Česká zemědělská univerzita v Praze

Fakulta agrobiologie, potravinových a přírodních zdrojů

Katedra mikrobiologie, výživy a dietetiky

Fakulta agrobiologie,
potravinových a přírodních zdrojů

Kvalita proteinu sardinek a šprotů po tepelné úpravě

Diplomová práce

Bc. Eva Hanzalová
Výživa a potraviny

Ing. Ivo Doskočil, Ph.D.
Ing. Barbora Lampová

© 2023 ČZU v Praze

Čestné prohlášení

Prohlašuji, že svou diplomovou práci "Kvalita proteinu sardinek a šprotů po tepelné úpravě" jsem vypracovala samostatně pod vedením vedoucího diplomové práce a s použitím odborné literatury a dalších informačních zdrojů, které jsou citovány v práci a uvedeny v seznamu literatury na konci práce. Jako autorka uvedené diplomové práce dále prohlašuji, že jsem v souvislosti s jejím vytvořením neporušila autorská práva třetích osob.

V Praze dne 13.4.2023 _____

Poděkování

Ráda bych touto cestou poděkovala Ing. Ivo Doskočilovi, Ph.D. za odborné vedení mé diplomové práce a rady, které mi k dokončení významně pomohly. Dále bych chtěla poděkovat Ing. Barboře Lampové za nesmírně ochotnou spolupráci, trpělivost a především čas, který konzultacím věnovala.

Kvalita proteinu u sardinek a šprotů po tepelné úpravě

Souhrn

Maso vodních živočichů, zejména mořských ryb žijících v chladných severských vodách, je všeobecně známo pro výhodné složení z hlediska obsahu esenciálních aminokyselin a příznivého obsahu n-3 nenasycených mastných kyselin, minerálních látek a vitaminů rozpustných v tucích. Z hlediska zachování bezpečnosti a zvýšení údržnosti potravin je tepelná úprava nedílnou součástí kulinární úpravy, přičemž vaření, dušení, smažení a pečení jsou způsoby běžné téměř v každé domácnosti. Tepelná úprava masa ryb a dalších živočichů je však faktor, který ovlivňuje další vlastnosti pokrmu, zejména obsah volných aminokyselin a stravitelnost bílkovin.

Cílem této práce bylo zhodnotit kvalitu proteinu sardinek a šprotů po tepelné úpravě, čehož bylo docíleno zhodnocením stravitelnosti jednotlivých vzorků ryb upravených vařením, dušením, smažením a pečením, přičemž byly testovány také vzorky syrové. Pro vyhodnocení stravitelnosti bylo využito *in vitro* statického modelu trávení INFOGEST 2.0, který simuluje orální, gastrickou a intestinální fázi trávicího systému. Pro vlastní výpočet stravitelností byly využity hodnoty celkového obsahu aminokyselin v natrávených a nenatrávených vzorcích.

Nejvyšší výsledná stravitelnost byla pozorována u smažených vzorků, která dosahovala hodnot 92,38 % pro sardinky a 89,46 % pro šproty. Dále bylo u sardinek dosaženo hodnot stravitelnosti 88,77 % pro vařené vzorky, 82,59 % pro pečené vzorky, 82,84 % pro dušené vzorky a 67,35 % pro syrové vzorky. U šprotů bylo dosaženo podobných výsledků, a to 82,54 % pro pečené vzorky, 82,53 % pro dušené vzorky, 80,10 % pro vařené vzorky a 76,03 % pro vzorky tepelně neupravené. Ačkoli dosahovala stravitelnost proteinu smažených vzorků nejvyšších hodnot, bylo v případě této tepelné úpravy sledováno snížení stravitelnosti některých aminokyselin, přičemž obsah esenciálních aminokyselin fenylalaninu, valinu, methioninu a tryptofanu byl zvýšen jak v případě sardinek, tak v případě šprotů. Snížení stravitelnosti některých esenciálních aminokyselin bylo pozorováno také u vzorků upravených vařením a pečením u sardinek a vařením, dušením a pečením u šprotů. Nižší hodnoty stravitelnosti vykazovala také esenciální aminokyselina tryptofan u tepelně neupravených šprotů.

V rámci této práce bylo smažení vyhodnoceno jako nejúspěšnější proces pro zvýšení stravitelnosti proteinu, avšak z hlediska obsahu stravitelných esenciálních aminokyselin a rizika vyššího obsahu nasycených mastných kyselin v hotovém výrobku nelze tuto tepelnou úpravu jednoznačně doporučit. Snížení stravitelnosti některých aminokyselin však bylo pozorováno u všech způsobů tepelné úpravy a lze jen obtížně vyvodit závěry o výhodách a nevýhodách jednotlivých úprav. Ačkoli není smažení ze zdravotního hlediska vhodnou tepelnou úpravou, vede ke zvýšení stravitelnosti v porovnání s vhodnějšími tepelnými úpravami, jako je dušení a vaření, u nichž dosahovala stravitelnost nejnižších hodnot.

Klíčová slova: INFOGEST; stravitelnost; aminokyseliny; *in vitro* trávení; ryby

Protein quality in sardines and sprats after heat treatment

Summary

The meat of aquatic animals, especially marine fish living in cold Nordic waters, is widely known for its favorable composition in terms of the content of essential amino acids and the favorable content of n-3 unsaturated fatty acids, minerals and fat-soluble vitamins. From the point of view of preserving food safety and increasing the sustainability of food, heat treatment is an integral part of culinary preparation, while cooking, stewing, frying and baking are common methods in almost every household. However, the heat treatment of fish and other animals is a factor that affects other properties of the food, especially the content of free amino acids and the digestibility of proteins.

The aim of this work was to evaluate the protein quality of sardines and sprats after heat treatment, which was achieved by evaluating the digestibility of individual fish samples treated by cooking, steaming, frying and baking, while raw samples were also tested. To evaluate the digestibility, an in *vitro static* digestion model INFOGEST 2.0 was used, which simulates the oral, gastric and intestinal phases of the digestive system. The values of the total content of amino acids in digested and undigested samples were used for the actual calculation of digestibility.

The highest final digestibility was observed for fried samples, which reached values of 92.38 % for sardines and 89.46 % for sprats. Furthermore, digestibility values of 88.77 % for boiled samples, 82.59 % for baked samples, 82.84 % for stewed samples and 67.35 % for raw samples were achieved for sardines. Similar results were obtained for sprats, namely 82.54 % for baked samples, 82.53 % for stewed samples, 80.10 % for boiled samples and 76.03 % for uncooked samples. Although the protein digestibility of the fried samples reached the highest values, a decrease in the digestibility of some amino acids was observed in the case of this heat treatment, while the content of the essential amino acids phenylalanine, valine, methionine and tryptophan was increased both in the case of sardines and in the case of sprats. A decrease in the digestibility of some essential amino acids was also observed in samples treated by cooking and baking in sardines and by cooking, stewing and baking in sprats. The essential amino acid tryptophan also showed lower digestibility values in raw sprats.

In this work, frying was evaluated as the most successful process for increasing protein digestibility, but from the point of view of the content of digestible essential amino acids and the risk of a higher content of saturated fatty acids in the finished product, this heat treatment cannot be unequivocally recommended. However, a decrease in the digestibility of some amino acids was observed with all methods of heat treatment, and it is difficult to draw conclusions about the advantages and disadvantages of individual treatments. Although frying is not a suitable heat treatment from a health point of view, it leads to an increase in digestibility compared to more suitable heat treatments such as stewing and boiling, which had the lowest digestibility values.

Keywords: INFOGEST; digestibility; aminoacids; *in vitro* digestibility; fish

Obsah

1 Úvod **7**

2 Vědecká hypotéza a cíle práce **8**

3 Literární rešerše **9**

3.1 Ryby a rybí maso **9**

3.1.1 Ryby sladkovodní 10

3.1.2 Ryby mořské 11

3.1.3 Rybí maso 14

3.2 Tepelná úprava **25**

3.2.1 Fyzikální a chemické změny masa 25

3.2.2 Vaření, pečení a smažení 26

3.2.3 Stravitelnost bílkovin 27

4 Materiál a metody **29**

4.1 Materiál **29**

4.2 Metody **29**

4.2.1 Příprava vzorků 29

4.2.2 Analýza nenatrávených vzorků 29

4.2.3 Statické *in vitro* trávení 29

4.2.4 Analýza natrávených vzorků 30

4.2.5 Hodnocení stravitelnosti 31

5 Výsledky **32**

5.1 Analýza nenatrávených vzorků **32**

5.2 Analýza natrávených vzorků **34**

5.3 Hodnocení stravitelnosti **36**

6 Diskuze **38**

7 Závěr **40**

8 Literatura **41**

1 Úvod

Sladkovodní i mořské ryby jsou významným zdrojem plnohodnotných a biologicky dostupných bílkovin v lidské stravě, zejména z důvodu vysokého obsahu esenciálních aminokyselin. K vysoké biologické hodnotě mořských ryb přispívá také příznivý obsah n-3 polynenasycených mastných kyselin, eikosapentaenové kyseliny (EPA) a dokosahexaenové kyseliny (DHA), vysoký obsah minerálních látek včetně jódu a obsah některých vitaminů, především vitaminů rozpustných v tucích A, D a hydrofilní vitamin B_{12}.

Rybolov je zásadním, a pro řadu oblastí nenahraditelným, zdrojem vodních živočichů za účelem obživy. Významný podíl světového rybolovu představují ryby z řádu *Clupeiformes*, přičemž sardinky *Sardina* spp., *Sardinops* spp. a šproty *Sprattus* spp. spolu s dalšími pelagickými druhy do tohoto řádu spadají. Tepelná úprava je zásadním technologickým procesem úpravy masa a masných produktů, který zajišťuje zejména zdravotní nezávadnost potravin a změnu organoleptických vlastností v zájmu uspokojení preferencí konzumenta. Vliv teploty v závislosti na době působení má za následek nevratnou denaturaci proteinů masa, což vede k porušení jejich prostorové konformace a změnám původních vlastností jako je údržnost vody, konzistence a barva. Tyto změny mohou vést v konečném důsledku ke ztrátě cenných nutrientů, zejména při vaření ve vodě může dojít k vyluhování některých složek do okolní tekutiny. Často diskutovaným jevem je ztráta citlivých vitaminů vlivem tepelného působení, změny kvality bílkovin masa pelagických ryb však nejsou zcela prozkoumány.

Kvalita proteinu přímo souvisí s jeho stravitelností, přičemž stanovení stravitelnosti lze dosáhnout pomocí mnoha metodik. Metodikou využitou v této práci je stanovení stravitelnosti porovnáním obsahu aminokyselin v natrávených vzorcích bílkovin se vzorky, které procesu *in vitro* trávení vystaveny nebyly.

2 Vědecká hypotéza a cíle práce

Rozdílná tepelná úprava sardinek a šprotů spočívající v pečení, smažení, vaření, dušení vede k výrazným rozdílům ve stravitelnosti proteinů.

Cílem práce je pomocí *in vitro* statického modelu natrávit jednotlivé vzorky. Následně stanovit obsah aminokyselin a v porovnání s nestráveným vzorkem určit stravitelnost proteinu.

3 Literární rešerše

3.1 Ryby a rybí maso

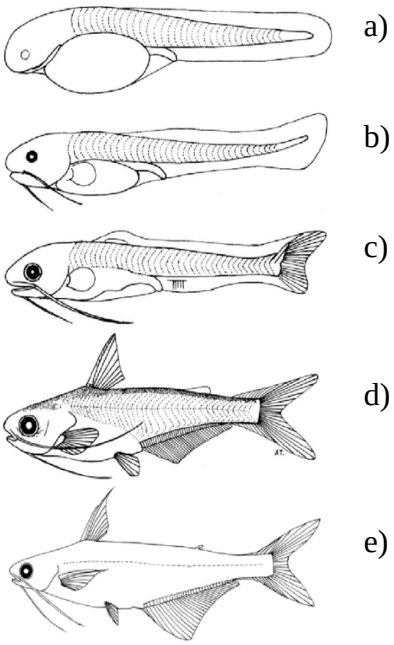
Ryby (*Osteichthyes*) jsou obratlovci přizpůsobení životu ve vodě. Jedná se o ektotermní organismy, které nemohou udržovat stálou tělesnou teplotu, což je činí náchylné ke změnám teplot okolního prostředí. Časové a prostorové rozdíly teplot tak mají za následek změny v individuálních fyziologických vlastnostech jako je růst a stav metabolismu a změny v genetické struktuře (Boltaña et al. 2017). Homeostáza vody a iontů, která je nezbytná k životu všech živočichů, je vzhledem k životu ryb ve vodě důležitým faktorem jejich životaschopnosti. Stenohalinní společenstva, tedy společenstva schopna života pouze ve vyhrazených podmínkách prostředí, tvoří majoritní část těchto vodních živočichů. Dle odhadů však existuje 3 až 5 % ryb schopných života ve sladké i mořské vodě, které označujeme jako euryhalinní (McCormick et al. 2013). Aklimatizace organismů na odlišné hodnoty salinity způsobuje zvýšení energetických nároků, což zapříčiňuje využívání různých energetických substrátů pro funkci metabolismu v rozdílných prostředích. Tyto změny mohou být sledovány v kontextu se změnami poměru kyslík:dusík získaného výpočtem atomových poměrů zmíněných prvků ze spotřeby kyslíku a vyloučeného amoniaku. Rozdíly těchto poměrů tak mohou ukazovat na preferenci převážně proteinů, směsi proteinů a lipidů či na preferenci převážně lipidů jakožto substrátů pro energetický metabolismus. Tyto poměry se však zdají být druhově specifické (Tseng & Hwang 2008).

Ryby mají specifický vývojový proces, zahrnující několik stádií vyobrazených na **obrázku 1**. V počátečním embryonálním stadiu dochází k vylíhnutí oplozeného vajíčka. Navazuje larvální stadium, tedy období od vylíhnutí a vstřebání žloutku. Následující juvenilní stádium zahrnuje vývoj prvních šupin, načež navazuje stadium dospělce s jejich první zralostí (Yamaguchi 2016). Nutriční požadavky volně žijících ryb je obtížné kategorizovat, obecně však můžeme hovořit o širokém spektru potravy od zooplanktonu až po hmyz a jiné ryby v případě predátorů (Gerking 2014). Druhy ryb tak můžeme rozdělit na čtyři trofické úrovně, tedy bezobratlé, býložravce, rybožravce a všežravce (Park et al. 2005). Výživa se však odlišuje nejen v závislosti na druhu, ale také v závislosti na jejich vývojových stádiích a oblasti výskytu těchto živočichů (Gerking 2014). Ryby v porovnání se savci metabolizují mastné kyseliny snadněji a efektivněji, což jim umožňuje v době nedostatku potravy udržení energetické homeostázy. Stálý energetický metabolismus podporuje také schopnost mobilizace tukových rezerv játry (Tseng & Hwang 2008).

Potrava chovaných ryb bývá složena z kombinací dostupných základních surovin, které slouží především jako zdroj lipidů a bílkovin. Mezi takové suroviny řadíme například luštěniny, olejniny a vedlejší produkty živočišného původu, včetně rybích produktů v podobě rybích mouček a olejů zakomponovaných do peletovaných krmiv (Jobling 2015). Značně problematická je novodobá snaha o náhradu živočišných složek krmiv za suroviny rostlinného původu. Tato problematika spočívá v absenci, či nedostatku některých životně důležitých složek včetně taurinu (Salze & Davis 2015) a cholesterolu, tedy látek zajišťujících fyziologické funkce organismu. Dalším problémem je nedostatek některých aminokyselin jako jsou methionin a lysin, které jsou limitujícími aminokyselinami u rostlinných surovin, a velmi nízký obsah n-3 polynenasycených mastných kyselin (PUFA) (Jobling 2015).

Ryby jsou rozmanitou skupinou obratlovců, avšak zaváděním nepůvodních druhů do všech oblastí dochází k tzv. taxonomické homogenizaci, a tedy k poklesu biologické rozmanitosti (Villéger et al. 2011). K tomuto poklesu přispívají také ztráta přirozených stanovišť, změna klimatu a znečištění vod. Situaci dále ovlivňuje rybolov, který představuje nejzásadnější zdroj těžby volně žijících živočichů, čímž přispívá k ekonomické situaci a představuje zdroj obživy pro značnou část populace (Radinger et al. 2019). Od poloviny

dvacátého století je na vzestupu snaha o doplnění rybolovu intenzivním chovem ryb (Jobling 2015).



Obrázek 1: Různá vývojová stadia ryby pangas vláknitý *Pangasius macronema*; a), b), c) larvální stadium, d) juvenilní stadium, e) stadium dospělce (Hortle et al. 2015; upraveno)

3.1.1 Ryby sladkovodní

Sladké vody pokrývají méně než 1 % zemského povrchu (Radinger et al. 2019), přesto sladkovodní ryby představují hlavní složku ekosystémů mírných i tropických pásem a tvoří téměř čtvrtinu všech druhů obratlovců (Miller & Román-Palacios 2019). Sladkovodní ryby čítají přibližně 13 000 druhů a představují tak 40 až 50 % celosvětové rozmanitosti ryb (Radinger et al. 2019). Tito živočichové obvykle obývají vody o teplotě 0 až 30 °C. V závislosti na ročním období a území výskytu se tak mění teplota prostředí, která má přímý vliv na metabolismus ryb a embryonální vývoj (Alabaster & Lloyd 2013).

V Evropě je hojně využíváno čtyřstupňové zónování dle dominujících druhů ryb od horních toků po říční výpusti. Tyto zóny jsou značeny jako pstruhové, lipanové, parmové a cejnové pásmo (Sutela et al. 2020). Druhové bohatství se zpravidla zvyšuje s rostoucí velikostí vodních toků, což bývá spojováno s charakteristikami daných stanovišť v závislosti na rychlosti proudu, hloubce, sklonu, teplotě a složení substrátu (Park et al. 2005). Některé studie však tento obecný trend vyvrací a předpokládají nejvyšší druhovou diverzitu ve středních tocích, kde se mohou společně vyskytovat druhy sousedních zón (Sutela et al. 2020). **Pstruhové pásmo** s četným výskytem lososovitých ryb rodu *Salmo* spp. je vyznačováno vodou s nízkou teplotou a nízkým obsahem živin. Vodní tok je rychle tekoucí v úzkých a mělkých cestách s půdou složenou z čistého písku, štěrku a minimálního množství bahna (Aarts & Nienhuis 2003). Pro navazující **lipanové pásmo** je běžný výskyt lipana podhorního, ryby druhu *Thymallus thymallus* (Gaudin & Sempeski 2001). Toto pásmo je tvořeno hlubšími a širšími vodními toky s rychle tekoucí vodou. Obsah živin ve vodě je vyšší než v pstruhovém pásmu a půda je tvořena převážně ze štěrku, písku a bahna (Aarts & Nienhuis 2003). Oblast s četným výskytem říční kaprovité ryby, parmy obecné neboli *Barbus barbus*, je značeno jako **parmové pásmo** (Erős et al. 2017). Toto pásmo představuje

střední toky řek, kde s rostoucí velikostí toků narůstá také množství živin ve vodě. Vody bývají bez vyššího množství nečistot a substrát je tvořen převážně štěrkem (Britton & Pegg 2011). Pro poslední, **cejnové pásmo** s převážným výskytem ryb rodu *Abramis* spp. (Erős et al. 2017), jsou typické zakalené stojaté, či pomalu tekoucí vody. Obsah živin je v těchto tocích nižší než v předchozím pásmu. Do evropského dělení zón však není možné zařadit tažné druhy ryb, které migrují mezi sladkými a mořskými vodami za účelem rozmnožování (Aarts & Nienhuis 2003). Jedná se o tzv. katadromní druhy ryb, u nichž jsou environmentální podmínky stanovišť výrazně proměnlivé v průběhu následování migračních cest (Podda et al. 2021).

Složení sladkých vod je závislé na mnoha faktorech, především na přirozeně se vyskytujících chemických sloučeninách jak v rozpuštěném stavu, tak ve formě suspenzí, a environmentálním znečištění. Prvky a sloučeniny bývají řazeny do kategorií dle množství ve kterém se vyskytují, či charakteru látek. Jedná se o kategorie hlavních, vedlejších a stopových prvků, plynů a organických látek. **Tabulka 1** vyobrazuje složení přírodních sladkých vod, avšak koncentrace látek se v těchto vodách mění v závislosti na čase i místě, na rozdíl od hlavního složení vody mořské (Golterman 2004). S chemickým složením prostředí souvisí také vývoj, fyziologie, reprodukční biologie ryb a chemicky zprostředkovaná komunikace. Změny chemického prostředí vlivem antropogenního znečištění mohou tyto procesy výrazně narušit a mít přímý vliv na chování vodních živočichů (Fisher et al. 2006). Ryby sladkých vod jsou citlivé na antropogenní stresory a představují tak cenné indikátory biologické a ekologické integrity. Monitoring přirozených indikátorů například upozornil na změny druhové diverzity v jezerech a řekách (Radinger et al. 2019).

Tabulka 1: Obsah hlavních látek vyskytujících se ve sladkých vodách (Golterman 2004)

Hlavní prvky	Vedlejší prvky	Stopové prvky a organické sloučeniny
Ca^{2+} (64 %)	N	Fe
Mg^{2+} (17 %)	P	Cu
Na^{+} (16 %)	Si	Co
K^{+} (3 %)		Mo
H^{+}		Mn
Fe^{2+}		Zn
NH_4^{+}		B
HCO_3^{-} (73 %)		Metabolity
SO_4^{2-} (16 %)		Vitaminy
Cl^{-} (10 %)		Huminové sloučeniny

3.1.2 Ryby mořské

Většina ryb, vyjma euryhalinních, je schopna přežít pouze úzké rozmezí hodnot salinity. Mořská voda obsahuje zhruba 3,5 % všech solí, v brakických vodách se salinita pohybuje v rozmezí od 1 do 3,5 % (Yamaguchi 2016). Voda obsažená v mořích a oceánech představuje zhruba 97 % celkového obsahu vody na Zemi (Pilson 2012) a rozmanitost mořské fauny je vzhledem k rozloze obtížně zjistitelná. Přesto je odhadováno na 230 000 známých druhů, přičemž ryby spolu s korýši (*Crustacea*) a měkkýši (*Mollusca*) tvoří přibližně 50 % všech známých druhů (Costello et al. 2010).

Mořští živočichové obývají vody o teplotě v rozmezí od -2 °C do +30 °C. V některých případech mohou tyto teploty nabývat vyšších hodnot, například v zátokách tropického pásma, kde mohou dosahovat +40 °C a více (Pilson 2012). Hloubka se může pohybovat od 0 m do 10 km pod hladinou moře a hydrostatický tlak od 100 do 100 000 kPa (Pilson 2012). Hodnoty hydrostatického tlaku mohou být tedy znatelně rozdílné, přičemž jejich proměnlivost je lineární s hloubkou měření. Se stoupající hloubkou vody také slábnou světelné a akustické

signály, což znesnadňuje rybám a dalším živočichům orientaci v prostoru. V takovém případě tuto funkci nahrazují jiné podněty, například hydrostatický tlak (Davis et al. 2021). Hlavní složení mořské vody je pravděpodobně, na rozdíl od sladké vody, méně proměnlivé (Golterman 2004), avšak hodnoty se mohou lišit především v oblastech, kde se sladká voda mísí s mořskou (Pilson 2012). Průměrný obsah některých prvků při 3,5% salinitě je vyobrazen v **tabulce 2** (Chester 2009). Na složení a kvalitu vodního prostředí mají však vliv také antropogenní činnosti, například lodní přeprava (Kreitsberg et al. 2012), či těžba na mořském dně (Crespo et al. 2019). Na znečištění prostřednictvím lodní přepravy se podílí především značné množství ropných a nákladních lodí, které do vod uvolňují mimo jiné také polycyklické aromatické uhlovodíky, látky vykazující prokázané genotoxické a cytotoxické účinky pro žijící organismy. Mezi nejvíce kontaminované řadíme například Baltské moře (Kreistberg et al. 2012). Také brakické vody mohou být vystaveny environmentálnímu znečištění, a tedy i výrazným změnám složení. Tyto vody se vyskytují především v okolí mořského pobřeží, Hudsonově zálivu, Baltském a Černém moři, v zálivech a ústích řek. Brakické vody jsou přímo vystaveny environmentálnímu znečištění, zejména v oblastech výpustí odpadních vod. K udržení čistoty vod je významná funkce takzvaného samočištění, na které se významně podílí mikroorganismy pobřežních vod (Rheinheimer 2012).

Tabulka 2: Průměrné koncentrace vybraných prvků v mořské vodě při 3,5% salinitě (Chester 2009; upraveno)

Prvek	Hlavní formy	Průměrná koncentrace při 3,5% salinitě (mmol/kg)
Cl	Cl^-	546
Na	Na^+	468
Mg	Mg^{2+}	53,2
S	SO_4^{2-}, $NaSO_4^-$, $MgSO_4$	28,2
Ca	Ca^{2+}	10,3
K	K^+	10,2
C	HCO_3^-, CO_3^{2-}	2,0-2,5
Br	Br^-	0,84
B	H_3BO_3	0,416
N	N_2, NO_3^-	0,0001-0,045

Sardinky

Sardinky neboli ryby rodu *Sardina* spp. (Ganias 2014) a *Sardinops* spp. řadíme k rybám mírného pásma (Bowen & Grant 1997). Rod *Sardina* je sardinka evropská, v rodu *Sardinella* jsou zahrnuty druhy tropické a některé subtropické (Checkley et al. 2017). Jedná se o malé pelagické ryby z řádu *Clupeiformes*. Tento řád je tvořen 401 různými druhy, přičemž většina z nich osidluje mořské tropické a subtropické pobřežní oblasti (Lavoué et al. 2007). Dle molekulární genetiky proběhla speciace sardinek a sardelí před desítkami milionů let, přičemž oddělení rodů *Sardina* spp. a *Sardinops* spp. od společného předka proběhlo zhruba před 19 miliony let (Checkley et al. 2017). Většina rodů z řádu *Clupeiformes* je euryhalinních, avšak existují i výhradně sladkovodní druhy. Tato skupina je tak vhodná ke studiu mechanismů přechodu vodních živočichů mezi mořskou a sladkou vodou (Lavoué et al. 2007).

Sardinky jsou krátkověký druh dožívající se přibližně 3 až 7 let (Alheit et al. 2012) a velikosti dospělce, tedy 17 cm, dosahují ve věku 1 roku (Tarley et al. 2004). Vyznačují se vysokou plodností a některé se mohou třít po celý rok (Alheit et al. 2012). Jejich tělo je protáhlé a postříbřené. Šupiny sardinek obsahují guanin (Checkley et al. 2017), který zodpovídá za kovový lesk (Gur et al. 2013), a jsou druhově specifické. Tyto ryby se živí fytoplanktonem

a zooplanktonem či okusováním větších částic a filtrováním vody. V porovnáním se sardelemi jsou sardinky velikostně větší a rychlejší, což jim umožňuje migrovat na delší vzdálenosti mezi místy tření a krmení (Checkley et al. 2017).

Sardinky, sardele neboli ančovičky (rod *Engraulis* spp.) a další malé pelagické ryby představují majoritní část rybolovu, kde je 30 až 40 % hmotnosti tvořeno právě rody *Sardina* spp., *Sardinops* spp. a *Engraulis* spp. (Ganias 2014). V roce 2012 představovaly sardinky a sardele dokonce 52 % vykládek malých pelagických ryb a 13 % světového rybolovu (Checkley et al. 2017). Výlov sardinek probíhá celoročně, vrchol však nastává v období podzim-zima (Šimat et al. 2020). Rybolov je důležitým zdrojem surovin pro výrobu rybí moučky k využití v akvakultuře a dalších odvětvích (Ganias 2014), k výrobě průmyslových olejů, zdravotních doplňků a lidské spotřebě (Checkley et al 2017). Maso sardinek je známo pro vysoký obsah PUFA, konkrétně EPA a DHA a jsou proto považovány za kvalitní zdroj esenciálních mastných kyselin (Bulla et al. 2011). U sardinek byl také zjištěn obsah všech esenciálních aminokyselin v mase, což činí tuto bílkovinu plnohodnotnou (Šimat et al. 2020). Tito živočichové jsou stěžejní složkou potravy větších ryb, mořských ptáků a savců. Náhlé změny v početnosti malých pelagických ryb tak mohou výrazně ohrozit populace jejich predátorů. Je také předpokládáno, že spolu s klimatickými změnami mohou souviset změny ve velikosti stanovišť a migrací ryb z řádu *Clupeiformes* (Alheit et al. 2012). U sardinek a sardelí byl v tomto kontextu pozorován přesun do Severního moře a vod přilehlých (Chechley et al. 2017).

Šproty

Šprot obecný, neboli *Sprattus sprattus,* je rovněž jako sardinka, ryba z řádu *Clupeiformes*. Tyto ryby se vyskytují především v oblastech Severního a Baltského moře a v severních oblastech moře Černého a Středozemního (Usydus et al. 2012). Vzhledem k oblastem výskytu jsou tedy adaptovány na brakické podmínky (Ojaveer & Kalejs 2010).

Tělo dospělého jedince dosahuje délky 10 až 20 cm a vyznačuje se drsným okrajem břicha, což jej odlišuje od sledě (Usydus et al. 2012) *Clupea harengus* (Jorgensen et al. 2005). Šupiny jsou stříbrné s namodralým tónem na hřbetu (Usydus et al. 2012). Živí se striktně zooplanktonem (Casini et al. 2004), především podřády perlooček *Cladocera* spp. a veslonožek *Copepoda* spp., patřícími do řádu korýšů (Sommer et al. 2001). Na druhé straně jsou šproty potravou pro dravého lososa antlantského *Salmo salar* a tresku obecnou *Gadus morhua* (Bernreuther et al. 2009). Reprodukce tohoto druhu je citlivá na salinitu a tepelné podmínky. Teploty vhodné k rozmnožování šprotů leží v rozmezí od 6 do 12 °C. Současně je pro správný průběh rozmnožování důležitý minimální obsah salinity mezi 5 a 6 PSU neboli mezi 5 a 6 gramy soli na kilogram mořské vody. V přirozených podmínkách tvoří úmrtnost jiker šprotů 50 až 96 % a závisí zejména na množství predátorů a planktonních organismů v místě vývoje (Ojaveer & Kalejs 2010).

Šproty, stejně jako většina ryb z řádu *Clupeiformes,* představují významnou část rybolovu (Cardinale 2002). Pouze v Baltském moři je ročně vyloveno na 300 000 tun šprotů (Usydus et al. 2012) a například v Irsku je vykládka šprotů zhruba 3 000 tun ročně (Babikova et al. 2020). Toto množství putuje do mnoha odvětví, zejména však k výrobě rybí moučky a olejů k hospodářskému využití a lidské výživě. Maso šprotů obsahuje vysoké množství snadno stravitelných bílkovin, vitaminu D a řadu minerálních látek, například draslík, železo, zinek, fluor a jód. Bylo u nich zjištěno také vysoké množství n-3 PUFA, především EPA a DHA (Usydus et al. 2012).

3.1.3 Rybí maso

Tělo ryb je z 60 % tvořeno dvěma typy svalové tkáně, bílou anaerobní a červenou aerobní svalovou tkání. Struktura svaloviny rybího masa je v porovnání se suchozemskými živočichy podstatně jednodušší, tedy obě strany těla těchto živočichů jsou pokryty jedním velkým bočním svalem s převládajícím množstvím bílé svalové tkáně. V případě některých barevných ryb, například lososovitých, může svalovina nabývat barvy červené (Sandor et al. 2011). Toto je však způsobeno vysokým obsahem karotenoidů v tkáni (Ytrestøyl et al. 2004), nikoliv jejím okysličením (Sandor et al. 2011). Jednoduchá stavba svaloviny je možná vzhledem k množství vody v okolí a potřebě svalové struktury pouze k plavání a vztlaku. Oproti suchozemským živočichům obsahuje maso ryb také významně nižší množství pojivové tkáně se strukturním uspořádáním odpovídajícím jejich specifickému pohybu (Kristinsson & Rasco 2000).

Nutriční složení ryb je příznivé zejména z důvodu vysoké stravitelnosti proteinů a vysokého obsahu n-3 PUFA (Usydus et al. 2012) navzdory nižší kalorické hodnotě v porovnání se suchozemskými živočichy (Khalili Tilami & Sampels 2017). Právě z důvodu vysokého obsahu n-3 PUFA je konzumace ryb a rybích olejů doporučována jako prevence kardiovaskulárních a zánětlivých onemocnění, artritidy, snížení vysoké hladiny cholesterolu v krvi a prevence dalších poruch a onemocnění (Bulla et al. 2011). Rybí maso obsahuje také vysoký obsah minerálních látek a vitaminů, jejichž hodnoty se mění v závislosti na prostředí a nutričních nárocích sladkovodních a mořských ryb (Ljubica et al. 2002). Vliv na přibližné složení masa různých druhů ryb mají dále pohlaví (Sandor et al. 2011), roční období a fáze zralosti (Usydus et al. 2012) neboli věk (Sandor et al. 2011).

Z hlediska kvality rybího masa je významné sledovat bezpečnost potravin a s tím související posmrtné změny. K těmto změnám patří především enzymatická degradace strukturálních proteinů a další jevy jako jsou pokles pH, změny osmotického tlaku a oxidační procesy. S výše zmíněnými jevy souvisí také změny nutričních vlastností, organoleptických vlastností a změny výsledných vlastností po technologické úpravě (Delbarre-Ladrat et al. 2006). Organoleptické vlastnosti, tedy vnímání chutí a pachů, mohou být ovlivněny také složením potravy ryb a sloučeninami absorbovanými z prostředí (Sandor et al. 2011). Identifikace odpovědných látek je však obtížná a závisí na subjektivním vnímání spotřebitelů (Sandor et al. 2011).

Makronutrienty

K potravinovým makronutrientům obsahujících organismy využitelnou energii řadíme bílkoviny, tuky neboli lipidy a sacharidy (Turck et al. 2021). Jedná se o látky důležité k udržení fyziologických funkcí organismu i růstu (EFSA 2017). Dále ryby obsahují přibližně 70 až 84 % vody, která však nemá dietetickou hodnotu (Abraha et al. 2018).

Bílkoviny

Bílkoviny jsou polymerní dusíkaté látky složené z jednotlivých aminokyselin (Li et al. 2021), jež organismus využívá k růstu a udržení tkání (EFSA 2017). Živočichy jsou absorbovány ve formě volných aminokyselin, di- a tripeptidů i celých proteinů (Tseng & Hwang 2008). Obsah bílkovin v rybím mase je zhruba 18 až 23 % v závislosti na druhu ryby, přičemž složení bílkovin závisí především na typu svalové tkáně. U ryb převládá příčně pruhovaná svalová tkáň, oproti tkáni hladké a srdeční. Typy svalové tkáně jsou k nahlédnutí na **obrázku 2**. Majoritní část je tvořena bílou svalovinou s nižším obsahem lipidů v porovnání s červenou svalovou tkání (Kristinsson & Rasco 2000). Svalovina rybího masa je složena z proteinů myofibrilárních a sarkoplazmatických (Sandor et al. 2011), které na základě prostorové konformace DNA označujeme jako fibrilární a globulární (Kristinsson & Rasco 2000). Myofibrilární proteiny mají fibrilární prostorovou konformaci a tvoří zhruba 60 až 80 % celkového obsahu bílkovin (Delbarre-Ladrat et al. 2006).

Tyto proteiny jsou ve vodě nerozpustné, vyjma solných roztoků s neutrálním pH a vysokou iontovou silou (Kristinsson & Rasco 2000). V porovnání s obsahem myofibrilárních proteinů u savců mají ryby vyšší zastoupení těchto bílkovin, přičemž u savců toto zastoupení tvoří přibližně 40 % celkového obsahu (Delbarre-Ladrat et al. 2006). Mezi hlavní myofibrilární proteiny svaloviny řadíme **aktin** a **myosin,** tvořící sarkomery v příčně pruhované svalovině a kontraktilní jednotky ve svalovině hladké (Squire et al. 2017), přičemž sarkomery jsou základní a nejmenší jednotky svalu (Ertbjerg & Puolanne 2017) umožňující jeho kontraktibilitu a tím i pohyb obratlovců a bezobratlých (Squire et al. 2017). Sarkomery jsou jednotky uspořádané do pravidelného makromolekulárního komplexu tvořeného velkým množstvím proteinových podjednotek (Ertbjerg & Puolanne 2017). Uspořádání těchto jednotek v tandemu tvoří myofibrily, organely napojené na buněčnou membránu svalových buněk probíhající po celé délce buňky (Rui et al. 2010). Post mortem mohou tyto jednotky ovlivňovat například texturu syrového i tepelně upraveného masa a nepřímo i barvu, chuť a další související vlastnosti (Ertbjerg & Puolanne 2017). Myofibrilární proteiny jsou také významným faktorem ovlivňujícím strukturální vlastnosti zpracovaných masných výrobků, kde zejména myosin odpovídá za gelovitou strukturu vlivem tepelné úpravy (Sun & Holley 2011). Myosin obsažený v bílkovině rybího masa tvoří přibližně 38 % celkového obsahu bílkovin a je tak nejvíce zastoupenou svalovou bílkovinou. Z celkového obsahu kontraktilních proteinů tvoří zhruba 50 až 60 %, přičemž aktin z tohoto hlediska zastupuje zhruba 15 až 30 % bílkovin. Pouze drobnou část všech strukturálních bílkovin, přibližně 2 až 3 %, tvoří nerozpustné proteiny obsažené v pojivové tkáni (Kristinsson & Rasco 2000). K těmto strukturálním proteinům řadíme například **kolagen**, důležitou složku obsaženou v extracelulární matrix, pojivové tkáni a kůži (Subhan et al. 2021). Obsah kolagenu v rybí svalovině se může lišit v závislosti na věku, druhu a ročním období výlovu, avšak výtěžnost se může pohybovat až okolo 70 % v sušině ryby (Blanco et al. 2017). Ryby mají vysoký obsah kolagenu typu I, což je také nejvíce zastoupený typ kolagenu v lidské tkáni. Z tohoto důvodu je tato bílkovina dobře využitelná v lidské biomedicíně například k transdermálnímu ošetření ran, jako matrice pro systémy buněčných kultur či přípravky v podobě tablet jakožto bílkovinné doplňky (Subhan et al. 2021). Oproti složení kolagenu jiných živočichů je však u rybího nízký obsah aminokyselin glycin, prolin a hydroxyprolin, což zapříčiňuje denaturaci tohoto proteinu již při nižších teplotách (Jafari et al. 2020). Výhodou oproti savčímu kolagenu je přítomnost vyšších koncentrací aminokyseliny serin a esenciální aminokyseliny threonin (Subhan et al. 2021). Celkový obsah pojivové tkáně ryb je nižší v porovnání s ostatními živočichy, což pravděpodobně zapříčiňuje vyšší stravitelnost bílkovin rybího masa (Abraha et al. 2018).

Ve vodě rozpustné (Kristinsson & Rasco 2000) sarkoplazmatické proteiny s globulární prostorovou konformací představují u ryb 20 až 50 % celkového obsahu bílkovin (Delbarre-Ladrat et al. 2006), přičemž jejich obsah je obecně vyšší u pelagických ryb včetně sardinek (Karthikeyan et al. 2004). K těmto proteinům řadíme především enzymy buněčného metabolismu a glykolytických procesů (Delbarre-Ladrat et al. 2006), například enzym kreatinkinázu. V sarkoplazmě je také přítomno mnoho globulárních proteinů s nízkou molekulární hmotností, mezi něž řadíme například monomerní **myoglobin** (Marcos et al. 2010). Myoglobin je monomerní protein obsahující hemovou protetickou skupinu a ve vodě rozpustnou globinovou neboli bílkovinnou část (Suman & Joseph 2013). Koncentrace myoglobinu je závislá na druhu, pohlaví, věku a výživě organismu (Chaijan et al. 2007) stejně jako na typu svalu a způsobu zpracování masa (Chaijan et al. 2005). Myoglobin se nachází ve větším množství v červených svalových vláknech (Chaijan et al. 2007) a jeho fyziologickou funkcí je transport kyslíku do mitochondrií a zajištění životaschopnosti buňky, avšak po smrti živočicha zodpovídá za červenou pigmentaci masa (Suman & Joseph 2013). Na zbarvení masa ryb má také vliv řada biochemických, chemických a mikrobiálních změn, které mohou vést například k přeměně červeného myoglobinu na modrý

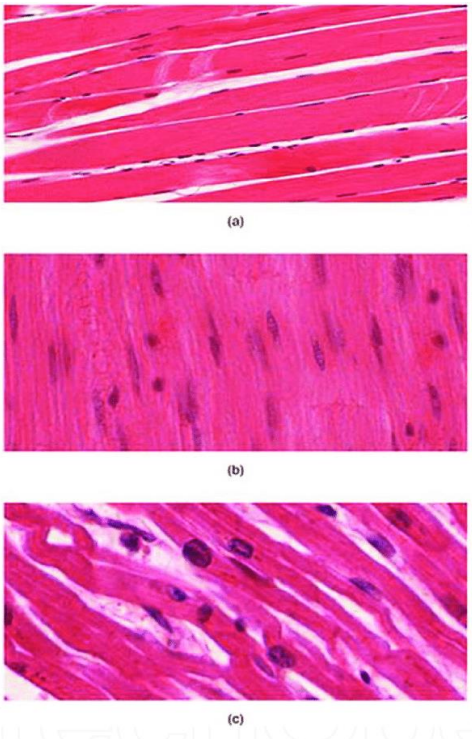
methmyoglobin, přičemž následkem takové přeměny je blednutí masa (Chaijan et al. 2005). Přestože je myoglobin důležitým přenašečem kyslíku u většiny živočichů, antarktické ryby čeledi *Channichthyidae* tento protein postrádají. Funkce organismů této čeledi jsou zajištěny modifikacemi jejich kardiovaskulárního systému, například vyšším srdečním výdejem v porovnání s druhy operujícími s myoglobinem. Vzhledem k absenci myoglobinu krev, žábry i tkáně těchto živočichů postrádají typické červené zbarvení (Sidell & O'Brien 2006).

Proteiny rybího masa jsou známy pro vysokou stravitelnost a biologickou hodnotu, zejména z důvodu přítomnosti všech esenciálních aminokyselin (Sandor et al. 2011), mezi něž řadíme valin, leucin, isoleucin, lysin, methionin, fenylalanin, tryptofan, threonin, arginin a histidin (Šimat et al. 2020). Pohled na esencialitu některých aminokyselin je však mezi zdroji rozdílný a například podle autorů Alqudah et al. (2021) je arginin spolu s cysteinem a tyrosinem řazen mezi aminokyseliny semiesenciální, tedy potřebné pouze v některých fázích života či specifických situacích. Volné aminokyseliny představují přibližně 50 až 85 % celkového obsahu nebílkovinného dusíku, přičemž aminokyseliny prolin, glycin, arginin, alanin, histidin, taurin a kyselina glutamová jsou z kvantitativního hlediska nejvýznamnější. Z kvantitativního hlediska je také významný vysoký obsah esenciálních aminokyselin arginin, lysin a leucin (Özden 2005). Vysoký obsah esenciální aminokyseliny **histidin** je běžný ve svalové tkáni migrujících pelagických ryb, kde pravděpodobně slouží jako pufrační složka chránící svalovou tkáň před náhlým nárůstem kyseliny mléčné v důsledku nadměrné anaerobní svalové aktivity. Histidin je prekursorem několika hormonů včetně hormonu thyreotropního, který úzce souvisí s funkcí štítné žlázy (Šimat et al. 2020). Dále se jedná o prekursor **histaminu** (Parsons & Ganellin 2006), látky jež může u citlivých jedinců vyvolat alergickou imunitní reakci. K intoxikaci histaminem zpravidla dochází při nadměrném příjmu histaminu z potravy či narušení funkcí příslušných metabolizujících enzymů. V případě nesprávné manipulace s rybami může dojít k dekarboxylaci volného L-histidinu vlivem kolonizujících mikroorganismů a tvorbě rizikového exogenního histaminu. Endogenní histamin má však fyziologické funkce a je nezbytný k lokálním imunitním reakcím, regulaci sekrece žaludeční kyseliny a regulaci přenosu neurotransmise (Hungerford 2021). **Arginin** je další esenciální aminokyselinou přítomnou ve větším množství v masu sardinek a dalších pelagických druhů ryb. Jedná se o důležitou látku účastnící se dělby buněk, detoxikace organismu a imunitních a oběhových funkcí. Jedná se o důležitou aminokyselinu účastnící se spermatogeneze a fetálního vývoje savců. Velice významnou funkcí je tvorba oxidu dusnatého podílejícího se na funkcích oběhového a imunitního systému (Šimat et al 2020) a u savců se podílí na tvorbě ornithinu v ornithinovém cyklu, jehož cílem je přeměna toxického amoniaku na zdravotně nezávadnou močovinu, tedy výsledný odpadní produkt organismu. Arginin tedy hraje významnou roli v otázce detoxikace organismu (Hayasaka et al. 2011). Arginin také spolu s cysteinem, glutaminem, leucinem, prolinem a tryptofanem patří mezi takzvané funkční aminokyseliny, tedy kyseliny regulující klíčové metabolické dráhy, jež jsou spojeny s prevencí a léčbou metabolických onemocnění jako je diabetes a obezita. Neesenciální sirná aminokyselina **cystein** (Šimat et al. 2020) je prekursorem **taurinu**, finálního produktu metabolismu sirných aminokyselin a jejich derivátů. Jedná se o kyselinu vyskytující se v živočišných produktech, přičemž ve větším množství se nachází v srdeční a kosterní svalovině a mozku savců a ryb. Zastoupení taurinu v celkovém obsahu aminokyselin závisí na živočišném druhu, pohybuje se však mezi 30 a 50 %. Tato aminokyselina hraje důležitou roli v energetickém metabolismu, metabolismu sacharidů a bílkovin a má významný vliv na funkci endokrinních žláz. Deficit taurinu v období prenatálního a postnatálního vývoje tak může způsobovat anatomické a funkční změny oční sítnice a mozku (Kuzmina et al. 2010). U ryb může být taurin mobilizován v případě nutnosti náhlé osmoregulace při přechodech do prostředí s odlišnou salinitou, stejně jako aminokyselina **glycin**. Podobně jako taurin mohou

být u ryb také neesenciální aminokyseliny **aspartát** a **alanin** využity k produkci energie v nepříznivém prostředí procesem transdeaminace (Tseng & Hwang 2008).

Bílkoviny mohou být enzymaticky upraveny do formy hydrolyzátů, tedy fragmentů peptidů o velikosti 2 až 20 aminokyselin. Tato forma úpravy zapříčiňuje snížení velikosti peptidu a usnadňuje tak využitelnost aminokyselin pro organismus (Chalamaiah et al. 2012). U peptidů izolovaných z hydrolyzátů rybích bílkovin byla zjištěna antioxidační aktivita, kterou způsobují specifické mechanismy umožňující zachycení kyslíku, volných radikálů či chelataci kovů. Peptidy tohoto původu tak mohou být využity jako náhrada syntetických antioxidantů k využití v potravinářství či farmaceutickém průmyslu (Najafian et al. 2013). Vyjma antioxidační aktivity mohou mít peptidy proteinových rybích hydrolyzátů také významné imunomodulační, antihypertenzní a antimikrobiální vlastnosti. V této formě úpravy mohou být využity například i odpady porážky ryb jako jsou hlava, kůže, ploutve, vnitřnosti, kosti či jikry, které bývají běžně využívány na zpracování produktů o nižší tržní hodnotě, například pro výrobu rybí moučky, krmiv pro zvířata a hnojiv (Chalamaiah et al. 2012).

Změny aminokyselinového složení mohou být dobrým indikátorem čerstvosti ryb, přičemž při narůstající délce skladování zpravidla narůstá také množství stanovitelných aminokyselin ve vzorku. První změny koncentrací aminokyselin jsou způsobeny autolýzou svalové hmoty, další změny pochází z narůstajícího množství kolonizujících mikroorganismů. Z hlediska zdravotní nezávadnosti potravin jsou velmi významné nepříliš vysoké hladiny aminokyselin tyrosin, arginin a lysin, jež mohou procesem dekarboxylace produkovat **toxické biogenní aminy**, v tomto případě tyramin, agmatin a kadaverin (Özden 2005). Při intoxikaci organismu mohou tyto aminy vyvolávat gastrointestinální poruchy, kožní vyrážky, bolesti hlavy a hypertenzi, úroveň odezvy organismu však závisí na jeho citlivosti a požité dávce (Doeun et al. 2017). Indikátorem klesající kvality během skladování může být také amoniak, látka vznikající autolýzou masa (Özden 2005). Složení aminokyselin některých částí ryb může být využito i k druhové specifikaci těchto živočichů, spolehlivost této metody je však vzhledem k nestálým hodnotám koncentrací aminokyselin poměrně nízká (Riveiro et al. 2011).



Obrázek 2: Typy svalové tkáně; a) příčně pruhovaná svalová tkáň, b) hladká svalová tkáň, c) srdeční svalová tkáň (Subhy Alsheikhly & Subhy Alsheikhly 2019)

Tuky

Živočišné tuky neboli lipidy jsou zpravidla hydrofobní organické látky. K těmto látkám řadíme jednodušší molekuly mastných kyselin i složitější molekuly obsahující triacylglyceroly (TAG), fosfolipidy či steroly a jejich estery (Burdge & Calder 2015). V mnoha případech jsou MK vázané na TAG či sfingosin. V případě TAG jsou MK esterificky vázány přes alkoholovou skupinu glycerolu (-OH). Druhým případem vazby je amidová vazba přes aminoskupinu sfingosinu (-NH_2) v případě sfingolipidů (Tocher 2003). Na lipidy mohou být vázány i další látky, například cholin, ethanolamin či inositol (Burdge & Calder 2015). Z hlediska polarity jsou u živočichů sfingolipidy považovány za polární látky, přičemž TAG jsou látkami nepolárními. Na základě délky řetězce, nasycenosti a pozice dvojné vazby jsou MK děleny na nasycené, mononenasycené (MUFA) a PUFA řad n-3 či n-6 (Tocher 2003). Nasycenost či nenasycenost vyjadřují obsah dvojných vazeb v molekule MK, přičemž nasycená molekula obsahuje pouze nenásobné vazby, je tedy nasycena vodíkem. Pozice n-3 a n-6 vyjadřují pozici první dvojné vazby MK (Burdge & Calder 2015). Tuky jsou u ryb, podobně jako u savců, emulgovány žlučovými kyselinami a štěpeny pomocí hydrolytických enzymů lipáz na látky jednodušší. Vstřebávány jsou převážně ve formě volných MK a částečně ve formě acylglycerolů (Tocher 2003). Lipidy obecně jsou bohatým zdrojem energie a důležitou složkou membrán veškerých organismů. U ryb jsou tyto látky ukládány především ve formě TAG a PUFA do mezenterických tukových buněk, jater a červených svalových vláken. Látky lipidové povahy se mohou u některých mořských druhů vyskytovat také v kosterní soustavě a ovlivňovat hydrodynamiku těchto živočichů (Tseng & Hwang 2008). Obsah lipidů v rybím mase se pohybuje od 0,2 do 25 %, přičemž dle procentuálního zastoupení tukové tkáně ryby klasifikujeme do 3 skupin – libové, středně tučné a tučné (Sandor et al. 2011). Ryby spadající do první skupiny mají zpravidla pod 5 % tuku, u středně tučných ryb leží množství tuku v rozmezí mezi 5 a 10 % a ryby označujeme jako tučné, jestliže mají lipidy větší než 10% zastoupení (Jabeen & Chaudhry 2011, Souza et al. 2015).

Lipidové složení svaloviny mořských ryb je vyznačováno vysokým obsahem n-3 PUFA s dlouhým řetězcem (Ljubica et al. 2002), **EPA**, **DHA** a n-6 **arachidonové kyseliny** (Jabeen & Chaudhry 2011). Tyto MK představují důležitou složku lidské výživy, kde může mít vyvážený příjem příznivý vliv na kardiovaskulární, neurodegenerativní a metabolická onemocnění. Současně se jedná o látky, které jsou ve zvýšeném množství vyžadovány například těhotnými a kojícími ženami, kojenci, dětmi, dospívajícími a seniory (Šimat et al. 2020). Současně s vysokým obsahem EPA (C20:5) a DHA (C22:6) bývají přítomny nízké koncentrace esenciálních MK, **linolové** (n-6 kyselina, C18:2) a **α-linolenové kyseliny** (n-3 kyselina, C18:3), které ovlivňují pružnost a propustnost buněčných membrán a představují tak důležitou složku lidské výživy. Mastné kyseliny jsou také prekurzory **eikosanoidů** (Tarley et al. 2004), oxidačních produktů PUFA o 20 uhlících. Zmíněné oxidační produkty zahrnují prostaglandiny, tromboxany, leukotrieny a hydroperoxymastné kyseliny. Tyto látky mají důležité regulační role kardiovaskulárních, gastrointestinálních a renálních funkcí (Hammond & O'Donnell 2012), jejichž role závisí na kyselině, z níž jsou odvozeny. V případě eikosanoidů odvozených od n-6 PUFA, například arachidonové kyseliny, mají výsledné látky prozánětlivý a imunoaktivní charakter. Jestliže jsou však odvozeny od n-3 PUFA jedná se zpravidla o látky s protizánětlivými vlastnostmi, které působí inhibičně na tvorbu eikosanoidů odvozených od PUFA typu n-6. Zvýšeným přísunem n-3 MK EPA a DHA lze tedy snížit škodlivost n-6 eikosanoidů a zabránit rozvoji zánětlivých onemocnění (Wall et al. 2010). Ve srovnání s mořskými druhy je u sladkovodních obsah EPA a DHA významně nižší, oproti tomu však mají vysoké hladiny PUFA o 18 uhlících, mezi něž řadíme zmiňované esenciální kyseliny linolovou a α-linolenovou (Hunt et al. 2011). V tomto kontextu mohou být i navzdory nižší nutriční hodnotě například i komerčně dostupné sardinky konzervované v oleji dobrým zdrojem esenciálních MK (Tarley et al. 2004), oproti nemarinovaným typům bude však v mase

převládat obsah nasycených mastných kyselin v porovnání se stavem před marinováním a konzervací (Özden 2005). Ryby dále obsahují menší množství MUFA, **olejovou** (C18:1) a **palmitoolejovou kyselinu** (C16:1) (Šimat et al. 2020), jejichž obsah bývá vyšší u libových ryb. Ze spektra nasycených MK se v masu mořských druhů ryb vyskytuje kyselina palmitová (C16:0), stearová (C18:0) a v nižších koncentracích také laurová kyselina (C12:0) a myristová kyselina (C14:0) (Fernandes et al. 2014).

Zastoupení mastných kyselin je zpravidla ovlivněno pohlavím, stravou a prostředím v němž se organismus vyvíjel (Hunt et al. 2011), stejně jako druhem, velikostí a pohlavní zralostí (Šimat et al. 2020). Z hlediska druhu mořských ryb bývá obsah n-3 MK obecně vyšší u ryb obývajících hlubiny. Jedná se o ryby řadící se do skupiny tučných ryb, jako jsou sardinky, sleď či tuňák, u nichž jsou lipidy ukládány především do svaloviny. U ryb s nízkým obsahem tuku jsou lipidy ukládány především do jater (Wall et al. 2010). Z hlediska prostředí byla potvrzena významnost slanosti vody na zastoupení PUFA a poměr n-3/n-6, který bývá nižší u sladkovodních druhů (Hunt et al. 2011). Obsah MK a lipidů bývá také obecně nižší v obdobích tření a migrace, kdy jsou zásoby lipidů využívány k doplnění nadměrně vynaložené energie. Naopak nejvyšší obsah MK je v období intenzivního krmení ryb, jenž se odehrává v období letní sezóny (Šimat et al. 2020). Obsah PUFA je nejvyšší u ryb s nízkým obsahem tuku, přičemž spolu s nárůstem svalových lipidů klesá jejich procentuální podíl (Usydus et al. 2012).

Sacharidy

Sacharidy jsou makromolekulární látky složené z uhlíku, kyslíku a vodíku. Z nutričního hlediska je dělíme na sacharidy stravitelné a nestravitelné (EFSA 2017), přičemž souhrnně mohou být v souvislosti se složením potravin děleny na cukry a vlákninu (Crino et al. 2015). Nejvyšší obsah sacharidů lze nalézt v ovoci, obilninách a zelenině, oproti tomu je jejich obsah v masu z dietetického hlediska zanedbatelný (EFSA 2017). Přesto lze u různých druhů pelagických ryb naměřit přibližně 0,2 až 0,4 % rozpustných sacharidů v závislosti na studovaném druhu (Vlieg et al. 1993), tyto hodnoty jsou však z praktického hlediska považovány za nulové (Nurnadia et al. 2011). U obratlovců, včetně ryb, jsou stravitelné sacharidy hydrolyticky štěpeny v trávicím systému na látky o nižší molekulární hmotnosti a absorbovány střevy. V krevním řečišti jsou následně transportovány ve formě monosacharidů do jiných tkání prostřednictvím specifických přenašečů (Tseng & Hwang 2008).

Hlavním monosacharidem nacházejícím se v krevním řečišti je **glukóza**, která je za aerobních podmínek metabolizována v procesech glykolýzy, Krebsova cyklu, dýchacího řetězce a pentosafosfátové dráhy. V případě nadbytečného přísunu glukosy může být u živočichů ukládána ve formě glykogenu procesem glykogeneze, či přeměněna na lipidy procesem lipogeneze (Polakof et al. 2012). **Glykogen** je zásobní polysacharid živočišného původu a na základě lokalizace je dělen na jaterní, či svalový (Tseng & Hwang 2008). V případě vyčerpání organismu či době hladovění jsou hladiny krevní glukosy doplňovány procesem glykolýzy, tedy jejím uvolňováním ze zásobního glykogenu. Hlavním rozdílem mezi regulačními systémy savců a ryb jsou odlišné tolerance hypoglykemie, tedy nízké hladiny krevní glukosy, přičemž tolerance hypoglykemie u ryb je výrazně vyšší. To je připisováno poměrně vysokému obsahu endogenních sacharidů v mozku ryb, a tedy i nižší závislosti na exogenní glukose (Polakof et al 2012). **Laktát** je dalším energetickým substrátem nacházejícím se v centrálním nervovém systému a v myofibrilách živočichů (Tseng & Hwang 2008). Jedná se o monokarboxylovou kyselinu (Soengas & Aldegunde 2002) vznikající anaerobním metabolismem glukosy (Omlin & Weber 2010). Hromadění laktátu, či zvýšená hodnota glykolytického enzymu laktátdehydrogenasa, mohou být indikátory fyzického vyčerpání živočicha například v případě překonávání náhlých hloubkových rozdílů

(Drazen & Seibel 2007). Laktát se však zdá být u ryb využitelný, jakožto další zdroj energie při aklimatizaci na výrazně odlišnou salinitu prostředí (Tseng & Hwang 2008).

Mikronutrienty a kontaminující látky

K mikronutrientům v rybím mase řadíme minerální látky (Storebakken et al. 1998), vitaminy (Sandor et al. 2011) a stopové látky (Govind & Madhuri 2014). Obsah těchto látek v rybím mase závisí především na jejich dostupnosti z potravy, která je ovlivněna chemickou formou, koncentrací a interakcemi s jinými látkami. Známým příkladem interakce minerálních látek je například nedostatek fosforu vedoucí ke sníženému obsahu vápníku a hořčíku v organismu (Storebakken et al. 1998). Celkový obsah minerálních látek tvoří přibližně 1 až 2 % celkové hmotnosti ryby (Abraha et al. 2018). Co se týče složení vitaminů lze vzhledem k vysokému obsahu lipidů u tučných druhů ryb předpokládat vyšší obsah vitaminů rozpustných v tucích, tedy vitaminy A, D, E a K (Sandor et al. 2011), přičemž vitaminy celkově představují přibližně 0,1 % celkové hmotnosti (Abraha et al. 2018).

Minerální látky

Mořské ryby jsou spolehlivým zdrojem vápníku, fosforu, jodu, fluoru, železa, hořčíku, zinku (EFSA 2017), mědi a selenu (Sandor et al. 2011). **Vápník** je důležitou minerální látkou pro správnou funkci metabolismu, přičemž přibližně 99 % celkového obsahu vápníku v lidském těle je uloženo v kostech ve formě vápenatých solí (Khalili Tilami & Samples 2017) a zbývající 1 % se vyskytuje v zubech, krvi a dalších tkáních. Vápník je u ryb i u lidí také důležitým faktorem srážení krve, účastní se svalové kontrakce, nervových vzruchů a má vliv na udržení buněčné integrity, vnitřní homeostázy a aktivaci řady enzymů. Vzhledem k odlišnostem koncentrací vápníku ve vodním prostředí byly u ryb vyvinuty regulační systémy v podobě hyper- a hypokalcemických hormonů. S rovnováhou hladiny vápníku mají u ryb spojitost také hormony parathormon, kalcitonin, vitamin D a růstový hormon, podobně jako je tomu u lidí (Hossain & Yoshimatsu 2014). Využitelnost tohoto prvku z potravin je poměrně nízká a to přibližně 25 %, avšak vstřebatelnost vápníku pocházejícího z ryb se zdá být vyšší. Vodní organismy včetně ryb mají v porovnání se suchozemskými živočichy podstatně vyšší obsah vápníku, přičemž u suchozemských živočichů se koncentrace pohybují okolo 14 mg na 100 g a u ryb, měkkýšů a korýšů leží tyto hodnoty v rozmezí 26 až 68 mg na 100 g (Khalili Tilami & Sampels 2017). Rozdílností mezi rybami a suchozemskými živočichy je schopnost absorpce vápníku přímo z prostředí, čímž může být nahrazen případný deficit při nedostatečném přísunu vápníku ze stravy (Hossain & Yoshimatsu 2014). U lidí je deficit vápníku z potravy nahrazován uvolňováním vápníku z kostí, čímž z dlouhodobého hlediska narůstá riziko vzniku osteoporózy a riziko vzniku fraktury kostí (EFSA 2017). Dalším důležitým prvkem hrajícím roli v organismu lidí, ryb i dalších živočichů je **fosfor**. Tato látka se nachází ve velkém množství především v kostech, buněčných membránách, nukleových kyselinách a hraje zásadní roli v buněčném metabolismu (Khalili Tilami & Samples 2017). Při deficitu fosforu může docházet k poruchám mineralizace kostí (Sugiura et al. 2004), nervosvalové činnosti, k metabolickým poruchám a řadě dalších. U člověka se přibližně 80 % celkové dispozice fosforu nachází v kostech, necelých 11 % v orgánech a přibližně 9 % v tkáních kosterního svalstva. Obsah tohoto prvku je v porovnání se suchozemskými živočichy vyšší u ryb, měkkýšů a korýšů, kde obsah fosforu dosahuje hodnot okolo 217 mg na 100 g masa (Khalili Tilami & Samples 2017). Dalším prvkem, jehož hlavním zdrojem jsou mořské plody a ryby, je **jód**. Hlavním úložištěm jódu je štítná žláza (EFSA 2017), kde dochází k produkci hormonů trijodtyronin a tyroxin (Chung 2014). Prostřednictvím těchto hormonů se jód účastní energetického metabolismu a exprese genů. Trijodtyronin a tyroxin dále ovlivňují řadu fyziologických funkcí, například embryogenezi či vývoj nervového systému (EFSA 2017). Při nedostatku jódu ve stravě těhotných a dětí může docházet k neurologickým poruchám a poruchám duševního vývoje, přičemž extrémní nedostatek může vést až k mentální

retardaci dítěte (Chung 2014). U dospělých dochází již při mírném až středně závažném chronickém nedostatku jódu k hypertrofii štítné žlázy a zvětšení této žlázy zvaném struma (EFSA 2017). Naopak také příliš vysoký příjem tohoto prvku může vést k rozvoji autoimunitního onemocnění štítné žlázy (Chung 2014). Dalším dobrým zdrojem jódu mohou být vejce, mléko, mléčné produkty a jodizovaná sůl (EFSA 2017). **Fluor** je neesenciálním prvkem hojně se vyskytujícím ve vodním prostředí, mořských rybách, potravinách a nápojích rekonstituovaných fluoridovanou vodou či ve fluoridované soli (EFSA 2017). Fluor se obvykle v těchto zdrojích nachází v podobě fluoridů, tedy v podobě binárních sloučenin či solích fluoru. Tyto sloučeniny mohou být přírodního původu z minerálů a půd bohatých na fluor, či mohou pocházet z environmentálního znečištění. Ryby jsou citlivé na chemické změny prostředí a v případě vysokých koncentrací fluoridů může dojít k narušení hladin glukosy, glykogenu, proteinů, lipidů i cholesterolu, čímž dochází k narušení fyziologických a metabolických funkcí organismu s nepříznivým vlivem na růst a reprodukci (Singh & Tripathi 2015). Přestože nemá u lidí fluor významnou funkci, v růstu a vývoji organismu je tento prvek zakomponováván do hydroxyapatitu vyvíjející se zubní skloviny, čímž vzniká fluorohydroxyapatit. Tato výsledná látka je v porovnání s hydroxyapatitem odolnější vůči působení kyselin a chrání tak zuby před vznikem zubního kazu. Fluor je dále skladován v kostech, měkkých tkáních a zbytek je vylučován ledvinami a potem. U nedostatku fluoridu nebyly sledovány nepříznivé účinky, avšak v pokusech na zvířatech byla zjištěna snížená pevnost kostí v důsledku zpomalení mineralizace při vysokém příjmu fluoridů (EFSA 2017). **Železo** a **zinek** jsou esenciálními kovy (Gallego Ríos et al. 2017), které zajišťují řadu fyziologických funkcí u lidí i jiných živočichů. Oba prvky hrají důležitou roli ve vývoji a obranyschopnosti organismu (Karaaslan Ayhan & Yaman 2022), přičemž železo působí zásadní roli v distribuci kyslíku tkáněmi a zinek je důležitým kofaktorem mnoha enzymů. Většina železa vyskytujícího se v lidském organismu se nachází v hemoglobinu červených krvinek, svalovém myoglobinu, zásobní bílkovině feritinu a enzymech (EFSA 2017). V době vývoje se tento nutrient účastní tvorby buněk, zejména červených krvinek (Putri et al. 2020). Následkem nedostatečného přísunu železa ze stravy je vznik anémie, tedy chudokrevnosti. Jedná se o nejčastější poruchu jejíž příčina je malnutrice, avšak nedostatek železa ohrožuje také osoby se zvýšenou potřebou tohoto prvku, k nimž řadíme kojence, děti, ženy či osoby s vysokými ztrátami krve a zhoršenou absorpcí železa (EFSA 2017). Zinek je nezbytný zejména při buněčné replikaci a modulaci imunitní odpovědi (Salgueiro et al. 2002). Většina zinku je v organismu uložena ve svalech a kostech, přičemž zbytek je transportován krevním albuminem (EFSA 2017). Nedostatek zinku může být způsoben sníženým příjmem z potravy, vysokým příjmem antinutričně působících rostlinných fytátů či konzumací potravin s nízkou biologickou dostupností. To může vést zejména k oslabení imunitního systému a omezení normálního růstu a vývoje u dětí (Salgueiro et al. 2002). Biologická dostupnost železa a zinku z ryb se zdá být značně vyšší než z rostlinných zdrojů, proto jsou ryby a rybí produkty doporučovány jako kvalitní zdroj těchto prvků (Karaaslan Ayhan & Yaman 2022). Při příjmu vysokých koncentrací železa a zinku se však stávají toxickými pro organismus. Současně se jedná o prvky jejichž zvýšený výskyt v prostředí souvisí také s environmentálním znečištěním. Dalším esenciálním mikronutrientem, avšak rizikovým ve vysokých dávkách, je **měď** (Gallego Ríos et al. 2017). Tento prvek se účastní funkce řady enzymů, včetně enzymů energetického metabolismu, syntézy neurotransmiterů a zesíťovaní kolagenu a elastinu. Vstřebávání zajišťuje specifický nosný protein, načež navazuje transport prostřednictvím chaperonového proteinu přenášejícího měď, díky němuž je tento prvek transformován do netoxické formy. Klinické příznaky nedostatku mědi nejsou zcela obvyklou záležitostí, přesto lze sledovat vznik anémie nereagující na suplementaci železem, neurologické poruchy a změny barvy a struktury vlasů a kůže (EFSA 2017). Při nadbytku tohoto prvku může docházet ke vzniku gastrointestinálních potíží až k poškození či selhání jater a ledvin

(Govind & Madhuri 2014). Měď se nejčastěji vyskytuje v obilovinách, masu a masných výrobcích (EFSA 2017). Ryby a mořské plody jsou dobrým zdrojem **selenu**, polokovu s vysokou biologickou dostupností. Selen je jedním z esenciálních mikronutrientů pro zvěř i člověka (Khalili Tilami & Sampels 2017), ve vysokých dávkách však může podobně jako u železa, mědi a zinku (Sandor et al. 2011) docházet k toxickým účinkům (Govind & Madhuri 2014, Khalili Tilami & Sampels 2017). U lidí se selen vyskytuje v pětadvaceti selenoproteinech a je důležitým kofaktorem mnoha enzymů, například antioxidačně působící glutathionperoxidázy či enzymů dejodáz účastnících se funkce hormonů štítné žlázy. Byl také prokázán inhibiční účinek na toxicitu methylrtuti (Khalili Tilami & Sampels 2017) a další antioxidační či metabolické funkce (EFSA 2017). Nízké hladiny selenu mohou mít nežádoucí účinky na cílový organismus, jenž jsou spojovány s infarktem myokardu, chorobami jater a zvýšeným rizikem vzniku rakoviny (Khalili Tilami & Sampels 2017). Vysoký přísun selenu je rizikovým z hlediska hrozby poškození nervového systému a poruch gastrointestinálního traktu (Govind & Madhuri 2014). Přestože je obsah selenu v mořských plodech a rybách převážně příznivý, jsou jeho koncentrace spolu s koncentracemi rtuti sledovány jako významné indikátory bezpečnosti potravin (Khalili Tilami & Sampels 2017). Celkový obsah minerálních látek ve vybraných mořských pelagických rybách je znázorněn v **tabulce 3**.

Tabulka 3: Průměrný obsah minerálních látek v masu sardinky malabarské *Sardinella fimbriata*, sardinky elopsovité *Dussumieria elopsoides* a scadu torpédovitého *Megalaspis cordyla* (Nordhagen et al. 2020)

Prvek	***Sardinella fimbriata***	***Dussumieria elopsoides***	***Megalaspis cordyla***
Vápník (mg/100 g)	527 ± 146	303 ± 67	670 ± 549
Sodík (mg/100 g)	79 ± 5	74 ± 10	70 ± 17
Draslík (mg/100 g)	486 ± 16	506 ± 28	417 ± 21
Hořčík (mg/100 g)	43 ± 2	45 ± 3	37 ± 8
Fosfor (mg/100 g)	561 ± 67	449 ± 41	580 ± 282
Jód (µg/100 g)	38,6 ± 22,4	14,7 ± 2,8	41,7 ± 16,3
Selen (µg/100 g)	110 ± 10	76 ± 8,4	63 ± 0,0
Zinek (mg/100 g)	1,9 ± 0,2	1,5 ± 0,1	0,1 ± 0,3
Železo (mg/100 g)	2,2 ± 0,3	1,0 ± 0,1	2,4 ± 0,1

Vitaminy

Vitaminy dělíme do dvou skupin, a to na vitaminy rozpustné v tucích, tedy A, D, E a K a vitaminy rozpustné ve vodě, kam řadíme vitaminy skupiny B a vitamin C. Maso ryb je dobrým zdrojem vitaminů rozpustných v tucích, zejména jedná-li se o druhy s vysokým obsahem lipidů. Z této skupiny vitaminů se jedná především a vitamin A a D, přičemž vitaminy E a K se u ryb vyskytují pouze v menším množství (Sandor et al. 2011). V tucích rozpustný **vitamin A**, neboli retinol, je významným faktorem řady fyziologických procesů, k nimž řadíme správnou funkci zraku, embryogenezi či růst a diferenciaci buněk epitelu (Hernandez & Hardy 2020). V případě rostlinných zdrojů se jedná o provitamin A, prekursor retinolu obsažený v karotenoidech (EFSA 2017). Z hlediska funkce zraku je retinol zodpovědný za tvorbu a regeneraci zrakového pigmentu rodopsinu, u ryb je dominantním pigmentem pofyropsin. Rozdílnost u těchto pigmentů tvoří odlišná citlivost k vlnovým délkám, kde pofyropsin vykazuje vyšší citlivost na delší vlnové délky v oblasti žlutočervené barvy, přičemž u rodopsinu je nejvyšší citlivost k vlnovým délkám o barvě modrozelené. Dále je u ryb i suchozemských živočichů významná role tohoto vitaminu v pohlavním dospívání a reprodukci, avšak příliš vysoké koncentrace vitaminu A či jeho derivátů retinoidů mohou vést k teratogenním účinkům. Dalšími účinky při hypervitaminóze mohou být snížení růstu,

vznik kožních lézí, poruchy tvorby kostí, křehkost a zvětšení jater a sleziny či nekrózy ploutví. Hypovitaminóza, tedy příliš nízký obsah vitaminu A, má u ryb za následek poruchy zraku, degeneraci sítnice, omezení růstu, depigmentaci těla, anémii a atrofii ledvin (Hernandez & Hardy 2020). **Vitamin D** se v přírodě vyskytuje ve dvou formách, tedy ve formě ergokalciferolu (D_2) a cholekalciferolu (D_3). Forma vyskytující se v rybím mase je cholekalciferol, současně se jedná také o formu, jež je syntetizována pokožkou většiny savců v důsledku expozice pokožky slunečnímu UV záření (Khalili Tilami & Sampels 2017). Ryby vitamin D nesyntetizují a jsou plně závislé na přijmu tohoto vitaminu z potravy (Lock et al. 2010). Průměrný celkový obsah vitaminu D se pohybuje v rozmezí 0,5 až 30 µg na 100 g rybího masa (Khalili Tilami & Sampels 2017) a je ukládán do jater a tukových tkání, včetně těch ve svalové hmotě (Lock et al. 2010). Tento vitamin je významným regulátorem endokrinního systému s vlivem na transport vápníku a fosfátu. V této souvislosti je deficit vitaminu D spojen s onemocněním zvaném křivice neboli *rachitis*, kdy při výrazném deficitu tohoto vitaminu v době vývoje dochází k charakteristickému zkřivení kostí. Dále je spojen s buněčnou proliferací, díky čemu je zkoumán v oblasti prevence rakoviny (Lock et al. 2010).

Ryby obsahují také množství vodorozpustných vitaminů skupiny B, převážně B_{12} (Khalili Tilami & Sampels 2017). **Vitamin B_{12}**, neboli kobalamin, je syntetizován některými druhy bakterií a archeí, k čemuž dochází převážně u přežvýkavců a fytoplanktonu, potravy ryb v larválním stadiu, prostřednictvím symbiotického vztahu s příslušnými bakteriemi. Kobalamin je akumulován v živočišných tkáních, což činí maso a mléko přežvýkavců a maso ryb dobrým zdrojem tohoto vitaminu, přičemž vnitřnosti mohou obsahovat až trojnásobek obsahu kobalaminu ve svalové tkáni (Watanabe & Bito 2018). Kobalamin se vyskytuje v různých podobách, například ve formě kyanokobalaminu, methylkobalaminu, deoxyadenosylkobalaminu či hydroxykobalaminu. První typ kobalaminu však není považován za přirozeně se vyskytující a nachází se téměř výhradně v doplňcích stravy. Vitamin B_{12} je důležitým kofaktorem enzymů účastnících se syntézy purinů a pyrimidinů. Deriváty těchto sloučenin, puriny a pyrimidiny, jsou součástí molekul nukleové kyseliny, a tedy i součástí DNA (Rego et al. 2022). Výrazný nedostatek tohoto vitaminu tedy může vést k zásadním poruchám buněčného metabolismu a DNA, výrazným neurologickým poruchám a riziku kardiomyopatie, tedy onemocnění srdce. Mírný deficit je však poměrně běžnou záležitostí s širokým spektrem příznaků, k nimž řadíme anémii či mírné neurologické poruchy (Hunt et al. 2014). Průměrný obsah vitaminů u některých druhů pelagických ryb je znázorněn v **tabulce 4**.

Tabulka 4: Průměrný obsah vitaminů v masu sardinky malabarské *Sardinella fimbriata*, sardinky elopsovité *Dussumieria elopsoides* a scadu torpédovitého *Megalaspis cordyla* (Nordhagen et al. 2020)

Druh	Vit. A_1	Vit. A_2	Vit. D	Vit. B_{12}
	µg/100 g	µg/100 g	µg/100 g	µg/100 g
Sardinella fimbriata	12,4 ± 3,0	8,4 ± 2,9	3,8 ± 1,1	9,9 ± 4,9
Dussumieria elopsoides	9,3 ± 5,7	1,5 ± 0,4	3,6 ± 1,5	8,1 ± 1,1
Megalaspis cordyla	11,7 ± 4,0	0,7 ± 0,2	2,3 ± 0,6	15 ± 2,1

Kontaminující látky

Maso ryb i dalších živočichů může obsahovat řadu stopových látek, jako jsou těžké kovy, organochlorové kontaminanty či rezidua antibiotik (Sandor et al. 2011). **Těžké kovy** definujeme jako kovy s relativně vysokou hustotou a negativním účinkem na organismus při příjmu nadměrného množství. Některé z těchto látek by mohly být v nízkých koncentracích považovány za nezbytné pro správnou funkci některých biochemických procesů, v případě bioakumulace vysokých koncentrací však zvyšují riziko intoxikace organismu a nežádoucích

vedlejších účinků (Govind & Madhuri 2014, Sandor et al. 2011). K esenciálním těžkým kovům řadíme například měď, zinek, chrom, molybden a selen (Sandor et al. 2011). Současně se jedná o prvky, které můžeme z hlediska výživy zařadit k minerálním látkám (EFSA 2017). Za nejvíce toxické neesenciální těžké kovy, jakožto polutanty vodního prostředí, považujeme **rtuť, arsen, kadmium, olovo** (Gallego Ríos et al. 2017) a v menší míře i **cín** (Govind & Madhuri 2014). Z hlediska bezpečnosti konzumace rybího masa byly stanoveny doporučené limity pro obsah těchto prvků v mase. Pro cín je tato hodnota stanovena na 250 mg/kg, zinek na 50 mg/kg, měď na 30 mg/kg, rtuť na 1,0 mg/kg, kadmium na 0,5 mg/kg a olovo na 0,5 mg/kg (Mol 2011). Tyto látky jsou obvykle vstřebávány dýchacím a trávicím systémem a povrchem těla (Afshan et al. 2014). Vzhledem k způsobu života vodních živočichů mohou být vodní organismy významným zdrojem těžkých kovů v potravě člověka, ale i dalších živočichů (Govind & Madhuri 2014). Tyto toxické látky však mohou pocházet nejen z environmentálního znečištění, ale i z přírodních zdrojů (Daryoush & Ismail 2012).

Negativní dopad na živočichy je zprostředkován pomocí mutageneze a metabolické interference s důsledkem nižší tělesné zdatnosti, narušením reprodukčního cyklu a v krajním případě i smrtí (Govind & Madhuri 2014). Při studiu citlivosti toxicity byla zjištěna nízká citlivost zárodků v embryonální fázi, larvální fáze byla označena za nejcitlivější. Nízká citlivost embryí je zde připisována absorpci těžkých kovů a chemikálií chorionem, avšak některé kovy jako měď, mohou vykazovat srovnatelnou vstřebatelnost ve fázi embryonální i larvální (Yamaguchi 2016). Toxicita kovů může být ovlivněna mnoha faktory, mezi něž patří například teplota a pH vody, její salinita i tvrdost (Zeitoun & Mehana 2014). V případě teploty vody se jedná o jev závislý především na druhu studované ryby. Faktor potenciálu vodíku, tedy pH vody, nabývá obvykle neutrálních hodnot (Yamaguchi 2016). Při změnách pH vody však může docházet k chemickým reakcím s okolními látkami, kde se těžké kovy vyskytují v podobě volných iontů, komplexů, koloidů a částic absorbovaných na povrchu suspendovaných částic, a tak i ke změnám úrovní toxicity sledovaných prvků (Namieśnik & Rabajczyk 2010, Yamaguchi 2016). Mezi citlivé prvky na pH vody řadíme například zinek (Namieśnik & Rabajczyk 2010). Dalším obecně známým úkazem je vliv tvrdosti vody na toxicitu prvků, kde rostoucí koncentrace vápenatých a hořečnatých iontů nabývají funkce antagonistické vůči toxicitě většiny rizikových prvků, a to včetně kadmia, mědi, zinku či niklu (Yamaguchi 2016). Dále zmiňovaný vztah mezi salinitou a toxicitou prvků u ryb není dostatečně prozkoumán, avšak předpokládá se snížení toxicity prvků současně s rostoucí salinitou (Fritioff et al. 2005). Tento antagonistický efekt je připisován reakci chloridu sodného a dihydrogenfosforečnanu sodného s těmito prvky či jejich komplexy (Yamaguchi 2016).

Dalšími polutanty vodního prostředí jsou látky uvolňované antropogenní činností. Těmito látkami jsou například léky, perzistentní organochlorové polutanty a další. Přítomnost těchto polutantů je však závislá na geografické poloze, velikosti a druhu dané ryby, rozpustnosti chemikálie a její perzistenci v životním prostředí (Sandor et al. 2011). Obvyklými **perzistentními organochlorovými polutanty** jsou polychlorované bifenyly, dioxiny a furany. Tyto látky pochází převážně z procesů spalování a jsou spojovány s některými průmyslovými areály a spalovnami odpadů. Ze zdravotního hlediska představují významné riziko s efektem na reprodukční funkce, centrální nervový systém a s ohledem na schopnosti působení na buněčné úrovni zvyšují také riziko vzniku rakoviny a genetických mutací (Piskorska-Pliszczynska et al. 2012). Dalším významným polutantem vodního prostředí jsou **rezidua léčiv**, zejména antibiotik, která jsou rizikovým faktorem rozvoje antibiotické rezistence, a tedy i vzrůstajícího počtu rezistentních bakterií. Z hlediska bezpečnosti potravin však byla příslušnými orgány stanovena maximální přípustná množství sledovaných atributů (Sandor et al. 2011).

3.2 Tepelná úprava

Rybí maso rychle podléhá kažení v důsledku řady enzymatických a bakteriálních procesů, čímž je znehodnoceno. Z tohoto důvodu jsou využívány různé technologické procesy, jejichž cílem je zvýšení údržnosti a zpracování produktu do podoby atraktivní pro konzumenta (Abraha et al. 2018). Klíčovým procesem technologické úpravy masa a masných produktů je tepelná úprava. Jedná se o komplex fyzikálních a chemických procesů zajišťujících inaktivaci či destrukci vegetativních forem mikroorganismů, čímž dochází k požadovanému snížení zdravotního rizika a zvýšení údržnosti potravin (Vinnikova et al. 2019). Změny bílkovin, vyvolané fyzikálními a chemickými vlivy, jsou způsobeny zejména teplotou a časem ohřevu (Luo et al. 2018). Tepelnou úpravou dochází ke změnám stravitelnosti, organoleptických vlastností (Semedo Tavares et al. 2018b), změnám nutričního složení (Abraha et al. 2018), ale také k umožnění fixace tvaru a struktury požadovaného výrobku (Vinnikova et al. 2019). Vliv tepelné úpravy na chemickou kompozici je známým jevem u všech typů masa, včetně masa sladkovodních a mořských ryb (Ljubica et al. 2002).

3.2.1 Fyzikální a chemické změny masa

Biochemické vlastnosti masa ektotermních organismů mají odlišné chování v porovnání se suchozemskými živočichy, například jsou náchylnější k denaturaci při vyšších teplotách (Kristinsson & Rasco 2000). Denaturace proteinu je proces, při kterém dochází k narušení prostorové konformace vlivem narušení vodíkových a dalších nekovalentních vazeb (Semedo Tavares et al. 2018b), což se projevuje jako charakteristické smrštění svalových vláken (Abraha et al. 2018). Denaturace sarkoplazmatických proteinů má vliv na kvalitativní parametry masa jako je barva, zadržování vody a konzistence (Marcos et al. 2010), přičemž denaturace je intenzivnější spolu s rostoucí teplotou dané úpravy (Abraha et al. 2018). Jedním ze sarkoplazmatických proteinů podléhajících denaturaci je myoglobin. Globin vlivem tepelně indukované denaturace odhaluje hemovou skupinu, čímž je zvýšena náchylnost hemu k oxidaci. Vlivem tohoto procesu může být koagulace pigmentů a změna původního zbarvení masa. Konkrétní zbarvení masa však závisí na redoxním stavu obsaženého myoglobinu, přičemž při denaturaci methmyoglobinu dochází k matně hnědému zbarvení, v případě karboxymyoglobinu je toto zbarvení růžovo-červené (Suman & Joseph 2013). Vlivem tepelné úpravy dochází k odhalení reaktivních skupin molekul proteinů či komplexů, což umožňuje řadu chemických reakcí (Abraha et al. 2018). Tepelnou úpravou dochází k degradaci proteinů na volné aminokyseliny, a tedy ke změnám hladiny volných skupin aminokyselin -NH_2. Odlišnosti v hladinách -NH_2 jsou důsledkem různých intenzit tepelného zpracování, přičemž ve studii jejíž autorem je Semedo Tavares et al. (2018b) byly hladiny -NH_2 po vaření a pečení oproti syrovému vzorku významně sníženy a oproti tomu u smažení došlo k jejich nárůstu. U vaření, kde jsou ztráty volných -NH_2 skupin vysvětleny solubilizací proteinů a naředěním volných aminokyselin ve vodě, byl tento rozdíl nejvýznamnější (Ismail & Hainida Khairul Ikram 2004, Semedo Tavares et al. 2018b). Nárůst volných aminoskupin u smaženého masa je autory vysvětlován dosažením vysokých teplot vedoucích k intenzivní hydrolýze rozpustných proteinů (Semedo Tavares et al. 2018b). Oxidace proteinů vedoucí například k tvorbě disulfidových vazeb (Luo et al 2018) může být sledována v souvislosti s obsahem -SH skupin proteinu, přičemž ztráta oproti tepelně neopracovanému vzorku je připisována agregaci proteinů. Se změnami na molekulární úrovni souvisí tepelná oxidace proteinů, kdy může docházet například k tvorbě karbonylových sloučenin vlivem oxidace bazických aminokyselin. Tím je umožněna reakce s volnými -NH_2 skupinami aminokyselin a následné zesíťování proteinů. Zvýšení obsahu těchto sloučenin zřejmě souvisí také se zvýšenou oxidací lipidů, jež má skrze působení volných radikálů a hydroperoxidů významně podpůrný vliv na karbonylaci proteinů (Semedo Tavares et al. 2018b). Takzvané síťovací reakce proteinu zahrnují interakci mezi jednotlivými proteiny,

případně se může při dosažení dostatečných teplot jednat o interakce mezi proteiny a tuky (Abraha et al. 2018). Zesíťování proteinů může být podpořeno také tvorbou disulfidových vazeb vlivem oxidace sirných aminokyselin cysteinu a methioninu (Luo et al. 2018). Jakékoliv modifikace struktury bílkovin mohou vést k omezení přístupnosti proteinu trávicím enzymům a tedy i změnám stravitelnosti bílkovin (Bhat et al. 2021, Semedo Tavares et al. 2018b), přičemž teploty nad 100 °C jsou k těmto změnám již dostačující (Bhat et al. 2021).

Důležitými vedlejšími produkty tepelného záhřevu jsou produkty Maillardovy reakce. Jedná se o zcela spontánní neenzymatickou reakci, která je nazývána také jako neenzymatické hnědnutí. Tvorba těchto produktů souvisí zejména se způsobem tepelné úpravy, časem, teplotou a složením surovin jež jsou předmětem tepelného záhřevu. Maillardovy reakční produkty zahrnují aromatické a barevné sloučeniny, melanoidy a produkty pokročilé glykace, přičemž tyto látky v některých potravinách zodpovídají za organoleptické vlastnosti a pokles nutriční hodnoty produktu (Semedo Tavares et al. 2018a). Produkty tohoto procesu mohou mít jak škodlivé, tak příznivé působení jako jsou antioxidační a protizánětlivé účinky některých melanoidů. Z tohoto důvodu nelze produkty Maillardovy reakce zcela komplexně hodnotit a k potlačení případných negativních vlivů těchto produktů je doporučováno zachování vyvážené a pestré stravy (Delgado-Andrade 2014).

3.2.2 Vaření, pečení a smažení

Ryby jsou ve většině případů konzumovány ve formě pokrmů zahrnujících tepelnou úpravu v rozmezí teplot od 60 do 200 °C, kam řadíme vaření, pečení, smažení a uzení (Domiszewski 2012). Odlišnosti ve fyzikálních, chemických a nutričních vlastnostech jsou způsobeny odlišnými podmínkami tepelné úpravy, lze tedy předpokládat rozdíly mezi stravitelností a kvalitou vařeného, pečeného i smaženého masa. Maso ryb je možno také konzervovat sušením, solením či mražením (Abraha et al. 2018). Způsoby vaření se obecně dělí na tepelnou úpravu vlivem tepla suchého, vlhkého či kombinovaného. Za úpravu vlivem suchého tepla považujeme využití horkého vzduchu či tuku. Vlhké teplo zahrnuje úpravu vlivem tekutiny, většinou vody či vývaru. Kombinovaná forma je dušení, kdy dochází k ohřevu vlivem horké vodní páry (Moradi et al. 2011).

Vaření je fyzikální proces (Semedo Tavares et al. 2018b) využívající vlhkého tepla (Moradi et al. 2011). Obvykle jsou využívány teploty okolo 100 °C, jedná se tedy o poměrně mírnou tepelnou úpravu. Tento proces vede k denaturaci a koagulaci ve vodě rozpustných sarkoplazmatických (Semedo Tavares et al. 2018, Suman & Joseph 2013) a nerozpustných myofibrilárních proteinů. Vaření se však podílí na solubilizaci proteinů, tedy rozpouštění ve vodě, čímž dochází ke ztrátám nutrientů včetně bílkovin v porovnání s původním vzorkem (Semedo Tavares et al. 2018b). V případě specifických pokrmů, například polévek, však dochází také ke konzumaci vyluhovaných proteinů a významné ztráty proteinů v konečném důsledku nenastávají (Ismail & Hainida Khairul Ikram 2004). Vlhkého tepla využívá také **dušení**, což je téměř totožný způsob tepelné úpravy, avšak množství vody, ve kterém je pokrm upravován, je menší (Bhat et al. 2021). **Pečení** je způsob tepelné úpravy využívající suchého způsobu vedení tepla (Moradi et al. 2011) za využití horkého vzduchu o teplotě okolo 200 °C (Semedo Tavares et al. 2018b). Dle Luo et al. (2018) dochází vlivem pečení v troubě po dobu 10 minut ke snížení celkového počtu peptidů, což zapříčiňuje zvýšení stravitelnosti bílkovin takto zpracovaného masa. Důsledkem tepelné úpravy pečením je také ztráta vody a s tím související zvýšení obsahu bílkovin, tuku a popela. Tepelná úprava využívající suchého vedení tepla je dále **smažení**, kdy je využíváno vrstvy tuku (Moradi et al. 2011) dosahujícího teplot okolo 150 °C (Semedo Tavares et al. 2018b). Rozdíly mohou nastat také v rámci rozdílů mezi způsobem smažení na pánvi a takzvaném fritování. V prvním případě dochází k tepelné úpravě probíhající na tenké vrstvě tuku pouze

na jedné straně potraviny v danou chvíli, oproti tomu druhý způsob umožňuje ponořením do tuku rovnoměrné zahřátí potraviny ze všech stran, a tedy i k rychlejšímu dosažení požadovaného výsledku (Moradi et al. 2011). Při smažení rybího masa však dochází zejména ke ztrátám EPA, DHA, tedy n-3 mastných kyselin (Abraha et al. 2018) při současném zvýšení hladin celkového obsahu mastných kyselin v důsledku absorpce tuku na smažení (Moradi et al. 2011). Smažení a pečení jsou také pravděpodobně způsoby tepelného opracování, u nichž dochází k nejvyšším nárůstům produktů Maillardovy reakce (Semedo Tavares et al. 2018a).

In vitro stravitelnost byla při testech vlivů vaření, pečení a smažení autory Semedo Tavares et al. (2018b) zlepšena u všech typů tepelné úpravy, přičemž vaření se zdá být nejúčinnějším v podpoře stravitelnosti. Oproti tomu lze podle autorů považovat smažení za nejméně účinnou metodu, přesto však došlo ke zlepšení stravitelnosti oproti tepelně neopracovanému vzorku (Semedo Tavares et al. 2018b). Vysoké teploty tepelné úpravy způsobují také ztráty vitaminů, minerálních látek i některých esenciálních aminokyselin (Abraha et al. 2018). S vlivem tepelné úpravy souvisí tedy jak kvalita a bezpečnost potravin, tak i změny či ztráty nutrientů a organoleptických vlastností (Vinnikova et al. 2019). Přestože může mít tepelná úprava vliv na chemické složení, jsou ryby stále považovány za kvalitní zdroj nutričně významných látek (Ljubica et al. 2002).

3.2.3 Stravitelnost bílkovin

Stravitelnost je zásadním faktorem pro hodnocení kvality bílkovin vypovídajícím o dostupnosti aminokyselin daného proteinu (Semedo Tavares et al. 2018b), přičemž kvalita je ovlivněna plnohodnotností bílkovin, a tedy zastoupením esenciálních aminokyselin v proteinu (Bessada et al. 2019). Důležitým faktorem ovlivňujícím stravitelnost bílkovin je nejen způsob tepelné úpravy, ale také typ a původ masa (Luo et al. 2018). K potravinám řadícím se k nejvyšším hodnotám stravitelnosti řadíme mléko a vejce o přibližně 97% stravitelnosti, maso hospodářských zvířat, ryby a drůbež (Tomé 2021).

Stravitelnost závisí zejména na prostorovém uspořádání proteinu a možnosti hydrolýzy peptidových vazeb, přičemž stravitelnost je tím vyšší, čím snadněji podléhají vazby hydrolýze. Sarkoplazmatické proteiny jsou v porovnání s myofibrilárními proteiny jako je kolagen, keratin a elastin snadněji stravitelné, což je způsobeno rozpustností sarkoplazmazických proteinů ve vodě a relativní nerozpustností proteinů myofibrilárních (Tomé 2021). S prostorovým uspořádáním souvisí také koagulace proteinů, jejíž důsledkem je snížení biologické dostupnosti a kvality bílkovin zpracovaného masa. Ke koagulaci proteinů dochází tepelně indukovanou tvorbou mezimolekulárních příčných vazeb, což vede ke zvýšení hydrofobnosti proteinu a snížení schopnosti trávicích enzymů tyto proteiny štěpit (Luo et al. 2018, Promeyrat et al. 2010). Tepelná indukce může vést také k rozrušení příčných peptidových vazeb a zlepšení stravitelnosti, avšak působením příliš vysokých teplot dochází k zvýšení odolnosti peptidových vazeb vůči hydrolýze a snížení stravitelnosti. Stravitelnost však mohou ovlivňovat další faktory, včetně konzumace inhibitorů trávicích enzymů v potravě, čímž dochází ke zhoršení stravitelnosti zkonzumovaných bílkovin. V tomto případě však může být stravitelnost zlepšena zahřátím a inaktivací těchto inhibitorů (Tomé 2021). Stravitelnost může být ovlivněna také postupy předcházejícími tepelné úpravě, jako jsou změny pH vlivem zrání masa či marinování. V tomto ohledu se zdá být zvýšení pH účinným faktorem podporujícím stravitelnost proteinu, avšak snížením pH bývá dosaženo opačného účinku. K tomu dochází pravděpodobně z důvodu tvorby příčných vazeb, která je snížením pH podpořena. Ve specifických případech může v důsledku snížené stravitelnosti docházet ke zdravotním komplikacím v podobě imunitních reakcí na nestrávené peptidy či zvýšení rizika vzniku kolorektálního karcinomu vlivem fermentace nestrávených proteinových fragmentů v tlustém střevě (Luo et al. 2018).

Zásadní myšlenkou pro stanovení stravitelnosti proteinů je měřitelnost mezi příjmem a ztrátami aminokyselin v důsledku jejich trávení a vstřebávání. K hodnocení může být využito mnoho metodologií, například stanovení skóre aminokyselin (AAS), dusíkové bilance (NB), *in vitro* a *in vivo* stravitelnosti, poměru účinnosti proteinů (Bessada et al. 2019), aminokyselinové skóre korigované stravitelností proteinu (PDCAAS) a nověji vyvinuté skóre stravitelných nepostradatelných aminokyselin (DIAAS) (Wolfe et al. 2016). Poslední dvě metody upravují chemické skóre limitující aminokyseliny stravitelností proteinu či limitující aminokyseliny (Tomé 2021). Stravitelnost bílkovin bývá dělena na ileální a fekální. V případě ileální stravitelnosti uvažujeme pouze o rovnováze aminokyselin v úseku od úst po terminální ileum, tedy úsek tenkého střeva přecházejícího do střeva tlustého. Hodnocení fekální stravitelnosti však hodnotí rovnováhu aminokyselin při průchodu celým trávicím traktem (Bessada et al. 2019). Pro správnou korekci PDCAAS a DIAAS je doporučováno využití spíše ileální stravitelnosti než fekální. Pro přímé stanovení je vyžadován odběr ileální tráveniny, což vyžaduje testování na živém modelu (Tomé 2021).

Statické metody hodnocení stravitelnosti

Byla navržena řada metod pro hodnocení *in vitro* stravitelnosti, přičemž statické metody řadíme k méně komplikovaným (Alegría et al. 2015) z hlediska náročnosti, potřeby specifického laboratorního vybavení i finančních nákladů (Bohn et al. 2017).

Metody hodnocení stravitelnosti *in vitro* jsou založeny na simulaci podmínek trávicího traktu při postupu tráveniny tak, aby odpovídaly podmínkám orální, gastrické a intestinální fáze trávení (Alegría et al. 2015). Během těchto 3 fází jsou u statických metod udržovány konstantní experimentální podmínky, čehož je docíleno podáním simulované slinné, žaludeční a střevní šťávy a použitím enzymů s experimentálně zjištěnou aktivitou (Brodkorb et al. 2019). Podmínky statických metod je nutno přizpůsobit studované složce či vzorku potraviny, přičemž volba enzymů přímo závisí na cíli konkrétního experimentu. V případě zaměření na jednotlivé nutrienty lze využít samostatných purifikovaných enzymů, čímž je umožněno výrazné zjednodušení standardizace *in vitro* modelu stravitelnosti. Důležitými parametry pro dosažení požadovaných podmínek jsou dále hodnoty pH, koncentrace enzymů a chemikálií, zachování požadovaných hodnot teploty a mnoho dalších (Alegría et al. 2015). Existují však rozdíly v parametrech mezi jednotlivými protokoly *in vitro* trávení, které komplikují porovnání výsledků jednotlivých studií (Bohn et al. 2017).

Statické *in vitro* metody hodnocení stravitelnosti nezohledňují dynamiku trávicího systému a jsou tak vhodnější pro hodnocení trávení jednoduchých potravin či čistých sloučenin (Alegría et al. 2015, Bohn et al. 2017). V praxi jsou statické modely využívány pro hodnocení vlivu struktury, složení či způsobu zpracování potravin na stravitelnost a biologickou dostupnost živin a biologicky aktivních látek. Výhodou oproti dynamickým metodám je snazší reprodukovatelnost z hlediska lepší kontroly experimentálních podmínek (Alegría et al. 2015).

Dynamické metody hodnocení stravitelnosti

Při hodnocení stravitelnosti pomocí dynamických modelů je umožněna regulace toku potravy, pH a regulace injekčního podání trávicích enzymů v reálném čase (Dupont et al. 2018). Tyto metody hodnocení stravitelnosti svou komplexností z hlediska zohlednění dynamické části trávicího systému téměř odpovídají podmínkám *in vivo* trávení, přičemž dynamiku trávicího systému představuje zejména geometrie, motilita a biochemické procesy gastrointestinálního traktu (Thuenemann 2015).

V praxi jsou dynamické modely využívány například farmaceutickými společnostmi pro získání podrobností o osudu léčiva v organismu (Chessa et al. 2014) či pro získání informací o vlivu trávení na funkční potraviny, probiotika a další (Wickham et al. 2012).

4 Materiál a metody

4.1 Materiál

Byly analyzovány 2 druhy různě kulinárně upravených ryb, sardinky a šproty, každý ve třech opakováních pro každou tepelnou úpravu. Tyto vzorky byly zakoupeny v polské tržní síti. V případě sardinek byla zemí původu Itálie, u šprotů Polsko.

Ultračistá voda, α-amyláza z prasečí slinivky břišní (Sigma Aldrich), prasečí pepsin (Sigma Aldrich), prasečí žluč, prasečí pankreatin (Sigma Aldrich), dihydrát chloridu vápenatého (VWR), hydroxid sodný p.a. (Lachner), kyselina chlorovodíková (VWR), chlorid draselný (Sigma Aldrich), dihydrogenfosforečnan draselný p.a. (Lachner), hydrogenuhličitan sodný p.a. (Lachner), chlorid sodný p.a. (Lachner), hexahydrát chloridu hořečnatého (VWR), uhličitan amonný (Sigma Aldrich).

Z přístrojového vybavení byl použit lyofilizátor (Coolsafe; Scanvac), mlýnek (Retsch), centrifuga (Schoeller), analytické váhy (AE 200; METTLER), CO_2 inkubátor (Schoeller), pH metr WTW Series (indoLab), sušárna (memmert; VERKON), rotační třepačka a běžné laboratorní sklo.

4.2 Metody

4.2.1 Příprava vzorků

Vzorky byly nejprve kulinárně upraveny vařením, spařením, pečením a smažením, přičemž 1 vzorek od každého druhu ryb zůstal tepelně neopracován. Pro vaření byly vzorky vloženy do vroucí neosolené vody a vařeny po dobu 10 minut. Vzorky, určené k dušení, byly vloženy do nádoby vhodné pro vaření v páře a následně dušeny po dobu 20 minut. Pro pečení byly vzorky vloženy do trouby předehřáté na 200 °C a pečeny po dobu 20 minut. Vzorky, určené ke smažení, byly opékány na rozpálené pánvi s olejem po dobu 5 minut. Po tepelné úpravě byly vzorky lyofilizovány po dobu 72 hodin a následně homogenizovány za využití mlýnku.

4.2.2 Analýza nenatrávených vzorků

Stanovení sušiny

Sušina byla stanovena sušením podle nařízení komise (ES) č. 152/2009 v sušárně při 103 °C po dobu 12 hodin.

Stanovení obsahu dusíkatých látek

Dusíkaté látky byly stanoveny Kjeldahlovou metodou s použitím přepočítávacího faktoru 6,25.

Stanovení obsahu AMK

Stanovení obsahu AMK v nenatrávených vzorcích proběhlo externě akreditovanou laboratoří Eurofins (akreditační číslo: 1546).

4.2.3 Statické *in vitro* trávení

Test *in vitro* trávení proběhl dle statického modelu INFOGEST 2.0, jenž byl navržen autory Brodkorb et al. (2019).

Příprava roztoků trávicích šťáv

Zásobní roztoky elektrolytů dle **tabulky 5** byly použity k přípravě simulované slinné šťávy (SSF), simulované žaludeční šťávy (SGF) a simulované střevní šťávy (SIF).

Tabulka 5: Složení a koncentrace zásobních roztoků trávicích šťáv (Brodkorb et al. 2019)

Chemikálie	Koncentrace zásobního roztoku (mol/l)	Výsledná koncentrace solí v SSF (mmol/l)	Výsledná koncentrace solí v SGF (mmol/l)	Výsledná koncentrace solí v SIF (mmol/l)
KCl	0,5	15,1	6,9	6,8
KH_2PO_4	0,5	3,7	0,9	0,8
$NaHCO_3$	1	13,6	25	85
NaCl	2	-	47,2	38,4
$MgCl_2(H2O)_6$	0,15	0,15	0,12	0,33
$(NH_4)_2CO_3$	0,5	0,06	0,5	-
HCl	6	1,1	15,6	8,4
$CaCl_2(H_2O)_2$	0,3	1,5	0,15	0,6

In vitro trávení

Připravené vzorky ryb byly podrobeny trávení v orální, žaludeční a střevní fázi. Orální fáze *in vitro* trávení byla připravena smícháním vzorku se SSF v poměru 1:1. Následně byl přidán roztok $CaCl_2(H_2O)_2$ a prasečí α-amyláza pro dosažení definované koncentrace solí pro SSF a aktivitu enzymu 75 U/ml ve výsledném roztoku. Vzorky byly doplněny destilovanou vodou pro dosažení poměru 1:1 a inkubovány za stálého míchání, při teplotě 37 °C, po dobu 2 minut.

V žaludeční fázi byl orální bolus smíchán se zásobním roztokem SGF, roztokem $CaCl_2(H_2O)_2$, pepsinem (2000 U/ml v trávicí směsi) a destilovanou vodou v poměru 1:1. Pro úpravu směsi na pH 3 byl použit roztok HCl. Takto připravené vzorky byly inkubovány za stálého míchání při teplotě 37 °C po dobu 2 hodin.

Pro simulaci střevní fáze *in vitro* trávení byla žaludeční trávenina smíchána se zásobním roztokem SIF v poměru 1:1. Po přidání žluči (10 mmol/l ve výsledné směsi) byla směs umístěna do 37 °C na 30 minut pro důslednou solubilizaci žluči v roztoku, načež byl k této směsi přidán roztok $CaCl_2(H_2O)_2$ a pankreatin (pro dosažení aktivity trypsinu 100 U/ml). Takto připravené vzorky byly opětovně doplněny do poměru 1:1, upraveny roztokem NaOH na pH 7 a inkubovány za stálého míchání při teplotě 37 °C po dobu 2 hodin.

Finální úprava vzorků

Vzorky, jež byly podrobeny všem fázím *in vitro* trávení, byly centrifugovány. K další analýze byl použit pouze pelet oddělený od supernatantu, tedy sediment částic nenatrávených bílkovin oddělený od tekutiny.

4.2.4 Analýza natrávených vzorků

Stanovení sušiny

Sušina byla stanovena sušením podle nařízení komise (ES) č. 152/2009 v sušárně při 103 °C po dobu 12 hodin.

Stanovení obsahu dusíkatých látek

Dusíkaté látky byly stanoveny Kjeldahlovou metodou s použitím přepočítávacího faktoru 6,25.

Stanovení obsahu AMK

Stanovení obsahu AMK v natrávených vzorcích proběhlo externě akreditovanou laboratoří Eurofins (akreditační číslo: 1546).

4.2.5 Hodnocení stravitelnosti

Pro hodnocení stravitelnosti bílkovin sardinek a šprotů po tepelné úpravě byly následně porovnány průměrné obsahy AMK v natrávených a nenatrávených vzorcích ryb dle následující rovnice.

$$stravitelnost\ (\%) \frac{obsah\ AMK\ natráveného\ vzorku\ \left({}^{g}/_{kg}\right)}{obsah\ AMK\ nenatráveného\ vzorku\ \left({}^{g}/_{kg}\right)} \times 100$$

Pro provedení výpočtů byl využit software Excel 2016 (Microsoft Corporation).

5 Výsledky

5.1 Analýza nenatrávených vzorků

Zjištěný obsah aminokyselin v nenatrávených vzorcích ryb je k nahlédnutí v **tabulce 6** a **tabulce 7**. Esenciální aminokyseliny jsou v tabulkách zvýrazněny tučným písmem.

Tabulka 6: Obsah aminokyselin v nenatrávených vzorcích sardinek

	nenatrávené vzorky (g/100 g)				
	sardinky				
	syrové	vařené	dušené	smažené	pečené
Alanin	3,70	4,23	3,83	3,39	4,01
Arginin	3,41	4,26	3,73	3,41	3,96
Asparagová kys.	6,14	7,28	6,72	5,85	6,91
Glutamová kys.	8,92	10,50	9,68	8,54	10,10
Glycin	3,12	3,48	3,03	2,72	3,24
Histidin	2,23	2,19	2,18	2,00	2,30
Hydroxyprolin	ND	ND	ND	ND	ND
Isoleucin	**2,78**	**3,17**	**2,95**	**2,57**	**3,00**
Leucin	**4,89**	**5,65**	**5,19**	**4,54**	**5,34**
Lysin	**5,92**	**6,67**	**6,08**	**5,43**	**6,37**
Ornithin	ND	ND	ND	ND	ND
Fenylalanin	**2,48**	**2,88**	**2,70**	**2,33**	**2,75**
Prolin	2,20	2,51	2,24	2,01	2,35
Serin	2,49	2,99	2,70	2,34	2,81
Threonin	**2,76**	**3,28**	**2,97**	**2,61**	**3,07**
Tyrosin	1,95	2,41	2,09	1,89	2,21
Valin	**3,14**	**3,69**	**3,37**	**2,96**	**3,48**
Cystein + Cystin	0,69	0,78	0,66	0,55	0,69
Methionin	**1,78**	**2,61**	**2,09**	**1,52**	**1,80**
Tryptofan	**0,72**	**0,93**	**0,83**	**0,72**	**0,76**
Suma aminokyselin	59,32	69,51	63,04	55,38	65,15

ND: nedetekováno (not detected)

Tabulka 7: Obsah aminokyselin v nenatrávených vzorcích šprotů

	nenatrávené vzorky (g/100 g)				
	šproty				
	syrové	vařené	dušené	smažené	pečené
Alanin	4,41	4,53	4,60	3,63	4,50
Arginin	4,23	4,51	4,56	3,67	4,40
Asparagová kys.	7,29	7,75	7,82	6,06	7,58
Glutamová kys.	10,70	11,20	11,40	8,83	10,90
Glycin	3,65	3,45	3,38	2,95	3,62
Histidin	2,08	2,02	2,13	1,74	2,09
Hydroxyprolin	ND	ND	ND	ND	0,209
Isoleucin	**3,11**	**3,36**	**3,40**	**2,58**	**3,20**
Leucin	**5,67**	**6,05**	**6,20**	**4,71**	**5,90**
Lysin	**6,57**	**7,04**	**7,21**	**5,55**	**6,85**
Ornithin	ND	ND	ND	ND	ND
Fenylalanin	**2,79**	**3,06**	**3,10**	**2,37**	**2,93**
Prolin	2,64	2,67	2,66	2,15	2,70
Serin	2,95	3,13	3,15	2,42	3,11
Threonin	**3,25**	**3,47**	**3,56**	**2,71**	**3,41**
Tyrosin	2,18	2,58	2,58	1,96	2,41
Valin	**3,79**	**4,08**	**4,10**	**3,14**	**3,88**
Cystein + Cystin	0,83	1,01	0,75	0,67	0,82
Methionin	**2,17**	**2,45**	**2,28**	**1,78**	**2,36**
Tryptofan	**0,82**	**0,99**	**0,95**	**0,72**	**0,90**
Suma aminokyselin	69,13	73,35	73,83	57,64	71,77

ND: nedetekováno (not detected)

Žádný ze vzorků neobsahoval zaznamenatelné množství hydroxyprolinu a ornithinu, vyjma vzorku nenatrávených pečených šprotů. Při bližším pohledu na průměrný obsah AMK nenatrávených vzorků lze ve většině případů pozorovat nárůst volných AMK po tepelné úpravě, zejména u vzorků, které byly tepelně upraveny vařením, dušením či pečením. Pokles obsahu všech AMK lze pozorovat u tepelné úpravy smažením, vyjma tryptofanu u smažených sardinek, kde se obsah této AMK nezměnil. Pro lepší přehlednost byly do **tabulky 8** a **tabulky 9** zaneseny pouze vzorky a AMK, u nichž došlo vlivem tepelné úpravy k poklesu, či byl pozorován nárůst menší než 0,1 g/100 g. AMK u nichž byl pozorován nárůst větší než 0,1 g/100 g jsou označeny pouze znaménkem +.

Tabulka 8: Změny průměrného obsahu volných AMK před a po tepelné úpravě u sardinek

	nenatrávené vzorky (g/100 g)				
	sardinky				
	syrové	vařené	dušené	smažené	pečené
Alanin	3,70	+	+	3,39	+
Arginin	3,41	+	+	3,41	+
Asparagová kys.	6,14	+	+	5,85	+
Glutamová kys.	8,92	+	+	8,54	+
Glycin	3,12	+	+	2,72	+
Histidin	2,23	2,19	2,18	2,00	(+0,07)
Isoleucin	**2,78**	+	+	**2,57**	+
Leucin	**4,89**	+	+	**4,54**	+
Lysin	**5,92**	+	+	**5,43**	+
Fenylalanin	**2,48**	+	+	**2,33**	+
Prolin	2,2	+	2,24	2,01	+
Serin	2,49	+	+	2,34	+
Threonin	**2,76**	+	+	**2,61**	+
Tyrosin	1,95	+	+	1,89	+
Valin	**3,14**	**+**	**+**	**2,96**	**+**
Cystein + Cystin	0,69	+	0,66	0,55	(+0,002)
Methionin	**1,78**	+	+	**1,52**	(+0,02)
Tryptofan	**0,72**	+	+	**0,72**	(+0,037)

+ / (+) – nárůst obsahu AMK v porovnání se syrovým vzorkem

Tabulka 9: Změny průměrného obsahu volných AMK před a po tepelné úpravě u šprotů

	nenatrávené vzorky (g/100 g)				
	šproty				
	syrové	vařené	dušené	smažené	pečené
Alanin	4,41	+	+	3,63	(+0,09)
Arginin	4,23	+	+	3,67	+
Asparagová kys.	7,29	+	+	6,06	+
Glutamová kys.	10,70	+	+	8,83	+
Glycin	3,65	3,45	3,38	2,95	3,62
Histidin	2,08	2,02	(+0,05)	1,74	(+0,01)
Isoleucin	**3,11**	+	+	**2,58**	(+0,09)
Leucin	**5,67**	+	+	**4,71**	+
Lysin	**6,57**	+	+	**5,55**	+
Fenylalanin	**2,79**	+	+	**2,37**	+
Prolin	2,64	(+0,03)	(+0,02)	2,15	(+0,06)
Serin	2,95	+	+	2,42	+
Threonin	**3,25**	+	+	**2,71**	+
Tyrosin	2,18	+	+	1,96	+
Valin	**3,79**	+	+	**3,14**	(+0,09)
Cystein + Cystin	0,83	+	0,754	0,67	0,822
Methionin	**2,17**	+	+	**1,78**	+
Tryptofan	**0,82**	+	+	**0,72**	+

+ / (+) – nárůst obsahu AMK v porovnání se syrovým vzorkem

5.2 Analýza natrávených vzorků

Obsah volných aminokyselin v natrávených vzorcích sardinek a šprotů lze pozorovat v **tabulce 10** a **tabulce 11**.

Tabulka 10: Obsah aminokyselin v natrávených vzorcích sardinek

	natrávené vzorky (g/100 g)				
	sardinky				
	syrové	vařené	dušené	smažené	pečené
Alanin	2,26	3,48	2,95	2,82	3,07
Arginin	2,31	3,57	3,21	3,04	3,21
Asparagová kys.	4,22	6,62	5,51	5,20	5,81
Glutamová kys.	5,29	8,31	7,04	6,84	7,35
Glycin	2,05	2,97	2,56	2,43	2,63
Histidin	1,20	1,78	1,53	1,51	1,57
Hydroxyprolin	ND	ND	ND	ND	ND
Isoleucin	**2,24**	**3,45**	**2,91**	**2,85**	**2,99**
Leucin	**3,34**	**5,06**	**4,34**	**4,24**	**4,51**
Lysin	**3,21**	**5,38**	**4,46**	**4,45**	**4,53**
Ornithin	ND	ND	ND	ND	ND
Fenylalanin	**2,07**	**3,12**	**2,62**	**2,59**	**2,72**
Prolin	1,50	2,23	2,05	1,94	1,87
Serin	1,68	2,70	2,27	2,19	2,38
Threonin	**2,03**	**3,15**	**2,67**	**2,56**	**2,79**
Tyrosin	1,57	2,49	2,10	2,05	2,16
Valin	**2,35**	**3,63**	**3,07**	**2,97**	**3,19**
Cystein + Cystin	0,44	0,65	0,46	0,65	0,47
Methionin	**1,48**	**2,10**	**1,64**	**1,93**	**1,67**
Tryptofan	**0,72**	**1,01**	**0,83**	**0,91**	**0,88**
Suma aminokyselin	39,95	61,70	52,22	51,16	53,80

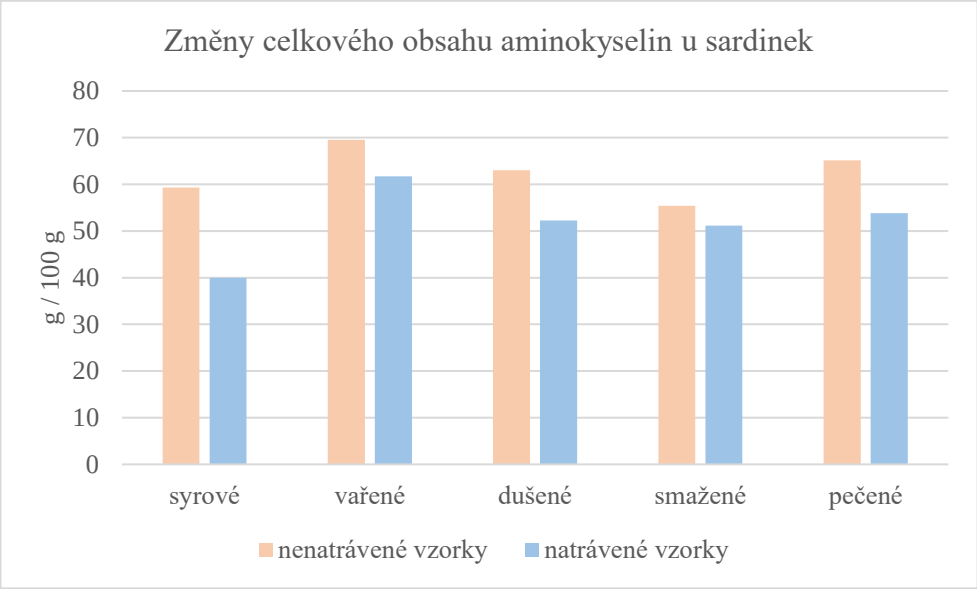
ND: nedetekováno (not detected)

Tabulka 11: Obsah aminokyselin v natrávených vzorcích šprotů

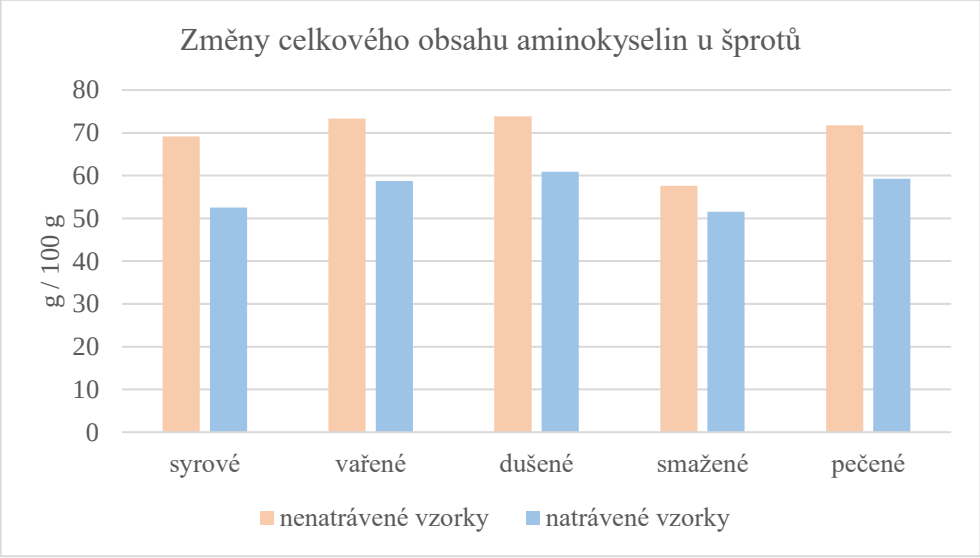
	natrávené vzorky (g/100 g)				
	šproty				
	syrové	vařené	dušené	smažené	pečené
Alanin	3,08	3,41	3,53	2,97	3,43
Arginin	3,15	3,66	3,78	3,23	3,70
Asparagová kys.	5,48	6,02	6,20	4,99	6,02
Glutamová kys.	6,90	7,63	8,01	6,47	7,65
Glycin	2,68	2,85	2,85	2,66	2,90
Histidin	1,46	1,60	1,68	1,40	1,64
Hydroxyprolin	ND	ND	ND	ND	ND
Isoleucin	**2,94**	**3,20**	**3,34**	**2,95**	**3,19**
Leucin	**4,35**	**4,84**	**5,09**	**4,25**	**4,90**
Lysin	**4,40**	**5,12**	**5,38**	**4,35**	**5,11**
Ornithin	ND	ND	ND	ND	ND
Fenylalanin	**2,63**	**2,91**	**3,00**	**2,61**	**2,93**
Prolin	2,01	2,21	2,24	1,97	2,28
Serin	2,22	2,57	2,60	2,23	2,66
Threonin	**2,64**	**2,94**	**3,01**	**2,54**	**3,02**
Tyrosin	2,06	2,35	2,43	2,11	2,39
Valin	**3,16**	**3,53**	**3,71**	**3,15**	**3,54**
Cystein + Cystin	0,55	0,69	0,72	0,72	0,66
Methionin	**1,92**	**2,19**	**2,30**	**2,04**	**2,18**
Tryptofan	**0,94**	**1,03**	**1,06**	**0,93**	**1,04**
Suma aminokyselin	52,56	58,75	60,93	51,57	59,24

ND: nedetekováno (not detected)

Vlivem expozice vzorků *in vitro* trávení byl pozorován pokles obsahu AMK u všech způsobů tepelné úpravy sardinek a šprotů, přičemž nejvýraznější pokles byl sledován u tepelně neupravených vzorků. U syrových vzorků byl pozorován rozdíl o **19,37 g/100 g** proteinu pro sardinky a **16,57 g/100 g** bílkovin pro šproty. Významné rozdíly lze sledovat také u pečených a dušených sardinek s rozdíly o **11,35 g/100 g** a **10,82 g/100 g**, přičemž u šprotů se jedná o vařené a dušené vzorky s rozdíly o **14,60 g/100 g** a **12,90 g/100 g** bílkoviny. Pro lepší přehlednost byly tyto údaje zaneseny do **grafu 1** a **grafu 2**.



Graf 1: Změny obsahu aminokyselin u tepelně upravených vzorků sardinek



Graf 2: Změny obsahu aminokyselin u tepelně upravených vzorků šprotů

Samostatné hodnoty stravitelností získané výpočtem dle výše uvedeného vzorce jsou, spolu s hodnotami pro výpočet, k nahlédnutí v **tabulce 12** a **tabulce 13.**

5.3 Hodnocení stravitelnosti

Tabulka 12: Průměrná stravitelnost natrávených vzorků sardinek

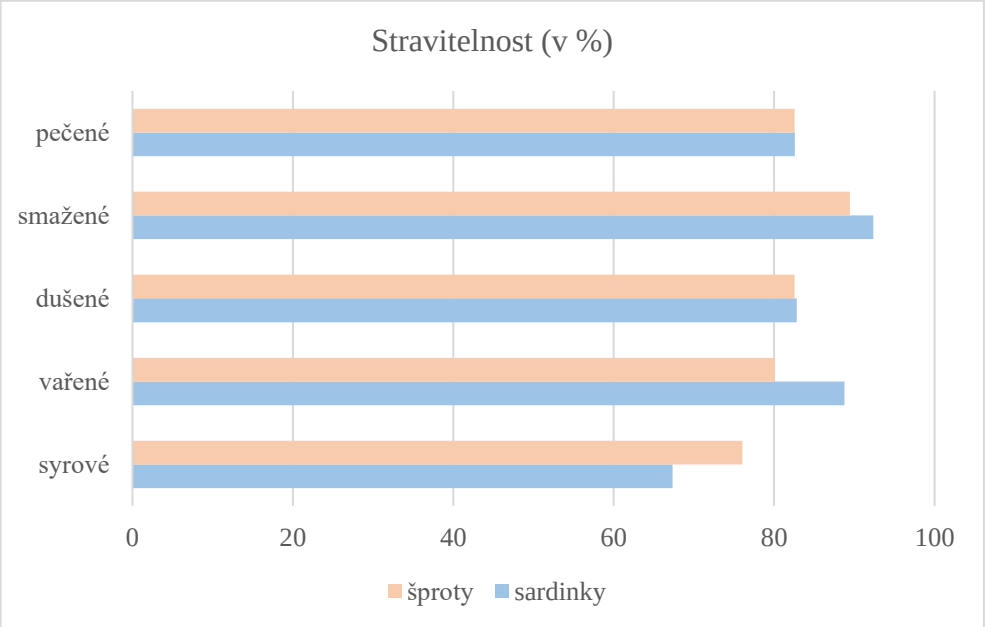
	sardinky				
	syrové	vařené	dušené	smažené	pečené
nenatrávené (g/100 g)	59,32	69,51	63,04	55,38	65,15
natrávené (g/100 g)	39,95	61,70	52,22	51,16	53,80
stravitelnost (%)	**67,35**	**88,77**	**82,84**	**92,38**	**82,59**

Tabulka 13: Průměrná stravitelnost natrávených vzorků šprotů

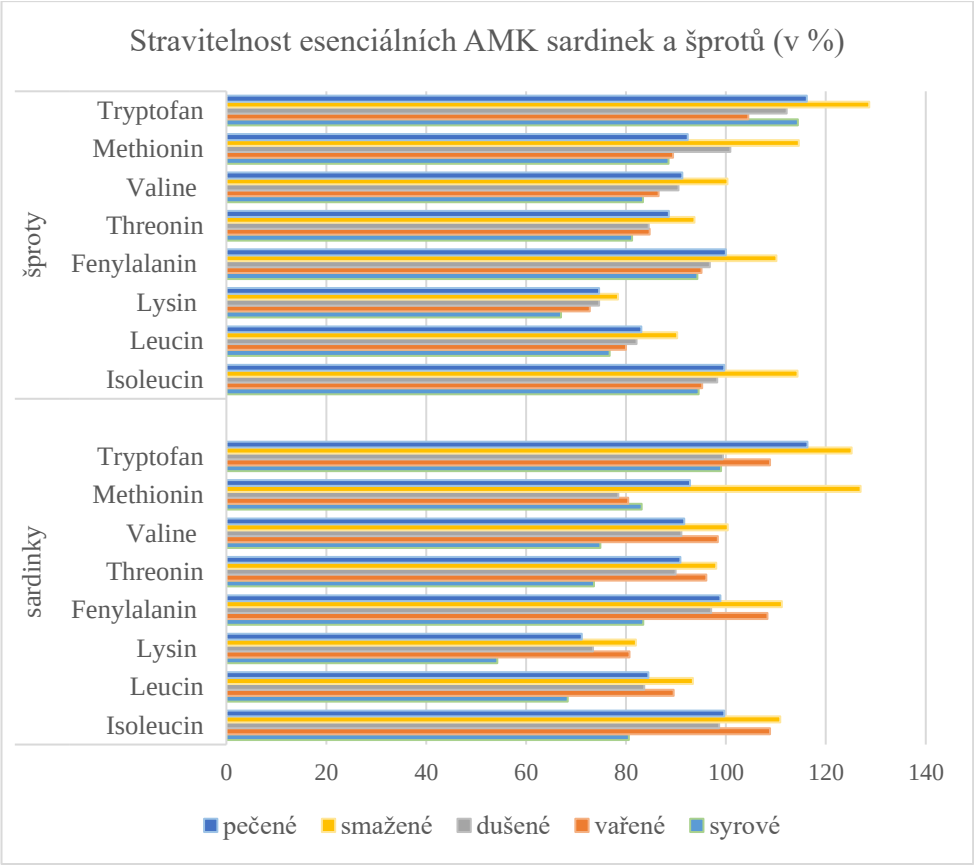
	šproty				
	syrové	vařené	dušené	smažené	pečené
nenatrávené (g/100 g)	69,13	73,35	73,83	57,64	71,77
natrávené (g/100 g)	52,56	58,75	60,93	51,57	59,24
stravitelnost (%)	**76,03**	**80,10**	**82,52**	**89,46**	**82,54**

Nejvyšší hodnoty stravitelnosti vykazovaly vzorky, jež byly upraveny smažením. U sardinek bylo následně z hlediska stravitelnosti nejúčinnější vaření, avšak u šprotů byl tento způsob tepelné úpravy nejméně účinný. U vzorků upravených dušením a pečením se hodnoty stravitelnosti pohybovaly okolo 82 % u obou druhů ryb.

U syrových vzorků byla stravitelnost nejnižší, přičemž vzorky syrových šprotů vykazovaly vyšší stravitelnost, přibližně o 10 %, oproti tepelně neupraveným vzorkům sardinek. Rozdíly stravitelnosti sardinek a šprotů dle jednotlivých způsobů tepelné úpravy lze také pozorovat v **grafu 3**. Do **grafu 4** byly dále zaneseny stravitelnosti jednotlivých esenciálních AMK, přičemž hodnoty nad 100 % poukazují na snížení stravitelnosti.



Graf 3: Porovnání stravitelnosti po tepelné úpravě u sardinek a šprotů



Graf 4: Porovnání stravitelností jednotlivých esenciálních AMK u sardinek a šprotů

6 Diskuze

Maso je nedílnou součástí jídelníčku velké části populace, existují však rozdíly v kvalitě konzumovaného proteinu mezi jednotlivými druhy masa a způsobem, či úplnou absencí tepelné úpravy. Tepelná úprava je tedy využívána nejen pro zlepšení senzorických vlastností potravin, ale i pro zpřístupnění obtížně stravitelných AMK syrového masa trávicímu systému. Způsob tepelné úpravy však může ovlivnit obsah a složení stravitelných AMK, MK, vitaminů, minerálních látek a mnoho dalších vlastností.

Jedním z kroků této práce bylo stanovení obsahu AMK v syrových a tepelně upravených vzorcích sardinek a šprotů před započetím procesu trávení. Dle předpokladů došlo vlivem tepelné úpravy ke zvýšení obsahu AMK ve všech vzorcích, vyjma vzorků, jenž byly upraveny smažením. Toto snížení lze pravděpodobně přisuzovat intenzivním oxidačním procesům, které mohou podporovat vznik mezimolekulárních příčných vazeb, a tedy i zesíťování proteinu (Semedo Tavares et al. 2018b). Naopak nárůst obsahu volných AMK vlivem vaření, dušení a pečení lze přisuzovat intenzivní hydrolýze a odhalení -NH_2 skupin proteinů. Zvýšení obsahu AMK sledovali například také autoři Erkan et al. (2010) zabývající se vlivem dušení, grilování a smažení na obsah AMK u mořských ryb. V této studii byly sledovány největší rozdíly zejména u esenciálních AMK.

Tepelná úprava je předpokladem pro zvýšení stravitelnosti proteinu v porovnání se syrovým vzorkem, avšak některé AMK mohou být náchylné k jednotlivým způsobům tepelné úpravy, což může naopak vést k snížení stravitelnosti těchto AMK, a tím i k snížení kvality proteinu výsledného pokrmu. Při bližším zkoumání změn obsahů jednotlivých AMK bylo zjištěno, že se u všech zasažených AMK pro šproty a u šesti ze sedmi zasažených AMK pro sardinky jednalo o AMK s hydrofobním charakterem, což vysvětluje nižší náchylnost těchto AMK k působení trávicích enzymů.

Z hlediska samotného hodnocení výsledné stravitelnosti, která je zásadním faktorem pro hodnocení kvality bílkovin (Semedo Tavares et al. 2018b), byl analyzován obsah AMK po procesu trávení a porovnán s obsahy AMK před natrávením. U analyzovaných vzorků byl vlivem trávení indukován pokles celkového obsahu AMK, což poukazuje na to, že stravitelnost rybího proteinu není 100%. U všech tepelně upravených vzorků, tedy u vařených, dušených, smažených, pečených sardinek a šprotů, byl pozorován nárůst stravitelnosti v porovnání se vzorky syrovými. Z tohoto hlediska bylo v našem laboratorním stanovení vyhodnoceno smažení jako nejúčinnější způsob tepelné úpravy, zcela naopak tomu bylo u pečení pro sardinky a vaření pro šproty. Přestože se smažení v našem laboratorním stanovení jevilo jako nejúčinnější způsob pro zvýšení stravitelnosti proteinu, je nutno poohlédnout se na další důsledky tohoto způsobu tepelné úpravy, jako jsou poškození a ztráty stravitelných esenciálních AMK, n-3 nenasycených MK a mikronutrientů. Vliv na kvalitu výsledného pokrmu může mít také tuk používaný ke smažení, tedy jeho původ, vlastnosti a množství jež bylo potravinou absorbováno v průběhu tepelné úpravy, na což upozornili také autoři Erkan et al. (2010), kteří pozorovali zvýšení obsahu lipidů u smažených mořských ryb v porovnání se syrovým vzorkem. Také autoři Oluwaniyi et al. (2010) upozorňují na riziko poškození bílkovin vlivem tepelné úpravy smažením, přičemž vaření a pečení považují za šetrnější metody tepelné úpravy z hlediska zachování aminokyselinového profilu rybího proteinu. Nižší hodnoty stravitelnosti vařených a dušených vzorků našeho experimentu lze pravděpodobně přisuzovat možné solubilizaci proteinů při procesu tepelné úpravy, a tedy i nižšímu počátečnímu obsahu dostupných AMK trávicím enzymům.

V porovnání se studií autorů Semedo Tavares et al. (2018b), kteří se věnovali hodnocení vlivu tepelné úpravy na stravitelnost proteinu u mořské ryby tkaničnice atlantské (*Thichiurus lepturus*), byla zjištěna významná rozdílnost v celkovém vyhodnocení stravitelnosti, kdy autoři docílili nejvyšších hodnot stravitelnosti u vařených a nejnižších hodnot

u smažených vzorků. Naše výsledky a výsledky autorů této studie však potvrzují, že v porovnání se syrovými vzorky došlo smažením k výraznému nárůstu stravitelnosti bílkovin. Rozdílnost výsledků může pravděpodobně souviset s odlišnostmi v provedení laboratorního stanovení, jako jsou aktivity enzymů, délky trvání jednotlivých fází či odlišná složení simulovaných šťáv. Dále bylo u autorů této studie dosaženo teplot 98 °C u vaření, 160 °C u smažení a 220 °C u pečení po maximální dobu 15 minut, kdežto u našeho pokusu se jednalo o tepelnou úpravu v podobě vaření po dobu 10 minut, dušení po dobu 20 minut, smažení po dobu 5 minut a pečení při 200 °C po dobu 20 minut. Nezaznamenání dosažených teplot a odlišnosti doby trvání tepelných úprav mohou být dalšími faktory, které znesnadňují porovnání našich výsledků s jinými studiemi.

Změnám stravitelnosti vlivem tepelné úpravy se věnovali také autoři Jiang et al. (2022), jejichž zkoumání změn kvality proteinu tzv. kanálové ryby *Letalurus Punetaus* poukázalo na zvýšení stravitelnosti vzorků ve většině jednotlivých fází trávení, v porovnání se vzorky syrovými. Tito autoři zkoumali syrové, vařené, vařené v páře a smažené části ryby, přičemž podobně jako autoři Semedo Tavares et al. (2018b) označili smažení jako méně účinnou metodu pro zvýšení stravitelnosti původně syrového masa. Nejúčinnějším způsobem označili Jiang et al. (2022) vaření v páře, kdy výsledná stravitelnost dosahovala téměř 67 %. U smažených vzorků dosahovala stravitelnost přibližně 63 %, přičemž konečné hodnoty stravitelnosti po běžném vaření dosahovaly hodnot okolo 60 %. Autoři neuvádí hodnoty původní stravitelnost syrových vzorků, avšak v porovnání výsledků můžeme konstatovat, že se naše výsledky, z hlediska úspěšnosti jednotlivých způsobů tepelné úpravy, opět neshodují s výsledky autorů této studie.

Pozornost na vliv tepelné úpravy, v ohledu na kvalitativní vlastnosti ryb, dále zaměřili autoři Jannat Alipour et al. (2010), kteří hodnotili efekt smažení a grilování na vlastnosti filetů jesetera perského *Acipenser persicus*. Při počáteční *in vitro* stravitelnosti, 81,5 % pro syrové filety, bylo tepelnou úpravou dosaženo přibližně 95% stravitelnosti u grilovaných a téměř 100% stravitelnosti u smažených vzorků. Přestože jsou průměrné stravitelnosti výrazně vyšší než stravitelnosti našich vzorků, bylo autory dosaženo velmi podobného výsledku, tedy smažené ryby byly označeny za nejlépe stravitelné. Autoři této studie však neupozorňují na možný negativní dopad smažení při dlouhodobém působení vysokých teplot.

Pro hodnocení kvality proteinu existuje mnoho metodologií, včetně výpočtu stravitelnosti stanovením dusíkové bilance, PDCAAS, DIAAS, AAS, poměru účinnosti proteinů či *in vitro* a *in vivo* stravitelnosti (Bessada et al. 2019). Odlišné postupy laboratorních experimentů a postupy pro výpočet finální stravitelnosti produktů mohou mít za následek odlišnosti v celkovém vyhodnocení, což činí porovnání výsledků napříč studiemi obtížné. Pro lepší interpretaci výsledků by bylo vhodné náš laboratorní experiment zopakovat na vyšším počtu vzorků a porovnat výsledky stanovení mezi sebou, čímž by byla redukována odlišnost v postupech mezi laboratořemi.

Ze srovnání výsledků s dalšími studiemi tedy nelze vyvodit obecných závěrů, avšak shodným bodem všech laboratorních stanovení je vyhodnocení tepelné úpravy jakožto úspěšného činitele pro zvýšení údržnosti a stravitelnosti původně syrového proteinu.

7 Závěr

Předmětem laboratorního stanovení bylo zhodnocení *in vitro* stravitelnosti proteinu sardinek a šprotů po tepelné úpravě. Pro naše vzorky bylo využito vaření v neosolené vodě po dobu 10 minut, dušení po dobu 20 minut, smažení po dobu 5 minut a pečení při 200 °C po dobu 20 minut, přičemž byly hodnoceny také vzorky tepelně neupravených ryb. Pro výpočet stravitelnosti byl porovnán obsah AMK v nenatrávených vzorcích se vzorky, které byly podrobeny simulovanému trávení v orální, žaludeční i střevní fázi dle statického modelu INFOGEST 2.0.

Nejvyšší průměrná stravitelnost byla pozorována u sardinek a šprotů upravených smažením, kde bylo dosaženo přibližně 92,38% stravitelnosti pro sardinky a 89,46% stravitelnosti pro šproty. U sardinek byly dále sledovány stravitelnosti 88,77 %, 82,84 %, 82,59 % a 67,35 % u vařených, dušených, pečených a syrových vzorků v uvedeném pořadí. Výsledné stravitelnosti pečených, dušených, vařených a syrových šprotů nabývaly hodnot 82,54 %, 82,52 %, 80,10 % a 76,03 % v uvedeném pořadí.

Ačkoli byla sledována nejvyšší stravitelnost u smažených vzorků sardinek a šprotů, je nutno zohlednit nejednotnost výsledků v porovnání s řadou studií stravitelnosti proteinu mořských ryb. Současně je hodnocení změn stravitelnosti sardinek a šprotů vlivem tepelné úpravy doposud nepříliš zkoumaným tématem a pro vyvození závěrů je zapotřebí více experimentů. Pro účely našeho laboratorního stanovení lze však doporučit tepelnou úpravu v podobě vaření, dušení, smažení a pečení jako vhodný způsob pro zvýšení stravitelnosti bílkovin.

8 Literatura

Aarts BGW, Nienhuis PH. 2003. Fish zonations and guilds as the basis for assessment of ecological integrity of large rivers. Hydrobiologia **500**:157-178.

Abraha B, Admassu H, Mahmud A, Tsighe N, Shui XW, Fang Y. 2018. Effect of processing methods on nutritional and physico-chemical composition of fish: a review. MOJ Food Processing & Technology **6**.

Afshan S, Ali S, Ameen US, Farid M, Bharwana SA, Hannan F, Ahmad R. 2014. Effect of Different Heavy Metal Pollution on Fish. Research Journal of Chemical and Environmental Sciences **2**:74-79.

Alabaster JS, Lloyd RS. 2013. Water Quality Criteria for Freshwater Fish. 47-120. 2nd edition. Elsevier, UK.

Alegría A, Garcia-Llatas G, Cilla A. 2015. Static Digestion Models: General Introduction. 3-12 in The Impact of Food Bioactives on Health. Springer International Publishing, Cham.

Alheit J, Pohlmann T, Casini M, Greve W, Hinrichs R, Mathis M, O'Driscoll K, Vorberg R, Wagner C. 2012. Climate variability drives anchovies and sardines into the North and Baltic Seas. Progress in Oceanography **96**:128-139.

Alqudah A, Wedyan M, Qnais E, Jawarneh H, McClements L. 2021. Plasma Amino Acids Metabolomics' Important in Glucose Management in Type 2 Diabetes. Frontiers in Pharmacology **12**.

Babikova J, Hoeche U, Boyd J, Noci F. 2020. Nutritional, physical, microbiological, and sensory properties of marinated Irish sprat. International Journal of Gastronomy and Food Science **22**.

Bernreuther M, Temming A, Herrmann J-P. 2009. Effect of temperature on the gastric evacuation in sprat Sprattus sprattus. Journal of Fish Biology **75**:1525-1541.

Bessada SMF, Barreira JCM, Oliveira MBPP. 2019. Pulses and food security: Dietary protein, digestibility, bioactive and functional properties. **93**:53-68.

Bhat ZF, Morton JD, Bekhit AE-DA, Kumar S, Bhat HF. 2021. Thermal processing implications on the digestibility of meat, fish and seafood proteins. Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety **20**:4511-4548.

Blanco M, Vázquez J, Pérez-Martín R, Sotelo C. 2017. Hydrolysates of Fish Skin Collagen: An Opportunity for Valorizing Fish Industry Byproducts. Marine Drugs **15**.

Boltaña S, Sanhueza N, Aguilar A, Gallardo-Escarate C, Arriagada G, Valdes JA, Soto D, Quiñones RA. 2017. Influences of thermal environment on fish growth. Ecology and Evolution **7**:6814-6825.

Bohn T et al. 2017. Correlation between in vitro and in vivo data on food digestion. What can we predict with static in vitro digestion models?. Critical Reviews in Food Science and Nutrition **58**:2239-2261.

Bowen BW, Grant WS. 1997. Phylogeography of The Sardines (*Sardinops spp*.): Assesing biogeographic models and population histories in temperate upwelling zones. Evolution **51**:1601-1610.

Britton JR, Pegg J. 2011. Ecology of European Barbel Barbus Barbus: Implications for River, Fishery, and Conservation Management. Reviews in Fisheries Science **19**:321-330.

Brodkorb A et al. 2019. INFOGEST static in vitro simulation of gastrointestinal food digestion. Nature Protocols:991-1014.

Bulla MK, Simionato JI, Matsushita M, Coró FAG, Shimokomaki M, Visentainer JV, de Souza NE. 2011. Proximate Composition and Fatty Acid Profile of Raw and Roasted Salt-Dried Sardines (*Sardinella Brasiliensis*). Food and Nutrition Sciences **2**:440-443.

Burdge GC, Calder PC. 2015. Introduction to Fatty Acids and Lipids. Intravenous Lipid Emulsions:1-16. S. Karger.

Cardinale M. 2002. The influence of biotic and abiotic factors on the growth of sprat (*Sprattus sprattus*) in the Baltic Sea. Aquatic Living Resources **15**:273-281.

Casini M, Cardinale M, Arrhenius F. 2004. Feeding preferences of herring (*Clupea harengus*) and sprat (*Sprattus sprattus*) in the southern Baltic Sea. ICES Journal of Marine Science **61**:1267-1277.

Chaijan M, Benjakul S, Visessanguan W, Faustman C. 2005. Changes of pigments and color in sardine (*Sardinella gibbosa*) and mackerel (*Rastrelliger kanagurta*) muscle during iced storage. Food Chemistry **93**:607-617.

Chaijan M, Benjakul S, Visessanguan W, Faustman C. 2007. Characterisation of myoglobin from sardine (*Sardinella gibbosa*) dark muscle. Food Chemistry **100**:156-164.

Chalamaiah M, Dinesh kumar B, Hemalatha R, Jyothirmayi T. 2012. Fish protein hydrolysates: Proximate composition, amino acid composition, antioxidant activities and applications. Food Chemistry **135**:3020-3038.

Checkley DM, Asch RG, Rykaczewski RR. 2017. Climate, Anchovy, and Sardine. Annual Review of Marine Science **9**:469-493.

Chessa S, Huatan H, Levina M, Mehta RY, Ferrizzi D, Rajabi-Siahboomi AR. 2014. Application of the Dynamic Gastric Model to evaluate the effect of food on the drug release characteristics of a hydrophilic matrix formulation. International Journal of Pharmaceutics **466**:359-367.

Chester R. 2009. 1-491 in Marine Geochemistry. 2nd edition. John Wiley.

Chung HR. 2014. Iodine and thyroid function. Annals of Pediatric Endocrinology and Metabolism **19**:8-12.

Costello MJ, Coll M, Danovaro R, Halpin P, Ojaveer H, Miloslavich P, Humphries S. 2010. A Census of Marine Biodiversity Knowledge, Resources, and Future Challenges. PLOS ONE **5**.

Crespo GO, Dunn DC, Gianni M, Gjerde K, Wright G, Halpin PN. 2019. High-seas fish biodiversity is slipping through the governance net. Nature Ecology & Evolution **3**:1273-1276.

Crino M, Sacks G, Vandevijvere S, Swinburn B, Neal B. 2015. The Influence on Population Weight Gain and Obesity of the Macronutrient Composition and Energy Density of the Food Supply. Current Obesity Reports **4**:1-10.

Daryoush K, Ismail A. 2012. Acute toxicity test of Zn, on Java medaka (*Oryzias javanicus*) fish as an indicator of estuary pollution. Scientific Research and Essays **7**:3302-3306. Academic Journals.

Davis VA, Holbrook RI, de Perera TB. 2021. Fish can use hydrostatic pressure to determine their absolute depth. Communications Biology **4**:1-4.

Delbarre-Ladrat C, Chéret R, Taylor R, Verrez-Bagnis V. 2006. Trends in Postmortem Aging in Fish: Understanding of Proteolysis and Disorganization of the Myofibrillar Structure. Critical Reviews in Food Science and Nutrition **46**:409-421.

Delgado-Andrade C. 2014. Maillard reaction products: Some considerations on their health effects. Clinical Chemistry and Laboratory Medicine **52**:53-60.

Doeun D, Davaatseren M, Chung M-S. 2017. Biogenic amines in foods. Food Science and Biotechnology **26**:1463-1474.

Domiszewski Z. 2012. Effect of heating fatty fish: Baltic herring (*Clupea harengus membras*), European sprat (*Sprattus sprattus*) and rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) on lipid oxidation and contents of eicosapentaenoic and docosahexaenoic acids. International Journal of Science + Technology **48**:786-793.

Drazen JC, Seibel BA. 2007. Depth-related trends in metabolism of benthic and benthopelagic deep-sea fishes. Limnology and Oceanography **52**:2306-2316.

Dupont D et al. 2018. Can dynamic in vitro digestion systems mimic the physiological reality?. Critical Reviews in Food Science and Nutrition **59**:1546-1562.

Erős T, Bammer V, György ÁI, Pehlivanov L, Schabuss M, Zornig H, Weiperth A, Szalóky Z. 2017. Typology of a Great River Using Fish Assemblages: Implications for the Bioassessment of the Danube River. River Research and Applications **33**:37-49.

Erkan N, Özden Ö, Selçuk A. 2010. Effect of Frying, Grilling, and Steaming on Amino Acid Composition of Marine Fishes. Journal of Medicinal Food **13**:1524-1531.

Ertbjerg P, Puolanne E. 2017. Muscle structure, sarcomere length and influences on meat quality: A review. Meat Science **132**:139-152.

European Food Safety Authority (EFSA). 2017. Dietary Reference Values for nutrients Summary report. EFSA Supporting Publications **14**.

Fernandes CE, da Silva Vasconcelos MA, de Almeida Riberio M, Sarubbo LA, Cardoso Andrade SA, de mělo Filho AB. 2014. Nutritional and lipid profiles in marine fish species from Brazil. Food Chemistry:67-71.

Fisher HS, Wong BBM, Rosenthal GG. 2006. Alteration of the chemical environment disrupts communication in a freshwater fish. Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences **273**:1187-1193.

Fritioff Å, Kautsky L, Greger M. 2005. Influence of temperature and salinity on heavy metal uptake by submersed plants. Environmental Pollution **133**:265-274.

Gallego Ríos SE, Peñuela GA, Ramírez Botero CM. 2017. Method Validation for the Determination of Mercury, Cadmium, Lead, Arsenic, Copper, Iron, and Zinc in Fish Through Microwave-Induced Plasma Optical Emission Spectrometry (MIP OES). Food Analytical Methods **10**:3407-3414.

Ganias K. 2014. 1-272 in Biology and Ecology of Sardines and Anchovies. CRC Press.

Gaudin P, Sempeski P. 2001. The role of river bank habitat in the early life of fish: the example of grayling, Thymallus thymallus. International Journal of Ecohydrology and Hydrobiology.

Gerking SD. 2014. Feeding Ecology of Fish. Academis Press, USA.

Golterman HL. 2004. Chemical composition of freshwater. 25-50 in The Chemistry of Phosphate and Nitrogen Compounds in Sediments. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht.

Govind P, Madhuri S. 2014. Heavy Metals Causing Toxicity in Animals and Fishes. Research Journal of Animal, Veterinary and Fishery Sciences **2**:17-23.

Gur D, Politi Y, Sivan B, Fratzl P, Weiner S, Addadi L. 2013. Guanine-Based Photonic Crystals in Fish Scales Form from an Amorphous Precursor. Angewandte Chemie International Edition **52**:388-391.

Hammond V‘, O'Donnell VB. 2012. Esterified eicosanoids: Generation, characterization and function. Biochimica et Biophysica Acta (B–A) - Biomembranes **1818**:2403-2412.

Hernandez LH, Hardy RW. 2020. Vitamin A functions and requirements in fish. Aquaculture Research **51**:3061-3071.

Hayasaka S, Kodama T, Ohira A. 2011. Retinal risks of high-dose ornithine supplements: a review. British Journal of Nutrition **106**:801-811.

Hortle KG, Khounsavanh O, Chanthasone P, Phommachanh P, Singhanouvong D, Viravong S. 2015. Larval and juvenile fish in the Mekong River in Northern Lao PDR. MRC Technical Paper. Cambodia.

Hossain MA, Yoshimatsu T. 2014. Dietary calcium requirement in fishes. Aquaculture Nutrition **20**:1-11.

Hungerford JM. 2021. Histamine and Scombrotoxins. Toxicon **201**:115-126.

Hunt A, Harrington D, Robinson S. 2014. Vitamin B12 deficiency. BMJ **349**:g5226-g5226.

Hunt AÖ, Tekelioğlu N, Engin K, Özkan F. 2011. The effects of freshwater rearing on the whole body and muscle tissue fatty acid profile of the European sea bass (*Dicentrarchus labrax*). Aquaculture International **19**:51-61.

Ismail A, Hainida Khairul Ikram E. 2004. Effects of cooking practices (boiling and frying) on the protein and amino acids contents of four selected fishes. Nutrition & Food Science **34**:54-59.

Jabeen F, Chaudhry AS. 2011. Chemical compositions and fatty acid profiles of three freshwater fish species. Food Chemistry **125**:991-996.

Jafari H, Lista A, Siekapen MM, Ghaffari-Bohlouli P, Nie L, Alimoradi H, Shavandi A. 2020. Fish Collagen: Extraction, Characterization, and Applications for Biomaterials Engineering. Polymers **12**.

Jannat Alipour H, Shabanpoor B, Shabani A, Sadeghi Mahoonak A. 2010. Effects of cooking methods on physico-chemical and nutritional properties of Persian sturgeon *Acipenser persicus* fillet. International Aquatic Research **2**:15-23.

Jiang Q, Zhang Z, Yang F, Gao P, Yu D, Xu Y, Xia W. 2022. Impact of protein oxidation induced by different cooking methods in channel fish (*Ietalurus punetaus*) on structure and *in vitro* digestion of protein. International Journal of Food Science + Technology **57**:6016-6027.

Jobling M. 2015. Fish nutrition research: past, present and future. Aquaculture International **24**:767-786.

Jorgensen HBH, Hansen MM, Bekkevold D, Ruzzante DE, Loeschke V. 2005. Marine landscapes and population genetic structure of herring (*Clupea harengus L.*) in the Baltic Sea. Molecular Ecology **14**:3219-3234.

Karaaslan Ayhan N, Yaman M. 2022. Evaluation of Iron and Zinc Contents of Some Fish Species. Biological Trace Element Research **200**:1376-1382.

Karthikeyan S, Mathew BA, Shamasundar VP, Rakash. 2004. Fractionation and Properties of Sarcoplasmic Proteins from Oil Sardine (*Sardinella longiceps*): Influence on the Thermal Gelation Behavior of Washed Meat. Journal of Food Science **69**:FEP**69**: FEP79-FEP84.

Khalili Tilami S, Sampels S. 2017. Nutritional Value of Fish: Lipids, Proteins, Vitamins, and Minerals. Reviews in Fisheries Science & Aquaculture **26**:243-253.

Kreitsberg R, Tuvikene A, Baršienė J, Fricke NF, Rybakovas A, Andreikėnaitė L, Rumvolt K, Vilbaste S. 2012. Biomarkers of environmental contaminants in the coastal waters of Estonia

(Baltic Sea): effects on eelpouts (*Zoarces viviparus*). Journal of Environmental Monitoring **14**:2277-2528.

Kristinsson HG, Rasco BA. 2000. Fish Protein Hydrolysates: Production, Biochemical, and Functional Properties. Critical Reviews in Food Science and Nutrition **40**:43-81.

Kuzmina VV, Gavrovskaya LK, Ryzhova OV. 2010. Taurine. Effect on exotrophia and metabolism in mammals and fish. Journal of Evolutionary Biochemistry and Physiology **46**:19-27.

Lavoué S, Miya M, Saitoh K, Ishiguro NB, Nishida M. 2007. Phylogenetic relationships among anchovies, sardines, herrings and their relatives (*Clupeiformes*), inferred from whole mitogenome sequences. Molecular Phylogenetics and Evolution **43**:1096-1105.

Li X, Zheng S, Wu G. 2021. Nutrition and Functions of Amino Acids in Fish. Amino Acids in Nutrition and Health:133-168. Springer International Publishing, Cham.

Ljubica B, Trajce K, Dusan A, Dragica V. 2002. The meat quality of some freshwater fish: Nutritive and technological aspects. Acta veterinaria **52**:259-266.

Lock E-J, WaagbãØ R, Wendelaar Bonga S, Flik G. 2010. The significance of vitamin D for fish: a review. Aquaculture Nutrition **16**:100-116.

Luo J, Taylor C, Nebl T, Ng K, Bennett LE. 2018. Effects of macro-nutrient, micro-nutrient composition and cooking conditions on in vitro digestibility of meat and aquatic dietary proteins. Food Chemistry **254**:292-301.

Marcos B, Kerry JP, Mullen AM. 2010. High pressure induced changes on sarcoplasmic protein fraction and quality indicators. Meat Science **85**:115-120.

McCormick SD, Farrell AP, Brauner CJ. 2013. Fish Physiology: Euryhaline Fishes. Academic Press.

Miller EC, Román-Palacios C. 2019. Evolutionary time explains the global distribution of freshwater fish diversity.

Mol S. 2011. Levels of Heavy Metals in Canned Bonito, Sardines, and Mackerel Produced in Turkey. Biological Trace Element Research **143**:974-982.

Moradi Y, Bakar J, Motalebi AA, Syed Muhamad SH, Che Man Y. 2011. A Review on Fish Lipid: Composition and Changes During Cooking Methods. Journal of Aquatic Food Product Technology **20**:379-390.

Najafian L, Jafarzade M, Said M, Babji AS. 2013. Biochemical properties and antioxid46nguillavity of myofibrillar protein hydrolysates obtained from patin (*Pangasius sutchi*). International Journal of Food Science + Technology **48**:2014-2022.

Namieśnik J, Rabajczyk A. 2010. The sThe speciation and physico-chemical forms of metals in surface waters and sediments. Chemical Speciation & Bioavailability **22**:1-24.

Nordhagen A et al. 2020. Nutrient Composition of Demersal, Pelagic, and Mesopelagic Fish Species Sampled Off the Coast of Bangladesh and Their Potential Contribution to Food and Nutrition Security—The EAF-Nansen Programme. Foods **9**.

Nurnadia AA, Azrina A, Amin I. 2011. Proximate composition and energetic value of selected marine fish and shellfish from the West coast of Peninsular Malaysia. International Food Research Journal:137-148.

Ojaveer E, Kalejs M. 2010. Ecology and long-term forecasting of sprat (Sprattus sprattus balticus) stock in the Baltic Sea: a review. Reviews in Fish Biology and Fisheries **20**:203-217.

Oluwaniyi OO, Dosumu OO, Awolola GV. 2010. Effect of local processing methods (boiling, frying and roasting) on the amino acid composition of four marine fishes commonly consumed in Nigeria. Food Chemistry **123**:1000-1006.

Omlin T, Weber J-M. 2010. Hypoxia stimulates lactate disposal in rainbow trout. Journal of Experimental Biology **213**:3802-3809.

Özden Ö. 2005. Changes in amino acid and fatty acid composition during shelf-life of marinated fish. Journal of the Science of Food and Agriculture **85**:2015-2020.

Park YS, Oberdorff T, Lek S. 2005. Patterning riverine fish assemblages using an unsupervised neural network. 43-53 in Modelling Community Structure in Freshwater Ecosystems. Springer-Verlag, Berlin/Heidelberg.

Parsons ME, Ganellin CR. 2006. Histamine and its receptors. British Journal of Pharmacology **147**:S127-S135.

Pilson MEQ. 2012. 2 – 732–73 in An Introduction to the Chemistry of the Sea. 2nd edition. Cambridge University Press.

Piskorska-Pliszczynska J, Maszewski S, Warenik-Bany M, Mikolajczyk S, Goraj L. 2012. Survey of Persistent Organochlorine Contaminants (PCDD, PCDF, and PCB) in Fish Collected from the Polish Baltic Fishing Areas. The Scientific World Journal **2012**:1-7.

Podda C, Sabatini A, Palmas F, Pusceddu A. 2021. Hard times for catadromous fish: the case of the European eel (Angui47nguillailla, L. 1758). Advances in Oceanography and Limnology **12**.

Polakof S, Panserat S, Soengas JL, Moon TW. 2012. Glucose metabolism in fish: a review. Journal of Comparative Physiology B **182**:1015-1045.

Promeyrat A, Gatellier P, Lebret B, Kajak-Siemaszko K, Aubry L, Santé-Lhoutellier V. 2010. Evaluation of protein aggregation in cooked meat. Food Chemistry **121**:412-417.

Putri AR, Anwar A, Chasanah E, Fawzya YN, Martosuyono P, Nuryanto, Afifah DN. 2020. Analysis of iron, calcium and zinc contents in formulated fish protein hydrolyzate (FPH) complementary feeding instant powder. Food Research **4**:63-66.

Radinger J et al. 2019. Effective monitoring of freshwater fish. Fish and Fisheries **20**:729-747.

Rego A, Coelho I, Motta C, Cardoso C, Gomes-Bispo A, Afonso C, Prates JAM, Bandarra NM, Silva JAL, Castanheira I. 2022. Seasonal variation of chub mackerel (*Scomber colias*) selenium and vitamin B12 content and its potential role in human health. Journal of Food Composition and Analysis **109**.

Rheinheimer C. 2012. 1 in Microbial Ecology of a Brackish Water Environment. Springer Berlin Heidelberg.

Riveiro I et al. 2011. Identification of subpopulations in pelagic marine fish species using amino acid composition. Hydrobiologia **670**:189-199.

Rui Y, Bai J, Perrimon N. 2010. Sarcomere Formation Occurs by the Assembly of Multiple Latent Protein Complexes. PLoS Genetics **6**.

Salgueiro MJ, Zubillaga MB, Lysionek AE, Caro RA, Weill R, Boccio JR. 2002. The role of zinc in the growth and development of children. Nutrition **18**:510-519.

Salze GP, Davis DA. 2015. Taurine: a critical nutrient for future fish feeds. Aquaculture **437**:215-229.

Sandor Z, Papp ZG, Csengeri I, Jeney Z. 2011. Fish meat quality and safety. Meat Technology **52**:97-105.

Semedo Tavares WP, Dong S, Jin W, Yang Y, Han K, Zha F, Zhao Y, Zeng M. 2018a. Effect of different cooking conditions on the profiles of Maillard reaction products and nutrient composition of hairtail (*Thichiurus lepturus*) fillets. Food Research International **103**:390-397.

Semedo Tavares WP, Dong S, Yang Y, Zeng M, Zhao Y. 2018b. Influence of cooking methods on protein modification and in vitro digestibility of hairtail (*Thichiurus lepturus*) fillets. LWT **96**:476-481.

Sidell B‘, O'Brien KM. 2006. When bad things happen to good fish: the loss of hemoglobin and myoglobin expression in Antarctic icefishes. Journal of Experimental Biology **209**:1791-1802.

Singh N, Tripathi M. 2015. Fluoride Toxicity In Freshwater Fishes and Aquaculture: a Review. Indian Journal of Life Sciences **4**:115-124.

Soengas JL, Aldegunde M. 2002. Energy metabolism of fish brain. Comparative Biochemistry and Physiology Part B: Biochemistry and Molecular Biology **131**:271-296.

Sommer U, Sommer F, Santer B, Jamieson C, Boersma M, Becker C, Hansen T. 2001. Complementary impact of copepods and cladocerans on phytoplankton. Ecology Letters **4**:545-550.

Souza MLR de, Macedo-Viegas EM, Zuanon JAS, Carvalho MRB de, Goes ES dos R. 2015. Processing yield and chemical composition of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) with regard to body weight. Acta Scientiarum. Animal Sciences 37:103-108.

Squire JM, Paul DM, Morris EP. 2017. Myosin and Actin Filaments in Muscle: Structures and Interactions. Fibrous Proteins: Structures and Mechanisms:319-371.

Storebakken T, Shearer KD, Roem AJ. 1998. Availability of protein, phosphorus and other elements in fish meal, soy-protein concentrate and phytase-treated soy-protein-concentrate-based diets to Atlantic salmon, Salmo salar. Aquaculture **161**:365-379.

Subhan F, Hussain Z, Tauseef I, Shehzad A, Wahid F. 2021. A review on recent advances and applications of fish collagen. Critical Reviews in Food Science and Nutrition **61**:1027-1037.

Subhy Alsheikhly A, Subhy Alsheikhly M. 2019. Musculoskeletal Injuries: Types and Management Protocols for Emergency Care. Essentials of Accident and Emergency Medicine. IntechOpen.

Sugiura SH, Hardy RW, Roberts RJ. 2004. The pathology of phosphorus deficiency in fish – a review. Journal of Fish Diseases **27**:255-265.

Suman SP, Joseph P. 2013. Myoglobin Chemistry and Meat Color. Annual Review of Food Science and Technology **4**:79-99.

Sun XD, Holley RA. 2011. Factors Influencing Gel Formation by Myofibrillar Proteins in Muscle Foods. Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety **10**:33-51.

Sutela T, Vehanen T, Jounela P. 2020. Longitudinal patterns of fish assemblages in European boreal streams. Hydrobiologia **847**:3277-3290.

Šimat V, Hamed I, Petričević S, Bogdanović T. 2020. Seasonal Changes in Free Amino Acid and Fatty Acid Compositions of Sardines, *Sardina pilchardus* (Walbaum, 1792): Implications for Nutrition. Foods **9**:867.

Tarley CRT, Visentainer JV, Matsushita M, de Souza NE. 2004. Proximate composition, cholesterol and fatty acids profile of canned sardines (Sardinella brasiliensis) in soybean oil and tomato sauce. Food Chemistry **88**:1-6.

Thuenemann EC. 2015. Dynamic Digestion Models: General Introduction. 33-36 in The Impact of Food Bioactives on Health. Springer International Publishing.

Tocher DR. 2003. Metabolism and Functions of Lipids and Fatty Acids in Teleost Fish. Reviews in Fisheries Science **11**:107-184.

Tomé D. 2021. Protein digestion and bioavailability. Reference Module in Food Science. Elsevier.

Tseng Y-C, Hwang P-P. 2008. Some insights into energy metabolism for osmoregulation in fish. Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology **148**:419-429.

Turck D et al. 2021. Isomaltulose and normal energy-yielding metabolism: evaluation of a health claim pursuant to Article 13(5) of Regulation (EC) No 1924/2006. EFSA Journal **19**.

Usydus Z, Szlifder-Richert J, Adamczyk M. 2012. Variations in proximate composition and fatty acid profiles of Baltic sprat (*Sprattus sprattus balticus*). Food Chemistry **130**:97-103.

Villéger S, Blanchet S, Beauchard O, Oberdorff T, Brosse S. 2011. Homogenization patterns of the world's freshwater fish faunas. Proceedings of the National Academy of Sciences **108**:18003-18008.

Vinnikova L, Synytsia O, Kyshenia A. 2019. The Problems of Meat Products Thermal Treatment. Journal od Food Science and Technology - Ukraine **13**:44-57.

Vlieg P, Murray T, Body DR. 1993. Nutritional Data on Six Oceanic Pelagic Fish Species from New Zealand Waters. Journal of Food Composition and Analysis **6**:45-54.

Wall R, Ross RP, Fitzgerald GF, Stanton C. 2010. Fatty acids from fish: the anti-inflammatory potential of long-chain omega-3 fatty acids. Nutrition Reviews **68**:280-289.

Watanabe F, Bito T. 2018. Vitamin B 12 sources and microbial interaction. Experimental Biology and Medicine **243**:148-158.

Wolfe RR, Rutherfurd SM, Kim I-Y, Moughan PJ. 2016. Protein quality as determined by the Digestible Indispensable Amino Acid Score: evaluation of factors underlying the calculation. Nutrition Reviews **74**:584-599.

Wickham MJS, Faulks RM, Mann J, Mandalari G. 2012. The Design, Operation, and Application of a Dynamic Gastric Model. Dissolution Technologies **19**:15-22.

Yamaguchi M. 2016. The Application of Fish. Corrosion Control and Surface Finishing:225-236. Springer Japan, Tokyo.

Ytrestøyl T, Coral-Hinostroza G, Hatlen B, Robb DHF, Bjerkeng B. 2004. Carotenoid and lipid content in muscle of Atlantic salmon, *Salmo salar*, transferred to seawater as 0 or 1 smolts. Comparative Biochemistry and Physiology Part B: Biochemistry and Molecular Biology **138**:29-40.

Zeitoun MM, Mehana E-SE. 2014. Impact of Water Pollution with Heavy Metals on Fish Health: Overview and Updates. Global Veterinaria **12**:219-231.