

Česká zemědělská univerzita v Praze

Fakulta agrobiologie, potravinových a přírodních zdrojů

Katedra kvality a bezpečnosti potravin



**Česká zemědělská
univerzita v Praze**

**Vliv teploty a silic na inaktivaci
patogenních mikroorganismů v jablečno-řepném moštu**

Diplomová práce

Autor práce: Bc. Markéta Tvrdá

Obor studia: Kvalita a zpracování zemědělských produktů

Vedoucí práce: Ing. Matěj Božik, Ph.D.

© 2020 ČZU v Praze

Čestné prohlášení

Prohlašuji, že svou diplomovou práci "Vliv teploty a silic na inaktivaci patogenních mikroorganismů v jablečno-řepném moštu" jsem vypracovala samostatně pod vedením vedoucího diplomové práce a s použitím odborné literatury a dalších informačních zdrojů, které jsou citovány v práci a uvedeny v seznamu literatury na konci práce. Jako autorka uvedené diplomové práce dále prohlašuji, že jsem v souvislosti s jejím vytvořením neporušila autorská práva třetích osob.

V Praze dne 24.7.2020

Poděkování

Ráda bych touto cestou chtěla poděkovat mé rodině, která mě v nejtěžších chvílích podporovala, kamarádům, kteří mě podrželi a nenechali mě to vzdát a též bych chtěla poděkovat panu Ing. Matěji Božikovi, Ph.D. za čas, vedení práce v laboratoři i mimo, ní, cenné rady a trpělivost.

Vliv teploty a silic na inaktivaci patogenních mikroorganismů v jablečno-řepném moštu

Souhrn

Cílem této diplomové práce bylo ověřit účinnost silic jako konzervantů ovocně-zeleninové šťávy v kombinaci s teplotním ošetřením proti schopnosti přežití patogenních organismů (*E. coli* a *Salmonella*). Ovocné a zeleninové šťávy jsou důležitým zdrojem ve vodě rozpustných vitaminů a minerálních látek, které mají blahodárný vliv na lidské zdraví. Avšak velkou nevýhodou je jejich nízká odolnost vůči kažení způsobená mikrobiální kontaminací. V některých případech, můžou být mošty kontaminovány patogenními bakteriemi, což se už v minulosti několikrát prokázalo. Existuje celá řada konvenčních technik, jak mošty konzervovat. Některé metody jsou založeny na tepelném ošetření, jiné spoléhají na využití chemických sloučenin. Spotřebitelé stále více upřednostňují přírodní a neošeroené produkty. Použití silic často vede k nežádoucím senzorickým změnám produktu. Odpovědí na takovou poptávku může být mošt ošetřený nízkou pasterační teplotou v kombinaci s přírodní silicí. Takový produkt si zachovává všechny nutričně významné látky, a přitom je pro spotřebitele bezpečný. Modifikovaná chuť a vůně, můžou být při správné prezentaci považovány za přidanou hodnotu produktu.

Pasterovaný jablečno-řepný mošt byl inokulován dvěma kmeny potenciálně patogenních bakterií (*E. coli* a *Salmonella enterica*). Takto připravený mošt byl ošetřen různými způsoby, které zahrnovaly teploty a časy (0 °C, 60 °C po dobu dvaceti minut a 90 °C po dobu jedné minuty), přidání dvou silic (skořicové a voňatky citrónové (lemongrass)) v koncentracích (skořice: 256, 128, 64, 32, 16 μl/l a voňatka: 256, 128, 64, 32, 16, 8 μl/l) a všech jejich kombinací. V těchto variantách bylo zkoumáno celkové přežití patogenních mikroorganismů (*E. coli* a *Salmonella enterica*). Stanovení probíhalo na dvou různých živných půdách, a to na chromogenním TBX a XLD agaru. Rozbory byly prováděny vždy 1., 4., 10. a 16. den.

Z výsledků vyplynulo, že silice skořice měla lepší inhibiční účinek na *Salmonella*, zatímco silice voňatky vykazovaly lepší inhibiční účinky proti *E. coli*, nicméně byla identifikována závislost účinku silic na jejich koncentraci. Prokazatelně významný rozdíl vykazoval i kontrolní vzorek, který od čtvrtého dne měl nižší naměřené hodnoty než, některé vzorky ošetřené jednou ze silic. Nejeefektivnější se ale ukázaly obě tepelná ošetření, na kterých v průběhu 16 dní nedošlo k žádnému nárůstu kolonií.

Klíčová slova: mošt, *E. coli*, *Salmonella*, silice, voňatka, skořice, konzervace

Influence of temperature and essential oils to inactivation of pathogenic microorganisms in apple-beet juice

Summary

This work aimed to test the effectivity of essential oils combined with the thermal treatment against the viability of pathogenic organisms (*E. coli* and *Salmonella*) of apple-beet juice. Fruit and vegetable juices are an important source in water-soluble vitamins and minerals, which has a beneficial impact on human health. However, their big disadvantage is low resistance to spoilage caused by microbial contamination. In some cases, juices can be contaminated by pathogen bacteria, which was proven in the past. There are many ways of conventional techniques of how to preserve juices. Some of the methods are based on heat processes, others are based on usage of chemical compounds. Consumers are preferring natural, not processed products without chemical preservatives. The usage of essential oils usually leads to undesirable sensory changes in the product. The solution for this inquiry can be a juice processed by low pasteurization temperature combined with natural essential oil. This kind of product keeps all necessary nutritionally important substances and stays safe for the customer. Modified taste and odour can increase the value of the product when it is presented correctly.

Pasteurized apple-beet juice was inoculated by two species of potentially pathogenic bacteria (*E. coli* and *Salmonella enterica*). A juice prepared this way was treated by temperatures and times-limits (0 °C, 60 °C for 20 minutes and 90 °C for 1 minute), and two essential oils (cinnamon and lemongrass) in different concentrations (cinnamon: 256, 128, 64, 32, 16 µl/l and lemongrass: 256, 128, 64, 32, 16, 8 µl/l) and all its combinations. In those variations, the overall survival of microorganisms of pathogen microorganisms (*E. coli* and *Salmonella enterica*), were analysed. The determination took place on two various nutrient mediums and chromogenic TBX and XLD agar. The overall analysis was executed at 1st, 4th, 10th and 16th day.

The results showed that cinnamon essential oil had a better inhibitory effect on *Salmonella*. However, the lemongrass essential oil showed better inhibitory effect within *E. coli*, nevertheless in general it was identified that the strength of the effect of essential oils depends on their amount. A significant difference was revealed within the control sample, which at a certain point had lower values than some of the samples which were proceeded with one of the essential oils. Although the most effective were both heat treatments which after 16 days did not show any colonies.

Keywords: juice, *E. coli*, *Salmonella*, essential oil, lemongrass, cinnamon, preservation

Obsah

1 Úvod	8
2 Cíl práce.....	9
3 Literární rešerše.....	10
3.1 Ovocné a zeleninové šťávy	10
3.1.1 Legislativa ovocných a zeleninových šťáv	10
3.1.2 Jablka	11
3.1.2.1 Jablečná šťáva	12
3.1.3 Červená řepa	13
3.1.3.1 Šťáva z červené řepy	13
3.2 Výroba moštů	13
3.2.1 Postup při výrobě moštů	14
3.3 Mikrobiální kontaminace moštů.....	16
3.3.1 <i>Escherichia coli</i>	17
3.3.2 <i>Salmonella enterica</i>	18
3.4 Konzervace ovocných a zeleninových šťáv.....	19
3.4.1 Termální technologie konzervace	20
3.4.2 Netermální technologie konzervace	20
3.4.2.1 Vysoký hydrostatický tlak (HHP-high hydrostatic pressure).....	21
3.4.2.2 Pulzní elektrické pole (PEF-pulsed electric field).....	21
3.4.2.3 Ultrafialové záření (UV-ultraviolet light)	22
3.5 Rostlinné silice	22
3.5.1 Voňatka citrónová.....	23
3.5.2 Skořicová silice.....	24
3.5.3 Konzervace pomocí silic.....	25

3.6	Obalové materiály	25
3.6.1	Skleněné lahve	27
3.6.2	Plastové lahve	27
3.6.3	Nápojové kartony	28
3.6.3.1	Tetra Pak	28
3.6.3.2	Bag in box	29
4	Materiál a metody	30
4.1	Mošt	30
4.2	Použitá média	30
4.3	Příprava vzorků	30
4.4	Mikrobiologický rozbor	34
5	Výsledky	35
5.1	Výsledky celkového počtu mikroorganismů	35
5.1.1	Stanovení <i>Escherichia coli</i> po dnech na TBX agaru	36
5.1.2	Nárusty <i>Salmonella</i> po dnech na XLD agaru	40
5.2	Hodnocení barvy	44
6	Diskuze	45
7	Závěr	47
8	Literatura	48
9	Seznam použitých obrázků, grafů a tabulek	62
10	Samostatné přílohy	I
10.1	Nárůst <i>Escherichia coli</i> na TBX agaru po dnech se silicí voňatky	I
10.2	Nárůst <i>Escherichia coli</i> na TBX agaru po dnech se silicí skořice	II
10.3	Nárůst <i>Salmonell</i> na XLD agaru po dnech se silicí voňatky	IV
10.4	Nárůst <i>Salmonelly</i> na XLD agaru po dnech se silicí skořice	VI

1 Úvod

Ovocné a zeleninové šťávy jsou celosvětově konzumované nápoje. Celosvětová poptávka po vysoce kvalitních čerstvých ovocných šťávách neustále roste; zejména proto, že se zvyšuje povědomí o zahrnutí čerstvých šťáv do lidské stravy místo nealkoholických a slazených nápojů. Ovocná šťáva má významnou roli ve zdravé stravě díky obsahu vitamínů, minerálů, antioxidantů, fytochemických látek a jeho podílu na spotřebě tekutin. Průmysl ovocných a zeleninových šťáv je jedním z nejrychleji rostoucích odvětví nápojů na světě. Ovocné šťávy, které jsou přirozeně bohaté na bioaktivní sloučeniny s vlastnostmi podporujícími zdraví a snižujícími onemocnění, jsou důležitými přispěvateli k výživě lidí. Tyto přírodní biologicky aktivní složky podporující zdraví poskytují spotřebitelům celou řadu zdravotních výhod, jako je udržování normálního krevního tlaku, ochrana pokožky, kostí, kardiovaskulárního systému a nervového systému (Macready et al., 2009).

Přírodní ovocné šťávy jsou však velmi náchylné ke kažení, což činí výrobu stabilních čerstvých nápojů náročnou. Ovocné šťávy mohou být kontaminovány i patogenními mikroorganismy, které mohou růst a přežít za kyselých podmínek, což způsobuje problémy zpracovatelům a spotřebitelům (Ferrario et al., 2015). K prodloužení trvanlivosti ovocných šťáv se používají různé techniky, včetně termických (dlouhodobá pasterace s nízkou teplotou a krátkodobá pasterace s vysokou teplotou) a netermických (membránová filtrace, vysokotlaká technologie, ultrazvuk, pulzní elektrický pole a použití rostlinných silic).

V této diplomové práci byla použita krátkodobá a dlouhodobá pasterace jako termální ošetření. Aplikace těchto technik má různé nevýhody, včetně ztráty organoleptických vlastností šťávy (Chen et al., 2013, Devlieghere et al., 2004), a proto v průběhu let bylo rozsáhle zkoumáno použití přírodních přísad. Seznam přírodních přísad do džusů sahá od antimikrobiálních látek, jako jsou organické kyseliny, silice a jejich složky až po vitamíny (Baskaran et al., 2010). Silice se staly velmi populární při konzervaci ovocných nápojů, a proto byly v této práci využity. Používaly se silice skořice a voňatky. Též výběr obalového materiálu pro ovocné šťávy je klíčovým bodem, pokud jde o trvanlivost, a v této oblasti bylo provedeno mnoho výzkumů (Zerdin et al., 2003).

2 Cíl práce

Cílem práce je ověřit účinnost silic jako konzervantů ovocně-zeleninové šťávy. Práce bude zaměřena zejména na schopnost přežití patogenních mikroorganismů-*Escherichia coli* a *Salmonella*. Různé koncentrace silic se známými antibakteriálními účinky (skořicová a voňatková silice) budou kombinovány s teplotním ošetřením.

Hypotéza: Pomocí tepelného ošetření a silic, lze zajistit vyšší bezpečnost jablečno-řepného moštu.

3 Literární rešerše

3.1 Ovocné a zeleninové šťávy

Šťávy mají blahodárný vliv na celkové zdraví lidského organismu a imunitní systém. Jsou vhodné jako doplněk, snižují nadváhu (zvláště zeleninové), pozitivně ovlivňují zažívání a mají čistící, detoxikační a regenerační schopnosti. Díky velkému obsahu vitamínů a minerálů udržují hormonální rovnováhu, podporují mozkovou i nervovou činnost a chrání před mnoha onemocněními. Poskytují tělu potřebnou energii, odstraňují únavu a pomáhají v období stresu (Batíková, 2009).

3.1.1 Legislativa ovocných a zeleninových šťáv

Definice ovoce a zeleniny pro zpracování: Mohou se používat všechny druhy ovoce a zeleniny. Suroviny musí být zdravé, přiměřeně zralé, čerstvé nebo konzervované fyzikálními prostředky nebo úpravou použitou v souladu s právními předpisy Unie, včetně úpravy po sklizni.

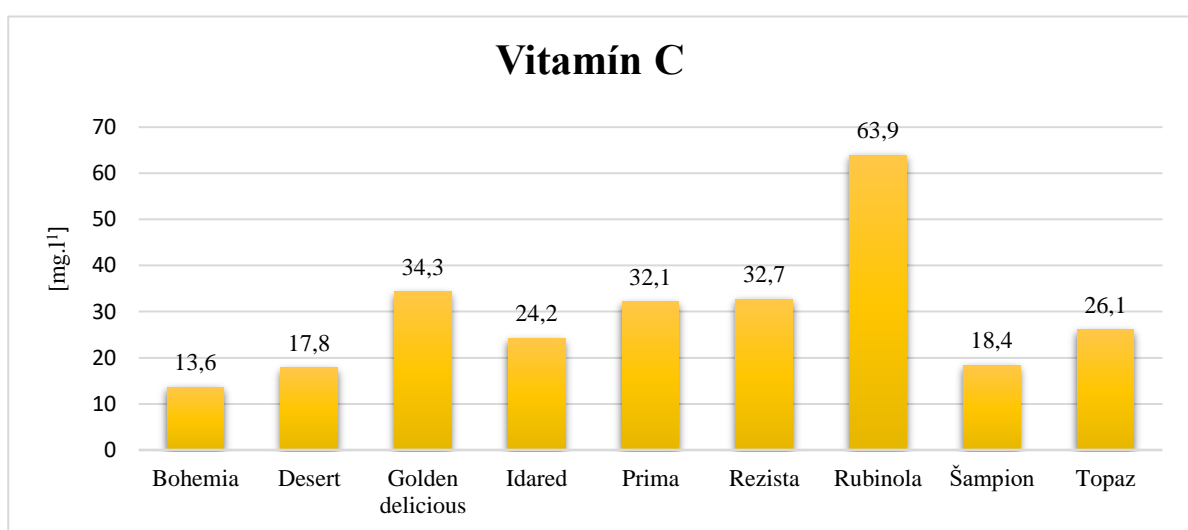
Směrnice Rady 2001/112/ES ze dne 20. prosince 2001 definuje několik typů ovocných a zeleninových šťáv:

- **Ovocnou nebo zeleninovou šťávou** je zkvasitelný, ale nezkašený výrobek získaný z jedlých částí zralého a zdravého, čerstvého, chlazeného nebo zmrazeného ovoce nebo zeleniny, a to jednoho nebo více druhů, s barvou, vůní a chutí, které jsou charakteristické pro šťávu pocházející z příslušného ovoce nebo zeleniny; aroma, dužnina a buňky získané vhodnými fyzikálními způsoby ze stejného druhu ovoce nebo zeleniny mohou být do šťávy vráceny; rajčata se pro účely této vyhlášky považují za ovoce.
- **Přírodní ovocnou, zeleninovou nebo ovocno-zeleninovou šťávou** je zkvasitelný, ale nezkašený výrobek, ošetřený pouze šetrnou metodou, k němuž nebyly přidány žádné další složky
- **Čerstvou nebo též fresh ovocnou, zeleninovou nebo ovocno-zeleninovou šťávou** je zkvasitelný, ale nezkašený výrobek; do čerstvé nebo též fresh šťávy nelze přidat další složky s výjimkou bylin a semen rostlin a výrobek nesmí být dále ošetřený.
- Pro ovocnou šťávu vyrobenou přímým lisováním z ovoce lze použít označení „**mošt**“

3.1.2 Jablka

Mezi ovocnými plodinami zaujímají jablka 4. místo na celém světě s produkcí 56 miliónů tun ročně (FAO, 1998). Nutriční hodnota u jablek je dobře známá, avšak každá odrůda představuje různou variabilitu u obsahu cukru, proteinů, kyseliny askorbové a minerálních látek. Jablka jsou součástí většiny potravinových diet a jsou účinné u různých onemocnění díky vylučování toxinů a diuretickým účinkům. Ve svém přírodním stavu jablka obsahují 85% vody a jsou cennou pomocí pro zažívání (Walker, 2010).

Jablka jsou bohatým zdrojem antioxidantů, obsah kyseliny askorbové v jablku je přibližně 2-30 mg na 100 g. Tato koncentrace se snižuje postupně od slupky k jádru ovoce.



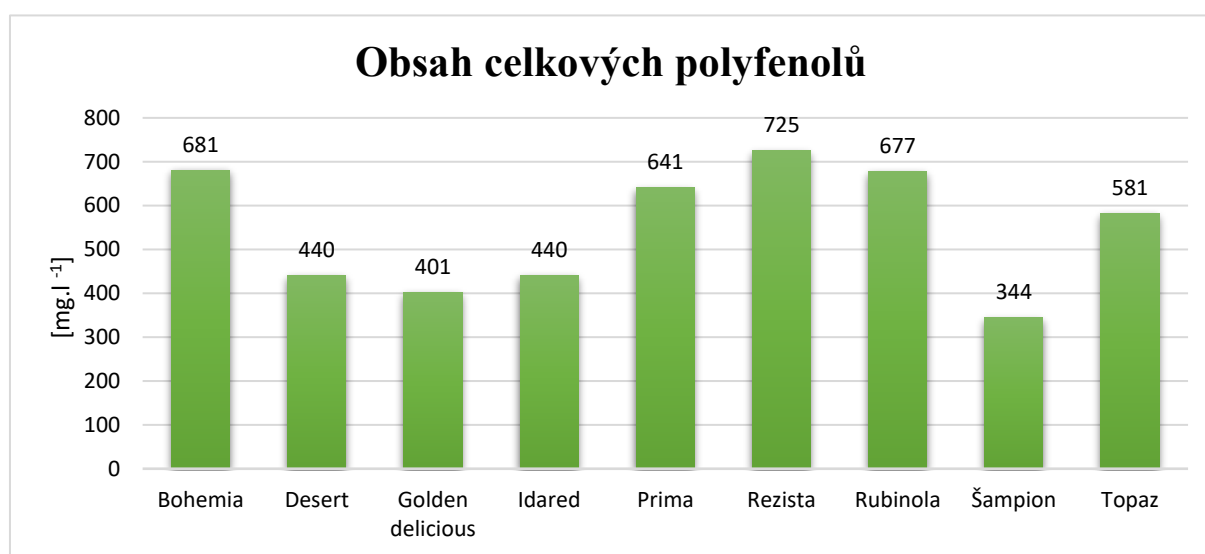
Obrázek 1. Obsah vitamínu C u vybraných odrůd jablek (Gardner et al., 2000)

Převládající organická kyselina v jablečných plodech je kyselina jablečná, která způsobuje jejich nakyslou chuť (Campeanu et al., 2009). Jablka obsahují celou řadu fenolických sloučenin, jejich obsah je vysoce závislý na odrůdě jablek (Mikulic-Petkovsek et al., 2010). Na druhé straně, fenolika jsou také částečně zodpovědná za poškození čerstvě nakrájeného jablka (Zupan et al., 2013).

Další nutričně významnou složkou jablek jsou pektiny, které příznivě ovlivňují hladinu cholesterolu v krvi a dále také cenné minerální látky jako například: draslík, hořčík, vápník, železo, síru a mangan. V jablkách se též vyskytují i enzymy, které přispívají k podpoře trávení. Mimo vitamínu C se zde vyskytuje provitamin skupiny A a vitamíny skupiny B. Na základě jejich účinků se doporučuje 1x týdně do svého jídelníčku zařadit tzv. „jablečný den“ a sníst 10-12 jablek za den (Stanzel, 2011). K jablkům se nemá nikdy přidávat cukr, jestliže si je potřebujete přisladit, používejte med (Walker, 2010).

3.1.2.1 Jablečná šťáva

Nepasterizovaná čerstvá jablečná šťáva (jablečný mošt) je tradiční produkt, který se vyrábí a spotřebovává zejména v období sklizně (Buchanan et al., 1998). Šťáva je oblíbená z důvodu příjemných organoleptických a vynikajících nutričních vlastností (Shahbaz et al. 2018). V Evropě je jablečná šťáva hojně konzumovaným produktem. Mezi nejvýznamnější složky šťávy patří polyfenoly, které mají schopnost zvýšit její antioxidační potenciál. Polyfenoly také ovlivňují metabolismus tuků a vstřebávají cholesterol (Šnurkovič et al., 2017).



Obrázek 2. Obsah celkových polyfenolů u vybraných druhů jablek (Gardner et al., 2000)

Jablečné šťávy jsou též bohaté na hořčík, železo, křemík a mají velmi vysoký obsah draslíku. Jablečná šťáva má čisticí schopnost a povzbuzuje činnost dolních oddílů střev, která se projeví především při zácpě, jestliže se pije na lačný žaludek. V tomto případě mohou některé druhy jablek zapříčinit při čisticím procesu nevolnost. Čerstvá syrová šťáva z jablek je při horečce a zánětech velice užitečná, jelikož rychle dodává velké množství energie a vstřebává se do organismu bez jeho nadměrného zatěžování.

Čerstvá jablečná šťáva se často nazývá sladkým jablečným vínem (Walker, 2010). Výzkumníci se domnívají, že jablečná šťáva může snížit výskyt některých z forem rakoviny. Výrobním trendem je produkce čiré jablečné šťávy, která ale vlivem filtrace a čiření přichází o cenné látky, jako například pektiny, které ve šťávě fungují jako rozpustná vláknina (Markowski et al., 2009). Hodnota pH ovocných šťáv je obvykle nízká, mezi pH 2,5 a 3,7 (Bevilacqua et al., 2013)

3.1.3 Červená řepa

Řepa patří do čeledi *Chenopodiaceae* (Merlíkovité) stejně jako mangold a špenát, ale na rozdíl od ostatních z čeledi se u řepy jedí listy a i kořen. Purpurově-karmínový pigment je hlavním znakem bulvy řepy (Kalinová, 2007). Červená řepa je vynikající zdroj kyseliny listové, vlákniny, manganu a využívá se jako prostředek k posílení imunitního systému (Murray et al., 2005). Ve 100 g řepné bulvy je průměrně 70 mg sodíku, 380 mg draslíku a 20 mg vápníku, dále také řepa obsahuje hořčík a z mikroprvků *rubidium* a *cesium* (Pinchen et al., 2019). Tento poměr sodíku a draslíku je velice příznivý, protože rozpustnost vápníku zůstane zachována a obsah draslíku dodává výživu pro fyziologické funkce těla (Walker, 2010). Důležitý je též obsah betaninů, které zvyšují odolnost cévních stěn (Pinchen et al., 2019) a zároveň obsah železa, který sice není příliš vysoký, ale toto železo má takovou kvalitu, že je vynikající výživou pro červené krvinky (Walker, 2010).

3.1.3.1 Šťáva z červené řepy

Látky obsažené v řepné šťávě jsou velmi hodnotné k celkovému posílení organismu. Pije-li se čistá šťáva z červené řepy ve větším množství než jedna vinná sklenička, může její silně čistící účinek způsobit točení hlavy nebo pocit nevolnosti. Šťáva z červené řepy je také prospěšná při poruchách menstruace, jestliže se v tuto dobu pije v malých množstvích (60 až 100 gramů) dvakrát až třikrát denně (Ferguson et al., 2013). Walker (2010) ve své studii tvrdí, že řepná šťáva během klimakteria dosáhnete lepších a trvalejších výsledků než medikamenty a umělé hormony, které působí degenerativně (Walker, 2010).

Řepná šťáva stejně jako jablečná obsahuje pektin, jenž má vliv na cholesterol a napomáhá vylučovat z těla těžké kovy a hořčík, který je účinný při problémech se srdcem a krevním oběhem (Batíková, 2009). Objevující se důkazy, které naznačují, že NO_3^- , který se požívá prostřednictvím šťávy z červené řepy, může ovlivnit hemodynamickou, metabolickou a kontrakční funkci kosterního svalu po jeho neenzymatické redukci na NO_2^- a NO *in vivo* (Larsen et al., 2007).

3.2 Výroba moštů

Lisované ovocné a zeleninové šťávy patří mezi jedny z nejstarších zpracovávaných potravin. Výroba moštů musí splňovat určitá pravidla, přičemž šťáva by měla být připravena vhodným postupem a měla si zachovat výživové a organoleptické vlastnosti.

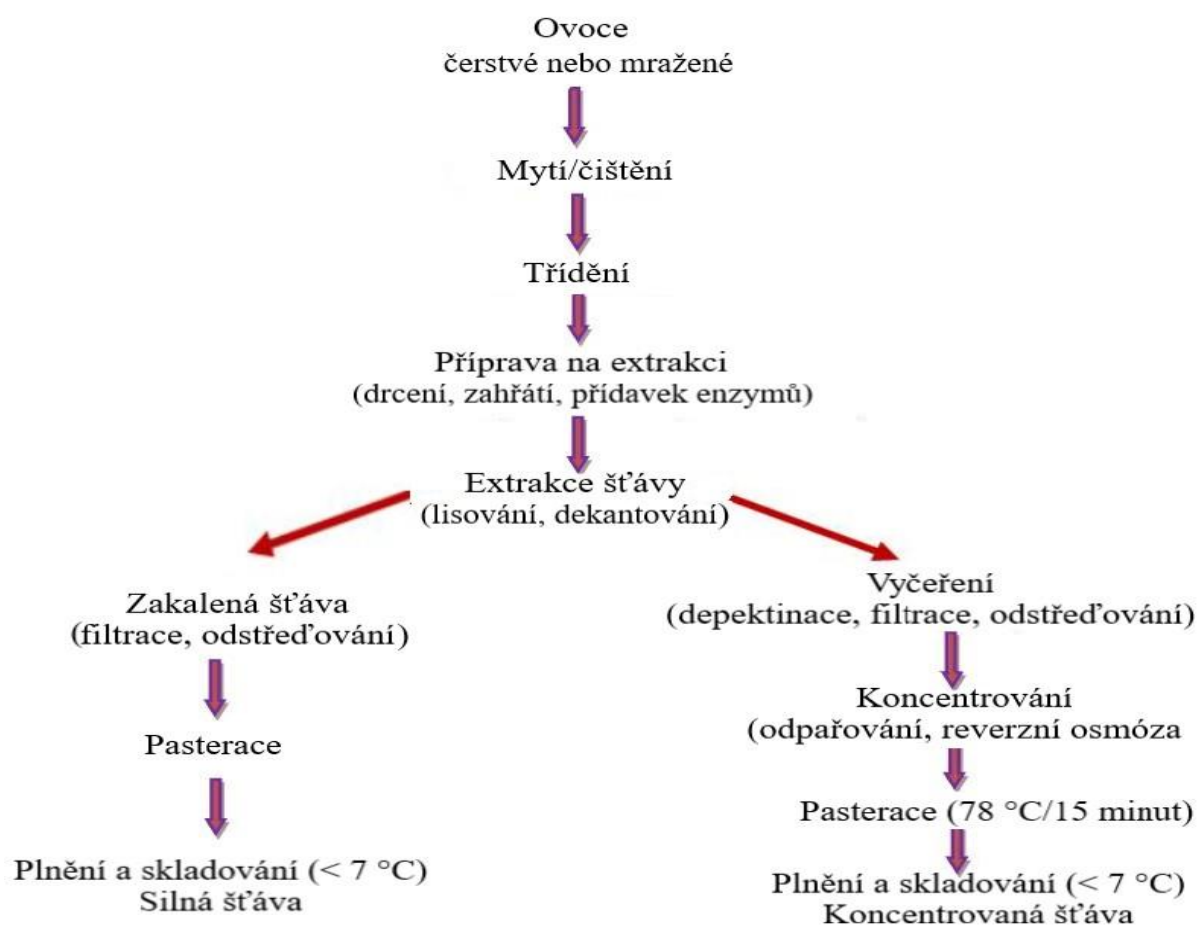
Výsledná šťáva může být buď čirá, nebo zakalená, ale musí být zpracovaná ze 100 % čistého ovoce. (Bates et al., 2001).

Základní požadavky na bezpečnou výrobu moštu pro spotřebu jsou:

- Použité ovoce musí být požitelné jakosti
- Bez hniloby
- Zbavené fekálního znečištění
- Řádně umyté

Další důležité faktory, které ovlivňují kvalitu šťávy jsou: výběr ovoce, mytí/praní, třídění, drcení, lisování, pasterace, vyčeření, chlazení a následné balení a skladování (Rahman, 1999).

3.2.1 Postup při výrobě moštů



Obrázek 3. Diagram výroby šťáv (McLellan and Padilla-Zakour, 2004)

- **První fázi výrobního procesu je třídění a mytí:** Cílem této operace je minimalizovat fyzikální, chemickou a mikrobiální kontaminaci ovoce. Výběr vhodného mytí se provádí čistě podle druhu ovoce, doby sklizně, zralosti, agro-klimatických podmínek a dalších. Správností mytí se prodlužuje stabilita šťáv. Ekonomický a jednoduchý způsob odstranění fyzikálních a chemických zbytků z ovoce zahrnuje použití měkkých kartáčů během praní. V moderních závodech na výrobu šťáv se používají mycí dopravní pásy vybavené nylonovými kartáči. K mytí se využívá čistá chlorovaná voda (Anene et al., 2016).
- **Následné třídění:** Tento krok je kontrolní a zaručuje bezpečnost z hlediska cizích těles a vadného ovoce
- **Drcení:** Vhodně omyté a vytríděné ovoce se rozdrtí nebo rozemele tak, aby se buňky od sebe rozdělily a daly lepší průchod kapalině, která je obsažena v ovoci. Výběr vhodného drtícího nebo brusného stroje se liší podle povahy ovoce. Volba doby drcení nebo mletí je určována strukturou ovoce a požadovanou kvalitou na konečný produkt. Na konci drtícího procesu se může zařadit tzv. "horká přestávka" to je operace odpočinku, která přispívá k maximalizaci výtěžku šťavy, extrakci barvy a chuti.
- **Lisování:** Drcené ovoce dále podléhá kroku lisování, což je vymačkání šťavy z ovoce. Ovoce určené k lisování, nesmí být příliš rozdrcené, jelikož by se pak těžko oddělovala šťáva. Každé ovoce má jinou strukturu, proto se využívají různé typy lisů a někdy jsou do hodnot přidány tzv. macerační enzymy, které zvyšují výtěžnost (Bates et al., 2001). Uvádí se, že macerace s enzymy může mít také vliv na chuť šťáv tj. zvýšení svíravého pocitu v ústech a hořké chuti, v důsledku významného zvýšení obsahu polyfenolů. (Laaksonen et al., 2013)
- **Filtrace:** Tato technika je založena na membránovém filtračním mechanismu, který se široce používá k vyčeření a odstranění nečistot z vylisovaných šťáv. Další metoda, která se dá použít jako filtrace je centrifugace. Odstředivá síla úspěšně odděluje pevné složky od kapaliny, a proto se při výrobě šťáv široce využívá. (Echavarría et al., 2012)

- **Zpravidla následuje tradiční tepelné ošetření pasterace:** Šťáva získána po filtraci nebo přímo z lisu se zahřívá na vyšší teplotu po krátkou dobu obvykle 30-120 s k zajištění inaktivace enzymů a zničení mikroorganismů pro dlouhodobé skladování šťávy. Toto tepelné ošetření je nezbytné pro dlouhodobé skladování, ale nepříznivě ovlivňuje nutriční a sensorické vlastnosti (Demirdöven and Baysal, 2015). Kromě pasterace se dnes můžeme setkat s celou řadou dalších způsobů konzervace. Tyto možné další metody jsou popsány v kapitole: konzervace ovocných a zeleninových šťáv.
- **Skladování a chlazení:** Po dokončení všech kroků je šťáva horká (70 až 80 ° C), proto je nutné před skladováním zařadit ještě krok chlazení. Při skladování při vyšších teplotách dochází k rychlému poklesu množství organických kyselin, cukrů a rozpuštěného kyslíku. Nejednodušší způsob, jak snížit tento pokles je uchovávat šťávu při nižších teplotách. Ale každé ovoce má různé vlastnosti. Například ananasová šťáva si může zachovat svou nutriční hodnotu a smyslový charakter po dobu 2-3 let, pokud jsou skladovány při nízké teplotě, zatím co za stejných podmínek skladované jablečné a citrusové šťávy mohou trpět rychlými změnami chuti. Některé živiny jsou náchylnější k oxidaci, během skladování mohou být za těchto podmínek stabilnější než jiné, například kyselina askorbová rychle degraduje během skladování nad 27 °C, zatím co karoten je při této teplotě obvykle stabilní (McLellan and Padilla-Zakour, 2004).

Postup při výrobě zeleninových šťáv je v zásadě podobný. Pro odšťavňování jsou obecně vhodné zdravé, čisté plody bez semen, stonku nebo nepoživatelných částí. Přidáním soli, koření nebo kreativním mícháním s jinými šťávami (ovoce/zelenina) mohou mít za následek nové podoby nápojů (Wu et al., 2014).

3.3 Mikrobiální kontaminace moštů

Mezi biologické kontaminanty, které mohou zhoršovat kvalitativní parametry moštů se řadí bakterie, plísně a jejich toxiny, kvasinky a viry. Celá řada těchto mikroorganismů je zodpovědná za různé onemocnění u lidí. Nejčastějším onemocněním způsobeným mikroorganismy je gastroenteritida. Některé z mikrobiálních kontaminantů mohou být škodlivé pro všechny živé organismy, zatím co jiné kontaminanty nemusejí mít žádný vliv na zdraví (Khatoon and Pirzada, 2010).

Problémy s kontaminací nápojů lze rozdělit do dvou kategorií:

1. Znehodnocení produktu v důsledku růstu mikroorganismu ve šťávě, které způsobují jeho zhoršení a nevhodnost pro lidskou spotřebu.
2. Kontaminace produktu vzniklá růstem mikroorganismů, která způsobuje otravu.

Nápoje mají vysokou vodní aktivitu a často i velké množství vitamínů, které představují dobré médium pro růst a přežití škodlivých i neškodlivých organismů. Vyšší míra přežití plísni byla pozorována u šťáv s vyššími koncentracemi cukru, protože zejména sladké šťávy jsou náchylnější ke rozvoji plísni (Grumezescu and Holban, 2019).

Potravinářské patogeny jsou celosvětovým důvodem úmrtí, hospitalizací a nemocí lidí a zvířat (Scharff, 2010). V roce 2007 bylo hlášeno 32 výskytů souvisejících s ohnisky nemoci způsobených konzumací nápojů, jako jsou nepasterizované ovocné šťávy. Nejizolovanějším druhem z ohnisek nemocí přenášených potravinami je patogen typu EHEC *Escherichia coli*, serotypu O157:H7 a různé serovary *Salmonella* (Parish, 2009).

3.3.1 *Escherichia coli*

Escherichia coli známá také jako *E. coli* je gram-negativní, pohyblivá a fakultativně anaerobní bakterie bez spor patřící do čeledi *Enterobacteriaceae* (Kümmerer, 2009). Je přirozenou součástí střevního mikrobiomu lidí a zvířat (Gomes et al., 2016). *Escherichia coli* představuje problém v oblasti bezpečnosti potravin a je také patogen, který může kontaminovat potraviny i vodu (Chandra et al., 2013) a touto kontaminací mohou některé kmeny způsobit vážné onemocnění (Clements et al., 2012). *Escherichia coli* je třeba považovat za skutečný problém veřejného zdraví (Poirel et al., 2018). V Evropské unii a USA má *Escherichia coli* výskyt 1,82 a 2,2 na 100 000 případů, kdy lehčí případy nemoci se můžou projevit průjmovým onemocněním.

Hlavní O serovary EPEC a EIEC související s průjmovými onemocněními

Enteropatogenní:

018, 044, 055, 086, 0111, 0114, 0119, 0126, 0127, 0128ab, 0142

Enteroinvazivní:

028ac, 029, 0124, 0136, 0143, 0144, 0152, 0164, 0167

Obrázek 4. Označení typů *Escherichia coli* souvisejících s onemocněním (Cempírková et al.,

Kmeny *Escherichia coli* jsou klasifikovány podle svých virulenčních mechanismů (Makvana and Krilov, 2015), klinických symptomů a důsledků: enteropatogenní *E. coli* (EPEC), enterotoxigenní *E. coli* (ETEC), enteroinvazivní *E. coli* (EIEC), enteroagregativní *E. coli* (EAEC), enterohemoragické *E. coli* (EHEC), *E. coli* produkující Shiga toxin (STEC), difúzní adherentní *E. coli* (DAEC) a enteroagregativní hemoragická *E. coli* (EAHEC) (Gómez-Aldapa et al., 2016).

Navíc v roce 2000 navrhli Russo a Johnson termín extra-střevní patogenní *Escherichia coli* (ExPEC) jako deskriptor pro všechny nekomenzální izoláty *E. coli* schopné způsobovat extra-střevní onemocnění na rozdíl od komenzální *Escherichia coli* mají ExPEC schopnost způsobovat onemocnění mimo hostitelský střevní rezervoár kvůli specifickým virulenčním faktorům (Russo and Johnson, 2000). Mezi kontaminujícími mikroorganismy byla *Escherichia coli* O157: H7 označena za nejvíce odolné vůči teplu a kyselinám v kyselých šťávách (Mazzotta, 2001).

Laboratorní výzkumy prokázaly, že *Escherichia coli* O157: H7 může přežít delší dobu i v chlazené jablečné šťávě nebo moštu, a to i přes kyselé pH nápoje (Leyer et al., 1995). V důsledku těchto výzkumů a objevů se stanovilo pravidlo vyžadující, aby všichni výrobci moštů dodržovali pravidlo snížení mikroorganismů o 5 -log₁₀, jedná se tedy o 99,999% redukci mikroorganismů. *Escherichia coli* O157: H7 ve svých analýzách rizik a kritických kontrolních bodech (HACCP). Konvenční detekční metody pro identifikaci *Escherichia coli* O157: H7 se spoléhají zejména na kultivační testy, které trvají 5–7 dnů. Tyto detekční testy jsou časově náročné a pracné (Shao et al., 2011). Ačkoli byly vyvinuty novější metody detekce, jako jsou PCR a PCR v reálném čase, často vyžadují drahé stroje, které omezují jejich použití (Chen et al., 2018).

3.3.2 *Salmonella enterica*

Salmonella enterica je důležitý gastrointestinální a fakultativní intracelulární patogen (Kehl et al., 2020). Je velmi rozmanitý gramnegativní, nesporotvorný a pohyblivý bakteriální druh (De Jong et al., 2012) patřící do čeledi *Enterobacteriaceae* (Kümmerer, 2009). *Salmonella* se dobře množí v potravinách, mají-li potraviny dostatek vlhkosti, vhodnou teplotu a pH. Optimální teplota růstu je 37 °C, mohou se však množit i při teplotách od 10 °C do 45 °C (Cempírková et al., 1997). *Salmonella* způsobuje salmonelózu, což je onemocnění získané z kontaminovaných potravin, které se vyznačují tyfusovými chorobami a gastroenteritidou u lidí (Gal-Mor et al., 2014).

Literární zdroje uvádějí, že na světě se každoročně vyskytuje více než 80 milionů případů salmonelózy z potravin (Majowicz et al., 2010). *Salmonella* obsahuje více než 2600 různých serovarů diferencovaných podle své antigenní prezentace (De Jong et al., 2012), které lze rozdělit na serovary Typhoidal a Non Typhoidal *Salmonella* (NTS). Přes jejich genetickou podobnost vyvolávají tyto dvě skupiny velmi odlišné nemoci a odlišné imunitní reakce u lidí. (Gal-Mor et al., 2014)

Z akademického hlediska mohou být salmonely zařazeny do tří skupin.

- 1. skupina: Zahrnuje *S. typhi* a *S. paratyphi* A a C, které infikují jen člověka a jsou šířeny přímým kontaktem, méně často potravinami
- 2. skupina: Zahrnuje serovary, které jsou adaptovány na zvláštní druhy obratlovců, z nich některé jsou patogenní i pro člověka
- 3. skupina: Většina ostatní serovarů, u kterých se neprojevuje zvláštní preference k hostiteli a jsou infekční jak pro člověka, tak i pro zvířata (Cempírková et al., 1997)

Zatímco mnoho netypoidálních serovarů *Salmonella* (NTS), jako je *typhimurium* a *enteritidis*, jsou obecnými patogeny se širokou specificitou hostitele, několik serovarů *Salmonella enterica* včetně Typhi, Sendai a Paratyphi A, B nebo C je vysoce přizpůsobeno lidskému hostiteli. Tyto speciální patogeny, souhrnně označované jako tyfusové salmonelly, jsou původci enterální horečky (známé také jako tyfus nebo paratyfoidní horečka). Enterická horečka je invazivní, život ohrožující, systémové onemocnění (Buckle et al., 2012). Je v rozvojovém světě endemická v regionech, které postrádají čistou vodu a dostatečnou hygienu, což usnadňuje šíření těchto patogenů fekální či orální cestou (Ochiai et al., 2005; Meltzer and Schwartz, 2010).

Na rozdíl od tyfové horečky, která je běžná v rozvojovém světě, NTS salmonelózy se vyskytují po celém světě (Majowicz et al., 2010). Serovary (NTS) způsobují samovolně omezující průjem s občasnou sekundární bakterémií. Primární bakterie NTS se může vyskytnout u imunokompromitovaného hostitele (De Jong et al., 2012). Většina infekcí vyvolaných *Salmonellou* je důsledkem požití kontaminované potravy nebo vody (Gaur, 2019).

3.4 Konzervace ovocných a zeleninových šťáv

Účelem konzervace potravin je zachovat zdravotní nezávadnost a v co největší míře i původní kvalitu, a sice především tím, že se zabrání chemickým reakcím v potravině a pomnožování mikroorganismů. Termín konzervace se obvykle používá v užším smyslu, kdy zahrnuje jen používání chemických konzervačních prostředků nebo použití tepla.

Ke konzervačním prostředkům lze řadit i přírodní antimikrobiální látky a biologicky produkována antibiotika (Vikram et al., 2005).

3.4.1 Termální technologie konzervace

Pasterace je proces ničení mikroorganismů v potravinách, které by mohly způsobovat onemocnění. Jako termální (tepelné) ošetření je nejpoužívanější metodou pro bakteriální inaktivaci v ovocných a zeleninových šťávách (Vikram et al., 2005). Většina potravin se obvykle tepelně zpracovává při teplotách mezi 60 °C a 100 °C po dobu několika sekund nebo minut (Oms-Oliu et al., 2010). Toto konzervační zpracování však zahrnuje přenos obrovského množství energie do těchto potravin, což vede k nepředvídatelným změnám jejich fyzikálních, chemických a organoleptických vlastností, jako jsou negativní účinky na určité složky samotné potraviny.

Negativní vliv má také na smyslové rysy, díky nimž jsou méně atraktivní z hlediska barevných a texturních vlastností (Barbosa-Cánovas, 1998). Jedním z hlavních problémů s produkcí jablečné šťávy z nutričního hlediska je významná degradace polyfenolu (50–90 %) během pasterizace (Will et al., 2008).

V praxi se pro ovoce a zeleninu (šťávy) aplikují následující postupy pasterace:

Dlouhodobá pasterace (LTLT-low temperature, long time): Jde o aplikaci nízké teploty (63–65 °C) a dlouhé doby (minuty). Tato metoda, ale bývá nahrazenableskovou pasterací. Dlouhodobá pasterace během své doby vede k nežádoucím změnám kvality.

Blesková pasterace (HTST-high temperature, short time): Jde o aplikaci vysoké teploty (70–95 °C) po krátkou dobu (sekundy). Při krátké době se aplikuje teplota, která ničí nebezpečné mikroorganismy. Výrobek se po ohřevu chladí a balí. Umožňuje jejich delší skladování bez chlazení (Vasantha and Yu, 2012). Jak dlouhodobá pasterace, tak i blesková pasterace byly použity v této diplomové práci během pokusu.

3.4.2 Netermální technologie konzervace

Netermální technologie jsou alternativou k tepelným technologiím, které jsou nejčastěji používanými metodami pro prodloužení trvanlivosti potravin a zajištění bezpečnosti potravin. Jinými slovy, netermální technologie jsou studovány a vyvíjeny za účelem získání lepší senzoričké kvality konečného produktu, ale bez zanedbání mikrobiální bezpečnosti. Tímto způsobem mohou tyto alternativy k tepelným technologiím produkovat

potravinářské výrobky bez enzymů a škodlivých mikroorganismů při zachování nutričních charakteristik a minimalizaci ztráty kvality, pokud jde o chuť, barvu a nutriční hodnotu (Koutchma, 2008).

Studie od Kouchma (2008, 2019), et al. (2004) dokazují, že technologie netermálního zpracování jsou schopny prodloužit skladovatelnost tekutých potravin (Koutchma, 2008). Výhodou netermálních metod zpracování je minimální zpracování potravin se sníženou ztrátou živin a menší změny fyzikálních a chemických vlastností (Quintero-Ramos et al., 2004). Během několika let bylo navrženo několik netermických pasterizačních metod. Zdá se, že tyto techniky mají potenciál poskytovat „čerstvé“ a bezpečné ovocné šťávy s prodlouženou trvanlivostí (Ramaswamy et al., 2005).

3.4.2.1 Vysoký hydrostatický tlak (HHP-high hydrostatic pressure)

Při zpracování s vysokým hydrostatickým tlakem se k inaktivaci škodlivých mikroorganismů v potravinářských produktech používají tlaky až do 1000 MP za použití tepla nebo bez tepla (Ramaswamy et al., 2005). Aplikace vysokého hydrostatického tlaku v potravinářství začala od roku 1900, kdy Hide a další vědci využili HHP při konzervaci ovoce a zeleniny, avšak trvalo dlouho, než se takto upravené produkty dostaly na trh (Balasubramaniam et al., 2008).

Vysoký hydrostatický tlak prokazatelně splňuje požadavek FDA na 5- log redukcii mikroorganismů v ovocných šťávách a nápojích bez obětování sensorických a nutričních vlastností (San Martín et al., 2002). Ve srovnání s tepelným zpracováním má HHP mnoho výhod. Může poskytnout bezpečný výrobek a dokáže udržet maximální svěží chuť produktu. Jeho další výhodou je šetrnost k životnímu prostředí, jelikož tato technologie zamezuje únikům škodlivin, zápachů a jiných látek do okolí. Díky těmto výhodám se HHP široce využívá v konzervaci potravin a nápojů v oblastech mikrobiální inaktivace a prodloužení trvanlivosti (Ramaswamy et al., 2005; Toepfl et al., 2006).

3.4.2.2 Pulzní elektrické pole (PEF-pulsed electric field)

Pulzní zpracování elektrického pole aplikuje krátké impulzy vysokonapět'ové elektřiny pro mikrobiální inaktivaci a nezpůsobuje žádný nebo minimální účinek na atributy kvality potravin. Potraviný ošetřený PEF jsou umístěny mezi dvě elektrody, kam je přivedeno vysoké napětí, které způsobuje mikrobiální inaktivaci. Přivedené vysoké napětí je obvykle řádově 20-80 kV/ μ s (Barbosa-Cánovas et al., 1999). Ve srovnání s tepelným zpracováním má

zpracování PEF mnoho výhod. Díky velmi krátké době a nízkým teplotám zpracování může zachovat původní smyslové a výživové vlastnosti potravin.

Ve srovnání s konvenčním tepelným zpracováním jsou také důležité úspory energie. Jeho další výhodou je šetrnost k životnímu prostředí, stejně tak jako je popsáno u HHP. Vzhledem k těmto výhodám se PEF používá v konzervaci potravin a nápojů v oblastech mikrobiální inaktivace a prodloužení doby požitelnosti (Toepfl et al., 2006).

3.4.2.3 Ultrafialové záření (UV-ultraviolet light)

Ultrafialového záření s krátkými vlnami (UV-C) zvyšují bezpečnost potravinářských výrobků a udržují jejich správný obsah živin a vzhled. Vyžadují minimální zpracování potravin, a tím i prodlužují jejich trvanlivost. Ošetření ultrafialovým zářením může kombinovat výhodu zachování čerstvých vlastností kvality potravin a účinné inaktivace patogenních mikroorganismů (Koutchma, 2008; Noci et al., 2008). Rozsáhlý výzkum používání UV světla při zpracování potravin v posledních letech ukázal, že tato technologie je vhodná pro uchovávání ovocných šťáv a souvisejících produktů (Keyser et al., 2008; Koutchma et al., 2004).

Zpracování ultrafialovým zářením je však omezené, pokud mají potraviny velké množství barevných sloučenin a zákal, protože tyto faktory činí hloubku průniku UV nedostatečnou pro dosažení odpovídající úrovně mikrobiální inaktivace (Gayán et al., 2014; Koutchma, 2019).

3.5 Rostlinné silice

Silice jsou vonné, kapaliny získané z rostlinného materiálu, které se tradičně používají ke konzervování nebo aromatizaci potravin (Burt, 2004). Silice obsahují komplexní směs těkavých a netěkavých látek produkovaných v aromatických rostlinách díky sekundárnímu metabolismu (Salvia-Trujillo et al., 2015). Silice jsou získávány z rostlinné hmoty, buď destilací vodní párou, mechanickými procesy (mačkáním) z epikarpu (kůry) nebo „suchou“ destilací. Silice se potom od vodné fáze fyzicky oddělí. Tato definice zahrnuje produkty získané vždy z rostlinných surovin.

Silice jsou rozpustné v alkoholu a etheru, ale nejsou rozpustné ve vodě. Mají charakteristickou vůni, jsou obvykle při pokojové teplotě kapalné a mají nižší hustotu, s výjimkou několika případů (skořice, kašty a vousatky). Silice jsou velmi komplexní přírodní směsi, které mohou obsahovat asi 20–80 složek ve výrazně odlišných koncentracích. Hlavní

skupina silic se skládá z terpenů a terpenoidů a druhá skupina obsahuje aromatické a alifatické složky. Monoterpeny jsou nejrepresentativnější molekuly tvořící 90 % silice.

Obecně jsou oksyložené monoterpeny významně aktivnější než uhlovodíkové monoterpeny (Carson and Riley, 1995). Při prevenci některých onemocnění, jako je mozková dysfunkce (postižení centrálního nervového systému), rakovina a srdeční choroby mohou hrát silice důležitou roli (Dhifi et al., 2016). Přestože jsou chemické konzervační látky používány hlavně k prevenci mikrobiálního růstu, nedávné studie dle Friedman et al., (2002) navrhly jejich použití jako inaktivační látky (Friedman et al., 2002).

3.5.1 Voňatka citrónová

Voňatka citrónová je aromatická rostlina patřící do čeledi *Gramineae* (Akhila, 2010). Někdy také označována jako lemongrass, citrónová tráva či citronela. Má úzké zelenošedé listy příjemné citrónové vůně dorůstající do výšky až 150 cm. Je kořením i léčivkou (Stanzel, 2011) a používá se v různých potravinářských a aromatických výrobcích (Tajidin, 2012). Obecně se využívá k povzbuzení a osvěžení organismu (Stanzel, 2011).

Silice voňatky se skládá převážně z monoterpenových sloučenin (Verma et al., 2015) s citralem jako aktivní složkou, která se nachází v kombinaci isomerních forem, jako je geranial (a-citral) a neral (b-citral). Voňatka také obsahuje jiné sloučeniny, jako je limonen, citronellal, β -myrcen, geraniol, který je zastoupen v nízkých koncentracích (Tajidin, 2012) a též obsahuje i flavonoidy a fenolové sloučeniny (Shah et al., 2011). Silice z voňatky citrónové je klasifikována jako obecně uznávaná bezpečná (GRAS) sloučenina americkou správou potravin a léčiv (FDA; 21CFR182.20).

Proti různým mikroorganismům, jako jsou houby, kvasinky a bakterie Gram (+) a Gram (-) vykazuje silice voňatky antimikrobiální aktivitu, jen proti *Pseudomonas aeruginosa* není shledána účinnou. Gram pozitivní organismy jsou vyhodnoceny citlivější na silice voňatky ve srovnání s gram negativními organismy (Naik et al., 2010). Silice voňatky jsou tedy účinné proti organismům rezistentní na léčiva a zvyšuje mikrobiální připojení k částicám krmiva, zejména neutrální vlákninu čistícího prostředku (NDF), z krmiv, a následně zlepšuje stravitelnost *in vitro* (Nanon et al., 2014).

Silice z voňatky se v tradiční medicíně používají jako prostředky k léčbě různých nemocí (Boukhatem et al., 2014), neutralizuje žaludeční kyseliny a prokazuje také antibakteriální, protizánětlivé a protiastmatické účinky. Na základě výzkumů bylo navrženo, že lemongrass nebo citral mohou hrát roli při snižování oxidačního stresu a detoxikačních reakcí (Baer-Dubowska and Szaefer, 2013).

3.5.2 Skořicová silice

Rod *Cinnamomum* patří do čeledi *Lauraceae* obecně známý jako skořicovník, je zdrojem populárního koření skořice, která je známá po celém světě pro své sensorické vlastnosti (Moreira et al., 2007). Skořice se získává z vnitřní kůry stromů. Celý rod obsahuje asi 250 druhů stromů rostoucích v tropických a subtropických pásmech (Nayar et al., 2015). Je to tropická stálezelená rostlina, která má dvě hlavní odrůdy; *Cinnamomum zeylanicum* a *Cinnamon cassia* (také známé pod názvem *Cinnamomum aromaticum* /čínská skořice) (Ranasinghe et al., 2013). Téměř každá část skořice včetně kůry, listů, kořenů a květů má nějaké léčivé nebo kulinářské použití.

Silice získané z kůry, listů a kořenové kůry se výrazně liší v chemickém složení, což naznačuje, že by se mohly lišit také ve svých účincích (Shen et al., 2002). Různé části rostliny mají stejný soubor uhlovodíků v různých poměrech, s primárními složkami jako; cinnamaldehyd (kůra), eugenol (list) a kafr (kořen) (Gruenwald et al., 2010). Skořice tak nabízí řadu různých silic s různými vlastnostmi, z nichž každá určuje svou „hodnotu pro různá průmyslová odvětví“, například kořen, který má jako hlavní silici kafr, má minimální komerční hodnotu na rozdíl od silic z listů a kůry (Paranagama et al., 2001). Silice skořice se v potravinářském průmyslu běžně používá díky své zvláštní vůni. (Chang et al., 2001). Tři hlavní složky silice získané z kůry *Cinnamomum zeylanicum* jsou trans-cinnamaldehyde, eugenol a linalool, které představují 82,5 % celkového složení (Chericoni et al., 2005).

Cinnamomum se používá také jako léčivo (Ranasinghe et al., 2013). Studie prokázaly, že silice z *Cinnamomum zeylanicum* snížila celkový cholesterol, LDL cholesterol a triglyceridy a současně zvýšilo HDL-cholesterol (Javed et al., 2012). Jedním důležitým rozdílem mezi *Cinnamon cassia* a *Cinnamomum zeylanicum* je jejich obsah kumarinu (1,2- benzopyronu), kdy hladina kumarinu v *Cinnamon cassia* je velmi vysoká a při pravidelném požívání ve větším množství představují zdravotní rizika (Chericoni et al., 2005).

Chemické sloučeniny z rostliny také vykazují silné protirakovinné a antimikrobiální aktivity, tím mají potenciál pro moderní klinické ošetření (Bua et al., 2018). Kromě toho listové složky silice cinnamaldehyd a cinnamaldehyd-cinnamyl acetát typu *Cinnamomum osmophloeum* mají vynikající inhibiční účinky proti houbám bílé hniloby, *Rhizoctonia solani* a byly oznámeny i další antimykotické vlastnosti (Cheng et al., 2006). Silice získané z kůry *Cinnamomum zeylanicum* prokázaly velmi silnou aktivitu, snižovaly tvorbu 3-nitrotyrosinu a inhibovaly peroxidaci lipidů indukovanou peroxynitritem v testech *in vitro* (Chericoni et al., 2005).

3.5.3 Konzervace pomocí silic

Silice se používají jako netermální způsob konzervace. Poptávka spotřebitelů prokázala preferenci přírodně se vyskytujících látek, jako jsou rostlinné silice nebo jejich složky. U většiny silic nebo jejich složek, může být použití omezeno, protože k zajištění cílů v oblasti bezpečnosti potravin a stability jsou vyžadovány vysoké koncentrace. Tyto vysoké koncentrace jsou obvykle spojeny s nežádoucími chuťovými a smyslovými změnami. Studie *in vitro* prokázaly antibakteriální aktivitu silic proti *Listeria monocytogenes*, *Salmonella enterica* a *E. coli* O157: H7, v koncentracích mezi 0,2 a 10 $\mu\text{l ml}^{-1}$.

Studie dle Friedman et al., (2002) ukazuje, že thymol, eugenol a karvakrol mají antimikrobiální účinek proti širokému spektru bakterií jako například: *Escherichia coli*, *Bacillus cereus*, *Listeria monocytogenes*, *Salmonella enterica* a *Clostridium jejuni*, z výše uvedených sloučenin byl nejaktivnější karvakrol. Karvakrol je běžná složka silic, která existuje ve významné koncentraci (> 10 %) v mnoha aromatických rostlinách, jako jsou *Origanum vulgare*, *Thymus algeriensis* nebo *Mentha pulegium*. Je známo, že je netoxický a používá se jako konzervační činidlo a ochucovadlo v nápojích, sladkostech a dalších produktech (Friedman et al., 2002).

3.6 Obalové materiály

Obal je velmi důležitým prvkem pro zvýšení trvanlivosti potravin (Youssef et al., 2019). Je všeobecně známo, že základní úlohou obalů je izolovat výrobky od vnějšího prostředí a zajistit ochranu potravin proti degradaci způsobené působením mechanických sil, pachů, prachu, plynů, vlhkosti, mikroorganismů, záření a hmyzu. Kontakt těchto destruktivních látek snižuje skladovatelnost produktů. Účinné balení by proto mělo hrát roli překážky snižující cestu kontaminantům v okolí potravin. Obal by měl být nepropustný, netoxický a inertní vůči mikroorganismům a skladované potraviny (Sung et al., 2013).

Kromě udržování kvality potravinářských výrobků a prodloužení trvanlivosti výrobků je další funkcí obalu také reklama a poskytování užitečných informací zákazníkům (Sung et al., 2013). Materiál používaný při balení potravinářských výrobků je důležitým faktorem (Moustafa et al., 2019).

Obalové systémy používané pro džusy mají primární cíle udržet hermetické prostředí takové, že rekontaminace je nepravděpodobná a minimalizuje další zhoršení kvality v důsledku pronikání kyslíku do produktu (Manikantan and Varadharaju, 2011).

Typ obalu	Identifikační označení materiálu	Výhody	Nevýhody	Bezpečnostní aspekty
Skleněné lahve	Bílé sklo (GL, 70) Zelené sklo (GL, 71)	Tradiční obalový materiál, zcela inertní, chuťově neutrální dokonalé bariérové vlastnosti odolnost vůči chemickým a teplotním změnám, snadné čištění, možnost opakovaného použití („vratné obaly“) možnost opakovaného uzavírání, recyklovatelnost	Křehkost, poměrně velká hmotnost, energetická náročnost výroby	Při rozbití obalu představují střepy fyzické nebezpečí
Plastové lahve	Polyethylen-tereftalát (PET, 1)	Relativní pevnost, nízká hmotnost, dobré bariérové vlastnosti, možnost opakovaného uzavírání, nízké výrobní náklady recyklovatelnost	Nižší tepelná stabilita, určitá propustnost pro plyny (kyslík, oxid uhličitý), pravděpodobnost oboustranné interakce s náplní	Migrace složek z obalu ve zjištěných koncentracích nepředstavuje zdravotní riziko nebyla potvrzena přítomnost antimonu v nápojích.
Nápojové kartony	Kompozitní materiály, např. Kombinace papírlepenka/plast/hliník (C/PAP/ ALU, 84)	Skladná a na rozbití méně náchylná alternativa ke sklu ochrana před účinkem světla dobré bariérové vlastnosti velká informační/ reklamní plocha recyklovatelnost	Nelze použít pro sycené nápoje, obal je neprůhledný, takže není možné pohledem zjistit případné vady s náplní, složená obalová vrstva je náročnější na výrobu a recyklaci	Migrace složek z obalu není vyloučená, ale ve zjištěných koncentracích nepředstavuje zdravotní rizik

Obrázek 5. Typy obalových materiálů a jejich aspekty (Čížková, 2016)

3.6.1 Skleněné lahve

Sklo má v nápojovém odvětví pokračující a silné využití. Hlavní předností skla je jeho chemická inertnost, čírost a tepelná odolnost. V potravinářském průmyslu je jeho transparentnost považovaná za významnou marketingovou výhodu, která zprostředkuje image kvalitního produktu. Jeho tepelná odolnost zajišťuje, že se nádoby během plnění za horka nedeformují. Skleněné nádoby se mohou rozbít, pokud jsou vystaveny tepelným šokům. Největší nevýhodou skleněných obalů je jeho vysoká hmotnost (Ashurst, 2013). Pro dobré zachování nutričních vlastností během skladování se obvykle používají skleněné lahve (Barlinet et al., 2008). V dřívějších dobách byly ovocné šťávy baleny do skleněných nádob, ale nyní kvůli hmotnosti a křehkosti začali výrobci zkoumat další obaly. Skleněné nádoby, i když jsou křehké a relativně těžké, mají vizuální přitažlivost a možnosti opětovného použití (Ashurst, 2013).

3.6.2 Plastové lahve

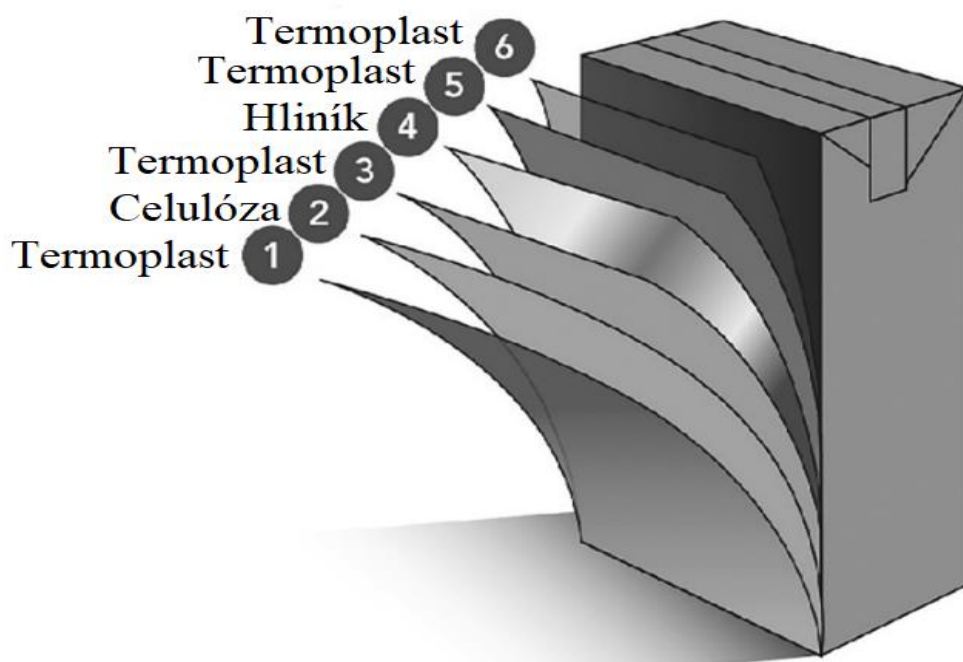
PET (polyethylen tereftalát) se stále více používá pro balení potravin díky svým vynikajícím mechanickým vlastnostem, své čírosti, odolnosti vůči UV záření a dobrým bariérovým vlastnostem (Zygoura et al., 2004). Maximální teplota plnění do PET lahví je 93°C. V závislosti na metodách zpracování šťávy, můžou PET nádoby poskytnout 6 až 9 měsíců trvanlivost za normálních skladovacích podmínek. Má se za to, že flexibilní obaly jsou mnohem úspornější než skleněné nebo kovové obaly, ale mají mnohem menší bariéru proti kyslíku.

Balení moštů v PET lahvích je dostatečné, pokud je mošt skladován a udržován při nízkých teplotách (Ghoshal, 2017). Použití lahví na bázi PET se však zvyšuje riziko oxidace složek šťávy z důvodu nulové propustnosti tohoto materiálu. Díky tomuto faktu je použití PET lahví pro skladování moštů méně vhodné, bylo to prokázáno porovnáním vývoje kyseliny askorbové ve skleněných lahvích ve srovnání s PET lahvemi (Barlinet et al., 2008; Ros-Chumilla et al., 2007).

3.6.3 Nápojové kartony

3.6.3.1 Tetra Pak

Jsou aseptické obaly, které jsou vývojovým trendem v balení nápojů a používají se pro skladování nápojů. Skládají se ze tří surovin: z papíru (75 %), polyethylenu (20 %) a hliníku (5 %) (Ma, 2018). Balení Tetra Pak má šest vrstev, z nichž každá má specifickou funkci. Vnější vrstva (první vrstva) je vyrobena z polyethylenu, který chrání produkt před vnější vlhkostí, druhá vrstva je vyrobena z lepenky (celulózy), poskytuje rozměrovou stabilitu a pevnost, třetí vrstva je nutná laminace obou polyethylenových vrstev, čtvrtá vrstva je vyrobena z hliníkových fólií, poskytuje bariéru proti kyslíku, mikroorganismům a světlu vrstva pátá je vyrobena z polyethylenu, je nezbytná pro procesy laminování a poslední vnitřní vrstva vyrobena z polyethylenu, utěšňuje kapalinu (Korkmaz et al., 2009).

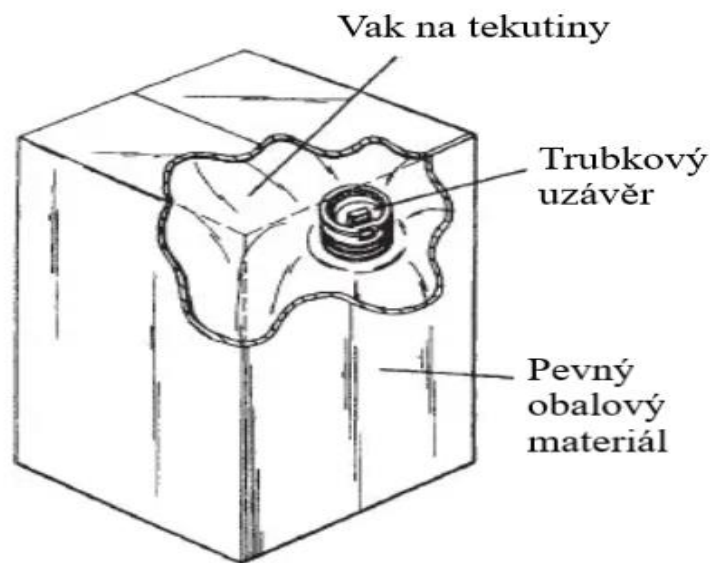


Obrázek 6. Struktura balení Tetra Pak (Korkmaz et al., 2009)

Vrstvy polyethylenu činí obal nepropustný a zabraňuje kontaktu potravin s hliníkem. Dobré aseptické vlastnosti a nízká hmotnost vedla k tomu, že v roce 2014 bylo na celém světě prodáno více než 179 milionů obalů (Ma, 2018).

3.6.3.2 Bag in box

Bag-in-box je forma komerčního balení potravin a tekutin, který se sestavuje ze tří hlavních složek. První složkou je pružný, skládací, plně utěsněný pytel vyrobený z jedné nebo více vrstev syntetických fólií. Druhá složka je uzávěr s trubkovým výtokem, skrz který se plní a vytéká obsah a poslední složkou je pevná vnější krabice držící pytel (Yam, 2009). Vak o obvykle vrstvený ze dvou různých fólií, z nichž jedna slouží jako vnitřní vrstva, která je v kontaktu s obsahem a druhá, která je obvykle vyžadována, poskytuje bariéru pro plyny (Ghoshal, 2017).



Obrázek 7. Model Bag in boxu (Yam, 2009)

4 Materiál a metody

4.1 Mošt

Pro experimentální část byl použit jablečno-řepný mošt, poskytnutý od pěstitele pana Václava Větrovce ze sadů Truskovice. Tento mošt byl vyroben smícháním jablek odrůdy Spencer (80 %) a červenou řepou (20 %) v poměru 1:4 a následným lisováním obou surovin. Sklizeň proběhla v roce 2016. Mošt byl skladován při teplotě -80 °C a před samotným pokusem byl zahřátý na 90 °C.

4.2 Použitá média

Pro přípravu inokula bylo připraveno tekuté médium Tryptone soya broth (Oxoid, CM0129) v poměru 0,8 g glukózy s 3 g agaru na 100 ml. Připravené médium bylo naplněno po 9 ml do lékovek a sterilováno v autoklávu. Pro kvantifikaci byla použita dvě agarová média. Na stanovení *Escherichia coli* byl použit TBX agar (Oxoid, CM0945) a *Salmonella enterica* byla stanovena na XLD agaru. Obě tyto média byly po sterilizaci nadávkovaná po 10 ml pomocí Eppendorf multipipette® M4 do 90 mm Petriho misek.

4.3 Příprava vzorků

Pasterovaný mošt byl inokulován přes noc kulturou *Escherichia coli* a *Salmonella enterica*. Druhý den byly k inokulu přidány ještě 3 ml moštu. Pro všechny varianty experimentu bylo použito 8 580 ml jablečno-řepného moštu. Pasterizovaný a zchlazený mošt byl po 330 ml rozdělen do čistých Erlenmeyerových baněk. Následně byl do každé baňky přidán 1 ml bakteriální suspenze *Escherichia coli* a *Salmonella enterica* o přibližné koncentraci $1,5 \times 10^8$ KTJ/ml. Následně bylo do každé baňky s moštem pipetou přidáno odpovídající množství silice, tak aby bylo dosaženo finálních koncentrací v prvním případě skořicová (S) silice (*Cinnamomum zeylanicum*, MKBH5748V) v koncentracích 16; 32; 64; 128; 256 µl/l a v druhém případě silice voňatky (L) (*Cymbopogon citratus*) v koncentracích 8; 16; 32; 64; 128; 256 µl/l.

Takto připravený mošt byl následně homogenizován mixérem (T18 digital Ultra-Turrax, IKA), po dobu několika vteřin při 20 000 ot./min. Zhomogenizovaný mošt byl přelit za pomoci trychtýře do skleněných lahví o objemu 330 ml a okamžitě byl zavíčkovaný korunkovým uzávěrem za pomoci korunkové zátkovačky.

Následně bylo ve vodní lázni provedeno tepelné ošetření (60 °C na 20 minut, 90 °C na 1 minutu), během pokusu byla měřena teplota uvnitř moštu vpichovým teploměrem. Po dosažení požadované teploty byl sledován čas a po uplynutí tohoto času byly vzorky ochlazeny na pokojovou teplotu a uloženy do termnostatu (25 °C) lednice. Záhřevu nebylo podrobena 12 lahví, ty byly pouze s přidavkem inokul a silic o různých koncentracích. Jedna ze všech láhví, byla bez přidavku silice a bez jakéhokoliv záhřevu, sloužila pouze jako kontrolní. Tři lahve (3x 330ml) byly připraveny jako kontrola pro tepelné ošetření.

Tabulka 1. Přehled vzorků bez tepelného záhřevu

Označení vzorku	Silice	Koncentrace [μl/l]	Tepelné ošetření [°C]
K-0-0°	-	-	-
S-16-0°	Skořice	16	-
S-32-0°	Skořice	32	-
S-64-0°	Skořice	64	-
S-128-0°	Skořice	128	-
S-256-0°	Skořice	256	-
L-8-0°	Lemongrass	8	-
L-16-0°	Lemongrass	16	-
L-32-0°	Lemongrass	32	-
L-64-0°	Lemongrass	64	-
L-128-0°	Lemongrass	128	-
L-256-0°	Lemongrass	256	-

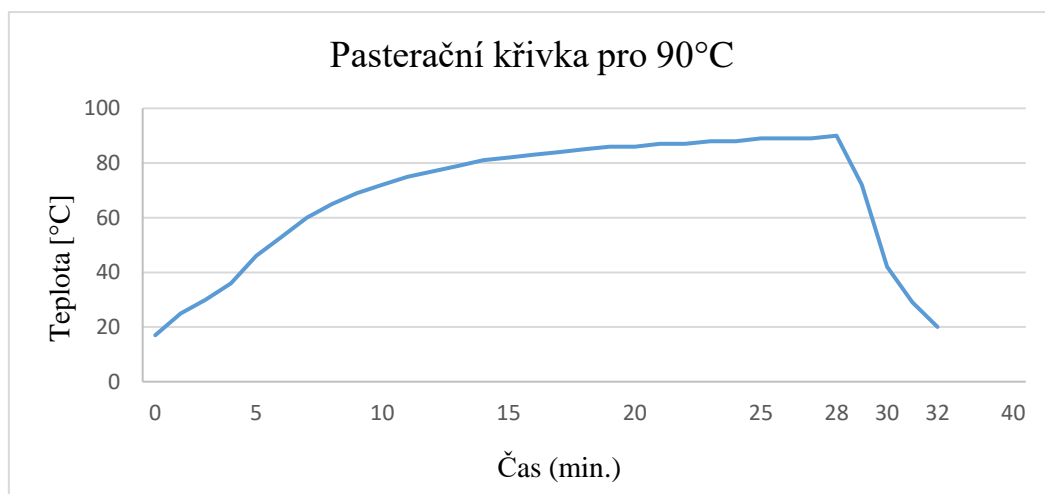
Poznámka: K-0-0°: je kontrolní vzorek bez přidané jakékoliv silice a bez tepelného ošetření, vzorky označené S-16-0°; S-32-0°; S-64-0°; S-128-0°; S-256-0° jsou vzorky ošetřené **skořicovou** silicí v koncentracích 16μl/l; 32μl/l; 64μl/l; 128μl/l a 256μl/l bez tepelného záhřevu, vzorky označené L-8-0°; L-16-0°; L-32-0°; L-64-0°; L-128-0°; L-256-0° jsou vzorky ošetřené silicí **voňatky (lemongrass)** v koncentracích 8μl/l; 16μl/l; 32μl/l; 64μl/l; 128μl/l a 256μl/l bez tepelného záhřevu.

Poté proběhlo tepelné ošetření ve vodní lázni, kdy teplota během 28 minut dosáhla na požadovaných 90 °C, pro kontrolu teploty uvnitř lahve byl použit digitální teploměr Heidolph EKT Hei-Con. Ve vodní lázni byly lahve ponechány poté ještě minutu. Po uplynutí této doby byly láhve vyjmuty a následně chlazeny v nádobě se studenou a stále přitékající vodou. Láhve byly schlazeny během čtyř minut zpět na teplotu 20 °C (Graf 1.).

Tabulka 2. Přehled vzorků pro první tepelný ohřev

Označení vzorku	Silice	Koncentrace [μl/l]	Tepelné ošetření [°C]
K-0-90°	————	———	90
S-64-90°	Skořice	64	90
S-128-90°	Skořice	128	90
S-256-90°	Skořice	256	90
L-64-90°	Lemongrass	64	90
L-128-90°	Lemongrass	128	90
L-256-90°	Lemongrass	256	90

Poznámka: K-0-90°: je kontrolní vzorek bez přidané jakékoliv silice s tepelným ošetřením na 90 °C, vzorky označené S-64-90°; S-128-90°; S-256-90° jsou vzorky ošetřené **skořicovou** silicí v koncentracích 64μl/l; 128μl/l a 256μl/l s ošetřením na teplotu 90 °C, vzorky označené L-64-90°; L-128-90°; L-256-90° jsou vzorky ošetřené silicí **voňatky (lemongrass)** v koncentracích 64μl/l; 128μl/l a 256μl/l s ošetřením na teplotu 90 °C.



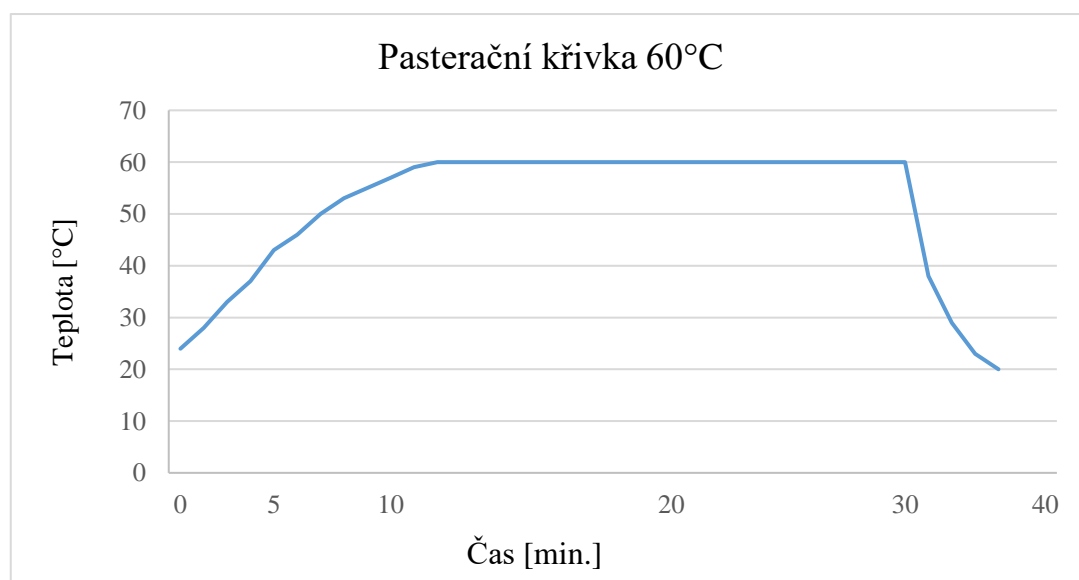
Graf 1. Pasterační křivka tepelného ošetření na 90 °C

Pro další použití jsme vodní lázeň lehce ochladily. Další záhřev, který jsme požadovali, byl záhřev na 60 °C, který byl dosažen během 12 minut. Po dosažení této teploty byly láhve ve vodní lázni při 60 °C ponechány následujících 20 minut. Následně byly lahve zchlazeny stejným způsobem jako v prvním případě (Graf 2.).

Tabulka 3. Přehled vzorků pro druhý tepelný ohřev

Označení vzorku	Silice	Koncentrace [$\mu\text{l/l}$]	Tepelné ošetření [$^{\circ}\text{C}$]
K-0-60°	—	—	60
S-64-60°	Skořice	64	60
S-128-60°	Skořice	128	60
S-256-60°	Skořice	256	60
L-64-60°	Lemongrass	64	60
L-128-60°	Lemongrass	128	60
L-256-60°	Lemongrass	256	60

Poznámka: K-0-60°: je kontrolní vzorek bez přidané jakékoliv silice s tepelným ošetřením na 60 °C, vzorky označené S-64-60°; S-128-60°; S-256-60° jsou vzorky ošetřené **skořicovou** silicí v koncentracích 64 $\mu\text{l/l}$; 128 $\mu\text{l/l}$ a 256 $\mu\text{l/l}$ s ošetřením na teplotu 60 °C, vzorky označené L-64-60°; L-128-60°; L-256-60° jsou vzorky ošetřené silicí **voňatky (lemongrass)** v koncentracích 64 $\mu\text{l/l}$; 128 $\mu\text{l/l}$ a 256 $\mu\text{l/l}$ s ošetřením na teplotu 60 °C.



Graf 2. Pasterační křivka tepelného ošetření na 60 °C

4.4 Mikrobiologický rozbor

Vzorky k mikrobiologickému rozboru byly z lahve odebrány za aseptických podmínek pomocí injekční stříkačky s jehlou do mikrozkušavek Ependorf. Do každé mikrozkušavky bylo převedeno 0,5 ml vzorku moštu. Takto připravené vzorky byly převedeny na vychladlé živné půdy pomocí spirálového očkovače (Spiral plater, easySpiral® Pro).

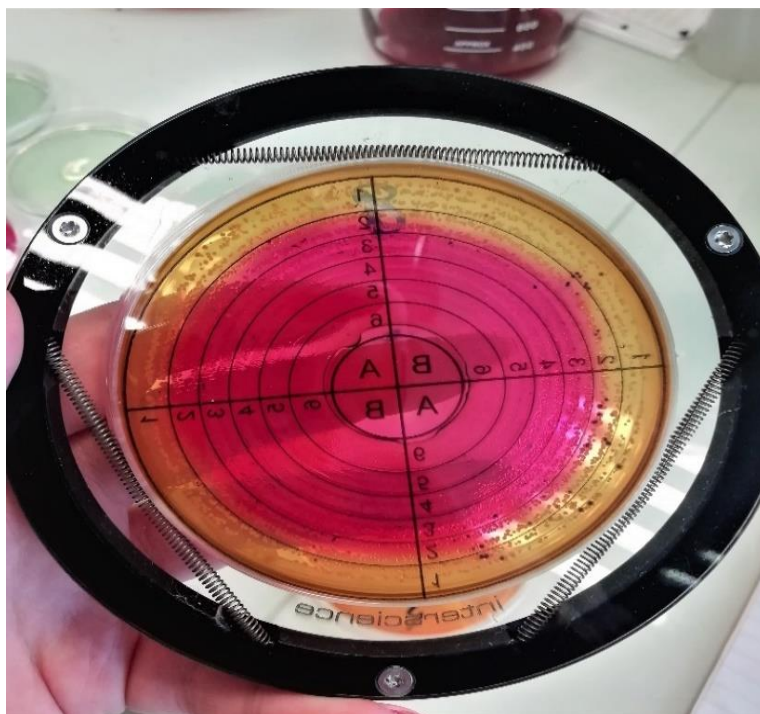
Po převedení vzorku na živné půdy, byly petriho misky přendány do termostatu, kde se nechaly kultivovat. Kultivace probíhala v temnu v termostatu při 37 °C, do druhého dne. Druhý den byly narostlé kolonie spočítány a výsledek byl přepočten na KTJ/ml. Celý tento postup byl pro kontrolu opakován 1., 4., 10. a 16. den od ošetření vzorku silicemi a inokulem.

5 Výsledky

Po uplynutí 24 hodin, byly narostlé kolonie na Petriho miskách spočítány a výsledek vyjádřen jako log KTJ/ml. Data byla zpracována pomocí MS Excel a programu Statistica 12. Byl vypočten aritmetický průměr, směrodatná odchylka a byla provedena analýza rozptylu (ANOVA) a Scheffeho test pro hodnocení homogenních skupin. Při testování byla použita hladina významnosti $\alpha=0,05$.

5.1 Výsledky celkového počtu mikroorganismů

Mikrobiologické rozborů na dvou různých médiích (TBX a XLD) byly prováděny 1. den, 4. den, 10. den a 16 den od ošetření. Vzorů jsou označeny kódem, kde **S** značí ošetření skořicovou silicí a **L** je ošetření silicí voňatky (lemongrass), dále je vyjádřena použitá koncentrace v $\mu\text{l/l}$ a teplota ošetření vyjádřena ve stupních celsia).



Obrázek 8. Počítání narostlých kolonií *Salmonella* na XLD agaru

5.1.1 Stanovení *Escherichia coli* po dnech na TBX agaru

Tabulka 4. Nárůst *Escherichia coli* první den po inokulaci (Scheffeho test homogenních skupin ($\alpha=0,05$)). Kultivační médium TBX agar

Ošetření vzorku	log KTJ/ml (průměr) \pm SD	Indexy homogenních skupin
S-64-60°	0,000 \pm 0,000	a
S-64-90°	0,000 \pm 0,000	a
S-128-60°	0,000 \pm 0,000	a
S-128-90°	0,000 \pm 0,000	a
S-256-60°	0,000 \pm 0,000	a
S-256-90°	0,000 \pm 0,000	a
L-64-60°	0,000 \pm 0,000	a
L-64-90°	0,000 \pm 0,000	a
L-128-60°	0,000 \pm 0,000	a
L-128-90°	0,000 \pm 0,000	a
L-256-0°	0,000 \pm 0,000	a
L-256-60°	0,000 \pm 0,000	a
L-256-90°	0,000 \pm 0,000	a
K-0-60°	0,000 \pm 0,000	a
K-0-90°	0,000 \pm 0,000	a
L-128-0°	3,781 \pm 0,008	b
L-64-0°	4,920 \pm 0,038	c
S-256-0°	4,958 \pm 0,035	c
S-128-0°	5,186 \pm 0,017	d
S-64-0°	5,312 \pm 0,013	e
L-32-0°	5,457 \pm 0,015	f
S-32-0°	5,478 \pm 0,012	f
L-16-0°	5,499 \pm 0,015	fg
S-16-0°	5,512 \pm 0,010	fg
L-8-0°	5,550 \pm 0,013	g
K-0-0°	5,669 \pm 0,010	h

Poznámka: Kódové označení vzorků je stejné jako u předešlých tabulek.

V tabulce číslo 4. jsou uvedeny průměrné hodnoty nárůstu *Escherichia coli* na selektivním médiu TBX. Všechny vzorky ošetřené na 60 °C a 90 °C prokazují úplnou inhibici růstu *Escherichia coli*, a proto již v tabulkách nebudou nadále zmiňovány. Vzorky bez tepelného ošetření s různými koncentracemi vykazovaly hodnoty nárůstu v rozmezí 3,781 až 5,669 log KTJ/ml.

Tabulka 5. Nárůst *Escherichia coli* **4. den** po inokulaci (Scheffeho test homogenních skupin ($\alpha=0,05$)). Kultivační médium TBX agar

Ošetření vzorku	log KTJ/ml (průměr) \pm SD	Indexy homogenních skupin
L-128-0°	0,000 \pm 0,000	a
L-256-0°	0,000 \pm 0,000	a
L-64-0°	2,944 \pm 0,000	b
S-256-0°	3,352 \pm 0,018	c
S-128-0°	5,086 \pm 0,020	d
S-64-0°	5,133 \pm 0,018	e
L-32-0°	5,151 \pm 0,009	ef
S-32-0°	5,189 \pm 0,014	f
L-16-0°	5,374 \pm 0,007	g
L-8-0°	5,425 \pm 0,023	h
S-16-0°	5,436 \pm 0,012	h
K-0-0°	5,445 \pm 0,009	h

V tabulce číslo 5. je vidět prokazatelně významný rozdíl mezi L-128-0° a L-64-0°, kde L-128-0° nevykazuje žádný nárůst, zatím co na L-64-0° je nárůst 2,944 log KTJ/ml. Další prokazatelně významný rozdíl je viditelný mezi S-256-0° a S-128-0°, kdy S-256-0° vykazuje hodnoty 3,352 log KTJ/ml a S-128-0° vykazuje hodnoty vyšší a to 5,086 log KTJ/ml. Mezi následujícími se vyskytují již malé statisticky významné rozdíly.

Můžeme si zde povšimnout, že silice lemongrass má lepší inhibiční účinky oproti skořicové silici.

Tabulka 6. Nárůst *Escherichia coli* **10. den** po inokulaci (Scheffého test homogenních skupin ($\alpha=0,05$)). Kultivační médium TBX agar

Ošetření vzorku	log KTJ/ml (průměr) \pm SD	Indexy homogenních skupin
L-128-0°	0,000 \pm 0,000	a
L-256-0°	0,000 \pm 0,000	a
S-256-0°	0,000 \pm 0,000	a
S-128-0°	0,602 \pm 0,000	b
L-64-0°	2,857 \pm 0,000	c
S-64-0°	4,489 \pm 0,010	d
L-32-0°	4,833 \pm 0,029	e
S-32-0°	5,046 \pm 0,030	f
K-0-0°	5,064 \pm 0,034	f
L-16-0°	5,066 \pm 0,020	f
S-16-0°	5,093 \pm 0,033	fg
L-8-0°	5,184 \pm 0,102	g

V tabulce číslo 6. je prokazatelně významný rozdíl mezi S-128-0° a L-64-0°, kdy S-128-0° vykazuje nárůst 0,602 log KTJ/ml oproti L-64-0°, kde je nárůst 2,857 log KTJ/ml. Další prokazatelně významný rozdíl je mezi L-64-0° a S-64-0°, kdy oba vzorky mají stejnou koncentraci silice, ale z tabulky je vidět, že lepší inhibiční účinky má silice voňatky. V tabulce je i dobře viditelné, že kontrolní vzorek (K-0-0°) má lepší sledované hodnoty než některé vzorky s přidavkem silice. Tento fakt nejspíše zapříčinilo začínající prokvášení moštu.

Tabulka 7. *Escherichia coli* **16. den** po inokulaci (Scheffeho test homogenních skupin ($\alpha=0,05$)). Kultivační médium TBX agar

Ošetření vzorku	log KTJ/ml (průměr) \pm SD	Indexy homogenních skupin
S-64-0°	0,000 \pm 0,000	a
S-128-0°	0,000 \pm 0,000	a
S-256-0°	0,000 \pm 0,000	a
L-64-0°	0,000 \pm 0,000	a
L-128-0°	0,000 \pm 0,000	a
L-256-0°	0,000 \pm 0,000	a
L-32-0°	2,716 \pm 0,000	b
K-0-0°	3,064 \pm 0,000	c
S-32-0°	3,326 \pm 0,115	d
S-16-0°	3,532 \pm 0,048	e
L-16-0°	4,023 \pm 0,068	f
L-8-0°	4,804 \pm 0,066	g

U posledního měření je nulový nárůst u obou silic s koncentracemi 64 μ l/l až 256 μ l/l. Prokazatelně významný rozdíl je viditelný u vzorku L-32-0°, který prokazuje nárůst 2,716 log KTJ/ml. Mezi dalšími vzorky již není tak prokazatelně významný rozdíl. Takto vysoké nárůsty u vzorků od S-32-0° zapříčinil nejspíše vytvořený povlak plísně na povrchu mošt a začínající prokvášení.

5.1.2 Nárusty *Salmonella* po dnech na XLD agaru

Tabulka 8. Nárůst *Salmonella* první den po inokulaci (Scheffeho test homogenních skupin ($\alpha=0,05$)). Kultivační médium XLD agar

Ošetření vzorku	log KTJ/ml (průměr) \pm SD	Indexy homogenních skupin
S-64-60°	0,000 \pm 0,000	a
S-64-90°	0,000 \pm 0,000	a
S-128-60°	0,000 \pm 0,000	a
S-128-90°	0,000 \pm 0,000	a
S-256-60°	0,000 \pm 0,000	a
S-256-90°	0,000 \pm 0,000	a
L-64-60°	0,000 \pm 0,000	a
L-64-90°	0,000 \pm 0,000	a
L-128-60°	0,000 \pm 0,000	a
L-128-90°	0,000 \pm 0,000	a
L-256-0°	0,000 \pm 0,000	a
L-256-60°	0,000 \pm 0,000	a
L-256-90°	0,000 \pm 0,000	a
K-0-60°	0,000 \pm 0,000	a
K-0-90°	0,000 \pm 0,000	a
L-128-0°	0,301 \pm 0,000	b
S-256-0°	2,942 \pm 0,022	c
S-128-0°	3,253 \pm 0,015	d
L-64-0°	5,246 \pm 0,019	e
S-64-0°	5,272 \pm 0,005	ef
L-32-0°	5,279 \pm 0,011	ef
S-32-0°	5,306 \pm 0,016	f
L-16-0°	5,349 \pm 0,013	g
S-16-0°	5,372 \pm 0,012	g
L-8-0°	5,425 \pm 0,016	h
K-0-0°	5,517 \pm 0,011	i

Poznámka: Kódové označení vzorků je stejné jako u předešlých tabulek.

V tabulce číslo 8. jsou uvedeny průměrné hodnoty nárůstu *Salmonella* na selektivním médiu XLD agar. Všechny vzorky ošetřené na 60 °C a 90 °C prokazují úplnou inhibici růstu *Salmonella*, a proto již v tabulkách nebudou nadále zmiňovány. Vzorky bez tepelného ošetření s různými koncentracemi vykazovaly hodnoty nárůstu v rozmezí 0,301 až 5,517 log KTJ/ml.

Tabulka 9. Nárůst *Salmonella* **4. den** po inokulaci (Scheffeho test homogenních skupin ($\alpha=0,05$)). Kultivační médium XLD agar

Ošetření vzorku	log KTJ/ml (průměr) \pm SD	Indexy homogenních skupin
L-128-0°	0,000 \pm 0,000	a
L-256-0°	0,000 \pm 0,000	a
S-256-0°	0,000 \pm 0,000	a
S-32-0°	2,079 \pm 0,000	b
S-128-0°	2,505 \pm 0,000	bc
L-32-0°	2,505 \pm 0,000	bc
L-16-0°	2,556 \pm 0,000	c
K-0-0°	2,748 \pm 0,000	c
L-64-0°	3,279 \pm 0,000	d
S-64-0°	3,868 \pm 0,023	e
S-16-0°	4,780 \pm 0,515	f
L-8-0°	4,806 \pm 0,000	f

V tabulce číslo 9. je vidět prokazatelně významný rozdíl mezi S-256-0° a S-32-0°, kde S-256-0° vykazuje úplnou inaktivitu, zatím co na S-32-0° je prokazatelně významný nárůst, který je 2,079 log KTJ/ml. Další hodnoty po sobě jdoucí neprokazují již tak prokazatelně významné rozdíly. Můžeme si zde i povšimnout, že kontrolní vzorek (K-0-0°) má lepší naměřené hodnoty než některé vzorky ošetřené silicí. Tento fakt nejspíše zapříčinilo začínající prokvášení moštu.

Tabulka 10. Nárůst *Salmonella* **10. den** po inokulaci (Scheffeho test homogenních skupin ($\alpha=0,05$)). Kultivační médium XLD agar

Ošetření vzorku	log KTJ/ml (průměr) \pm SD	Indexy homogenních skupin
S-64-0°	0,000 \pm 0,000	a
S-128-0°	0,000 \pm 0,000	a
S-256-0°	0,000 \pm 0,000	a
L-128-0°	0,000 \pm 0,000	a
L-256-0°	0,000 \pm 0,000	a
K-0-0°	0,000 \pm 0,000	a
L-64-0°	0,903 \pm 0,000	b
L-16-0°	2,079 \pm 0,000	c
S-32-0°	3,390 \pm 0,041	d
L-32-0°	4,784 \pm 0,039	e
S-16-0°	4,917 \pm 0,020	f
L-8-0°	4,979 \pm 0,035	g

V této tabulce je prokazatelně významný rozdíl mezi L-64-0° a L-16-0°, kdy L-64-0° vykazuje nárůst pouze 0,903 log KTJ/ml oproti L-16-0°, kde je nárůst 2,079 log KTJ/ml. Další významný rozdíl je hned u následujícího vzorku, kde vzorek S-32-0° vykazuje nárůst 3,390 log KTJ/ml, což je prokazatelně vyšší než u vzorku L-16-0°.

Následující vzorek, který obsahuje stejnou koncentraci silice, má ale od předchozího statisticky významný rozdíl. Z toho vyplývá, že proti *Salmonella* má lepší inhibiční účinky silice skořice. Kontrolní vzorek (K-0-0°) prokazuje 10. den úplnou inaktivaci *Salmonell*, a to nejspíše z důvodu prokvašení moštu.

Tabulka 11. Nárůst *Salmonella* **16. den** po inokulaci (Scheffeho test homogenních skupin ($\alpha=0,05$)). Kultivační médium XLD agar

Ošetření vzorku	log KTJ/ml (průměr) \pm SD	Indexy homogenních skupin
S-16-0°	0,000 \pm 0,000	a
S-32-0°	0,000 \pm 0,000	a
S-64-0°	0,000 \pm 0,000	a
S-128-0°	0,000 \pm 0,000	a
S-256-0°	0,000 \pm 0,000	a
L-64-0°	0,000 \pm 0,000	a
L-128-0°	0,000 \pm 0,000	a
L-256-0°	0,000 \pm 0,000	a
K-0-0°	0,000 \pm 0,000	a
L-32-0°	2,447 \pm 0,000	b
L-16-0°	2,748 \pm 0,000	c
L-8-0°	3,315 \pm 0,123	d

Poslední měření na XLD prokázalo statisticky významný rozdíl od vzorku L-32-0°, kdy byl prokazatelný nárůst 2,447 log KTJ/ml a vzorky předtím nevykazovaly žádný nárůst. Od vzorku L-32-0° po vzorek L-8-0° již není tak prokazatelně významný rozdíl. Tímto měřením se prokázalo, že pro inhibici *Salmonella* je vhodnější skořicová silice, která poslední den u všech vzorků vykazovala nulové nárůsty

5.2 Hodnocení barvy

Dále jsme do našeho experimentu zařadili i hodnocení barvy, kde jsme zkoumali, jak se změní barva jablečno-řepného moštu v závislosti na koncentraci silic a teplotě. Vyhodnocení barvy bylo prováděno po uplynutých 16 dnech.

Silice voňatky:



Obrázek 10. Sensorická analýza u vzorků se silicí voňatky po 16 dnech, nízké koncentrace

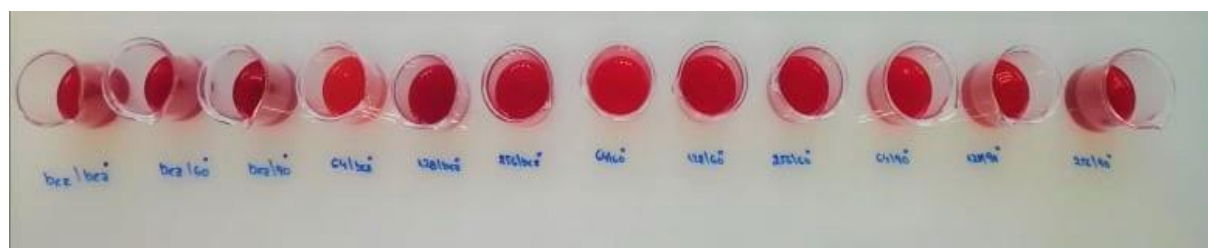


Obrázek 9. Sensorická analýza u vzorků se silicí voňatky po 16 dnech

Skořicová silice:



Obrázek 11. Sensorická analýza u vzorků se skořicovou silicí po 16 dnech, nízké koncentrace



Obrázek 12. Sensorická analýza u vzorků se skořicovou silicí po 16 dnech

6 Diskuze

Zeleninové a ovocné šťávy jsou pravděpodobně nejrozšířenějšími nápoji na světě (Oussalah et al., 2007). Tradiční přesvědčení, že jablečná šťáva je před patogeny bezpečná díky relativně nízkému pH (3,1–4,4), se změnila v důsledku několika ohnisek a výzkumných šetření prokazujících přežití patogenů ve šťávě. V poslední době bylo hodnoceno mnoho nových postupů pro inaktivaci patogenů v jablečné šťávě, včetně gama záření, ultrafialového záření, pulzních elektrických polí, hydrostatického vysokého tlaku a přírodních antimikrobiálních látek včetně silic (Yuste and Fung, 2004).

Cílem práce bylo ověřit účinnost silic jako konzervantů ovocně-zeleninové šťávy v kombinaci s teplotním ošetřením proti schopnosti přežití patogenních organismů (*E. coli* a *Salmonella*). Existuje mnoho studií, které se zabývají konzervací ovocných šťáv pomocí silic, ale pouze některé studie testují antibakteriální účinky za současného použití dalšího ošetření jako je tepelný záhřev. V této práci bylo spojeno použití silic s tepelným záhřevem, kdy z výsledků vyplývá, že teplota hraje důležitou roli v inaktivaci patogenních mikroorganismů, jelikož všechny tepelně ošetřené vzorky od první dne vykazovaly úplnou inhibici *Salmonella* a *Escherichia coli* (Tabulka číslo 4 a 8).

Podobného výsledku jako v mém pokusu docílili i Sung et al., (2014), kteří kombinovali tepelné zpracování s použitím ozonu v jablečném moštu. Využívali teploty 25, 45, 50 a 55 °C. Samotné tepelné zpracování vedlo ke snížení 0,20, 0,37, 2,16 a 2,54 log KTJ/ml *E. coli* O157:H7 v jablečné šťávě. Kombinované ošetření ozonem a teplem po dobu 1 minuty snížilo množství buněk o 1,50 a 1,60 log KTJ/ml, v tomto pořadí, při 25 a 45 °C, a pod detekční limit (1 log KTJ/ml) při 50 a 55 °C. Závěrem práce je, že existuje synergický účinek v inaktivaci patogenů v jablečné šťávě ošetřené ozonem a zahřáté na teplotu 50 °C.

Gabriel and Nakano, 2009 uvádějí, že pozorovaný trend *D* hodnot ve stacionární fázi pro *Escherichia coli* O157:H7, *Salmonella* a *L. monocytogenes* v jablečné šťávě (pH 3,9) byly $4,1 \pm 0,70$, $1,21 \pm 0,42$ a $1,59 \pm 0,15$ min, což je v souladu s publikací dle Makem et al., (2001) a Mazzotta, (2001), kteří oba dospěli k závěru, že *Escherichia coli* O157:H7 je více termorezistentní než *L. monocytogenes* a *Salmonella*, a tedy vhodný cílový organismus pro hodnocení letality tepelných procesů u jablečných šťáv. Toto tvrzení se v mé práci neprokázalo, oproti tomu v tomto experimentu byla teplota 60 °C jako dostačující faktor pro inaktivaci obou sledovaných mikroorganismů.

Espina et al., (2012) uvádějí, že synergický účinek teploty se silicí, byl pozorován při přidání 200 µl/l silice voňatky do jablečné šťávy ve srovnání s tepelným zpracováním při 54 °C. V našich experimentech se synergický účinek projevil již při přidavku 64 µl/l jak skořicové silice, tak i silice voňatky do jablečno-řepného moštu při 60 °C.

V předchozích studiích dle Sung et al., (2014), Gabriel and Nakano, (2009) a Espina et al., (2012), ve kterých byla testována kombinace přidavku silice a tepelného ošetření, bylo testování inhibice růstu mikroorganismů prováděno v deseti za sebou jdoucích dnech. Náš experiment otestoval ošetření silic a tepelného záhřevu v délce 16 dní. Po 16 dnech bylo pouze u testovaných tepelně upravených vzorků dosaženo úplné inaktivace mikroorganismů. Z výsledků tedy vyplývá, že teplota hrála důležitou roli v inaktivaci patogenních mikroorganismů jak u výše zmíněných studií, tak i v našem experimentu, jelikož všechny tepelně ošetřené vzorky od prvního dne vykazovaly úplnou inhibici *Salmonella* i *Escherichia coli*.

V současné době přitahují přírodní antibakteriální látky, jako jsou rostlinné silice, zvýšenou pozornost z důvodu jejich bezpečnosti, vysoké účinnosti a nejedovatých účinků. Pravděpodobně nejzajímavější oblastí aplikace silice je inhibice růstu a snížení počtu závažnějších potravinářských patogenů, jako je *Salmonella* spp. a *Escherichia coli* O157: H7 (Leite et al., 2016). CPM je jedním z hlavních parametrů hodnocení hygieny potravin. Dle vyhlášky č. 132/2004 Sb. je pro čerstvé ovocné a zeleninové šťávy přípustná hodnota CPM 106 KTJ/ml.

Friedmann et al. (2002) zjistili, že silice, které vycházeli ve studii nejlépe proti *Escherichia coli* bez použití teploty s hodnotami v rozmezí 0,046 až 0,14 log KTJ, byly silice oregana, tymiánu, voňatky, skořice, hřebíčku a bobkového listu. V mém pokusu se jevila silice voňatky jako lepší inhibitor *Escherichia coli* než skořicová silice, jelikož silice voňatky prokazovala větší inhibici po dobu všech dní.

Friedmann et al. (2002) uvádí, že na *Salmonella enterica* působily, více silice z nového koření, voňatky a majoránky. V našem pokusu fungovala lépe silice skořice na *Salmonella* oproti silici voňatky. Silice skořice po dobu 16 dnů dokázal úplně inhibovat *Salmonella* i v nízkých koncentracích. První den byl nárůst *Salmonella* zaznamenán u vzorku s nejvyšší koncentrací a to 256 µl/l. Následující čtvrtý den se nárůst objevil u vzorku S-128-°0 s hodnotou 0,437 log KTJ/ml nižší než den první, následující den byl zaznamenán výskyt u vzorku s koncentrací pouze 32 µl/l a obsahoval 3,390 log KTJ/ml. Poslední den měření se *Salmonella* s použitím skořicové silice již nevyskytovala a nález byl patrný pouze u vzorků s nízkou koncentrací voňatky.

7 Závěr

Cílem této diplomové práce bylo ověřit účinnost silic jako konzervantů ovocně-zeleninové šťávy v kombinaci s teplotním ošetřením proti schopnosti přežití patogenních organismů (*Escherichia coli* a *Salmonella*).

Byly použity silice skořice v koncentracích 16; 32; 64; 128 a 256 $\mu\text{l/l}$ a voňatky citrónové (lemongrass) v koncentracích 8; 16; 32; 64; 128 a 256 $\mu\text{l/l}$ při tepelném ošetření: 0 °C, 60 °C, 90 °C. Vybrané druhy silic byly použity proti *Escherichia coli* a *Salmonella enterica*.

Studii bylo prokázáno že:

- Tepelné ošetření při 60 °C a 90 °C bylo dostačující a úplně inaktivovalo patogenní mikroorganismy.
- Kombinace tepelného ošetření spolu se silicemi dosáhly úplné inaktivace patogenních mikroorganismů.
- Použité koncentrace silic výrazně inhibovaly testované mikroorganismy, ale nebyly tak efektivní jako tepelné ošetření.
- Počty aktivních buněk patogenů v průběhu pokusu přirozeně klesaly
- Šestnáctý den na XLD agaru u skořicové silice, nebyly detekovány žádné kolonie i u kontrolního (neošetřeného) vzorku.

Testovaná tepelná ošetření jsou dostatečná pro inaktivaci testovaných patogenních mikroorganismů. S největší pravděpodobností by stačily i nižší tepelné záhřevy pro zajištění bezpečnosti jablečno-řepných moštů, ale toto tvrzení je nutné ověřit v dalších pokusech.

Tepelné ošetření spolu s použitím silice může potenciálně zvýšit ochranu moštu před patogenními organismy. Silice ale ve větší koncentraci mohou značně ovlivňovat organoleptické vlastnosti moštu a též teplota může značně ovlivnit vlastnosti moštu, a to především barvu a chuť. Z pokusu hodnocení barvy bylo zřejmé, že tepelné ošetření v kombinaci se silicí má negativní vliv na barvu moštu. V dalším výzkumu by se měla věnovat pozornost i nejvyššímu množství použité silice, která by neměla vliv na senzorické hodnocení.

Zvolenou hypotézu: „Pomocí tepelného ošetření a silic, lze zajistit vyšší bezpečnost jablečno-řepného moštu“, na základě statistických výsledků experimentu byla hypotéza přijata.

8 Literatura

- Akhila A., 2010, Essential oil-bearing grasses: the genus *Cymbopogon*, Central Institute of Medicinal & Aromatic Plants, Lucknow, India, 262, ISBN: 9780849378577
- Anene A., Hosni K., Chevalier Y., Kalfat R., Hbaieb S., 2016, Molecularly imprinted polymer for extraction of patulin in apple juice sample, *Food Control*, **70**:90-95, Available from: <https://dx.doi.org/10.1016/j.foodcont.2016.05.042>.
- Ashurst P.R., 2013, Production and Packaging of Non-Carbonated Fruit Juices and Fruit Beverages, Springer Science & Business Media, **2**:290-309, Available from: <https://doi.org/10.1007/978-1-4757-6296-9>
- Baer-Dubowska W., Szaefer H., 2013, Modulation of carcinogen-metabolizing cytochromes P450 by phytochemicals in humans, *Expert Opinion on Drug Metabolism & Toxicology*, **9 (8)**:927-941, Available from: <https://doi.org/10.1517/17425255.2013.795219>
- Balasubramaniam V.M., Farkas D., Turek E.J., 2008, Preserving food through high pressure processing, *Food Technology*, **62 (11)**:33-38
- Balti M.A., Hadrich B., Kriaa K., Kechaou N., 2018, Lab-scale extraction of essential oils from Tunisian lemongrass, *Chemical Engineering and Processing-Process Intensification*, **124**:164-173, Available from: <https://doi.org/10.1016/j.cep.2017.12.012>
- Barbosa-Cánovas G.V., 1998, Nonthermal Preservation of Foods, Marcel Dekker, New York, ISBN: 0824799798
- Barbosa-Cánovas G.V., Góngora-Nieto M.M., Pothakamury U.R., Swanson B.G., 1999, Preservation of foods with pulsed electric fields, Academic Press, San Diego, 4-47, 108-180, eBook ISBN: 9780080539461
- Barlinet C., Brat P., Ducruet V., 2008, Quality of orange juice in barrier packaging material, *Packaging and Technology and Science*, **21 (5)**:279-286, Available from: <https://doi.org/10.1002/pts.802>
- Bates R.P., Morris J.R., Crandall P.G., 2001, Principles and Practices of Small-and Medium Scale Fruit Juice Processing, Food & Agriculture Organization of the United Nations, Italy, 146, ISBN: 92-5-104661-1
- Batíková Š., 2009, Svět potravin, podporováno potravinářskou komorou ČR: Zpracování ovoce, Praha, Granville, s.r.o., roč. **10 (9)**:16-17

- Baskaran S.A., Amalaradjou M.A.R., Hoagland T., Venkitanarayanan K., 2010, Inactivation of *Escherichia coli* O157:H7 in apple juice and apple cider by trans-cinnamaldehyde, *International Journal of Food Microbiology*, **141 (1-2)**:126-129, Available from: <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2010.04.002>
- Bevilacqua A., Campaniello D, Corbo M.R., Maddalena L., Sinigaglia, 2013, Suitability of *Bifidobacterium* spp. and *Lactobacillus plantarum* as Probiotics Intended for Fruit Juices Containing Citrus Extracts, *Food Science*, **78 (11)**:M1764-M1771, Available from: <https://doi.org/10.1111/1750-3841.12280>
- Bezpečnost potravin A-Z, 2018 [online], MZČR, [cit. 18.5.2020], Available from: <https://bezpecnostpotravin.cz/az/termin/92246.aspx>
- Boukhatem M. N., Ferhat M. A., Saidi F., Kebir H.T., 2014, Lemon Grass Essential Oil as a Potent Anti-Inflammatory and Antifungal Drugs, *The Libyan journal of medicine*, **9**:25431, Available from: <https://doi.org/10.3402/ljm.v9.253131>
- Bua A., Molicotti P., Donadu M.G., Usai D., Le L.S., Tran T.T.T., Ngo V.Q.T., Marchetti M., Usai M., Zanetti S., Cappuccinelli P., 2018, “In vitro” activity of *Melaleuca cajuputi* against mycobacterial species, *Natural Product Reserch*, **34 (10)**:1494-1497, Available from: <https://doi.org/10.1080/14786419.2018.1509335>
- Buckle G. C., Walker C. L., Black R. E., 2012, Typhoid fever and paratyphoid fever: systematic review to estimate global morbidity and mortality for 2010. *Journal Global Health*, **2 (1)**: 10401, Available from: <https://doi.org/10.7189/jogh.02.010401>
- Buchanan R.L., Edelson S.G., Snipes K., Boyd G., 1998, Inactivation of *Escherichia coli* O157:H7 in Apple Juice by Irradiation, *Applied Environmental Microbiology*, **64 (11)**:4533–4535, Available from: <https://doi.org/10.1128/AEM.64.11.4533-4535.1998>
- Burt S., 2004, Essential oils: Their antibacterial properties and potential applications in foods, *International Journal of Food Microbiology*, **94 (3)**:223-253, Available from: <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2004.03.022>
- Campeanu G., Neata G., Darjanschi G., 2009, Chemical Composition of the Fruits of Several Apple Cultivars Growth as Biological Crop, *Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj-Napoca*, **37 (2)**:161-164 Available from: <https://doi.org/10.15835/nbha3723465>
- Carson C.F., Riley T.V., 1995, Antimicrobial activity of the major components of the essential oil of *Melaleuca alternifolia*, *Journal of Applied Microbiology*, **78 (3)**:264-269, Available from: <https://doi.org/10.1111/j.1365-2672.1995.tb05025.x>

- Cempírková R., Lukášová J., Hejlová Š., 1997, Mikrobiologie potravin, Jihočeská univerzita České Budějvice, **1. vydání**, ISBN: 80-7040-254-7
- Clements A., Young J.C., Constantinou N., Frankel G., 2012, Infection strategies of enteric pathogenic *Escherichia coli*, *Gut Microbes*, **3 (2)**:71-87,
Available from: <https://doi.org/10.4161/gmic.19182>
- Coelho J.P., Cristino A.F., Matos P.G., Rauter A.P., Nobre B.P., Mendes R.L., Barroso J.G., Mainar A., Urieta J.S., Fareleira J.M.N.A., Sovová H., Palavra A.F., 2012, Extraction of volatile oil from aromatic plants with supercritical carbon dioxide: Experiments and modeling, **17 (9)**:10550-10573,
Available from: <https://doi.org/10.3390/molecules170910550>
- Čížková H., 2016, Jak poznáme kvalitu? – Nealkoholické nápoje., Praha, Potravinářská komora České republiky, ISBN: 978-80-88019-11-4
- De Jong H.K., Parry C.M., van der Poll T., Wiersinga W.J., 2012, Host–pathogen interaction in invasive salmonellosis, *Plos Pathogens*, **8 (10)**: e1002933
Available from: <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1002933>
- Demirdöven A., Baysal T., 2015, Effects of electrical pre-treatment and alternative heat treatment applications on orange juice production and storage, *Food Bioproduction Process*, **94**:443-452, Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.fbp.2014.06.004>
- Devlieghere F., Vermeiren L., Debevere J., 2004, New preservation technologies: Possibilities and limitations, *International Dairy Journal*, **14 (4)**:273-285,
Available from: <https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2003.07.002>
- Dhifi W., Bellili S., Jazi S., Bahloul S., Mnif W., 2016, Essential Oils' Chemical Characterization and Investigation of Some Biological Activities, *Medicines (Basel)*, **3 (4)**:25, Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5456241/>
- Echavarría A.P., Falguera V., Torras C., Berdún C., Pagán J., Ibarz A., 2012, Ultrafiltration and reverse osmosis for clarification and concentration of fruit juices. *LWT-Food science technology*, **46 (1)**:189-195,
Available from: <https://dx.doi.org/10.1016/j.lwt.2011.10.008>
- Ekpenyong Ch. E., Akpan E. E., Daniel N., 2014, Phytochemical Constituents, Therapeutic Applications and Toxicological Profile of *Cymbopogon citratus* Stapf (DC) Leaf Extract, *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*, **3 (1)**:133-141, ISSN: 2278-4136

- Evrendilek G.A., Jin Z.T., Ruhlman K.T., Qiu X., Zhang Q.H., Richter E.R., 2000, Microbial safety and shelf-life of apple juice and cider processed by bench and pilot scale PEF systems, *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, **1(1)**:77-86
- Espina L., Somolinos M., Ouazzou A.A., Condón S., García-Gonzalo D., Pagán R., 2012, Inactivation of *Escherichia coli* O157:H7 in fruit juices by combined treatments of citrus fruit essential oils and heat, *International Journal of Food Microbiology*, **159 (1)**:9-16, Available from: <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2012.07.020>
- Ferguson S.K, Hirai D.M, Copp S.W, Holdsworth C.T, Allen J.D, Jones A.M, Musch T.I, Poole D.C, 2013, Effects of nitrate supplementation via beetroot juice on contracting rat skeletal muscle microvascular oxygen pressure dynamics. *Respiratory Physiology & Neurobiology*, **187**:250–255, Available from: <https://doi.org/10.1016/j.resp.2013.04.001>
- Ferrario M., Alzamora S.M., Guerrero S., 2015, Study of the inactivation of spoilage microorganisms in apple juice by pulsed light and ultrasound, *Food Microbiology*, **46**:635-642, Available from: <https://doi.org/10.1016/j.fm.2014.06.017>
- Figueiredo A. C., Barroso J. G., Pedro L. G., Scheffer J. J. C., 2008, Factors affecting secondary metabolite production in plants: volatile components and essential oils, *Flavour and Fragrance Journal*, **23 (4)**:213-226, Available from: <https://doi.org/10.1002/ffj.1875>
- Food and Authority, 2017, The European Union summary report on trends and sources of zoonoses, zoonotic agents and food-borne outbreaks in 2016, *EFSA Journal*, **15 (12)**:8-228, Available from: <https://doi.org/10.2903/j.efsa.2017.5077>
- Friedman M., Henika P.R., Mandrell R.E., 2002, Bactericidal Activities of Plant Essential Oils and Some of Their Isolated Constituents against *Campylobacter jejuni*, *Escherichia coli*, *Listeria monocytogenes*, and *Salmonella enterica*, *Journal of Food Protection*, **65 (10)**:1545–1560, Available from: <https://doi.org/10.4315/0362-028X-65.10.1545>
- Gabriel A.A., Nakano H., 2009, Inactivation of *Salmonella*, *E. coli* and *Listeria monocytogenes* in phosphate-buffered saline and apple juice by ultraviolet and heat treatments, *Food Control*, **20 (4)**:443–446, Available from: <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2008.08.008>

- Gal-Mor O., Boyle E.C., Grassl G.A., 2014, Same species, different diseases: how and why typhoidal and non-typhoidal *Salmonella enterica* serovars differ, *Frontiers in Microbiology*, **5**:391, Available from: <https://doi.org/10.3389/fmicb.2014.00391>
- Gardner P.T., White T.A., Mcphall D.B., Duthie G.G., 2000, The relative contributions of vitamin C, carotenoids and phenolics to the antioxidant potential of fruit juice, *Food Chemistry*, **68**:471-474,
Available from: [https://doi.org/10.1016/S0308-8146\(99\)00225-3](https://doi.org/10.1016/S0308-8146(99)00225-3)
- Gaur A., 2020, *Salmonella*, *Encyclopaedia Britannica*,
Available from: <https://www.britannica.com/science/Salmonella>
- Gayán E., Torres J. A., Álvarez I., Condón S., 2014, Selection of Process Conditions by Risk Assessment for Apple Juice Pasteurization by UV-Heat Treatment at Moderate Temperatures, *Journal of Food Protection*, **77 (2)**:207-215,
Available from: <https://doi.org/10.4315/0362-028X.JFP-13-255>
- Ghoshal G., 2017, Recent trends in active, smart and intelligent packaging for food products, In: Grumezescu A., Holban A.M. (Eds.), *Food packaging and Preservation*, Elsevier, **9 (10)**:343-374, eBook ISBN: 9780128112656
- Glisic S., Ivanovic J., Ristic M., Skala D., 2010, Extraction of sage (*Salvia officinalis* L.) by supercritical CO₂: Kinetic data, chemical composition and selectivity of diterpenes, *Journal of Supercritical Fluids*, **52 (1)**:62-70,
Available from: <https://doi.org/10.1016/j.supflu.2009.11.009>
- Goldberg G., 2008, *Plants: Diet and health*, Blackwell Science, London, ISBN: 0-632-05962-1
- Gomes T.A., Elias W.P., Scaletsky I.C., Guth B.E., Rodrigues J.F., Piazza R.M., Ferreira L.C., Martinez M.B., 2016, Diarrheagenic *Escherichia coli*, *Brazilian Journal of Microbiology*, **47 (1)**:3-30, Available from: <https://doi.org/10.1016/j.bjm.2016.10.015>
- Gómez-Aldapa C.A., Segovia-Cruz J.A., Cerna-Cortes J.F., Rangel-Vargas E., Salas-Rangel L.P., Gutierrez-Alcantara E.J., Castro-Rosas J., 2016, Prevalence and behavior of multidrug-resistant Shiga toxin-producing *Escherichia coli*, enteropathogenic *E. coli* and enterotoxigenic *E. coli* on coriander, *Food Microbiology*, **59**:97-103,
Available from: <https://doi.org/10.1016/j.fm.2016.05.014>
- Gruenwald J., Freder J., Armbruster N., 2010, Cinnamon and health. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, **50**:822-834,
Available from: <https://doi.org/10.1080/10408390902773052>

- Grumezescu A.M., Holban A.M., 2019, Bottle and packaged water, *The Science of Beverages*, **4**:403-422, Woodhead publishing, UK, ISBN: 978-0-12-815272-0
- Hatami T., Johner J.C.F., Meireles M.A.A., 2018, Extraction and fractionation of fennel using supercritical fluid extraction assisted by cold pressing, *Industrial Crop and Products*, **123 (1)**:661-666, Available from: <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2018.07.041>
- Heinz V., Toepfl S., Knorr D., 2003, Impact of temperature on lethality and energy efficiency of apple juice pasteurization by pulsed electric fields treatment, *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, **4 (2)**:167-175
- Chandra M., Cheng P., Rondeau G., Porwollik S., McClelland M., 2013, A single step multiplex PCR for identification of six diarrheagenic *E. coli* pathotypes and *Salmonella*, *Journal of Medical Microbiology*, **303 (4)**:210-216, Available from: <https://doi.org/10.1016/j.ijmm.2013.02.013>
- Chang S.T., Chen P.F., Chang S.C., 2001, Antibacterial activity of leaf essential oils and their constituents from *Cinnamomum osmophloeum*, *Journal of ethnopharmacology*, **77 (1)**:123-127, Available from: [https://doi.org/10.1016/S0378-8741\(01\)00273-2](https://doi.org/10.1016/S0378-8741(01)00273-2)
- Chen J.S., Ma E., Harrington L.B., Da Costa M., Tian X., Palefsky J.M., Doudna J.A., 2018, CRISPR-Cas12a target binding unleashes indiscriminate single-stranded DNase activity, *American Association for the Advancement of Science*, **360 (6387)**:436-439, Available from: <https://doi.org/10.1126/science.aar6245>
- Chen Y., Yu L.J., Rupasinghe H.V., 2013, Effect of thermal and non-thermal pasteurisation on the microbial inactivation and phenolic degradation in fruit juice: a mini-review, *Journal of the Science of Food and Agriculture*, **93 (5)**:981-986, Available from: <https://doi.org/10.1002/jsfa.5989>
- Cheng S-S., Liu J-Y., Hsui Y-R., Chang S-T., 2006, Chemical polymorphism and antifungal activity of essential oils from leaves of different provenances of indigenous cinnamon, *Bioresource Technology*, **97 (2)**:306-312, Available from: <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2005.02.030>
- Chericoni S., Prieto J.M., Iacopini P., Cioni P., Morelli I., 2005, In vitro activity of the essential oil of *cinnamomum zeylanicum* and eugenol in peroxynitrite-induced oxidative processes. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **53**:4762-4765, Available from: <https://doi.org/10.1021/jf050183e>

- Javed I., Faisal I., Zia U.R., Khan M.Z., Muhammad F., Aslam B., Ahmad M., Shahzadi A., 2012, Lipid lowering effect of cinnamomum zeylanicum in hyperlipidaemic albino rabbits, *Pak Journal of Pharmacy Science*, **25**:141-147, Available from: https://applications.emro.who.int/imemrf/Pak_J_Pharm_Sci/Pak_J_Pharm_Sci_2012_25_1_141_147.pdf
- Kalinová K., 2007, *Listy celiaků: Přírodní lékárna*, Praha, LS ZETIS, roč. **11 (1)**
- Kehl A., Noster J., Hansel M., 2020, Eat in or Také out? Metabolism of Intracellular *Salmonella enterica*, *Trends in Microbiology*, Available from: <https://doi.org/10.1016/j.tim.2020.03.005>
- Keyser M., Müller I. A., Cilliers F. P., Nel W., Gouws P. A., 2008, Ultraviolet radiation as a non-thermal treatment for the inactivation of microorganisms in fruit juice, *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, **9 (3)**:348-354, Available from: <https://doi.org/10.1016/j.ifset.2007.09.002>
- Khatoon R.R., Pirzada Z.A., 2010, Bacteriological quality of bottled water brands in Karachi, Pakistan, *Biologia*, **56 (1-2)**:137-143, ISSN: 0006-3096
- Korkmaz A., Yanik J., Brebu M., Vasile C., 2009, Pyrolysis of the tetra pak, *Waste Management*, **29**:2836-2841, Available from: <https://doi.org/10.1016/j.wasman.2009.07.008>
- Koutchma T., Keller S., Chirtel S., Parisi B., 2004, Ultraviolet disinfection of juice products in laminar and turbulent flow reactors, *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, **5 (2)**:179-189, Available from: <https://doi.org/10.1016/j.ifset.2004.01.004>
- Koutchma T., 2008, UV Light for Processing Foods, *The Journal of the International Ozone Association*, **10 (4)**:24-29, Available from: <https://doi.org/10.1080/01919510701816346>
- Koutchma T., 2019, *Ultraviolet light in food technology*, CRC Press, **2**:145-243 Available from: <https://doi.org/10.1201/9780429244414>
- Kümmerer K., 2009, Antibiotics in the aquatic environment-a review-part I., *Chemosphere*, **75 (4)**:417-434, Available from: <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2008.11.086>
- Laaksonen O., Mäkilä L., Tahvonon R., Kallio H., Yang B., 2013, Sensory quality and compositional characteristics of blackcurrant juices produced by different processes, *Food Chemistry*, **134 (4)**:2421-2429, Available from: <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2012.12.035>

- Larsen F.J., Weitzberg E., Lundberg J.O., Ekblom B., 2007, Effects of dietary nitrate on oxygen cost during exercise, *Acta Physiologica*, **191**:59-66
Available from: <https://doi.org/10.1111/j.1748-1716.2007.01713.x>
- Leite C.J.B., Sousa J.P., Medeiros J.A.C., Conceição M.L., Falcão-Silva V.S., Souza E.L., 2016, Inactivation of *Escherichia coli*, *Listeria monocytogene* and *Salmonella enteritidis* by *Cymbopogon citratus* D.C. Stapf. essential oil in pineapple juice, *Journal of Food Protection*, **79 (2)**: 213-219,
Available from: <https://doi.org/10.4315/0362-028X.JFP-15-245>
- Leyer G. J., Wang L. L., Johson E. A., 1995, Acid adaptation of *Escherichia coli* O157:H7 increases survival in acidic foods, *Applied and Environmental Microbiology*., **61 (10)**:3752–3755,
Available from: <https://aem.asm.org/content/61/10/3752/article-info>
- Ma Y., 2018, Changing Tetra Pak: from waste to resource, *Science Progress*, **102 (2)**:161-170,
Available from: <https://doi.org/10.3184/003685018X15215434299329>
- Macready A.L., Kennedy O.B., Ellis J.A., Williams C.M., Spencer J.P.E., Butler L.T., 2009, Flavonoids and cognitive function: a review of human randomized controlled trial studies and recommendations for future studies, *Genes and Nutrition*, **4**:227–242,
Available from: <https://doi.org/10.1007/s12263-009-0135-4>
- Majowicz S.E., Musto J., Scallan E., Angulo F.J., Kirk M., O'Brien S.J., Jones T.F., Fazil A., Hoekstra R.M., 2010, The Global Burden of Nontyphoidal *Salmonella* Gastroenteritis, *Clinical Infectious Diseases*, **50 (6)**:882-889,
Available from: <https://doi.org/10.1086/650733>
- Mak P.P., Ingham B.H., Ingham S.C., 2001, Validation of apple cider pasteurization treatments against *Escherichia coli* O157:H7, *Salmonella* and *Listeria monocytogenes*, *Journal of Food Protection*, **64 (11)**:1679-1689,
Available from: <https://doi.org/10.4315/0362-028X-64.11.1679>
- Makvana S., Krilov L.R., 2015, *Escherichia coli* Infections, *Pediatrics in Review*, **36 (4)**:167-171, Available from: <https://doi.org/10.1542/pir.36-4-167>
- Manikantan M. R., Varadharaju N., 2011, Preparation and properties of polypropylene-based nanocomposite films for food packaging, *Packaging Technology and Science*, **24 (4)**:191-209, Available from: <https://doi.org/10.1002/pts.925>

- Markowski J., Baron A., Mieszczakowska M., Płocharski W., 2009, Chemical composition of French and Polish cloudy apple juices. *Journal of Horticultural Science & Biotechnology*, **84 (6)**:68-74,
Available from: <https://doi.org/10.1080/14620316.2009.11512598>
- Mazzotta A. S., 2001, Thermal inactivation of stationary-phase and acid-adapted *Escherichia coli* O157: H7, *Salmonella*, and *Listeria monocytogenes* in fruit juices, *Journal of Food Protection*, **64 (3)**:315-320,
Available from: <https://doi.org/10.4315/0362-028X-64.3.315>
- McLellan M.R., Padilla-Zakour O., 2004, *Juice Processing, Science and Technology*, 73-96, Available from: <https://doi.org/10.1201/9781420040074.ch4>
- Meltzer E., Schwartz E., 2010, Enteric fever: a travel medicine oriented view, *Current Opinion Infectious*, **23 (5)**:432–437,
Available from: <https://doi.org/10.1097/QCO.0b013e32833c7ca1>
- Mikulic-Petkovsek M., Slatnar A., Stampar F., Veberic R., 2010, The influence of organic/integrated production on the content of phenolic compounds in apple leaves and fruit in four different varieties over a 2 -year period, *Journal of Science of Food and Agriculture*, **90 (14)**:2366–2378, Available from: <https://doi.org/10.1002/jsfa.4093>
- Moreira A.C.P., Lima E.O., Souza E.L., Dingenen M.A.V., Trajano V.N., 2007, Inhibitory effect of *Cinnamomum zeylanicum* Blume (Lauraceae) essential oil and beta-pinene on the growth of dematiaceous moulds, *Brazilian Journal of Microbiology*, **38**:33-38,
Available from: <https://doi.org/10.1590/S1517-83822007000100008>
- Moustafa H., Youssef A. M., Darwish N. A., Abou-Kandil A. I., 2019, Eco-friendly polymer composites for green packaging: Future vision and challenges, *Composites Part B: Engineering.*, **172 (1)**:16-25, Available from: [10.1016/j.compositesb.2019.05.048](https://doi.org/10.1016/j.compositesb.2019.05.048)
- Murray M. T., Pizzorno J., Pizzorno L., 2005, *The Encyclopedia of Healing Foods*, Atria books, New York, ISBN: 13: 978-0-7434-7402-3
- Naik M.I., Fomda B.A., Jaykumar E., Bhat J.A., 2010, Antibacterial activity of lemongrass (*Cymbopogon citratus*) oil against some selected pathogenic bacterias, *Asian Pacific journal of tropical medicine*, **3 (7)**:535-538,
Available from: [https://doi.org/10.1016/S1995-7645\(10\)60129-0](https://doi.org/10.1016/S1995-7645(10)60129-0)
- Nanon A., Suksombat W., Yang W.Z., 2014, Effects of essential oils supplementation on in vitro and in situ feed digestion in beef cattle, *Animal Feed Science and Technology*, **196**:50-59, Available from: <https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2014.07.006>

- Noci F., Riener J., Walkling-Ribeiro M., Cronin D. A., Morgan D. J., Lyng J. G., 2008, Ultraviolet irradiation and pulsed electric fields (PEF) in a hurdle strategy for the preservation of fresh apple juice, *Journal of Food Engineering*, **85 (1)**:141-146, Available from: <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2007.07.011>
- Ochiai R. L., Wang X., von Seidlein L., Yang J., Bhutta Z. A., Bhattacharya S. K., Agtini M., Deen J. L., Wain J., Kim D. R., Ali M., Acosta C. J., Jodar L., Clemens J. D., 2005, Salmonella Paratyphi a rates, Asia, *Emerging infectious diseases*, **11**:1764–1766, Available from: <https://doi.org/10.3201/eid1111.050168>
- Oms-Oliu G., Martín-Belloso O., Soliva-Fortuny R., 2010, Pulsed Light Treatments for Food Preservation, *Food and Bioprocess Technology*, **3**:13-23, Available from: <https://doi.org/10.1007/s11947-008-0147-x>
- Oussalah M., Caillet S., Saucier L., Lacroix M., 2007, Inhibitory effects of selected plant essential oils on the growth of four pathogenic bacteria: E. coli O157:H7, Salmonella Typhimurium, Staphylococcus aureus and Listeria monocytogenes, *Food Control*, **18 (5)**:414-420, Available from: <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2005.11.009>
- Paranagama P.A., Wimalasena S., Jayatilake G.S., Jayawardena A.L., Senanayake U.M., Mubarak A.M., 2001, A comparison of essential oil constituents of bark, leaf root and fruit of cinnamon (cinnamomum zeylanicum Blum), *Journal of the National Science Foundation of Sri Lanka*, **29 (3-4)**:147-153, Available from: <https://doi.org/10.4038/jnsfsr.v29i3-4.2613>
- Paris M.E., 2009, Food Safety Issues and the Microbiology of Fruit Beverages and Bottled Water, *Microbiologically Safe Foods*, **13**:291-304, Available from: <https://doi.org/10.1002/9780470439074.ch13>
- Pinchen H., Powell N., Weiner D., Finglas P., 2019, The Composition of Foods, London, Public Health England, Available from: https://assets.publishing.service.gov.uk/government/uploads/system/uploads/attachment_data/file/788485/McCance_Widdowson_Comp_Foods_Integrated_Dataset_User_Guide_2019__1_.pdf
- Poirel L., Madec J.Y., Lupo A., Schink A.K., Kieffer N., Nordmann P., Schwarz S., 2018, Antimicrobial Resistance in Escherichia coli, *Microbiology Spectrum*, **6 (4)**: 1-27, Available from: <https://www.nara-antibiotic-resistance.ch/wp-content/uploads/47.Antimicrobial-Resistance-in-Escherichia-coli.pdf>

- Pourmortazavi S.M., Hajimirsadeghi S.S., 2007, Supercritical fluid extraction in plant essential and volatile oil analysis, *Journal of Chromatography*, **1163**:2-24, Available from: <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2007.06.021>
- Pourmortazavi S.M., Saghafi Z., Ehsani A., Yousefi M., 2018, Application of supercritical fluids in cholesterol extraction from foodstuffs: a review, *Journal of Food Science and Technology*, **55 (8)**:2813-2823, Available from: <https://doi.org/10.1007/s13197-018-3205-z>
- Quintero-Ramos A., Churey J. J., Hartman P., Barnard J., Worobo R. W., 2004, Modeling of *Escherichia coli* Inactivation by UV Irradiation at Different pH Values in Apple Cider, *Journal of Food Protection*, **67 (6)**:1153-1156, Available from: <https://doi.org/10.4315/0362-028X-67.6.1153>
- Ramaswamy H.S., Riahi E., Idziak E., 2003, High-pressure destruction kinetics of *E. coli* (29055) in apple juice, *Journal of Food Science*, **68 (5)**:1750-1756, Available from: <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.2003.tb12323.x>
- Ramaswamy H.S., Chen C., Marcotte M., 2005, Novel processing technologies for food preservation, *Science and technology*, CRC Press, 211-214
- Ranasinghe P., Pigerá S., Premakumara G.A.S., Galappaththy P., Constantine G.R., Katulanda P., 2013, Medicinal properties of „true“ cinnamon, *BMC Complementary and Alternative Medicine*, **13**:275-284, Available from: <https://doi.org/10.1186/1472-6882-13-275>
- Rao V.P.S., Pandey D., 2006, Extraction of essential oils and its applications, National Institute of Technology Rourkela, India Available from: http://ethesis.nitrkl.ac.in/4292/1/Extraction_of_Essential.pdf
- Ros-Chumilla M., Belissario Y., Iguaz A., Lopez A., 2007, Quality and shelf life of orange juice aseptically packaged in PET bottles, *Journal of Food Engineering*, **79 (1)**:234-242, Available from: <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2006.01.048>
- Russo T.A., Johnson J.R., 2000, Proposal for a New Inclusive Designation for Extraintestinal Pathogenic Isolates of *Escherichia coli*: ExPEC, *Journal of Infectious Diseases*, **181 (5)**:1753-1754, Available from: <https://doi.org/10.1086/315418>
- Salvia-Trujillo L., Rojas-Graü A., Soliva-Fortuny R., Martín-Belloso O., 2015, Physicochemical characterization and antimicrobial activity of food-grade emulsions and nanoemulsions incorporating essential oils, *Food Hydrocolloid*, **43**:547-556, Available from: <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2014.07.012>

- San Martín M.F., Barbosa-Cánovas G.V., Swanson B.G., 2002, Food processing by high hydrostatic pressure, *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, **42 (6)**:627-645, Available from: <https://doi.org/10.1080/20024091054274>
- Shah G., Shri R., Panchal V., Sharma N., Singh B., Mann A. S., 2011, Scientific basis for the therapeutic use of *Cymbopogon citratus*, *J. Adv. Pharm. Technol. Res.*, **2**:3-8, Available from: <https://doi.org/10.4103/2231-4040.79796>
- Shahbaz HM, Kim JU, Kim S-H, Park J. 2018. The Inactivation of Pathogens in Fruit Juice, *Fruit Juices, Extraction, Composition, Quality and Analysis*, **1**:341-361, Available from: <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-802230-6.00018-7>
- Shao Y., Zhu S., Jin C., Chen F., 2011, Development of multiplex loop-mediated isothermal amplification-RFLP to detect *Salmonella* spp. and *Shigella* spp. in milk, *Journal of Food Microbiology*, **148 (2)**:75-79, Available from: <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2011.05.004>
- Shen Q., Chen F., Luo J., 2002, Comparison studies on chemical constituents of essential oil from ramulus cinnamomi and cortex cinnamomi by GC-MS, *Journal of Chinese Medicinal Materials*, **25**:257-258, Available from: <https://europepmc.org/article/med/12583177#impact>
- Scharff R. L., 2010, Health-related costs from foodborne illness in the United States, Produce safety project, Available from: <http://citeseerx.ist.psu.edu/viewdoc/summary?doi=10.1.1.172.4518>
- Stanzel J., 2011, *Zahradkárka: Jablň a jablka*, Praha, Zahradkár, **43 (10)**
- Stuart G.R., Lopes D., Oliveira J.V., 2001, Deterpenation of Brazilian orange peel oil by vacuum distillation, *Your Global Fats and Oils Connection*, **78**:1041-1044, Available from: <https://doi.org/10.1007/s11746-001-0385-x>
- Sung H-J., Song W-J., Kim K-P., Ryu S., Kang D-H., 2014, Combination effect of ozone and heat treatments for the inactivation of *Escherichia coli* O157:H7, *Salmonella Typhimurium*, and *Listeria monocytogenes* in apple juice, *International Journal of Food Microbiology*, **171**:147-153, Available from: <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2013.11.001>
- Sung S. Y., Sin L. T., Tee T. T., Bee S. T., Rahman A. R., Rahman W.A. W. A., Tan A. Ch., Vikhraman M., 2013, Antimicrobial agents for food packaging applications, *Trends in Food Science & Technology*, **33 (2)**:110-123, Available from: <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2013.08.001>

- Tajidin N.E., 2012, Chemical composition and citral content in lemongrass essential oil at three maturity stages, *Afr. J. Biotechnol.*, **11 (11)**:2685-2693,
Available from: <https://doi.org/10.5897/AJB11.2939>
- Toepfl S., Mathys A., Heinz V., & Knorr D., 2006, Review: Potential of high hydrostatic pressure and pulsed electric fields for energy efficient and environmentally friendly food processing. *Food Reviews International*, **22**:405–42
- Uquiche E., Cirano N., Millao S., 2015, Supercritical fluid extraction of essential oil from *Leptocarpha rivularis* using CO₂, *Industrial Crops and Products*, **77**:307-314,
Available from: <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2015.09.001>
- Ullah H., Wilfred C.D., Shaharun M.S., 2017, Comparative assessment of various extraction approaches for the isolation of essential oil from *Polygonum minus* using ionic liquids, *Journal of King Saud University - Science*, **31 (2)**:230-239,
Available from: <https://doi.org/10.1016/j.jksus.2017.05.014>
- Valíček P., 2006, *Technické a siličnaté rostliny*, Mendlova Univerzita v Brně, ISBN: 9788071579366
- Vasantha R., Yu L.J., 2012, Emerging Preservation Methods for Fruit Juice and Beverages, *Food Additive*, **4**:65-82, Available from: <https://doi.org/10.5772/32148>
- Verma R.K., Verma R.S., Chauhan A., Bisht A., 2015, Evaluation of essential oil yield and chemical composition of eight lemongrass cultivars under Himalayan region, *Journal of Essential oil Research*, **27**:197-203,
Available from: <https://doi.org/10.1080/10412905.2015.1014936>
- Vikram V.B., Ramesh M.N., Prapulla S.G., 2005, Thermal degradation kinetics of nutrients in orange juice heated by electromagnetic and conventional methods, *Journal of Food Engineering*, **64 (1)**:31-40,
Available from: <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2004.07.013>
- Vyhláška č. 248/2018., Vyhláška o požadavcích na nápoje, kvasný ocet a droždí
- Walker N.W., 2010, *Fresh vegetable and fruit juices*, Norwalk press,
ISBN: 9781570679605
- Weerawatanakorn M., Wu J-Ch., Pan M-H., Ho Ch-T., 2015, Reactivity and stability of selected flavor compounds, *Journal of Food and Drug Analysis*, **23 (2)**:176-190,
Available from: <https://doi.org/10.1016/j.jfda.2015.02.001>

- Will F., Roth M., Olk M., Ludwig M., Dietrich H., 2008, Processing and analytical characterisation of pulp-enriched cloudy apple juice, *LWT-Food Science and Technology*, **41 (10)**:2057-2063,
Available from: <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2008.01.004>
- Wu Y.-t., Zhang Y.-h., Zhang M., Lui F, Wan Y.-c., Huang Z., Ye L., Zhou Q., Shi Y., Lu B., 2014, Selective and simultaneous determination of trace bisphenol A and tebuconazole in vegetable and juice samples by membrane-based molecularly imprinted solid-phase extraction and HPLC, *Food Chemistry*, **164**:527-535,
Available from: <https://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2014.05.071>.
- Yam K.L., 2010, *The Wiley Encyclopedia of Packaging Technology*, A John Wiley & Sons, **3**:70-78, ISBN: 9780470541388
- Youssef A M., Assem F. M., Abdel-Aziz M. E., Elaaser M., Ibrahim O. A., Mahmoud M., El-Salam M. H. A., 2019, Development of bionanocomposite materials and its use in coating of Ras cheese, *Food Chemistry*, **270 (1)**:467-475,
Available from: [10.1016/j.foodchem.2018.07.114](https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2018.07.114)
- Yuste J., Fung D.Y.C., 2004, Inactivation of Salmonella Typhimurium and Escherichia coli O157:H7 in apple juice by a combination of nisin and cinnamon, *Journal of Food Protection*, **67 (2)**:371-377,
Available from: <https://doi.org/10.4315/0362-028X-67.2.371>
- Zerdin K., Rooney M.L., Vermuë J., 2003, The vitamin C content of orange juice packed in an oxygen scavenger material, *Food Chemistry*, **82 (3)**:387-395,
Available from: [https://doi.org/10.1016/S0308-8146\(02\)00559-9](https://doi.org/10.1016/S0308-8146(02)00559-9)
- Zupan A., Cunja V, Stampar F, Veberic R, Mikulic-Petkovsek M., 2013, Comparison of phenolic composition of healthy apple tissues and tissues affected by bitter pit, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **61 (49)**:12066-12071,
Available from: <https://doi.org/10.1021/jf404087f>
- Zygoura P., Moyssiadi T., Badeka A., Kondyli E., Savvaidis I., Kontominas M.G., 2004, Shelf life of whole pasteurized milk in Greece: effect of packaging material, *Food Chemistry*, **87**:1-9, Available from: <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2003.10.009>

9 Seznam použitých obrázků, grafů a tabulek

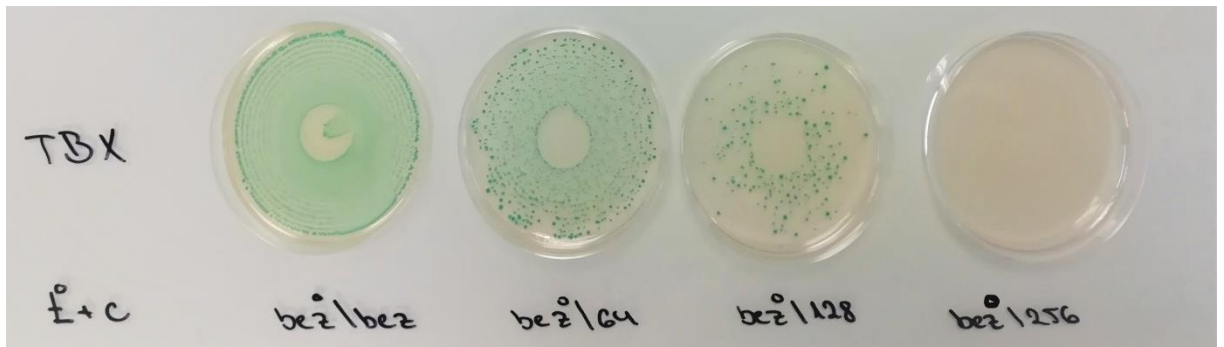
Obrázek 1. Obsah vitamínu C u vybraných odrůd jablek (Gardner et al., 2000)	11
Obrázek 2. Obsah celkových polyfenolů u vybraných druhů jablek (Gardner et al., 2000)	12
Obrázek 3. Diagram výroby šťáv (McLellan and Padilla-Zakour, 2004)	14
Obrázek 4. Označení typů Escherichia coli souvisejících s onemocněním (Cempírková et al., 1997).....	17
Obrázek 5. Typy obalových materiálů a jejich aspekty (Čížková, 2016).....	26
Obrázek 6. Struktura balení Tetra Pak (Korkmaz et al., 2009)	28
Obrázek 7. Model Bag in boxu (Yam, 2009)	29
Obrázek 8. Počítání narostlých kolonií Salmonella na XLD agaru	35
Obrázek 9. Senzorická analýza u vzorků se silicí voňatky po 16 dnech	44
Obrázek 10. Senzorická analýza u vzorků se silicí voňatky po 16 dnech, nízké koncentrace .	44
Obrázek 11. Senzorická analýza u vzorků se skořicovou silicí po 16 dnech, nízké koncentrace	44
Obrázek 12. Senzorická analýza u vzorků se skořicovou silicí po 16 dnech	44
Obrázek 13. Nárůst Escherichia coli na TBX agaru se silicí voňatky, 1. den	I
Obrázek 14. Nárůst Escherichia coli na TBX agaru se silicí voňatky, 4. den	I
Obrázek 15. Nárůst Escherichia coli na TBX agaru se silicí voňatky, 10. den	I
Obrázek 16. Nárůst Escherichia coli na TBX agaru se silicí voňatky, 10. den, nízké koncentrace	I
Obrázek 17. Nárůst Escherichia coli na TBX agaru se silicí voňatky, 16. den	II
Obrázek 18. Nárůst Escherichia coli na TBX agaru se silicí voňatky, 16. den, nízké koncentrace	II
Obrázek 19. Nárůst Escherichia coli na TBX agaru se silicí skořice, 1. den	II
Obrázek 20. Nárůst Escherichia coli na TBX agaru se silicí skořice, 1. den, nízké koncentrace	II
Obrázek 21. Nárůst Escherichia coli na TBX agaru se silicí skořice, 4. den	III

Obrázek 22. Nárůst <i>Escherichia coli</i> na TBX agaru se silicí skořice, 4. den, nízké koncentrace	III
Obrázek 23. Nárůst <i>Escherichia coli</i> na TBX agaru se silicí skořice, 10. den	III
Obrázek 24. Nárůst <i>Escherichia coli</i> na TBX agaru se silicí skořice, 10. den, nízké koncentrace	III
Obrázek 25. Nárůst <i>Escherichia coli</i> na TBX agaru se silicí skořice, 16. den	IV
Obrázek 26. Nárůst <i>Escherichia coli</i> na TBX agaru se silicí skořice, 16. den, nízké koncentrace	IV
Obrázek 27. Nárůst <i>Salmonella</i> na XLD agaru se silicí voňatky, 1. den, nízké koncentrace..	IV
Obrázek 28. Nárůst <i>Salmonella</i> na XLD agaru se silicí voňatky, 4. den.....	IV
Obrázek 29. Nárůst <i>Salmonella</i> na XLD agaru se silicí voňatky, 4. den, nízké koncentrace....	V
Obrázek 30. Nárůst <i>Salmonella</i> na XLD agaru se silicí voňatky, 10. den.....	V
Obrázek 31. Nárůst <i>Salmonella</i> na XLD agaru se silicí voňatky, 10. den, nízké koncentrace..	V
Obrázek 32. Nárůst <i>Salmonella</i> na XLD agaru se silicí voňatky, 16. den.....	V
Obrázek 33. Nárůst <i>Salmonella</i> na XLD agaru se silicí voňatky, 16. den, nízké koncentrace	VI
Obrázek 34. Nárůst <i>Salmonella</i> na XLD agaru se silicí skořice, 1. den.....	VI
Obrázek 35. Nárůst <i>Salmonella</i> na XLD agaru se silicí skořice, 1. den, nízké koncentrace ...	VI
Obrázek 36. Nárůst <i>Salmonella</i> na XLD agaru se silicí skořice, 4. den, nízké koncentrace ...	VI
Obrázek 37. Nárůst <i>Salmonella</i> na XLD agaru se silicí skořice, 10. den, nízké koncentrace	VII
Obrázek 38. Nárůst <i>Salmonella</i> na XLD agaru se silicí skořice, 16. den.....	VII
Obrázek 39. Nárůst <i>Salmonella</i> na XLD agaru se silicí skořice, 16. den, nízké koncentrace	VII
Graf 1. Pasterační křivka tepelného ošetření na 90 °C	32
Graf 2. Pasterační křivka tepelného ošetření na 60 °C	33
Tabulka 1. Přehled vzorků bez tepelného záhřevu	31
Tabulka 2. Přehled vzorků pro první tepelný ohřev	32

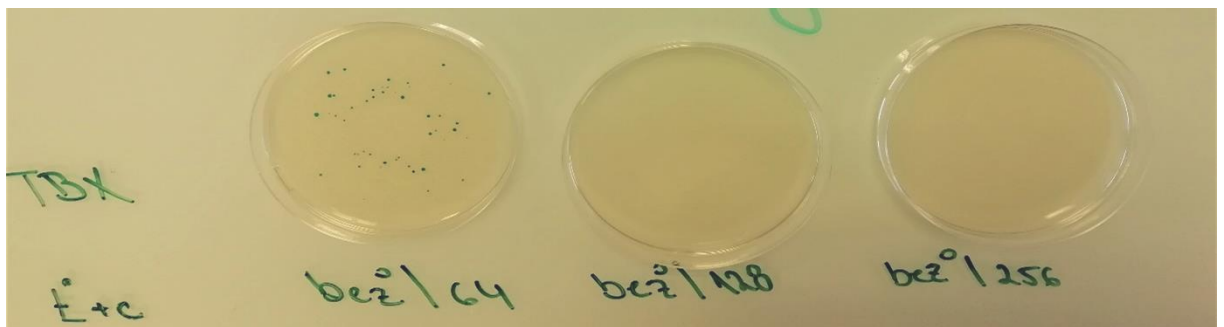
Tabulka 3. Přehled vzorků pro druhý tepelný ohřev	33
Tabulka 4. Nárůst Escherichia coli první den po inokulaci (Scheffeho test homogenních skupin ($\alpha=0,05$)). Kultivační médium TBX agar	36
Tabulka 5. Nárůst Escherichia coli 4. den po inokulaci (Scheffeho test homogenních skupin ($\alpha=0,05$)). Kultivační médium TBX agar	37
Tabulka 6. Nárůst Escherichia coli 10. den po inokulaci (Scheffeho test homogenních skupin ($\alpha=0,05$)). Kultivační médium TBX agar	38
Tabulka 7. Escherichia coli 16. den po inokulaci (Scheffeho test homogenních skupin ($\alpha=0,05$)). Kultivační médium TBX agar	39
Tabulka 8. Nárůst Salmonella první den po inokulaci (Scheffeho test homogenních skupin ($\alpha=0,05$)). Kultivační médium XLD agar	40
Tabulka 9. Nárůst Salmonella 4. den po inokulaci (Scheffeho test homogenních skupin ($\alpha=0,05$)). Kultivační médium XLD agar	41
Tabulka 10. Nárůst Salmonella 10. den po inokulaci (Scheffeho test homogenních skupin ($\alpha=0,05$)). Kultivační médium XLD agar	42
Tabulka 11. Nárůst Salmonella 16. den po inokulaci (Scheffeho test homogenních skupin ($\alpha=0,05$)). Kultivační médium XLD agar	43

10 Samostatné přílohy

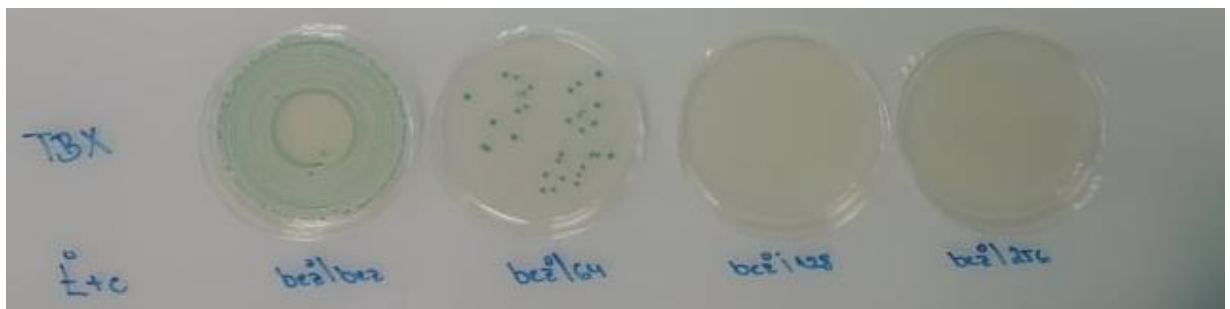
10.1 Nárůst *Escherichia coli* na TBX agaru po dnech se silicí voňatky



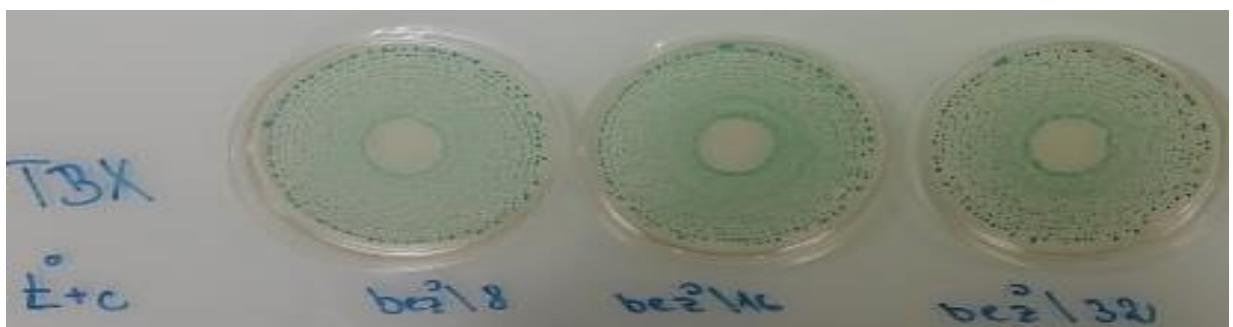
Obrázek 13. Nárůst *Escherichia coli* na TBX agaru se silicí voňatky, 1. den



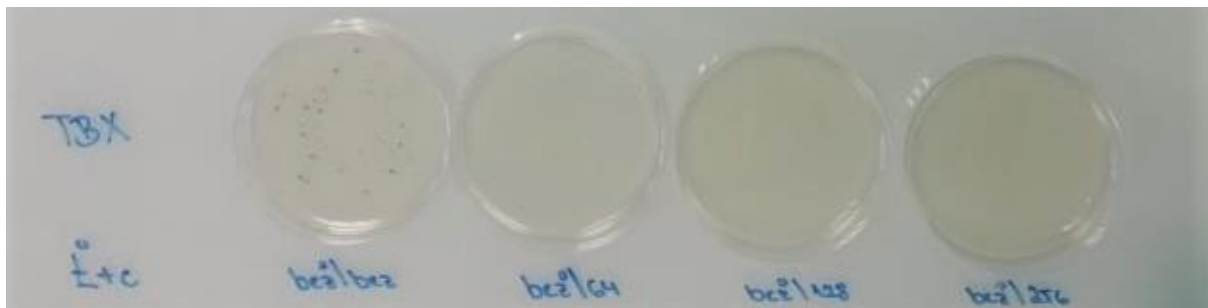
Obrázek 14. Nárůst *Escherichia coli* na TBX agaru se silicí voňatky, 4. den



Obrázek 15. Nárůst *Escherichia coli* na TBX agaru se silicí voňatky, 10. den



Obrázek 16. Nárůst *Escherichia coli* na TBX agaru se silicí voňatky, 10. den, nízké koncentrace

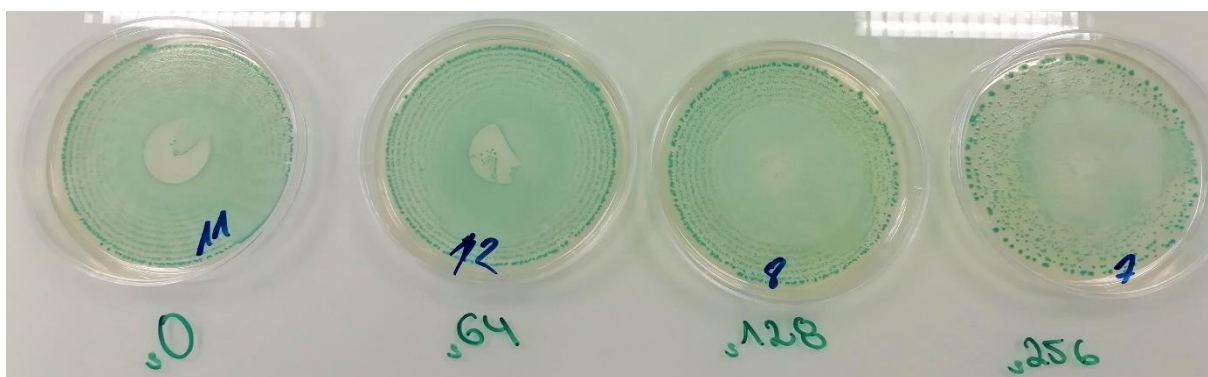


Obrázek 17. Nárůst *Escherichia coli* na TBX agaru se silicí voňatky, 16. den

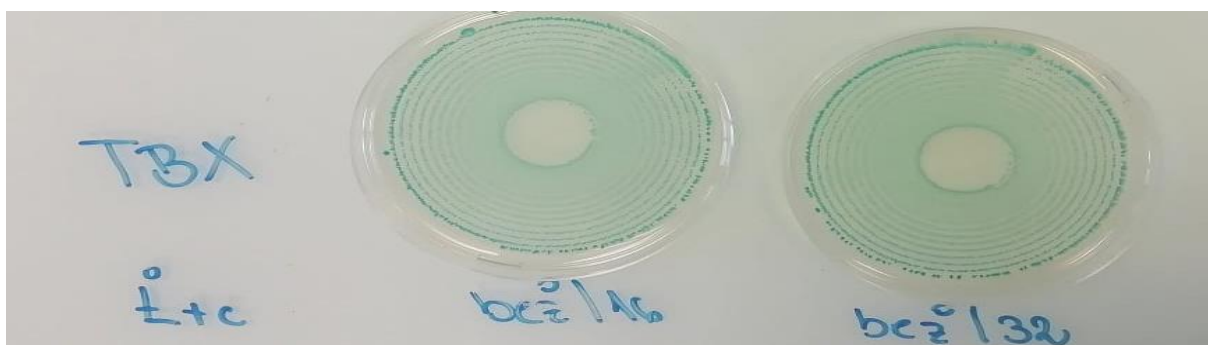


Obrázek 18. Nárůst *Escherichia coli* na TBX agaru se silicí voňatky, 16. den, nízké koncentrace

10.2 Nárůst *Escherichia coli* na TBX agaru po dnech se silicí skořice



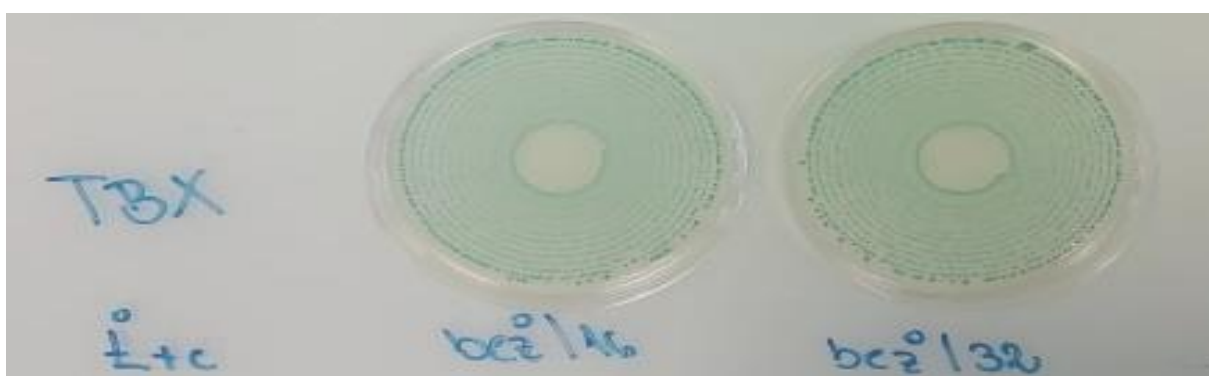
Obrázek 19. Nárůst *Escherichia coli* na TBX agaru se silicí skořice, 1. den



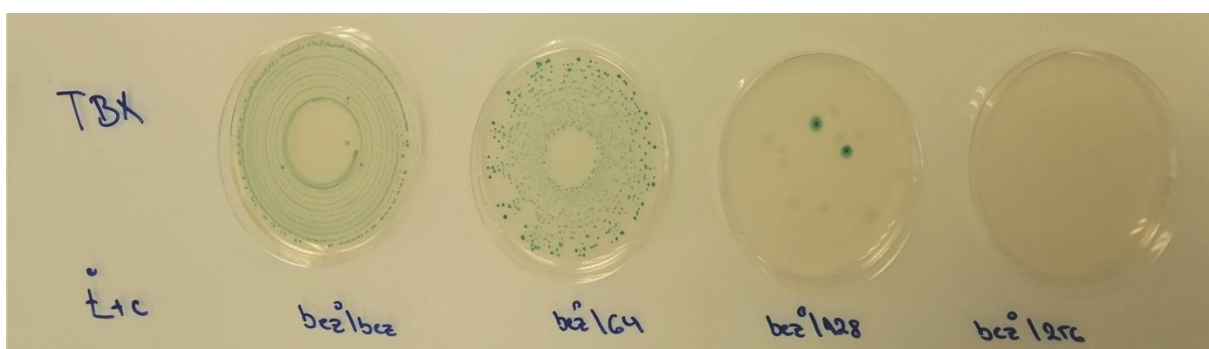
Obrázek 20. Nárůst *Escherichia coli* na TBX agaru se silicí skořice, 1. den, nízké koncentrace



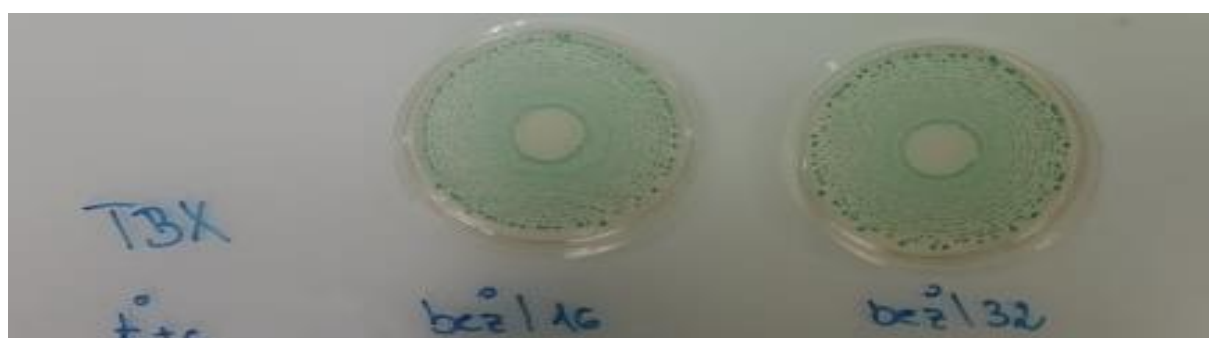
Obrázek 21. Nárůst *Escherichia coli* na TBX agaru se silicí skořice, 4. den



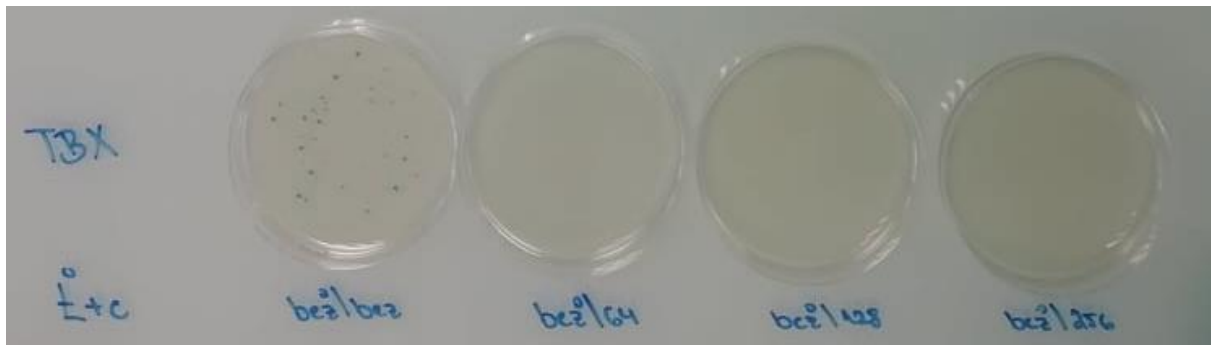
Obrázek 22. Nárůst *Escherichia coli* na TBX agaru se silicí skořice, 4. den, nízké koncentrace



Obrázek 23. Nárůst *Escherichia coli* na TBX agaru se silicí skořice, 10. den



Obrázek 24. Nárůst *Escherichia coli* na TBX agaru se silicí skořice, 10. den, nízké koncentrace

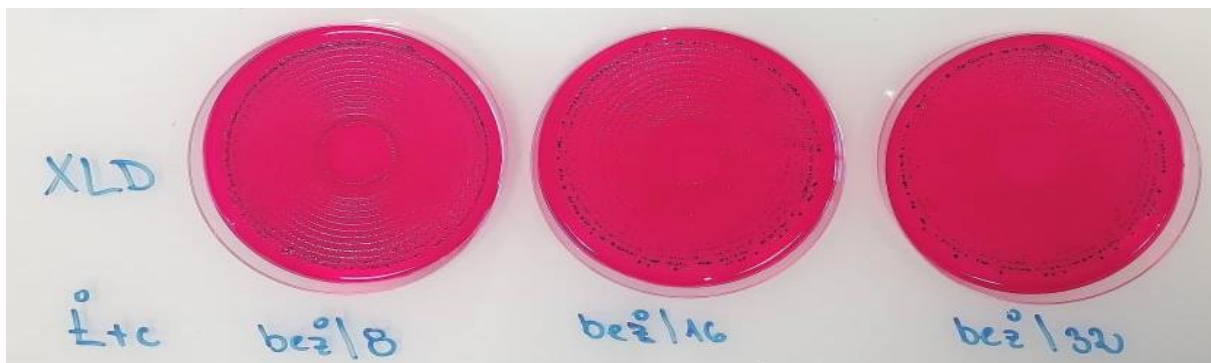


Obrázek 25. Nárůst *Escherichia coli* na TBX agaru se silicí skořice, 16. den

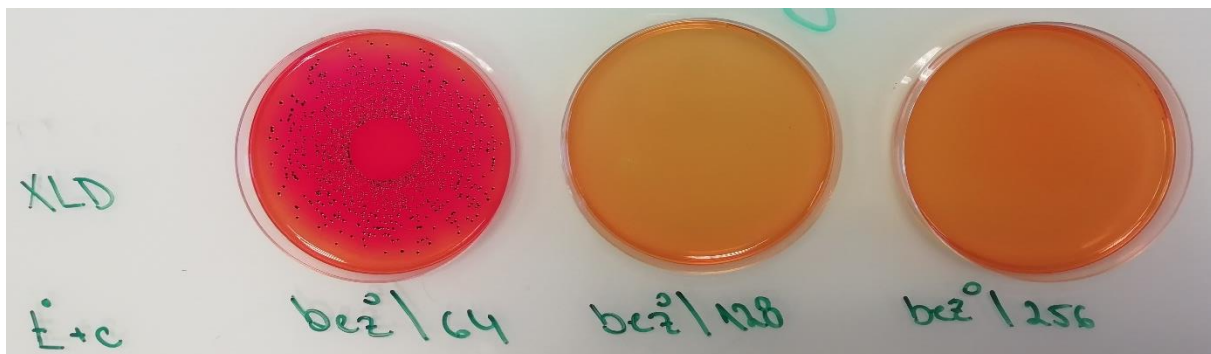


Obrázek 26. Nárůst *Escherichia coli* na TBX agaru se silicí skořice, 16. den, nízké koncentrace

10.3 Nárůst *Salmonella* na XLD agaru po dnech se silicí voňatky



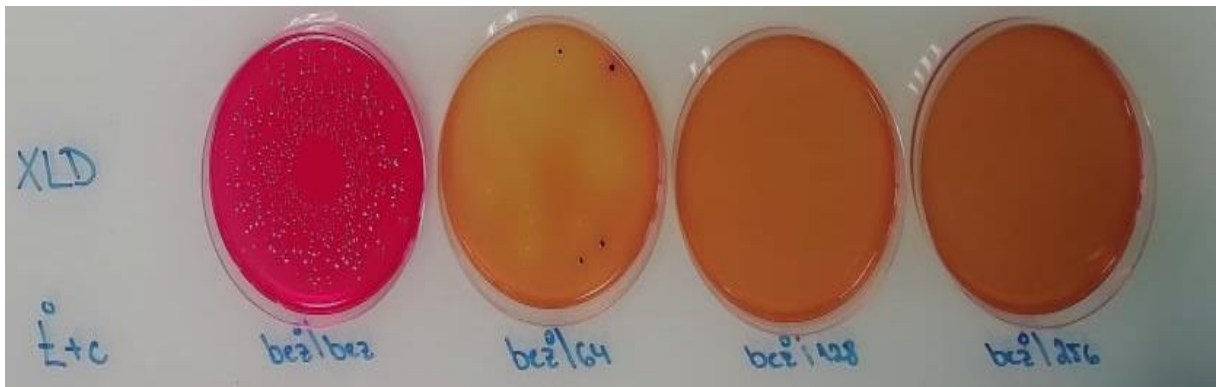
Obrázek 27. Nárůst *Salmonella* na XLD agaru se silicí voňatky, 1. den, nízké koncentrace



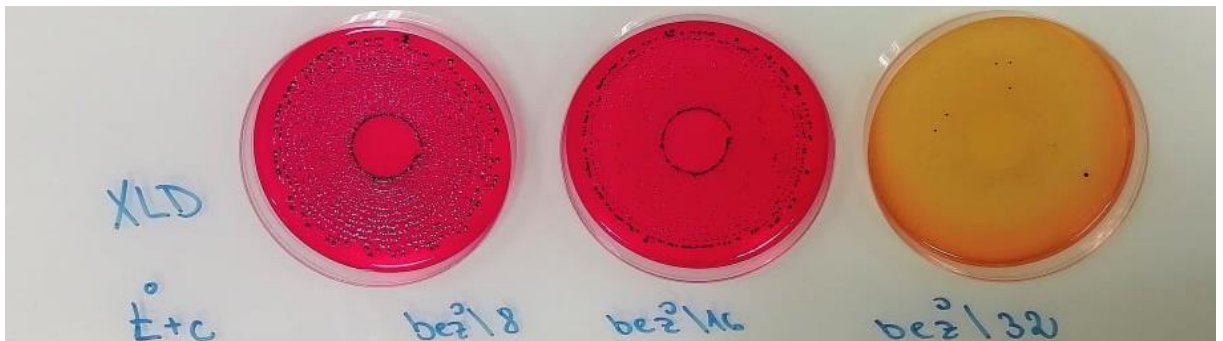
Obrázek 28. Nárůst *Salmonella* na XLD agaru se silicí voňatky, 4. den



Obrázek 29. Nárůst *Salmonella* na XLD agaru se silicí voňatky, 4. den, nízké koncentrace



Obrázek 30. Nárůst *Salmonella* na XLD agaru se silicí voňatky, 10. den



Obrázek 31. Nárůst *Salmonella* na XLD agaru se silicí voňatky, 10. den, nízké koncentrace

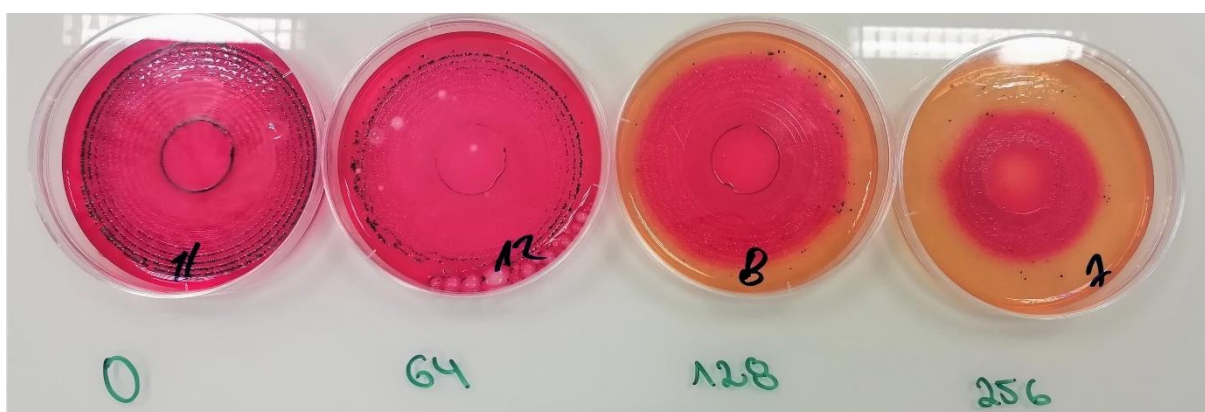


Obrázek 32. Nárůst *Salmonella* na XLD agaru se silicí voňatky, 16. den

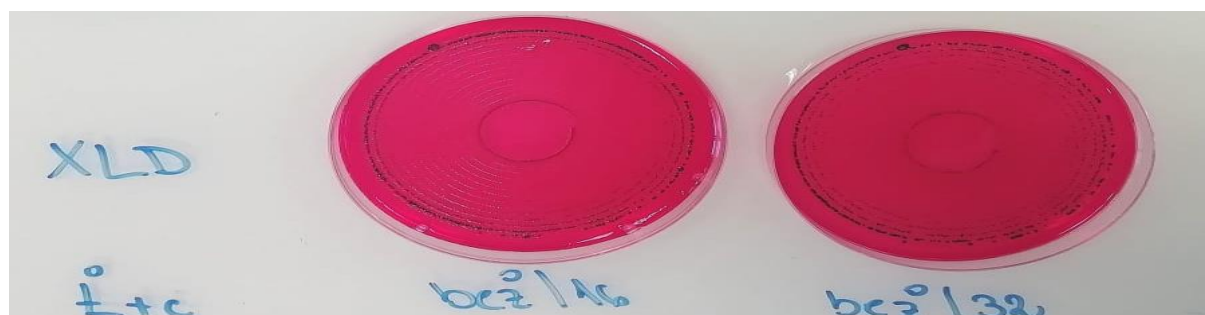


Obrázek 33. Nárůst *Salmonella* na XLD agaru se silicí voňatky, 16. den, nízké koncentrace

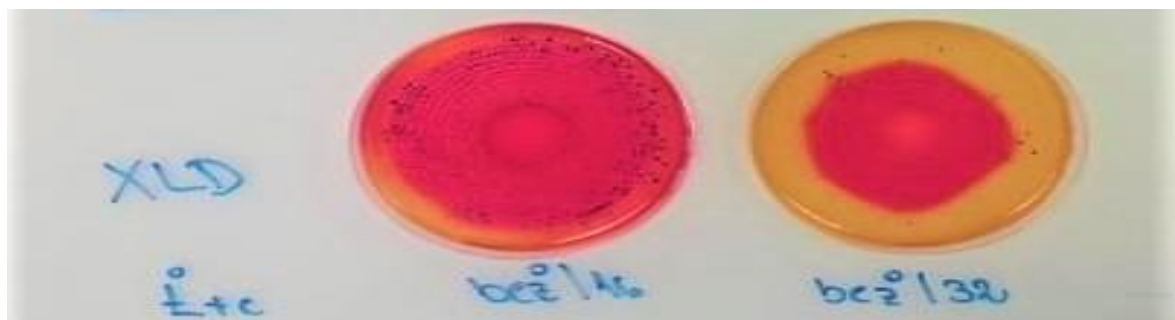
10.4 Nárůst *Salmonelly* na XLD agaru po dnech se silicí skořice



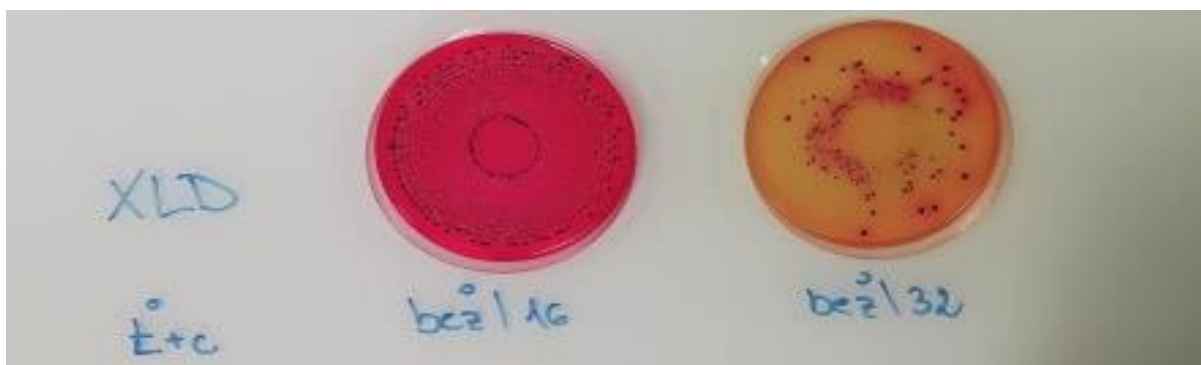
Obrázek 34. Nárůst *Salmonella* na XLD agaru se silicí skořice, 1. den



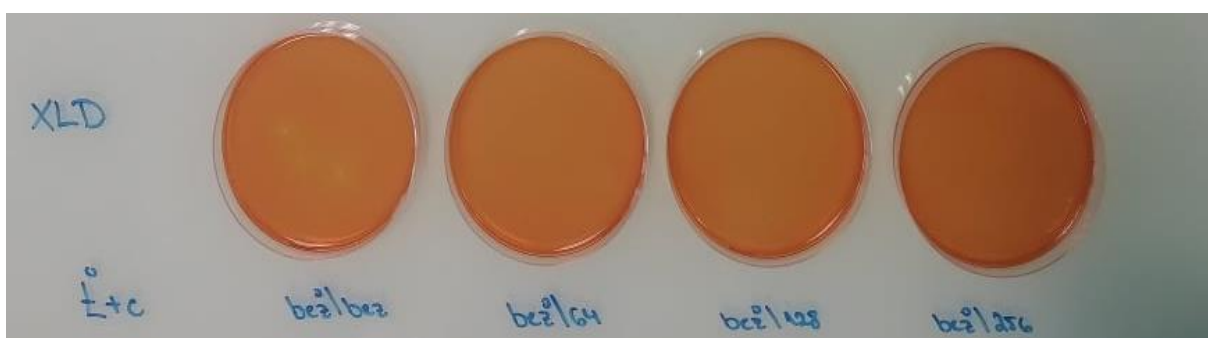
Obrázek 35. Nárůst *Salmonella* na XLD agaru se silicí skořice, 1. den, nízké koncentrace



Obrázek 36. Nárůst *Salmonella* na XLD agaru se silicí skořice, 4. den, nízké koncentrace



Obrázek 37. Nárůst *Salmonella* na XLD agaru se silicí skořice, 10. den, nízké koncentrace



Obrázek 38. Nárůst *Salmonella* na XLD agaru se silicí skořice, 16. den



Obrázek 39. Nárůst *Salmonella* na XLD agaru se silicí skořice, 16. den, nízké koncentrace