

Mendelova univerzita v Brně
Agronomická fakulta
Ústav agrochemie, půdoznalství, mikrobiologie a výživy rostlin



Mikroflóra vybraných druhů koření
Bakalářská práce

Vedoucí práce:
Ing. Libor Kalhotka, Ph.D.

Vypracovala:
Marcela Procházková

Brno 2016

ZADÁNÍ BAKALÁŘSKÉ PRÁCE

ČESTNÉ PROHLÁŠENÍ

Prohlašuji, že jsem práci „Mikroflóra vybraných druhů koření“ vypracovala samostatně a veškeré použité prameny a informace uvádím v seznamu použité literatury. Souhlasím, aby moje práce byla zveřejněna v souladu s § 47b zákona č. 111/1998 Sb., o vysokých školách ve znění pozdějších předpisů a v souladu s platnou *Směrnici o zveřejňování vysokoškolských závěrečných prací*.

Jsem si vědoma, že se na moji práci vztahuje zákon č. 121/2000 Sb., autorský zákon, a že Mendelova univerzita v Brně má právo na uzavření licenční smlouvy a užití této práce jako školního díla podle § 60 odst. 1 autorského zákona.

Dále se zavazuji, že před sepsáním licenční smlouvy o využití díla jinou osobou (subjektem) si vyžádám písemné stanovisko univerzity, že předmětná licenční smlouva není v rozporu s oprávněnými zájmy univerzity, a zavazuji se uhradit případný příspěvek na úhradu nákladů spojených se vznikem díla, a to až do jejich skutečné výše.

V Brně dne:.....

podpis

PODĚKOVÁNÍ

Tímto prostřednictvím bych chtěla poděkovat vedoucímu bakalářské práce Ing. Liboru Kalhotkovi, Ph.D. a slečně Ing. Evě Burdové za poskytnuté rady při psaní práce a také za věnovaný čas během stanovování mikroorganismů ve vybraných vzorcích. Dále bych také chtěla poděkovat své rodině a přátelům za trpělivost a podporu během psaní bakalářské práce a samozřejmě během celého studia.

ABSTRAKT

Bakalářská práce pojednává o mikroflóře koření. Definuje co je to koření, jeho skupiny, obsahové látky a také se více věnuje konkrétním vybraným druhům koření, v tomto případě černému pepři a provensálskému koření. Dále popisuje mikroorganismy, které se mohou v koření vyskytovat. Věnuje se převážně bakteriím. V neposlední řadě je zde také uvedeno experimentální stanovení mikroorganismů ve vybraných druzích koření a srovnání jednotlivých vzorků koření.

Klíčová slova: mikroorganismy, bakterie, pepř, provensálské koření

ABSTRACT

This bachelor's thesis discusses the microflora of spices. It describes what the term 'spices' means, defines different types of spices and contained substances. The paper examines several types of spices in more detail, especially black pepper and herbes de Provence. Furthermore, it describes microorganisms occurring in spices and puts more emphasis on bacteria. Last but not least, the thesis includes an experimental determination of certain microorganisms in selected spices and a comparison of different samples of spices.

Keywords: microorganisms, bacteria, pepper, herbes de Provence

Obsah

1	Úvod	7
2	Cíl práce	8
3	Literární přehled	9
3.1	Definice koření	9
3.2	Rozdělení koření	10
3.3	Obsahové látky	11
3.3.1	Primární metabolity	11
3.3.2	Sekundární metabolity	12
3.4	Pepř černý	14
3.4.1	Druhy pepře	15
3.5	Provensálské koření	15
3.6	Koření a mikroorganismy	18
3.6.1	Bakterie	19
3.6.2	Plísňe	35
3.7	Boj proti mikroorganismům	38
3.7.1	Termosterilace	39
3.7.2	Sterilace ionizujícím zářením	39
3.7.3	Chemosterilace	39
4	Materiál a metodika	41
4.1	Použitý materiál	41
4.2	Použitá živná média	41
4.3	Postup při vaření živných půd	42
4.4	Zpracování vzorků	42
4.5	Stanovení mikroorganismů	43
4.6	Vyjádření výsledků	43
5	Výsledky a diskuze	44
6	Závěr	49
7	Seznam použité literatury	50
8	Seznam tabulek	53

1 Úvod

Koření je v dnešní době velmi používanou surovinou a většina pokrmů by bez něj neměla svoji typickou chuť. Koření provází lidský život od pradávna, kdy se používalo nejprve jako platidlo, bylo cennější než zlato a o cesty, kterými se koření dováželo, se svedla nejedna bitva. Žádná potravina neovlivnila běh dějin tak, jako koření a žádným jiným přísadám nebylo přisuzováno tolik léčivých sil. Koření fascinuje člověka od dávných věků, dokonce mu byla přisuzována čarodějná moc.

Kolébka koření leží pravděpodobně v Indii. Už asi před 5 000 lety existovala bohatě rozvětvená obchodní síť rozprostírající se z Číny přes Indii, Persii, Mezopotámii až do Egypta, kde koření sloužilo nejen jako poživatina, ale především jako zdravotní prevence. V antickém Říme bylo léčení bylinkami velmi rozšířené a z velké části převzaté od Řeků. K vaření používali například hořčici, kmín, česnek, koriandr, majoránku, tymián a mnoho dalších. Začátky používání pepře sahají přibližně do doby narození Krista. Pepř nebyl jen kořením pro nejbohatší obyvatele, ale stala se z něj i samotná měna. Do Evropy bylo koření po staletí dováženo karavanami z Číny napříč Asií.

Invaze objevitelů zapříčinily v obchodě s kořením značné změny. Evropané se seznámili s novými druhy koření a nové objevy přinesly evropským národům prestiž a moc.

Smutnou kapitolou v dějinách koření jsou boje a války o kolonie a jejich koření, nerostné bohatství a využívání lidí jako levných pracovních sil. Teprve po druhé světové válce definitivně skončila koloniální vláda, a tím i doba monopolů koření.

I přesto, že je koření většinou používáno v malých množstvích, může se stát významným nositelem kontaminující mikroflóry. Do potravin a pokrmů se tak jeho prostřednictvím mohou dostávat nejen mikroorganismy kazící potraviny, ale mnohdy i mikroorganismy patogenní. Proto je důležité věnovat této problematice určitou pozornost. Mikrobiální jakost koření lze ovlivnit především během jeho získávání, zpracování a následného uchovávání.

2 Cíl práce

Cílem této bakalářské práce je vypracovat literární rešerši na téma Mikroflóra vybraných druhů koření, charakterizovat mikroflóru provázející koření, popsat způsoby boje proti nežádoucím mikroorganismům a experimentálně stanovit vybrané skupiny mikroorganismů na zvoleném koření.

3 Literární přehled

3.1 Definice koření

Vyhláška č. 331/1997 Sb., ve znění aktuálních předpisů definuje koření jako části rostlin, jako jsou kořeny, oddenky, kůra, listy, nať, květy, plody, semena nebo jejich části, v nezbytné míře technologicky zpracované a používané k ovlivňování chutě a vůně potravin. U mletých koření se připouští přídavek protispěkových látek nejvýše do jednoho procenta hmotnosti.

Směsí koření se podle vyhlášky č. 331/1997 Sb., ve znění aktuálních předpisů rozumí směs jednotlivých koření, bez použití přídavných látek. U mletých a drcených směsí koření se připouští přídavek protispěkových látek nejvýše do jednoho procenta hmotnosti.

Kořenícím přípravkem rozumí vyhláška č. 331/1997 Sb., směs jednotlivých koření, přídatných látek, zeleniny, soli nebo hub, případně dalších složek.

I když koření nemá prakticky žádnou výživovou hodnotu, používá se k přípravě pokrmů i nápojů, kterým dodává pikantní chuť a zajímavou vůni (Valíček, 2005). Koření bývá obvykle používáno v malých množstvích (Křikava, 1993). Podporuje trávení a někdy má i konzervační účinky, neboť brzdí rozklad potravin. Nevyužívá se však jen v kuchyni, ale i prakticky ve všech odvětvích potravinářského průmyslu, zejména při úpravě a konzervaci masa a uzenin, v cukrářství, při konzervování zeleniny a ovoce i v likérnictví. Nezastupitelný význam má také ve farmaceutickém průmyslu, v parfumerii a kosmetice (Valíček, 2005).

Aromatické látky jsou v koření vázány v buňkách, a proto se většina těchto látek uvolňuje až při mletí, kdy se buňky naruší. Čím jemněji je koření namleto, tím víc účinných látek se uvolňuje. Současně se však při mletí dostává ke koření vzduch a také působením vyšší teploty v mlýnech dochází k částečným ztrátám aromat (Arpai a kol, 1977).

Za kořeninové rostliny se obvykle považují ty, které se vyznačují osobitou vůní nebo chutí, a jejich části (listy, nať, květy, plody apod.) se používají čerstvé nebo častěji suché, eventuálně po další úpravě (mletí), k ochucování a aromatické úpravě pokrmů. Obvykle se používají v malých množstvích (Křikava, 1993).

Vyhláška č. 331/1997 Sb., ve znění aktuálních předpisů udává přípustné záporné hmotnostní nebo objemové odchylky od spotřebitelských balení koření (viz tabulka č. 1.).

Tabulka č. 1 - Přípustné záporné hmotnostní nebo objemové odchylky od spotřebitelského balení (Vyhláška č. 331/1997 Sb.)

Hmotnost v g nebo objem v ml	Hmotnostní nebo objemové odchylky v %
Do 10	8
Nad 10 do 50	5
Nad 50 do 200	4
Nad 200 do 1 000	2
Nad 1 000	1

3.2 Rozdělení koření

Pro rozdělení koření se používá široká škála hledisek, podle kterých je koření rozděleno do různých skupin. Vyhláška č. 331/1997 Sb., v znění aktuálních předpisů, člení koření na skupiny a podskupiny (viz tabulka č. 2). Valíček (2005) uvádí, že se používá tzv. organografická metoda, čili rozdělení podle použitých částí rostlin. Podle této metody je koření členěno do pěti základních skupin, a to na podzemní části rostlin (oddenky, kořeny, hlízy a cibule), kůru kmenů, nať a listy, poupata a části květů a poslední skupinu představující plody a semena.

Tabulka č. 2 - Členění koření na skupiny a podskupiny (Vyhláška č. 331/1997 Sb.)

druh	skupina	podskupina
koření	Koření	
	Směsi koření	
	Kořenící přípravek	Sypký Pasta Tekutý (extrakt)

Neugebauerová (2016) uvádí, že se kořeninové rostliny dělí podle používání jednotlivých částí na tři skupiny. První skupinou jsou plody (např. *Vanilla planifolia*, *Carum carvi*, *Feniculum vulgare*), druhou skupinu tvoří listy (např. *Levisticum officinale*, *Thymus vulgaris*, *Majorana hortensis*) a třetí skupinu představují květy a poupata (např. *Syzygium aromaticum*, *Cinnamomum zeylaicum*).

3.3 Obsahové látky

Koření má značné množství rozmanitých obsahových látek (Lánská, 1999). Nositel Nobelovy ceny, Albrecht Kossel, rozdělil obsahové látky v rostlinách na primární a sekundární metabolity. Primární metabolity jsou přítomné ve všech rostlinách a jsou podmínkou zachování jejich života. Jedná se především o cukry, které jsou podmínkou všech dalších látek včetně tuků a bílkovin. Sekundární metabolity se naopak nenacházejí u všech rostlin, což zvýrazňuje jejich rozdílnost. Navíc vznikají v různých částech rostlin, ať jde již o podzemní, či nadzemní orgány. Jejich množství i kvalita kolísají, nejen v závislosti na druhu a odrůdě, ale také na podmínkách prostředí, v němž rostlina roste, sklízí se a uchovává (Valíček, 2005).

3.3.1 Primární metabolity

Do skupiny primárních metabolitů patří vysokomolekulární látky nezbytné pro život rostlin jako například sacharidy, mastné kyseliny, aminokyseliny, bílkoviny a enzymy (Valíček, 2005).

Sacharidy vznikají z anorganických látek pomocí procesu fotosyntézy. Tvoří velmi různorodou skupinu, díky svému chemickému složení a fyzikálním vlastnostem. Sacharidy dělíme na monosacharidy, neboli jednoduché cukry, disacharidy a polysacharidy. Mají důležitou roli v zásobování organismu energií (Valíček, 2005).

Bílkoviny jsou makromolekulární látky složené z řetězců aminokyselin. Tuky, jiným názvem lipidy, jsou produktem druhotné látkové výměny. Skládají se ze dvou složek, z glycerolu a vyšších mastných kyselin (Valíček, 2005). Rostlinné tuky jsou látky ve vodě nerozpustné, ale rozpustné v organických rozpouštědlech, na vzduchu nestálé (Kříkava, 1993).

Enzymy jsou specifické látky podílející se na stavbě těla a zprostředkovávající různé procesy látkové výměny. Tvoří je bílkoviny a koenzymy. Bez jejich účasti by v organismu nevznikaly životně důležité reakce (Valíček, 2005). Ovlivňují

vyváženost životních procesů, stimulují účinnost vitamínů a metabolismu organismu. Vyššími teplotami (varem) se ničí (Lánská, 1999).

Organické kyseliny se vyskytují převážně v plodech a semenech ovoce (Valíček, 2005). Dávají koření často nakyslou chuť (Lánská, 1999). Mezi významné organické kyseliny patří kyselina šťavelová, citronová, jantarová, jablečná a vinná. Tyto kyseliny mají v trávicím traktu dekontaminační a regulační účinky (Valíček, 2005).

Jako další patří k primárním metabolitům i vláknina. Jedná se o soubor vedlejších vysokomolekulárních neboli balastních látek, které se vyskytují především ve stěnách pletiv. Nejčastěji ji tvoří polysacharidy a lignin. Odolávají hydrolytickému účinku trávicích šťáv. U vyšších rostlin zpravidla plní funkci stavebního materiálu, případně zásobních látek (Valíček, 2005).

3.3.2 Sekundární metabolity

Jedná se o látky nízkomolekulárního charakteru, které vznikají druhotně. Tyto látky pochází z původních metabolitů, ale nejsou pro život rostlin nutné. Množství a kvalita je ovlivněna nejen genetickým základem rostlin, ale i podmínkami prostředí. Jsou to sloučeniny, které ovlivňují chuť, vůni a barvu koření. Do této skupiny metabolitů patří silice, alkaloidy, glykosidy, barviva, hořčiny a další (Valíček, 2005).

Alkaloidy vznikají v rostlinném metabolismu z aminokyselin. Ve své molekule mají vázaný dusík (Valíček, 2005) a jsou to látky spíše zásadité povahy. V čisté formě jsou většinou krystalické, někdy tekuté (Křikava, 1993). Alkaloidy se rozpouštějí v organických rozpouštědlech, kdežto jejich soli jsou rozpustné ve vodě. Tyto látky působí na centrální nervovou soustavu, mají pro bolest zmírňující nebo naopak dráždivý účinek (Valíček, 2005). Ve vyšších dávkách jsou toxické (Křikava, 1993).

Glykosidy jsou látky složené ze sacharidů (Valíček, 2005), esterických derivátů cukrů (Křikava, 1993) a necukerné složky, tzv. aglykonu. Podporují vstřebávání potravin, regulují srdeční činnost a zklidňují dýchání. Pomocí enzymů se rozkládají na cukr a organické sloučeniny, které podporují chuť. Glykosidy mohou mít i hořkou chuť a často bývají i jedovaté (Valíček, 2005). V současné době se dělí do celé řady skupin (Křikava, 1993), mezi něž patří i kumariny. Působí jako sedativa, rozšiřují cévy, zvyšují citlivost na světlo (Lánská, 1999).

Hořké látky, hořčiny, patří převážně do skupiny glykosidů (Valíček, 2005). Jedná se o různorodou skupinu látek majících nahořklou chuť (Lánská, 1999).

Podporují tvorbu slin, žaludečních šťáv a peristaltiku střev. Zlepšují i chuť k jídlu a vstřebávání bílkovin (Valíček, 2005).

Další skupinu sekundárních metabolitů tvoří saponiny (Valíček, 2005). Někdy představují funkční složku glykosidů, a proto jsou k nim zařazovány. Jedná se o látky bezdusíkatého charakteru, které spolu s měkkou vodou vytvářejí pěnu (Křikava, 1993). Saponiny chrání před choroboplodnými mikroorganismy a dezinfikují močové cesty a zažívací trakt (Lánská, 1999). Některé působí proti křehkosti cév, mají močopudné a protizánětlivé účinky, jiné zase zlepšují vykašlávání, rozpouštějí hleny apod. Ve vodě jsou saponiny rozpustné, silně v ní pění, ale nevstřebávají se sliznicí střev ani žaludku. V organismu se vstřebávají tzv. toxosaponiny, které jsou především krevními jedy (Valíček, 2005).

Flavonoidy mohou být různě zbarvené – žluté, oranžové, fialové (Lánská, 1999). Jedná se o skupinu látek špatně rozpustných ve vodě. Mezi jejich účinky patří působení proti lomivosti kapilár, hypertenzi, ateroskleróze (Valíček, 2005) a zvyšování odolnosti krevních vlásečnic. Některé jsou i močopudné (Lánská, 1999). Fytoncidy představují látky, které i v nepatrném množství ničí některé choroboplodné zárodky, ať už se jedná o bakterie, viry, plísňe či střevní parazity (Valíček, 2005).

Vonné a těkavé bezdusíkaté látky různého typu, silice, byly dříve nazývány také jako éterické oleje. Jejich hlavními složkami jsou terpeny a fenylypropany (Valíček, 2005). V čisté formě jsou tekuté, těkavé a na vzduchu nestálé. Silice se rozpouští v organických rozpouštědlech a s vodou vytvářejí emulze. Jsou nositeli řady funkčních vlastností (Křikava, 1993). Dodávají charakteristickou chuť a vůni, ovlivňují trávení a dýchání. Často mají také baktericidní a močopudný účinek (Valíček, 2005). Silice působí hlavně na kvasinky (Hrubý, 1984). Silice se vytváří v protoplazmě buněk, hromadí se ve zvláštních buňkách, kanálcích nebo chlupcích - tzv. siličné nádržky (Valíček, 2005). Jejich obsah se v rostlině mění během vývinu, ale kolísá i během dne (Lánská, 1999).

Jako další patří mezi sekundární metabolity třísloviny. Jedná se o bezdusíkaté látky fenolické povahy, uložené v buněčné šťávě nebo vakuolách. Mají svíravou chuť, působí proti průjmům, krvácení, nadměrnému pocení (Valíček, 2005) a chrání sliznici zažívacího traktu (Lánská, 1999). Vykazují i antibakteriální a antivirový účinek. Patří sem například i tzv. polyfenoly, látky příbuzné přírodním barvivům flavonoidům.

Vykazují antioxidační a antimutagenní účinky (Valíček, 2005). Jsou vhodné k zlepšení trávení do těžších a tučných pokrmů (Lánská, 1999).

3.4 Pepř černý

Pepřovník černý (*Piper nigrum*) patří do rodu pepřovník (*Piper*) a do čeledi pepřovníkovité (*Piperaceae*) (Valíček, 2005). Využity jsou z této rostliny plody, ty mohou být nakládány, sušené nebo mleté. Používaným synonymem pro pepř je „černé koření“ (Iburg, 2004). Kolébkou pepřovníku černého bylo Malabarské pobřeží a východní Indie (Valíček, 2005). Dnes patří k nejvýznamnějším zemím pěstujícím pepř Indie, Indonésie, Malajsie, Brazílie (Iburg, 2004) a Madagaskar (Valíček, 2005).

Pod názvem pepř bychom si měli představit bobule pocházející ze stálezelené popínavé rostliny. Ve volné přírodě může tato rostlina dosahovat délky až 9 metrů. Kvůli snadnější sklizni však bývá zkracována asi na 5 metrů (Iburg, 2004). Stonek pepřovníku bývá dřevnatý, v horní části pak uzlovitý a ohebný se vzdušnými adventními kořeny. Listy jsou řapíkaté s vejčitou čepelí. Vrchol listu je zaostřený s výraznou žilnatinou. Klasovitá květenství se nachází v úžlabí listů. Obsahuje jak oboupohlavné, tak i jednopohlavné květy. Květenství obsahuje 50 – 100 drobných květů, jejichž barva bývá žlutá nebo krémová. Plodem pepřovníku je bobule s průměrem okolo 4 – 5 mm s tenkým dužnatým oplodím. Počet bobulí v klase se pohybuje mezi 20 – 30 (Valíček, 2005). Podle stupně zralosti mohou mít bobule zelenou nebo červenou barvu. Sklizeň se provádí v různém stupni zralosti, v závislosti na výsledném produktu. Od počátku plné zralosti, které pepř dosáhne asi po osmi letech, plodí přibližně 20 let (Iburg, 2004).

Z obsahových látek pepře jsou významné zejména ostře chutnající pryskyřice, tvořící asi 0,3 – 2,1 %, a silice, které jsou zastoupeny převážně phellandrenem, citralenem, pinenem a limonenem. Dále pepř obsahuje alkaloid piperin v množství 4,6 – 9,7 %, tuky v množství 6 – 12 % a jiné látky (Valíček, 2005).

Mezi účinky pepře patří podpůrné působení na látkovou výměnu a trávení, podporuje chuť k jídlu, působí proti nadýmání (Iburg, 2004). Používá se při bolestech v dutině břišní, průjmech, zvracení a zánětu dutin (Valíček, 2005). Piperin, alkaloid obsažený v pepři, je využíván do žaludečního tonika a žaludečních léků (Iburg, 2004).

3.4.1 Druhy pepře

Zelený pepř se získává sklizením nezralých zrn pepřovníků, které se po sklizni nakládají do solného nebo octového láku. Místo nakládání do láků je možné používat variantu sušení při nízkých teplotách. Zelený pepř je charakteristický svou aromaticností a měkkostí (Iburg, 2004).

Abychom získaly pepř černý, sklízíme bobule opět před dozráním. Černý pepř má rozdílné posklizňové zpracování – suší se na slunci, díky kterému ztvrdne a zčerná. Tento druh pepře je ostrý a pálivý (Iburg, 2004). Smyslové požadavky na pepř černý podle vyhlášky č. 331/1997 Sb., v znění aktuálních předpisů jsou uvedeny v tabulce č. 3.

Tabulka č. 3 – Smyslové požadavky na jakost (Vyhláška č. 331/1997 Sb.)

Název koření	Část rostliny	Vzhled	Barva	Vůně	Chuť
Pepř černý celý	Sušené nezralé plody	Sušení tvrdé bobule, neloupané, svráštělé bez stopek	Hnědočerná až šedočerná až černá	Kořená	Palčivě ostrá

Třetí druh pepře je pepř bílý. Tento druh pepře se sklízí v plné zralosti, kdy je barva bobulí červená. Po provedení sklizně se pepř máčí vodou a pak se mechanicky odstraní slupka. Následuje sušení semen na slunci. Tímto sušením získají semena typickou žlutobílou barvu. Bílý pepř je oproti ostatním druhům jemnější a lahodnější (Iburg, 2004).

3.5 Provensálské koření

Provensálské koření obsahuje rozmarýn, tymián, saturejku, bazalku a estragon. U jiných výrobců obsahuje dále šalvěj, oregano, majoránku a bobkový list.

Rozmarýna lékařská (*Rosmarinus officinalis*), neboli rozmarýn, patří do čeledi hluchavkovitých (*Lamiaceae*). Využití nachází listy, a to jak sušené, tak i čerstvé. Rozmarýna je stálezelený polokeř, který nesnáší mráz. Může dorůst do výšky až 1,5 metru, zpravidla ji však lze najít ve výšce přibližně po kolena (Iburg, 2004). Ve srolovaných šedozelených listech obsahuje silně vonící a chutné silice (Vermeulen,

1999). Listy voní po pryskyřici a svým tvarem trochu připomínají jedlové jehlice. Rozmarýna kvete malými, fialově zbarvenými květy ve svazcích (Iburg, 2004). Při střídavém používání zlepšuje zažívání, posiluje nervovou soustavu, zlepšuje krevní oběh a pomáhá při příliš nízkém tlaku (Vermeulen, 1999).

Tymián obecný (*Thymus vulgaris*) patří do čeledi hluchavkovitých (*Lamiaceae*). Je to víceletý, stálezelený polokeř s dřevnatými stonky. Dorůstá do výšky asi 40 cm. Listy jsou relativně malé a tmavě až šedozelené. Poměrně malé jsou také růžové či fialové květy (Iburg, 2004). Domovem tymiánu je Středomoří, severní Afrika a Asie. Z této rostliny se využívají jak listy, tak květy a olej. V medicíně se tymián využívá při léčbě kašle a bronchitidy. Používá se také proti narušení zubů, při dentálních bolestech a infekcích močových cest (Farmer-Knowlesová, 2010).

Saturejka zahradní (*Satureja hortensis*) patří do čeledi hluchavkovitých (*Lamiaceae*) (Iburg, 2004). Pochází z jihovýchodní Evropy a s ní hraničící Asie (Vermeulen, 1999). Saturejka je jednoletá, hustě větvená rostlina, dorůstající výšky až 50 cm. Má tmavě zelené, kopinaté listy sdružené do párů stojících proti sobě. Listy jsou dlouhé asi 4 cm, široké asi 0,5 cm a na okraji mají tenoučké chloupky. Kvete růžově až jemně fialově. Bylina se stříhá před rozkvětem, kdy je její kořenící síla největší (Iburg, 2004). Saturejka stimuluje zažívání, povzbuzuje chuť k jídlu a zastavuje průjem (Vermeulen, 1999).

Bazalka pravá (*Ocimum basilicum*) patří do čeledi hluchavkovitých (*Lamiaceae*). Z této rostliny se používají listy, a to buď sušené, nebo čerstvé (Iburg, 2004), dále se mohou používat květy, semena a olej (Farmer-Knowlesová, 2010). Jedná se o jednoletou rostlinu s velkými, silně zelenými, oválnými listy. V pozdním létě kvete bílými nebo růžovými až fialovými květy sdruženými do klasů. Dorůstá do výšky asi 50 cm. Bazalka je klasickým kořením italské kuchyně (Iburg, 2004). Pochází z Íránu (Persie), Indie a dalších tropických asijských oblastí (Farmer-Knowlesová, 2010).

Pelyněk kozalec – estragon (*Artemisia dracunculus*) patří do čeledi hvězdnicovitých (*Asteraceae*). Z této rostliny se používají listy a mladé výhonky, které mohou být buďto čerstvé nebo sušené, třené nebo mleté. Estragon je víceletá, silně rozvětvená bylina dorůstající výšky až 1,20 m. Listy jsou početné, celokrajné nebo mírně kopinaté a slabě chlupaté (Iburg, 2004). Šedozeleně olistěné výhonky estragonu se sbírají před květem a používají se čerstvé a dokonce i sušené (Vermeulen, 1999).

Šalvěj lékařská (*Salvia officinalis*) patří do čeledi hluchavkovitých (*Lamiaceae*). Šalvěj lékařská je víceletý, až 80 cm vysoký polokeř, který na dřevitých výhoncích tvoří šedozelené, oválné a lehce ochlupené listy. V červenci kvete světle modrými až jemně fialově zbarvenými květy (Iburg, 2004). Roste na neudržovaných místech, v blízkosti lidských obydlí a na zahradách jako bylina nebo okrasná rostlina. Všechny části rostliny mají silnou vůni a hřejivou nahořklou chuť, za kterou vděčí esenciálnímu oleji obsaženému ve tkáních (Farmer-Knowlesová, 2010).

Dobromysl obecná (*Origanum vulgare*) patří do čeledi hluchavkovitých (*Lamiaceae*). Synonymum pro dobromysl je například oregano, divoká majoránka apod. Dobromysl je keříčkovitá, bohatě olistěná rostlina. Dorůstá do výšky 60 cm. Její vejčité, zašpičatělé listy bývají dlouhé 1 – 4 cm. Světle růžové až bělavé zvonkovité kalichy květů jsou sdruženy do hlavicových klasů (Iburg, 2004). Sušit by se měla na zastíněném a nepřilíš horkém místě, aby neztratila silice (Vermeulen, 1999).

Majoránka zahradní (*Origanum majorana*) patří do čeledi hluchavkovitých (*Lamiaceae*). Z rostliny se používají listy, buď čerstvé, nebo sušené. Majoránka je víceletou rostlinou (Iburg, 2004), ale u nás se pěstuje často jako jednoletá (Vermeulen, 1999). Není odolná vůči mrazu. Dorůstá do výšky 20 – 60 cm, má čtverhranný stonek a vejčité, zakulacené, chlupaté listy. Rostlina se sklízí krátce před rozvinutím květů (Iburg, 2004).

Vavřín vznešený (*Laurus nobilis*) – bobkový list patří do čeledi vavřínovitých (*Lauraceae*). Z této rostliny se používají listy a to čerstvé i sušené (Iburg, 2004). Vavřín vznešený je stálezelená a neopadávací rostlina, jejíž listy lze sbírat po celý rok (Vermeulen, 1999). Strom dosahuje výšky až 15 metrů a kvete žlutobílými květy sdruženými do okolíků. Z květů uzrávají modročerné bobule velikosti lískového ořechu, ze kterých se dělají likéry a masti. Listy jsou kožovité, shora tmavě zelené a zdola světle zelené. I dnes se stále otrhávají ručně a suší na stinných místech (Iburg, 2004). Čerstvý list má stahující účinky a přikládá se na spáleniny, pohmožděniny a podlitiny, aby se urychlilo hojení (Vermeulen, 1999).

3.6 Koření a mikroorganismy

Skladba mikroorganismů koření je značně rozdílná. Nejen podle druhů koření, ale i podle místa získávání, hygienické úrovně zpracování, skladování a podobně (Cempírková a kol., 1997). Mikrobicidní vlastnosti koření jsou podmíněné zejména silicemi, pryskyřicemi a alkaloidy. Kolísají podle obsahu účinných látek, stáří koření a podle způsobu zacházení s kořením během sladování. Bylo zjištěno, že mikrobicidní účinek koření se zvyšuje s posunem pH prostředí ke kyselé oblasti (Hampl, 1968). Z mikroorganismů jsou v koření nejvíce zastoupeny sporulující bakterie (Arpai a kol., 1977), dále se zjišťují koliformní mikroorganismy, *Micrococcus*, *Sarcina*, *Streptococcus*, *Pseudomonas*, *Flavobacterium*, bakterie rodu *Alcaligenes*, *Corynebacterium* a *Actinomyces* (Cempírková a kol., 1997), achromobakterie a aktinomycety (Hampl, 1968).

Z hlediska hygieny je poměrně kritické hnojení rostlin fekáliemi a jejich nechráněné sušení na vzduchu. Z tohoto důvodu přichází v úvahu jako významné kontaminanty půdní bakterie rodu *Clostridium* a *Bacillus* a jejich spory. Další hygienické problémy mohou způsobit také salmonely (Görner a Valík, 2004). Není vyloučen ani výskyt *Aspergillus flavus* nebo jiných toxinogenních plísní (Hrubý, 1984). Při správném uskladnění je počet kvasinek a plísní menší než počet ostatních mikroorganismů (Cempírková a kol., 1997). Důvodem může být fakt, že koření je většinou přepravováno a uchováváno v suchém stavu (Hampl, 1968).

Ve státech Evropské unie jsou vypracovány doporučené limity pro mikroorganismy vyskytující se v koření (Görner a Valík, 2004) viz tabulka č. 4.

Zdrojem mikroorganismů bývá zejména půda a prach, se kterými přichází koření do přímého styku a často je jimi znečištěné. Velký vliv na mikrobiologické osídlení koření má i uskladnění. U koření skladovaném v suchu, při nižší teplotě a v dobře větrané místnosti se počet mikroorganismů snižuje. Naopak u koření uskladněném ve vlhku se počet mikroorganismů a plísní rychle zvyšuje (Arpai a kol., 1977).

Tabulka č. 4 - Mikrobiologické limity pro koření (Görner a Valík, 2004)

Mikroorganismus	Doporučený limit (KTJ/g)	Výstražný limit
<i>Salmonella spp.</i>	-	Negativně v 25 g
<i>Staphylococcus aureus</i>	10 ³	10 ³ KTJ/g
<i>Bacillus cereus</i>	10 ⁴	10 ⁵ KTJ/g
<i>Escherichia coli</i>	10 ⁴	-
Plísně	10 ⁵	10 ⁶ KTJ/g

Nejnovějším způsobem, jak snížit počet mikroorganismů v koření je výroba extraktů z koření. Extrakty mají mnoho výhod, například jsou vydatnější, můžeme je standardizovat, různě mísit a bývají takřka sterilní. Vyrábějí se extrakcí vodní párou nebo rozpouštědly a aromatické látky se vážou na práškové substance nebo do emulzí (Arpai a kol., 1977).

3.6.1 Bakterie

3.6.1.1 Rod *Pseudomonas*

Rod *Pseudomonas* patří do čeledi *Pseudomonadaceae*. Pseudomonády jsou charakterizovány jako gramnegativní, pohyblivé, striktně aerobní tyčinky (Görner a Valík, 2004). Po morfologické stránce se jedná o monotrichní nebo lofotrichní tyčinky. Využívají nejrůznější organické sloučeniny jako zdroj energie a uhlíku a jsou bez nároku na specifické růstové látky (Šilhánková, 2002).

Patogenní a některé saprofytické druhy mají optimální teplotu růstu 37 – 42 °C, ostatní jsou mezofilní a mnohé z nich jsou významnou součástí skupiny psychrotrofních mikroorganismů (Görner a Valík, 2004), takže jejich nežádoucí činnost v potravinách probíhá i při poměrně nízkých skladovacích teplotách (Šilhánková, 2002). Nerostou při pH nižším než 4,5. Vyskytují se ve vodě, bílkovinách, chlazených potravinách (Görner a Valík, 2004), bahně, půdě i na pokožce lidí. Většinou mají silné lipolytické a proteolytické schopnosti, rozkládají i řadu pesticidů. Bývají značně rezistentní vůči působení desinfekčních látek i vůči antibiotikům (Hrubý a kol., 1984).

Pseudomonas aeruginosa je nejčastější pseudomonádou u člověka a v jeho okolí (Schindler, 2014). Jedná se o gramnegativní tyčinku. Vyskytuje se jednotlivě, ve dvojicích nebo i v krátkých řetězcích. Tento druh patří mezi fakultativní aeroby (Arpai a kol., 1977). *Pseudomonas aeruginosa* je relativně rezistentní k fyzikálním

a chemickým vlivům. Přežívá v roztocích s nedostatečnou koncentrací dezinfekční látky i v roztocích s vyšší koncentrací solí (Schindler, 2014). Optimální teplota se pohybuje okolo 37 °C, ale dobře roste i při teplotě 42 °C. Pohybuje se jedním až třemi polárně umístěnými bičíky. Vyskytuje se v půdě, odpadní vodě (Arpai a kol., 1977), na kulturních i divokých rostlinách, u volně žijících i domácích zvířat a v potravinách, zejména mase (Schindler, 2014). Může způsobovat i infekci ran a oděrek, zejména při aplikaci kontaminovaných kosmetických prostředků (Hrubý a kol., 1984).

Pseudomonas aeruginosa může infikovat buď kterýkoli orgán, nebo jakékoli místo na povrchu těla (Greenwood a kol., 1999). U lidí způsobuje onemocnění močových cest, hnisání a zápal mozkových blan (Arpai a kol., 1977). Vyvolává kožní infekce a infikuje popálené plochy a bércové vředy. Může přecházet do tkání a do krevního oběhu. Výsledkem je sepce (Schindler, 2014) s vysokou mortalitou (Greenwood a kol., 1999) a meningitida (Schindler, 2014). Patogenita se týká však téměř výhradně osob s porušenou imunitou a těžkým základním onemocněním (diabetes, autoimunitní choroby aj.). U zdravých jedinců může v prostředí silně kontaminovaném pseudomonádami dojít k jejich kolonizaci a takto se mohou stát důležitým vektorem šíření nákaz (Votava a kol., 2003).

Kmeny většinou produkují dva exotoxiny, exotoxin A a exotoxin S, a různé cytotoxické látky jako proteázy a fosfolipázy (Greenwood a kol., 1999).

Pseudomonas fluorescens produkuje zelený fluoreskující pigment. Má lipolytické vlastnosti, tedy odbourává tuky na volné mastné kyseliny a glycerol. Optimální teplota růstu je 20 – 25 °C, dobře se však rozmnožuje i při teplotách okolo 5 °C (je psychrofilní). Vyskytuje se ve vodě a chlazených potravinách (Arpai a kol., 1977). Jako patogen se uplatňuje pouze příležitostně. I když k infekcím dochází relativně zřídka, mívají těžký průběh (Votava a kol., 2003).

Pseudomonas mallei je patogenní pro zvířata a občas se přenáší i na člověka. Je nepohyblivá (Greenwood a kol., 1999). *Pseudomonas alcaligenes* se uplatňuje jako občasný původce lokalizovaných hnisavých infekcí. *Pseudomonas putida* má velmi podobné vlastnosti jako *P. fluorescens*. *Pseudomonas stutzeri* se hojně vyskytuje v přírodním prostředí, zejména pak všude tam, kde je dostatečně vlhko. Bylo prokázáno, že může vyvolat hnisavé záněty středního ucha, kloubů a spojivek (Votava a kol., 2003).

3.6.1.2 Rod *Bacillus*

Rod *Bacillus* je velmi rozsáhlý a v přírodě velmi rozšířený (Šilhánková, 2002). Patří do čeledi *Bacillaceae* (Görner a Valík, 2004). Jeho druhy tvoří většinou grampozitivní peritrichní tyčinky. Mají bohaté enzymové vybavení, takže mohou rozkládat nejrůznější organické sloučeniny. Většina druhů má velmi aktivní amylolytické enzymy, které štěpí škrob, pektolytické enzymy, které štěpí rostlinné pektiny, nebo proteolytické enzymy, takže se uplatňují při aerobním a anaerobním rozkladu bílkovin (Šilhánková, 2002). Mají značně rozdílné optimální a maximální teploty nejen mezi druhy, ale i mezi kmeny stejného druhu. Vyskytují se v půdě, poživatinách (kořeni), v tepelně upravených a nedostatečně zchlazených jídlech (Görner a Valík, 2004).

Většina bacilů je nepatogenních. Onemocnění z potravin může vyvolat *Bacillus cereus*. Značně patogenní je *Bacillus anthracis* (Hrubý a kol., 1984).

3.6.1.2.1 *Bacillus cereus*

Bacillus cereus patří mezi druhy s poměrně velkými buňkami. Při růstu na polysacharidových substrátech produkuje toxiny, které mohou být příčinou otrav (Šilhánková, 2002). *Bacillus cereus* je grampozitivní, aerobní, sporulující tyčinka. Roste v rozmezí teplot 8 – 55 °C a teplotní optimum je 28 – 35 °C (Vlková a kol., 2009). *Bacillus cereus* je schopný přežít a růst v rozmezí pH 4,3 až 9,3 (Heredia a kol., 2009). V potravinách lehce sporuluje, takže běžné převaření nebo pasterační teploty přežívá (Arpai a kol., 1977). Spory jsou vysoce termorezistentní a většina kmenů produkuje toxin (Greenwood a kol., 1999).

Bakterie je všudypřítomná (Heredia a kol., 2009). V přírodě se vyskytuje v půdě, vodě řek, odpadových vodách, v hnoji, ve stolici některých zvířat (Arpai a kol., 1977) a prachu (Heredia a kol., 2009). Vyskytuje se takřka ve všech potravinách (Arpai a kol., 1977). *B. cereus* byl zjištěn v tepelně zpracovaných nebo vařených potravinách, jako je čokoláda, chléb, vařená rýže, těstoviny, maso, mléko a mléčné výrobky (Heredia a kol., 2009). Do potravin se většinou dostává se surovinami (Arpai a kol., 1977).

Na vyvolání onemocnění z potravin je třeba velká koncentrace buněk (Arpai a kol., 1977). K otravám dochází při pomnožení buněk na hodnotu 10^7 v jednom gramu potravin (u dětí stačí již koncentrace 10^5 /g potravin). Otrava se projevuje za 12 – 13 hodin po požití potravin. K příznakům otravy patří nevolnost, břišní křeče a průjem nebo zvracení (Šilhánková, 2002).

Za vznik enterotoxikóz jsou odpovědné enterotoxiny – průjmový a emetický toxin. Toxin průjmového syndromu je termolabilní protein, citlivý na proteolytické enzymy, jako jsou trypsin a pepsin. Příznaky nastupují během 6 – 16 hodin od požití potravy a trvají 6 – 24 hodin (Votava a kol., 2003). Většinou bývá průběh mírný, postižený má nutkání ke zvracení, ale zvracení se objevuje jen zřídka, dále se objevují křečovitě bolesti břicha a vodnatý průjem. Nedoprovází ho zvýšení teploty (Vlková a kol., 2009).

Emetický toxin je termostabilní polypeptid (stabilní při 126 °C po dobu 90 minut), odolný jak k proteolytickým enzymům, tak k nízkému pH (Votava a kol., 2003). Emetický syndrom má těžší a akutnější průběh než syndrom průjmový. Inkubační doba se pohybuje od 1 do 6 hodin. Nejčastěji se však tento syndrom projevuje mezi 2. a 5. hodinou po požití kontaminované potravy. Emetický syndrom se projevuje silným zvracením a nevolnostmi, křečovými bolestmi břicha a průjmem (Vlková a kol., 2009). Trvá často déle než 24 hodin (Votava a kol., 2003).

Potraviny se před rozmnožováním *B. cereus* ochraňují udržováním a uschováváním při chladírenských teplotách. Jsou to teploty nižší než 10 °C (Arpai a kol., 1977).

3.6.1.2.2 Ostatní druhy rodu *Bacillus*

V přírodě nejrozšířenější *Bacillus subtilis* je téměř všudypřítomný, tvoří poměrně malé peritrichní buňky a produkuje několik polypeptidových antibiotik (Šilhánková, 2002). *Bacillus pumilis* a *Bacillus licheniformis* se při otravě z potravin také uplatňují. Neprodukují toxin, ale některé kmeny syntetizují antibakteriálně působící peptidy, jako například bacitracin. *Bacillus polymyxa* produkuje antibiotikum polymyxin (Greenwood a kol., 1999).

Geobacillus stearothermophilus, dříve označovaný jako *Bacillus stearothermophilus*, je schopen aktivního růstu za nepřístupu kyslíku, je schopen se rozmnožovat při pH nad 4,8 a intenzivně se rozmnožuje při teplotách 55 – 65 °C. Minimální teplota se pohybuje okolo 44 – 45 °C. Vegetativní buňky jsou však velmi citlivé na snížení teploty, takže při zchlazení na laboratorní teplotu často hynou (Šilhánková, 2002). *Geobacillus stearothermophilus* byl až do objevení archebakterií v horkých pramenech znám jako nejvíce termotezistentní organismus. Spory vydrží 120 °C až 12 minut a tím se tento mikrob stal ideálním testovacím mikroblem pro ověřování autoklávů, kde se předpokládá usmrcením všech spor (Greenwood a kol., 1999).

3.6.1.3 Rod *Clostridium*

Rod *Clostridium* patří do čeledi *Bacillaceae*. Jedná se o grampozitivní, anaerobní až aerotolerantní sporulující tyčinky (Görner a Valík, 2004), peritrichní. Kyslík inhibuje růst a po 5 – 10 minutách působení usmrcuje vegetativní buňky většiny druhů. Některé druhy jsou ke kyslíku méně citlivé a jsou schopny pomalého rozmnožování i za omezeného přístupu vzduchu (Šilhánková, 2002). Sacharidy fermentují za vzniku kyseliny máselné, kyseliny octové, CO₂, H₂ a proměnlivého množství alkoholu a acetonu. Proteolytické druhy štěpí nativní nebo koagulované bílkoviny za vzniku hnilobných produktů (Görner a Valík, 2004).

Optimální teplota růstu je 30 – 37 °C. Primárně se vyskytují v půdě, bahně (Görner a Valík, 2004), vodě, v hnilých rostlinách a živočišných zbytcích (Greenwood a kol., 1999), sekundárně i v siláži, mléku a sýrech (Görner a Valík, 2004) či ve stolici zvířat a člověka (Schindler, 2014). Některé druhy produkují velmi nebezpečné toxiny (Šilhánková, 2002).

3.6.1.3.1 *Clostridium botulinum*

Clostridium botulinum je grampozitivní, striktně anaerobní sporulující tyčinka (Vlková a kol., 2009), která produkuje zvláště nebezpečné neurotoxiny - botulotoxiny „klobásový jed“ (Görner a Valík, 2004) a způsobuje onemocnění zvané botulismus. 1 mg představuje smrtící dávku pro 16 000 lidí (Šilhánková, 2002).

Roste v teplotním rozmezí 3,3 – 50 °C (Vlková a kol., 2009), nejlépe roste při teplotě 35 °C (Greenwood a kol., 1999), v neutrálním až mírně kyselém prostředí, ale nikdy se nemnoží při hodnotách pH menších než 4,5 (Vlková a kol., 2009). Proto všechny potraviny, které mají pH nižší než 4,5, považujeme za bezpečné před růstem *Cl. botulinum* a nepředpokládáme, že se v nich bude tvořit toxin. Důležité je zdůraznit, že již vytvořený toxin se kyselou reakcí ani nižším pH než 4,5 nezlikviduje a může se v kyselém prostředí udržet. *Cl. botulinum* je schopné se rozmnožovat a tvořit toxin při 10 % koncentraci NaCl (Arpai a kol., 1977).

Vyskytuje se v půdě, ve vodě, bahnitých sedimentech vodních toků (Vlková a kol., 2009), na zelenině, ovoci a rostlinných produktech (Schindler, 2014). K intoxikaci dochází zpravidla po vyklíčení a namnožení spor, které se do potravin dostanou z půdy, vody nebo prachu (Vlková a kol., 2009). Odhaduje se, že letální dávka pro člověka je 0,1 – 1,0 µg. Toxiny jsou termolabilní, inaktivují se půlhodinovým varem. Botulotoxiny patří mezi neurotoxiny, to znamená, že působí na periferní nervový

system (Görner a Valík, 2004). Způsobují parézy a paralýzy nervového systému a gastrointestinálního traktu (Schindler, 2014).

Botulotoxiny jsou jedny z nejtoxičtějších látek vůbec. Sedm hlavních typů *Clostridium botulinum*, A – G, produkuje antigeně odlišné toxiny s identickými farmakologickými vlastnostmi. Typy A, B a E jsou nejčastější příčinou onemocnění botulismem. Kmeny typu E jsou obzvláště často spojeny s onemocněním z mořských ryb (Greenwood a kol., 1999). Kmeny produkující toxin typu A kontaminují především ovoce a zeleninu. Typ B se vyskytuje převážně v masových výrobcích (Votava a kol., 2003). Botulotoxiny jsou termolabilní, inaktivují se varem trvajícím 10 minut (Görner a kol., 2004). Například toxin typu A se likviduje po 6 minutách při 80 °C nebo po 18 minutách při 72 °C (Arpai a kol., 1977). Tento neurotoxin je považován za vůbec nejsilnější známý bakteriální toxin (Votava a kol., 2003).

Příznaky otravy (tzv. botulismu) se projevují po 6 – 72 hodinách po požití potravy a spočívají v bolesti hlavy, nevolnosti, zvracení, suchu v ústech, dvojitém vidění a ochrnutí svalstva, včetně dýchacího svalstva, které končí až v 65 % případů smrtí (Šilhánková, 2002).

Proti vysokým teplotám jsou spory odolné a hodně kmenů přežívá i několikaminutový var (Arpai a kol., 1977). Spory *Cl. Botulinum* jsou usmrcovány čtyř- až desetiminutovým zahříváním vlhkým teplem na 120 °C, přičemž potřebná doba záleží na pH a složení prostředí (Šilhánková, 2002).

Tento druh zahrnuje jak proteolytické kmeny, tak i neproteolytické kmeny. Proteolytické kmeny tvoří poměrně termorezistentní spory a tolerují nízké hodnoty vodní aktivity prostředí (Vlková a kol., 2009). V potravině způsobují zjevné kažení, které se projevuje tvorbou páchnoucích hnilobných produktů, jako je H₂S, NH₃ a jiné. Neproteolytické kmeny způsobují v potravině jen menší, často nepostřehnutelné změny (Görner a kol., 2004). Tyto kmeny jsou citlivější k vyšším teplotám a nízké vodní aktivitě prostředí (Vlková a kol., 2009), ale mohou růst a tvořit toxin i při teplotách nižších než 10 °C (Görner a kol., 2004).

Ochrana potravin před klostridii je jedním ze základních prvků potravinářské výroby i zpracování potravin. Spory *Cl. botulinum* jsou v přírodě velmi rozšířené a takřka každá poživatina se může infikovat. Uchovávání potravin při chladničkových teplotách, tj. mezi 5 – 10 °C, není dostačující. Potřebné teploty jsou nižší než 3 °C, kdy *Cl. botulinum* již neroste. Vhodné je i snížení pH pod 4,5 (Arpai a kol., 1977).

3.6.1.3.2 *Clostridium perfringens*

Clostridium perfringens je grampozitivní, nepohyblivá, sporulující, anaerobní tyčinka (Vlková a kol., 2009), ale pro růst postačí i snížení přítomnosti kyslíku (Görner a Valík, 2004). Vyskytuje se v tlustém střevě lidí a zvířat, pravidelně také v půdě (Vlková a kol., 2009), prachu (Šilhánková, 2002), odpadových vodách, bahně i fekáliích (Arpai a kol., 1977). *Clostridium perfringens* je považováno za mezofilní bakterii, která roste v teplotním rozmezí od 15 °C až do 50 °C, s optimem při 43 – 45 °C (Kameník a kol., 2014). Při 50 °C ještě můžeme pozorovat nárůst, ale při 55 °C se růst zastavuje. Nízké teploty nejsou vhodné pro růst, většina kmenů přestává růst při 15 – 20 °C. Koncentraci kuchyňské soli snáší dobře až do 5 %. Na hodnoty pH jsou buňky *Clostridium perfringens* dost citlivé (Arpai a kol., 1977). Celkové rozpětí pro růst se pohybuje mezi pH 5,0 – 9,0, ale nejvhodnější jsou hodnoty pH 6,0 – 7,0 (Kameník a kol., 2014). Vegetativní buňky nepřežívají záhřev na teplotu 60 °C (Vlková a kol., 2009). Spory jsou velmi odolné, zabíjí je dezinfekční prostředky na bázi chlornanů, při současném pH nižším než 8,5 nebo UV záření (Kameník a kol., 2014).

Clostridium perfringens je producentem celé řady toxických enzymů a na základě spektra tvořených toxinů lze jednotlivé kmeny rozdělit do pěti toxických typů označovaných A – E. Pro člověka je patogenní především typ A (Votava a kol., 2003).

Na rozdíl od ostatních toxikogenních mikroorganismů, *Clostridium perfringens* netvoří toxin zapříčínující otravu při růstu v potravíně, ale až ve střevech nemocného, kde mikrob sporuluje (Arpai a kol., 1977). Typickými příznaky jsou křeče v břiše, jež se dostaví za 8 – 12 hodin po požití, a následný průjem. Zvracení ani horečka nejsou typické. Potíže vymizí za 1 – 2 dny (Greenwood a kol., 1999).

3.6.1.3.3 *Clostridium difficile*

Produkuje enterotoxin, označovaný jako toxin A, a cytotoxin - toxin B (Schindler, 2014). Toxin A je typický enterotoxin. Poškozuje buňky střevního epitelu a způsobuje kumulaci tekutin ve střevě, což má za následek vznik vodnatých průjmů. Toxin B, cytotoxin, svými účinky vede k nekróze napadených tkání (Votava a kol., 2003). Přenos je fekálně-orální cestou (Schindler, 2014).

3.6.1.4 Rod *Escherichia*

Do tohoto rodu zahrnujeme krátké pohyblivé i nepohyblivé tyčinky (Arpai a kol., 1977) vyskytující se jednotlivě nebo dvojicích (Sedláček, 2006). Jednotlivé druhy tohoto rodu jsou obyvateli střevního traktu různých živočichů. Nejdůležitější z nich je *Escherichia coli* (Šilhánková, 2002). Vedle něj najdeme v rodu *Escherichia* i další druhy, ty však člověka nenapadají, nebo jen výjimečně, např. *Escherichia vulneris* a *Escherichia hermannii*, či *Escherichia albertii* (Votava a kol., 2003).

Escherichia coli je gramnegativní, fakultativně anaerobní, pohyblivá a nesporulující tyčinka (Vlková a kol., 2009). Rozmezí růstových teplot je 15 – 45 °C. Některé kmeny jsou více termorezistentní a mohou přežít 60 °C po dobu 15 minut (Greenwood a kol., 1999). Kmeny *E. coli* vyžadují pro svůj růst poměrně vysokou vodní aktivitu (0,95). Patogenní kmeny mají vyšší odolnost vůči přítomnosti NaCl a mohou růst i při obsahu 6,5 – 8,5 % NaCl. Hodnoty pH pro růst *E. coli* se pohybují v rozmezí 4,4 – 9,0 (Kameník a kol., 2014).

E. coli je běžnou součástí střevní mikroflóry zdravých lidí (Votava a kol., 2003). Nachází se ve spodní části střevního traktu člověka a teplokrevných zvířat. Vyskytuje se tedy i ve výkalech a jeho přítomnost je ukazatelem fekálního znečištění. Pravidelně se vyskytuje v potravinářských surovinách, které byly v kontaktu s hnojenou půdou (Šilhánková, 2002). Fekálním znečištěním se může dostat také do vody, kde přežívá dlouhou dobu a může kontaminovat další potraviny a prostředí (Vlková a kol., 2009). Kromě běžného výskytu ve střevním traktu zvířat i lidí se nachází na rostlinách, v půdě a na srsti nebo peří živočichů (Kameník a kol., 2014). V potravinářství a ve vodárenství je využíván jako indikátorový organismus sanitace a zachování hygienických a technických požadavků při získání, opracování a zpracování, skladování, distribuci a spotřebě (Görner a Valík, 2004).

Escherichia coli zkvašuje cukry za intenzivní tvorby kyselin a plynu. Tvoří hlavně kyselinu mléčnou, pyrohroznovou, octovou a mravenčí, přičemž část kyseliny mravenčí rozkládá na oxid uhličitý a vodík (Šilhánková, 2002).

Kmeny *E. coli*, které získaly schopnost produkce faktorů virulence jsou původci průjmových infekcí a podle projevů virulence se označují jako enterotoxická, enteropatogenní, enteroinvazivní, enteroadherentní a enterohemoragická *E. coli* (Schindler, 2014).

Enterotoxikogenní kmeny (ETEC) kolonizují tenké střevo (Vlková a kol., 2009) a jsou původci průjmových infekcí cestovatelů. Produkují dva toxiny, termolabilní LT a termostabilní ST (Schindler, 2014). Minimální infekční dávka pro dospělého člověka je $10^8 - 10^9$ KTJ. Enterotoxikogenní kmeny se vyskytují převážně v mimoevropských zemích s teplým podnebím (Vlková a kol., 2009). Infekce probíhá vodovými průjmy bez horečky (Schindler, 2014).

Enteroadherentní *E. coli* (EAEC) přilne k sliznici. Infekce je celkem mírná, bakterie neinvadují (Schindler, 2014).

Enterohemoragické kmeny *Escherichia coli* (EHEC), nejčastěji serotyp O157:H7, patří k nejnebezpečnějším. Vyvolávají hemoragickou kolitidu, z níž se může vyvinout smrtelný hemoragicko-uremický syndrom (HUS). Charakterizuje ho hemolytická anémie, trombocytopenie a akutní selhání ledvin (Schindler, 2014). Onemocnění postihuje jak děti, tak i dospělé jedince. Minimální infekční dávka těchto bakterií je asi 10 buněk (Vlková a kol., 2009). Hlavním faktorem je tzv. shiga toxin neboli verotoxin (Schindler, 2014). Existují dva typy verotoxinu, VT1 a VT2 (Kameník a kol., 2014). Zdrojem infekce je nepropečené maso (hamburgery), ale také saláty, mošty či voda. Při plně rozvinutém HUS léčba selhává (Schindler, 2014).

Enteropatogenní kmeny *E. coli* (EPEC) kolonizují tenké střevo (Vlková a kol., 2009) a způsobují průjmy novorozenců, často krvavé, bez horečky (Schindler, 2014), zejména v tropech a mají vysokou mortalitu (Greenwood a kol., 1999). U enteropatogenních kmenů nebyla prokázána tvorba enterotoxinů (Vlková a kol., 2009) ale jsou mírně invazivní (Schindler, 2014). Za minimální infekční dávku (MID) se považuje počet buněk větší než 10^6 (Vlková a kol., 2009).

Enteroinvazivní *E. coli* (EIEC) se skládá z 11 známých sérotypů, které jsou založeny na sérologických charakteristikách (Heredia a kol., 2009). Přilne na sliznici pravděpodobně bílkovinou vnější membrány, proniká do sliznice a zde se pomnožuje. Onemocnění se podobá úplavici, ve stolici je množství hlenu a krev (Schindler, 2014). Infekční dávka je 10^6 buněk nebo větší (Heredia a kol., 2009).

3.6.1.5 Rod *Salmonella*

Rod *Salmonella* patří do čeledi *Enterobacteriaceae*. Tento rod zahrnuje gramnegativní nesporeující tyčinky, které jsou vesměs pohyblivé, s výjimkou *Salmonella Pullorum* a *Salmonella Gallinarum*. Rostou jak v aerobních, tak i anaerobních podmínkách (Arpai a kol., 1977). Teplotní rozmezí růstu se udává

přibližně od 5 do 47 °C (Kameník a kol., 2014). Optimální teplota je 37 °C, ale jsou schopné rozmnožovat se v potravinách i při teplotě 10 °C. Množení přestává až při teplotách 5 - 6 °C. Salmonely zničíme varem za jednu minutu a při 80 °C odumírají po pěti minutách (Arpai a kol., 1977). Vůči chladírenským a mrazírenským teplotám nejsou odolné (Görner a kol., 2004). Optimální hodnoty pH pro růst salmonel jsou neutrální. Inhibičně působí hodnoty vyšší než 9 a nižší než 4,5 (Arpai a kol., 1977). Salmonely jsou poměrně citlivé na vyšší koncentrace NaCl, roztok nad 9 % se považuje za baktericidní (Kameník a kol., 2014).

Příznaky onemocnění se objevují obvykle za 12 až 36 hodin. Čím je počet buněk vyšší, tím je inkubační čas kratší a průběh onemocnění horší. Mezi první příznaky onemocnění salmonelou patří bolest hlavy a zimnice, spojené se zvracením a bolestmi žaludku (Arpai a kol., 1977).

Rod *Salmonella* je rozdělena do dvou druhů – *S. enterica* a *S. bongori*. Bylo identifikováno více než 2 500 sérovarů z druhu *S. enterica* a většina z nich má potenciál infikovat široké spektrum druhů zvířat a lidí. Sérovary *S. enterica* se mohou lišit v hostitelské specifičnosti, a také v epidemiologických a klinických charakteristikách (Heredia a kol., 2009).

Görner a Valík (2004) uvádí shrnutí druhů a sérovarů rodu *Salmonella* do tří skupin, a to na skupinu tyfus, paratyfus a enteritidis. Skupiny tyfus a paratyfus obsahují pro lidi obligátně patogenní druhy salmonel, jako například *S. Typhi*, *S. Paratyphi*, *S. Schottmuelleri*, *S. Sendai*. Jsou původci těžkých tyfových onemocnění u lidí. Tato onemocnění se mohou přenášet z nemocných lidí a bacilonosičů na zdravé lidi přímo, kontaktem, ovšem nejčastější je nákaza kontaminovanou pitnou vodou a potravinami (Görner a Valík, 2004).

Pokud onemocní osoby zaměstnané ve výrobě, zpracování nebo distribuci potravin věnuje jim zdravotní služba osobitou pozornost. Na pracoviště se smí vrátit až tehdy, když je jisté, že nemohou být zdrojem infekce (Arpai a kol., 1977).

Salmonella Typhi způsobuje velmi vážné, a často i smrtelné, střevní onemocnění lidí zvané břišní tyf. Projevuje se silnými bolestmi břicha, malátností a vysokými teplotami spojenými s blouzněním. Inkubační doba trvá jeden až tři týdny. Během ní se bakterie ve střevním traktu pomnoží (Šilhánková, 2002). *Salmonella Typhi* se dále dostává do krevního oběhu a touto cestou do řady orgánů, jako například do žlučových a močových cest, do sleziny nebo kostní dřeně (Zahradnický a kol., 1956). Během

nemoci jsou bakterie vylučovány výkaly nemocného, takže při nedostatečných hygienických podmínkách může dojít k epidemii. Bacilonosičem nazýváme takové lidi, kteří jsou k tomuto onemocnění odolní, i když se v jejich střevním traktu pomnoží původci břišního tyfu (Šilhánková, 2002).

Původci břišního tyfu a paratyfu se v organismu rozmnožují, proto je na vyvolání choroby dostačující nízká minimální infekční dávka, obvykle 10^2 až 10^3 KTJ (Görner a Valík, 2004).

Salmonella Typhimurium je choroboplodná pro všechna teplokrevná zvířata. Zapříčiňuje otravy potravinami u lidí. Jedná se o gramnegativní peritrichní pohyblivou tyčinku. Optimální teplota růstu je asi 37 °C (Arpai a kol., 1977).

Skupina enteritidis (*S. Enteritidis*, *S. Typhimurium*, *S. Panama* a další) obsahuje převážně původce onemocnění zvířat. Potravinami živočišného původu se přenášejí na lidi (Görner a Valík, 2004). *Salmonella* Enteritidis se často vyskytuje v trusu ptáků (hlavně kachen a holubů), odkud se může dostat do potravin (Šilhánková, 2002). Na vyvolání gastroenteritidy je potřebná vysoká infekční dávka salmonel. Minimální infekční dávka (MID) bývá zpravidla 10^4 KTJ/g (Görner a Valík, 2004). Onemocnění má krátkou inkubační dobu 6 až 20 hodin, a je charakterizována průjmy a často i zvracením. Tento typ onemocnění se označuje jako salmonelóza (Šilhánková, 2002).

Vedle potravin živočišného původu mohou být salmonelami kontaminované i poživatiny rostlinného původu. Přenašečem nebo zdrojem salmonel mohou být odpadové vody používané k zalévání (Görner a Valík, 2004).

Většina onemocnění vzniká vstupem salmonel s infikovanou potravinou. Infekční dávka pro různé druhy salmonel je velmi odlišná. Podle prováděných pokusů se zjistilo, že u *Salmonella* Newport a *S. Bareilly* stačí dávka asi 100 000 buněk, u *S. Anatum* bylo potřeba k vyvolání onemocnění 5 milionů buněk apod. Menší dávky nevyvolaly onemocnění, avšak zapříčinily vylučování salmonel, které trvalo několik dní. *Salmonella* Cholerae-suis je původce paratyfu prasat (Arpai a kol., 1977).

Salmonely způsobují také sepse, při nichž chybí příznaky infekce gastrointestinálního traktu a bakterie nemusí být ve stolici (Schindler, 2014).

3.6.1.6 Rod *Staphylococcus*

Rod *Staphylococcus* patří do čeledi *Staphylococcaceae* (Kameník a kol., 2014). Zahrnuje grampozitivní koky seskupené do shluků. Některé mají aerobní a jiné anaerobní metabolismus (Greenwood a kol., 1999). Jsou nepohyblivé a netvoří spory (Votava a kol., 2003). Stafylokoky jsou rezistentní k vyschnutí i k vysoké koncentraci soli (Greenwood a kol., 1999), rostou v přítomnosti 10 % NaCl (Votava a kol., 2003). Patří mezi mezofilní mikroorganismy. Stafylokoky se běžně vyskytují ve vzduchu, prachu, půdě, vodě, mléce, potravinách, na površích zařízení i površích těla lidí i zvířat (Kameník a kol., 2014).

V praxi se stafylokoky tradičně dělí na dvě hlavní skupiny podle jejich schopnosti koagulovat plazmu, na koagulasopozitivní a koagulasanegativní. Mezi koagulasopozitivní patří *Staphylococcus intermedius*. V humánní patologii je jediný důležitý druh koagulující plazmu, a to *Staphylococcus aureus*. Koagulasanegativní jsou druhy *Staphylococcus chromogenes*, *Staphylococcus muscae* a *Staphylococcus saprophyticus* spp. *Bovis* (Votava a kol., 2003).

3.6.1.6.1 *Staphylococcus aureus*

Staphylococcus aureus je grampozitivní kokovitá buňka. Netvoří spory, je nepohyblivá, fakultativně anaerobní (Görner a Valík, 2004) a náročná na živiny (Arpai a kol., 1977). Roste v rozmezí teplot 6,5 – 46 °C, s optimální teplotou 35 – 37 °C (Görner a Valík, 2004), ale je schopný se rozmnožovat od 10 °C až po 45 °C (Arpai a kol., 1977). Kokovité buňky tvoří zpravidla hroznovité útvary (Görner a Valík, 2004), někdy se však vyskytují v párech nebo i ojedinele (Greenwood a kol., 1999). V přírodě se vyskytuje v prachu, ve vzduchu, fekáliích, odpadových vodách i potravinách. Nachází se hlavně na potravinách, které mají větší obsah soli, tj. 5 – 10 %, roste až do koncentrace 15 % NaCl v prostředí (Arpai a kol., 1977).

Staphylococcus aureus je součástí mikroflóry úst a nosní dutiny bez toho, aby zapříčinil jakékoli onemocnění (Arpai a kol., 1977). Infikuje nejčastěji místa se sníženou rezistencí, například poškozenou kůži, sliznice nebo hematomy v měkkých tkáních (Greenwood a kol., 1999). Lehce přetrvává nepříznivé podmínky a extrémní stavy sucha, tepla, pH a osmotického tlaku (Arpai a kol., 1977).

Produkuje řadu hemolyzinů (α , β , γ , δ), z nichž hlavní roli v patogenezi má toxický α -hemolyzin porušující buněčnou membránu eukaryotických buněk. PV-leukocidin porušuje integritu buněčné membrány leukocytů tvorbou drobných otvorů (pórů),

a tím je zabíjí. Z přímo působících toxinů je významný exfoliatin, způsobující epidermolýzu, a toxin způsobující syndrom toxického šoku TSST 1 (Schindler, 2014).

Stafylococcus aureus produkuje za vhodných podmínek enterotoxiny, sérologicky rozlišitelných typů A, B, C, D, E, nejnověji až R. Z hlediska alimentárních intoxikací jsou nejvýznamnější typy A až E. Tvorba toxinů je možná v rozmezí teplot 10 až 45 °C s optimem při 37 – 40 °C. Minimální hodnota pH je asi 4,8 a optimum při hodnotě pH 6 – 7. Tvorba enterotoxinu A je v poměru k ostatním méně citlivá vůči nepříznivým vlivům prostředí, jako snížené hodnotě pH nebo a_w (Görner a Valík, 2004). Toxin, který je už jednou v potravíně, se relativně těžko ničí. Kyselé ani alkalické prostředí na ně takřka nepůsobí (Arpai a kol., 1977). Stafylokokové enterotoxiny jsou velmi termorezistentní, snášejí až půlhodinový var, nejsou spolehlivě eliminované ani sterilizací (Görner a Valík, 2004) a vydrží explozi o teplotě 100 °C po několik minut (Greenwood a kol., 1999).

Pramenem nákazy bývají především nosiči enterotoxických stafylokoků nebo nemocní se stafylokokovou infekcí, méně často i hospodářská zvířata (Görner a Valík, 2004). Přímý kontakt je zřejmě nejvýznamnějším způsobem přenosu, uplatňují se také kapénky v aerosolu a částičky prachu ve vzduchu (Greenwood a kol., 1999). Od pracovníků v potravinářství, kteří mají hnisavé rány (i obvázané) se dostanou stafylokoky do jimi opracovávaných potravin. Dalším možným pramenem stafylokoků mohou být nosohltanoví nosiči, kteří při kýchání a kašlání rozšiřují zárodky do prostředí a do potravin (Görner a Valík, 2004).

Otrava z potravin stafylokokovým enterotoxinem, nazývaná stafylokoková enterotoxikóza, se projevuje rychle, obvykle do 3 hodin po požití infikované potraviny. Když je dávka toxinu velká, může se inkubační čas zkrátit až na jednu hodinu, naopak pokud je dávka toxinu malá, může se inkubační čas prodloužit na 6 – 8 hodin (Arpai a kol., 1977). Na vyvolání stafylokokové enterotoxikózy postačuje 0,5 – 5 µg enterotoxinu A. Charakteristický je prudký až dramatický průběh (Görner a Valík, 2004). Projevuje se zvracením, křečemi v břiše, průjmem, někdy i bolestmi hlavy a křečemi svalstva, případně i teplotou. Psychicky jsou stavy otravy také nepříjemné. Bergdoll označil dvě fáze otravy. V první si nemocní myslí, že umírají a ve druhé si přejí, aby umřeli (Arpai a kol., 1977).

Kromě enterotoxikózy je častým původcem lokálních hnisavých zápalových onemocnění, jako například hnisavých vředů, pooperačních infekcí ran

a generalizovaných infekcí s následným napadením určitého orgánu, například zápal srdcových chlopní (Görner a Valík, 2004).

3.6.1.7 Rod *Streptococcus*

Rod *Streptococcus* se řadí do čeledi *Streptococcaceae*. Jedná se o fakultativně anaerobní, grampozitivní koky uspořádané do párů a řetízků. Některé druhy rostou jako krátké tyčinky (Görner a Valík, 2004). Optimální teplota je 37 °C a nemají lipolytické vlastnosti (Hrubý a kol., 1984). Všechny druhy fermentují laktózu na L(+)-kyselinu mléčnou jako hlavní metabolit. Některé streptokoky mohou způsobit u lidí, ale i u zvířat, závažné onemocnění, další jsou příležitostnými patogeny nebo neškodné saprofyty (Görner a Valík, 2004).

V přírodě se patogenní druhy vyskytují zejména v ústní dutině a v nosohltanu a vyvolávají různá zánětlivá onemocnění. Do potravin se dostávají vždy sekundárně (Hrubý a kol., 1984).

Patogenní druhy, které zahrnuje rod *Streptococcus*, způsobují hnisavá onemocnění, spálu, anginu, zubní kazy apod. Tyto patogenní druhy tvoří enzymy, které rozkládají červené krvinky a způsobují tak hemolýzu, což je částečný rozklad krvinek. Rozeznáváme α -hemolýzu, která se projevuje na krevním agaru zelenými zónami kolem kolonií, dále β -hemolýzu, neboli úplný rozklad krvinek, projevující se jasnými zónami, a jako γ -reakce se označuje stav, kdy k rozkladu krvinek vůbec nedochází (Šilhánková, 2002).

Podle staršího klasifikačního systému byl rod rozdělen na šest skupin, a to na pyogenní streptokoky, orální streptokoky, jiné streptokoky, anaerobní streptokoky, enterokoky a streptokoky mléčného kysání. V novém pojetí klasifikace bylo navrženo rozdělit rod *Streptococcus* na tři skupiny, a to pyogenní streptokoky, orální streptokoky a jiné streptokoky (Görner a Valík, 2004).

Anaerobní streptokoky byly z rodu *Streptococcus* vyloučeny. Streptokoky mléčného kysání byly zahrnuty v samostatném rodě *Lactococcus* a enterokoky v samostatném rodě *Enterococcus* (Görner a Valík, 2004).

Skupina pyogenních streptokoků se někdy také nazývá jako β -hemolytické streptokoky a obsahuje tyto druhy – *Streptococcus pyogenes*, *S. equi* ssp. *equi*, *S. ewui* ssp. *zoopidemicus*, *S. dysgalactiae*, *S. canis* a *S. iniae* (Görner a Valík, 2004).

Streptococcus pyogenes je striktní patogen a vyskytuje se jen u člověka. Nejčastějším onemocněním, které vyvolává, je angína - tonzilitida (Schindler, 2014).

Infekce postihuje i rány, popálené plochy a kůži (ekzém, lupénka). Tyto povrchové infekce se mohou v místě rozšířit do tkáně (celulitida) nebo se rozšiřují do regionálních uzlin (lymfadenitida) či krevního oběhu, kde se generalizují (sepse). Způsobuje dva typy kožních infekcí – erysipel a impetigo (Greenwood a kol., 1999).

Skupina orálních streptokoků obsahuje druhy vyskytující se převážně v ústní dutině a v horní části dýchacího traktu lidí a zvířat. Většina orálních streptokoků tvoří α -hemolysin. Z hlediska potravinářské mikrobiologie nejsou významné. Do této skupiny streptokoků zařazujeme – *S. salivarius*, *S. sanguis*, *S. oralis*, *S. pneumoniae*, *S. anginosus*, *S. constellatus*, *S. intermedius*, *S. mutans*, *S. rattus*, *S. cricketus*, *S. sobrinus*, *S. ferus* a *S. macacae* (Görner a Valík, 2004). *Streptococcus pneumoniae*, dříve nazývaný *Diplococcus pneumoniae* (Greenwood a kol., 1999), je grampozitivní kok, vyskytující se ve dvojicích (diplokok). Charakteristickou vlastností je přítomnost polysacharidového pouzdra a typický je také rozpustností kolonií ve žluči (Schindler, 2014). Je nepohyblivý, ovoidního tvaru a neprodukuje katalázu. Většina kmenů je fakultativně anaerobní. Pneumokoky obtížně přežívají mimo rozmezí pH 7 – 7,8 (Greenwood a kol., 1999).

Streptococcus pneumoniae je významný původce invazivních a neinvazivních onemocnění. Neinvazivní onemocnění jsou infekce horního respiračního traktu. Mezi invazivní onemocnění patří pneumonie, meningitida a sepse (Schindler, 2014). Nejvyšší výskyt *Streptococcus pneumoniae* je v zimních měsících (Greenwood a kol., 1999).

Do skupiny jiných streptokoků radíme ty, které nejsou příslušníky skupiny pyogenních a orálních streptokoků. Je zde zařazený i mlékařsky významný druh *Streptococcus thermophilus* (Görner a Valík, 2004).

3.6.1.8 Rod *Micrococcus*

Rod *Micrococcus* patří do čeledi *Micrococcaceae*. Jedná se o grampozitivní nepravidelně uspořádané (Görner a Valík, 2004), často v tetrádách nebo paketech (Votava, 2003), a striktně aerobní koky. Jsou to halotolerantní mikroorganismy (Görner a Valík, 2004) – jsou schopny růstu v přítomnosti 5 % chloridu sodného (Šilhánková, 2002). Redukují dusičnan a pomalu ztekucují želatinu. Dobře rostou na agarových médiích. Některé kolonie jsou zbarvené žlutě, oranžově až červeně (Görner a Valík, 2004).

Optimální teploty růstu jsou 20 – 25 °C. Nerostou při teplotě 45 °C a nesnáší kyselé prostředí (Görner a Valík, 2004). Optimální pH prostředí je 7,4 – 7,6 (Zahradnický a kol., 1956). Karotenoidní barviva přítomná v buňkách chrání před účinky ultrafialové složky slunečního světla, a proto se vyskytují jako častá vzdušná kontaminace (Šilhánková, 2002).

Vyskytují se hojně v přírodě, ve vodách, půdě, prachu, na pokožce lidí a na kůži zvířat. V potravinách tvoří banální mikroflóru. Jsou mírně proteolytické a lipolytické (Hrubý a kol., 1984). Obvykle jsou nepatogenní, ale u osob s oslabenou imunitou jsou spojovány s bakteremiemi, endokarditidami, mozkovými abscesy či septickou artritidou (Votava a kol, 2003).

Do rodu nyní patří jen *Micrococcus luteus* a *Micrococcus lylae* (Votava a kol, 2003).

3.6.1.9 Aktinomycety

Označují se tak grampozitivní aerobní bakterie tvořící dlouhá větvená vlákna (hyfy), které vytváří mycelium nebo se rozpadají v tyčinkovité či kulovité buňky (Šilhánková, 2002). Rostou nejlépe za anaerobních nebo mikroaerofilních podmínek v atmosféře s obsahem 5 – 10 % CO₂. Rostou v úzkém rozmezí teplot 35 – 37 °C (Greenwood a kol., 1999). K rozmnožování slouží u některých rodů spory umístěné buďto jednotlivě, v párech nebo řetězcích podél hyf či na konci hyf. Některé rody tvoří sporangia, obsahující endospory (Šilhánková, 2002). Tím, že jsou schopné tvořit mycelium a rozmnožovat se sporamai, připomínají houby (Cempírková a kol., 1997). Některé druhy jsou patogenní pro člověka nebo zvířata, jiné jsou fytopatogenní (Šilhánková, 2002).

Aktinomycety jsou typickými půdními bakteriemi. Dodávají půdě charakteristický plísňový pach a řada z nich produkuje antibiotika účinná proti bakteriím, houbám a virům. Zřejmě proto jsou aktinomycety nejpočetnější skupinou mikroorganismů v půdě a velmi intenzivně se podílí na odbourávání organických sloučenin v přírodě (Šilhánková, 2002).

K nejčastěji se vyskytujícím aktinomycetám v půdě, i jiných prostředích, patří rod *Streptomyces*, který je producentem nejrůznějších antibiotik. Řada z nich se vyrábí průmyslově, jako například streptomycin, cyklohexinmid, tetracykliny a další (Cempírková a kol., 1997). Některé druhy produkují současně několik antibiotik odlišného složení i spektra mikroorganismů, proti nimž jsou účinná. Většina těchto

antibiotik však má určitou toxicitu i pro živočichy a některé druhy produkují barviva, která jsou vylučována do prostředí. Rozmnožování se děje pomocí kulovitých až dlouze elipsoidních spor, které se tvoří v řetězcích na koncích hyf (Šilhánková, 2002).

Rod *Streptomyces* zahrnuje přes 140 druhů a k jejich určení se používá morfologie spor a jejich řetězců, barva spor, mycelia i barviv uvolňovaných do prostředí a další faktory (Šilhánková, 2002).

Aktinomykózu nejčastěji způsobuje *Actinomyces israelii*. *Actinomyces odontolyticus* se vyskytuje v hlubokém zubním kazu. *Actinomyces meyeri* bývá přítomna jako součást bakteriální flóry mozkových abscesů a *Actinomyces bovis* je původcem cervikofaciálních infekcí dobytka (Greenwood a kol., 1999).

3.6.2 Plísně

3.6.2.1 Rod *Aspergillus*

Rod *Aspergillus* patří mezi houby (*Fungi*) a spadá do čeledi *Trichocomaceae* (Malíř a kol., 2003). Vegetativně se rozmnožují konidiiemi, které vznikají v řetězcích z fialid na rozšířeném konci konidioforu. Jde o rod vyskytující se na nejrůznějším materiálu, neboť je velmi bohatě vybaven enzymy (amylolytickými, pektolytickými a proteolytickými). Některé druhy jsou vhodné pro průmyslovou přípravu těchto enzymů, jež se pak používají v potravinářském průmyslu nebo při výrobě pracích prášků (Šilhánková, 2002). Mají vzdušné mycelium a dlouhé konidiofory s trsem konidií. Konidie se uvolňují a mohou být vdechnuty, po vyklíčení vyvolávají infekční proces v plicích. Zdrojem infekce bývá prach nebo ptačí trus (Schindler, 2014).

Vyskytuje se ubikvitárně, je častým původcem kažení poživatin a krmiv, ovoce a ovocných produktů, zeleniny a zeleninových potravin, tuků a na tuky bohatých potravin (Görner a Valík, 2004).

V současnosti je popsáno několik set druhů těchto hub, jenom kolem dvaceti z nich však prokazatelně vyvolávají infekce u člověka (Votava a kol., 2003). Ve skutečnosti však za více než 95 % všech infekcí odpovídají pouze tři druhy – *Aspergillus fumigatus*, *Aspergillus flavus* a *Aspergillus niger*. Z dalších druhů jsou pravidelně popisovány infekce vyvolané *Aspergillus terreus*, *A. nidulans*, *A. oryzae*, *A. ustus*, *A. versicolor* (Malíř a kol., 2003).

Tato skupina mikromycet je rovněž nechvalně proslulá tím, že produkuje mykotoxiny poškozující zejména ledviny a játra (Votava a kol., 2003). Vedle infekčních

onemocnění se aspergily významně podílí rovněž na mykoalergiích a alergických formách aspergilózy, opět převážně *A. fumigatus*, méně často *A. flavus* a *A. niger* (Malíř a kol., 2003).

Aspergillus flavus má rychle rostoucí konidie, hrubě zrnité, žlutozeleně či žlutoolivově zbarvené. Mycelium je bílé. Spodní strana většinou světlá, někdy světle hnědá až naoranžovělá (Kalhotka, 2014).

Optimální teploty jsou okolo 33 °C. Může však růst v rozmezí teplot od 10 – 12 do 43 – 48 °C. Vyskytuje se na celém světě, hojněji však v subtropických a tropických oblastech, a to na různých substrátech rostlinného původu a v půdě. Velmi často bývá izolován z burských oříšků a cereálií. Může produkovat hepatotoxické a kancerogenní aflatoxiny B a další látky (Kalhotka, 2014). Jak uvádí Šilhánková (2002) tyto aflatoxiny způsobují rakovinu jater a jsou též mutagenní.

Aspergillus niger má rychle rostoucí konidie, hrubě zrnité, hnědočerné až černé. Mycelium je bílé až světle žluté. Kolonie jsou někdy paprscitě rýhované. Spodní strana kolonií bývá světlá nebo žlutá (Kalhotka, 2014).

Kalhotka (2014) uvádí optimální teploty okolo 35 – 37 °C, minimální 6 – 8 °C a maximální 45 – 47 °C. Vyskytuje se celosvětově velmi hojně, hlavně v teplejších oblastech. Často se vyskytuje i v xerofilních podmínkách. Produkuje mykotoxin ochratoxin A, některé kmeny mohou produkovat fumonisin B a další (Kalhotka, 2014). Používá se pro výrobu kyseliny citronové (Šilhánková, 2002).

Aspergillus fumigatus vytváří rychle rostoucí kolonie, sametové, modrozelené, elipsoidní až kulovité, jemně bradavičnaté. Výskyt je celosvětový, nejhojnější je však v teplejších oblastech a na rozmanitých plodinách. Je schopen růstu i při 50 °C. Produkuje mykotoxiny fumitremorginy A a B, verruculogen, gliotoxin apod. (Kalhotka, 2014). Způsobuje onemocnění dýchacích cest lidí i zvířat (Šilhánková, 2002).

Aspergillus oryzae se používá k výrobě alkoholických nápojů (z rýže) a k výrobě dalších potravin. Produkuje amylytické a proteolytické enzymy, mykotoxiny a mají i lipolytickou aktivitu (Kalhotka, 2014).

3.6.2.2 Rod *Penicillium*

Rodové označení *Penicillium* poprvé použil německý botanik Johann H. F. Link v roce 1809 pro konidiální stádium mikroskopické houby. Český název pro rod *Penicillium* štětičkovec vznikl tak, že tvar rozmnožovací nepohlavní struktury připomínal našim botanikům štětičky (Malíř a kol., 2003).

Rod *Penicillium* zahrnuje asi 225 akceptovaných druhů. Fruktifikační struktura konidiofor je tvořena stopkou a větvenou částí zvanou penicillus. Stopka může být zakončena rozšířenou částí označovanou jako vezikulum, může být hladká, drsná nebo bradavičnatá. Fialidy jsou buňky, produkující konidie, mající hlavičkovitý či hlavicovitý nebo jehlicovitý tvar. Vyrůstají přímo na stopce nebo z metul. Metuly jsou buňky vyrůstající v přeslenech ze stopky na jedné nebo více větvích. Větve jsou buňky nacházející se mezi stopkou a metulami. Každý podrod má specifickou stavbu konidioforů (Kalhotka, 2014).

Příslušníci rodu *Penicillium* patří k nejrozšířenějším vláknitým mikromycetám teplého a mírného klimatu. Jejich spory jsou prakticky všudypřítomné, a proto jsou tyto mikromycety také velmi častými kontaminanty potravin, životního a pracovního prostředí člověka (Malíř a kol., 2003).

Penicillium chrysogenum se nepohlavně rozmnožuje konidiiemi. Kolonie jsou poměrně rychle rostoucí, po 7 dnech při 25 °C dosahují cca 30 – 45 mm v průměru. Obvykle jsou sametové, s paprscitými rýhami, bílým až nažloutlým myceliálním okrajem (Kalhotka, 2014). Jak uvádí Kalhotka (2014) optimální teploty jsou okolo 23 °C, maximální 37 °C a minimální 4 °C. Patří mezi xerofilní (suchomilné) druhy. Vyskytuje se velmi hojně po celém světě. Je jedním z nejběžnějších penicilií kontaminujících potraviny rostlinného i živočišného původu, krmiva i různé suroviny. Malíř (2003) uvádí mezi potraviny, kde se *Penicillium chrysogenum* vyskytuje, například obiloviny, rýži, koření, ořechy, skladovanou vinnou révu, šunku, sušené ryby apod.

Je schopen produkovat antibiotikum penicilin. Příležitostně byl zaznamenán jako původce různých typů mykóz u člověka. Produkuje mykotoxin roquefortin C, PR-toxin, kyselinu sekalonovou a meleagrin (Kalhotka, 2014).

Penicillium roqueforti se nepohlavně rozmnožuje konidiiemi. Kolonie jsou rychle rostoucí, dosahují cca 40 – 70 mm v průměru, jsou sametové, většinou bez rýh nebo jemně rýhované, tmavozelené, často s bílým trásnitým okrajem. Jak uvádí Kalhotka (2014) roste v teplotním rozmezí 4 – 35 °C. Používá se pro výrobu sýrů typu Roquefort, může se však vyskytnout i jako kontaminant jiných potravin či krmiv. Podle Malíře (2003) se vyskytuje na obilovinách, rýži, čerstvé zelenině, arašídech, mandlích, mase a masných výrobcích, syrovém mléku apod.

Roste rychle při chladničkových teplotách a způsobuje kažení uskladněných potravin. V čisté kultuře je schopen produkovat PR-toxin, dále může produkovat roquefortin C a další (Kalhotka, 2014).

Penicillium camemberti tvoří vlnaté nebo vločkovité kolonie, zpočátku bílé, pak světle zelené. Používá se při výrobě sýrů s povrchovou plísní, někdy kontaminuje sýry uchovávané v chladničce. Může produkovat mykotoxin kyselinu cyklopiazonovou v sýrech uchovávaných při 25 °C 5 dní, ne však v sýrech uchovávaných v chladničce (Kalhotka, 2014).

Penicillium nalgiovense tvoří vlnité nebo vločkovité kolonie, zpočátku bílé pak žlutozelené. Vegetativní mycelium je někdy růžové až červené, lem kolonie zůstává bílý. Spodní strana je oranžovočervená až hnědočervená. Využívá se na výrobu sýrů a trvanlivých plísňových salámů (Kalhotka, 2014) a podle Malíře (2003) je přítomna i v ořeších.

Penicillium expansum tvoří modrozelené až šedozelené kolonie se zrnitým povrchem nebo s jasně viditelnými svazky konidioforů. Okrajová zóna je paprscitě rýhovaná. Spodní strana je bezbarvá někdy žlutohnědá. Konidie jsou elipsoidní, ve stáří kulovité. Vykytuje se hojně v přírodě, v ovzduší a půdě. Má celulolytickou aktivitu, napadá různé potraviny, zeleninu a ovoce. Produkuje antibakteriální antibiotika a mykotoxiny patulin, citrinin, roquefortin C a chetoglobosin C (Kalhotka, 2014).

3.7 Boj proti mikroorganismům

Většina potravin, potravinářských surovin, meziproduktů a polotovarů je vhodnou živnou půdou pro mikroorganismy, a proto musí být proti jejich rozkladné činnosti během zpracování, skladování a distribuce chráněna (Šilhánková, 2002). Činnost mikroorganismů může být jak prospěšná, tak i škodlivá. Prospěšně se využívá jejich schopnosti k výrobě látek využívaných ve výživě (kvasné nápoje, mléčné výrobky, ocet, kyselina citronová, kyselina mléčná apod.), pro průmysl (rozpouštědla, enzymy apod.), ve zdravotnictví (antibiotika, steroidní hormony) a také pro odstraňování organických odpadních látek z potravinářské výroby. Škodlivě se mikroorganismy projevují tím, že způsobují různá onemocnění lidí, zvířat a rostlin, ale také napadají potravinářské výrobky a svou činností výrobky znehodnocují (Hampl, 1968).

Boj proti mikroorganismům nespočívá jen v přímé inaktivaci mikroorganismů vyskytujících se v koření, ale začíná již při vstupní kontrole koření. Dále následuje

čištění a dekontaminace (Valchař, 2005). Je zapotřebí zachovávat přísné hygienické zásady během výroby a skladování potravin, aby nedošlo ke kontaminaci potravin mikroorganismy a k jejich pomnožení. Pracovníci musí dbát na čistotu rukou a oděvů (Šilhánková, 2002). Pokrývka hlavy, nebo alespoň čelenka, má zabránit padání vlasů a prachu z nich do zpracovávaného materiálu. Pracovníci u linek, kde je výroba mikrobiální kontaminací zvláště ohrožená, si musí oděv a obuv vyměňovat v prostorách izolační předsíně (Šilhánková, 2002).

3.7.1 Termosterilace

Jak uvádí Valchař (2005) jednou z možností termosterilace je sterilace vodní párou. Při této metodě dochází ke kontaktu koření s horkou vodní párou o teplotě pohybující se v rozmezí 100 až 140 °C a jeho navlhčení. Následuje sušení koření v kontinuální sušící jednotce s řízeným prouděním vzduchu a konečnou fází je šokové zchlazení koření pod teplotu 15 °C.

3.7.2 Sterilace ionizujícím zářením

Podle vyhlášky č. 133/2004 Sb., lze koření a kořenící přípravky ošetřit ionizujícím zářením. Ionizující záření je definováno jako záření tvořené částicemi nabitými, nenabitými nebo obojími, schopnými přímo nebo nepřímo ionizovat. Nejvyšší přípustná dávka ionizujícího záření pro koření a kořenící přípravky je podle této vyhlášky stanovena na hodnotu 10,0 kGy.

Valchař (2005) uvádí, že ošetření potravin ionizujícím zářením patří k metodám, kterými je zajišťována mikrobiální dekontaminace. Takto ošetřená potravina si zachovává nutriční i senzorické vlastnosti a je-li potravina ozařována správně, dochází ke zničení patogenních nesporulujících mikroorganismů.

3.7.3 Chemosterilace

Látky používané k ošetření musí vyhovovat různým požadavkům, např. aby nebyly jedovaté, byly co nejúčinnější na všechny choroboplodné mikroorganismy, byly levné a s jednoduchým použitím. Potravinářství vyžaduje ještě další kritéria, např. použitý prostředek nesmí negativně neovlivňovat výrobu (zápach). Polotovary a potravinářské výrobky nesmí poškozovat výrobní zařízení (Hampl, 1968) nebo ovlivňovat zdraví zaměstnanců či konzumentů (Šilhánková, 2002). Dále musí působit nejen na choroboplodné, ale i na nežádoucí mikroby, zvláště sporotvorné, a také nesmí ztrácet své mikrobicidní vlastnosti při uchovávání v suchém stavu ani v roztoku,

a ani s dezinfikovanými předměty (Hampl, 1968). Účinnost těchto dezinfekčních prostředků má mít co nejširší spektrum a nemá klesat během uchování (Šilhánková, 2002).

Z anorganických sloučenin mají mikrobicidní účinek jak silné kyseliny, tak i silné zásady (NaOH, KOH), neboť poškozují buněčnou stěnu i cytoplazmatickou membránu buněk. Pro svůj agresivní účinek na zařízení se uplatňují jen velmi vzácně. Z organických sloučenin jsou klasickými baktericidními prostředky fenol a kresoly. Tyto látky jsou účinné v 2,5 – 5 % roztoku, ale pro svůj pronikavý zápach jsou v potravinářském průmyslu nevhodné i pro dezinfekci prostor a podlah. V plynné formě se uplatňuje ethylenoxid (tj. oxiran) ke sterilaci obalů, Petriho misek z plastů, léků a koření. Musí se s ním ovšem pracovat ve zvláštních bezpečnostních zařízeních, protože je jedovatý, mutagenní a výbušný (Šilhánková, 2002).

4 Materiál a metodika

V praktické části bylo úkolem provést mikrobiologické analýzy vybraných vzorků koření a vzájemně je porovnat jejich výsledky.

4.1 Použitý materiál

Vzorky koření od různých výrobců byly zakoupeny v obchodních řetězcích. Jednalo se o čtyři vzorky pepře černého celého a čtyři vzorky provensálského koření.

U pepře celého to byly vzorky značky Kotányi, Vitana, J. C. Horn a Basic. U provensálského koření se jednalo o značky Kotányi, Vitana, Tesco a Basic.

4.2 Použitá živná média

Pro mikrobiologické analýzy byla použita následující živná média:

1) Chloramphenicol glucose agar (Biokar Diagnostics, Francie)

Chloramfenikol glukozový agar je určený pro detekci a stanovení počtu kvasinek a plísní. Pro přípravu se naváží 40,1 g dehydrovaného kultivačního média a smíchá se s 1 litrem destilované vody. Hodnota pH média připraveného k použití by měla být při 25 °C $6,6 \pm 0,2$. Poté se sterilizuje v autoklávu při 121 °C po dobu 15 minut.

Složení média (1 l obsahuje):

- Kvasnicový extrakt 5 g
- Glukosa 20 g
- Chloramfenikol 0,1 g
- Bakteriologický agar 15 g

2) Violet red bile agar (VRBL) (Biocar Diagnostics, Francie)

Jedná se o selektivní médium pro detekci a stanovení počtu koliformních bakterií. Pro přípravu agaru si navážíme 38,5 g dehydrovaného kultivačního média a rozpustíme ji v 1 litru destilované vody. Hodnota pH media připraveného k použití by měla být při 25 °C $7,4 \pm 0,2$. Živné médium se nesterilizuje v autoklávu, pouze se rozvaří ve vodní lázni.

Složení agaru (1 l obsahuje):

- Peptic digest of meat 7 g
- Extrakt z kvasnic 3 g
- Laktóza 10 g

- Žlučové soli 1,5 g
- Chlorid sodný 5 g
- Neutrální červeně 30 mg
- Krystalická violet' 2 mg
- Bakteriologický agar 12 g

3) Plate count agar (PCA)

Jde o médium určené pro stanovení celkového počtu mikroorganismů. Pro přípravu agaru se naváží 20,5 g dehydrovaného média a smíchá se s 1 litrem destilované vody. Hodnota pH média připraveného k použití by měla být při 25 °C $7,0 \pm 0,2$. Poté se sterilizuje v autoklávu při 121 °C po dobu 15 minut.

Složení agaru (1 l obsahuje):

- Trypton 5 g
- Extrakt z kvasnic 2,5 g
- Glukóza 1 g
- Bakteriologický agar 12 g

4.3 Postup při vaření živných půd

Po navážení a rozpuštění dehydrovaného media v destilované vodě byly přelity živné půdy do skleněných lahví o objemu 500 ml. Následovala sterilace v autoklávech při 121 °C po dobu 15 minut a poté byly živné půdy uloženy do lednice. Před vlastním použitím živných půd pro analýzy byly rozehráty a poté ochlazeny na teplotu cca 35 až 45 °C. Takto připravenou živnou půdou byly zality vzorky v Petriho miskách.

VRBL bylo připraveno pouze rozvařením ve vodní lázni, nesterilovalo se v autoklávu.

4.4 Zpracování vzorků

Navážka koření (5 g) byla smíchána s 45 ml fyziologického roztoku v Erlenmayerově baňce. Vzorky se 15 minut třepaly na třepáčce. Následně byla připravena řada desetinného ředění. Příslušné ředění bylo napipetováno do připravených a označených Petriho misek pro jednotlivé vzorky a poté zalito příslušným živným médiem. Připravené ředění bylo v Petriho misce s živným médiem pečlivě promícháno krouživými pohyby, aby se živná půda rozptýlila do všech částí Petriho misky. Směsi vzorků s půdou se nechaly zatuhnout a po úplném zatuhnutí inkubovali v termostatech.

4.5 Stanovení mikroorganismů

V příslušných vzorcích koření byly stanovovány následující skupiny mikroorganismů:

- Celkový počet mikroorganismů (CPM) na PCA agaru při 30 °C na 72 hodin.
- Termorezistentní bakterie na PCA agaru, po pasteraci vzorku 10 minut při 85 °C, při 30 °C na 48 hodin.
- Koliformní bakterie byly na VRBL agaru při 37 °C na 24 hodin.
- Kvasinky a plísně při 25 °C na 120 hodin.

4.6 Vyjádření výsledků

Po uplynutí doby inkubace jednotlivých skupiny mikroorganismů byly na Petriho miskách odečteny počty narostlých typických kolonií. Pro každý vzorek a příslušné ředění byla připravena dvě opakování. Výsledek byl poté přepočten pomocí rovnice

$$N = \frac{\Sigma a+b+c+d}{V \cdot (n_1+0,1 n_2) \cdot d}$$
 a vyjádřen jako KTJ/g.

a, b, c, dpočty kolonií na jednotlivých Petriho miskách

Vnapipetovaný objem vzorku do příslušného Petriho misky

n₁počet Petriho misek použitých pro prvním ředění

n₂počet Petriho misek použitých pro druhé ředění

dFaktor prvního pro výpočet použitého ředění

5 Výsledky a diskuze

V rámci experimentu byly provedeny mikrobiologické analýzy čtyř různých vzorků pepře celého a provensálského koření pocházejících od různých výrobců. Stanovovány byly následující skupiny mikroorganismů: celkový počet mikroorganismů (CPM), koliformní bakterie, termorezistentní mikroorganismy a kvasinky a plísně. Výsledky analýz jsou uvedeny v tabulkách číslo 5 – 12.

Tabulka č. 5 – Celkové počty mikroorganismů (CPM) ve vzorcích pepře celého

Vzorek	Počet CPM (KTJ/g)
Pepř celý - vzorek č. 1	$2,7 \times 10^3$
Pepř celý - vzorek č. 2	$5,5 \times 10^3$
Pepř celý - vzorek č. 3	$2,3 \times 10^5$
Pepř celý - vzorek č. 4	$4,5 \times 10^3$

Tabulka č. 6 – Počty koliformních bakterií ve vzorcích pepře celého

Vzorek	Počet koliformních MO (KTJ/g)
Pepř celý - vzorek č. 1	ND
Pepř celý - vzorek č. 2	ND
Pepř celý - vzorek č. 3	$5,5 \times 10^2$
Pepř celý - vzorek č. 4	5

ND = nedetekováno

Tabulka č. 7 – Počty termorezistentních mikroorganismů ve vzorcích pepře celého

Vzorek	Počet termorezistentních MO (KTJ/g)
Pepř celý - vzorek č. 1	55
Pepř celý - vzorek č. 2	55
Pepř celý - vzorek č. 3	$7,7 \times 10^3$
Pepř celý - vzorek č. 4	$2,6 \times 10^2$

Tabulka č. 8 – Počty kvasinek a plísni ve vzorcích pepře celého

Vzorek	Počet kvasinek (KTJ/g)	Počet plísni (KTJ/g)
Pepř celý - vzorek č. 1	ND	41
Pepř celý - vzorek č. 2	ND	41
Pepř celý - vzorek č. 3	ND	55
Pepř celý - vzorek č. 4	ND	27

ND = nedetekováno

CPM se ve vzorcích pepře celého pohybovaly v rozmezí $2,7 \times 10^3$ – $2,3 \times 10^5$. Hodnoty koliformních bakterií byly u dvou ze čtyř vzorků negativní. Počty koliformních bakterií u vzorků s pozitivním záchytem činily u vzorku číslo čtyři 5 KTJ/g a u vzorku číslo tři $5,5 \times 10^2$ KTJ/g. Při stanovení termorezistentních mikroorganismů přítomných ve vzorcích pepře celého bylo zjištěno množství mikroorganismů v rozmezí 55 KTJ/g – $7,7 \times 10^3$ KTJ/g. Zjištěné hodnoty plísni se pohybovaly v rozmezí 27 – 55 KTJ/g. Poslední stanovovanou skupinou byly kvasinky, které nebyly ve vzorcích pepře celého detekovány. Nejvíce kontaminovaný byl vzorek číslo 3 a nejméně kontaminovaný vzorek číslo 1.

Tabulka č. 9 – Celkové počty mikroorganismů (CPM) ve vzorcích provensálského koření

Vzorek	CPM (KTJ/g)
Provensálské koření - vzorek č. 1	$4,0 \times 10^5$
Provensálské koření - vzorek č. 2	$5,1 \times 10^4$
Provensálské koření - vzorek č. 3	$2,5 \times 10^6$
Provensálské koření - vzorek č. 4	$9,5 \times 10^3$

Tabulka č. 10 – Počty koliformních bakterií ve vzorcích provensálského koření

Vzorek	Počet koliformních MO (KTJ/g)
Provensálské koření - vzorek č. 1	$4,5 \times 10^3$
Provensálské koření - vzorek č. 2	$2,5 \times 10^3$
Provensálské koření - vzorek č. 3	$8,5 \times 10^3$
Provensálské koření - vzorek č. 4	$8,3 \times 10^2$

Tabulka č. 11 – Počty termorezistentních mikroorganismů ve vzorcích provensálského koření

Vzorek	Počet termorezistentních MO (KTJ/g)
Provensálské koření - vzorek č. 1	$1,1 \times 10^3$
Provensálské koření - vzorek č. 2	$4,4 \times 10^2$
Provensálské koření - vzorek č. 3	$1,5 \times 10^4$
Provensálské koření - vzorek č. 4	$2,9 \times 10^2$

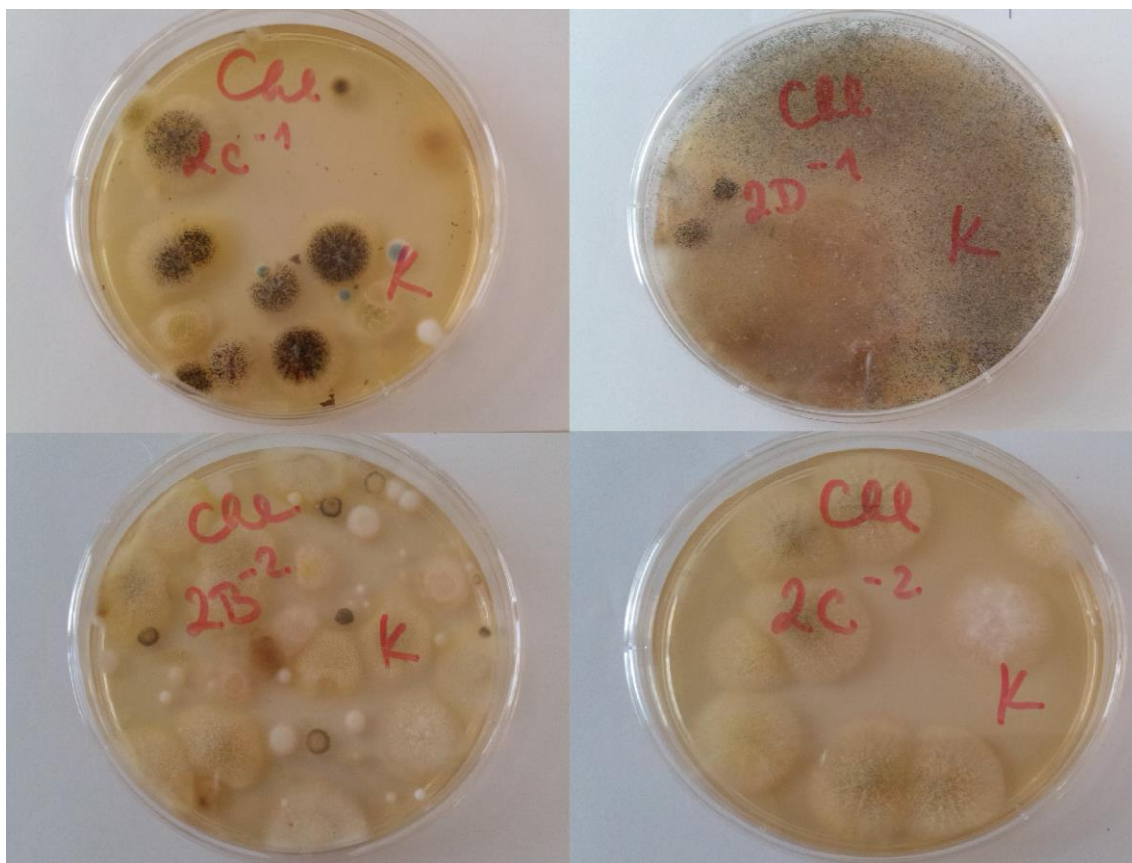
Tabulka č. 12 – Počty kvasinek a plísní ve vzorcích provensálského koření

Vzorek	Počet kvasinek (KTJ/g)	Počet plísní (KTJ/g)
Provensálské koření - vzorek č. 1	77	$1,9 \times 10^3$
Provensálské koření - vzorek č. 2	36	$5,1 \times 10^2$
Provensálské koření - vzorek č. 3	ND	$2,0 \times 10^3$
Provensálské koření - vzorek č. 4	4,5	5×10^2

Ve vzorcích provensálského koření byly CPM zjištěny v množstvích $9,5 \times 10^3$ - $2,5 \times 10^6$ KTJ/g. Počty koliformních bakterií se pohybovaly v rozmezí $8,3 \times 10^2$ – $8,5 \times 10^3$ KTJ/g a počet termorezistentních mikroorganismů v rozmezí $2,9 \times 10^2$ – $1,5 \times 10^4$ KTJ/g. Plísně byly ve vzorcích tohoto koření detekovány v množství 5×10^2 – $2,0 \times 10^3$ KTJ/g. Kvasinky nebyly u jednoho ze vzorků detekovány a u zbývajících se jejich počty pohybovaly v rozmezí 4,5 – 77 KTJ/g. Narostlé kolonie kvasinek a plísní ve vzorcích provensálského koření jsou vyobrazeny na obrázku č. 1.

Ze zjištěných údajů experimentálního stanovení vyplývá, že nejvíce kontaminován mikroorganismy byl vzorek číslo 3. Nejméně kontaminován byl pak vzorek číslo 4.

Pro porovnání s legislativními předpisy bylo využito Nařízení Komise (ES) č. 2073/2005 o mikrobiologických kritériích pro potraviny. Toto nařízení však konkrétně neuvádí limitní hodnoty pro koření a koření přípravky. ČSN 569609 o mikrobiologických kritériích pro potraviny uvádí pouze limitní hodnoty pro vybrané patogeny a potenciálně toxinogenní plísně. Ty však v rámci našich analýz stanovovány nebyly.



Obrázek č. 1 – Narostlé kolonie kvasinek a plísní ve vzorcích provensálského koření

Výsledky z experimentu byly porovnávány s podobnými údaji v práci Dostálová (2012) viz tabulka č. 13, která zjistila podobnou úroveň mikrobiální kontaminace.

Tabulka č. 13 – Porovnání výsledků analýzy vzorků koření s počty mikroorganismů zjištěnými v práci Dostálová (2012) v KTJ/g

Stanovované skupiny MO	Hodnoty zjištěné Dostálová (2012)	Hodnoty zjištěné experimentem
CPM	$4,1 \times 10^4 - 1,8 \times 10^6$	$9,5 \times 10^3 - 2,5 \times 10^6$
Koliformní mikroorganismy	$1,9 \times 10^3 - 8,4 \times 10^4$	$8,3 \times 10^2 - 8,5 \times 10^3$
Plísně	$5,5 \times 10^2 - 1,3 \times 10^3$	$5 \times 10^2 - 2,0 \times 10^3$
Kvasinky	2 - 65	4,5 - 77

Görner a Valík (2004) uvádí doporučený limit pro plísně vyskytující se v koření do 10^5 KTJ/g a výstražný limit 10^6 KTJ/g. Výsledné hodnoty stanovené experimentem v případě pepře celého i provensálského koření splňují tyto limity.

Večeřová (2012) ve své práci uvádí výsledky stanovení CPM a termorezistentních mikroorganismů u pepře celého. Zjistila jeho nižší kontaminaci, CPM byl maximálně $2,7 \times 10^3$ KTJ/g a počty termorezistentních mikroorganismů maximálně $1,8 \times 10^2$ KTJ/g. Námi zjištěné hodnoty byly i několikanásobně vyšší (viz tabulka č. 5 a tabulka č. 7).

6 Závěr

Bakalářská práce se zabývá mikroflórou různých druhů koření. Skladba mikroorganismů v koření může být značně rozdílná. Liší se podle druhu koření, místa získávání, hygienické úrovně zpracování, skladování a další manipulace s kořením. U koření uchovávaného v suchu, při nižší teplotě a v dobře větrané místnosti se počet mikroorganismů snižuje. Naopak u koření, které je uchováváno ve vlhku se počet mikroorganismů a plísní rychle zvyšuje. Zdrojem mikroorganismů bývá i půda a prach, se kterými přichází koření často do styku a bývá jimi znečištěno.

V experimentálním stanovení byly analyzovány čtyři vzorky pepře černého celého a provensálského koření. Provedeno bylo stanovení celkového počtu mikroorganismů, termorezistentních mikroorganismů, koliformních bakterií a kvasinek a plísní. Z provedených porovnání bylo zjištěno, že vzorky provensálského koření mají vyšší hodnoty u CPM, plísní a kvasinek a nižší zjištěné množství koliformních bakterií. U vzorků pepře celého se porovnávané hodnoty CMP i termorezistentních mikroorganismů pohybovaly nad hodnotami uváděnými literaturou. Zjištěné počty plísní nepřekračovaly doporučený limit 10^5 KTJ/g.

Rozdíly v množství mikroorganismů mohly být způsobeny již při sklizni koření, jeho zpracování nebo špatným zacházením při skladování koření.

Na závěr je potřeba zmínit, že i když se koření většinou používá ve velmi malých množstvích, nesmíme u něj zanedbávat mikrobiologickou jakost, hlavně při použití u potravin tepelně neošetřených. Některé patogenní mikroorganismy dokážou způsobovat zdravotní potíže již ve velmi malých dávkách, a proto je třeba dbát na hygienu a správné podmínky během celého technologického procesu.

S délkou skladování ztrácí koření barvu a vůni. Ale při správném skladování si koření dokáže uchovávat tyto vlastnosti déle. Koření by se mělo skladovat v suchu, v uzavřených, tmavých nádobách při pokojové teplotě.

7 Seznam použité literatury

Arpai, J. a Bartl, V. *Potravinářská mikrobiologie*, Bratislava : Nakladatelstvo technickej a ekonomickej literatury, 1977.

Cempírková, R., Lukášová, J. a Hejlová, Š. *Mikrobiologie potravin*, 1. vydání, České budějovice : Jihočeská univerzita, 1997. 165 s. ISBN 80-7040-254-7

ČSN 569609 *o mikrobiologických kritériích pro potraviny*

Dostálová L. *Mikroflóra vybraných druhů kořenících směsí bez přídavku soli*, Mendelova univerzita v Brně. 2012, 75 s.

Farmer-Knowlesová, H. *Léčivé rostliny od A do Z*, 1. vydání Praha : Metafora, spol. s.r.o., 2011. Přel. Kateřina Lipenská. 400 s. ISBN 978-80-7359-270-7

Görner, F. a Valík, L'. *Aplikovaná mikrobiológia požívatin : princípy mikrobiológie požívatin, potravinársky významné mikroorganizmy a ich skupiny, mikrobiológia potravinárskych výrob, ochorenia mikrobiálneho pôvodu, ktorých zárodky sú prenášané požívatinami*, 1. vydání Bratislava : Vydavateľství Malé centrum, 2004. 528 s. ISBN 80-967064-9-7

Greenwood, D., Slack, R.C.B., Peutherer J.F., *Lékařská mikrobiologie – Přehled infekčních onemocnění: patogeneze, imunita, laboratorní diagnostika a epidemiologie*, Grada Publishing, 1999. Přel. Prof. MUDr. Jiří Schindler, DrSc., ISBN 80-7169-365-0

Hampl, B. *Potravinářská mikrobiologie*, 1. Vydání, Praha : Nakladatelství Alfa, 1968. 276 s.

Heredia, N., Wesley, I. a Garcia, S. *Microbiologically Safe Foods*, vydal John Wiley & Sons, Inc., Hoboken, New Jersey, 2009. ISBN 978-0-470-05333-1

Hrubý, S., Bartl, V., Emberger, O., Korbelářová, T., Polster, M. a Žežulková, M. *Mikrobiologie v hygieně výživy*, 1984

Iburg, A. *Lexikon koření: původ, chuť, použití, recepty*, 1. vydání Čestlice : Rebo Productions CZ, spol. s. r. o., 2004. Přel. Mgr. Dagmar Vodičková. 301 s. ISBN 80-7234-375-0

Kalhotka, L. *Mikromycety – vláknité mikromycety (plísně) a kvasinky – v prostředí člověka*, Mendelova univerzita v Brně, 2014. 78 s. ISBN 978-80-7375-943-8

Kameník, J., Bořilová, G., Hulánková, R., Juránková, J., Lorencová, A., Neumayerová, H., Steinhauserová, I., Steinhauser, L., Steinhauserová, P., Svobodová, I. a Vašíčková, P., *Maso jako potravina – Produkce, složení a vlastnosti masa*, Veterinární a farmaceutická univerzita Brno, Časopis Maso, 2014. ISBN 978-80-7305-673-5

Křikava, J. *Speciální rostliny – Pěstování kořeninových, léčivých a aromatických rostlin*, 1.vydání, Brno : Vysoká škola zemědělská v Brně, 1993. 134 s. ISBN 80-7157-084-2

Lánská, D. *Zelené koření 1.: pěstované druhy*, Nakladatelství Lidové noviny, Praha 1999. ISBN 80-7106-331-2

Lambertová Ortizová, E. *Encyklopedie koření, bylinek a pochutin: jedinečné recepty mnoha chutí*, 1. vydání Bratislava : Příroda, a. s., 1997. Přel. RNDr. Dana Čížková, CSc. a Ing. Lenka Šplíchalová. 288 s. ISBN 80-7-00996-5

Nařízení Komise (ES) č. 2073/2005 o mikrobiologických kritériích pro potraviny

Nemec, P. *Úvod do všeobecnej mikrobiologie*, Vydala Slovenská akadémia vied v Bratislavě, 1953. 289 s.

Neugebauerová, J. *Pěstování léčivých a kořeninových rostlin*, 2. vydání, Brno : Mendelova univerzita v Brně, 2016. 118 s. ISBN 978-80-7509-383-7

Sedláček, I. *Taxonomie prokaryot*, 1. vydání Masarykova univerzita, 2006. ISBN 80-210-4207-9

Schindler, J. *Mikrobiologie pro studenty zdravotnických oborů*, 2. vydání Praha : Grada Publishing, a. s., 2014. 224 s. ISBN 978-80-247-4771-2

Šilhánková, L. *Mikrobiologie pro potravináře a biotechnology*, 3. vydání Praha : nakladatelství Academia, 2002. 363 s. ISBN 80-200-1024-6

Valíček, P. *Koření a jeho léčivé účinky*, Nakladatelství Start Benešov, 2005. 135 s. ISBN 80-86231-34-8

Valchař, P. Mikroby a koření (II) – Zajištění zdravotní nezávadnosti a kvasity, *Maso : odborný časopis pro výrobce, zpracovatele a prodejce masa, masných výrobků a lahůdek*. 2005, roč. 16, č. 3, s. 24 – 26

Vermeulen, N. *Encyklopedie bylin a koření*, Přel. PhDr. Petra Martínková, Čestlice : Rebo Productions, 1999. 320 s. ISBN 80-7234-067-0

Večeřová, E. *Mikrobiální obraz koření* (Diplomová práce), Masarykova univerzita v Brně, 2012. 123 s.

Votava, M., Černohorská, L., Heroldová, M., Holá, V., Mejzlíková, L., Ondrovčík, P., Růžička, F., Dvořáčková, M., Woznicová, V. a Zahradníček, O., *Lékařská mikrobiologie speciální*, Brno : Neptun, 2003, dotisk 2006. ISBN 80-902896-6-5

Vlková, E., Rada, V. a Killer, J. *Potravinářská mikrobiologie*, 2. vydání, Praha : Česká zemědělská univerzita v Praze, 2009. 168 s. ISBN 978-80-213-1988-2

Vyhláška Ministerstva zemědělství č. 331/1997 Sb. o potravinách a tabákových výrobcích a o změně a doplnění některých souvisejících zákonů, pro koření, jednou sůl, dehydratované výrobky a ochucovadla a hořčici, ve znění pozdějších předpisů

Zahradnický, J. a spolupracovníci, *Speciální mikrobiologie*, 1. vydání Praha : Státní zdravotnické nakladatelství, n.p., 1956. 408 s.

8 Seznam tabulek

Tabulka č. 1 - Přípustné záporné hmotnostní nebo objemové odchylky od spotřebitelského balení

Tabulka č. 2 - Členění koření na skupiny a podskupiny

Tabulka č. 3 - Smyslové požadavky na jakost

Tabulka č. 4 - Mikrobiologické limity pro koření

Tabulka č. 5 – Celkové počty mikroorganismů (CPM) ve vzorcích pepře celého

Tabulka č. 6 – Počty koliformních bakterií ve vzorcích pepře celého

Tabulka č. 7 – Počty termorezistentních mikroorganismů ve vzorcích pepře celého

Tabulka č. 8 – Počty kvasinek a plísní ve vzorcích pepře celého:

Tabulka č. 9 – Celkové počty mikroorganismů (CPM) ve vzorcích provensálského koření

Tabulka č. 10 – Počty koliformních bakterií ve vzorcích provensálského koření

Tabulka č. 11 – Počty termorezistentních mikroorganismů ve vzorcích provensálského koření

Tabulka č. 12 – Počty kvasinek a plísní ve vzorcích provensálského koření

Tabulka č. 13 – Porovnání výsledků analýzy vzorků koření s počty mikroorganismů zjištěnými v práci Dostálová (2012) v KTJ/g