

Česká zemědělská univerzita v Praze

Fakulta agrobiologie, potravinových a přírodních zdrojů

Katedra mikrobiologie, výživy a dietetiky



**Vliv mikrovlnného záření na mikrobiologickou kvalitu
suchých plodů
Bakalářská práce**

Autor práce: Eliška Koublová

Obor studia: Výživa a potraviny

Vedoucí práce: Ing. Eva Popelářová, Ph.D.

Čestné prohlášení

Prohlašuji, že svou bakalářskou práci " Vliv mikrovlnného záření na mikrobiologickou kvalitu suchých plodů" jsem vypracovala samostatně pod vedením vedoucí bakalářské práce a s použitím odborné literatury a dalších informačních zdrojů, které jsou citovány v práci a uvedeny v seznamu literatury na konci práce. Jako autorka uvedené bakalářské práce dále prohlašuji, že jsem v souvislosti s jejím vytvořením neporušila autorská práva třetích osob.

V Praze dne

Poděkování

Ráda bych poděkovala Ing. Evě Popelářové, Ph.D. za cenné rady, věcné připomínky, ochotu a odborné vedení mé bakalářské práce.

Vliv mikrovlnného záření na mikrobiologickou kvalitu suchých plodů

Souhrn

Suché plody a ořechy jsou nedílnou součástí našeho jídelníčku. Z nutričního hlediska jsou velmi bohaté na zdraví prospěšné látky. Mohou být konzumovány v běžném nebo ve stopovém množství (které se dostává do potravin během zpracování), a je tedy velmi důležité dbát na jejich mikrobiální nezávadnost.

Cílem práce bylo posoudit efekt mikrovlnného záření na suché plody z hlediska mikrobiálního znečištění se zvláštním zaměřením na plísně. K rozboru byly použity vzorky mandlí natural neloupané, dále arašídů natural neloupané a pistácie ve skořápce. Hodnocení mikrobiologické kvality probíhalo bezprostředně po ozáření a následně po 3 a 6 měsících skladování.

U sledovaných vzorků byly zjišťovány počty plísní, jež byly následně určeny na úroveň rodu. Rodová skladba plísní je zvláště důležitá, protože rody *Aspergillus* a *Penicillium* mohou produkovat metabolity – mykotoxiny, které jsou nebezpečné a mohou mít za následek velké množství onemocnění.

V experimentální části bylo zjištěno, že vzorky suchých plodů nejvíce obsahovaly plísně rodu *Aspergillus*, jejich zastoupení v pozitivních vzorcích bylo 70%. Další následovalo *Penicillium* s téměř 20 %. Ostatní rody se vyskytovaly v řádech procent a méně. *Rhizopus* 3,6 %, *Cladosporium* 2,6 %, *Mycelia sterilia* (Agnomycetes) 2,0 %. V nepatrném množství byl prokázán rod *Alternaria* 0,6 % a 1 % plísní nebylo určeno.

Celkové počty stanovených plísní se pohybovaly od 0 KTJ/g (v daném vzorku nebyly prokázány) po 950 KTJ/g vzorku. Ve většině případů došlo k poklesu počtu mikromycet po ošetření ozářením v porovnání s kontrolou. Zde měla významný vliv intenzita ozáření.

V průběhu skladování došlo ke kolísání počtu mikroorganismů (většinou na úrovni řádu), ale doba skladování neměla významný dopad na kvalitu vzorků.

Hypotéza, že ošetření mikrovlnným zářením má prokazatelný vliv na snížení počtu mikroorganismů ve vzorcích, byla potvrzena. Výskyt mikromycet nepřesahoval hodnoty 10^3 KTJ na 1 gram vzorku a tudíž i neošetřené suché plody se dají považovat za zdraví bezpečné.

Klíčová slova: mikrovlnné záření, mikromycety, kontaminace, suché plody

The effect of microwave radiation on microbial quality of dried food

Summary

Dry fruits and nuts have become an integral part of our diet and contain large amounts of health beneficial elements. They can be consumed either directly or in trace amounts (that gets into the food during processing) and therefore it is very important to ensure their microbiological safety.

The aim of the thesis was to evaluate the effect of microwave radiation on the dry fruits in terms of microbial contamination with the focus on the moulds. Samples of blanched natural almonds, blanched natural peanuts and shelled pistachios were used for the analysis. Microbiological quality evaluation was made immediately after irradiation and then after another 3 and 6 months of storing them.

The number of moulds was observed and counted with subsequent genus determination. The generic structure of moulds is particularly important as the *Aspergillus* and *Penicillium* genera can produce secondary metabolites - mycotoxins which are dangerous and can result in a large number of diseases.

In the experimental part of the work was found that the samples of dry fruits contained mostly the *Aspergillus* mould genus, their representation in positive samples was 70 %. The *Penicillium* followed by almost 20 %. Other genera occurred in order of percent or less. *Rhizopus* 3.6 %, *Cladosporium* 2.6 %, *Mycelia sterilia* (Agromycetes) 2 %. *Alternaria* genera was determined in 0.6 % of cases and 1 % of moulds were not determined.

Total count of focused molds ranged from 0 CFU/ g (has not been determined in the sample) to over 950 CFU/ g of sample. There was a decrease of micromycets quantity in the most cases after irradiation treatment in comparison with the control sample with the significant effect of the irradiation intensity.

There was a variation in the quantity of microorganisms during the storage (different by the orders) but the storage time had no significant impact on the quality of the samples.

The hypothesis that the microwave radiation treatment has a significant effect on reducing the number of microorganisms in the samples was confirmed. The occurrence of micromycets has not exceeded 10^3 CFU per 1 gram of the sample and therefore untreated dry fruits can be considered not health hazardous.

Keywords: microwave radiation, micromycets, contamination, dry fruits

1	Obsah	
2	Úvod.....	8
3	Cíl práce.....	9
4	Literární přehled	10
4.1	Suché plody skořápkové	10
4.1.1	Mandle	10
4.1.2	Lískové ořechy.....	11
4.1.3	Pistáciové oříšky.....	12
4.1.4	Burské oříšky – arašidy	13
4.1.5	Ořechy - souhrn	14
4.2	Problematika suchých plodů	15
4.3	Mikroorganismy a mikrobiální kvalita	15
4.3.1	Mikrobiální kvalita suchých plodů	16
4.3.2	Nežádoucí mikroorganismy	17
4.4	Bakterie	17
4.4.1	Gramnegativní bakterie	18
4.4.2	Grampozitivní bakterie	22
4.5	Mikroskopické houby	25
4.5.1	Kvasinky	25
4.5.2	Plísně.....	27
4.5.3	Plísně a potraviny.....	28
4.5.4	Mykotoxiny	35
5	Ošetření suchých plodů	35
5.1	Ochrana potravin před mikrobiálním znehodnocením.....	36
5.2	Sušení, jako způsob konzervace	36

5.3	Mikrovlnné sušení - pražení	38
6	Materiál a metody	40
6.1	Použité vzorky	40
6.2	Použitá média	41
6.2.1	0,1% peptonová voda	42
6.2.2	Dichloran glycerol agar (Oxoid CM0729)	42
6.3	Postup	43
7	Výsledky	44
8	Diskuse	48
9	Závěr	52
10	Zdroje	53
10.1	Seznam literatury	53
10.2	Internetové zdroje	58

2 Úvod

Ořechy a další suché plody se těší ve světě velké oblibě, jedná se totiž o jedny z nejhodnotnějších potravin. Jsou běžně konzumovány lidmi všech věkových kategorií, díky své chuti a také mají pozitivní vliv na lidský organismus. Pravidelnou konzumací různých druhů ořechů lze zajistit dostatečný přísun minerálních látek a stopových prvků, nicméně další suché plody obsahují i velké množství bílkovin a sacharidů.

Zároveň je velmi důležité zachovat mikrobiologickou nezávislost těchto plodů. Během celé výroby, balení, ale i zpracování může dojít ke kontaminaci různými druhy mikrobů, zvláště plísní, z nichž některé druhy mohou produkovat sekundární metabolity – mykotoxiny, které jsou pro člověka významným, život ohrožujícím, kontaminantem.

Díky tomu výrobci jednotlivých potravin vytvářejí nové technologie a zkoumají jejich dopad na kvalitu a také na kvantitu jednotlivých surovin. Mezi používané technologie patří ošetření mikrovlnným zářením.

Cílem mikrovlnného záření je prodloužení skladovatelnosti potravin, při co největším zachování kvality původní suroviny.

3 Cíl práce

Cílem práce je posoudit efekt mikrovlnného záření na suché plody z hlediska mikrobiálního znečištění se zvláštním zaměřením na plísně. Mikrobiologická kvalita vzorků je ověřována kvantifikací počtu kolonií plísni ve sledovaných vzorcích mandlí, arašídů a pistácií. Zjištěné plísně jsou určovány na úroveň rodu.

Hlavním cílem je ověření hypotézy, že ošetření mikrovlnným zářením má prokazatelný vliv na snížení počtu mikromycet ve vzorcích.

4 Literární přehled

Ořechy a další suché plody jsou nedílnou součástí našich jídelníčků. Vyznačují se skvělou chutí, ale i velkou výživovou hodnotou. Díky obsaženým látkám, jako jsou některé minerální prvky, či prvky stopové jsou důležité ve stravě. Jejich pozitivní dopad na lidské zdraví však závisí na několika faktorech, jedním z nich je mikrobiální kvalita.

4.1 Suché plody skořápkové

Suché skořápkové plody tvoří poměrně zvláštní skupinu ovoce, která se vyznačuje tím, že semena ořechy mají mnohonásobně delší dobu, po kterou je můžeme uchovávat beze změn jakosti. U ostatních druhů ovoce nekonzumujeme jejich semena. Hlavní funkcí semen je rozšiřování svého druhu, jsou totiž zárodkem celé budoucí rostliny. Z této funkce lze pak usuzovat vlastnosti jednotlivých semen. Ořechy jsou zásobárnou energie, která je zde uložena ve formě tuku, nicméně ořechy obsahují i další, nutričně významné látky (Pokora, 2005).

Ořechy obsahují tuky, které slouží k tvorbě energie a jejich značná část je tvořena esenciálními mastnými kyselinami, z řady omega, hlavně 3, 6 a 9, které si lidské tělo nedokáže vytvořit samo, jsou tedy esenciální (Ross, 2015).

Ořechy jsou také významným zdrojem bílkovin, minerálů a vitamínů. Ořechy obsahují zejména vitamín E, vitamíny řady B, mangan, dále pak bílkoviny a z minerálů především mangan, draslík, vápník a fosfor (Vavrošová, 2005).

Skupina suchých skořápkových plodů – ořechů zahrnuje např. mandle, lískové ořechy, pistáciové oříšky a další.

Do této skupiny lze zahrnout i arašíd, plody podzemnice olejné (*Arachis hypogaea*), protože z hlediska nutričních látek a jejich následného užívání jsou velmi podobné ořechům (Pokora, 2015).

4.1.1 Mandle

Mandle jsou jádra semen mandloně obecné (*Prunus amygdalus*) mají lehce okrovou barvu a jejich jádro zůstává bílé až krémové. Jejich chuť je typicky mandlová, bez cizí chuti a zápachu. Plod mandloně obecné je peckovice s ochmýřenou kožovitou rubinou, pecka

uvnitř peckovice obsahuje jádérko, tedy pravou mandli (Pokora, 2005; Tauferová a kol., 2014).

Za oblast původního výskytu mandlí je považována Asie, nicméně v dnešní době se mandle pěstují spíše v subtropických oblastech, ve středomořských zemích, dále v Izraeli, Íránu, Maroku, Americe a hlavně v Kalifornii. Hořké mandle nejčastěji pochází z jižní Francie, Španělska, případně z Itálie. V České republice se nejvíce prodávají mandle, dovezené z Ameriky (Vavrošová, 2005).

Prunus amygdalus, popř. *Prunus communis* však můžeme pěstovat i v teplejších oblastech České Republiky. Díky nižším výnosům se však nevyplatí mandle pěstovat a tak je můžeme objevit převážně jen u drobnopěstitelů (Nesrsta a kol., 2013).

Mandle dělíme dle obsahu amygdalinu na mandle sladké a mandle hořké. Sladké mandle se nejčastěji konzumují pražené, nebo se používají v pekárenském průmyslu. Hořké mandle mají extrémně hořkou chuť, které je způsobena větším množstvím amygdalinu. Esenciální oleje se v malých dávkách mohou používat ke kořenění (Lehari et Colditz, 2002).

Nedoporučuje se konzumace většího množství hořkých mandlí, protože z amygdalinu se tvoří v metabolismu jedovaté sloučeniny a mohlo by dojít ke zdravotním komplikacím. Mandle mají ale řadu zdraví prospěšných látek, například tuky, jejichž obsah je v mandlích až 50 %. Dále obsahují vlákninu, která je lidskému zdraví taktéž prospěšná a neméně důležité vitamíny, hlavně ze skupiny B, tokoferol, kyselinu listovou a minerály (Pokora, 2005).

Sladké mandle jsou velmi hojně využívány v potravinářském průmyslu, jednak k přímé spotřebě a ve velkém měřítku k dalšímu zpracování. Hořké mandle slouží hlavně v kosmetickém průmyslu, nebo olej, získaný lisováním může sloužit i v lékařství. Před použitím mandle dochází většinou k odstranění hnědé blanité slupky vodní párou. Tento proces se nazývá blanširování (Tauferová a kol., 2014).

4.1.2 Lískové ořechy

Lískové ořechy nejčastěji pocházejí z jižní Evropy, ale i v České republice můžeme zahlédnout lesní lískové ořechy s maličkými plody. Lískové ořechy jsou velmi zdravé, obsahují totiž velké množství mastných kyselin, které se podílejí na tvorbě mozkové tkáně a nervů, proto je důležité zařazovat nejen lískové ořechy do stravy dětí, ale starším, nebo středně starým, s psychicky náročnou prací, lidem (Vavrošová, 2005).

Nesrsta a kol. (2013) dodává, že se v České republice pěstují dva druhy a to líska obecná (*Corylus avellana*) a líska veliká (*Corylus maxima*). Oba druhy patří do čeledi *Betulaceae*. Nejvíce plodů lísek se získává v Turecku.

Lískové ořechy jsou velmi bohaté na tuky. Dále obsahují velké množství bílkovin, sacharidů, aminokyselin, organických kyselin a dalších, tělu prospěšných látek

(Alasarvar et Bolling, 2015).

Bílkoviny jsou velmi důležité ve vývoji dětí a dospívajících a lískové ořechy jsou jejich významným zdrojem. Pomáhají budovat svalové buňky, díky obsaženému tuku doplňují energii a navíc, díky minerálům a vitamínům udržují hladiny těchto prvků v optimálních hodnotách, hlavně pro hodnoty zinku. Vitamín E, který je součástí lískových ořechů, pomáhá při regeneraci a oddaluje stárnutí. Jeho dostatečná konzumace působí preventivně před různými druhy rakoviny a srdečními onemocněními (Vavrošová, 2005).

Nejčastěji se lískové ořechy zpracovávají k přímé konzumaci, ale uplatňují se i v dalším zpracování v potravinovém průmyslu, ale také v kosmetickém průmyslu, kde se využívá především lískového oleje, který se získává lisováním plodů (Taufarová a kol., 2014).

4.1.3 Pistáciové oříšky

Pistácie pravá (*Pistacia vera*) je dvouděložná rostlina z čeledě ledvinovíkovité. Plody jsou malé mandlovité peckovice, které jsou na koncích prohnuté. Plodem pistácie pravé jsou pistácie, pistáciové oříšky. Plodem jsou jednosemenné peckovice oválného tvaru, plod je ukrytý nejprve dužnatým oplodím, které po uzrání vysychá.

Oříšky kryje tvrdá skořápka, která v době zralosti puká v podélném švu. Semeno je kryto světle hnědou blankou a plod je nazelenalé barvy. Typické semeno je zelené a má tvrdou slupku, která v plné zralosti semene praská v podélném švu. Existuje jedenáct druhů pistácií. Plody pistácií se suší a praží včetně vnější slupky, která působením tepla praská a oříšky získávají lepší chuť (Taufarová a kol., 2014).

Pistáciové oříšky jsou bohaté na tuky, proto se skvěle hodí k lisování a vzniká z nich pistáciový olej. Z vnitřní slupky pistácií se získává barvivo – tanin, kdežto jiný druh pistácií poskytuje velmi odolnou pryskyřici, která se používá v zubním lékařství (Lehari et Colditz, 2002).

Vavrošová (2005) udává, že se pistáciím také říká zelené mandle. Díky vysokému obsahu bílkovin, až 20 g bílkovin na 100 g pistáciových oříšků, jsou vhodné do vegetariánské

stravy, jako zdroj bílkovin. Další obsažené látky jsou, mimo jiné, vitamíny a minerální látky.

Nejvýznamnějšími jsou vitamín E, draslík, vápník, hořčík a fosfor.

Pistáciové oříšky jsou v Evropě velmi sledovanou komoditou a to nejen díky svému složení a obsahu velmi ceněných látek, ale i kvůli velmi častému a nadlimitnímu obsahu aflatoxinů (Pokora, 2015).

Původně rostly pistácie v Malé Asii, mezi řekami Eufrat a Tygris, nicméně dnes je můžeme najít v teplých oblastech celé Asie a i ve Středomoří (Lehari et Colditz, 2002).

4.1.4 Burské oříšky – arašidy

Podle Lehari et Colditz (2002) řadíme arašidy, též burské ořechy, plody podzemnice olejné (*Arachis hypogaea*) do čeledi bobovitých, tedy nejedná se o pravé ořechy. Nicméně svými složením a charakterem jsou velmi často do této skupiny zařazovány. Rostliny podzemnice jsou samosprašné, po oplození dochází k poklesu květů k zemi. Samotný semeník poté proniká do půdy, z něj se následně vyvine plod – oříšek. Lusky obsahují většinou dvě semena, která kryje tmavohnědá slupka. Lusk má síťovitou strukturu, je křehký a žlutošedý (Vavrošová, 2005).

Plod podzemnice olejné se nachází v půdě, cca 3-6 cm hluboko. Jedná se o nepukavý lusk, obsahující nejčastěji 2 semena, lusk bývá zaškrcený mezi semeny. Semena, arašidy, kryje hnědofialové osemení.

Burské oříšky, jakožto luštěnina, hodí k nahrazování bílkovin ve stravě, navíc pomáhají regulovat glykémii, tedy hladinu cukru v krvi a hormon inzulin.

K přímé konzumaci se využívají semena čerstvá, pražená, sušená, vařená, slazená a solená, hlavně stolní typ arašidů s drobnějšími plody, výraznější chutí a s větším množstvím bílkovin. Klíčící rostliny se využívají jako příloha, nebo jako zelenina (Taufertová a kol., 2014).

Burské oříšky obsahují více než polovinu své hmotnosti tuk, který se lisuje a získává se z nich olej, který je významnou komoditou, hlavně v Asii, odkud původně podzemnice olejná pochází (Lehari et Colditz, 2002).

Z arašidů se vyrábí pasty k dalšímu zpracování, nebo k přímému prodeji jako arašidové máslo. Více než polovina světové produkce se zpracovává na výrobu oleje. Olej za tepla lisovaný je vhodný do teplé kuchyně, využívá se hlavně olejného typu semen, který má malé množství bílkovin a zároveň jsou plody velké. Posledním typem arašidů jsou hospodářské arašidy, které jsou přechodným typem mezi typem stolním a olejným, nejčastěji jsou

využívány v ekologickém zemědělství, jako zelené hnojivo, nebo ke zkrmování zvířít (Vavrošová, 2005; Taufertová kol., 2014).

4.1.5 Ořechy - souhrn

Ořechy a arašídny jsou skvělým zdrojem mnoha živin, minerálů a antioxidantů, ale mají vysokou energetickou hodnotu. Mnoho lidí omezuje jejich konzumaci na minimum, právě z obav, že mají příliš vysokou energetickou hodnotu, nicméně ořechy většinou nevedou k přibývání na váze. Díky jejich vysoké sytící schopnosti je jejich konzumace omezena regulačním systémem – vyrovnávací stravovací odpovědí. Celkově dochází ke snížení absorpce energie a ke zvýšení metabolismu tuků, z ořechů, již vstřebaných (Tan et kol., 2014).

Dle Pokory (2015) jsou ořechy řazeny do ovoce, někdy do pochutin, jejich plody, tedy semena nejeví změny na jakosti ani po delší době úschovy. Jsou velmi energeticky bohaté, protože slouží k rozšiřování svého druhu. Ořechy jsou ale i velmi bohaté na další růstové látky, minerály a vitamíny, především vitamíny skupiny B a vitamín E. Z minerálních látek je nejvíce zastoupený draslík, vápník a fosfor.

Do skupiny suchých skořápkových plodů – ořechů zahrnujeme ořechy lískové, vlašské, para, pekanové, piniové, kokosové, kešu, makadamové ořechy, mandle a pistácie. Zvláštní kategorii tvoří arašídny, tedy burské ořechy. Nejsou pravými ořechy, ale díky jejich podobné charakteristice a obsahu látek je velmi často řadíme k ořechům.

Ořechy jsou významným zdrojem rostlinných olejů, hlavně ze skupiny nenasycených mastných kyselin, ty mají velmi významný pozitivní vliv na lidský organismus. Jejich vysoký podíl v ořeších není jen pozitivní, díky přítomnému kyslíku může snadno docházet ke žluknutí, tedy oxidaci těchto mastných kyselin a následnému kažení. Ořechy takto změny barvu a v mnoha případech dochází i ke změně chuti.

Další problematikou jsou škůdci, kteří velmi často napadají ořechy a takto napadené plody nejsou v souladu s legislativou České Republiky (Vavrošová, 2005;

Taufertová a kol., 2014; Pokora, 2015).

4.2 Problematika suchých plodů

Ořechy jsou velmi často napadány různými škůdci. Je důležité ořechy správně uchovávat, zamezit přístupu vlhkosti, protože ta by pak mohla mít za následek klíčení plodů, nebo dokonce, díky příznivým podmínkám, vznik plísní. Je tedy velmi důležité suché plody správně a dostatečně usušit, aby nedocházelo k rozvoji plísním. Nejčastěji jsou ořechy a olejnatá semena napadána plísní *Aspergillus flavus*, která je velmi nebezpečná.

Tato plíseň produkuje mykotoxin – aflatoxin. Tento mykotoxin přirozeně zabraňuje rozvoj ostatních konkurenčních rodů plísní, což je přirozené, nicméně při konzumaci plodů, napadených právě touto plísní, může docházet ke kumulaci mykotoxinu v organismu a vést až k následnému poškození jater, či vzniku zhoubného nádoru. Jejich výskyt je upraven zdravotními předpisy a kontrolován Státní zemědělskou a potravinářskou inspekcí. Pokud je zjištěno nadlimitní množství, tedy jedná se o zdravotně závadné potraviny, jsou tyto potraviny zlikvidovány patřičným způsobem. Mykotoxiny a další metabolity plísní jsou velmi odolné, vůči teplotě. Často přežijí i vystavení teplotám 100 °C a nedochází k jejich odstranění varem. Takto napadené plody nejsou vhodné ke konzumaci a ani k dalšímu potravinářskému zpracování.

Aflatoxiny vznikají při teplotách minimálně 16°C, ale zpravidla se tvoří až při vyšších teplotách, kolem 25°C. Jako ideální skladování se doporučuje tedy ořechy a olejninu uchovávat bez přístupu světla, na suchém místě a při nižších teplotách (Pokora, 2015).

Šilhánková (2008) doplňuje, že aflatoxiny se nejčastěji vyskytují právě na luštěninách, sóje, arašídech a podobném materiálu, který se dováží z vlhkých, tropických krajín, na naše území.

4.3 Mikroorganismy a mikrobiální kvalita

Mikroorganismy jsou nepostradatelnou součástí přírody, ale svou roli hrají i v lidském těle přímo, nebo pomocí metabolitů. Jejich působením dochází k rozkládání většiny organických látek na látky anorganické a tím vracejí do koloběhu přírody jednotlivé chemické prvky, které jsou součástí dalších koloběhů v přírodě.

Rozkladné procesy mikroorganismů probíhají v půdě, ale i ve vodním prostředí, kde bakterie a plísně tvoří slabý zákal, nebo sedlinu. Vzácněji pak vláknitou blanku – porost na povrchu tekutiny. Vzhledem k jejich malým rozměrům je však většinou nelze spatřit

pouhým okem. Viditelné se stávají až v době, kdy vznikají větší kolonie, nebo když dochází k dalšímu množení mikroorganismu a lze spatřit jednotlivé rozmnožovací orgány mikroorganismu.

Jejich význam však není vždy pozitivní. Pokud se jedná o tzv. patogenní mikroorganismy, jejich působení je spojováno s ohrožením zdraví člověka, zvířat a rostlin. Mikroorganismy mají velmi rychlý rozmnožovací cyklus, navíc pokud se nedodrží základní hygiena, mohou se velmi rychle rozšiřovat. Dříve v historii byly tyto pandemie velkým ohrožením populací. V dnešní době se s pandemiemi, popř. epidemiemi mikrobiálního původu setkáváme zřídka, co se týče vyspělých zemí, téměř nulově. Avšak jejich negativní působení můžeme pozorovat ve svém okolí velmi často.

Mikroorganismy rozkládají řadu potravin a potravinářských surovin. Pokud se v potravinách vyskytuje dostatečné množství vody, nebo vodní páry, může snadno dojít ke kontaminaci a tyto potraviny jsou pak vhodnou živnou půdou pro růst mikroorganismů. Jejich vysokou metabolickou aktivitou ale vznikají i metabolity, mykotoxiny, typické pro zástupce plísní, které nepříznivě působí na lidské zdraví.

K nejnebezpečnějším patří aflatoxiny, které tvoří druhy *Aspergillus flavus* a *Aspergillus parasiticus*, jež mají prokázaný vliv na vznik rakoviny jater u drůbeže a s největší pravděpodobností působí stejně neblaze na lidský organismus (Jesenská, 1987; Šilhánková, 2008).

4.3.1 Mikrobiální kvalita suchých plodů

Pokora (2015) udává, že jsou aflatoxiny předmětem kontroly Státní zemědělské a potravinové instituce. Podle předpisů Evropské unie jsou vybrané druhy ořechů a olejnin uvolněny na český trh až v okamžiku, když projdou kontrolou, kterou hradí sám dodavatel, jedná se o nezávadnou potravinu a má náležitě doklady ke vstupu do země. Kontrola se provádí u každé skupiny plodů lehce odlišně. Z jedné šarže suchých plodů, oříšků, popřípadě olejnin je odebráno až 30 kilogramů vzorků, z jednoho, či několika míst dané šarže, čím se eliminuje nerovnoměrné rozložení aflatoxinů v této šarži. Odběr menších vzorků by nemusel být dostatečný pro kontrolu množství metabolitů plísní – aflatoxinů. Tato kontrola ročně odhalí velké množství kontaminovaných plodů a ty se poté nedostanou za hranice státu, tedy vnitřní trh.

Při manipulaci s těmito suchými plody se musí jednat velmi opatrně, aby nedocházelo k poškození plodu. Již i sebemenší mechanické poškození způsobí zvýšené riziko vstupu mikroorganismů do plodu a následně vede k jeho poškození. Od tohoto se odvíjí technologie příjmu a zpracování suchých plodů, kdy se velmi často suší, praží, nebo dále zpracovávají. Velmi často se k jejich uchování a následnému uvedení do prodeje, využívá vakuové balení a balení do obalu s vnitřní inertní atmosférou, což znamená, že se zabrání přístupu kyslíku k plodům a zároveň dochází ke snížení aktivity mikroorganismů (Kadlec a kol., 2009).

4.3.2 Nežádoucí mikroorganismy

Mikroorganismy jsou jednobuněčné, nebo vícebuněčné organismy, které jsou schopny tvořit specializované funkční tkáně a pletiva. Mikroorganismy mívají rozměry od desetin mikrometrů až do několika desetin milimetrů. Lze je systematicky rozdělovat na organismy bez diferenciovaného jádra, kam patří cyanobakterie a bakterie a na mikroby s jádrem pravým, které lze dále dělit na řasy, houby (plísně a kvasinky) a prvoky (Šilhánková, 2008).

Ke kontaminaci, mj. i mikroorganismy může docházet při nešetrném zacházení s jednotlivými komoditami, kdy dochází k mechanickému narušení a tím se usnadní přístupu mikrobů a k možné kontaminaci (Kadlec a kol., 2009).

4.4 Bakterie

Bakterie jsou fyziologicky nejrozmanitější skupinou mikrobů, protože mezi bakteriemi můžeme najít zástupce s různým vztahem ke kyslíku, mohou se lišit zdrojem energie, nebo svými požadavky na výživu. Jsou jedním z nejrozšířenějších organismů a na naší planetě se vyskytují více než miliardu let, během kterých se dokázaly přizpůsobovat a tak dokážou žít i v jinak velmi nehostinných podmínkách (Weeks et Alcamo, 2008).

Bakterie nejčastěji dosahují velikosti zhruba 1 mikrometr. Tvar bakterií je nejvíce zastoupen tvarem tyčinkovitým, kulovitým, nebo vláknitým. Mohou být nesporulující, nebo sporulující a ty poté tvoří velký problém ve zpracování potravin a celkově v potravinářském průmyslu. Spory bakterií jsou klidová stádia a slouží k přežití bakterie, jsou velmi odolné, vůči poškození a jsou schopny přežít v tomto stádiu delší dobu. Podle stavby buněčné stěny a tím i jejich možné následné barvitelnosti, můžeme bakterie dělit na grampozitivní a gramnegativní bakterie (Montville et Matthews, 2008).

4.4.1 Gramnegativní bakterie

Gramnegativní bakterie mají buněčnou stěnu liposacharidového charakteru, která se jeví růžová při Gramově barvení a kryje ji ještě jedna další vrstva membrány. Z hlediska znehodnocování potravin a možných nákaz jsou nejdůležitější bakterie rodu *Salmonella*, *Campylobacter*, *Shigella*, *Vibrio* a *Escherichia* (Montville et Matthews, 2008).

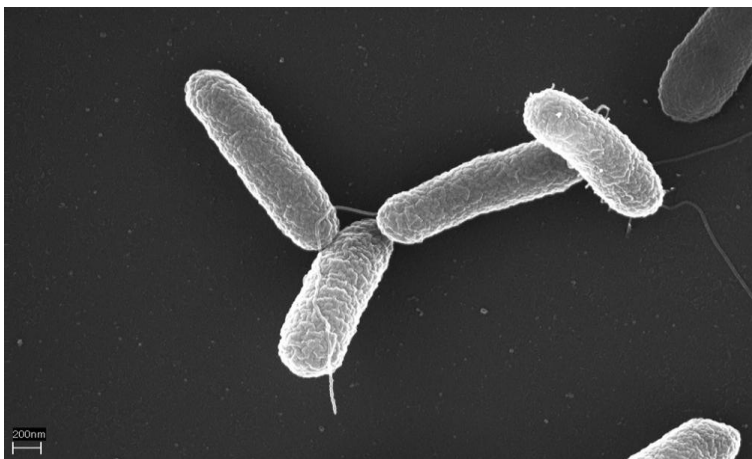
4.4.1.1 Salmonella

Salmonella je rod nesporelujících, fakultativně anaerobních bakterií, rychle rostoucích bakterií tyčinkovitého tvaru (Klaban, 1999).

Rod *Salmonella* bychom hledali nejčastěji u drůbeže a výrobků z drůbeže, nebo na vejcích. Nicméně i na ořeších se místy může *Salmonella* vyskytovat. Existuje zhruba 2400 patogenních rodů, které způsobují různá onemocnění (Weeks et Alcamo, 2008).

Některé druhy salmonel se mohou přenášet z lidí na zvířata a naopak. Dalším zdrojem nákazy může být znečištěná, nebo odpadní voda. Velmi důležité je správné a dostatečné tepelné ošetření rizikových potravin a dbání základní hygieny práce s možným kontaminantem (Murray et al., 2013).

Obr. č. 1: *Salmonella*



https://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/e/ee/Salmonella_typhimurium.png

4.4.1.2 Escherichia

Jednou z nejvíce prostudovaných bakterií, která se může díky (mimo jiné) fekálnímu znečištění vyskytovat i na suchých plodech a ořechách, je *Escherichia coli* (Weeks et Alcamo, 2008).

Jedná se tyčinkovitou, fakultativně anaerobní bakterii, která se pohybuje pomocí bičíků (Murray et al., 2013).

Escherichia coli je bakterie, běžně se vyskytující ve střevech mnoha živočichů, i v dolní části tlustého střeva člověka a je součástí výkalů. Některé kmeny jsou příčinou průjmů, nebo onemocnění močových cest. *E. coli* se do potravin dostává ze závlahové vody, z hnojiv, nebo díky špatným hygienickým podmínkám (Šilhánková, 2008).

Weeks et Alcamo (2008) udávají, že *Escherichia coli* se řadí do patogenů. Pokud se několikrát zmnoží, než je její obvyklé množství ve střevech a pokud se dostane do jiných částí trávicího traktu, může způsobovat (díky produkci toxinů) velké ztráty vody průjmovým onemocněním. Nicméně pokud se dostane *E. coli*, například s potravou do žaludku a vrchní částí trávicího traktu, může způsobovat velké průjmové onemocnění, v mnoha případech spojené i s krvácením a hrozí riziko úmrtí až u 1 z 80 pacientů, trpící touto nemocí. Běžně se v malém množství vyskytuje v hovězím mase, na povrchu zeleniny a ovoce.

Obr. č. 2: *Escherichia coli*



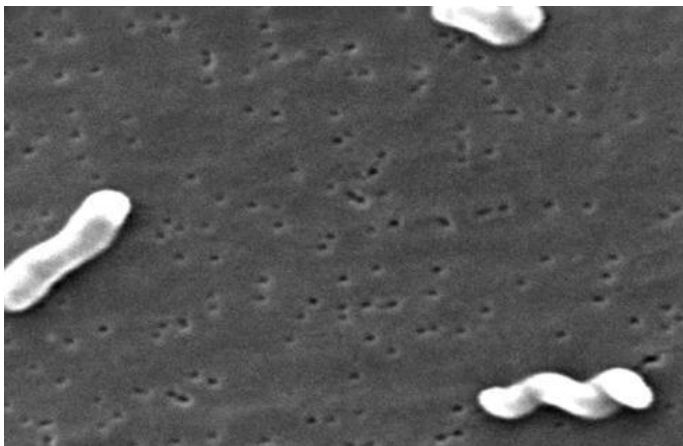
https://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/8/82/E_coli_at_10000x.jpg

4.4.1.3 Campylobacter

Bakterie rodu *Campylobacter* jsou aerobní, spirální, nebo zakřivené tyčinky a při nepříznivých podmínkách přecházejí do tvaru koku (Murray et al., 2013).

Campylobacter jejuni je spirálovitého tvaru a způsobuje nejčastěji střevní onemocnění, které vzniká v důsledku nedostatečné hygieny, tj. přenos výkaly – ústa. Řadí se mezi patogenní bakterie a kontaminanty potravin (Šilhánková, 2008).

Obr. č. 3: *Campylobacter jejuni*



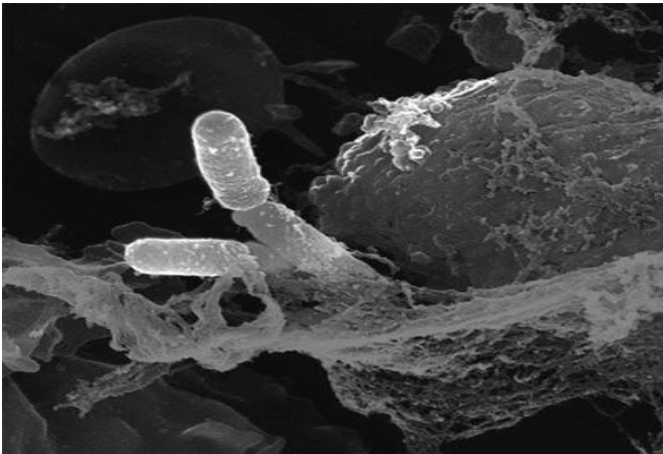
https://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/a/a9/Campylobacter_jejuni_5778_lores.jpg

4.4.1.4 Shigella

Shigella je rod gramnegativních, nesporulujících bakterií tyčinkovitého tvaru (Murray et al., 2013).

Shigella sonnei je gramnegativní bakterie, která je známá ve světě díky infekcím. Mutací dědičné genetické informace se stala rezistentní na některé druhy antibiotik. Díky konjugaci je možný snadný přenos genů, které jsou zodpovědné za resistenci proti antibiotikům, sulfanilamidu, chloramfenikolu a stovkám dalších, kdyby došlo k přenosu již na bakterii, která obsahuje další gen, který způsobuje resistenci na jiné antibiotikum, může dojít k mnohonásobné resistenci (Weeks et Alcamo, 2008).

Obr. č. 4: *Shigella sonnei*

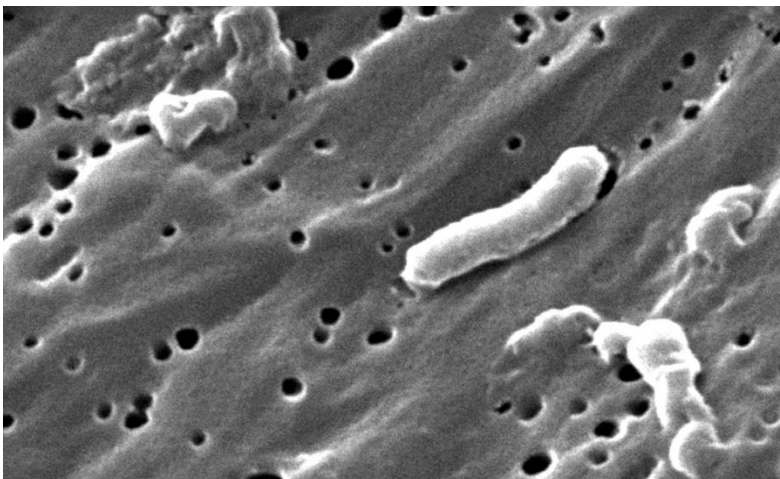


https://c1.staticflickr.com/9/8507/8391004233_57e3364d35.jpg

4.4.1.5 Vibrio

Klaban (1999) uvádí, že bakterie rodu *Vibrio* jsou tyčinkové, gramnegativní bakterie, které jsou velmi často zakřivené. Vyskytují se převážně ve vodném prostředí, a pokud se dostanou do organismu (například v kontaminované vodě, nebo s potravinami) mohou způsobovat vodnaté průjemy a střevní koliky. Nejznámějším zástupcem je *Vibrio cholerae*.

Obr. č. 5: *Vibrio cholerae*



<http://www.pixnio.com/free-images/science/microscopy-images/vibrio-related-diseases/vibrio-cholerae-bacteria-under-electron-micrograph.jpg>

4.4.2 Grampozitivní bakterie

Montville et Matthews (2008) řadí do grampozitivních bakterií, nejvýznamnější rody jsou *Bacillus*, *Listeria*, *Clostridium* a *Staphylococcus*.

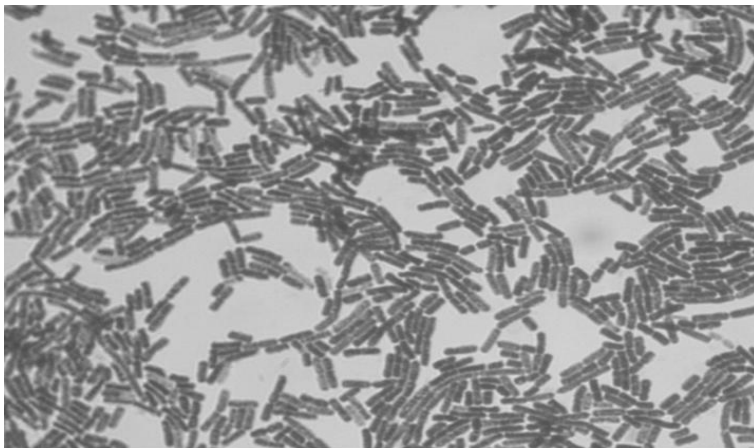
Grampozitivní bakterie jsou mikroorganismy, v jejichž buněčné stěně se nachází velké množství peptidoglykenu a zároveň nemají žádné další vnější membrány (Šilhánková, 2008).

4.4.2.1 Bacillus

Bacillus je tyčinkovitá podlouhlá bakterie, fakultativně anaerobní, nebo aerobní. V nehostinných podmínkách tvoří velmi odolné rezistentní spory (Murray et al., 2013).

Bacillus subtilis patří k nejrozšířenějším druhům a je téměř v jakémkoli prostředí. Jeho nejvýznamnější vlastností je tvorba antibiotik. Dalším zástupcem je *Bacillus cereus*, který se vyznačuje poměrně velkými buňkami. Při svém růstu produkuje toxiny, které mohou být po pozření potravou nebezpečné. Nejvíce se vyskytuje v kaších, paštikách, pudingu a rýži. Způsobuje otravu, která se projevuje po 12-13 hodinách po pozření a doprovází jí nevolnost, zvracení, křeče do břišní oblasti a průjemy, nicméně není jediným zástupcem, který tvoří toxiny. Toxiny tvoří i *Bacillus subtilis* a *Bacillus anthracis*, který je nechvalně známý, jako onemocnění zvané antrax, sněť slezinná (Šilhánková, 2008).

Obr. č. 6: *Bacillus subtilis*



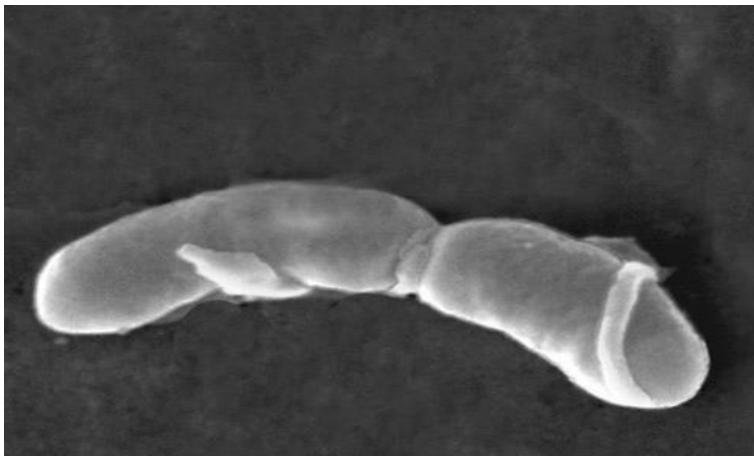
https://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/9/9f/Bacillus_species.jpg

4.4.2.2 Listeria

Listerie jsou pravidelné, krátké tyčinky, které netvoří spory. Bakterie se mohou spojovat a tvořit nepravé řetězky (Murray et al., 2013).

Listerie je bakterie, která se běžně vyskytuje v půdě a také ve střevech spousty druhů zvířat. Do lidské potravy se dostává kontaminací z fekálií a také při přímé konzumaci některých masných výrobků ze zvířat a spolu se zvířecí produkcí, s mlékem, do dalších výrobků. Velmi často jsou hlášeny výskyty přemnožené bakterie Listerie v sýrech a párcích. Velmi významný vliv na Listerii mají antibiotika, vůči kterým není imunní (Weeks et Alcamo, 2008).

Obr. č. 6: *Listeria*



https://c2.staticflickr.com/2/1015/534413333_db20eacdfd.jpg

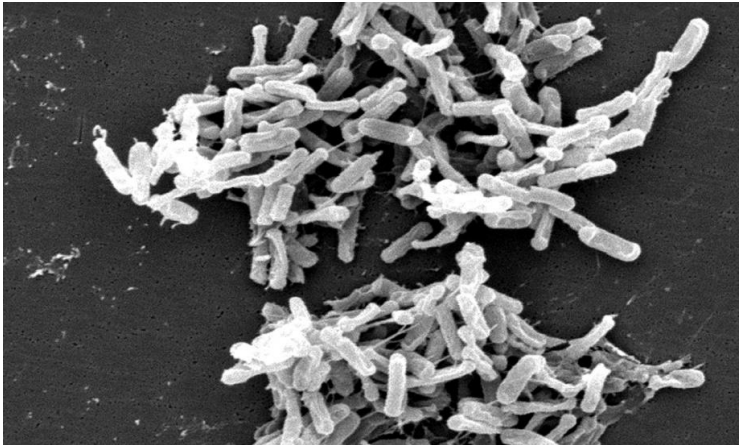
4.4.2.3 Clostridium

Clostridium, grampozitivní, anaerobní, tyčinkovitá bakterie, která způsobuje mnohá onemocnění. Patří sem například *Clostridium tetanii*. Tato bakterie se v malém množství nachází v prostředí a do organismu vniká otevřenou ránou, kde produkuje neurotoxin. Po nákaze a dostatečném zmnožení, produkuje toxin, který je jeden z nejsilnějších v přírodě, působí na svaly, které se nekontrolovaně stahují, až dochází ke křečím, které mohou způsobit smrt, protože orgány jsou, z velké části, tvořeny svalovinou (Weeks et Alcamo, 2008).

Z potravinářského hlediska je však nebezpečnějším zástupcem *Clostridium botulinum*, který produkuje toxin – botulotoxin. Již jeden miligram tohoto jedu dokáže usmrtit

až 16000 lidí. Botulotoxiny jsou bílkovinné povahy, proto díky vysoké teplotě a ošetření, dochází k jejich inaktivaci. *Clostridium botulinum* se však již dále v člověku nemnoží, největší hrozbou, pro člověka, jsou právě botulotoxiny (Šilhánková, 2008).

Obr. č. 7: *Clostridium botulinum*

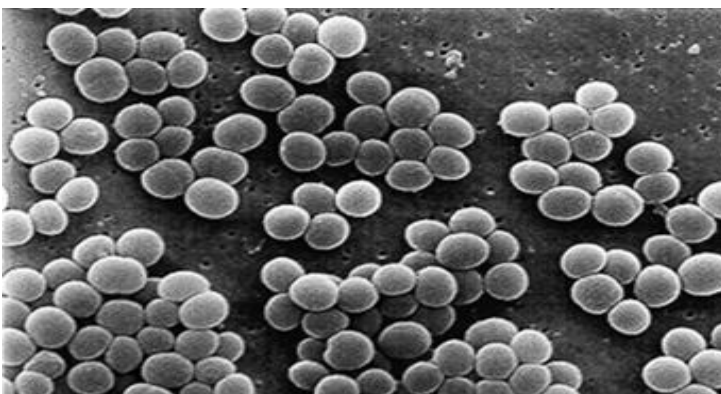


https://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/0/0f/Clostridium_difficile_01.jpg

4.4.2.4 Staphylococcus

Staphylococcus jsou nesporulující bakterie, fakultativně anaerobní koky. Přirozeně se vyskytují v organismu a nejsou pohyblivé. Velmi často jsou jejich kolonie k nalezení na sliznicích, nejvíce na nosní sliznici. Pokud se bakterie dostane do organismu, spolu s kontaminovanou potravou, může způsobovat zažívací problémy a nevolnosti.

Obr. č. 8: *Staphylococcus aureus*



<https://articles.extension.org//mediawiki/files/e/ea/Staphylococcus.jpg>

Podobně jako u rodu *Clostridium* u bakterie *Staphylococcus aureus* nedochází k přímému napadání organismů bakteriemi, ale poškození a otravy způsobují toxiny, které bakterie produkují. K této nemoci jsou náchylnější mladí jedinci, těhotné a starší jedinci (Weeks et Alcamo, 2008; Murray et al., 2013).

4.5 Mikroskopické houby

Mikroskopické houby tvoří poměrnou část ze všech mikroorganismů. Věnuje se jim zvýšená pozornost, protože některé mohou tvořit metabolity, které způsobují různá onemocnění a v ojedinělých případech vedou k smrti. V potravinářském průmyslu je výskyt některých rodů považován za indikátor nedodržení hygienických podmínek a slouží tedy jako bioindikátor. Ne všechny druhy mikroskopických hub jsou však škodlivé. Mohou sloužit k výrobě potravin, například kvasinky, které se hojně využívají v lihovarnictví, pivovarnictví a pekařském průmyslu.

Z praktického hlediska můžeme mikroskopické houby rozdělit do dvou kategorií, kvasinky a vláknité houby, které se neoborně nazývají plísně (Jesenská, 1987).

Mezi mikroskopické houby řadíme jedno, i vícebuněčné organismy, které pro syntézu své buněčné hmoty vyžadují organický materiál, který zároveň slouží i jako zdroj energie (Šilhánková, 2008).

Dříve byly mikroskopické houby rozděleny do 3 skupin, kvasinek, vláknitých hub a do specifické třídy *Mycelia sterilia*, která zahrnuje myceliální houby bez fruktifikačního stadia a spor. Aktuálně jsou myceliální houby bez fruktifikačního stadia (*Mycelia sterilia*) řazeny do pomocné třídy *Agnomycetes*. Netvoří spory a rozšiřují se úlomky hyf. Jejich identifikace může být obtížná (Mouchacca, 2005).

4.5.1 Kvasinky

Kvasinky jsou heterotrofní eukaryotní mikroorganismy, patřící mezi houby (*Fungi*). Jejich název je odvozen od jejich schopnosti zkvašovat sacharidy na etanol a oxid uhličitý. Velikost buněk a tvar odpovídá schopnosti pučení a dělení, tedy nejvíce elipsovité, vejčité, nebo kulovité. Další tvary odpovídají kultivačními podmínkami a stářím buněk a tak je možno pozorovat dlouze protáhlé buňky, nebo tvar citronovité, trojúhelníkovité a válcovité.

Kvasinky mají schopnost dorůst několika velikostí a tvarů i v rámci jednoho druhu. Běžně se udává šířka jedné buňky v rozmezí 3-6 μm .

Kvasinky nejsou schopny fotosyntézy, jejich buněčná stěna je pevná a mohou být buď jednobuněčné, nebo vláknité, tedy protáhlé buňky, které klíčí pouze na koncích, pólech a takto i nadále zůstávají po pučení spojené (Šilhánková, 2008).

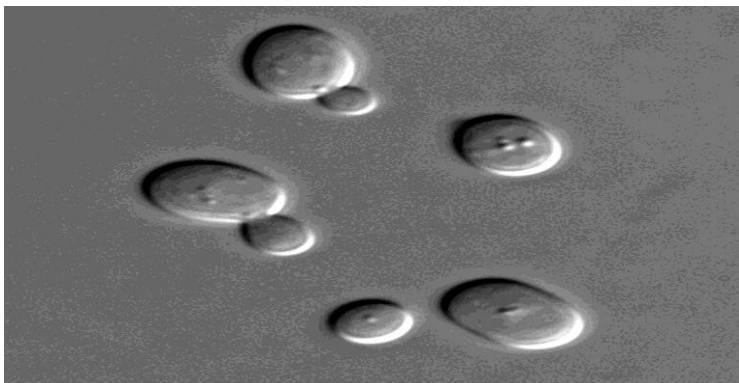
Většina kvasinek patří do oddělení vřeckovýtrusých hub (Ascomycota), další pak do stopkovýtrusých hub (Basidiomycota) a nevytváří jednotný taxon – monofylum (Kalina a Váňa, 2005).

U některých kvasinek neznáme prozatím pohlavní rozmnožování, proto se tyto kvasinky řadí do pomocného oddělení (Deuteromycota) imperfektních hub, které řadíme pod Ascomycota.

Pokud předpokládáme, že kvasinky jsou určité redukované formy hub, lze považovat kvasinky, tvořící hyfy, za vývojově starší formy, než jednobuněčné formy (Kocková-Kratochvílová, 1990; Kalina a Váňa, 2005).

Kvasinky lze využít při výrobě potravin a nápojů, například v pekárenském, lihovarnickém, mlékařském průmyslu, jsou součástí výroby vína, ale i dalších odvětví, například jsou zařazovány do vývoje biopaliv, nebo jako bioindikátory porušení hygienického standardu potravin jinými houbami. Molekulární analytické technologie vedly k zásadní změně taxonomie a usnadnily ekologickou studii kvasinek v širším chápání. Mechanismy, kterými se kvasinky zapojují do ekosystémů a dopad na kvalitu produktu lze, díky novějším technologiím, studovat na úrovni genové exprese (Fleet et Balia, 2006).

Obr. č. 9: Kvasinky



https://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/thumb/d/d9/S_cerevisiae_under_DIC_microscopy.jpg/768px-S_cerevisiae_under_DIC_microscopy.jpg

Bezpečnost potravin a vazba mezi stravou a zdravím jsou zásadní otázky, pokud se mluví o kvasinkách ve stravě. Některé druhy jsou užitečné ve výrobě, nicméně jiné rody, např. *Candida* mohou vyvolávat infekce a další nepříznivé zdravotní komplikace pro člověka (Fleet, 2007).

4.5.1.1 Kvasinky a potravinářský průmysl

Jedna z nejdůležitějších kvasinek v potravinářském průmyslu je z rodu *Saccharomyces*, který obsahuje sedm druhů. Tyto kvasinky jsou schopny, mimo laktózu zkvašovat většinu cukru a využívat z nich uhlík, jako zdroj energie, proto se využívají k fermentaci výrobků. Mohou být protáhlé, elipsoidní, což je případ vinařského kmene kvasinek, v pekařském průmyslu dosahují vějířitého tvaru a je vyžadována jejich stálost. Jelikož jsou schopny využívat i prostředí, které dosahuje 30 % nasycení glukosou, mohou být příčinou kažení cukrovinek, nebo medu.

Rod *Kluyveromyces* je využíván v mlékařském průmyslu, hlavně k výrobě kefiru, dokáže zkvašovat laktózu. Dále se v potravinářském průmyslu využívají rody *Schizosaccharomyces* a některé rody, které druhotně exkretují vitamíny řady B (Kocková-Kratochvílová, 1990; Šilhánková, 2008).

4.5.2 Plísňe

Plísňe jsou vláknité, eukaryotní, organismy, které řadíme mezi houby – *Fungi*.

Mikroskopické houby – plísňe jsou rozšířené po celém světě již více než 300 milionů let a jsou tedy úzce spjaty s vývojem lidské populace (Ostrý, 1998).

Weeks et Alcamo (2008) řadí plísňe k hlavním rozkladačům organické hmoty a díky této vlastnosti je považujeme za přínosné. Pro plísňe je typické, že do svého okolí vyloučí enzymy, které rozkládají organickou hmotu až na úroveň molekul, které jsou schopny přijímat skrze své buněčné membrány.

Jsou všudypřítomné v půdě i ve vzduchu a velmi často jsou spojovány s kažením potravin. Podle typu a přítomnosti pohlavního rozmnožování je systematicky řadíme do 3 taxonomických podjednotek. Dle Šilhánkové (1995) :

1. **Zygomycotina**, která je charakteristická nepřehrádkovaným jednobuněčným myceliem a dále tvoří pravé, pohlavní spory – zygospor, nepohlavní rozmnožování pomocí endospor.

2. **Ascomycotina**, jež tvoří přehrádkované mycelium a jehož pohlavní spory se nazývají askospory, které vznikají v asku a nepohlavní spory – exospory.

3. **Deuteromycotina**, což je pomocná skupina pro houby nedokonalé, nebo nedokonalé známé (nejčastěji jejich rozmnožování) s myceliem s přehrádkami, zároveň pouze nepohlavně se rozmnožující pomocí endospor.

Plísně se rozmnožují pomocí spor, které mohou vznikat nepohlavním způsobem, tedy nepohlavní vegetativní spory, nebo po spájení pohlavním rozmnožováním (tím vznikají pohlavní spory) či pomocí rozrůstání hyf. Hyfy jsou vlákna, která se dle podjednotek liší, která tvoří stélku plísni. Hyfy jsou větvené a jejich spleť se nazývá mycelium, které se dále polokulovitě stáčí a následně tvoří tmavé, několik milimetrů velké a velmi odolné sklerocium. Nejčastěji jej můžeme najít u druhů, která netvoří žádné spory. Na ovoci a podobném rostlinném materiálu můžeme nalézt spleť hyf, která se nazývá stroma, parazitující plísně (Šilhánková, 2008).

4.5.3 Plísně a potraviny

Potraviny, suroviny pro výrobu potravin a krmiva jsou nejčastěji napadány mikroskopickými houbami řádu *Monilia* (Deuteromycetes), např. *Aspergillus*, *Penicillium*, *Botrytis*, *Cladosporium*, *Alternaria* a z řádu Mucorales (Zygomycetes), např. rody *Mucor* a *Rhizopus*. Dále jsou v těchto komoditách hojně zastoupeny kvasinky (Ostrý, 1998).

4.5.3.1 Mucorales - Zygomycetes

Třída Zygomycota je typická svým jednobuněčným, nepřehrádkovaným myceliem a schopností pohlavního i nepohlavního rozmnožování. Mají zvláštní ekologické nároky, jedná se především o zástupce koprofilních Zygomycetes. Jeho výtrusy se tedy dostávají na exkrementy vzduchem a na nich jsou schopny vyklíčit, nebo musí projít trávící soustavou živočicha a pak na jeho exkrementech vyklíčí. Dalším vhodným substrátem jsou potraviny, na potravinách se nejčastěji vyskytují mikroskopické houby (typičtí saprofyty) z řádu

Mucorales (Zygomycetes), např. rod *Mucor*, *Rhizopus* (Ostrý, 1998; Sumbali 2005).

4.5.3.1.1 Mucor

Rod *Mucor* zahrnuje více než 100 druhů této plísně. Nejčastěji tvoří světlý porost s kulovitými tmavšími sporangii, běžně se vyskytuje na různých potravinách a krmivech, dále na podzim při sklizni ovoce, když je optimální vzdušná vlhkost pro jeho šíření a vhodné podmínky pro růst. Nežádoucí sekundární metabolit, mykotoxin, je velmi nebezpečný, až patogenní. Jiní zástupci tohoto rodu mají proteolytické účinky (kterých se hojně využívá v masném průmyslu), další pak amylolytické účinky, enzymy, kterými zkvašují sacharidy bez přístupu kyslíku a v Asii je tak hojně využíván k alkoholovému kvašení nápojů ze sóji, jedná se o *Mucor javanicus* a *Mucor rouxii* (Šilhánková, 2008).

Rod *Mucor* se vyskytuje jednak ve vláknité formě, při přístupu kyslíku, ale při nedostatku kyslíku, nebo za anaerobních podmínek je běžně ve formě kvasinkové (Ostrý, 1998).

Obr. č. 10: *Mucor*



https://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/thumb/c/c5/Mature_sporangium_of_a_Mucor_sp._fungus.jpg/1280px-Mature_sporangium_of_a_Mucor_sp._fungus.jpg

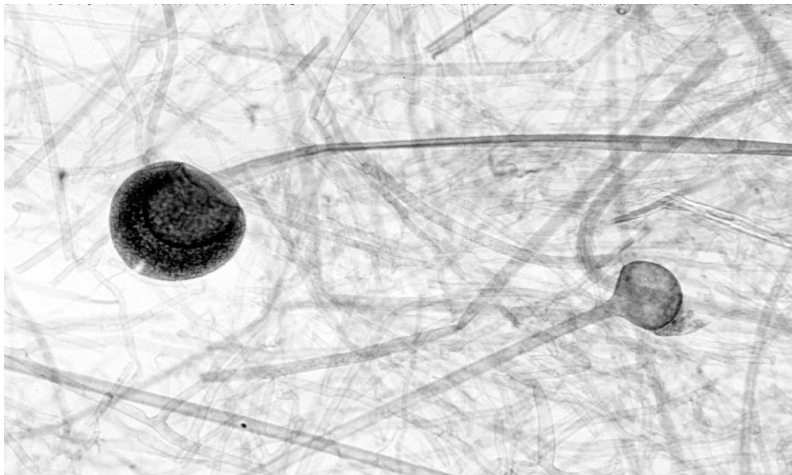
4.5.3.1.2 Rhizopus

Rod *Rhizopus* je stejně jako *Mucor* v přírodě velmi rozšířený, taktéž způsobuje kažení potravin, zejména ovoce a rovněž jeho sekundární metabolity, mykotoxiny, mohou být patogenní. Rozdílnou vlastností je délka jednotlivých vláken, mohou být až 1 cm dlouhá.

Hyfy tvoří dlouhé šlahouny, které se nazývají stolony, na nichž vyrůstají dlouhé sporangiofory se sporangii. *Rhizopus japonicus* a *Rhizopus delemar* se využívají ke zkvašování obilí a tvorbě alkoholických nápojů v Japonsku. *Rhizopus nigricans* je využíván

pro svou tvorbu fumarové kyseliny a dalších látek, které slouží k dalšímu farmaceutickému zpracování a tvorbě léků. Dále mohou rozkládat pektinová vlákna a uvolňovat celulózu. Tento fakt je využíván přímo na polích, kdy se rosí len, aby byl dále zpracovatelný v oblasti textilního průmyslu (Šilhánková, 2008).

Obr. č. 11: *Rhizopus*



https://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/c/c0/Rhizopus_clonal_sporangia.jpg

4.5.3.2 Monilia – Deuteromycetes

Rozsáhlé rody plísní mohou tvořit jak askospory, nebo tvoří pouze vegetativní rozmnožovací orgány a takto se rozmnožují. Z plísní je nejrozšířenější druh *Penicillium*, dále významné jsou rody *Aspergillus*, *Botritis*, *Cladosporium* a *Alternaria* (Šilhánková, 2008).

4.5.3.2.1 Aspergillus

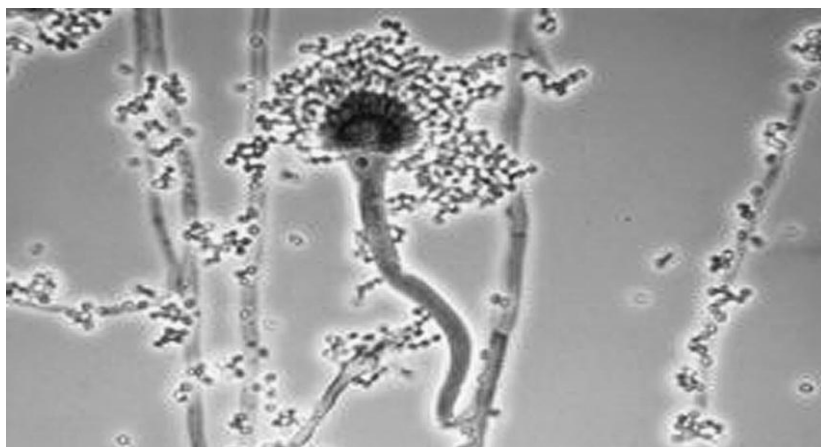
Rozšířený druh *Aspergillus* se rozmnožuje vegetativně, pomocí konidií, které jsou v řetězcích na konci konidioforu, popř. mohou tvořit aska s 8 askosporami. *Aspergillus* je velmi odolný a téměř všudypřítomný, protože tvoří řadu enzymů. Tyto enzymy se dají rozdělit na proteolytické, které najdeme běžně v pracích prostředcích, pektolytické, které se využívají v konzervářském průmyslu a amylolytické, hlavně v pivovarnictví. Některé rody produkují antibiotika, nicméně díky své vysoké toxicitě nejsou využívány ve farmakologii a lékařství (Šilhánková, 2008).

Rod *Aspergillus* se v potravinářství využívá zejména při výrobě sojové omáčky, nápojů s obsahem kyseliny citronové, kterou dokáže syntetizovat z obsažených látek v nápoji, k výrobě alkoholických nápojů a k průmyslové produkci enzymů. Mnoho zástupců

kontaminuje domovní prach a může způsobovat alergie (Dijksterhuis et Samson, 2007; Weeks et Alcamo, 2008).

Aflatoxiny jsou nejvíce toxická skupina sekundárních metabolitů, mykotoxinů, které produkuje rod *Aspergillus* (*A. flavus*, *A. parasiticus* a méně *A. nomius*). V přírodě se běžně vyskytuje ve 4 formách aflatoxin B1 (AFB1), aflatoxin B2 (AFB2), aflatoxin G1 (AFG1), aflatoxin G2 (AFG2) a často jsou nacházeny v potravinách. *Aspergillus parasiticus* vytváří jak aflatoxin B, tak i AFG a je dobře přizpůsoben půdnímu prostředí, kdežto *A. flavus* je více přizpůsoben na osidlování nadzemní části rostlin a produkuje pouze aflatoxiny B. Aflatoxiny mají prokazatelně negativní účinky na lidské zdraví, řadí se do skupiny toxických látek, způsobujících karcinogenitu, mutagenitu, teratogenitu a působí i na imunitní systém. Nejčastěji způsobují rakovinu jater, pokud je organismus vystaven delší dobu těmto metabolitům (Dobson et al., 2003).

Obr. č. 12: *Aspergillus*



<https://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/f/fe/Aspergillus2.jpg>

4.5.3.2.2 Penicillium

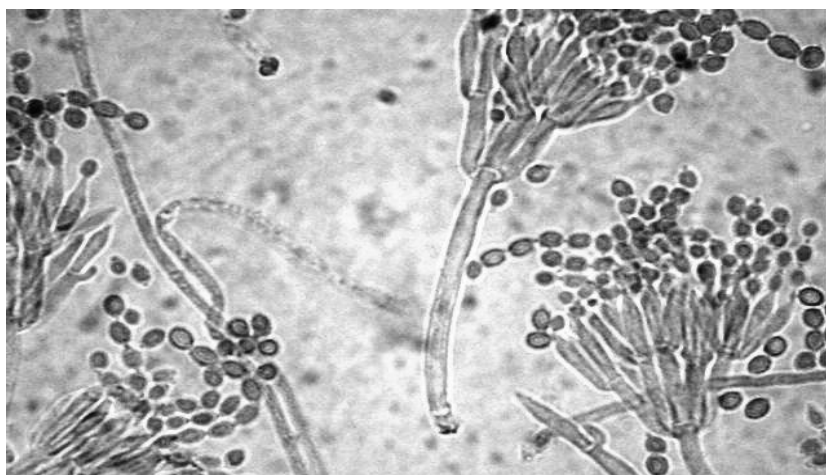
Z plísni je rod *Penicillium* jeden z nejběžněji se vyskytujících, velmi rozsáhlý druh plísni s cca 150 zástupci. Kolonie mohou mít různou barvu konidií, nejčastěji zelenomodrou, šedou, žlutou a žlutozelenou. Tvoří povlaky, které je možné běžně nalézt na zkaženém ovoci, zelenině a přírodninách, které obsahují dostatečné množství živin a vlhkosti. Okraje těchto povlaků, které mohou být sametové, jsou čistě bíle ohraničené (Šilhánková, 2008).

Mycelium rodu *Penicillium* vytváří přehrádkované, rozvětvené hyfy. Konidiofor je rovný, dlouhý, vzpřímený a vznikající konidie jsou kulovité, až vejcovité. Pohlavní stádia u rodu *Penicillium* nejsou známa (Sumbali, 2005).

Většina rodů produkuje mykotoxiny, které mohou mít negativní dopad na lidské zdraví, způsobují dýchací potíže, astma a alergie. Jiné druhy mykotoxinů jsou naopak hojně využívány, hlavně v potravinářství a farmakologii. U rodu *Penicillium* můžeme najít i takzvané kulturní plísně, které se využívají zejména jako startovací kultury pro výrobu potravin. *Penicillium camemberti* slouží k výrobě sýrů s ušlechtilou plísní na povrchu, *Penicillium roqueforti* pro výrobu sýrů s plísní uvnitř těsta. Pro farmakologii je velmi významný druh *Penicillium chrysogenum*, které slouží k výrobě penicilinu a dalších odvozených antibiotik (Ostrý 2006; Ray et Bhunia, 2008; Šilhánková, 2008).

Další výrobky s ušlechtilou plísní jsou poté například masné výrobky, hlavně salámy, zde se uplatňují především *Penicillium nalgiovensis*. Velké pozitivum je výroba nejen penicilinu a antibiotik, ale také průmyslová výroba enzymů, která je spjatá s plísněmi (Ostrý, 2006; Dijksterhuis et Samson, 2007; Weeks et Alcamo, 2008).

Obr. č. 13: *Penicillium*



https://irp-cdn.multiscreensite.com/e37bab9d/dms3rep/multi/tablet/Penicillium_purpurogenum-640x440.dm.crop_0_0_640_440_EjdM.jpg

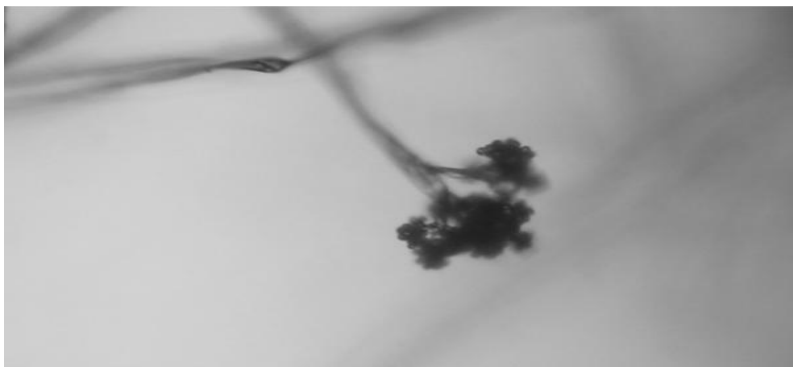
Ochratoxin A (OTA), které produkuje mj. rod *Penicillium* a některé druhy aspergilů velmi často kontaminují půdu a během sklizně či špatného skladování se dostávají do potravin. Byl prokázán neurotoxický účinek ochratoxinů na všechny savce a karcinogenní

a účinek, hlavně na vylučovacím ústrojí. Dále je sledován Ochratoxin B (OTB), který pravděpodobně má karcinogenní, teratogenní, mutagenní i imunotoxický účinek. Nejčastěji se mykotoxiny dostávají na potraviny kontaminací půdou a rozmnožují se ve špatných skladovacích podmínkách, proto se běžně vyskytují v suchých plodech a koření (Dobson et al., 2003).

4.5.3.2.3 Botrytis

Botrytis tvoří středně dlouhé výběžky s nepravidelně rozvětvenými konidiofórami, na nich jsou jednobuněčné konidie. Některé druhy, například *Botrytis cinerea*, se vyznačují svou schopností zvyšovat odpařování vody, čehož se využívá v potravinářském průmyslu, při výrobě bílého vína Tokaj. Rod *Botrytis* způsobuje hnilobu plodů, běžně v sezóně na jahodách a dalším ovoci, nebo zelenině (Šilhánková, 2008).

Obr. č. 14: *Botrytis*

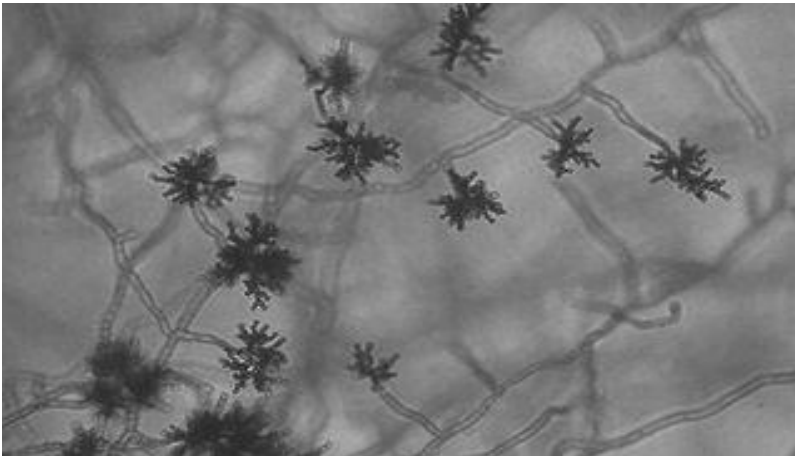


https://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/thumb/c/c9/Botrytis_conidiophore_40X.png/1024px-Botrytis_conidiophore_40X.png

4.5.3.2.4 Cladosporium

Rod *Cladosporium* tvoří řetízkovité, vícebuněčné spory, které vznikají pučením, proto se jedná o blastospory, které jsou tmavé, šedohnědozelené barvy. Běžně vyvolává u lidí alergie a problémy dýchacích cest. *Cladosporium* štěpí některé polysacharidy, hlavně pektiny a celulózu. Vyskytuje se v potravinářském průmyslu, na zdech ve sklepích pivovarů a vinařských sklepích, na mase a na vejcích, často také na rostlinách, zejména rajčatech, okurkách a dalším (Šilhánková, 2008).

Obr. č. 15: *Cladosporium*



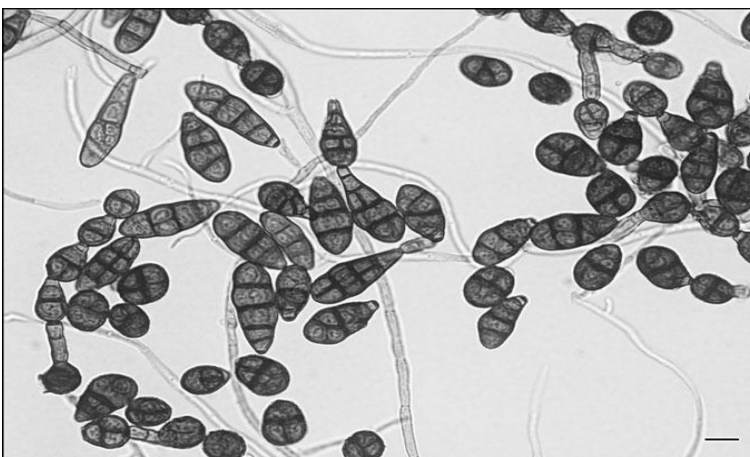
https://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/thumb/3/3f/Cladosporium_sp_conidia.jpg/320px-Cladosporium_sp_conidia.jpg

4.5.3.2.5 Alternaria

Rod *Alternaria* patří do rodů tvořících vícebuněčné konidie. Spory tvoří šedozelené řetízkovité uspořádání a mají přepážky. Tmavá barva chrání tento druh před účinky slunečního záření a velmi často se vyskytuje ve vzduchu v přírodě a na rostlinách, ale i v továrnách a potravinových fabrikách. Působí jako vzdušná kontaminace v mlékařském a pivovarském potravinovém průmyslu (Šilhánková, 2008).

Jedná se o patogeny rostlin, což způsobuje značné ztráty. Často napadají rajčata a způsobují jejich hnilobu, stejně tak u dalších plodin (Ray et Bhunia, 2008).

Obr. č. 16: *Alternaria*



https://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/b/bc/Alternaria_alternata-5_copie.jpg

4.5.4 Mykotoxiny

Jesenská (1987) uvádí, že vláknité houby mají několik nežádoucích účinků, spojených s jejich napadením dané potraviny, ať už z hlediska jejich enzymové aktivity, nebo sensorických vlastností, nicméně největší nežádoucím účinkem je tvorba toxických metabolitů – mykotoxinů. Do roku 1987 bylo izolováno a následně určeno více než 100 různých metabolitů mikroskopických vláknitých hub. Interakci a nežádoucí účinek na zdraví člověka a některých hospodářských zvířat mají hlavně tyto mykotoxiny – aflatoxiny, ochratoxin A, fumonisinů trichoteceny, patulin a zearalenon.

Mykotoxiny hrají klíčovou roli v rozvoji potravinových alergií, a potraviny kontaminované mykotoxiny jsou v současné době významným problémem v oblasti veřejného zdraví, některé druhy mykotoxinů mohou být příčinami vzniku různých druhů rakoviny. Inhalace konidií *Aspergillus fumigatus*, *Aspergillus flavus* a *Aspergillus niger* způsobuje kolektivní onemocnění, zvané aspergilóza. Velké počty kontaminujících plísní, hlavně rodů *Aspergillus* a *Penicillium* jsou běžně nacházeny ve zboží, které pochází z Asie (Sumbali, 2005).

Ostrý (1998) doplňuje, že mykotoxiny jsou přírodními toxiny, které využívají plísně i jako svou ochranu. V současnosti je známo více než 290 mykotoxinů a stále jsou nové a další objevovány a následně zařazovány. Nejběžněji se dají mykotoxiny rozdělovat podle určení plísně, jež je produkuje, nebo z hlediska toxicity k jednotlivým orgánům. Jednotlivá akutní otrava však většinou nehrozí, naopak mykotoxiny velmi často způsobují chronickou kumulační toxicitu a tím, v průběhu času, zvyšují riziko karcinogenity. Některé mykotoxiny mohou, při překročení limitní dávky vyvolávat vývojovou toxicitu, nebo mohou mít i druhotné, teratogenní, účinky.

5 Ošetření suchých plodů

Celosvětové ztráty potravin po sběru jsou způsobeny hmyzem a mikroorganismy. Celkově se jedná o desítky procent zničené úrod. Protože se jedná o potraviny, které jsou určeny k lidské spotřebě, nelze ve všech případech použít chemické ošetření, nařízení některých zemí navíc brání v biologických ošetřeních a manipulaci s genetickou informací potravin, které by byly odolnější. Proto se využívají fyzikální metody ošetření

(Cauvain et Young, 2009; Yadav et al., 2014).

5.1 Ochrana potravin před mikrobiálním znehodnocením

Ihned po sběru se semena a plody dále zpracovávají a balí, nebo se nejprve uskladní, poté dochází ke zpracování a následně k balení potravin. Kvalitativní požadavky jsou určeny na základě zabránění mikrobiologické nákazy ať už způsobem skladování, nebo zpracováním plodů a balením. U většiny používaných obalů k uskladnění, nebo k dalšímu prodeji, se jedná o aseptickou manipulaci, kdy nedochází ke kontaktu potravin a ani obalu s mikroorganismem, nejčastěji se využívá dalších technologií – sterilace, pasterizace, působení fyzikálních faktorů, nebo chemických reakcí (Jelen, 1976; Čurda, 1982; Kadlec, 2007; Kadlec a kol., 2009).

Všem těmto procesům by mělo předcházet sušení. Sušením dochází k snížení vody v ořeších a dalších plodech pod 10 % z celkové původní hmotnosti. Snížením množství vody dochází k zamezení rozvoje plísní a mikrobů. Dále dochází k inaktivaci některých enzymů. Ořechy a suché plody je nutné skladovat odděleně od aromatických látek a plodin, protože díky vysokému obsahu tuků mohou snadno přijmout cizí pachy a chutě. Optimální relativní vlhkost vzduchu pro skladování se pohybuje v rozmezí 65-75 % a nejvhodnější teplota je 0 °C, optimálně v inertní atmosféře bez přístupu vzdušného kyslíku, jehož obsah by neměl přesahovat 1 % (Velíšek, 1999).

5.2 Sušení, jako způsob konzervace

Principem sušení a pražení je odnětí vody, jako prostředí nutného pro rozvoj mikroorganismů a současně i pro funkci enzymů, které mohou zhoršovat jakost suchých plodů. V případě ořechů a arašídů především se jedná především o oxidázy, které způsobují žluknutí tuků v jádrech obsažených. Požadavky na jakost těchto plodů jsou velmi přísné, dochází k odejmutí vody natolik, aby nedocházelo k mikrobiální nákaze a zapaření, ale zároveň aby nebylo odebráno příliš velké množství vody, protože poté dochází ke ztrátě nutričně významných látek a tyto potraviny mohou, při styku s vodou, bobtnat. Finální produkt by měl být stabilní ve vhodných skladovacích podmínkách, tedy procesem sušení se prodlužuje jeho údržnost a trvanlivost (Balašík, 1975).

Metody pražení ořechů tedy můžeme rozdělit na tepelné pražení a sušení a dále pak olejové pražení. Při fritování jsou plody ponořeny do fritovací lázně na několik minut, dle druhu ořechu, velikosti ořechu a dalších parametrů, následně jsou ořechy ochlazeny

a mohou být baleny. Některé ořechy jsou po sušení a pražení ještě dochucovány. Nevýhodou pražených a sušených ořechů je ztráta některých cenných látek, enzymů a sensoricky aktivních látek. Fritováním navíc může dojít k rychlejší oxidaci povrchového oleje a tím i k rychlejším jakostním ztrátám. Při překročení optimální teploty a času, kdy je ořech dále zpracován, může dojít k jeho znehodnocení a přepražení, naopak při nedodržení optimální teploty a času sušení a pražení nedojde k úplné inaktivaci mikrobu a enzymů a takto dochází k rychlejší zkáze těchto potravin (Kadlec a kol., 2002).

Díky sušení plodů dojde ke snížení objemu a hmotnosti a tím dochází ke snížení nákladů na následnou manipulaci a skladování, balení a dopravu. Sušení je závislé na tlaku, rychlost vzduchu, relativní vlhkosti a době sušení a odvíjí se především v závislosti na materiálu na metodě sušení. V průběhu posledních století se optimalizovaly procesy sušení, využívá se především znalosti materiálu a nejnověji se využívá sušení v sušárnách v tenkých vrstvách plodů, kde dochází ke snadnějšímu průniku tepla k jednotlivým plodům a nedochází k nerovnoměrnému zahřívání (Onwude et al., 2016).

Nejdůležitější aspekty sušení v tenké vrstvě (thin layer drying), jsou matematické modely procesu sušení a konstrukce zařízení, které může umožnit výběr nejvhodnějších provozních podmínek a minimalizuje se energetická náročnost celého procesu. Důkazy nasvědčují tomu, že tyto modely mohou být dále použity pro odhad křivky sušení a také předpovědět přenos chování sušení, spotřebu energie a tepla a hmoty procesu sušení (Murthy et Manohar, 2012).

Nicméně, v praxi neexistuje jednotný model sušení v tenké vrstvě, který může být použit univerzálně a to i v rámci několika šarží. Vlhkost jednotlivých šarží, velikost plodů, relativní vlhkost vzduchu, okolní teplota, teplota skladování přímo určuje průběh a slouží k odhadnutí doby a fází sušení. V první fázi dojde k předsušení, kdy je vlhkost povrchu plodu menší, než vlhkost a obsah vody uvnitř plodu, proto se musí přejít k druhé fázi, pomalejšímu sušení, aby se mohla voda z vnitřních vrstev dostat k povrchu a došlo tak k stejnoměrnému vysušení. Třetí fáze je vysušení, jež přináší velmi část znehodnocení produktu, který je přesušený, nebo je díky sušení spálen, znehodnocen, přepražen a není dále určen ke zpracování. Nejvhodnější bývá sušení s dopravními pásy, kdy dochází k sušení v tenké vrstvě, odparu rovnoměrně a k rovnoměrnému pražení bez spálení.

Dá se také lépe využít fázování sušení, jako na sebe navazující procesy, kdy dojde k nejmenším ztrátám na kvalitě plodů a celkové hmotnosti, ale zároveň k velmi efektivnímu ošetření (Othmer, 2008; Onwude et al., 2016).

Pro ošetření materiálů, které jsou velmi citlivé na mechanické namáhání a teplotu se využívá technologie mikrovlnného sušení a pražení, nebo jen při dosušování potravin. Některé druhy mikrovlnných sušáren využívají vakua, čímž se zachovává původní barva a chuť některých druhů plodů. K nejrychlejší místní generaci tepla dochází u potravin, které obsahují vodu, hlavně v buněčných strukturách. Nejvhodnější jsou tedy materiály s nízkou vlhkostí (Šnita, 2006).

5.3 Mikrovlnné sušení - pražení

Mikrovlnné trouby pracují na principu mikrovln, tedy o vysokofrekvenčním elektromagnetickém záření, s intervaly 0,3-30 GHz a s frekvencí 2450 MHz. Tato frekvence je jediná, legislativně povolená, pro použití v potravinářství v České republice (Vrba, 2001).

Záleží na vlastnostech materiálu, potravin, který je záření vystaven. Některé materiály mohou mikrovlny propouštět v nezměněném stavu (transparentní materiály). Druhým případem jsou materiály, které mikrovlny odrážejí (odrážecí materiály). Posledním případem jsou materiály, které záření pohlcují, jedná se o adsorpční materiály (Si et al., 2016).

Při adsorpci mikrovln může dojít k netepelným účinkům, kdy se adsorbuje jen malé množství mikrovln a tím nedojde ke zvýšení energie a nevzniká teplo, nebo dojde ke klasickému adsorbování, kdy má záření tepelné účinky (Vrba, 2000; Vrba, 2001).

Mikrovlnná trouba obsahuje součástky, které tvoří mikrovlnné záření. To je následně převedeno hliníkovým vlnovodem do prostoru, kde se nacházejí potraviny, tedy do osádky pro ohřev, nebo do tunelu s dopravníkem pro kontinuální ohřev. Mikrovlnné záření je pohlcováno molekulami vody a vzniklá energie rozkmitá molekuly. Kmitavým pohybem vzniká v molekulách tření a třením se vytváří teplo, proto se materiál zahřívá. Mikrovlnné trouby a zařízení s mikrovlnným ohřevem jsou uzavřená, aby nedocházelo k únikům mikrovlnného záření do okolí (Kyzlink, 1990; Vrba, 2001, Šauliová, 2005).

Mikrovlnné záření je možné charakterizovat, jako neionizující záření a v dostatečné míře vede ke zvýšení teploty, díky kmitání molekul. Zvýšení teploty a kmitání molekul může způsobit změnu molekulární podstaty látky, molekuly se oddalují a tím dochází ke vzniku

i zániku některých vazeb, nicméně nebylo dokázáno, že by tyto změny měly jakýkoliv negativní účinek na lidské zdraví. Je proto možné použít toto záření ke konzervaci potravin (Kyzlink, 1990).

Sterilizační účinek ale může být využíván i v dalších odvětvích potravinářského průmyslu. Mikrovln se využívá například k pasterizaci mléka, zeleninových a ovocných šťáv a sou spolehlivou metodou při likvidaci plísní a hub. Mikrovlny jsou uplatňovány i při štěpení toxických látek za vysokých teplot, kterých je dosahováno mikrovlnným zářením (Šauliová, 2005; Schubert et Regier, 2005).

Mikrovlnná energie, která je produkována mikrovlnnou troubou, se v potravinářství používá zejména pro vaření, sušení, temperování, pečení, pasterizace a sterilizace. Použití mikrovlnného záření nabízí výhody, hlavně rychlost provozu, úspora energie, přesné řízení procesů, rychlejší spouštění a čas, který je nutný k ustálení teploty, ve srovnání s konvenčními tepelnými procesy. Mikrovlnné trouby mohou být využívány k pražením podzemnice olejné, mandlí, lískových oříšků a jiných suchých plodů (Schubert et Regier, 2005; Hojjati et al., 2015).

Vlivem přestupu tepla při využívání mikrovlnného záření jsou zachovávány nutriční vlastnosti látek. Rychlejší přestup tepla může být využíván i ke sterilizaci a pasterizaci, kdy dochází ke zneškodnění mikroorganismů aj. a zůstává zachována většina nutričně cenných látek. Mikrovlnný ohřev snižuje riziko nerovnoměrného prohřívání, nebo přehřívání, vnějších vrstev potravin a tím se sníží množství nežádoucích změn (Richter a kol., 2002).

Mikrovlnným ohřevem však mohou vznikat rizika, hlavně z hygienického hlediska. Mikrovlnným ohřevem neterodné látky, hlavně látky, která obsahuje místa s rozdílným nehomogenním složením, může dojít k nerovnoměrnému ohřevu. Například potraviny s větším množstvím tuků a menším množstvím vody adsorbují méně záření.

Pokud se jedná o několik surovin, nebo látek v jedné potravíně, mohou vznikat tzv. studená místa a v nich poté nedochází k usmrcení mikroorganismů. Proto je nutné (pokud potravinu vystavujeme mikrovlnám za účelem ošetření) podrobit analýze složení tyto suroviny, nebo potraviny. Po zjištění složení se dá upravit doba pražení, sušení, nebo jiného zpracování tak, aby došlo k usmrcení mikroorganismů, nebo ke snížení jejich aktivity a zároveň aby byla zajištěna nezávadnost potravin a nedocházelo k jakostním a výživovým změnám (Hladík, 1966; Šauliová, 2005; Yadav et al., 2012).

6 Materiál a metody

Cílem bakalářské práce bylo posoudit vliv mikrovlnného záření na mikrobiologickou (hlavně mykologickou) kvalitu suchých plodů.

K rozboru byly použity vzorky mandlí natural neloupané, dále arašídů natural neloupané a pistácie ve skořápce.

Vzorky všech suchých plodů byly vystaveny různé intenzitě mikrovlnného záření za účelem ošetření a k rozboru byly již dodány ošetřené určitou dávkou záření a příslušně označené. K porovnání výsledků byly použity kontrolní vzorky od každého druhu suchých plodů. U kontrolních vzorků nebylo provedeno žádné ošetření mikrovlnným zářením, ani nebyly jinak dále upravovány.

Hodnocení mikrobiologické kvality probíhalo bezprostředně po ozáření, následně po 3 a 6 měsících skladování.

Účelem bylo zjistit vliv ošetření mikrovlnným zářením na množství a zastoupení mikroorganismů, hlavně plísní. Dále bylo zjišťováno, zda se mění vliv ošetření během skladování.

6.1 Použité vzorky

Pro všechny experimenty byly použity stejné podmínky:
frekvenční měnič 6.27 Hz, pohyb pásu 1 cm/s, průjezd tunelem 50 s, dohřev v komoře, temperované na 85 °C.

1) Mandle natural neloupané

Záření 4 kW

Rozváženo na 3 misky, pro analýzy odebrána prostřední miska, teplota 123,1-74,6 °C.

2) Mandle natural neloupané

Záření 3 kW

Rozváženo na 3 misky, pro analýzy odebrána prostřední miska, teplota 101,5-79,0 °C.

3) Mandle natural neloupané

Záření 2,4 kW

Rozváženo na 3 misky, pro analýzy odebrána prostřední miska, teplota 107-65 °C.

4) Arašídny natural neloupané

Záření 4 kW

Odváženo do misek, ale pak praženo bez misek, vše vysypáno na pás.

Na analýzy odebrány vzorky ze střední části, teplota 104-92,6 °C.

5) Arašídny natural neloupané

Záření 6 x 2 kW (posláno 2x)

Odváženo do misek, ale pak praženo bez misek, vše vysypáno na pás.

Spáleno, přepraženo, vyhozeno.

6) Arašídny natural neloupané

Záření 4 x 2 kW (posláno 2x)

Odváženo do krabic, ale pak praženo bez nich, vše vysypáno na pás.

7) Pistácie ve skořápce

Záření 3 kW

Rozváženo na 3 misky

Pro analýzu odebrána prostřední miska, teplota 107-65 °C.

Jednotlivé vzorky se lišily intenzitou záření, jako kontrolní byly použity vzorky neozářené. Celkově bylo hodnoceno 9 vzorků.

6.2 Použitá média

K minimalizaci osmotického šoku se doporučuje použití roztoku obsahující dostatečné množství rozpuštěné látky (např. 20% - 35% roztok (hmotnostní) glycerolu nebo D-glukózy). Jako ředící roztok byl použit roztok 0,1% peptonové vody, jako prostředí pro extrakci. Ke stanovení plísní ve vzorcích byl použit Dichloran glycerol agar (DG18). DG18 je využíván

jako selektivní agarová půda pro xerofilní plísně a kvantifikaci kvasinek a plísní v potravinách, kvůli nízké vodní aktivitě (ČSN EN ISO 21527-2).

6.2.1 0,1% peptonová voda

Dané množství glukózy a peptonu (k minimalizaci osmotického tlaku, 20% roztok) bylo zahříváním rozpuštěno v destilované vodě. Následně byl roztok rozplněn do Erlenmayerových baněk (90 ml) a do zkumavek (9 ml roztoku). Byl sterilizován v autoklávu při 121 °C po dobu 15 minut.

6.2.2 Dichloran glycerol agar (Oxoid CM0729)

Do 500 ml destilované vody bylo naváženo 15,75 g přípravku a zahříváno do úplného rozpuštění. Následně přidáno 110 g glycerolu, obsah jedné lahvičky Chloramphenicol Selective Supplement (může být přidána i po sterilaci). DG18 byl sterilizován v autoklávu při 121 °C po dobu 15 minut a následně ochlazen na 50 °C, důkladně promíchán a rozlít na Petriho misky.

Složení:

Enzymaticky natrávený kasein	5 g
D-Glukosa	10 g
Dihydrogenfosforečnan draselný	1 g
Síran hořečnatý	0,5 g
Dichloran	0,002 g
Glycerol bezvodý	220 g
Agar	15 g
Chloramphenicol	0,1 g
Destilovaná voda	1000 ml

Konečné pH 5,6.

6.3 Postup

Do Erlenmayerovy baňky s 90 ml roztoku 0,1% peptonové vody bylo naváženo 10 g vzorku. Vzorek byl vytřepáván 7 min. Další ředění v případě potřeby - 1 ml suspenze ředění 10^{-1} pipetovat do zkumavky s 9 ml fyz. roztoku, protřepat (ředění 10^{-2}), postup možno opakovat dle potřeby, vždy novou sterilní pipetou (až do konečného ředění).

Na povrch vysušeného DG18 agaru bylo sterilní pipetou přeneseno 0,1 ml (resp. pro usnadnění stanovení nízkého množství kvasinek a plísni 0,2 ml) suspenze.

Pro každé ředění byla založena 3 opakování.

Ihned po nepipetování byla suspenze rozetřena sterilní roztírací tyčinkou (kličkou) po celé ploše misky. Petriho misky byly kultivovány víčkem vzhůru 5-7 dnů při teplotě 25 °C.

Kvantitativní stanovení mikroorganismů

Po uplynutí doby určené ke kultivaci byly spočítány jednotlivé kolonie [KTJ/g] mikroorganismů (plísni a kvasinek). Výsledné množství bylo přepočítáno na 1 gram vzorku.

Kvasinky se vyznačují matnými, nebo lesklými koloniemi s pravidelným okrajem a vypouklým povrchem. Vlákňité mikroorganismy (plísňe) tvoří ploché, nebo ochmýřené kolonie, které jsou často zbarvené.

Kvalitativní stanovení mikroorganismů

Z každé kolonie byl proveden mikroskopický rozbor – kvalitativní stanovení plísni na úrovni rodu, další mikroorganismy nebyly určovány a zařazovány do systému. K určování rodů byly použity klíče (HAMPL, B., ŠILHÁNKOVÁ, L. 1957; FASSATIOVÁ, O. 1979). Zvětšení při stanovování bylo 150 x a 675 x.

7 Výsledky

V experimentální části bakalářské práce byl zjišťován vliv ošetření mikrovlnným zářením na obsah plísní. Vzorky mandlí, arašídů a pistácií byly vystaveny různě intenzitě mikrovlnného záření.

Následně bylo určeno množství a rodové zastoupení plísní ihned po ošetření, po 3 a po 6 měsících skladování.

Zároveň byly hodnoceny vzorky neošetřené, v tabulkách označovány jako kontrola.

Ke stanovení byla použita kultivační metoda desková. Zjištěné počty KTJ byly přepočítány na 1 g vzorku.

Tabulka č. 1 uvádí počty plísní (KTJ/g vzorku) u všech devíti vzorků ze všech rozborů (odstupy mezi stanoveními jsou 3 měsíce). Výsledné počty se pohybují od 0 KTJ/g (použitou metodou nebyly zjištěny v daném vzorku žádné mikroorganismy) po max. řádově stovky KTJ v 1 gramu vzorku. V téměř všech případech došlo k poklesu počtu mikromycet po ošetření ozářením v porovnání s kontrolou.

Významný vliv má také intenzita ozáření. V případě vzorku mandlí nemělo ozáření

2,4 kW na obsah mikromycet vliv, kdežto ozáření o dávce 4 kW způsobilo razantní pokles počtu mikromycet. U vzorku arašíd způsobilo mikrovlnné záření významný pokles počtu ze 100 na 0 KTJ a také u pistácií došlo po ošetření mikrovlnným zářením k razantnímu snížení počtu mikroorganismů.

Doba skladování neměla významný dopad na kvalitu vzorků. V průběhu skladování došlo ke kolísání počtu mikroorganismů (většinou na úrovni řádu).

Mezi čerstvě ošetřenými plody a plody po skladování nebyl prokázán žádný rozdíl (nedojde k rozdílnému zastoupení plísní a ani počtu mikromycet). U mandlí počty KTJ v průběhu skladování klesaly, ale nejednalo se o velké rozdíly (stále se počty mikromycet pohybovaly ve stech KTJ na 1 gram vzorku). Výrazný pokles v počtu plísní v průběhu skladování byl u neošetřených pistácií, kde došlo ke snížení z 680 KTJ/g až na hodnotu 15KTJ/g po 6 měsících. U ozářených vzorků k tak velkému poklesu nedošlo. Kvasinky se vyskytovaly jen u vzorku neošetřených pistácií v 1. stanovení. Dále nebyly zjištěny. Podobně bakterie. Vyskytly se pouze v jedné misce při prvním stanovení u vzorku mandlí. Dále nebyly zjištěny.

Tabulka č. 1 Kvantitativní stanovení (KTJ/g vzorku)

Vzorek	1. stanovení		2. stanovení		3. stanovení	
	č. vzorku	KTJ/g	KTJ/g	KTJ/g	KTJ/g	KTJ/g
Mandle	Kontrola	500	950	550		
Mandle	1	120	50	250		
Mandle	2	150	150	300		
Mandle	3	400	500	625		
Arašídy	Kontrola	120	150	0		
Arašídy	4	0	0	0		
Arašídy	6	0	0	0		
Pistácie	Kontrola	680	100	15		
Pistácie	7	75	50	0		

V tabulce č. 2 je uvedeno rodové zastoupení plísní pro všechna stanovení. Nejčastěji se vyskytovaly rody *Aspergillus* a *Penicillium*, které byly přítomny ve všech pozitivních vzorcích. Dále v meší míře rody *Rhizopus*, *Cladosporium*, v mizivém množství *Alternaria*

a u dvou vzorků byla zjištěna *Mycelia sterilia* (Agromycetes).

Aspergillus se vyskytoval ve všech zkoumaných vzorcích, jeho nárůst nebyl potlačen ani ošetřením mikrovlnným zářením. Došlo sice ke snížení počtu KTJ/g vzorku, ale jako takový samotný rod *Aspergillus* nebyl odstraněn.

Tabulka č. 2 Kvalitativní stanovení

		1. stanovení	2. stanovení	3. stanovení
č.		rodová skladba		
vzorku				
Mandle	kontrola	<i>Aspergillus,</i> <i>Penicillium,</i> <i>Cladosporium</i>	<i>Aspergillus,</i> <i>Penicillium,</i> <i>Cladosporium,</i> <i>Rhizopus,</i> Mycelia sterilia, *	<i>Aspergillus,</i> <i>Penicillium,</i> <i>Cladosporium,</i> <i>Rhizopus,</i> *
Mandle	1	<i>Aspergillus,</i> <i>Penicillium</i>	<i>Aspergillus,</i> <i>Rhizopus</i>	<i>Aspergillus,</i> <i>Cladosporium</i>
Mandle	2	<i>Aspergillus,</i> <i>Rhizopus,</i> *	<i>Aspergillus</i>	<i>Aspergillus,</i> <i>Penicillium,</i> <i>Cladosporium,</i> *
Mandle	3	<i>Aspergillus,</i> <i>Penicillium,</i> <i>Cladosporium,</i> <i>Rhizopus</i>	<i>Aspergillus,</i> <i>Penicillium,</i> <i>Cladosporium,</i> <i>Rhizopus,</i> <i>Alternaria,</i> *	<i>Aspergillus,</i> <i>Penicillium,</i> <i>Alternaria</i>
Arašídý	kontrola	<i>Aspergillus,</i> <i>Penicillium,</i> *	<i>Aspergillus,</i> <i>Penicillium,</i> <i>Cladosporium</i>	
Arašídý	4			
Arašídý	6			
Pistácie	kontrola	<i>Aspergillus,</i> <i>Penicillium,</i> *	<i>Aspergillus</i>	<i>Aspergillus</i>
Pistácie	7	<i>Penicillium</i>	<i>Aspergillus,</i> Mycelia sterilia	

Poznámky: * neurčeno (některé plísně nebyly určeny)

Tabulka č. 3 Zastoupení mikroorganismů v procentech

průměrné zastoupení mikroorganismů v procentech

rod plísně	1. stanovení	2. stanovení	3. stanovení
<i>Aspergillus</i>	56,1	68,9	86,0
<i>Penicillium</i>	34,8	15,1	8,1
<i>Rhizopus</i>	4,0	5,7	1,2
<i>Cladosporium</i>	2,0	2,8	3,1
<i>Alternaria</i>	0	0,99	1,0
<i>Mycelia sterilia</i>	0	6,0	0
Neurčeno (plísně)	0,98	1,2	1,0
další mikroorganismy	2,0	0	0

V tabulce č. 3 je zaznamenáno průměrné zastoupení rodů plísní v procentech ze všech tří stanovení. Nejčetněji se vyskytovala plíseň rodu *Aspergillus*, průměr ze všech stanovení je těsně přes 70 %. Plíseň rodu *Aspergillus* se navíc po skladování se nejvíce rozvíjela a došlo ke zvýšení počtu kolonií. Naopak druhá nejčastější plíseň rodu *Penicillium* průměr ze všech stanovení je necelých 20 %. Plíseň se po určité době skladování vyskytovala ve vzorcích méně.

Další mikroorganismy se již po prvním určení ve vzorcích neobjevovaly. U většiny dalších rodů plísní došlo k mírnému nárůstu počtu kolonií. Ostatní rody plísní se vyskytovaly v řádech procent a méně (*Rhizopus* 3,6 %, *Cladosporium* 2,6 %, *Mycelia sterilia* (Agromycetes) 2,0 %). V nepatrném množství byl prokázán rod *Alternaria* 0,6 % a 1 % plísní nebylo určeno.

8 Diskuse

Mikroorganismy jsou spjaty s lidskou populací od prvopočátků, stejně tak s životem, jako takovým. Vyskytují se ve všech prostředích a téměř všude kolem nás. Nelze říci, že mají jen negativní dopad na zdraví. Většina mikroorganismů má vztah k člověku neutrální, někdy pozitivní a mohou dokonce být součástí našeho organismu. Některé mikroorganismy však samotné, nebo jejich metabolity způsobují závažná onemocnění, ve větší míře až úmrtí.

V minulém století byl výzkumem v evropských potravinách a poživatinách prokázán výskyt mikroorganismů z řad plísní, kvasinek a velmi často bakterií. Někdy se jedná o neškodné druhy, velmi často však mohou měnit kvalitu a jakost potravin a činit z nich nepoživatelné a zdraví škodlivé produkty. Přes veškeré informace a poznatky se stále některé škodlivé mikroorganismy vyskytují v potravinách. Jedním problematickým bodem je používání ochranných látek.

Problém bývá v jejich používání, kdy jsou používány často nesprávně, v malém množství nepostihnou mikroorganismus, ve velkém množství mohou mikroorganismus zničit spolu s potravinou. Dále se jejich rezidua vyskytují v potravinách a ve větší míře tato rezidua mohou být škodlivější, než samotný mikroorganismus. Jiný způsob pěstování plodin, bez použití chemických nebo biologických látek má právě díky nulové ochraně obsah mikroorganismů několikrát vyšší.

Jako jedna z metod pro konzervaci potravin je používáno sušení. Sušením dochází ke snížení výsledné hmotnosti a objemu a zároveň je potlačen růst mikroorganismů. Pro ošetření materiálů, které jsou více senzitivní na mechanické namáhání a teplotu, využíváme technologii mikrovlnného záření.

Jedná se o neionizující záření, při kterém dochází ke zvýšení teploty (díky kmitání molekul), ale velmi záleží na materiálu. Vlastnosti materiálů určují, zda materiál mikrovlny odráží, propouští v nezměněném stavu, nebo je pohlcuje (Si et al., 2006).

U nesteroidné látky může dojít k nerovnoměrnému prohřátí, mohou vznikat tzv. studená místa, ve kterých nedochází k usmrcení mikroorganismů, proto je nutné upravit dobu, nebo technologii zpracování.

V rámci bakalářské práce byla využita různá intenzita mikrovlnného záření od 2 do 4 kW. Při vyšší intenzitě (6x2 kW) došlo k znehodnocení zkoumaných vzorků, nižší intenzita (2,4 kW) nepotlačila mikroorganismy.

Dle Alabouvette et al. (2006) se v některých potravinách z ekologických zemědělství vyskytovalo mnohonásobně více mykotoxinů, než v potravinách chemicky ošetřených, které zase naopak obsahovaly více reziduí ochranných látek. Doporučují tedy kombinaci efektivního zemědělství, za použití předem určených přesných dávek, střídání plodin na pěstebním území a dále využití nových poznatků.

Mykotoxiny jsou velmi zdraví škodlivé, mohou způsobovat onemocnění a ve velkých dávkách až smrt. Jejich toxicita může být akutní, tedy okamžitá, ale častěji se jedná o chronické působení mykotoxinů, které nejčastěji působí skrze reakci organismu.

Candlish a kol. (2001) zkoumali přítomnost mikroorganismů v etnických potravinách, protože se v nich pravidelně vyskytují. Ze vzorků těchto potravin, kam patřily i ořechy,

tj. suché plody, byly izolovány desítky druhů mikroorganismů, z nichž tvořily velkou část plísně, kvasinky a aerobní bakterie. U náhodných odběrů vzorků ořechů z místních prodejen bylo několikrát překročeno maximální přípustné množství aflatoxinů a jen dva vzorky obsahovaly pouze stopová množství aflatoxinů.

Obecně platí, že zpracované ořechy a výrobky z nich obsahovaly velké množství přítomných mikrobů. Lze tedy usuzovat, že při zpracování těchto plodin dochází ke kontaminaci hlavně díky technologickému zpracování, kdy může docházet i ke zvětšování plochy.

Montville et Matthews (2008) uvádějí, že v potravinách se vyskytují v široké škále zástupci bakteriálních rodů, např. *Bacillus*, *Listeria*, *Clostridium*, *Staphylococcus*, *Salmonella*, *Campylobacter*, *Shigella*, *Vibrio* a *Escherichia*.

V potravinách se v hojném počtu vyskytují též kvasinky, jedna z nejdůležitějších kvasinek v potravinářském průmyslu je z rodu *Saccharomyces*, dále rod *Kluyveromyces* a *Schizosaccharomyces*. Jedná se ale nejčastěji o pozitivní působení

(Kocková-Kratochvílová, 1990; Šilhánková, 2008).

U vzorků testovaných v rámci bakalářské práce byl v prvním stanovení zaznamenán u neošetřených pistácií výskyt kvasinek. U vzorku mandlí se vyskytovaly bakterie. V dalších rozbořech po skladování zjištěny nebyly. Vzhledem k tomu, že bakalářská práce byla zaměřena na stanovení plísní, nebyly tyto mikroorganismy dále určovány.

Co se týká negativního vlivu, potraviny, požívatiný a nápoje jsou nejčastěji kontaminovány plísněmi rodu *Aspergillus*, *Penicillium*, *Botrytis*, *Cladosporium*, *Alternaria*, v malém množství rody *Mucor* a *Rhizopus* (Ostrý, 1998).

V testovaných vzorcích v rámci bakalářské práce se také vyskytovaly podobné rody, dokonce pět ze šesti jmenovaných (plísně *Aspergillus*, *Penicillium*, *Rhizopus*, *Cladosporium*, *Alternaria*), navíc *Mycelia sterilia*.

Největším problémem jsou plísně, které produkují mykotoxiny. Většina potravin je zkoumána na výskyt mykotoxinů a plísní samotných. Potraviny, které obsahují mykotoxiny nad povolenou mez, jsou dle legislativy příslušného státu zneškodněny. Nicméně potraviny, které obsahují plísně (mohou produkovat některé mykotoxiny) jsou v omezené míře tolerovány (dle norem a legislativy) a je tedy možné, že pokud je potravinu nesprávně skladována, nebo s ní není zacházeno dle legislativy, nebo výrobního postupu, může dojít ke zvýšení množství plísní a tak i mykotoxinů.

Dle Jesenské (1987) jsou nejčastějším kontaminantem ořechů rody *Aspergillus* a dále *Penicillium*. S tím se shodují i výsledky bakalářské práce, kdy průměrné zastoupení plísně rodu *Aspergillus* bylo 70%. Dále následovala plíseň rodu *Penicillium* s téměř 20 %. Ostatní rody se vyskytovaly v minimálně a řádech procent a méně. *Rhizopus* 3,6 %, *Cladosporium* 2,6 %, *Mycelia sterilia* (*Agromycetes*) 2,0 %. V nepatrném množství byl prokázán rod *Alternaria* 0,6 % a 1 % plísní nebylo určeno.

Toto zastoupení plísní ve vzorcích není příznivé z možného hlediska výskytu mykotoxinů. Hlavně první uvedený rod je velmi nebezpečný. Dá se předpokládat, že pokud se ve vzorcích vyskytuje rod plísní, která produkuje mykotoxiny, budou ve vzorcích dané mykotoxiny obsaženy.

Mykotoxiny způsobují onemocnění, které se nazývá obecně mykotoxikóza. Příznaky mykotoxikóz závisí na druhu mykotoxinu, množství a doba expozice toxinu, věk, zdravotní stav jedince, pohlaví, dále hraje významnou roli i interakce s jinými látkami. Onemocnění tedy může být umocněno faktory, jako jsou nedostatek vitamínů, minerálů, kalorický deficitní příjem, nadužívání alkoholu, nebo další onemocnění.

Počet lidí postižených mykózou a mykotoxikózou není znám. Celkový počet postižených je nejpravděpodobněji menší, než počet postižených s bakteriální infekcí, onemocněním způsobené prvky a virové infekce, přesto jsou tyto choroby vážným mezinárodním zdravotním problémem (Benet et Klich, 2003).

Mezinárodní agentura pro výzkum rakoviny (IARC) určuje škodlivost některých mykotoxinů s ohledem na jejich karcinogenitu a dále letální dávku mykotoxinů. Tyto dokumenty mohou sloužit i jako pomocná pravidla k určení zdravotní a hygienické

nezávadnosti potravin. Jako karcinogeny, nebo možné karcinogeny jsou považovány mykotoxiny plísňí rodů *Penicillium*, *Aspergillus* a *Fusarium* (Ostrý, 1998).

Ve zkoumaných vzorcích se nevyskytovala plíseň rodu *Fusarium*, lze tedy očekávat jen některé mykotoxiny. Ve vzorcích se však ve velkém množství vyskytovaly rody *Aspergillus* a *Penicillium*, které mykotoxiny produkují. Tyto plísně jsou považovány za patogenní a jejich výskyt je vysoce nežádoucí.

Během skladování dokonce došlo ke zvýšení průměrného zastoupení rodu *Aspergillus*, protože se jedná o rychleji rostoucí a snadno se rozšiřující plíseň a ve vzorcích nejspíš docházelo k rychlejšímu růstu, čemuž ostatní zaznamenané plísně nebyly schopny konkurovat. Nebyl potlačen ani mikrovlnným zářením. Došlo sice k poklesu počtu KTJ/g, ale jako takový nebyl tento rod odstraněn ošetřením mikrovlnným zářením.

Pozitivní je, že ve vzorcích se plísně a další mikroorganismy vyskytovaly v množství maximálně stovek KTJ na 1 gram vzorku. Dle legislativy a příslušných norem státu lze usoudit, že tyto ořechy jsou pod dolní hranicí možného nebezpečí na lidské zdraví. Aby došlo k dopadu na lidské zdraví, musela by být neúměrná a dlouhodobě pravidelná konzumace ořechů a nesměl by působit žádný další faktor na organismus. Běžně však lidské tělo částečně odstraňuje škodliviny z těla ven, a pokud se jedná o pestrou stravu, spojenou se zdravým životním stylem, ohrožení zdraví z těchto vzorků, pokud by byly konzumovány, by bylo minimální.

9 Závěr

Cílem práce bylo posoudit efekt mikrovlnného záření na suché plody z hlediska mikrobiálního znečištění se zvláštním zaměřením na plísně. K rozboru byly použity vzorky mandlí neloupané, arašídů neloupané a pistácie ve skořápce. Hodnocení mikrobiologické kvality probíhalo bezprostředně po ozáření, následně po 3 a 6 měsících skladování.

Ve zkoumaných vzorcích se objevily jednak plísně a u dvou vzorků byly zjištěny kvasinky.

Celkové počty stanovených plísní se pohybovaly od 0 KTJ/g po 950 KTJ/g vzorku. Ve většině případů došlo v porovnání s kontrolou k poklesu počtu mikromycet po ošetření ozáření. Zde měla významný vliv intenzita ozáření. V případě vzorku mandlí nemělo ozáření 2,4 kW na obsah mikromycet vliv, kdežto ozáření o dávce 4 kW způsobilo razantní pokles počtu mikromycet. U vzorku arašídů způsobilo mikrovlnné záření významný pokles počtu ze 100 KTJ na 0 KTJ na gram vzorku a také u pistácií došlo po ošetření mikrovlnným zářením k razantnímu snížení počtu mikroorganismů.

V průběhu skladování došlo ke kolísání počtu mikroorganismů (většinou na úrovni řádu), ale doba skladování neměla významný dopad na kvalitu vzorků.

Vzorky ořechů obsahovaly nejvíce plísně rodu *Aspergillus* (průměrné zastoupení ve všech pozitivních vzorcích 70 %) a *Penicillium* (téměř 20 %). Výskyt rodů *Aspergillus* a *Penicillium* může být problematický z důvodu možného výskytu sekundárních metabolitů mykotoxinů, které jsou zdraví škodlivé. Ostatní plísně se vyskytovaly ve vzorcích v jednotkách procent (*Rhizopus* 3,6 %, *Cladosporium* 2,6 %, *Mycelia sterilia* 2,0 %), případně na hranici stanovení (*Alternaria*) a 1 % plísní nebylo určeno.

U zkoumaných suchých plodů se vyskytovaly mikromycety, které tvoří mykotoxiny, tudíž je možné předpokládat, že u některých vzorků, hlavně u neošetřených plodů, by bylo nutné hlídat mezní množství mykotoxinů. Pozitivní zjištěním je však fakt, že výsledné množství plísní nepřesáhlo hodnoty 10^3 KTJ/g vzorku.

Ošetření mikrovlnným zářením splnilo očekávání, došlo k poklesu mikroorganismů, hypotéza byla potvrzena.

10 Zdroje

10.1 Seznam literatury

Alabouvette, C., Olivain, C., Steinberg, C. 2006. Biological Control of Plant Diseases: The European Situation. *European Journal of Plant Pathology*. 114 (3). 329-341. ISSN: 09291873

Alasalvar, C., Bolling, B. W. 2015. Review of nut phytochemicals, fat-soluble bioactives, antioxidant components and health effects. *British Journal of Nutrition*. 113(S2). 68–78. ISSN: 00071145

Balaščík, J. 1975. Konzervace ovoce a zeleniny. Státní nakladatelství technické literatury. Praha. 91 s.

Barkai-Golan, R. 2001. Postharvest diseases of fruits and vegetables: development and control. Elsevier. New York. ISBN: 0444505849.

Bennett, J., Klich, M., 2003. Mycotoxins. *Clinical Microbiology Reviews*. 16 (3). 19.

Candlish, A. A. G., Pearson S. M., Aidoo K. E., Smith J. E., Kelly B., Irvine H. 2001. A survey of ethnic foods for microbial quality and content aflatoxin. *Food Additives and Contaminants*. 18(2). 129-136. ISSN 0265-203x.

Cauvain, S. A., Young L. A.. 2009. The ICC handbook of cereals, flour, dough & product testing: methods and applications. 1. DEStech Pub. Lancaster. p. 493. ISBN: 9781932078992.

Čurda, D. 1982. Balení potravin. SNTL-Nakladatelství technické literatury. Praha. 432 s.

Dijksterhuis, J., Samson, R. A. 2007. Food mycology: a multifaceted approach to fungi and food. CRC Press. Boca Raton. p. 424. ISBN: 0849398185.

Dobson, A. D. W., O'Callaghan, J., Caddick, M. X. 2003. A polyketide synthase gene required for ochratoxin A biosynthesis in *Aspergillus ochraceus*. *Microbiology* 149. SGM. Great Britain. 149 (12). 3485–3491.

Fassatiová, O. 1979. Plísně a vláknité houby v technické mikrobiologii: (příručka k určování). SNTL. Praha. Řada potravinářské literatury.

Fleet, G. H., Balia R. 2006. The Public Health and Probiotic Significance of Yeasts in Foods and Beverages. *Yeasts in Food and Beverages*. Springer Berlin Heidelberg. p. 381. ISBN 978-3-540-28388-1

Fleet, G. H., 2007. Yeasts in foods and beverages: impact on product quality and safety. *Current Opinion in Biotechnology*. 18(2). 170-175. ISSN 09581669.

Hampl, B., Šilhánková, L. 1957. Klíč k určování technicky důležitých plísní. Státní nakladatelství technické literatury. Praha.

Hladík, F. 1966. Malá pomologie: Malá zahradnická knižnice. Státní zemědělské nakladatelství. Praha. 321 s.

Hojjati, M., Noguera-Artiaga, L., Wojdyło, A., Carbonell-Barrachina, Á. A. 2015. Effects of microwave roasting on physicochemical properties of pistachios (*Pistacia vera* L.). *Food Science and Biotechnology*. 24 (6). 1995-2001. ISSN: 12267708

Jelen, V. 1976. Moderní skladování a jakost ovoce. Merkur. Praha. 124 s.

Jesenská, Z. 1987. Mikroskopické huby v požívatinách a v krmivách. Alfa. Bratislava. 320 s.

Kadlec, P. 2002. Technologie potravin. Vysoká škola chemicko-technologická. Praha. 300 s. ISBN: 8070805099.

Kadlec, P. 2007. Technologie potravin II. Vysoká škola chemicko-technologická. Praha. 236 s. ISBN: 8070805102.

Kadlec, P., Melzoch, K., Voldřich, M. 2009. Co byste měli vědět o výrobě potravin?: technologie potravin. Key Publishing. Ostrava. 540 s. ISBN: 9788074180514.

Kalina, T., Váňa, J. 2005. Sinice, řasy, houby, mechorosty a podobné organismy v současné biologii. Karolinum. Praha. 608 s. ISBN: 8024610361.

Klaban, V. 1999. Svět mikrobů: malý mikrobiologický slovník. Gaudeamus. Hradec Králové. 303 s. ISBN: 8070416394.

Kocková-Kratochvílová, A. 1990. Taxonómia kvasiniek a kvasinkovitých mikroorganizmov. Edícia potravinárskej literatúry (Alfa). Alfa. Bratislava. 704 s.

Kyzling, V. 1990. Principles of food preservation. Developments in food science. Elsevier. Amsterdam. p.598.

Lehari, G., Colditz, P. 2002. Exotické plody: [ovoce, zelenina, ořechy]. NS Svoboda. Praha. 96 s. ISBN: 802051032x.

Montville, T. J., Matthews, K. R. 2008. Food microbiology: an introduction. 2nd ed. ASM Press. Washington, DC. p. 448. ISBN: 1555813968.

Mouchacca, J. 2005. Mycobiota of the arid Middle East: check-list of novel fungal taxa introduced from 1940 to 2000 and major recent biodiversity titles. Journal of Arid Environments. 60 (3). 359-387. ISSN: 01401963

Murray, P. R., Rosenthal, K. S., Pfaller, M. A. 2013. Medical microbiology. 7th ed. Elsevier/Saunders. Philadelphia. p. 888. ISBN: 9780323086929.

Murthy, T. P. K., Manohar, B. 2012. Microwave drying of mango ginger (*Curcuma amada* Roxb): prediction of drying kinetics by mathematical modelling and artificial neural network. International Journal of Food Science & Technology. 47 (6). 1229-1236. ISSN: 09505423

Nesrsta, D., Jan, T., Hanč, M. 2013. Drobné ovoce a skořápkoviny. Olomouc. 216 s. ISBN: 9788087091401.

Onwude, D. I., Hashim, N., Janius, R. B., Nawj, N. M., Abdan, K. 2016. Modeling the Thin-Layer Drying of Fruits and Vegetables: A Review. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*. 15 (3). 599-618. ISSN: 15414337

Ostrý, V. 1998. Vlákňité mikroskopické houby (plísňe), mykotoxiny a zdraví člověka. Státní zdravotní ústav. Praha. 20 s. ISBN: 8070711027.

Ostrý, V. 2006. Plísňe a potraviny, 1. část. *Potravinářská Revue, Agral Praha*. 33-37 s. ISSN: 1801-9102.

Othmer, K. 2008. *Food and feed technology*. Wiley. Hoboken, New Jersey. p. 897. ISBN: 9780470174487.

Ray, B., Bhunia, A. K. 2008. *Fundamental food microbiology*. 4th ed. CRC Press. Boca Raton. p. 492. ISBN: 0849375290.

Richter, M. 2002. *Velký atlas odrůd ovoce a révy*. TG TISK. Lanškroun. 158 s. ISBN: 8023894617.

Ross, J. 2015. *Léčení syrovou stravou*. Fontána. Olomouc. 216 s. ISBN: 9788073367947.

Schubert, H., Regier, M. 2005. *The microwave processing of foods*. Woodhead Pub. Cambridge. ISBN: 9781855739642.

Si, X., Chen, Q., Bi, J., Wu, X., Yi, J., Zhou, L., Li, Z. 2016. Comparison of different drying methods on the physical properties, bioactive compounds and antioxidant activity of raspberry powders. *Sci. Food Agric*. 96 (1). 2055–2062.

Sumbali, G. 2005. *The fungi*. Alpha Science International. Harrow. p. 298. ISBN: 1842651536.

Šauliová, J. 2005. Užitečné mikrovlny, CHEMagazín XV, 8-10.

Šilhánková, L. 2008. Mikrobiologie pro potravináře a biotechnology. 2. vyd., ACADEMIA. Praha. 361 s. ISBN: 8085605716.

Šnita, D. 2006. Chemické inženýrství I. Vydavatelství VŠCHT. Praha. 318 s. ISBN: 8070805897.

Tan, S. Y., Dhillon, J., Matterns R. D. 2014. A review of the effects of nuts on appetite, food intake, metabolism, and body weight. American Journal of Clinical Nutrition. p. 412-422.

Tauferová, A., Ošťádalová, M., Javůrková, Z., Petrášová, M., Čáslavková, P. 2014. Technologie a hygiena potravin rostlinného původu I., II. Veterinární a farmaceutická univerzita Brno. Brno. 168 s. ISBN: 9788073056926.

Vavrošová, J. 2005. Praktické rady a návody o potravinách a zdravé výživě. Knižní expres. Ostrava. 128 s. ISBN: 8073470152.

Velíšek, J. 1999. Chemie potravin 1. OSSIS. Tábor. 331 s. ISBN: 8086659003.

Vrba, J. 2000. Úvod do mikrovlnné techniky. Vydavatelství ČVUT. Praha. 236 s. ISBN: 8001021122.

Vrba, J. 2001. Aplikace mikrovlnné techniky. České vysoké učení technické. Praha. 147 s. ISBN: 8001022943.

Weeks, B. S., Alcamo, I. E. 2008. Microbes and society. 2nd ed. Jones and Bartlett Publishers. Sudbury, Mass. p. 502. ISBN: 0763746495.

Yadav, D. N., Anand, T., Sharma, M., Gupta, R. K. 2014. Microwave technology for disinfestation of cereals and pulses: An overview. Journal of Food Science and Technology. 51 (12). 3568-3576.

10.2 Internetové zdroje

Pokora, J. 2015. Ořechy a oříšky [online] [cit. 2016-11-11]. Dostupné z: <<http://www.szpi.gov.cz/clanek/orechy-a-orisky.aspx>

ČSN ISO 21527-2 (560650). Mikrobiologie potravin a krmiv - Horizontální metoda stanovení počtu kvasinek a plísňí - Část 2: Technika počítání kolonií u výrobků s aktivitou vody nižší než nebo rovnou 0,95