

**Mendelova univerzita v Brně**

**Agronomická fakulta**

**Ústav agrochemie, půdoznalství, mikrobiologie a výživy rostlin**

---



**Testování antifungální aktivity obalových materiálů  
s rostlinnými extrakty**

Diplomová práce

*Vedoucí práce:*

Ing. Libor Kalhotka, Ph.D.

*Vypracovala:*

Bc. Hana Jiráková

---

Brno 2016

Zadání diplomové práce

## ČESTNÉ PROHLÁŠENÍ

Prohlašuji, že jsem práci „Testování antifungální aktivity obalových materiálů s rostlinnými extrakty“ vypracovala samostatně a veškeré použité prameny a informace uvádím v seznamu použité literatury. Souhlasím, aby moje práce byla zveřejněna v souladu s § 47b zákona č. 111/1998 Sb., o vysokých školách ve znění pozdějších předpisů a v souladu s platnou *Směrnicí o zveřejňování vysokoškolských závěrečných prací*.

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

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

V Brně dne:.....

.....  
podpis

## **PODĚKOVÁNÍ**

Tímto bych chtěla poděkovat panu Ing. Liboru Kalhotkovi, Ph.D. za odborné vedení, cenné rady, připomínky, trpělivost a čas, který mi věnoval při psané této diplomové práci. Mé poděkování patří také celému Ústavu agrochemie, půdoznalství, mikrobiologie a výživy rostlin za pomoc při mikrobiologických analýzách. V neposlední řadě děkuji projektu TA03010799 - Využití nanomateriálů a přírodních extraktů jako funkčních látek ve vývoji aktivních obalových materiálů s bariérovým, antimikrobiálním, protektivním a kyslík pohlcujícím efektem, který podporoval zpracování této diplomové práce.

## **ABSTRAKT**

Diplomová práce se zabývá testováním antifungální aktivity obalových materiálů s rostlinnými extrakty. První část práce je literární rešerše stávající se ze tří kapitol. V první kapitole je uvedena základní charakteristika vláknitých mikromycet a negativních produktů jejich metabolismu. Druhá kapitola popisuje vlastnosti obalových materiálů využívaných v potravinářství se zaměřením na aktivní obaly. Poslední kapitola literární rešerše pojednává o rostlinných silicích. Popsány jsou vlastnosti silic, chemické složení a zástupci rostlin, ze kterých se silice nejčastěji získávají.

Praktická část diplomové práce se zabývá mikrobiologickým rozбором vybraných potravin skladovaných v obalu s aktivní fólií. Fólie byla obohacena o nástřík směsi rostlinných extraktů. Cílem experimentálního stanovení bylo zjistit, zda aktivní fólie působí antifungálně. Testovaným mikroorganismem bylo *Penicillium chrysogenum*.

***Klíčová slova:*** rostlinné silice, aktivní fólie, plísně, antimikrobiální účinek, balení

## **ABSTRACT**

This diploma thesis deals with testing of antifungal activity of packaging materials with plant extracts. First part is a literature review, consisting of three chapters. First chapter contains basic characteristics of filamentous fungi and their metabolic products. Second chapter describes properties of packaging materials used in the food industry with a focus on active packaging. Last chapter of the literature review discusses the essential oils of plants. There are described the properties of essential oils, chemical composition and samples of plants from which the essential oils are most often obtained.

The practical part of this thesis deals with the microbiological analysis of selected food stored in the packaging with active foil. This foil was enriched by spray with a mixture of plant extracts. The aim of this experimental determination was to find out if the active foil has an antifungal impact. Tested microorganism was *Penicillium chrysogenum*.

***Key words:*** essential oil, active foil, mold, antimicrobial effect, packaging

## OBSAH

1	ÚVOD .....	8
2	CÍL PRÁCE .....	10
3	LITERÁRNÍ PŘEHLED .....	11
3.1	Mikroskopické houby .....	11
3.1.1	Obecná charakteristika.....	11
3.1.2	Rod <i>Penicillium</i> .....	12
3.1.2.1	<i>Penicillium chrysogenum</i> ( <i>P. notatum</i> ).....	14
3.2	Mykotoxiny.....	15
3.2.1	Obecná charakteristika.....	15
3.2.2	Charakteristika opatření v boji proti mykotoxinům.....	17
3.2.2.1	Prevence výskytu mikromycet a mykotoxinů.....	17
3.2.3	Likvidace plísní a dekontaminace mykotoxinů .....	18
3.3	Obalové materiály .....	19
3.3.1	Přehled používaných materiálů.....	21
3.3.1.1	Papír .....	21
3.3.1.2	Dřevo .....	21
3.3.1.3	Sklo .....	22
3.3.1.4	Kovy.....	22
3.3.1.5	Obaly z plastů .....	22
3.3.1.6	Textilní obaly .....	23
3.3.1.7	Poživatelné obaly .....	23
3.3.2	Bariérové účinky obalů .....	23
3.3.2.1	Vliv teploty na údržnost potravin y a rozvoj mikroorganismů v zabalené potravine .....	24
3.3.2.2	Aktivní obaly .....	24
3.3.2.3	Antimikrobiální modifikace obalů .....	25
3.4	Silice rostlin .....	26
3.4.1	Vznik a získávání silic .....	28
3.4.2	Vlastnosti silic.....	28
3.4.3	Účinky silic .....	29
3.4.4	Chemické složení silic .....	30
3.4.5	Antimikrobiální účinek silic .....	31
3.4.6	Přírodní zdroje silic.....	32

3.4.6.1	Skořicovník cejlonský ( <i>Cinnammomum zeylanicum</i> ).....	32
3.4.6.2	Tymián obecný ( <i>Thymus vulgaris</i> ) .....	33
3.4.6.3	Hřebíčkovce kořený ( <i>Eugenia caryophyllata</i> ).....	33
3.4.6.4	Citroník limonový ( <i>Citrus limon</i> ).....	33
3.4.6.5	Máta peprná ( <i>Mentha piperita</i> ).....	34
3.4.6.6	Blahovičník ( <i>Eukalyptus</i> ) .....	34
3.4.6.7	Levandule lékařská ( <i>Lavandula angustifolia</i> ) .....	34
3.4.6.8	Bazalka pravá ( <i>Ocimum basilicum</i> ).....	35
4	MATERIÁL A METODIKA.....	36
4.1	Charakteristika vzorků.....	36
4.1.1	Plátky sýra.....	36
4.1.2	Plátky salámu Junior .....	36
4.1.3	Plátky celeru .....	37
4.2	Použitý materiál .....	37
4.2.1	Fólie s nástřikem směsi rostlinných extraktů.....	37
4.2.2	Laboratorní pomůcky.....	38
4.2.3	Živné půdy .....	38
4.2.3.1	Složení živých půd.....	38
4.2.4	Příprava mikrobiálního inokula .....	39
4.3	Mikrobiologická analýza .....	39
4.3.1	Odběr vzorků .....	40
5	VÝSLEDKY A DISKUZE.....	41
5.1	Mikrobiologická analýza vzorků získaných ze salámu Junior .....	41
5.2	Mikrobiologická analýza vzorků získaných z celeru.....	47
5.3	Mikrobiologická analýza vzorků získaných ze sýru.....	52
6	ZÁVĚR.....	63
7	PŘEHLED POUŽITÉ LITERATURY.....	65
8	SEZNAM OBRÁZKŮ.....	78
9	SEZNAM TABULEK .....	79
10	SEZNAM ZKRATEK .....	81

# 1 ÚVOD

Technologie balení a obalové materiály jsou nezbytnou součástí potravinářských výrobků. Na potravinářský obal jsou v dnešní době kladeny vysoké požadavky. Obalový materiál tvoří důležitou složku mezi potravinou a okolím. Primárním úkolem obalu je chránit zabalenou potravinu před vlivy vnějšího prostředí, mezi které se řadí vlivy mechanické, klimatické a biologické. Sekundární funkcí obalu je vzhled a tvar, který usnadňuje spotřebiteli orientaci v potravinářských produktech.

Obalové materiály přicházející do styku s potravinami musí být zdravotně nezávadné a nesmí negativně ovlivňovat vlastnosti potraviny. Hledají se proto nové látky a technologie, které by jednak vyhovovaly přísným předpisům a na straně druhé uspokojily nároky obchodníků a spotřebitelů. Společným cílem vývoje je prodloužit trvanlivost balených potravin.

K poměrně mladé technologii podílející se na udržování kvality pokrmů patří aktivní balení. Mezi aktivní systémy balení patří bariérové fólie, pohlcovače kyslíku nebo antimikrobiální obalové materiály. Aktivní fólie fungují na principu interakce s uchovávaným objektem nebo prostředím.

Antimikrobiální obal je polymerní systém. Skládající se z určité polymerní matrice a antimikrobiální látky, která má za úkol zastavit nebo zpomalit růst mikroorganismů kontaminujících potravinu. Dojde tak k prodloužení trvanlivosti a bezpečnosti potravin.

Antimikrobiálních látek používaných k modifikaci obalových materiálů je velké množství. Existují jak přírodní, tak i syntetické antimikrobiální látky. V dnešní době je spotřebitelský trend přiklánět se k látkám přírodním.

Příkladem přírodních antimikrobiálně působících látek jsou silice. Silice jsou těkavé aromatické látky rostlin, které se pro své vlastnosti využívají ve farmaceutickém, kosmetickém a potravinářském průmyslu. Extrakty z rostlin obsahují různé bioaktivní složky, které mohou řídit růst mikroorganismů. Tyto metabolity produkované rostlinami jsou slibná alternativa k synteticky vyráběným konzervantům. V současné době jsou předmětem zkoumání přímé a nepřímé následky použití silic a jejich jednotlivých těkavých složek. Největším problémem je jejich negativní působení na organoleptické vlastnosti potravin.

Cílem této práce bylo zhodnotit antifungální aktivitu obalového materiálu na vybraných potravinách. Testovaným obalovým materiálem byla fólie s nástřikem směsi



rostlinných extraktů o třech koncentracích (3,9 %, 6,6 % a 9,0 %). K inokulaci vzorků byla použita plíseň *Penicillium chrysogenum*.

## **2 CÍL PRÁCE**

Cílem této diplomové práce je:

- zpracovat literární rešerši na téma testování antifungální aktivity obalových materiálů s rostlinnými extrakty,
- charakterizovat významné mikroskopické houby a produkty jejich metabolismu negativně ovlivňující lidské zdraví,
- charakterizovat opatření v boji proti nežádoucím mikroorganismům,
- provést příslušné testování vybraných materiálů na modelových organismech popř. na potravinách,
- získaná data zpracovat, porovnat s údaji v dostupné literatuře a výsledky uvést v závěru práce.

## 3 LITERÁRNÍ PŘEHLED

### 3.1 Mikroskopické houby

#### 3.1.1 Obecná charakteristika

Mikromycety neboli mikroskopické houby jsou nedílnou součástí životního a pracovního prostředí člověka. Rozšířeny jsou po celém světě (Malíř et Ostrý, 2003). Velká morfologická rozmanitost a adaptabilita na nejrůznější podmínky a materiály umožňuje jejich výskyt ve všech suchozemských i vodních ekosystémech po celém světě – od arktických oblastí až po tropy (Paříková et Kučerová, 2001). Vyskytují se na široké škále zemědělských komodit včetně zeleniny, ovoce, obilovin, ořechů a koření (Amalaradjou et Venkitanarayanan, 2008). Potraviny a potravinové suroviny mohou být kontaminovány již ve fázi pěstování, při sklizni, během přepravy i skladování. Napadení se projevuje viditelným plísňovým pokryvem, změnou zbarvení, nepříjemným zápachem, chemickými a nutričními změnami, ztrátou kvality a možnou tvorbou mykotoxinů (Hossain et al., 2014).

Lidé se naučili mikromycety využívat pro produkci různých druhů potravin, organických látek a antibiotik (Malíř et Ostrý, 2003). Na druhé straně mohou mít negativní vliv na zdraví člověka. Způsobují mykotická onemocnění – mykózy, mykotoxikózy a mykoalergie. Dále se podílí na degradaci dřeva, krmiv či surovin obecně a v neposlední řadě znehodnocují potraviny produkcí mykotoxinů (Kalhotka, 2014).

Skupinu mikroskopických hub, která je řazena do říše *Fungi*, tvoří vláknité mikromycety, kvasinky a kvasinkovité mikroorganismy (Malíř et Ostrý, 2003). Vláknité mikromycety se od většiny kvasinek liší tvorbou rozvětveného vláknitého mycelia (Chumchalová et al., 2006). Jsou to vícebuněčné, eukaryontní, heterotrofní, saprofytické nebo parazitické mikroorganismy, které se označují také jako plísně (Ostrý, 1998).

Dle způsobu rozmnožování jsou řazeny do podkmene *Zygomycota* či *Ascomycota* nebo do umělé skupiny mitosporních hub *Deuteromycetes* neboli *Fungi imperfecti*. V životním cyklu většiny mikroskopických hub převládá nepohlavní rozmnožování pomocí konidií či chlamydospor. Pohlavní rozmnožování se uplatňuje méně často (Chumchalová et al., 2006).

Z potravinářsko-technologického hlediska se jako plísně označují organismy tvořící na potravinách povlaky složené z jednotlivých vláken (Görner et Valík, 2004). Základem těla vláknitých mikromycet je vegetativní vláknitý útvar – stélka (thallus). Základní stavební jednotkou stélky je duté vlákno – hyfa. Vlákna jsou buď bez přehrádek, nebo s přehrádkami a tvoří jednodušší nebo složitější až značně větvená mycelia (Fassatiová, 1979).

Plísně jsou schopny rozmnožovat se za poměrně nízké vodní aktivity prostředí i za velmi nízkého pH (Šilhánková, 2002). Rostou v rozpětí teploty 10 – 40 °C, při hodnotě pH 4 – 8 a vodní aktivitě 0,7. Optimální podmínky pro růst plísní (viz tabulka 1) nemusí být nejvhodnější podmínky pro tvorbu mykotoxinů (Schneiderová, 2008).

Více než sto vláknitých mikroskopických hub je známo produkcí nepřeberného množství mykotoxinů, které se liší svou strukturou, chemickými a fyzikálními vlastnostmi a rozmanitostí toxických účinnů (Mata et al., 2014).

Tabulka 1: *Shrnutí základních podmínek života plísní (Paříková et Kučerová, 2001)*

charakteristika	růst
vlhkost	optimální vlhkost materiálu $a_w = 0,80 - 0,90$ , optimální vlhkost vzduchu 80 – 100 %, některým druhům postačuje již RH 60 %
teplota	optimální 18 – 28 °C, žít mohou v rozmezí teplot 0 – 60 °C v závislosti na druhu plísní
živiny	uhlík a dusík různého původu (bílkoviny, cukry aj.), minerální látky
hodnota pH	prostředí mírně kyselé až neutrální, optimální hodnota pH je cca 5 - 7 (v závislosti na druhu plísní)
kyslík	aerobní podmínky

Legenda:  $a_w$  – aktivita vody, RH – vlhkost vzduchu, °C – stupeň Celsia, pH - vodíkový exponent

### 3.1.2 Rod *Penicillium*

Z plísní nejrozšířenější a nejrozsáhlejší rod patřící do říše *Fungi*, oddělení *Ascomycota*, řádu *Eurotiales* a čeledi *Trichocomaceae*. V současnosti rod *Penicillium* zahrnuje asi 225 akceptovaných druhů. Díky tvaru rozmnožovací nepohlavní struktury připomínající štětičky, vznikl pro rod *Penicillium* český název štětičkovec (Malíř et Ostrý, 2003).

Zástupci rodu *Penicillium* patří k nejrozšířenějším vláknitým mikromycetám teplého a mírného klimatu. Jejich spory se vyskytují téměř všude, z tohoto důvodu jsou tyto mikromycety velmi častými kontaminanty potravin, životního a pracovního prostředí člověka (Malíř et Ostrý, 2003). Způsobují kažení potravin, kolonizují kožené předměty a jsou indikátory vlhkosti v interiéru (Kung'u, 2014). K významným zástupcům patří toxinogenní vláknité mikromycety produkující mykotoxiny. Některé druhy mohou u citlivějších jedinců vyvolávat alergické reakce (Šilhánková, 2002).

Patogenita pro člověka je relativně vzácná. Jediným pravidelným patogenem rodu *Penicillium* je druh *Penicillium marneffeii*. Tento druh způsobuje systémové infekce u pacientů s AIDS (Malíř et Ostrý, 2003).

Každý z podrodů má specifickou stavbu konidioforu (Malíř et Ostrý, 2003). Konidie obsahují velké množství žlutozelených až modrozelených konidií. Na potravinách či jiném materiálu jsou viditelné jako zelené, sametové až moučné povlaky. Okraje kolonií, na nichž nejsou spory, jsou bílé (Šilhánková, 2002).

Podle uspořádání štětečkovitých konidioforů se druhy rodu *Penicillium* dělí do čtyř skupin, jak uvádí Šilhánková (2002):

1. Monoverticillata – některé druhy produkují kyselinu citrónovou, jiné tvoří pro člověka toxické látky antibiotické povahy.
2. Biverticillata symmetrica – některé druhy produkují kyseliny, jiné různé antibiotické látky. Prakticky všechny druhy do prostředí uvolňují žluté, oranžové nebo červené barvivo.
3. Asymmetrica – *Penicillium chrysogenum* se používá pro výrobu penicilinu. *Penicillium camemberti* a *Penicillium roquerforti* se využívá při přípravě plísňových sýrů. *Penicillium expansum* je hlavní příčinou ztrát při skladování jablek, hrušek a dalšího ovoce. Je také hlavním producentem mykotoxinu patulinu, který ohrožuje kvalitu jablečných moštů a jiných jablečných výrobků.
4. Polyverticillata.

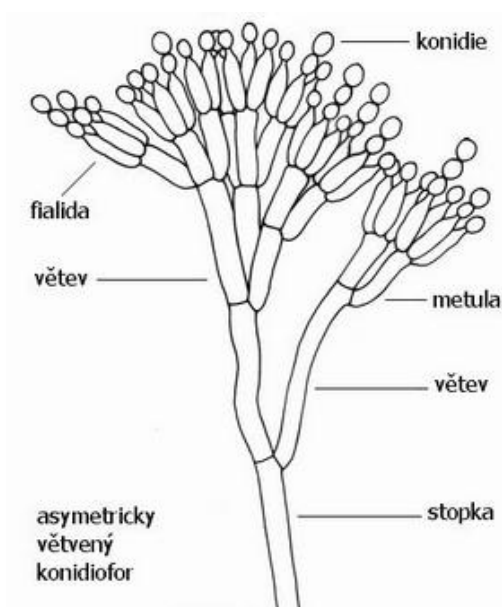
Modernější členění dělí rod *Penicillium* na 4 podrody. Podrod *Aspergilloides* má konidiofor monovercicilátní, podrod *Penicillium* má konidiofor asymetricky větvený terverticilátní, podrod *Biverticillium* biverticilátně symetrický a podrod *Furcatum* má konidiofor divarikátní (Malíř et Ostrý, 2003).

Plísně patřící do rodu *Penicillium* jsou jednou z nejčastějších příčin kažení ovoce a zeleniny. Například *P. italicum* a *P. digitatum* jsou časté příčiny hniloby citrusových plodů (Kung'u, 2014).

### 3.1.2.1 *Penicillium chrysogenum* (*P. notatum*)

*Penicillium chrysogenum* (viz obrázek 1) je běžně se vyskytující forma plísně. Vyskytuje se po celém světě. Najít ji můžeme v prachu, vzduchu a vlhkých stavebních materiálech (Houbraken et al., 2011). Kontaminuje potraviny rostlinného i živočišného původu, krmiva i různé suroviny. Příležitostně byl zaznamenán jako původce různých typů mykóz u člověka. Produkuje mykotoxin roquefortin C, PR-toxin, kyselinu sekalonovou a meleagrín (Chumchalová et al., 2006). Plíseň si získala velkou pozornost pro její schopnost produkovat antibiotikum penicilin (Houbraken et al., 2011).

Rozmnožuje se nepohlavně konidiemi, teleomorfa není známa. Kolonie jsou poměrně rychle rostoucí, dosahují cca 30 – 45 mm v průměru, obvykle jsou sametové, s paprskovitými rýhami, bílým až nažloutlým myceliálním okrajem, s modrozeleně až žlutozeleně zbarvenou sporulující částí a žlutými kapkami exudátu (Chumchalová et al., 2006).



Obrázek 1: *Penicillium chrysogenum* (Chumchalová et al., 2006)

## 3.2 Mykotoxiny

### 3.2.1 Obecná charakteristika

Mykotoxiny jsou chemicky různorodá skupina toxických sekundárních metabolitů některých mikroskopických vláknitých mikromycet, které patří například do rodu *Aspergillus*, *Penicillium*, *Alternaria* a *Fusarium* (Jackson et al., 2008). Patří mezi významné toxiny přírodního původu, které mohou kontaminovat široké spektrum potravin a krmiv (Velíšek, 1999). Nejčastěji mykotoxiny kontaminované potraviny uvádí tabulka 2. Mykotoxiny jsou potenciální hrozbou pro zdraví lidí a zvířat. Často jsou konzumovány v potravinářských výrobcích, jako jsou obiloviny, ořechy, sušené ovoce, koření, olejnatá semena, fazole, ovoce, pivo a víno (Turner et al., 2008).

Mykotoxiny jsou nástrojem vláknitých mikromycet v boji o potravu a přežití. Při rozvoji plísní nejsou nezbytné jako například aminokyseliny, mastné a nukleové kyseliny nebo proteiny. Proto se užívá název sekundární metabolity (Malíř et Ostrý, 2003). Obecné charakteristiky pro produkci mykotoxinů v potravinách uvádí tabulka 3.

Plísně mohou produkovat mykotoxiny také pro svou obranu, například za určitých stresových situací jako je velké střídání teplot během dne a noci či nedostatečná aplikace fungicidů již na poli. Plísně nevylučují mykotoxiny vždy a každý druh plísně nemusí být toxigenní. Produkce toxinů také nesouvisí se stupněm a intenzitou rozvoje a růstu plísní. Mykotoxiny jsou produkovány pouze živými rostoucími plísněmi (Zeman, 2006).

Jedny z nejvýznamnějších mykotoxinů aflatoxiny jsou produkovány plísněmi rodu *Aspergillus* zejména za teplých a vlhkých podmínek, ostatní mykotoxiny jako například fusariové a ochratoxin A jsou typické v podmínkách mírného klimatického pásu (Leibetseder, 2009).

Většina mykotoxinů je velmi stabilní. Přetrvávají dlouhou dobu v substrátu i potom co vegetativní formy plísně již nejsou přítomny (Zeman, 2006). Mykotoxiny jsou většinou termostabilní, proto jsme při ochraně potravin a krmiv odkázáni na prevenci (Fassatiová, 1979).

Celkový počet mykotoxinů není znám, počet potenciálně toxických metabolitů plísní se ovšem odhaduje na tisíce. Doposud bylo identifikováno zhruba 500 mykotoxinů (Kvasničková, 2009). V potravinách se vyskytují z několika příčin. Nejčastěji kažením potravin zplisnivěním, při výrobě potravin použitím polotovarů a meziproductů

obsahujících mykotoxiny, zkrmováním krmiv s obsahem mykotoxinů a výrobou potravin za pomoci plísní produkujících mykotoxiny (Görner et Valík, 2004).

Pokud se v přirozených podmínkách vyskytuje současně více mykotoxinů se synergickými účinky, může dojít k podstatnému zesílení společných nežádoucích toxických účinků (Malíř et Ostrý, 2003). Podle odhadu FAO je mykotoxiny kontaminováno až 25 % konzumovaných potravin (Velíšek, 1999). Mykotoxiny způsobují ztrátu téměř 1 miliardy tun potravin ročně (Vondrášková, 2011).

Tabulka 2: *Potraviny které mohou být nejčastěji kontaminované mykotoxiny (Vlková et al., 2009)*

<b>mykotoxin</b>	<b>potravina</b>
aflatoxiny B <sub>1</sub> , B <sub>2</sub> , G <sub>1</sub> , G <sub>2</sub>	mandle, burské oříšky, vlašské ořechy, zrna obilnin a výrobky z nich, sušené ovoce, sója, koření, krmiva, medikamenty
aflatoxin M <sub>1</sub>	mléko, jogurty, sýry, máslo, potravin pro děti, medikamenty
ochratoxin A	pšenice, ječmen, oves, rýže, víno, pivo, káva, sušené ovoce, koření, kakao, ledviny prasat, krmiva
zearalenon	pšenice, ječmen, rýže, krmiva
fumonisin	kukuřice, popcorn, müsli obilniny, potraviny pro děti

Tabulka 3: *Obecné charakteristiky pro produkci mykotoxinů v potravinách (Malíř et Ostrý, 2003)*

<b>faktor</b>	<b>růst</b>	<b>produkce mykotoxinů</b>
teplota	- 12 °C až + 55 °C	4 °C – 40 °C
pH	1,7 – 10	2,5 – 8 s optimem 5 - 7
a <sub>w</sub>	min. 0,62 (u extrémně xerofilních)	min. 0,8 – 0,85
vliv solí	do 20 % NaCl	do 14 % NaCl
Eh	aerobní podmínky	
vliv cukrů	do 50 % sacharózy ( <i>Aspergillus flavus</i> )	
vliv látek v koření	inhibice (eugenol, anetol, tymol)	

Legenda: pH – vodíkový exponent, a<sub>w</sub> – aktivita vody, Eh - redox potenciál, °C – stupeň Celsia, NaCl - chlorid sodný



Mykotoxiny mohou být děleny podle různých kritérií. Nejzákladnější rozdělení je podle chemické struktury. Dále mohou být děleny podle způsobu jejich biosyntézy, toxicity (viz tabulka 4) nebo účinků na buňku (Šimůnek, 2004).

Tabulka 4: Dělení mykotoxinů podle síly toxicity (Šimůnek, 2004)

toxicita	mykotoxin	LD <sub>50</sub>
silně toxické	aflatoxiny, patulin, luteoskyrin, T-2 toxin, ochratoxin A, zearalenon (F-2 toxin), citreoviridin, penitrem A (nejnižší LD <sub>50</sub> ze známých mykotoxinů)	LD <sub>50</sub> cca jednotky mg/kg t. hm.
středně toxické	citrinin, kyselina cyklopiazonová, kyselina penicilová a sterigmatocystin	LD <sub>50</sub> cca desítky mg/kg t. hm.
slabě toxické	griseofulvin, kyselina kojová, trichoteceny, chaetomin a kyselina mykofenolová	LD <sub>50</sub> cca stovky a tisíce mg/kg t. hm.

Legenda: LD<sub>50</sub> - střední smrtná dávka, t. hm - tělesná hmotnost

### 3.2.2 Charakteristika opatření v boji proti mykotoxinům

#### 3.2.2.1 Prevence výskytu mikromycet a mykotoxinů

Preventivní opatření jsou založena na vytvoření podmínek, které zabrání růstu a rozvoji plísní tam, kde je jejich výskyt nežádoucí a škodlivý (Paříková et Kučerová, 2001). Obsah mykotoxinů v zemědělských komoditách je možné ovlivnit řadou faktorů (Hajšlová, 2008).

Prevence výskytu mikromycet a mykotoxinů spočívá v aplikaci před sklizňových a posklizňových strategií. Důležité je používat vhodné technologie pěstování, dodržovat rotace plodin, odstraňovat posklizňové zbytky, aplikovat insekticidy, zrna sklízet pouze zralá a nekontaminovaná. Posklizňové strategie spočívají v optimalizaci podmínek skladování, skladovat ve vhodných prostorách za vhodných podmínek, pravidelně kontrolovat teplotu a vlhkost (Nehasilová, 2011). Snížit možnosti sekundární kontaminace můžeme vhodným balením. Na nesterilních produktech zabránit růstu plísní vhodnými konzervačními postupy jako chlazením, mražením, povoleným

přídavkem konzervačních látek, snížením hodnoty aktivity vody (Görner et Valík, 2004).

Velmi důležitá je také informovanost veřejnosti o nebezpečnosti mykotoxinů a vláknitých mikromycet. Důležité je při nákupu zkontrolovat záruční dobu potravin a neporušenost obalu. Nekupovat potraviny se senzorickými změnami, nekupovat podezřele levné potraviny a to zejména sušené plody, arašidy, pistácie, para ořechy a fíky. V domácnostech uchovávat potraviny dle doporučení výrobce a obecných hygienických zásad. Plesnivé potraviny jsou posuzovány jako zdravotně závadné, mohou obsahovat mykotoxiny, proto by se neměly konzumovat, okrajovat a vykrajovat a neměly by jimi být krmena ani hospodářská a domácí zvířata (Malíř et Ostrý, 2003).

### **3.2.3 Likvidace plísní a dekontaminace mykotoxinů**

I přes dodržování preventivních opatření nedojde k úplnému vyloučení rozvoje toxinogenní mikroflóry (Velíšek, 1999). Zemědělské komodity na celém světě jsou často kontaminovány mykotoxiny. Aby bylo chráněno zdraví konzumentů či hospodářských zvířat, popřípadě aby se zabránilo ekonomickým ztrátám je nutné některé plodiny či krmiva detoxikovat či dekontaminovat (Leibetseder, 2009).

Mykotoxiny jsou strukturně, fyzikálně a chemicky odlišné od vláknitých mikromycet a proto je nutné volit jiné, specifické formy jejich dekontaminace. Nestačí odstranit pouze plísně (Malíř et Ostrý, 2003). Požadováno je, aby nedošlo ke vzniku toxických produktů ani k významnému poklesu nutriční hodnoty daného materiálu. Využívá se tří kategorií řešení založených na fyzikálních, chemických či biologických principech (Velíšek, 1999).

Fyzikální principy založené na odstranění vrchní vrstvy zrna mohou redukovat množství některých mykotoxinů například deoxynivalenolu. Některé mykotoxiny jako aflatoxin podléhají při určité době působení teploty a času denaturaci teplem (Schneiderová, 2008). Použitím vysoké teploty a alkalického pH se zničí například aflatoxiny v kukuřici. Tento proces ale sníží kvalitu zrna, které je poté vhodné pouze jako krmivo pro zvířata (Heredia et al., 2009). Ničit plísně a deaktivovat mykotoxiny před skladováním je možné pomocí UV záření (Schneiderová, 2008). Z olejninových šrotů mohou být mykotoxiny extrahovány pomocí rozpouštědel (aceton, ethanol). Tato metoda dekontaminace je finančně náročná a olejninové šroty jsou ochuzeny o živiny (Velíšek et Hajšlová, 2009). Nejvíce používanou chemickou látkou k detoxikaci

mykotoxinů je chlornan sodný. Rozklad patulinu probíhá nejúčinněji v alkalickém roztoku manganistanu draselného. Manganistan draselný je ale vhodný pouze pro dekontaminace laboratorního skla a drobných pracovních pomůcek (Malíř et Ostrý, 2003). Kontaminovaná kukuřice, arašídý a bavlníková semena se dají ošetřit aplikací amoniaku. U přirozeně kontaminované kukuřice dochází k redukci fumonisinu B<sub>1</sub> o 45 % (Vondrášková, 2011).

Biologická detoxikace je biotransformace či biodegradace účinkem enzymů. Vznikající metabolity nevykazují toxicitu nebo jsou méně toxické než výchozí toxin a z organismu mohou být snadno vyloučeny (Velíšek, 1999). Schneiderová (2008) uvádí, že biologickou detoxikaci lze provádět také s kvasinkami (*Sacharomyces cerevisiae*) nebo bakteriemi. Živé mikroorganismy mohou adsorbovat mykotoxiny například připojením mykotoxinu k součásti jejich buněčné stěny (Magan et Olsen, 2004).

K dekontaminaci krmiv kontaminovanými mykotoxiny se využívá sorpčního materiálu. Sorpční materiál je zařazen do krmiv, kde selektivně odstraní toxiny adsorpcí během pasáže střevním traktem. Adsorbentem mohou být kvasinky a kvasničné extrakty, některé bakterie mléčného kvašení či bifidobakterie a plísňové konidie. V minulých letech se využívaly minerální nebo organické adsorbenty jako uhlí, silikátové vazače, zeolity, bentonity. Minerální adsorpce je limitována, proto se využívá již zmíněných biologických adsorbentů, které vykazují větší účinnost, specifčnost a snížený dopad na nutriční kvalitu (Nehasilová, 2011).

### **3.3 Obalové materiály**

Obalové materiály poskytují základní ochranu před okolním prostředím, chemickými a fyzikálními vlivy. Hrají tak klíčovou roli v ochraně kvality a bezpečnosti potravinářských výrobků (Trinetta, 2015). Obaly se podílí také na prodloužení trvanlivosti potravin a jsou prostředkem k sdělování informací pro spotřebitele. Obal potraviny chrání například před vlhkostí, plyny, prachem, či mikroorganismy. Obaly, které jsou určené pro přímý styk s potravinami, nesmí negativně ovlivňovat kvalitu a zdravotní nezávadnost potraviny (Huff, 2012).

Člověk využíval obaly k ochraně, uchování a transportu potravin již od nepaměti. Jako první využíval to, co našel kolem sebe například listí, škeble, lastury či vydlabané tykve. Později se naučil využívat obalové materiály jako je dřevo, keramika, sláma,

proutí, jutové a bavlněné tkaniny. V průběhu 19. století došlo k rozmachu využívání skleněného, papírového a kovového materiálu k výrobě obalů. Ke konci 20. století byl jako nejvýznamnější obalový materiál používán plast a lepenka (Kubásková, 2012). Plastové hmoty jsou tak pro jejich různorodé vlastnosti v dnešní době nejrozšířenějším a nejvíce se rozvíjejícím obalovým materiálem (Dobiáš, 2012).

Obal můžeme definovat jako ochrannou vrstvu produktu, která představuje soubor prostředků, zabezpečující ochranu výrobků před znehodnocením a umožňující manipulaci s ním (Čurda, 1982).

Význam a funkce obalů potravin:

- Ochrana výrobku před nepříznivými vlivy okolí, které mohou být chemické, fyzikální či biologické. Ochranná funkce podmiňuje možnost použití obalu jako jednoho z prostředků prodloužení údržnosti potravin. Současně zajišťuje většinu hygienických nároků během výroby, skladování a distribuce.
- Vytvoření manipulační jednotky.
- Úloha vizuálně-komunikační, kdy obal je nositelem důležitých informací pro spotřebitele a má význam pro uplatnění výrobku na trhu (Dobiáš, 2012).

Volba nejvhodnějšího obalového materiálu je závislá zejména na technologii balení, druhu dopravy a vnějších vlivech působících na zboží. Mezi důležitý aspekt patří také funkce obalu, požadované bariérové vlastnosti, povaha a hodnota baleného zboží (Macháň, 1990).

Obal je tvořen obalovými prostředky (obalové materiály a vlastní obaly) a pomocnými prostředky. Pomocné prostředky doplňují funkci samotných obalů a jsou to například lepidla, fixační, vázací a spojovací materiály či těsnicí hmoty. Základní rozdělení obalů vychází z jejich funkce v distribučním řetězci. Obaly dělíme na spotřebitelské, skupinové a přepravní (Štencl, 2013). Dle mechanických vlastností se dělí na měkké, polotuhé a tuhé obalové prostředky (Štěpek, 1981).

Dle nařízení Evropského parlamentu a Rady (ES) č. 1935/2004 o materiálech a předmětech určených pro styk s potravinami musí být materiály a předměty, včetně aktivních a inteligentních materiálů a předmětů, vyrobeny v souladu se správnou výrobní praxí tak, aby za obvyklých nebo předvídatelných podmínek použití neuvolňovaly své složky do potravin v množstvích, která by mohla:

- a) ohrozit zdraví lidí; nebo

- b) způsobit nepříjemnou změnu ve složení potravin; nebo
- c) způsobit zhoršení organoleptických vlastností potravin.

### **3.3.1 Přehled používaných materiálů**

Potravinářské obalové materiály jsou skupinou materiálů, využívaných v potravinářském průmyslu. Mezi nejčastější potravinářské obalové materiály patří sklo, dřevo, kov, plast, papír a požitelné látky (Lee et al., 2014). Vzhledem k jejich odlišné chemické struktuře jsou odpovídající vlastnosti velmi různorodé. Pro výběr nejlepšího obalového materiálu je tedy zásadní dobrá znalost chování těchto materiálů (Siracusa, 2016). Pro konstrukci moderních obalů potravin je charakteristická kombinace obalových materiálů (Dobiáš, 2012).

#### **3.3.1.1 Papír**

Nejčastěji používaným obalovým materiálem je papír, karton a lepenka. Lepenka patří mezi obalový materiál nejšetrnější k životnímu prostředí. Potravině ale neposkytuje dostatečnou ochranu.

Tento obalový materiál neochrání potravinu před vodou, plynem, aromatickými látkami a plísněmi. Papírový obal se však může povrchově zušlechtit například kombinací s plasty. Získá se tak kombinovaný obalový materiál s dobrými funkčními vlastnostmi (Kačeňák, 2007).

Papír a lepenka tvoří obvykle okolo 40 - 50 % z obalových materiálů (Dobiáš et Čurda, 2004). Základní druhy obalového materiálu z papíru se dle plošné hmotnosti dělí na papír (do  $150 \text{ g}\cdot\text{m}^{-2}$ ), kartón (od 150 do  $250 \text{ g}\cdot\text{m}^{-2}$ ) a nad  $250 \text{ g}\cdot\text{m}^{-2}$  se jedná o lepenku (Štencl, 2013).

#### **3.3.1.2 Dřevo**

Dřevo patří k nejstarším obalovým materiálům. Dnes je nahrazováno modernějšími materiály, jako jsou kovy a plasty (Štěpek, 1981).

Dřevo je výhodné pro jeho dobrou mechanickou pevnost při malé specifické hmotnosti, chemickou odolnost, tepelnou izolaci a tlumí vibrace. Nevýhodou je jeho cena a špatná odolnost vůči mikroorganismům (Dobiáš et Čurda, 2004). Nejčastěji se využívá pro výrobu palet, přepravních beden, sudů či luxusních dárkových kazet (Macháň, 1990).

### **3.3.1.3 Sklo**

Sklo je amorfní látka, která vzniká zchlazením taveniny skelné masy složené z oxidu křemíku, sodíku a vápníku (Macháň, 1990). Mezi nejvýznamnější užité vlastnosti tohoto druhu obalu patří chemická odolnost, dobrá omyvatelnost, možnost sterilizace obalu, průhlednost a možnost vícenásobného použití obalu. Nevýhodou je vysoká hmotnost, citlivost k teplotním změnám a křehkost (Štencl, 2013).

Skleněné obaly se dle užití dělí na sklo nápojové, konzervové a velké obalové sklo (Macháň, 1990). V dnešní době se při výrobě skleněných obalů snaží o snižování hmotnosti a zvyšování odolnosti proti rozbití (Štencl, 2013).

### **3.3.1.4 Kovy**

Dnes má mezi využívanými kovovými materiály dominantní postavení ocel a hliník. Cín, zinek a chrom se využívají zejména pro povrchovou úpravu konzervových plechovek vyrobených z konstrukčních ocelí obvyklých vlastností, zejména černé oceli (Štencl, 2013).

Z ekologického hlediska je výhodnější obal ocelový, který na rozdíl od hliníkového snáze podléhá korozi a méně zatěžuje životní prostředí. Ocelový obal je také možno pomocí silných magnetů vytřídit z odpadu (Macháň, 1990).

Hlavní výhodou kovových obalových materiálů je jejich pevnost, možnost tváření, dokonalé bariérové vlastnosti, neprodyšnost a vysoká teplotní vodivost. Mezi nevýhody patří nebezpečí vzniku koroze (Dobiáš et Čurda, 2004). Nejdůležitější kovový potravinářský obal je konzervová plechovka a fólie (Macháň, 1990).

### **3.3.1.5 Obaly z plastů**

Plasty jsou syntetické, polosyntetické nebo přírodní makromolekulární látky, které lze tvářet tlakem za vyšších teplot (Štencl, 2013). Nejvýznamnější vlastností plastových obalových materiálů patří jejich plasticita za vyšší teploty. Umožňuje jejich snadné tvarování a opracování do požadovaného tvaru pro výrobu obalu.

Dle reakce na teplo se plasty dělí na termoplasty (plastické hmoty reagující na teplo měknutím až táním, po ochlazení tuhnutí) a reaktoplasty (při zvýšené teplotě tají, při následném zvyšování teploty se vytvrzují a stávají se z nich netavitelné a nerozpustné plasty).

Mezi nejčastěji používané plasty pro výrobu obalů patří polyethylentereftalát (PET), polypropylen (PP) a polystyren (PS), polyetylen vysokohustotní, polyetylen nízkohustotní (Macháň, 1990).

### **3.3.1.6 Textilní obaly**

Využívají se zejména na výrobu pytlů, žoků a přebalů. Mezi pozitivní vlastnosti těchto obalů patří pevnost, malá hmotnost a prodyšnost. Hlavními surovinami pro výrobu jsou juta, bavlna a polypropylenové pásy (Štěpek, 1981).

### **3.3.1.7 Poživatelné obaly**

Mohou být tvořeny ze syntetických nebo přírodních látek. Poživatelné obaly se používají ve formě fólií, povlaků nebo kapslí. Mezi poživatelné obaly se také řadí vrstva ledu, která vzniká při glazování ryb ledem. Tato vrstva se vytváří, aby se zamezilo vysychání a oxidaci potravin. Ochranná vrstva na potravině může být také vytvořena přirozeným způsobem, jedná se o slupky u ovoce a zeleniny (Štencl, 2013).

## **3.3.2 Bariérové účinky obalů**

Obal chrání výrobek tak, aby neztrácel svoji kvalitu v závislosti na čase a nezneškodnoval se stykem s okolním prostředím. Vytváří bariéru mezi výrobkem a okolím. Vliv obalu na uchovatelnost výrobku se vyjadřuje koeficientem ochranné účinnosti ( $K_{ob}$ ). Tento koeficient udává, kolikrát je údržnost balené potraviny ( $D_b$ ) vyšší než nebalené ( $D_n$ ) za stejných podmínek (Štencl, 2013).

$$K_{ob} = \frac{D_b}{D_n} [-]$$

Kritériem údržnosti bývá ztráta charakteristického jakostního znaku, tím může být například změna barvy, chuti, konzistence atd. Pro potravinu zabalenou v obalu s nulovým bariérovým účinkem platí  $K_{ob} = 1$ . V běžné praxi se setkáváme s hodnotou koeficientu ochranné účinnosti 1,5 až řádově  $10^3$ , například pro sterilované výrobky (Kačeňák, 2007). U nevhodně zvoleného obalu, který negativně působí na produkt je hodnota  $K_{ob} < 1$ , tato hodnota poukazuje na to, že zabalený výrobek má kratší údržnost než nezabalený. U vhodně zvoleného obalu se  $K_{ob}$  zvyšuje s narůstajícími bariérovými účinky a obráceně (Štencl, 2013).

### **3.3.2.1 Vliv teploty na údržnost potravin a rozvoj mikroorganismů v zabalené potravíně**

Obecně můžeme říct, že růst mikroorganismů závisí na teplotě. Nejuniverzálnějším prostředkem k prodloužení trvanlivosti je snížení teploty. Při poklesu teploty může dojít k nárůstu relativní vlhkosti ve vzduchovém prostoru mezi výrobkem a obalem. Ve vzniklém mikroklimatu je často překračována hodnota rosného bodu a dochází ke kondenzaci vody jak na obalu, tak i na zabaleném výrobku. Důsledkem zvlhnutí potravin může docházet k nárůstu vodní aktivity a rozvoji mikroorganismů, u balených potravin především plísní (Štencl, 2013).

Růst mikroorganismů v biologických materiálech určují vnitřní a vnější faktory. Vnitřní faktory jsou neměnnou součástí materiálu a je to především složení biologické hmoty, pH a vodní aktivita. Prostředí, v němž se biologický materiál nachází je označováno jako vnější prostředí a je to hlavně teplota a relativní vlhkost okolního vzduchu. Tyto faktory určují, zda dojde k růstu nebo úhynu mikroorganismů (Štencl, 2013).

### **3.3.2.2 Aktivní obaly**

Aktivní obalové systémy byly vyvinuty s cílem prodloužit trvanlivost potravin a prodloužit tak dobu, po kterou si potraviny uchovávají vysokou kvalitu (Huff, 2012). Tento systém balení potravin aktivně mění podmínky, za kterých je balená potravina skladována. Kromě prodloužení trvanlivosti se mohou měnit i senzorické nebo nutriční vlastnosti (Obruča, 2008).

Aktivní obaly lze rozdělit do několika skupin. Dělí se podle způsobu, kterým ovlivňují vlastnosti uchovávané potraviny. Prvním typem jsou obalové materiály, které dokáží z okolní atmosféry eliminovat nežádoucí plyny například kyslík, oxid uhličitý, vlhkost nebo zápach (Obruča, 2008). Druhým typem jsou obaly, které obsahují nebo produkují látky přímo do potravin nebo prostřednictvím pomalého uvolňování do prostoru mezi potravinou a obalem (Gyawali et Ibrahim, 2014).

Principy cílených účinků obalu jsou velmi různorodé. Zahrnují odstraňování nežádoucích pachů, uvolňování účinných látek do okolí potraviny (aromat, konzervačních činidel, antioxidantů atd.) změny vnitřní atmosféry či ovlivnění ohřevu baleného pokrmu v mikrovlnném poli (Dobiáš et Čurda, 2004). Aktivní balení se ukázalo jako spolehlivá alternativa ke konzervaci potravin přidáváním chemických látek do potravin a potravinových surovin (Nerin et al., 2016).



Mezi aktivní obaly se řadí například lapače kyslíku, které inhibují růst plísní (sýry, pekařské výrobky, masné nebo rybí výrobky, těstoviny) nebo kvasinek a aerobních bakterií (maso, hotové pokrmy). Zamezují také oxidaci lipidů (ořechy, smažené potraviny, masné výrobky, plnotučné sušené mléko, pivo, ovocné šťávy), úbytku nutričních faktorů, např. vitamínu C a ztrátě barvy u rostlinných i živočišných výrobků.

Údržnost ovoce a zeleniny prodlužují lapače etylenu. Regulátory vlhkosti zamezují růstu plísní (pekařské výrobky) nebo kvasinek a bakterií (maso, krájené ovoce a zelenina), odstraňují také vodu, která se uvolnila táním nebo zkondenzovala (zmražené ryby) nebo omezují difuzi vody u pekařských výrobků. Bakteriostatický účinek (maso, ryby) a vliv na respiraci čerstvého ovoce a zeleniny mají obaly uvolňující oxid uhličitý (Kvasničková, 2002). Van Long et al. (2016) uvádí, že účinnost aktivního obalu značně závisí na faktorech prostředí potravin jako je vodní aktivita, pH, teplota, koncentrace NaCl, velikost a typ fólie.

Aktivní obaly jsou úspěšně aplikovány v USA, Austrálii a Japonsku. V Evropské unii je vzhledem k legislativním předpisům jejich použití omezeno pouze na výzkumné projekty. Legislativní překážkou je limit migrace. Řešením by mohlo být nepovažovat v případě aktivních obalů migrující látku za součást obalu, ale za potravinové aditivum (Obruča, 2008).

### **3.3.2.3 Antimikrobiální modifikace obalů**

Potenciální mikrobiální kontaminace a kažení patogenními mikroorganismy je problémem dnešní doby. Kromě toho, že působením mikroorganismů dochází ke snížení trvanlivosti potravin, zvyšuje se také riziko onemocnění po požití kontaminované potraviny (Miranda et al., 2016).

Potravinářské výrobky přirozeně obsahují některé mikroorganismy, které se v závislosti na způsobu uchování mohou množit a potraviny znehodnocovat. Do obalového materiálu může být začleněna široká škála chemických i přírodních činidel (García Ibarra et al., 2016). Takto vytvořené antimikrobiální obaly potlačují aktivitu cílových mikroorganismů, omezí jejich růst a tím prodlouží trvanlivost balených potravinářských výrobků (Kuuliala et al., 2015). Ze všech antimikrobiálních látek, se k začleňování do polymerů obalových materiálů využívá nejvíce stříbro, které narušuje enzymatickou aktivitu mikrobiálních buněk (Appendini et Hotchkiss, 2002).

Podle typu působení antimikrobiální látky rozlišujeme mikrobicidní a mikrobistatický účinek. Mikrobicidní účinek je jev ireverzibilní, při kterém dochází

k zastavení růstu, k ztrátě životaschopnosti buněk a jejich následnému umírání. Mikrobistatický účinek je jev reverzibilní. Spočívá v zástavě dělení buněk mikroorganismů. To znamená, že jejich počet, se po dobu účinku faktoru, který změnu vyvolal, už nezvyšuje. Po odstranění faktoru, který změnu vyvolal, pokračují buňky v normálních životních pochodech (Buňková et Doležalová, 2010).

Při aktivní antimikrobiální funkci obalu jsou aktivní komponenty vázány na povrch obalového materiálu pevnou kovalentní vazbou a systém je účinný i bez uvolňování těchto složek do potravin (Smejtková et Dobiáš, 2004). Pokud jsou antimikrobiální látky součástí obalového materiálu, mohou zpomalit nebo zabránit růstu mikroorganismů, které mohou být přítomny v balené potravine nebo v samotném obalovém materiálu, po celou dobu skladování. (Appendini et Hotchkiss, 2002).

Antimikrobiální obal může mít několik forem. Do obalů je možné přidávat sáčky s těkavými antimikrobiálními látkami, těkavé a netěkavé antimikrobiální činidla lze začlenit přímo do polymerů obalového materiálu, antimikrobiální látky lze do polymerů imobilizovat iontovou nebo kovalentní vazbou, lze použít antimikrobiální polymery nebo lze využít antimikrobiálních nátěrů (Appendini et Hotchkiss, 2002).

Tradičně jsou antimikrobiální činidla přidávána přímo do potravin. Následkem může být nadměrné množství antimikrobiální látky v potravine, což se může projevit změnou chuti potravin. Při přímé aplikaci na obalový materiál, který je v přímém kontaktu s potravinou, se využívá metody máčení, stříkání nebo nanášení štětcem. Antimikrobiální aktivita může být při této metodě snižována v důsledku inaktivace vlivem složek dané potravin. Při využití začleňování antimikrobiální látky do obalu se sníží množství antimikrobiálních látek, které jsou zahrnuty do objemu potravin (Van Long et al., 2016).

V oblasti antimikrobiální modifikace obalů mají přírodní rostlinné extrakty a jejich hlavní složky stále větší význam. Velký zájem vzbuzuje kombinace přirozeně získaných antimikrobiálních činidel a biologicky odbouratelných obalových materiálů (Suppakul, 2016). Silice a různé fenolové sloučeniny patří mezi nejslibnější antimikrobiální aktivní složky, a proto se do aktivních obalů zařazují (Galotto et al., 2016).

### **3.4 Silice rostlin**

Silice, jiným názvem éterické či esenciální oleje, jsou složité směsi těkavých látek obsažené v přírodních rostlinných materiálech (Velíšek et Hajšlová, 2009). Rostliny

a jejich výtažky jsou člověkem využívány po staletí. Používají se pro jejich baktericidní, virucidní, fungicidní, insekticidní, antiparazitické a léčivé účinky. V dnešní době nachází uplatnění zejména ve farmaceutickém a kosmetickém průmyslu, dále v zemědělství a průmyslu potravinářském (Bakkali et al., 2007).

Ve farmacii se kromě silic využívá také ze silic izolovaných čistých složek, např. mentol. Izolovaným složkám se dává přednost, pokud mají doprovodné látky silice nežádoucí vedlejší účinky (Tomko, 1999).

Ze základních primárních látek, jako jsou bílkoviny, tuky či organické kyseliny, vytváří rostliny složitými procesy sekundární látkové výměny často velice specializované látky. Tyto látky se označují jako vedlejší neboli sekundární. V rostlině bývají obsaženy zpravidla v malém množství. Charakteristické jsou pouze pro určité skupiny, druhy nebo formy rostlin (Rubcov et Beneš, 1984).

Sekundární metabolity jsou pro svého producenta velmi významné. Mohou být například chemickou zbraní v boji proti parazitům, chrání své producenty před škodlivým hmyzem a zvyšují jeho odolnost vůči mikroorganismům. Sekundární metabolity mají vliv také na přitažlivost svých producentů, což je důležité zejména při opylování (Svoboda et al., 2000).

Mezi nejcharakterističtější obsahové látky rostlin patří silice (Rubcov et Beneš, 1984). Jsou to těkavé aromatické kapaliny získané z rostlinného materiálu (Ríos, 2016). Je známo zhruba 3000 druhů rostlin obsahujících silice. Z toho je zhruba 400 druhů pěstováno pro výrobu silic ve velkém průmyslovém měřítku (Bhattacharya, 2015). Silice jsou zpravidla bohaté směsi různých těkavých a obvykle vonných látek (Rubcov et Beneš, 1984).

Složení silice jednoho druhu se může v závislosti na teplotě, půdních podmínkách, nadmořské výšce a zemi původu měnit (Mariod, 2015). Pro tento jev se používá označení genetický polymorfismus (Pengelly, 2004). Obecně platí, že nejsilnější antimikrobiální aktivitu mají silice získané z rostlin sklizených během nebo bezprostředně po odkvětu (Burt, 2004).

Metody používané k izolaci silic z rostlin jsou destilace s vodní parou, lisování či extrakční metody. Stále častěji se také využívá mikroextrakce jednou kapkou (Čížková et al., 2011).

### 3.4.1 Vznik a získávání silic

Z fyziologického hlediska jsou silice exkrementy, které se syntetizují a kumulují v mezibuněčných prostorách, ve žláznatých chlupcích, v malých žlázkách a sekrečních kanálcích (Hlava et Valíček, 1997).

Silice se tvoří v protoplasmě sekrečních buněk. Po jejich uložení do siličných útvarů se již neresorbují zpět, jejich vylučování je nevratné. Silice se mohou koncentrovat v některém z rostlinných orgánů, podle toho pak rozlišujeme silice květů, listů apod. Mohou také prostupovat celou rostlinou, což je obvyklé zejména u jehličnanů (Tomko, 1999).

Silice se v zásadě získávají třemi různými způsoby, popřípadě jejich kombinacemi. Nejčastěji využívanou metodou je destilace materiálů s vodní parou a oddělením vrstvy silice z destilátu (silice ze semen, listů, dřeva, kořenů). Silice z květů se extrahují nepolárními rozpouštědly, např. benzinem či petroléterem, získaný extrakt se nazývá miscela. Pro silice z oplodí citrusových plodů se využívá lisování a oddělení vrstvy silice (Velíšek et Hajšlová, 2009).

### 3.4.2 Vlastnosti silic

Silice obsahují těkavé složky, které mohou být vonící či bez vůně (Tomko, 1999). Jsou rozpustné v alkoholu a tucích, ale jen málo ve vodě. V čistém stavu jsou většinou bezbarvé (Pengelly, 2004). Výjimkou je například silice heřmánku, která má barvu zelenkavou až modravou a do žluta zbarvená silice hřebíčková (Lawrencet, 2001). Pokud na silici působí světlo nebo vzduch, může dojít k oxidaci a ztmavnutí silice (Pengelly, 2004).

Silice jsou látky tekuté. S vodními parami, které se za pokojové teploty vypařují, těkají a po delším stání nebo prudkém ochlazení, jako například mentol, krystalizují v pevné krystalické součásti (Jaroš, 1992). Růžové nebo anýzové silice za normálních teplot částečně tuhnou (Bacílková et Paulusová, 2012).

Působením světla, tepla, vzdušného kyslíku a vlhkosti nastávají u silic chemické změny. Z tohoto důvodu by se silice měli uchovávat ve tmavých vzduchotěsných nádobách v chladu a suchu (Valíček, 2006). Vlastnosti silic se mění i stárnutím (Bacílková et Paulusová, 2012). S postupem času silice mění svou původní barvu, dochází k tmavnutí a zvýšení hustoty. Současně dochází ke změně jejich pachu, probíhá polymerizace, autooxidace a hydrolýza esterů (Tomko, 1999). Ke změně vůně dochází

proto, že se silice zbavují terpenických látek. Zvyšuje se tak jejich trvanlivost a zjemňuje se vůně (Bacilková et Paulusová, 2012). U silic s vysokým obsahem nenasycených terpenových uhlovodíků probíhají změny nejrychleji (Tomko, 1999).

Silice jsou k dispozici v kapalně nebo plynné formě. Výhoda kapalně formy je ve snadném vyhodnocení hodnot minimální inhibiční koncentrace a minimální letální koncentrace. Problémem je naopak, že při srovnání antimikrobiální aktivity silic v kapalně formě je jejich aktivita v laboratorním kultivačním médiu vyšší než v reálných potravinách. Proto při přidání do potravin je pro dosažení totožného antimikrobiálního účinku potřeba vyšší koncentrace dané silice (Seo et al., 2015). Další nevýhodou je jejich vliv na sensorické vlastnosti potravin (Burt, 2004).

Plynné silice nejsou přímo přidávány do potravin. Využívají se jako primární antimikrobiální látky v potravinářských obalových materiálech, jako dezinfekční činidla pro potravinářské a skladovací povrchy. Při použití dochází pouze k minimálním změnám ve vůni a chuti potravin. Nevýhodou plynné formy je udržení daných koncentrací při aplikaci na povrchy, protože snadno difundují do okolní atmosféry (Seo et al., 2015).

### **3.4.3 Účinky silic**

Účinek silic je nespecifický, velmi rozmanitý a do značné míry závislý na tom, která z látek v silici dané rostliny převládá (Jaroš, 1992). Široce se využívají v kosmetice a parfémtech. Pro jejich terapeutické vlastnosti se využívají také v medicíně (Ríos, 2016). V potravinářském průmyslu se využívá jejich antioxidačních, antimikrobiálních a konzervačních vlastností (Ng et al., 2015). Použití silic v potravinářském průmyslu vychází z potřeb dnešního spotřebitele, který hledá zdravé potraviny bez chemických konzervačních látek (Sultanbawa, 2015).

Většina silic působí zevně i vnitřně dezinfekčně. Některé tlumí křeče hladkého svalstva trávicího, podporují vyměšování trávicích šťáv a přispívají ke ztekucení vazkého hlenu. Působí také na centrální nervový systém, močopudně nebo proti nadýmání. Některé silice mohou po vstřebání působit i toxicky a jedovatě. Na kůži a sliznicích působí dezinfekčně, ale mohou působit i dráždivě a místně i značně překrvovat (Jaroš, 1992).

Vykazují tedy mnoho účinků. Využívají se na vykašlávání (silice eukalyptu, bazalky, materídoušky), proti nadýmání (silice kmínu a máty), jako diuretikum (silice

z plodů jalovce či kořene petržele). Silice z listů meduňky lékařské a květu levandule mají sedativní účinky, desinfekční účinky vykazují silice z listů šalvěje a hřebíčku kořeného. Silice česneku a pelyňku působí jako antihelmintika. Siličnaté rostliny se mohou používat také jako koření, např. pepř, kurkuma, skořice, badyán (Janča et Zentrich, 1994).

Silice se obvykle získávají z rostlin používaných jako koření, ceněny jsou pro jejich silnou chuť a vůni (Nedorostová, 2008). Pro tyto vlastnosti nacházejí uplatnění v aromatizaci potravin (Mariod, 2015). Tyto vlastnosti mohou být velkou nevýhodou při jejich použití jako konzervační látky. Navzdory tomu, že koncentrace nejaktivnějších silic jsou velmi nízké, mohou stále působit na organoleptické vlastnosti konzervovaných potravin (Nedorostová, 2008). Nežádoucí organoleptické účinky mohou být omezeny pečlivým výběrem silic v závislosti na druhu potravin (Burt, 2004).

#### **3.4.4 Chemické složení silic**

Silice jsou kompozitní směsi těkavých látek v rostlinách přítomné v nízkých koncentracích (Stratakos et Koidis, 2015). Tyto aromatické olejovité kapaliny jsou získané z rostlinného materiálu například z květů, pupenů, plodů, semen, stonků, listů, větviček, kůry či kořenů (Burt, 2004).

Silice jsou často tvořeny více jak 100 chemickými sloučeninami. Jedna nebo několik hlavních složek určují charakteristickou vůni a chuť silice (Hay et Waterman, 1993). Tyto hlavní složky se vyskytují v poměrně vysokých koncentracích (20 až 70 %) v porovnání s ostatními složkami přítomnými ve stopovém množství. Například karvakrol (30 %) a thymol (27 %) jsou hlavními složkami rostliny dobromysl obecná. Silice máty peprné je tvořena z 59 % mentholem a 19 % tvoří menthon (Bakkali et al., 2007). Chemická povaha sloučenin ovlivňuje jejich antimikrobiální účinnost a mechanismus účinku na cílový mikroorganismus (Krisch et al., 2011).

Silice používané v potravinářství, farmacii a parfumerii patří téměř vždy do skupiny komponent náležících do kategorie terpenů a derivátů fenypropanů (Hay et Waterman, 1993). Hlavní složkou jsou terpenové sloučeniny zejména monoterpeny a seskviterpeny (Čížková et al., 2011). Mezi terpeny jejichž prekurzorem je kyselina mevalonová patří monoterpenové uhlovodíky, aldehydy, alkoholy, ketony, kyseliny, estery a étery. Prekurzorem seskviterpenoidů je kyselina šikimová a jsou zastoupeny uhlovodíky,

fenylpropanoidy a kyslíkatými látkami (Tomko, 1999). Nositelem vůně a chuti silic jsou kyslíkaté sloučeniny např. alkoholy, aldehydy, ketony a estery (Čížková et al., 2011).

Uhlovodíky se vyskytují ve většině silic (Bacílková et Paulusová, 2012). Tvoří aroma mnoha druhů ovoce, zeleniny a koření. Mezi alifatické monoterpeny patří myrcen a ocimen (Velíšek et Hajšlová, 2009). Nejběžnějším monocyklickým monoterpenem je limonen,  $\alpha$ -felandren,  $\alpha$ -terpinen, bicyklický monoterpen je pinen a sabinen. Monocyklický seskviterpenový uhlovodík je zingiberen a nejčastějším bicyklickým seskviterpenem je kadinen (Bacílková et Paulusová, 2012).

Alkoholy bývají primárními a sekundárními vonnými a chuťovými látkami z potravin (Velíšek et Hajšlová, 2009). V silicích se nachází v podobě alifatických, alicyklických a terpenových alkoholů. Alifatické alkoholy jsou ve vodě rozpustné a během destilace přecházejí do vodné fáze (Bacílková et Paulusová, 2012). Z alifatických alkoholů je nejvýznamnější linalool, citranelol a geraniol. Mezi monocyklické patří terpineol a mentol. K významným bicyklickým alkoholům patří borneol (Velíšek et Hajšlová, 2009).

Významným étherem je estragol, anethol, saflor, isosaflor a myristicin. Některé étery mohou být považovány za fenoly a aromatické aldehydy (Velíšek et Hajšlová, 2009).

Aldehydy vyskytující se v silicích jsou alicyklické nebo cyklické. K nejčastěji vyskytujícím patří citral a citronellal. Oba patří mezi hlavní složky citrusových silic (Bacílková et Paulusová, 2012). Příkladem monoterpenového aldehydu je safranal, který je hlavní složkou silice šafránu. Mezi aromatické aldehydy patří benzaldehyd, skořicový aldehyd a vanilin (Velíšek et Hajšlová, 2009).

Ketony jsou významné aromatické látky. Významnou složkou silice kopru a kmínu je karvon, v mátové silici najdeme menthon. Kafr je obsažen ve skořicové, šalvějové a rozmarýnové silici (Velíšek et Hajšlová, 2009).

Významné fenoly, které se vyskytují jako složky silic, jsou karvakrol a tymol v tymiánové silici. Mezi fenoly patří také eugenol, který je obsažen v hřebíčkové silici (Velíšek et Hajšlová, 2009).

### **3.4.5 Antimikrobiální účinek silic**

Silice jsou látky, které vykazují zejména antibakteriální a antifungální aktivitu. Současně s antimikrobiální aktivitou se projevuje zejména u kořenin i aktivita

antioxidační. Některé silice mají také antiherpetickou či antihelmintickou aktivitu (Opletal et Šimerda, 2005).

Vzhledem k velkému počtu různých skupin chemických látek přítomných v silicích je pravděpodobné, že jejich antibakteriální aktivita nelze připsat pouze jednomu konkrétnímu mechanismu (Burt, 2004). Silice působí na membránové struktury cílových mikroorganismů, mohou porušit integritu buněčné membrány, způsobují koagulaci cytoplazmy, poškozují lipidy a proteiny (Van Long et al., 2016).

Poškození buněčné stěny a membrány může vést k úniku makromolekul a následné lýzi buňky (Bakkali et al., 2007). Cytotoxická aktivita silic je většinou způsobena přítomností fenolů, aldehydů a alkoholů, které jsou součástí zejména eugenolu, karvakrolu či thymolu (Bakkali et al., 2007).

Ke zvýšení antimikrobiálních vlastností dochází synergickým působením různých silic (Van Long et al., 2016). Synergismus je pozorován, když je účinek kombinovaných látek větší než součet jednotlivých účinků. Možnost posílení přirozených antimikrobiálních účinků přidáním malých množství dalších přírodních konzervačních látek může být způsobem, jak dosáhnout rovnováhy mezi smyslovou přijatelností a antimikrobiální účinností obalových materiálů s přídavkem silic (Goñi et al., 2009). Metoda antimikrobiálních obalů využívající antimikrobiální sáčky nejčastěji používá silice česneku, skořice a oregana (Otoni et al., 2016).

Při sledování antimikrobiální aktivity vybraných 25 silic se ukázalo, že silice skořice, hřebíčku a tymiánu byly nejúčinnější in vitro při kontrole růstu *Penicillium verrucosum* a *Aspergillus westerdijkiae* (Aldred et al., 2008).

### **3.4.6 Přírodní zdroje silic**

#### **3.4.6.1 *Skořicovník cejlonský (Cinnammomum zeylanicum)***

Skořicová silice se získává z *Cinnammomum zeylanicum*. Skořicovník je stále zelený strom dorůstající do výšky deseti metrů. Silice je získávána metodou destilace vodní parou z kůry či listů. Barva silice z kůry je červenohnědá, silice z listů je žlutá kapalina.

Chemické složení silice je odvislé od jejího původu. Silice z kůry obsahuje cinnamaldehyd, eugenol, feliadner,  $\alpha$ -pinen,  $\beta$ -karyofylen, p-cymen, linalool, benzaldehyd, 3-fenylpropanal, kuminaldehyd, furfural, nonanal, amylmethylyketon. Silice z listů obsahuje  $\alpha$ -pinen, fellandreen, dipenten, linalool, geraniol, borneol,



$\alpha$ -terpineol a jeho estery, cinnamaldehyd, benzylbenzoát, benzylaldehyd, cinnamylalkohol, menthenon, safrol, eugenol (Vonášek et al., 1987).

Na antimikrobiálních vlastnostech silice skořice se podílí skořicový aldehyd s koncentrací až do 80 % a eugenol, jehož koncentrace se pohybuje do 4 %. Při vysokých dávkách může způsobit vážné poškození bakteriální stěny, které vede k buněčné lyzi (Pesavento et al., 2015).

#### **3.4.6.2 Tymián obecný (*Thymus vulgaris*)**

Silice tymiánu je tvořena více než 60 sloučeninami, většina z nich vykazuje antioxidační a antimikrobiální vlastnosti proti širokému spektru gramnegativních nebo grampozitivních bakterií (Perdones et al., 2016).

Hlavními antimikrobiálními složkami silice této rostliny je thymol a karvakrol. Jejich koncentrace se pohybují v rozmezí pro thymol 10 – 64 % a karvakrol 2 – 11 % (Pesavento et al., 2015). Mezi další složky patří cymen, limonen,  $\alpha$ -pinen, geraniol, linalool, borneol aj.

Silice je růžová až červenohnědá kapalina, intenzivní, bylinné, pronikavé vůně s fenolickým nádechem (Vonášek et al., 1987).

#### **3.4.6.3 Hřebíčkovec kořený (*Eugenia caryophyllata*)**

Jedná se o zelený, asi dvacet metrů vysoký strom. Původně pochází ze střední Asie. Silice se získává destilací listů nebo suchých pupat vodní parou. Čerstvá silice hřebíčku je žlutá kapalina, která s postupem času hnědne (Vonášek et al., 1987).

Silici obsahuje v množství 15 – 20 %, její hlavní součástí je z 80 – 90 % eugenol (Velíšek et Hajšlová, 2009). Hřebíčková silice dále obsahuje eugenylacetát, amylmetylketon a  $\beta$ -karyofylen. Pokud je silice získána z pupenů, tak obsahuje navíc ještě  $\alpha$ -pinen, metylbenzoát, heptanol, nonanol, benzylalkohol, 2-furfurylalkohol a metylsalicylát (Vonášek et al., 1987).

Hřebíčková silice vykazuje silnou antimikrobiální aktivitu proti širokému spektru patogenních mikroorganismů (González et al., 2015). Je schopná inhibovat nebo zpomalovat růst bakterií, plísní a kvasinek (Cui et al., 2016).

#### **3.4.6.4 Citroník limonový (*Citrus limon*)**

Citronová silice se získává lisováním slupek plodů za studena nebo jejich destilací vodní parou. Jedná se o světle žlutou až nazelenalou kapalinu, která vykazuje typicky citronovou svěží vůni.

Hlavními složkami silice jsou citral, D-limonen,  $\alpha$ -pinen, myrcen,  $\gamma$ -terpinen,  $\alpha$ -terpineol, linalool, gera-niol, linalylacetát, geranylacetát, 6-methyl-5-hepten-2-on, dekanal, citronellol, citropten (Vonášek et al., 1987).

Limonen vykazuje fungicidní vlastnosti, účinně působí proti houbovým patogenům vyskytujících se zejména na ovoci. Použití v konzervaci potravin omezuje intenzivní aroma a potenciální toxicita (Perdones et al., 2015).

#### **3.4.6.5 Máta peprná (*Mentha piperita*)**

Máta peprná je vytrvalá bylina dorůstající 50 – 80 centimetrů (Vonášek et al., 1987). Tento druh vznikl zkřížením máty vodní (*Mentha aquatica*) a máty klasnaté (*Mentha spicata*). Silice se získává destilací nadzemních částí vodní parou (Khalil et al., 2015).

Silice vykazuje svěží mátovou vůni s chladivým efektem. Silice má vysoký obsah mentholu (50 %), dále je zastoupen menthon (10 – 30 %), mentol acetát, menthofuran, sabinen, piperiton a 1,8-cineol (Vonášek et al., 1987).

#### **3.4.6.6 Blahovičník (*Eukalyptus*)**

Silice se získává destilací listů dospělých stromů vodní parou. Typická je kořenitá kafrová vůně. Silice je bezbarvá až světle žlutá kapalina. Mezi složky silice patří 1,8-cineol, piperiton, citral, methylcinnamát, uranyl acetát (Vonášek et al., 1987).

Množství 1,8-cineolu, známého také jako eukalyptol, je závislé na konkrétním druhu, věku a prostředí. Koncentrace této sloučeniny se pohybuje mezi 44 % a 84 %. Vykazuje výraznou antimikrobiální aktivitu (Luís et al., 2015).

Silice antimikrobiálně působí proti gram-pozitivním i gram-negativním bakteriím. Silice z eukalyptových listů jsou účinné proti bakteriím, které jsou rezistentní vůči léčivům, jedná se například o *A. Baumannii* (Knezevic et al., 2015).

#### **3.4.6.7 Levandule lékařská (*Lavandula angustifolia*)**

Levandule lékařská je polokeř, vysoký 20-60 centimetrů. Silice se získává destilací kvetoucích stonků vodní parou. Jedná se o bezbarvou až lehce nažloutlou či nazelenalou kapalinu. Charakteristická je sladce bylinná, lehce květinová vůně (Vonášek et al., 1987).

Silice levandule má antiseptické, antimykotické a baktericidní vlastnosti. Hlavní sloučeniny odpovědné za typické vlastnosti a vůně jsou linalacetát, linalool, borneol, geraniol, cineol, kafr, nerol, kumarin a další (Chrysargyris et al., 2016).

#### **3.4.6.8 Bazalka pravá (*Ocimum basilicum*)**

Bazalka je jednoletá, 40 cm vysoká bylina, kvetoucí bělavými nebo narůžovělými květy. Silice je bezbarvá až slabě nažloutlá kapalina, intenzivně sladce kořenité vůně. Tvořena je až z 66 % eugenolem, dále obsahuje linalool, cineol, nerol a další (Vonášek et al., 1987).

Bazalková silice vykazuje antimikrobiální účinek proti různým bakteriím, jako je na příklad *Escherichia coli* a *Salmonella typhimurium*. Antifungální účinky byly prokázány u *Aspergillus niger*, *Mucor mucedo*, *Fusarium solani* a dalších (Perdones et al., 2016).

## **4 MATERIÁL A METODIKA**

Praktická část diplomové práce byla realizována na Ústavu agrochemie, půdoznalství, mikrobiologie a výživy rostlin v mikrobiologické laboratoři v prostorách Mendelovy univerzity v Brně.

Předmětem experimentální části této diplomové práce bylo testování antifungální aktivity obalových materiálů na vybraných potravinách, konkrétně se jednalo o sýr eidamského typu 30 % tvs., salám Junior a celer. Pro testování antifungálního působení fólií s nástřikem směsi rostlinných extraktů na konkrétních, výše zmíněných potravinách, byl použit mikroorganismus *Penicillium chrysogenum* CCM 8034. Používaná byla směs rostlinných extraktů o třech koncentracích (3,9 %, 6,6 % a 9,0 %).

### **4.1 Charakteristika vzorků**

Vybrané potraviny byly zakoupeny v den testování v běžně dostupné obchodní síti v Brně.

#### **4.1.1 Plátky sýra**

Plátky sýra o hmotnosti cca 100 g byly vloženy do čistých nepoužitých polystyrenových misek. Následně byly inokulovány dávkou 0,2 ml suspenze příslušného mikroorganismu o denzitě 1 McF. Současně byly odebrány kontrolní stěry z řezné plochy sýra bez inokula. V dalším kroku byly misky pomocí tavné pistole zalepeny příslušnými fóliemi s nástřikem účinné látky (viz obrázek 2). Misky byly inkubovány při laboratorní teplotě 23 °C a chladničkové teplotě 4 – 6 °C. Kontrolní stěry byly provedeny po 48, 168 a 216 hodinách.

#### **4.1.2 Plátky salámu Junior**

Plátky salámu Junior o síle 4 mm byly stejně jako v předcházejícím postupu voženy do čistých nepoužitých polystyrenových misek. Inokulovány byly dávkou 0,1 ml stejné suspenze. Současně byly odebrány kontrolní stěry z řezné plochy salámu bez inokula. Vzorky zabalené v polystyrenových miskách byly skladovány v chladničkové teplotě 4 – 6 °C. Kontrolní stěry byly provedeny po 24, 72 a 144 hodinách.

### 4.1.3 Plátky celeru

Plátky celeru o tloušťce asi 1 cm byly obdobným způsobem inokulovány dávkou 0,1 ml. Současně byly odebrány kontrolní stěry z řezné plochy celeru bez inokula. Zabalené vzorky v polystyrenových miskách byly skladovány v chladničkové teplotě 4 – 6 °C. Kontrolní stěry byly prováděny po 96 hodinách.



Obrázek 2: *Lepení fólie s nástřikem účinné látky na polystyrénovou misku obsahující vzorek sýra*

## 4.2 Použitý materiál

### 4.2.1 Fólie s nástřikem směsi rostlinných extraktů

Na základě dílčích experimentů byl firmou SYNPO vytvořen lak s antimikrobiálním účinkem, který byl určen pro tisk na polymerní fólie. Lak je tvořen porézním plnivem dispergovaným ve vodném roztoku nosného laku. Aktivní látky s antimikrobiálním účinkem jsou zapouzdřené v mikropórech porézního plniva za pomoci kapilárních sil, obalené jsou nosným lakem. K postupnému uvolňování aktivních látek ze suchého laku naneseného na folii dochází vlivem vlhkosti uvolněné z balených potravin. Následně byla firmou INVOS připravena fólie pro testování.

#### 4.2.2 Laboratorní pomůcky

Laboratorní sklo a zkumavky používané k mikrobiologickému experimentu byly před použitím sterilizovány v horkovzdušném sterilizátoru při teplotě 165 °C po dobu 60 minut. Zkumavky s fyziologickým roztokem a Erlenmayerovy baňky s živnými půdami byly sterilizovány v parním sterilizátoru při teplotě 121 °C po dobu 20 minut. Během testování byly použity sterilní jednorázové Petriho misky a sterilní jednorázové špičky na automatické pipety. Sterilní přístroje a pomůcky byly uchovávány až do použití za podmínek zachování sterility.

#### 4.2.3 Živné půdy

Živné půdy byly připravovány dle návodu předepsaného výrobcem. Pro stanovení vybraných druhů mikroorganismů byly použity 2 druhy živných půd, které selektivně podporují jejich růst. Pro stanovení celkového počtu mikroorganismů (CPM) byl použit PCA agar resp. PCA with skimmed milk u vzorků sýra. CPM byl kultivován při teplotě 30 °C po dobu 72 hodin. Pro kultivaci *Penicillium chrysogenum* byl použit Chloramphenicol glucose agar s glukózou, kvasničným extraktem a chloramfenikolem. Kultivace probíhala při 25 °C 120 hodin.

##### 4.2.3.1 Složení živých půd

###### Příprava PCA agar (Plate count agar)

Výrobce: Biokar Diagnostics, Francie

Složení (g/l):

trypton	5,0 g
kvasničný extrakt	2,5 g
glukosa	1,0 g
bakteriologický agar	12,0
destilovaná voda	1000 ml

Příprava:

20,5 g půdy se smíchá s destilovanou vodou a ponechá stát několik minut. Za častého promíchávání se zahřívá k varu, dokud se agar úplně nerozpustí. Po rozpuštění složek je potřeba upravit pH na hodnotu  $7\pm 0,2$  při 25 °C. Poté se živná půda přelije do

Erlenmayerovy baňky o objemu 500 ml a sterilizuje se v autoklávu při teplotě 121 °C po dobu 15 minut.

#### Příprava CGA agar (Choramphenicol Glucose Agar)

Výrobce: Biokar Diagnostics, France

Složení (g/l):

kvasniční extrakt	5,0 g
glukóza	20,0 g
chloramfenikol	0,1 g
agar	15,0 g
destilovaná voda	1000 ml

Příprava:

40,1 g půdy se rozpustí v 1000 ml destilované vody. V případě potřeby se pH upraví na hodnotu  $6,6 \pm 0,2$  při 25 °C. Půda se sterilizuje v autoklávu při 121 °C po dobu 15 minut.

#### **4.2.4 Příprava mikrobiálního inokula**

120 h kultura *Penicillium chrysogenum* (spory a fragmenty mycelia) vypěstovaná na Choramphenicol Glucose Agar (Biokar Diagnostics, Francie) při 25 °C byla přenesena do zkumavky se sterilním fyziologickým roztokem a důkladně rozmíchána. Poté byl připraven roztok o denzitě 1 McF.

### **4.3 Mikrobiologická analýza**

Mikrobiologická analýza byla prováděna v době založení experimentu a v čase kontrol metodou stěru z povrchu z plochy 5 x 5 cm za pomoci sterilní hliníkové šablony. U kontrolních vzorků a vzorků bez inokula odebraných v čase založení experimentu byly stanovovány dvě skupiny mikroorganismů. Celkový počet mikroorganismů (CPM) na PCA agaru resp. PCA with skimmed milk u vzorků sýra (Biokar Diagnostics, France) při 30 °C za 72 hodin a *Penicillium chrysogenum* na Chloramphenicol glucose agar (Biokar Diagnostics, France) při 25 °C za 120 hodin.

#### 4.3.1 Odběr vzorků

Odběr vzorků z testovaných potravin byl proveden metodou stěru. Vzorky byly odebrány pomocí sterilních stěrových tamponů. Následně byl tampón vložen do zkumavky s ředícím roztokem. Jako ředící roztok byl použit fyziologický roztok složený z chloridu sodného a destilované vody. Zkumavka byla intenzivně protřepána pomocí zařízení vortex aby došlo k uvolnění vláken tampónu.

Pro mikrobiologický experiment byla použita metoda zalití do půdy. Pomocí automatické pipety byl očkovan 1 ml vzniklého roztoku na dno označené sterilní Petriho misky (viz obrázek 3). Od každého vzorku byly současně naočkovány čtyři misky. Inokulum v každé Petriho misce se přelilo potřebným množstvím agarové půdy zchlazené na 45 °C, tak aby se vytvořila souvislá tenká vrstva. Miska se uzavřela a mírným krouživým pohybem se promíchala živná půda se vzorkem. Směs se následně ponechala ztuhnout na vodorovné ploše. Po úplném ztuhnutí se Petriho misky obrátily dnem vzhůru a nechaly se inkubovat v termostatu při dané teplotě a času. Po uplynutí doby kultivace byly spočítány jednotlivé narostlé kolonie na miskách. Výsledek byl po přepočtení vyjádřen jako KTJ/25 cm<sup>2</sup>.



Obrázek 3: Označené Petriho misky připravené k naočkování a zalití živnou půdou



## 5 VÝSLEDKY A DISKUZE

Statistické vyhodnocení mikrobiologické analýzy bylo provedeno pomocí programu *Statistica 12*. Vyhodnoceny byly základní statistické charakteristiky (průměr, směrodatná odchylka, medián a variační koeficient). U všech statistických testů byla použita hladina významnosti  $p < 0,05$ . Normalita dat byla testována pomocí Shapiro-Wilkova testu normality, který je vhodný pro soubory o malém rozsahu. Podle výsledků testu normality byla dále ke statistickému vyhodnocení využívána jednofaktorová Anova nebo Kruskal-Wallisův test. Grafické zpracování výsledků bylo provedeno pomocí softwaru *Microsoft Office Excel 2010*.

### 5.1 Mikrobiologická analýza vzorků získaných ze salámu Junior

V tabulce 5 a 6 jsou uvedeny průměrné počty mikroorganismů, které byly získány kontrolními stěry odebranými po 24, 72 a 144 hodinách z povrchu neinokulovaného salámu Junior uchovávaného při chladničkové teplotě 4 – 6 °C. Tabulka je doplněná základními statistickými charakteristikami, jako je směrodatná odchylka, variační koeficient a medián.

Tabulka 5: Počet mikroorganismů v KTJ/25 cm<sup>2</sup> na povrchu neinokulovaného salámu Junior po 24 hodinách skladování

koncentrace účinné látky	CPM			
	0,0 %	3,9 %	6,6 %	9,0 %
<b>průměr</b>	142,5	215	72,5	82,5
<b>směrodatná odchylka</b>	63,4	253,7	58,5	33,0
<b>variační koeficient</b>	44,5	118,0	80,7	40,0
<b>medián</b>	140,0	110,0	45,0	80,0

Legenda: CPM – celkový počet mikroorganismů

#### Hypotéza č. 1

H0: Koncentrace účinné látky na fólii nemá vliv na CPM skladovaného salámu.

H1: Koncentrace účinné látky má vliv na CPM skladovaného salámu.

*Testování normality:*

Shapiro-Wilkův test pro malé množství vzorků ( $p = 0,0003 \rightarrow p < 0,05 \rightarrow$  data nemají normální rozdělení, dále se využívá neparametrické statistiky).

*Testování závislosti:*

Kruskal-Wallisův test pro neparametrické statistiky mnohonásobné porovnání ( $p = 0,2269$ ).

*Závěr:*

P-hodnota je větší než 0,05. Nulovou hypotézu na hladině významnosti  $\alpha = 0,05$  nezamítáme. Druh koncentrace účinné látky nastříknuté na fólii nemá statisticky významný vliv na celkový počet mikroorganismů.

Tabulka 6: Počet mikroorganismů v KTJ/25 cm<sup>2</sup> na povrchu neinokulovaného salámu Junior po 72 a 144 hodinách skladování

CPM								
doba skladování	72 hodin				144 hodin			
	0,0 %	3,9 %	6,6 %	9,0 %	0,0 %	3,9 %	6,6 %	9,0 %
průměr	407,5	150	465	530	22659,5	39094,8	9999	38894,5
směrodatná odchylka	308,8	70,7	429,6	345,8	22340,6	64312,6	0,0	56768,3
variační koeficient	75,8	47,1	92,4	65,3	98,6	164,5	0,0	145,9
medián	300,0	145,0	325,0	600,0	12314,5	8279,5	9999,0	10769,5

Legenda: CPM – celkový počet mikroorganismů

### Hypotéza č. 2 a č. 3

H0: Koncentrace účinné látky na fólii nemá vliv na CPM skladovaného salámu.

H1: Koncentrace účinné látky má vliv na CPM skladovaného salámu.

### Testování normality:

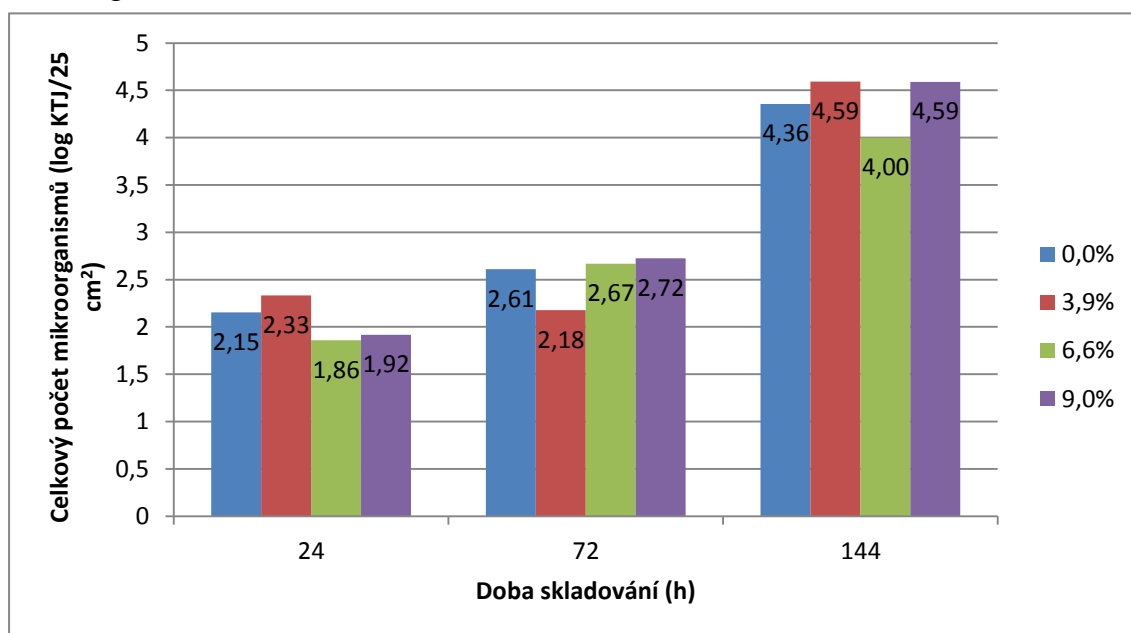
Shapiro-Wilkův test pro malé množství vzorků ( $p = 0,00794$  pro hypotézu č. 2 a  $p = 0,000$  pro hypotézu č. 3  $\rightarrow p < 0,05 \rightarrow$  data nemají normální rozdělení, dále se využívá neparametrické statistiky).

### Testování závislosti:

Kruskal-Wallisův test pro neparametrické statistiky mnohonásobné porovnání ( $p = 0,2763$  pro hypotézu č. 2 a  $p = 0,4485$  pro hypotézu č. 3).

### Závěr:

P-hodnota pro obě hypotézy je větší než 0,05. Nulovou hypotézu na hladině významnosti  $\alpha = 0,05$  nezamítáme. Druh koncentrace účinné látky nastříknuté na fólii nemá ani v jednom případě statisticky významný vliv na celkový počet mikroorganismů.



Legenda: koncentrace účinné látky (%)

Obrázek 4: Porovnání celkového počtu mikroorganismů v log KTJ/25 cm<sup>2</sup> na povrchu neinokulovaného salámu Junior po 24, 72 a 144 hodinách skladování

Z obrázku 4 je patrné, že počty mikroorganismů v čase rychle narůstají. Po 144 hodinách skladování došlo k mnohonásobnému nárůstu mikroorganismů. Tento nárůst byl nejspíše způsoben přítomností termorezistentních mikroorganismů přítomných v masném výrobku.

Rozdíly v počtu mikroorganismů v každé fázi odběru stěrů jsou mezi jednotlivými variantami koncentrací účinné látky nepatrné a vždy se pohybují v blízkosti počtu CPM kontrolního vzorku. Vlákenné mikromycety nebyly na povrchu neinokulovaného salámu po dobu skladování detekovány. Vliv koncentrace účinné látky na inhibici mikroorganismů je v tomto případě statisticky neprůkazný.

Stanovení celkového počtu mikroorganismů slouží ke sledování hygienické jakosti zkoušené potraviny, suroviny či nápoje. Ke kontaminaci masných výrobků může docházet při jejich výrobě. Rizikovou operací je například solení. Zejména solné roztoky vnášejí řadu mikroorganismů tolerantních vůči nízké aktivitě vody, čímž negativně ovlivňují trvanlivost masných výrobků. Kontaminovat masný výrobek může i koření, které je tedy před použitím do masného výrobku lepší sterilovat, popřípadě aplikovat extrakty. Po procesu mletí a míchání díla počet mikroorganismů dosahuje hodnot  $10^6 \cdot g^{-1}$  až  $10^7 \cdot g^{-1}$  (Hrubý, 1984).

Ke zvýšení počtu mikroorganismů může také dojít při narážení díla do obalů z přírodních střeň, hodnoty CPM se po této operaci pohybují okolo  $10^9 \cdot g^{-1}$  a více (Cempírková et al., 1997). Počet mikrobů dále ovlivňuje dodržení doby a teploty při tepelném opracování, čistota provozu, osobní hygiena pracovníků a správné podmínky skladování (Hrubý, 1984).

Tabulka 7 a 8 uvádí průměrné počty *Penicillium chrysogenum*, které byly získány stěry odebranými po 24, 72 a 144 hodinách z povrchu inokulovaného salámu Junior uchovávaného při chladničkové teplotě 4 – 6 °C. Tabulka je doplněná základními statistickými hodnotami, jako je směrodatná odchylka, variační koeficient a medián.

Tabulka 7: Počet *Penicillium chrysogenum* v KTJ/25 cm<sup>2</sup> na povrchu inokulovaného salámu Junior po 24 hodinách skladování

koncentrace účinné látky	<i>Penicillium chrysogenum</i>			
	0,0 %	3,9 %	6,6 %	9,0 %
<b>průměr</b>	2945	4970	5500	5680
<b>směrodatná odchylka</b>	2545,9	2329,7	2923,7	1913,3
<b>variační koeficient</b>	86,5	46,9	53,2	33,7
<b>medián</b>	2680,0	5440,0	4520,0	5840,0

#### Hypotéza č. 4

H0: Koncentrace účinné látky na fólii nemá vliv na počet *Penicillium chrysogenum*.

H1: Koncentrace účinné látky má vliv na *Penicillium chrysogenum*.

*Testování normality:*

Shapiro-Wilkův test pro malé množství vzorků ( $p = 0,99429 \rightarrow p > 0,05 \rightarrow$  data mají normální rozdělení).

*Testování závislosti:*

ANOVA – analýza rozptylu ( $p = 0,407552$ ).

*Závěr:*

P-hodnota je větší než 0,05. Nulovou hypotézu na hladině významnosti  $\alpha = 0,05$  nezamítáme. Výše uvedený test homogenity rozptylů neprokázal rozdíl rozptylů mezi jednotlivými skupinami. Předpoklad homogenity je splněn. Druh koncentrace účinné látky nastříknuté na fólii nemá statisticky významný vliv na počet *Penicillium chrysogenum*.

Tabulka 8: Počet *Penicillium chrysogenum* v KTJ/25 cm<sup>2</sup> na povrchu inokulovaného salámu Junior po 72 a 144 hodinách skladování

<i>Penicillium chrysogenum</i>								
doba skladování	72 hodin				144 hodin			
	0,0 %	3,9 %	6,6 %	9,0 %	0,0 %	3,9 %	6,6 %	9,0 %
průměr	5060	4340	5080	3500	15125	2175	1075	2925
směrodatná odchylka	1679,8	2582,1	1939,4	247,66	21773,6	434,9	287,2	573,7
variační koeficient	33,2	59,5	38,2	7,1	143,9	19,9	26,8	19,6
medián	4960,0	3580,0	4560,0	3440,0	6350,0	2050,0	1150,0	2850,0

### Hypotéza č. 5 a 6

H0: Koncentrace účinné látky na fólii nemá vliv na *Penicillium chrysogenum*.

H1: Koncentrace účinné látky na fólii má vliv na *Penicillium chrysogenum*.

#### Testování normality:

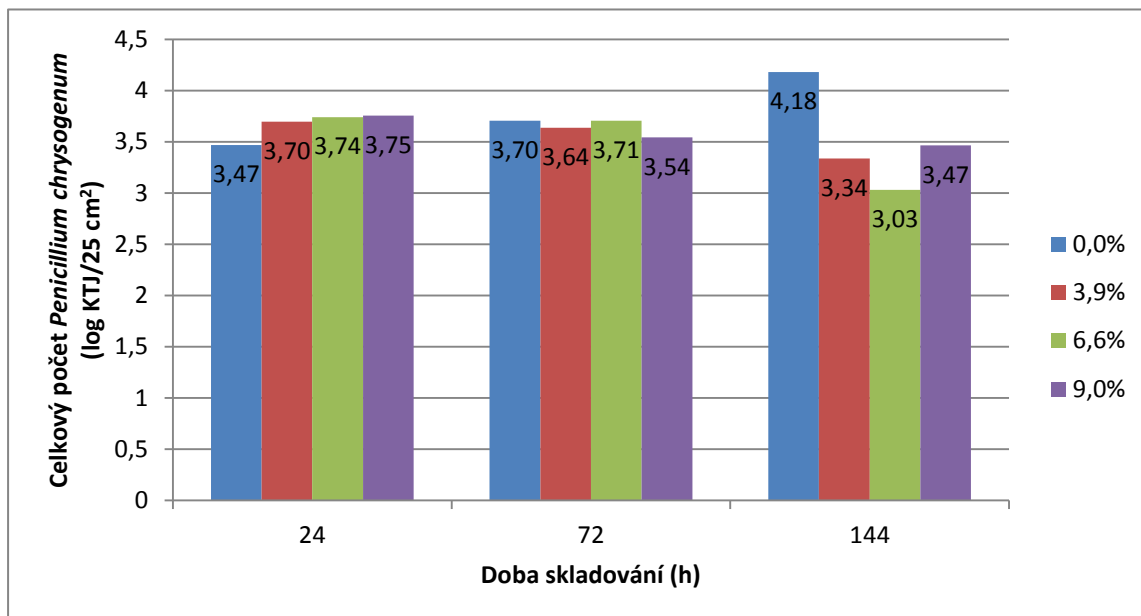
Shapiro-Wilkův test pro malé množství vzorků ( $p = 0,01659$  pro hypotézu č. 5 a  $p = 0,000$  pro hypotézu č. 6  $\rightarrow p < 0,05 \rightarrow$  data nemají normální rozdělení, dále se využívá neparametrické statistiky).

#### Testování závislosti:

Kruskal-Wallisův test pro neparametrické statistiky mnohonásobné porovnání ( $p = 0,4301$  pro hypotézu č. 5 a  $p = 0,0614$  pro hypotézu č. 6).

#### Závěr:

P-hodnota pro obě hypotézy je větší než 0,05. Nulovou hypotézu na hladině významnosti  $\alpha = 0,05$  nezamítáme. Druh koncentrace účinné látky nastříknuté na fólii nemá ani v jednom případě statisticky významný vliv na počet *Penicillium chrysogenum*.



Legenda: koncentrace účinné látky (%)

Obrázek 5: Porovnání počtu *Penicillium chrysogenum* v log KTJ/25 cm<sup>2</sup> na povrchu inokulovaného salámu Junior po 24, 72 a 144 hodinách skladování

Obrázek 5 znázorňuje počet *Penicillium chrysogenum* v log KTJ/25 cm<sup>2</sup>. Tyto hodnoty počtu penicilií byly získány stěry z povrchu inokulovaného salámu Junior, skladovaného při chladničkové teplotě 4 – 6 °C. Stěry byly odebrané po 24, 72 a 144 hodinách. V průběhu experimentu nebyl na vzorcích salámu zaznamenán viditelný nárůst plísní. Počty *Penicillium chrysogenum* se v průběhu času příliš nemění. K výraznějšímu snížení počtu inokulovaného mikroorganismu vzhledem ke kontrole s 0% koncentrací účinné látky došlo pouze při skladování po dobu 144 hodin. Tento rozdíl je však spíše optický. Rozdíl není statisticky průkazný, jedná se o rozdíl v rámci jednoho řádu. Koncentrace účinné látky na fólii nemá tedy na počty plísní statisticky prokazatelný vliv. Obrázek 5 názorně dokládá výsledky získané statistickými hypotézami.

Oral et al. (2009) zkoumali vliv přítomnosti oreganové silice, v absorpční vložce přítomné v obalovém materiálu, na skladovatelnost čerstvých kuřecích paliček. Absorpční vložka byla postříkaná 5 ml silice oregana o koncentraci 1,5 % v destilované vodě. Těkavá antimikrobiální látka se uvolňovala v uzavřeném obalu v plynné formě do prostoru. Doba použitelnosti skladovaných kuřecích paliček byla prodloužena přibližně o 3 až 5 dnů.

Gitrakou et al. (2009) zjišťovali, zda tymiánová silice či chitosan, popřípadě jejich kombinace, může přispět k prodloužení trvanlivosti výrobků z kuřecího masa. Tyto antimikrobiálně působící látky byly nanášeny přímo na masný výrobek. Kombinace chitosanu a tymiánové silice inhibovala růst všech testovaných mikroorganismů a účinně potlačila růst plísní v průběhu skladování. Mikrobiologická trvanlivost výrobku byla ve srovnání s kontrolním vzorkem prodloužena o tři dny. Při použití pouze tymiánové silice byla trvanlivost prodloužena o dva dny.

## **5.2 Mikrobiologická analýza vzorků získaných z celeru**

V tabulce 9 jsou zaznamenány průměrné hodnoty mikroorganismů v KTJ/25 cm<sup>2</sup>, které byly detekovány na povrchu neinokulovaného celeru v den založení pokusu. Tabulka je doplněná základními statistickými hodnotami, jako je směrodatná odchylka, variační koeficient a medián.

Tabulka 9: Počet mikroorganismů v KTJ/25 cm<sup>2</sup> na povrchu neinokulovaného celeru ze dne založení pokusu

	CPM	Vláknité mikromycety
<b>průměr</b>	2435,0	185,0
<b>směrodatná odchylka</b>	2892,1	63,6
<b>variační koeficient</b>	118,8	34,4
<b>medián</b>	2435,0	185,0

Legenda: CPM – celkový počet mikroorganismů

Zdrojem těchto mikroorganismů je přirozená mikroflóra testovaného celeru. Ke kontaminaci plochy plátků celeru došlo nejspíše při přípravě vzorku přenosem z jeho povrchu. Zelenina roste v půdě nebo alespoň v její bezprostřední blízkosti. Proto je její povrch vždy kontaminován půdní bakteriální a plísňovou mikroflórou (1 g půdy může obsahovat až 10<sup>9</sup> KTJ). Na kažení zeleniny se vedle plísní a kvasinek podílí i bakterie. Významnou složkou přírodní mikroflóry zeleniny jsou bakterie mléčného kvašení. (Görner et Valík, 2004).

Tabulka 10 uvádí průměrné počty mikroorganismů, které byly získány stěry odebranými po 96 hodinách skladování z povrchu neinokulovaného celeru uchovávaného při chladničkové teplotě 4 – 6 °C. Tabulka je doplněná základními statistickými hodnotami, jako je směrodatná odchylka, variační koeficient a medián.

Tabulka 10: Počet mikroorganismů v KTJ/25 cm<sup>2</sup> na povrchu neinokulovaného celeru po 96 hodinách

koncentrace účinné látky	CPM			
	0,0 %	3,9 %	6,6 %	9,0 %
<b>průměr</b>	16695,0	78862,5	60740,5	264735,0
<b>směrodatná odchylka</b>	1968,9	17985,3	67909,8	59186,2
<b>variační koeficient</b>	11,8	22,8	111,8	22,4
<b>medián</b>	17175,0	78862,5	60740,5	257580,0

Legenda: CPM – celkový počet mikroorganismů



### Hypotéza č. 1

H0: Koncentrace účinné látky na fólii nemá vliv na CPM skladovaného celeru.

H1: Koncentrace účinné látky má vliv na CPM skladovaného celeru.

#### Testování normality:

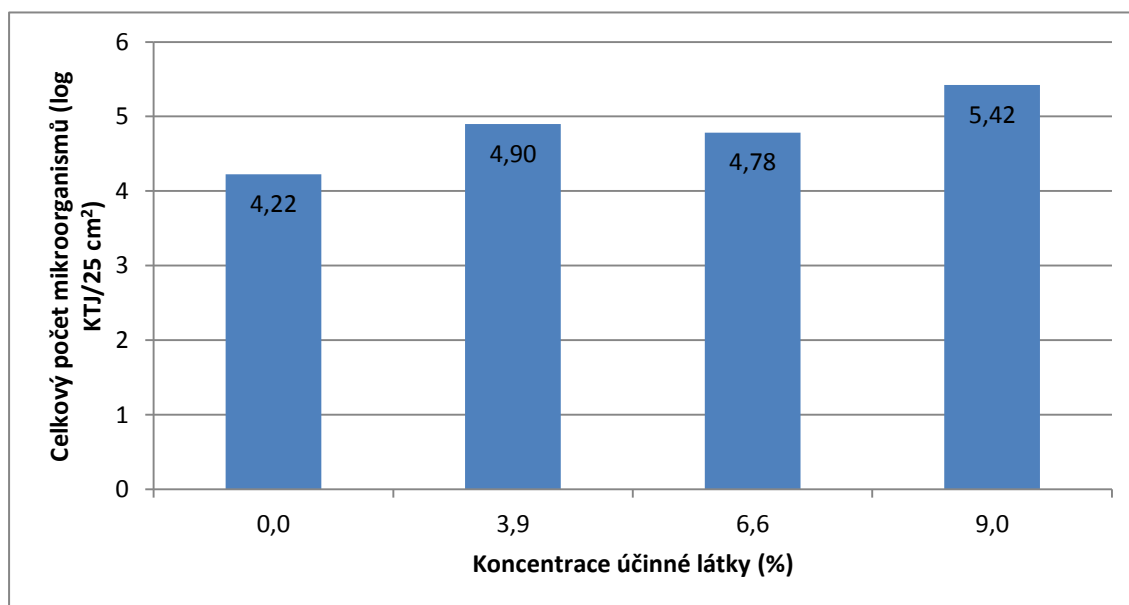
Shapiro-Wilkův test pro malé množství vzorků ( $p = 0,02649 \rightarrow p < 0,05 \rightarrow$  data nemají normální rozdělení, dále se využívá neparametrické statistiky).

#### Testování závislosti:

Kruskal-Wallisův test pro neparametrické statistiky mnohonásobné porovnání ( $p = 0,0401$ ).

#### Závěr:

P-hodnota je menší než 0,05. Nulovou hypotézu na hladině významnosti  $\alpha = 0,05$  musíme zamítnout. Statisticky významný rozdíl na hladině významnosti 0,05 je patrný pouze mezi fólií s koncentrací účinné látky 0 % (kontrolní fólie) a fólií s koncentrací účinné látky 9 %.



Obrázek 6: Porovnání celkového počtu mikroorganismů v log KTJ/25 cm<sup>2</sup> na povrchu neinokulovaného celeru po 96 hodinách

Obrázek 6 ukazuje, že fólie s nástřikem účinné látky působily na rozvoj mikroflóry skladovaného celeru spíše negativně. V případě fólie s 9,0% koncentrací účinné látky došlo k největšímu nárůstu celkového počtu mikroorganismů. Počet mikroorganismů u vzorků celeru skladovaného v obalu s aktivní fólií o koncentraci 0,0 %, 3,9 % a 6,6 % se statisticky významně nelišil.

Při porovnání celkového počtu mikroorganismů ze stěrů odebraných v den založení pokusu a výsledků získaných po 96 hodinách skladování za účinků aktivní fólie lze říci, že celkový počet mikroorganismů je po 96 hodinách relativně vysoký. Viditelný nárůst plísni nebyl zaznamenán. Vliv koncentrace účinné látky je nejednoznačný a statisticky neprůkazný. Aktivní fólie má v tomto případě na celkový rozvoj mikroorganismů vliv spíše negativní.

Tabulka 11 uvádí výsledky stěrů z povrchu celeru inokulovaného *Penicillium chrysogenum*. Inokulovaný celer byl skladován při chladničkové teplotě 4 – 6 °C. Stěry byly odebrané po 96 hodinách skladování. Tabulka je doplněná základními statistickými hodnotami jako je směrodatná odchylka, variační koeficient a medián.

Tabulka 11: Počet *Penicillium chrysogenum* v KTJ/25 cm<sup>2</sup> na povrchu inokulovaného celeru po 96 hodinách

koncentrace účinné látky	<i>Penicillium chrysogenum</i>			
	0,0 %	3,9 %	6,6 %	9,0 %
<b>průměr</b>	2530,0	1462,5	1002,5	1480,0
<b>směrodatná odchylka</b>	1849,9	598,1	278,1	1120,9
<b>variační koeficient</b>	73,1	40,9	27,7	75,7
<b>medián</b>	1720,0	1465,0	1100,0	1400,0

### Hypotéza č. 2

H0: Koncentrace účinné látky na fólii nemá vliv na celkový počet *Penicillium chrysogenum*.

H1: Koncentrace účinné látky má vliv na celkový počet *Penicillium chrysogenum*.

*Testování normality:*

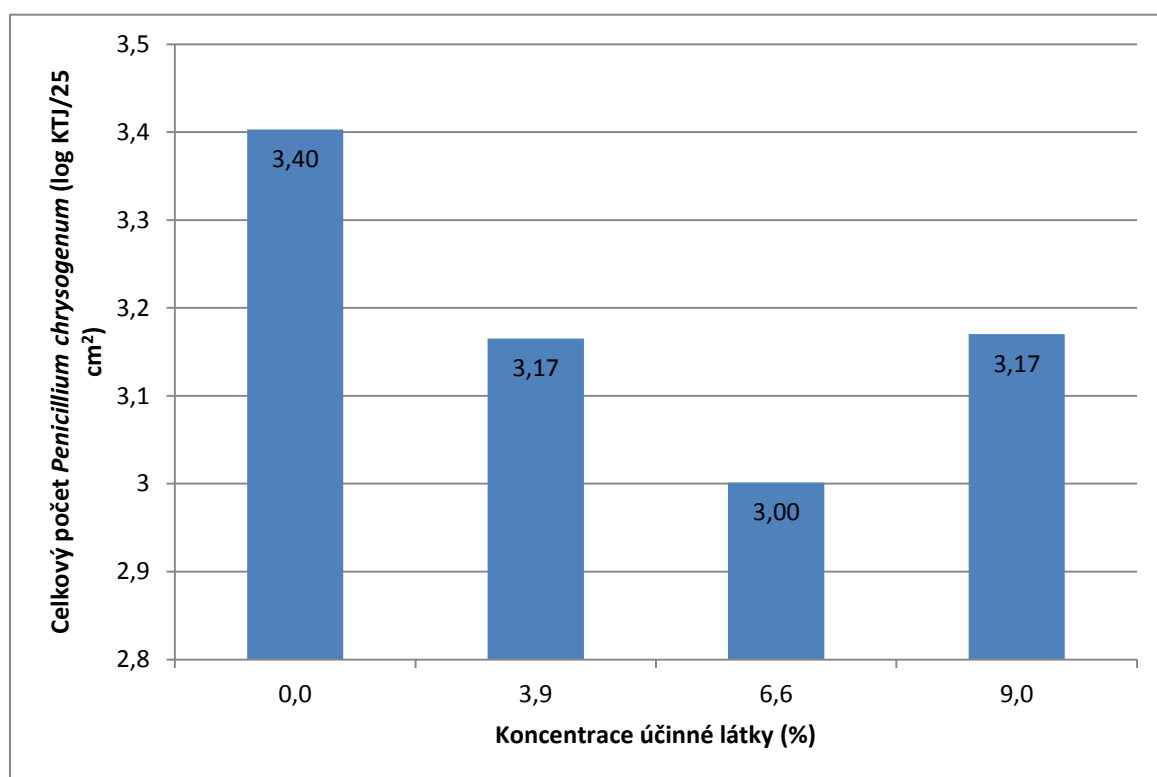
Shapiro-Wilkův test pro malé množství vzorků ( $p = 0,00162 \rightarrow p < 0,05 \rightarrow$  data nemají normální rozdělení, dále se využívá neparametrické statistiky).

*Testování závislosti:*

Kruskal-Wallisův test pro neparametrické statistiky mnohonásobné porovnání ( $p = 0,4102$ ).

*Závěr:*

P-hodnota je větší než 0,05. Nulovou hypotézu na hladině významnosti  $\alpha = 0,05$  nezamítáme. Druh koncentrace účinné látky nastříknuté na fólii nemá statisticky významný vliv na *Penicillium chrysogenum*.



Obrázek 7: Porovnání počtu *Penicillium chrysogenum* v log KTJ/25 cm<sup>2</sup> na povrchu inokulovaného celeru po 96 hodinách

Na obrázku 7 se jeví, že všechny fólie s nástřikem účinné látky v porovnání s kontrolní fólií vykazují antifungální efekt na inokulované *Penicillium chrysogenum*. Tento rozdíl je však statisticky neprůkazný. Jedná se o rozdíl v rámci jednoho řádu. Koncentrace účinné látky nanesená na fólii nemá statisticky významný vliv na výskyt *Penicillium chrysogenum* během skladování za daných podmínek. Nárůst plísní nebyl v průběhu testování na celeru viditelný, jednalo se tedy o neaktivní spory.

Testováním antifungální aktivity různých silic se zabývali také González et al. (2015). Zkoumali působení silice hřebíčku a hořčice proti plísni *Botrytis cinerea* na jahodách. Jahody byly stejně jako v našem pokusu naočkovány příslušnou plísní. Skladovány byly v hermeticky utěsněných průhledných plastových nádobách, které obsahovaly filtrační papír napuštěný směsí silic o koncentraci 2,7 %. Infikované jahody byly inkubovány v temnu po dobu 5 dnů při pokojové teplotě. Výsledkem testování byly průměry kolonií po 5 dnech inkubace. Z výsledků bylo patrné, že při snížení množství silic se zvýšily průměry kolonií plísni. Maximální růst kolonií byl pozorován u kontrolního vzorku bez působení silic. Kombinace silic hřebíčku a hořčice měla synergický antifungální efekt, což potvrdilo, že kombinované použití je účinnější než jednotlivé aplikace.

Franková et al. (2016) zkoumali antifungální účinek silic skořice, oregana, hřebíčku a voňatky citronové v kombinaci s proudem teplého vzduchu na jablkách. Jablka byla inokulována směsí vláknitých mikromycet. V případě druhů rodu *Penicillium* byl výskyt plísni na jablkách ošetřených silicí skořice (16 µl/l) a silicí hřebíčku (4 µl/l) významně nižší ve srovnání s neošetřenými jablky. Nejméně efektivní byla silice hřebíčku (16 µl/l) a oregana (4 µl/l). Rozdíly účinnosti mohou být způsobeny odlišnými sloučeninami silic. Některé z nich mohou ve vyšší koncentraci poškozovat buňky jablek a tím urychlit rozvoj plísni.

### 5.3 Mikrobiologická analýza vzorků získaných ze sýru

V tabulce 12 a 13 jsou uvedeny průměrné počty mikroorganismů, které byly získány stěry odebranými po 48, 168 a 216 hodinách z povrchu neinokulovaného sýru uchovávaného při chladničkové teplotě 4 – 6 °C. Tabulka je doplněná základními statistickými hodnotami, jako je směrodatná odchylka, variační koeficient a medián.

Tabulka 12: Počet mikroorganismů v  $KTJ/25\text{ cm}^2$  na povrchu neinokulovaného sýru po 48 hodinách

koncentrace účinné látky	CPM			
	0,0 %	3,9 %	6,6 %	9,0 %
<b>průměr</b>	12682,5	877,5	13350	15900
<b>směrodatná odchylka</b>	14388,6	212,7	10661,5	5760,8
<b>variační koeficient</b>	113,5	24,2	79,9	36,2
<b>medián</b>	12230,0	830,0	13250,0	17490,0

### Hypotéza č. 1

H0: Koncentrace účinné látky na fólii nemá vliv na CPM skladovaného sýru.

H1: Koncentrace účinné látky má vliv na CPM skladovaného sýru.

#### Testování normality:

Shapiro-Wilkův test pro malé množství vzorků ( $p = 0,00459 \rightarrow p < 0,05 \rightarrow$  data nemají normální rozdělení, dále se využívá neparametrické statistiky).

#### Testování závislosti:

Kruskall-Wallisův test pro neparametrické statistiky mnohonásobné porovnání ( $p = 0,2372$ ).

#### Závěr:

P-hodnota je větší než 0,05. Nulovou hypotézu na hladině významnosti  $\alpha = 0,05$  nezamítáme. Druh koncentrace účinné látky nastříknuté na fólii nemá statisticky významný vliv na celkový počet mikroorganismů.

Tabulka 13: Počet mikroorganismů v KTJ/25 cm<sup>2</sup> na povrchu neinokulovaného sýru po 168 a 216 hodinách

doba skladování	CPM							
	168 hodin				216 hodin			
	0,0 %	3,9 %	6,6 %	9,0 %	0,0 %	3,9 %	6,6 %	9,0 %
průměr	85	1222,5	9317,5	4045	6550	5600	4600	15200
směrodatná odchylka	45,1	1384,6	5010,4	2506,2	7241,4	4257,3	2222,3	12643,0
variační koeficient	53,1	113,3	53,8	61,9	110,6	76,0	48,3	83,2
medián	85,0	1070,0	8775,0	3490,0	5200,0	4480,0	4640,0	14400,0

Legenda: CPM – celkový počet mikroorganismů

### Hypotéza č. 2

H0: Koncentrace účinné látky na fólii nemá vliv na CPM při skladování 168 hodin.

H1: Koncentrace účinné látky má vliv na CPM při skladování 168 hodin.

*Testování normality:*

Shapiro-Wilkův test pro malé množství vzorků ( $p = 0,00336 \rightarrow p < 0,05 \rightarrow$  data nemají normální rozdělení, dále se využívá neparametrické statistiky).

*Testování závislosti:*

Kruskall-Wallisův test pro neparametrické statistiky mnohonásobné porovnání ( $p = 0,0133$ ).

*Závěr:*

P-hodnota je menší než 0,05. Nulovou hypotézu na hladině významnosti  $\alpha = 0,05$  musíme zamítnout. Statisticky významný rozdíl na hladině významnosti 0,05 je patrný pouze mezi fólií s koncentrací účinné látky 0 % (kontrolní fólie) a fólií s koncentrací účinné látky 6,6 %.

Na obrázku 8 je patrné, že fólie s nástřikem účinné látky při skladování 168 hodin působily na rozvoj mikroflóry skladovaného sýru spíše negativně. V případě fólie s 6,6% koncentrací účinné látky došlo k největšímu nárůstu celkového počtu mikroorganismů. Počet mikroorganismů u vzorků sýru skladovaného 168 hodin v obalu s aktivní fólií o koncentraci 0,0 %, 3,9 % a 9,0 % se statisticky významně nelišil.

Celkový počet mikroorganismů je v případě mléčných výrobků významně ovlivněn přítomnými bakteriemi mléčného kvašení. Z tohoto pohledu je výhodné, že nedochází k jejich odumírání. Plocková (2012) uvádí, že bakterie mléčného kvašení mají funkci technologickou, jelikož se podílí na zahájení procesu fermentace, který ovlivňuje výslednou chuť, vůni a konzistenci výrobků. Mezi další funkce bakterií mléčného kvašení patří funkce protektivní a probiotická. V mléčných výrobcích je tedy přítomnost těchto zdraví prospěšných bakterií žádaná.

### **Hypotéza č. 3**

H0: Koncentrace účinné látky na fólii nemá vliv na CPM při skladování 216 hodin.

H1: Koncentrace účinné látky má vliv na CPM při skladování 216 hodin.

*Testování normality:*

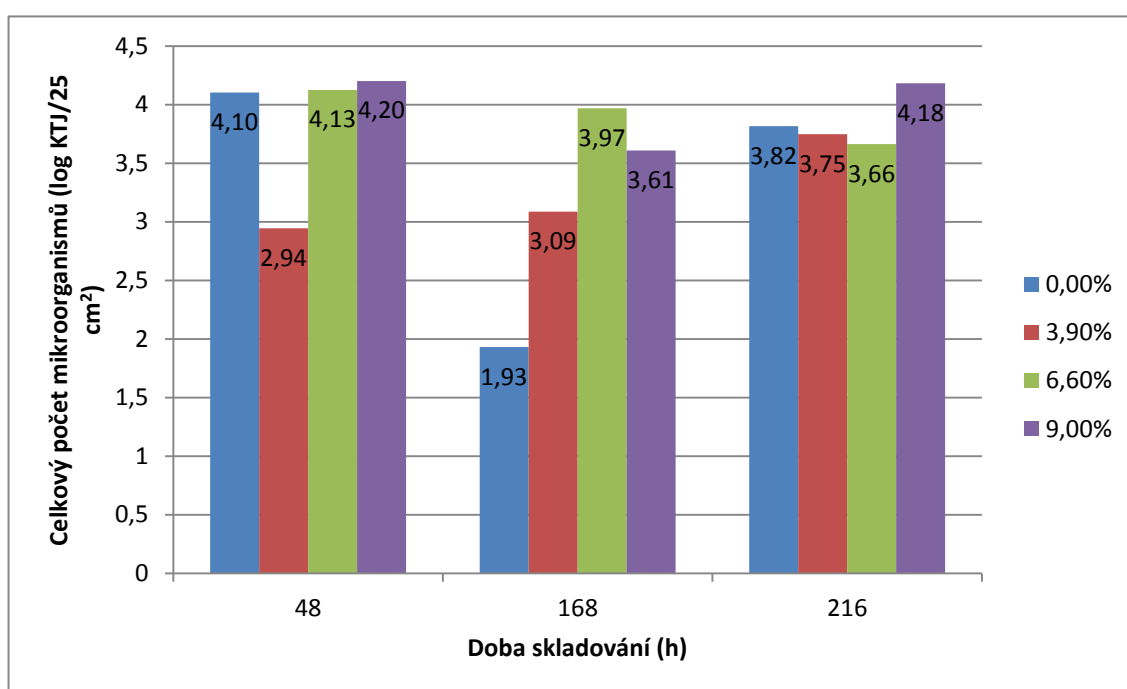
Shapiro-Wilkův test pro malé množství vzorků ( $p = 0,00363 \rightarrow p < 0,05 \rightarrow$  data nemají normální rozdělení, dále se využívá neparametrické statistiky).

*Testování závislosti:*

Kruskall-Wallisův test pro neparametrické statistiky mnohonásobné porovnání ( $p = 0,5759$ ).

*Závěr:*

P-hodnota je větší než 0,05. Nulovou hypotézu na hladině významnosti  $\alpha = 0,05$  nezamítáme. Druh koncentrace účinné látky nastříknuté na fólii nemá ani v případě skladování 216 hodin statisticky významný vliv na celkový počet mikroorganismů.



Legenda: koncentrace účinné látky (%)

Obrázek 8: Porovnání celkového počtu mikroorganismů v log KTJ/25 cm<sup>2</sup> na povrchu neinokulovaného sýru po 48, 168 a 216 hodinách

Obrázek 8 znázorňuje celkový počet mikroorganismů v log KTJ/25 cm<sup>2</sup>. Tento počet mikroorganismů byl získán kontrolními stěry z povrchu neinokulovaného sýru, skladovaného při chladničkové teplotě 4 – 6 °C. Stěry byly odebrané po 48, 168 a 216 hodinách. Počty mikroorganismů se až na výjimky v průběhu času příliš nemění. Vliv koncentrace účinné látky na inhibici mikroorganismů je statisticky neprůkazný. Obrázek 8 názorně dokládá výsledky získané statistickými hypotézami.

V tabulce 14 a 15 jsou uvedeny průměrné hodnoty *Penicillium chrysogenum*, které byly získány stěry odebranými po 48, 168 a 216 hodinách z povrchu inokulovaného sýru uchovávaného při chladničkové teplotě 4 – 6 °C. Tabulka je doplněná základními statistickými hodnotami, jako je směrodatná odchylka, variační koeficient a medián.

Tabulka 14: Počet *Penicillium chrysogenum* v KTJ/25 cm<sup>2</sup> na povrchu inokulovaného sýru po 48 hodinách skladování

koncentrace účinné látky	<i>Penicillium chrysogenum</i>			
	0,0 %	3,9 %	6,6 %	9,0 %
<b>průměr</b>	6240	5110	5920	7360
<b>směrodatná odchylka</b>	320,0	4160,0	1419,1	826,2
<b>variační koeficient</b>	5,1	81,4	23,9	11,2
<b>medián</b>	6400,0	4800,0	5760,0	7360,0

#### Hypotéza č. 4

H0: Koncentrace účinné látky na fólii nemá vliv na *Penicillium chrysogenum*.

H1: Koncentrace účinné látky má vliv na *Penicillium chrysogenum*.

*Testování normality:*

Shapiro-Wilkův test pro malé množství vzorků ( $p = 0,08006 \rightarrow p > 0,05 \rightarrow$  data mají normální rozdělení).

*Testování závislosti:*

ANOVA – analýza rozptylu ( $p = 0,574$ ).

*Závěr:*

P-hodnota je větší než 0,05. Nulovou hypotézu na hladině významnosti  $\alpha = 0,05$  nezamítáme. Výše uvedený test homogenity rozptylů neprokázal rozdíl rozptylů mezi jednotlivými skupinami. Předpoklad homogenity je splněn. Koncentrace účinné látky nastříknuté na fólii nemá statisticky významný vliv na počet *Penicillium chrysogenum*.



Tabulka 15: Počet *Penicillium chrysogenum* v KTJ/25 cm<sup>2</sup> na povrchu inokulovaného sýru po 168 a 216 hodinách

<i>Penicillium chrysogenum</i>								
doba skladování	168 hodin				216 hodin			
koncentrace účinné l.	0,0 %	3,9 %	6,6 %	9,0 %	0,0 %	3,9 %	6,6 %	9,0 %
průměr	610	175	910	6600	5537,5	370	732,5	6240
směrodatná odchylna	543,8	200,9	929,6	1715,1	4699,2	414,6	400,1	1093,0
variační koeficient	89,1	114,8	102,1	25,9	84,9	112,1	54,6	17,5
medián	595,0	100,0	670,0	7040,0	4570,0	275,0	655,0	6080,0

#### Hypotéza č. 5 a č. 6

H0: Koncentrace účinné látky na fólii nemá vliv na *Penicillium chrysogenum*.

H1: Koncentrace účinné látky má vliv na *Penicillium chrysogenum*.

#### Testování normality:

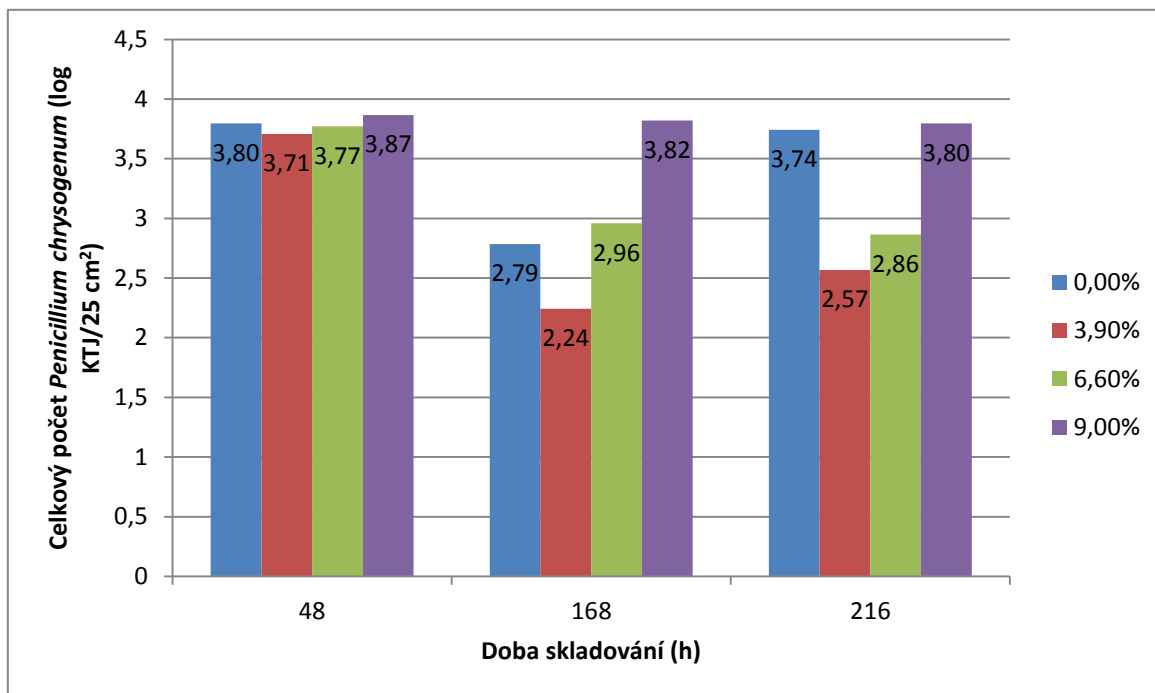
Shapiro-Wilkův test pro malé množství vzorků ( $p = 0,00027$  pro hypotézu č. 5 a  $p = 0,00682$  pro hypotézu č. 6  $\rightarrow p < 0,05 \rightarrow$  data nemají normální rozdělení, dále se využívá neparametrické statistiky).

#### Testování závislosti:

Kruskall-Wallisův test pro neparametrické statistiky mnohonásobné porovnání ( $p = 0,0113$  pro hypotézu č. 5 a  $p = 0,0086$  pro hypotézu č. 6).

#### Závěr:

P-hodnota je v obou hypotézách menší než 0,05. Nulovou hypotézu na hladině významnosti  $\alpha = 0,05$  musíme zamítnout. Statisticky významný rozdíl na hladině významnosti 0,05 je v obou případech patrný pouze mezi fólií s koncentrací účinné látky 3,3 % a fólií s koncentrací účinné látky 9,0 %.



Legenda: koncentrace účinné látky (%)

Obrázek 9: Porovnání počtu *Penicillium chrysogenum* v log KTJ/25 cm<sup>2</sup> na povrchu inokulovaného sýru po 48, 168 a 216 hodinách

Obrázek 9 znázorňuje počet *Penicillium chrysogenum* v log KTJ/25 cm<sup>2</sup>. Tento počet mikroorganismů byl získán stěry z povrchu inokulovaného sýru, skladovaného při chladničkové teplotě 4 – 6 °C. Stěry byly odebrány po 48, 168 a 216 hodinách. V průběhu experimentu nebyl zaznamenán viditelný nárůst plísní. Počty *Penicillium chrysogenum* se v průběhu času příliš nemění

Z obrázku je patrné, že fólie s nástřikem účinné látky při skladování 168 hodin působily na rozvoj plísňové mikroflóry skladovaného sýru v porovnání s kontrolním vzorkem (0% koncentrace účinné látky na fólii) alespoň částečně inhibičně. V případě skladování po dobu 216 hodin došlo u fólií s koncentrací 3,9 % a 6,6 % ke snížení počtu plísní. Tento počet se však statisticky významně nelišil.

V případě skladování sýru 168 i 216 hodin vykazují fólie s koncentrací účinné látky 3,9 % a 9,0 % statisticky významný rozdíl na hladině významnosti 0,05. Tento rozdíl v počtu plísní je však v obou případech negativní. Na obrázku 9 je názorně vidět, že v obou případech při použití fólie s vyšší koncentrací účinné látky (9,0 %) došlo ke zvýšení počtu plísní na skladovaném sýru.

Jak bylo již výše uvedeno, v průběhu experimentu nebyl na vzorcích sýru detekován viditelný nárůst plísní. Z toho lze usuzovat, že růst plísní byl ovlivněn i skladovací teplotou. V tomto případě se na sýru jedná o přítomnost životaschopných spor, které ale za daných podmínek nerostou a nepředstavují při chladírenském skladování problém.

Výsledkem měření je, že koncentrace účinné látky na fólii nemá na počty plísní prokazatelný vliv. Výše uvedený obrázek názorně dokládá výsledky získané statistickými hypotézami.

V tabulce 16 jsou uvedeny průměrné počty mikroorganismů, které byly získány stěry odebranými po 48 hodinách z povrchu neinokulovaného sýru uchovávaného při teplotě 23 °C. Tabulka je doplněná základními statistickými hodnotami, jako je směrodatná odchylka, variační koeficient a medián.

Tabulka 16: Počty mikroorganismů v KTJ/25 cm<sup>2</sup> na povrchu neinokulovaného sýru po 48 hodinách

koncentrace účinné látky	CPM			
	0,0 %	3,9 %	6,6 %	9,0 %
<b>průměr</b>	34312,5	5300	9002,5	49345
<b>směrodatná odchylka</b>	38812,9	894,1	3456,6	11791,3
<b>variační koeficient</b>	113,1	16,9	38,4	23,9
<b>medián</b>	26760,0	5440,0	9645,0	48130,0

Legenda: CPM – celkový počet mikroorganismů

### Hypotéza č. 7

H0: Koncentrace účinné látky na fólii nemá vliv na CPM.

H1: Koncentrace účinné látky má vliv na CPM.

*Testování normality:*

Shapiro-Wilkův test pro malé množství vzorků ( $p = 0,00264 \rightarrow p < 0,05 \rightarrow$  data nemají normální rozdělení, dále se využívá neparametrické statistiky).

*Testování závislosti:*

Kruskall-Wallisův test pro neparametrické statistiky mnohonásobné porovnání ( $p = 0,1339$ ).

*Závěr:*

P-hodnota je větší než 0,05. Nulovou hypotézu na hladině významnosti  $\alpha = 0,05$  nezamítáme. Druh koncentrace účinné látky nastříknuté na fólii nemá statisticky významný vliv na celkový počet mikroorganismů.

Stanovení počtu mikroorganismů ze stěrů vzorků sýrů skladovaných 168 a 216 hodin se neprovádělo. Vzorky byly přerostlé plísněmi. Způsobeno to bylo vysokou teplotou skladování.

V tabulce 17 jsou uvedeny průměrné počty *Penicillium chrysogenum*, které byly získány stěry odebranými po 48 hodinách z povrchu inokulovaného sýru uchovávaného při teplotě 23 °C. Tabulka je doplněná základními statistickými hodnotami, jako je směrodatná odchylka, variační koeficient a medián.

Tabulka 17: Počet *Penicillium chrysogenum* v KTJ/25 cm<sup>2</sup> na povrchu inokulovaného sýru po 48 hodinách

koncentrace účinné látky	<i>Penicillium chrysogenum</i>			
	0,0 %	3,9 %	6,6 %	9,0 %
<b>průměr</b>	150	65	177,5	1257,5
<b>směrodatná odchylka</b>	130,4	46,5	149,8	1166,3
<b>variační koeficient</b>	86,9	71,6	84,4	92,7
<b>medián</b>	155,0	65,0	150,0	1140,0

### **Hypotéza č. 8**

H0: Koncentrace účinné látky na fólii nemá vliv na *Penicillium chrysogenum*.

H1: Koncentrace účinné látky má vliv na *Penicillium chrysogenum*.

*Testování normality:*

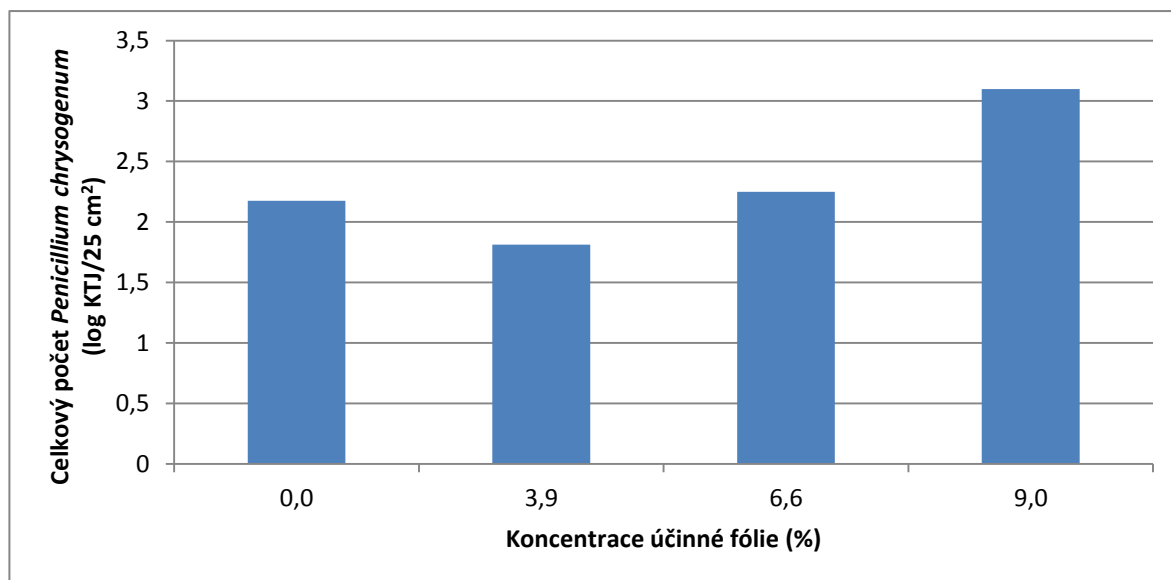
Shapiro-Wilkův test pro malé množství vzorků ( $p = 0,00001 \rightarrow p < 0,05 \rightarrow$  data nemají normální rozdělení, dále se využívá neparametrické statistiky).

*Testování závislosti:*

Kruskall-Wallisův test pro neparametrické statistiky mnohonásobné porovnání ( $p = 0,0854$ ).

*Závěr:*

P-hodnota je větší než 0,05. Nulovou hypotézu na hladině významnosti  $\alpha = 0,05$  nezamítáme. Druh koncentrace účinné látky nastříknuté na fólii nemá statisticky významný vliv na celkový počet mikroorganismů.



Obrázek 10: Porovnání počtu *Penicillium chrysogenum* v log KTJ/25 cm<sup>2</sup> na povrchu inokulovaného sýru po 48.

Obrázek 10 znázorňuje celkový počet *Penicillium chrysogenum* v log KTJ/25 cm<sup>2</sup>. Tento počet mikroorganismů byl získán kontrolními stěry z povrchu inokulovaného sýru, skladovaného při teplotě 23 °C. Stěry byly odebrané po 48 hodinách. Tento obrázek názorně dokládá výsledky získané statistickými hypotézami. Vliv koncentrace účinné látky na inhibici mikroorganismů je statisticky neprůkazný.

Rozbor vzorků skladovaných při 23 °C po 168 a 216 hodinách nebyl proveden. Vzorky byly sensoricky nepřijatelné. U takto skladovaných vzorků byl viditelný nárůst inokulovaného mikroorganismu. Zvolená teplota 23 °C nebyla pro skladování sýru ideální. Tato varianta skladovací teploty byla zvolena v souvislosti s testováním dalších parametrů fólií, které ale přímo nesouvisí s předkládanou prací.

Po vizuální stránce bylo na sýrech balených pod fólií s aktivní účinnou látkou patrné snížení počtu plísní s rostoucí koncentrací účinné látky nanesené na folii (viz obrázek 11).



Obrázek 11: Vizuální porovnání účinku aktivní fólie s rostlinným extraktem na sýr inokulovaný *Penicillium chrysogenum*, který byl skladovaný při teplotě 23 °C 168 hodin. Koncentrace účinné látky nanesené na folii stoupá v pořadí: vzorek v levém dolním rohu (0 %), vzorek v pravém dolním rohu (3,9 %), vzorek v levém horním rohu (6,6 %) a vzorek v pravém horním rohu (9,0 %)

## 6 ZÁVĚR

Cílem práce bylo testovat a zhodnotit antifungální aktivitu obalových materiálů s rostlinnými extrakty. Konkrétně se jednalo o směs silic o třech koncentracích (3,9 %, 6,6 % a 9,0 %). Na polymerní fólii byl nanesen lak obsahující aktivní látky, u kterých byl předpokládán antimikrobiální účinek. Vlivem vlhkosti uvolněné z balených potravin docházelo k postupnému uvolňování aktivních látek do prostředí obklopující skladovanou potraviny. Antifungální účinek byl testován na *Penicillium chrysogenum*. Jako modelové potraviny určené k zabalení byly k testování použity salám Junior, sýr eidamského typu 30 % tvs. a celer.

U tohoto typu obalu není potřeba přímého kontaktu mezi potravinou a aktivním obalovým materiálem. Těkavé antimikrobiální látky jsou vhodné, protože při jejich použití nedochází k velkému sensorickému znehodnocení skladovaných potravin, jako v případech, kdy je aktivní látka v přímém kontaktu se skladovanou potravinou.

Z graficky znázorněných výsledků měření je patrná jistá tendence ke snižování počtu mikroorganismů respektive inokulovaného *Penicillium chrysogenum*. K opticky výraznějšímu snížení (v grafickém znázornění výsledků) růstu inokulovaného *Penicillium chrysogenum* dochází například u vzorku celeru skladovaného 96 hodin při použití fólie s 6,6% koncentrací účinné látky.

Rozbor vzorků sýrů skladovaných při 23 °C po 168 a 216 hodinách nebyl proveden. Vzorky byly sensoricky nepřijatelné, neboť u takto skladovaných vzorků byl patrný nárůst inokulovaného mikroorganismu, jenž však viditelně klesal s rostoucí koncentrací účinné látky nanesené na fólii. Výrazný pokles byl patrný zejména u vzorku skladovaného pod fólií s 9,0% koncentrací účinné látky. Antifungální aktivita zvoleného obalového materiálu s rostlinnými extrakty byla v tomto případě opticky potvrzena.

Výsledky měření jsou však statisticky neprůkazné. Pro jednoznačné určení zda obalový materiál s rostlinnými extrakty působí antifungálně je potřeba experiment opakovat. Možným řešením je také k testování využít pouze určité složky silic jako například cinnamaldehyd. Van Long et al. (2016) uvádí, že *Penicillium expansum* a *Aspergillus niger*, inokulovaní na Petriho miskách, byli kompletně inhibováni po 10 dnech skladování v přítomnosti filmu obsahujícím 3 % této látky.

Srovnání výsledků měření s jinými studii je poměrně komplikované. Účinnost jednotlivých extraktů se liší v závislosti na použité koncentraci, původu koření, období sklizně, způsobu získávání extraktů nebo zvolené metodě testování. Obecně lze říci, že v podmínkách *in vitro* dochází k lepšímu antimikrobiálnímu působení silic než v podmínkách *in vivo*.

V současné době probíhá celá řada výzkumů, které se zaměřují na antimikrobiální aktivitu rostlinných extraktů a to zejména ve spojitosti s prodloužením trvanlivosti potravin. Tyto výzkumy jsou částečně reakcí na rostoucí poptávku spotřebitelů po bezpečných produktech bez chemických konzervačních látek. Využití přírodních antimikrobiálních látek v potravinových systémech omezují zejména nežádoucí vedlejší účinky negativně působící na chuť a aroma látek. Je proto nutné provádět další výzkumy ke stanovení optimální koncentrace účinných látek, které lze bezpečně používat v potravinářském průmyslu bez přílišného vlivu na sensorické vlastnosti potravin.

Alternativní možností je využívat synergických účinků rostlinných extraktů. V tomto případě rostlinné extrakty působí antimikrobiálně již při nižších koncentracích a nedochází tak k velké změně sensorických vlastností skladovaných potravin. Další možností je využívat antimikrobiální účinek rostlinných extraktů v kombinaci s tradičními technikami konzervace potravin jako je chlazení, balení do ochranné atmosféry nebo vakuové balení.



## 7 PŘEHLED POUŽITÉ LITERATURY

ALDRED D., FULLER C. V. a MAGAN N., 2008: *Environmental factors affect efficacy of some essential oils and resveratrol to control growth and ochratoxin A production by Penicillium verrucosum and Aspergillus westerdijkiae on wheat grain*. Journal of Stored Products Research. 44(4). s. 341-346. Databáze online [cit. 2016-03-17]. DOI: 10.1016/j.jspr.2008.03.004. Dostupné z: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0022474X08000350>

AMALARADJOU M. a VENKITANARAYANAN K., 2008: *Detection of Penicillium, Aspergillus and Alternaria Species in Fruits and Vegetables*. Mycotoxins in Fruits and Vegetables. Chapter 10. s. 225. Databáze online [cit. 2016-03-12]. DOI: 10.1016/B978-0-12-374126-4.00010-3. Dostupné z: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/B9780123741264000103>

APPENDINI P. a HOTCHKISS H. J., 2002: *Review of antimicrobial food packaging*. Innovative Food Science & Emerging Technologies. 3(2). s. 113-126. Databáze online [cit. 2016-03-14]. DOI: 10.1016/S1466-8564(02)00012-7. Dostupné z: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1466856402000127>

BACÍLKOVÁ B. a PAULUSOVÁ H., 2012: *Vliv silic a jejich hlavních účinných látek na mikroorganismy a na archivní materiál*. Národní archiv Praha. 28 s. Databáze online [cit. 2016-03-14]. Dostupné z: <http://www.nacr.cz/Z-files/silice/silice.pdf>

BAKKALI F., AVERBECK S., AVERBECK D. a IDAOMAR M., 2007: *Biological effects of essential oils – A review*. Food and Chemical Toxicology. 46(2). s. 446-475. Databáze online [cit. 2016-03-17]. DOI: 10.1016/j.fct.2007.09.106. Dostupné z: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0278691507004541>

BHATTACHARYA S., 2015: *Cultivation of Essential Oils*. Essential Oils in Food Preservation, Flavor and Safety. Chapter 3. s. 19-29. Databáze online [cit. 2016-03-05]. DOI: 10.1016/B978-0-12-416641-7.00003-1. ISBN 9780124166417. Dostupné z: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/B9780124166417000031>

BUŇKOVÁ L. a DOLEŽALOVÁ M., 2010: *Obecná mikrobiologie*. Vyd. 2., nezměn. Zlín: Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně. 190 s. ISBN 978-80-7318-973-0

BURT S., 2004: *Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods—a review*. International Journal of Food Microbiology. 94(3). s. 223-253. Databáze online [cit. 2016-03-19]. DOI: 10.1016/j.ijfoodmicro.2004.03.022. Dostupné z: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0168160504001680>

CEMPÍRKOVÁ R., HEJLOVÁ Š a LUKÁŠOVÁ J., 1997: *Mikrobiologie potravin*. 1. vyd. České Budějovice: Jihočeská univerzita. 165 s. ISBN 80-7040-254-7

CUI H., MA C. a LIN L., 2016: *Synergetic antibacterial efficacy of cold nitrogen plasma and clove oil against Escherichia coli O157: H7 biofilms on lettuce*. Food Control. 66. s. 8-16. Databáze online [cit. 2016-03-28]. DOI: 10.1016/j.foodcont.2016.01.035. Dostupné z: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0956713516300366>

ČÍŽKOVÁ A., ADAM M., PAVLÍKOVÁ P. a VENTURA K., 2011: *Analýza složek silic v bylinných nápojích s využitím metody mikroextrakce jednou kapkou*. Chemické listy 105, s. 13-15. Databáze online [cit. 2016-03-05]. Dostupné z: [http://www.chemicke-listy.cz/docs/full/2011\\_s1\\_s13-s15.pdf](http://www.chemicke-listy.cz/docs/full/2011_s1_s13-s15.pdf)

ČURDA D., 1982: *Balení potravin*. 1.vyd. Praha: SNTL, 428 s

DOBIÁŠ J., 2012: *Obaly a obalová technika*. In KADLEC P. (ed.). *Přehled tradičních potravinářských výrob: technologie potravin*. 1. vyd. Ostrava: Key Publishing, 569 s. ISBN 978-80-7418-145-0

DOBIÁŠ J. a ČURDA D., 2004: *Balení potravin – provizorní učební text*. Praha: Vysoká škola chemicko-technologická. Databáze online [cit. 2016-03-8]. Dostupné z: <http://ukp.vscht.cz/files/uzel/0007696/Balen%C3%AD+potravin.pdf>

FASSATIOVÁ O., 1979: *Plísňe a vláknité houby v technické mikrobiologii: (příručka k určování)*. 1. vyd. Praha: SNTL, 211 s.

FRANKOVÁ A., SMID J., BERNARDOS A., et al., 2016: *The antifungal activity of essential oils in combination with warm air flow against postharvest phytopathogenic fungi in apples*, Food Control. 68. s. 62-68. Databáze online [cit. 2016-04-12]. DOI: 10.1016/j.foodcont.2016.03.024 Dostupné z: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0956713516301293>

GALOTTO M.J., DE DICASTILLO L.C., TORRES A. a GUARDA A., 2016: *Thymol: Use in Antimicrobial Packaging*. Antimicrobial Food Packaging. Chapter 45. s. 553-562. Databáze online [cit. 2016-03-15]. DOI: 10.1016/B978-0-12-800723-5.00045-0. Dostupné z: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/B9780128007235000450>

GARCÍA IBARRA V., SENDÓN R. a RODRÍGUEZ-BERNALDO DE QUIRÓS A., 2016: *Antimicrobial Food Packaging Based on Biodegradable Materials*. Antimicrobial Food Packaging. Chapter 29. s. 363-384. Databáze online [cit. 2016-03-06]. DOI: 10.1016/B978-0-12-800723-5.00029-2. ISBN 9780128007235. Dostupné z: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/B9780128007235000292>

GIATRAKOU V., NTZIMANI A. a SAVVAIDIS V., 2009: *Effect of chitosan and thyme oil on a ready to cook chicken product*. Food Microbiology. 27(1). s. 132 – 136. Databáze online [cit. 2016-04-20]. DOI: 10.1016/j.fm.2009.09.005. Dostupné z: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0740002009002032>

GONZÁLEZ A. E. A., PALOU E. a LÓPEZ-MALO A., 2015: *Antifungal activity of essential oils of clove (*Syzygium aromaticum*) and/or mustard (*Brassica nigra*) in vapor phase against gray mold (*Botrytis cinerea*) in strawberries*. Innovative Food Science & Emerging Technologies. 32. s. 181-185. Databáze online [cit. 2016-03-28]. DOI: 10.1016/j.ifset.2015.09.003. Dostupné z: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1466856415001654>

GOÑI P., LÓPEZ P., SÁNCHEZ C., GÓMEZ-LUS R., BECERRIL R. a NERÍN C., 2009: *Antimicrobial activity in the vapour phase of a combination of cinnamon and clove essential oils*. Food Chemistry. 116(4). s. 982-989. Databáze online [cit. 2016-03-19]. DOI: 10.1016/j.foodchem.2009.03.058. Dostupné z: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0308814609003689>

GÖRNER F. a VALÍK L., 2004: *Aplikovaná mikrobiológia potravín: princípy mikrobiológie potravín, potravinársky významné mikroorganizmy a ich skupiny, mikrobiológia potravinárskych výrob, ochorenia mikrobiálneho pôvodu, ktorých zárodoky sú prenášané požívateľmi*. Vyd. 1. Bratislava: Malé Centrum, 528 s. ISBN 80-967064-9-7

GYAWALI R. a IBRAHIM S., 2014: *Natural products as antimicrobial agents*. Food Control. 46. s. 412-429. Databáze online [cit. 2016-03-20]. DOI: 10.1016/j.foodcont.2014.05.047. Dostupné z: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S095671351400320X>

HAIŠLOVÁ J., 2008: *Mykotoxiny a jejich konjugáty v potravinářských surovinách a krmivech: trendy, rizika dietární expozice, možnosti prognózy osudu při zpracování*. Vědecký výbor fytoosanitární a životního prostředí. Databáze online [cit. 2016-03-10]. Dostupné z: <http://www.phytoosanitary.org/projekty/2008/Projekt1.pdf>

HAY K. R. a WATERMAN G. P., 1993: *Volatile oil crops: their biology, biochemistry, and production*. New York, NY: J. Wiley, 200 s. ISBN 0582078679.

HEREDIA N., WESLEY I. a GARCÍA S., 2009: *Microbiologically safe foods*. Hoboken, N.J.: John Wiley & Sons. 667 s. ISBN 978-0-470-05333-1

HLAVA B. a VALÍČEK P., 1997: *88 rad bylinkářům*. 1. vyd. Praha: Aventinum. 191 s. ISBN 80-7151-017-3

HOSSAIN F., FOLLETT P., DANG VU K., SALMIERI S., SENOUSI CH., LACROIX M., 2014: *Radiosensitization of Aspergillus niger and Penicillium chrysogenum using basil essential oil and ionizing radiation for food decontamination*. Food Control. 45. s. 156 – 162. Databáze online [cit. 2016-03-14]. DOI: 10.1016/j.foodcont.2014.04.022. Dostupné z: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0956713514002199>

HOUBRAKEN J., C. FRISVAD J. a SAMSON' R., 2011: *Fleming's penicillin producing strain is not Penicillium chrysogenum but P. rubens*. IMA Fungus. s. 87-95. Databáze online [cit. 2016-03-13]. DOI: 10.5598/imafungus.2011.02.01.12. Dostupné z: <http://www.ingentaconnect.com/content/ima/imafung/2011/00000002/00000001/art00022>

HRUBÝ S., 1984: *Mikrobiologie v hygieně výživy*. 1. vyd. Praha: Avicenum. 206 s.

HUFF K., 2012: *Active and intelligent packaging: Innovations for the future*. Virginia polytechnic institute and State university. Databáze online [cit. 2016-03-8]. Dostupné z: <http://www.iopp.org/files/public/VirginiaTechKarleighHuff.pdf>

CHRYSARGYRIS A., PANAYIOTOU CH. a TZORTZAKIS N., 2016: *Nitrogen and phosphorus levels affected plant growth, essential oil composition and antioxidant status of lavender plant (Lavandula angustifolia Mill.)*. Industrial Crops and Products. 83. s. 577-586. Databáze online [cit. 2016-03-28]. DOI: 10.1016/j.indcrop.2015.12.067. Dostupné z: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0926669015306567>

CHUMCHALOVÁ J., TVRZOVÁ L., NĚMEC M., PÁČOVÁ Z., SAVICKÁ D., KUBÁTOVÁ A., PATÁKOVÁ P., 2006: *Miniatlas mikroorganismů*. 1.vyd. Masarykova univerzita, Brno. Databáze online [cit. 2016-03-12]. Dostupné z: <http://is.muni.cz/do/rect/el/estud/prif/ps06/mikroorg/web/index.html>

JACKSON L. a AL-TAHER F., 2008: *Factors Affecting Mycotoxin Production in Fruits*. Mycotoxins in Fruits and Vegetables. Chapter 4. s. 75. Databáze online [cit. 2016-03-12]. DOI: 10.1016/B978-0-12-374126-4.00004-8. Dostupné z: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/B9780123741264000048>

JANČA J. a ZENTRICH A. J., 1994: *Herbář léčivých rostlin*. 1. vyd. Praha: Eminent. ISBN 80-85876-02-7

JAROŠ Z., 1992: *Léčivé látky z rostlin*. 1. vyd. České Budějovice: Dona, 79 s.

KAČEŇÁK I., 2007: *Základy balenia tovaru*. vyd. 1. Bratislava: Ekonóm, 381 s. ISBN 978-80-225-2429-2

KALHOTKA L., 2014: *Mikromycety v prostředí člověka: vláknité mikromycety (plísňe) a kvasinky*. 1.vyd. Brno: Mendelova univerzita, 77 s. ISBN 978-80-7375-943-8

KHALIL A., ELKATRY H. a EL MEHAIRY H., 2015: *Protective effect of peppermint and parsley leaves oils against hepatotoxicity on experimental rats*. Annals of Agricultural Sciences. 60(2). s. 353-359. Databáze online [cit. 2016-03-28]. DOI: 10.1016/j.aos.2015.11.004. Dostupné z: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0570178315000469>

KNEZEVIC P., ALEKSIC V., SIMIN N., SVIRCEV E., PETROVIC A. a MIMICA-DUKIC N., 2015: *Antimicrobial activity of Eucalyptus camaldulensis essential oils and their interactions with conventional antimicrobial agents against multi-drug resistant Acinetobacter baumannii*. Journal of Ethnopharmacology. 178. s. 125-136. Databáze online [cit. 2016-03-28]. DOI: 10.1016/j.jep.2015.12.008. Dostupné z: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0378874115302609>

KRISCH J., TSERENNADMID R. a VÁGVOLGYI C., 2011: *Essential oils against yeasts and moulds causing food spoilage*. Science against microbial pathogens: communicating current research and technological advances. s. 1135-1142. Databáze online [cit. 2016-03-19]. Dostupné z: <http://www.formatex.info/microbiology3/book/1135-1142.pdf>

KUBÁSKOVÁ L., 2012: *Od věku sloužím člověku: obaly potravin v historickém kontextu = I have served men for as long as one can remember : food packages in historical context*. Vyd. 1. Praha: Národní zemědělské muzeum. 255 s. ISBN 978-80-86874-43-2

KUNG'U J., 2014: *Penicillium*. Mold & Bacteria consulting laboratories. Databáze online [cit. 2016-03-13]. Dostupné z: <http://www.moldbacteria.com/mold/penicillium.html>

KUULIALA L., PIPPURI T., HULTMAN J., et al., 2015: *Preparation and antimicrobial characterization of silver-containing packaging materials for meat*. Food Packaging and Shelf Life. 6. s. 53-60. Databáze online [cit. 2016-03-14]. DOI: 10.1016/j.fpsl.2015.09.004. ISSN 22142894. Dostupné z: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2214289415300156>

KVASNIČKOVÁ A., 2002: *Aplikace aktivního balení*. Databáze online [cit. 2016-03-8]. Dostupné z: <http://www.agronavigator.cz/default.asp?ids=176&ch=13&typ=1&val=10385>

KVASNIČKOVÁ A., 2009: *Nově se objevující toxiny plísně Fusarium*. Databáze online [cit. 2016-03-08]. Dostupné z: <http://www.bezpecnostpotravin.cz/nove-se-objevujici-toxiny-plisne-fusarium.aspx>

LAWRENCET M. B., 2001: *Essential oils: From Agriculture to chemistry*. International Journal of Aromatherapy. 10(3-4). s. 82-98. Databáze online [cit. 2016-03-05]. DOI: 10.1016/S0962-4562(01)80002-3. Dostupné z: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0962456201800023>

LEE T., PULIGUNDLA P. a MOK CH., 2014: *Inactivation of foodborne pathogens on the surfaces of different packaging materials using low-pressure air plasma*. Food Control. 51. s. 149-155. Databáze online [cit. 2016-03-14]. DOI: 10.1016/j.foodcont.2014.11.021. Dostupné z: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0956713514006550>

LEIBETSEDER J., 2009: *Decontamination and detoxification of mycotoxins*. Biology of Nutrition in Growing Animals. Chapter 15. 4. s. 439. Databáze online [cit. 2016-03-12]. DOI: 10.1016/S1877-1823(09)70102-X. Dostupné z: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S187718230970102X>

LUÍS A., DUARTE A., GOMINHO J., DOMINGUES F. a DUARTE A., 2015: *Chemical composition, antioxidant, antibacterial and anti-quorum sensing activities of Eucalyptus globulus and Eucalyptus radiata essential oils*. Industrial Crops and Products. 79. s. 274-282. Databáze online [cit. 2016-03-29]. DOI: 10.1016/j.indcrop.2015.10.055. Dostupné z: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0926669015304982>

MACHÁŇ J., 1990: *Nauka o materiálu pro 1. a 2. ročník SPŠG, studijní obor obalová technika*. Učebnice pros střední školy. 1. vyd. Praha: SPN. 299 s. ISBN 80-04-23455-0

MALÍŘ F. a OSTRÝ V., 2003: *Vláknité mikromycety (plísňe), mykotoxiny a zdraví člověka*. 1. vyd. Brno: Národní centrum ošetřovatelství a nelékařských zdravotnických oborů v Brně, 349 s. ISBN 80-701-3395-3

MARIOD A. A., 2015: *Effect of Essential Oils on Organoleptic (Smell, Taste, and Texture) Properties of Food*. Essential Oils in Food Preservation, Flavor and Safety. Chapter 13. s. 131-137. Databáze online [cit. 2016-03-05]. DOI: 10.1016/B978-0-12-416641-7.00013-4. ISBN 9780124166417. Dostupné z: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/B9780124166417000134>

MAGAN N. a OLSEN M., 2004: *Mycotoxins in food: detection and control*. 1.vyd. Cambridge: Woodhead Publishing, 471 s. ISBN 1-85573-733-7

MATA A.T., J.P. FERREIRA, B.R. OLIVEIRA, M.C. BATORÉU, M.T. BARRETO CRESPO, V.J. PEREIRA a M.R. BRONZE., 2014: *Bottled water: Analysis of mycotoxins by LC–MS/MS*. Food Chemistry. 176. s. 455 – 464. Databáze online [cit. 2016-03-14]. DOI: 10.1016/j.foodchem.2014.12.088. Dostupné z: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0308814614020019>

MIRANDA J.M., MONDRAGÓN A.C., LAMAS A., ROCA-SAAVEDRA P., IBARRA I.S., RODRIGUEZ J.A., CEPEDA A. a FRANCO C.M., 2016: *Effect of Packaging Systems on the Inactivation of Microbiological Agents*. Antimicrobial Food Packaging. Elsevier, s. 107-116. Databáze online [cit. 2016-03-14]. DOI: 10.1016/B978-0-12-800723-5.00008-5. Dostupné z: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/B9780128007235000085>

Nariadení Evropského parlamentu a Rady (ES) č. 1935/2004 ze dne 27. října 2004 o materiálech a předmětech určených pro styk s potravinami

NG T. B., FANG F. E., EL-DIN A., BEKHIT A. a WONG H. J., 2015: *Methods for the Characterization, Authentication, and Adulteration of Essential Oils*. Essential Oils in Food Preservation, Flavor and Safety. Chapter 2. s. 11-17. Databáze online [cit. 2016-03-05]. DOI: 10.1016/B978-0-12-416641-7.00002-X. Dostupné z: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/B978012416641700002X>

NEDOROSTOVÁ L., KLOUCEK P., KOKOSKA L., STOLCOVÁ M. a PULKRABEK J., 2008: *Antimicrobial properties of selected essential oils in vapour phase against foodborne bacteria*. Food Control. 20(2). s. 157-160. Databáze online [cit. 2016-03-19]. DOI: 10.1016/j.foodcont.2008.03.007. Dostupné z: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0956713508000960>

NEHASILOVÁ D., 2011: *Možnosti redukce kontaminace potravin a krmiv mykotoxiny*. Agronavigátor. Databáze online [cit. 2016-03-09]. Dostupné z: <http://www.agronavigator.cz/default.asp?ids=158&ch=13&typ=1&val=115638>



- NERIN C., SILVA F., MANSO S. a BECERRIL R., 2016: *The Downside of Antimicrobial Packaging: Migration of Packaging Elements into Food*. Antimicrobial Food Packaging. Chapter 6, s. 81-93. Databáze online [cit. 2016-03-15]. DOI: 10.1016/B978-0-12-800723-5.00006-1. Dostupné z: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/B9780128007235000061>
- OBRUČA S., 2008: *Inteligentní a aktivní obaly*. Databáze online [cit. 2016-03-8]. Dostupné z: <http://www.agris.cz/clanek/159249>
- OPLETAL L. a ŠIMERDA B., 2005: *Antiinvazní látky přírodního původu jako aditiva do krmiv*. Výzkumný ústav živočišné výroby. Praha, Uhřetěves. 65 s. Databáze online [cit. 2016-03-17]. Dostupné z: <http://www.vuzv.cz/sites/File/vybor/Opletal%20Antiinvazni%20latky.pdf>
- ORAL N., VATANSEVER L., SEZER C., AYDIN B., GUVEN A. a GULMEZ M., 2009: *Effect of absorbent pads containing oregano essential oil on the shelf life extension of overwrap packed chicken drumsticks stored at four degrees Celsius*. Poultry Science. 88(7). Databáze online [cit. 2016-04-22]. DOI: 10.3382/ps.2008-00375. Dostupné z: <https://www.scopus.com/record/display.uri?eid=2-s2.0-70149083452&origin=inward&txGid=0>
- OSTRÝ V., 1998: *Vláknité mikroskopické houby (plísňe), mykotoxiny a zdraví člověka*. 1.vyd. Praha: Státní zdravotní ústav, 20 s. ISBN 80-7071-102-7
- OTONI G.C., ESPITIA J.P.P., AVENA-BUSTILLOS J.R. a MCHUGH H.T., 2016: *Trends in antimicrobial food packaging systems: Emitting sachets and absorbent pads*. Food Research International. 83. s. 60-73. Databáze online [cit. 2016-03-19]. DOI: 10.1016/j.foodres.2016.02.018. Dostupné z: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0963996916300631>
- PAŘÍKOVÁ J. a KUČEROVÁ I., 2001: *Jak likvidovat plísňe: Příčina vzniku, dezinfekční přípravky, postupy při odstraňování*. 1.vyd. Praha: Grada Publishing, 92 s. ISBN 80-247-9029-7

PENGELLY A., 2004: *The constituents of medicinal plants: an introduction to the chemistry and therapeutics of herbal medicine*. 2nd ed. Crows Nest, N.S.W: Allen & Unwin. 172 s. ISBN 1741140528. Databáze online [cit. 2016-03-05]. Dostupné z: [http://www.pdfarchive.info/pdf/P/Pe/Pengelly\\_Andrew\\_-\\_The\\_constituents\\_of\\_medicinal\\_plants.pdf](http://www.pdfarchive.info/pdf/P/Pe/Pengelly_Andrew_-_The_constituents_of_medicinal_plants.pdf)

PERDONES A., ESCRICHE I., CHIRALT A a VARGAS M., 2015: *Effect of chitosan–lemon essential oil coatings on volatile profile of strawberries during storage*. Food Chemistry. 197. s. 979-986. Databáze online [cit. 2016-03-28]. DOI: 10.1016/j.foodchem.2015.11.054. Dostupné z: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0308814615301990>

PERDONES A., CHIRALT A. a VARGAS M., 2016: *Properties of film-forming dispersions and films based on chitosan containing basil or thyme essential oil*. Food Hydrocolloids. 57. s. 271-279. Databáze online [cit. 2016-03-27]. DOI: 10.1016/j.foodhyd.2016.02.006. Dostupné z: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0268005X16300364>

PESAVENTO G., CALONICO C., BILIA A. R., et al., 2015: *Antibacterial activity of Oregano, Rosmarinus and Thymus essential oils against Staphylococcus aureus and Listeria monocytogenes in beef meatballs*. Food Control. 54. s. 188-199. Databáze online [cit. 2016-03-17]. DOI: 10.1016/j.foodcont.2015.01.045. Dostupné z: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S095671351500078X>

PLOCKOVÁ M., 2012: *Zákysové kultury a způsoby jejich aplikace*. In KADLEC P. (ed.). *Přehled tradičních potravinářských výrob: technologie potravin*. 1. vyd. Ostrava: Key Publishing, 569 s. ISBN 978-80-7418-145-0

RÍOS J. L., 2016: *Essential Oils: What They Are and How the Terms Are Used and Defined*. Essential Oils in Food Preservation, Flavor and Safety. Chapter 1. s. 3-10. Databáze online [cit. 2016-03-05]. DOI: 10.1016/B978-0-12-416641-7.00001-8. Dostupné z: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/B9780124166417000018>

RUBCOV G. V a BENEŠ K., 1984: *Zelená lékárna*. 1. vyd. Praha: Lidové nakladatelství, 1984, 308 s.

SEO H. S., BEUCHAT R. L., KIM H. a RYU J., 2015: *Development of an experimental apparatus and protocol for determining antimicrobial activities of gaseous plant essential oils*. International Journal of Food Microbiology. 215. s. 95-100. Databáze online [cit. 2016-03-06]. DOI: 10.1016/j.ijfoodmicro.2015.08.021. Dostupné z: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0168160515301082>

SCHNEIDEROVÁ P., 2008: *Bezpečnost krmiv a zdraví zvířat - mykotoxiny*. Databáze online [cit. 2016-03-07]. Dostupné z: <http://www.agronavigator.cz/UserFiles/File/Agronavigator/Schneiderova/Mykotoxiny%20End.pdf>

SIRACUSA V., 2016: *Packaging Material in the Food Industry*. Antimicrobial Food Packaging. Chapter 7. s. 95 - 106. Databáze online [cit. 2016-03-06]. DOI: 10.1016/B978-0-12-800723-5.00007-3. ISBN 9780128007235. Dostupné z: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/B9780128007235000073>

SMEJTKOVÁ A. a DOBIÁŠ J., 2004: *Obaly a obalová technika*. Vyd. 1. V Praze: Česká zemědělská univerzita. 119 s. ISBN 80-213-1315-3

STRATAKOS CH. A. a KOIDIS A., 2015: *Methods for Extracting Essential Oils*. Essential Oils in Food Preservation, Flavor and Safety. Chapter 4. s. 31. Databáze online [cit. 2016-03-05]. DOI: 10.1016/B978-0-12-416641-7.00004-3. Dostupné z: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/B9780124166417000043>

SULTANBAWA Y., 2015: *Essential Oils in Food Applications: Australian Aspects*. Essential Oils in Food Preservation, Flavor and Safety. Chapter 16. s. 155-160. Databáze online [cit. 2016-03-05]. DOI: 10.1016/B978-0-12-416641-7.00016-X. Dostupné z: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/B978012416641700016X>

SUPPAKUL P., 2016: *Cinnamaldehyde and Eugenol: Use in Antimicrobial Packaging*. Antimicrobial Food Packaging. Chapter 39, s. 479-490. Databáze online [cit. 2016-03-15]. DOI: 10.1016/B978-0-12-800723-5.00039-5. Dostupné z: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/B9780128007235000395>

SVOBODA P. K., SVOBODA G. T. a SYRED D. A., 2000: *Secretary structures of aromatic and medicinal plants: a review and atlas of micrographs*. Knighton: Microscopix, 62 s. ISBN 0-9538461-0-5. Databáze online [cit. 2016-03-19]. Dostupné z:

[http://www.bahcesel.net/forumsel/downloads/secretory\\_structures\\_of\\_aromatic\\_\\_\\_med\\_plants-0953846105.pdf](http://www.bahcesel.net/forumsel/downloads/secretory_structures_of_aromatic___med_plants-0953846105.pdf)

ŠILHÁNKOVÁ L., 2002: *Mikrobiologie pro potravináře a biotechnology*. 3. oprav. a dopl. vyd. Praha: ACADEMIA, 363 s. ISBN 80-200-1024-6

ŠIMŮNEK J., 2004: *Plísně a mykotoxiny*. Databáze online [cit. 2016-03-10]. Dostupné z: [http://www.med.muni.cz/dokumenty/pdf/plisne\\_a\\_mykotoxiny.pdf](http://www.med.muni.cz/dokumenty/pdf/plisne_a_mykotoxiny.pdf)

ŠTENCL J., 2013: *Balení potravin*. Databáze online [cit. 2016-03-8]. Dostupné z: [http://cit.vfu.cz/ivbp/wp-content/uploads/2011/07/13-BP\\_e-opora2.pdf](http://cit.vfu.cz/ivbp/wp-content/uploads/2011/07/13-BP_e-opora2.pdf)

ŠTĚPEK J., 1981: *Polymery v obalové technice*. 1. vyd. Praha: SNTL, 530 s.

TRINETTA V., 2015: *Definition and Function of Food Packaging*. Reference Module in Food Science. Databáze online [cit. 2016-03-15]. DOI: 10.1016/B978-0-08-100596-5.03319-9. Dostupné z:

<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/B9780081005965033199>

TOMKO J., 1999: *Farmakognózia: učebnica pre farmaceutické fakulty*. 2., opr. vyd. Martin: Osveta, 422 s. ISBN 80-8063-014-3

TURNER W.N., SUBRAHMANYAM S., PILETSKY A.S., 2008: *Analytical methods for determination of mycotoxins: A review*. Analytica Chimica Acta. 632 (2). s. 168 – 180. Databáze online [cit. 2016-03-14]. DOI: 10.1016/j.aca.2008.11.010. Dostupné z: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0003267008019193>

VALÍČEK P., 2006: *Technické a siličnaté rostliny*. 1. vyd. v Brně: Mendelova zemědělská a lesnická univerzita. 95 s. ISBN 80-7157-936-X.

VAN LONG N. N., JOLY C. a DANTIGNY P., 2016: *Active packaging with antifungal activities*. International Journal of Food Microbiology. 220. s. 73-90. Databáze online [cit. 2016-03-18]. DOI: 10.1016/j.ijfoodmicro.2016.01.001. Dostupné z: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0168160516300022>

VELÍŠEK J., 1999: *Chemie potravin 3*. 1.vyd. Tábor: OSSIS, 1999, 342 s. ISBN 80-902391-5-3

VELÍŠEK J. a HAJŠLOVÁ J., 2009: *Chemie potravin 2*. 3. vyd. Tábor: OSSIS. 623 s. ISBN 978-80-86659-17-6.

VONÁŠEK F., NOVOTNÝ L. a TREPKOVÁ E., 1987: *Látky vonné a chuťové*. 1. vyd. Praha: Státní nakladatelství technické literatury. 437 s.

VONDRÁŠKOVÁ Š., 2011: *Mykotoxiny*. Informační centrum bezpečnosti potravin. Databáze online [cit. 2016-03-8]. Dostupné z: <http://www.bezpecnostpotravin.cz/mykotoxiny.aspx>

VLKOVÁ E., RADA V. a KILLER J., 2009. *Potravinářská mikrobiologie*. 2. vyd. V Praze: Česká zemědělská univerzita. 168 s. ISBN 978-80-213-1988-2

ZEMAN L., 2006: *Výživa a krmení hospodářských zvířat*. 1. vyd. Praha: Profi Press, 360 s. ISBN 80-86726-17-7

## 8 SEZNAM OBRÁZKŮ

Obrázek 1: <i>Penicillium chrysogenum</i> (Chumchalová et al., 2006) .....	14
Obrázek 2: <i>Lepení fólie s nástřikem účinné látky na polystyrénovou misku obsahující vzorek sýra</i> .....	37
Obrázek 3: <i>Označené Petriho misky připravené k naočkování a zalití živnou půdou</i> ....	40
Obrázek 4: <i>Porovnání celkového počtu mikroorganismů v log KTJ/25 cm<sup>2</sup> na povrchu neinokulovaného salámu Junior po 24, 72 a 144 hodinách skladování</i> .....	43
Obrázek 5: <i>Porovnání počtu Penicillium chrysogenum v log KTJ/25 cm<sup>2</sup> na povrchu inokulovaného salámu Junior po 24, 72 a 144 hodinách skladování</i> .....	46
Obrázek 6: <i>Porovnání celkového počtu mikroorganismů v log KTJ/25 cm<sup>2</sup> na povrchu neinokulovaného celeru po 96 hodinách</i> .....	49
Obrázek 7: <i>Porovnání počtu Penicillium chrysogenum v log KTJ/25 cm<sup>2</sup> na povrchu inokulovaného celeru po 96 hodinách</i> .....	51
Obrázek 8: <i>Porovnání celkového počtu mikroorganismů v log KTJ/25 cm<sup>2</sup> na povrchu neinokulovaného sýru po 48, 168 a 216 hodinách</i> .....	55
Obrázek 9: <i>Porovnání počtu Penicillium chrysogenum v log KTJ/25 cm<sup>2</sup> na povrchu inokulovaného sýru po 48, 168 a 216 hodinách</i> .....	58
Obrázek 10: <i>Porovnání počtu Penicillium chrysogenum v log KTJ/25 cm<sup>2</sup> na povrchu inokulovaného sýru po 48</i> . .....	61
Obrázek 11: <i>Vizuální porovnání účinku aktivní fólie s rostlinným extraktem na sýr inokulovaný Penicillium chrysogenum, který byl skladovaný při teplotě 23 °C 168 hodin</i> . .....	62

## 9 SEZNAM TABULEK

Tabulka 1: <i>Shrnutí základních podmínek života plísní (Paříková et Kučerová, 2001)</i> ..	12
Tabulka 2: <i>Potraviny které mohou být nejčastěji kontaminované mykotoxiny (Vlková et al., 2009)</i> .....	16
Tabulka 3: <i>Obecné charakteristiky pro produkci mykotoxinů v potravinách (Malíř et Ostrý, 2003)</i> .....	16
Tabulka 4: <i>Dělení mykotoxinů podle síly toxicity (Šimůnek, 2004)</i> .....	17
Tabulka 5: <i>Počet mikroorganismů v KTJ/25 cm<sup>2</sup> na povrchu neinokulovaného salámu Junior po 24 hodinách skladování</i> .....	41
Tabulka 6: <i>Počet mikroorganismů v KTJ/25 cm<sup>2</sup> na povrchu neinokulovaného salámu Junior po 72 a 144 hodinách skladování</i> .....	42
Tabulka 7: <i>Počet Penicillium chrysogenum v KTJ/25 cm<sup>2</sup> na povrchu inokulovaného salámu Junior po 24 hodinách skladování</i> .....	44
Tabulka 8: <i>Počet Penicillium chrysogenum v KTJ/25 cm<sup>2</sup> na povrchu inokulovaného salámu Junior po 72 a 144 hodinách skladování</i> .....	45
Tabulka 9: <i>Počet mikroorganismů v KTJ/25 cm<sup>2</sup> na povrchu neinokulovaného celeru ze dne založení pokusu</i> .....	48
Tabulka 10: <i>Počet mikroorganismů v KTJ/25 cm<sup>2</sup> na povrchu neinokulovaného celeru po 96 hodinách</i> .....	48
Tabulka 11: <i>Počet Penicillium chrysogenum v KTJ/25 cm<sup>2</sup> na povrchu inokulovaného celeru po 96 hodinách</i> .....	50
Tabulka 12: <i>Počet mikroorganismů v KTJ/25 cm<sup>2</sup> na povrchu neinokulovaného sýru po 48 hodinách</i> .....	52
Tabulka 13: <i>Počet mikroorganismů v KTJ/25 cm<sup>2</sup> na povrchu neinokulovaného sýru po 168 a 216 hodinách</i> .....	53
Tabulka 14: <i>Počet Penicillium chrysogenum v KTJ/25 cm<sup>2</sup> na povrchu inokulovaného sýru po 48 hodinách skladování</i> .....	56
Tabulka 15: <i>Počet Penicillium chrysogenum v KTJ/25 cm<sup>2</sup> na povrchu inokulovaného sýru po 168 a 216 hodinách</i> .....	57
Tabulka 16: <i>Počty mikroorganismů v KTJ/25 cm<sup>2</sup> na povrchu neinokulovaného sýru po 48 hodinách</i> .....	59

Tabulka 17: Počet <i>Penicillium chrysogenum</i> v KTJ/25 cm <sup>2</sup> na povrchu inokulovaného sýru po 48 hodinách.....	60
---	----



## 10 SEZNAM ZKRATEK

$a_w$	Aktivita vody
RH	Vlhkost vzduchu
°C	Stupeň Celsia
pH	Vodíkový exponent
AIDS	Syndrom získané poruchy imunity
%	Procento
FAO	Organizace pro výživu a zemědělství
$E_h$	Redox potenciál
NaCl	Chlorid sodný
LD <sub>50</sub>	Střední smrtná dávka
t. hm	Tělesná hmotnost
UV	Ultrafialové záření
ES	Evropské společenství
PET	Polyethylentereftalát
PP	Polypropylen
PS	Polystyren
$K_{ob}$	Koeficientem ochranné účinnosti
$D_b$	Údržnost balené potraviny
$D_n$	Údržnost nebalené potravin
USA	Spojené státy americké
PCA	Plate count agar
CPM	Celkový počet mikroorganismů
CGA	Choramphenicol Glucose Agar
KTJ	Kolonii tvořící jednotka