

Jihočeská universita v Českých Budějovicích

Fakulta rybářství a ochrany vod

Ústav akvakultury a ochrany vod

Diplomová práce

**Vliv vykrvení na kvalitu masa kapra obecného
(*Cyprinus carpio*)**

Autor: Bc. Michal Kubík

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

Konzultant diplomové práce: Mgr. Zuzana Linhartová, Ph.D.

Studijní program a obor: Rybářství a ochrana vod

Forma studia: Prezenční

Ročník: 2.

České Budějovice, 2017

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

12. května 2017

Podpis studenta

Poděkování

Děkuji svému vedoucímu práce Ing. Janu Mrázovi, Ph.D. a Ing. Kristýně Siglové za metodické vedení, odbornou pomoc, poskytnuté rady, trpělivost a cenné připomínky v průběhu psaní diplomové práce.

Vlastní experimentální práce byla finančně podporována projektem CENAKVA, cíl kvalita ryb.

ZADÁNÍ DIPLOMOVÉ PRÁCE

(PROJEKTU, UMĚLECKÉHO DÍLA, UMĚLECKÉHO VÝKONU)

Jméno a příjmení: **Bc. Michal KUBÍK**
Osobní číslo: **V15N004P**
Studijní program: **N4106 Zemědělská specializace**
Studijní obor: **Rybářství a ochrana vod**
Název tématu: **Vliv vykrvení na kvalitu masa kapra obecného (*Cyprinus carpio*)**
Zadávací katedra: **Ústav akvakultury a ochrany vod**

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

Cílem diplomové práce bude vypracovat literární řešerši zaměřenou na problematiku vlivu vykrvení na kvalitu masa ryb a průběh postmortálních změn a v praxi otestovat jeho vliv na kvalitativní parametry u kapra obecného (*Cyprinus carpio*).

V rámci vypracování DP bude v první řadě zpracována literární řešerše zaměřená na problematiku vlivu vykrvení na kvalitu masa ryb a průběh postmortálních změn v rybím mase. Hlavní kapitoly budou zaměřeny na postmortální změny v rybím mase, vliv vykrvení na kvalitu masa, faktory ovlivňující proces vykrvení, metody vykrvení.

Hlavní náplní práce bude praktické otestování vlivu vykrvení na kvalitativní parametry masa kapra obecného a průběh postmortálních změn. Sledován bude vliv na barvu masa, senzorycké vlastnosti, mikrobiologické parametry a oxidaci tuků. Zjištěná data budou porovnána s dostupnou literaturou. Na závěr bude proveden návrh praktických možností optimalizace procesu vykrvení při zpracování ryb v ČR.

Práce bude probíhat v laboratořích a zpracovně ÚAOV.

Práce bude finančně podporována projektem CENAKVA, cíl kvalita ryb.

Rozsah grafických prací: **dle potřeby (do 20 stran)**
Rozsah pracovní zprávy: **50 - 70 stran**
Forma zpracování diplomové práce: **tištěná**
Seznam odborné literatury: **viz příloha**

Vedoucí diplomové práce: **Ing. Jan Mráz, Ph.D.**
Ústav akvakultury a ochrany vod
Konzultant diplomové práce: **Mgr. Zuzana Linhartová, Ph.D.**
Ústav akvakultury a ochrany vod
Datum zadání diplomové práce: **11. prosince 2016**
Termín odevzdání diplomové práce: **4. května 2018**


prof. Ing. Otomar Linhart, DrSc.
děkan

L.S.


Ing. Jan Mráz, Ph.D.
ředitel

Ve Vodňanech dne 11. prosince 2016

Příloha zadání diplomové práce

Seznam odborné literatury:

Digre, H., Erikson, U., Misimi, E., Standal, I.B., Gallart-Jornet, L., Riebroy, S., Rustad, T., 2011. Bleeding of farmed Atlantic cod: Residual blood, color, and quality attributes of pre- and post-rigor fillets as affected by perimortem stress and different bleeding methods. *Journal of Aquatic Food Product Technology* 20: 391-411.

Duran, A., Erdemli, U., Karakaya, M., Yilmaz, M.T., 2008. Effects of slaughter methods on physical, biochemical and microbiological quality of rainbow trout *Oncorhynchus mykiss* and mirror carp *Cyprinus carpio* filleted in pre-, in- or post-rigor periods. *Fisheries Science* 74(5): 1146-56.

Erikson, U., Misimi, E., 2008. Atlantic salmon skin and fillet color changes effected by perimortem handling stress, rigor mortis, and ice storage. *Journal of Food Science* 73(2): C50-C9.

Erikson, U., Misimi, E., Fismen, B., 2010. Bleeding of anaesthetized and exhausted Atlantic salmon: body cavity inspection and residual blood in pre-rigor and smoked fillets as determined by various analytical methods. *Aquaculture Research* 41(4): 496-510.

Maqsood, S., Benjaluk, S., 2011. Effect of bleeding on lipid oxidation and quality changes of Asian seabass (*Lates calcarifer*) muscle during iced storage. *Food Chemistry* 124: 459-467.

Morkore, T., Mazo T., P.I., Tahirovic, V., Einen, O., 2008. Impact of starvation and handling stress on rigor development and quality of Atlantic salmon (*Salmon salar* L). *Aquaculture* 277(3-4): 231-8.

Olsen, S.H., Joensen, S., Tobiassen, T., Heia, K., 2014. Quality consequences of bleeding fish after capture. *Fisheries Research* 153: 103-107.

Sakai, T., Ohtsubo, S., Minami, T., Terayama, M., 2006. Effect of bleeding on haemoglobin contents and lipid oxidation in the Skipjack muscle. *Bioscience, Biotechnology and Biochemistry* 70(4): 1006-1008.

Sohn, J.H., Ushio, H., Ishida, N., Yamashita, M., Terayama, M., Oshima, T., 2007. Effect of bleeding treatment and perfusion of yellowtail on lipid oxygenation in post-mortem muscle. *Food Chemistry* 104: 962-970.

Varga, D., Szabo, A., Hancz, C., Jeney, Z., Ardo, L., Molnar, M., Molnar, T., 2014. Impact of Handling and Pre-Mortal Stress on the Flesh Quality of Common Carp (*Cyprinus carpio* L.). *Israeli Journal of Aquaculture-Bamidgeh* 66:1-6.

Obsah

1	Úvod	9
2	Literární přehled	11
2.1	Kvalita rybího masa	11
2.2	Zrání a kažení masa ryb	12
2.2.1	Rigor mortis	13
2.2.2	Autolytické procesy	15
2.2.3	Mikrobiální procesy	16
2.2.4	Oxidace lipidů	18
2.3	Metody zabíjení	19
2.4	Vykrvení	20
2.5	Vliv vykrvení	21
2.5.1	Vliv na barvu	22
2.5.2	Vliv na zrání a kažení	23
2.6	Faktory ovlivňující vykrvení	24
3	Materiál a metodika	26
3.1	Ryby	26
3.2	Stanovení barvy	26
3.3	Senzorické hodnocení	27
3.4	Mikrobiologický obraz	27
3.5	Oxidace lipidů	28
3.6	Koncentrace hemu	29
3.7	Statistické vyhodnocení	29
4	Výsledky	30
4.1	Stanovení barvy	30
4.2	Senzorické hodnocení	32
4.3	Mikrobiologický obraz	40
4.4	Oxidace lipidů	41
4.5	Koncentrace hemových částic	42
5	Diskuze	44
6	Závěr	48
7	Literatura	49
8	Abstrakt	57

9 Abstract..... 58

1 Úvod

Udržení co možná nejvyšší kvality rybího masa je jedním z hlavních cílů veškerých zpracovatelských procesů. V poslední době se hodně pozornosti věnuje získání informací o vlivu různých metod omráčení, zabití a zpracování a jejich dopadu na výslednou kvalitu rybího masa (Lambooij a kol., 2010; Llonch a kol., 2012; Kiessling a kol., 2004; Rahmanifarah a kol., 2011).

Podmínky technologie usmrcení ryb v České republice upravuje zákon č. 246/1992 Sb., na ochranu zvířat proti týrání. Možnosti usmrcování ryb jsou v daném zákoně řešeny §5i. Další možnosti průmyslového omračování a zpracování ryb upravuje vyhláška č. 382/2004 Sb., o ochraně hospodářských zvířat při porážení, utrácení nebo jiném usmrcování.

Mezi zákonné metody omračování ryb uvedené v §7 odst. 6) vyhlášky č. 382/2004 Sb., o ochraně hospodářských zvířat při porážení, utrácení nebo jiném usmrcování patří zařízení využívající střídavý elektrický proud o napětí 220 V, plyn CO₂, jiný plyn nebo směs plynů schválené podle zvláštního právního předpisu. Některé z těchto metod, jako je udušení či použití CO₂, mohou být příliš pomalé. Nevhodné postupy usmrcení, či skladování ryby před usmrcením, mohou být následovány extrémními reakcemi na stres a zvýšenou svalovou aktivitou při zabíjení (Rahmanifarah a kol., 2010; Erikson, 2011). Výsledek těchto procesů se pak může projevit v různých změnách posmrtného metabolismu, jako je zvýšená anaerobní glykolýza, změna pH, rychlý nástup rigor mortis (Wilkinson a kol., 2008; Rahmanifarah a kol., 2011) a zrychlená proteolytická aktivita (Bahaud a kol., 2010).

Všechny tyto změny mohou vést ke zhoršení kvality masa. Často se projevují měknoucí texturou, snížením vaznosti vody, světlejší barvou a vyšším „gapingem“ (vznikem mezer ve svalovině v důsledku prudkého průběhu rigor mortis) (Robb a kol., 2000; Kiessling a kol., 2004).

V praxi se nejčastěji používají metody zabíjení založené na jednoduchosti a minimalizaci provozních nákladů. Jendou z nejstarších metod je zabití ryb udušením. Tato metoda však může u některých druhů způsobit dlouhodobé trápení před smrtí

(Poli a kol., 2005). Nejnovější techniky jsou založeny na omráčení a následném vykrvení, které se, dle litery zákona 246/1992 Sb., u ryb provádět nemusí. Slouží nejen jako nástroj rychlého usmrcení, ale zároveň odstraňují krev z těla, což se může odrazit v čerstvosti, skladovatelnosti a kvalitě rybího masa a výrobků z něj.

Dle odstavce 3) zákona č. 246/1992 Sb. se porážení jatečných zvířat vykrvením může provádět pouze po jejich omráčení zaručující ztrátu citlivosti. V tomto případě tedy odpadá možnost usmrcení vykrvením, která je ve světě hojně používaná. Tato metoda je založena na proříznutí žaber a navrácení neomráčených ryb zpět do nádrže s vodou. Robb (2001) považuje tuto metodu za nejlepší z pohledu vykrvení.

2 Literární přehled

2.1 Kvalita rybího masa

Kvalita rybího výrobku není odvislá od jednoho faktoru, nicméně je to soubor jejích vlastností, které se podílí na jejím hodnocení. Kvalita rybího výrobku je ovlivněna faktory jako je druh ryby, stáří ryby, obsah tuku ve svalovině, pohlaví a výtěrové období, sezónnost, kondice a životní prostředí s ohledem na výskyt parazitů a kontaminantů (Pedrosa-Menabrito a Regenstein, 1990; Ghaly a kol., 2010; Lucera a kol., 2012). Gram a Dalgaard (2002) uvádějí další faktory, jako jsou pH, teplota a aktivita vody. Většinu těchto faktorů však nejsme schopni zásadně ovlivnit. Jedním z faktorů, který se může odrazit v kvalitě masa je lidský faktor. Nedbalé zacházení, manipulace, nevhodné skladování či špatně zvolený způsob nebo načasování zpracovatelských procesů, se může projevit ztrátou kvality rybího produktu. Těmto ztrátám se lze celkem snadno vyhnout, nicméně ani při dodržení nejlepších opatření nelze očekávat zlepšení kvality špatné vstupní suroviny (Pedrosa-Menabrito a Regenstein, 1990). Ztráta kvality je nevratný proces. Získání kvalitních ryb je tak primární pro výslednou kvalitu produktu. Ke všem dalším procesům by se mělo přistupovat s nejvyšší opatrností a v co nejkratším čase, by měla být ryba zpracována a zchlazena (Eddie, 1971). Hansen (1980) uvádí rychlost zchlazení jako zásadní pro udržení kvality.

Bourne (2002) uvádí hodnocení kvality potravin podle čtyř základních aspektů:

1. Senzorické vlastnosti - jsou chápány jako takové, které člověk vnímá svými smysly či vjemy, které jsou zpracovávány centrální nervovou soustavou (Ingr a kol., 1997). Mezi nejčastěji hodnocená sensorická kritéria pak patří vůně, chuť, pachut', konzistence a vzhled suroviny.

2. Čerstvost - hraje při posuzování kvality významnou roli, ačkoli není možné ji přesně definovat. Na její hodnocení má vliv mnoho faktorů, a zhoršení kteréhokoli z nich pak může znamenat úplnou ztrátu čerstvosti, bez ohledu na ostatní. Ztráta čerstvosti je způsobena kombinací změn v mikrobiologickém a chemickém složení i fyzickém stavu suroviny (Connell, 1980; Olafsdóttir a kol., 1997).

3. Splnění nutričních parametrů - dostatek kvalitních proteinů, obsah vitamínů a minerálních látek a zejména pak složení lipidů v závislosti na kvalitě a kvantitě polynenasycených mastných kyselin (Sampels a kol., 2014).

4. Hygienická nezávadnost potravin - je definována jako její stav, který při konzumaci neohroží zdravotní stav konzumenta. Tento parametr je pak posuzován zejména z pohledu výskytu patogenů v rybím mase (Huss a kol., 2004), či jiných cizorodých látek, alergenů, nebo těžkých kovů (ES č. 1881/2006; ES č. 2073/2005).

Všechny tyto vlastnosti jsou pak různě ovlivňovány v průběhu zpracování a skladování. Pro dosažení nejvyšší kvality rybiho produktu je potřeba vhodně zvolit a načasovat zpracovatelské postupy a dodržovat zásady bezpečného skladování.

2.2 Zrání a kažení masa ryb

Zrání a kažení ryb je soubor chemických a biochemických změn, které mohou mít pozitivní i negativní vliv na výslednou kvalitu produktu. V průběhu zrání a kažení se v mase rozkládají různé látky a naopak jiné se formují. Nově vzniklé produkty mohou mít za následek zlepšení, ale i zhoršení kvality masa, jeho sensorických vlastností a dalších kvalitativních ukazatelů.

V živém organismu se fyziologickými pochody udržuje homeostáze a probíhají pochody energetického a látkového metabolismu. Tyto procesy jsou závislé na příjmu živin, kyslíku, teplotě těla, stálých hodnotách krve a vylučování metabolitů z těla (Ingr, 2003). Všechny procesy ve svalovině jsou energeticky dotované pomocí štěpení adenosin trifosfátu (dále jen ATP) na adenosin difosfát (dále jen ADP) a fosfátovou skupinu. ATP se pak z těchto dvou složek znovu syntetizuje. Energie k této syntéze je ve svalech získávána ze štěpení sacharidů, zejména glykogenu. Za normálních okolností je glykogen rozštěpen na vodu a oxid uhličitý, tento proces se nazývá glykolýza (Pipek a Jirotková, 2001).

Usmrcením ryby se homeostáze přeruší a následuje proces chemických a biochemických změn v rybí svalovině, který se odráží ve výsledné kvalitě rybiho produktu (Berkel a kol., 2004). V okamžiku usmrcení organismu se zastaví činnost srdce a přeruší

se cirkulace krve. Tím dojde k přerušení transportu látek v obou směrech (Pipek a Jirotková, 2001). Proces obnovy ATP se však okamžikem smrti nepřeruší. Z důvodu nedostatku kyslíku není možné dále využívat lipidy ani aerobní glykolýzu pro syntézu ATP, a tak jediným zdrojem zůstává anaerobní glykolýza. Ta má v porovnání s aerobní glykolýzou nižší efektivitu a jako vedlejší produkt vzniká kyselina mléčná (FAO, 2005). V důsledku přerušení vylučování metabolitů se kyselina mléčná v těle hromadí, čímž se snižuje pH svaloviny (Delbarre-Landrat a kol., 2006). Anaerobní glykolýza pokračuje do vyčerpání glykogenu.

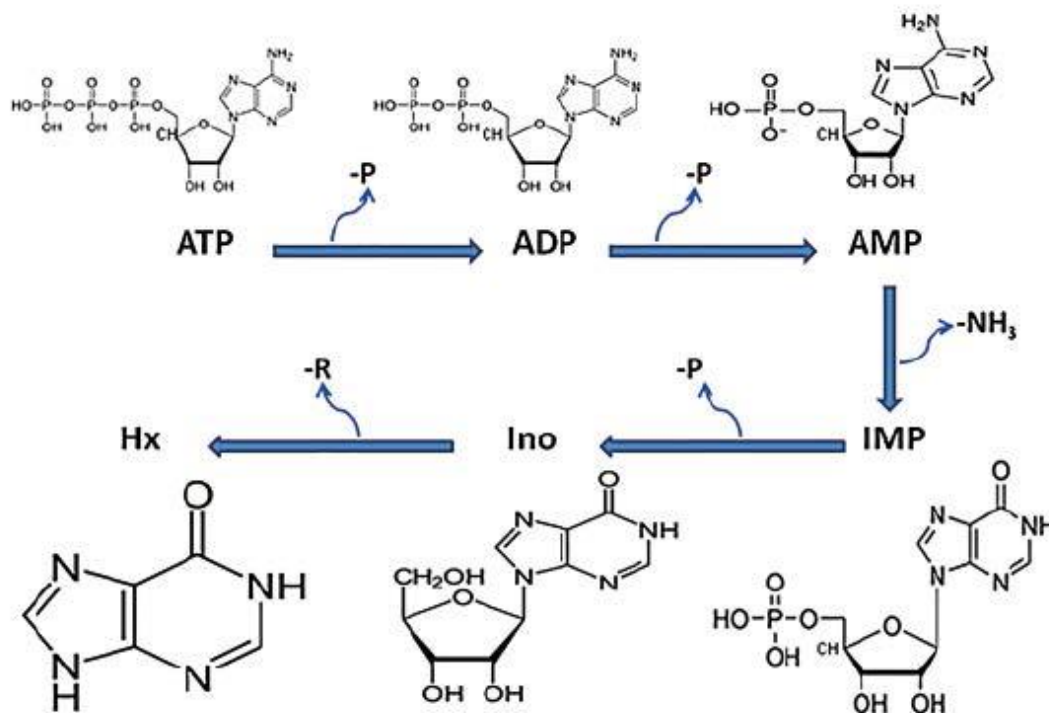
2.2.1 Rigor mortis

V momentě, kdy koncentrace ATP klesne pod hranici 1 - 2 $\mu\text{mol}\cdot\text{g}^{-1}$ buňky přestanou být schopné odvádět vápník, který se uvolňuje z mitochondrií. Jeho zvýšená koncentrace aktivuje enzym ATP – ázu. V důsledku aktivace tohoto enzymu ve spojení s vysokou koncentrací vápníkových iontů, dojde k interakci mezi hlavními pohybovými proteiny – aktinem a myosinem, za vzniku aktimyosinového komplexu (Kapute, 2009; Huss, 1995; Adebowale a kol., 2008). V důsledku vytváření aktimyosinového komplexu se z masa začne vytrácet jeho elasticita, svalovina se začne smršťovat, tuhnout a ztrácet vaznost vody. Proto je rigor významný především pro načasování zpracování do období před nebo v průběhu rigoru. V rigoru je tělo ryby kompletně tuhé, což se odrazí v menší výtěžnosti filetu a špatné zacházení může navíc způsobit gapping. Pokud je fileť provedena před nástupem rigoru, sval se může volně zkracovat a fileť se po nástupu rigoru může zkrátit. Červená svalovina se může zkrátit až o 52 %, zatímco světlá svalovina až o 15 % původní délky (Huss, 1995).

Tyto procesy pak mohou v závislosti na rychlosti a intenzitě rigoru značně ovlivnit kvalitu masa. Snížená hodnota pH působí pozitivně proti nárůstu cizorodých bakterií. Z důvodu nízkého obsahu glykogenu ve svalovině ryb, je pak okyselení v průběhu rigor mortis pouze mírné, což má za následek zkrácení doby uchovatelnosti (Ingr, 2004). Odeznění rigoru je pak závislé na jeho nástupu. Zpomalením nástupu a odeznění rigoru se pak může pozitivně ovlivnit doba skladovatelnosti (Merten, 2012). Rychlost rigoru je

ovlivněna mnoha faktory například druhem ryby, fyziologickým stavem, způsobem usmrcení a zdravotním stavem. Nejdůležitějšími jsou pak teplota a stres před zabitím. Stres ovlivňuje koncentraci glykogenu ve svalovině, zatímco teplota ovlivňuje především rychlost chemických procesů. Kombinace těchto faktorů pak může mít za následek prudký průběh rigoru, který může vyústit v přetržení svalových tkání, ztrátu vaznosti vody či měknutí textury. Všechny tyto dopady mohou vést ke snížení kvality masa (Huss, 1995; Love a Hag, 1970; Robb, 2001, Sorensen a kol., 1997).

Současně probíhá ve svalovině i degradace ATP na adenosin difosfát (ADP), adenosin monofosfát (AMP), inosin monofosfát (IMP), inosin (Ino) a hypoxantin (Hx). Tento proces je znázorněn na obrázku č. 1. (Goodrich a Balakireva, 2015). Inosin monofosfát je spojován s žádoucími příchutěmi čerstvé ryby, zatímco inosin a hypoxantin jsou považovány za látky, které mohou způsobit hořkou chuť masa (Huss, 1995). Tento proces je znázorněn na obrázku č. 1. (Goodrich a Balakireva, 2015).



Obrázek č. 1: Znázornění degradace ATP (adenosin trifosfát) na ADP (adenosin difosfát), AMP (adenosin monofosfát), IMP (inosin monofosfát), Ino (inosin) a Hx (hypoxantin). P pak znázorňuje fosfátovou skupinu, R ribózu a NH₃ amoniak (Goodrich a Balakireva, 2015).

2.2.2 Autolytické procesy

Odezňování rigor mortis je způsobeno činností autolytických enzymů. Většina z nich je v kyselém prostředí neaktivní. Jedním z aktivních enzymů je laktátdehydrogenáza, která je odpovědná za degradaci kyseliny mléčné na vodu a oxid uhličitý (Ingr, 2004). Při degradaci kyseliny mléčné zároveň dochází k uvolnění aktimyosinového komplexu, čímž dochází k uvolnění rigoru a zároveň k zvýšení hodnoty pH. Nativní proteázy postupně degradují bílkoviny na kratší meziprodukty, částečně až na aminokyseliny a nativní lipázy hydrolyzují část lipidů. Produkty a meziprodukty autolytických změn vytváří prekurzory chutě a vůně typické pro maso ryb (Ingr, 2004, Merten, 2012). Autolytické procesy však nemusí mít na maso pouze pozitivní vliv. Hansen a kol. (1996) uvádí negativní vliv na strukturu masa v raných stádiích zrání. Uvádí též možnost zhoršení skladovatelnosti v důsledku činnosti autolytických enzymů i za velmi nízkého působení cizorodých organismů. Fraiser a Sumar (1998) uvádí možnost výskytu peptidů a volných aminokyselin, vedoucích k rychlejšímu nárůstu mikroorganismů a produkce biogenních aminů, jako výsledek autolýzy svalových proteinů. Souhrn vybraných enzymatických změn je uveden v tabulce č. 1.

Tabulka č. 1: Seznam vybraných enzymů podílejících se na enzymatických změnách v rybím masu. Upraveno podle Huss (1995).

Enzym	Substrát	Efekt	Prevence
Glykolytické enzymy	Glykogen	Produkce kys. mléčné a snížení pH	Snížení stresu před zabitím
Autolytické enzymy účastníci se rozpadu nukleotidů	ATP, ADP, AMP, IMP	postupná produkce Hypoxantinu	Snížení stresu před zabitím, opatrná manipulace
Katepsin	Proteiny, peptidy	Měknutí svaloviny	Opatrná manipulace při skladování
Chymotrypsin, trypsin, karboxy-peptidázy	Proteiny, peptidy	Praskání břicha	Nastává zejména při dlouhodobém skladování v mrazu
Kalpain	Myofibrilální proteiny	Měknutí svaloviny	Odstranění vápníku
Kolagenázy	Pojivová vlákna	Měknutí a roztrhání svaloviny	Délka a teplota skladování

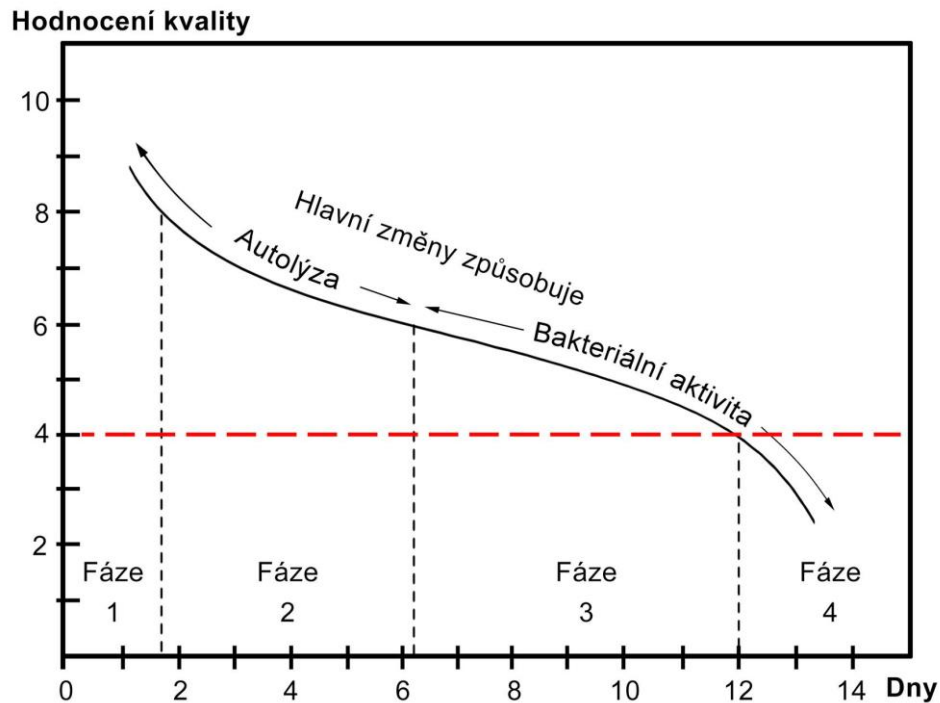
ATP (adenosin trifosfát), ADP (adenosin difosfát), AMP (adenosin monofosfát), IMP (inosin monofosfát).

2.2.3 Mikrobiální procesy

V důsledku autolytických procesů vznikají mnohé meziprodukty, jako jsou jednoduché cukry, volné aminokyseliny či volné mastné kyseliny, které jsou snadno využitelné bakteriemi (Delbarre-Landrat a kol., 2006). K rozvoji mikroorganismů přispívají zvýšené hodnoty pH či autodegradace pojivové tkáně, která usnadní přístup bakteriím (Gram a Huss, 2000; Merten, 2012). Tyto organismy produkují mikrobiální enzymy, především proteázy a lipázy, které štěpí tuky a bílkoviny. Mnoho z proteolytických enzymů lze najít v trávicí soustavě ihned po ulovení. Tyto enzymy pak přispívají k posmrtné degradaci svaloviny v průběhu skladování (Engvang a Nielsen, 2001). Při nesprávném skladování může v důsledku proteolýzy dojít až k rozpuštění proteinů (Lin a Park, 1996).

Mikrobiologické kažení se odráží především od mikrobiálního oživení vody, ve které ryba žila či byla přechovávána. Rybí mikroflóra zahrnuje druhy bakterií, jako je *Pseudomonas*, *Alcaligenes*, *Vibrio*, *Serratia* a *Micrococcus* (Gram a Huss 2000). Růst a metabolismus mikrobiálních složek je hlavní příčinou kažení rybího masa, vzniku aminů, biogenních aminů, jako je putrescin, histamin a kadaverin, organických kyselin, alkoholů, sulfidů, aldehydů a ketonů a jiných látek vyvolávajících změnu chuti, vůně a zdravotní způsobilosti rybích výrobků (Dalgaard a kol, 2006; Embrong a kol., 2005; Gram a Dalgaard, 2002). Zkažení neošetřeného rybího masa je většinou výsledkem gram-negativních, kvasných bakterií (např. *Vibrionaceae*), kdežto psychrotolerantní gram-negativní bakterie (např. *Pseudomonas spp.*, *Shewanella spp.*) se vyskytují spíše v chlazeném mase (Gram a Huss, 2000). To je důležité zejména pro rozpoznání neškodné mikroflóry od bakterií podílejících se na kažení masa (Huss, 1995). Z hlediska zpracování je vhodné před zabitím rybu nějaký čas nekrmit, aby došlo k vyprázdnění trávicího traktu. Ten v průběhu krmení obsahuje mnohonásobně vyšší počet bakterií, produkujících trávicí enzymy (Huss, 1995). Snížením obsahu trávicí soustavy se zpozdí proces kažení a sníží aktivita trávicích enzymů. Zejména pokud ryba směřuje do dalšího zpracování (např. filetování a zmrazení), může být přerušeno krmení určujícím prvkem následné doby životnosti (Huidobro a Tejada, 2004). Obecně se používá doba hladovění 1 – 3 dny v závislosti na teplotě. Ferreira Pinto a kol. (2007) doporučují minimální dobu hladovění u mořana zlatého (*Sparus aurata*) 1 den a maximální dobu 8 dní. Jedním z problému

je ztráta v důsledku hladovění a to kolem 1 % hmotnosti a změny mechanických vlastností svaloviny, kdy dochází k tuhnutí svaloviny v důsledku změny rozpustnosti proteinů a pH (Gines a kol, 2002).



Obrázek č. 2: Změny v kvalitě masa v průběhu skladování podle Hussa (1995). Přerušovaná vodorovná čára značí hranici požitelnosti.

Celkový průběh zrání a kažení masa je vyjádřen na obr. č. 2. První dvě fáze jsou způsobeny výše popsanou autolýzou. Třetí a čtvrt fáze je způsobená převážně mikrobiologickou činností, především bakteriemi, které změni kvalitu masa až do stádia nepoživatelnosti (Abbas a kol., 2009). Olafsdottir a kol. (2006) uvádí *Photobacterium phosphoreum* jako dominantní složku bakterií podílejících se na kažení rybiho masa při 0 °C, 7 °C i 15 °C. *Pseudomonas spp.* pak označují jako zdroj sladkého, ovocného zápachu, zatímco bakterii *Shewanella putrefacineas* uvádí jako zdroj H₂S. Nuin a kol. (2008) prokázali nejvyšší rychlost bakteriálního růstu u *Pseudomonas spp.* při 0 °C a 15 °C. Této bakterii také přiřkládají nejvyšší odpovědnost za zkažení masa.

2.2.4 Oxidace lipidů

Změna ve složení masa v průběhu skladování může vyústit až v oxidaci lipidů (Ghaly a kol., 2010). Z hlediska oxidace je rybí maso velmi náchylné, a to zejména díky vysokému obsahu polynenasycených mastných kyselin (Kopřiva a kol., 2014).

Oxidace lipidů zahrnuje tři fáze: zahájení, propagace a terminace (Frankel, 1985; Khayat a Schwall, 1983). Zahájení zahrnuje tvorbu volných radikálů přes katalyzátory, jako je teplo, ionty kovů či záření. Volné radikály pak reagují s kyslíkem a vytváří peroxylové radikály. V průběhu propagace peroxylové radikály reagují s ostatními molekulami lipidů za vzniku hydroperoxydázy a nových volných radikálů (Fraser a Sumar, 1998; Hultin, 1994). Terminace nastane, když spolu volné radikály zreagují do formy neradikálního produktu. Oxidace obvykle obsahuje reakci kyslíku a dvojně vazby mastné kyseliny. Z tohoto důvodu jsou rybí tuky, které obsahují vyšší procento nenasycených mastných kyselin, k oxidaci náchylnější. Molekulární kyslík je ovšem třeba aktivovat, aby mohlo k takovéto reakci dojít. Nejčastějším aktivátorem jsou přechodné kovy (Hultin, 1994). V rybím mase může oxidace lipidů nastat enzymaticky či neenzymaticky.

Neenzymatická oxidace lipidů je vyvolána kovem, který je obsažen v hemoglobinu, myoglobinu a cytochromu, katalyzujícím produkci hydroperoxidáz. Rychlost a míra oxidace lipidů je přímo ovlivněna koncentrací krve ve svalovině a může být urychlena nižším pH (Grunwald a Richards, 2006; Maqsood a Benjakul, 2011; Thiansilakul a kol., 2011). Dalšími faktory vyvolávající oxidaci lipidů mohou být světlo, teplo, přítomnost iontů a radikálů. Ke spuštění autooxidační reakce pak stačí malé množství radikálů, přičemž tato reakce může být řetězová. V jejím průběhu se generují další nové radikály mastných kyselin, které zvyšují její rychlost. Autooxidace má za následek vznik aldehydů, alkanů a konjungovaných dienu (Kopřiva a kol., 2014; Sampels a kol., 2014).

Enzymatické oxidace lipidů způsobují lipoxygenázy, které obsahující železo, katalyzují oxidaci esenciálních mastných kyselin na hydroperoxydy. Hydroperoxydy však mohou být přeměněny na další reaktivní volné radikály (Kopřiva a kol., 2014). Během oxidace enzymy rozdělí triglyceridy na volné mastné kyseliny, které jsou odpovědné za změnu chuti (obecně označovanou jako žluknutí) a snížení kvality tuku (Huis In 't Veld

1996; FAO, 1986). Lypolitycké enzymy mohou být buď endogenní nebo odvozené od psychrotrofních mikroorganismů (Huis In 't Veld, 1996). Endogenní lipázy hydrolyzující tuky, přítomné v krvi, kůži a svalovině, jsou triacyllipáza, fosfolipáza A2 a fosfolipáza B (Audley a kol., 1978; Yorkowski a Brockenhoft, 1965).

Oxidace lipidů může být omezena pomocí přítomnosti antioxidantů, které převádějí volné radikály do méně či nereaktivních forem. Mezi antioxidanty v rybím masu pak patří především vitamíny A a E či antioxidační enzymy (Kopřiva a kol., 2014).

2.3 Metody zabíjení

Nutriční hodnota rybiho masa je obecně známá, stejně tak jako krátká doba, po kterou je možno jej uchovat. Výběr vhodného způsobu zabití ryb může být klíčovým faktorem, ovlivňujícím jejich pozdější hodnotu, čerstvost a skladovatelnost.

Často používaná metoda zabití je pomocí tepelného šoku, kdy se chované ryby přeloví do bazénu s vodou o teplotě 0°C. Důležité je pak kontrolovat teplotu. Pokud teplota stoupne, ryby uhynou v důsledku udušení, nikoli teplotním šokem, což se projeví na jejich vzhledu, barvě a textuře svaloviny. Smart (2001) popisuje důležitost hustoty obsádky a potřebu urychlení všech procesů tak, aby nedošlo k barevným změnám, kožním lézím či krvácení v okolí břicha.

Další metodou je zabití elektrickým proudem, které však může způsobit hodně aktivního pohybu, zlomení obratle či prasknutí cévy (Kestin a kol, 1995), což může mít za následek vznik krevních skvrn (Van de Vis a kol., 2003). Na druhou stranu Robb a Roth (2003) upřednostňují u lososa obecného (*Salmo salar*) zabití elektrickým proudem před zabitím oxidem uhličitým, protože způsobuje dřívější nástup rigor mortis. Roth a kol. (2007) prokázali u lososa obecného výrazný rozdíl v kvalitě masa při použití různých parametrů napětí a času. Dalšími parametry jsou proud a frekvence. Jejich nastavení tak, aby nedošlo k výskytu nežádoucích jevů, je pak druhově specifické (Robb, 2001; Roth a kol., 2003).

Kiessling a kol. (2004) porovnávali zabití lososa obecného oxidem uhličitým a iso-eugenolem, přičemž neshledaly žádný rozdíl v „gapingu“ nicméně maso ryb zabitých

oxidem uhličitým bylo výrazně měkčí. Sigholt a kol. (1997) uvádí, že výsledky senzorických zkoušek potvrdily výrazný rozdíl mezi skupinami stresovaných a nestresovaných lososů obecných při zabití oxidem uhličitým. Zjistili také, že struktura masa u stresovaných ryb byla v průběhu skladování měkčí.

Roth a kol. (2007) uvádí na příkladu pakambaly velké (*Scophthalmus maximus*) jako vhodný způsob zabití ryby omrácení ranou do hlavy a následné udušení. Tato metoda je ideální volbou zabití z pohledu následné kvality masa. Poli a kol. (2005) ve svém přehledu popisují větší stres ryb při zabití metodou udušení a při použití elektrického proudu oproti metodám zabití úderem, či teplotním šokem. Van de Vis a kol. (2003) uvádí na příkladu lososa obecného, mořana zlatého (*Sparus auratus*) a úhoře říčního (*Anguilla anguilla*), že zásadní vliv na kvalitu masa má rychlost zabití. Tejada a Huidobro (2004) zabíjeli mořana zlatého třemi způsoby – ledovou solnou lázní, udušení na vzduchu a omrácením ranou do hlavy a následným teplotním šokem v důsledku ponoření do ledu. Neprokázali však žádný zásadní vliv metody zabití na výslednou kvalitu masa. Při výběru vhodné metody zabití je zapotřebí brát v úvahu možnost ovlivnění vnějšími faktory či druhovou specificitou.

2.4 Vykrvení

Krev ryb je složena z krevní plasmy a buněčných elementů – červených krvinek (erytrocytů) bílých krvinek (leukocytů) a krevních destiček (trombocytů). Její množství u kostnatých ryb se pohybuje mezi 1 – 2 % hmotnosti těla dle Dvořáka a kol. (2014). Huss (1995) uvádí rozmezí 1,5 – 3%, přičemž pouze 20% objemu krve se nachází ve svalovině, zbytek je lokalizován v orgánech. Vzhledem k menší míře prokrvenosti svalové tkáně se předpokládalo, že distribuce krve je jen málo ovlivněna pohybem ryby (Huss, 1995). Nicméně Farrell a kol. (2001) prokázali, že zvýšená aktivita, hypoxie a stres před porážkou zvýší objem krve ve svalech, což by mohlo snížit účinnost vykrevení. Dalším negativním faktorem je koagulace krve, jejíž rychlost může být negativně ovlivněna v důsledku stresování ryby před zabitím (Ruis a Bayne, 1997). Zvýšená míra stresu se projeví zvýšením koncentrace hemoglobinu v krvi. Dále se v krevní plasmě

vyskytne vyšší koncentrace kortikoidů a glukózy. Zvýšená hladina stresu pak může vyvolat osmoregulační disfunkce a způsobit smrt ryby (Berka, 1986).

Olsen a kol. (2006) zjistili u lososa obecného rozdílnost v obsahu krevního pigmentu v závislosti na stresování před zabitím, kdy nestresované ryby vykazovali méně pigmentu ve filetu. Také zjistili, že způsob usmrcení ovlivňuje množství zbytkové krve ve svalovině díky hromadění krve ve svalstvu způsobené stresem, aktivitou či nedostatkem kyslíku.

Myoglobin (Mb) a Hemoglobin (Hb) jsou krevní proteiny, které obsahují železo. Hb je hlavním krevním proteinem a je vysoce koncentrovaný v červených krvinkách (Jensen, 2004). Při prasknutí krevních kapilár, ke kterému dochází zejména při zpracování, vede k distribuci Hb do celého svalstva. Mb je naopak uchovávan ve svalových strukturách a je hlavním pigmentem „tmavé“ svaloviny. Krevní proteiny se výrazně podílejí na barvě svaloviny v závislosti na jejich koncentraci a formě. (Faustman a Cassens, 1990). Obsah hemoglobinu a myoglobinu je závislý na typu svaloviny a na druhu ryby (Chaijan a kol., 2004; Maqsood a Benjakul, 2011). V průběhu rozkladných procesů se může Hb či Mb oxidovat, což má vliv na barvu svaloviny, nebo se stát volným radikálem a působit tak jako prooxidant.

2.5 Vliv vykrvení

Vynechání vykrvení nebo neadekvátní provedení tohoto procesu může mít velký vliv na celkovou kvalitu konečného produktu. Kvalitativní faktory jako je doba skladovatelnosti, chuť nebo vizuální kvalita mohou být negativně ovlivněny v důsledku chemických reakcí způsobených neodstraněnou krví ve svalovině ryb (Huss, 1995). Richards and Hultin (2002) uvádí, že zbylá krev může být katalyzátorem oxidace lipidů v průběhu skladování tučných ryb. Jako další faktory ovlivněné vykrvením udávají Ahimbisiwe a kol. (2010) zvýšení koncentrace hypoxantinu, trimethylaminu a dusíkatých bází.

2.5.1 Vliv na barvu

Krevní proteiny se výrazně podílejí na barvě svaloviny v závislosti na jejich koncentraci a formě. (Faustman a Cassens, 1990). Barva masa je tedy přímo závislá na koncentraci krve (resp. hemoglobinu a myoglobinu) ve svalstvu (Sohn a kol 2007). Olsen a kol. (2014) uvádí významný rozdíl v barevnosti filety mezi vykvrvenou a nevykvrvenou rybou. Pokud jsou ryby dostatečně vykvrveny a vykuchány bezprostředně po zabití a jsou skladovány ve vhodných podmínkách, barva jejich svaloviny je světlá. Kdybychom vynechali vykvrvení a ryby byly přímo zpracovány, barva jejich svaloviny by získala červené odstíny. V případě rychlého zmrazení a špatného vykvrvení by díky oxidaci zbytků krve získaly filety hnědou barvu. Časový rozdíl mezi zabitím a vykvrvením pak taktéž může způsobit sražení krve v oběhové soustavě a znemožnit tak vykvrvení a způsobit zhnědnutí a ztuhnutí svaloviny (Huss, 1995). Během života a ihned po smrti jsou Mb a Hb přítomny ve dvojmocné formě (Fe^{2+}), který dodává svalovině červenou barvu. S prodlužující se dobou skladování se atom železa v krevní sloučenině oxiduje na trojmocnou formu (Fe^{3+}), což má za následek zhnědnutí svaloviny (Faustman a Cassens, 1990).

Zbytková krev také může způsobit tvorbu krevních skvrn, které se objevují v průběhu skladování a ovlivňují vizuální hodnotu masa. Roth a kol. (2005) dokazují, že jejich tvorba je u pstruha duhového (*Oncorhynchus mykiss*) a lososa obecného přímo závislá na obsahu krve ve svalovině. Vykvrvení pak může zásadně snížit tvorbu těchto skvrn a zvýšit tak hodnotu suroviny. Jedná se zejména o tmavě zbarvené skvrny vyskytující v případě nedbalého zacházení s rybou před zabitím. V důsledku tvrdého úderu mohou v mase vzniknout podlitiny způsobené prasknutím jemných cév, které uvolní krev do svaloviny. Ta se pak v průběhu vykvrvení neuvolní, změní barvu masa, urychlí průběh zrání a odrazí se v tvorbě krevních sraženin (Slack – Smith, 2001). Tento problém se v největší míře projeví po využití ryby. U lososa obecného je to jeden z největších problémů zpracování, jelikož krevní skvrny značně snižují hodnotu takto upraveného masa (Michie, 2001).

2.5.2 *Vliv na zrání a kažení*

Sohn a kol. (2007) uvádí správné vykrvení jako nástroj pro odstranění většiny hemoglobinu ze svalstva, což může mít za následek zpomalení a zmírnění průběhu rigor mortis. Borderias a Sánchez-Alosno (2011) také uvádí vliv vykrvení na degradaci svalového ATP a následný průběh rigor mortis.

Skладování na ledu zaručí čerstvě vykuchané rybě dobrou kondici po několik dní. V průběhu času však maso zraje a doznává změn kvality až do stádií nežádoucích chutí a vůní. Stav znehodnocení je u ryb se světlou svalovinou dokumentován rozvíjející se červenou barvou podél páteře, v této fázi jsou ryby nevhodné pro spotřebu. Zrání se spouští v podstatě okamžikem smrti ryby. Pokud ihned poté nebyla ryba správně či vůbec vykrvena, proces zrání se urychlí a značně zkrátí, neboť krev je výborným substrátem pro bakteriální procesy. Rychlejší průběh zrání má za následek rychlejší nástup kažení kvality masa. Ryby díky nízkému obsahu kyselin jsou velmi náchylné na růst bakterií. Ten lze částečně redukovat snížením teploty za použití chladu nebo ledu (Hultmann a Rustad, 2002; Gram a Dalgaard, 2002). Richards a Hultin (2002) dokládají vysoký obsah glukózy v krvi ryb. Ta může být velmi dobrým zdrojem energie pro veškeré procesy, které vedou ke zkažení. Jejím odstraněním se pak může prodloužit doba skladovatelnosti a oddálit zkažení masa.

H_2O_2 vznikající při oxidaci krve mohou dále vytvářet ferryl-hem protein (Fe^{4+}), silný oxidant (Kanner a Harel, 1985). Autooxidace proteinů krve je odpovědná za změnu barvy masa a urychlení oxidace lipidů (Thiansilakul a kol., 2011). Sohn a kol. (2007) zjistili, že odstranění části krve nezastaví oxidaci lipidů v počátcích skladování masa na ledu, nicméně se obecně předpokládá, že odstraněním krve se odstraní velké množství prooxidativních složek, což může vést ke snížení autooxidace lipidů a proteinů a zvýšit tak kvalitu produktu v průběhu skladování.

2.6 Faktory ovlivňující vykrvení

Vykrvení je již delší dobu zkoumaným zpracovatelským postupem (Storm a Lien, 1984; Valdimarsson a kol., 1984). V odborné literatuře se vyskytuje mnoho studií o vlivu vykrvení, ale neexistuje univerzálně platný standard a je potřeba brát v úvahu mnoho dalších skutečností, které jej ovlivní (Borderias a Sánchez-Alosno, 2011). Jako hlavní faktory ovlivňující účinnost vykrvení jsou čas mezi zabitím a vykrvením a způsob vykrvení a způsob zabití.

Vykrvení je díky srážlivosti krve nutné provést v co nejkratším čase po zabití. Botta a kol. (1986) prokázali klesající účinnost vykrvení s rostoucí dobou po úmrtí ryby. U lososa obecného stanovili jako nejpozdější dobu pro vykrvení 2 hodiny po zabití. Pro důkladné vykrvení je podle Rotha a kol. (2005) důležitější vhodné načasování, nežli způsob zabití. Také dospěli k závěru, že k plnému vykrvení dojde v průběhu jedné hodiny od zabití, takže tento proces není ovlivněn nástupem rigor mortis. Lze soudit, že kvalita masa závisí spíše na rozdílu v čase mezi smrtí a vykrvením, než na samotném způsobu vykrvení. Nejvýznamnější rozdíl mezi vykrvenými a nevykrvenými rybami se objevuje při vykrvení ihned po zabití. Je tedy důležité zvolit vhodný postup zpracovatelských procesů. Je také prokázáno že, z hlediska kvality výsledného produktu, je proces vykrvení nejvhodnější zařadit mezi zabití a vykuchání (Robb a kol., 2003; Roth a kol., 2005), ačkoli Meyer a kol. (1986) či Moser (1986) dospěli k závěru, že vykrvení před vykucháním a odstraněním žaber nemá žádný efekt na parametry kvality rybiho masa jako je senzoričné hodnocení, barva, koncentrace trimethylaminu či hypoxantinu.

Dalším diskutovaným faktorem je způsob vykrvení. Jedním ze způsobů vykrvení je proříznutí žaber a navrácení ryby zpět do vody a ryba v důsledku ztráty krve zemře na udušení. Aktivním pohybem ryby je pak docíleno dobrého vykrvení. Robb (2001) či Borderias a Sánchez-Alosno (2011) popisují tento způsob jako nejlepší, v ČR je však tento způsob zabití považován za týrání zvířat. Roth a kol. (2005) nepozorovali žádný rozdíl v tvorbě krevních teček ve svalovině lososa obecného mezi skupinami, kterým byla proříznuta žábra a těmi které byly zabity ránou do hlavy a vykrveny vykucháním.

Robb a kol. (2003), v podobné studii doporučují vykrvení pomocí proříznutí žaber. Roth a kol. (2005) uvádí okamžité vykuchání jako jednu z možností vykrvení. Tato

možnost je jedna z nejjednodušších a nevyžaduje žádné další procesy. Otázkou však zůstává její efektivita. Vladimarsson a kol. (1984) ve svém výzkumu neodhalily signifikantní rozdíl mezi metodami vykrvení, nicméně novější studie uvádí vykrvení vykucháním jako méně efektivní možnost (Olsen a kol., 2006; Robb a kol., 2003; Botta kol., 1986).

Dalším faktorem ovlivňujícím vykrvení je způsob zabití. Aske a Milding (2001) uvádí u platýse obecného (*Hippoglossus hippoglossus*) vyšší úspěšnost vykrvení u ryb zabitých ranou do hlavy v porovnání s rybou zabitou pomocí oxidu uhličitého. Olsen a kol. (2006) uvádí vliv anestetik a způsobu zabití lososa obecného na množství zbytkové krve ve svalovině. Ryby, které byly anestezovány a poté ihned vykuchány vykazovaly nižší koncentrace krevních reziduí ve filetech oproti rybám, jimž byla proříznuta žábra, a došlo tak k vykrvení před vykucháním. Při zabití teplotním šokem pak nebyl prokázán vliv anestetik.

To může být způsobené prodloužením doby srážlivosti krve v důsledku nízké teploty, případně zlepšením vykrvení. Olsen a kol. (2006) taktéž uvádí možnost snížení srážlivosti krve, která je způsobena sníženou teplotou. Skladování v nižších teplotách by pak mohlo pozitivně ovlivnit míru vykrvení. Negativním vlivem na vykrvení je stresování ryby před zabitím. Farrell a kol. (2001) uvádí, že stres má negativní vliv na vykrvení. Reakcí na stres rovněž bývá zvýšená aktivita, která vede k vyšší prokrvenosti svalstva. Tato krev pak zůstává z větší části deponovaná ve svalovině, čímž se snižuje účinnost vykrvení. Pokud je ryba před zabitím stresována, v její krvi se zvýší koncentrace hemoglobinu. V krevní plasmě následně dojde ke zvýšení obsahu kortikoidů a glukózy. Stres také negativně ovlivní srážlivost krve. To může znesnadnit či až znemožnit proces vykrvení (Ruis a Bayne, 1997). Digre a kol. (2011) uvádí na příkladu tresky možnost snížení vykrvení stresem až o 12 % celkového objemu krve. Podobné výsledky uvádí i Olsen a kol. (2006).

3 Materiál a metodika

3.1 Ryby

Experiment probíhal na kapru obecném (*Cyprinus carpio*) pocházejícím z rybníčního chovu. Pro experiment bylo použito 60 kusů ryb o průměrné hmotnosti 2395,6 g \pm 287,02 g. Pro snížení stresu z přepravy byly ryby před zabitím na 24 hodin umístěny do nádrže s vodou (6°C, 96% nasycenost O₂). Ryby byly omráčeny pomocí rány do hlavy a usmrceny teplotním šokem v důsledku umístění do ledu. Náhodně byla vybrána polovina ryb k vykvrvení pomocí proříznutí žaber a krátkodobému zavěšení. Ryby byly po dobu 30 minut zavěšeny hlavou dolů pomocí háčku vsunutého do řitního otvoru. Den se ryby ponechaly uchované v ledu a poté byly vykuchány a filetovány. Den trvající pauza byla zvolena z důvodu možného vlivu odebrání vnitřností na vykvrvení ryb v kontrolní skupině. Filety byly jednotlivě zabaleny a rozděleny do skupin V (vykvrvené) a N (nevykvrvené) a rozděleny dle původu na levé a pravé. Vzorky byly skladovány po celou dobu experimentu v chladničce (UR 400G, NORDline, ČR) při 3 °C \pm 0,5 °C. Průběh teplot byl zaznamenáván pomocí datalogeru (Minikin Pi, Electronical Measuring Systems, ČR).

3.2 Stanovení barvy

Měření barvy probíhalo v 1., 3., 6., 9. a 12. dni experimentu na stejných filetech (n=6). Měření se provádělo na třech lokacích filetu (přední, prostřední a zadní část) nad postranní čarou pomocí přístroje Colour Spectofotometer CM – 600d (Konika Minolta, Japonsko). Výsledkem jsou hodnoty na třech barevných škálách L*, a* a b*, kde – L* („světlost“) určuje rozmezí mezi černou (0) a bílou (100), a* vyjadřuje intenzitu zelené (-) či červené (+) barvy a b* intenzitu modré (-) či žluté (+) barvy.

3.3 Senzorické hodnocení

Senzorické hodnocení probíhalo odděleně za kontrolovaných podmínek světla, teploty a vlhkosti. Vzorky byly hodnoceny deseti vyškolenými pracovníky FROV JU, kteří byli požádáni, aby se před každým testem vyhnuly: pití kávy, konzumaci kořeněných jídel, hladovění či přemíry konzumace jídla, kouření a používání silných parfémů. Hodnocení probíhalo v kabinkách oddělujících od sebe jednotlivé hodnotitele dle metody ISO 8529. Každý z hodnotitelů měl k dispozici neperlivou vodu a nesolený rohlík pro neutralizaci chuti. Hodnocení probíhalo na syrových a tepelně upravených vzorcích.

U syrových vzorků probíhalo hodnocení v 1., 3., 6., 8. a 13. dni. Vzorek byl vždy odebrán ve formě pruhu svaloviny z filetu. Odebírala se část od začátku hřbetní ploutve v šířce 5 cm. Výška filet nebyla upravována. Na syrovém vzorku byla hodnocena textura, barva, vůně a celkový vzhled v podobě bodového hodnocení 0 – 5 pro každý parametr, kde 5 bylo nejlepší hodnocení. Hodnotitelé posuzovali vzorky označené náhodným trojmístným číselným kódem a hodnocení probíhalo na třech vzorcích z každé skupiny.

U tepelně upravených vzorků pak probíhalo hodnocení vůně, chuti, pachuti a textury. Vzorky vařené ryby obsahovaly náhodné tři kousky filetu, o velikosti 2 x 2 cm, upravené v elektrické troubě (FPE 52/6VX, CANDY), v samostatné uzavíratelné sklenici (0,2 l), při 150°C po dobu 15 min bez použití soli, oleje nebo jiných dochucovadel. Hodnocení probíhalo pomocí nestrukturované stupnice ke každému parametru. Každý hodnotitel pak vnesl bod na úsečku (délka úsečky = 100 mm) na základě svého pocitu. Levý okraj úsečky (0 mm) byl brán jako nejlepší. Sklenice se vzorky byly označeny náhodným trojmístným číselným kódem a hodnocení probíhalo na třech vzorcích z každé skupiny.

3.4 Mikrobiologický obraz

Pro mikrobiologické hodnocení byla použita metoda ČSN EN ISO 4833 Mikrobiologie potravin a krmiv – Horizontální metoda pro stanovení celkového počtu mikroorganismů – Technika počítání kolonií vykultivovaných při 30 °C. Tato metoda slouží ke zjištění přítomnosti cizorodých organismů.

Mikrobiologické rozbory byly provedeny v 1., 3., 6., 9. a 12. dni experimentu, vždy na 12 vzorcích ve dvou opakováních. 10 g vzorku z dorsální svaloviny bylo odebráno sterilní metodou (ISO 4833) v digestoři (Bio II Advance, Telstar, Španělsko). Vzorek byl odebrán z prostředku svaloviny po sterilizaci všech stran tak, aby nedošlo ke kontaminaci periferními bakteriemi. Ze tří stran byl vzorek sterilizován opálením, kůže filetu byla sterilizována 96 % ethanolem (Merck KGaA, Německo). Tento postup byl zvolen z důvodu malé výšky filetu, kdy by při tepelné sterilizaci ze všech stran mohlo dojít k celkovému znehodnocení vzorku. Po přidání 90 ml peptonové vody (Sigma-Aldrich, USA) byl vzorek homogenizován po dobu 2 minut v homogenizátoru (Masticator Clasic, IUL S. A., Španělsko). Z matečného roztoku byla vytvořena koncentrační řada. Z předem zvolených koncentrací byl odebrán 1 ml vzorku a ve dvou opakováních nanesen na agar (Plate count Agar, Sigma-Aldrich, USA) připravený v Petriho misce a v inkubátoru (NB203XL, N-BIOTEK Co., Ltd., Korea) inkubován při 30°C po dobu 3 dnů pro zjištění celkového počtu mezofilních bakterií ve vzorku. Výsledek je vyjádřený jako logaritmus počtu kolonie tvořících jednotek na gram vzorku (log KTJ/g).

3.5 Oxidace lipidů

Oxidace lipidů byla stanovena v 1., 3., 6., 9. a 12. dni na 6 vzorcích z každé skupiny pomocí metody TBARS dle Buegeho a Austa (1978). Tato metoda je založena na spektrofotometrickém stanovení látek oxidace lipidů, respektive obsahu malondialdehydu - sekundárního produktu oxidace lipidů, který reaguje s kyselinou 2-thiobarbiturovou. K 1 g vzorku světlé svaloviny, odebraného z dorsální části, se přidalo 0,2 ml butilovaného hydroxitoulenu (TBA), (Sigma-Aldrich, USA) a 9,1 ml 10% roztoku kyseliny trichloroctové (Sigma-Aldrich, USA) rozpuštěné v 0,2M kyselině fosforečné (LACH-NER, ČR). Vzorek se nechal homogenizovat (T 18, IKA, Německo) po dobu jedné minuty. Z důvodu omezení zahřívání vzorku se homogenizace provedla nadvkrát. Následně se vzorek filtroval přes filtrační papír (1001 090, Whatman, Německo). Filtrát se se pak rozdělil po 1,5 ml do skupiny TEST, kam se přidalo 1,5 ml 0,2M roztok butilovaného hydroxitoulenu, a skupiny BLANK kam se přidalo 1,5ml destilované vody (IWA 30 iol, Watek s.r.o., ČR). Vzorky se nechaly 20 hodin v temnu při pokojové teplotě a následně se měřila absorbance záření při 530 nm na spektrofotometru (DR 2800

spectrofotometer, Hach-Lande, Německo). Výsledná koncentrace malondialdehydu se stanovila přes standardní křivku vytvořenou z tetraethoxypropanu. Výsledek je stanoven jako koncentrace malondialdehydu v $\mu\text{gMDA.g}^{-1}$ vzorku. Absorbance se u všech vzorků měřila duplicitně.

3.6 Koncentrace hemu

Stanovení obsahu hemu, zastoupeného především v hemoglobinu a myoglobinu, ve svalovině pomocí světelné absorbance probíhalo v 1., 3., 6., 9. a 12. dni experimentu na 6 vzorcích z každé skupiny. Z filetu byl, v dolní polovině ocasní části, odebrán a rozmixován vzorek světlé svaloviny. Do 5 g rozmixovaného vzorku bylo přidáno 20 ml Acetonu (LACH-NER, ČR) 0,5 ml 37 % HCl (CEMICALS CZ, ČR) a 1 ml destilované vody (IWA 30 iol, Watek s.r.o., ČR). Po následné, 15 vteřin dlouhé, homogenizaci (T -18 IKA, Německo) byly vzorky přikryty a umístěny na hodinu do chladničky (Gorenje RK6192, Německo) do $\pm 3^{\circ}\text{C}$. Následně byly vzorky filtrovány přes filtrační papír (1001 090, Whatman, Německo) a umístěny do centrifugy (Heraeus Megafuge 16, Thermo Fisher Scientific Inc., USA) na 15 min při 10 000 G. U takto připravených vzorků byla měřena absorbance při vlnové délce 640 nm (DR 2800 spectrofotometer, Hach-Lande, Německo). Absorbance byla porovnávána se standardní křivkou připravenou z hovězího hemoglobinu. Výsledek je vyjádřený v mg hemu.g^{-1} vzorku.

3.7 Statistické vyhodnocení

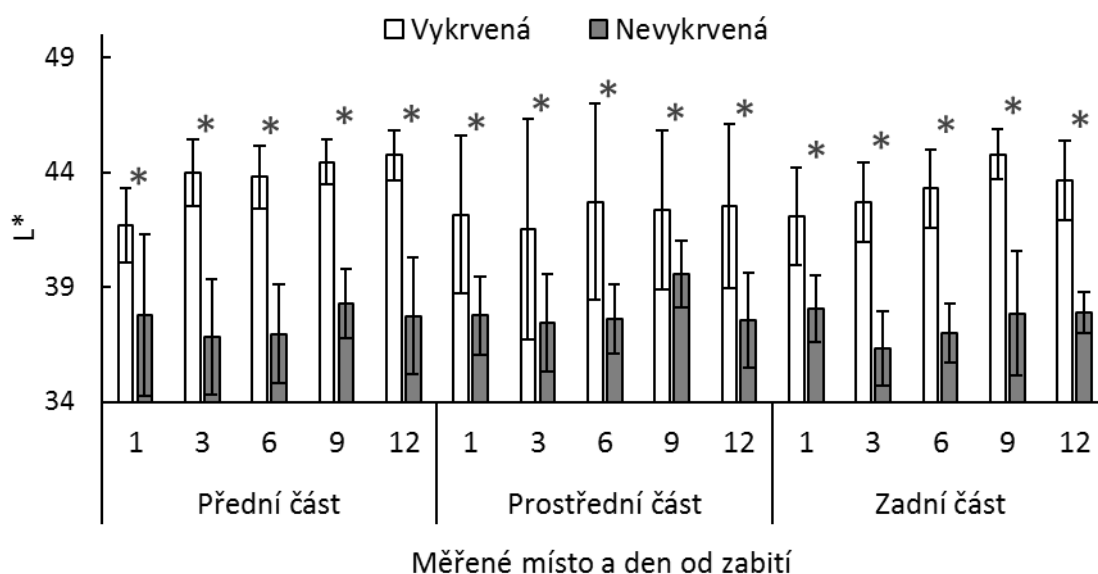
Výsledky testů byly analyzovány pomocí programu STATISTICA (verze 12, StatSoft Inc., USA) a MS Excel (Microsoft corp., USA). Výsledná data jsou průměrem \pm směrodatná odchylka. Pro rozlišení dvou skupin byl použit Studentův t-test. Pro stanovení rozdílu mezi více skupinami byla použita víceúrovňová hierarchická ANOVA (hodnotitel vnořený do skupiny a replikát vnořen do hodnotitele) s použitím Fischerova LSD testu. Změny v čase byly hodnoceny pomocí lineární regrese. Rozdíly byly posouzeny jako statisticky významné při $p < 0,05$.

4 Výsledky

4.1 Stanovení barvy

Ve výsledcích měření barvy byl prokázán statisticky významný rozdíl ($p < 0,05$) mezi skupinou vykvrvených a nevykvrvených ryb ve všech dnech měření na všech měřených lokalitách filetu v rámci faktorů L^* a a^* (Graf č. 1, Graf č. 2).

Průměrné hodnoty L^* po dobu celého experimentu dosahovaly $43,74 \pm 1,07$ v přední, $42,7 \pm 1,09$ v prostřední a $43,07 \pm 0,93$ v zadní části u skupiny vykvrvených a hodnot $37,51 \pm 0,54$; $37,98 \pm 0,79$ a $37,42 \pm 0,65$ u skupiny nevykvrvených v přední, prostřední, respektive zadní části filetu. Lineární regrese v čase neprokázala statisticky významný ($p < 0,05$) růst ani u jedné ze skupin.

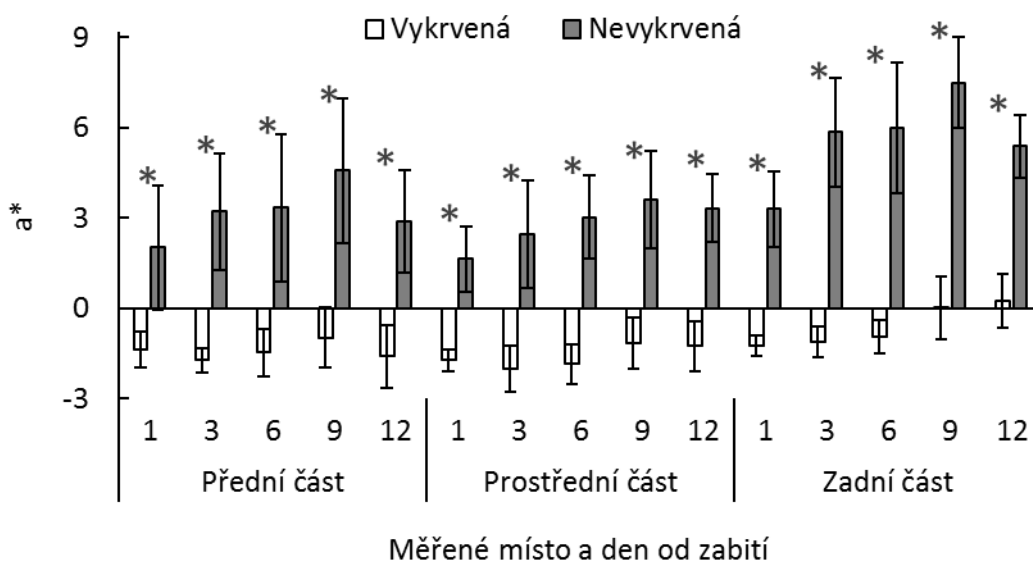


Graf č. 1: Hodnoty měření barvy filetu ukazatele L^* (světlost) rozdělené podle místa měření a dní od zabití ryb. Hvězdička znázorňuje signifikantní rozdíl ($p < 0,05$) mezi skupinou vykvrvených a nevykvrvených ryb v daném místě a daný den.

Skupina vykvrvených pak naopak vykazovala významně nižší hodnoty na faktoru a^* (červenost), kdy dosahovaly záporných hodnot. Na výsledcích naměřených v zadní části lze pozorovat zvyšující se tendenci hodnoty v průběhu experimentu ($p = 0,009$,

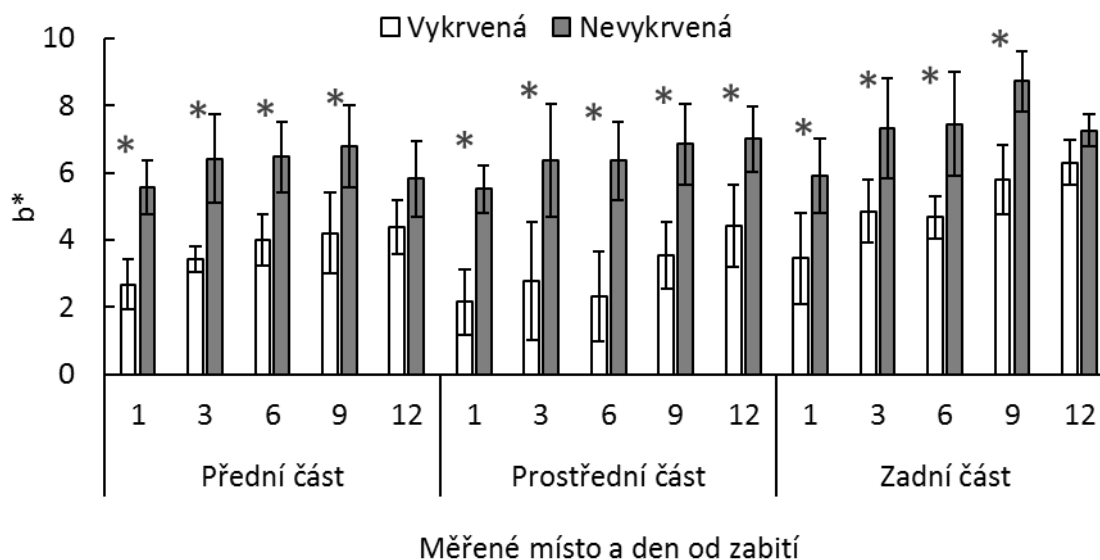
$R^2 = 0,92$). Průměrně naměřené hodnoty v přední, střední a zadní části pak dosahovaly hodnot $-1,42 \pm 0,26$; $-1,66 \pm 0,28$ respektive $-0,9 \pm 0,47$.

U skupiny nevykrvených ryb byly naměřeny hodnoty s maximem v 9. dni, kdy průměrně naměřené hodnoty byly $4,57 \pm 2,39$; $3,62 \pm 1,61$ a $7,48 \pm 1,05$ v přední, střední, respektive zadní části filetu. Průměrné hodnoty z celého experimentu pak dosahovaly $3,2 \pm 0,82$ v přední, $2,81 \pm 0,7$ ve střední a $5,6 \pm 1,35$ v zadní části filetu.



Graf č. 2: Hodnoty měření barvy filetu ukazatele a^* (červenost) rozdělené podle místa měření a dní od zabití ryb. Hvězdička znázorňuje signifikantní rozdíl ($p < 0,05$) mezi skupinou vykrvených a nevykrvených ryb v daném místě a daný den.

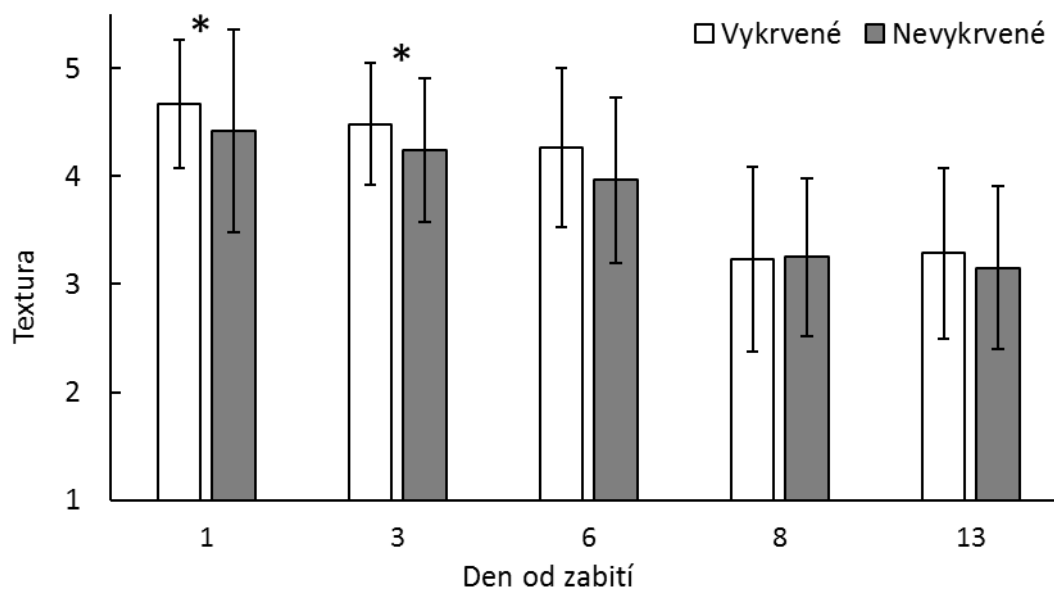
U faktoru b^* (žlutost) vykazovali hodnoty skupin statistickou rozdílnost ($p < 0,05$) u všech částí v prvních 9ti dnech experimentu (Graf č. 3). Ve 12 dni byla tato rozdílnost sledována pouze ve střední části filetu. U skupiny vykrvených ryb lze pozorovat rostoucí hodnoty faktoru b^* v průběhu experimentu. Lineární regresí v průběhu času byl prokázán statisticky významný ($p < 0,05$) růst hodnot ve všech měřených lokacích. U skupiny nevykrvených byly maximální hodnoty naměřeny v 9. dni v přední a zadní části. Střední část dosáhla svého maxima až ve 12. dni. Průměrně naměřené hodnoty v celém experimentu dosahovaly $3,74 \pm 0,62$ v přední, $3,03 \pm 0,83$ ve střední a $4,63 \pm 0,75$ v zadní části filetu u skupiny vykrvených ryb a $6,21 \pm 0,44$; $6,42 \pm 0,51$ a $7,33 \pm 0,89$ ve stejných lokacích u skupiny nevykrvených ryb.



Graf č. 3: Hodnoty měření barvy filet ukazatele b* (žlutost) rozdělené podle místa měření a dní od zabití ryb. Hvězdička znázorňuje signifikantní rozdíl ($p < 0,05$) mezi skupinou vykrcených a nevykrcených ryb v daném místě a daný den.

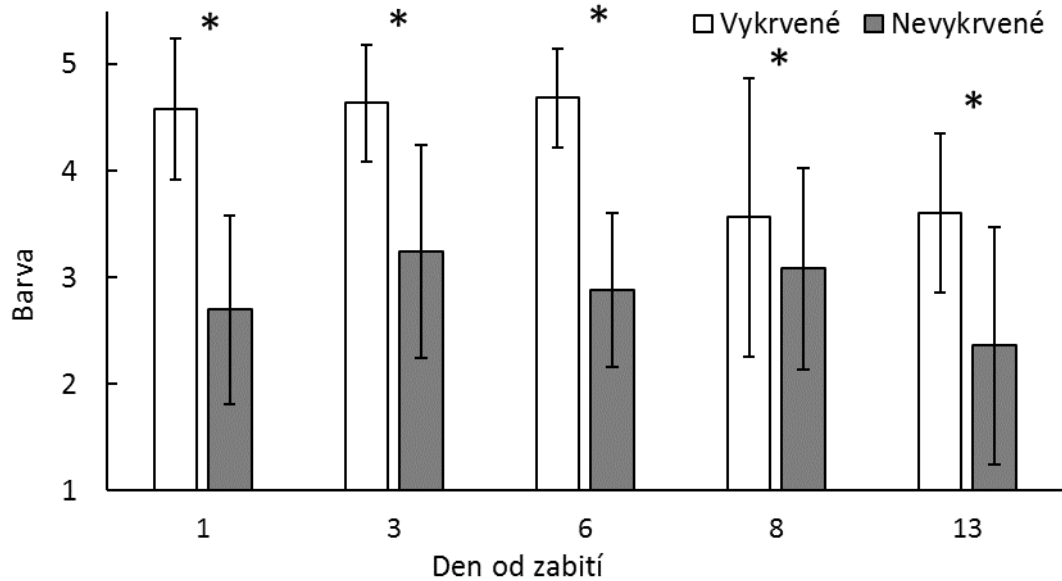
4.2 Senzorické hodnocení

Z výsledků sensorické hodnocení syrových vzorků byl prokázán signifikantní ($p < 0,05$) rozdíl mezi skupinami v prvních dvou hodnoceních, které proběhly v 1. a 3. dni experimentu, ve všech sledovaných aspektech – textura, barva, vůně a celkový dojem (Graf č. 4, Graf č. 5, Graf č. 6, Graf č. 7). V aspektu textury pak nebyl prokázán významný rozdíl až do konce experimentu. V ostatních sledovaných aspektech byl shodně prokázán rozdíl mezi skupinami v 6. a 13. dni. Zároveň u tohoto faktoru byl potvrzen klesající trend ($p = 0,04$; $R^2 = 0,79$) u skupiny vykrcených ryb a ($p = 0,01$; $R^2 = 0,87$) u skupiny nevykrcených ryb.



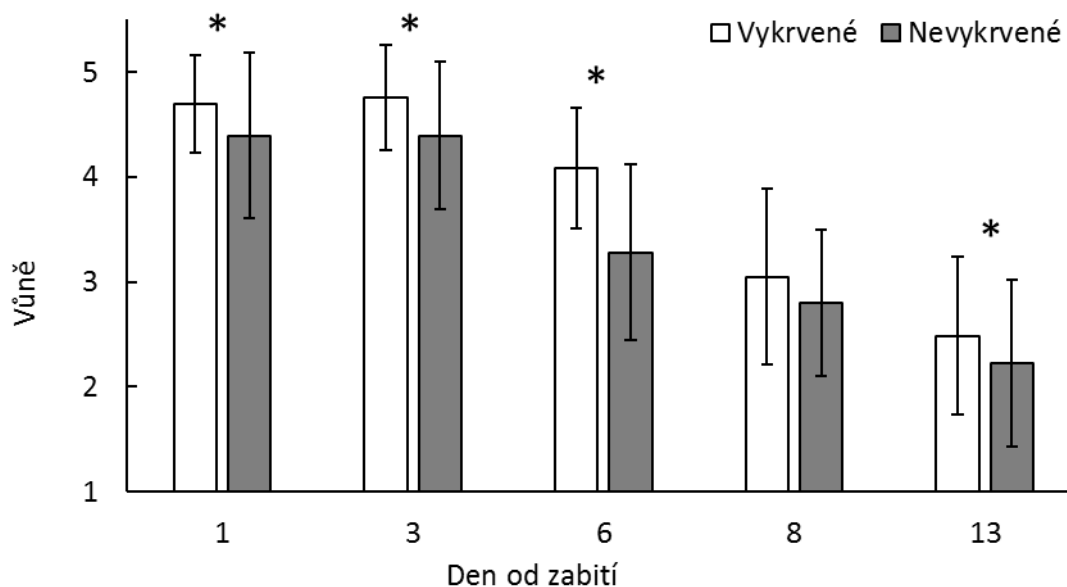
Graf č. 4: Senzorické hodnocení parametru textura u syrových vzorků. Hodnocení probíhalo na úrovni 1 – 5, kde 5 znamená nejvyšší kvalitu. Významný statistický rozdíl ($p < 0,05$) je mezi skupinami vyjádřen hvězdičkou.

V dalších hodnocených kritériích jsou pak výsledky skupin podobné. Nejvýraznější rozdíl mezi skupinami byl sledován v senzoričtém hodnocení barvy, kdy se výsledky hodnocení skupiny nevykrvených ryb pohybovaly v rozmezí $3,24 \pm 1$ a $2,36 \pm 1,11$ bodu a vykrvených v rozmezí $4,68 \pm 0,46$ a $3,56 \pm 1,3$ bodu.



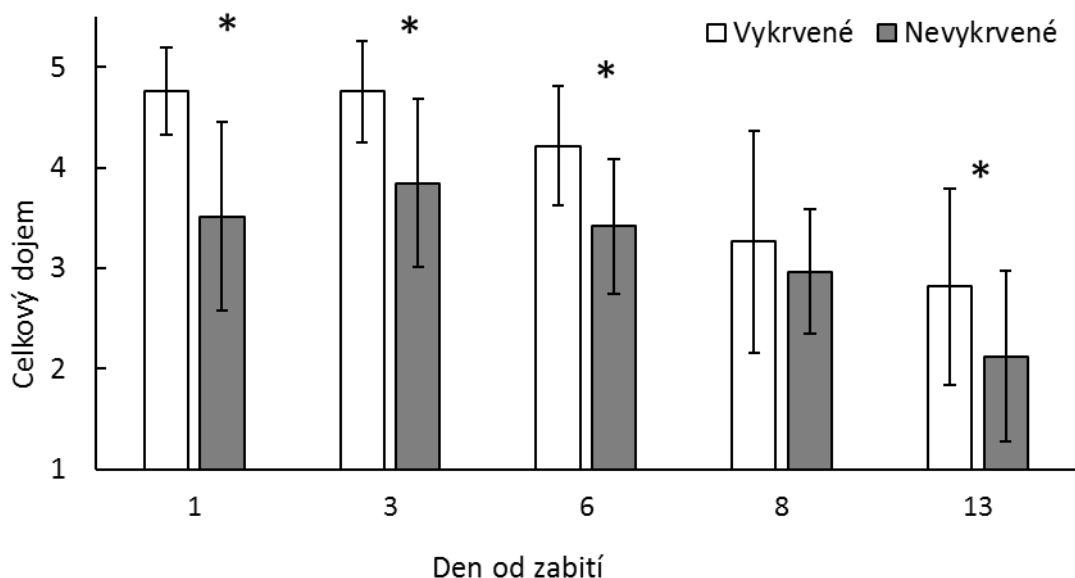
Graf č. 5: Senzorické hodnocení parametru barva u syrových vzorků. Hodnocení probíhalo na úrovni 1 – 5, kde 5 znamená nejvyšší kvalitu. Významný statistický rozdíl ($p < 0,05$) je mezi skupinami vyjádřen hvězdičkou.

Kritérium vůně dosahovalo v prvních dvou zkouškách (den 1 a 3) u obou skupin hodnoty vyšší než 4 kvalitativní body. Výrazný pokles nastal v 6. dnu experimentu, kdy hodnocení skupiny nevykrvených ryb kleslo na $3,28 \pm 0,83$ bodu a skupiny vykrvených ryb se hodnocení stále drželo na $4,08 \pm 0,57$ bodu. V 8. dni tento propad pokračoval, nicméně tyto hodnoty nevykazují statistickou rozdílnost. V posledním hodnoceném dni (13.) byla vůně hodnocena na úrovni $2,48 \pm 0,75$ bodu u vykrvených ryb a $2,22 \pm 0,79$ bodu u skupiny nevykrvených ryb. U obou skupin byl prokázán klesající lineární trend $p = 0,009$ a $R^2 = 0,91$ u skupiny vykrvených ryb a $p = 0,007$ a $R^2 = 0,93$ u skupiny nevykrvených ryb.



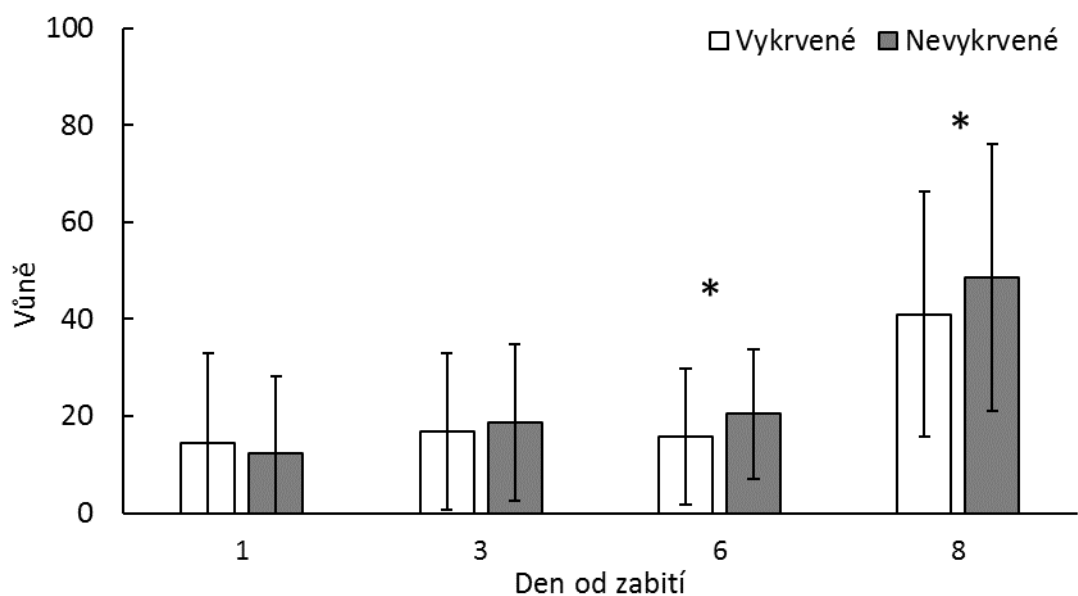
Graf č. 6: Senzorické hodnocení parametru vůně u syrových vzorků. Hodnocení probíhalo na úrovni 1 – 5, kde 5 znamená nejvyšší kvalitu. Významný statistický rozdíl ($p < 0,05$) je mezi skupinami vyjádřen hvězdičkou.

Posledním hodnoceným kritériem byl celkový dojem. V tomto kritériu dosahovala v prvních třech analýzách lepších hodnocení skupina vykřvených ryb. Při čtvrtém hodnocení v 8. dni experimentu se tento rozdíl snížil, když skupina vykřvených ryb dosáhla hodnocení $3,26 \pm 1,1$ bodu a skupina nevykřvených ryb $2,96 \pm 0,61$ bodu. Zároveň mezi výsledky ze čtvrtého hodnocení nebyl zjištěn významný statistický rozdíl ($p = 0,29$). Při posledním posuzování (13. den experimentu) byla skupina vykřvených ryb hodnocena $2,81 \pm 0,94$ bodu a skupina nevykřvených ryb $2,12 \pm 0,84$ bodu. Klesající lineární regrese se potvrdila u skupiny vykřvených ($p = 0,01$ a $R^2 = 0,91$), i nevykřvených ($p = 0,02$ a $R^2 = 0,85$) ryb.



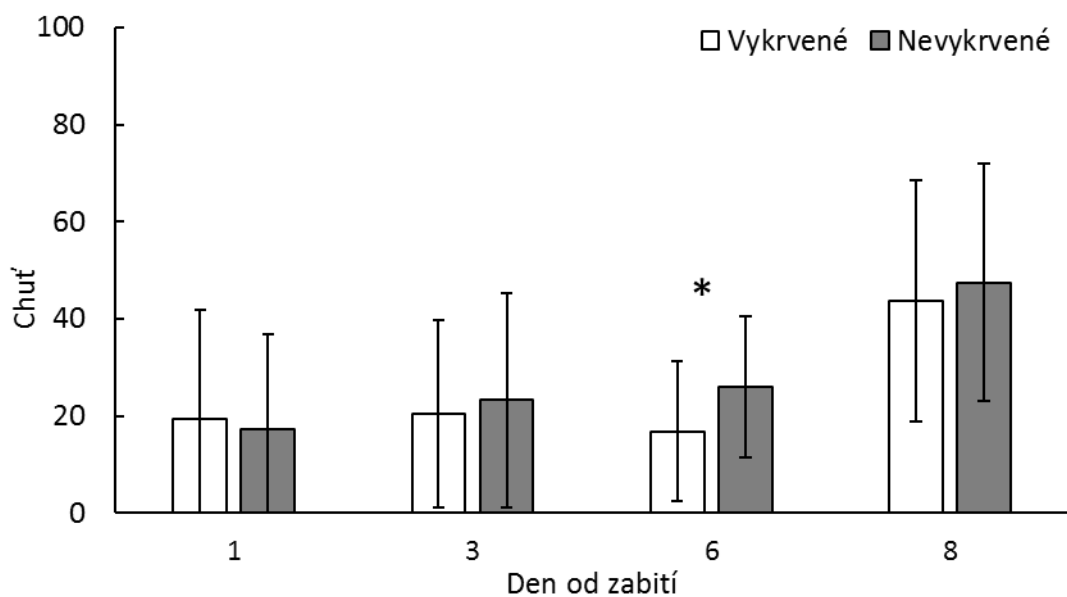
Graf č. 7: Sensorické hodnocení parametru celkový dojem u syrových vzorků. Hodnocení probíhalo na úrovni 1 – 5, kde 5 znamená nejvyšší kvalitu. Významný statistický rozdíl ($p < 0,05$) je mezi skupinami vyjádřen hvězdičkou.

Při sensorickém hodnocení vařených vzorků byl prokázán statisticky významný rozdíl mezi hodnocenými skupinami pouze při testování v 6. dni experimentu a to u všech testovaných kritérií (Graf č. 8, Graf č. 9, Graf č. 10, Graf č. 11) a dále pak v posledním testovaném dni (8.) u faktoru vůně. Statisticky významné rozdíly se prokázaly až v 6. a 8. dni experimentu kdy hodnoty u vykrvených ryb dosahovaly $15,7 \pm 13,95$ a $40,9 \pm 25,21$ a u nevykrvených ryb se pohybovaly na úrovni $20,4 \pm 13,37$ respektive $48,46 \pm 27,53$.



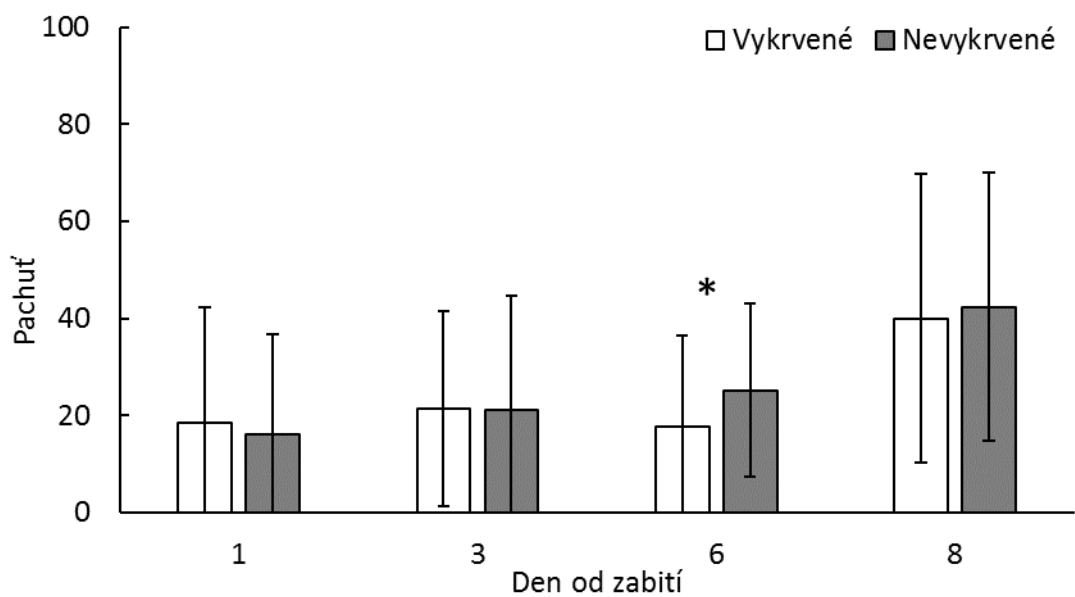
Graf č. 8: Sensorické hodnocení parametru vůně u vařených vzorků. Hodnocení probíhalo na úrovni 0 - 100, kde 0 znamená nejvyšší kvalitu. Významný statistický rozdíl ($p < 0,05$) je mezi skupinami vyjádřen hvězdičkou.

Kritérium hodnocení chuti také nedosahovalo v 1. a 3. dni experimentu statisticky významně odlišných hodnot. V 6. dni experimentu se prokázala statisticky významná rozdílnost výsledků $16,67 \pm 14,38$ u skupiny vykrvených ryb a $25,9 \pm 14,56$ u skupiny nevykrvených ryb. Při posledním posuzování v 8. dni se tento rozdíl nepotvrdil.



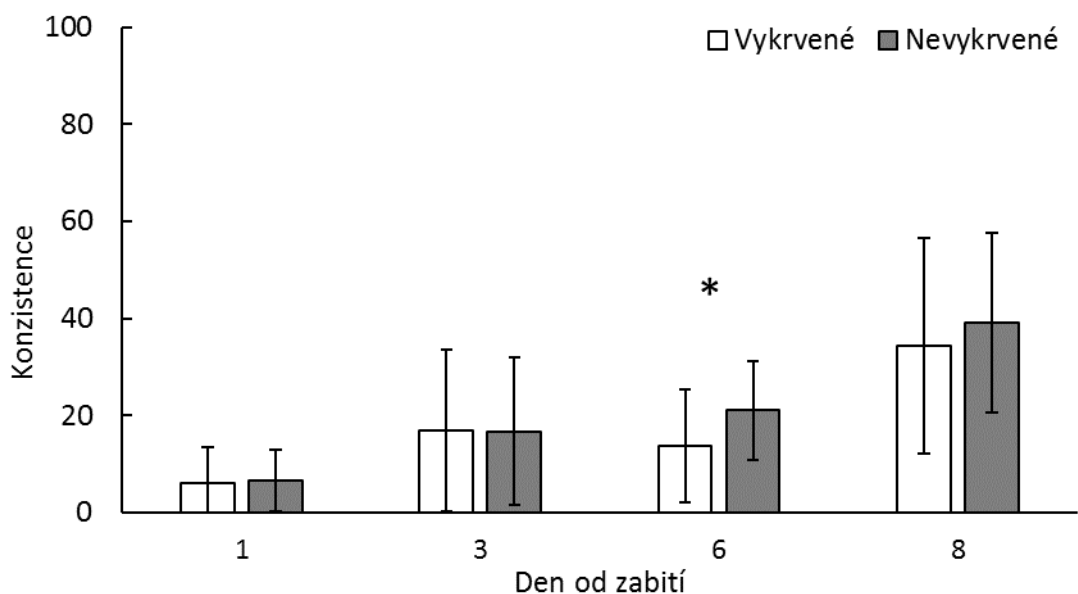
Graf č. 9: Sensorické hodnocení parametru chuť u vařených vzorků. Hodnocení probíhalo na úrovni 0 – 100, kde 0 znamená nejvyšší kvalitu. Významný statistický rozdíl ($p < 0,05$) je mezi skupinami vyjádřen hvězdičkou.

U aspektu pachů hodnoty v prvních dvou měřeních nevykazují statistickou rozdílnost ($p < 0,05$). Při třetím měření hodnoty dosáhly $17,73 \pm 18,72$ u skupiny vykrvených a $25,2 \pm 17,75$ u skupiny nevykrvených ryb. Zde se statisticky významný rozdíl ($p < 0,05$) potvrdil. V posledním testovaném dni bylo zaznamenáno zhoršené hodnocení, kdy hodnoty u obou skupin dosahovaly v průměru přes 40 bodů.



Graf č. 10: Sensorické hodnocení parametru pachut' u vařených vzorků. Hodnocení probíhalo na úrovni 0 – 100, kde 0 znamená nejvyšší kvalitu. Významný statistický rozdíl ($p < 0,05$) je mezi skupinami vyjádřen hvězdičkou.

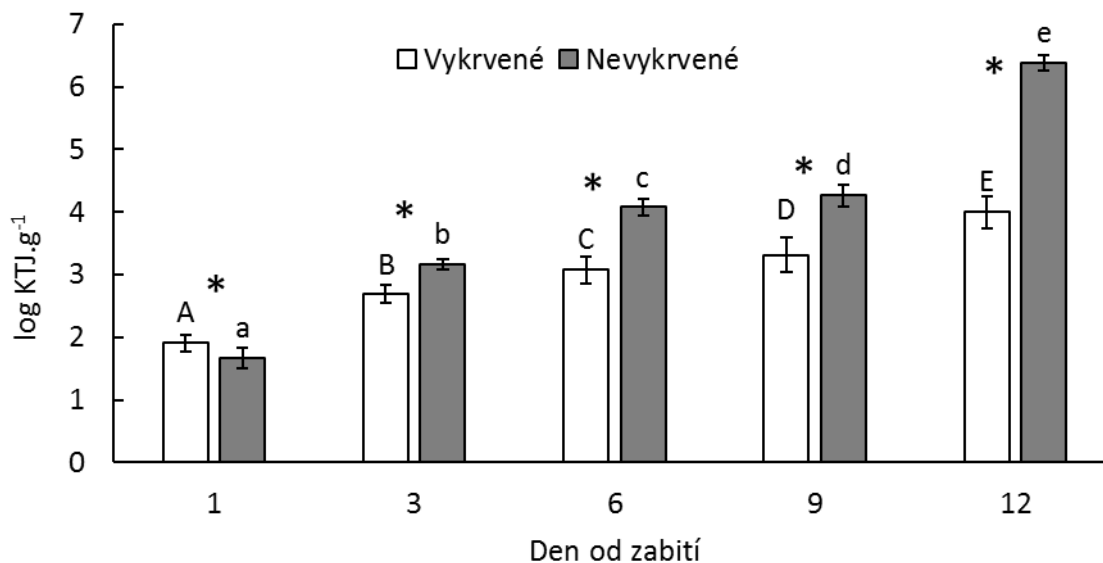
To potvrzuje i vývoj kritéria konzistence, které bylo v prvních třech testech u obou skupin ryb hodnoceno na velmi nízké úrovni. Ve třetím testu se prokázal statisticky významný rozdíl mezi skupinami ($p < 0,05$). V posledním testu (8. den) byl tento aspekt hodnocen $34,3 \pm 22,19$ a $39,16 \pm 18,56$ u skupiny vykrvených, respektive nevykrvených ryb.



Graf č. 11: Senzorické hodnocení parametru konzistence u vařených vzorků. Hodnocení probíhalo na úrovni 0 – 100, kde 0 znamená nejvyšší kvalitu. Významný statistický rozdíl ($p < 0,05$) je mezi skupinami vyjádřen hvězdičkou.

4.3 Mikrobiologický obraz

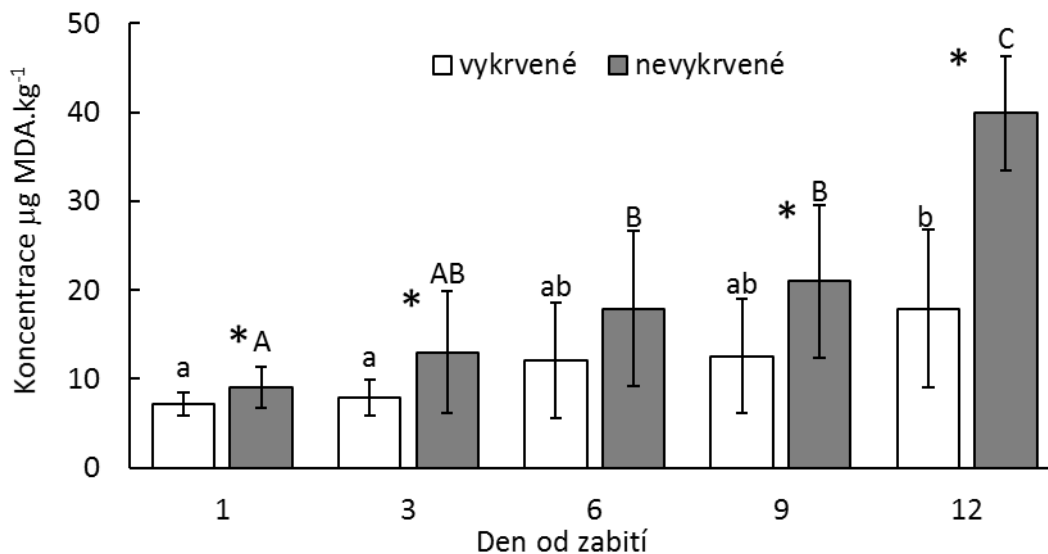
Hodnoty mikrobiálního růstu v 1. dni experimentu dosahovaly vyšších hodnot u skupiny vykřvených ryb v porovnání se skupinou nevykřvených (Graf č. 12). 3. den experimentu se vyšší kontaminace projevila u skupiny nevykřvených ryb. V 6. a 9. dni byly naměřeny o řád vyšší hodnoty u skupiny nevykřvených ryb. V posledním sledovaném dni bylo naměřeno $4 \pm 0,258 \log \text{KTJ.g}^{-1}$ u skupiny vykřvených a $6,384 \pm 0,122 \log \text{KTJ.g}^{-1}$. Obě skupiny mezi sebou vykazovaly významný statistický rozdíl ($p < 0,05$) ve všech sledovaných dnech. Stejný statistický rozdíl byl sledován v porovnání jednotlivých dnů v rámci skupiny, a to u obou skupin. Exponenciálně rostoucí tendenci koncentrace cizorodých organismů pak vyjadřují hodnoty $R^2 = 0,94$ a $p = 0,005$ u skupiny vykřvených ryb a $R^2 = 0,92$ a $p = 0,009$ u skupiny nevykřvených ryb.



Graf č. 12: Hodnoty mikrobiologického obrazu vyjádřených jako log KTJ.g⁻¹ vzorku. Významný statistický rozdíl ($p < 0,05$) je mezi skupinami vyjádřen hvězdičkou a mezi dny v rámci dané skupiny velkým písmenkem u skupiny vykrvených ryb a malým písmenkem u skupiny nevykrvených ryb.

4.4 Oxidace lipidů

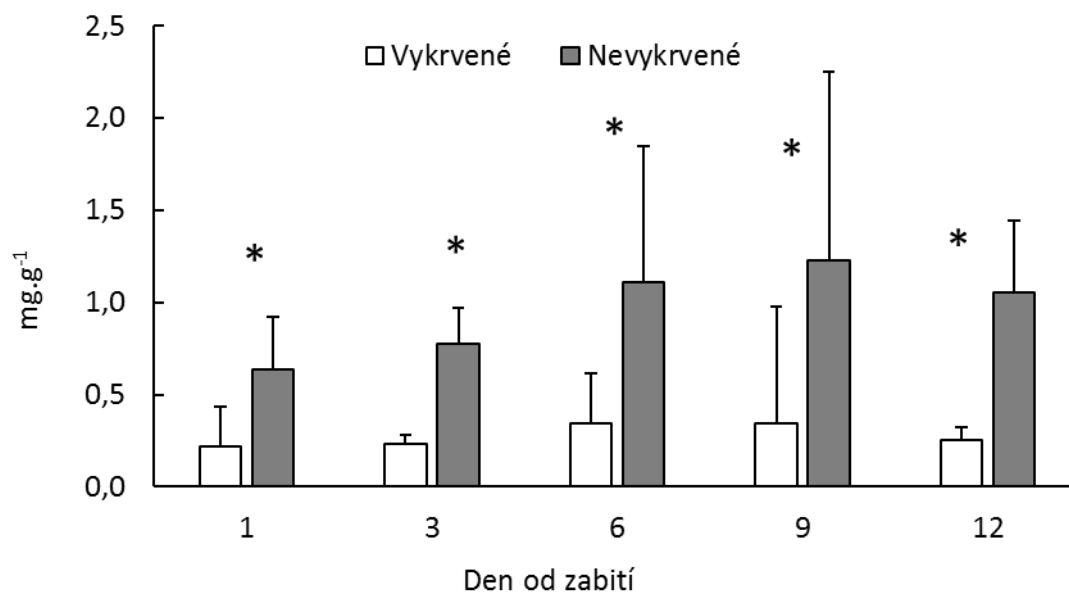
Ve výsledcích stanovení oxidace lipidů byl prokázán statistický rozdíl ($p < 0,05$) mezi skupinami v 1., 3., 9. a 12. dni (Graf č. 13). Na začátku experimentu skupina vykrvených ryb vykazovala hodnoty malondialdehydu (MDA) na úrovni $7,2 \pm 1,317 \mu\text{g.kg}^{-1}$ vzorku, zatímco skupina nevykrvených ryb $9,012 \pm 2,305 \mu\text{g.kg}^{-1}$ vzorku. Tento rozdíl se pak v průběhu experimentu zvětšoval. V 6. dni se hodnoty obou skupin značně překrývaly, takže nebyl prokázán statistický rozdíl ($p = 0,34$). V 9. dni už byl rozdíl statisticky významný. Tento trend vyšší oxidace lipidů u skupiny nevykrvených ryb se pak markantně projevil v posledním dni experimentu, kdy hodnoty u skupiny vykrvených dosahovaly $17,884 \pm 8,887 \mu\text{g.kg}^{-1}$ vzorku a u skupiny nevykrvených $39,919 \pm 6,42 \mu\text{g.kg}^{-1}$ vzorku. Rozdíl skupin byl i v tomto dnu statisticky významný. U obou skupin byl vývoj oxidace lipidů exponenciální s hodnotou $R^2 = 0,93$ a $p = 0,006$ u skupiny vykrvených ryb a $R^2 = 0,87$ a $p = 0,02$ u skupiny nevykrvených ryb.



Graf č. 13: Hodnoty oxidace lipidů vyjádřené přes koncentrace MDA v $\mu\text{g.kg}^{-1}$ vzorku. Významný statistický rozdíl ($p < 0,05$) je mezi skupinami vyjádřen hvězdičkou a mezi dny v rámci dané skupiny malým písmenkem u skupiny vykrvených ryb a velkým písmenkem u skupiny nevykrvených ryb.

4.5 Koncentrace hemových částic

Při stanovení koncentrace hemových částic ve svalovině byl ve všech testovaných dnech zjištěn statisticky významný rozdíl ($p < 0,05$) mezi skupinami (Graf č. 14). V šestém a devátém dni experimentu dosáhla skupina vykrvených ryb maximálních hodnot $0,345 \pm 0,272$ a $0,342 \pm 0,632 \text{ mg.g}^{-1}$ vzorku. Skupina nevykrvených ryb prokazovala stoupající tendenci, kdy v 6. dni experimentu dosahovala $1,108 \pm 0,735 \text{ mg.g}^{-1}$ a maxima dosáhla v 9 dni při hodnotách $1,224 \pm 1,027 \text{ mg.g}^{-1}$ vzorku.



Graf č. 14: Hodnoty koncentrace hemových částic vyjádřených v mg.g⁻¹ vzorku. Významný statistický rozdíl ($p < 0,05$) je mezi skupinami vyjádřen hvězdičkou.

5 Diskuze

Sledováním změny barvy v závislosti na vykrcení se zabývali Olsen a kol. (2014) u lososa obecného či Digre a kol. (2011) u tresky obecné (*Gadus morhua*). Shodně prokázali, že vykrcená ryba má signifikantně rozdílnou barvu především v hodnocení světlosti L^* . V našem experimentu lze sledovat tento jev mezi skupinou vykrcených a nevykrcených ryb po celou dobu experimentu ve všech měřených lokacích.

Agüeria a kol. (2015) uvádí na příkladu kapra obecného stoupající světlost od hodnot $35,78 \pm 1,64$ v prvním dni až k $38,92 \pm 1,42$ ve 13. dni experimentu. Stoupající žlutost (b^*) od $2,05 \pm 0,35$ do $3,09 \pm 0,63$ ve 13. dni a červenost od $3,00 \pm 0,4$, která dosáhla maxima při 9. dni $4,03 \pm 0,51$ a poté klesla. V našem experimentu se všechny skupiny nevykrcených ryb pohybovaly v podobných hodnotách a vykazovaly podobné nárůsty či poklesy. Vykrcené ryby pak dosahovaly výrazně vyšší světlosti a nižších hodnot červenosti, kde dosahovaly záporných hodnot, a žlutosti. Nejvýraznější rozdíl dosahuje hodnocení a^* v zadní části filetu, kdy u skupiny vykrcených v průběhu experimentu lineárně stoupá ($R^2 = 0,92$, $p = 0,009$), zřejmě v důsledku postupné oxidace zbylé krve. Huss (1995) uvádí zadní část filetu jako nejprokrcenější svalovinu. V důsledku vyšší prokrcenosti předpokládám v zadní části filetu vyšší množství zbytkové krve, které mohlo ovlivnit výsledky měření barvy. Ve skupině nevykrcených lze pozorovat výrazně stoupající hodnoty v prvních 9 dnech, nicméně v posledním 12. dni tato hodnota klesá. Předpokládám, že tento pokles bude způsobený rychlejšími oxidativními procesy u skupiny nevykrcených ryb.

Rozdílnost barvy u vykrcených a nevykrcených filetů pak potvrzuje i výrazný rozdíl v sensorickém hodnocení barvy. V hodnocení, které probíhalo na syrových vzorcích, se prokázal signifikantní rozdíl ($p < 0,05$) mezi skupinami v průběhu celého experimentu. Hodnocení vykrcených vzorků dosahovalo během prvního týdne experimentu v průměru o více než kvalitativní bod lepších hodnocení v porovnání se skupinou nevykrcených ryb. Významný rozdíl byl prokázán i ve vůni, kdy nevykrcené vzorky dosahovaly horších hodnocení. Rozdíl v hodnocení vůně mezi vykrcenou a nevykrcenou rybou pak prokázali i Maqsood a Benjaluk (2011) u latese stříbřitého (*Lates calcarifer*) a Richard a Hultin (2002) u pstruha duhového. Zlepšení, respektive snížené zhoršení, vůně považují za sekundární vliv vykrcení na zlepšení kvality masa ryb. Vliv vykrcení, dle mého

názoru, přímo ovlivňuje barvu, respektive celkový dojem u syrového masa. Ostatní faktory, jako je textura, vůně či konzistence, a jejich zlepšení považují spíše za výsledek zpomalení mikrobiálních procesů v důsledku vykrvení, který bude rozebírán níže. Při hodnocení celkového dojmu pak skupina vykrvených ryb dosahovala lepších výsledků v prvních třech analýzách (1., 3. a 6. den). V osmém dni se tento rozdíl vyrovnal. Rozdíl v celkovém hodnocení kvality mezi vykrvenými a nevykrvenými rybami prokázal také Olsen a kol. (2014) na příkladu lososa obecného a Richards a Hultin (2002) u pstruha duhového.

Zajímavý výsledek byl zjištěn v sensorickém hodnocení vařených ryb, kdy v aspektu vůně byl první statisticky významný rozdíl ($p < 0,05$) prokázán až v 6. a 8. dni experimentu. U ostatních kritérií posuzovaných při sensorickém hodnocení vařených vzorků byl pak statisticky významný rozdíl ($p < 0,05$) prokázán pouze v 6. dni experimentu. Z daných výsledků lze soudit značný vliv tepelného zpracování na kvalitu masa, značně ovlivňující rozdílnost mezi vykrvenými a nevykrvenými rybami. Jako důvod lze soudit sterilaci vzorku, kdy většina mikroorganismů byla zničena teplenou úpravou. Možným dalším faktorem je široká a nespecifická osa hodnocení, která mohla toto hodnocení ovlivnit a také variabilita mezi hodnotiteli. Průběh zhoršení kvality hodnocených vzorků se podobá grafu kažení masa a je uveden v kapitole 2.2.3.

Z pohledu mikrobiálního kažení masa byl prokázán vliv vykrvení na snížení mikrobiálního růstu. V prvním dnu experimentu jsou hodnoty mikrobiální kontaminace pod úrovní $2 \log \text{KTJ.g}^{-1}$, což dle Mahmouda a kol. (2004) značí dobré hygienické podmínky zpracování ryb a dokazuje, že uchování v ledu po dobu 24 hodin mezi zabitím a filetací nemělo závažnější vliv na kvalitu. Zajímavým zjištěním je vyšší koncentrace KTJ u vykrvených ryb v prvním dni v porovnání se skupinou nevykrvených. Předpokládám, že tato kontaminace souvisí s proříznutím žaber při vykrvování, čímž mohl být usnadněn přístup kontaminantů z vnějšího prostředí. Průběh nárůstu mezofilních mikroorganismů v našich vzorcích odpovídá výsledkům, které publikoval Hosseini a kol. (2013) a Mahmoud a kol. (2004) na kaprovi obecném či Li a kol. (2012) na karasovi stříbřitém (*Carrasius auratus*) i dalším studiím. V dalším průběhu dosahovala skupina vykrvených ryb nižší hodnoty oproti skupině nevykrvených. Na konci experimentu skupina vykrvených ryb dosahovala hodnot $4 \log \text{KTJ.g}^{-1}$, což byl výsledek o dva řády nižší než tomu bylo u skupiny nevykrvených ryb, které se dostaly až za hranici přijatelnosti, respektive bezpečné konzumace. Ta se obecně uznává jako hranice

6 log KTJ.g⁻¹ (Ojagh a kol., 2010; Bakar a kol., 2010), ačkoli tato hodnota není v České republice legislativně závazná pro čerstvé filety.

Jako jedním z dalších uznávaných faktorů kvality je stupeň oxidace lipidů. Tento faktor je důležitým ukazatelem kvality, jelikož rybí svalovina je ceněna zejména pro vysoký podíl polynenasycených mastných kyselin, které jsou ovšem snadno oxidovatelné (Gray a kol., 1996). Salam (2007) uvádí, že maximální přijatelná míra oxidace lipidů v kvalitních rybách je 5 mg MDA.kg⁻¹, nicméně pro zdravotně nezávadnou konzumaci mohou tyto hodnoty dosahovat až 8 mg MDA.kg⁻¹. K těmto hodnotám se v našem experimentu ani jedna ze skupin nepřiblížila. Oxidace lipidů byla dle mého názoru snížena kompozicí mastných kyselin u kapra a obsahem antioxidantů přijatých z přirozené potravy. V rámci oxidace lipidů lze pozorovat statistický rozdíl mezi skupinami ryb, kdy vykrvené ryby dosahovaly nižších hodnot oxidace lipidů v průběhu celého experimentu. U obou skupin byl zjištěn exponenciální růst oxidace doložený hodnotami spolehlivosti $R^2 = 0,93$ a $p = 0,006$ u skupiny vykrvených ryb a $R^2 = 0,87$ a $p = 0,02$ u skupiny nevykrvených ryb. Exponenciální růst je, dle mého názoru, způsoben řetězovou reakcí oxidace lipidů. Podobné trendy vývoje oxidace lipidů jsou pak dokumentovány i v dalších studiích. Například Maqsood a Benjaluk (2011) uvádí podobné hodnoty oxidace na příkladu lateše stříbřitého, Richard a Hultin (2002) u pstruha duhového a makrely.

Li a kol. (2012) uvádí podobnou míru oxidace lipidů u karase stříbřitého v kontrolní skupině. Nicméně ani ve skupinách ošetřených antioxidanty (čajovými fenoly či rozmarýnovým olejem) tato hodnota neklesá oproti kontrole natolik, jako při našem pokusu. Zdá se tedy, že vykrvení má výraznější vliv na zachování kvality lipidů v porovnání s přidávkem antioxidantů. Tento efekt vykrvení by se pak ještě výrazněji projevil u mražených vzorků.

Výrazný rozdíl v hodnotách koncentrace hemových částic mezi skupinou vykrvených a nevykrvených prokazuje vysokou úspěšnost vykrvení, respektive vhodné zvolenou formu pracovního postupu. Slouží jako doplňující informace a potvrzuje vliv vykrvení na rozdílné hodnoty skupin v předchozích měřeních. Olsen a kol. (2006) pak dosahují podobných hodnot na příkladu lososa obecného u skupiny nevykrvených ryb, nicméně vykrvené ryby v našem experimentu vykazují značně nižší hodnoty. Předpokládám, že tento rozdíl je způsobený druhem ryb a rozdílností celkového objemu krve ryby. Díky našemu postupu mohou být hodnoty krve ve skupině nevykrvených ryb

vyšší, než by tomu bylo při přímé filetaci. Nižší hodnoty koncentrace hemových částic ve skupině vykrvených považují, v porovnání s ostatními experimenty, za rozdíl způsobený druhem ryby. Vývoj koncentrace hemových částic mezi skupinou vykrvených a nevykrvených ryb zkoumali Maqsood a Benjaluk (2011). V jejich experimentu pak koncentrace v průběhu času klesá u obou skupin, což je výsledek, který se v našem experimentu nepotvrdil. V našem experimentu pak nebyl prokázán statistický rozdíl ($p < 0,05$) v rámci dnů v jednotlivých skupinách. Z čehož lze usuzovat, že nedocházelo k oxidaci hemoglobinu a jeho koncentrace byla stálá.

Pro plnou představu o vlivu vykrvení na výše zmíněné faktory kvality masa ryb, by bylo potřeba rozšířit experiment a zahrnout další vlivy, které mohou ovlivnit kvalitu masa, jako je například pohlaví a sezónnost. Vykrvení se v námi nastavených podmínkách ukázalo jako užitečné z hlediska zlepšení kvality masa kapra obecného. Pro převod výsledků do praxe by bylo potřeba pokračovat ve výzkumu a podrobněji odhalit vliv kombinace dalších faktorů tak, aby došlo k optimalizaci podmínek a výsledky byly přímo použitelné v praxi.

6 Závěr

V mé diplomové práci byl posuzován vliv vykrvení kapra obecného na následnou kvalitu jeho masa. Vykrvení patří mezi nenáročné metody zpracovatelského průmyslu, nicméně se posuzuje jako jeden z hlavních procesů ovlivňující zlepšení kvality a prodloužení skladovatelnosti rybího masa.

V našem experimentu byla zvolena metoda omráčení pomocí rány do hlavy a následné usmrcení teplotním šokem. Pro dobré vykrvení byla ryba zavěšena tak, aby krev mohla gravitačně vytékat z těla přes prořízlá žábra. Následovalo den trvající uchování na ledu a filetaže. Z výsledků vyplývá, že zvolené metody byly provedeny v odpovídající kvalitě. Výrazný vliv na počáteční hodnoty ukazatelů zhoršující se kvality, neměla ani den trvající technologická přestávka.

V experimentu se prokázal vliv vykrvení na různé ukazatele kvality. Mikrobiální kontaminace, která je jednou z hlavních příčin zhoršení kvality, se díky vykrvení pohybovala i ve dvanáctém dni experimentu hluboko pod obecně uznávanou hranicí zkažení $10^{-6} \log \text{KTJ.g}^{-1}$. Vykrvení také pozitivně ovlivnilo průběh oxidace lipidů, který byl v porovnání s nevykrvenou skupinou minimální. Dalším prokázaným vlivem vykrvení byl vliv na senzoričké hodnocení u syrových vzorků. Jediným málo průkazným testem vlivu vykrvení na kvalitu masa kapra obecného, bylo senzoričké hodnocení vařených vzorků, kdy u skupiny vykrvených ryb byla prokázána statistická rozdílnost pouze v 6. dni experimentu.

Lze tedy konstatovat pozitivní vliv vykrvení na kvalitu masa kapra obecného. Je však potřeba dalších studií, aby bylo možno doporučit zpracovatelům optimalizovaný způsob zařazení tohoto kroku do výrobního procesu. Kvalita masa u vykrvených ryb může dosahovat odpovídající kvality po delší dobu, což může vést k prodloužení skladovatelnosti a prodloužení doby prodeje při zachování kvalitativních standardů.

7 Literatura

- Abbas, K. A., Saleh, A. M., Mohamed, A., Lasekan, O., 2009. The relationship between water activity and fish spoilage during cold storage: A review. *J. Food., Agric. Environ.*, 7: 86-90.
- Adebowale, B. A., Dongo, L. N., Jayeola, C. O., Orisajo, S. B., 2008. Comparative quality assessment of fish (*Clarias gariepinus*) smoked with cocoa pod husk and three other different smoking materials. *J. Food Technol.*, 6: 5-8.
- Agüeria, D., Sanzano, P., Vaz-Pires, P., Rodríguez, E., Yeannes, M. I., 2015. Development of quality index method scheme for common carp (*Cyprinus carpio*) stored in ice. Shelf life assessment by physicochemical, microbiological and sensory quality indices. *J. Aquat. Food Prod. Tech.*, 25: 708-723.
- Ahimbisibwe, J. B., Inoue, K., Shibata, T., Aoki, T., 2010. Effect of bleeding on the quality of amberjack *Seriola dumerili* and red sea bream *Pagrus major* muscle tissues during iced storage. *Fish. Sci.*, 76: 389-394.
- Aske, L., Midling, K., 2001. Slaughtering of Atlantic halibut (*Hippoglossus hippoglossus*): effect on quality and storing capacity. In: Kestin S. C., Warriss P. D., editors. *Farmed fish quality*. Oxford, England: Fishing News Book. Blackwell Science Ltd. pp 381.
- Audley, M. A., Shetty, K. J., Kinsella, J. E., 1978. Isolation and properties of phospholipase A from Pollock muscle. *J. Food Sci.*, 43: 1771-1775.
- Bahuaud, D., Mørkøre, T., Østbye, T. K., Veiseth-Kent, E., Thomassen, M. S., Ofstad, R., 2010. Muscle structure responses and lysosomal cathepsins B and L in farmed Atlantic salmon (*Salmo salar*) pre-and post-rigor fillets exposed to short and long-term crowding stress. *Food Chem.*, 118: 602-615.
- Bakar, J., Yassoralipour, A., Bakar, F. A., Rahman, R. A., 2010. Biogenic amine changes in barramundi (*Lates calcarifer*) slices stored at 0 °C and 4 °C. *Food Chem.*, 119: 467-470.
- Berka, R., 1986. The transport of live fish: a review n. 48. FAO, Rome, Italy, 49 s.
- Berkel, B. M., Boogaard B. V., Heijnen, C., 2004. *Preservation of Fish and Meat*. Agromisa Foundation, Wageningen, The Netherlands, pp: 78-80.
- Borderias J. A., Sánchez – Alonso, I., 2011. First processing steps and the quality of wild and farmed fish. *J. Food Sci.*, 76: R1-R5.
- Botta, J. R., Squires, B. E., Johnson, J., 1986. Effect of bleeding/gutting procedures on the sensory quality of fresh raw Atlantic cod (*Gadus morhua*). *Can. Inst. Food Sci. Tech. J.*, 19: 186-90.
- Bourne, M., 2002. *Food texture and viscosity*. Academic Press, London. 2. vydání, 427 s.
- Buege, J. A., Aust, S. D., 1978. Microsomal lipid peroxidation. *Meth. Enzymol.*, 52: 302-310.

- Chaijan, M., Benjakul, S., Visessanguan, W., Faustman, C., 2004. Characteristics and gel properties of muscles from sardine (*Sardinella gibbosa*) and mackerel (*Rastrelliger kanagurta*) caught in Thailand. *Food Res. Int.*, 37: 1021–1030.
- Connell, J. J., 1980. Control of fish quality. Fishing News Books. 3. vydání. 227 s.
- Dalgaard, P., Madsen, H. L., Samieian, N., Emborg, J., 2006. Biogenic amine formation and microbial spoilage in chilled garfish (*Belone belone*) effect of modified atmosphere packaging and previous frozen storage. *J. Appl. Microbiol.*, 101: 80-95.
- Delbarre-Ladrat, CH., Romuald C. H, Taylor, R., Verrez-Bagnis, V., 2006. Trends in Postmortem Aging in Fish: Understanding of Proteolysis and Disorganization of the Myofibrillar Structure Critical Reviews. *Food Sci. Nut.*, 46, Issue 5: 409-421.
- Digre, H., Erikson, U., Misimi, E., Standal, I. B., Gallart-Jornet, L., Riebroy, S., Rustad, T., 2011. Bleeding of farmed atlantic cod: residual blood, color and quality attributes of pre- and postrigor fillets as affected by perimorten stress and different bleeding methods. *J. Aquat. Food Prod. Tech.*, 20: 391-411.
- Dvořák, P., Pyszko, M., Velíšek, J., Dvořáková Lišková, Z., Andreji, J., 2014. Anatomie a fyziologie ryb. FROV JU, Vodňany, 189 s.
- Eddie, G. C., 1971. A systems approach to quality control and inspection in the fish industry. In: Kreuze, R., (ed.), *Fish inspection and quality control*. Fishing news books Ltd., London. pp. 160-167,
- Emborg, J., Laursen, B. G., Dalgaard, P., 2005. Significant histamine formation in tuna (*Thunnus albacares*) at 2°C: Effect of vacuum and modified atmosphere packaging on psychrotolerant bacteria. *Int. J. Food Microbiol.*, 101: 263-279.
- Engvang, K., Nielsen, H. H., 2001. Proteolysis in fresh and cold-smoked salmon during cold storage: Effects of storage time and smoking process. *J. Food Biochem.*, 25: 379-395.
- Erikson, U., Misimi, E., Gallart-Jornet, L., 2011. Superchilling of rested Atlantic salmon: Different chilling strategies and effects on fish and fillet quality. *Food Chem.*, 127: 1427-1437.
- FAO., 1986. Fisheries Technical Papers-T142. The production of fish meal and oil. Fisheries Industries Division, Food and Agriculture Organization of the United Nations, Rome, Italy, 63 s.
- FAO., 2005. Post-harvest changes in fish. In: FAO Fisheries and Aquaculture Department, Food and Agriculture Organization of the United Nations, Rome, Italy, 449 s.
- Farrell, A. P., Gallagher, P. E., Routledge, R., 2001. Rapid recovery of exhausted adult coho salmon after commercial capture by troll fishing. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.*, 58: 2319-2324
- Faustman, C., Cassens, R. G., 1990. The biochemical basis for discoloration in fresh meat: A review. *J. Mus. Food*, 1: 217–243.

- Ferreira Pinto, J., Nunes, M. L., Cardoso, C., 2007. Feeding interruption and quality of cultured gilthead sea bream. *Food Chem.*, 100: 1504–1510.
- Frankel, E. N., 1985. Chemistry of free radical and singlet oxidation of lipids. *Progress. Lipid Res.*, 23: 197-221.
- Fraser, O., Sumar, S., 1998. Compositional changes and spoilage in fish. *Nutr. Food Sci.*, 5: 275-279.
- Ghaly, A. E., Dave, D., Budge, S., Brooks, M. S., 2010. Fish spoilage mechanism and preservation techniques: review. *Am. J. Appl. Sci.*, 7: 859 – 877.
- Gines, R., Palicio, M., Zamorano, M. J., Arguello, A., Lopez, J. L., Alfonso, J. M., 2002. Starvation before slaughtering as a tool to keep freshness attributes on gildhead sea bream (*Sparus aurata*). *Aqua. Int.*, 10: 379–89.
- Goodrich, W., Balakireva, L., 2015. A freshness assay for seafood. Wiley periodical. [online] [cit. 2017-05-04]. Dostupné na: <http://www.foodqualityandsafety.com/article/a-freshness-assay-for-seafood>
- Gram, L., Dalgaard, P., 2002. Fish spoilage bacteria – problems and solutions. *Curr. Op. Biotech.*, 13: 262 – 266.
- Gram, L., Huss, H. H., 2000. Fresh and processed fish and shellfish. In: Lund, B. M., Baird-Parker, T. C., Gould, G. W., (eds.), *The Microbiological Safety and Quality of Food*, Gaithersburg, Md: Aspen Publishers, pp. 472-506.
- Gray, J. I., Gomma, E. A., Buckley, D. J., 1996. Oxidative quality and shelf life of meats. *Meat Sci.*, 43: 111-123.
- Grunwald, E. W., Richards, M. P., 2006. Studies with myoglobin variants indicate that released haemin is the primary promoter of lipid oxidation in washed fish muscle. *J Agr. Food Chem.*, 54: 4452–4460.
- Hansen, P., 1980. Fish preservation methods. In: Connell, J., (ed.), *Advances in Fish Science and Technology*, J. Connell, ed., Fishing News Books Ltd., London, pp. 28-34.
- Hansen, T. L., Gill, T., Rontved, S. D., Huss, H. H., 1996. Importance of autolysis and microbiological activity on quality of cold-smoked salmon. *Food Res. Int.*, 29: 181-186.
- Hosseini, S. V., Hamzeh, A., Moslemi, M., Lashkan, A. B., Iglesias, A., Feás, X., 2013. Effect of delayed icing on biogenic amines formation and bacterial contribution of iced common carp (*Cyprinus carpio*). *Molecules*, 18: 15464-15473.
- Huidobro, A., Tejada, M., 2004. Gilthead seabream (*Sparus aurata*): suitability for freezing and commercial alternatives. *J. Sci. Food Agric.*, 84: 1405–1413.
- Huis in't Veld, J. H. J., 1996. Microbial and biochemical spoilage of foods: An overview. *Int. J. Food Microbiol.*, 33: 1-18.

- Hultin, H. O., 1994. Oxidation of Lipids in Seafoods. In: Shahidi, F., Botta, J. R., (eds.), Seafoods chemistry, processing technology and quality, 1. Vydání, Blackie academic and professional, London, UK., pp. 49-74.
- Hultmann, L., Rustad, T., 2002. Textural changes during iced storage of salmon (*Salmo salar*) and cod (*Gadus morhua*). J. Aquat. Food Prod. Tech., 11: 105-123.
- Huss, H. H., 1995. Quality and quality changes in fresh fish. FAO fisheries technical. Rome: FAO Press; 348 s.
- Huss, H. H., Ababouch, L., Gram, L., 2004. Assessment and management of seafood safety and quality. FAO fisheries technical paper. 44 s.
- Ingr, I. 2003. Produkce a zpracování masa. 1. vydání, Mendelova zemědělská a lesnická universita v Brně, 202 s.
- Ingr, I. 2004. Jakost a zpracování ryb. Mendelova zemědělská a lesnická universita v Brně, 99 s.
- Ingr, I., Pokorný, J., Valentová, H., 1997. Senzorická analýza potravin. 1. vydání, Mendelova Univerzita v Brně, 101 s.
- Jensen, F. B., 2004. Red blood cell pH, the Bohr effect, and other oxygenation-linked phenomena in blood O₂ and CO₂ transport. Acta Physiol. Scand., 182: 215–227.
- Kanner, J., Harel, S., 1985. Initiation of membranial lipid peroxidation by activated metmyoglobin and methaemoglobin. Arch. Biochem. Biophys., 237: 314–321.
- Kapute, F., 2008. Fish quality and processing in Malawi: responding to challenges through institutional capacity building. University of Malawi, Lilongwe, 90 s.
- Kestin, S., Wotton, S., Adams S., 1995. The effect of CO₂ conclusion or electrical stunning of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) on fish welfare. In: Quality in aquaculture. Special Publication 23, Ghent, Belgium: E. Aqua. Soc., pp. 380–381.
- Khayat, A., Schwall, D., 1983. Lipid oxidation in seafood. Food Technol., 37: 130-140.
- Kiessling, A., Espe, A., Ruohonen, K., Morkore, T., 2004. Texture, gaping and colour of fresh and frozen Atlantic salmon flesh as affected by pre-slaughter iso-eugenol or CO₂ anaesthesia. Aquaculture, 236: 645–57.
- Kopřiva, V., Hostovský, M., Nekvapil, T., Pechová, A., 2014. Vybrané kapitoly z biochemie potravin. 1. vydání. Veterinární a farmaceutická universita Brno, 200 s.
- Lambooi, E., Grimsbø, E., Van de Vis, J. W., Reimert, H. G. M., Nortvedt, R., Roth, B., 2010. Percussion and electrical stunning of Atlantic salmon (*Salmo salar*) after dewatering and subsequent effect on brain and heart activities. Aquaculture, 300: 107-112.
- Li, T., Li, J., Hu, W., Zhang, X., Li, X., Zhao, J., 2012. Shelf-life extension of crucian carp (*Carassius auratus*) using natural preservatives during chilled storage. Food Chem., 135: 140-145.

- Lin, T. M., Park, J. W., 1996. Protein solubility in Pacific whiting affected by proteolysis during storage. *J. Food Sci.*, 61: 536-539.
- Llonch, P., Lambooj, E., Reimert, H. G. M., Van de Vis, J. W., 2012. Assessing effectiveness of electrical stunning and chilling in ice water of farmed yellowtail kingfish, common sole and pike-perch. *Aquaculture*, 364: 143-149.
- Love, R. M., Haq, M. A., 1970. The connective tissues of fish IV. Gaping of cod muscle under various conditions of freezing, cold storage and thawing. *J. Food Tech.*, 5: 249–260.
- Lucera, A., Costa, C., Conte, A., Matteo, A., 2012. Food application of natural antimicrobial compounds. *Front. Microbiol.*, 3: 1-13.
- Mahmoud, B. S., Yamazaki, K., Miyashita, K., Il-Shik, S., Dong-Suk, C., Suzuki, T., 2004. Bacterial microflora of carp (*Cyprinus carpio*) and its shelf-life extension by essential oil compounds. *Food Microbiol.*, 21: 657-666.
- Maqsood, S., Benjakul, S., 2011. Comparative studies on molecular changes and pro-oxidative activity of haemoglobin from different fish species as influenced by pH. *Food Chem.*, 124: 875–883.
- Merten, M., 2012. *Zpracování ryb. 2. vydání*, Informatorium, 294 s.
- Meyer, B., Samuels, R., Flick, G., 1986. A seafood quality program for the mid-Atlantic region, Part II. A report submitted to the Mid-Atlantic Fisheries Development Foundation. Blacksburg, Virginia Polytechnic Inst. and State Univ., Sea Grant, 259 s.
- Michie, I., 2001. Causes of downgrading in the salmon farming industry. In: Kestin, S. C., Warriss, P. D., (Eds.), *Farmed fish quality*. Fishing news books, London, pp. 129–136.
- Moser, M. D., 1986. Maine Groundfish Association vessel quality handling project. A report submitted to the New England fisheries development foundation; Maine Groundfish Association vessel quality handling project. Gloucester, Mass. 296 s.
- Nařízení evropského parlamentu a Rady ES č. 1881/2006, kterým se stanoví maximální hodnoty některých látek v potravinách.
- Nařízení evropského parlamentu a Rady ES č. 2073/2005, o mikrobiologických kritériích pro potraviny.
- Nuin, M., Alfaro, B., Cruz, Z., Argarate, N., George, S., 2008. Modeling spoilage of fresh turbot and evaluation of a Time-Temperature Integrator (TTI) label under fluctuating temperature. *Int. J. Food Microbiol.*, 127: 193-199.
- Ojagh, S. M., Rezaei, M., Razavi, S. H., Hosseini, S. M. H., 2010. Effect of chitosan coatings enriched with cinnamon oil on the quality of refrigerated rainbow trout. *Food Chem.*, 120: 193-198.

- Olafsdóttir, G., Lauzon, H. L., Martinsdóttir, E., Kristbergsson, K., 2006. Influence of storage temperature on microbial spoilage characteristics of haddock fillets (*Melanogrammus aeglefinus*) evaluated by multivariate quality prediction. *Int. J. Food Microbiol.*, 111: 112-125.
- Olafsdóttir, G., Martinsdóttir, E., Oehlenschlager, J., Dalgaard, P., Jensen, B., Undeland, I., Mackie, I. M., Henehan, G., Mielsen, J., Nilsen, H., 1997. Methods of evaluate fish freshness in research and industry. *Trends. Food Sci. Technol.*, 8: 258 – 265.
- Olsen, S. H., Joensen, S., Tobiassen, T., Heia, K., Akse, L., Nilsen, H., 2014. Quality consequences of bleeding fish after capture. *Fish. Res.*, 153: 103-107.
- Olsen, S. H., Sorensen, N. K., Stonno, S. K., Elvevoll, E. O., 2006. Effect of slaughter methods on blood spotting and residual blood in fillets of Atlantic salmon (*Salmo salar*). *Aquaculture*, 258: 462–9.
- Pedrosa-Menabrito, A., Regenstein. J. M., 1990. Shelf life extencion of fresh fish – a review. Part III – Fish quality and methods of assessment, Cornell university, Department of polutry and avian sciences. Itahaca, New York. *J. Food. Qual.* 13: 209-223.
- Pipek, P., Jirotková, D., 2001. Hodnocení jakosti, zpracování a zbožíznalství živočišných produktů. Část 3. Hodnocení a zpracování masa, drůbeže, vajec a ryb. 1. vydání. Jihočeská universita v Českých Budějovicích, Zemědělská fakulta, 136 s.
- Poli, B. M., Parisi, G., Scappini, F., Zampacavallo, G., 2005. Fish welfare quality as affected by pre-slaughter and slaughter management. *Aquacult. Int.*, 13: 29–49.
- Rahmanifarah, K., Shabanpour, B., Sattari, A., 2011. Effects of clove oil on behaviour and flesh quality of Common carp (*Cyprinus carpio*) in comparison with pre-slaughter CO2 stunning chilling and asphyxia. *Turk. J.Fish. Aquat. Sci.*, 11: 139-147.
- Rahmanifarah, K., Shabanpour, B., Sattari, A., Shabani, A., Reza Imapour, M., 2010. Physiological and metabolic responses of common carp (*Cyprinus carpio*) to different pre-slaughter stunning methods. *Afri. J. Anim. Biomed. Sci.*, 5: 21-28.
- Richards, M. P., Hultin, H. O., 2002. Contributions of blood and blood components to lipid oxidation in fish muscle. *J. Agri. Food Chem.*, 50: 555-564.
- Robb, D. H. F., 2001. The relationship between killing methods and quality. In: Kestin S. C., Warriss P. D., (eds.), *Farmed fish quality*. Oxford. England: Fishing news book, Blackwell science Ltd., Oxford, England, pp. 220–33.
- Robb, D. H. F., Kestin, S. C. Warriss, P. D., 2000. Muscle activity at slaughter: I. Changes in flesh colour and gapping in rainbow trout. *Aquaculture*, 182: 261-269.
- Robb, D. H. F., Philips, A. J., Kestin, S. C., 2003. Evaluation of methods for determining the prevalence of blood spots in smoked Atlantic salmon and the effect of exsanguinations method on prevalence of blood spots. *Aquaculture*, 217: 125–138.

- Robb, D. H., Roth, B., 2003. Brain activity of Atlantic salmon (*Salmo salar*) following electrical stunning using various field strengths and pulse durations. *Aquaculture*, 216: 363-369.
- Roth, B., Imsland, A., Gunnarsson, S., Foss, A., Schelvis-Smith, R., 2007. Slaughter quality and rigor contraction in fanned turbot (*Scophthalmus maximus*): a comparison between different stunning methods. *Aquaculture* 272: 754–61.
- Roth, B., Imsland, A., Moeller, D., Slinde, E., 2003. Effect of electric field strength and current duration on stunning and injuries in market-sized Atlantic salmon held in seawater. *N. Am. J. Aquacult.*, 65: 8-13.
- Roth, B., Torrissen O. J., Slinde, E., 2005. The effect of slaughtering procedures on blood spotting in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) and Atlantic salmon (*Salmo salar*). *Aquaculture*, 250: 796–803.
- Ruis, W., Bayne, CH. J., 1997. Effects of acute stress on blood clotting and yeast killing by phagocytes of rainbow trout. *J. Aqua. Anim. Health*, 9: 190-195.
- Sallam, K. I., 2007. Antimicrobial and antioxidant effects of sodium acetate, sodium lactate, and sodium citrate in refrigerated sliced salmon. *Food Cont.*, 18: 566-575.
- Sampels, S., Levý, E., Mráz, J., Vejsada, P., Zajíc, T., 2014. Kvalita a gastronomie ryb a rybích výrobků. 1. vydání. Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích, Fakulta rybářství a ochrany vod, 247 s.
- Sigholt, T., Erikson, U., Rustad, T., Johansen, S., Nordvedt, T., Seland, A., 1997. Handling stress and storage temperature affect meat quality of farm-raised Atlantic salmon (*Salmo salar*). *J. Food Sci.*, 62: 898–905.
- Slack-Smith, R. J., 2001. Fishing with traps and pots. Food and Agriculture Organization of the United Nations, Rome, Italy, 62 s.
- Smart, G., 2001. Problems of sea bass and seabream quality in the Mediterranean. In: Kestin S. C., Warriss P. D., (eds.), *Farmed fish quality*. Oxford, England: Fishing news book, Blackwell science Ltd., Oxford, England, pp. 121–128.
- Sohn, J. H., Ushio, H., Ishida, N., Yamashita, M., Terayama, M., Ohshima, T., 2007. Effect of bleeding treatment and perfusion of yellowtail on lipid oxidation in post-mortem muscle. *Food Chem.*, 104: 962–70.
- Sørensen, N. K., Brataas, R., Nyvold, T. E., Lauritzen, K., 1997. Influence of early processing (pre-rigor) on fish quality. *Devel. Food Sci.*, 38: 253-264.
- Storm, T., Lien, K., 1984. Fish handling on board Norwegian fishing vessels. Fifty years of fisheries research in Iceland. Reykjavik, Iceland: Jubilee seminar of the Icelandic fisheries lab., Reykjavik, Iceland, pp. 15.
- Tejada, M., Huidobro, A., 2002. Quality of farmed gilthead seabream (*Sparus aurata*) during iced storage related to the slaughter methods and gutting. *Eur. Food Res. Technol.* 215: 1–7.

- Thiansilakul, Y., Benjakul, S., Richards, M. P., 2011. Effect of myoglobin from Eastern little tuna muscle on lipid oxidation of washed Asian seabass mince at different pH conditions. *J. Food Sci.*, 76: 242–249.
- Valdimarsson, G., Matthiasson, A., Stefansson, G., 1984. The effect of bleeding and gutting on the quality of fresh, quick frozen, and salted products. Fifty years of fisheries research in Iceland. Jubilee seminar of the Icelandic fisheries lab., Reykjavik, Iceland, pp. 61.
- Van de Vis, H., Kestin, S. C., Robb, D., Oehlenschläger, J., Lambooij, B., Munkner, W., Kuhlmann, H., Kloosterboer, K., Tejada, M., Huidobro, A., Ottera, H., Roth, B., Kristian Sørensen, N., Akse, L., Byrne, H., Nesvadba, P., 2003. Is humane slaughter of fish possible for industry?. *Aquac. Res.* 34: 211–20.
- Vyhláška Ministerstva zemědělství České republiky č. 382/2004 Sb., o ochraně zvířat při porážení, utrácení nebo jiném usmrcování.
- Wilkinson, J., 2008. The food processing industry, globalization and developing countries. In: *The transformation of agri-food systems: globalization, supply chains and smallholder farmers*. Food and Agriculture Organization of the United Nations, Rome, Italy, pp. 87-108.
- Yorkowski, M., Brockerhoff H., 1965. Lyso lecthinase of cod muscle. *J. Fish Res.*, 22: 643-652.
- Zákon č. 246/1992 Sb., na ochranu zvířat proti týrání.

8 Abstrakt

Cílem práce bylo otestovat vliv vykrvení na kvalitativní parametry u kapra obecného.

Pro posouzení vlivu vykrvení na barvu filet bylo použito spektrofotometrické měření. Senzorické hodnocení probíhalo dle standardů ISO 8529 za pomoci vyškolených pracovníků FROV JU. Hodnocení probíhalo na syrových a vařených vzorcích. K hodnocení mikrobiologického kažení byla použita horizontální metoda stanovení celkového počtu mikroorganismů – technika počítání kolonií vykultivovaných při 30 °C (ČSN EN ISO 4833) a parametr oxidace lipidů se stanovoval pomocí měření obsahu malondialdehydu - sekundárního produktu oxidace lipidů metodou TBARS.

Při sledování změny barvy byl prokázán vliv na všechny ukazatele (L^* , a^* i b^*). Průměr naměřených hodnot světlosti L^* byl $43,7 \pm 1$; $42,7 \pm 1$, a $43 \pm 0,9$ u skupiny vykrvených ryb a $37,5 \pm 0,5$; $37,9 \pm 0,7$ a $37,4 \pm 0,6$ u skupiny nevykrvených ryb. Průměr naměřených hodnot červenosti a^* byl $-1,4 \pm 0,2$; $-1,6 \pm 0,2$ a $-0,9 \pm 0,4$ u skupiny vykrvených ryb a $4,5 \pm 2,3$; $3,6 \pm 1,6$ a $7,4 \pm 1$ u skupiny nevykrvených ryb. U Všech výše uvedených hodnot byla prokázána statistická rozdílnost ($p < 0,05$) mezi skupinami v každém dni měření. Ve faktoru b^* byla tato rozdílnost sledována jen v prvních 9 dnech. Při senzorických hodnoceních byl na syrových vzorcích mezi skupinami vykrvených a nevykrvených ryb potvrzen statisticky významný rozdíl ($p < 0,05$) hodnocení v 1. a 3. dni u všech kritérií. U vařených vzorků se skupiny od sebe lišily ve všech faktorech pouze v 6 dni. Mikrobiologické hodnoty $\log \text{KTJ.g}^{-1}$ byly na konci experimentu u vykrvených ryb $4 \pm 0,2 \log \text{KTJ.g}^{-1}$ a $6,3 \pm 0,1 \log \text{KTJ.g}^{-1}$ u skupiny nevykrvených ryb. Vliv vykrvení na oxidaci lipidů se markantně projevil především v posledním dni experimentu, kdy hodnoty u skupiny vykrvených dosahovaly $17,8 \pm 8,8 \mu\text{g.kg}^{-1}$ vzorku a u skupiny nevykrvených $39,9 \pm 6,4 \mu\text{g.kg}^{-1}$ vzorku. U obou skupin byl vývoj oxidace lipidů v čase exponenciální.

Vliv vykrvení se projevil ve všech sledovaných aspektech hodnocení kvality masa. Lze konstatovat pozitivní vliv vykrvení na kvalitu masa kapra obecného. Pro převod těchto výsledků do praxe je však zapotřebí nejprve provést další studie k optimalizaci procesu vykrvení.

Klíčová slova: ryba, vykrvení, kapr, rybí maso, kvalita, zpracování

9 Abstract

The aim of this study was to test the influence of bleeding on the flesh quality of common carp.

For the assessment of the influence of bleeding on the colour, spectrophotometrical measuring was used. The sensory quality was evaluated to an ISO 8529 standard by a trained staff member of the Institute of Aquaculture and Protection of Water. Both raw and cooked samples were evaluated. Microbiological analysis was done according to ISO 4833 standard and lipid oxidation measured by TBARS.

The influence of the bleeding was observed in all colour parameters (L^* , a^* and b^*). The average of L^* values was 43.7 ± 1 ; 42.7 ± 1 , a 43 ± 0.9 in bled group and 37.51 ± 0.54 ; 37.98 ± 0.79 ; 37.42 ± 0.6 in unbled. The average of a^* values was -1.4 ± 0.2 ; -1.6 ± 0.2 ; -0.9 ± 0.4 in the bled group and 4.5 ± 2.3 ; 3.6 ± 1.6 ; 7.4 ± 1 in the unbled group. A significant difference ($p < 0.05$) between groups was observed in all days of study in the L^* and a^* parameter. In the b^* parameter there was a difference observed just in the first nine days.

A significant difference ($p < 0.05$) between the bled and the unbled groups was observed in all criteria on the raw sample on the 1st and 3rd days. Cooked samples were significantly different ($p < 0.05$) just on the 6th day of study. Microbiological results came up to $4 \pm 0.2 \log \text{CFU.g}^{-1}$ in the bled group and $6.3 \pm 0.1 \log \text{CFU.g}^{-1}$ in the unbled group. The influence of bleeding was shown in lipid oxidation too. At the end of the study TBARS values were $17.8 \pm 8.8 \mu\text{g.kg}^{-1}$ of the sample in the bled group and $39.9 \pm 6.4 \mu\text{g.kg}^{-1}$ of the sample in the unbled group. In both groups, exponential growth was shown.

The influence of bleeding was observed in all parameters. It can be stated that the bleeding has a positive influence on the flesh quality of common carp. In order to convert these results into practice, further studies to optimize the bleeding process are needed.

Key words: fish, bleeding, carp, fish meat, quality, processing