

Česká zemědělská univerzita v Praze

Fakulta agrobiologie, potravinových a přírodních zdrojů

Katedra mikrobiologie, výživy a dietetiky



**Fakulta agrobiologie,
potravinových a přírodních zdrojů**

**Ošetření ovoce a zeleniny pomocí nízkotlaké plazmy
vedoucí k prodloužení jejich trvanlivosti**

Diplomová práce

Bc. Kamila Matajová

Výživa a potraviny

Vedoucí práce: prof. Ing. Lenka Kouřimská, Ph.D.

Konzultant: Ing. Aleš Landfeld

© 2022 ČZU v Praze

Čestné prohlášení

Prohlašuji, že svou diplomovou práci "Ošetření ovoce a zeleniny pomocí nízkotlaké plazmy vedoucí k prodloužení jejich trvanlivosti" jsem vypracovala samostatně pod vedením vedoucí 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 11.4.2022

Poděkování

Ráda bych touto cestou poděkovala vedoucí mé práce prof. Ing. Lence Kouřimské, Ph.D. za cenné rady a doporučení, zejména k teoretické části práce. Velké díky patří také mému konzultantovi Ing. Aleši Landfeldovi za trpělivost a výpomoc s experimentální částí práce. Zároveň bych ráda poděkovala Ing. Pavle Novotné, Janě Antošové a celé skupině pracovníků Výzkumného ústavu potravinářského Praha, v.v.i. pod vedením Ing. Milana Houšky, CSc. za poskytnutí prostorů pro realizaci experimentální části. Děkuji též Mgr. Zdeňku Hubičkovi, Ph.D. z Fyzikálního ústavu Akademie věd ČR za možnost využít zařízení nízkotlaké plazmy pro účely této práce. Závěrem bych chtěla poděkovat také své rodině a přátelům za podporu během celého vysokoškolského studia.

Ošetření ovoce a zeleniny pomocí nízkotlaké plazmy vedoucí k prodloužení jejich trvanlivosti

Souhrn

Tato práce se zabývá prodloužením trvanlivosti minimálně zpracovaného ovoce a zeleniny pomocí nízkotlaké plazmy¹ jakožto novější technologie v potravinářství, která představuje alternativu ke konvenčním technologiím využívajícím k tomuto účelu vysoké teploty. Součástí práce je také porovnání technologie nízkotlaké plazmy a ošetření pomocí vakua, jakožto jedné z používaných konvenčních technologií.

Teoretická část práce je zaměřena na mikrobiologická rizika konzumace čerstvého ovoce a zeleniny, dále na skladovací podmínky a jiné faktory, které mohou ovlivnit trvanlivost během skladování. Podstatná část práce je pak věnována popisu účinků plazmy, jejímu využití v potravinářském průmyslu a v neposlední řadě i vlivu ošetření pomocí plazmy na jednotlivé vlastnosti potravin včetně mikrobiální stability.

Náplní první fáze experimentální části práce bylo ošetření vzorků jablek, mrkve a červené řepy pomocí vakua a následné skladování v chladírenských podmínkách po dobu 5 týdnů. Každý týden bylo provedeno měření barvy, textury a pH vzorků. Zároveň probíhala mikrobiologická a senzorická analýza, která byla po 3 týdnech ukončena z důvodu nárůstu mikrobů ve vzorcích.

V důsledku zpoždění dodání aparatury nízkotlaké plazmy nebylo bohužel možné provést stejně dlouhý experiment i pro skladování vzorků ošetřených pomocí plazmy, jak bylo původně plánováno. V druhé části experimentu bylo tedy realizováno jen krátké skladování vzorků mrkve po dobu 3 dnů a následně měření barvy, textury, pH a mikrobiologický rozbor.

Z výsledků vyplynulo, že během skladování vakuovaných vzorků po dobu 5 týdnů došlo ke statisticky významným změnám, co se týče barvy i pH vzorků. U vzorků jablek byla signifikantní změna pozorována též v textuře. Mikrobiologickým rozbohem byl zjištěn nárůst zejména celkového počtu mikroorganismů, u vzorků jablek pak i kvasinek.

Ošetřením vzorků mrkve pomocí nízkotlaké plazmy nedošlo ke statisticky významné změně v barvě, textuře ani pH během třídenního skladování. Současně nebylo ovšem sníženo ani množství mikroorganismů ve vzorcích, což mohlo být způsobeno nedostatečným časem ošetření a zároveň nerovnoměrnou strukturou mrkve, která umožňuje mikroorganismům ochranu před působením plazmatu. Také mohly výsledky ovlivnit parametry ošetření jako typ plazmy, výkon, napětí či použitý plyn.

K potvrzení antimikrobiálních účinků plazmatu je potřeba rozsáhlejší experiment, který by se zabýval optimalizací parametrů ošetření vhodných pro konkrétní potraviny a následným dlouhodobým skladováním ošetřených vzorků.

Klíčová slova: studená plazma, vakuum, ovoce, zelenina, mikrobiální stabilita

¹ V této práci je užíván termín „plazma“ ve středním rodě pro označení ionizovaného plynu, v ženském rodě je pak označen přístroj generující tento plyn.

Treatment of fruit and vegetables with low-pressure plasma to prolong shelf life

Summary

This diploma thesis is focused on extending the shelf life of minimally processed fruits and vegetables through treatment with low-pressure cold plasma as a newer technology in the food industry, which is an alternative to conventional technologies using high temperatures. Part of the thesis is also a comparison of low-pressure plasma technology with vacuum treatment, as one of the widely used conventional technologies.

The theoretical part of the thesis is focused on microbiological risks in the consumption of fresh produce, as well as on storage conditions and other factors that may affect shelf-life during storage. A significant part of the thesis is then dedicated to the use of plasma in the food industry and the description of the effects of plasma treatment on individual food properties, including microbial stability.

The first part of the experiment consisted in vacuum treatment of apple, carrot and beetroot samples and subsequent storage in refrigerated conditions for 5 weeks. Colour, texture and pH of the samples were measured every week. At the same time, microbiological and sensory analysis were performed. These analyzes were finished after 3 weeks due to high microbial growth in all of the samples.

Unfortunately, due to delay in delivery of the low-pressure plasma device, it was not possible to perform equally long experiment also for plasma-treated samples as originally planned. In the second part of the experiment, only a short storage of treated carrot samples for 3 days and subsequent measurement of color, texture, pH and microbiological analysis took place.

The results showed that there were statistically significant changes in the color and pH of the samples during storage of the vacuumed samples for 5 weeks. A significant change was also observed in texture of apple samples.

Microbiological analysis showed an increase in the total count of microorganisms in all of the samples and also an increase in the count of yeast in the apple samples. The results of sensory analysis showed a significant decrease in the evaluation of almost all sensory descriptors in apple, carrot and beetroot samples during storage.

Treatment of carrot samples with low-pressure plasma did not result in a statistically significant change in color, texture or pH during three days of storage. At the same time, however, the total count of microorganisms was not reduced, which could be due to short treatment time and also due to porous surface of the carrot, which allows the microorganisms to be protected from plasma light. Results could be also affected by device parameters such as type of plasma device, power, voltage or used gas.

To confirm the antimicrobial effects of plasma, it is needed to carry out larger experiment which would focus on optimization of treatment parameters suitable for a particular type of food and the subsequent long-term storage of treated samples.

Keywords: cold plasma, vacuum, fruit, vegetables, microbial stability

Obsah

1 Úvod	8
2 Vědecká hypotéza a cíle práce	9
2.1 Cíl práce	9
2.2 Hypotéza	9
3 Literární rešerše	10
3.1 Ovoce a zelenina ve výživě a potravinářství	10
3.1.1 Mikrobiologická rizika čerstvého ovoce a zeleniny	10
3.1.2 Faktory ovlivňující trvanlivost ovoce a zeleniny během skladování.....	11
3.1.3 Metody balení a skladování ovoce a zeleniny vedoucí k prodloužení jejich trvanlivosti	12
3.2 Konzervace potravin působením tepla.....	15
3.2.1 Pasterace	15
3.2.2 Sterilizace	15
3.3 Plazma.....	15
3.3.1 Historie	16
3.3.2 Plazma.....	16
3.3.3 Rozdělení plazmatu dle teploty	17
3.3.4 Generace plazmatu.....	17
3.3.5 Využití technologie studené plazmy v potravinářství	21
3.3.6 Mechanismus účinku plazmy na inaktivaci mikroorganismů	22
3.3.7 Vliv plazmy na ostatní vlastnosti potravin	26
3.4 Další nízkoteplotní technologie ošetřování potravin.....	31
3.4.1 Pulzní elektrické pole	31
3.4.2 Ošetření vysokým tlakem	32
3.4.3 Vysokointenzivní ultrazvuk.....	33
4 Metodika	34
4.1 Materiál.....	34
4.2 Ošetření vzorků	34
4.2.1 Vakuum.....	34
4.2.2 Nízkotlaká plazma	36
4.3 Analýzy.....	37
4.3.1 Měření pH, textury a barvy.....	37
4.3.2 Mikrobiologická analýza	39
4.3.3 Senzorická analýza	39
4.3.4 Statistické vyhodnocení	39
5 Výsledky.....	40
5.1 Ošetření pomocí vakua	40
5.1.1 Barva.....	40

5.1.2	Textura.....	44
5.1.3	pH.....	46
5.1.4	Mikrobiologická analýza	47
5.1.5	Senzorická analýza	48
5.2	Ošetření nízkotlakou plazmou	50
6	Diskuze	52
6.1	Ošetření pomocí vakua	52
6.2	Ošetření nízkotlakou plazmou	54
7	Závěr.....	55
8	Literatura.....	56

1 Úvod

Již od pradávna lidé cítili potřebu konzervovat a skladovat potraviny. V průběhu historie byly zavedeny různé technologie konzervace potravin, nejdříve se jednalo spíše o metody pokusů a omylů, ale ověřené postupy se dále předávaly z generace na generaci. Jako nejstarší technologii lze nejspíše označit vaření či pečení potravin, a to od dob, kdy se lidé naučili využívat oheň. Další historickou technologií, která také souvisí s počátky ovládnutí ohně člověkem, je uzení. Zejména se jednalo o uzení masa a ryb. Tato technologie se používá dodnes, dnes však už neslouží ke konzervaci, ale spíše k úpravě chuti. Lidé dále také pozorovali delší uchovatelnost potravin s nižším obsahem vody, což vedlo k vyvinutí technologie sušení potravin. Mezi další starodávné konzervační metody lze zařadit například solení či fermentaci (Joardder & Masud 2019). Později došlo k vývoji modernějších vysokoteplotních technologií. Příkladem může být pasterace, tedy zahřátí potravin na teplotu do 100 °C k redukci přítomných mikroorganismů (Peng et al. 2015). Dále se jedná například o sterilaci, během které je použita teplota nad 100 °C a dochází k inaktivaci i sporotvorných patogenů (Teixeira 2013).

S přibývajícím časem však dochází ke změnám ve vztahu člověka ke stravování. Lidé se čím dále více zajímají o to, co konzumují, a zvyšuje se poptávka po čerstvých nutričně bohatých potravinách. S tím souvisí jeden z momentálních významných trendů v oblasti zpracování potravin, tzv. „minimálně zpracované potraviny“ (Misra et al. 2016). Mezi takto upravené potraviny lze zařadit i ovoce a zeleninu. Patří sem plody, které prošly pouze lehkou úpravou, mohou být například oloupané či nakrájené a připravené buď k přímé konzumaci, nebo k další kulinářské úpravě, jako loupané brambory či kořenová zelenina (Rocha et al. 2007a). Jelikož se jedná o čerstvé produkty, které ale zároveň vyžadují minimální přípravu a úsilí před konzumací, mezi spotřebiteli je o tyto potraviny stále větší zájem (Misra et al. 2016). Konzumace neupravených minimálně zpracovaných potravin s sebou však nese určitá rizika, zejména možnou mikrobiální kontaminaci a následně vznik nemoci z potravin.

Zmíněná tepelná ošetření jsou prozatím stále hlavními používanými technologiemi k zajištění bezpečnosti a dlouhodobé trvanlivosti potravin (Ucar et al. 2021). To však vede k mnoha změnám ve vlastnostech takto zpracovaných potravin, například ke změně barvy, textury či ztrátě některých živin. Z daného důvodu se stále zkoumají možné alternativy tohoto ošetřování, které by minimalizovaly negativní účinky na nutriční a senzorické vlastnosti, a zároveň umožnily prodloužení trvanlivosti potravin a zajistily jejich kvalitu a čerstvost (Pankaj et al. 2018). Mezi tyto technologie se řadí například paskalizace, pulzní elektrické pole (PEF), vysokointenzivní ultrazvuk nebo studená plazma (López et al. 2019). Tyto technologie bývají prováděny při teplotách prostředí, čímž se eliminují nežádoucí změny v potravinách spojené s konvenčním tepelným zpracováním (Mandal et al. 2018).

Právě technologie ošetřování potravin pomocí studené plazmy se za poslední desetiletí stala předmětem zájmu mnoha studií jakožto technologie zpracování potravin bez použití vysokých teplot (Pankaj et al. 2018). Jedná se o novější technologii pro zajištění kvality potravin, přestože v jiných průmyslových odvětvích je dlouhodobě široce využívána, zejména pro dekontaminaci a dezinfekci povrchů (Laroussi 2020).

2 Vědecká hypotéza a cíle práce

2.1 Cíl práce

Cílem práce bylo zaměřit se na ošetření ovoce a zeleniny nízkotlakou plazmou s ohledem na prodloužení trvanlivosti. Sledována byla mikrobiální stabilita se zachováním původní barvy, textury, pH a sensorické přijatelnosti. Součástí práce bylo i srovnání výsledků s výsledky pro současnou konvenční technologii, konkrétně ošetření pomocí vakua.

2.2 Hypotéza

Ošetření nízkotlakou plazmou umožní dlouhodobě skladovat ovoce a zeleninu v obalech za sníženého tlaku se zachováním zdravotní nezávadnosti a přijatelných sensorických vlastností.

3 Literární rešerše

3.1 Ovoce a zelenina ve výživě a potravinářství

V posledních desetiletích se zákazníci čím dále více zabývají nutričními a senzorickými aspekty při výběru potravin, stejně tak bezpečností daných potravin, které konzumují. To má za důsledek vyšší poptávku po kvalitních a výživných potravinách. Potravinářské společnosti hodnotí vývoj zdravých potravin jako jednu z nejdůležitějších součástí současného výzkumu v oblasti potravinářství. Jelikož všechna výživová doporučení zahrnují konzumaci čerstvého ovoce a zeleniny, jedná se o neodmyslitelný prvek zdravé výživy (Slavin & Lloyd 2012).

Ovoce a zelenina jsou bohatými zdroji antioxidantů, antokyanů, fenolových sloučenin, dále například karotenoidů, tokoferolů a dalších vitaminů. Současné pokroky ve zpracovatelských a distribučních technologických postupech umožňují přístup k téměř všem druhům ovoce a zeleniny ve vysoké kvalitě po celý rok, nejen v sezóně. I přes všechny výhody konzumace čerstvého ovoce a zeleniny, je stále problémem bezpečnost těchto plodin vzhledem k tomu, že byly prokázány jakožto zdroj infekčních nemocí z potravin (Artés & Allende 2005).

3.1.1 Mikrobiologická rizika čerstvého ovoce a zeleniny

Než se ovoce nebo zelenina dostanou přímo ke spotřebiteli, přichází do styku s mnoha zdroji mikroorganismů, například s půdou, hmyzem či zvířaty, dále také se stroji během sklizně, zpracování a distribuce. Patogenní mikroorganismy jsou obecně schopné přežít na povrchu ovoce či zeleniny, ale nemnoží se, pokud je povrch plodin neporušený. Je to z důvodu přirozené ochranné vrstvy na povrchu plodin, například buněčných stěn či kutikuly. Většina patogenů neprodukuje enzymy, které by byly schopné tuto vrstvu narušit. Byly ovšem zaznamenány výjimky, například růst bakterií *Escherichia coli* O157:H7 na povrchu kůry melounu. Míra přežití patogenů je poté významně vyšší, jestliže je ochranná vrstva jakýmkoli způsobem narušena, například řezem, drcením, krájením nebo loupáním. Těmito narušeními se také vytvoří vhodné podmínky pro množení mikroorganismů, zejména pokud jsou plodiny následně skladovány v pokojové teplotě. Přestože některé patogeny dokážou přežít i chladírenské teploty, jejich množení se v těchto podmínkách zpomaluje. Různé druhy střevních patogenů byly detekovány na krájených rajčatech či salátu, drcené petrželce nebo narušené jablečné tkáni (Harris et al. 2003). Ve studii Mritunjay & Kumar (2017) bylo použito celkově 480 vzorků různé nemyté salátové zeleniny (okurka, mrkev, rajčata, zelí, řepa, ředkvičky, špenát, koriandr), přičemž všechny vzorky byly analyzovány na počet mezofilních aerobních patogenů, psychrotrofních mikroorganismů, kvasinek, plísní a na celkový počet koliformních bakterií. U 85 % vzorků byl překročen limit počtu aerobních mezofilních bakterií ($5 \log \text{KTJ.g}^{-1}$), dokdy je potravina považována za bezpečnou pro konzumaci. Nejvíce kontaminovanou zeleninou byly špenát a okurka. Podobné výsledky přinesla i analýza psychrotrofních mikroorganismů, zároveň byly ve všech vzorcích detekovány koliformní bakterie. V 16,7 % vzorků byla detekována bakterie *E-coli*, *Salmonella* sp. byla pak nalezena v 4 % vzorků. Počty kvasinek a plísní byly nižší.

Jelikož při zpracování ovoce a zeleniny dochází tedy k narušení ochranné vrstvy těchto plodin, jejich trvanlivost se bez dalšího ošetření významně snižuje (Rocculi et al. 2009). Loupané, nakrájené či jinak narušené plody jsou velmi náchylné k enzymatickému hnědnutí, dále může dojít k již zmíněné mikrobiální kontaminaci, sensorickým změnám či změnám v nutriční hodnotě daných plodů (Rocha et al. 2003). Vhodným ošetřením, balením a skladováním se těmto procesům však dá zabránit nebo je alespoň zpomalit.

3.1.2 Faktory ovlivňující trvanlivost ovoce a zeleniny během skladování

3.1.2.1 Teplota

Správně zvolená teplota mezi sklizní a konzumací dané plodiny je jedním z nejučinnějších prostředků zachování její požadované kvality. Jestliže je ovoce skladováno při nižších teplotách okolo 20 °C, dojde ke zpomalení velké části metabolických procesů včetně zrání. Vyšší skladovací teploty mohou naopak zvýšit míru dýchání plodů a produkci etylenu. Zdrojem vyšší teploty plodin může být také teplo, které se nahromadilo v plodinách před sklizní. Je tedy důležité zvolit vhodnou dobu sklizně během dne, aby se předešlo příliš vysoké teplotě plodin, která může způsobit jejich rychlejší zrání a následné kažení (Arah et al. 2015).

U některých druhů ovoce a zeleniny, zejména tropických a subtropických, však může v případě příliš nízkých teplot skladování dojít k poškození chladem. Jedná se například o rajčata, mango, ananas, okurky, banány a další druhy. Poškození chladem se projevuje nejčastěji skvrnami na slupce plodů, hnědnutím dužiny, nežádoucí změnou barvy či struktury, ztrátou chuti nebo vodnatěním. Tyto změny se mnohdy projeví až po přesunutí plodin z chladnějších teplot do vyšších (Wang 1989).

3.1.2.2 Vlhkost

Dalším klíčovým faktorem při udržování kvality ovoce a zeleniny během skladování je správná relativní vlhkost prostředí (Rajapaksha et al. 2021). Příliš nízká relativní vlhkost může vést ke ztrátě vody v plodině a následnému vysušení. Pokud je totiž v okolním vzduchu okolo plodiny vlhkost příliš nízká, dojde k rozdílu tlaku par a vodní páry v plodině se uvolní do okolního vzduchu, kde je jejich koncentrace nižší. Aby se minimalizovaly ztráty vody, relativní vlhkost vzduchu při skladování by měla mít hodnotu co nejvíce se přibližující vlhkosti dané plodiny. Jelikož množství vody ve většině čerstvých plodin se pohybuje od 85 do 95 %, relativní vlhkost vzduchu při skladování by měla být udržována přibližně ve stejných hodnotách (Lufu et al. 2020). Některé druhy ovoce, například granátové jablko, velmi snadno podléhají ztrátě vody z důvodu velkého množství pórů na povrchu. U granátového jablka by relativní vlhkost vzduchu během skladování měla být alespoň 95 %. Během skladování při teplotě 5 °C a relativní vlhkosti 95 % došlo ke ztrátě hmotnosti o 1,4 %, zatímco při stejné teplotě a relativní vlhkosti 75 % došlo ke ztrátě 6,1 % (Elyatem & Kader 1984). Problémem vyšší relativní vlhkosti potřebné ke skladování potravin s vysokým obsahem vody může být však riziko rozvoje plísní, jejichž růst se zvyšuje již při vlhkosti nad 70 % (Bourne 2006).

3.1.2.3 Balení a skladování

Jedním z hlavních kritérií obalů potravin je jejich schopnost fungovat jakožto bariéra mezi potravinou a okolním prostředím. Z mikrobiologického hlediska je nejdůležitějším faktorem, který je třeba zohlednit, nepropustnost obalu pro kyslík, oxid uhličitý a vodní páru. U potravin, které podléhají rychlé zkáze (například právě ovoce či zelenina), je vhodné pro skladování použít modifikovanou nebo řízenou atmosféru, případně ošetření pomocí vakua. Tyto metody jsou schopny zpomalit metabolickou aktivitu produktu i přítomných patogenů, nedochází však přímo ke sterilaci daných potravin (Gorris & Peppelenbos 1992).

3.1.3 Metody balení a skladování ovoce a zeleniny vedoucí k prodloužení jejich trvanlivosti

3.1.3.1 Skladování v řízené atmosféře

Skladování v řízené atmosféře (Controlled Atmosphere Packaging – CAP) je založeno na úpravě složení plyné atmosféry v okolí potraviny, přičemž tato atmosféra je konstantní nehledě na probíhající procesy v potravine včetně dýchání. CAP se používá zejména pro skladování většího množství potravin (například hromadné skladování ovoce) a vyžaduje nepřetržité sledování a kontrolu složení plynů v atmosféře. Výhodou tohoto skladování je prodloužení klidové (lag) fáze mikrobů, redukce respiračních procesů mikroorganismů i potraviny a potlačení nežádoucích sensorických změn v potravine (Cutter 2002).

3.1.3.2 Modifikovaná atmosféra

Principem balení v modifikované atmosféře (MAP) je nahrazení vzduchu v balení potraviny danou směsí plynů. Mezi tři hlavní plyny užívané v modifikované atmosféře se řadí oxid uhličitý, dusík a kyslík. V závislosti na typu dané potraviny jsou poté použity směsi dvou až tří z těchto plynů v různých kombinacích a poměrech. Co se týče ovoce a zeleniny, je nutné vzít v potaz nadále probíhající dýchání těchto plodin po sklizni. Produkty dýchání v aerobních podmínkách jsou oxid uhličitý a voda, zatímco při anaerobním dýchání vznikají produkty fermentace jako etanol, acetaldehyd nebo organické kyseliny. Cílem balení v modifikované atmosféře je snížit respiraci plodin, což zahrnuje i snížení produkce etylenu, látky zodpovědné za urychlení zrání ovoce a zeleniny (Floros & Matsos 2005). Jestliže je však ovoce nebo zelenina uzavřena v neprodyšném obalu, dochází díky dýchání přirozeně k úbytku objemu kyslíku a nárůstu objemu oxidu uhličitého. Pokud se hodnoty kyslíku dostanou na velmi nízké koncentrace, začne docházet k anaerobnímu dýchání, tedy k nežádoucím fermentačním procesům. Tyto procesy poté vedou k zápachu, změnám chuti a riziku nárůstu anaerobních mikroorganismů včetně *Clostridium botulinum*. Je tedy důležité zajistit minimálně 2-3% hladinu kyslíku, aby k těmto procesům nedocházelo (Sivertsik et al. 2002).

3.1.3.3 Ošetření pomocí vakua

Termín vakuum obecně označuje objem nebo stav prostoru, ve kterém je podstatně nižší tlak než tlak atmosférický (Sivamma et al. 2021). Ošetřování potravin pomocí vakua je dlouhodobě rozšířená technologie, kterou lze používat na různé druhy potravin včetně ovoce a zeleniny, masa nebo například hotových jídel. Mezi technologie s použitím vakua v potravinářském průmyslu se řadí například vakuové smažení, vakuové chlazení, vakuové sušení nebo vakuové balení (Sharanabasava 2018).

Vakuové smažení

Vakuové smažení je technologie, která umožňuje redukci množství oleje při smažení, přičemž si výsledný produkt zachovává chuťové a strukturní vlastnosti výrobků smažených v konvenčních (atmosférických) fritézách. Jelikož vakuové smažení probíhá za sníženého tlaku, dochází i ke snížení bodu varu oleje, což má za následek vyšší kvalitu oleje ve výsledném produktu – nedochází k jeho degradaci vysokými teplotami. Při vakuovém smažení tak dochází k potřebnému vysušení produktu, bez toho, aby potravina příliš ztmavla nebo se připálila (Da Silva and Moreira 2008). Výrobek si tak zachová svoji barvu a chuť a zároveň se tak sníží riziko vzniku akrylamidu. Vakuové smažení lze použít pro širokou škálu výrobků, přičemž primárně se jeho užití udává u ovoce nebo zeleniny, například u jablek, banánů, brambor nebo batátů (Sharanabasava 2018). Problémem u této technologie může být nedostatečná křupavost vakuově smažených výrobků (Huang et al. 2018). Jedná se též o poměrně drahou technologii (Moreira 2014).

Vakuové chlazení

Vakuové chlazení je technologie, při které dochází k rychlému odpařování vlhkosti z povrchu i vnitřku potravin. Jakmile se voda odpaří, začne absorbovat teplo, aby si udržela vyšší energii potřebnou k pohybu molekul v plynném stavu (Sun and Zheng 2006). Tradičně se tato technologie používá u listové zeleniny nebo hub ihned po sklizni, aby se prodloužila jejich skladovatelnost. Tuto technologii lze ale použít i na hotové výrobky, ryby nebo tepelně upravené masné výrobky, aby se zamezilo růstu mikroorganismů (Sharanabasava 2018).

Vakuové sušení

Při vakuovém sušení je potravina sušena za nízkého tlaku. Principem metody je tedy snížení tlaku, čímž dojde i ke snížení bodu varu vody v potravine. Tímto snížením dochází posléze k rychlejšímu odpaření vody, a tím pádem i k rychlejšímu vysušení potravin. Vakuové sušení se používá převážně pro hygroskopické potraviny a potraviny citlivé na vysoké teploty (Jha et al. 2016).

Vakuové balení

Principem vakuového balení je odstranění vzduchu z obalu potravin a následné utěsnění obalu. Občas se technologie vakuového balení označuje jako podtyp MAP, u vakuování se ale odstraněný vzduch nenahrazuje směsí plynů (Sivertsik et al. 2002). Hlavním cílem této technologie je zabránit oxidačním reakcím v potravine (včetně oxidace tuků, ztráty některých vitaminů, enzymatického hnědnutí atd.).

Vakuem také brání rozvoji aerobních mikroorganismů (například plísní), což může významně prodloužit životnost potravin. Mražené potraviny balené ve vakuu mají trvanlivost v průměru 2-3 roky, zatímco potraviny pouze mražené přibližně 6-12 měsíců. Pokud jsou potraviny v mrazničce vystaveny vzduchu, může dojít k poškození těchto potravin mrazem, respektive k jejich vysušení, což vede k sensorickým změnám (Angiolillo et al. 2016).

Nejčastěji se při této metodě používají plastové fólie či sáčky, které po vakuování umožňují navíc i zmenšení objemu balení potravin (Sivamma et al. 2021), jelikož dojde ke smrštění obalu a v zásadě k eliminaci prostoru kolem produktu (Floros & Matsos 2005). Další možností je použít například konzervy nebo zavařovací sklenice (Berk 2018), které byly použity i v experimentální části této práce.

Vakuové balení se běžně používá pro delší uchování ovoce a zeleniny. Ve studii Snoeck et al. (2011) bylo zkoumáno prodloužení trvanlivosti loupaných brambor pomocí vakuového balení. Brambory byly oloupany, vloženy do sáčků a ošetřeny pomocí vakua s podtlakem 1 mBar po dobu 10 sekund. Následně byly skladovány v temnu při teplotě 4 °C po dobu 7 dní. Oproti ošetřeným vzorkům došlo u kontrolních vzorků skladovaných ve stejných podmínkách na vzduchu ke statisticky významným rozdílům, co se týče úbytku hmotnosti a změny barvy. U vzorků ošetřených vakuem zůstala barva po celou dobu skladování téměř konstantní, stejně tak hmotnost.

Další možností je použití vakua k delšímu uchování cereálií, müsli, krekrů a jiných suchých potravin. Pokud jsou tyto druhy potravin nevhodně skladovány, mohou nasáknout okolní vlhkost a ztratit tak svou původní texturu, případně může následně dojít i k mikrobiální kontaminaci (Berk 2018).

Kromě zmíněných druhů potravin se vakuové balení dále používá například k delšímu uchování masa, zejména ryb. V posledních letech je v rámci stravovacích doporučení kladen důraz na konzumaci nenasycených mastných kyselin, například kyseliny eikosapentaenové, která se vyskytuje právě v rybách. Rybí olej ale rychleji podléhá oxidaci v porovnání s tuky v jiných druzích masa, jako je vepřové, kuřecí nebo hovězí. Díky vakuovému balení se však dají ryby uchovávat mražené až dva roky, zatímco nevakuované pouze 2 měsíce (Angiolillo et al. 2016).

Ačkoli ošetření pomocí vakua představuje účinnou prevenci před nárůstem aerobních mikroorganismů, nevýhodou vakuového balení představuje naopak možný nárůst anaerobních patogenů. Může se jednat například o bakterie rodu *Clostridium* nebo bakterie mléčného kvašení (Hernández-Macedo et al. 2011). Ve studii McSharry et al. (2020) bylo vyhodnoceno přežití a případný růst bakterií *Clostridium difficile* ve vakuově balených vzorcích hovězího masa. Vzorky byly uchovány v teplotách 2 °C a 20 °C po dobu 32 dní, respektive 8 dní. V chladírenských teplotách dokázala ve vakuově balených vzorcích tato bakterie přežít, nedocházelo ale k jejímu množení. Při teplotě 20 °C došlo ovšem k jejímu výraznému nárůstu. Pokud jsou tedy některé typy potravin, přestože byly vakuově ošetřeny, uchovávány v pokojové teplotě, je zde riziko množení anaerobních patogenů. Uchováním ošetřených potravin v chladírenských teplotách je ale možné nárůstu těchto bakterií zabránit či ho zpomalit.

3.2 Konzervace potravin působením tepla

Jak již bylo zmíněno, technologie jako MAP, řízená atmosféra či vakuum mohou zpomalit či zastavit růst mikroorganismů na potravinách, nevedou však přímo k usmrcení těchto patogenů. K tomu, aby došlo k jejich likvidaci, se nejčastěji konvenčně používají metody konzervace vysokými teplotami. Mezi nejvýznamnější technologie, které se používají již po více než století, se řadí pasterace a sterilace. Tyto metody mohou být uplatněny jak před plněním do obalů, tak i pro potraviny již zabalené. Zatímco pasterace se primárně používá pro potraviny chlazené, které se i po ošetření skladují v chladírenských teplotách, potraviny, které prošly sterilací, mohou být skladovány i v pokojové teplotě. Obě metody jsou využívány pro inaktivaci a usmrcení mikroorganismů, liší se však v cílových typech mikroorganismů, výšší teploty a typu použitého zařízení, které je schopno takové teploty dosáhnout (Teixeira 2013).

3.2.1 Pasterace

Na rozdíl od sterilace nepoužívá ošetření pomocí pasterace tak vysoké teploty, obvykle se jedná o teplotu do 100 °C. Pasterace si klade za cíl zničit vegetativní formy mikroorganismů způsobujících nemoci z potravin, zároveň je také schopna inaktivovat enzymy podílející se na kažení dané potraviny. Tato technologie ovšem nelikviduje všechny vegetativní formy patogenů, stejně tak neničí sporotvorné mikroorganismy. Z tohoto důvodu je z velké části nutno takové potraviny i po ošetření skladovat v chladu, případně v obalu s modifikovanou atmosférou, aby bylo zabráněno jejich kažení. Výše použité teploty, čas ošetření a doba následné trvanlivosti záleží vždy na typu produktu, jeho pH, odolnosti přítomných mikroorganismů a citlivosti dané potraviny na teplo (Teixeira 2013).

3.2.2 Sterilace

Sterilace znamená usmrcení všech životaschopných mikroorganismů přítomných v potravine. K tomuto účelu je nutné využít již vyšší teploty nad 100 °C. I přes použití vysokých teplot však ošetřená potravina není absolutně sterilní v lékařském smyslu slova. Dlouhodobá trvanlivost potraviny je dosažena kombinací tohoto ošetření, pH potraviny, prostředím uvnitř obalu, hermetickým uzávěrem potraviny a podmínkami skladování. Obecně platí, že pokud má daná potravina nízké pH (<4,5), může být ošetření sterilací teplotně šetrnější než u potravin s vyšším pH. Příkladem takovéto potraviny jsou například sterilované okurky. Při nízkém pH nedochází totiž k množení a produkci toxinů sporotvorných teplotu odolných bakterií, například *Clostridium botulinum*. U potravin s vyšším pH se často používá sterilace za vyššího tlaku v autoklávu nebo vysokoteplotní ošetření UHT (Ultra-High-Temperature) s teplotou vyšší než 135 °C (Teixeira 2013).

3.3 Plazma

Přestože výše zmíněné tepelné technologie jsou velmi efektivní, co se týče inaktivace či usmrcení mikroorganismů v potravinách, jejich působením dochází ke snížení nutriční hodnoty, v některých případech ztrátě textury a tím i snížení celkové kvality potravin. Proto je

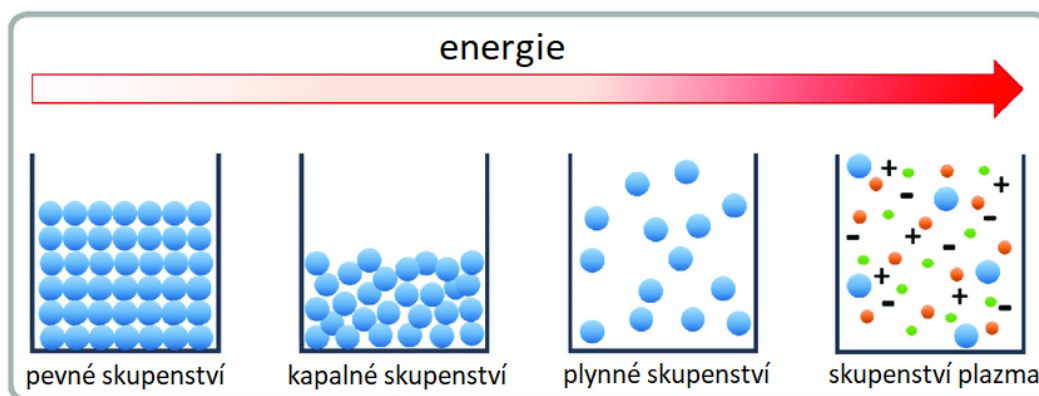
v posledních letech kladen důraz na výzkum technologií, které by nahradily metody využívající vysoké teploty a které by bylo možné užívat k mikrobiálnímu ošetření potravin tak, aby byla ponechána jejich původní kvalita a sensorická jakost. Jednou z momentálně zkoumaných metod je i technologie studené plazmy, založené na využívání reaktivních částic ionizovaného plynu k usmrcení mikrobu v potravinách. Přes relativně raný stav výzkumu využívání plazmy v potravinářství, složitost potřebného vybavení a do jisté míry i neprozkoumané dopady ošetření plazmou na všechny vlastnosti různých druhů potravin, jedná se o technologii do budoucna velice slibnou (Prabha et al. 2021). Kromě studené plazmy se aktivně zkoumají či využívají další netepelné technologie, jako je paskalizace, pulzní elektrické pole (PEF) nebo vysokointenzivní ultrazvuk (López et al. 2019).

3.3.1 Historie

Termín „plazma“ pro označení ionizovaného plynu byl poprvé zaveden v roce 1928 americkým vědcem Irvingem Langmuirem, dle kterého mohla být směs elektronů, iontů a neutrálních atomů v plynu v podstatě považována za částice obsažené v tekutém médiu. Nazval proto tuto směs „plazma“, jelikož částečně připomínala krevní plazmu. Přestože se částice plazmatu ve skutečnosti nenachází v žádném tekutém médiu, toto označení přetrvalo (Misra et al. 2016)

3.3.2 Plazma

Fungování plazmy je založeno na generování plazmatu, což je plyn složený z fotonů, kladně nabitých částic (iontů), záporně nabitých částic (elektronů), volných radikálů a atomů v jejich základních či excitovaných stavech, dále volných radikálů a reaktivních částic (Misra et al. 2016). Celkově má však plazma neutrální náboj, jelikož počty kladně a záporně nabitých částic jsou vyrovnané, vyznačuje se tedy tzv. kvazineutralitou (Misra et al. 2011). Díky svým unikátním vlastnostem se plazma často označuje jako „čtvrté skupenství“ (obr. 1).



Obrázek 1: Schéma vyjadřující zvýšení energetické úrovně z pevné látky na kapalinu, následně na plynné skupenství, a nakonec na ionizované skupenství plazma (převzato a upraveno od Hojnik et al. 2017)

Přestože na planetě Zemi je velká většina hmoty v pevném, plynném či kapalném skupenství, z hlediska Vesmíru jsou tato skupenství spíše výjimečná. Dle odhadů je téměř 99 % veškeré zdejší hmoty ve skupenství plazma, například polární záře, ionosféra, dále Slunce, sluneční vítr a ostatní hvězdy. Většina takto přirozeně se vyskytujícího plazmatu je vysokoteplotní a tvoří se tím pádem při vysokém tlaku, například již zmíněné hvězdy. V přírodě se ale lze setkat i s plazmatem tvořeným při atmosférickém tlaku, například blesky. Příkladem nízkoteplotního plazmatu by pak mohla být polární záře (Lackmann & Bandow 2014).

3.3.3 Rozdělení plazmatu dle teploty

Z teplotního hlediska se plazma tedy dělí na vysokoteplotní a nízkoteplotní. Vysokoteplotní plazma se vyznačuje teplotní rovnováhou všech částic, elektronů a iontů. Je generováno při vyšším tlaku a vyžaduje větší množství energie. Na druhé straně nízkoteplotní plazma je charakterizováno rozdílem v teplotách částic, konkrétně teplota elektronů bývá značně vyšší. Přestože teplota elektronů je vyšší, neutrální částice, ionty i radikály mají teplotu obdobnou pokojové teplotě, proto se tento typ plazmatu označuje jako nízkoteplotní nebo „studený“ (Cullen et al. 2017). Nízkoteplotní plazma může být generováno při atmosférickém nebo sníženém tlaku (ve vakuu) a vyžaduje nižší dodávku energie (Misra et al. 2011; Misra et al. 2016).

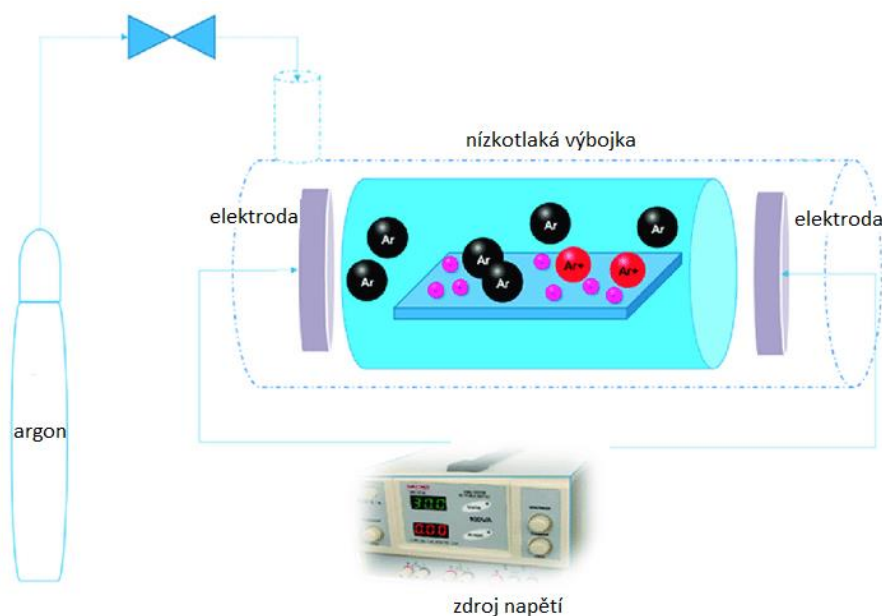
3.3.4 Generace plazmatu

Aby bylo plazma generováno, je zapotřebí plynového nosiče, zdroj energie a speciální elektrody (Mandal et al. 2018). Mezi používané plyny se řadí kyslík a dusík, dále se též může použít kombinace vzácných plynů jako neon, argon nebo helium (Varilla et al. 2020). Jak už bylo zmíněno, plazma se může tvořit při nízkém či vysokém tlaku. To, jak vysoké napětí je při ošetření plazmou potřeba, je dáno vzdáleností mezi elektrodami a zároveň použitým tlakem. Jakmile je tlak snížen, hodnota potřebného napětí k ionizaci částic plynu se též sníží. Studené plazmy pracující za sníženého tlaku tím pádem nepotřebují ke generaci plazmatu tak vysoké množství energie. Ne všechny druhy potravin mohou být ovšem ošetřeny vakuem (sníženým tlakem), aniž by nedošlo k jejich nežádoucím změnám. Pro takové potraviny jsou vhodnější plazmy pracující za atmosférického tlaku (1 bar). U tohoto typu plazmy není přítomná vakuová komora, což usnadňuje instalaci. Proces ionizace je zde ale obtížnější, jelikož je vyžadováno výrazně vyšší napětí mezi elektrodami než u nízkotlaké plazmy (Niemira 2012).

Co se týče plazmatu v průmyslovém využití, plazma může být generováno z různých zdrojů energie, které jsou schopné ionizace plynů. Jedná se například o elektrickou či tepelnou energii, dále pak UV, radioaktivní či rentgenové záření. Velmi často se používá elektrické nebo elektromagnetické pole. Z důvodu široké možnosti zdrojů je možné aplikovat ošetření plazmou v potravinářském průmyslu s ohledem na současně používané techniky a vybavení (Misra et al. 2016). Z těchto zdrojů energie je plazma generováno několika typy výbojů.

3.3.4.1 Doutnavý výboj

Prvním typem je doutnavý výboj, který vzniká v nízkotlakých skleněných trubicích (výbojkách) naplněných plynem, nejčastěji se jedná o argon. Ve výbojkách se nachází elektrody, mezi nimiž je tvořeno napětí. Kladné ionty jsou přitahovány směrem ke katodě a záporné k anodě. Během svého pohybu ionizují přítomné částice plynu. Tyto kolize jsou příčinou emise světla, díky které dostal tento výboj název „doutnavý“ (obr. 2) (Bogaerts 1999).



Obrázek 2: Schéma zařízení plazmy s doutnavým výbojem (převzato a upraveno od Khaledian et al. 2019).

3.3.4.2 Radiofrekvenční výboj

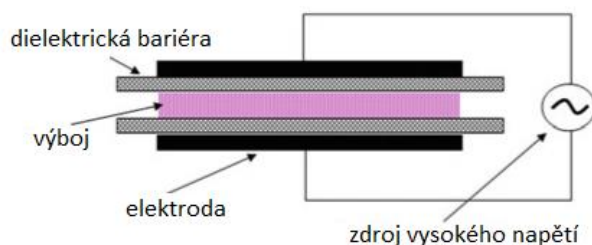
Dalším typem je výboj radiofrekvenční, kde je plazma tvořeno pulzním elektrickým napětím ve středu elektrické cívky (Varilla et al. 2020). Radiofrekvenční systém ionizuje přítomný plyn pomocí cirkulujících elektrických impulzů pracujících při různých nastaveních výkonu a napětí. Frekvence v těchto systémech se mohou pohybovat od několika Hz do vysokých hodnot MHz, nejčastěji se však jedná o hodnotu 13,56 MHz (Niemira 2012).

3.3.4.3 Dielektrický bariérový výboj

Velmi často se lze v souvislosti s plazmatem v potravinářství setkat se třetím typem výboje, dielektrickým bariérovým výbojem (DBD). Takové zařízení sestává ze dvou kovových elektrod, které jsou odděleny jednou nebo více dielektrickými vrstvami vyrobenými nejčastěji ze skla, křemene, polymerů nebo keramického materiálu. Mezi těmito elektrodami dochází následně k rozdílu potenciálů (a vzniku napětí), čímž dojde ke generaci plazmatu (obr. 3) (Thirumdas et al. 2014; Pankaj et al. 2013). DBD plazma může fungovat

ve velkém rozsahu tlaku plynů a může být poháněna střídavým a v některých případech i stejnosměrným napětím (Misra et al. 2016).

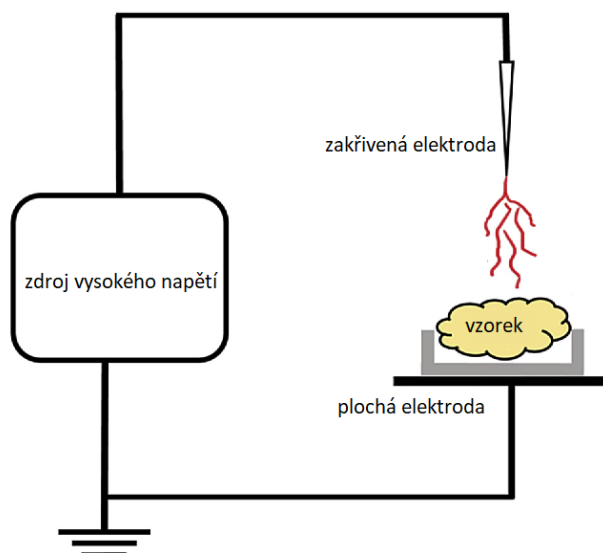
Jelikož reaktivní formy kyslíku a dusíku mohou být generovány přímo v uzavřeném balení potraviny, DBD se jeví jako vhodný nástroj pro ošetření čerstvých balených potravin (Varilla et al. 2020).



Obrázek 3: Schéma plazmy s dielektrickým bariérovým výbojem (převzato a upraveno od Subedi et al. 2017).

3.3.4.4 Korónový výboj

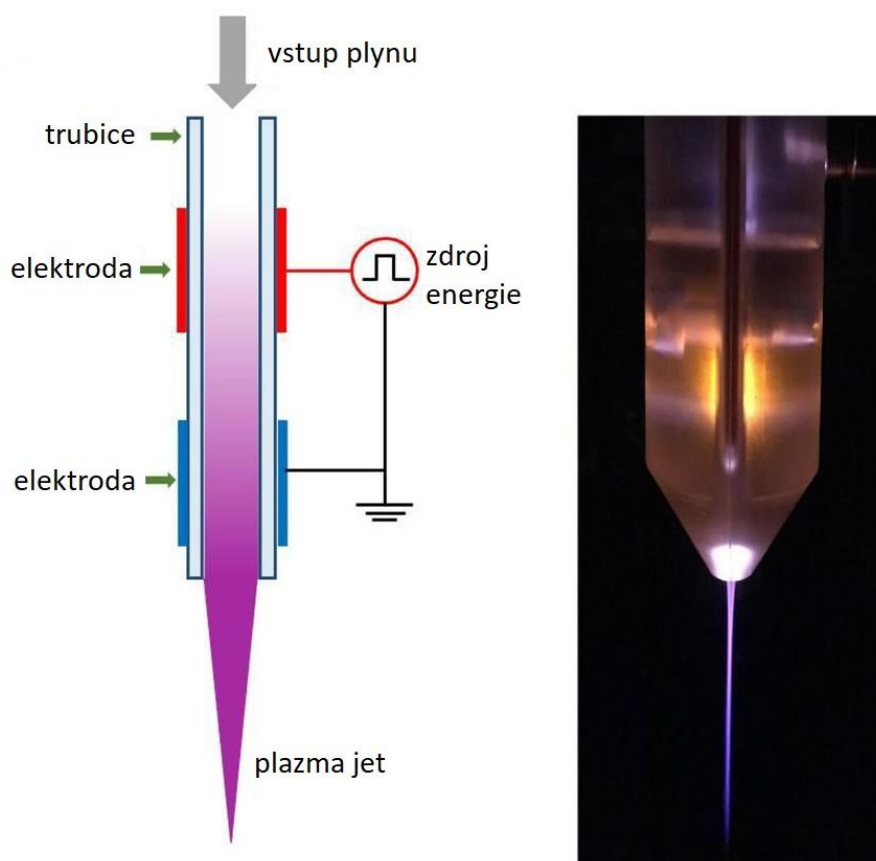
Mezi další typ výbojů se řadí výboj korónový. Jedná se o typ výboje, kde alespoň jedna z elektrod je zakřivená či má ostrý hrot, čímž vzniká nerovnoměrné elektrické pole. Z tohoto důvodu je proces ionizace omezen pouze na okolí elektrod, ve zbytku prostoru je intenzita elektrického pole nízká. Během ionizace se v okolí elektrody vytváří slabý jas, který připomíná korunu, proto se tomuto výboji říká korónový (Misra et al. 2016). Korónový výboj se dělí na pozitivní a negativní. Jedná-li se o výboj negativní, zakřivenou elektrodou je katoda. Na katodě dochází k emisi elektronů, které posléze působí na plynné částice a tvoří záporné ionty pohybující se k anodě. U kladného výboje je zakřivenou elektrodou anoda a dochází k emisi kladných iontů (obr. 4) (Stegmaier et al. 2007).



Obrázek 4: Schéma uspořádání plazmy s korónovým výbojem (převzato a upraveno od Wu et al. 2018).

3.3.4.5 Plazma jet

Plazma jet je druh výboje studené plazmy, který se vyznačuje vysokorychlostním proudem velmi reaktivních chemických sloučenin, při kterém dochází k emisi slabého světla. Plazma jet obvykle sestává ze dvou soustředných elektrod válcového tvaru, přičemž vnitřní elektroda bývá připojena k radiofrekvenčnímu nebo mikrovlnnému zdroji energie způsobujícímu ionizaci plynu. Nejčastěji se zde jedná o vzácné plyny jako helium či argon. Plyn proudí skrz trysku, proto má tento typ výboje název „plazma jet“ (obr. 5). Plazma jety lze rozdělit na různé typy dle uspořádání a použitého materiálu. Může se jednat o plazma jet pouze s jednou elektrodou, elektrodami bez dielektrické vrstvy nebo naopak DBD plazma jety apod. Existují i malé trysky, tzv. plazmová pera, plazmové hořáky či plazmové jehly. Plazmové jehly jsou tvořeny elektrodou s ostrým hrotem uvnitř trubičky. Touto trubičkou prochází plyn mísící se se vzduchem na hrotu elektrody, což vytváří malý výboj působící ve vzdálenosti několika milimetrů (Domonkos et al. 2021).

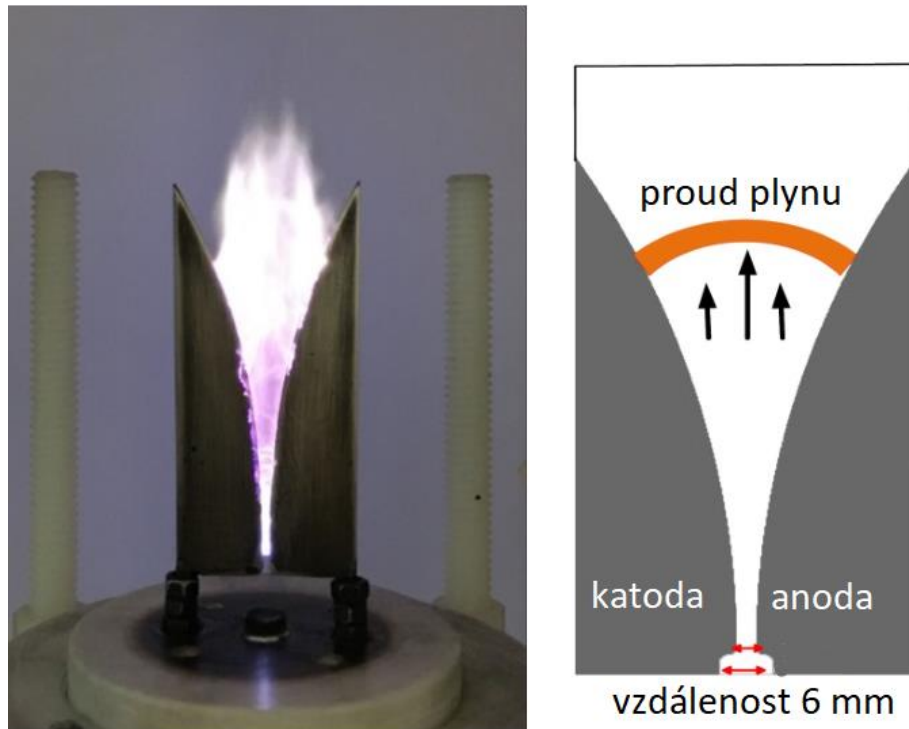


Obrázek 5: Plazma jet. Obrázek vlevo ukazuje schéma uspořádání plazma jetu, vpravo je poté jeho reálná fotografie (převzato a upraveno od Chauvin et al. 2017).

3.3.4.6 Klouzavý oblouk

Ačkoli je klouzavý oblouk znám především jakožto zdroj vysokoteplotního plazmatu, za určitých podmínek lze s jeho využitím generovat i studené plazma. Obvykle je tento

system tvořen dvěma elektrodami rozbíhavého uspořádání. Výboj je pak tvořen v oblasti co nejkratší vzdálenosti mezi katodou a anodou (jedná se o vzdálenost v rámci několika mm). Elektrody jsou umístěny v oblasti rychlého proudu plynu, přičemž výboj společně s proudem zvyšuje svůj objem (obr. 6) (Domonkos et al. 2021).



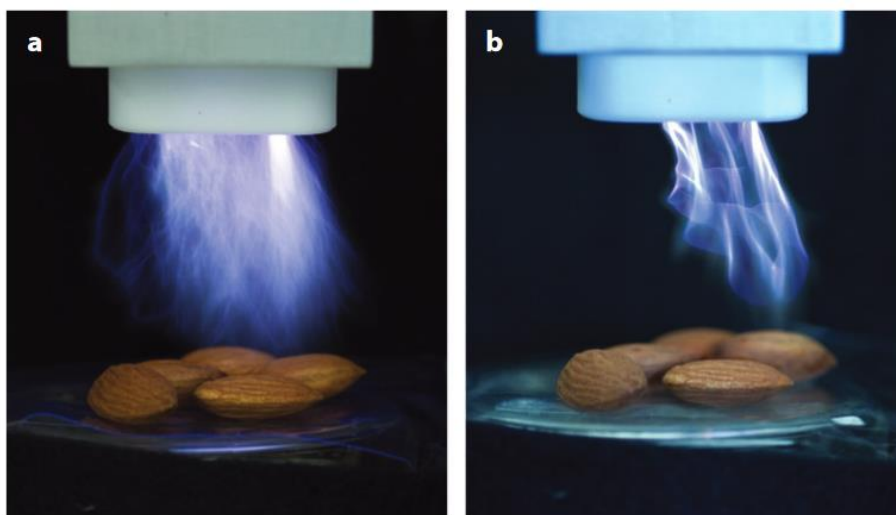
Obrázek 6: Klouzavý oblouk. Vpravo je znázorněno schéma plazmy s klouzavým obloukem, vlevo je reálný snímek (převzato a upraveno od Wang et al. 2017).

3.3.5 Využití technologie studené plazmy v potravinářství

Přestože v potravinářství se účinky plazmy teprve zkoumají, v jiných průmyslových odvětvích je její užití běžnou praxí. Jedná se například o dekontaminaci povrchů a nástrojů ve zdravotnictví, očištění povrchů v elektronickém či textilním průmyslu (Mandal et al. 2018). Nejznámější využití plazmy se týká pravděpodobně plazmových televizí založených právě na DBD výboji (Misra et al. 2016).

Z dosavadních výzkumů týkajících se studené plazmy a jejího užití v potravinářství lze vyvodit některé výhody, které tato technologie přináší. Ošetření studenou plazmou má výrazný antimikrobiální účinek již při nízkých teplotách (méně než 50 °C), což umožňuje markantně zvýšit trvanlivost potravin a podílet se tak na vyšší efektivitě dodavatelského řetězce. Plazma je zároveň kompatibilní s většinou používaných obalů a dá se použít jak na pevné, tak tekuté potraviny. Dále se zdá, že pro většinu potravin představuje ošetření plazmou neškodnou technologii, která by díky svému konzervačnímu efektu mohla snížit potřebu přidávat do potravin chemické konzervanty. Jelikož plazma nepracuje s vodou ani rozpouštědly, mohlo by její využití znamenat lepší dopad na životní prostředí. Velká část zdrojů plazmy zároveň vyžaduje pouze nízkou počáteční energii, dalo by se tedy plazmu

označit jako energeticky šetrnou. Dle některých studií při použití této technologie nevznikají ani žádná rezidua, tato informace však potřebuje více důkazů, aby ji šlo označit za všeobecně platnou (Misra et al. 2016). V probíhajících potravinářských výzkumech se zkoumá účinek plazmy na mnoho druhů potravin, například právě ovoce či zelenina, dále pak maso, mléčné výrobky, vejce, obilniny nebo ořechy (obr. 7) (López et al. 2019).



Obrázek 7: Ošetření mandlí pomocí studené plazmy (plazma jet, frekvence 47 kHz, výkon 524 W, plyn vzduch). První snímek ukazuje působení plazmy v reálném čase. Druhý snímek je vysokorychlostní fotografie zachycující jednotlivé oblouky výboje plazmy (převzato od Niemira 2012).

3.3.6 Mechanismus účinku plazmy na inaktivaci mikroorganismů

Dle dostupných výzkumů dokáže nízkotlaká plazma rozrušit lipidy, proteiny a DNA přítomných patogenů. Reaktivní částice vznikající v plazmě vykazují oxidační účinky na vnější povrch mikrobiálních buněk. Pokud se například použije jako plyn kyslík nebo dusík, vznikají reaktivní částice jako radikály $O\bullet$, $OH\bullet$ a $NOH\bullet$ nebo například O_3 . Tyto částice následně působí na nenasycené mastné kyseliny v lipidové dvojvrstvě buněčné stěny mikrobů. Působením ozonu dochází k narušení dvojných vazeb nenasycených mastných kyselin (Tiwari et al. 2011). Stejně tak dochází k denaturaci bílkovin buněčné stěny a oxidaci nukleových kyselin a aminokyselin (Critzler et al. 2007).

3.3.6.1 Bakterie

Mezi bakterie, které se mohou vyskytovat v potravinách, se řadí například *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Enterococcus faecalis* nebo *Listeria monocytogenes*. Tyto mikroorganismy mohou být příčinou vážných zdravotních potíží, které mohou v některých případech způsobit i smrt (Yun et al. 2010). Tyto bakterie jsou schopné tvořit na površích

tzv. biofilm, strukturu tvořenou primárně mimobuněčnou polysacharidovou hmotou, která slouží ke komunikaci a ochraně. Kvůli této struktuře jsou ale bakterie velmi odolné ke konvenčním antimikrobiálním ošetřením. Některé studie, které se zabývaly působením plazmy na tyto druhy patogenů, však prokázaly účinnost plazmy v jejich likvidaci. Většina bakterií, zvláště pak anaerobních, je na reaktivní sloučeniny kyslíku (ROS) přítomné v plazmě velmi citlivá.

Příkladem toho může být studie Sureshkumar et al. (2010), ve které byla použita radiofrekvenční plazma, a to buď pouze s dusíkem, nebo se směsí dusíku a kyslíku. Tato studie byla zaměřena na likvidaci *Staphylococcus aureus*, což je gram-pozitivní kokální bakterie, která se může dostat do potravin během jejich přípravy nebo zpracování. Tato bakterie je schopna produkovat několik druhů enterotoxinů a dokáže být vysoce rezistentní k antibiotickým přípravkům (Singh et al. 2000; Kadariya et al. 2014). V inaktivaci *Staphylococcus aureus* pomocí radiofrekvenční plazmy s frekvencí 13,56 MHz se použití směsi plynů dusíku a kyslíku ukázalo jako efektivnější než samotný dusík. Po 5 minutách působení dusíku se 2 % kyslíku došlo k výraznému poškození bakteriálních buněk, zatímco při použití pouze dusíku po stejnou dobu bylo poškození buněk nižší (Sureshkumar et al. 2010).

Bermúdez-Aguirre et al. (2013) použili argonovou studenou plazmu na inaktivaci bakterií *Escherichia coli* v inokulovaných vzorcích mrkve, rajčat a salátu. Bylo zjištěno, že působením plazmy při vyšším napětí (12,83 kV) a frekvenci 60 Hz po dobu 10 minut došlo k poškození a změně tvaru mikrobiálních buněk a poničení buněčné membrány. *Escherichia coli* je fakultativně anaerobní gram-negativní bakterie kokálního tvaru, která je normální součástí mikrobioty gastrointestinálního traktu. Existují ovšem i virulentní kmeny, které jsou zodpovědné za vznik nemocí z potravin. Může se jednat pouze o mírné potíže, ale i velmi závažné stavy. Některé z těchto kmenů jsou například schopny produkovat Shiga toxin a mohou způsobit velmi vážnou hemoragickou kolitidu projevující se průjemem s přítomností krve (Kaper et al. 2004).

Listeria monocytogenes je fakultativně anaerobní, gram-pozitivní tyčinkovitá bakterie. Jedná se o vnitrobuněčného patogena, který se může vyskytovat v určitých druzích potravin, například v neošetřeném mléce a výrobcích z něj, zrajících sýrech, syrovém masu či kontaminovaném salátu (Jemmi & Stephan 2006). Je tolerantní k extrémním podmínkám jako chladírenské teploty, nízké pH nebo vyšší koncentrace soli. Tato bakterie je původcem listeriózy, nemoci z potravin, která se sice nevyskytuje příliš často, ale jde o velmi vážné onemocnění, které může být fatální, zejména pro imunosupresované jedince, starší lidi nebo těhotné ženy a plod (Jeyaletchumi et al. 2010).

Ve studii Min et al. (2016) byla použita studená plazma k redukci několika patogenů včetně bakterií *Listeria monocytogenes* na listech římského salátu. Salát byl bakteriemi předem inokulován a následně ošetřen plazmou s DBD výbojem a napětím 34,8 kV. Frekvence se pohybovala od 0 do 2400 Hz a doba ošetření byla 5 minut. Výsledky ukázaly redukci *Listeria monocytogenes* o $1 \pm 0,5 \log \text{KTJ.g}^{-1}$ vzorku salátu.

3.3.6.2 Sporotvorné bakterie

Sporotvorné bakterie jsou významnými patogeny, které mohou způsobit jak zkažení dané potraviny, tak následně i nemoci z potravin. Tyto bakterie dokážou tvořit odolná stadia spor, která jsou uzpůsobena k přežití v nepříznivých podmínkách, například v půdě, vodním prostředí nebo i zažívacím traktu jiných organismů. Tyto spory jsou odolné vůči extrémním podmínkám, jako je zvýšená koncentrace soli, nízké pH, radiace, sucho nebo nedostatek kyslíku či živin. Z tohoto důvodu jsou spory též rezistentní vůči mnoha technologiím běžně užívaných k ošetřování potravin (Wells-Bennik et al. 2016). Jestliže však dojde ke změně prostředí (primárně navýšení množství živin), může dojít k vyklíčení spor ve vegetativní buňky, které se následně začnou opět množit (Cho & Chung 2020). Pokud tedy dojde ke konzumaci bakteriální spory, může dojít k jejímu vyklíčení v trávicím traktu (Wells-Bennik et al. 2016).

Do sporotvorných bakterií, které se vyskytují v potravinách, se řadí například *Bacillus cereus*, *Clostridium botulinum* nebo *Clostridium perfringens*. Výskyt těchto bakterií je spojován s výskytem v potravinách, především pokud jde o plody rostoucí v zemi nebo spadlé ovoce, které se dostalo do kontaktu s půdou (Wells-Bennik et al. 2016).

Výskyt bakteriálních spor je spojován například s ovocnými a zeleninovými šťávami, které se v současné době ošetřují zejména pasterací nebo použitím vysokého tlaku - paskalizací (Colás-Medà et al. 2021). Ve studii Aneja et al. 2014 byl zkoumán výskyt mikroorganismů v čerstvě připravených ovocných a zeleninových šťávách, přičemž bakterie *Bacillus cereus* byla detekována v 57 % z celkového počtu 30 vzorků. Výše zmíněné metody ošetření jsou efektivní v usmrcení těchto vegetativních forem mikroorganismů, jejich spory však bývají rezistentní. Spory totiž například dokážou přežít i tlak v hodnotách 1000 MPa (Smelt 1998), zatímco v potravinářském průmyslu se komerčně používá tlak pouze do 600 MPa (Colás-Medà et al. 2021).

Dobrynin et al. (2010) zkoumali vliv studené plazmy na spory bakterií *Bacillus cereus* a *Bacillus anthracis*. V této studii byla použita plazma s DBD výbojem generovaným na vzduchu, napětím 30 kV a frekvencí 1,3 kHz. Spory byly ošetřeny ve formě suspenze a následně také v suchém stavu. Dle výsledků této studie bylo po působení plazmy po dobu 45 sekund zaznamenáno snížení počtu spor až o 5 log KTJ.g⁻¹, a to v tekuté i suché formě.

Studie Tseng et al. (2011) se zaměřila na různé druhy bakterií *Bacillus* a *Clostridium*, a to jak na vegetativní formy těchto bakterií, tak na jejich spory. V této studii byl použit radiofrekvenční plazma jet s frekvencí 13,56 MHz a výkonem 100 W. Účinek plazmy na likvidaci bakterií a spor byl vyjádřen v D hodnotách (decimal reduction time), což je čas potřebný k usmrcení 90 % buněk nebo spor. Co se týče likvidace spor, D hodnoty se pohybovaly od 2 do 8 minut, přičemž nejvyšší resistance byla pozorována u spor bakterie *Clostridium botulinum*.

3.3.6.3 Viry

Viry dokážou v potravinách přežít po dlouhou dobu, aniž by přestaly být infekční. Navíc k tomu, aby u člověka došlo k rozvoji střevního onemocnění, stačí nízké infekční

dávky. Mezi nejvýznamnější viry vyskytující se v potravinách patří například noroviry, rotaviry nebo viry hepatitidy A. Viry mohou kontaminovat potraviny před i po sklizni, přičemž přenos je možný z kontaminovaných potravin či vody a dále pak i z člověka na člověka (Pexara & Govaris 2020).

Noroviry jsou RNA viry patřící do rodu *Caliciviridae*. Jedná se o nejčastějšího původce akutní virové gastroenteritidy. Lidé se často mohou nakazit z konzumace škeblí, ovoce nebo zeleniny z důvodu jejich kontaktu s kontaminovanou vodou (Pexara & Govaris 2020). Akutní onemocnění se projevuje průjmami, nevolností, zvracením, bolestmi břicha a zvýšenou teplotou (Robilotti et al. 2015).

Účinky plazmy v likvidaci noroviru zkoumali Lacombe et al. (2017). V této studii byl použit myší norovirus inokulovaný na povrchu borůvek. Vzorky byly následně ošetřeny pomocí plazma jetu s frekvencí 47 kHz a výkonem 549 W. Dle výsledků studie ošetření inokulovaných borůvek po dobu 90 s způsobilo redukcii virových částic o více než 5 log KTJ.g⁻¹.

Mechanismus účinku plazmy na virové částice tkví zřejmě ve schopnosti nabitých a reaktivních částic plazmatu porušit jak strukturu, tak genom viru, jelikož plazma působí na proteiny i na nukleové kyseliny. Už jen změny v kapsidě mohou mít za následek ztrátu infekčnosti viru, z důvodu, že virus s narušenou kapsidou se nedokáže navázat na buněčné receptory hostitele (Filipic et al. 2020).

Plazma se ukázala být účinná nejen proti lidským, ale i proti rostlinným virům. Například proti Y viru bramboru, což je RNA virus patřící do rodu *Potyviridae*. Tento virus způsobuje listovou mozaiku brambor, což může způsobit zkroucení listů a zpomalení růstu rostliny. Následně může dojít až k nekróze listů (Karasev & Gray 2013).

Filipic et al. (2019) se zaměřili na působení studené plazmy na Y virus bramboru, přičemž použili nejdříve homogenát rostliny nakažené tímto virem a následně i čistý izolovaný virus v roztoku. V této studii byl použit plazma jet se směsí argonu a 1 % kyslíku. Napětí činilo 6 kV a frekvence 31 kHz. Minimální čas potřebný k inaktivaci viru v homogenátu rostliny činil 5 minut, zatímco u izolovaného viru stačila 1 minuta. Autoři studie navrhli jako možný důvod časového rozdílu přítomnost částí rostliny v homogenátu, což mohlo prodloužit čas potřebný k účinku částic plazmy na virové částice.

3.3.6.4 Plísně

Plísně jsou eukaryotické jedno nebo mnohobuněčné mikroorganismy, které se do potravin dostávají zejména z půdy, vody nebo ze vzduchu ve formě spor. Mykotoxiny jsou sekundární metabolity plísní, které se mohou vyznačovat akutní nebo chronickou toxicitou. Asi nejčastějším projevem akutní toxicity mykotoxinů je poškození funkce ledvin či jater, což může v závažných případech způsobit i smrt. Mykotoxiny mohou dále působit neurotoxicky, karcinogenně, teratogenně nebo například mutagenně (Pitt 2000).

Mezi plísně vyskytující se přirozeně v potravinách patří převážně tři rody: *Aspergillus*, *Penicillium* a *Fusarium*. Zatímco plísně rodu *Fusarium* se vyskytují zejména na obilovinách a produkují mykotoxiny před a těsně po sklizni, rody *Penicillium* a *Aspergillus* jsou spíše spojovány s růstem na potravinách během sušení či skladování (Pitt 2000).

Jedny z hlavních mykotoxinů, které je možné detekovat v potravinách, jsou aflatoxiny. Aflatoxiny mohou být akutně i chronicky toxické, jejich toxicita se projevuje zejména jaterním poškozením až cirhózou, teratogenními a karcinogenními účinky (Pitt 2000). Aflatoxiny se dělí do 4 typů: B1, B2, G1 a G2, přičemž písmena B a G označují jejich modrou či zelenou barvu pod UV světlem (Devi et al. 2017). Aflatoxiny jsou produkovány plísněmi rodu *Aspergillus*, a to konkrétně *Aspergillus parasiticus*, *Aspergillus flavus* a *Aspergillus nomius*. Tento rod plísní se vyskytuje zejména v oříšcích a olejnatých semenech. Jednou z nejčastějších plodin, kde se s těmito plísněmi lze setkat, je podzemnice olejná (Pitt 2000).

Účinek plazmy na likvidaci plísní a mykotoxinů byl zkoumán ve studii Devi et al. (2017), ve které byla inokulována semena podzemnice olejné plísněmi *A. parasiticus* a *A. flavus*. Následně byla semena ošetřena pomocí studené plazmy s výkonem 40 W nebo 60 W a napětím 1500 V, respektive 1950 V. Frekvence ošetření byla 13,56 MHz. Dle výsledků studie došlo k inhibici 97,9 % z celkového množství plísní *A. parasiticus* a 99,3 % plísní *A. flavus*. Zároveň bylo pozorováno snížení množství aflatoxinu B1 o více než 90 %.

Degradaci aflatoxinu B1 pomocí studené plazmy popsali ve své studii i Wang et al. (2015). V tomto experimentu byla použita radiofrekvenční plazma s výkonem 100, 200 a 300 W. Doba působení plazmy byla 10 minut. Při použitém výkonu 300 W došlo za 10 minut k redukci 88,3 % aflatoxinu B1. Dle analýzy struktury produktů vzniklých během degradace došlo u všech těchto produktů ke ztrátě původní dvojné vazby koncového furanového kruhu. Mechanismus účinku plazmy na eliminaci aflatoxinu B1 zřejmě tkví ve schopnosti poškodit tuto dvojnou vazbu.

3.3.7 Vliv plazmy na ostatní vlastnosti potravin

3.3.7.1 Barva

Barva ovoce a zeleniny je dána množstvím a druhem přírodních barevných pigmentů, které se mohou průběžně měnit během zrání plodů. Mezi tyto pigmenty se řadí například v tučných rozpustné chlorofyly (zelené) a karotenoidy (červené, oranžové nebo žluté), dále pak ve vodě rozpustné antokyany (modré či červené), flavonoidy (žluté) a betalainy (červené). Jestliže dojde vlivem poškození struktury plodů k oxidačním reakcím, může dojít ke tvorbě hnědých, šedých a černých pigmentů (Barett et al. 2010). Oxidace je společně s mikrobiální kontaminací nejčastější příčinou kažení potravin, přičemž hlavní oxidační reakcí je enzymatické hnědnutí. Na enzymatickém hnědnutí potravin se podílí primárně dva enzymy, polyfenoloxidáza (PPO) a peroxidáza (POD) (Ioannou 2013). Během této reakce dochází působením enzymů k oxidaci fenolových sloučenin a následně tvorbě tmavých pigmentů (Holderbaum et al. 2010). Zároveň dochází k nežádoucím změnám chuti a vůně plodin (Ioannou 2013).

Při nákupu je barva pro spotřebitele jedním z nejdůležitějších aspektů při výběru a preferenci potravin, může mít vliv i na prožitek z chuti a na celkový dojem z jídla (Clydesdale 1993).

Některé výzkumy účinku studené plazmy na barvu naznačují, že barevné změny během ošetření plazmou záleží na několika faktorech. Jedná se o podmínky během ošetření,

charakteristiku dané potraviny (zda je nakrájená či vcelku nebo například zda je pevná či v tekutém stavu), množství a druh pigmentů v potravine, dále také podmínky a délku následného skladování (Misra et al. 2016).

V rámci studie Tappi et al. (2016) byl zkoumán vliv studené plazmy na kvalitu vzorků krájeného melounu. Jedním ze zkoumaných atributů byla změna barvy po ošetření plazmou. Byla zde použita plazma s DBD výbojem, napětím 15 kV a frekvencí 12,5 kHz. Jako plyn zde byl použit vzduch. Vzorky byly ošetřeny po dobu 30 minut (15 minut z každé strany) a 60 minut (30 minut z každé strany). Po ošetření byly vzorky skladovány po dobu 4 dní při 10 °C a relativní vlhkosti 90 %. Barva vzorků byla měřena spektrofotokolorimetrem. Statisticky významný rozdíl byl zaznamenán pouze mezi vzorky ošetřenými 30 minut a kontrolními vzorky, a to po 2 a 4 dnech skladování. Obecně byl ale u ošetřených vzorků pozorován klesající trend u všech parametrů barvy, zároveň se na konci skladování vzorky jevíly jako tmavší a průsvitnější.

Co se týče výzkumu tekutých potravin, Hou et al. (2019) se zabývali účinky studené plazmy na barvu šťávy z borůvek. V rámci této studie byl použit plazma jet, použitým plynem byla zde směs argonu a kyslíku (koncentrace kyslíku byla 0; 0,5 nebo 1 %). Frekvence během ošetření byla 1000 Hz a napětí 11 kV. Doba ošetření byla 2, 4 nebo 6 minut. Dle výsledků nedošlo téměř k žádné změně mezi neošetřenými vzorky a vzorky ošetřenými plazmou.

3.3.7.2 Textura

Textura potravin je vnímána dotykem, a to jak při manipulaci pomocí dlaní či prstů nebo při žvýkání a polknutí. Na rozdíl od chuti lze ale texturu měřit i pomocí instrumentálních metod. Většina rostlinných potravin, včetně ovoce a zeleniny, obsahuje vysoké množství vody. Jejich textura je dána turgorem neboli vnitřním tlakem rostlinných pletiv, vlastnostmi střední lamely, která drží jednotlivé buňky pohromadě, a také složením buněčné stěny. Buněčná stěna rostlinných buněk se skládá z polymerů celulózy, hemicelulózy a pektinu, bílkovin a v případě zeleniny také ligninu (Barett et al. 2010).

Během procesu zrání dochází přirozeně k biochemickým změnám v buněčné stěně, což má za následek degradaci přítomných polymerů a měknutí ovoce či zeleniny (Payasi et al. 2009). Ztráta pevnosti buněčné stěny je poté i příčinou mikrobiální kontaminace plodů, s čímž se pojí i vysoké ekonomické ztráty (Pan et al. 2020).

Pro konzervaci ovoce a zeleniny se konvenčně velmi často používají metody využívající vysoké teploty, které ale vedou ke změnám ve vlastnostech těchto plodin, včetně změny textury (Liu et al. 2020). U celulózy a hemicelulózy však během vysokoteplotního zpracování ke změnám ve struktuře téměř nedochází. Většina změn, které lze zaznamenat u takto zpracovaného ovoce nebo zeleniny, se týká primárně struktury pektinu (Sila et al. 2008). Ošetření ovoce a zeleniny pomocí plazmy představuje alternativu, která by mohla plody konzervovat a výrazně tak prodloužit trvanlivost, aniž by došlo ke změnám ve struktuře buněčných stěn rostlin.

Na vliv plazmy na texturní parametry ovoce se zaměřil například výzkum Li et al. (2019). V tomto případě se studie týkala kvality jahod, které byly ošetřeny pomocí DBD plazmy s výkonem 45 kV po dobu 1 minuty. Následně byly skladovány v chladu při 4 °C po

dobu 1 týdne. Textura byla měřena přístrojem TMS-pro. Oproti kontrolním vzorkům plazma výrazně prodloužila pokles pevnosti textury, stejně došlo k oddálení gumovatění. Na pružnost a soudržnost neměla však plazma výrazný účinek.

Nicméně studie Sarangapani et al. (2017) dospěla k odlišnému výsledku. Tato studie se zabývala působením plazmy na kvalitu borůvek. V rámci výzkumu byly zkoumány i změny v textuře po ošetření borůvek plazmou. Použitým typem plazmy byl DBD výboj s výkonem 80 kV. Proces ošetření trval 5 minut. Následně byla textura měřena pomocí přístroje Instron texture analyzer. Z výsledků bylo zjištěno, že vzorky borůvek ošetřené plazmou vykazovaly výrazný pokles v pevnosti textury oproti neošetřeným vzorkům. Je tedy možné, že co se týče textury, ošetření plazmou nemusí být vhodné pro všechny typy plodin a je tedy potřeba více studií na toto téma, zejména působení plazmy na menší bobuloviny. V obou studiích byl však použit odlišný čas ošetření a jiné napětí, což mohlo mít na výsledek také vliv.

3.3.7.3 Enzymy

Enzymy jsou nezbytnou součástí fyziologie a metabolismu rostlin. Jsou to biokatalyzátory všech fyziologických procesů v rostlinách, řídí reakce katabolické i anabolické. Rostlinné enzymy lze rozdělit na dva typy. Prvním typem jsou endogenní enzymy nacházející se přirozeně v rostlinných tkáních, a které se podílí na růstu rostliny, barvě, textuře nebo například i obsahu nutričních látek. Dále se v rostlinách mohou vyskytovat i enzymy mikrobiálního původu. Tyto enzymy (ale i některé endogenní enzymy) mohou mít za následek nežádoucí změny v potravinách, případně i jejich kažení. I po sklizni během skladování probíhají v zelenině a ovoci stále fyziologické změny a dýchání. Aktivita endogenních enzymů je však v celých plodech kontrolována přirozenými mechanismy. Jakmile je rostlina vystavena určitému stresu, například infekci, poranění, různým formám zpracování (krájení, strouhání, loupání) apod., může dojít k narušení této regulace a ke zvýšené aktivitě endogenních enzymů. Příkladem může být již výše zmíněné enzymatické hnědnutí (Temiz & Ayhan 2017). Jedním z nejdůležitějších mechanismů konzervace ovoce zeleniny je právě inaktivace endogenních enzymů, které mají za následek změny barvy, textury, chuti a jiné nežádoucí procesy (Pankaj et al. 2013).

Surowsky et al. (2013) zkoumali vliv studené plazmy na PPO a POD, tedy dva hlavní enzymy iniciující enzymatické hnědnutí v ovoci a zelenině. PPO zde byla izolována z pečárky dvouvýtrusé a POD z křenu selského. Použitou plazmou byl plazma jet s výkonem 65 V a frekvencí 1,1 MHz. Čas ošetření se pohyboval od 0 do 360 sekund a jako plyn byl použit buď samotný argon, nebo směs argonu a 0,01 až 0,1 % kyslíku. Výsledky ukázaly, že míra inaktivace PPO pomocí plazmy závisela na složení plynů v plazmě a času ošetření. 90% snížení aktivity PPO bylo zaznamenáno po 120 sekundách s použitím argonu a 0,01 % kyslíku. Podobně tomu bylo po 350 sekundách s použitím 0,05 % kyslíku, stejně tak po 290 sekundách s použitím 0,1 % kyslíku. S použitím samotného argonu nebylo tohoto výsledku do uplynutí času 360 sekund dosaženo. Na POD byl účinek plazmy méně efektivní, 90% snížení nebylo za 360 sekund dosaženo ani s jedním z poměrů obou plynů. Nejúčinnější redukce byla pozorována u směsi argonu a 0,5 % kyslíku (85 %).

Působení plazmy na POD studoval i Pankaj et al. (2013). V této studii byla POD izolována z rajčat a následně ošetřena pomocí DBD plazmy s napětím 30, 40 a 50 kV po dobu 5 minut. Plynem zde byl vzduch. U všech tří napětí byla zaznamenána statisticky významná redukce aktivity POD.

Některé studie, které se zabývaly působením plazmy na další typy enzymů obsažené v jiných potravinách rostlinného původu, však přišly s odlišnými výsledky. Například ve studii Chen et al. (2016) byla ošetřena zrnka hnědé rýže pomocí plazmy s doutnavým výbojem a napětím 1-3 kV. Jako plyn byl použit vzduch a ošetření trvalo 10 minut. Následně byla zrnka rýže umístěna na Petriho miskách do inkubátoru, kde bylo zahájeno klíčení. Po vyklíčení byly vzorky lyofilizovány a uchovány při teplotě 4 °C. Posléze byl analyzován obsah α -amylázy, enzymu regulujícího klíčení semen. Bylo zjištěno, že aktivita tohoto enzymu byla po 24 hodinách klíčení výrazně vyšší u ošetřených vzorků než u kontrolních. V této studii bylo tedy naznačeno potenciální využití plazmy při klíčení rostlin. Vzhledem k výše popsaným antimikrobiálním účinkům plazmy by mohlo být dosaženo nejen rychlejšího klíčení, ale zároveň i dekontaminace semen a klíčků od případných patogenů. Je ale potřeba více studií, aby bylo ověřeno, jak vysoké napětí a jak dlouhé ošetření je v tomto případě efektivní tak, aby došlo k deaktivaci mikroorganismů, ale zároveň nebylo inhibováno klíčení (Bourke et al. 2018).

Co se týče mechanismu účinku plazmy na aktivitu enzymů, jelikož enzymy jsou látky bílkovinné povahy, působení plazmy pravděpodobně spočívá v reakci reaktivních sloučenin v plazmatu s vedlejšími řetězci aminokyselin. To následně způsobí změny ve struktuře bílkovin (Misra et al. 2016). Dle Takai et al. (2011) je možné, že volné radikály jako hydroxylový radikál ($\text{OH}\cdot$), superoxid ($\cdot\text{O}_2^-$), hydroperoxyd ($\cdot\text{HO}_2$) a oxid dusnatý ($\text{NO}\cdot$) obsažené v plazmatu reagují s aminokyselinami, zejména s aromatickými kruhy fenylalaninu, tyrosinu nebo tryptofanu.

3.3.7.4 Vitaminy

Strava s vysokým obsahem ovoce a zeleniny je dlouhodobě doporučována z důvodu obsahu prospěšných látek, kromě vlákniny a minerálů také například vitaminů. Jedná se zejména o vitaminy A a C (Slavin & Lloyd 2012). Vitamin C je jedním z hlavních antioxidantů v lidské výživě, zároveň působí jak kofaktor mnoha enzymů. Jelikož lidský organismus není schopný syntézy tohoto vitamínu, je nezbytné přijímat jej v rámci potravy (Fenech et al. 2019). Významným zdrojem vitamínu C jsou například citrusy, kiwi, jahody, brusinky nebo brokolice (Carr & Rowe 2020). Vitamin A je nezbytný pro správnou funkci imunitního systému, růst a vývoj, zrakové funkce a reprodukční systém. Z rostlinných zdrojů se vitamin A získává ve formě provitaminu karotenoidu (Arscott et al. 2010). Bohaté na karotenoidy jsou především oranžové a tmavě zelené druhy zeleniny a ovoce, například mrkev, pomeranč, dýně, špenát nebo mangold (Gilbert 2013).

Ve studii Misra et al. (2015) bylo zjištěno, že po ošetření plazmou došlo ve vzorcích jahod ke snížení obsahu vitamínu C. V tomto experimentu byla použita studená plazma s DBD výbojem, přičemž jako plyn byl zde použit vzduch. Vzorky jahod byly ošetřeny

napětím 60 a 80 kV vždy po dobu 1 nebo 5 minut. Byl zjištěn statisticky významný rozdíl mezi danými napětími, zatímco rozdíly mezi časy byly téměř zanedbatelné.

Podobně tak ve studii Hosseini et al. (2020) došlo též ke snížení množství vitamínu C v třešňové šťávě. Opět zde byla použita plazma s DBD výbojem a napětím 50 kV/cm po dobu 9 min. Použitý plyn byl argon s 1 % kyslíku. Po ošetření plazmou došlo ve vzorcích třešňové šťávy ke snížení obsahu vitamínu C o 21 %.

V obou studiích autoři naznačili možnost oxidace vitamínu C v ovoci působením kyslíkových molekul v ionizovaném plynu plazmatu, primárně ozonu. Účinek ozonu na vitamín C byl zkoumán již dříve, například dle výsledků Tiwari et al. (2009) došlo po působení 1,6 % w/w ozonu po dobu 3 minut k degradaci 24 % vitamínu C ve vzorcích jahodové šťávy.

Co se týče účinku plazmy na obsah karotenoidů, Ramazzina et al. (2015) zkoumali působení plazmy na množství karotenoidů v kiwi. Pro tento výzkum byla použita plazma s DBD výbojem a napětím 15 kV. Jako plyn byl použit vzduch. Vzorky kiwi byly ošetřeny po dobu 10 nebo 20 minut a následně byly 4 dny skladovány při 10 °C a relativní vlhkosti 95 %. Ihned po ošetření nebyl zaznamenán úbytek v množství karotenoidů, během následujícího skladování se však snížilo o 7 %.

3.3.7.5 Pesticidy

Pesticidy jsou početná a variabilní skupina chemických sloučenin, které slouží k hubení škůdců, usmrcení patogenů, ochraně rostlin, regulaci plevelů a také k likvidaci nežádoucích organismů v domácnostech, budovách atd. (Fenik et al. 2011).

S pesticidy se lze setkat na mnoha místech, kde se člověk denně pohybuje, například na pracovištích, ve školách či v domácnostech. Velké množství pesticidů se vyskytuje též v půdě, ve vzduchu a vodních plochách určených k rekreaci. V neposlední řadě s nimi člověk může přijít do styku v pitné vodě a potravinách. Do lidského organismu se posléze mohou pesticidy dostat vdechnutím, požitím, případně vstřebáním přes kůži nebo placentu (Gilden et al. 2010).

Díky používání pesticidů v zemědělství dochází k menším ztrátám během pěstování a skladování, nadměrné užívání pesticidů má však prokazatelně škodlivý účinek na lidské zdraví a životní prostředí. Obzvláště nebezpečná je jejich zvýšená přítomnost v potravinách. Vzhledem k jejich toxicitě, schopnosti akumulace v lidském organismu a stabilitě v životním prostředí vykazují pesticidy vysoké riziko otravy nebo onemocnění (Fenik et al. 2011).

Například ve studii Misra et al. (2014) byl zkoumán účinek plazmy na eliminaci některých druhů pesticidů ve vzorcích jahod. Použitými pesticidy v této studii byly azoxystrobin, cyprodinil, fludioxonil a pyriproxifen. Vzorky jahod byly na 15 sekund ponořeny do směsi těchto pesticidů a následně byly ponechány na vzduchu. Po uschnutí byly opět na 15 sekund ponořeny a ponechány na vzduchu. Poté byly vzorky ošetřeny DBD plazmou s napětím 60, 70 a 80 kV a frekvencí 50 Hz. Plynem zde byl vzduch a ošetření probíhalo po dobu 60, 120, 180, 240 a 300 sekund. Při použití napětí 80 kV po dobu 300 sekund došlo k redukci množství azoxystrobinu o 69 %, cyprodinilu o 45 %, fludioxonilu o 71 % a pyriproxifenu o 46 %.

Další studií, která se zabývala působením plazmy na snížení množství pesticidů v potravinách, byla studie Mousavi et al. (2017). V této studii byly použity vzorky okurek a jablek, které byly ponořeny do roztoků pesticidů diazinon a chlorpyrifos v koncentracích 500 ppm a 1000 ppm. Vzorky byly ponořeny do každého roztoku zvlášť po dobu 2 min a následně byly vysušeny. Poté byly ošetřeny pomocí DBD plazmy s frekvencí 13 kHz a napětím 10 a 13 kV po dobu 2, 4, 6, 8 a 10 minut. Obecně se nejvyšší redukce obou typů pesticidů dosáhlo při koncentraci 500 ppm, čase ošetření 10 minut a napětí 13 kV. Co se týče diazinonu, jednalo se u jablka o redukci 87,4 % a u okurky 82,2 %. Chlorpyrifos byl eliminován u jablka z 87 % a u okurky ze 74 %.

3.3.7.6 Problematika oxidace lipidů

Mezi částice obsažené v plazmatu patří mimo jiné i reaktivní sloučeniny kyslíku (například peroxid vodíku, hydroxylový radikál či superoxid), které jsou velmi přínosné pro antimikrobiální vlastnosti plazmatu. Zároveň mohou však odštěpit atom vodíku ze struktury mastných kyselin potravin bohatých na lipidy a způsobit tak oxidaci těchto lipidů. Lipidy se obecně skládají z mastných kyselin, a to nasycených, mononenasycených či polynenasycených v závislosti na počtu dvojných vazeb mezi uhlíky (Gavahian 2018). Právě kvůli přítomnosti dvojných vazeb jsou nenasycené mastné kyseliny více náchylné k oxidaci (Vieira et al. 2015). Typicky se jedná například o linolovou a α -linolenovou kyselinu obsahující dvě, respektive tři dvojně vazby (Gavahian 2018).

Ačkoli mají lipidy nezastupitelnou roli v lidské výživě a podílejí se jak na nutriční kvalitě, tak chuti potravin, oxidované lipidy se naopak vykazují toxickými účinky na buněčné procesy (včetně modulace genové exprese), mohou způsobit změny v chování buněk či přispět ke vzniku kardiovaskulárních onemocnění (Gavahian 2018).

Dle Jadhav & Annapure (2021) je možné oxidační účinky ošetření plazmou na potraviny bohaté na lipidy zmírnit či jim zabránit pomocí vhodné přípravy potraviny před ošetřením, optimalizací parametrů plazmy při ošetření a následně vhodnými skladovacími podmínkami. Oxidační účinky lze například snížit přidáním antioxidantů do potraviny, zkrácením času ošetření, snížením napětí či koncentrace kyslíku v nosném plynu. Ošetřená potravina by se měla poté skladovat ve vakuu či vzduchotěsném obalu, což zabrání dalšímu působení kyslíku na lipidy v potravinech.

Dopady působení plazmy na potraviny bohaté na lipidy musí být však dále studovány, aby se mohly případně zavést správné a ověřené postupy pro snížení nežádoucích oxidačních účinků plazmy na tyto potraviny, aniž by došlo k eliminaci žádoucích antimikrobiálních účinků.

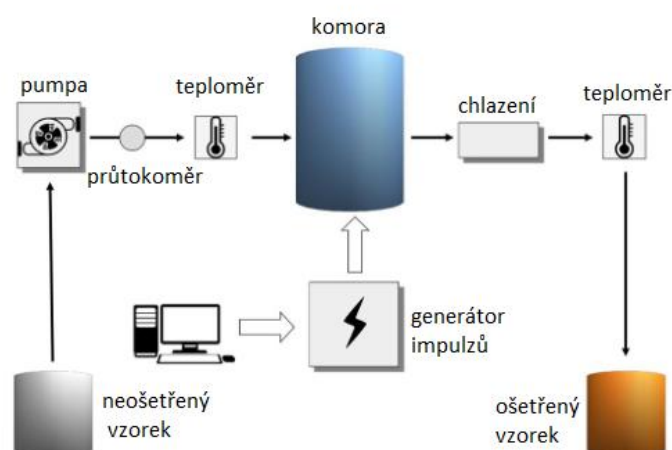
3.4 Další nízkoteplotní technologie ošetřování potravin

3.4.1 Pulzní elektrické pole

PEF je technologií využívající elektrické vlny s vysokým napětím. Potravina je umístěna mezi elektrodami, přičemž na ni působí krátké elektrické impulzy (od mikrosekund po milisekundy) vysokého napětí (10–80 kV/s) (obr. 8). Přestože bylo o této technologii již

publikováno více studií a do potravinářského průmyslu se dostala již před mnoha lety, stále je považována za technologii, která se teprve rozvíjí. Hlavním aspektem výzkumů týkajících se PEF je inaktivace enzymů a mikroorganismů v potravinách. Impulzy vysokého napětí rozrušují buněčnou membránu, která se tak stává propustná pro menší molekuly. To způsobí bobtnání buněk a jejich poškození (Nowosad et al. 2020). Účinky této technologie byly zkoumány primárně pro polotuhé a tekuté potraviny, například vejce, polévky nebo šťávy (Lasekan et al. 2016). Z tuhých potravin se jednalo například o brambory, které se ošetřily hned po oloupání či nařezání na kousky. Ošetřením došlo ke změně soudržnosti tkání, což vedlo k uvolnění sloučenin zapojujících se do Maillardovy reakce (aminokyseliny a redukující cukry). Ve smažených či pečených bramborových pokrmech se tak snížilo množství akrylamidu. Obecně je tato technologie považována za bezpečnou, jelikož dle dosavadních výzkumů nepředstavuje pro člověka nebezpečí. Některé studie však poukázaly na možnost uvolňování atomů kovů z elektrod (například nikl, železo nebo chrom) do tekutých potravin následkem koroze (Nowosad et al. 2020).

Dále je také zkoumána možnost využití PEF v kombinaci s jinými technologiemi (například UV záření či ošetření vysokým tlakem), což zvyšuje konzervační účinky a zároveň nedochází k nežádoucím změnám v sensorických vlastnostech potravin.



Obrázek 8: Schéma zařízení pro technologii PEF (převzato a upraveno od Nowosad et al. 2020).

3.4.2 Ošetření vysokým tlakem

Další nízkoteplotní technologií je ošetření vysokým tlakem neboli paskalizace, při které je potravina ošetřena vysokým tlakem (v rozmezí 300–600 MPa) po dobu několika sekund až po desítky minut. Potravina je v pružném obalu umístěna přímo v pracovním médiu (nejčastěji voda). Pomocí vysotlakého čerpadla dochází ke zvyšování tlaku, který se přenáší na ošetřovanou potravinu. Tlak je během působení rovnoměrně rozprostřen v celém vzorku, čímž nevznikají nadměrně ošetřené části (Abera 2019). Hodí se spíše na potraviny obsahující

velké množství vody s ohledem na případnou změnu struktury. Tato technologie umožňuje konzervaci potravin bez většího účinku na chuťové, texturní nebo nutriční vlastnosti. Ošetření pomocí vysokého tlaku bylo úspěšně použito na likvidaci bakterií rodu *Listeria* a *Salmonella*, stejně tak bakterie *E-coli* či různých plísní nebo kvasinek (Yordanov & Angelova 2010).

3.4.3 Vysokointenzivní ultrazvuk

Technologii s využitím vysokointenzivního ultrazvuku je možné v potravinářském průmyslu použít pro inaktivaci enzymů či mikroorganismů nebo například také k sušení a rozmrazování, zejména účinná je tato technologie při ošetřování potravin v tekutém stavu (Vanga et al. 2021). Zatímco ultrazvuk je oblast frekvence pohybující se od 18 kHz do 100 MHz, vysokointenzivní ultrazvuk se pohybuje ve frekvencích nižších, a to od 20 kHz do 100 kHz. To má za následek mechanické, fyzikální i chemické změny v dané potravine. Hlavním mechanismem tohoto ošetření je akustická kavitace neboli vznik bublin v potravine a jejich následný kolaps. Jakmile ultrazvukové vlny projdou potravinou, začnou interagovat s přítomnou tekutinou a rozpuštěným plynem, čímž dojde ke vzniku tzv. kavitačních jader, ze kterých se následně tvoří kavitační bubliny. Působením vln dochází postupně ke zvětšování bublin, až dosáhnou kritické velikosti a zhroutní se. V oblastech zhroucení bublin vzniká velmi vysoký tlak, tvoří se smykové energetické vlny a turbulence. Vodní pára se v důsledku kolapsu bublin rozpadá na hydroxylové radikály a atomy vodíku (jedná se například o •OH, •H, O• a OOH•). Přítomnost těchto volných radikálů a excitovaných částic má posléze za následek inaktivaci přítomných mikroorganismů (Khan et al. 2020).

4 Metodika

4.1 Materiál

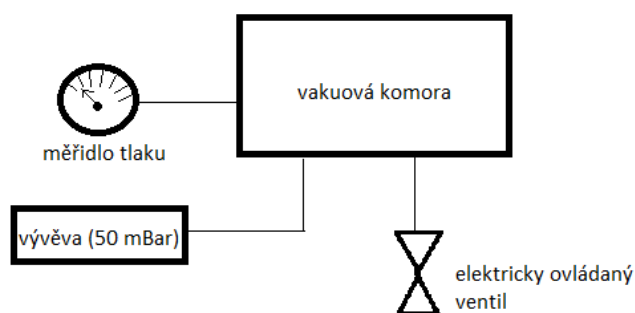
Experimentální část práce probíhala ve Výzkumném ústavu potravinářském Praha, v.v.i. v Hostivaři a částečně také ve Fyzikálním ústavu Akademie věd ČR. Pro pokus bylo použito více druhů ovoce a zeleniny, konkrétně se jednalo o mrkev, jablko (odrůda Golden Delicious) a řepu. Pomocí nízkotlaké plazmy byly z důvodu nedostatku času ošetřeny pouze vzorky mrkve. Čerstvé nepoškozené plody byly zakoupeny v supermarketu a tentýž den ošetřeny. Vzorky jablek a mrkve byly ponechány neoloupané, došlo pouze k jejich nakrájení na menší kousky přibližně stejné velikosti. Vzorky řepy byly před nakrájením i oloupany. Nakrájené plody byly umístěny do zavařovacích sklenic Orion s víčkem se závitem o objemu 0,37 l a v těchto sklenicích ošetřeny pomocí vakua či nízkotlaké plazmy. Před samotným ošetřením byly ještě provedeny analýzy neošetřených vzorků.

Popsanému experimentu předcházela série pokusů, při kterých byl použit odlišný typ zavařovacích sklenic (sklenice Omnia s víčky bez závitu). Během těchto pokusů docházelo ovšem k problémům při vakuování, jelikož víčka na sklenicích nedržela a při ošetřování odpadávala. V této práci jsou tedy uvedeny pouze výsledky experimentu se sklenicemi Orion, kde tento problém nenastal díky víčkům se závitem.

4.2 Ošetření vzorků

4.2.1 Vakuum

Jelikož jedním z cílů práce bylo porovnat účinky ošetření pomocí plazmy s konvenční technologií, byla v první fázi experimentální části práce použita vakuová aparatura (obr. 9).



Obrázek 9: Vlevo je znázorněno schéma vakuové aparatury, vpravo je reálný snímek (vlastní zdroj).

Pro každý druh ovoce či zeleniny bylo použito 10 sklenic. Sklenice byly postupně umístěny do vakuové komory s poklopem, který dosedal na spodní část komory tak, aby došlo k úplnému utěsnění (obr. 10). Následně byl z komory odebrán vzduch membránovou vývěvou. Pomocí měřidla tlaku byl naměřen tlak 50 mBar, kterým byly sklenice s plody ošetřeny.

Jakmile bylo dosaženo tlaku 50 mBar, došlo k opětovnému zvýšení tlaku ve vakuové komoře na tlak atmosférický (1 bar). Tohoto zvýšení tlaku bylo díky elektricky ovládanému ventilu dosaženo velmi rychle, což způsobilo žádoucí přísátí víček ke sklenicím. Zda jsou víčka správně přisátá, bylo po ošetření ručně zkontrolováno. Přítomnost podtlaku ve sklenici byla viditelná i díky prohnutému víčku.



Obrázek 10: Sklenice před ošetřením ve vakuové komoře. Vpravo se nachází poklop, kterým byla následně komora utěsněna (vlastní zdroj).

Po ošetření byla polovina sklenic skladována v chladírenských teplotách, zatímco druhá polovina byla ponechána v pokojové teplotě. V chladírenských podmínkách byly vzorky skladovány po dobu 5 týdnů, přičemž každý týden bylo provedeno měření pH, barvy a textury. Zároveň probíhala po dobu 3 týdnů mikrobiologická a senzorická analýza. Obě analýzy byly po 3 týdnech ukončeny z důvodu vysokého nárůstu mikrobů ve vzorcích.

V pokojové teplotě byly vzorky skladovány jen po krátkou dobu, jelikož došlo k jejich zplesnivění již po týdnu (obr. 11).

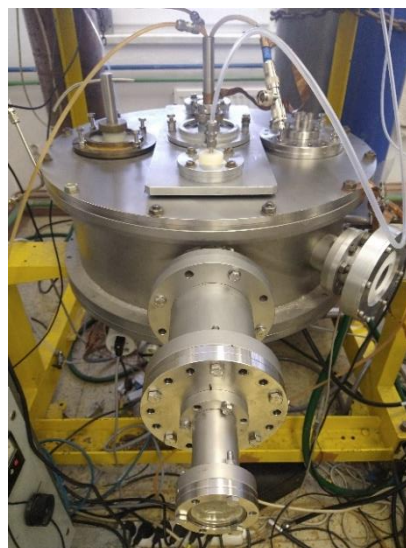
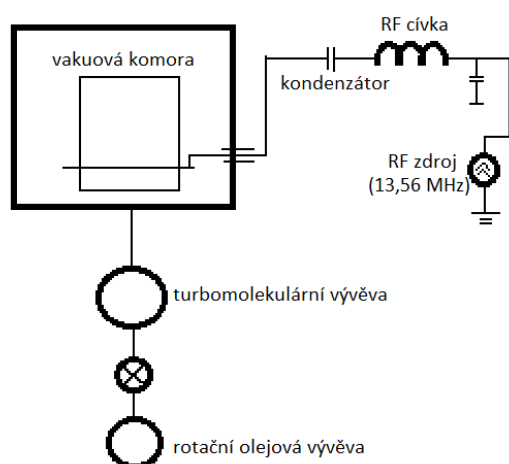


Obrázek 11: Vzorky jablek (vlevo), které byly ošetřeny pomocí vakua a následně skladovány v pokojové teplotě, kde došlo k jejich rychlému zplesnivění (vlastní zdroj).

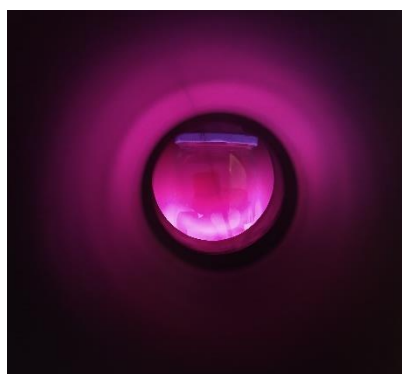
4.2.2 Nízkotlaká plazma

Z důvodu zpoždění dodání aparatury nízkotlaké plazmy nebylo bohužel možné realizovat experiment včas a v plném rozsahu. Byl proveden pouze krátký experiment, ve kterém byly ošetřeny vzorky mrkve pomocí radiofrekvenční nízkotlaké plazmy ve Fyzikálním ústavu Akademie věd ČR (obr. 12).

Celkově bylo ošetřeno 8 sklenic se vzorky, které byly postupně umístěny do vakuové komory, přičemž doba ošetření každé sklenice byla 3 minuty (obr. 13). Použitým plynem pro generaci plazmatu byl dusík, jehož průtok byl 223 sccm (ml/min při tlaku 1 atmosféra). Frekvence RF zdroje plazmy činila 13,56 MHz, výkon zařízení byl nastaven na 100 W. Hodnota napětí se pohybovala od 180 V do 350 V, hodnota tlaku ve vakuové komoře pak od 0,1 do 0,47 mBar. Vakuum bylo tvořeno pomocí turbomolekulární a rotační olejové vývěvy. Po ošetření byly vzorky skladovány v chladu. Po 3 dnech skladování bylo provedeno měření barvy, textury pH a také mikrobiologická analýza.



Obrázek 12: Vlevo je znázorněno schéma nízkotlaké radiofrekvenční plazmy Fyzikálního ústavu AV ČR. Vpravo je reálný snímek zařízení (vlastní zdroj).



Obrázek 13: Ošetření vzorků mrkve ve sklenici pomocí radiofrekvenční nízkotlaké plazmy (vlastní zdroj).

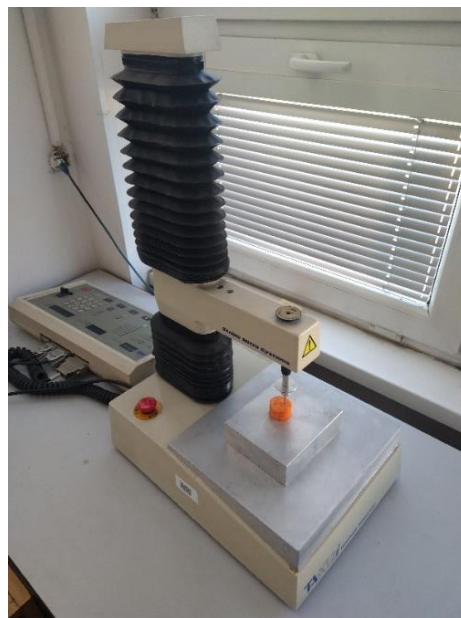
4.3 Analýzy

4.3.1 Měření pH, textury a barvy

Veškeré analýzy experimentální části probíhaly v laboratořích Výzkumného ústavu potravinářského Praha, v.v.i. Měření pH, textury a barvy bylo uskutečňováno každý týden, přičemž bylo během každé z analýz provedeno vždy 6 měření pro každý druh ovoce či zeleniny. Ze získaných výsledků byly poté vypočteny průměry.

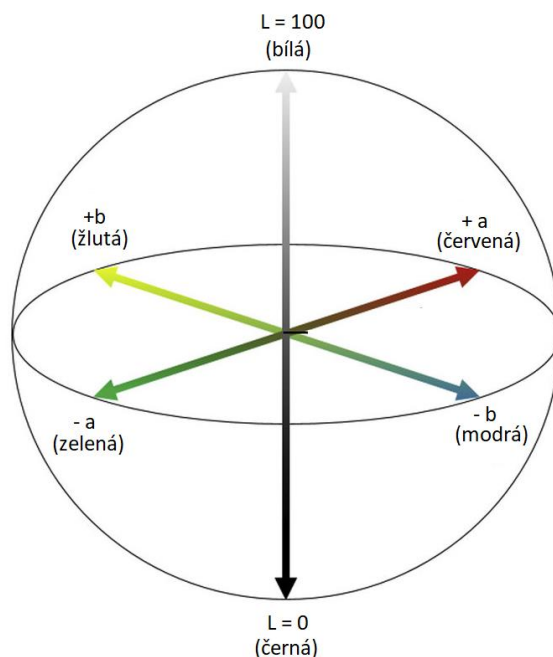
Pro měření hodnoty pH byl použit pH metr, výsledky byly zaznamenány do tabulky a převedeny do grafů.

Textura plodů byla měřena pomocí přístroje TA-XT2i Texture Analyzer od firmy Stable Micro Systems (obr. 14). Tento přístroj má pevnou podložku, která slouží k umístění vzorku. Dále obsahuje pohyblivé rameno se snímačem síly (tenzometrický můstek), které se může pohybovat nahoru či dolů v závislosti na tom, zda chceme, aby byl vzorek stlačován (penetrován) či naopak natahován. Síla je měřena v závislosti na poloze měřicí sondy. Tyto údaje jsou přenášeny do počítače a zobrazovány ve formě křivek grafu, které po další analýze indikují texturu vzorku. Na pohyblivé rameno lze připevnit různé druhy nástavců a sond dle typu zkoumaného vzorku. Lze tak měřit například křupavost, žvýkatelnost, lepivost, pružnost a další vlastnosti. Pro měření lze nastavit parametry dle potřeby, pro účely experimentu v této práci byla nastavena rychlost měření na 1 mm/s a hloubka penetrace na 4 mm. Použitým senzorem byla válcová sonda o průměru 2 mm. V získaných křivkách ze všech měření byla následně označena vždy maximální naměřená síla, jejíž hodnota byla uložena do tabulky. Získaná data z měření byla statisticky zpracována.



Obrázek 14: Měření textury vzorků mrkve přístrojem TA-XT2i Texture Analyzer (vlastní zdroj).

Barva byla měřena kolorimetrem Minolta CR-300 pomocí barevného modelu $L^*a^*b^*$, který představuje barevný prostor se třemi souřadnicemi vyjadřující jednotlivé odstíny barev. Parametr L^* označuje jas a je reprezentován svislou osou od černé (0) do bílé (100). Parametr a^* vyjadřuje červeno-zelenou složku, kde záporné hodnoty vyjadřují zelenou barvu a kladné červenou. Parametr b^* označuje žluto-modrou složku, přičemž záporné hodnoty vyjadřují modrou barvu a kladné žlutou (obr. 15). Kolorimetr sestával z měřící sondy CR-300 a datového procesoru DP-301 (obr. 16). Naměřené hodnoty L^* , a^* , b^* byly přenášeny do počítače a zpracovány v programu ChromaMagic (verze 1).



Obrázek 15: CIELAB neboli $L^*a^*b^*$ barevný systém představující vztah barev na třech osách (převzato a upraveno od Ly et al. 2020).



Obrázek 16: Kolorimetr Minolta CR-300, pomocí kterého byla měřena barva (vlastní zdroj).

4.3.2 Mikrobiologická analýza

Metoda mikrobiologické analýzy spočívala v navážení vzorku do sterilního sáčku a následného naředění fyziologickým roztokem v poměru 1 díl vzorku : 9 dílů fyziologického roztoku. Obsah sáčku byl posléze homogenizován ve Stomacheru po dobu 2 minut, čímž vzniklo 1. ředění analyzovaného vzorku. Následně byla vytvořena ředící řada smícháním vždy 1 ml z předchozího ředění a 9 ml fyziologického roztoku. Poté byly vzorky rozetřeny na Petriho miskách s kultivačním médiem a nechaly se kultivovat při vhodné teplotě po dobu potřebnou pro růst jednotlivých mikroorganismů.

4.3.3 Senzorická analýza

Senzorické analýzy ovoce a zeleniny se zúčastnilo 14 hodnotitelů. Hodnocení vakuovaných vzorků jablek, mrkve a červené řepy probíhalo jednou týdně po dobu tří týdnů. Hodnoceny byly senzorické deskriptory: vzhled, chuť, barva dužniny, vůně, textura a celkový dojem. Vzorky byly hodnoceny dle ordinální hédonické stupnice sestávající z bodů: 1-výborný; 2-velmi dobrý; 3-dobrý; 4-méně dobrý; 5- nevyhovující (obr. 17).



Obrázek 17: Senzorická analýza jablek, mrkve a červené řepy (vlastní zdroj).

4.3.4 Statistické vyhodnocení

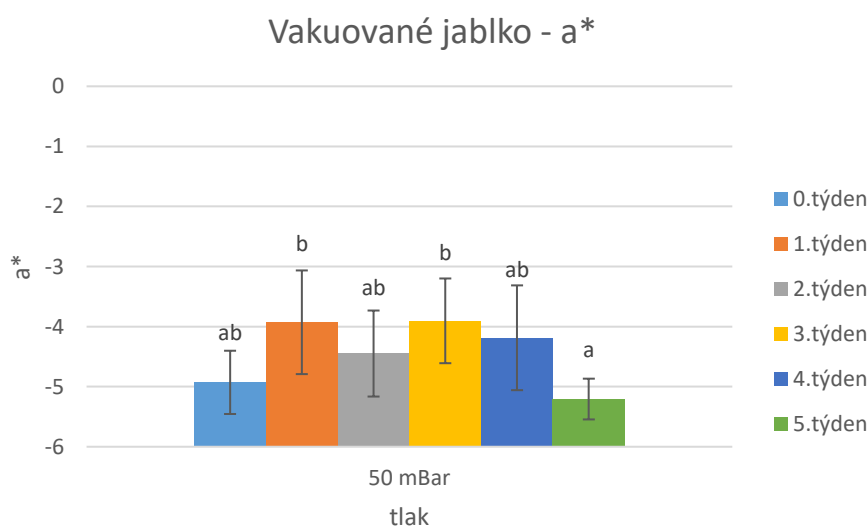
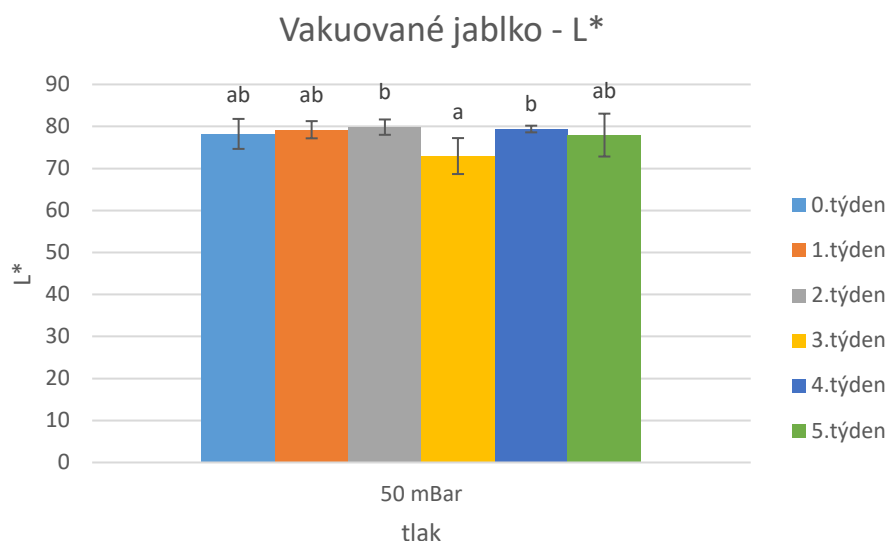
Statistické hodnocení bylo provedeno v programech Microsoft Excel a QCExpert 3.1. Nejdříve byly v programu Excel vypočteny průměry a intervaly spolehlivosti z jednotlivých měření barvy, textury a pH jednotlivých vzorků jablek, mrkve a červené řepy. Data ze senzorické analýzy byla vyjádřena jako medián hodnocení jednotlivých deskriptorů a následně převedena do paprskového grafu. Výsledky všech měření včetně mikrobiologické analýzy byly též převedeny do grafů, případně do tabulek. Následně bylo pomocí studentova t-testu a analýzy rozptylu v programu QCExpert 3.1 určeno, zda došlo ke statisticky významným rozdílům v attributech ovoce a zeleniny během skladování.

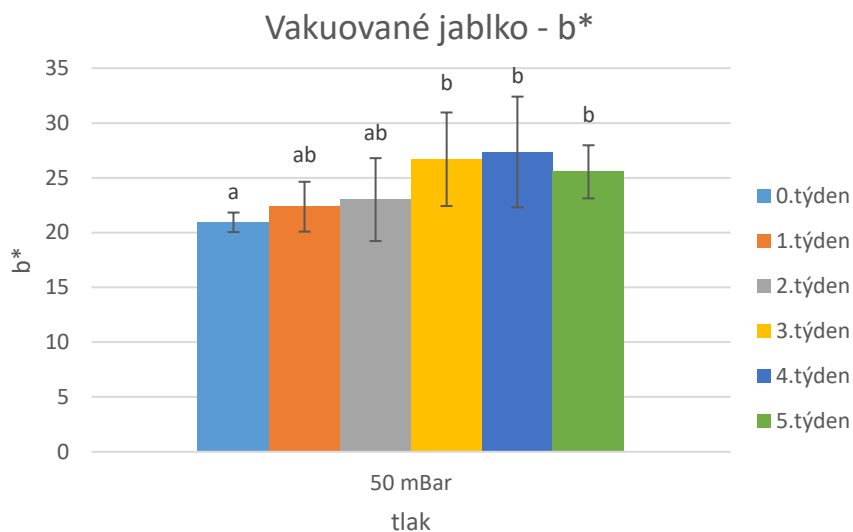
5 Výsledky

5.1 Ošetření pomocí vakua

5.1.1 Barva

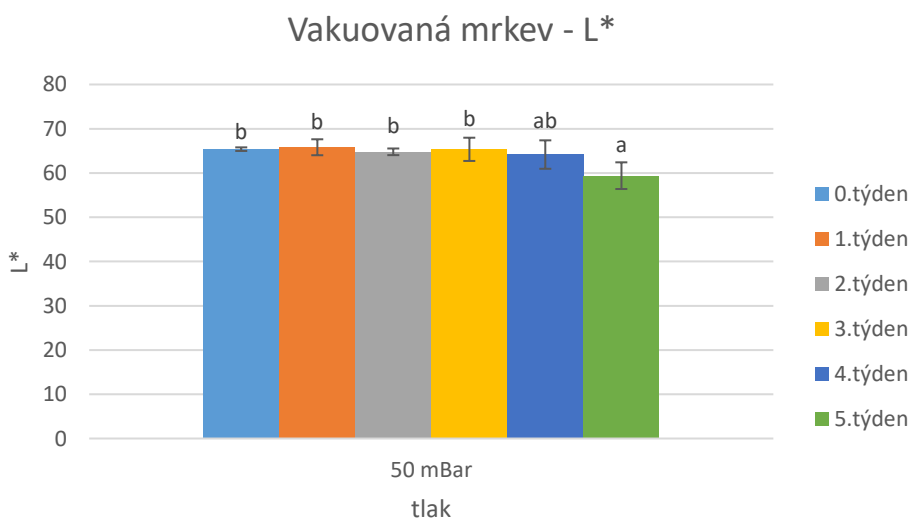
Ke statisticky významným změnám, co se týče parametru L^* , došlo u vzorků vakuovaných jablek mezi 2., 3. a 4. týdnem skladování. Hodnoty parametru a^* zůstaly po celou dobu skladování vakuovaných jablek v záporných hodnotách, což značí zelený odstín na zeleno-červeném spektru. Statisticky významné rozdíly byly pozorovány mezi 1., 3. a 5. týdnem skladování. U parametru b^* nedošlo k významným statistickým změnám až do 3. týdne skladování, od kdy byl zaznamenán nárůst v hodnotách parametru b^* . Výsledky měření barvy vakuovaných jablek jsou zaznamenány v grafech 1-3.

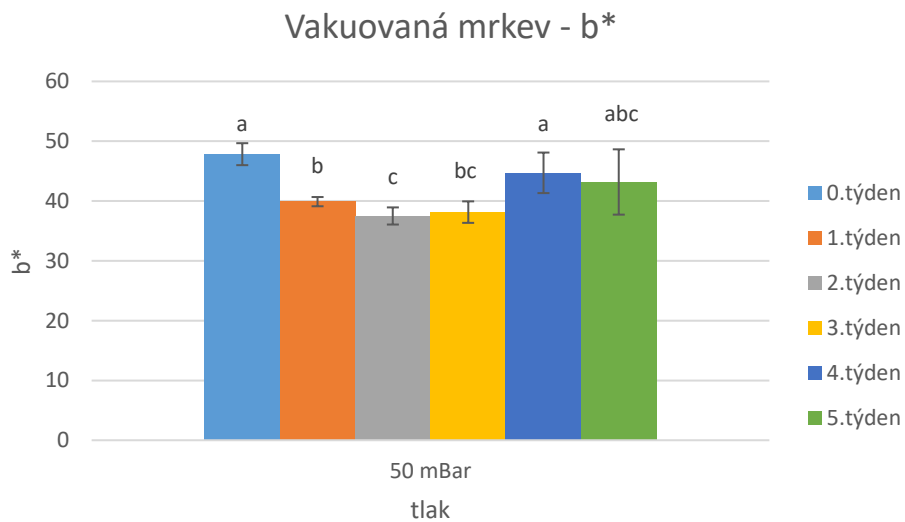
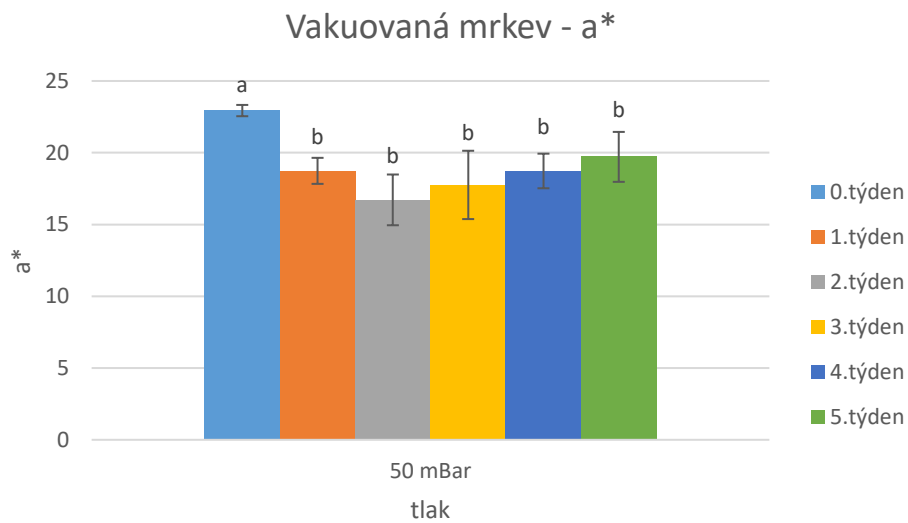




Graf 1-3: Naměřené hodnoty parametrů L*, a* a b* vakuovaných vzorků jablek během 5 skladovacích týdnů. Odlišná písmena značí statisticky významný rozdíl na hladině významnosti 0,05 ($p < 0,05$).

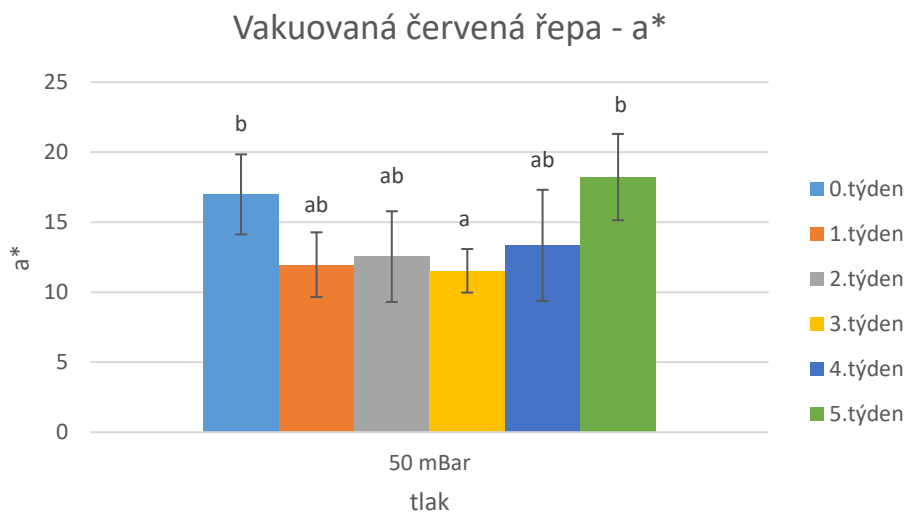
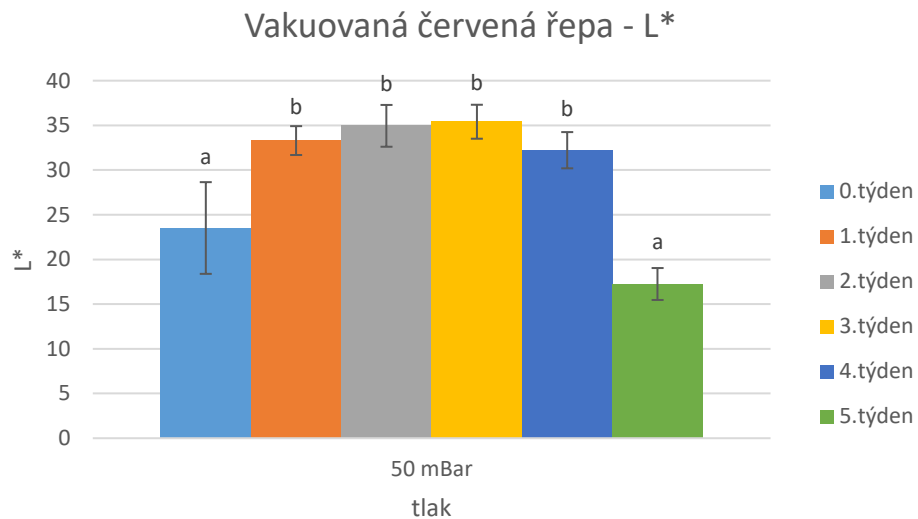
Rozdíly mezi hodnotami parametru L* u vakuované mrkve zůstaly až do čtvrtého týdne skladování bez statisticky významného rozdílu. Pátý týden skladování došlo pak ke snížení jasu vzorků mrkvi. U parametru a* došlo ke statisticky významnému poklesu již první týden skladování, následně zůstaly hodnoty bez významného rozdílu až do konce skladování. Hodnoty parametru b* významně poklesly první dva týdny skladování, čtvrtý týden následně došlo opět k nárůstu. Tento trend mohl být však mimo jiné způsoben i variabilitou ve vzorcích. Výsledky měření barvy vzorků mrkve jsou znázorněny v grafech 4-6.

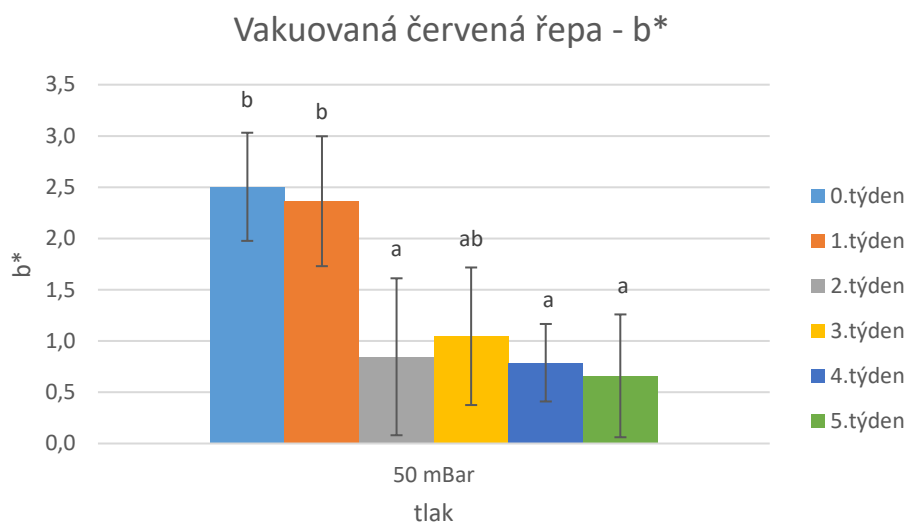




Graf 4-6: Naměřené hodnoty parametrů L^* , a^* a b^* vakuovaných vzorků mrkve během 5 skladovacích týdnů. Odlišná písmena značí statisticky významný rozdíl na hladině významnosti 0,05 ($p < 0,05$).

Jas řepy L^* významně vzrostl během 4 týdnů skladování, poslední týden došlo opět k jeho poklesu. Naopak u parametru a^* , který na počátku skladování klesal, došlo poslední týden skladování k významnému nárůstu. Hodnoty parametru b^* signifikantně poklesly 2. týden skladování, posléze se již příliš neměnily. Výsledky měření jsou zaznamenány v grafech 7-9.

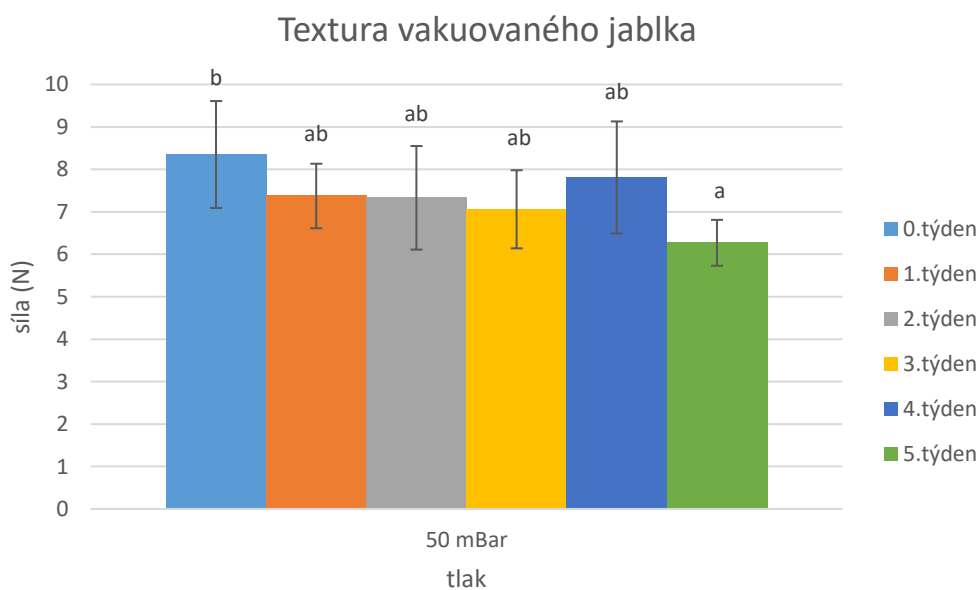


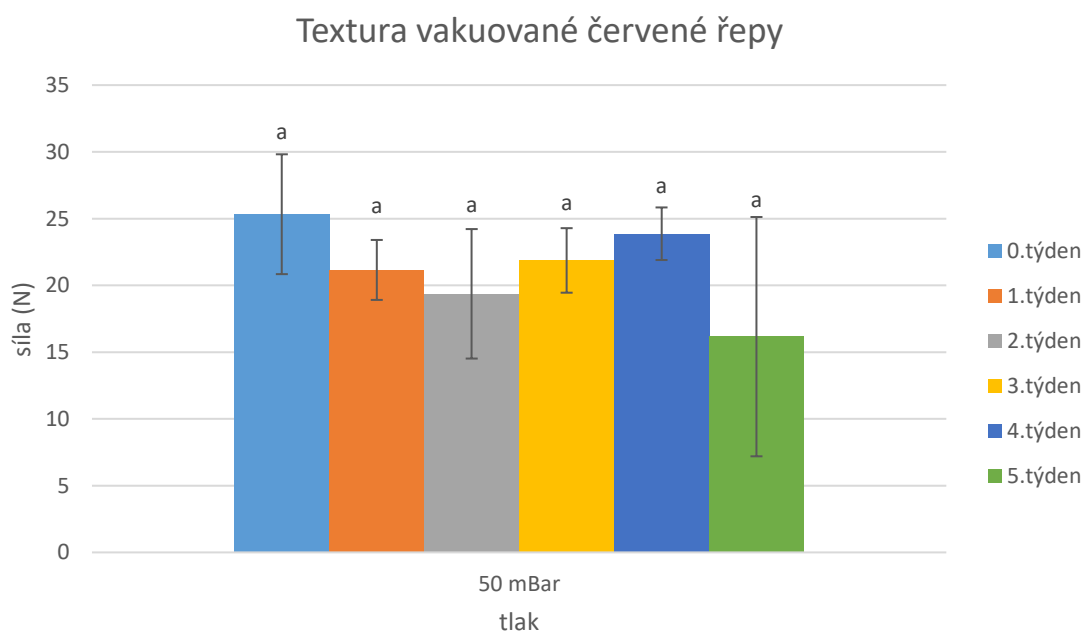
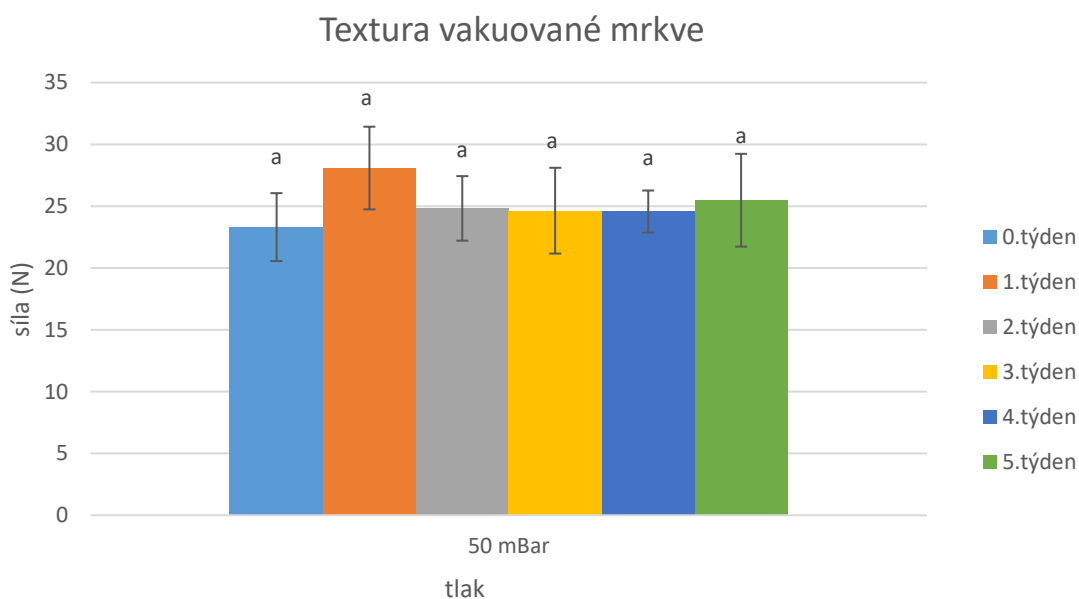


Graf 7-9: Naměřené hodnoty parametrů L*, a* a b* vakuovaných vzorků červené řepy během 5 skladovacích týdnů. Odlišná písmena značí statisticky významný rozdíl na hladině významnosti 0,05 ($p < 0,05$).

5.1.2 Textura

Během 5 skladovacích týdnů byl zaznamenán statisticky významný rozdíl mezi 0. a 5. týdnem skladování u vzorků vakuovaných jablek. Vzorky mrkve si naopak ponechaly původní kvalitu textury po celou dobu skladování, stejně tak vzorky červené řepy, kde byl ovšem poslední týden skladování naměřen velký rozptyl mezi jednotlivými vzorky. Výsledky měření textury jednotlivých plodin jsou znázorněny v grafech 10-12.

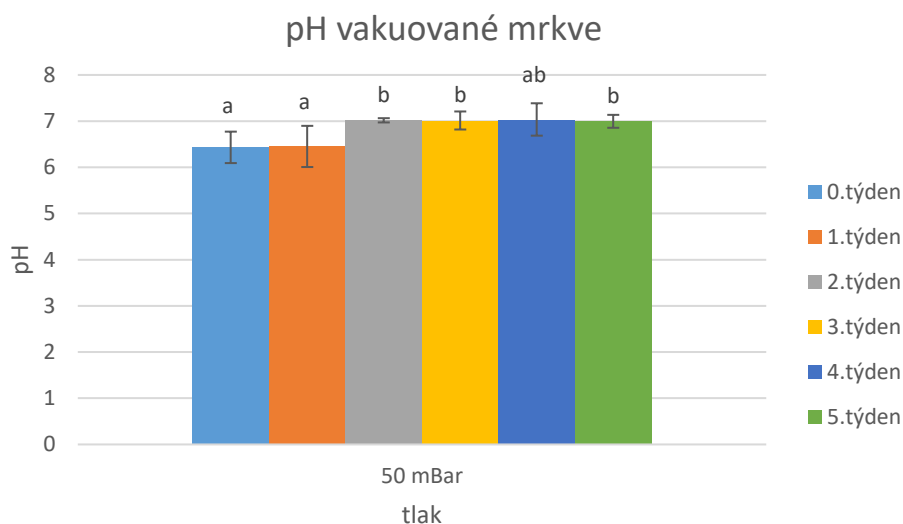
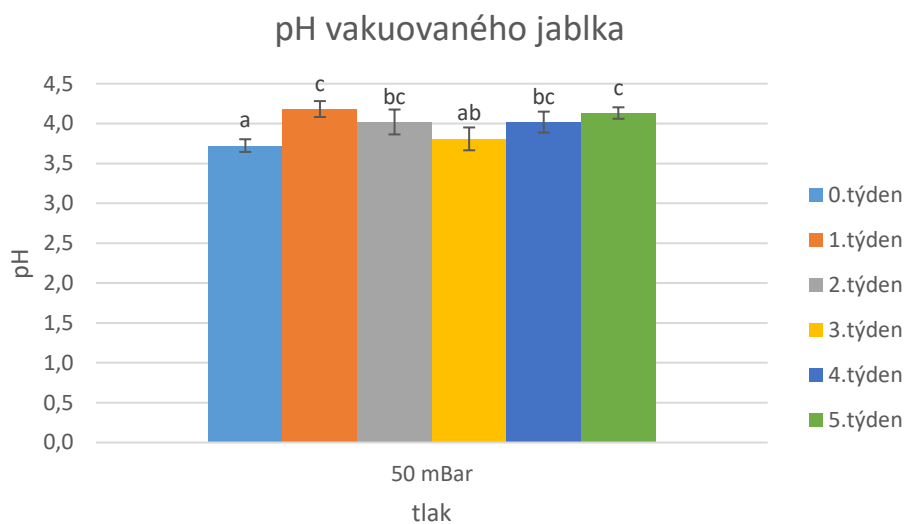


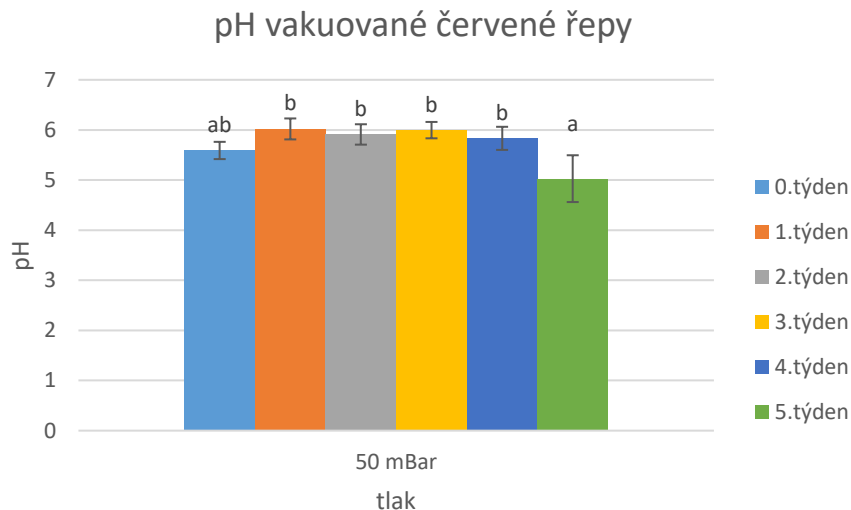


Graf 10-12: Pevnost textury vakuovaných vzorků jablek mrkve a červené řepy během 5 skladovacích týdnů. Odlišná písmena značí statisticky významný rozdíl na hladině významnosti 0,05 ($p < 0,05$).

5.1.3 pH

Při měření hodnoty pH byly u všech tří druhů zkoumaných plodin zaznamenány statisticky významné změny během skladování. Obecně se hodnota pH spíše zvyšovala, výjimku tvoří 3. týden skladování u vakuovaného jablka, kdy bylo naměřeno opět mírně nižší pH a poslední týden skladování u červené řepy, kdy došlo též ke snížení hodnoty pH vzorků. Výsledky měření pH jsou znázorněny v grafech 13-15.

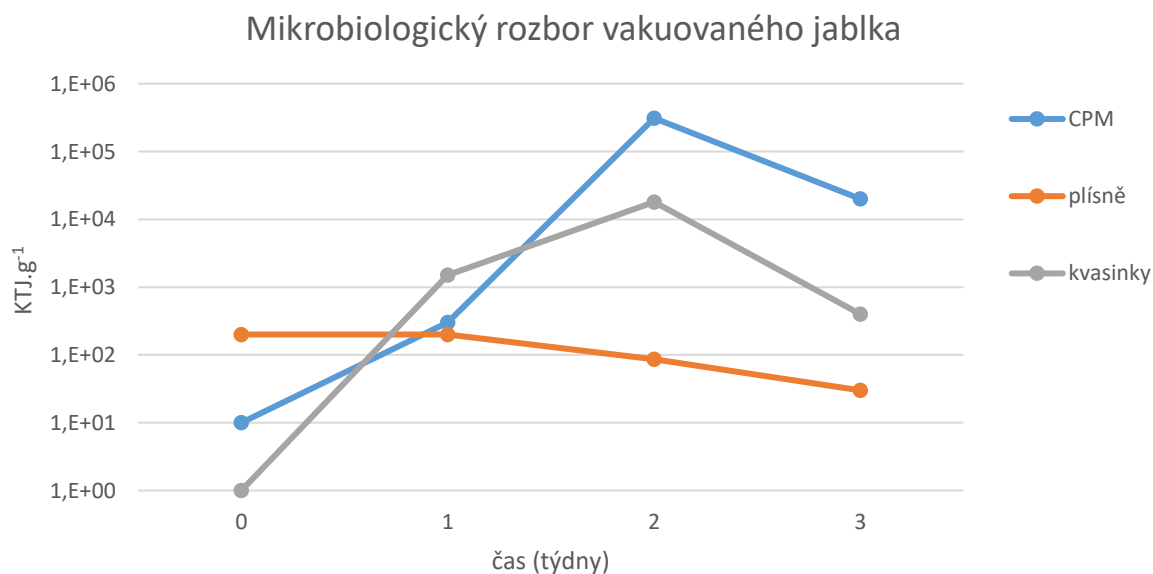


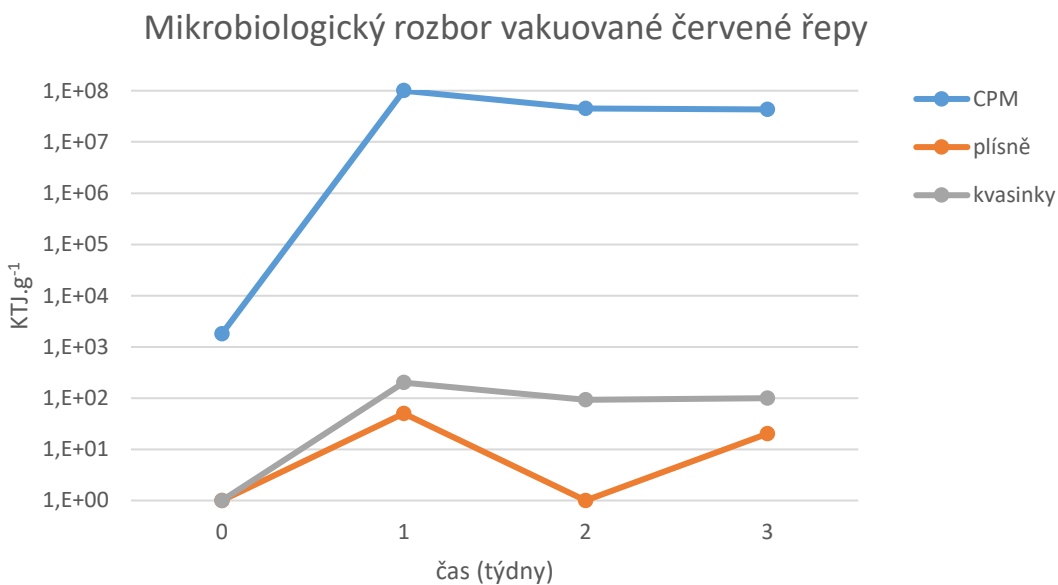
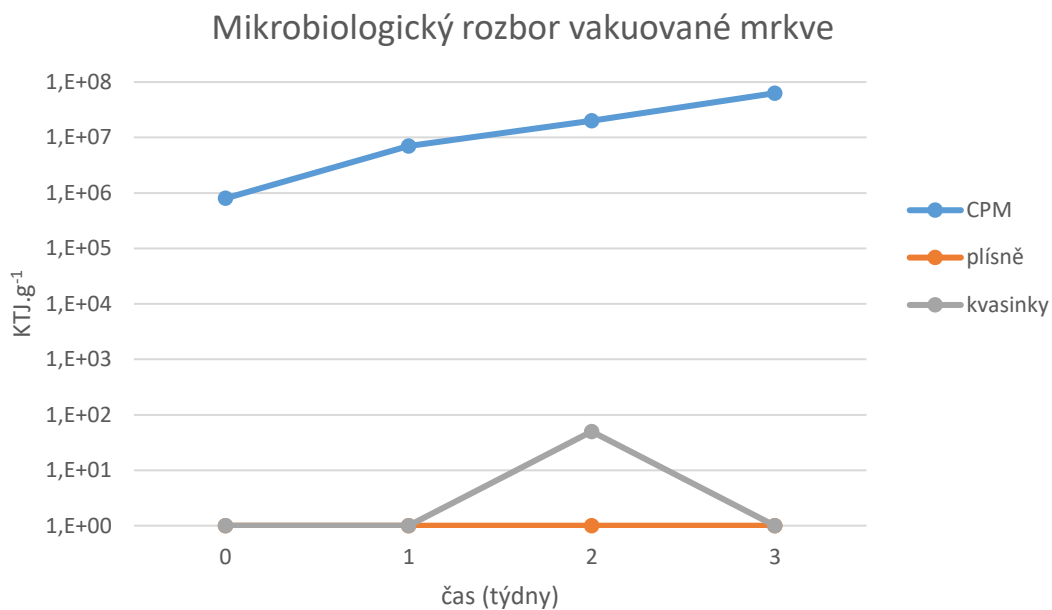


Graf 13-15: Hodnota pH vakuovaných vzorků jablek mrkve a červené řepy během 5 skladovacích týdnů. Odlišná písmena značí statisticky významný rozdíl na hladině významnosti 0,05 ($p < 0,05$).

5.1.4 Mikrobiologická analýza

Mikrobiologický rozbor ukázal nárůst mikroorganismů u všech tří druhů vakuovaných plodin. Jednalo se zejména o stoupající hodnoty celkového počtu mikroorganismů, a to již od prvního týdne skladování. Zatímco u mrkve a červené řepy byl zpozorován pouze mírný nárůst kvasinek, případně plísní, u jablka byly již 0. týden skladování detekovány plísně a během skladování došlo i k vyššímu nárůstu kvasinek. Výsledky mikrobiologické analýzy jsou zaznamenány v grafech 16-18.





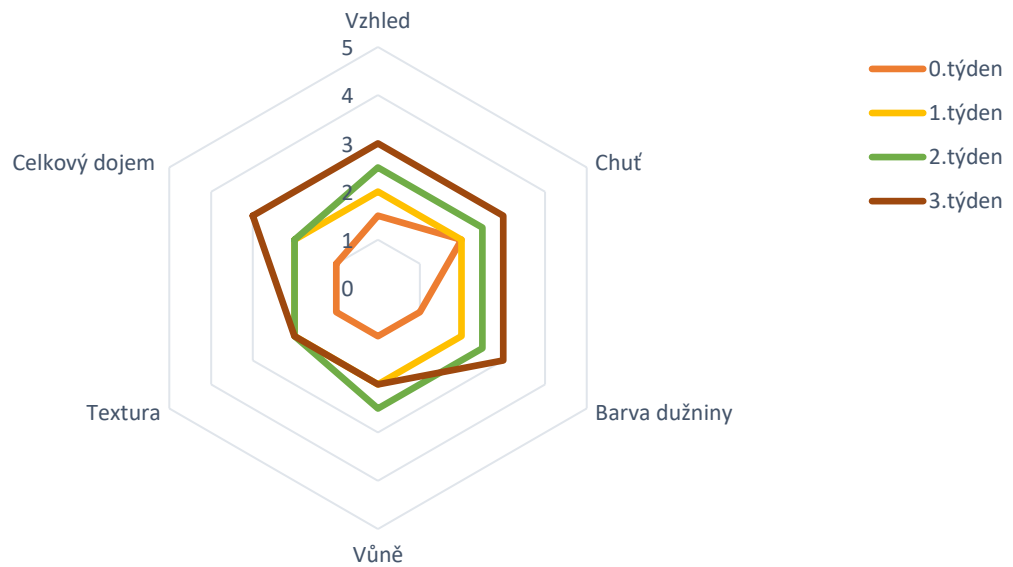
Graf 16-18: Výsledky mikrobiologického rozboru vakuovaného jablka, mrkve a červené řepy během třítydenního skladování (pozn.: pro lepší názornost grafu jsou hodnoty $\text{KTJ}\cdot\text{g}^{-1}$ pod limitem detekce označeny jako hodnota „1“).

5.1.5 Senzorická analýza

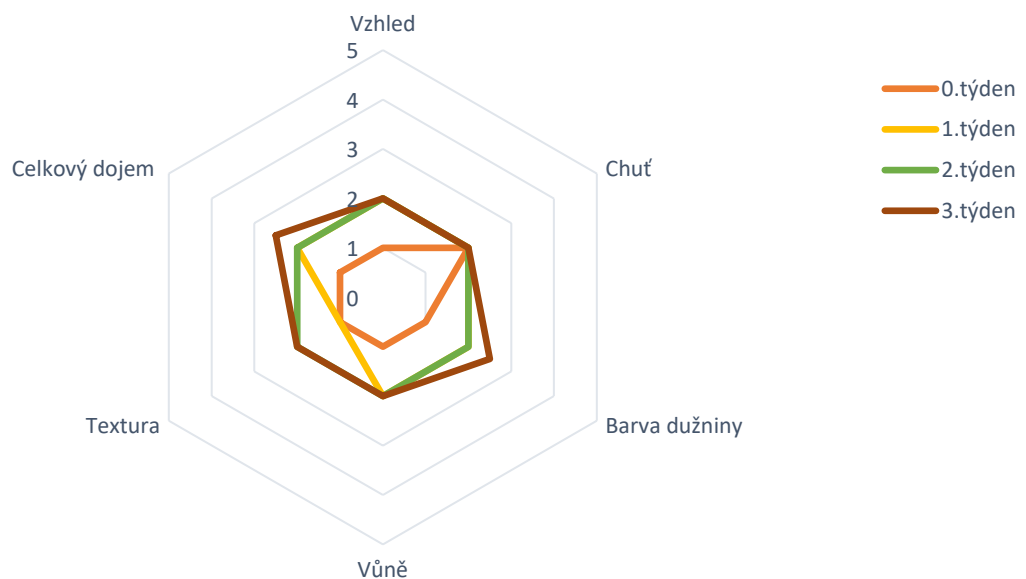
Výsledky senzorické analýzy ukázaly, že během 3 skladovacích týdnů jablek ošetřených pomocí vakua došlo dle hodnotitelů ke snížení vizuální i chuťové kvality

ošetřených plodů. Analýzou rozptylu na hladině významnosti 0,05 bylo zjištěno, že hodnocení vzhledu, chuti, barvy dužniny i celkového dojmu se během skladování významně snížilo ($p < 0,05$). Podobně došlo k významné změně v sensorické přijatelnosti vzorků mrkve a řepy, kdy se signifikantně snížilo hodnocení vzhledu, barvy, dužniny, textury i celkového dojmu. Výsledky sensorické analýzy ve formě mediánů jednotlivých parametrů jsou znázorněny v grafech 19-21.

Senzorická analýza vakuovaného jablka



Senzorická analýza vakuované mrkve



Senzorická analýza vakuované řepy



Graf 19-21: Výsledky senzorické analýzy vakuovaného jablka, mrkve a červené řepy.

5.2 Ošetření nízkotlakou plazmou

Analýza barvy, textury a pH po 3 dnech skladování vzorků mrkve ošetřených pomocí nízkotlaké plazmy neukázala statisticky významný rozdíl oproti neošetřeným vzorkům ani u jednoho z měřených parametrů. Výsledky měření jsou zaznamenány v tabulce 1.

mrkev	L*	a*	b*	textura (N)	pH
neošetřený vzorek	56,62 ± 1,93	22,94 ± 0,39	35,40 ± 3,7	23,31 ± 2,75	6,43 ± 0,34
nízkotlaká plazma	59,79 ± 1,54	23,10 ± 2,6	34,45 ± 2,13	21,83 ± 1,12	6,37 ± 0,20

Tabulka 1: Výsledky měření barvy, textury a pH u neošetřených vzorků a vzorků ošetřených pomocí nízkotlaké plazmy po 3 dnech skladování.

Mikrobiologickým rozborem bylo zjištěno, že ošetření pomocí nízkotlaké plazmy nemělo vliv na celkový počet mikroorganismů ve vzorcích mrkve. Zároveň byl ve vzorcích zaznamenán mírně vyšší počet plísní a kvasinek. Výsledky mikrobiologické analýzy jsou shrnuty v tabulce 2.

mrkev	CPM (KTJ.g ⁻¹)	plísně (KTJ.g ⁻¹)	kvasinky (KTJ.g ⁻¹)
neošetřený vzorek	8.10 ⁵	negativní	negativní
nízkotlaká plazma	8.10 ⁵	1.10 ¹	1.10 ²

Tabulka 2: Výsledky mikrobiologické analýzy vzorků mrkve ošetřených pomocí nízkotlaké plazmy po 3 dnech skladování.

6 Diskuze

6.1 Ošetření pomocí vakua

Výsledky experimentu ukázaly statisticky významné změny některých vlastností u vzorků ošetřených pomocí vakua, zejména co se týče barvy, pH, sensorické přijatelnosti a nárůstu mikroorganismů ve vzorcích.

Barva byla ošetřením vakua ovlivněna u všech tří druhů plodů. U jablek bylo pozorováno snížení v hodnotách parametru L^* 3. týden skladování a 1. a 3. týden skladování i nárůst v hodnotách parametru a^* . Dle Soliva-Fortuny et al. (2002) jsou změny v parametrech L^* a a^* indikátorem enzymatického hnědnutí dužiny jablek, změny v těchto hodnotách mohly tedy indikovat počínající enzymatické hnědnutí u některých vzorků jablek.

U mrkve byl též zaznamenán pokles v hodnotách parametru L^* poslední týden skladování a zároveň i pokles v hodnotách parametru a^* od prvního týdne skladování. Kladné hodnoty parametru a^* značí červené odstíny, pokles by mohl být způsoben například ztrátou karotenoidů, které jsou zodpovědné za oranžové zbarvení mrkvi, přestože ve studii Rocha et al. (2007a) došlo naopak k nárůstu karotenoidů u mrkvi ošetřených vakuem během 7 skladovacích dní. V této studii byly ovšem použity nenakrájené mrkve a nižší tlak vakua (1 mBar). Zároveň byly mrkve na rozdíl od sklenic skladovány v polyetylenových sáčcích. V této studii nebyla však, podobně jako v této práci, zaznamenána významná změna v hodnotách parametru L^* během 7 dní (respektive 1. týdne) skladování.

U vzorků vakuované řepy byl podobně jako u jablka pozorován pokles v hodnotě L^* a naopak nárůst v parametru a^* na konci skladování. Kromě zmíněného enzymatického hnědnutí mohla být tato změna způsobena narušením buněk působením vakua a následné přítomnosti vody ve sklenici. Voda se ve sklenici pravděpodobně objevila skladováním vzorků po ošetření v chladírenských podmínkách, což způsobilo kondenzaci vodní páry, jelikož teplejší vzduch dokáže pohltit a udržet v sobě více vlhkosti než vzduch chladný. Výkyvy v naměřených hodnotách mohly být tím pádem způsobeny přítomností šťávy, která se ve vakuovaných sklenicích postupně uvolnila ze vzorků a způsobila tak namočení části vzorků řepy a tím změnu jejich zbarvení.

U jablka a mrkve byl též pozorován nárůst v hodnotách parametru b^* , což může značit žloutnutí plodů během skladování. U červené řepy naopak hodnoty tohoto parametru během skladování klesaly.

Co se týče textury, u vakuovaného jablka bylo významné snížení pevnosti textury oproti původnímu vzorku pozorováno až v posledním týdnu skladování. U červené řepy byla poslední týden skladování naměřena vysoká variabilita mezi vzorky, na což mohla mít opět vliv přítomnost šťávy ve sklenici. U vzorků mrkve nedošlo dle výsledků během skladování ke statisticky významné změně v pevnosti vzorků. Odlišný výsledek ukázala opět studie Rocha et al. (2007a), ve které byl naměřen pokles o 13 % v pevnosti vzorků vakuovaných mrkvi již během 7 skladovacích dní. Podobně jako u barvy vzorků mrkve, i zde mohly být rozdíly způsobeny odlišným tlakem vakua a skladovacími podmínkami. Pokles v pevnosti textury byl také naměřen ve studii Denoya et al. (2014), ve které byly použity vzorky broskví ošetřené pomocí vakua. V této studii byl zaznamenán pokles v pevnosti broskve ihned po ošetření a následně i během 3 skladovacích týdnů. Tato změna mohla být způsobena například

vysokým obsahem vody ve vzorcích broskve a narušením buněčných stěn působením vakua, které mohlo zapříčinit následnou ztrátu vody a změnu textury.

Mikrobiologická analýza mrkve ukázala, že již v čerstvé mrkvi se nachází poměrně vysoký celkový počet mikroorganismů ($5 \log \text{KTJ.g}^{-1}$). Tento výsledek koresponduje s výsledkem studie Määttä et al. (2013), kde byl naměřen celkový počet mikroorganismů u očištěné neoloupané mrkve $5,5 \log \text{KTJ.g}^{-1}$.

Dle výsledků experimentu v této práci nedošlo během skladování k nárůstu kvasinek a plísní ve vzorcích mrkve ošetřených vakuem. Výsledky studie Rocha et al. (2007b) ukázaly naopak nárůst plísní a kvasinek včetně viditelných kolonií ve vzorcích vakuované mrkve po 9. dni skladování při teplotě $2 \text{ }^\circ\text{C}$. Přestože u kontrolních vzorků mrkve skladovaných na vzduchu došlo k významně vyššímu nárůstu, z výsledků je patrné, že samotné vakuum růstu kvasinek a plísní nezabránilo. V této studii byla ovšem mrkev před ošetřením oloupána a nastrouhána, čímž byla velmi narušena struktura plodů a vytvořily se vhodné podmínky pro množení mikroorganismů. Celkový počet mikroorganismů vakuovaných mrkví v této studii nepřekročil po celou dobu skladování (10 dní) $8 \log \text{KTJ g}^{-1}$, což koresponduje s výsledky experimentu této práce, kde byl naměřen celkový počet mikroorganismů vakuované mrkve $7 \log \text{KTJ g}^{-1}$ i třetí týden skladování. Přesto ale došlo během skladování k nárůstu celkového počtu mikroorganismů ve vzorcích mrkve o $2 \log \text{KTJ. g}^{-1}$.

Nejvyšší nárůst celkového počtu mikroorganismů byl však zaznamenán u červené řepy, kdy se z počátečního počtu $3 \log \text{KTJ.g}^{-1}$ u čerstvé řepy množství zvýšilo na $8 \log \text{KTJ.g}^{-1}$ již během prvního týdne skladování. Nárůst plísní a kvasinek byl zde pouze nízký.

U jablek ošetřených vakuem byl nárůst celkového počtu mikroorganismů nižší než u mrkve a červené řepy, došlo zde ale k množení kvasinek, což se projevilo i při sensorické analýze, kdy hodnotitelé komentovali 2. týden skladování chuť vakuovaných jablek jako „zkvašenou“. To mohlo být způsobeno počínajícím procesem fermentace ve sklenicích z důvodu odebrání vzduchu vakuem. K nárůstu plísní během skladování nedošlo. Se zvyšujícím se mikrobiálním růstem může souviset i zvyšující se pH, které bylo zaznamenáno u většiny vzorků. Vyšší pH může být nicméně i důsledek zrání vzorků během skladování, kdy docházelo ke snižování obsahu přítomných kyselin.

Při pokusu skladovat vzorky v pokojové teplotě došlo k velmi rychlému zplesnivění vzorků z důvodu uvolnění víček sklenic. Během experimentu bylo vyzorováno, že na uvolnění víček sklenic má s největší pravděpodobností vliv právě teplota skladování ošetřených vzorků. Víčka se pravděpodobně uvolnila kvůli činnosti anaerobních mikrobů přítomných v plodech. Zatímco chladírenská teplota dokáže aktivitu těchto mikrobů zpomalit, v pokojové teplotě dochází k jejich rychlému množení a následné tvorbě nežádoucích plynů.

Z výsledků vyplývá, že ošetřením pomocí vakua lze prodloužit trvanlivost minimálně zpracovaného ovoce a zeleniny, nejedná se však z mikrobiologického hlediska o metodu vhodnou pro dlouhodobé skladování, a to ani v chladírenských podmínkách.

Z důvodu zmíněného nárůstu mikrobů byla sensorická analýza ukončena již po 3 týdnech skladování. Již během této doby byl pozorován významný pokles téměř u všech sensorických deskriptorů jednotlivých vzorků.

6.2 Ošetření nízkotlakou plazmou

Ošetřením pomocí nízkotlaké plazmy nedošlo ke statisticky významné změně barvy, textury a pH vzorků mrkve po 3 dnech skladování. Nízkotlaká plazma však také neměla vliv na celkový počet mikroorganismů ve vzorcích. Mikrobiologickou analýzou byl dále zjištěn mírně vyšší počet plísní a kvasinek než u neošetřené mrkve, což mohlo být ovšem způsobeno i vysokou variabilitou vzorků. Podobné výsledky byly zjištěny ve studii Bermúdez-Aguirre et al. (2013), ve které byly vzorky nakrájené mrkve ošetřeny atmosférickou plazmou. Po ošetření nebyly zaznamenány signifikantní změny v barvě vzorků. Vzorky byly před ošetřením inokulovány bakterií *E-coli*, přičemž během studie byly zkoušeny různé hodnoty napětí (3,95–12,83 kV) a odlišné délky ošetření (3–10 min). Přes všechny různé parametry byla pozorována inaktivace bakterie *E-coli* nižší než 0,5 log KTJ.g⁻¹. Studie Mahnot et al. (2020) naměřila snížení přirozené mikroflóry mrkve o 2,1 log KTJ.g⁻¹ po ošetření atmosférickou plazmou s napětím 100 kV a dobou ošetření 5 minut. Byly však zaznamenány některé změny ve vlastnostech vzorků, například vyšší světlost a mírné změny v textuře mrkve po ošetření. Snížení množství přirozené bakteriální populace mrkve bylo pozorováno i ve studii Blessie et al. (2019). Zde byla použita nízkotlaká plazma s výkonem 30 W, tlakem vakua 0,2 mBar a dobou ošetření 5–20 minut. Zatímco při délce ošetření 5 minut byl celkový počet mikroorganismů snížen o 2,47 log KTJ.g⁻¹, při prodloužení doby ošetření na 20 minut byla zaznamenána redukce až o 5 log KTJ.g⁻¹, aniž by došlo ke snížení pevnosti textury.

Z výsledků vyplývá, že k redukci mikroorganismů přítomných na povrchu mrkve pomocí studené plazmy je pravděpodobně nutné použít delší čas ošetření. Jelikož se jedná o kořenovou zeleninu, důvodem může být vysoká odolnost přirozené mikroflóry mrkve na rozdíl od plodin rostoucích nad zemí. Zároveň na výsledky může mít vliv i pórovitá struktura mrkve, která umožňuje mikroorganismům migrovat a chránit se před dezinfekčními účinky plazmatu. Dalším důvodem mohly být parametry ošetření, například typ plazmy, hodnota výkonu a napětí či použitý plyn.

Co se týče dlouhodobého skladování, ve studii Min et al. (2018) byla ošetřena rajčata pomocí atmosférické plazmy s napětím 35 kV a dobou ošetření 3 minuty. Rajčata byla následně skladována při 10 a 25 °C po dobu tří týdnů. Za celou dobu skladování nebyla detekována změna v barvě ani textuře vzorků. Původní populace mezofilních bakterií na povrchu vzorků činila 1,3±0,2 log KTJ.g⁻¹. U vzorků ošetřených plazmou byl následně po celou dobu skladování zaznamenán počet mezofilních bakterií pod limitem detekce při obou skladovacích teplotách. Přestože v této studii nebyla použita rajčata nakrájená či jinak zpracovaná, z výsledků je patrné, že u ovoce či zeleniny s hladkým povrchem může ošetření pomocí plazmy představovat efektivní nástroj pro likvidaci patogenů přirozeně se vyskytujících na plodech a prodloužení trvanlivosti.

7 Závěr

- Cílem diplomové práce bylo zaměřit se na ošetření ovoce a zeleniny nízkotlakou plazmou s ohledem na prodloužení trvanlivosti a zároveň porovnat výsledky s konvenční technologií, pro účely této práce bylo zvoleno ošetření pomocí vakua. První část pokusu (dlouhodobé skladování vakuovaných vzorků jablek, mrkve a červené řepy) proběhla v plném rozsahu, z důvodu nedodání aparatury nízkotlaké plazmy nebylo však možné uskutečnit celý experiment dle původního plánu. U vzorků ošetřených nízkotlakou plazmou bylo realizováno pouze třídní skladování, kde byl zjištěn bezprostřední vliv působení plazmy na vzorky mrkve.
- Během pětidenního skladování vakuovaných vzorků ovoce a zeleniny v chladírenských podmínkách došlo k významným změnám v barvě, pH a u vzorků jablek také v textuře. Zároveň byl zjištěn mikrobiální nárůst u všech druhů vzorků, jednalo se především o zvýšení celkového počtu mikroorganismů, ale například u jablka byl detekován i vyšší obsah kvasinek. Senzorická analýza ukázala i významný pokles v hodnocení jednotlivých deskriptorů vzorků během skladování. Při pokusu skladovat vzorky v pokojové teplotě došlo velmi rychle k jejich zkáze. Dle výsledků vakuum tedy nepředstavuje vhodnou metodu pro dlouhodobé skladování minimálně zpracovaného ovoce a zeleniny ani v chladírenských teplotách.
- Ošetření pomocí nízkotlaké plazmy nemělo přímý vliv na barvu, texturu ani pH vzorků mrkve. Současně však nedošlo ani k redukci mikroorganismů přítomných ve vzorcích. Jelikož je původní půdní mikroflóra mrkve velmi odolná a díky pórovité struktuře mají mikroorganismy vyšší možnost ochrany před účinky plazmatu, pravděpodobně je pro jejich likvidaci nutný delší čas ošetření, případně i vyšší napětí.
- Jelikož experimentální část této diplomové práce nemohla bohužel proběhnout v plném rozsahu plánovaného pokusu, nelze na základě získaných výsledků potvrdit původní hypotézu, která předpokládala možnost dlouhodobě skladovat ovoce a zeleninu po ošetření pomocí nízkotlaké plazmy se zachováním zdravotní nezávadnosti a přijatelných sensorických vlastností. Z výsledků studií jiných autorů však můžeme usuzovat, že s vhodně nastavenými parametry plazmy a dostatečnou dobou ošetření pro daný typ potraviny je možné pomocí studené plazmy snížit množství mikroorganismů, aniž by došlo ke změnám v textuře či barvě.
- Většina dostupných studií se ovšem zabývá pouze krátkodobými účinky plazmy na konkrétní potraviny. Je potřeba více studií, které by se zaměřily na dlouhodobé skladování a sledování vlastností ošetřených potravin včetně mikrobiologické analýzy, aby bylo více prozkoumáno, jak dlouho po ošetření vydrží potraviny kvalitní a zdravotně nezávadné.

8 Literatura

- Abera G. 2019. Review on High Pressure Processing of Foods. *Cogent Food & Agriculture* **5**:1–25.
- Aneja KR, Dhiman R, Aggarwal NK, Kumar V, Kaur M. 2014. Microbes Associated with Freshly Prepared Juices of Citrus and Carrots. *International Journal of Food Science* **2014**:1–7.
- Angiolillo L, Conte A, Nobile MAD. 2016. Impact of Vacuum packaging, modified and controlled atmosphere on the microbial ecology of foods. Pages 217-225 in Sant'Ana AS, editor. *Quantitative Microbiology in Food Processing: Modeling the Microbial Ecology*. John Wiley & Sons, New Jersey.
- Arah IK, Amaglo H., Kumah EK, Ofori H. 2015. Preharvest and Postharvest Factors Affecting the Quality and Shelf Life of Harvested Tomatoes: A Mini Review. *International Journal of Agronomy* **2015**:1–6.
- Arcott, SA, Howe JA, Davis CR, Tanumihardjo SA. 2010. Carotenoid profiles in provitamin A-containing fruits and vegetables affect the bioefficacy in Mongolian gerbils. *Experimental Biology and Medicine* **235**:839–848.
- Artés F, Allende A. 2005. Minimal Fresh Processing of Vegetables, Fruits and Juices. Pages 677–716 in Da-Wen S, editor. *Emerging Technologies for Food Processing*. Academic Press, Dublin.
- Barrett DM, Beaulieu JC, Shewfelt R. 2010. Color, Flavor, Texture, and Nutritional Quality of Fresh-Cut Fruits and Vegetables: Desirable Levels, Instrumental and Sensory Measurement, and the Effects of Processing. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition* **50**:369–389.
- Berk Z. 2018. Food packaging. Pages 625–641 in Berk Z, editor. *Food Process Engineering and Technology*. Academic Press, Burlington.
- Bermúdez-Aguirre D, Wemlinger E, Pedrow P, Barbosa-Cánovas G, Garcia-Perez M. 2013. Effect of atmospheric pressure cold plasma (APCP) on the inactivation of *Escherichia coli* in fresh produce. *Food Control* **34**:149–157.
- Blessie FR, Varadharaju N, John Kennedy Z, Ganapathy S, Shridar B. 2019. Effect of non-thermal plasma treatment on carrot slices. *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry* **8**:80–83.
- Bogaerts A. 1999. Glow Discharge Mass Spectrometry Methods. Pages 669-676 in Lindon JC, editor. *Encyclopedia of Spectroscopy and Spectrometry*. University of Antwerp, Belgium.
- Bourke P, Ziuzina D, Boehm D, Cullen PJ, Keener K. 2018. The Potential of Cold Plasma for Safe and Sustainable Food Production. *Trends in Biotechnology* **36**: 615–626.

- Bourne MC. 2006. Selection and Use of Postharvest Technologies as a Component of the Food Chain. *Journal of Food Science* **69**:43–46.
- Carr AC, Rowe S. 2020. Factors Affecting Vitamin C Status and Prevalence of Deficiency: A Global Health Perspective. *Nutrients* **12**:1963.
- Chauvin J, Judée F, Yousfi M, Vicendo P, Merbahi N. 2017. Analysis of reactive oxygen and nitrogen species generated in three liquid media by low temperature helium plasma jet. *Scientific Reports* **7**:1–15.
- Chen HH, Chang HC, Chen YK, Hung CL, Lin SY, Chen YS. 2016. An improved process for high nutrition of germinated brown rice production: Low-pressure plasma. *Food Chemistry* **191**:120–127.
- Cho WI, Chung MS. 2020. Bacillus spores: a review of their properties and inactivation processing technologies. *Food Science and Biotechnology* **29**:1447–1461.
- Clydesdale FM. 1993. Color as a factor in food choice. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition* **33**:83–101.
- Colás-Medà P, Nicolau-Lapeña I, Viñas I, Neggazi I, Alegre I. 2021, Bacterial Spore Inactivation in Orange Juice and Orange Peel by Ultraviolet-C Light. *Foods* **10**:855.
- Cullen PJ, Lalor J, Scally L, Boehm D, Milosavljević V, Bourke P, Keener K. 2017. Translation of plasma technology from the lab to the food industry. *Plasma Processes and Polymers* **15**:1–11.
- Cutter CN. 2002. Microbial Control by Packaging: A Review. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition* **42**:151–161.
- Critzer FJ, Kelly-Wintenberg K, South SL, Golden DA. 2007. Atmospheric Plasma Inactivation of Foodborne Pathogens on Fresh Produce Surfaces. *Journal of Food Protection* **70**:2290–2296.
- Da Silva PF, Moreira RG. 2008. Vacuum frying of high-quality fruit and vegetable-based snacks. *LWT - Food Science and Technology* **41**:1758–1767.
- Denoya GI, Vaudagna SR, Polenta G. 2015. Effect of high pressure processing and vacuum packaging on the preservation of fresh-cut peaches. *LWT - Food Science and Technology* **62**:801–806.
- Devi Y, Thirumdas R, Sarangapani C, Deshmukh RR, Annapure US. 2017. Influence of cold plasma on fungal growth and aflatoxins production on groundnuts. *Food Control* **77**:187–191.
- Dobrynin D, Fridman G, Mukhin YV, Wynosky-Dolfi MA, Rieger J, Rest RF, Gutsol AF, Fridman A. 2010. Cold Plasma Inactivation of *Bacillus cereus* and *Bacillus anthracis* (Anthrax) Spores. *IEEE Transactions on Plasma Science* **38**:1878–1884.
- Domonkos M, Tichá P, Trejbal J, Demo P. 2021. Applications of Cold Atmospheric Pressure Plasma Technology in Medicine, Agriculture and Food Industry. *Applied Sciences* **11**:1-19.

- Elyatem SM, Kader AA. 1984. Post-harvest physiology and storage behaviour of pomegranate fruits. *Scientia Horticulturae* **24**:287–298.
- Filipić A, Gutierrez-Aguirre I, Primc G, Mozetič M, Dobnik D. 2020. Cold plasma, a new hope in the field of virus inactivation. *Trends in Biotechnology* **2020**:1–14.
- Filipić A, Primc G, Zaplotnik R, Mehle N, Gutierrez-Aguirre I, Ravnikar M, Mozetič M, Žel J, Dobnik D. 2019. Cold Atmospheric Plasma as a Novel Method for Inactivation of Potato Virus Y in Water Samples. *Food and Environmental Virology* **11**:220–228.
- Fenech M, Amaya I, Valpuesta V, Botella MA. 2019. Vitamin C Content in Fruits: Biosynthesis and Regulation. *Frontiers In Plant Science* **9**:2006.
- Fenik J, Tankiewicz M, Biziuk M. 2011. Properties and determination of pesticides in fruits and vegetables. *Trends in Analytical Chemistry* **30**:814–826.
- Floros JD, Matsos KI. 2005. Introduction to modified atmosphere packaging. Pages 159-172 in Han JH, editor. *Innovations in Food Packaging*. Academic Press, Winnipeg.
- Gavahian M, Chu YH, Mousavi Khaneghah A, Barba FJ, Misra NN. 2018. A critical analysis of the cold plasma induced lipid oxidation in foods. *Trends in Food Science & Technology* **77**:32–41.
- Gilden RC, Huffling K, Sattler B. 2010. Pesticides and Health Risks. *Journal of Obstetric, Gynecologic & Neonatal Nursing* **39**:103–110.
- Gilbert C. 2013. What is vitamin A and why do we need it? *Community Eye Health* **26**:65.
- Gorris LGM, Peppelenbos HW. 1992. Modified atmosphere and vacuum packaging to extend the shelf life of respiring food products. *HortTechnology* **2**:303-309.
- Harris LJ, Farber JN, Beuchat LR, Parish ME, Suslow TV, Garrett EH, Busta FF. 2003. Outbreaks Associated with Fresh Produce: Incidence, Growth, and Survival of Pathogens in Fresh and Fresh-Cut Produce. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety* **2**:78–141.
- Hernández-Macedo ML, Barancelli GV, Contreras-Castillo CJ. 2011. Microbial deterioration of vacuum-packaged chilled beef cuts and techniques for microbiota detection and characterization: a review. *Brazilian Journal of Microbiology* **42**:1–11.
- Hojnik N, Cvelbar U, Tavčar-Kalcher G, Walsh J, Križaj I. 2017. Mycotoxin Decontamination of Food: Cold Atmospheric Pressure Plasma versus “Classic” Decontamination. *Toxins* **9**:151.
- Holderbaum D, Kon T, Kudo T, Guerra MP. 2010. Enzymatic Browning, Polyphenol Oxidase Activity, and Polyphenols in Four Apple Cultivars: Dynamics during Fruit Development. *Hortscience* **45**:1150–1154.
- Hosseini SM, Rostami S, Hosseinzadeh SB, Lorigooini Z. 2020. The effect of atmospheric pressure cold plasma on the inactivation of *Escherichia coli* in sour cherry juice and its qualitative properties. *Food Science & Nutrition* **8**:870–883.

- Hou Y, Wang R, Gan Z, Shao T, Zhang X, He M, Sun A. 2019. Effect of cold plasma on blueberry juice quality. *Food Chemistry* **290**:79–86.
- Huang M, Zhang M, Bhandari B. 2018. Synergistic effects of ultrasound and microwave on the pumpkin slices qualities during ultrasound-assisted microwave vacuum frying. *Journal of Food Process Engineering* **2018**:1–8.
- Ioannou I. 2013. Prevention of enzymatic browning in fruit and vegetables. *European Scientific Journal* **9**:310–341.
- Jadhav HB, Annapure U. 2021. Consequences of non-thermal cold plasma treatment on meat and dairy lipids – A review. *Future foods* **4**:1-7.
- Jemmi T, Stephan R. 2006. *Listeria monocytogenes*: food-borne pathogen and hygiene indicator. *Revue scientifique et technique* **25**:571–580.
- Jeyaletchumi P, Tunung R, Margaret SP, Son R, Farinazleen MG, Cheah YK. 2010. Detection of *Listeria monocytogenes* in foods. *International Food Research Journal* **17**:1–11.
- Jha RK, Prabhakar PK, Srivastav PP, Rao VV. 2016. Influence of temperature on vacuum drying characteristics, functional properties and micro structure of Aloe vera (*Aloe barbadensis* Miller) gel. *Research in Agricultural Engineering* **61**:141–149.
- Joardder MUH, Masud MH. 2019. A Brief History of Food Preservation. Pages 57-66 in Joardder MUH, Masud MH, editors. *Food Preservation in Developing Countries: Challenges and Solutions*. Springer Nature, Switzerland.
- Kadariya J, Smith TC, Thapaliya D. 2014. *Staphylococcus aureus* and Staphylococcal Food-Borne Disease: An Ongoing Challenge in Public Health. *BioMed Research International* **2014**:1–9.
- Kaper JB, Nataro JP, Mobley HLT. 2004. Pathogenic *Escherichia coli*. *Nature Reviews Microbiology* **2**:123–140.
- Karasev AV, Gray SM. 2013. Continuous and Emerging Challenges of Potato virus Y in Potato. *Annual Review of Phytopathology* **51**:571–586.
- Khaledian H, Zolfaghari P, Elhami V, Aghbolaghy M, Khorram S, Karimi A, Khataee A. 2019. Modification of Immobilized Titanium Dioxide Nanostructures by Argon Plasma for Photocatalytic Removal of Organic Dyes. *Molecules* **24**:383.
- Khan SA, Dar AH, Bhat SA, Fayaz J, Makroo HA, Dwivedi M. 2020. High Intensity Ultrasound Processing in Liquid Foods. *Food Reviews International* **2020**:1–25.
- Lackmann JW, Bandow JE. 2014. Inactivation of microbes and macromolecules by atmospheric-pressure plasma jets. *Applied Microbiology and Biotechnology* **98**:6205–6213.
- Lacombe A, Niemira BA, Gurtler JB, Sites J, Boyd G, Kingsley DH, Li X, Chen H. 2017. Nonthermal inactivation of norovirus surrogates on blueberries using atmospheric cold plasma. *Food Microbiology* **63**:1–5.

- Laroussi M. 2020. Cold Plasma in Medicine and Healthcare: The New Frontier in Low Temperature Plasma Applications. *Frontiers in Physics* **8**:1–7.
- Lasekan O, Ng S, Azeez S, Shittu R, Teoh L, Gholivand S. 2016. Effect of Pulsed Electric Field Processing on Flavor and Color of Liquid Foods. *Journal of Food Processing and Preservation* **41**:1–14.
- Li M, Li X, Han C, Ji N, Jin P, Zheng Y. 2019. Physiological and Metabolomic Analysis of Cold Plasma Treated Fresh-Cut Strawberries. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **67**:4043–4053.
- Liu J, Bi J, McClements DJ, Liu X, Yi J, Lyu J, Zhou M, Verkerk R, Dekker M, Wu X, Liu D. 2020. Impacts of thermal and non-thermal processing on structure and functionality of pectin in fruit- and vegetable- based products: A review. *Carbohydrate Polymers* **205**:1–14.
- López M, Calvo T, Prieto M, Múgica-Vidal R, Muro-Fraguas I, Alba-Elías F, Alvarez-Ordóñez A. 2019. A Review on Non-thermal Atmospheric Plasma for Food Preservation: Mode of Action, Determinants of Effectiveness, and Applications. *Frontiers in Microbiology* **10**:1–21.
- Lufu R, Ambaw A, Opara UL. 2020. Water loss of fresh fruit: Influencing pre-harvest, harvest and postharvest factors. *Scientia Horticulturae* **272**:1–16.
- Ly BCK, Dyer EB, Feig JL, Chien AL, Del Bino S. 2020. Research Techniques Made Simple: Cutaneous Colorimetry: A Reliable Technique for Objective Skin Color Measurement. *Journal of Investigative Dermatology* **140**:3–12.
- Mahnot N, Siyu LP, Wan Z, Keener KM, Misra NN. 2020. In-package cold plasma decontamination of fresh-cut carrots: microbial and quality aspects. *Journal of Physics D: Applied Physics* **2020**:1-19.
- Mandal R, Singh A, Pratap Singh A. 2018. Recent developments in cold plasma decontamination technology in the food industry. *Trends in Food Science & Technology* **80**:93–103.
- Määttä J, Lehto OM, Kuisma R., Kymäläinen HR, Maki M. 2013. Microbiological Quality of Fresh-Cut Carrots and Process Waters. *Journal of Food Protection* **76**:1240–1244.
- McSharry S, Koolman L, Whyte P, Bolton D. 2020. An investigation of the survival and/or growth of *Clostridioides (Clostridium) difficile* in beef stored under aerobic, anaerobic and commercial vacuum packaging conditions at 2 °C and 20 °C. *Food Control* **119**:1–5.
- Min SC, Roh SH, Niemira BA, Sites JE, Boyd G, Lacombe A. 2016. Dielectric barrier discharge atmospheric cold plasma inhibits *Escherichia coli* O157:H7, *Salmonella*, *Listeria monocytogenes*, and Tulane virus in Romaine lettuce. *International Journal of Food Microbiology* **237**:114–120.
- Min SC, Roh SH, Niemira BA, Boyd G, Sites JE, Fan X, Sokorai K, Jin TZ. 2018. In-package atmospheric cold plasma treatment of bulk grape tomatoes for microbiological safety and preservation. *Food Research International* **108**:378–386.

- Misra NN, Jo C. 2017. Applications of cold plasma technology for microbiological safety in meat industry. *Trends in Food Science & Technology* **64**:74–86.
- Misra NN, Pankaj SK, Frias JM, Keener KM, Cullen PJ. 2015. The effects of nonthermal plasma on chemical quality of strawberries. *Postharvest Biology and Technology* **110**:197–202.
- Misra NN, Pankaj SK, Walsh T, O'Regan F, Bourke P, Cullen PJ. 2014. In-package nonthermal plasma degradation of pesticides on fresh produce. *Journal of Hazardous Materials* **271**:33–40.
- Misra NN, Schlüter O, Cullen PJ. 2016. *Cold plasma in food and agriculture: Fundamentals and applications*. Elsevier, London.
- Misra NN, Tiwari BK, Raghavarao KSMS, Cullen PJ. 2011. Nonthermal Plasma Inactivation of Food-Borne Pathogens. *Food Engineering Reviews* **3**:159–170.
- Misra NN, Yadav B, Roopesh MS, Jo C. 2018. Cold Plasma for Effective Fungal and Mycotoxin Control in Foods: Mechanisms, Inactivation Effects, and Applications. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety* **18**:106–120.
- Moreira RG. 2014. Vacuum frying versus conventional frying – An overview. *European Journal of Lipid Science and Technology* **116**:723–734.
- Mousavi SM, Imani S, Dorranean D, Larijani K, Shojaee M. 2017. Effect of cold plasma on degradation of organophosphorus pesticides used on some agricultural products. *Journal of Plant Protection Research* **57**:25–35.
- Mritunjay SK, Kumar V. 2017. A study on prevalence of microbial contamination on the surface of raw salad vegetables. *Biotechnology Journal* **7**:1–9.
- Niemira BA. 2012. Cold Plasma Decontamination of Foods. *Annual Review of Food Science and Technology* **3**:125–142.
- Nowosad K, Sujka M, Pankiewicz U, Kowalski R. 2020. The application of PEF technology in food processing and human nutrition. *Journal of Food Science and Technology* **58**:397–411.
- Payasi A, Mishra NN, Chaves LS, Singh R. 2009. Biochemistry of fruit softening: an overview. *Physiology and Molecular Biology of Plants* **15**:103–113.
- Pan YW, Cheng JH, Sun DW. 2020. Inhibition of fruit softening by cold plasma treatments: affecting factors and applications. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition* **61**:1–12.
- Pankaj SK, Misra NN, Cullen PJ. 2013. Kinetics of tomato peroxidase inactivation by atmospheric pressure cold plasma based on dielectric barrier discharge. *Innovative Food Science & Emerging Technologies* **19**:153–157.
- Pankaj SK, Wan Z, Keener K. 2018. Effects of Cold Plasma on Food Quality: A Review. *Foods* **7**:4.

- Peng J, Tang J, Barrett DM, Sablani SS, Anderson N, Powers JR. 2015. Thermal pasteurization of ready-to-eat foods and vegetables: Critical factors for process design and effects on quality. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition* **57**:2970–2995.
- Pexara A, Govaris A. 2020. Foodborne Viruses and Innovative Non-Thermal Food-Processing Technologies. *Foods* **9**:1–17.
- Pitt JI. 2000. Toxigenic fungi and mycotoxins. *British Medical Bulletin* **56**:184–192.
- Prabha R, Rajasekhar P, Ramachandra B. 2021. Cold plasma - a novel technique in food preservation. *Bionature* **41**:39–47.
- Rajapaksha L, Gunathilake DMCC, Pathirana SM. 2021. Reducing post-harvest losses in fruits and vegetables for ensuring food security – Case of Sri Lanka. *MOJ Food Processing & Technology* **9**:7–16.
- Ramazina I, Berardinelli A, Rizzi F, Tappi S, Ragni L, Sacchetti G, Rocculi P. 2015. Effect of cold plasma treatment on physico-chemical parameters and antioxidant activity of minimally processed kiwifruit. *Postharvest Biology and Technology* **107**:55–65.
- Robilotti E, Deresinski S, Pinsky BA. 2015. Norovirus. *Clinical Microbiology Reviews* **28**:134–164.
- Rocculi P, Romani S, Galindo F, Dalla Rosa M. 2009. Effect of minimal processing on physiology and quality of fresh-cut potatoes: a review. *Food* **3**:18–30.
- Rocha A, Coulon E, Morais AMMB. 2003. Effects of vacuum packaging on the physical quality of minimally processed potatoes. *Food Service Technology* **3**:81–88.
- Rocha AMCN, Mota CCAR, Morais AMMB. 2007a. Physico-chemical qualities of minimally processed carrot stored under vacuum. *Journal of Foodservice* **18**:23–30.
- Rocha AM, Ferreira JF, Silva ÂM, Almeida GN, Morais AM. 2007b. Quality of grated carrot (var. Nantes) packed under vacuum. *Journal of the Science of Food and Agriculture* **87**:447–451.
- Sarangapani C, O’Toole G, Cullen P, Bourke P. 2017. Atmospheric cold plasma dissipation efficiency of agrochemicals on blueberries. *Innovative Food Science and Emerging Technologies* **44**:235–241.
- Sharanabasava, Ravindra MR. 2018. Vacuum processing of food—a Mini Review. *MOJ Food Processing & Technology* **6**:1–8.
- Sila DN, Duvetter T, De Roeck A, Verlent I, Smout C, Moates GK, Hillsb BP, Waldronb KK, Hendrickxa M, Van Loey A. 2008. Texture changes of processed fruits and vegetables: potential use of high-pressure processing. *Trends in Food Science & Technology* **19**:309–319.
- Singh N, Paterson DL, Chang FY, Gayowski T, Squier C, Wagener MM, Marino IR. 2000. Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus*: The Other Emerging Resistant Gram-Positive Coccus among Liver Transplant Recipients. *Clinical Infectious Diseases* **30**:322–327.

- Sivamma P, Mounika E, Naga Hari Sairam N, Jagannadha Rao PVK. 2021. Applications of vacuum technology in food processing. *The Pharma Innovation Journal* **10**:914–918.
- Sivertsik M, Rosnes JT, Bergslien H. 2002. Modified atmosphere packaging. Pages 61-86 in Ohlsson T, Bengtsson N, editors. *Minimal Processing Technologies in the Food Industries*. Woodhead Publishing, Cambridge.
- Slavin JL, Lloyd B. 2012. Health benefits of fruits and vegetables. *Advances in Nutrition* **3**:506–516.
- Snoeck D, Raposo MFDJ, Morais AMMBD. 2011. Polyphenol oxidase activity and colour changes of peeled potato (cv. Monalisa) in vacuum. *International Journal of Postharvest Technology and Innovation* **2**:233.
- Soliva-Fortuny RC, Oms-Oliu G, Martin-Belloso O. 2002. Effects of Ripeness Stages on the Storage Atmosphere, Color, and Textural Properties of Minimally Processed Apple Slices. *Journal of Food Science* **67**: 1958–1963.
- Stegmaier T, Dinkelmann A, Von Arnim V, Rau A. 2007. Corona and dielectric barrier discharge plasma treatment of textiles for technical applications. Pages 129-157 in Shishoo R, editor. *Plasma Technologies for Textile*. Woodhead Publishing Limited, Cambridge.
- Subedi DP, Joshi UM, Wong CS. 2017. Dielectric Barrier Discharge (DBD) Plasmas and Their Applications. Pages 693–737 in Rawat RS, editor. *Plasma Science and Technology for Emerging Economies*. Springer, Singapore.
- Sun DW, Zheng L. 2006. Vacuum cooling technology for the agri-food industry: Past, present and future. *Journal of Food Engineering* **77**:203–214.
- Sureshkumar A, Sankar R, Mandal M, Neogi S. 2010. Effective bacterial inactivation using low temperature radio frequency plasma. *International Journal of Pharmaceutics* **396**:17–22.
- Surowsky B, Fischer A, Schlueter O, Knorr D. 2013. Cold plasma effects on enzyme activity in a model food system. *Innovative Food Science & Emerging Technologies* **19**:146–152.
- Takai E, Kitano K, Kuwabara J, Shiraki K. 2011. Protein Inactivation by Low-temperature Atmospheric Pressure Plasma in Aqueous Solution. *Plasma Processes and Polymers* **9**:77–82.
- Tappi S, Gozzi G, Vannini L, Berardinelli A, Romani S, Ragni L, Rocculi P. 2016. Cold plasma treatment for fresh-cut melon stabilization. *Innovative Food Science & Emerging Technologies* **33**:225–233.
- Teixeira AA. 2013. Thermal Processing for Food Sterilization and Preservation. Pages 441-466 in Kutz M, editor. *Handbook of Farm, Dairy and Food Machinery Engineering*. Academic Press, New York.

- Temiz A, Ayhan DK. 2017. Enzymes in Minimally Processed Fruits and Vegetables. Pages 93-151 in Yildiz F, Wiley RC, editors. Minimally Processed Refrigerated Fruits and Vegetables. Springer US, Boston.
- Thirumdas R, Sarangapani C, Annapure US. 2014. Cold Plasma: A novel Non-Thermal Technology for Food Processing. *Food Biophysics* **10**:1–11.
- Tiwari BK. 2011. Nonthermal Plasma Inactivation of Food-Borne Pathogens. *Food Engineering Reviews* **3**:159-170.
- Tiwari BK, O'Donnell CP, Patras A., Brunton, N, Cullen PJ. 2009. Effect of ozone processing on anthocyanins and ascorbic acid degradation of strawberry juice. *Food Chemistry* **113**:1119–1126.
- Tseng S, Abramzon N, Jackson JO, Lin WJ. 2011. Gas discharge plasmas are effective in inactivating *Bacillus* and *Clostridium* spores. *Applied Microbiology and Biotechnology* **93**:2563–2570.
- Ucar Y, Ceylan Z, Durmus M, Tomar O, Cetinkaya T. 2021. Application of cold plasma technology in the food industry and its combination with other emerging technologies. *Trends in Food Science & Technology* **114**:355–371.
- Vanga SK, Wang J, Jayaram S, Raghavan V. 2021. Effects of Pulsed Electric Fields and Ultrasound Processing on Proteins and Enzymes: A Review. *Processes* **9**:722.
- Varilla C, Marcone M, Annor GA. (2020). Potential of Cold Plasma Technology in Ensuring the Safety of Foods and Agricultural Produce: A Review. *Foods* **9**:1–17.
- Vieira SA, McClements DJ, Decker EA. 2015. Challenges of Utilizing Healthy Fats in Foods. *Advances in Nutrition* **6**:309–317.
- Wang CY. 1989. Chilling injury of fruits and vegetables. *Food Reviews International* **5**:209–236.
- Wang SQ, Huang GQ, Li YP, Xiao JX., Zhang Y, Jiang WL. 2015. Degradation of aflatoxin B1 by low-temperature radio frequency plasma and degradation product elucidation. *European Food Research and Technology* **241**:103–113.
- Wang W, Mei D, Tu X, Bogaerts A. 2017. Gliding arc plasma for CO₂ conversion: Better insights by a combined experimental and modelling approach. *Chemical Engineering Journal* **330**:11–25.
- Wells-Bennik MHJ, Eijlander RT, den Besten HMW, Berendsen EM, Warda AK, Krawczyk AO, Groot MNN, Xiao Y, Zwietering MH Kuipers OP, Abee T. 2016. Bacterial Spores in Food: Survival, Emergence, and Outgrowth. *Annual Review of Food Science and Technology* **7**:1:457–482.
- Wu TY, Sun NN, Chau CF. 2018. Application of corona electrical discharge plasma on modifying the physicochemical properties of banana starch indigenous to Taiwan. *Journal of Food and Drug Analysis* **26**:244–251.

- Yordanov DG, Angelova GV. 2010. High Pressure Processing for Foods Preserving. *Biotechnology & Biotechnological Equipment* **24**:1940–1945.
- Yun H, Kim B, Jung S, Kruk ZA, Kim DB, Choe W, Jo C. 2010. Inactivation of *Listeria monocytogenes* inoculated on disposable plastic tray, aluminum foil, and paper cup by atmospheric pressure plasma. *Food Control* **21**:1182–1186.