

Česká zemědělská univerzita v Praze

Fakulta agrobiologie, potravinových a přírodních zdrojů

Katedra kvality a bezpečnosti potravin



**Vliv konzervace zeleninových omáček na jejich
kvalitativní parametry**

Diplomová práce

Autor práce: Mgr. Petra Lupoměská

Obor studia: Kvalita a zpracování zemědělských produktů

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

Konzultant práce: Ing. Pavel Nový, Ph.D.

© 2020 ČZU v Praze

Čestné prohlášení

Prohlašuji, že svou diplomovou práci "Vliv konzervace zeleninových omáček na jejich kvalitativní parametry" jsem vypracovala samostatně pod vedením vedoucího diplomové práce a s použitím odborné literatury a dalších informačních zdrojů, které jsou citovány v práci a uvedeny v seznamu literatury na konci práce. Jako autorka uvedené diplomové práce dále prohlašuji, že jsem v souvislosti s jejím vytvořením neporušila autorská práva třetích osob.

V Praze dne 24. 7. 2020

Poděkování

Ráda bych touto cestou poděkovala Ing. Matěji Božikovi, Ph.D. za odborné vedení, cenné rady a připomínky k mé diplomové práci. Mé poděkování patří i konzultantovi práce Ing. Pavlu Novému, Ph.D. a dále Ing. Danielu Všetěčkovi za ochotu poskytnout k experimentální části práce chilli omáčky své firmy. Rovněž bych chtěla poděkovat všem, kteří se zúčastnili sensorického hodnocení. V neposlední řadě děkuji své rodině a blízkým za jejich podporu v průběhu celého studia.

Vliv konzervace zeleninových omáček na jejich kvalitativní parametry

Souhrn

Zeleninové omáčky byly společně s dalšími produkty s nízkým pH v minulosti považovány za mikrobiologicky bezpečné. V posledních letech však začalo docházet k alimentárním nákazám i v souvislosti s konzumací těchto potravin. V případě zeleninových omáček byly tyto případy spojeny především se salsou, ale v menší míře i například s chilli omáčkami. K hlavním přenášeným patogenům patří *Escherichia coli*, *Salmonella* a *Listeria monocytogenes*, jejichž kmeny mohou být částečně acidotolerantní a v těchto produktech tak přežívat. Nejčastějším opatřením je tepelné ošetření, které ovšem má negativní vliv na nutriční a senzoryckou jakost výrobků. V současné době je tak pozornost věnována šetrnějším způsobům konzervace. Tradiční i nové možnosti ošetření jsou společně s technologií výroby a mikrobiologií zeleninových omáček popsány v teoretické části práce.

V rámci praktické části byly za účelem ověření spolehlivosti stávajících konzervačních postupů provedeny mikrobiologické rozborů celkem 35 chilli omáček dodaných firmou Palító Family s.r.o. Dále byl sledován vliv 26 různých variant ošetření na přežívání a růst *E. coli* v salse. Kromě záhřevu bylo zahrnuto i použití syntetických konzervantů, chloridu sodného, sacharózy, kyseliny citronové, limetkové šťávy a silice z tymiánu, dobromysli a voňatky v různých koncentracích. K testování byla použita čerstvě připravená salsa, která byla inokulována kmenem *E. coli* ATCC 25922 adaptovaným na kyselé prostředí. Omáčka byla poté ošetřena zmíněnými způsoby a skladována při 4 °C. V průběhu následujících 15 dnů byly prováděny mikrobiologické rozborů. Po vyhodnocení výsledků rozborů byl u sedmi nejúčinnějších typů ošetření posouzen i jejich vliv na senzoryckou jakost salsy. Metodou senzoryckého profilu byla hodnocena příjemnost vůně a chuti, intenzita pálivé chuti a celková přijatelnost vzorku. V pořadové zkoušce byly vzorky dále seřazeny dle vzrůstající příjemnosti od nejhoršího po nejlepší.

Nejvyšší účinnost vykazovalo tepelné ošetření, které dle výsledků senzorycké analýzy nevedlo ani ke statisticky významnému zhoršení organoleptických vlastností salsy. Z testovaných přírodních antimikrobiálních látek bylo nejlepšími výsledky dosaženo použitím chloridu sodného v koncentraci 100 g/l, dále silice voňatky v koncentraci 512 µl/l a okyselením kyselinou citronovou na pH 3,2. Ani tyto způsoby ošetření nevedly ke statisticky významnému zhoršení posuzovaných vlastností omáčky. Zároveň jimi bylo stejně jako u tepelného ošetření v průběhu sledování docíleno poklesu počtu patogenu pod detekovatelnou úroveň. Ve všech ostatních variantách vzorků byla bakterie schopna přetrvávat déle než 15 dnů.

V předložené práci byl popsán vliv rozmanitých způsobů ošetření na přežívání a růst *E. coli* v zeleninových omáčkách, což je problematika, které se doposud mnoho odborných prací nevěnovalo.

Klíčová slova: konzervace, chilli, salsa, zelenina, omáčka, silice, kontaminace

The influence of preservation of vegetable sauces on their qualitative parameters

Summary

Vegetable sauces, along with other low pH products, have been considered microbiologically safe in the past. In recent years, however, foodborne illness outbreaks related to consumption of these foods have begun to occur. In the case of vegetable sauces, these outbreaks were associated mainly with salsa, but to a lesser extent, even with chilli sauces. The main transmitted pathogens include *Escherichia coli*, *Salmonella* and *Listeria monocytogenes*, whose strains may be partially acid-tolerant and thus survive in these products. The most common measure is heat treatment, which, however, tends to have a negative effect on the nutritional and sensory quality of products. Therefore, attention is currently paid to more gentle methods of preservation. Traditional and new treatment options as well as the technology of production and microbiology of vegetable sauces are described in the theoretical part of the diploma thesis.

In the experimental part, in order to verify the reliability of existing preservation procedures, microbiological analyses were performed on a total of 35 chilli sauces supplied by Palíto Family s.r.o. Furthermore, the effect of 26 different treatment variants on the survival and growth of *E. coli* in salsa was studied. In addition to heat treatment, the use of synthetic preservatives, sodium chloride, sucrose, citric acid, lime juice and thyme, oregano and lemongrass essential oils at various concentrations was included. Freshly prepared salsa inoculated with *E. coli* strain ATCC 25922 adapted to an acidic environment was used for testing. The sauce was then treated as described and stored at 4 °C. Microbiological analyses were performed over the next 15 days. After evaluating the results of the analyses, the seven most effective types of treatment were assessed for their effect on the sensory quality of salsa. The sensory profile method was used to evaluate the acceptability of odour and taste, the pungency intensity and the overall acceptability of the sample. In the ranking test, the samples were further sorted according to increasing acceptability from the worst to the best.

The highest efficiency was shown by the heat treatment, which according to the results of sensory analysis did not lead to a statistically significant deterioration of the organoleptic properties of salsa. Among the natural antimicrobial substances tested, the best results were obtained using sodium chloride at a concentration of 100 g/l, followed by lemongrass essential oil at a concentration of 512 µl/l and acidification with citric acid to pH 3,2. Even these treatments did not lead to a statistically significant deterioration of the assessed properties of the sauce. At the same time, as well as heat treatment, they reduced viable counts of pathogen below detectable levels during the observation. In all other sample variants, the bacterium was able to persist for more than 15 days.

The present work describes the influence of various treatments on the survival and growth of *E. coli* in vegetable sauces, which is an issue that has not been addressed in many papers yet.

Keywords: preservation, chilli, salsa, vegetables, sauce, essential oils, contamination

Obsah

1 Úvod	8
2 Vědecká hypotéza a cíle práce	9
3 Literární rešerše.....	10
3.1 Technologie výroby zeleninových omáček.....	10
3.1.1 Výroba kečupu.....	10
3.1.2 Výroba salsy	12
3.1.3 Výroba chilli omáček.....	12
3.2 Mikrobiologie zeleninových omáček	13
3.2.1 Mikrobiologické požadavky	13
3.2.2 Původci kažení.....	13
3.2.3 Patogenní mikroorganismy.....	15
3.2.4 Mykotoxiny.....	16
3.3 Tradiční metody konzervace zeleninových omáček.....	17
3.3.1 Konzervace jedlou solí	17
3.3.2 Konzervace přísadkou cukru	18
3.3.3 Konzervace snížením pH	19
3.3.4 Fermentace.....	21
3.3.5 Tepelné ošetření.....	22
3.3.6 Kyselina benzoová, sorbová a jejich soli.....	23
3.3.7 Chlazení	25
3.4 Nové metody konzervace zeleninových omáček.....	26
3.4.1 Silice	26
3.4.2 Bakteriociny.....	28
3.4.3 Konzervace vysokým tlakem (HPP, paskalizace)	29
3.4.4 Ošetření pulzním elektrickým polem (PEF)	30
3.4.5 Ohmický ohřev	32
3.4.6 Mikrovlnný ohřev	33
4 Metodika	35
4.1 Testování komerčně prodávaných omáček.....	35
4.1.1 Příprava kultivačních médií a fosfátového pufru.....	35
4.1.2 Mikrobiologický rozbor.....	36
4.2 Testování salsy.....	36
4.2.1 Příprava bakteriálního inokula.....	36
4.2.2 Příprava kultivačního média a fosfátového pufru.....	36
4.2.3 Příprava salsy a vzorků.....	37
4.2.4 Mikrobiologický rozbor.....	38
4.2.5 Senzorická analýza	39

4.2.6	Statistické vyhodnocení	40
5	Výsledky	41
5.1	Mikrobiologické rozbory komerčně prodáváných omáček.....	41
5.2	Mikrobiologické rozbory inokulované salsy	41
5.3	Senzorická analýza	46
5.3.1	Hodnocení sensorického profilu	46
5.3.2	Pořadová zkouška	47
6	Diskuze	48
7	Závěr.....	55
8	Literatura.....	56
9	Samostatné přílohy	I

1 Úvod

Zelenina hraje ve výživě člověka důležitou roli, kdy je ceněna především pro svou vysokou biologickou hodnotu a zpravidla i nízký obsah energie. Významné je zejména zastoupení široké škály vitaminů a minerálních látek. Dále obsahuje i vlákninu, enzymy, kyseliny, barviva, třísloviny, silice a řadu dalších sloučenin (Dobiáš & Rajchl 2014). Kromě zeleniny v čerstvém stavu je na trhu k dostání celá řada zeleninových produktů, které zahrnují i zeleninové omáčky. Ke známým a často konzumovaným patří rajčatová omáčka, kečupy, chilli omáčky a salsa.

Zeleninové omáčky bývají zpravidla okyselovány a díky tomu, že většina bakterií není schopna růstu v prostředí s pH pod 4,6, se tak řadí k produktům, které byly vždy považovány za mikrobiologicky bezpečné (Kim et al. 2018; Kirkland et al. 2019). V posledních letech však začalo docházet i k nálezům v souvislosti s konzumací potravin s nízkým pH, což vyvolalo pochybnosti ohledně jejich skutečné bezpečnosti (Franco et al. 2010; Kirkland et al. 2019). V případě zeleninových omáček byly významné případy nákazy alimentárním onemocnění spojeny především s konzumací salsy, ale i například chilli omáček. K hlavním přenášeným patogenům patří *Escherichia coli*, *Salmonella* a *Listeria monocytogenes*, jejichž kmeny mohou být částečně acidotolerantní a v těchto produktech tak přežívat (Erkmen & Bozoglu 2016).

K nejčastějším opatřením patří tepelné ošetření, obecně je však známo, že jeho vlivem dochází k poklesu biologické hodnoty zeleniny (Dobiáš & Rajchl 2014). Obvykle je navíc nepříznivě ovlivněna i barva, chuť a vůně produktu (Salvi et al. 2016). V současné době je proto pozornost věnována konzervačním metodám jako je paskalizace či ohmický ohřev, které umožňují větší míru zachování nutriční a sensorické kvality výrobků. Vzhledem k negativnímu postoji spotřebitelů k syntetickým konzervantům také vzrostl zájem o používání přírodních antimikrobiálních látek (Calo et al. 2015). Zkoumány jsou tak například možnosti využití silic či bakteriocinů.

2 Vědecká hypotéza a cíle práce

Cílem diplomové práce bylo zhodnotit mikrobiologické parametry v současnosti dodávaných zeleninových omáček, otestovat různé způsoby šetrné konzervace (např. silice, cukr, sůl, organické kyseliny) a posoudit vliv takového ošetření na mikrobiologickou a sensorickou jakost produktu. Řešeny byly následující hypotézy:

1. Použití přírodních konzervantů povede ke snížení mikrobiální kontaminace zeleninové omáčky bez významného zhoršení sensorických parametrů.
2. Použití přírodních konzervantů zkrátí dobu přežívání patogenní bakterie *E. coli* v inokulované zeleninové omáčce bez významného zhoršení sensorických parametrů.

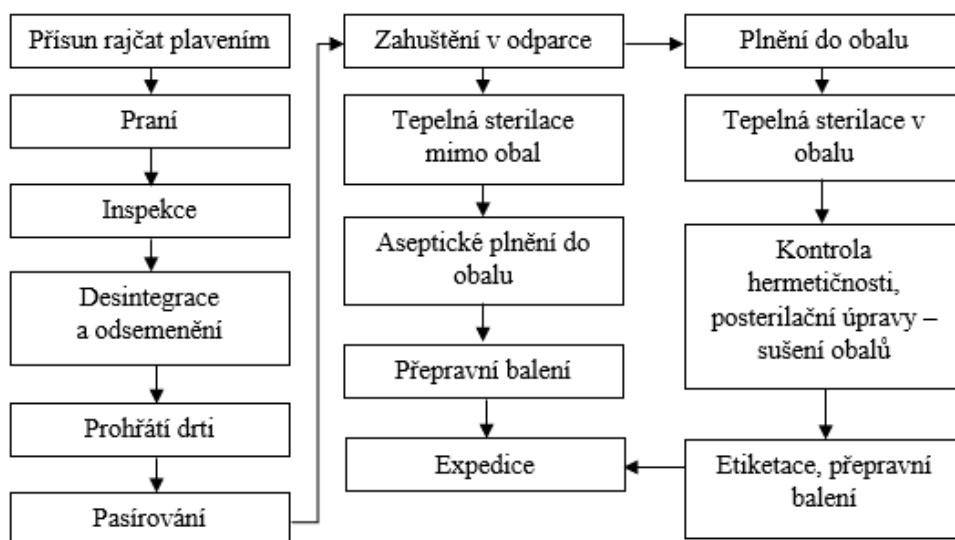
3 Literární rešerše

3.1 Technologie výroby zeleninových omáček

3.1.1 Výroba kečupu

Kečup má svůj původ v čínské rybí omáčce nazývané ke-tsiap, která na rozdíl od jeho dnešní podoby rajčata vůbec neobsahovala. Název byl postupně pozměněn a v Británii začalo docházet k nahrazování ingrediencí. V této době připomínal spíše omáčku sójovou či worcesterovou. Ještě v 19. století byl obvykle připravován z ústřic, mušlí, hub, vlašských ořechů, citronů, celeru, ale i například ovoce jako jsou švestky či broskve. Tyto složky byly uvařeny do sirupovité konzistence nebo po delší dobu ponechány naložené v soli. Oba procesy vedly ke vzniku vysoce koncentrovaného konečného produktu. Rajčata začala být přidávána kolem roku 1700 a v současnosti představují základní složku společně s octem, solí, cukrem a kořením (García-Casal et al. 2016).

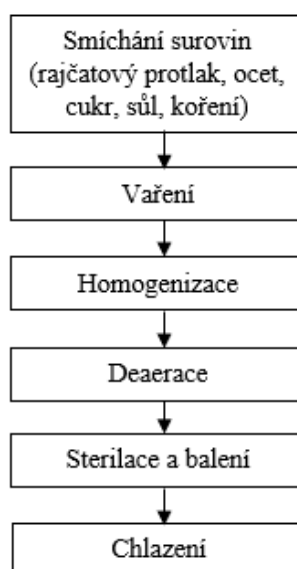
K přípravě mohou být použita buďto čerstvá rajčata nebo rajčatový protlak, který v případě průmyslové výroby převládá (Galicía-Cabrera 2007). Pro přípravu rajčatového protlaku jsou nejvhodnější rovnoměrně vyzrálá rajčata s intenzivní barvou a co nejvyšším obsahem sušiny. Plody by navíc měly vydržet transport a být tedy dostatečně pevné a odolné. Do závodů jsou dopravena jako volně ložená. Ukládka je provedena do plavicích žlabů se studenou vodou, kde mohou být skladována přibližně 24 hodin (Dobiáš 2009). K vlastnímu zpracování jsou následně dopravena hydraulicky. Po oprání dochází ke třídění, během kterého jsou vyřazeny zejména nevyzrálé a plísní napadené plody. Dalším krokem je nasekání, rozdrcení a zahřívání rajčat, jehož hlavním účelem je inaktivace enzymů, a to především pektinolytických (Dobiáš 2009; Mashad et al. 2019).



Obrázek 1: Výroba rajčatového protlaku (Dobiáš 2009)

Dle zvolené teploty záhřevu jsou rozeznávány dva způsoby ošetření, a to tzv. „hot-break“ a „cold-break“. V případě „hot-break“ jsou rajčata nasekána a před rozdrčením rychle zahřáta minimálně na 82,2 °C, zpravidla jsou ale používány teploty mezi 93–99 °C. Tento postup zajistí inhibici zmíněných pektinolytických enzymů a vede tak k zachování většího podílu pektinu, díky kterému má výsledný produkt vyšší viskozitu (Motamedzadegan & Tabarestani 2018). Při „cold-break“ jsou aplikovány nižší teploty (60–70 °C) po delší dobu. Výsledkem je pouze částečná inaktivace enzymů. Produkt je tudíž méně viskózní, ale má lépe zachovanou rajčatovou chuť (Gemina n.d.).

Před záhřevem lze zařadit odstranění semen na odsemeňovací stanici za účelem omezení extrakce tuků do konečného výrobku. Následuje protírání rajčatové drti na pasírkách a zahuštění na odparkách (Dobiáš 2009; Mashad et al. 2019). Po zahuštění je rajčatový protlak konzervován tepelným ohřevem, který může být proveden buďto v obalu nebo mimo obal s následným aseptickým plněním (Dobiáš 2009).



Obrázek 2: Výroba kečupu, upraveno (Motamedzadegan & Tabarestani 2018)

Tímto způsobem připravený rajčatový protlak je v případě použití pro výrobu kečupu přepraven do výroby a zde smíchán s dalšími ingrediencemi, které zahrnují ocet, cukr, sůl, koření či další dochucující složky. Přidány mohou být navíc i stabilizátory (Motamedzadegan & Tabarestani 2018). Tato směs je následně za současného zahřívání promíchávána (Jídlo s.r.o. 2015). Před plněním do obalu je provedena deaerace (Motamedzadegan & Tabarestani 2018). Trvanlivost produktu je zajištěna pasterací, kterou lze stejně jako v případě rajčatového protlaku provést buďto před nebo až po naplnění do obalu (Dobiáš 2009; Jídlo s.r.o. 2015). Menší část kečupů je konzervována chemicky. Jedná se především o případy, kdy zvolený obal nedovoluje použití vysokých teplot (Dobiáš 2009).

3.1.2 Výroba salsy

Salsa je omáčka hojně využívaná v mexické kuchyni (Sung & Kang 2014). Existují stovky různých variant a široká škála je nabízena i na trhu. Základní receptura zahrnuje rajčata či rajčatovou pastu, chilli papričky, papriky, ocet, cibuli, česnek a koření včetně černého pepře, koriandru a kmínu. Nejběžnější alternativou je salsa verde, kde klasická červená rajčata nahrazuje tomatillo (plod močyně dužnoplodé). Další speciální receptury obsahují například zelená rajčata, mrkev či dokonce kaktus. Do průmyslově vyráběné salsy mohou být navíc přidána aditiva jako je modifikovaný škrob, chlorid vápenatý, sorban draselný, benzoan sodný, kyselina citronová a další.

Prvním krokem výroby je příprava všech základních surovin, které jsou vytríděny, omyty průchodem přes ponornou či sprchovou pračku a zbaveny všech nežádoucích částí jako jsou slupky, stonky a semena (Secrest n.d.). Na trhu se lze setkat i se salsou z neoloupaných rajčat, častěji jsou však upravena chemickým či parním loupáním (Sumonsiri & Barringer 2014). Například chilli papričky bývají i blanširovány. Takto připravené přísady jsou následně pokrájeny stroji nastavenými na požadovanou jemnost (Secrest n.d.).

Dalším krokem je nadávkování všech surovin do tanku, kde jsou společně promíchávány. Vzhledem k časté nutnosti transportu salsy na velké vzdálenosti je důležité, aby byl produkt dostatečně trvanlivý. Z tohoto důvodu bývá často tepelně ošetřen, a to buďto nižšími teplotami působícími po delší dobu (např. 71 °C po dobu 45 min) nebo krátkodobým záhřevem na vyšší teploty, k čemuž lze použít trubkový pastér (Secrest n.d.; Red Gold Tomatoes 2015; 2 Sisters' Salsa Company 2017). Po tepelné úpravě následuje deaerace a balení do obalů odolných vůči vysoké teplotě, neboť bývají salsou plněny ještě zatepla. Po uzavření jsou obaly chlazeny studenou vodou či vzduchem, což vede ke vzniku podtlaku (Secrest n.d.; Red Gold Tomatoes 2015).

3.1.3 Výroba chilli omáček

Chilli omáčky představují výrobky určené k dochucování, které jsou připravovány z čerstvých či zpracovaných chilli papriček (*Capsicum* spp.) (García-Casal et al. 2016). K nejčastěji využívaným druhům patří *Capsicum frutescens* a *Capsicum annuum* (Watts et al. 2018). Omáčky ale mohou obsahovat i řadu dalších přísad jako jsou rajčata, česnek, cibule, mrkev, mango či papája (García-Casal et al. 2016). Na trhu je tak k dostání široká škála produktů lišících se nejen konkrétními ingrediencemi, ale i výrobním postupem.

Při výrobě se obvykle uplatňuje fermentace z papriček vytvořené pasty, která je na 2 týdny až 3 roky umístěna do dřevěných či plastových sudů. Na fermentaci se podílí převážně bakterie mléčného kvašení a kvasinky, jejichž poměr určuje vlastnosti konečného produktu. Její konkrétní průběh a vliv na fyzikálně-chemické vlastnosti pasty jsou blíže popsány v podkapitole Fermentace. Po fermentaci následuje smíchání s octem a zrání dalších přibližně 28 dnů před naplněním do obalů. Přesný postup se však napříč společnostmi liší, přičemž k hlavním rozdílům patří stupeň rozmělnění, množství přidané soli, délka fermentace a podíl následně přidaného octu (Watts et al. 2018).

Jako konkrétní příklad bude uveden výrobní postup originálního Tabasca, které je i v současnosti produkováno v Avery Island v Louisianě firmou rodiny McIlhennyů dle původního receptu z roku 1868 (TABASCO® Brand n.d.). Za účelem výroby jsou pěstovány

papričky odrůdy Tabasco, a to v Jižní Africe a Americe. Po dozrání jsou ručně sbírány vyškolenými pracovníky, následně smíchány se solí a v drtiči pomlety na pastu. Ta je v kontejnerech odeslána do místa zpracování, tedy do Avery Island. Následně je přečerpána do dubových sudů, na jejichž víko je pro zdokonalení těsnění navrstvena sůl. V těchto sudech pasta zraje po dobu 3 let, kdy dochází kromě samotné fermentace i k zahuštění vlivem odpařování vody. Po uplynutí této doby je smíchána s octem v poměru 70:30. Společně jsou promíchávány v míchacím tanku dalších 14–28 dnů. Po dokončení míchání následuje pasírování a plnění do obalů (TABASCO® Brand n.d.; Eater 2019).

U některých omáček může být proces fermentace vynechán a papričky namleté na pastu jsou ihned míchány s octem. Jejich výroba sice trvá kratší dobu, ale jsou ochuzeny o změny senzorických vlastností, ke kterým v průběhu fermentace dochází (Bray 2019).

3.2 Mikrobiologie zeleninových omáček

3.2.1 Mikrobiologické požadavky

Kritéria týkající se mikrobiologické kvality potravin byla dříve upravena vyhláškou č. 132/2004 Sb. ze dne 12. března 2004 o mikrobiologických požadavcích na potraviny, způsobu jejich kontroly a hodnocení. Pro její účely byly potraviny děleny do čtyř kategorií, a to na sterilizované, určené pro kojeneckou a dětskou výživu, určené k přímé spotřebě a neurčené k přímé spotřebě. U těchto kategorií vyhláška následně stanovovala nejvyšší mezní hodnoty počtu bakteriálních původců onemocnění z potravin a toxických produktů mikroorganismů. Dále pak určovala přípustné hodnoty počtu mikrobů u jednotlivých druhů, skupin nebo podskupin potravin, kde byly uvedeny i limity vztahující se k omáčkám. Kromě toho zahrnovala některá pravidla pro odběr vzorků, způsob hodnocení potravin z mikrobiologického hlediska i seznam potravin a skupin potravin považovaných za mikrobiologicky nerizikové. Zrušena byla vyhláškou č. 467/2006 Sb. ze dne 20. září 2006, která nabyla účinnosti dne 11. října 2006.

V současné době je závazné nařízení Komise (ES) č. 2073/2005 ze dne 15. listopadu 2005 o mikrobiologických kritériích pro potraviny. Zahrnutý jsou základní požadavky na bezpečnost potravin, hygienu výrobního procesu i pravidla pro odběr a přípravu zkušebních vzorků. Z konkrétních omezení týkajících se přítomnosti mikroorganismů, jejich toxinů či metabolitů se na zeleninové omáčky vztahuje pouze limit pro *Listeria monocytogenes* v potravinách určených k přímé konzumaci.

Další mikrobiologická kritéria pro potraviny lze nalézt v technických normách. Konkrétně se touto problematikou zabývá ČSN 56 9609, která mimo jiné uvádí doporučené mikrobiologické limity zahrnující nejvyšší mezní hodnoty mikroorganismů i jejich toxických produktů a dále tolerovatelné hodnoty pro jednotlivé druhy, skupiny nebo podskupiny potravin obdobně jako dříve platná vyhláška. Jejich dodržování však není povinné.

3.2.2 Původci kažení

Zeleninové omáčky bývají zpravidla okyselovány a patří tak společně s hořčicí, majonézou a salátovými dresinky k produktům, jejichž mikrobiologická stabilita je připisována především nízké hodnotě pH, přítomnosti nedisociované kyseliny octové a relativně nízké

aktivitě vody (Erkmen & Bozoglu 2016). Tyto podmínky brání vyklíčení spor a růstu téměř všech bakterií s výjimkou bakterií acidurických. Kromě nich jsou růstu v tomto prostředí schopny i kvasinky a plísňe (Erkmen & Bozoglu 2016; Lobo et al. 2019).

Přibližně jedna čtvrtina případů kažení těchto potravin je způsobena bakteriemi mléčného kvašení, přičemž se nejčastěji jedná o *Lactobacillus fructivorans*, *Lb. brevis*, *Lb. buchneri* a *Lb. plantarum* (Sperber 2009; Lobo et al. 2019). Jejich intenzivní pomnožení je spojeno s poklesem pH a tvorbou viditelných kolonií. Doprovázeno může být navíc i produkcí CO₂ (Ray 2004; Erkmen & Bozoglu 2016).

Dle Sperbera (2009) bývají za zbylé tři čtvrtiny případů zodpovědné kvasinky, a to nejčastěji *Saccharomyces cerevisiae*, *Pichia anomala*, *Zygosaccharomyces bailii*, *Candida parapsilosis*, *Debaryomyces etchellsii*, *Issatchenkia orientalis* a *Pichia membranaefaciens*. Jedná se převážně o fakultativně anaerobní mikroorganismy, jejichž metabolismus se za anaerobních podmínek mění na fermentační (Vlková et al. 2009). Například kmeny *Zygosaccharomyces bailii* jsou schopné metabolizovat i benzoan a jejich růst v omáčkách je doprovázen tvorbou etanolu společně s CO₂ (Beuchat 2009; Erkmen & Bozoglu 2016). Některé kvasinky jako *Cryptococcus* spp. a *Rhodotorula* spp. jsou ovšem přísně aerobní a vyskytují se tudíž pouze na povrchu výrobků v podobě povlaku.

Plísňe se uplatňují jen zřídka, neboť špatně tolerují přítomnost kyseliny octové (Sperber 2009). Většina plísní nemůže růst již v případě, kdy její koncentrace přesahuje 0,5 %. Výjimkou jsou *Monascus ruber* a *Penicillium glaucum*, které snáší koncentrace nad 1 %. Extrémně tolerantní je *Moniliella acetobutans* rostoucí i za přítomnosti 9–11 % kyseliny octové při pH 5 (Erkmen & Bozoglu 2016). Plísňe ke svému růstu navíc vyžadují přítomnost kyslíku a vyskytují se proto stejně jako aerobní kvasinky na povrchu produktu (Sperber 2009).

Konkrétní zastoupení mikrobů se mimo jiné odvíjí i od způsobu zpracování výrobku. Příkladem může být kečup, u kterého díky hodnotě pH okolo 3,5–4 a obsahu přibližně 0,8–1 % kyseliny octové dochází ke kažení zřídka, nicméně jeho původci se liší v závislosti na tom, zda byl připraven za studena či za horka (Görner & Valík 2004; Sperber 2009). V případě za studena připravených kečupů se jedná zejména o bakterie octového kvašení rodu *Acetobacter* či *Gluconobacter*, bakterie mléčného kvašení rodu *Lactobacillus* a *Leuconostoc*, plísňe a kvasinky (Görner & Valík 2004; Vlková et al. 2009). Převažujícími znehodnocujícími mikroorganismy jsou zde laktobacily, jejichž pomnožení se projevuje tvorbou bílých kolonií až o velikosti špendlíkové hlavičky (Lund et al. 2000; Görner & Valík 2004). Přítomnost bakterií mléčného či octového kvašení může navíc způsobovat bombáže. Pokud je kečup zastudena plněný do velkospotřebitelských obalů, pak hrozí i vznik povlaku plísní či kvasinek.

U kečupů plněných do obalů za horka jsou za kažení zodpovědné především bakterie *Bacillus coagulans* a *Bacillus stearothermophilus*, jejichž přítomnost vede k mírnému zkysnutí produktu a poklesu hodnoty pH přibližně o půl jednotky. Některé kmeny *B. stearothermophilus* jsou za anaerobních podmínek a teploty mezi 40–54 °C schopné i redukovat dusičnan a vytvářet plyn. K vyklíčení endospor *B. coagulans* dochází při pH nad 4, v případě spor *B. stearothermophilus* pak při pH nad 4,6 (Görner & Valík 2004).

Na kvalitu výsledného výrobku má významný vliv jakost zpracovaných surovin, v tomto případě především rajčat. Pokud jsou použita rajčata plesnivá, pak dochází v důsledku pomnožení plísní a spotřeby organických kyselin ke zvýšení hodnoty pH, což následně umožňuje vyklíčení spor například bakterií rodu *Clostridium*. Z plísní bývají v kečupech

nejčastěji zastoupeny *Cladosporium* spp. a *Penicillium* spp. (Görner & Valík 2004; Vlková et al. 2009). Stancari et al. (2018) uvádí, že hlavní plísně ovlivňující kvalitu výrobků z rajčat dále zahrnují *Alternaria* spp., *Aspergillus* spp., *Botrytis* spp., *Fusarium* spp., *Geotrichum* spp., *Phytophthora* spp., *Rhizopus* spp. a *Stemphylium* spp.

3.2.3 Patogenní mikroorganismy

Vzhledem k tomu, že většina bakterií není schopna růstu v prostředí s pH pod 4,6, byly kyselé a okyselené produkty vždy považovány za mikrobiologicky bezpečné (Kim et al. 2018). V posledních letech však začalo docházet k alimentárním nákazám spojeným i s konzumací těchto potravin, což vyvolalo pochybnosti ohledně jejich skutečné bezpečnosti (Franco et al. 2010; Kirkland et al. 2019).

K hlavním patogenním bakteriím vyskytujícím se v zeleninových i jiných omáčkách patří *Escherichia coli*, *Salmonella* a *Listeria monocytogenes*, jejichž kmeny mohou být částečně acidotolerantní a v těchto výrobcích tak přežívat (Erkmen & Bozoglu 2016). Například *E. coli* O157:H7 snáší i prostředí s pH 4 (Kim et al. 2018). Dle studií navíc může v kyselých produktech za chladírenských teplot přetrvávat i týdny, neboť nižší teploty dobu jejího přežívání prodlužují (Eribo & Ashenafi 2003). Významná je dále přítomnost bakterie *Staphylococcus aureus*, která je často přenesena pracovníky zařízení a je tak dobrým indikátorem hygienických praktik (Beuchat 2009; Franco et al. 2010). Výrobky s přidaným škrobem mohou být kontaminovány i některými kmeny *Bacillus* a *Clostridium*, jejichž spory nemusí být zničeny (Erkmen & Bozoglu 2016).

Průmyslově připravené omáčky jsou často určeny k opakovanému použití ze stejného obalu po dobu několika dnů. Tato situace ovšem vytváří příležitost k zanesení patogenů do produktu (Beuchat 2009). Patogenní mikroby ale mohou být v omáčce přítomny i z důvodu křížové kontaminace v průběhu výroby či nesplnění správných postupů zpracování jako je dodržení parametrů tepelného ošetření (Grassi et al. 2013). Problematická je zejména výroba ve stravovacích službách, kde bývají omáčky připraveny ve velkém množství najednou. Často dochází k nevhodnému skladování a manipulaci.

Omáčky jako salsa a guacamole jsou připravovány z ingrediencí, které byly v minulosti spojeny s přenosem původců alimentárních nákaz, jako jsou rajčata, koriandr, chilli papričky a cibule (Franco et al. 2010; Kendall et al. 2013). Kendall et al. (2013) uvádí, že kontaminovaná salsa může umožnit i růst patogenních mikroorganismů, a to zejména v případě, kdy je ponechána po delší dobu za pokojové teploty. K patogenům často spojovaným s touto omáčkou patří *E. coli*, *Salmonella* spp., norovirus, *Shigella* spp., *Clostridium* spp. a *Staphylococcus aureus* (Franco et al. 2010).

Alimentární onemocnění způsobené bakterií *Salmonella enterica* bylo v minulosti spojené i s konzumací chilli omáček. Docházet může také k růstu *Bacillus cereus*, jehož přítomnost hrozí zejména u chilli omáček připravených a konzumovaných bez tepelného ošetření, případně pak u výrobků zahuštěných škrobem bez stabilizace konzervačními látkami (Kim et al. 2014; Mahmood et al. 2019). Z ostatních patogenů se obdobně jako u jiných omáček vyskytuje především *E. coli*, *Listeria monocytogenes*, *Clostridium perfringens* a *Staphylococcus aureus* (Zaini et al. 2010; Kim et al. 2018).

3.2.4 Mykotoxiny

Mykotoxiny představují toxické sekundární metabolity některých plísní, k jejichž růstu může docházet již před sklizní, ale i po sklizni plodin, a to zejména v teplém a vlhkém prostředí. Většina produkovaných mykotoxinů je stabilní. Není tedy zničena ani v průběhu zpracování a může se tak dostat i do finálních výrobků. Jejich zdrojem jsou v naší stravě nejen potraviny plesnivé či vyrobené z napadených surovin, ale i živočišné produkty ze zvířat krmených kontaminovaným krmivem. Konzumace takovýchto výrobků může mít následně nepříznivý vliv na lidské zdraví (Alshannaq & Yu 2017; WHO 2018). V případě zeleninových omáček je nejvýznamnější přítomnost alternáriových a fusariových mykotoxinů, aflatoxinů a ochratoxinu A (Weidenbörner 2018).

Plísněmi, které nejčastěji napadají rajčata, jsou *Alternaria* spp. Zejména nejběžněji se vyskytující *Alternaria alternata* dokáže produkovat několik mykotoxinů jako je alternariol, alternariol monomethylether, altenuen, altenusin, altertoxiny I–III, tentoxin a kyselina tenuazonová (Pose et al. 2010; Noser et al. 2011). Kromě rajčat a výrobků z nich, včetně rajčatových omáček a kečupů, byly tyto toxiny detekovány například v obilovinách, ovoci, pivu a vínu (EFSA 2011). Především kyselina tenuazonová se dále může vyskytovat v omáčkách připravených z paprik (Perre et al. 2014). Z toxikologického hlediska vykazuje většina alternáriových mykotoxinů velmi slabou akutní toxicitu (Noser et al. 2011). U některých byly ovšem popsány genotoxické a mutagenní účinky v různých *in vitro* systémech, při testování na zvířatech pak bylo zaznamenáno působení fetotoxické, teratogenní a karcinogenní. U lidí jsou spojovány se zvýšenou incidencí rakoviny jícnu v oblastech Číny, kde je obilí více zatíženo kontaminací zmíněnými plísněmi (EFSA 2011).

Vůči napadení plísní a následné produkci mykotoxinů jsou dále velmi citlivé papriky. Nejdůležitější kontaminující mykotoxiny zde představují aflatoxiny a ochratoxin A (Costa et al. 2019). Chilli papričky jsou v případě aflatoxinů dokonce jednou z nejvíce zatížených plodin (Gherbawy 2015). Obecně je nejčastější výskyt aflatoxinů B1, B2, G1 a G2, jejichž hlavními producenty jsou *Aspergillus flavus* a *Aspergillus parasiticus* (Mariutti & Soares 2009). Z toxikologického hlediska byly popsány účinky teratogenní, hepatotoxické, mutagenní a imunosupresivní. Spojované jsou dále i s akutní toxicitou a karcinogenitou u lidí i zvířat, přičemž aflatoxin B1 je dle klasifikace karcinogenů IARC zařazen do skupiny 1, tedy k prokázaným karcinogenům pro člověka. Akutní toxické účinky jsou problémem spíše v některých rozvojových zemích (Alshannaq & Yu 2017).

Ochratoxin A je v teplých a tropických zemích produkován především plísní *Aspergillus ochraceus* a *Aspergillus carbonarius*, zatímco v chladnějším podnebí se na jeho produkci podílí převážně *Penicillium verrucosum* (Iqbal et al. 2017). Dle klasifikace IARC spadá do skupiny 2B, jedná se tedy o možný karcinogen pro člověka. Dále existuje podezření, že způsobuje balkánskou endemickou nefropatii. Akutně působí nefrotoxicky a hepatotoxicky. Navíc byly sledovány imunotoxické, genotoxické, neurotoxické, teratogenní a embryotoxické účinky u lidí i zvířat (Alshannaq & Yu 2017).

Kromě aflatoxinů a ochratoxinu A mohou být v průmyslově zpracovaných produktech z paprik přítomny například i fumonisiny, zearalenon, patulin a trichotheceny jako například nivalenol (Weidenbörner 2018; Costa et al. 2019).

3.3 Tradiční metody konzervace zeleninových omáček

3.3.1 Konzervace jedlou solí

Sůl (NaCl, chlorid sodný) je díky svým jedinečným vlastnostem a nízké ceně jednou z nejpoužívanějších přísad v potravinářském průmyslu (Albarracín et al. 2011). Využívá se především k úpravě sensorické jakosti potravin, kterým dodává slanou chuť a zároveň dokáže i zvýraznit ostatní přítomné chuťové látky. Důležitou roli hraje dále při zpracování mnoha potravinářských produktů, kdy například umožňuje řízení průběhu fermentace či upravuje vlastnosti lepku.

Sůl se jako konzervační činidlo využívá již tisíce let. Hlavním mechanismem konzervačního účinku je schopnost snížit aktivitu vody (a_w) v potravine (Brady 2002; Hutton 2002). Ta je definována jako poměr parciálního tlaku vodní páry nad potravinou ku parciálnímu tlaku vodní páry nad destilovanou vodou za stejných podmínek a vyjadřuje míru využitelnosti vody pro metabolismus mikroorganismů. Nabývá hodnot od 0 do 1, kdy pro destilovanou vodu platí vždy $a_w = 1$, se zvyšující se koncentrací obsažených rozpustných látek pak vodní aktivita klesá (Vlková et al. 2009; Sandulachi 2012).

Nároky jednotlivých mikroorganismů na minimální hodnotu a_w potřebnou k růstu se liší (Tabulka 1). V případě, kdy jsou další podmínky jako pH, teplota, obsah živin či parciální tlak kyslíku pro konkrétní mikroorganismus nepříznivé, se požadavky na minimální a_w zvyšují (Tapia et al. 2007; Vlková et al. 2009).

Tabulka 1: Minimální a_w pro růst mikroorganismů (Tapia et al. 2007)

Aktivita vody (a_w)	
1–0,95	<i>Pseudomonas, Escherichia, Proteus, Shigella, Klebsiella, Bacillus, Clostridium perfringens, C. botulinum E, G</i> , některé kvasinky
0,95–0,91	<i>Salmonella, Vibrio parahaemolyticus, Clostridium botulinum A, B, Listeria monocytogenes, Bacillus cereus</i>
0,91–0,87	<i>Staphylococcus aureus</i> , kvasinky (<i>Candida, Torulopsis, Hansenula</i>), <i>Micrococcus</i>
0,87–0,80	Většina plísní (mykotoxigenní penicillia), <i>Staphylococcus aureus</i> , většina <i>Saccharomyces (bailii) spp., Debaryomyces</i>
0,80–0,75	Většina halofilních bakterií, mykotoxigenní aspergilli
0,75–0,65	Xerofilní plísně (<i>Aspergillus chevalieri, A. candidus, Wallemia sebi</i>), <i>Saccharomyces bisporus</i>
0,65–0,61	Osmofilní kvasinky (<i>Sacharomyces rouxii</i>), některé plísně (<i>Aspergillus echinulatus, Monascus bisporus</i>)
<0,61	Žádná mikrobiální proliferace

Snížit vodní aktivitu prostředí lze obecně dvěma způsoby. Prvním je odstranění vody sušením či zahuštěním, což je využíváno například u ovoce, zeleniny, hub a masa. Druhou možností je zvýšení obsahu rozpustných látek jako je sacharóza či právě chlorid sodný (Vlková et al. 2009). Vliv koncentrace NaCl v roztoku na aktivitu vody popisuje Tabulka 2 (Ingr 2007).

Obecně jsou mikroorganismy schopné snášet koncentrace soli od 8 do 35 %. Velmi citlivé jsou především mnohé patogenní bakterie, kdy například 8–9 % NaCl v prostředí zastavuje růst bakterií rodu *Escherichia*. K úplné konzervaci potlačující i plísně a halofilní mikroby je však nutná aplikace v množství, které nebývá organolepticky přijatelné. Proto se solení zpravidla kombinuje s dalšími konzervačními metodami (Červenka & Samek 2003; Ingr 2007).

Sůl je důležitou složkou i omáček a omáčkám podobných produktů. Například pro kečup je typický obsah 2,3 %, pro majonézu pak 1,5 %. V některých případech ale přesahuje i 10 %, což je běžné například u sójových omáček. Význam má nejen pro celkovou chuť produktu, ale zároveň také pro konzervaci (Hutton 2002; Man 2007).

Tabulka 2: Vliv koncentrace NaCl na aktivitu vody (Ingr 2007)

Koncentrace NaCl v roztoku (%)	Odpovídající a_w
10	0,94 – potlačuje <i>Clostridium botulinum</i> a salmonely
16	0,90 – potlačuje běžné bakterie
22	0,86 – potlačuje stafylokoky a běžné kvasinky

Kromě samotné soli působí konzervačně i řada dalších sloučenin obsahujících sodík. Příkladem může být benzoan sodný, siřičitan sodný, dusitan a dusičnan sodný či disodná sůl kyseliny ethylendiaminotetraoctové. Nejen, že redukují mikrobiální aktivitu, ale některé z nich mohou i zpomalovat průběh nežádoucích chemických reakcí jako je oxidace lipidů či enzymatické hnědnutí, a tím napomáhat zachování kvality (Henney et al. 2010). U omáček a dresinků plní některé sloučeniny s obsahem sodíku funkci emulgátoru či zahušřovadla. Za účelem konzervace bývá přidáván zejména benzoan sodný (Azam-Ali 2008; Henney et al. 2010).

3.3.2 Konzervace přídavkem cukru

Hlavním principem konzervace přídavkem cukru je stejně jako u jedlé soli vzrůst osmotického tlaku, který je v nepřímé úměře s aktivitou vody (Sandulachi 2012). Zvýšením obsahu rozpustných látek v potravině vznikají hypertonické podmínky, které způsobují difuzi vody z buněk mikrobů do prostředí (Vlková et al. 2009). Se vzrůstající koncentrací cukru tak dochází k zastavení jejich rozvoje a neschopnosti spor vyklíčit. V některých případech může vysoký obsah vést až k plazmolýze, tedy k usmrcení mikroorganismů (Ingr 2007). Kromě toho bývají ovlivněny i další změny potravin. V důsledku zpomalení difuze kyslíku do proslazené hmoty je například omezený proces oxidace.

U konzervace kyselých potravin jako jsou marmelády, džemy a kyselé sirupy postačuje 60–65 %, zatímco u nekyselých sirupů je nutné použít 75–80 % cukru (Kyzlink 1988). Ze senzorických důvodů bývá tato metoda aplikována zejména u ovocných výrobků (Červenka & Samek 2003; Ingr 2007). Významnou roli však hraje i například u sladkých chilli omáček,

do kterých se obvykle přidává 10–38 % sacharózy. V některých případech se ale její obsah pohybuje i kolem 60 % (Kim et al. 2018).

3.3.3 Konzervace snížením pH

Hodnota pH je definována jako záporný dekadický logaritmus koncentrace vodíkových iontů. V potravinách je pH velmi důležitým faktorem ovlivňujícím růst mikroorganismů, neboť působí na jejich energetický metabolismus, enzymatickou aktivitu a stabilitu buněčných makromolekul. Kromě toho má efekt i na sensorické vlastnosti mnoha potravin, kdy ovlivňuje nejen chuť, ale i konzistenci – příkladem může být kyselé srážení mléka či změna rozpustnosti pektinů (Lücke 2003; Rahman 2007).

V potravinách je hodnota pH ovlivňována především volnými karboxylovými a aminovými skupinami ve sloučeninách s nízkou molekulovou hmotností, v menší míře i v makromolekulách. Řízeno může být výběrem surovin či přidáním kyselých nebo zásaditých sloučenin s nízkou molekulovou hmotností, případně jejich produkcí v samotné potravine (Lücke 2003).

Na základě hodnoty pH jsou potraviny rozdělovány do několika kategorií, toto členění ovšem není mezi autory zcela jednotné. Například Červenka a Samek (2003) potraviny rozdělují na nekyselé (pH nad 4,5), málo kyselé (pH 4–4,5) a kyselé (pH pod 4), zatímco Rahman (2007) uvádí dělení na potraviny nekyselé (pH nad 5,3), málo až středně kyselé (pH 5,3–4,6), kyselé (pH 4,6–3,7) a velmi kyselé (pH pod 3,7). Pro možnost porovnání jsou v Tabulce 3 uvedeny obvyklé hodnoty pH vybraných omáček (Theron & Lues 2011; Gibson & Newsham 2018).

Tabulka 3: Hodnoty pH u vybraných omáček (Theron & Lues 2011; Gibson & Newsham 2018)

Typ omáčky	Přibližná hodnota pH
Rajčatová omáčka	3,9
Kečup	3,89–3,92
Chilli omáčka	2,8–3,7
Bazalkové pesto	4,9
Sójová omáčka	4,4–5,4
Majonéza	3,7–4,7

Růst mikroorganismů může být inhibován buďto nízkým nebo vysokým pH. Pouze omezené množství potravin (např. vejce) je stále konzumovatelné při pH nad 9, což je nejvyšší hodnota umožňující růst široké škály mikrobů. Proto se zpravidla využívá okyselování, k čemuž jsou používány organické kyseliny (Lücke 2003). Příkladem může být kyselina citronová, jablečná, vinná, octová a mléčná. Při volbě konkrétní kyseliny je důležité zvážit, do jaké potraviny bude aplikována a jaké mikroorganismy je nutné inhibovat. Každý mikrobiální druh je schopen růstu v určitém intervalu pH. Obecně lze říci, že většina bakterií neroste při pH pod 4,3. K inhibici acidofilních bakterií, kvasinek a plísní je zapotřebí ještě výraznější okyselení (Ingr 2007). Inhibiční účinek není závislý pouze na samotném poklesu pH. Záleží i na složení kyselin, teplotě prostředí a přítomnosti dalších látek. Hodnoty pH mimo jiné

ovlivňují schopnost buněk odolávat zvýšené teplotě, přičemž platí, že čím větší je odchylka od optimálních hodnot, tím menší je odolnost vůči tepelnému ošetření. To se týká vegetativních buněk i spor (Vlková et al. 2009).

K okyselení omáček je nejčastěji používána kyselina octová (Smith & Stratton 2006). Ta je z dříve uvedených organických kyselin považována za neúčinnější. S klesajícím pH prostředí její účinnost stoupá, neboť roste podíl nedisociované formy, která může pronikat do buněk mikroorganismů (Ingr 2007; Mullan 2009). Při koncentraci nad 4–6 % dochází k usmrcení vegetativních buněk bakterií. Kvůli štiplavému zápachu a chuti je ale použití v potravinách omezeno na koncentraci do 1,5–3 %, výjimečně až 5 % u silně octěných produktů. Nejčastěji se do potravin aplikuje ve formě octu, který obsahuje typicky 4–8 % kyseliny octové. Vzhledem k odbourávání kyseliny octové acidoaerobními mikroby, je ochrana potravin v uvedených koncentracích jen dočasná (Ingr 2007; Gurtler & Mai 2014).

V průběhu let byla vyvinuta řada vzorců pro výpočet množství kyseliny potřebné k zabezpečení konzervace (Brimelow 1995). Roku 1985 vydalo Evropské obchodní sdružení CIMSCEE zásady správné praxe pro výrobu mikrobiologicky bezpečných a stabilních emulgovaných a neemulgovaných omáček obsahujících kyselinu octovou. Mimo jiné jsou zahrnuty dva vzorce. První slouží k predikci mikrobiální bezpečnosti omáček:

$$15,75(1 - \alpha)(\text{celk. kyselina octová \%}) + 3,08(\text{sůl \%}) + (\text{hexózy \%}) + 0,5(\text{disacharidy \%}) + 40(4,0 - \text{pH}) = \Sigma_s,$$

kde $(1-\alpha)$ vyjadřuje podíl nedisociované formy kyseliny octové. V případě, kdy hodnota Σ_s činí více než 63, je mikrobiologická bezpečnost teoreticky zajištěna. Druhá rovnice je upravena pro predikci stability omáček. I zde by měla být hodnota Σ vyšší než 63:

$$15,75(1 - \alpha)(\text{celk. kyselina octová \%}) + 3,08(\text{sůl \%}) + (\text{hexózy \%}) + 0,5(\text{disacharidy \%}) = \Sigma$$

S vhodným obsahem kyseliny octové, soli a cukrů lze tedy získat stabilní omáčky bez nutnosti tepelného ošetření či přidavku umělých konzervantů (Hutton 2002; Man 2007). Při aplikaci nižších koncentrací jednoho či více z faktorů by měla být stabilita zajištěna pasterací. Po otevření může takový produkt vyžadovat skladování v chladu (Hutton 2002).

Zmíněný model má ovšem určité limity. Nevztahuje se na kontaminaci plísní *Moniliella acetobutans*, která toleruje i vysoké koncentrace kyseliny octové. Další slabou stránkou je absence zohledňování teploty skladování. Při sestavování vzorců CIMSCEE vycházelo z práce, které se věnoval Tuynenburg Muys (1971). Jeho poznatky jsou vztaženy k teplotě skladování 20 °C a není možné model jednoduše aplikovat i na výrobky skladované za jiných, především chladírenských, teplot. Při zkoumání schopnosti *E. coli* přežít v majonézách bylo zjištěno, že při testování za teploty 30 °C může model CIMSCEE poskytovat falešně pozitivní závěry – předpokládá se přežití, ve skutečnosti dojde k usmrcení (Chapman et al. 2006). Naopak při skladování za nízkých teplot může doba přežití *E. coli* činit několik dnů až týdnů (Mullan 2009).

Některými studiemi byl dále zaznamenán ochranný efekt soli a cukrů usnadňující přežití a růst *E. coli* O157:H7 v kyselém prostředí (Jordan & Davies 2001; Casey & Condon 2002).

Model tak například při koncentraci soli nad 2,5 % a/nebo sacharózy nad 4 % poskytoval falešně negativní výsledky – předpokládá se usmrcení, ve skutečnosti dojde k přežití (McKellar et al. 2002). Tento ochranný účinek byl zkoumán a potvrzen i dalšími výzkumy (Lee et al. 2010; Lee & Kang 2016; Bae & Lee 2017).

3.3.4 Fermentace

Fermentace je biotechnologický proces využívaný člověkem pravděpodobně již od neolitu. Probíhá vlivem mikroorganismů, ať už bakterií, plísní, kvasinek či jejich kombinace, v anaerobním prostředí a spočívá v přeměně fermentovatelných sacharidů na konečné produkty jako jsou organické kyseliny, alkoholy a oxid uhličitý (Ansorena & Astiasarán 2016; Medina et al. 2016). Výsledkem je nejen prodloužení uchovatelnosti, ale také změny chuti, vůně, textury a obsahu živin (Hutkins 2018). Rozvoj mikrobiologie umožnil v 19. století úpravu produkce fermentovaných potravin používáním definovaných startovacích kultur, kterými lze urychlit i řídit fermentační proces a dosáhnout široké škály produktů s různými organoleptickými i nutričními vlastnostmi. Dnes jsou tyto postupy označovány jako biotechnologie. Spontánní fermentace je v současnosti stále používána zejména při produkci tradičních potravin či tam, kde nejsou přesně určeny všechny podílející se mikroby (Ansorena & Astiasarán 2016).

Z hlediska konzervace má největší význam kvašení alkoholové a mléčné. V průběhu alkoholového kvašení dochází aktivitou kvasinek ke vzniku etanolu, jehož rostoucí koncentrace následně inhibuje mikroorganismy. Postupně dochází k zastavení množení i u odolnějších mikrobů včetně samotných kvasinek a proces se zastavuje. Používá se v produkci ovocných a révových vín, ovocných pálenek, piva a dalších lihovin (Ingr 2007). Během mléčného kvašení se uplatňují bakterie mléčného kvašení (BMK), jejichž hlavním metabolitem je kyselina mléčná. Současně vznikají i další látky (např. etanol, bakteriociny, kyselina octová), které následně spolupůsobí s kyselinou mléčnou vůči nežádoucím mikrobům (Ingr 2007; Rattanachaikunsopon & Phumkhachorn 2010). Tento typ fermentace je využíván při výrobě mnoha produktů včetně mléčných výrobků, kvašené zeleniny a fermentovaných salámů (Kwon et al. 2014).

Pokud nastanou příznivé podmínky pro autochtónní mikrobiotu zeleniny v podobě anaerobního prostředí, vhodné vodní aktivity, koncentrace soli a teploty, může docházet ke spontánnímu mléčnému kvašení, případně i kvašení alkoholovému. Významný pokles pH však může vyžadovat i několik dnů. Hrozí proto příliš pomalé potlačení nežádoucích mikroorganismů a nepříznivé ovlivnění sensorických a reologických vlastností potravin. Průběh lze usměrnit buďto přidávkou malého množství materiálu z již úspěšně proběhlé fermentace nebo použitím startovacích kultur, nejlépe pokud jsou vybrány z autochtónní mikrobioty. V dnešní době využívání startovacích kultur narůstá, oproti ostatním potravinám se zde ale používá menší škála, přičemž se nejčastěji jedná o *Lactobacillus plantarum* (Cagno et al. 2016). K fermentovaným zeleninovým produktům patří mimo jiné kimchi, kvašené zelí, okurky, olivy a ředkvičky. Na specializovaných trzích je k dostání i nakládaná zelenina, která je před spotřebou fermentována pouze po krátkou dobu. Jedná se například o artyčoky, květák, zelená rajčata a další (Cagno & Coda 2014; Ansorena & Astiasarán 2016).

Při výrobě chilli omáček se obvykle uplatňuje fermentace trvající 2 týdny až 3 roky. Watts et al. (2018) popsali mikrobiologické změny během přirozené fermentace papriček a jejich vliv na fyzikálně-chemické vlastnosti. Průběh byl na základě těchto mikrobiologických změn rozdělen do čtyř stádií. Během první fáze (7.–60. den) převažoval počet BMK, které produkovaly organické kyseliny a tím zvyšovaly titrační kyselost. Zároveň tak byly připraveny podmínky vhodné pro kvasinky. Ty mohou růst v kyselějším pH a spotřebovávají přítomnou kyselinu mléčnou. Proto se v druhém stádiu (60.–240. den) zvyšoval počet kvasinek, zatímco u BMK kvůli koncentraci kyseliny mléčné klesal. Ve třetí fázi (240.–330. den) rostly BMK i kvasinky přibližně stejnou rychlostí a vytvořily symbiózu. Po určité době se tato rovnováha narušila. Nastalo poslední stádium, kdy kvasinky i BMK dosáhly fáze odumírání. Během procesu došlo k poklesu pH z původních 4,65 na 4,46. Titrační kyselost vyjádřená jako % kyseliny mléčné stoupla z původních 0,54 % na 1,22 %. Zpozorovány byly i malé změny barvy. Aroma bylo hodnoceno na základě 6 těkavých sloučenin, jejichž koncentrace výrazně narostla v průběhu prvních 60 dnů, po 300. dnu však následoval významný pokles.

3.3.5 Tepelné ošetření

Tepelné ošetření potravin je stále jednou z nejvíce používaných metod konzervace. Zakládá se na využití tepelné energie k denaturaci bílkovin mikroorganismů a enzymů. Kromě toho mohou být záhřevem inaktivovány i termolabilní mikrobiální toxiny (např. botulotoxin). Hlavní nevýhodou této metody je urychlení různých degradačních reakcí, čímž jsou nepříznivě ovlivněny sensorické vlastnosti a nutriční hodnota produktu. Na druhou stranu dochází i k žádoucím změnám jako je vznik aromatických látek, koagulace bílkovin, usnadnění trávení a vstřebávání některých složek stravy (Koza et al. 2003; Ingr 2007; Tavman et al. 2019).

Rozhodující pro účinnost zákroku je zvolená teplota a doba záhřevu. Platí, že se zvyšující se teplotou stoupá i účinnost ošetření. Nejcitlivější vůči teplotě jsou kvasinky, o něco menší citlivost vykazují plísně a bakterie. Termofilní a termorezistentní bakterie a jejich spory jsou vůči tepelnému ošetření nejodolnější. Doba záhřevu je teplotě nepřímo úměrná. Se stoupající teplotou se zkracuje čas potřebný k usmrcení mikroorganismů a naopak. Výhodnější je použití vysokých teplot po krátkou dobu, kdy je inaktivace mikroorganismů nejúčinnější a zároveň se minimalizuje vliv na nutriční a sensorické vlastnosti produktu (Červenka & Samek 2003).

Účinnost tepelného ošetření je ovlivněna i řadou jiných faktorů. Jedná se například o vlastnosti produktu jako je složení, obsah tuku, pH, aktivita vody, použité konzervanty, velikost a tvar. Důležité jsou rovněž charakteristiky mikroorganismů zahrnující kmen, podmínky růstu a odolnost vůči stresu (Osaili 2012). Vliv tepelného ošetření na mikroorganismy lze popsat pomocí 3 hodnot. Decimální redukční doba (hodnota D) představuje dobu záhřevu při konstantní teplotě nutnou ke snížení počtu přítomných mikroorganismů o jeden řád, tedy na jednu desetinu (Tucker 2016). Vyjadřuje se v minutách a teplota, ke které je vztažena, se uvádí jako index. Čím více je konkrétní mikrob termorezistentní, tím vyšší je hodnota D při dané teplotě. Se zvyšující se teplotou hodnota D klesá (Vlková et al. 2009). Teplotní citlivost (hodnota z) je změna teploty potřebná k tomu, aby se hodnota D pro konkrétní mikroorganismus změnila desetkrát (Koza et al. 2003). Čím vyšší je hodnota z, tím méně je mikrob nárůstem teploty ovlivněn (Osaili 2012). F-hodnota vyjadřuje dobu nutnou k dosažení požadovaného letálního účinku v dané potravíně za stanovených

podmínek. V případě, kdy je uvedena bez indexu, se předpokládá použití teploty 121,1 °C (Rai & Bai 2017).

Dle intenzity záhřevu je obecně rozlišována pasterace a sterilace. Kromě nich je některými autory jakožto mírné tepelné ošetření uváděno i blanširování. Používá se především u ovoce a zeleniny jako přípravná operace před jejich dalším zpracováním a jeho hlavním cílem je inaktivace enzymů (Koza & Voldřich 2003; Berk 2018).

Jako pasterace je označováno ošetření teplotami do 100 °C. Používá se k usmrcení vegetativních buněk mikroorganismů, nevýhodou je však nedostatečný účinek na spory. Obvykle je výsledkem pouze krátkodobá stabilita. Často se proto kombinuje s dalšími konzervačními metodami jako je chlazení a snížení pH, čímž je trvanlivost prodloužena. Výhodou jsou relativně mírné změny nutričních a sensorických charakteristik většiny produktů (Deak 2014; Fellows 2017; Berk 2018).

U kyselých potravin způsobují kažení obvykle kvasinky, plísně a nesporeující bakterie, tedy mikroorganismy, které lze pasterací zničit. Použitím těchto teplot sice není docíleno zničení spor některých bakterií, ale ty v kyselém pH nevyklíčí. U málo kyselých potravin dochází pasterací sice k ochromení spor, ale ty mohou vyklíčit v případě, že jsou zastoupeny ve větším množství nebo pokud teplota skladování přesahuje 15 °C. U nekyselých potravin je při použití pasteračních teplot problematické usmrcení sporulujících bakterií, jejich spory v nekyselém prostředí snadno vyklíčí (Červenka & Samek 2003). Z těchto důvodů se pasterace používá zejména u kyselých potravin (Berk 2018). Ačkoliv se zelenina obecně řadí k potravinám s relativně vysokým pH, většina omáček má pH nízké. Toho je docíleno výběrem přirozeně kyselější zeleniny (zejména rajčata) či již zmíněným přídavkem organických kyselin (Smith & Stratton 2006; Rahman 2007). U dostatečně kyselých omáček tedy postačuje použití pasterace (Smith & Stratton 2006).

Sterilace, ošetření teplotami nad 100 °C po dostatečně dlouhou dobu, ničí veškeré formy mikroorganismů, včetně spor. V případě, kdy je použitím vhodného obalu zamezeno rekontaminaci, je zajištěna dlouhodobá trvanlivost produktu a jeho stabilita za pokojové teploty (Berk 2018; Tavman et al. 2019). Používá se především u málo kyselých a nekyselých potravin, u kterých by ošetření nižší teplotou nezabezpečilo požadovanou trvanlivost (Červenka & Samek 2003).

3.3.6 Kyselina benzoová, sorbová a jejich soli

Kyselina benzoová, sorbová a jejich soli patří v potravinářství k široce využívaným konzervantům (Theron & Lues 2011). Kyselina benzoová byla poprvé objevena v benzoe, což je pryskyřice získaná z kůry stromů rodu *Styrax*. Později bylo zjištěno, že se nachází také například v bobulovinách, švestkách, moruši, skořici, ale i v medu a mléku (Ogbadu 2014). Kyselina sorbová byla poprvé izolována z nezralých bobulí *Sorbus aucuparia*, tedy jeřábu ptačího, od kterého je i odvozen její název (Thomas & Delves-Broughton 2014). Obsažena je dále v řadě druhů ovoce a zeleniny. Obě látky se tedy přirozeně nachází v přírodě, pro potravinářské účely jsou ovšem vyráběny uměle (Ashurst 2016).

Hlavním nedostatkem obou kyselin je špatná rozpustnost ve vodě. Proto bývají v mnoha případech preferovány jejich soli, označované jako benzoany a sorbany (Gurtler & Mai 2014; Ogbadu 2014). Z benzoanů je běžně používán benzoan sodný (Berk 2018). Ze solí kyseliny

sorbové bývá díky své rozpustnosti i vyšší stabilitě upřednostňován sorban draselný. Inhibiční aktivita sorbanů je podobná kyselině sorbové, ale k dosažení stejného účinku bývá nutná o 25 % větší dávka (Theron & Lues 2011; Thomas & Delves-Broughton 2014).

Využívány jsou zejména k inhibici plísní a kvasinek (Mani-López et al. 2016). Jakožto slabé kyseliny způsobují uvnitř mikrobiální buňky hromadění protonů a aniontů, které následně narušují její metabolismus (Musyoka et al. 2018). Antimikrobiální účinky ale vykazuje pouze nedisociovaná forma, což platí i pro jejich soli, u kterých je mikrobicidní účinek taktéž připisován především molekule kyseliny. Účinnost se tedy zvyšuje s poklesem pH prostředí (Ogbadu 2014; Berk 2018).

Použití kyseliny benzoové a benzoanů je nejvhodnější u potravin a nápojů s pH do 4,5. Nejčastěji se jedná o ovocné džusy, nápoje, džemy, kvašenou zeleninu, olivy, majonézy, hořčice, salátové dresinky a omáčky (Blekas 2016; Mani-López et al. 2016). Využití kyseliny sorbové a sorbanů je širší, neboť vykazují určitou aktivitu i při pH do 6,5. Přidávají se proto zejména do ovocných a zeleninových, ale i mléčných, pekařských a masných produktů (Theron & Lues 2011; Thomas & Delves-Broughton 2014).

Nejvyšší povolené množství kyseliny benzoové, sorbové a jejich soli v omáčkách je dáno nařízením Evropského parlamentu a Rady (ES) č. 1333/2008 o potravinářských přídatných látkách. Při výrobě neemulgovaných studených omáček lze použít směs povolených forem těchto kyselin tak, aby koncentrace ve výsledném výrobku činila nejvýše 1000 mg/kg. To platí i například pro hořčici. U emulgovaných studených omáček s obsahem tuku do 60 % je povolené množství až 1000 mg/kg kyseliny benzoové/benzoanů, 2000 mg/kg kyseliny sorbové/sorbanů, případně 2000 mg/kg jejich směsi. Emulgované studené omáčky s obsahem tuku nad 60 % mohou obsahovat maximálně 500 mg/kg forem kyseliny benzoové, 1000 mg/kg forem kyseliny sorbové nebo jejich směs taktéž v koncentraci do 1000 mg/kg.

Ačkoliv se jedná o velmi užitečná konzervační činidla, stále přetrvávají obavy ohledně jejich úplné bezpečnosti (Piper & Piper 2017). Roku 2015 vydala EFSA zprávu o přehodnocení používání kyseliny sorbové, sorbanu sodného, draselného a vápenatého jako potravinářských aditiv. Samotná kyselina sorbová společně se sorbanem sodným a draselným byly vyhodnoceny jako látky bez genotoxického účinku. Ke stanovení jednoznačného závěru ohledně sorbanu vápenatého však nebyl poskytnut dostatek údajů, což mělo za následek vydání nařízení Komise (EU) 2018/98 ze dne 22. ledna 2018, kterým byl sorban vápenatý odstraněn ze seznamu schválených potravinářských přídatných látek EU. Panel hodnotitelů dále došel k závěru, že současný soubor údajů o reprodukční a vývojové toxicitě těchto látek je důvodem k revizi hodnoty ADI (akceptovatelný denní příjem) a navrhl její dočasné snížení z 25 mg/kg/den na 3 mg/kg/den (EFSA 2015). Později panel stanovil novou hodnotu ADI, a to 11 mg/kg/den (EFSA 2019).

V roce 2016 vyšla i zpráva o přehodnocení používání kyseliny benzoové, benzoanu sodného, draselného a vápenatého. Látky byly vyhodnoceny jako málo toxické bez podezření na genotoxicitu či karcinogenní potenciál. Potvrzena byla již dříve stanovená hodnota ADI, a to 5 mg/kg/den (EFSA 2016). Sama o sobě je tedy kyselina benzoová považována za bezpečnou látku. Obavy však vyvolává zejména vznik benzenu v některých nealkoholických nápojích v důsledku reakce kyseliny benzoové s kyselinou askorbovou či erythorbovou. K tomu dochází zejména v případě, kdy jsou nápoje vystaveny vyšším teplotám a UV záření (Ogbadu 2014).

3.3.7 Chlazení

Chlazení nebývá považováno za metodu konzervace v pravém slova smyslu. Jedná se spíše o opatření, kterým lze dosáhnout prodloužení uchovatelnosti málo údržných potravin v řádu několika dnů až týdnů (Ingr 2007). Často je však kombinováno s dalšími konzervačními zásahy, čímž je umožněno prodloužení trvanlivosti i na několik měsíců (Singh & Shalini 2016). Jako chlazené potraviny jsou obecně označovány ty, jejichž teplota je snížena a udržována pod teplotou okolí, zároveň však nesmí klesnout pod bod mrazu produktu. U mnohých výrobků se tento bod pohybuje okolo $-1\text{ }^{\circ}\text{C}$, ale v případě vysokého obsahu soli či cukru může dosahovat i hodnoty $-10\text{ }^{\circ}\text{C}$ či méně (James & James 2014). Fellows (2017) rozděluje chlazené potraviny dle vhodné teploty skladování do tří základních kategorií. První skupina by měla být uchovávána při teplotách od $-1\text{ }^{\circ}\text{C}$ do $+1\text{ }^{\circ}\text{C}$ a zahrnuje například čerstvé ryby, maso a uzeniny. Do další kategorie patří mléko, jogurty, saláty, polévky a omáčky, které by měly být skladovány při $0\text{--}5\text{ }^{\circ}\text{C}$. Třetí skupinu představují sýry, máslo, margaríny, plně vařená masa, ovocné šťávy a další. Pro ty je vhodná teplota v rozsahu $0\text{--}8\text{ }^{\circ}\text{C}$.

Nízké teploty vedou prostřednictvím poklesu molekulární mobility ke zpomalení chemických a biochemických procesů. Výsledkem je snížení aktivity mikroorganismů i enzymů, nedochází však k jejich zničení. Proces kažení je tedy pouze zpomalen (Berk 2018). Pro konzervační účinek je však důležité stále udržování nízké teploty, tzv. chladicí řetězec by tedy neměl být přerušen po celou dobu komerční trvanlivosti výrobku (Stahl et al. 2015).

Na snížení teploty pod optimum reagují mikroby prodloužením lag fáze a poklesem rychlosti množení. S přibližováním se k minimální teplotě růstu obvykle klesá i maximální dosažitelná velikost populace. Na úrovni buňky je mimo jiné ovlivněna absorpce substrátu, dýchání a další enzymatické činnosti (Walker & Betts 2008). Minimální teplota, při které jsou mikroorganismy ještě schopny množení, se liší dle druhu, kmenu i stupně jejich přizpůsobení (Červenka & Samek 2003). S ohledem na teplotní optimum jsou zpravidla rozdělovány do čtyř skupin, a to na mikroby termofilní, mezofilní, psychofilní a psychrotrofní. Typické teploty růstu jednotlivých skupin jsou uvedeny v Tabulce 4. Rozdíly jsou nejen v teplotních nárocích, ale i v rychlosti růstu, kdy například psychofilní bakterie rostou v porovnání s ostatními mnohem pomaleji i za optimální teploty. Z tabulky je zřejmé, že hlavním předmětem zájmu jsou u chlazených potravin mikroorganismy psychrotrofní a psychofilní (Vlková et al. 2009; Berk 2018).

Tabulka 4: Rozdělení mikroorganismů dle jejich teplotních nároků (Vlková et al. 2009)

Skupina mikroorganismů	Teplota ($^{\circ}\text{C}$)		
	minimální	optimální	maximální
psychofilní	0 a méně	10–15	20
psychrotrofní	0–7	20–30	35
mezofilní	20	30–40	45
termofilní	45	55–65	90

Kažení u chlazených potravin způsobují nejčastěji gramnegativní bakterie jako *Pseudomonas* spp., *Acinetobacter* spp. a *Flavobacterium* spp. Z kvasinek se jedná především o *Candida* spp., *Debaryomyces* spp., *Kluyveromyces* spp. a *Saccharomyces* spp., z plísní pak o *Aspergillus* spp., *Cladosporium* spp., *Geotrichum* spp., *Penicillium* spp. a *Rhizopus* spp. Patogeny schopné pomalého růstu při dlouhodobém skladování do 5 °C zahrnují mimo jiné bakterie *Listeria monocytogenes*, *Yersinia enterocolitica* a některé kmeny *Bacillus cereus*. Další patogeny za těchto teplot růst nemohou, jsou však schopné narůst při výkyvu teploty a poté v potravině přetrvávat. Takovým příkladem může být *Salmonella* spp., enteropatogenní *E. coli*, *Campylobacter* spp. a *Vibrio parahaemolyticus* (Fellows 2017).

Výsledná trvanlivost chlazených potravin je závislá na mnoha faktorech. Mimo samotnou teplotu skladování se jedná kupříkladu o počáteční množství mikroorganismů, kvalitu surovin, technologii zpracování, obsah živin, přídavek konzervačních činidel a využití dalších úprav jako je snížení pH či aktivity vody. Důležitý je i zvolený obalový materiál a podmínky balení produktu. Každý z těchto faktorů lze považovat za překážky mikrobiálního růstu (Bermúdez-Aguirre & Welti-Chanes 2016; Fellows 2017).

Samotná konzervace chlazením má pouze malý vliv na nutriční vlastnosti produktů. Ty bývají taktéž lépe hodnoceny z hlediska barvy a chuti v porovnání s použitím jiných metod jako je dehydratace či mražení. Díky prodloužení trvanlivosti je navíc umožněn transport na větší vzdálenosti, čímž se rozšiřuje nabídka na trhu (Hwang & Huang 2014). Nevýhodou je možnost vzniku určitých fyzikálně-chemických změn. Jedná se například o odpařování a migraci vlhkosti, zvýšení viskozity, ztuhnutí tuků a snížení rozpustnosti spojené se vznikem zákalu (např. u piva). U omáček může docházet k synerezi způsobené změnami zahušťovadel na bázi škrobu (Fellows 2017; Berk 2018).

3.4 Nové metody konzervace zeleninových omáček

3.4.1 Silice

Silice jsou komplexní směsi vonných a těkavých sloučenin přítomné v rostlinných materiálech. Z těch mohou být získávány více způsoby. Jedná se například o enfleuráž, lisování a extrakci. Nejčastěji je však využívána destilace vodní parou (Speranza & Corbo 2010; Mani-López et al. 2017). Většina silic má při pokojové teplotě tekutou konzistenci, k dalším obecným vlastnostem patří čirost, rozpustnost v tucích či organických rozpouštědlech a nižší hustota v porovnání s vodou. Barvu mohou mít od bledě žluté, přes smaragdově zelenou a modrou až po tmavě hnědočervenou (Burt 2004; Bakkali et al. 2008). Po staletí byly silice využívány v medicíně, při výrobě parfémů, kosmetiky a přidávány do potravin jakožto složka koření a bylin (Burt 2004). Ačkoliv jsou v současnosti v potravinářském průmyslu používány primárně jako aromatické látky, zvyšuje se zájem o jejich využití v oblasti konzervace (Hyldgaard et al. 2012).

Účinky vykazují vůči bakteriím, kvasinkám i plísním (Mani-López et al. 2017). Vzhledem k přítomnosti velkého množství rozmanitých chemických sloučenin se na antimikrobiální aktivitě podílí více mechanismů, ze kterých byla prozatím popsána jen část (Calo et al. 2015). Hydrofobní povaha silic umožňuje interakci s membránami bakteriálních buněk, která vede k jejich vyšší propustnosti. Důsledkem je únik iontů a dalších buněčných

materiálů, což může vyústit až v buněčnou smrt (Lambert et al. 2001). Navíc dochází k poruchám některých funkcí cytoplazmy (Calo et al. 2015). Barberis et al. (2018) jako další příklady účinků uvádí inhibici extracelulárních enzymů a přímé ovlivnění mikrobiálního metabolismu.

Obecně platí, že gramnegativní bakterie jsou vůči silicím více rezistentní než grampozitivní (Perricone et al. 2015). To je vysvětlováno rozdílností v buněčné struktuře. U gramnegativních bakterií je totiž přítomný hydrofilní lipopolysacharid, který zabraňuje hromadění silic na membráně a činí je tak odolnějšími. Z tohoto důvodu jsou k jejich inhibici či inaktivaci nutné vyšší dávky (Mani-López et al. 2017).

K pozitivním charakteristikám silic patří přirozený původ a široké antimikrobiální spektrum. Díky svým antioxidačním a protizánětlivým vlastnostem by navíc mohly být pro konzumenty prospěšné i ze zdravotního hlediska (Barry-Ryan & Bourke 2012). Dosažení adekvátního konzervačního účinku ale vyžaduje použití vysokých koncentrací, které obvykle způsobují organoleptické změny. Panelisté při sensorickém hodnocení uvádí zejména kyselou chuť a intenzivní chemické či bylinné aroma (Mani-López et al. 2017). Používání je komplikováno i variabilitou složení, na které má vliv řada faktorů, a rozdílnou aktivitou v různých produktech zapříčiněnou interakcí s jejich složkami (Hyldgaard et al. 2012).

Aplikace silic byla testována u široké škály potravin včetně masa, mléčných výrobků, rýže, ovoce, zeleniny a dalších (Burt 2004). Řada prací se zaměřila i na použití u zeleninových omáček. Antifungálním účinkem vůči *Byssoschlamys fulva* v rajčatové omáčce se zabývaly dvě studie. V první Zamindar et al. (2015) aplikovali silici ze skořicovníku čínského. Použití 150 ppm silice vedlo k inhibici růstu plísně ze 72 %, zatímco 400 ppm ho potlačilo zcela. Během sensorického hodnocení byl však akceptován pouze vzorek s nižší koncentrací. V další práci Zamindar et al. (2016) zvolili silici koriandru setého. Ta ale v množství 800 ppm plíseň inhibovala z pouhých 32 %. Výrazného zvýšení účinnosti bylo docíleno kombinací se silicí skořicovníku čínského (800 ppm silice koriandru a 250 ppm silice skořice). Výsledkem byl nárůst inhibice na 90 %, zároveň byla tato kombinace akceptována i ze sensorického hlediska.

Další výzkumy se zabývaly vlivem na *Aspergillus flavus* v rajčatové pastě. Omidbeygi et al. (2007) provedli testy se silicemi tymiánu, saturejky a hřebíčku. U všech byl zaznamenán inhibiční efekt, nejsilněji ale působila silice tymiánu, která v množství 500 ppm potlačila růst plísně z 87 %. Nejslabší účinek pak měla silice hřebíčku. Sensoricky byly posouzeny vzorky s 500 ppm silic, jako akceptovatelný byl označen pouze vzorek se silicí tymiánu. Kalantary et al. (2014) do rajčatové pasty aplikovali silice skořicovníku cejlonského a dobromysli obecné. Plnou inhibici *Aspergillus flavus* zajistilo 300 ppm silice skořice či 200 ppm silice dobromysli. Dle vyhodnocení sensorické jakosti ale tyto vzorky přijatelné nebyly.

Uvedené práce potvrzují již zmíněnou nevýhodu používání silic ke konzervačním účelům, tedy že účinné koncentrace obvykle vedou k nežádoucím změnám organoleptických vlastností produktů. Důležité je proto přizpůsobit výběr silice typu potraviny, do které budou přidány (Kalantary et al. 2014). K dalším možnostem patří vývoj synergických kombinací, buďto několika silic nebo silice s jinou antimikrobiální látkou. Kombinovat lze i s chelatačními látkami jako je kyselina ethylendiamintetraoctová (EDTA), které mohou potencovat ostatní antimikrobiální látky, či s dispergačními činidly (např. polyethylenglykol) pro zvýšení kontaktu s mikrobiální buňkou (Omidbeygi et al. 2007).

Vhodné je také spojení s dalšími technologiemi (Karatzas et al. 2000; Friedman et al. 2009; Kim & Rhee 2016). Tím se zabývali i Kim a Kang (2017b), kteří se ve své studii zaměřili na účinek karvakrolu s ohmickým ohřevem vůči *E. coli* O157:H7, *Salmonella typhimurium*, *Listeria monocytogenes* a bakteriofágu MS-2 obsažených v salse. Zaznamenán byl synergický účinek nejen baktericidní, ale i virucidní. Ve své další práci Kim a Kang (2017a) zahrnuli do testování více složek silic, konkrétně karvon, eugenol, tymol a citral. Ze všech kombinací mělo největší baktericidní efekt spojení ohmického ohřevu s tymolem, které vykazovalo synergický účinek při inaktivaci všech tří bakterií. U spojení s citralem byl synergismus sledován jen při inaktivaci *Salmonella typhimurium*, zatímco u zbylých látek nebyl přítomný vůbec. Synergický virucidní efekt byl taktéž zaznamenán pouze u kombinace ohmického ohřevu s tymolem a s citralem.

3.4.2 Bakteriociny

Bakteriociny představují nízkomolekulární peptidy vykazující antibakteriální aktivitu (Cleveland et al. 2001; Mani-López et al. 2017). Produkovány jsou grampozitivními i gramnegativními bakteriemi za účelem obrany. První bakteriocin charakterizoval Gratia roku 1925, od té doby byla popsána celá řada dalších, lišících se molekulovou hmotností, počtem aminokyselin, fyzikálně-chemickými vlastnostmi, strukturou a inhibičními spektry bakterií (Gratia 1925; Mani-López et al. 2017).

Potenciál pro využití v potravinářství mají bakteriociny syntetizované grampozitivními bakteriemi, především BMK. Ty působí vůči blízkce příbuzným kmenům, obecně jsou tedy účinné proti grampozitivním bakteriím (Bemena et al. 2014). Některé bakteriociny a látky bakteriocinům podobné jsou však schopné ovlivňovat i bakterie gramnegativní (Kumar et al. 2012; Beristain-Bauza et al. 2016). Konkrétní mechanismus účinku je specifický pro jednotlivé třídy a odvíjí se od jejich struktury. Spočívá může například v inhibici buněčných enzymatických reakcí, indukci tvorby pórů na buněčných membránách či produkci bakteriolytických enzymů (Yang et al. 2014).

Do potravin je možné aplikovat buďto samotný bakteriocin nebo bakterie, které ho produkují. Využívání v potravinářství je považováno za neškodné ze dvou hlavních důvodů. Jedním je jejich běžná přítomnost ve stravě, kde jsou zejména masné a mléčné výrobky bohatým zdrojem bakteriocinogenních BMK. Vzhledem k proteinové povaze se navíc předpokládá inaktivace v lidském organismu trávicími enzymy. Při použití je však nutné počítat s některými nevýhodami jako je citlivost vůči enzymům i dalším složkám produktů a s tím spojený pokles aktivity v průběhu skladování či možnost vzniku rezistence (Verma et al. 2014).

Doposud byly jako konzervační látky komercializovány dva bakteriociny, a to nisin a pediocin PA-1 (Silva et al. 2018). Slibné jsou ale i výsledky dalších, takovým příkladem může být enterocin AS-48 či lacticin 3147 (Sánchez-Hidalgo et al. 2011; Suda et al. 2012). Právě enterocinu AS-48 byla v oblasti konzervace zeleninových omáček věnována velká pozornost. Jedná se o cyklický peptid produkovaný bakterií *Enterococcus faecalis* (Maqueda et al. 2004). Významnou vlastností je široké antibakteriální spektrum zahrnující většinu testovaných grampozitivních, ale i některé gramnegativní bakterie (Gálvez et al. 1989).

Grande et al. (2007b) sledovali jeho účinky vůči *Staphylococcus aureus* v sedmi různých zeleninových omáčkách. Výsledná efektivita silně závisela na konkrétním typu omáčky

a v menší míře byla ovlivněna i teplotou skladování. Studie se dále zabývala kombinováním bakteriocinu s některými fenolickými sloučeninami. Ve většině případů byl přítomný synergický účinek, přičemž nejlépe byla, zejména díky nízké potřebné dávce, hodnocena varianta s hydrocinnamovou kyselinou. Dle výsledků Grande Burgos et al. (2012) lze účinnost ošetření zvýšit i spojením s mírným tepelným ošetřením či přidavkem 2-1-nitropropanolu.

Během výzkumu zaměřeného na působení enterocinu AS-48 vůči aerobním mezofilním endosporotvorným bakteriím (*Bacillus cereus*, *Bacillus macroides*, *Paenibacillus polymyxa* a *Paenibacillus amylolyticus*) v zeleninových polévkách a pyré byla pozorována rozdílná senzitivita jednotlivých kmenů. Nejvyšší citlivost byla zaznamenána u *Bacillus cereus*, naopak nejnižší u *Paenibacillus* spp. Rezistence se dále zvýšila při testování směsi mikrobů. I zde bylo zahrnuto studování kombinací bakteriocinu s dalšími antimikrobiálními látkami. Zatímco nisin měl pouze mírný aditivní efekt, k výraznému zvýšení antibakteriálního účinku došlo, stejně jako u dříve zmíněné studie, při aplikaci s fenolickými sloučeninami (karvakrol, eugenol, geraniol, kyselina hydrocinnamová) (Grande et al. 2007a). Další práce popsala působení proti *Bacillus coagulans* v rajčatové pastě v závislosti na teplotě skladování a efekt vůči sporám, jejichž počet nebyl samotný enterocin schopen snížit, ale významně podpořil inaktivaci tepelným ošetřením (Lucas et al. 2006).

Jak uvádí Gupta et al. (2015), k eliminaci patogenních bakterií (*Listeria monocytogenes*, *Bacillus subtilis*, *Clostridium perfringens*) v rajčatové pastě by se mohl osvědčit i bakteriocin produkovaný *Brevibacillus borstelensis* AG1. Ten ve studii vykazoval účinky srovnatelné s benzoanem sodným. Potenciál ve zpomalení kažení rajčatových past a omáček má například i bakteriocinu podobná látka produkovaná *Leuconostoc* spp., jejíž efekt byl sledován vůči *E. coli* (Fatima et al. 2015).

3.4.3 Konzervace vysokým tlakem (HPP, paskalizace)

Paskalizace je metoda spočívající ve vystavení potravin uzavřené ve flexibilním obalu vysokému tlaku o hodnotě typicky mezi 100–1000 MPa po dobu několika sekund až 30 minut. Obvykle probíhá za pokojové teploty, ale lze ji provádět i za teplot nižších (až 0 °C) či naopak vysokých (počáteční teplota až 90 °C) (Salvi et al. 2016). Využitím vysokého tlaku ke konzervaci potravin se poprvé zabýval Hite již roku 1899 (Dattaa & Deeth 2018). Až pokroky v konstrukci vysokotlakých zařízení a vývoj vhodných obalových materiálů umožnily pokračování výzkumu v 80. letech 20. století, které probíhalo zejména v Japonsku. Zde byly také roku 1990 uvedeny na trh první potraviny ošetřené touto technologií (Fellows 2017).

Devitalizační účinek na mikroorganismy je výsledkem řady současně probíhajících procesů zahrnující poškození buněčné membrány a inaktivaci klíčových enzymů (Patterson 2014). Odolnost jednotlivých mikrobů vůči působení vysokého tlaku se značně liší. Nejvíce citlivé jsou plísňe a kvasinky (Marszałek et al. 2018). Mnohem vyšší rezistenci vykazují bakterie, přičemž gramnegativní jsou obvykle více citlivé než grampozitivní. Význam má i fáze růstu, ve stacionární fázi jsou buňky obecně odolnější než ve fázi exponenciální (Salvi et al. 2016).

Bakteriální spory jsou vůči ošetření samotnou paskalizací rezistentní, k úplné inaktivaci by byl nutný tlak nad 1000 MPa. Alternativou je použití nejdříve nižšího tlaku s cílem stimulovat vyklíčení spor a následné zničení vzniklých vegetativních forem tlakem vyšším.

Možností je i spojení vysokého tlaku s dalšími metodami. Příkladem může být záhřev či aplikace antimikrobiálních látek jako je nisin či lysozym (Marszałek et al. 2018). Efekt na aktivitu enzymů je variabilní. Některé jsou na působení vysokého tlaku poměrně citlivé, zatímco jiné odolávají i hodnotám nad 1000 MPa. Zaznamenány však byly i případy, kdy ošetření naopak jejich aktivitu zvýšilo (Rastogi et al. 2007; Fellows 2017).

Výsledná účinnost metody je ovlivněna vlastnostmi potraviny (složení, obsah tuku, pH, vodní aktivita) a parametry zpracování (tlak, teplota, čas, rychlost komprese) (Salvi et al. 2016). Účinek lze zvýšit již zmíněným spojením s dalšími metodami konzervace. Například souběžné ošetření produktu chemickými látkami, jako je etanol, lysozym, chitosan, kyselina sorbová a benzoová, zvyšuje účinek tlaku na mikroorganismy a umožňuje použití nižších tlaků, teplot nebo kratší doby zákroku (Dattaa & Deeth 2018).

Hlavní předností paskalizace je zachování kvality výrobků z hlediska obsahu mikroživin, barvy, chuti a aroma (Salvi et al. 2016). To je zapříčiněno tím, že během působení vysokého tlaku dochází k narušení nekovalentních vazeb, zatímco vazby kovalentní nejsou ovlivněny vůbec nebo pouze minimálně. Změny se tedy týkají zejména biomolekul jako jsou bílkoviny, nukleové kyseliny či polysacharidy, jejichž struktura a funkčnost je udržována nekovalentními vazbami. Naopak v menších organických molekulách, které jsou spojeny s nutriční a senzoricou jakostí, je dominantní vazba kovalentní a zůstávají tedy zachovány. Ačkoliv dochází během stlačení potraviny ke zvýšení teploty v závislosti na složení konkrétního produktu (u omáček vzestup o přibližně 3 °C na 100 MPa), změny indukované teplem jsou pouze malé. Výjimku představuje spojení paskalizace s vysokými teplotami za účelem inaktivace spor (Pandurangi et al. 2014; Patterson & Knoerzer 2016; Dattaa & Deeth 2018). Další výhodou je rovnoměrné ošetření potraviny po celou dobu zákroku, krátká doba zpracování a nízká spotřeba energie.

Naopak k nevýhodám metody patří již zmíněný nedostatečný účinek na bakteriální spory, variabilní efekt na enzymy, vysoké vstupní náklady a nemožnost použití u potravin suchých či obsahujících zachycený vzduch (např. jahody) (Fellows 2017).

Zeleninové omáčky patřily společně s ovocnými džemy, šťávami, pyré, salátovými dresinky a jogurty k prvním potravinám ošetřeným touto technologií, které byly uvedeny na trh. I dnes se paskalizace využívá zejména u ovocných a zeleninových produktů jako jsou džusy, dresinky, dipy, salsa a guacamole. Nabídka se ale rozšířila i na masné produkty včetně ryb, mořské plody, hotová jídla, polévky, sýry, dětskou výživu a další (Purroy 2014).

3.4.4 Ošetření pulzním elektrickým polem (PEF)

Ošetření pulzním elektrickým polem představuje netermální způsob pasteurace potravin, který spočívá ve vystavení produktu umístěného mezi dvěma elektrodami krátkým pulzům vysokého napětí (Elez-Martínez et al. 2012). Za průkopníka metody je považován Heinz Doevenspeck, který se zkoumáním pulzního elektrického pole začal věnovat v 60. letech 20. století. Prvotní prototypové projekty selhaly, ale od roku 1995 probíhaly další pokusy PEF industrializovat a roku 2005 byly na trh uvedeny džusy pasterované tímto způsobem (Altunakar et al. 2007; Toepfl et al. 2007).

Expozice vnějšímu elektrickému poli vyvolává tvorbu pórů v buněčných membránách. Na základě tohoto jevu, kterému se říká elektroporace, byly v posledních desetiletích studovány

možnosti využití PEF. Například v oblasti rostlinné a mikrobiální genetiky tento jev umožňuje přesun cizího materiálu jako je DNA do buňky, parametry ošetření jsou však upraveny tak, aby byl proces reverzibilní a nedocházelo k nevratnému poškození buňky. Ireverzibilní tvorby pórů, které lze docílit aplikací vyšších intenzit, je využíváno v potravinářství, a to nejen k devitalizaci mikroorganismů, ale i jako náhrada konvenčních metod dezintegrace buněk, které se používají před sušením, extrakcí či lisováním (Toepfl et al. 2014).

Inaktivace mikroorganismů tedy spočívá v elektroporaci, která vede ke ztrátě buněčné integrity a životaschopnosti. Účinnost zákroku je závislá na typu a fázi růstu mikrobu, stejně jako na počáteční koncentraci životaschopných buněk. Nejvyšší citlivost k metodě vykazují kvasinky a plísně. Díky své silné peptidoglykanové vrstvě jsou grampozitivní bakterie obecně odolnější nežli gramnegativní (Elez-Martínez et al. 2012; Alexandre et al. 2019). Dle García et al. (2005) ale toto platí pouze pro neutrální pH, zatímco v kyselém prostředí větší rezistenci projevují bakterie gramnegativní. Vliv má i již zmíněná fáze růstu, kdy jsou buňky v exponenciální fázi citlivější (Somolinos et al. 2008). Bakteriální spory jsou k PEF rezistentní, odstranit je lze až po vyklíčení (Barbosa-Cánovas & Altunakar 2006). Stejně jako u paskalizace jsou v závislosti na podmínkách některé enzymy pulzním elektrickým polem inaktivovány, zatímco jiné jsou vůči ošetření odolné, případně jejich aktivita dokonce vzrůstá (Martín-Belloso et al. 2005; Elez-Martínez et al. 2007).

Z technických faktorů je efektivita ovlivněna intenzitou pole, teplotou a trváním zákroku, šířkou, tvarem a frekvencí pulzů, vzdáleností elektrod, polaritou a použitou energií (Barba et al. 2015; Alexandre et al. 2019). Z charakteristik potraviny je nejdůležitější elektrická vodivost a odpor, dielektrické vlastnosti, iontová síla, pH a složení (Barbosa-Cánovas & Altunakar 2006; Toepfl et al. 2014).

Ačkoliv dochází během ošetření ke zvyšování teploty v závislosti na elektrické vodivosti konkrétního produktu, v porovnání s jinými technologiemi je degradace termolabilních látek výrazně nižší, což je spojeno se zachováním nutriční a sensorické kvality (Vega-Mercado et al. 2007). Jednou z nevýhod jsou vysoké počáteční náklady na instalaci zařízení, ačkoliv úspora energie v průběhu používání PEF může tyto náklady časem vykompenzovat (Ravishankar et al. 2008). Problematické je dále navrhování parametrů ošetření tak, aby byly minimalizovány elektrochemické změny a zabránilo se ztrátě jakosti a bezpečnosti výrobků (Barbosa-Cánovas & Altunakar 2006). Použití je navíc omezeno na tekuté či kašovitě potraviny, které vydrží působení elektrického pole, mají nízkou elektrickou vodivost a neobsahují vzduchové bubliny. Limitující je i velikost částic (IFT 2001; Elez-Martínez et al. 2012).

Metoda je vhodná zejména pro mléčné výrobky jako je mléko, syrovátka či jogurtové nápoje, tekutá vejce, salátové dresinky, jablečné pyré, ovocné a zeleninové džusy. Nejčastější je aplikace u ovocných džusů s nízkým pH, neboť v kyselém prostředí nejsou rezistentní bakteriální spory schopné vyklíčit (Barbosa-Cánovas & Altunakar 2006; Mohamed & Eissa 2012; Alexandre et al. 2019).

Ačkoliv například salsa není sama o sobě, vzhledem ke své viskozitě, obsahu soli a velikosti částic, produktem vhodným pro ošetření pulzním elektrickým polem, Ruhlman et al. (2001) provedli její reformulaci. Hlavním opatřením byla příprava omáčky bez soli, která významně zvyšuje elektrickou vodivost. Do produktu byla přidána ve formě sterilního solného roztoku až po provedení pasterace. Důležité bylo také zmenšení velikosti částic mixérem, úpravy v konstrukci zařízení a vhodné nastavení parametrů ošetření. Uvedené změny umožnily

použití této technologie i u salsy a lze tedy předpokládat, že po vhodné úpravě by bylo možné využití PEF rozšířit na další výrobky.

3.4.5 Ohmický ohřev

Ohmický ohřev, taktéž označovaný jako odporový, je založený na průchodu střídavého proudu potravinou. V té je následkem jejího elektrického odporu vůči přiváděnému proudu generováno teplo, a to okamžitě a v celém objemu (Icier 2011). Technologie byla již na začátku 20. století používána pod označením „electropure“ k pasteraci mléka. Z důvodu vyšších cen elektřiny, nedostatku vhodných elektrodových materiálů a dalších technických omezení však v této době neuspěla. Zájem o ní znovu vzrostl v 80. letech 20. století, kdy byl zahájen vývoj ohmického procesu vhodného ke sterilaci potravin s obsahem velkých částic (Maloney & Harrison 2015). V současnosti se používá především k předeřívání, blanširování a pasteraci či sterilaci rostlinných a masných produktů (Ramaswamy et al. 2016). Potenciál má i pro využití při odpařování, dehydrataci a extrakci (Lima 2007).

Hlavní mechanismy mikrobiální inaktivace jsou termické povahy. Díky přítomnosti elektrického pole lze sledovat i další účinky, z nichž je dominantní elektroporace. Výsledkem je pokles hodnoty D v porovnání s konvenčními způsoby tepelného ošetření. Během zkoumání nebyla prokázána existence mikrobů zvláště rezistentních vůči odporovému ohřevu a je tedy pravděpodobné, že nejvyšší odolnost vykazují stejné mikroorganismy jako u záhřevu obecně (Knirsch et al. 2010). Inaktivační efekt je závislý na použité síle elektrického pole, době ošetření, vlastnostech mikroorganismu a typu produktu (Onwnka et al. 2008; Sagong et al. 2011; Lee et al. 2012). Kritickým parametrem je elektrická vodivost zpracovávané potraviny. Například obsah rozpuštěných solí či kyselin její vodivost zvyšuje, zatímco složky jako tuky a cukry vedou k jejímu poklesu. Elektrická vodivost dále roste se stoupající teplotou (Maloney & Harrison 2015). K důležitým vlastnostem patří i hustota, pH, tepelná vodivost a měrné tepelné kapacity jednotlivých složek výrobku.

Při ohmickém ohřevu dochází k působení vysoké teploty po krátkou dobu, čímž je snížen nepříznivý vliv na organoleptické a nutriční vlastnosti. Kromě toho způsobuje obdobné změny potravin jako konvenční záhřev ve smyslu želatinace škrobu, koagulace bílkovin a dalších procesů (Fellows 2017). Autory je uváděna řada výhod, zejména v porovnání s klasickými způsoby tepelného ošetření. Jedná se především o již zmíněné zachování kvality produktu. Vzhledem k tomu, že metoda nevyužívá povrchy k přenosu tepla, je minimalizované i riziko poškození například spálením. Proces je navíc výhodný u směsí tekutiny s většími částicemi, které je za určitých podmínek možné tímto způsobem ohřívat rovnoměrně. K dalším kladům patří krátký čas zpracování, relativně nízké investiční náklady, velmi vysoká účinnost přeměny energie a možnost kontinuálního provozu (Icier 2011; Maloney & Harrison 2015; Jaeger et al. 2016; Fellows 2017).

Naopak z limitů se jedná zejména o omezení na výrobky s vhodnou elektrickou vodivostí. Rozdíl ve vodivosti kapalných a pevných složek u vícesložkových produktů a její změna se zvyšující se teplotou navíc znesnadňují předpovídání průběhu procesu. To společně s nedostatkem údajů o kritických faktorech ovlivňujících ohřev a absencí přesných technik monitorování teploty pro profilování distribuce tepla může vést k nedostačujícímu zpracování

s následným přežitím patogenních spor a jejich vyklíčením u méně kyselých potravin (Maloney & Harrison 2015; Fellows 2017).

Obecně lze říci, že je odporový ohřev vhodný k ošetření jakéhokoliv čerpatelného produktu s dostatečnou elektrickou vodivostí (0,01–10 S/m). Může být tedy aplikován u široké škály potravin včetně rajčatových a ovocných výrobků, džusů, džemů, tekutých vajec, omáček, polévek a dalších (Lima 2007; Maloney & Harrison 2015; Fellows 2017).

3.4.6 Mikrovlnný ohřev

Mikrovlnný ohřev je stejně jako většina ostatních alternativních technik tepelného ošetření založený na elektromagnetismu. Hlavním rozdílem mezi těmito metodami je aplikovaná frekvence elektromagnetického pole. Jako mikrovlny jsou obecně označovány elektromagnetické vlny s frekvencí v rozsahu od 300 MHz do 300 GHz (Regier 2017). Pro průmyslové, vědecké a lékařské využití jsou však povolena pouze určitá frekvenční pásma, aby nedocházelo k interferenci s frekvencemi pro telekomunikaci (Barba et al. 2018). V domácnostech používaná mikrovlnná zařízení pracují obvykle s frekvencí 2450 MHz, zatímco pro průmyslové využití bývá výhodnější 915 MHz (Hebbar & Rastogi 2012).

V případě konvenčního způsobu ohřevu dochází k přenosu tepla ze zdroje na povrch potravin kondukcí, konvekcí či tepelnou radiací a k jeho následnému šíření do vnitřku produktu (Ingr 2007). Mikrovlnný ohřev je oproti tomu umožněn schopností materiálu absorbovat mikrovlnnou energii a přeměňovat ji na teplo, k čemuž dochází zejména následkem dipolárních a iontových mechanismů (Chandrasekaran et al. 2013). Teplo tedy vzniká přímo v potravine, což umožňuje významné zkrácení celkové doby ošetření (Vadivambal & Jayas 2010).

Na účinnost zpracování má vliv mnoho faktorů, nejvýznamnější roli však hrají dielektrické vlastnosti potravin a hloubka průniku záření (Chandrasekaran et al. 2013). Mimo jiné je důležitý i design mikrovlnného zařízení, výkon, frekvence mikrovln a z hlediska charakteristik produktu jeho složení, obsah vody, tepelná vodivost, hustota, tvar a velikost (Hebbar & Rastogi 2012; Chandrasekaran et al. 2013). Vzhledem k tomu, že voda dobře pohlcuje mikrovlny, hraje právě její obsah v potravine rozhodující roli v určování dielektrických vlastností výrobku (Chandrasekaran et al. 2013). V současné době jsou mezi vědci přítomny neshody ohledně existence jiných než termických účinků mikrovlnného záření vůči mikroorganismům, lze však říci, že termické jevy jsou dominantní příčinou jejich inaktivace (Regier 2017; Barba et al. 2018).

V porovnání s konvenčními způsoby tepelného ošetření je mikrovlnný ohřev výhodný zejména rychlým nárůstem teploty na požadovanou hodnotu a celkově kratší dobou trvání, s čímž souvisí i nižší stupeň degradace termolabilních složek potravin a tím vyšší zachování nutričních a sensorických vlastností (Ahmed & Ramaswamy 2007). Z dalších kladů lze uvést vysokou energetickou účinnost, nízké náklady na udržování systému, snadnou a bezpečnou manipulaci (Ozkoc et al. 2014). Hlavním nedostatkem metody je nerovnoměrnost záhřevu u heterogenních potravin spojená s tvorbou horkých a studených míst. Například větší částice tuku se mohou stát tzv. studenými místy, neboť oproti okolí s mnohem vyšším obsahem vody absorbují méně mikrovln. S tím je spojené riziko přežití některých mikrobů (Ingr 2007; Vadivambal & Jayas 2010).

Přestože byl mikrovlnný ohřev patentován jako jeden ze způsobů ošetření potravin již v roce 1945, k jeho rozšíření u nás došlo až v 80. letech 20. století. Tehdy našlo uplatnění především v domácnostech a stravovacích podnicích k ohřevu již hotových pokrmů, nikoliv v průběhu samotné výroby potravin (Ingr 2007). Jeho využívání v potravinářském průmyslu se však postupně rozšiřuje. Použit lze nejen k pasteraci a sterilaci, ale také při procesech jako je sušení, vaření, pečení, rozmrazování a blanširování (Osaili 2012; Barba et al. 2018). V praxi se jedná například o temperování zmraženého masa a drůbeže, předvaření slaniny, pečení chlebů a sušenek, blanširování zeleniny, ohřívání a sterilace pokrmů rychlého občerstvení a další (Ahmed & Ramaswamy 2007; Ozkoc et al. 2014; Tavman et al. 2019).

Ze zeleninových omáček byl účinek mikrovlnného ohřevu sledován například u salsy. Sung a Kang (2014) při výzkumu použili mikrovlnné zařízení pracující s frekvencí 915 MHz na vzorky inokulované bakteriemi *E. coli* O157:H7, *Salmonella typhimurium* a *Listeria monocytogenes*. Patogeny byly zákrokem efektivně inaktivovány, aniž by v porovnání s neošetřenými vzorky došlo k významné změně v barvě či pH produktu a ve většině případů byl zachován i obsah lykopenu. Z těchto důvodů byl mikrovlnný ohřev vyhodnocen jako vhodná alternativní metoda pasterace nejen salsy, ale i dalších produktů na bázi rajčat.

Kim et al. (2018) studovali působení na chilli omáčky, a to s ohledem na obsah cukru a jeho účinek na dielektrické vlastnosti produktu. Vzorky inokulované taktéž kmeny bakterií *E. coli* O157:H7, *Salmonella typhimurium* a *Listeria monocytogenes* obsahovaly 10 %, 25 % a 40 % sacharózy. Použit byl mikrovlnný ohřev o frekvenci 915 MHz i 2450 MHz a pro srovnání vodní lázeň (100 °C, až 6 min). Snížení počtu mikroorganismů pod detekovatelnou úroveň proběhlo u mikrovlnných záhřevů v porovnání s vodní lázní významně rychleji. Potřebná doba zákroku se však s rostoucí koncentrací cukru prodlužovala, což bylo výsledkem jejího vlivu na vodní aktivitu produktu.

U odtučněného avokádového pyré Zhou et al. (2016) sledovali vliv na inaktivaci enzymů a kvalitativní změny v průběhu následného skladování. K ošetření byly použity různé hodnoty měrného výkonu, přičemž aplikace 11 W/g po dobu 80 sekund snížila aktivitu polyfenoloxidázy o 80 %. Takto snížená zůstala i po 4 týdnech skladování při 4 °C, zatímco u neošetřených vzorků vzrostla o 250 %. Produkt si významně lépe uchoval barvu, reologické vlastnosti, obsah chlorofylu i fenolických látek.

4 Metodika

4.1 Testování komerčně prodávaných omáček

V rámci praktické části diplomové práce byly provedeny mikrobiologické rozборы produktů dodaných firmou Palíto Family s.r.o. Jednalo se o 10 druhů v současnosti nabízených omáček pocházejících z různých výrobních šarží (Tabulka 5) v celkovém počtu 29 kusů. Zahrnuty byly i produkty po uplynutí data minimální trvanlivosti. Cílem bylo ověřit kvalitu stávajících konzervačních postupů.

Dále byly provedeny mikrobiologické rozборы 3 druhů nově vyvíjených omáček a 3 druhů čerstvě vyrobených pasterovaných omáček. Čerstvě vyrobené omáčky měly být dále použity pro testování různých způsobů ošetření a sledování jejich účinnosti vůči *E. coli*. Předběžnými testy však bylo zjištěno, že je patogen v těchto omáčkách velmi rychle eliminován i bez dalšího ošetření. Proto byla pro další testování nakonec zvolena salsa připravená za laboratorních podmínek.

Tabulka 5: Testované druhy komerčně prodávaných omáček

	Název omáčky	Šarže
1	Barbecue	20, 31
2	Carolina reaper HP22B hořčičná	70
3	Trinidad Scorpion Moruga rajčatová	13, 32, 33, 71
4	Green Garten	49
5	Chipotle salsa	30, 41
6	Chipotle s pečeným česnekem	6, 28, 44
7	Jalapeño salsa	29
8	Naga Bhut Jolokia švestková	21, 37, 69
9	Pure hell	63
10	Dragon's blood (datum výroby – srpen 2019)	

4.1.1 Příprava kultivačních médií a fosfátového pufru

Ke stanovení mikroorganismů byla použita 3 kultivační média, a to PCA (Plate count agar, Oxoid, UK) pro stanovení jejich celkového počtu, MRS agar (Oxoid, UK) pro kvantifikaci bakterií mléčného kvašení a SDA (Sabouraud dextrose agar, Oxoid, UK) určené ke stanovení plísní a kvasinek. Kultivační média byla v předepsaném poměru smíchána s destilovanou vodou, pomocí magnetické míchačky (IKA C-MAG HS 7, Německo) dokonale rozpuštěna a poté autoklávována při 121 °C po dobu 15 min. Po ochlazení byla dávkovačem (Eppendorf Multipette M4, Německo) nalita do Petriho misek v aseptickém prostředí laminárního boxu (Telstar, Španělsko). Fosfátový pufr (Sigma-Aldrich, USA) byl připraven z tablety do infuzní lahve, a to smícháním s destilovanou vodou a následnou sterilací v autoklávu (Tuttnauer 3850 EL-D, Nizozemsko).

4.1.2 Mikrobiologický rozbor

Jednotlivé omáčky byly za aseptických podmínek laminárního boxu důkladně promíchány pomocí sterilní kovové lžičky. Do plastových zkumavek s uzávěrem byly následně na digitální váze (Kern KB 2400-2N, Německo) odváženy jejich vzorky o hmotnosti 0,7–0,9 g. K odváženým vzorkům byl pomocí sterilní injekční stříkačky přidán fosfátový pufr odebraný přes gumové septum, a to v takovém množství, aby bylo dosaženo ředění 1:10. Naředěné vzorky byly následně protřepány na třepačce Vortex (Argo Lab Mix, Itálie) při 2500 ot/min po dobu pěti vteřin a ihned napipetovány do sterilních mikrozkušavek. Obsah mikrozkušavek byl poté nanesen pomocí spirálového očkovače (Interscience easySpiral Pro, Francie) na Petriho misky s připravenými kultivačními médii (PCA, SDA a MRS agar). Po zaschnutí byly misky s PCA a SDA obráceny dnem vzhůru a umístěny do laboratorních termostátů (Memmert, Německo). Petriho misky s MRS agarem byly přelity druhou vrstvou agaru a po ztuhnutí taktéž umístěny do termostatu.

Kultivace Petriho misek s PCA probíhala při dvou různých teplotách, a to při 25 °C po dobu 3 dnů a při 37 °C po dobu 2 dnů, u MRS agaru při 37 °C po dobu 3 dnů a v případě SDA při 25 °C po dobu 5 dnů. Při vyhodnocování počtu kolonií narostlých na živných půdách bylo postupováno dle návodu uvedeného v dokumentaci spirálového očkovače.

4.2 Testování salsy

4.2.1 Příprava bakteriálního inokula

Pro inokulaci salsy byl zvolen typový kmen bakterie *Escherichia coli* (ATCC 25922). K přípravě bakteriálního inokula bylo použito tekuté kultivační médium TSB (trypton soya broth, Oxoid, UK) s přidavkem 1 % glukózy (Sigma-Aldrich, USA). Fermentací glukózy v médiu klesá pH a bakterie se tak stává odolnější vůči kyselému prostředí (Buchanan & Edelson 1996).

Bujón s glukózou byl v předepsaném poměru smíchán s destilovanou vodou a po dokonalém rozpuštění nadávkován pomocí dávkovače po 9 ml do penicilinek. Naplněné penicilinky byly následně sterilovány v autoklávu při 121 °C po dobu 15 min. Po zchlazení bylo do každé penicilinky injekční stříkačkou přidáno 0,1 ml ze zásobní kultury. Kultura byla inkubována při 37 °C po dobu 16 hodin.

4.2.2 Příprava kultivačního média a fosfátového pufru

Ke stanovení počtu *E. coli* bylo použito selektivní chromogenní TBX médium (Oxoid, UK). Kultivační médium bylo připraveno dokonalým rozpuštěním v destilované vodě v předepsaném poměru a následnou sterilací v autoklávu při 121 °C po dobu 15 min. Po zchlazení na teplotu 50 °C bylo dávkovačem nalito do Petriho misek v aseptickém prostředí laminárního boxu. Dále byl již dříve uvedeným postupem připraven fosfátový pufr.

4.2.3 Příprava salsy a vzorků

Před samotnou přípravou salsy byly zakoupeny čerstvé suroviny v obchodní síti Kaufland. Jednotlivé ingredience byly poté naváženy pomocí digitální váhy (Kern KB 2400-2N, Německo), důkladně omyty, osušeny, nakrájeny a v kuchyňském mixéru (Bosh MCM3200W, Německo) upraveny do požadované konzistence. Výsledná omáčka měla následující hmotnostní poměr ingrediencí:

- 65 % červená rajčata,
- 15 % cibule kuchyňská,
- 10 % červená paprika,
- 5 % jalapeño papričky,
- 5 % rawitt papričky.

Do 900 ml připravené salsy bylo přidáno a pomocí laboratorní elektrické míchačky (Steinberg Systems SBS-ER-3000, Německo) důkladně rozmícháno 18 ml přes noc narostlé kultury *E. coli* ($\sim 10^{12}$ KTJ/ml). Z inokulované salsy byly následně připraveny jednotlivé varianty vzorků o objemu 20 ml. Varianty sledované v první části pokusu jsou uvedeny v Tabulce 6. Původní pokus byl později rozšířen o druhou část, během které byly zhotoveny varianty vzorků uvedené v Tabulce 7. Vzorky byly připraveny ve třech opakováních.

Část salsy určená k tepelnému ošetření byla nejdříve odměřena do vzorkovnice a následně ohřáta ve vodní lázni. Teplota uvnitř vzorku byla sledována teplotním čidlem a minutu po dosažení 90 °C ve všech částech omáčky byl ohřev ukončen. Konzervační činidla v krystalické formě byla navážena na analytických vahách (Ohaus VOYAGER PRO VP214CM, USA). Chlorid sodný (Lach-Ner, CZ), benzoan sodný (Sigma-Aldrich, USA) a kyselina sorbová (Sigma-Aldrich, USA) byly nejdříve rozpuštěny v 1 ml destilované vody, zatímco sacharóza (Lach-Ner, CZ) byla do omáčky vmíchávána v původní podobě. Ze silice byla pro testování zvolena silice z tymiánu (tymián obecný, *Thymus vulgaris*) (Sigma-Aldrich, USA), z dobromysli (dobromysl obecná, *Origanum vulgare*) (Biomedica, CZ) a z voňatky (voňatka citronová, *Cymbopogon citratus*) (Biomedica, CZ). Ty byly automatickou pipetou (Eppendorf, Německo) taktéž nadávkovány přímo do salsy. Posledním typem ošetření bylo okyselení přídatkem kyseliny citronové (Lach-Ner, CZ) či čerstvě vymačkané šťávy z limetky zakoupené společně s ostatními ingrediencemi. Do omáčky byly přidávány za současné kontroly pH-metrem (XS instruments pH 50, Itálie). Hodnoty pH těchto vzorků i koncentrace činidel použité k jejich dosažení jsou uvedeny v Tabulce 6 a 7.

Jednotlivá konzervační činidla byla přidána do kádinek s odměřenou salsou a důkladně vmíchána pomocí laboratorní elektrické míchačky. Takto připravené vzorky omáčky byly přelity do vzorkovnic a skladovány v lednici (Liebherr, Německo) při teplotě 4 °C. Ve stanovených časových intervalech byly následně analyzovány na přítomnost *E. coli*.

Tabulka 6: Varianty vzorků první části experimentu

Způsob ošetření	
1.	bez ošetření (pH 4,58) -
2.	tepelné ošetření 90 °C, 1 min
3.	kyselina sorbová 715 mg/l
4.	chlorid sodný 100 g/l
5.	sacharóza 300 g/l
6.	sacharóza 600 g/l
7.	kyselina citronová (pH 3,2) 14,5 g/l
8.	limetková šťáva (pH 4,14) 45 ml/l
9.	silice dobromysli 32 µl/l
10.	silice dobromysli 64 µl/l
11.	silice tymiánu 32 µl/l
12.	silice tymiánu 64 µl/l
13.	silice voňatky 32 µl/l
14.	silice voňatky 64 µl/l

Tabulka 7: Varianty vzorků druhé části experimentu

Způsob ošetření	
1.	bez ošetření (pH 4,6) -
2.	tepelné ošetření 90 °C, 1 min
3.	benzoan sodný 1000 mg/l
4.	kyselina citronová (pH 3,52) 8,6 g/l
5.	limetková šťáva (pH 3,83) 90 ml/l
6.	limetková šťáva (pH 3,65) 135 ml/l
7.	silice dobromysli 128 µl/l
8.	silice dobromysli 256 µl/l
9.	silice dobromysli 512 µl/l
10.	silice tymiánu 128 µl/l
11.	silice tymiánu 256 µl/l
12.	silice tymiánu 512 µl/l
13.	silice voňatky 128 µl/l
14.	silice voňatky 256 µl/l
15.	silice voňatky 512 µl/l

4.2.4 Mikrobiologický rozbor

Při přípravě vzorků k mikrobiologickému rozboru bylo postupováno stejným způsobem jako v případě komerčně prodávaných omáček. Jednotlivé vzorky salsy byly tedy za aseptických podmínek laminárního boxu důkladně promíchány sterilní kovovou lžičkou a na digitální váze odváženy do plastových zkumavek s uzávěrem. K odváženým vzorkům byl

přidán fosfátový pufr tak, aby bylo dosaženo požadovaného ředění (1:10). Stupeň ředění byl v průběhu pokusu přizpůsobován výsledkům z předchozí analýzy (1:2–100). Naředěné vzorky byly protřepány na třepače Vortex při 2500 ot/min po dobu pěti vteřin a napipetovány do sterilních mikrozkušavek. Obsah mikrozkušavek byl následně nanesen spirálovým očkovačem na Petriho misky s připraveným TBX médiem. Po zaschnutí byly Petriho misky obráceny dnem vzhůru a umístěny do laboratorního termostatu. Kultivace probíhala za teploty 37 °C po dobu 24 hodin. Druhý den bylo při vyhodnocování počtu kolonií narostlých na živné půdě postupováno dle návodu uvedeného v dokumentaci spirálového očkovače. Vždy byly sčítány kolonie v protilehlých kvadrantech, přičemž u každé misky byla provedena dvě vyhodnocení.

Mikrobiologický rozbor byl u všech vzorků proveden 1., 3., 5., 7., 10. a 15. den od ošetření.

4.2.5 Senzorická analýza

Po vyhodnocení výsledků mikrobiologických rozborů bylo provedeno sensorické hodnocení, do kterého bylo zahrnuto celkem 8 vzorků. Jednalo se o vzorky ošetřené 7 způsoby, které při předchozím testování vedly k největšímu poklesu počtu *E. coli* v salse, a 1 vzorek kontrolní (bez ošetření). Testované varianty jsou uvedeny v Tabulce 8.

V den degustace bylo 3 hodiny před jejím začátkem připraveno 1000 ml čerstvé salsy dle postupu uvedeného v části Příprava salsy a vzorků. Ta byla rozdělena do osmi kádinek po 125 ml. Jednotlivé kádinky byly poté překryty hliníkovou fólií a ty, se kterými nebylo v danou chvíli manipulováno, byly uloženy v lednici (4 °C). Vzorky omáčky byly následně ošetřeny vybranými způsoby.

Tabulka 8: Sensoricky hodnocené varianty vzorků

Pořadí	Způsob ošetření
1	bez ošetření
2	tepelné ošetření 90 °C, 1 min
3	benzoan sodný 1000 mg/l
4	chlorid sodný 100 g/l
5	kyselina citronová pH 3,2
6	kyselina citronová pH 3,52
7	silice tymiánu 512 µl/l
8	silice voňatky 512 µl/l

Samotné sensorické hodnocení probíhalo ihned po dokončení přípravy vzorků, a to v sensorické laboratoři ČZU. Jednotlivé varianty omáčky byly podávány na plastových miskách čtvercového tvaru o délce strany 5 cm, které byly lihovým fixem předem označeny náhodnými kódy. Na každou z misek bylo naservírováno 10 ml vzorku. Misky se všemi variantami byly poté v náhodném pořadí poskládány na plastové tácy. Hodnotitelům byl kromě sady vzorků s plastovými lžičkami předložen i talířek s 25 g kukuřičných chipsů (značky Snack Day) a kádinky s vodou a 30% etanolem, které sloužily jako neutralizátory chuti. Do kójí byl

dále připraven dotazníkový formulář (Příloha 1) s propiskou. Před degustací byl postup hodnocení všem hodnotitelům vysvětlen.

Na úvod byli hodnotitelé požádáni, aby pomocí nestrukturované grafické stupnice o délce 100 mm vyjádřili svůj vztah k pikantním potravinám s obsahem chilli papriček. Pro hodnocení vzorků byla následně použita metoda senzorického profilu vycházející z normy ČSN EN 13299. Na nestrukturovaných grafických stupnicích o délce 100 mm byly u každé varianty omáčky hodnoceny 4 deskriptory, a to příjemnost vůně, příjemnost chuti, intenzita pálivé chuti a celkové hodnocení vzorku. Poté byla provedena i hédonická pořadová zkouška vycházející z normy ČSN ISO 8587, během které hodnotitelé seřadili předloženou sadu vzorků dle vzrůstající příjemnosti/přijatelnosti od nejméně přijatelného po nejvíce přijatelný vzorek.

Senzorického hodnocení se zúčastnilo celkem 12 hodnotitelů. Jednalo se především o zaměstnance Katedry kvality a bezpečnosti potravin ČZU a dále studenty, kteří v minulosti absolvovali předmět „Senzorická analýza zemědělských produktů“ a lze je tedy považovat za školené hodnotitele. V souboru byli zastoupeni muži i ženy různých věkových skupin.

4.2.6 Statistické vyhodnocení

Ke zpracování a statistickému vyhodnocení výsledků experimentální části byly využity programy MS Excel a Statistica 12. Výsledky mikrobiologických rozborů byly nejdříve převedeny z KTJ/g na log KTJ/g. Po otestování předpokladů normality dat a homogenity rozptylů následovala jednofaktorová analýza rozptylu (ANOVA). Pro post-hoc analýzu byla zvolena Scheffého metoda. K vyhodnocení pořadové zkoušky byl dále použit Friedmanův test. Veškeré statistické testování probíhalo na hladině významnosti $\alpha = 0,05$.

5 Výsledky

5.1 Mikrobiologické rozbory komerčně prodávaných omáček

Při mikrobiologických rozborech produktů dodaných firmou Palíto Family s.r.o. byl sledován celkový počet mikroorganismů, počet bakterií mléčného kvašení a dále kvasinek a plísní. Rozbory byly provedeny u omáček pocházejících z různých výrobních šarží včetně produktů po uplynutí data minimální trvanlivosti (Tabulka 5). Z celkového počtu 35 omáček byly za použitých kultivačních podmínek mikroorganismy detekovány u 2 kusů.

Jednou z nich byla chilli omáčka „Naga Bhut Jolokia švestková“ označená šarží 21 s minimální dobou trvanlivosti do 6. 12. 2018, ve které byl zjištěn celkový počet mikroorganismů 2,3 log KTJ/g narostlých při 25 °C. Na ostatních médiích kolonie narostlé nebyly. Mikrobiologický rozbor této omáčky byl proveden 11. 11. 2019, tedy 11 měsíců po uplynutí záruční doby.

Druhou byla chilli omáčka „Green garten“ označená šarží 49 s minimální trvanlivostí do 19. 2. 2020. Zde činil celkový počet mikroorganismů 4,05 log KTJ/g narostlých při 25 °C a 3,00 log KTJ/g narostlých při 37 °C. Na SDA agaru určeném pro detekci kvasinek a plísní byl dále stanoven počet 4,06 log KTJ/g a na MRS agaru pro kvantifikaci bakterií mléčného kvašení 4,07 log KTJ/g. V tomto případě se jednalo o omáčku, která byla po otevření skladována za nevhodných podmínek (při pokojové teplotě) a vykazovala zjevné sensorické vady. U ostatních omáček tohoto typu mikroorganismy detekovány nebyly. Je vysoce pravděpodobné, že omáčka byla kontaminována během jejího používání.

5.2 Mikrobiologické rozbory inokulované salsy

Mikrobiologickými rozbory bylo hodnoceno přežití a růst patogenní bakterie *E. coli* v inokulované salse ošetřené různými způsoby a následně skladované při 4 °C. Rozbory byly provedeny vždy 1., 3., 5., 7., 10. a 15. den od ošetření. Cílem bylo zjistit, zda povede použití vybraných typů ošetření k významnému snížení mikrobiologické kontaminace zeleninové omáčky. V první části pokusu bylo sledováno 14 variant vzorků (Tabulka 6), v druhé části pak 15 variant (Tabulka 7). Výsledky obou částí byly statisticky vyhodnoceny zvlášť a budou tedy i v následujícím textu popsány odděleně.

Výsledky první části pokusu jsou shrnuty v Tabulce 9. Vzorky, mezi kterými nebyl v rámci daného dne přítomen statisticky významný rozdíl, jsou označeny stejnými indexy. Po celou dobu pokusu byl u všech vzorků, tedy i u vzorků neošetřených, pozorován postupný pokles počtu patogenu. První den byly kolonie narostlé na živné půdě počítatelné pouze u vzorků ošetřených tepelně, chloridem sodným, sacharózou v koncentraci 600 g/l a kyselinou citronovou s výsledným pH 3,2. Nejnižší počet patogenu byl stanoven v tepelně ošetřených vzorcích. Třetí den od ošetření byly počítatelné i kolonie u vzorků ošetřených sacharózou v koncentraci 300 g/l.

Mezi třetím a pátým dnem došlo k dostatečné redukci počtu *E. coli* umožňující stanovit hodnoty log KTJ/g u všech vzorků, přičemž nejnižší počet byl sledován u omáčky ošetřené tepelně, kyselinou citronovou (pH 3,2) a chloridem sodným. Statisticky významně nižší

množství patogenu bylo v porovnání s neošetřenými vzorky dále přítomno u salsy s 300 g/l i 600 g/l sacharózy a s tymiánovou silicí v koncentraci 64 µl/l.

Mezi pátým a sedmým dnem došlo u tepelně ošetřených vzorků k poklesu počtu bakterie pod detekovatelnou úroveň. Stejně jako v předchozích dnech byly nejnižší hodnoty log KTJ/g dále stanoveny i u vzorků ošetřených kyselinou citronovou (pH 3,2) a chloridem sodným. Statisticky významně nižší počet patogenu oproti neošetřené salse byl dále pozorován u vzorků se sacharózou (300 i 600 g/l), a navíc také kyselinou sorbovou.

Mezi sedmým a desátým dnem poklesl počet *E. coli* pod detekovatelnou úroveň u vzorků s chloridem sodným. Kromě omáčky ošetřené silicí z dobromysli a tymiánu v koncentraci 34 µl/l byla 10. den u všech typů ošetření stanovena významně nižší hodnota log KTJ/g než u vzorků neošetřených.

Poslední sledovaný den bakterie nebyla detekována ve vzorcích ošetřených tepelně, chloridem sodným ani okyselených kyselinou citronovou na pH 3,2. Z dalších typů ošetření vedl k největšímu poklesu kontaminace patogenem přídavek 600 g/l a dále 300 g/l sacharózy. K nejmenší redukci naopak došlo u vzorků ošetřených silicí dobromysli a tymiánu v koncentraci 34 µl/l, u kterých byla 15. den hodnota log KTJ/g dokonce vyšší nežli u neošetřených vzorků, rozdíl však nebyl statisticky významný.

Tabulka 9: Výsledky první části pokusu uvedené v log KTJ/g (průměr ± SD)

Vzorek	1. den	3. den	5. den	7. den	10. den	15. den
bez ošetření	-	-	7,11 ± 0,05 ^G	6,99 ± 0,08 ^F	6,77 ± 0,10 ^I	6,19 ± 0,05 ^G
tepelné ošetření	3,54 ± 0,02 ^B	2,68 ± 0,00 ^A	1,78 ± 0,00 ^A	0,00 ± 0,00 ^A	0,00 ± 0,00 ^A	0,00 ± 0,00 ^A
kyselina sorbová 715 mg/l	-	-	6,99 ± 0,06 ^{FG}	6,65 ± 0,05 ^E	6,27 ± 0,06 ^E	5,77 ± 0,07 ^D
chlorid sodný 100 g/l	4,34 ± 0,03 ^C	3,59 ± 0,04 ^C	2,62 ± 0,04 ^C	2,11 ± 0,07 ^B	0,00 ± 0,00 ^A	0,00 ± 0,00 ^A
sacharóza 300 g/l	-	5,93 ± 0,03 ^E	5,75 ± 0,04 ^E	5,27 ± 0,04 ^D	5,02 ± 0,03 ^D	4,26 ± 0,03 ^C
sacharóza 600 g/l	5,76 ± 0,03 ^A	5,19 ± 0,09 ^D	4,99 ± 0,04 ^D	4,87 ± 0,08 ^C	4,72 ± 0,07 ^C	3,98 ± 0,03 ^B
limetková šťáva pH 4,14	-	-	7,02 ± 0,03 ^{FG}	6,91 ± 0,08 ^F	6,59 ± 0,05 ^{GH}	5,94 ± 0,04 ^{EF}
kyselina citronová pH 3,2	5,73 ± 0,05 ^A	3,28 ± 0,03 ^B	2,47 ± 0,10 ^B	2,00 ± 0,00 ^B	1,78 ± 0,00 ^B	0,00 ± 0,00 ^A
silice dobromysli 32 µl/l	-	-	7,06 ± 0,04 ^{FG}	6,93 ± 0,05 ^F	6,67 ± 0,07 ^{HI}	6,20 ± 0,04 ^G
silice dobromysli 64 µl/l	-	-	7,01 ± 0,04 ^{FG}	6,90 ± 0,07 ^F	6,61 ± 0,04 ^H	5,99 ± 0,03 ^F
silice tymiánu 32 µl/l	-	-	7,03 ± 0,05 ^{FG}	6,89 ± 0,06 ^F	6,79 ± 0,08 ^I	6,23 ± 0,06 ^G
silice tymiánu 64 µl/l	-	-	6,97 ± 0,04 ^F	6,84 ± 0,06 ^F	6,38 ± 0,07 ^{EF}	5,98 ± 0,04 ^F
silice voňatky 32 µl/l	-	-	7,09 ± 0,03 ^{FG}	6,99 ± 0,05 ^F	6,54 ± 0,03 ^{GH}	5,95 ± 0,04 ^F
silice voňatky 64 µl/l	-	-	7,04 ± 0,05 ^{FG}	6,91 ± 0,07 ^F	6,45 ± 0,03 ^{FG}	5,83 ± 0,03 ^{DE}

Výsledky druhé části pokusu jsou uvedeny v Tabulce 10. Podobně jako v průběhu první části pokusu, ani zde nebyly kolonie narostlé první den po ošetření u většiny misek počítatelné. Výjimkou byly pouze tepelně ošetřené vzorky. Třetí den již byly stanoveny hodnoty log KTJ/g u všech variant salsy. Nejnižší počet *E. coli* byl stejně jako v první části pokusu přítomen v tepelně ošetřené omáčce. Z dalších typů ošetření vedl k největšímu poklesu počtu bakterie přídavek silice voňatky v koncentracích 128 a 512 $\mu\text{l/l}$. Naopak nejvyšší hodnoty log KTJ/g byly kromě vzorků neošetřených stanoveny u salsy s limetkovou šťávou (pH 3,83), silicí dobromysli v koncentraci 128 $\mu\text{l/l}$ a silicí tymiánu v koncentracích 128 a 256 $\mu\text{l/l}$.

Pátý den od ošetření byl nejnižší počet patogenu stanoven opět u tepelně ošetřených vzorků, dále pak u salsy ošetřené silicí voňatky v koncentraci 512 $\mu\text{l/l}$, benzoanem sodným a kyselinou citronovou s pH 3,52. Statisticky významně nižší hodnoty log KTJ/g v porovnání s neošetřenou omáčkou byly stanoveny i u všech ostatních variant ošetření s výjimkou přídavku tymiánové silice v koncentracích 128 a 256 $\mu\text{l/l}$.

Mezi pátým a sedmým dnem došlo u tepelně ošetřených vzorků opět k poklesu počtu patogenu pod detekovatelnou úroveň. Z ostatních variant byl nejnižší počet *E. coli* detekován v salse se silicí voňatky v koncentraci 512 $\mu\text{l/l}$ a kyselinou citronovou (pH 3,52). Naopak k nejmenší redukci došlo u vzorků ošetřených silicí dobromysli v koncentracích 128, 256 i 512 $\mu\text{l/l}$ a tymiánovou silicí v koncentracích 128 a 256 $\mu\text{l/l}$. Hodnoty log KTJ/g u těchto vzorků nebyly statisticky významně rozdílné od hodnot stanovených v neošetřené omáčce.

Mezi sedmým a desátým dnem došlo k poklesu množství bakterie pod detekovatelnou úroveň u vzorků ošetřených silicí voňatky v koncentraci 512 $\mu\text{l/l}$. Z dalších variant vzorků bylo 10. den nejnižší množství patogenu stanoveno u salsy s kyselinou citronovou (pH 3,52), benzoanem sodným a silicí tymiánu v koncentraci 512 $\mu\text{l/l}$. Statisticky významně nižší hodnoty log KTJ/g v porovnání s neošetřenou omáčkou byly stanoveny i u všech ostatních způsobů ošetření, což platilo i pro poslední den sledování.

V průběhu obou částí pokusu došlo k poklesu počtu *E. coli* pod detekovatelnou úroveň ve vzorcích ošetřených tepelně, chloridem sodným, kyselinou citronovou (pH 3,2) a silicí voňatky v koncentraci 512 $\mu\text{l/l}$. Z dalších typů ošetření bylo největší redukce patogenu docíleno přídavkem benzoanu sodného, kyseliny citronové (pH 3,52) a dále tymiánové silice (512 $\mu\text{l/l}$). Vzorky salsy ošetřené těmito způsoby proto byly vybrány pro senzorickou analýzu za účelem ohodnocení jejich vlivu na senzorickou jakost zeleninové omáčky.

Tabulka 10: Výsledky druhé části pokusu uvedené v log KTJ/g (průměr ± SD)

Vzorek	1. den	3. den	5. den	7. den	10. den	15. den
bez ošetření	-	7,14 ± 0,05 ^F	6,98 ± 0,03 ^J	6,83 ± 0,06 ^F	6,60 ± 0,05 ^I	6,12 ± 0,03 ^I
tepelné ošetření	2,78 ± 0,00 ^A	2,08 ± 0,00 ^A	1,78 ± 0,00 ^A	0,00 ± 0,00 ^A	0,00 ± 0,00 ^A	0,00 ± 0,00 ^A
benzoan sodný 1000 mg/l	-	6,97 ± 0,07 ^{DE}	6,36 ± 0,04 ^C	6,06 ± 0,04 ^{CD}	5,32 ± 0,08 ^B	2,77 ± 0,06 ^B
limetková šťáva pH 3,83	-	7,08 ± 0,05 ^{EF}	6,63 ± 0,08 ^{EFG}	6,44 ± 0,05 ^E	6,11 ± 0,04 ^{DE}	5,22 ± 0,05 ^F
limetková šťáva pH 3,65	-	6,99 ± 0,07 ^{DE}	6,52 ± 0,03 ^{CDE}	6,27 ± 0,09 ^E	5,83 ± 0,03 ^C	4,54 ± 0,03 ^D
kyselina citronová pH 3,52	-	6,97 ± 0,03 ^{DE}	6,40 ± 0,09 ^{CD}	5,97 ± 0,03 ^C	5,22 ± 0,04 ^B	3,15 ± 0,04 ^C
silice dobromysli 128 µl/l	-	7,02 ± 0,07 ^{EF}	6,76 ± 0,06 ^{FGH}	6,73 ± 0,07 ^F	6,37 ± 0,04 ^{GH}	5,86 ± 0,04 ^H
silice dobromysli 256 µl/l	-	6,99 ± 0,08 ^{DE}	6,78 ± 0,03 ^{GHI}	6,72 ± 0,08 ^F	6,41 ± 0,03 ^H	5,89 ± 0,03 ^H
silice dobromysli 512 µl/l	-	6,85 ± 0,05 ^{CD}	6,74 ± 0,09 ^{FGH}	6,66 ± 0,09 ^F	5,96 ± 0,03 ^{CD}	4,56 ± 0,07 ^D
silice tymiánu 128 µl/l	-	7,15 ± 0,05 ^F	6,94 ± 0,05 ^{IJ}	6,83 ± 0,08 ^F	6,22 ± 0,03 ^{EFG}	5,97 ± 0,03 ^H
silice tymiánu 256 µl/l	-	7,07 ± 0,03 ^{EF}	6,85 ± 0,06 ^{HIJ}	6,71 ± 0,09 ^F	6,27 ± 0,09 ^{FGH}	5,57 ± 0,03 ^G
silice tymiánu 512 µl/l	-	6,85 ± 0,05 ^{CD}	6,59 ± 0,07 ^{EF}	6,25 ± 0,07 ^{DE}	5,33 ± 0,04 ^B	3,25 ± 0,03 ^C
silice voňatky 128 µl/l	-	6,75 ± 0,05 ^C	6,53 ± 0,08 ^{DE}	6,27 ± 0,07 ^E	6,18 ± 0,10 ^{EF}	5,49 ± 0,08 ^G
silice voňatky 256 µl/l	-	6,87 ± 0,03 ^{CD}	6,49 ± 0,03 ^{CDE}	6,03 ± 0,07 ^C	5,82 ± 0,08 ^C	4,91 ± 0,07 ^E
silice voňatky 512 µl/l	-	5,82 ± 0,04 ^B	5,14 ± 0,05 ^B	3,68 ± 0,03 ^B	0,00 ± 0,00 ^A	0,00 ± 0,00 ^A

5.3 Senzorická analýza

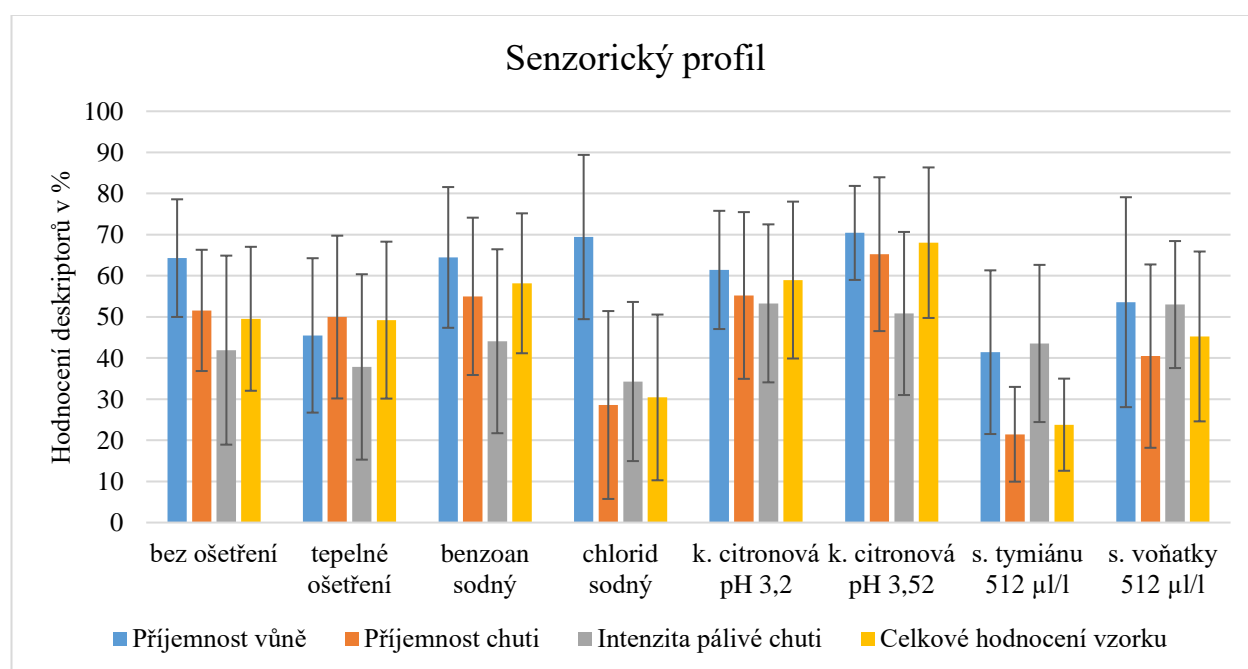
5.3.1 Hodnocení sensorického profilu

Cílem sensorické analýzy bylo vyhodnotit vliv typu ošetření na sensorickou jakost salsy. Metodou sensorického profilu byla hodnocena příjemnost vůně, příjemnost chuti, intenzita pálivé chuti a celkové hodnocení (přijatelnost) vzorků. Výsledky hodnocení jsou shrnuty v Tabulce 11 a graficky znázorněny v Grafu 1. Analýzou rozptylu byly zjištěny statisticky významné rozdíly v příjemnosti vůně, příjemnosti chuti a celkovém hodnocení vzorků. Výsledky post-hoc testů jsou vyznačeny v tabulce.

Tabulka 11: Výsledky hodnocení vybraných deskriptorů v závislosti na typu ošetření vzorku

Vzorek	Deskriptory [průměr ± SD] *			
	Příjemnost vůně (%)	Příjemnost chuti (%)	Intenzita pálivé chuti (%)	Celkové hodnocení (%)
bez ošetření	64,29 ± 14,30 ^{AB}	51,58 ± 14,74 ^{AB}	41,92 ± 22,98 ^A	49,54 ± 17,50 ^{ABC}
tepelné ošetření	45,50 ± 18,77 ^{AB}	49,96 ± 19,79 ^{ABC}	37,83 ± 22,54 ^A	49,21 ± 19,08 ^{ABC}
benzoan sodný	64,46 ± 17,11 ^{AB}	55,00 ± 19,13 ^{AB}	44,08 ± 22,36 ^A	58,17 ± 17,01 ^{AC}
chlorid sodný	69,42 ± 19,97 ^{AB}	28,58 ± 22,84 ^{AC}	34,29 ± 19,35 ^A	30,42 ± 20,15 ^{BC}
k. citronová pH 3,2	61,42 ± 14,37 ^{AB}	55,21 ± 20,27 ^{AB}	53,29 ± 19,21 ^A	58,96 ± 19,07 ^A
k. citronová pH 3,52	70,42 ± 11,43 ^B	62,25 ± 18,70 ^{AB}	50,83 ± 19,83 ^A	68,04 ± 18,30 ^A
s. tymiánu 512 µl/l	41,42 ± 19,90 ^A	21,46 ± 11,52 ^C	43,54 ± 19,11 ^A	23,79 ± 11,20 ^B
s. voňatky 512 µl/l	53,58 ± 25,52 ^{AB}	40,46 ± 22,29 ^{ABC}	53,00 ± 15,44 ^A	45,25 ± 20,65 ^{ABC}

*vzorky, mezi kterými nebyl sledován statisticky významný rozdíl, jsou označeny stejnými indexy



Graf 1: Výsledky hodnocení vybraných deskriptorů v závislosti na typu ošetření vzorku

Výsledky hodnocení byly vyjádřeny jako průměr \pm SD. Obecně lze říci, že v případě posuzování příjemnosti vůně, příjemnosti chuti i celkové přijatelnosti získal nejnižší průměrné hodnocení vzorek s tymiánovou silicí (512 μ l/l). Z hlediska těchto tří deskriptorů byl naopak nejlépe hodnocen vzorek s kyselinou citronovou s pH 3,52.

Při hodnocení intenzity pálivé chuti byly v průměru jako nejintenzivněji pálivé vnímány omáčky ošetřené kyselinou citronovou s pH 3,2 a silicí voňatky v koncentraci 512 μ l/l. Naopak jako nejméně pálivý byl ohodnocen vzorek salsy s chloridem sodným. Rozdíly mezi vzorky však nebyly statisticky významné.

5.3.2 Pořadová zkouška

Při hédonické pořadové zkoušce hodnotitelé seřadili sérii předložených vzorků dle zvyšující se přijatelnosti od nejméně přijatelného po nejvíce přijatelný vzorek. K vyhodnocení byl použit Friedmanův test. Hodnota Friedmanova kritéria (31,56) převyšovala kritickou hodnotu Friedmanova kritéria (13,73) a celkový rozdíl mezi vzorky tak byl statisticky významný. Pro porovnávání jednotlivých vzorků bylo stanoveno, že mezi vzorky existuje statisticky významný rozdíl v případě, kdy je absolutní hodnota rozdílů součtu pořadí vzorků větší než 23,52. Statisticky významné rozdíly mezi vzorky jsou v Tabulce 12 zvýrazněny červeně.

Tabulka 12: Výsledky porovnávání jednotlivých vzorků dle Friedmanova testu

		bez ošetření	tepelné ošetření	benzoan sodný	chlorid sodný	k. citronová pH 3,2	k. citronová pH 3,52	silice tymiánu 512 μ l/l	silice voňatky 512 μ l/l
		54	54	71	39	67	77	22	48
bez ošetření	54	0	0	-17	15	-13	-23	32	6
tepelné ošetření	54	0	0	-17	15	-13	-23	32	6
benzoan sodný	71	17	17	0	32	4	-6	49	23
chlorid sodný	39	-15	-15	-32	0	-28	-38	17	-9
k. citronová pH 3,2	67	13	13	-4	28	0	-10	45	19
k. citronová pH 3,52	77	23	23	6	38	10	0	55	29
silice tymiánu 512 μ l/l	22	-32	-32	-49	-17	-45	-55	0	-26
silice voňatky 512 μ l/l	48	-6	-6	-23	9	-19	-29	26	0

6 Diskuze

Prvním cílem diplomové práce bylo zhodnotit mikrobiologické parametry v současnosti dodávaných zeleninových omáček. Mikrobiologické rozborů byly provedeny u produktů firmy Palíto Family s.r.o. Z celkového počtu 35 omáček byly za použitých kultivačních podmínek mikroorganismy detekovány u dvou kusů. První byla omáčka, u které byl rozbor proveden 11 měsíců od uplynutí záruční doby. V druhém případě se jednalo o omáčku, která byla skladována za nevhodných podmínek (při pokojové teplotě). U ostatních omáček tohoto typu mikroorganismy detekovány nebyly a je tak pravděpodobné, že ke kontaminaci došlo v průběhu jejího používání. Účelem mikrobiologických rozborů bylo ověření spolehlivosti stávajících konzervačních postupů (ošetření vysokou teplotou), které se vzhledem k výsledkům zdají být v pořádku.

Dalšími cíli práce bylo otestovat šetrné způsoby konzervace a posoudit vliv těchto ošetření na mikrobiologickou a senzorickou jakost zeleninových omáček. Pro účely tohoto testování byla zvolena čerstvě připravená salsa. Případy, kdy je salsa vehikulem pro patogeny způsobující onemocnění z potravin, jsou poměrně časté v Americe, kde je tato omáčka hojně konzumována. K patogenům, které bývají salsou přenášeny, patří mimo jiné i *Escherichia coli* (Franco & Simonne 2009; Kendall et al. 2013). Ta je nejen schopna přežívat za nízkých hodnot pH, které bývají pro zeleninové omáčky typické, ale skladování kontaminovaného produktu za chladírenských teplot navíc její přežívání v takovém prostředí prodlužuje (Zhao et al. 1993; Conner & Kotrola 1995; Clavero & Beuchat 1996).

Schopnost *E. coli* přetrvávat v chlazených omáčkách po velmi dlouhou dobu byla popsána řadou studií. Například v majonézovém dresinku se sníženým obsahem tuku (pH 4,08) skladovaném při 5 °C došlo k poklesu počtu *E. coli* O157:H7 z původních 6,23 log KTJ/ml pod detekovatelnou úroveň za 58 dnů. V běžné majonéze (pH 3,86–3,97) pak byl patogen schopen přežívat i déle než 79 dnů (Hathcox et al. 1995). Ze zkoumaných médií byly však našemu pokusu nejbližší rajčatové produkty, na které se zaměřili Eribo a Ashenafi (2003). Ty byly inokulovány *E. coli* O157:H7 na počáteční koncentraci 4 log KTJ/ml a následně skladovány při 4 °C. V případě rajčatového kečupu (pH 4,2) byl sledován poměrně prudký pokles, přesto v něm bakterie přetrvávala déle než 18 dnů. Naopak v rajčatové omáčce (pH 4,6) během sledovaných 16 dnů k výraznému poklesu počtu patogenu nedošlo. Tomu se podobal i celkový průběh našeho pokusu. Ačkoliv byl ve všech vzorcích, včetně neošetřené kontroly, po celou dobu pozorován postupný pokles počtu *E. coli*, ve velké části z nich byla bakterie i 15. den od ošetření přítomna v poměrně vysokém množství.

Pro možnost porovnání byly kromě přírodních konzervantů do testování zahrnuty i syntetické konzervační látky a ohřev. Tepelné ošetření (90 °C, 1 min) bylo z použitých způsobů konzervace nejvíce účinné. Ačkoliv nevedl ohřev za vybraných parametrů k úplné eliminaci patogenu, zbylá populace klesla pod detekovatelnou úroveň mezi 5. a 7. dnem, tedy ve srovnání s ostatními vzorky nejdříve. Vzhledem k vysoké dostupnosti, účinnosti a nízké ceně se stále jedná o převládající způsob konzervace potravin. K jeho hlavním nevýhodám však patří ztráty nutriční a senzorické kvality produktu, které nejsou v souladu se zvyšujícím se zájmem spotřebitelů o stále čerstvější, kvalitnější a zdravější potraviny (Pandrangi et al. 2014; Lopes et al. 2016; Salvi et al. 2016).

Podobně jako k tepelnému ošetření se v poslední době mění i vztah konzumentů k syntetickým konzervantům, které jsou obecně vnímány negativně. Spotřebiteli jsou tak čím dál častěji vyžadovány produkty bez jejich obsahu, což zvyšuje zájem o hledání a používání přírodních antimikrobiálních látek (Faleiro 2011). Z chemických konzervantů byla v první části pokusu použita kyselina sorbová v koncentraci 715 mg/l a v druhé části benzoan sodný v koncentraci 1000 mg/l. Přídavek syntetických konzervantů vedl k významně většímu poklesu hodnoty log KTJ/g v porovnání s neošetřenými vzorky, ani v jednom případě ale nedošlo v průběhu sledovaných 15 dnů k redukci bakterie pod detekovatelnou úroveň. U salsy s kyselinou sorbovou bylo poslední den stanoveno 5,77 log KTJ/g a u vzorku s benzoanem sodným 2,77 log KTJ/g. Ačkoliv souvisí tento rozdíl i s použitím odlišných koncentrací, výsledky některých výzkumů ukazují, že při inaktivaci patogenů jako je *E. coli* O157:H7 vykazuje benzoan sodný vyšší účinnost nežli sorban draselný, tedy často používaná sůl kyseliny sorbové (Theron & Lues 2011).

Porovnávání vlivu benzoanů a sorbanů na přežívání *E. coli* v kyselých rostlinných produktech bylo v minulosti prováděno především u jablečných ciderů a džusů. Zhao et al. (1993) testovali jablečné cidery (pH 3,6–4,0) inokulované *E. coli* O157:H7 v množství 5 log KTJ/ml, které ošetřili 0,1 % benzoanu sodného či sorbanu draselného a následně skladovali při 8 °C. V neošetřených ciderech patogen přežíval 10–31 dnů. Sorban draselný měl relativně malý účinek, kdy *E. coli* klesla pod detekovatelnou úroveň po 15–20 dnech. V případě použití benzoanu sodného byla tato doba zkrácena na 2–10 dnů. Na vyšší účinnost benzoanu sodného poukazují i výsledky výzkumu Ceylan et al. (2004). Ti ve své studii použili jablečný džus (pH 3,75), jehož inokulované vzorky taktéž ošetřili pomocí 0,1 % benzoanu sodného nebo sorbanu draselného a poté skladovali při 8 °C po dobu 14 dnů. Počet *E. coli* O157:H7 byl z původních 5,2 log KTJ/ml zredukován na 0,3 log KTJ/ml při použití benzoanu sodného a 1,4 log KTJ/ml u sorbanu draselného. V tomto případě tak byla bakterie schopna přežít podobně jako při našem testování déle než 14 dnů, a to i přes vyšší skladovací teplotu a výrazně nižší pH produktu v porovnání s námi použitou salsou (pH 4,58–4,6), čímž byl účinek zmíněných konzervantů podpořen.

Dalším použitým typem ošetření byl přídavek chloridu sodného v koncentraci 100 g/l, který dle našich výsledků patřil k neúčinnějším. V průběhu 1. dne bylo množství patogenu sníženo na hodnotu 4,34 log KTJ/g a mezi 7. a 10. dnem došlo k jeho poklesu pod detekovatelnou úroveň. Takto vysoké koncentrace soli jsou ovšem běžné spíše u sójových omáček. Například Masuda et al. (1998) testovali vliv chloridu sodného na *E. coli* O157:H7 ve fosfátovém pufru a 4 druhích sójové omáčky. Ve fosfátovém pufru (pH 7) došlo při 30 °C k poklesu množství bakterie z původních 6 log KTJ/ml pod detekovatelnou úroveň během 9 dnů, a to při koncentraci 10 % i 16 % NaCl bez statisticky významného rozdílu. Tyto výsledky jsou v souladu se zjištěním Glass et al. (1992), dle kterých byla bakterie při testování v TSB inhibována chloridem sodným v koncentraci 8,5 % a více. Masuda et al. (1998) dále došli k závěrům, že v případě sójových omáček nejsou účinky vůči *E. coli* zapříčiněny pouze obsahem soli, neboť samotná omáčka (10 % NaCl) způsobila při stejné teplotě výrazně rychlejší pokles počtu patogenu. Při použití nižší skladovací teploty (4 °C) však v průběhu sledovaných 9 dnů nedošlo k významnému poklesu počtu bakterie v žádné ze sójových omáček ani fosfátovém pufru. Cho et al. (2016) sledovali přežívání *E. coli* O157:H7 společně s dalšími bakteriemi v povařené sójové omáčce (pH 4,6) s 15,6% obsahem chloridu sodného.

Gramnegativní bakterie včetně *E. coli* se obecně projeví jako více citlivé. Z počátečních 1,6 log KTJ/ml kleslo množství patogenu při 22 °C pod detekovatelnou úroveň 5. den, zatímco při skladovací teplotě 4 °C se tato doba prodloužila na 14 dnů. V našem případě došlo v porovnání s těmito výzkumy i přes použití vyšší počáteční koncentrace bakterie k výrazně rychlejší deaktivaci. To může souviset s odlišným složením omáček a rozdílnou citlivostí zkoumaných bakteriálních kmenů.

Konzervační účinek sacharózy byl sledován za použití dvou různých koncentrací, kterými byl imitován obsah cukru ve sladkých chilli omáčkách. Při použití koncentrace 600 g/l došlo k významné redukci počtu patogenu již 1. den, a to na 5,76 log KTJ/g. Následující dny byl pokles pomalejší a 15. den byla bakterie ve vzorku přítomna ještě v koncentraci 3,98 log KTJ/g. U omáčky ošetřené sacharózou v koncentraci 300 g/l byl počet kolonií narostlých na živné půdě počítatelný až 3. den, kdy bylo ve vzorku stanoveno 5,93 log KTJ/g. Stejně jako v případě použití vyšší koncentrace následoval pozvolný pokles až na výslednou hodnotu 4,26 log KTJ/g.

V potravinách a nápojích jako jsou pyré, omáčky, jablečné cidery a různé druhy džusů byl zkoumán především vliv koncentrace sacharózy a dalších cukrů na odolnost *E. coli* vůči různým typům ošetření jako je například záhřev ve vodní lázni (Splittstoesser et al. 1996; Li Wan Po et al. 2002; Hsu et al. 2014), ohmický ohřev (Park et al. 2017), mikrovlnný ohřev (Kim et al. 2018), UV záření (Murakami et al. 2006; Sauer & Moraru 2009) či vysoký tlak (Tahiri et al. 2006; Vercammen et al. 2012). Při testování účinků glukózy, fruktózy, maltózy a sacharózy ve formě roztoků vůči bakteriím *E. coli*, *Staphylococcus aureus* a *Salmonella enterica* měla z vybraných cukrů největší inhibiční účinky právě sacharóza, a to i přesto, že v porovnání s ostatními vedla k menšímu poklesu aktivity vody (Mizzi et al. 2020). Buchanan a Bagi (1997) popsali vliv sacharózy na růst *E. coli* O157:H7 v BHI agaru. Použity byly nejen různé koncentrace cukru (0–300 g/l), ale i inkubační teploty (12, 19, 28 °C) a hodnoty pH (4,5; 5,5; 6,5; 7,5). Podmínkám našeho pokusu tak bylo nejbližší použití koncentrace 300 g/l při pH 4,5. Ani za jedné z inkubačních teplot nedošlo k růstu bakterie, přičemž při 12 °C nebyl patogen schopen růstu ani v neošetřeném vzorku. Yokoigawa et al. (1999) dále studovali vliv sacharózy v LB médiu na přežití patogenních i nepatogenních kmenů *E. coli* v počátečním množství 3 log KTJ/ml. Inkubace probíhala za teploty 25 °C po dobu 24 hodin. Našemu pokusu byla nejbližší koncentrace 342 g/l, při jejímž použití činila hladina přežití u všech sledovaných kmenů méně než 20 %. I zde je tak patrný významný vliv teploty na rychlost deaktivace patogenu.

Za účelem sledování vlivu okyselení salsy na přežití *E. coli* byla použita limetková šťáva (pH 4,14; 3,83 a 3,65) v takových koncentracích, které by bylo možné při přípravě omáčky použít bez výrazného zhoršení chuti, a pro dosažení ještě nižších hodnot pH i kyselina citronová (pH 3,52; 3,2). Ačkoliv bylo ve vzorcích s pH 4,14 od 10. dne sledováno statisticky významně nižší množství patogenu oproti kontrolnímu vzorku, tyto rozdíly byly malé. S klesajícím pH se však rozdíly mezi ošetřenými a neošetřenými vzorky zvětšovaly. Nejúčinnější bylo okyselení pomocí kyseliny citronové na pH 3,2, kdy byl počet *E. coli* již po 1. dnu snížen na 5,73 log KTJ/g a mezi 10. a 15. dnem došlo i k poklesu pod detekovatelnou úroveň.

Z doposud publikovaných výzkumů se některé zabývaly schopností *E. coli* O157:H7 přežít v neředěné limetkové šťávě. Příkladem může být Enache et al. (2009), dle jejichž výsledků by při skladovací teplotě 0 °C došlo k redukci o požadovaných 5 log KTJ/ml za déle než týden. Zvýšením teploty na 22 °C byla potřebná doba zkrácena na 3 dny. V dosavadních

studiích zaměřených na účinky limetkové šťávy při přidání do potravin byly sledovány především jiné patogeny jako například *Salmonella* (Ma et al. 2010).

Vliv kyseliny citronové na růst a přežívání *E. coli* byl naproti tomu prozkoumán důkladněji. Osaili et al. (2015) ve své práci sledovali efekt kyseliny citronové v koncentraci 0,4–0,8 % na *E. coli* O157:H7 v lilkovém dípu (pH 3,9–4,3). V průběhu sledovaných 15 dnů však za použitých teplot (4, 10, 15 °C) nedošlo u žádného z ošetřených vzorků k významnému poklesu původní populace (7,2 log KTJ/ml). Musyoka et al. (2018) dále testovali účinky 1% koncentrace kyseliny citronové v batátovém pyré. Ošetřené vzorky (pH 4,6) byly skladovány při pokojové (15–25 °C) či chladírenské teplotě (4 °C). Sledovány byly na rozdíl od předchozí studie po dobu 10 týdnů, během kterých došlo k poklesu *E. coli* z původních 7,5 log KTJ/g na 4,5 log KTJ/g při pokojové teplotě a na 4 log KTJ/g při skladování v chladu. Nejvíce se ovšem našemu pokusu podobala experimentální část diplomové práce (Schmitt 2003), kde byl sledován vliv kyseliny citronové v 0,75%, 1%, 1,5% a 2% koncentraci vůči *E. coli* O157:H7 přímo v salse (pH 4,6). Vzorky byly inokulovány na hodnotu kolem 4 log KTJ/ml, ošetřeny kyselinou citronovou a následně skladovány při 4 °C. K poklesu pod detekovatelnou úroveň došlo 28. den při použití 0,75 %, 21. den v případě 1% i 1,5% koncentrace a 14. den při použití 2 % kyseliny citronové. Při našem testování vedlo použití 1,45 % kyseliny citronové k poklesu bakterie pod detekovatelnou úroveň již mezi 10. a 15. dnem, a to i přes použití výrazně vyšší počáteční koncentrace patogenu. Rozdílné výsledky mohou být způsobeny vyšší citlivostí námi použitého kmene (ATCC 25922) i přes jeho předchozí adaptaci na kyselé prostředí. V porovnávané práci byla použita směs 3 kmenů *E. coli* O157:H7 (ATCC 35150, 43889, 43890).

Posledním testovaným způsobem ošetření bylo přidání silic, o jejichž využití v potravinářství je v současnosti velký zájem (Figueroa-Lopez et al. 2019). Pro náš experiment byly vybrány silice z tymiánu, dobromysli a voňatky, které byly vždy přidány v koncentraci 32, 64, 128, 256 a 512 µl/l. Kromě silic z dobromysli a tymiánu v nejnižší z testovaných koncentrací vedly v průběhu 15 dnů všechny ostatní varianty k významně většímu poklesu počtu *E. coli* v porovnání s kontrolním vzorkem bez ošetření. Rozdíly v účinnosti jednotlivých silic byly výraznější až při použití vyšších koncentrací. Nejvyšší účinnost vykazovala silice voňatky v koncentraci 512 µl/l, jejíž použití vedlo mezi 7. a 10. dnem k poklesu počtu patogenu pod detekovatelnou úroveň. Druhá nejúčinnější byla silice tymiánová (512 µl/l), jejíž přítomnost způsobila v průběhu 15 dnů redukci množství bakterie na 3,25 log KTJ/g. K nejmenšímu poklesu pak došlo u vzorků se silicí dobromysli (512 µl/l) s výsledným 4,56 log KTJ/g.

Ačkoliv byla v oblasti silic provedena řada *in-vitro* testů potvrzujících jejich antimikrobiální účinky i v relativně nízkých koncentracích, při použití v potravinách je vzhledem k interakcím se složkami produktu vyžadována aplikace vyššího množství (Calo et al. 2015). Jejich biologickou aktivitu ovlivňuje celá řada faktorů jako je obsah tuku, bílkovin, škrobů, vody, soli, antioxidantů, dále hodnota pH, teplota skladování, přístup vzduchu, ale i vlastnosti samotného mikroorganismu a stupeň kontaminace. V potaz navíc musí být vzata samotná chemická variabilita silic související s odlišnými podmínkami při pěstování, věkem rostliny, dobou sběru i rozdílnou metodikou extrakce (Burt 2004; Perricone et al. 2015; Prakash et al. 2015). V zeleninových produktech by měla být antimikrobiální aktivita silic podpořena, a to díky nízké teplotě skladování snižující jejich odpařování a kyselému pH. Obecně má

zelenina navíc nízký obsah tuku, což je pro působení silic taktéž výhodné (Skandamis & Nychas 2000).

Doposud publikované studie zkoumající účinky silic v zeleninových omáčkách se zabývají především jejich antifungální aktivitou či kombinací silic a jejich složek s ohmickým ohřevem (Omidbeygi et al. 2007; Kalantary et al. 2014; Zamindar et al. 2015, 2016; Kim & Kang 2017a, 2017b). Z námi testovaných silic je nejlépe popsána aktivita silice voňatky, a to zejména v džusech. Leite et al. (2016) zkoumali její účinky vůči *E. coli* v ananasovém džusu (pH 3,9) skladovaném při 4 °C. Z počátečních 8 log KTJ/ml došlo při použití 600 µl/l k požadovanému poklesu o 5 log KTJ/ml během 1 hodiny, v případě vyšších koncentrací (1250, 2500 a 5000 µl/l) pak byla tato doba zkrácena na 15 minut. Raybaudi-Massilia et al. (2006) ve své studii použili džus jablečný (pH 4,2), hruškový (pH 4) a melounový (pH 5,9). Ošetřené džusy byly skladovány při 35 °C po dobu 24 hodin. K poklesu počtu *E. coli* z původních 6 log KTJ/ml pod detekovatelnou úroveň postačila ve všech případech koncentrace 2000 µl/l. Z popsaných výzkumů se podmínkám našeho pokusu nejvíce blížilo použití 600 µl/l v ananasovém džusu. Výrazně rychlejší pokles patogenu bude dán především odlišným složením a nižším pH ananasového džusu. Salsa má navíc na rozdíl od džusů i strukturu, kterou mohou být bakterie lépe chráněny. Například Friedman et al. (2004) pozorovali pomalejší odumírání patogenu v džusu s obsahem dužiny v porovnání s džusem čirým.

Dle výsledků našeho pokusu byla tymiánová silice více účinná nežli silice z dobromysli. Podle *in-vitro* testů Hammer et al. (1999) i Boskovic et al. (2015) jsou hodnoty MIC (minimální inhibiční koncentrace) a MBC (minimální baktericidní koncentrace) v případě těchto dvou silic stejné. Tomu odpovídají i výsledky výzkumu Govaris et al. (2011), kteří aplikovali silici z tymiánu a dobromysli v množství 0,1 ml/100 g na feta sýr inokulovaný *E. coli* O157:H7, kdy mezi účinností obou ošetření nebyly nalezeny statisticky významné rozdíly. Emiroğlu et al. (2010) dále testovali jedlé povrchové filmy se silicí dobromysli či tymiánu v koncentraci 5 %. Ty byly následně použity u placiček z mletého hovězího masa inokulovaných mimo jiné *E. coli* a *E. coli* O157:H7. Při skladování po dobu 12 dnů při 4 °C byly výsledky i zde velmi podobné, ačkoliv u tymiánové silice byl pokles koliformních patogenů o něco vyšší. Jak již bylo řečeno, rozdíly mezi silicemi byly při našem experimentu patrné až ve vyšších koncentracích (256 a 512 µl/l). Zároveň mohlo dojít k ovlivnění již zmíněnými faktory jako je chemická variabilita silic, složení zkoumaných produktů či odlišná citlivost použitého kmene.

Poslední částí experimentu bylo hodnocení vlivu ošetření na sensorickou jakost salsy, do kterého bylo zahrnuto sedm způsobů konzervace, které se při předchozím testování projeví jako nejvíce účinné v redukci počtu *E. coli*. Z hlediska příjemnosti vůně, chuti i celkové přijatelnosti vzorku byla nejlépe hodnocena salsa okyselená pomocí kyseliny citronové na pH 3,52. Obecně je ale nutné k našim výsledkům podotknout, že se hodnocení jednotlivých panelistů poměrně lišila a většina rozdílů mezi vzorky tak není statisticky významná. Tento vzorek byl tedy v průměru sice ohodnocen nejlépe, ale rozdíly mezi ním a kontrolou bez ošetření nelze považovat za významné. Podobně tomu tak bylo i u vzorku okyseleného na pH 3,2, který byl z hlediska příjemnosti chuti a celkové přijatelnosti taktéž hodnocen o něco lépe nežli neošetřená salsa, ani zde se však nejednalo o významné rozdíly. Často používanou přísadou salsy je limetková šťáva a konzumenti tak určitou míru kyselé chuti u této omáčky očekávají, což může být důvodem lepšího průměrného hodnocení okyselených vzorků.

Mezi hlavními nevýhodami tepelného ošetření bývá uváděn pokles sensorické jakosti produktu (Salvi et al. 2016). Při našem hodnocení došlo k výraznějšímu zhoršení sensorických vlastností pouze z hlediska příjemnosti vůně, které ani zde nebylo statisticky významné. Příjemnost chuti i celková přijatelnost vzorku byla posléze hodnocena téměř stejně jako u salsy bez ošetření. Dle výsledků studie Allison et al. (1999) byla celková přijatelnost tepelně ošetřené salsy hodnocena dokonce lépe nežli u čerstvé omáčky. To by podle autorů mohlo souviset s tím, že se konzumenti častěji setkávají s tepelně upravenými rajčatovými produkty.

Do sensorického hodnocení byl dále zařazen vzorek s benzoanem sodným, který se stejně jako předchozí varianty významně nelišil od kontroly. Cílem studií, které obsahují sensorické hodnocení vzorků ošetřených syntetickými konzervanty, je především sledování jejich vlivu na uchování vlastností produktu při dlouhodobém skladování. Na jeho začátku bývají rozdíly mezi vzorky neošetřenými a ošetřenými stejně jako v našem případě malé (Hashmi et al. 2007; Hussain et al. 2016; Alam 2018).

Salsa ošetřená chloridem sodným byla z hlediska příjemnosti chuti ($28,58 \pm 19,79$ %) i celkové přijatelnosti ($30,42 \pm 19,08$ %) vyhodnocena jako druhý nejméně příjemný vzorek. Ačkoliv nebyly při porovnání s kontrolou přítomné rozdíly statisticky významné, při pořadové zkoušce byly výsledky hodnocení významně odlišné od vzorků s kyselinou citronovou (pH 3,2 i 3,52) a benzoanem sodným. Studie zabývající se vlivem koncentrace soli na sensorickou přijatelnost produktu sledují zpravidla potraviny s jejími náhražkami či sníženým obsahem, což souvisí se současnou snahou omezovat množství soli používané při výrobě potravin kvůli zdravotním rizikům spojeným s jejím nadměrným příjmem ze stravy (Hoppu et al. 2017). Koncentrace chloridu sodného kolem 10 % a více jsou typické spíše pro sójové, rybí a podobné typy omáček. Přesto, že nebyl pokles příjemnosti chuti a celkové přijatelnosti vyhodnocen jako statisticky významný, dva z našich hodnotitelů připsali do formuláře ve formě poznámky, že je vzorek přesolený. Je tak možné, že by zeleninové produkty s takto vysokým obsahem soli mohly být některými konzumenty vnímány stejně.

Jako poslední byly zařazeny i vzorky se silicí voňatky a tymiánu v koncentraci 512 μ /l. Salsa jakožto pikantní potravina by dle doporučení autorů Hyldgaard et al. (2012) měla být pro aplikaci silic vhodná. I přes snahu přizpůsobit jejich výběr testované omáčce, byla sensorická jakost přídavkem silic negativně ovlivněna. Tyto změny byly výraznější v případě tymiánové silice. Ta byla z hlediska příjemnosti vůně, chuti i celkové přijatelnosti vzorku hodnocena nejhůře, přičemž rozdíly v příjemnosti chuti byly v porovnání s kontrolou statisticky významné. Výsledky hodnocení při pořadové zkoušce se dále významně lišily od vzorku neošetřeného, tepelně ošetřeného, s benzoanem sodným, kyselinou citronovou (pH 3,2 a 3,52) i silicí voňatky 512 μ /l.

Dle studie Espina et al. (2014) není tymiánová silice akceptovatelná ani při použití nižšího množství. Pro možnost porovnání jejího vlivu na sensorickou jakost různých typů potravin byl vybrán rajčatový džus, zeleninová polévka a kuřecí burger. Do těch byla silice přidána v koncentraci 20, 100 a 200 μ /l. Hodnocení přijatelnosti chuti se zúčastnilo 65 netrénovaných hodnotitelů. V případě zeleninové polévky a kuřecího burgeru byl panelem akceptován pouze přídavek 20 μ /l, zatímco v rajčatovém džusu nebyla vyhovující ani tato nejnižší koncentrace.

Vliv silice voňatky na přijatelnost produktů byl, podobně jako její antimikrobiální účinky, testován zejména v džusech. Leite et al. (2016) sledovali sensorickou jakost ananasového džusu s 1250 a 2500 μ /l. Dle hodnocení 60 panelistů byl při použití obou koncentrací přijatelný

vzhled, vůně i viskozita džusu, negativně se však použití silice projevilo z hlediska příjemnosti chuti a přítomnosti pachuti. Podobný byl i výsledek studie Celina et al. (2019), kde byl vliv silice testován taktéž v ananasovém džusu. Hodnocení vzorků ošetřených koncentracemi 0,1 %, 0,2 % a 0,3 % se zúčastnilo 30 panelistů. Negativní vliv na chuť i celkovou akceptabilitu mělo již přidání 0,1 % silice. V našem pokusu byla v porovnání s těmito výzkumy použita výrazně nižší koncentrace. Ačkoliv bylo zaznamenáno o něco horší hodnocení z hlediska příjemnosti vůně, chuti i celkové přijatelnosti, tyto rozdíly oproti kontrole nebyly statisticky významné.

Kromě ovlivnění vůně a chuti produktu byly některými studiemi pozorovány i další nežádoucí dopady aplikace silic na zeleninu. Scollard et al. (2013) například uvádí, že použití silic z tymiánu, dobromysli a rozmarýnu vedlo u salátu, mrkve a zelí kromě nepříjemného zápachu i k neakceptovatelnému ovlivnění vzhledu. Dle výzkumu Uyttendaele et al. (2004) pak způsobila aplikace tymiánové silice na pokrájenou papriku její změknutí. Při budoucím testování silic na zeleninových produktech by tak do sensorického hodnocení mělo být zařazeno i posouzení jejich vlivu na strukturu.

Posledním hodnoceným deskriptorem, který prozatím nebyl zmíněn, byla intenzita pálivé chuti vzorků. Prescott a Stevenson (1995) uvádí, že chuť soli a kyselin jako je citronová či octová, je sama o sobě pikantní. V případě soli bylo i prokázáno, že ve směsi s kapsaicinem zvyšuje vnímání intenzity pálivosti, což pravděpodobně souvisí právě s její pikantností. Dle studie Ahmed et al. (2002) má na intenzitu pálivé chuti vliv i tepelné ošetření, které u pyré připraveného ze zelených chilli papriček vedlo k poklesu pálivosti ve smyslu obsahu kapsaicinu i snížení hodnoty SHU (Scovilleovy jednotky pálivosti). Při našem testování nebyly mezi jednotlivými vzorky nalezeny statisticky významné rozdíly. Hodnocení ovšem mohlo být zkruseno poměrně velkým počtem hodnocených vzorků či pořadím jejich konzumace.

7 Závěr

V rámci diplomové práce byly provedeny mikrobiologické rozbory celkem 35 kusů chilli omáček dodaných firmou Palíto Family s.r.o. za účelem ověření spolehlivosti stávajících konzervačních postupů, které se dle výsledků zdají být v pořádku. Důležité je však zamezit kontaminaci produktu při jeho používání a po otevření zajistit skladování v chladu.

Dále bylo zkoumáno působení 26 různých variant ošetření na růst a přežívání *E. coli* v salse, u sedmi nejúčinnějších metod byl posouzen také jejich vliv na senzoryckou jakost omáčky. Nejvíce efektivní bylo tradičně používané tepelné ošetření, které zároveň nesnížilo ani celkovou přijatelnost omáčky. Syntetické konzervanty oproti tomu nebyly k deaktivaci patogenu v průběhu sledované doby dostatečně účinné ani při použití nejvyšší povolené koncentrace. Z testovaných přírodních konzervantů vedlo k nejrychlejšímu poklesu *E. coli* pod detekovatelnou úroveň použití chloridu sodného v koncentraci 100 g/l. Přijatelnost tohoto vzorku byla oproti kontrole nižší, ale rozdíl nebyl vyhodnocen jako významný. Účinnost okyselení se s klesajícím pH omáčky zvyšovala, přičemž k největší redukci patogenu vedlo okyselení pomocí kyseliny citronové na pH 3,2. Ošetření silicemi v nízkých koncentracích nemělo žádný nebo pouze malý účinek. Použití nejvyšší testované koncentrace (512 µl/l) bylo sice účinné, ale zároveň mělo negativní vliv na senzorycké vlastnosti produktu, který byl výrazný především u silice tymiánu.

Ke snížení mikrobiální kontaminace bez statisticky významného zhoršení senzoryckých parametrů omáčky vedlo z přírodních látek použití chloridu sodného (100 g/l), kyseliny citronové (pH 3,2 i 3,52) a silice voňatky (512 µl/l). S výjimkou vzorku s pH 3,52 bylo jejich přidávkem v průběhu sledování docíleno i zkrácení doby přežívání *E. coli*. Obě hypotézy tak byly částečně potvrzeny.

V předložené práci byl popsán vliv rozmanitých způsobů ošetření na mikrobiologickou a senzoryckou kvalitu zeleninových omáček samostatně. Budoucí studie by se tak mohly zaměřit například na testování silic v kombinaci s dalšími konzervačními činidly jako jsou organické kyseliny či chlorid sodný. Tyto látky jsou při výrobě zeleninových omáček běžně používány a dle některých výzkumů zároveň podporují antimikrobiální aktivitu silic. Kombinací by tak mohla být snížena koncentrace těchto činidel potřebná k dosažení požadovaných výsledků.

8 Literatura

2 Sisters' Salsa Company. 2017, March 24. How It's Made – 2 Sisters' Salsa. Available from https://www.youtube.com/watch?v=_Z89MAiZZK8 (accessed February 2020).

Ahmed J, Ramaswamy HS. 2007. Microwave Pasteurization and Sterilization of Foods. Pages 691–711 in Rahman MS, editor. *Handbook of Food Preservation*. 2nd ed. CRC Press, Taylor & Francis Group.

Ahmed J, Shivhare US, Debnath S. 2002. Colour degradation and rheology of green chilli puree during thermal processing. *International Journal of Food Science and Technology* **37**:57–63. Available from <https://doi.org/10.1046/j.1365-2621.2002.00532.x>.

Alam N. 2018. Effect of chemical preservatives on quality and storage condition of tomato puree. *Pure and Applied Biology* **7**:579–589. Available from <https://thepab.org/index.php/journal/article/view/476>.

Albarracín W, Sánchez IC, Grau R, Barat JM. 2011. Salt in food processing; usage and reduction: A review. *International Journal of Food Science and Technology* **46**:1329–1336. Available from <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.2010.02492.x>.

Alexandre EMC, Pinto CA, Moreira SA, Pintado M, Saraiva JA. 2019. Nonthermal food processing/preservation technologies. Pages 141–169 in Galanakis C, editor. *Saving Food*. Academic Press.

Allison AA, Chambers IVE, Gibson E, Aramouni FM. 1999. Sensory characteristics of heat-processed and fresh tomato salsa containing honey. *Journal of Food Science* **64**:560–564. Available from <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.1999.tb15085.x>.

Alshannaq A, Yu J-H. 2017. Occurrence, toxicity, and analysis of major mycotoxins in food. *International Journal of Environmental Research and Public Health* **14**:1–20. Available from <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5486318/>.

Altunakar B, Gurram SR, Barbosa-Cánovas GV. 2007. Applications of pulsed electric fields for food preservation. Pages 266–293 in Lelieveld HLM, Notermans S, Haan SWH, editors. *Food Preservation by Pulsed Electric Fields*. Woodhead Publishing.

Ansorena D, Astiasarán I. 2016. Fermented Foods: Composition and Health effects. Pages 649–655 in Caballero B, Finglas P, Toldra F, editors. *Encyclopedia of Food and Health*. Academic Press.

Ashurst PR. 2016. *Chemistry and technology of soft drinks and fruit juices*. 3rd ed. Wiley-Blackwell.

Azam-Ali S. 2008. Chutneys and sauces. Practical Action, United Kingdom. Available from <https://answers.practicalaction.org/our-resources/item/chutneys-and-sauces> (accessed November 2019).

- Bae YM, Lee SY. 2017. Effect of salt addition on acid resistance response of *Escherichia coli* O157:H7 against acetic acid. *Food Microbiology* **65**:74–82. Available from <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/28400023>.
- Bakkali F, Averbeck S, Averbeck D, Idaomar M. 2008. Biological effects of essential oils – A review. *Food and Chemical Toxicology* **46**:446–475. Available from <https://doi.org/10.1016/j.fct.2007.09.106>.
- Barba FJ, Ahrné L, Xanthakis E, Landerslev MG, Orlie V. 2018. Innovative technologies for food preservation. Pages 25–51 in Barba FJ, Sant’Ana AS, Orlie V, Koubaa M, editors. *Innovative technologies for food preservation: Inactivation of spoilage and pathogenic microorganisms*. Academic Press.
- Barba FJ, et al. 2015. Current applications and new opportunities for the use of pulsed electric fields in food science and industry. *Food Research International* **77**:773–798. Available from <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2015.09.015>.
- Barberis S, Quiroga HG, Barcia C, Talia JM, Debattista N. 2018. Natural Food Preservatives Against Microorganisms. Pages 621–658 in Grumezescu A, Holban AM, editors. *Food Safety and Preservation*. Academic Press.
- Barbosa-Cánovas GV, Altunakar B. 2006. Pulsed electric fields processing of foods: An overview. Pages 3–26 in Raso J, Heinz V, editors. *Pulsed Electric Fields Technology for the Food Industry: Food Engineering Series*. Springer, Boston.
- Barry-Ryan C, Bourke P. 2012. Essential oils for the treatment of fruit and vegetables. Pages 225–246 in Gómez-López VM, editor. *Decontamination of Fresh and Minimally Processed Produce*. Blackwell Publishing.
- Bemena LD, Mohamed LA, Fernandes AM, Lee BH. 2014. Applications of bacteriocins in food, livestock health and medicine. *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences* **3**:924–949. Available from <https://www.ijcmas.com/vol-3-12/Leo%20D.%20Bemena,%20et%20al.pdf>.
- Beristain-Bauza SC, Mani-López E, Palou E, López-Malo A. 2016. Antimicrobial activity and physical properties of protein films added with cell-free supernatant of *Lactobacillus rhamnosus*. *Food Control* **62**:44–51. Available from <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2015.10.007>.
- Berk Z. 2018. *Food Process Engineering and Technology*. 3rd ed. Academic Press.
- Bermúdez-Aguirre D, Welti-Chanes J. 2016. Chilled Foods: Effects on Shelf-life and Sensory Quality. Pages 14–18 in Caballero B, Finglas P, Toldra F, editors. *Encyclopedia of Food and Health*. Academic Press.
- Beuchat LR. 2009. Food safety issues and the microbiology of mayonnaise, salad dressings, acidic condiments, and mayonnaise-based salads. Pages 353–366 in Heredia N, Irene W, García S, editors. *Microbiologically Safe Foods*. Blackwell Publishing.

- Blekas GA. 2016. Food Additives: Classification, Uses and Regulation. Pages 731–736 in Caballero B, Finglas P, Toldra F, editors. Encyclopedia of Food and Health. Academic Press.
- Boskovic M, Zdravkovic N, Ivanovic J, Janjic J, Djordjevic J, Starcevic M, Baltic MZ. 2015. Antimicrobial Activity of Thyme (*Tymus vulgaris*) and Oregano (*Origanum vulgare*) Essential Oils against Some Food-borne Microorganisms. *Procedia Food Science* **5**:18–21. Available from <https://doi.org/10.1016/j.profoo.2015.09.005>.
- Brady M. 2002. Sodium – Survey of the usage and functionality of salt as an ingredient in UK manufactured food products. *British Food Journal* **104**:84–125. Available from <https://1url.cz/MzVm0>.
- Bray M. 2019. Fermented Vs. Unfermented Hot Sauce: PepperScale Showdown. Available from <https://www.pepperscale.com/fermented-vs-unfermented-hot-sauce/> (accessed February 2020).
- Brimelow CJB. 1995. Sauces, pickles and condiments. Pages 387–416 in Beckett ST, editor. *Physico-Chemical Aspects of Food Processing*. Springer US.
- Buchanan RL, Bagi LK. 1997. Effect of water activity and humectant identity on the growth kinetics of *Escherichia coli* O157:H7. *Food Microbiology* **14**:413–423. Available from <https://doi.org/10.1006/fmic.1997.0101>.
- Buchanan RL, Edelson SG. 1996. Culturing enterohemorrhagic *Escherichia coli* in the presence and absence of glucose as a simple means of evaluating the acid tolerance of stationary-phase cells. *Applied and Environmental Microbiology* **62**:4009–4013. Available from <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC168219/>.
- Burt S. 2004. Essential oils: Their antibacterial properties and potential applications in foods – A review. *International Journal of Food Microbiology* **94**:223–253. Available from <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2004.03.022>.
- Cagno RD, Coda R. 2014. Fermented Vegetable Products. Pages 875–883 in Batt CA, Tortorello M-L, editors. *Encyclopedia of Food Microbiology*. 2nd ed. Academic Press.
- Cagno RD, Filannino P, Gobbetti M. 2016. Fermented Foods: Fermented Vegetables and Other Products. Pages 668–674 in Caballero B, Finglas P, Toldra F, editors. *Encyclopedia of Food and Health*. Academic Press.
- Calo JR, Crandall PG, O’Bryan CA, Ricke SC. 2015. Essential oils as antimicrobials in food systems – A review. *Food Control* **54**:111–119. Available from <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2014.12.040>.
- Casey PG, Condon S. 2002. Sodium chloride decreases the bacteriocidal effect of acid pH on *Escherichia coli* O157:H45. *International Journal of Food Microbiology* **76**:199–206. Available from <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12051476>.
- Celina A, Rahmawati D, Permana T. 2019. Application of Lemongrass Essential Oil as a Natural Preservative Agent for Pineapple Juice. *Iconiet Proceeding* **2**:69–78. Available from <https://1url.cz/yzVV4>.

- Ceylan E, Fung DYC, Sabah JR. 2004. Antimicrobial Activity and Synergistic Effect of Cinnamon with Sodium Benzoate or Potassium Sorbate in Controlling *Escherichia coli* O157:H7 in Apple Juice. *Journal of Food Science* **69**:FMS102–FMS106. Available from <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.2004.tb06348.x>.
- Clavero MRS, Beuchat LR. 1996. Survival of *Escherichia coli* O157:H7 in broth and processed salami as influenced by pH, water activity, and temperature and suitability of media for its recovery. *Applied and Environmental Microbiology* **62**:2735–2740. Available from <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC168058/>.
- Cleveland J, Montville TJ, Nes IF, Chikindas ML. 2001. Bacteriocins: safe, natural antimicrobials for food preservation. *International Journal of Food Microbiology* **71**:1–20. Available from [https://doi.org/10.1016/S0168-1605\(01\)00560-8](https://doi.org/10.1016/S0168-1605(01)00560-8).
- Conner DE, Kotrola JS. 1995. Growth and survival of *Escherichia coli* O157: H7 under acidic condition. *Applied and Environmental Microbiology* **61**:382–385. Available from <https://aem.asm.org/content/aem/61/1/382.full.pdf>.
- Costa J, Rodríguez R, Garcia-Cela E, Medina A, Magan N, Lima N, Battilani P, Santos C. 2019. Overview of fungi and mycotoxin contamination in capsicum pepper and in its derivatives. *Toxins* **11**:1–16. Available from <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6356975/>.
- Červenka J, Samek M. 2003. Skladování a konzervace zemědělských produktů. 2nd ed. Credit, Praha.
- ČSN 56 9609. 2008. Pravidla správné hygienické a výrobní praxe – Mikrobiologická kritéria pro potraviny. Principy stanovení a aplikace. Český normalizační institut, Praha.
- Dattaa N, Deeth HC. 2018. Non-thermal Technologies: High Pressure Processing. Pages 1–8 in Smithers GW, editor. Reference Module in Food Science. Elsevier.
- Deak T. 2014. Thermal Treatment. Pages 423–442 in Motarjemi Y, Lelieveld H, editors. Food Safety Management: A Practical Guide for the Food Industry. Academic Press.
- Dobiáš J. 2009. Zpracování ovoce a zeleniny. Pages 123–150 in Kadlec P, Melzoch K, Voldřich M, editors. Co byste měli vědět o výrobě potravin? Key Publishing, Ostrava.
- Dobiáš J, Rajchl A. 2014. Čerstvé a zpracované ovoce a zelenina. Pages 194–210 in Dostálová J, Kadlec P, editors. Potravinářské zboží. Key Publishing, Ostrava.
- Eater. 2019, December 4. How the Tabasco Factory Makes 700,000 Bottles of Hot Sauce Per Day - Cult Following. Available from <https://www.youtube.com/watch?v=Xnaj9ULhwqU&t=63s> (accessed February 2020).
- EFSA. 2011. Scientific Opinion on the risks for animal and public health related to the presence of *Alternaria* toxins in feed and food. *EFSA Journal* **9**:1–97. Available from <https://doi.org/10.2903/j.efsa.2011.2407>.

EFSA. 2015. Scientific Opinion on the re-evaluation of sorbic acid (E 200), potassium sorbate (E 202) and calcium sorbate (E 203) as food additives. *EFSA Journal* **13**:1–91. Available from <https://doi.org/10.2903/j.efsa.2019.5625>.

EFSA. 2016. Scientific Opinion on the re-evaluation of benzoic acid (E 210), sodium benzoate (E 211), potassium benzoate (E 212) and calcium benzoate (E 213) as food additives. *EFSA Journal* **14**:1–110. Available from <https://efsa.onlinelibrary.wiley.com/doi/pdf/10.2903/j.efsa.2016.4433>.

EFSA. 2019. Opinion on the follow-up of the re-evaluation of sorbic acid (E200) and potassium sorbate (E202) as food additives. *EFSA Journal* **17**:1–21. Available from <https://efsa.onlinelibrary.wiley.com/doi/epdf/10.2903/j.efsa.2019.5625>.

Elez-Martínez P, Martín-Belloso OM, Rodrigo D, Sampedro F. 2007. Impact of pulsed electric fields on food enzymes and shelf-life. Pages 212–246 in Lelieveld HLM, Notermans S, Haan SWH, editors. *Food Preservation by Pulsed Electric Fields: From Research to Application*. Woodhead Publishing.

Elez-Martínez P, Sobrino-López Á, Soliva-Fortuny R, Martín-Belloso O. 2012. Pulsed Electric Field Processing of Fluid Foods. Pages 63–108 in Cullen PJ, Tiwari BK, Valdramidis VP, editors. *Novel Thermal And Non-Thermal Technologies For Fluid Foods*. Academic Press.

Emiroğlu ZK, Yemiş GP, Coşkun BK, Candoğan K. 2010. Antimicrobial activity of soy edible films incorporated with thyme and oregano essential oils on fresh ground beef patties. *Meat Science* **86**:283–288. Available from <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2010.04.016>.

Enache E, Chen Y, Elliott PH. 2009. Inactivation of *Escherichia coli* O157:H7 in single-strength lemon and lime juices. *Journal of Food Protection* **72**:235–240. Available from <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/19350967/>.

Eribo B, Ashenafi M. 2003. Behavior of *Escherichia coli* O157:H7 in tomato and processed tomato products. *Food Research International* **36**:823–830. Available from [https://doi.org/10.1016/S0963-9969\(03\)00077-2](https://doi.org/10.1016/S0963-9969(03)00077-2).

Erkmen O, Bozoglu TF. 2016. Spoilage of Miscellaneous Foods. Pages 385–400 in Erkmen O, Bozoglu TF, editors. *Food Microbiology: Principles into Practice*. Wiley-Blackwell.

Espina L, García-Gonzalo D, Pagán R. 2014. Impact of essential oils on the taste acceptance of tomato juice, vegetable soup, or poultry burgers. *Journal of Food Science* **79**:1575–1583. Available from <https://doi.org/10.1111/1750-3841.12529>.

Evropský parlament a Rada Evropské unie. 2008. Nařízení Evropského parlamentu a Rady (ES) č. 1333/2008 ze dne 16. prosince 2008 o potravinářských přídatných látkách. Pages 16–33 in *Úřední věstník Evropské unie*, 2008, L 354/16.

Evropská komise. 2018. Nařízení Komise (EU) 2018/98 ze dne 22. ledna 2018, kterým se mění přílohy II a III nařízení Evropského parlamentu a Rady (ES) č. 1333/2008 a příloha nařízení Komise (EU) č. 231/2012, pokud jde o sorban vápenatý (E 203). Pages 14–28 in *Úřední věstník Evropské unie*, 2018, L17/14.

- Faleiro ML. 2011. The mode of antibacterial action of essential oils. Pages 1143–1156 in Méndez-Vilas A, editor. *Science against Microbial Pathogens: Communicating Current Research and Technological Advances*. Formatex Research Center.
- Fatima D, Mebrouk K, Miloud H. 2015. Biopreservation of tomato paste and sauce with *Leuconostoc* spp. metabolites. *African Journal of Food Science* **9**:359–366. Available from <https://doi.org/10.5897/AJFS2015.1302>.
- Fellows PJ. 2017. *Food Processing Technology*. 4th ed. Woodhead Publishing.
- Figueroa-Lopez KJ, Vicente AA, Reis MAM, Torres-Giner S, Lagaron JM. 2019. Antimicrobial and antioxidant performance of various essential oils and natural extracts and their incorporation into biowaste derived poly(3-hydroxybutyrate-co-3-hydroxyvalerate) layers made from electrospun ultrathin fibers. *Nanomaterials* **9**:1–22. Available from <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30678126/>.
- Franco W, Hsu W, Simonne AH. 2010. Survival of *Salmonella* and *Staphylococcus aureus* in Mexican Red Salsa in a Food Service Setting. *Journal of Food Protection* **73**:1116–1120. Available from <https://doi.org/10.4315/0362-028X-73.6.1116>.
- Franco W, Simonne AH. 2009. Mexican food safety trends: examining the CDC data in the United States from 1990 to 2006. *Food Protection Trends* **29**:204–210. Available from <https://www.cabdirect.org/cabdirect/abstract/20093130302>.
- Friedman M, Henika PR, Levin CE, Mandrell RE. 2004. Antibacterial activities of plant essential oils and their components against *Escherichia coli* O157:H7 and *Salmonella enterica* in apple juice. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **52**:6042–6048. Available from <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/15366861/>.
- Friedman M, Zhu L, Feinstein Y, Ravishankar S. 2009. Carvacrol facilitates heat-induced inactivation of *Escherichia coli* O157:H7 and inhibits formation of heterocyclic amines in grilled ground beef patties. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **57**:1848–1853. Available from <https://doi.org/10.1021/jf8022657>.
- Galicia-Cabrera RM. 2007. Tomato Processing. Pages 1091–1108 in Hui YH, editor. *Handbook of Food Products Manufacturing*. Wiley-Blackwell, Hoboken.
- García D, Gómez N, Mañas P, Condón S, Raso J, Pagán R. 2005. Occurrence of sublethal injury after pulsed electric fields depending on the microorganism, the treatment medium pH and the intensity of the treatment investigated. *Journal of Applied Microbiology* **99**:94–104. Available from <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15960669>.
- García-Casal MN, Peña-Rosas JP, Gómez-Malavé H. 2016. Sauces, spices, and condiments: definitions, potential benefits, consumption patterns, and global markets. *Annals of the New York Academy of Sciences* **1379**:3–16. Available from <https://doi.org/10.1111/nyas.13045>.
- Gálvez A, Maqueda M, Martínez-Bueno M, Valdivia E. 1989. Bactericidal and bacteriolytic action of peptide antibiotic AS-48 against gram-positive and gram-negative bacteria and other organisms. *Research in Microbiology* **140**:57–68. Available from [https://doi.org/10.1016/0923-2508\(89\)90060-0](https://doi.org/10.1016/0923-2508(89)90060-0).

Gemina. n.d. Hot / cold break treatment units. Available from https://www.gemina.es/files/catalogue/pdf/19_Hot_Break_ING.pdf (accessed February 2020).

Gherbawy YA, Shebany YA, Hussein MA, Maghraby TA. 2015. Molecular detection of mycobiota and aflatoxin contamination of chili. *Archives of Biological Sciences* **67**:223–234. Available from <http://www.doiserbia.nb.rs/img/doi/0354-4664/2015/0354-46641400028G.pdf>.

Gibson M, Newsham P. 2018. Common Food pH Values. Pages 479–481 in Gibson M, Newsham P, editors. *Food Science and the Culinary Arts*. Academic Press.

Glass KA, Loeffelholz JM, Ford JP, Doyle MP. 1992. Fate of *Escherichia coli* O157:H7 as affected by pH or sodium chloride and in fermented, dry sausage. *Applied and Environmental Microbiology* **58**:2513–2516. Available from <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/1514799/>.

Görner F, Valík L. 2004. *Aplikovaná mikrobiológia potravín*. Malé Centrum, Bratislava.

Govaris A, Botsoglou E, Sergelidis D, Chatzopoulou PS. 2011. Antibacterial activity of oregano and thyme essential oils against *Listeria monocytogenes* and *Escherichia coli* O157:H7 in feta cheese packaged under modified atmosphere. *LWT – Food Science and Technology* **44**:1240–1244. Available from <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2010.09.022>.

Grande MJ, Abriouel H, López RL, Valdivia E, Ben Omar N, Martínez-Cañamero M, Gálvez A. 2007a. Efficacy of enterocin AS-48 against bacilli in ready-to-eat vegetable soups and purees. *Journal of Food Protection* **70**:2339–2345. Available from <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17969616>.

Grande MJ, López RL, Abriouel H, Valdivia E, Ben Omar N, Maqueda M, Martínez-Cañamero M, Gálvez A. 2007b. Treatment of vegetable sauces with enterocin AS-48 alone or in combination with phenolic compounds to inhibit proliferation of *Staphylococcus aureus*. *Journal of Food Protection* **70**:405–411. Available from <https://doi.org/10.4315/0362-028X-70.2.405>.

Grande Burgos MJ, Abriouel H, Lucas R, Gálvez A. 2012. Increasing the microbial inactivation of *Staphylococcus aureus* in sauces by a combination of enterocin AS-48 and 2-nitropropanol, and mild heat treatments. *Food Control* **25**:740–744. Available from <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2011.12.018>.

Grassi MA, Nucera D, Lomonaco S, Civera T. 2013. Growth potential of *Listeria monocytogenes* in fresh sauces for pasta. *Food Control* **30**:288–291. Available from <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2012.07.016>.

Gratia A. 1925. Sur un remarquable exemple d'antagonisme entre deux souches de coillbacille. *Comptes Rendus Des Séances et Mémoires de La Société de Biologie* **93**:1040–1041.

Gupta A, Sharma N, Gautam N. 2015. Preservative potential of purified bacteriocin produced from *Brevibacillus borstelensis* AG1 isolated from marcha – a traditional wine starter culture cake in tomato paste. *Journal of Microbiology, Biotechnology and Food Sciences* **4**:448–451. Available from <https://1url.cz/wzJtx>.

Gurtler JB, Mai TL. 2014. Traditional Preservatives – Organic Acids. Pages 119–130 in Batt CA, Tortorello M-L, editors. Encyclopedia of Food Microbiology. 2nd ed. Academic Press.

Hammer KA, Carson CF, Riley TV. 1999. Antimicrobial activity of essential oils and other plant extracts. *Journal of Applied Microbiology* **86**:985–990. Available from <https://www.hindawi.com/journals/ecam/2016/3012462/>.

Hashmi MS, Alam S, Riaz A, Shah AS. 2007. Studies on microbial and sensory quality of mango pulp storage with chemical preservatives. *Pakistan Journal of Nutrition* **6**:85–88. Available from <http://docsdrive.com/pdfs/ansinet/pjn/2007/85-88.pdf>.

Hathcox AK, Beuchat LR, Doyle MP. 1995. Death of enterohemorrhagic *Escherichia coli* O157: H7 in real mayonnaise and reduced-calorie mayonnaise dressing as influenced by initial population and storage temperature. *Applied and Environmental Microbiology* **61**:4172–4177. Available from <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/8534084/>.

Hebbar HU, Rastogi NK. 2012. Microwave Heating of Fluid Foods. Pages 369–409 in Cullen PJ, Tiwari BK, Valdramidis VP, editors. Novel Thermal And Non-Thermal Technologies For Fluid Foods. Academic Press.

Henney JE, Taylor CL, Boon CS. 2010. Strategies to Reduce Sodium Intake in the United States. National Academies Press, Washington, DC.

Hoppu U, Hopia A, Pohjanheimo T, Rotola-Pukkila M, Mäkinen S, Pihlanto A, Sandell M. 2017. Effect of Salt Reduction on Consumer Acceptance and Sensory Quality of Food. *Foods* **6**:1–12. Available from <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5742771/>.

Hsu HY, Huang L, Wu JSB. 2014. Thermal inactivation of *Escherichia coli* O157:H7 in strawberry puree and its effect on anthocyanins and color. *Journal of Food Science* **79**:M74–M80. Available from <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24611165/>.

Hussain A, Hussain A, Jomezai N, Nadeem A. 2016. Stability studies of sensory attributes of apricot pulp stored with chemical preservatives. *International Journal of Biosciences (IJB)* **9**:12–21. Available from <https://1url.cz/jzVVZ>.

Hutkins RW. 2018. Microbiology and Technology of Fermented Foods. 2nd ed. Wiley-Blackwell.

Hutton T. 2002. Sodium Technological functions of salt in the manufacturing of food and drink products. *British Food Journal* **104**:126–152. Available from <https://doi.org/10.1108/00070700210423635>.

Hwang C-A, Huang L. 2014. Chilled storage of foods. Pages 427–431 in Batt CA, Tortorello M-L, editors. Encyclopedia of Food Microbiology. 2nd ed. Academic Press.

Hyldgaard M, Mygind T, Meyer RL. 2012. Essential oils in food preservation: mode of action, synergies, and interactions with food matrix components. *Frontiers in Microbiology* **3**:1–24. Available from <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3265747/>.

- Chandrasekaran S, Ramanathan S, Basak T. 2013. Microwave food processing – A review. *Food Research International* **52**:243–261. Available from <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2013.02.033>.
- Chapman B, Jensen N, Ross T, Cole M. 2006. Salt, alone or in combination with sucrose, can improve the survival of *Escherichia coli* O157 (SERL 2) in model acidic sauces. *Applied and Environmental Microbiology* **72**:5165–5172. Available from <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC1538705/>.
- Cho TJ, Kim NH, Kim SA, Song JH, Rhee MS. 2016. Survival of foodborne pathogens (*Escherichia coli* O157:H7, *Salmonella Typhimurium*, *Staphylococcus aureus*, *Listeria monocytogenes*, and *Vibrio parahaemolyticus*) in raw ready-to-eat crab marinated in soy sauce. *International Journal of Food Microbiology* **238**:50–55. Available from <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27591386/>.
- Icier F. 2011. Ohmic Heating of Fluid Foods. Pages 305–367 in Cullen PJ, Tiwari BK, Valdramidis VP, editors. *Novel Thermal and Non-Thermal Technologies for Fluid Foods*. Academic Press.
- IFT. 2001. Effect of preservation technologies and microbiological inactivation in foods. Pages 42–45 in IFT, editor. *Evaluation and definition of potentially hazardous foods, comprehensive reviews in food science and food safety*. IFT, Chicago.
- Ingr I. 2007. *Základy konzervace potravin*. 3rd ed. Mendelova zemědělská a lesnická univerzita, Brno.
- Iqbal SZ, Asi RM, Mehmood Z, Mumtaz A, Malik N. 2017. Survey of aflatoxins and ochratoxin A in retail market chilies and chili sauce samples. *Food Control* **81**:218–223. Available from <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2017.06.012>.
- Jaeger H, et al. 2016. Opinion on the use of ohmic heating for the treatment of foods. *Trends in Food Science & Technology* **55**:84–97. Available from <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2016.07.007>.
- James SJ, James C. 2014. Chilling and Freezing. Pages 481–510 in Motarjemi Y, Lelieveld H, editors. *Food Safety Management: A Practical Guide for the Food Industry*. Academic Press.
- Jídlo s.r.o. 2015, October 6. Kečup. Available from <https://www.televizeseznam.cz/video/jidlo-s-r-o/kecup-236227> (accessed February 2020).
- Jordan KN, Davies KW. 2001. Sodium chloride enhances recovery and growth of acid-stressed *E. coli* O157:H7. *Letters in Applied Microbiology* **32**:312–315. Available from <https://doi.org/10.1046/j.1472-765X.2001.00911.x>.
- Kalantary F, Barzegar M, Esfahani ZH. 2014. Control of *Aspergillus flavus* Growth in Tomato Paste by *Cinnamomum zeylanicum* and *Origanum vulgare* L. Essential Oils. *Journal of Food and Pharmaceutical Sciences* **2**:57–62. Available from <https://jurnal.ugm.ac.id/jfps/article/view/4865>.

- Karatzas AK, Bennik MH, Smid EJ, Kets EP. 2000. Combined action of S-carvone and mild heat treatment on *Listeria monocytogenes* Scott A. *Journal of Applied Microbiology* **89**:296–301. Available from <https://doi.org/10.1046/j.1365-2672.2000.01110.x>.
- Kendall ME, Mody RK, Mahon BE, Doyle MP, Herman KM, Tauxe RV. 2013. Emergence of Salsa and Guacamole as Frequent Vehicles of Foodborne Disease Outbreaks. *Foodborne Pathogens and Disease* **10**:316–322. Available from <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23461608>.
- Kim D-H, Chon J-W, Kim H, Hwang D-G, Seo K-H. 2014. Quantitative validation of two novel selective media for the enumeration of *Bacillus cereus* in naturally contaminated fermented sauce samples. *Journal of Food Safety* **34**:340–344. Available from <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1111/jfs.12133>.
- Kim SA, Rhee M-S. 2016. Highly enhanced bactericidal effects of medium chain fatty acids (caprylic, capric, and lauric acid) combined with edible plant essential oils (carvacrol, eugenol, β -resorcylic acid, trans-cinnamaldehyde, thymol, and vanillin) against *Escherichia coli* O157:H7. *Food Control* **60**:447–454. Available from <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2015.08.022>.
- Kim S-S, Kang D-H. 2017a. Combination treatment of ohmic heating with various essential oil components for inactivation of food-borne pathogens in buffered peptone water and salsa. *Food Control* **80**:29–36. Available from <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2017.04.001>.
- Kim S-S, Kang D-H. 2017b. Synergistic effect of carvacrol and ohmic heating for inactivation of *E. coli* O157:H7, *S. Typhimurium*, *L. monocytogenes*, and MS-2 bacteriophage in salsa. *Food Control* **73**:300–305. Available from <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2016.08.022>.
- Kim W-J, Park S-H, Kang D-H. 2018. Inactivation of foodborne pathogens influenced by dielectric properties, relevant to sugar contents, in chili sauce by 915 MHz microwaves. *LWT – Food Science and Technology* **96**:111–118. Available from <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2018.04.089>.
- Kirkland C, Black E, Forghani F, Pomraning A, Sadowsky MJ, Diez-Gonzalez F. 2019. Room Temperature Growth of *Salmonella enterica* Serovar Saintpaul in Fresh Mexican Salsa. *Journal of Food Protection* **82**:102–108. Available from <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/30702939>.
- Knirsch MC, Santos CA, Vicente AAMOS, Penna TCV. 2010. Ohmic heating – a review. *Trends in Food Science & Technology* **21**:436–441. Available from <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2010.06.003>.
- Komise Evropských společenství. 2005. Nařízení Komise (ES) č. 2073 ze dne 15. listopadu 2005 o mikrobiologických kritériích pro potraviny. Pages 1–26 in Úřední věstník Evropské unie, 2005, L 338/1.
- Koza V, Voldřich M. 2003. Blanšírování. Pages 211–214 in Kadlec P, editor. *Procesy potravinářských a biochemických výrob*. Vysoká škola chemicko-technologická v Praze, Praha.

- Koza V, Voldřich M, Štětina J. 2003. Pasterace a tepelná sterilace. Pages 214–225 in Kadlec P, editor. *Procesy potravinářských a biochemických výrob.* Vysoká škola chemicko-technologická v Praze, Praha.
- Kumar M, Jain AK, Ghosh M, Ganguli A. 2012. Potential application of an anti-aeromonas bacteriocin of *Lactococcus lactis* ssp. *lactis* in the preservation of vegetable salad. *Journal of Food Safety* **32**:369–378. Available from <https://doi.org/10.1111/j.1745-4565.2012.00389.x>.
- Kwon DY, Nyakudya E, Jeong YS. 2014. Fermentation: Food Products. Pages 113–123 in Van Alfen NK, editor. *Encyclopedia of Agriculture and Food Systems*. 2nd ed. Academic Press.
- Kyzlink V. 1988. Teoretické základy konzervace potravin. SNTL – Nakladatelství technické literatury, Praha.
- Lambert RJW, Skandamis PN, Coote PJ, Nychas GJE. 2001. A study of the minimum inhibitory concentration and mode of action of oregano essential oil, thymol and carvacrol. *Journal of Applied Microbiology* **91**:453–462. Available from <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11556910>.
- Lee SY, Kang DH. 2016. Survival mechanism of *Escherichia coli* O157:H7 against combined treatment with acetic acid and sodium chloride. *Food Microbiology* **55**:95–104. Available from <https://doi.org/10.1016/j.fm.2015.10.021>.
- Lee SY, Rhee MS, Dougherty RH, Kang DH. 2010. Antagonistic effect of acetic acid and salt for inactivating *Escherichia coli* O157:H7 in cucumber puree. *Journal of Applied Microbiology* **108**:1361–1368. Available from <https://doi.org/10.1111/j.1365-2672.2009.04543.x>.
- Lee SY, Sagong HG, Ryu S, Kang DH. 2012. Effect of continuous ohmic heating to inactivate *Escherichia coli* O157:H7, *Salmonella typhimurium* and *Listeria monocytogenes* in orange juice and tomato juice. *Journal of Applied Microbiology* **112**:723–731. Available from <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22292508>.
- Leite CJB, Sousa JPD, Medeiros JADC, Conceição MLD, Falcaõ-Silva VDS, Souza ELD. 2016. Inactivation of *Escherichia coli*, *Listeria monocytogenes*, and *Salmonella enteritidis* by *Cymbopogon citratus* D.C. Stapf. Essential Oil in pineapple juice. *Journal of Food Protection* **79**:213–219. Available from <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26818981/>.
- Li Wan Po JM, Piyasena P, McKellar RC, Bartlett FM, Mittal GS, Lu X. 2002. Influence of Simulated Apple Cider Composition on the Heat Resistance of *Escherichia coli* O157:H7. *LWT – Food Science and Technology* **35**:295–304. Available from <https://doi.org/10.1006/fstl.2001.0860>.
- Lima M. 2007. Food Preservation Aspects of Ohmic Heating. Pages 741–750 in Rahman MS, editor. *Handbook of Food Preservation*. 2nd ed. CRC Press, Taylor & Francis Group.
- Lobo A, Zúñiga C, Worobo RW, Padilla-Zakour OI, Usuga J. 2019. Fate of spoilage and pathogenic microorganisms in acidified cold-filled hot pepper sauces. *Journal of Food Protection* **82**:1736–1743. Available from <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/31536417>.

- Lopes RP, Mota MJ, Delgadillo I, Saraiva JA. 2016. Pasteurization: Effect on Sensory Quality and Nutrient Composition. Pages 246–263 in Caballero B, Finglas P, Toldra F, editors. *Encyclopedia of Food and Health*. Academic Press.
- Lucas R, Grande MJ, Abriouel H, Maqueda M, Ben Omar N, Valdivia E, Martínez-Cañamero M, Gálvez A. 2006. Application of the broad-spectrum bacteriocin enterocin AS-48 to inhibit *Bacillus coagulans* in canned fruit and vegetable foods. *Food and Chemical Toxicology* **44**:1774–1781. Available from <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16831501>.
- Lücke FK. 2003. The control of pH. Pages 109–125 in Zeuthen P, Bøgh-Sørensen L, editors. *Food Preservation Techniques*. Woodhead Publishing.
- Lund BM, Baird-Parker TC, Gould GW. 2000. *The Microbiological Safety and Quality of Food*. Aspen Publishers, Inc., Gaithersburg.
- Ma LI, Zhang G, Gerner-Smidt P, Tauxe RV, Doyle MP. 2010. Survival and Growth of *Salmonella* in Salsa and Related Ingredients. *Journal of Food Protection* **73**:434–444. Available from <https://doi.org/10.4315/0362-028X-73.3.434>.
- Mahmood A, Tuan Zainazor TC, Anuar NR. 2019. Effect of garlic (*Allium sativum L.*) on the physicochemical, microbiological and sensory properties of chili sauce. *Food Research* **3**:416–421. Available from <https://1url.cz/Ez17B>.
- Maloney N, Harrison M. 2015. Advanced Heating Technologies for Food Processing. Pages 203–256 in Leadley CE, editor. *Innovation and Future Trends in Food Manufacturing and Supply Chain Technologies*. Woodhead Publishing.
- Man CMD. 2007. Technological functions of salt in food products. Pages 157–173 in Kilcast D, Angus F, editors. *Reducing Salt in Foods: Practical Strategies*. Woodhead Publishing.
- Mani-López E, Palou E, López-Malo A. 2016. Preservatives: Classifications and Analysis. Pages 497–504 in Caballero B, Finglas P, Toldra F, editors. *Encyclopedia of Food and Health*. Academic Press.
- Mani-López E, Palou E, López-Malo A. 2017. Biopreservatives as Agents to Prevent Food Spoilage. Pages 235–270 in Grumezescu A, Holban AM, editors. *Microbial Contamination and Food Degradation*. Academic Press.
- Maqueda M, Gálvez A, Bueno MM, Sanchez-Barrena MJ, González C, Albert A, Rico M, Valdivia E. 2004. Peptide AS-48: Prototype of a New Class of Cyclic Bacteriocins. *Current Protein & Peptide Science* **5**:399–416. Available from <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15544535>.
- Mariutti LRB, Soares LMV. 2009. Survey of aflatoxins in tomato products. *Ciência e Tecnologia de Alimentos* **29**:431–434. Available from <https://doi.org/10.1590/S0101-20612009000200031>.
- Marszałek K, Szczepańska J, Woźniak Ł, Skapska S, Barba FJ, Brnčić M, Brnčić SR. 2018. The Preservation of Fruit and Vegetable Products Under High Pressure Processing. Pages 1–12 in Smithers GW, editor. *Reference Module in Food Science*. Elsevier.

Martín-Belloso O, Bendicho S, Elez-Martínez P, Barbosa-Cánovas GV. 2005. 'Does high intensity pulsed electric fields induce changes in enzymatic activity, protein conformation, and vitamin and flavor stability?' Pages 87–104 in Barbosa-Cánovas GV, Tapia MS, Cano P, Martín-Belloso O, Martínez A, editors. Novel Food Processing Technologies. CRC Press, Taylor & Francis Group.

Mashad HM, Zhao L, Zhang R, Pan Z. 2019. Tomato. Pages 107–131 in Pan Z, Zhang R, Zicari S, editors. Integrated Processing Technologies for Food and Agricultural By-Products. Academic Press.

Masuda S, Hara-Kudo Y, Kumagai S. 1998. Reduction of *Escherichia coli* O157:H7 populations in soy sauce, a fermented seasoning. *Journal of Food Protection* **61**:657–661. Available from <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/9709244/>.

McKellar RC, Lu X, Delaquis PJ. 2002. A probability model describing the interface between survival and death of *Escherichia coli* O157:H7 in a mayonnaise model system. *Food Microbiology* **19**:235–247. Available from <https://doi.org/10.1006/fmic.2001.0449>.

Medina E, Castro A, Romero C, Ramírez EM, Brenes M. 2016. Safety of Fermented Fruits and Vegetables. Pages 355–367 in Prakash V, Martín-Belloso O, Keener L, Astley S, Braun S, McMahon H, Lelieveld H, editors. Regulating Safety of Traditional and Ethnic Foods. Academic Press.

Ministerstvo zdravotnictví. 2004. Vyhláška č. 132 ze dne 12. března 2004 o mikrobiologických požadavcích na potraviny, způsobu jejich kontroly a hodnocení. Pages 1738–1751 in Sbíрка zákonů České republiky, 2004, částka 42. Česká republika.

Ministerstvo zdravotnictví. 2006. Vyhláška č. 467 ze dne 20. září 2006, kterou se zrušuje vyhláška č. 132/2004 Sb. o mikrobiologických požadavcích na potraviny, způsobu jejich kontroly a hodnocení. Page 6396 in Sbíрка zákonů České republiky, 2006, částka 153. Česká republika.

Mizzi L, Maniscalco D, Gaspari S, Chatzitzika C, Gatt R, Valdramidis VP. [published online ahead of print, 2020 May 1]. Assessing the individual microbial inhibitory capacity of different sugars against pathogens commonly found in food systems. *Letters in Applied Microbiology*. Available from <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32357252/>.

Mohamed M, Eissa A. 2012. Pulsed Electric Fields for Food Processing Technology. Pages 275–306 in Eissa AA, editor. Structure and Function of Food Engineering. InTechOpen.

Motamedzadegan A, Tabarestani HS. 2018. Tomato production, processing, and nutrition. Pages 839–861 in Siddiq M, Uebersax MA, editors. Handbook of Vegetables and Vegetable Processing. 2nd ed. Wiley-Blackwell.

Mullan WMA. 2009. Predicting the safety of products preserved using acetic acid. Available from <https://www.dairyscience.info/calculators-models/177-cimscee-model.html> (accessed September 2019).

- Murakami EG, Jackson L, Madsen K, Schickedanz B. 2006. Factors affecting the ultraviolet inactivation of *Escherichia coli* K12 in apple juice and a model system. *Journal of Food Process Engineering* **29**:53–71. Available from <https://doi.org/10.1111/j.1745-4530.2006.00049.x>.
- Musyoka JN, Abong GO, Mbogo DM, Fuchs R, Low J, Heck S, Muzhingi T. 2018. Effects of Acidification and Preservatives on Microbial Growth during Storage of Orange Fleshed Sweet Potato Puree. *International Journal of Food Science* **2018**:1–11. Available from <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/29977906>.
- Noser J, Schneider P, Rother M, Schmutz H. 2011. Determination of six *Alternaria* toxins with UPLC-MS/MS and their occurrence in tomatoes and tomato products from the Swiss market. *Mycotoxin Research* **27**:265–271. Available from <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23605928>.
- Ogbadu LJ. 2014. Permitted Preservatives – Benzoic Acid. Pages 76–81 in Batt CA, Tortorello M-L, editors. *Encyclopedia of Food Microbiology*. 2nd ed. Academic Press.
- Omidbeygi M, Barzegar M, Hamidi Z, Naghdibadi H. 2007. Antifungal activity of thyme, summer savory and clove essential oils against *Aspergillus flavus* in liquid medium and tomato paste. *Food Control* **18**:1518–1523. Available from <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2006.12.003>.
- Onwnka UN, Akobundu ENT, Iwe MO. 2008. Kinetics of inactivation of *Listeria monocytogenes*, *Clostridium perfringens*, *Escherichia coli* and *Salmonella spp.* in ohmic heated tomato juices. *Journal of Pure and Applied Microbiology* **2**:29–38. Available from <https://1url.cz/YzVml>.
- Osaili TM. 2012. Developments in the thermal processing of food. Pages 211–230 in Bhat R, Alias AK, Paliyath G, editors. *Progress in Food Preservation*. Wiley-Blackwell, West Sussex.
- Osaili TM, Al-Nabulsi AA, Jaradat Z, Shaker RR, Alomari DZ, Al-Dabbas MM, Alaboudi AR, Al-Natour MQ, Holley RA. 2015. Survival and growth of *Salmonella Typhimurium*, *Escherichia coli* O157:H7 and *Staphylococcus aureus* in eggplant dip during storage. *International Journal of Food Microbiology* **198**:37–42. Available from <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25590259/>.
- Ozkoc SO, Sahin S, Sumnu G. 2014. Recent Developments in Microwave Heating. Pages 361–383 in Sun D, editor. *Emerging Technologies for Food Processing*. 2nd ed. Academic Press.
- Pandurangi S, Balasubramaniam VM, Tao Y, Sun D. 2014. High-Pressure Processing of Salads and Ready Meals. Pages 25–34 in Sun D, editor. *Emerging Technologies for Food Processing*. 2nd ed. Academic Press.
- Park IK, Ha JW, Kang DH. 2017. Investigation of optimum ohmic heating conditions for inactivation of *Escherichia coli* O157:H7, *Salmonella enterica* serovar Typhimurium, and *Listeria monocytogenes* in apple juice. *BMC Microbiology* **17**:1–8. Available from <https://bmcmicrobiol.biomedcentral.com/articles/10.1186/s12866-017-1029-z>.

Patterson M. 2014. High-Pressure Treatment of Foods. Pages 206–212 in Batt CA, Tortorello M-L, editors. Encyclopedia of Food Microbiology. 2nd ed. Academic Press.

Patterson MF, Knoerzer K. 2016. High Pressure Processing. Pages 1–8 in Smithers GW, editor. Reference Module in Food Science. Elsevier.

Perre E, Deschuyffeleer N, Jacxsens L, Vekeman F, Hauwaert W, Asam S, Rychlik M, Devlieghere F, Meulenaer B. 2014. Screening of moulds and mycotoxins in tomatoes, bell peppers, onions, soft red fruits and derived tomato products. Food Control **37**:165–170. Available from <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2013.09.034>.

Perricone M, Arace E, Corbo MR, Sinigaglia M, Bevilacqua A. 2015. Bioactivity of essential oils: a review on their interaction with food components. Frontiers in Microbiology **6**:1–7. Available from <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4321600/>.

Piper JD, Piper PW. 2017. Benzoate and Sorbate Salts: A Systematic Review of the Potential Hazards of These Invaluable Preservatives and the Expanding Spectrum of Clinical Uses for Sodium Benzoate. Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety **16**:868–880. Available from <https://doi.org/10.1111/1541-4337.12284>.

Pose G, Patriarca A, Kyanko V, Pardo A, Pinto VF. 2010. Water activity and temperature effects on mycotoxin production by *Alternaria alternata* on a synthetic tomato medium. International Journal of Food Microbiology **142**:348–353. Available from <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20688408>.

Prakash B, Kedia A, Mishra PK, Dubey NK. 2015. Plant essential oils as food preservatives to control moulds, mycotoxin contamination and oxidative deterioration of agri-food commodities – Potentials and challenges. Food Control **47**:381–391. Available from <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2014.07.023>.

Prescott J, Stevenson RJ. 1995. Pungency in food perception and preference. Food Reviews International **11**:665–698. Available from <https://www.tandfonline.com/doi/abs/10.1080/87559129509541064>.

Purroy F. 2014. Hiperbaric: High Pressure Processing. Available from http://www.mobstech.com/Dokumenty/Hiperbaric HPP Seafood_June 2014.pdf (accessed October 2019).

Rahman MS. 2007. pH in Food Preservation. Pages 287–298 in Rahman MS, editor. Handbook of Food Preservation. 2nd ed. CRC Press, Taylor & Francis Group.

Rai VR, Bai JA. 2017. Food Safety and Protection. CRC Press, Taylor & Francis Group.

Ramaswamy HS, Marcotte M, Sastry S, Abdelrahim K. 2016. Ohmic Heating in Food Processing. CRC Press, Taylor & Francis Group.

Rastogi NK, Raghavarao KSMS, Balasubramaniam VM, Niranjan K, Knorr D. 2007. Opportunities and challenges in high pressure processing of foods. Critical Review in Food Science and Nutrition **47**:69–112. Available from <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17364696>.

- Rattanachaikunsopon P, Phumkhachorn P. 2010. Lactic acid bacteria: their antimicrobial compounds and their uses in food production. *Annals of Biological Research* **1**:218–228. Available from <https://www.scholarsresearchlibrary.com/articles/lactic-acid-bacteria-their-antimicrobial-compounds-and-their-uses-in-food-production.pdf>.
- Ravishankar S, Zhang H, Kempkes ML. 2008. Pulsed Electric Fields. *Food Science and Technology International* **14**:429–432. Available from <https://doi.org/10.1177/1082013208100535>.
- Ray B. 2004. *Fundamental Food Microbiology*. 3rd ed. CRC Press, Taylor & Francis Group.
- Raybaudi-Massilia RM, Mosqueda-Melgar J, Martín-Belloso O. 2006. Antimicrobial activity of essential oils on *Salmonella enteritidis*, *Escherichia coli*, and *Listeria innocua* in fruit juices. *Journal of Food Protection* **69**:1579–1586. Available from <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/16865889/>.
- Red Gold Tomatoes. 2015, February 6. How It's Made – Red Gold Salsa. Available from https://www.youtube.com/watch?v=QIMV_POyqXE (accessed February 2020).
- Regier M. 2017. Microwave Heating. Pages 1–7 in Smithers GW, editor. *Reference Module in Food Science*. Elsevier.
- Ruhlman KT, Jin ZT, Zhang QH, Chism GW, Harper WJ. 2001. Reformulation of cheese sauce and salsa to be processed using pulsed electric fields. Pages 213–233 in Barbosa-Cánovas GV, Zhang QH, editors. *Pulsed Electric Fields in Food Processing*. CRC Press, Taylor & Francis Group.
- Sagong HG, Park SH, Choi YJ, Ryu S, Kang DH. 2011. Inactivation of *Escherichia coli* O157:H7, *Salmonella typhimurium* and *Listeria monocytogenes* in orange and tomato juices using ohmic heating. *Journal of Food Protection* **74**:899–904. Available from <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21669065>.
- Salvi D, Gosavi NS, Karwe MV. 2016. High Pressure Cold Pasteurization. Pages 1–6 in Smithers GW, editor. *Reference Module in Food Science*. Elsevier.
- Sandulachi E. 2012. Water activity concept and its role in food preservation. Available from <https://1url.cz/zzJJY> (accessed September 2019).
- Sauer A, Moraru CI. 2009. Inactivation of *Escherichia coli* ATCC 25922 and *Escherichia coli* O157:H7 in Apple Juice and Apple Cider, Using Pulsed Light Treatment. *Journal of Food Protection* **72**:937–944. Available from <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/19517718/>.
- Sánchez-Hidalgo M, Montalbán-López M, Cebrián R, Valdivia E, Martínez-Bueno M, Maqueda M. 2011. AS-48 bacteriocin: close to perfection. *Cellular and Molecular Life Sciences* **68**:2845–2857. Available from <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21590312>.
- Scollard J, Francis GA, O'Beirne D. 2013. Some conventional and latent anti-listerial effects of essential oils, herbs, carrot and cabbage in fresh-cut vegetable systems. *Postharvest Biology and Technology* **77**:87–93 Available from <https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2012.11.011>.

- Secrest R. n.d. How salsa is made. Available from <http://www.madehow.com/Volume-1/Salsa.html> (accessed February 2020).
- Schmitt ML. 2003. Antimicrobial effects of a model salsa and its components on three pathogenic bacteria [MSc. Thesis]. Washington State University, Pullman.
- Silva CCG, Silva SPM, Ribeiro SC. 2018. Application of bacteriocins and protective cultures in dairy food preservation. *Frontiers in Microbiology* **9**:1–15. Available from <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5900009/>.
- Singh S, Shalini R. 2016. Effect of hurdle technology in food preservation: a review. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition* **56**:641–649. Available from <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25222150>.
- Skandamis PN, Nychas GJE. 2000. Development and evaluation of a model predicting the survival of *Escherichia coli* O157:H7 NCTC 12900 in homemade eggplant salad at various temperatures, pHs, and oregano essential oil concentrations. *Applied and Environmental Microbiology* **66**:1646–1653. Available from <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC92036/>.
- Smith D, Stratton JE. 2006. Understanding GMPs for Sauces and Dressings. University of Nebraska-Lincoln. Available from https://foodsafety.wisc.edu/assets/pdf_Files/GMP_sauces_NebEntre.pdf (accessed November 2019).
- Somolinos M, García D, Mañas P, Condón S, Pagán R. 2008. Effects of environmental factors and cell physiological state on pulsed electric fields resistance and repair capacity of various strains of *Escherichia coli*. *International Journal of Food Microbiology* **124**:260–267. Available from <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18455818>.
- Speranza B, Corbo MR. 2010. Essential oils for preserving perishable foods: Possibilities and limitations. Pages 35–57 in Bevilacqua A, Corbo MR, Sinigaglia M, editors. *Application of alternative food preservation technologies to enhance food safety and stability*. Bentham Science Publishers.
- Sperber WH. 2009. Microbiological Spoilage of Acidified Specialty Products. Pages 285–299 in Sperber WH, Doyle MP, editors. *Compendium of the Microbiological Spoilage of Foods and Beverages*. Springer, New York.
- Splittstoesser DF, McLellan MR, Churey JJ. 1996. Heat Resistance of *Escherichia coli* O157:H7 in Apple Juice. *Journal of Food Protection* **59**:226–229. Available from <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/10463437/>.
- Stahl V, Ndoye FT, El Jabri M, Le Page JF, Hezard B, Lintz A, Greenaerd AH, Alvarez G, Thuault D. 2015. Safety and quality assessment of ready-to-eat pork products in the cold chain. *Journal of Food Engineering* **148**:43–52. Available from <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2014.09.040>.

- Stancari RCA, Fiamengui de Pauli L, Nascentes GAN, Anversa L. 2018. Comparison of mould filament counting techniques for industrialized tomato sauces. *Brazilian Journal of Food Technology* (e2017234) DOI: 10.1590/1981-6723.23417.
- Suda S, Cotter PD, Hill C, Ross RP. 2012. Lactacin 3147-biosynthesis, molecular analysis, immunity, bioengineering and applications. *Current Protein & Peptide Science* **13**:193–204. Available from <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21827422>.
- Sumonsiri N, Barringer SA. 2014. Fruits and Vegetables – Processing Technologies and Applications. Pages 363–381 in Clark S, Jung S, Lamsal B, editors. *Food Processing: Principles and Applications*. 2nd ed. Wiley-Blackwell.
- Sung H-J, Kang D-H. 2014. Effect of a 915 MHz microwave system on inactivation of *Escherichia coli* O157:H7, *Salmonella Typhimurium*, and *Listeria monocytogenes* in salsa. *LWT – Food Science and Technology* **59**:754–759. Available from <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2014.05.058>.
- TABASCO® Brand. n.d. TABASCO® Brand original red sauce. Available from <https://www.tabasco.com/hot-sauces/original-red-sauce/> (accessed February 2020).
- Tahiri I, Makhlof J, Paquin P, Fliss I. 2006. Inactivation of food spoilage bacteria and *Escherichia coli* O157:H7 in phosphate buffer and orange juice using dynamic high pressure. *Food Research International* **39**:98–105. Available from <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2005.06.005>.
- Tapia MS, Alzamora SM, Chirife J. 2007. Effects of Water Activity (a_w) on Microbial Stability: As a Hurdle in Food Preservation. Pages 239–271 in Barbosa-Cánovas GV, Fontana AJ, Schmidt SJ, Labuza TP, editors. *Water Activity in Foods: Fundamentals and Applications*. Wiley-Blackwell.
- Tavman S, Otles S, Glaue S, Gogus N. 2019. Food preservation technologies. Pages 117–140 in Galanakis C, editor. *Saving Food*. Academic Press.
- Theron MM, Lues JFR. 2011. *Organic acids and food preservation*. CRC Press, Taylor & Francis Group.
- Thomas LV, Delves-Broughton J. 2014. Permitted Preservatives – Sorbic Acid. Pages 102–107 in Batt CA, Tortorello M-L, editors. *Encyclopedia of Food Microbiology*. 2nd ed. Academic Press.
- Toepfl S, Heinz V, Knorr D. 2007. History of pulsed electric field treatment. Pages 9–39 in Lelieveld HLM, Notermans S, Haan SWH, editors. *Food Preservation by Pulsed Electric Fields: From Research to Application*. Woodhead Publishing.
- Toepfl S, Siemer C, Saldaña-Navarro G, Heinz V. 2014. Overview of pulsed electric field processing for food. Pages 69–97 in Sun D, editor. *Emerging Technologies for Food Processing*. 2nd ed. Academic Press.
- Tucker G. 2016. Pasteurization: Principles and Applications. Pages 264–269 in Caballero B, Finglas P, Toldra F, editors. *Encyclopedia of Food and Health*. Academic Press.

- Tuynenburg Muys G. 1971. Microbial safety in emulsions. *Process Biochemistry* **6**:25–28.
- Uyttendaele M, Neyts K, Vanderswalmen H, Notebaert E, Debevere J. 2004. Control of aeromonas on minimally processed vegetables by decontamination with lactic acid, chlorinated water, or thyme essential oil solution. *International Journal of Food Microbiology* **90**:263–271. Available from <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/14751681/>.
- Vadivambal R, Jayas DS. 2010. Non-uniform Temperature Distribution During Microwave Heating of Food Materials – A Review. *Food Bioprocess Technology* **3**:161–171. Available from <https://link.springer.com/article/10.1007/s11947-008-0136-0>.
- Vega-Mercado H, Gongora-Nieto MM, Barbosa-Cánovas GV, Swanson BG. 2007. Pulsed electric fields in food preservation. Pages 783–813 in Rahman MS, editor. *Handbook of Food Preservation*. 2nd ed. CRC Press, Taylor & Francis Group.
- Vercammen A, Vanoirbeek KGA, Lemmens L, Lurquin I, Hendrickx MEG, Michiels CW. 2012. High pressure pasteurization of apple pieces in syrup: Microbiological shelf-life and quality evolution during refrigerated storage. *Innovative Food Science and Emerging Technologies* **16**:259–266. Available from <https://doi.org/10.1016/j.ifset.2012.06.009>.
- Verma AK, Banerjee R, Dwivedi HP, Juneja VK. 2014. Bacteriocins: Potential in Food Preservation. Pages 180–186 in Batt CA, Tortorello M-L, editors. *Encyclopedia of Food Microbiology*. 2nd ed. Academic Press.
- Vlková E, Rada V, Killer J. 2009. *Potravinářská mikrobiologie*. Česká zemědělská univerzita, Praha.
- Walker SJ, Betts G. 2008. Chilled foods microbiology. Pages 445–476 in Brown M, editor. *Chilled Foods: A Comprehensive Guide*. 3rd ed. Woodhead Publishing.
- Watts EG, Janes ME, Prinyawiwatkul W, Shen Y, Xu Z, Johnson D. 2018. Microbiological changes and their impact on quality characteristics of red hot chilli pepper mash during natural fermentation. *International Journal of Food Science and Technology* **53**:1816–1823. Available from <https://doi.org/10.1111/ijfs.13792>.
- Weidenbörner M. 2018. *Mycotoxins in Plants and Plant Products: Cocoa, Coffee, Fruits and Fruit Products, Medicinal Plants, Nuts, Spices, Wine*. Springer International Publishing, Bonn.
- WHO. 2018. Mycotoxins. Available from <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/mycotoxins> (accessed February 2020).
- Yang S-C, Lin C-H, Sung TC, Fang J-Y. 2014. Antibacterial activities of bacteriocins: Application in foods and pharmaceuticals. *Frontiers in Microbiology* **5**:1–10. Available from <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4033612/>.
- Yokoigawa K, Takikawa A, Kawai H. 1999. Difference between *Escherichia coli* O157:H7 and non-pathogenic *E. coli*: Survival and growth in seasonings. *Journal of Bioscience and Bioengineering* **88**:574–576. Available from [https://doi.org/10.1016/S1389-1723\(00\)87679-3](https://doi.org/10.1016/S1389-1723(00)87679-3).

- Zaini NAM, Harith HH, Olusesan AT, Zulkifli AH, Bakar FA, Osman A, Hamid AA, Saari N. 2010. Level of Chemical and Microbiological Contaminations in Chili Bo (Paste). *Journal of Food Protection* **73**:541–546. Available from <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20202342>.
- Zamindar N, Haraji S, Doudi M. 2015. Antifungal effect of cinnamon essential oil on *Byssochlamys fulva* in liquid medium and tomato sauce. *Journal of Food Measurement and Characterization* **9**:586–591. Available from <https://link.springer.com/article/10.1007/s11694-015-9267-y>.
- Zamindar N, Sadrarhami M, Doudi M. 2016. Antifungal activity of coriander (*Coriandrum sativum* L.) essential oil in tomato sauce. *Journal of Food Measurement and Characterization* **10**:589–594. Available from <https://link.springer.com/article/10.1007/s11694-016-9341-0>.
- Zhao T, Doyle MP, Besser RE. 1993. Fate of enterohemorrhagic *Escherichia coli* O157:H7 in apple cider with and without preservatives. *Applied and Environmental Microbiology* **59**:2526–2530. Available from <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/8368839/>.
- Zhou L, Tey CY, Bingol G, Bi J. 2016. Effect of microwave treatment on enzyme inactivation and quality change of defatted avocado puree during storage. *Innovative Food Science and Emerging Technologies* **32**:61–67. Available from <https://doi.org/10.1016/j.ifset.2016.08.002>.

9 Samostatné přílohy

Příloha 1: Formulář pro sensorické hodnocení salsy

HODNOCENÍ SALSY

Jméno a příjmení:..... Datum:.....

Zdravotní stav:.....

Před hodnocením prosím vyjádřete na grafické stupnici svůj vztah k pikantním potravinám s obsahem chilli papriček:

mám rád/a

nemám rád/a

Úkol: Ochutnejte předložené vzorky salsy a soustřeďte se na hodnocení níže uvedených deskriptorů. K hodnocení použijte grafické stupnice.

Vzorek č.:

PŘÍJEMNOST VŮNĚ:

odporná

velmi příjemná

PŘÍJEMNOST CHUTI:

odporná

velmi příjemná

INTENZITA PÁLIVÉ
CHUTI:

neznatelná

velmi silná

CELKOVÉ HODNOCENÍ
VZORKU:

zcela nepřijatelný

vynikající

Vzorek č.:

PŘÍJEMNOST VŮNĚ:

odporná

velmi příjemná

PŘÍJEMNOST CHUTI:

odporná

velmi příjemná

INTENZITA PÁLIVÉ
CHUTI:

neznatelná

velmi silná

CELKOVÉ HODNOCENÍ
VZORKU:

zcela nepřijatelný

vynikající

POŘADOVÁ ZKOUŠKA

Úkol: Předloženou sadu vzorků seřadte podle vzrůstající celkové příjemnosti/přijatelnosti a kódy vzorků запиšte do tabulky v pořadí od nejméně přijatelného po nejvíce přijatelný vzorek.

Pořadí	Kód vzorku
1 – nejméně přijatelný	
2	
3	
4	
5	
6	
7	
8 – nejvíce přijatelný	