C. N., Ahn, B. W., Moerman, E. J., Goldstein, S., Stadtman, E. R., 1987. Age related changes in oxidized proteins. *Journal of Biological Chemistry*. 262 (12), 5488 – 5491.
- Oliviera, H., Pedro, S., Nunes M. L., Costa, R., Vaz-Pires, P., 2012. Processing of salted cod (*Gadus* spp.): A review. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*. 11 (6), 546 – 564.
- Ozden, O., 2005. Changes in amino acid and fatty acid composition during shelf-life of marinated fish. *Journal of Science of Food and Agriculture*. 85 (12), 2015 – 2020.
- Packer, J. E., Slater, T. F., Willson, R. L., 1979. Direct observations of a free radical interaction between vitamin E and vitamin C. *Nature*. 278, 737 – 739.
- Pantelidis, G. E., Vasilakakis, M., Manganaris, G. A., Diamantis, G., 2007. Antioxidant capacity, phenol, anthocyanin and ascorbic acid content in raspberries, blackberries, red currants, gooseberries and Cornelian cherries. *Food Chemistry*. 102 (3), 77 – 783.
- Park, J. N., Hwang, K. T., Kim, S. B., Kim, S. Z., 2009. Partial replacement of Na Cl by KCl in salted mackerel (*Scomber japonicus*) fillet products: effect on sensory acceptance and lipid oxidation. *International Journal of Food Science and Technology*. 44, 1572 – 1578.
- Pazos, M., Alonso, A., Bolanos, J. F., Torres, J. L., Medina, I., 2006. Physicochemical properties of natural phenolic from grapes and olive oil byproduct and their antioxidant activity in frozen horse mackerel fillets. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 54 (2), 366 – 373.
- Pilon, G., Ruzzin, J., Rioux, L. E., Lavigne, C., White, P. J., Froyland, L., Jacques, H., Bryl, P., Beaulieu, L., Marette, A., 2001. Differential effects of various fish proteins in altering body weight, adiposity, inflammatory status, and insulin sensitivity in high-fat-fed rats. *Metabolism – Clinical and Experimental*. 60 (8), 1122 – 1130.
- Pyrgotou, N., Giatrakou, V., Ntzimani, A., Savvaidis, I. N., 2010. Quality of assessment of salted, modified atmosphere packaged rainbow trout under treatment with oregano essential oil. *Journal Of Food Science*. 75, 406 – 411.
- Rastogi, N. K., Raghavaro, K., Balasubramaniam, V. M., Niranjana, K., Knorr, D., 2007. Opportunities and challenges in high pressure processing of foods. *Critical Review in Food Science and Nutrition*. 47 (1), 69 – 112.

- Rezaei, M., Montazeri, N., Langrudi, H. E., 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.
- Rodriguez, C. J., Besteiro, I., Pascual, 1999. Biochemical changes in freshwater rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) during chilled storage. *Journal of the Science and Agriculture*. 79, 1473 – 1480.
- Rora, A. M. B., Morkore, T., Einen, O., 2001. Primary processing (evisceration and filleting) In: Kestin, S. C., Warriss, P. D. *Farmed fish quality*. Fishing News Books, Oxford. 249 – 261.
- Roth, B., Grimsbo, E., Slinde, E., Foss, A., Stien, L. H., Nortvedt, R., 2012. Crowning, pumping and stunning of Atlantic salmon, the subsequent effect on pH and rigor mortis. *Aquaculture*. 326 – 329, 178 – 180.
- Roth, B., Slinde, E., Arildsen, J., 2006. Pre or post mortem muscle activity in Atlantic salmon (*Salmo salar*). The effect on rigor mortis and the physical properties of flesh. *Aquaculture*. 257, 504 – 510.
- Sallam, K. I., 2007. Antimicrobial and antioxidant effect of sodium acetate, sodium lactate, and sodium citrate in refrigerated sliced salmon. *Food Control*. 18, 566 – 575.
- Sampels, S., 2013. Oxidation and Antioxidants in Fish and Meat from Farm to Fork in: Muzzalupo, I., 2014. *Food industry, InTech*. 6, 115 – 144.
- Sampels, S., Levý, E., Mráz, J., Vejsada, P., Zajíc, T., 2014. Kvalita a gastronomie ryb a rybích výrobků. Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích, Fakulta rybářství a ochrany vod, 247 s.
- Sargent, J., 1997. Fish oils and human diet. *British Journal of Nutrition*. 78, 5 – 13.
- Serezli, R., Akhan, S., Sonay, F. D., 2010. The effect of vitamin E on Black Sea Trout (*Salmo labrax*), Broodstock performance. *Kafkas Universiteti Veteriner Fakultesi Dergisi*. 16, 219 – 222.
- Shao, D., Atungulu, G. G., Panz, Z., Yue, T., Zhang, A., Li, X., 2012. Study of optimal extraction condotions for achieving high yield and antioxidant aktivty of tomato seed oil. *Journal of Food Science*. 77 (8), 202 - 208.
- Shearer, K. D., 2001. The effect of diet composition and feeding régime on the proximate composition of farmed fishes In: Kestin, S. C., Warriss, P. D.. *Farmed fish quality*. Fishing News Books, Oxford, UK. 31 – 40.
- Shephard, K. L., 1994. Functions for fish mucus. *Reviews in Fish Biology and Fisheries*. 4, 401 – 429.
- Silverstvik, M., Jeksrud, W K., Rosnes, J. T., 2002. A rewiew of modified atmosphere packaging of fish and fishery product – signifkance of microbial growth, activities and safety. *International Journal of Food Science and Technology*. 37, 107 – 127.

- Singh R. P., 2015. Fish processing In: Encyclopedia Britannica. Dostupné na www.britannica.com; <http://www.britannica.com/EBchecked/topic/208602/fish-processing/50292/Heating> [Shlédnuto 9.1.2015]
- Siverstvik, M., Jeksrud, W. K., Rosnes, J. T., 2002. A review of modified atmosphere packaging of fish and fishery products – significance of microbial growth, activities and safety. *International Journal of Food Science and Technology*. 37 (2), 107 – 127.
- Skibsted, L. H., 2012. Carotenoids in antioxidant networks. Colorants or radical scavengers. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 60 (10). 2409 – 2417.
- Sofia, 2012. The State of World Fisheries and Aquaculture. FAO Fisheries and Aquaculture Department. Dostupné na <http://www.fao.org/docrep/016/i3027e/i3027e.pdf>. [Shlédnuto 26. 7. 2014].
- Tanabe, H., Yoshida, M., Tomita, N., 2002. Comparison of the antioxidant activities of 22 commonly used culinary herbs and spices on the lipid oxidation of pork meat. *Animal Science Journal*. 73, 389 – 393.
- Tang, S., Sheehan, D., Buckley, D. J., Morrissey, P. A., Kerry, J. P., 2008. Aldehyde formation in frozen mackerel (*Scomber scombrus*) in the presence and absence of instant green tea. *Food Chemistry*. 108, 801 – 810.
- Taylor, S. L., Summer, S., 1986. Determination of histamine, putrescine and cadaverine In: Kramer, D. E., Liston, J. (Eds.). *Seafood Quality Determination*, Elsevier, Amsterdam. 235 – 245.
- Thakur, B R., Nelson, P. E., 1998. High pressure processing and preservation of foods. *Food Reviews International*. 14 (4), 427 – 447.
- Tiwari, B., Valdramidis, V. V., O'Donnell, V. P., Muthukumarappan, K., Cullen, P. J., 2009. Application of natural antimicrobials for food preservation. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 5987 – 6000.
- Toyohara, M., Murata, M., Ando, M., Kubota, S., Sakaguchi, M., Toyohara, H., 1999. Texture changes associated with insolubilization of sarcoplasmic proteins during salt-vinagar curing of fish. *Journal of Food Science*. 64 (5), 604 – 807.
- Ucak, I., Ozogul, Y., Durmus, M., 2011. The effect of rosemary extract combination with vacuum packing on the quality changes of Atlantic mackerel fish burgers. *International Journal of Food Science and Technology*. 46 (6). 1157 – 1163.
- Underland, I., Hall, G., Wendin, K., Gangbo, I., 2005. Preventing lipid oxidation during recovery of functional proteins from herring (*Clupea harengus*) fillets by an acid solubilization process. *Journal of Agricultural and Food Biochemistry*. 53, 5624 – 5634.
- Vácha, F., 2000. *Zpracování ryb*. Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích. 104 s.
- Vácha, F., Buchtová, H., 2005. *Komodity akvakultury*. Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích. 150 s.

- Vácha, F., Vejsada, P., 2013. Zpracování ryb. Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích, Fakulta rybářství a ochrany vod, 178 s.
- VanDeWalle, A. F., 2010. The effect of natural antimicrobial ingredients on the quality of roast beef and oven roasted turkey. Theses and Disertations in Animal Science. 20. 32 s.
- Vavříková, E., Vinšová, J., 2009. Chitosan a jeho farmaceutické aplikace. Chemické Listy. 103, 56 – 65.
- Vejsada, P., Vácha, F., 2010. Senzorické hodnocení masa sladkovodních ryb. Fakulta Rybářství a ochrany vod, Vodňany. 26 s.
- Velenzuela-Martinez, C. V., Ramos, A. P., Juneja, V. K., Korasapati, N. R., Burson, D. E., Thippareddi, H., 2010. Inhibition of Clostridium perfringens spore germination and outgrowth by buffered vinegar and lemon juice concentrate during chilling of ground turkey roast containing minimal ingredients. Journal Food Protection. 73, 470 – 476.
- Velíšek, J., 1999. Chemie potravin. OSSIS Tábor. 304 s.
- Velíšek, J., 2002. Chemie potravin, 2. vydání. OSSIS, 331 s.
- Velu, S., Bakar, A., Mahyudin, N. A., Saari, N., Zaman, M. Z., 2013. Mini Rewiew – Effect of modified atmosphere packaging on microbil flora changer in fishery product. International Food Research Journal. 20 (1), 17- 26.
- Vestergaard, Ch. S., Parolari, G., 1999. Lipid and cholesterol oxidation products in dry-cured ham. Meat Science. 52, 397 – 401.
- Wasowicz, E., Gramza, A., Hés, M., Jelén, H. H., Korczak, J., Malecka M., Mildner-Szkudlarz, S., Rudzinska, M., Samotyja, U., Zawirska-Wojtasiak, R., 2004. Oxidation of lipind in food. Polis Journal of Food and Nutrition Sciences. 54, 87 – 100.
- Wathne, E., 1995. Strategies for directing slaughter quality of farmed Atlantic salmon (Salmo salar) with emphasis on diet composition and fat deposition. Doctor Scientarium Theses, Agricultural University of Norway. 246 s.
- Wojdylo, A., Oszmiansky, J., Czemerys, R., 2007. Antioxidant activity and phenolic compound in 32 selected herbs. Food Chemistry. 105, 940 – 949.
- Wong, R., 2013. Fish Processing. Crop and Food Research. 1, 1 – 6.
- Wood, J D., Richardson, R. I., Nute, G. R., Fisher, A. V., Campo, M. M., Kasapidou, E., Sheard, P. R., Enser, M., 2003. Effect of fatty acids on meat quality: a rewiew. Meat Science. 66, 21 – 32.
- Yasin, N. M. N., Abou – Taleb, M., 2007. Antioxidant and antimicrobial effects of marjoram and thyme in coated refrigerated semifried mullet fishfillets. International Dairy Food Association. 2, 1 – 9.
- Zajíc, T., 2014. Zpráva o vývoji nových výrobků z ryb; „Prodloužení trvanlivosti chlazených výrobků z ryb“. Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích, Fakulta rybářství a ochrany vod. 49 s.

Zajíc, T., Mráz, J., Kozák, P., Picková, J., 2011. Možnosti produkce sladkovodních ryb s obsahem omega-3 mastných kyselin. Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích, Edice metodik (technologická řada). FROV JU Vodňany. 112, 34 s.

8 ABSTRAKT

Diplomová práce byla zaměřena na možnosti prodloužení skladovatelnosti rybích výrobků pomocí koupelí s obsahem komerčně používaných sedmi aditiv. ANTIBAK, MIC – STAB, Bakont, SEA-i®F75, Misocarine LR, SAFE – A Plus a AMX – liquid. Účinnost těchto látek na prodloužení skladovatelnosti byla posuzována na základě testů CPM, úrovně oxidace tuku a bílkovin, stanovení nutričních parametrů svaloviny, a v neposlední řadě sensorických analýz. Experimentálními druhy byly 2 významné komodity pro českou akvakulturu - pstruh duhový (*Oncorhynchus mykiss*) a kapr obecný (*Cyprinus carpio*).

Celý projekt byl strukturován do 6 dílčích etap. V průběhu testování byl omezen původní počet aditiv (7) postupnou selekcí na 2 přípravky. A to na **Bakont** a **AMX – liquid**, které byly testovány podrobněji na pstruhovi (filet s kůží, kuchaný s hlavou) a kaprovi (filet s kůží bez šupin) chlazených volně ložených a chlazených balených ve vakuu. U pstruha antimikrobiální účinek lázní u kuchaných ryb s hlavou se- a bez žaber.

Ošetřené filety pstruha volně ložené i vakuově balené vykazovaly signifikantně menší abundanci mikroflóry svaloviny. V případě kapřích filet volně ložených chlazených nelze říci, že by koupel měla v tomto případě efekt na CPM v mase. Kombinace lázně a vakuového balení byla ovšem singnifikantně odlišná mezi kontrolou a přípravkem Bakont. AMX liquid nebyl v tomto případě aplikován v dostatečné dávce či dostatečném čase na kapří svalovinu. Pozitivním zjištěním je skutečnost, že při aplikaci aditiv na výrobek „pstruh kuchaný s hlavou“ nezáleží na tom, zda jsou žábra ponechány, či nikoli. Ve všech případech ovšem byly rozборы na přítomnost patogenů *Escherichia coli*, *Salmonella* spp. či *Listeria monocytogenes* negativní. Z výsledků

provedených senzorických analýz lze usoudit, že se látky obsažené v aditivech neprojeví na senzorických vlastnostech testovaných ryb.

Klíčová slova: CPM, *Cyprinus carpio*, *Escherichia coli*, *Listeria monocytogenes*, *Oncorhynchus mykiss*, oxidace proteinů, oxidace tuků, *Salmonella* spp., senzorická analýza

9 ABSTRACT

This diploma thesis was focused on the possibilities of extending the shelf-life of fish products by dipping containing seven commercial additives. ANTIBAK, MIC – STAB, Bakont, SEA-i®F75, Misocarine LR, SAFE – A Plus and AMX – liquid. The effectiveness of these substances on the extending of shelf-life was evaluated on the basis of tests of TVC (total viable count), level of fat and protein oxidation, determination of nutritional parameters of muscle, and finally sensory analysis. Experimental species were 2 important commodities for the Czech aquaculture – rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) and common carp (*Cyprinus carpio*).

The project was divided into 6 sub-stages. During testing was the initial number of additives (7) limited by stepwise selection for 2 preparations. Namely **Bakont** and **AMX – liquid**, which were tested further on trout (filet with skin and scales) and carp (filets with skin without scales) chilled bulk and chilled packaged under vacuum. For trout was studied antimicrobial effect of dipping on eviscerated fish with the head with or without gills.

Treated trout fillets in bulk and vacuum-packed showed significantly less abundance of muscle mikroflora. In the case of carp fillets chilled bulk we can not say that the bath had influence on the CMP in meat. However, the combination of dipping and vacuum packaging was significantly different between the control and product Bakont. AMX – liquid was not applied in this case in sufficient dose or in sufficient time to carp muscle. A positive finding is that the application of the additives to the product „eviscerated trout with head“ it does not matter, whether the gills are left in fish or not. However, in all cases the analysis of the presence of pathogens *Escherichia coli*,

Salmonella spp. or *Listeria monocytogenes* were negative. From the results of sensory analysis can be concluded, that the substances contained in aditives are not reflected in the sensory properties of tested fish.

Keywords: *Cyprinus carpio*, *Escherichia coli*, lipid oxidation, *Listeria monocytogenes*, *Oncorhynchus mykiss*, protein oxidation, *Salmonella* spp., sensory analysis, TVC.