

Česká zemědělská univerzita v Praze

Fakulta agrobiologie, potravinových a přírodních zdrojů

Katedra kvality zemědělských produktů



Možnost prodloužení úchovy čerstvého kachního masa pomocí silic enkapsulovaných do křemičitých nanočástic

Diplomová práce

Autor práce: Bc. Barbora Lídlová

Obor studia: Výživa a potraviny

Vedoucí práce: doc. Ing. Pavel Klouček, Ph.D.

© 2017 ČZU v Praze

Čestné prohlášení

Prohlašuji, že svou diplomovou práci "Možnost prodloužení úchovy čerstvého kachního masa pomocí silic enkapsulovaných do křemičitých nanočástic" jsem vypracovala samostatně pod vedením vedoucího diplomové práce a s použitím odborné literatury a dalších informačních zdrojů, které jsou citovány v práci a uvedeny v seznamu literatury na konci práce. Jako autorka uvedené diplomové práce dále prohlašuji, že jsem v souvislosti s jejím vytvořením neporušila autorská práva třetích osob.

V Praze dne 13. 4. 2017

Poděkování

Ráda bych touto cestou poděkovala svému vedoucímu práce doc. Ing. Pavlovi Kloučkovi za cenné rady, trpělivost a čas, který mi věnoval. Dále mé velké poděkování patří kolegyni Tereze Rychetské za spolupráci při přípravě oreganové emulze, která v mé práci sloužila jako kontrola. V neposlední řadě bych ráda poděkovala své rodině a blízkým za podporu, kterou mi věnovali po celou dobu studia.

Možnost prodloužení úchovy čerstvého kachního masa pomocí silic enkapsulovaných do křemičitých nanočástic

Souhrn

Cílem této diplomové práce je představit silice jako účinné antimikrobiální látky vhodné pro konzervaci masa. Vzhledem k vysoké spotřebě masa, hraje kvalita a bezpečnost masa důležitou roli v ochraně lidského zdraví. A jelikož je maso potravinou, která díky vysokému obsahu živin snadno podléhá mikrobiálnímu kažení, je nutné ji konzervovat.

V současné době stále více obyvatel preferuje moderní konzervační metody. Ty se oproti tradičním způsobům konzervace liší především v šetrnosti k dané potravíně. Jedním z těchto moderních způsobů konzervace může být právě využití antimikrobiálních vlastností silic.

V experimentální části diplomové práce byl zkoumán účinek oreganové silice enkapsulované do křemičitých nanočástic na úchovu čerstvého kachního masa. Koncentrace silice:křemičité nanočástice byla 1:1. Vzorky kachního masa (5 g) byly zaočkovány bakterií *Salmonella enteritidis* (ATCC 13076) a *Escherichia coli* (ATCC 25922) a poté obaleny v křemičitých nanočásticích enkapsulovaných oreganovou silicí. Takto ošetřené maso bylo skladováno při 4 °C. Vzorky kachního masa byly vyhodnocovány vždy 1., 7. a 14. den skladování, kdy byl hodnocen jejich inhibiční efekt proti patogenním bakteriím. Experiment byl proveden ve 3 opakováních. Vzorky kachního masa byly vyhodnocovány také pomocí senzoričké analýzy, která měla určit vliv oreganové silice na senzoričké vlastnosti masa.

Výsledky experimentu potvrdily antimikrobiální účinnost oreganové silice enkapsulované do křemičitých nanočástic proti patogenním bakteriím. U obou námi zkoumaných bakterií došlo díky přidavku oreganové silice enkapsulované do křemičitých nanočástic k celkové inhibici růstu patogenních bakterií. V porovnání s kontrolami došlo k celkovému poklesu počtu bakterií téměř o 8 log KTJ.g⁻¹. V případě senzoričké analýzy nebyly zaznamenány tak příznivé výsledky. Ve vzorku ošetřeném silicí enkapsulovanou do křemičitých nanočástic převládala hořká a štiplavá chuť a daná koncentrace silice byla hodnotiteli přijímána hůře než vzorky kontrolní. Vzhledem k velice příznivým výsledkům mikrobiologické analýzy je předpoklad, že koncentrace oreganové silice by se mohla do budoucna ještě snížit.

Klíčová slova: silice, enkapsulace, bezpečnost potravin, maso, skladovatelnost, MCM-41, křemičité nanočástice

The application of essential oils encapsulated into silica nanoparticles for shelf-life improvement of fresh duck meat

Summary

The aim of this thesis is to introduce essential oils as active antimicrobial agents that are suitable for food preservation, focusing on shelf-life of meat. Due to the high consumption of meat, the quality and the safety plays important role in protection of human health. And because meat is a food, which spoils easily due to its high contain of nutrients, and important to preserve it. In this time there is preference of using modern preservation methods and as very promising method can be considered preservation by essential oils.

In the experimental part of this thesis is examined the effect of oregano essential oil encapsulated in silica nanoparticles on shelf-life of fresh duck meat. Pieces of the duck meat (5 g) were inoculated with *Salmonella enteritidis* (ATCC 13076) and *Escherichia coli* (ATCC 25922) then were coated with the oregano essential oil encapsulated in silica nanoparticles. For the purpose of the experiment oregano essential oil was used in 1:1 w/w (oil:silica nanoparticles) concentration. Treated samples of the meat were stored at 4 °C, the samples were evaluated on 1st, 7th and 14th day of storage, together with three controls. Than has been evaluated inhibitory effect of oregano essential oil encapsulated in silica nanoparticles against pathogenic bacteria. Samples were also evaluated using sensory analysis, which should determine the possible influence of oregano essential oil on the organoleptic characteristics of duck meat.

The results confirmed the antimicrobial activity of oregano essential oil encapsulated in the silica nanoparticles against pathogenic bacteria. *Salmonella enteritidis* and *Escherichia coli* were due to the addition of oregano essential oil encapsulated in the silica nanoparticles completely inhibited. Compared to controls, an overall decrease of the number of bacteria was almost 8 CFU.g⁻¹. As for the case of sensory, the reported results were not as positive. In the samples of meat treated with oregano essential oil encapsulated in the silica nanoparticles prevailed bitter and pungent taste and given concentration of the oregano essential oil was not well accepted by evaluators.

Keywords: essential oils, encapsulation, food safety, meat, shelf-life, MCM-41, silica nanoparticles

Obsah

1	Úvod	3
2	Vědecká hypotéza a cíl práce	4
2.1	Vědecká hypotéza	4
2.2	Cíl práce	4
3	Literární řešerše.....	5
3.1	Maso	5
3.1.1	Kachní maso	5
3.2	Mikrobiální změny masa	7
3.2.1	Alimentární onemocnění způsobené masem	8
3.2.2	Bakterie způsobující alimentární onemocnění.....	8
3.2.2.1	<i>Salmonella</i> sp.	9
3.2.2.2	<i>Escherichia coli</i>	10
3.2.2.3	<i>Campylobacter</i> sp.....	11
3.2.2.4	<i>Listeria</i> sp.	11
3.2.3	Faktory ovlivňující kontaminaci mikroorganismy	12
3.2.4	Konzervace masa	13
3.3	Silice.....	16
3.3.1	Vlastnosti silic.....	16
3.3.2	Výskyt silic	16
3.3.3	Metody získávání silic	17
3.3.4	Složení silic.....	17
3.3.4.1	Terpenové uhlovodíky.....	17
3.3.4.2	Terpenové alkoholy.....	19
3.3.4.3	Terpenové aldehydy	20
3.3.5	Oreganová silice	20
3.3.6	Antimikrobiální účinek silic	22
3.3.7	Aplikace silic na maso a masné výrobky.....	22
3.4	Enkapsulace křemičitých nanočástic.....	23
4	Materiál a metody	25
4.1	Křemičité nanočástice	25
4.2	Kmeny bakterií.....	25

4.3	Silice	26
4.4	Kachní maso	27
4.5	Příprava vzorků	27
4.5.1	Enkapsulace silic do křemičitých nanočástic.....	27
4.5.2	Příprava bakteriálního inokula.....	27
4.5.3	Příprava a ošetření kachního masa.....	27
4.6	Mikrobiologická analýza	28
4.7	Senzorická analýza	30
4.8	Statistické vyhodnocení	31
5	Výsledky	32
5.1	Vyhodnocení mikrobiologické analýzy	32
5.1.1	Bakterie <i>Salmonella enteritidis</i>	32
5.1.2	Bakterie <i>Escherichia coli</i>	33
5.1.3	Celkové počty mikroorganismů.....	34
5.2	Vyhodnocení senzorické analýzy	37
6	Diskuze	39
7	Závěr	42
8	Seznam literatury	43
9	Seznam zkratk	55
10	Přílohy	56
11	Seznam tabulek	60
12	Seznam obrázků	61
13	Seznam grafů	62

1 Úvod

Maso je oblíbená a díky obsahu bílkovin, vitaminů a minerálních látek zároveň i hodnotná součást lidské stravy. Se zvyšující se životní úrovní lidí však rostou i nároky na kvalitu a bezpečnost masa. Kažení masa je negativní proces, který má dopad na sensorické vlastnosti a stejně tak může ovlivnit zdraví konzumenta. Stejně jako v ostatních oborech, tak i v oblasti zpracování masa dochází k neustálému vývoji a objevování nových možností. V dnešní době se mezi lidmi zároveň rozvíjí tendence vyhýbat se chemickým konzervantům v potravinách a místo nich využívat alternativy, mezi které patří i využití přírodních antimikrobiálních látek. Silnou antimikrobiální aktivitu vykazují silice, které jsou díky svým baktericidním, virucidním, fungicidním a insekticidním účinkům známé již od středověku. Možnost prodloužení úchovy masa díky silicím už prokázalo mnoho studií. Pomocí enkapsulace silic do nanočástic by se však mohlo dosáhnout delšího působení antimikrobiálních látek.

2 Vědecká hypotéza a cíl práce

2.1 Vědecká hypotéza

Použitím silic enkapsulovaných do křemičitých nanočástic lze dosáhnout prodloužení doby úchovy a zvýšení bezpečnosti kachního masa.

2.2 Cíl práce

Cílem této práce je zhodnocení vlivu přídatku oreganové silice enkapsulované do křemičitých nanočástic na dobu trvanlivosti kachního masa a výskyt patogenních mikroorganismů.

3 Literární rešerše

3.1 Maso

Lidé jsou k všežravé stravě předurčeni díky tvaru zubů a stavbou trávicího ústrojí. Spolehlivý zdroj masa zajistila domestikace a rozvoj živočišné výroby. Původně jako zdroj masa sloužilo asi 20 druhů zvířat, z nichž polovina je dodnes významným zdrojem masa a dalších surovin. Patří mezi ně skot, ovce, kozy, prasata, buvoli, velbloudi, lamy, jeleni, králíci, dále drůbež, krůty, husy, kachny, ryby a různí bezobratlí (Kyle, 1994).

Maso se definuje jako všechny části zvířat, které jsou vhodné k lidské spotřebě (Vyhláška č. 69/2016 Sb.). Dle některých autorů patří mezi maso i krev, kůže, kosti, tuky a droby (Velíšek, 2014), jiní za maso považují pouze čistou kosterní svalovinu (Warriss, 2000).

Z nutričního hlediska obsahuje maso velké množství plnohodnotných bílkovin (Kerth, 2013), tyto bílkoviny mají vysokou biologickou hodnotu (Warriss, 2000). Jsou potřebné k růstu, obnově buněk a tkání, tvorbě hormonů, enzymů a dalších biologicky důležitých látek (Velíšek, 2014). Maso je pro člověka také důležitým zdrojem vitamínů B1, B2, B6, B12 a vitamínu A (Warriss, 2000). Vitamíny skupiny B jsou vitamíny rozpustné ve vodě, proto jich libové maso obsahuje více, než vitamínů rozpustných v tucích (Kerry et al., 2002). Maso je hlavním zdrojem železa, mědi, zinku a selenu (Warriss, 2000), důležitost těchto látek spočívá v tom, že jsou součástí biologicky aktivních látek v organismu (Kerry et al., 2002). Kvalitu masa, jeho barvu, obsah vody a měkkost ovlivňují zejména postmortální změny, které v něm probíhají. Ovlivňuje ji i věk zvířete, pohlaví, či výživa zvířete (Kerth, 2013).

3.1.1 Kachní maso

Kachní maso je velmi oblíbené v různých částech světa, obzvláště pak v Asii (Ali et al., 2007), kde produkce kachního masa tvoří 82,6 % celosvětové produkce (Adzitey et Adzitey, 2011). Mezi plemena chovaná na maso patří kachna pekingská, kachna pižmová, či kachna indický běžec (Zhou et al., 2010). Členění děleného jatečně opracovaného těla drůbeže na druhy a skupiny a jejich charakteristika je popsáno v tabulce č. 2 (Vyhláška 69/2016 Sb.).

Kachní maso obsahuje na rozdíl od ostatního drůbežního masa větší podíl červených svalových vláken (Smith et al., 1993). Jeho častá konzumace ale není příliš doporučována, protože se jedná o maso velice tučné, obsahuje 10 – 45 % tuku. Pokud ovšem do celkového zastoupení tuků zahrnujeme i kůži, obsahuje kachní maso až 45 % tuku, z toho je 27 % SFA, 54 % MUFA a 12 % PUFA (Bender et al., 1992). V obsahu mastných kyselin pak existuje

rozdíl mezi kachnou pekingskou a kachnou pižmovou. Kachna pižmová obsahuje více PUFA, zatímco kachna pekingská obsahuje více MUFA (Aronal et al., 2012). V tabulce č. 1 je zobrazen také průměrný obsah thiaminu a niacinu v kachním mase. Zatímco niacinu je v kachním mase průměrně 10 mg.100 g⁻¹, thiaminu obsahuje kachní maso 0,30 mg.100 g⁻¹ (Bender, 1992).

Tabulka č. 1: Obsah živin [%] a vitamínů [mg.100 g⁻¹] v kachním mase (Bender, 1992).

Obsah živin [%]				
Voda	Bílkoviny	Tuky	Thiamin	Niacin
55 %	13,5 %	10 - 45 %	0,30 mg . 100 g ⁻¹	10 mg. 100 g ⁻¹

Tabulka č. 2: Členění děleného jatečně opracovaného těla drůbeže na druhy a skupiny a jejich charakteristika (Vyhláška č. 69/2016 Sb.).

Skupina	Charakteristika
půlka	Půlka vzniká půlícím podélným řezem jatečně upraveného těla. Řez je veden středem hrudní kosti a středem páteře.
přední čtvrtka, zadní čtvrtka	Přední a zadní čtvrtka vzniká příčným řezem půlky.
neoddělené zadní čtvrtky	Obě zadní čtvrtky vcelku.
stehno	Pánevní končetina zahrnující kosti stehenní, holenní a lýtkové včetně svaloviny v přirozené souvislosti. Řezy provedeny v kloubu.
horní stehno	Stehenní kost včetně svaloviny v přirozené souvislosti. Řezy provedeny v kloubu.
spodní stehno	Celá, horní nebo dolní stehna vykostěná.
stehenní řízek	Celá, horní nebo dolní stehna vykostěná.
křídlo	Kosti pažní, vřetení, loketní, zápěstní, záprstní a články prstů, včetně ulpívající svaloviny. U křídel je přípustné pažní kost včetně svaloviny v přirozené souvislosti uvádět do oběhu odděleně.
neoddělená křídla	Obě křídla v jednom kuse, spojená částí hřbetu, která může dosáhnout podíl nejvýše 45 % hmotnosti tohoto dílu.
hřbet	Obrátle ocasní, bederní a hrudní s částí žeber a kostmi pánve včetně svaloviny v přirozené souvislosti.
prsa	Prsní kost a žebra po obou stranách, nebo jejich část, včetně svaloviny v přirozené souvislosti. Řezy provedeny v kloubech.
prsní řízek	Celá nebo půlená vykostěná prsní část. Prsní řízek krůty může být jen z vnitřního prsního svalu.
filety z prsou	Klíční kost s chrupavkou prsní kosti včetně svaloviny v přirozené souvislosti, přičemž klíční kost a chrupavka mohou dosáhnout nejvýše 3 % z celkové hmotnosti tohoto dílu.

3.2 Mikrobiální změny masa

Maso je díky svému složení velmi náchylné k mikrobiální zkáze (Warriss, 2000). Je to právě glukóza, spolu s mléčnou kyselinou, aminokyselinami, nukleotidy, močovinou a ve vodě rozpustnými bílkovinami, které jsou významným zdrojem energie, díky němuž mohou mikroorganismy růst. Tyto látky mohou být navíc katabolizovány převážnou částí bakterií tvořících mikroflóru masa. Kontaminace masa mikroorganismy pak závisí především na fyziologickém stavu zvířete v době porážky, teplotě, možném rozšíření kontaminace během zpracování a dalších podmínkách (Gill, 1983; Nychas et al., 2008). Mezi bezpečným masem či masným výrobkem a výrobkem, který může být kontaminovaný nebo zkažený je velmi úzká hranice (Golian, 2016). Díky metabolickým produktům, které vznikají při kažení masa, je pro spotřebitele snazší odhalit zkažené maso. Takové maso ztrácí barvu, zapáchá (Gill, 1983), nebo může být pokryto slizem, který je způsoben přítomností mikroorganismů rodu *Brochothrix* (Baláš, 2016). Jedním z projevů kažení masa je i oxidace lipidů (Medina-Meza et al., 2014; Shah et al., 2014). Oxidace lipidů je jeden z důležitých faktorů, který ovlivňuje kvalitu masa a masných výrobků. Jedná se o složitý proces, který je ovlivněn chemickým složením masa, přístupem světla a kyslíku, či teplotou při skladování (Sammet et al., 2006; Velišek, 2014). Oxidací lipidů vznikají různé sloučeniny, které negativně ovlivňují kvalitu masa. Dochází ke změnám sensorickým – mění se barva, textura a chuť, a snižuje se také nutriční kvalita (Karre et al., 2013; Min et Ahn, 2005). Příčinou těchto změn jsou sekundární metabolity vznikající při oxidaci (Min et Ahn, 2005; Resconi et al., 2013). Těmto metabolitům jsou často přisuzovány velmi toxické účinky. Mohou mít vliv na vznik aterosklerózy, či karcinogenní a mutagenní vlastnosti (Dave et Ghaly, 2011; Duthie et al., 2013; Sammet et al., 2006), a mezi tyto metabolity patří například pentanal, hexanal, malondialdehyd a různé další sloučeniny kyslíku – aldehydy, kyseliny a ketony (Fernández et al., 1997). Oxidací lipidů v mase se dá zabránit využitím modifikované atmosféry, či přidávkem antioxidantů (Sammet et al., 2006). Použití přírodních antioxidantů u masa během zpracování a skladování je velice výhodné. Má totiž jak antioxidační, tak antimikrobiální a konzervační účinky (Falowo et al., 2014). Přírodní antioxidanty jsou získávány z bylin, koření, zeleniny, ovoce nebo olejnatých produktů (Shahidi et Zhong, 2010). Antioxidanty se mohou aplikovat jako rostlinné extrakty na obalový materiál, nebo rovnou do masa (Falowo et al., 2014).

3.2.1 Alimentární onemocnění způsobené masem

Alimentární onemocnění a otravy vznikají v souvislosti s konzumací potravin a tekutin infikovaných patogeny. Živočišné produkty jsou pro člověka významným potencialem zdrojem otravy jídlem. Pravděpodobně až 80 % otrav jídlem je způsobeno konzumací kontaminovaného masa (Warriss, 2000). I přes veškeré moderní technologie a neustálého zlepšování hygieny na jatkách, je otázka bezpečnosti potravin stále významným problémem v oblasti veřejného zdraví (Burt, 2004).

Nemoci přenášené jídlem mohou pocházet z mnoha zdrojů. Mezi nejčastější původce onemocnění patří bakterie a viry. Růst těchto mikroorganismů ovlivňuje 6 parametrů: pH, oxidačně-redukční potenciál, obsah živin, aktivita vody, antimikrobiální aktivita a biologické struktury (Kerth, 2013). Mezi bakteriální nákazy z potravy patří například salmonelóza, kampylobakteriíza, listeriíza, shigelóza nebo břišní tyfus. Bakterie mohou způsobovat i otravy z potravin, mezi které patří botulismus, či stafylokoková enterotoxikóza (Velíšek, 2014).

Kromě rizika alimentárních onemocnění z bakteriálních zdrojů uvádějí některé studie alarmující informace o nedodržování osobní hygieny personálu potravinářského provozu (Bogdanovičová et al., 2016). Lucca et Torres (2006), jako autoři jedné z těchto studií uvádějí, že až 70 % osob při manipulaci s potravinou nedodržuje správný postup sanitace pracovních desek ani mytí rukou. Přitom správná osobní hygiena a dostatečná sanitace pracovních ploch představuje důležité preventivní opatření při možné křížové kontaminaci (Bogdanovičová et al., 2016). Nemoci způsobené mikroorganismy jsou ale stále velkou hrozbou, a to jak pro výrobce masa a masných výrobků, tak i pro jejich konzumenty (Kerth, 2013). Znalost a porozumění problematice, týkající se bezpečnosti potravin přitom hraje klíčovou roli v ochraně zdraví spotřebitele (Bogdanovičová et al., 2016).

3.2.2 Bakterie způsobující alimentární onemocnění

Maso zdravého zvířete nemá žádné bakteriální ani virové patogeny. Tyto mikroorganismy se tedy na jeho povrch dostávají až během manipulace s čerstvým masem. Existují tři různé zdroje kontaminace patogeny. Prvním zdrojem jsou kůže, peří a vnitřnosti, z kterých se mohou patogeny šířit během zpracování masa na jatkách. Druhým zdrojem jsou lidé, především pak personál, který manipuluje s hotovým produktem (Burt, 2004). Manipulace, včetně krájení a balení, může představovat riziko křížové kontaminace (Baláš, 2016). Jak kůže, či peří a vnitřnosti, tak neopatrný personál, mohou následně kontaminovat i výrobní stroje, které se mohou stát třetím zdrojem kontaminace a to v případě, kdy nedochází k řádné sanitaci (Jackson et al., 1996; Robertson, 2010). Mezi nejčastější patogeny, které

mohou kontaminovat maso a masné produkty patří: *E. coli*, *B. cereus*, *L. monocytogenes* bakterie rodu *Salmonella*, či *Campylobacter*, (Burt, 2004).

3.2.2.1 *Salmonella* sp.

Rod *Salmonella* se řadí do čeledi Enterobacteriaceae. Jedná se o fakultativně anaerobní gramnegativní, nesporulující tyčinky (Ochman et Groisman, 1994). Optimální teplota pro růst salmonel se pohybuje kolem 38 °C, ale bylo dokázáno, že dokáže růst i při 6 °C (Matches et Liston, 1968). Vůči vyšším teplotám už jsou citlivé. Pro jejich zničení ve vodní lázni stačí teplota 60 °C po dobu 15 – 20 minut (Schuman et al., 1997).

Rod *Salmonella* má dva druhy – *S. bongori* a *S. enterica* (nebo také *S. choleraesuis*). V případě *S. enterica* jsou z hlediska alimentárních onemocnění nejdůležitějšími sérotypy Enteritidis, Typhimurium, Typhi a Paratyphi. V rámci zjednodušení jsou salmonely označovány rodovým jménem následovaným názvem sérotypu, například *S. enteritidis*. *S. enterica* se dělí ještě na dalších 5 poddruhů, z toho *S. enterica enterica* zahrnuje 1586 sérotypů (Issenhuth-Jeanjean et al., 2014). Většina těchto sérotypů má schopnost napadat povrch sliznice střeva (Parkhill et al., 2001). A právě poddruh – *S. enteritica enterica* sérotyp *enteritidis* způsobuje onemocnění zvané salmonelóza (Velíšek, 2014). Hlavním zdrojem kontaminace je drůbeží maso, vejce a vepřové maso, vysoké procento kontaminace se objevuje ale i u koření a bylinek (ElAmin, 2006). Problémem jsou i v dnešní době stále oblíbenější předpřipravená jídla (Jarvis et al., 2016).

Salmonelóza se projevuje se průjmem, vysokou teplotou, nevolností, zvracením (Velíšek, 2014). Při salmonelóze jsou lidé (hlavně děti a senioři) ohroženi dehydratací, u osob trpících jiným vážným onemocněním (například cukrovka, nádory, ateroskleróza) pak často propukne velmi těžká forma salmonelózy a dochází k těžkému postižení různých orgánů (srdce, žlučník, mozkové pleny), které může končit až smrtí pacienta (McCabe-Sellers et Beattie, 2004). V roce 2006 onemocnělo salmonelózou v České republice 25 102 lidí. Až do roku 2010 výskyt salmonelózy v České republice klesal – až na pouhých 8 752 případů, ale v roce 2015 opět vzrostl na 12 739 nemocných osob (tabulka č. 3) (SZÚ, 2015).

Tabulka č. 3: Hlášený výskyt salmonelózy v České republice v letech 2006 – 2015 (SZÚ, 2015).

Rok	2006	2007	2008	2009	2010	2011	2012	2013	2014	2015
Počet nemocných	25102	18204	11009	10805	8622	8752	10507	10280	13633	12739

Salmonella typhi (*Salmonella enterica* serovar Typhi CT18) způsobuje závažné onemocnění zvané břišní tyfus. Jeho nebezpečnost tkví v tom, že oproti ostatním sérotypům salmonel se u *S. typhi* vyvinula schopnost šířit se do hlubších tkání člověka, včetně jater, sleziny a kostní dřeně (Parkhill et al., 2001). Mezi lidmi se břišní tyfus šíří nedokonalou hygienou, jde o onemocnění rozšířené převážně v rozvojových zemích (Göpfertová et Vaništa, 1997). V České republice se břišní tyfus vyskytuje velmi málo a od roku 2006 jeho výskyt klesá (tabulka č. 4), převážně se jedná o nepěkný suvenýr z cest (SZÚ, 2015).

Tabulka č. 4: Hlášený výskyt břišního tyfu v České republice v letech 2006 – 2015 (SZÚ, 2015).

Rok	2006	2007	2008	2009	2010	2011	2012	2013	2014	2015
Počet nemocných	9	2	4	3	4	3	2	0	3	1

3.2.2.2 *Escherichia coli*

E. coli tvoří krátké, pohyblivé, gramnegativní tyčinky. Vyskytuje se ve střevech savců, tedy i v jejich výkalech. Již v 90. letech 19. století byla vybrána jako indikátor fekálního znečištění vody a potravin (Edberg et al., 2000). Tyto bakterie se vyskytují v syrovém mase, masných výrobcích (Stranks, 2007), v nepasterovaném mléce a mléčných výrobcích (Keene et al., 1997), či na syrové zelenině (Abdul-Raouf et al., 1993). *E. Coli*, tedy její patogenní kmeny, jsou původci závažných intestinálních i extraintestinálních onemocnění.

Tyto kmeny se mohou dělit také na základě klinických příznaků onemocnění, která vyvolávají. Takto je můžeme rozdělit na enterohemoragické *E. coli* (EHEC), enteroinvazivní *E. coli* (EIEC), enteropatogenní *E. coli* (EPEC) a enterotoxigenní *E. coli* (ETEC). Zatímco EIEC a EPEC *E. coli* způsobují převážně potravinové nákazy, EHEC a ETEC *E. coli* způsobují hlavně potravinové intoxikace. EHEC vyvolávají hemoragické kolitidy, které se většinou neprojevují vysokými teplotami, ale dochází při nich ke střevnímu krvácení. Přibližně 5 – 7 % případů onemocnění dospěje do takového stadia, kdy je potřebná hospitalizace v nemocnici, ve výjimečných případech může končit i smrtí v důsledku syndromu HUS, při kterém dochází k akutnímu selhání ledvin (Marejková et al., 2009).

V České republice není výskyt EHEC častý, v roce 2015 byl diagnostikován 20 osobám (tabulka č. 5). Což je výskyt oproti okolním zemím EHEC mnohonásobně nižší. Hlavním důvodem, proč tomu tak je, je pravděpodobně nedostatečná diagnostika. Např. v Německu, Francii, Rakousku a Dánsku provádí rutinně diagnostiku EHEC každému pacientovi s krvavým

průjmem. Dalším důvodem může být i to, že EHEC není povinně hlášena (Marejková et al., 2009).

Tabulka č. 5: Hlášený výskyt EHEC v ČR v letech 2006 – 2015 (SZÚ, 2015).

Rok	2006	2007	2008	2009	2010	2011	2012	2013	2014	2015
Počet nemocných	nd	nd	nd	nd	nd	nd	13	16	28	20

3.2.2.3 *Campylobacter sp.*

Rod *Campylobacter* způsobuje onemocnění zvané kampylobakterióza, jejím nejčastějším původcem je *Campylobacter jejuni* (WHO, 2016). Kampylobakterióza patří k nejvíce zastoupeným alimentárním onemocněním na světě. V roce 2004 bylo ve státech Evropské unie zaznamenáno 183 961 případů onemocnění (ElAmin, 2006). V posledních letech je v mnoha zemích pozorován vzestupný trend (tabulka č. 6) prevalence kampylobakteriózy (Polák et al., 2014; SZÚ, 2015). Kampylobakterióza je akutní střevní onemocnění, projevuje se průjmy, horečkou a křečemi v břiše. Příznaky, které se objeví 2 – 5 dní po nakažení, trvají od 3 do 6 dní (Allos et Allos, 2001; WHO, 2016). Šíří se například čerstvým mlékem, ale hlavně nedostatečně tepelně opracovaným drůbežím masem a masnými výrobky z něj (WHO, 2016). Velká šance přenosu *C. jejuni* nastává při porážce a práci s mrtvými zvířaty (Altekruse et al., 1999). Kampylobakterióza způsobuje smrt člověka jen ve vzácných případech, často u velmi mladých pacientů, starých lidí, či u lidí trpícím nějakou jinou závažnou nemocí – například Syndromem získaného selhání imunity (AIDS) (WHO, 2016). Závažný problém ovšem představuje rychle se šířící rezistence kampylobakterů k antibiotikům (Polák et al., 2014). Kampylobakterióza je nebezpečná i svou schopností vyvolat různá post-infekční onemocnění. Mezi ta nejzávažnější patří Guillan-Barrého syndrom. Jedná se o autoimunitní onemocnění postihující periferní nervovou soustavu, kterým ročně onemocní 1 – 2 osoby/100 000 obyvatel (Allos et Allos, 2001). Vyskytnout se mohou i Miller-Fisher syndrom a Reiterův syndrom, který způsobuje zánět spojivek, močové trubice, pochvy, či artritidu (Kemp et al., 2005).

Tabulka č. 6: Hlášený výskyt kampylobakteriózy v ČR v letech 2006 – 2015 (SZÚ, 2015).

Rok	2006	2007	2008	2009	2010	2011	2012	2013	2014	2015
Počet nemocných	22713	24254	20175	20371	21164	18811	18412	18389	20903	21102

3.2.2.4 *Listeria sp.*

Hlavním zástupcem rodu *Listeria* je *Listeria monocytogenes* – bakterie, která způsobuje závažné onemocnění zvané listerióza. Listeriíza je onemocnění alimentárního původu a kontaminováno bývá nejčastěji maso a masné výrobky, sýry, mléko a zelenina (Brychta et al.,

2015). *Listeria monocytogenes* je nebezpečná hlavně kvůli své schopnosti množit se v širokém rozsahu jak teplot (1,5 – 45 °C), tak pH (4,39 – 9,40) a koncentrace soli až 10 % (Guillier et al., 2005). Po vstupu *L. monocytogenes* do gastrointestinálního traktu pomocí kontaminované potravy dochází k porušení ochranné bariéry střeva a bakterie se šíří pomocí krve do cílových orgánů – především do centrální nervové soustavy a placenty (Brychta et al., 2015). Listeriόza představuje vysoké riziko pro těhotné ženy, protože po proniknutí *L. monocytogenes* do placenty dochází k zánětu plodu, který může vést až k potratu (Silver et Helayne, 1998). Podle SZÚ, (2015) byla v roce 2015 listeriόza v České republice diagnostikována u 34 případů (tabulka č. 7.).

Tabulka č. 7: Hlášený výskyt listeriόzy v ČR v letech 2006 – 2015 (SZÚ, 2015).

Rok	2006	2007	2008	2009	2010	2011	2012	2013	2014	2015
Počet nemocných	78	51	37	32	26	35	32	35	37	34

3.2.3 Faktory ovlivňující kontaminaci mikroorganismy

Kontaminaci potravin se dá zabránit různými způsoby (Kerth, 2013). Faktory, které kontaminaci ovlivňují, můžeme rozdělit do čtyř kategorií a to na faktory vnitřní, vnější, technologické a implicitní. Vnitřními faktory jsou chemické a fyzikální vlastnosti potravin (Bruckner et al., 2012). Mezi nejdůležitější vnitřní faktory řadíme složení masa a jeho hodnotu pH. Vnějšími faktory pak rozumíme okolní prostředí, mezi nejdůležitější vnější faktory patří teplota (Kerth, 2013). Vnitřními a vnějšími faktory, které ovlivňují kontaminaci mikroorganismy, se ve své práci zabývali autoři (McDonald et Sun, 1999), a jsou popsány v tabulce č. 8. Proběhne-li chemické, či fyzikální ošetření potravin, jedná se o faktory technologické. Poslední skupinou jsou faktory implicitní, které popisují vztahy mezi bakteriemi. Ty mohou být synergické a antagonistické (Bruckner et al., 2012).

Tabulka č. 8: Faktory ovlivňující mikrobiální kontaminaci (McDonald et Sun, 1999).

Faktory	Co je ovlivňuje
Vnitřní	
pH	obsah sacharidů, které ovlivňují obsah mléčné kyseliny, použití fosfátů, okyselujících látek
vodní aktivita	přídavek soli počáteční vlhkost masa
obsah živin	obsah vody, sacharidů, dusíku, minerálních látek, alkoholu a vitamínů
oxidačně – redukční potenciál	složení potraviny, kontakt se vzduchem, hodnota pH, atmosférický tlak
biologické struktury	způsob zpracování, neporušenost přirozených obalů
původní mikroorganismy	druh masa, způsob zpracování hygiena zaměstnanců, hygiena zařízení
Vnější	
způsob zpracování	čas, teplota, druh úpravy
způsob skladování	čas, teplota, relativní vlhkost vzduchu způsob balení, složení atmosféry
mikroorganismy	množství a typ přirozeně se vyskytujících mikroorganismů, kontaminace během zpracování

3.2.4 Konzervace masa

Metody konzervace masa se mohou dělit na několik kategorií a to podle toho, jakou překážku pro bakteriální růst představují. Kombinací několika antimikrobiálních postupů se navrhne takzvaný překážkový efekt. Mezi tyto překážky patří například teplota, hodnota pH, či aktivita vody (Leistner, 2000). Díky překážkovému efektu se dosáhne potřebných cílů k zajištění mikrobiální a organoleptické kvality masa (Zhou et al., 2010).

Pro konzervaci, sanitaci či antimikrobiální ochranu potravin už bylo vyvinuto mnoho chemických prostředků, z nichž ale ne všechny jsou vhodné pro maso. Jako chemické konzervanty v masném průmyslu se používají organické kyseliny (octová a mléčná), kyselina sorbová a sorbáty, sulfity, kyselina propionová, nitrity a nitráty, kyselina benzoová, etanol.

Mezi fyzikální konzervanty patří využití vysoké teploty (nebo naopak nízké teploty), radiace, či snížení vodní aktivity (Kerth, 2013). Mezi další, modernější metody konzervace masa můžeme zařadit využití modifikované atmosféry při balení, či přírodních antimikrobiálních látek (Zhou et al., 2010).

Při využívání modifikované atmosféry k balení masa dochází k procesu výměny atmosféry uvnitř balení za směs plynů. Tyto plyny se liší od normálního složení vzduchu, využívá se hlavně oxid uhličitý, dusík a kyslík (Kerth, 2013). Oxid uhličitý se používá pro inhibici bakterií a plísní, díky dusíku se můžeme vyhnout oxidaci tuků a kyslík omezuje růst anaerobních bakterií (Narasimha Rao et Sachindra, 2002). Navíc celý tento proces probíhá v prostředí, kde jsou tlaky vyšší, než je tlak atmosférický (Kerth, 2013). Efekt modifikované atmosféry na konzervaci masa závisí i ostatních faktorech. Souvisí s teplotou skladováním, propustností membrán a na dalších faktorech (McMullen et Stiles, 1991). Mezi ty patří například přidavek antimikrobiálních silic. Byla provedena studie, která zkoumala synergický efekt při kombinaci využití modifikované atmosféry a přidavku oreganové silice na údržnost kuřecího masa. Bylo zjištěno, že neošetřené maso, aerobně balené vydrží čerstvé 5 dní. Přidavkem 0,1% oreganové silice se trvanlivost prodlouží o 3 – 4 dny, zatímco balením v modifikované atmosféře se trvanlivost prodlouží o 2 – 3 dny. Kombinací modifikované atmosféry a 0,1% oreganové silice se pak trvanlivost prodlouží na 5 – 6 dní (Chouliara et al., 2007). Co se týká balení, moderní metodou konzervace masa je kromě využití modifikované atmosféry i balení vakuové, které se dnes využívá ve velké míře. Při snížení obsahu kyslíku pod 0,15 % se zamezí změnám barvy masa (Mancini et Hunt, 2005). Jedním typem vakuového balení je typ skin, při kterém se umístí maso na podložku ze styrenu nebo polypropylenu. Následně se produkt vakuově utěsní pomocí bariérové fólie. Ta se vlivem tepla smrští a vytvaruje podle produktu (Zhou et al., 2010).

Jako reakce na neustále nové trendy na trhu byla zavedena metoda aktivního balení. Jedná se o nový inovativní koncept v balení potravin, který je definován jako typ obalu, který dokáže měnit svůj stav a tak prodloužit životnost potraviny a při tom zachovat bezpečnost a sensorické vlastnosti potraviny (Vermeiren et al., 1999). Mezi tyto aktivní funkce patří zachycování kyslíku, vlhkosti a etylenu, či emise etanolu a chuti (Quintavalla et Vicini, 2002).

Jako náhrada za chemické konzervanty slouží také přírodní látky s antimikrobiální aktivitou. V masném průmyslu se tyto látky mohou přidávat do díla, nebo aplikovat nástřikem či postřikem výrobku. Přímý přidavek však může být limitován rozpustností, nebo tím, že ovlivňuje sensorické vlastnosti. Proto se často kombinuje s jinými překážkami pro mikroorganismy. Mezi takové moderní technologie, patří například využití nanočástic,

mikroenkapsulace, nebo vazba na obalový materiál. Tyto látky jsou z rostlin získávány nejčastěji jako extrakty z koření a bylin, či jako silice (Klančnik et al., 2014). Na další přírodní antimikrobiální látky, se v poslední době zaměřuje mnoho studií. K prodloužení skladovatelnosti a zvýšení bezpečnosti potravin mohou sloužit přírodní sloučeniny, jako jsou chitosan a nisin (Zhou et al., 2010). Chitosan je nejdůležitější derivát chitinu. Je rozpustný v kyselém prostředí a má široké uplatnění v potravinářství a kosmetice (Rinaudo, 2006). Vykazuje totiž silnou antimikrobiální aktivitu vůči patogenním mikroorganismům (Sanches-Silva et al., 2014). Hlavním mechanismem jeho antimikrobiálního účinku je působení na membránovou propustnost a vazba stopových prvků (Kanatt et al., 2008). Do chitosanových filmů se mohou přidávat také silice. Tímto přídavkem může dojít ke snížení propustnosti pro vodní páru, může se také snížit šance propíchnutí filmu. Zároveň se může zvýšit elasticita filmů. Tyto chitosan – oreganové filmy připravené z přírodních látek, mohou být použity při aktivním balení. Jejich hlavní výhodou je řízené uvolňování účinných látek působících proti patogenům (Zivanovic et al., 2005). Nisin byl v potravinářství jako přírodní konzervant poprvé použit už na konci 60. let 20. století. V současnosti je uznán jako bezpečný konzervační prostředek asi v padesáti státech světa. Lze ho použít na konzervaci potravin, které mají vysokou aktivitu vody, či u potravin s nízkým pH. Nyní se zkoumá synergický účinek nisinu a chelatačních činidel (Delves-Broughton et al., 1996). Jako účinné antimikrobiální látky jsou používány i silice, které se ve velkém vyskytují například v koření (Tajkarimi et al., 2010). Koření se využívá snad ve všech světových kuchyních už po staletí. Hlavním důvodem je zvýšení chutnosti pokrmů, ale už naši předci věděli, že působí antimikrobiálně a může tedy chránit naše zdraví (Billing et Sherman, 1998).

3.3 Silice

3.3.1 Vlastnosti silic

Silice jsou těkavé, lipofilní, olejovité, ve vodě zcela nerozpustné látky (Bakkali et al., 2008; Berger, 2007). Většinou jsou bezbarvé, postupem času mohou měnit svoji barvu a tmavnout (Bakkali et al., 2008).

Již od středověku jsou silice známé díky svým baktericidním, virucidním, fungicidním a insekticidním účinkům (Bakkali et al., 2008; Inouye et al., 2006). Používají se jako pomocné prostředky při léčení fyzických a psychických nemocí a poruch (aromaterapie), ale rovněž jako preventivní prostředky proti nachlazení a chřipce (Dvořáková et al., 2011), či proti osteoporóze (Yamaguchi et al., 1999). Silice jsou látky nepostradatelné i pro rostliny – působí antibakteriálně, antivirotický, či insekticidně. Také mohou lákat opylovače, či odpuzovat nežádoucí hmyz (Bakkali et al., 2008). Rostoucí význam zaznamenávají silice i v zemědělství, kde se testuje jejich možná náhrada za antibiotika ve výživě hospodářských zvířat. Díky svému baktericidnímu účinku mohou být použity k řízení mikrobiální aktivity v trávicím traktu zvířat, kde mají vliv na fermentaci v bacheru (Castillejos et al., 2005).

Světově významní producenti silic v Evropě jsou soustředěni v oblasti Středozevního moře. Velkými výrobci jsou Itálie, Španělsko, Portugalsko, Francie, Chorvatsko, Albánie a Řecko. V Asii je ve výrobě silic v hlavní roli Čína a Indie, neobvyklé silice pak pochází z Austrálie a Nového Zélandu. V Africe produkují silice hlavně severní státy – Maroko, Tunisko, Egypt a Alžírsko. Nezastupitelnou roli ve výrobě silic hraje i Amerika, kde jsou silice vyráběny ve Spojených státech amerických, Kanadě i Mexiku. V Jižní Americe jsou pak vyráběny v Brazílii, Argentině, či Paraguay a Uruguay (Başer, K. H. C. Buchbauer, 2010).

3.3.2 Výskyt silic

Schopnost produkovat těkavé látky mají všechny rostliny, většinou však pouze ve stopovém množství (Başer, K. H. C. Buchbauer, 2010). Prakticky se ovšem získává asi jen z 10 % druhů rostlin (Dvořáková et al., 2011). Mezi čeledi rostlin, pro které je výskyt silic typický ve větším množství patří například *Pinaceae* – brovicovité, *Rutaceae* – routovité, *Myrtaceae* – myrtovité, *Lamiaceae* – hluchavkovité (Bakkali et al., 2008), *Zingiberaceae* – zázvořníkovité, *Piperaceae* – pepřovníkovité (Sacchetti et al., 2005). Mezi jednotlivými čeleděmi však existují rozdíly v tvorbě a ukládání silic. Například *Lamiaceae* vytvářejí povrchové žlázy – žláznaté trichomy s obsahem silic, *Apiaceae* vytvářejí siličné kanálky, *Piperaceae* tvoří siličné buňky. Silice se tvoří v protoplazmě nebo rozpadem

bunčných blan, nebo hydrolýzou určitých glykosidů mohou prostupovat všechna pletiva (například u konifer) nebo se koncentrují v určitých orgánech, například v plodech mrkvovitých, v kůře a listech skořicovníku, v žláznatých trichomech listů máty, v oplodí nebo květech citroníků (Bacílková et Paulusová, 2012).

3.3.3 Metody získávání silic

Mezi nejběžnější metody izolace silic patří destilace vodní parou, extrakce pomocí rozpouštědla, či lisování. Destilace vodní parou se používá hlavně pro silice získávané ze semen, stonků, listů, dřeva a kořenů (Velíšek, 2014). Destilační závody po celém světě se však liší. Můžeme se setkat jak s tradičními, někdy až primitivními metodami. Takové se používají v některých rozvojových zemích a silice jimi získané jsou často vysoké kvality. Naopak v rozvinutých zemích se silice vyrábí pomocí moderních a komplexních metod a následně se mohou analyzovat pomocí počítače (Başer, K. H. C. Buchbauer, 2010). Další typ extrakce – extrakce nepolárními rozpouštědly (například benzinen, petrolether) se získávají hlavně silice z květů. Zvláštním typem extrakce je tzv. superkritická extrakce, při které se používá superkritický oxid uhličitý a freony. Mezi metody extrakce patří i dnes už málo používaná tzv. anfleráž, při které se extrahuje pomocí tuku. Poslední metodou izolace silic je lisování, které se používá pro silice epikarpu citrusů (Velíšek, 2014).

3.3.4 Složení silic

3.3.4.1 Terpenové uhlovodíky

Jedná se o sloučeniny, které mají obecný vzorec $(C_5H_8)_n$. Typicky se vyskytují v aromatu téměř všech druhů ovoce, zeleniny i koření. Mezi terpenové uhlovodíky patří monoterpenové ($C_{10}H_{16}$) a seskviterpenové uhlovodíky ($C_{15}H_{24}$). Například 70 – 80 % vonných látek obsažených v černém pepři tvoří monoterpeny a 20 – 30 % je tvořeno seskviterpeny. V některých citrusových silicích je obsah terpenových uhlovodíků 95 % a více (Velíšek, 2014).

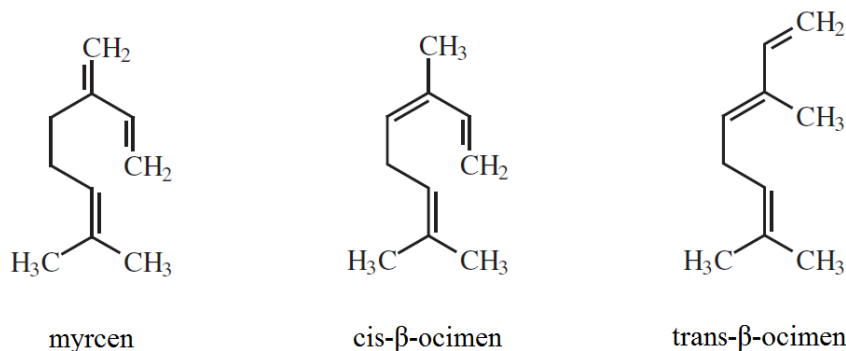
Biosyntéza terpenů může probíhat dvěma způsoby. Tyto způsoby se od sebe liší vznikem základních prekurzorů terpenů. Může tak vznikat isopentenylidifosfát (IPP) nebo dimethylallylidifosfát (DMAPP) (Mahmoud et Croteau, 2002; Phillips et Croteau, 1999). Nejprve dochází přes tzv. mevalonátovou cestu, kdy ke vzniku IPP z acetyl-CoA. Děje se tak přes mevalonovou kyselinu, DAMPP pak vzniká izomerizací IPP. Mevalonátová cesta probíhá v cytosolu buněk, vznikají při ní prekurzory seskviterpenů a triterpenů nebo může probíhat tzv. pyruvátová cesta. Na rozdíl od mevalonátové cesty zde prekurzory terpenů DAMPP probíhají odděleně.

DAMPP tak nevzniká izomerizací IPP, ale přes 1-deoxy-D-xyluloso-5-fosfát. Pyruvátová cesta probíhá v plastidech. Toto rozdělení způsobu vzniku prekurzorů terpenů do dvou skupin ovšem je navzájem kombinovatelné. Můžou se spolu propojit a prekurzory, které vznikají pyruvátovou cestou v plastidech mohou být použité pro syntézu seskviterpenů a triterpenů v cytosolu (Dudareva et al., 2005).

3.3.4.1.1 Monoterpeny

Monoterpeny jsou látky odvozené od isoprenu (Velíšek, 2014). Konkrétně se jedná o acyklické, monocyklické nebo bicyklické C(10) isoprenoidy. Ačkoliv se vyskytují ve všech organismech, syntetizovat je dokáží jen rostliny, bakterie a některé druhy hmyzu. V rostlinách vznikají v parenchymatických buňkách a poté se ukládají do vakuol, buněčných stěn, či speciálních exkretčních pletiv (Dvořáková et al., 2011).

Na obrázku č. 2 jsou zobrazené monocyklické monoterpenové uhlovodíky, které jsou většinou odvozené od *p*-mentanu. Mezi ty nejvýznamnější patří myrcen a ocimen (trans – isomer i cis – isomer). Myrcen i ocimen jsou mentadieny – lišící se polohou dvojných vazeb.

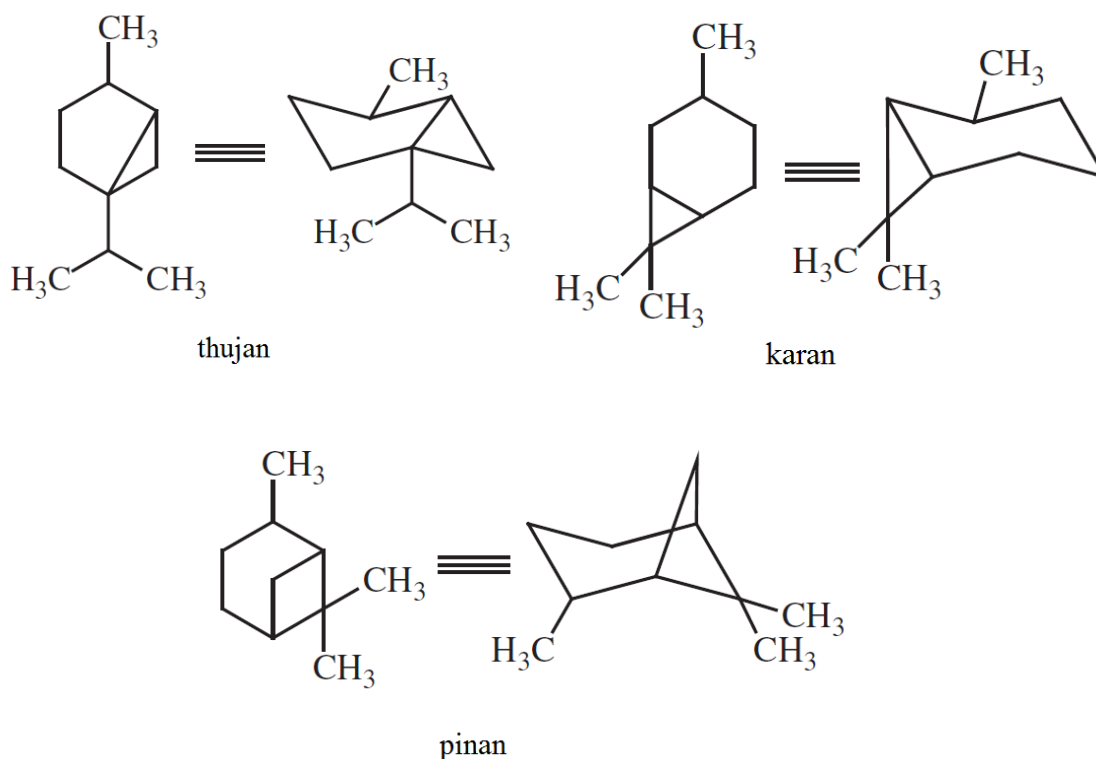


Obrázek č. 1: Monotorepeny monocyklické (Velíšek, 2014).

Dále se běžně vyskytuje například limonen (Velíšek, 2014). Limonen je známý pro svoji schopnost působit proti oxidačnímu stresu (Bai et al., 2016). Typicky se vyskytuje v silicích citrusů, jehličnanů a máty (Velíšek, 2014).

Bicyklické monoterpenové uhlovodíky tvoří 7 nasycených uhlovodíků a tento bicyklický systém může být tvořen několika kombinacemi. Na obrázku č. 3 je znázorněný thujan, který je utvořen kombinací pětičetného a tříčetného kruhu a je typický pro černý pepř; dalšími bicyklickými monoterpenovými uhlovodíky jsou: karan, který je kombinací šestičetného a tříčetného kruhu, či pinan, který je kombinací šestičetného a čtyřčetného

kruhu. V potravinách se pak mohou vyskytovat ještě nenasycené uhlovodíky odvozené. Mezi ty patří thujen, α -pinen, či β -pinen (Velíšek, 2014).



Obrázek č. 2: Bicyklické monoterpenové uhlovodíky (Velíšek, 2014).

Monoterpeny jsou produktem sekundárního metabolismu rostlin, jsou tedy významné hlavně tím, že zprostředkovávají interakce mezi rostlinou a okolním prostředím (Dvořáková et al., 2011). Některé monoterpeny také působí preventivně proti rakovině. Mezi takové patří například karvon, který před rakovinou chrání plíce a žaludek (Wattenberg et al., 1989).

3.3.4.1.2 Seskviterpeny

Mezi seskviterpeny patří například zingiberen. Jedná se o monocyklický seskviterpenový uhlovodík. V potravinách se často vyskytuje i acyklické farneseny, či bicyklický valencen (Velíšek, 2014).

3.3.4.2 Terpenové alkoholy

Pro terpenové alkoholy je typická jejich sladká, těžká, květinová vůně. Uvádí se jako první stupeň oxidační řady uhlovodíků. Mezi nejvýznamnější patří linalool, citronellol, mentol,

či α -terpineol. Monoterpenové alkoholy se v rostlinných materiálech vyskytují hlavně jako glykosidy (Velíšek, 2014).

3.3.4.3 Terpenové aldehydy

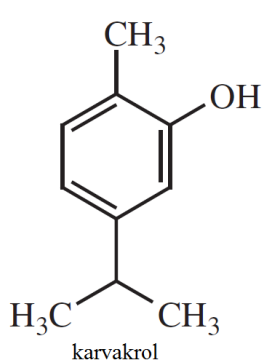
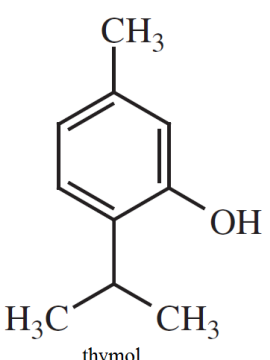
Mezi nejvýznamnější terpenové aldehydy patří citral. Jedná se o významnou součást silic vyskytující se zejména v citrusových plodech. Může se ale vyskytovat i v zázvoru a pepři. Pro šafrán je typický terpenový aldehyd safranal. V silicích některých druhů zeleniny a koření se nachází myristicin, který může vykazovat halucinogenní účinky (Velíšek, 2014).

3.3.5 Oreganová silice

Dobromysl obecná, neboli oregano (*Origanum vulgare*, L.) z čeledi hluchavkovitých (*Lamiaceae*) je známá pro své terapeutické účinky. Funguje jako lék proti nadýmání, nadměrnému pocení či křečím. Oblíbená je i pro své antiseptické účinky (Sağdıç et al., 2002; Şahin et al., 2004). Dále je používána v kosmetickém a potravinářském průmyslu, či zemědělství (Aligiannis et al., 2001; Dorman et Deans, 2000; Novak et al., 2000).

Mezi hlavní složky oreganové silice patří karvakrol, tymol a γ -terpinen (Burt, 2004). Karvakrol patří mezi nejčastěji zastoupené součásti tvořící silice rostlin z rodu *Thymus* a *Origanum* a jeho účinek spočívá v tom, že rozrušuje biologické membrány. Vykazuje tedy výraznou antimikrobiální aktivitu (Ultee et al., 1998). Bylo prokázáno, že při současném působení karvakrolu a *p*-cymenu na *Bacillus cereus* zvyšuje *p*-cymen baktericidní účinek karvakrolu. Toto synergické působení je způsobeno narušením cytoplazmatické membrány Gram pozitivních bakterií *p*-cymenem. Karvakrol tak může snadněji vstoupit do buňky a zesílit porušení transportu iontů a živin do buňky (Ultee et al., 2000). V oreganové silici je zastoupen přibližně z 60 % (Pecarski et al., 2016). V praxi se jako aditivum přidává do různých potravin, například do pekárenských výrobků, nealkoholických nápojů nebo žvýkaček (Ultee et al., 1999). Je známo, že karvakrol společně s tymolem inhibují oxidaci lipozomů (Lagouri et al., 1993). Další složky vyskytující se v silici oregana jsou znázorněny v tabulce č. 9.

Tabulka č. 9: Jednotlivé složky oreganové silice *Origanum vulgare* (Pecarski et al., 2016) a strukturní vzorce majoritně zastoupených sloučenin (Velíšek, 2014).

Složky	Zastoupení [%]	Vzorce
karvakrol	59,03	 <p>karvakrol</p>
<i>p</i> -cymen	5,02	
thymol	4,71	
γ -terpinen	4,64	
karyofylen	4,38	
linalool	2,69	
eukalyptol	1,59	
α -pinene	1,54	
4-karvomenthenol	1,47	
β -pinen	1,2	
terpineol	1,04	
terpinen	0,88	
limonen	0,69	
myrcen	0,53	
kamfor	0,39	
fenchyl alkohol	0,38	
felandren	0,27	
kuminaldehyd	0,26	
elemen	0,22	
kamfen	0,2	 <p>thymol</p>
3-oktanon	0,2	
kopaen	0,17	
terpinolen	0,12	
3-oktanol	0,1	
4-thujanol	0,07	
elemen	0,03	

3.3.6 Antimikrobiální účinek silic

Celkový účinek silic závisí na citlivosti mikroorganismů a na druhu použité silice (Bacílková et Paulusová, 2012). Na rezistenci vůči mikroorganismům má velký vliv také druh potraviny, skladovací teplota a obsah kyslíku v potravíně. Dalším faktorem, který ovlivňuje účinek silice, je obsah soli v potravíně (Burt, 2004).

Mechanismus účinku silic souvisí s hydrofobní a lipofilní povahou jednotlivých komponent silic (Bacílková et Paulusová, 2012). Antimikrobiální působení silic v potravínách je větší při nižších hodnotách pH, kdy se zvyšuje hydrofobita silic. Díky té se snadněji rozpouští lipidová membrána bakterií (Burt, 2004). Další účinek se může projevit blokováním respiračního cyklu, který způsobuje lipofilní charakter terpenoidů. Další složky silic mohou inhibovat například syntézu DNA, RNA, proteinů nebo polysacharidů (Bacílková et Paulusová, 2012). V roce 2001 byla provedena studie, kde byly zkoumány mechanismy účinku složek oreganové silice (tymolu, karvakrolu a eugenolu) na *Pseudomonas aureginosa* a *Staphylococcus aureus*. Účinkem těchto složek bylo zvýšení permeability buněčné membrány. Sloučeniny tak pronikaly do cytoplazmy bakterií přes proteiny vnější membrány, čímž se porušil transport iontů (Lambert et al., 2001).

3.3.7 Aplikace silic na maso a masné výrobky

Některé silice jsou při aplikaci na maso a masné výrobky účinnější než jiné. Mezi takové patří eugenol a dále tymiánová, oreganová, koriandrová a hřebíčková silice. (Aureli et al., 1992; Hao et al., 1998; P. N. Skandamis et Nychas, 2001; Stecchini et al., 1993; Tsigarida et al., 2000). Zatímco silice máty, šalvěže, hořčice a koriandru byly méně účinné (Gill et al., 2002; Lemay et al., 2002; Shelef et al., 1984; Tassou et al., 1995).

Antimikrobiální účinek oreganové silice byl již zkoumán na hovězím mase zaočkovaném bakterií *Salmonella typhimurium*, kde při koncentraci 0,8 % v/v klesl počet mikroorganismů o 1 – 2 log KTJ.g⁻¹ (Skandamis et al., 2002). V případě mletého hovězího masa byl zaznamenán pokles mikroorganismů 3,3 log KTJ.g⁻¹ při koncentraci oreganové silice 1 % v/v (Skandamis et Nychas, 2001). Antimikrobiální účinek 1% oreganové silice byl zkoumán také na kuřecím mase, které bylo zaočkováno bakteriemi z čeledi *Enterobacteriaceae*. Zde autoři zaznamenali pokles bakterií z původních 2,8 log KTJ.g⁻¹ na necelý 1 log KTJ.g⁻¹ (Chouliara et al., 2007).

3.4 Enkapsulace křemičitých nanočástic

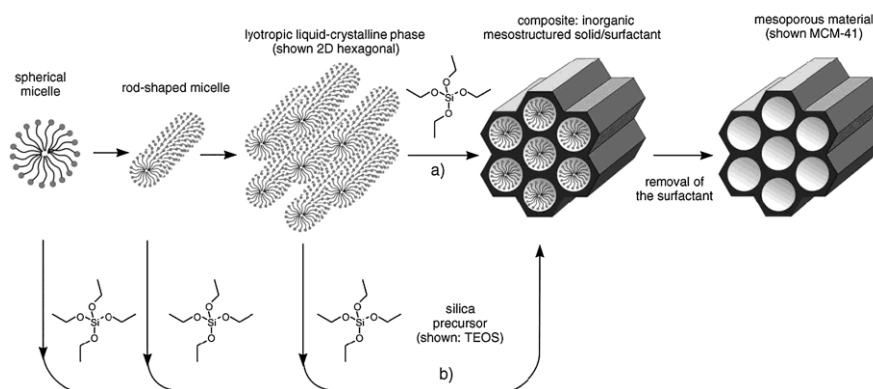
Nanotechnologie dnes využívají různá odvětví vědy a technologií. Mají svou nezastupitelnou roli například v elektrotechnice, letectví, lékařství, či obraně (Kickelbick, 2003; Klabunde et Richards, 2001; Wang et Thomas, 1998; Zeng et al., 2002). Jejich přínos může být velký i pro potravinářský průmysl a to zejména díky tomu, že poskytují silnější, vysoce bariérové obalové materiály. Jsou využívány při vývoji celé řady senzorů, které mohou odhalit stopová množství kontaminujících látek, plynů, či mikroorganismů v balených potravinách (Duncan, 2011). Ačkoliv se nanotechnologie v potravinářství začaly používat relativně nedávno, v posledních letech zaznamenaly rychlý rozvoj. Nově se využívají například při vyvíjení nových chutí, nebo pro zlepšování struktury potraviny. Výhodná je také nanoenkapsulace různých aditiv do potravin (Chaudhry et al., 2008).

Enkapsulace, neboli zapouzdření, je proces, při kterém zůstává aktivní jádro látky chráněno, a jsou zachovány její přirozené vlastnosti, zároveň mohou malé molekuly různých materiálů pronikat ven i dovnitř skrze póry ve stěně kapsule (Kailasapathy, 2009). V zemědělství by enkapsulace přírodních i syntetických pesticidů do porézních materiálů mohla mít zásadní význam, který spočívá v řízeném uvolňování těchto látek dle potřeb vegetace (Prado et al., 2011). V potravinářství patří mezi výhody enkapsulace nanočástic například vytvoření ochranné bariéry, lepší dispergovatelnost aditiv ve vodě, či maskování chutí. Hlavní výhodou však opět zůstává řízené uvolňování enkapsulovaných látek do potravin (Chaudhry et al., 2008). Tím, že se do nanočástic enkapsuluje antimikrobiální látka, se může zabránit růstu mikroorganismů a tak i zvýšit bezpečnost potraviny (Weiss et al., 2009).

Mezi nanočástice, do kterých se dají enkapsulovat antimikrobiální látky, patří i křemičité nanočástice (Vallet-Regi et al., 2000). Křemičité materiály obecně našly uplatnění v mnoha oblastech. Jsou používány například jako adsorbenty v analytické chemii (iontová výměna, sorbenty pro GC, HPLC), jako nosiče enzymů v biochemii, či jako nosiče farmaceutických substancí v farmakochemii (Luštická et al., 2013). Mezi nejvýznamnější křemičité materiály patří tzv. mezoporézní molekulová síta (Beck et al., 1992; Kresge et al., 1992). Syntézu těchto mezoporézních křemičitanů patentovala v roce 1991 americká firma Mobil a je tak považována za jejich objevitele. První syntéza křemičitanových materiálů, které mají organizovanou strukturu, však byla patentována již o 20 let dříve. Tito autoři však materiál dostatečně neprozkoumali a nebyli si tak vědomi významu svého objevu (Zukal et al., 2007).

Tyto nanočástice patří do skupin materiálů M41S, z nichž nejznámější je materiál MCM-41 (Zhao et al., 1998). MCM-41, neboli Mobil Composition of Matter[™], našel široké

uplatnění hlavně díky svým fyzikálním a chemickým vlastnostem (Selvam et al., 2001). Mezi jeho vynikající parametry patří vysoká tepelná stabilita a mechanická odolnost, velký specifický povrch, který je zhruba $1000 \text{ m}^2 \cdot \text{g}^{-1}$ (Sousa et al., 2008; X. S. Zhao et al., 2006), vysoká porozita, kdy objem pórů dosahuje $0,5 - 1,5 \text{ cm}^3 \cdot \text{g}^{-1}$ (Galarneau et al., 2001; Cho et al., 2002; Chong et Zhao, 2004) a dobře organizované póry, které mají průměr $2 - 15 \text{ nm}$ (Luštická et al., 2013). Struktura MCM-41 je tvořena rovnoběžnými kanály, které mají průřez tvaru šestiúhelníku a jsou uspořádány do hexagonální voštinové struktury (Rathouský et al., 1997). Syntéza MCM-41 je znázorněna na obrázku č. 4, probíhá pomocí koloidního roztoku oxidu křemičitého tetraethylorthosilikátu (TEOS), který je používán jako anorganický prekurzor, a pomocí hexadecyltrimethylamonium bromidu (CTAB), který pak utváří požadovanou strukturu (Bernardos et al., 2012).



Obrázek č. 3: Schéma syntézy MCM-41 (Hoffmann et al., 2006).

Jelikož jsou silice těkavé sloučeniny, které se snadno odpařují, představuje jejich enkapsulace do nanočástic účinný způsob jak zvýšit fyzikální stabilitu účinných látek, navíc je chrání před interakcí se složkami potravin (Donsi et al., 2011). Jinými slovy, enkapsulace snižuje ztrátu antimikrobiálních silic a může se tedy používat u látek, které jsou náchylné k mikrobiální zkáze, kde zaručí delší působení antimikrobiálních látek (Weiss et al., 2009). To dokazuje například studie provedená v roce 2005, kdy eugenol a karvakrol enkapsulovaný do tzv. povrchově aktivních micel vykazoval zvýšenou antimikrobiální aktivitu (Gaysinsky et al., 2005).

4 Materiál a metody

4.1 Křemičité nanočástice

Syntéza křemičitých nanočástic MCM-41 byla provedena dle následujícího postupu: nejprve byl do 480 ml destilované vody, která byla zahřátá na 30 – 40 °C, přidán 1 g CTAB (cetyltrimethylammonium bromid) a nechal se úplně rozpustit. Poté bylo přidáno 0,28 g hydroxidu sodného (NaOH) rozpuštěného v 3,5 ml destilované vody a celá směs byla zahřátá na 80 °C. Při dosažení teploty 80 °C bylo po kapkách přidáváno 5 ml TEOS (tetraethylorthosilikát). Takto připravená směs byla zahřívána po dobu 2 hodin (80 °C, 550 rpm). Po uplynutí této doby byla směs zchlazena na 40 °C a centrifugována při otáčkách 4500 rpm po dobu 20 minut. Vzniklá směs se musela zneutralizovat na hodnotu pH 7 a znovu centrifugovat. Po neutralizaci byl materiál sušen při 60 °C po dobu 24 hodin. Připravené nanočástice byly až do doby enkapsulace uchovávány v exsiccátoru.

4.2 Kmeny bakterií

V experimentu byla použita bakteriální inokula. Při přípravě inokula byl použit Mueller-Hinton bujón (Oxoid, CZ). Inokula byla připravena z kmenů bakterií *Escherichia coli* ATCC 25922 (Thermo Scientific, USA) a z kmenů bakterií *Salmonella enterica* sv *Enteritidis* ATCC 13076 (Thermo Scientific, USA). Pro kultivaci bakterií pak byla využita tato kultivační média: Plate count agar (Oxoid, CZ) pro stanovení celkového počtu mikroorganismů, MacConkey agar (Oxoid, CZ) pro analýzy vzorků zaočkovaných *E. coli*, XLD agar (Sigma-Aldrich, USA) byl použit pro analýzy vzorků zaočkovaných bakterií *Salmonella enteritidis*. Během experimentu byla dále potřeba 1 litru fyziologického roztoku – Buffered peptone water (Oxoid, CZ).

4.3 Silice

Pro účely praktické části experimentu byly použity silice z Výzkumné stanice Uhřetěves. Konkrétně se jednalo o aplikaci oreganové silice, která byla z rostlinného materiálu získána pomocí destilační metody. Složení použité oreganové silice je uvedené v tabulce č. 10. Dále byly silice enkapsulovány v poměru 1:1 do křemičitých nanočástic.

Tabulka č. 10: Složení použité oreganové silice z Výzkumné stanice Uhřetěves.

Složka silice	Zastoupení [%]
α -pinen	0,41
kamphen	0,17
β -pinen	0,80
1-octen-3-ol	0,35
β -myrcen	0,19
3-octanol	0,52
α -phellandren	0,13
α -terpinen	0,42
<i>p</i> -cymen	10,32
D-limonen	0,67
eucalyptol	0,99
γ -terpinen	2,56
terpinolene	0,16
linalool	1,45
kamphor	0,69
borneol	1,03
4-terpineol	0,96
(-)-karvon	0,50
thymol	4,05
karvakrol	67,14
kopaen	0,12
karyophyllen	1,09
α -karyophyllen	0,35
α -bisabolen	0,11
δ -kadinen	0,27
karyophyllenyl alcohol	0,13
karyophyllene oxid	1,35

4.4 Kachní maso

Chlazená kachní prsa zbavená kůže, která byla použita pro účely experimentu, byla zakoupena v kamenném obchodě Kachnička narůžovo (Nuselská 4, Praha 4). Kachní maso prodávané touto firmou pocházejí z farem z jižních a středních Čech a jeho následné zpracování je prováděno v provozovně v Mirovicích. Zakoupená kachní prsa byla do doby experimentu skladována v chladničce při teplotě 4 °C.

4.5 Příprava vzorků

4.5.1 Enkapsulace silic do křemičitých nanočástic

Křemičité nanočástice se navázily do skleněných vialek, do kterých byly poté napipetovány silice. Koncentrace silice:nanočástice byla 1:1. Takto připravené vialky byly připevněny na třepačku a umístěny do termostatu vyhřátého na 60° C, kde se třepaly po dobu 24 hodin.

4.5.2 Příprava bakteriálního inokula

Bakteriální inokulum z bakterií *Salmonella enterica* sv *Enteritidis* ATCC 13076 a *Escherichia coli* ATCC 25922 bylo připraveno vždy 24 hodin předem z kultur, které se nechaly inkubovat při 37 °C. Finální příprava inokula o počtu bakterií 10⁸ KTJ.ml⁻¹ spočívala v naředění a homogenizaci bakteriálních kolonií v Mueller-Hintonově bujónu na denzitu, která odpovídala McFarlandovu standardu 0,5. Denzita bakteriální suspenze byla měřena na denzitometru (DEN-1B, Biosan).

4.5.3 Příprava a ošetření kachního masa

Celková příprava kachního masa byla provedena v prostředí laminárního boxu (SCS-III, Merci, CZ), který zaručuje sterilní prostředí ošetření. Nejprve bylo potřeba odstranit z povrchu kachního masa veškeré patogeny. K tomu byl použit 70% etanol, ve kterém se jednotlivá kachní prsa vždy 30 sekund namáčela. Takto ošetřené maso se nechalo oschnout a poté se celá prsa mrazila při -18 °C. Po částečném rozmrznutí byly z masa odříznuty veškeré části, které byly v kontaktu s lihem. Takto připravené maso bylo nakrájeno na kousky o hmotnosti 5 g (±0,1 g).

Každý kousek masa (5 g) byl zaočkován 50 µl bakteriálního inokula dané bakterie a nechal se oschnout. Dalším krokem bylo ošetření masa dle požadovaných variant (OR, KK, KZ, KV), které jsou znázorněné v tabulce č. 11. Příprava vzorků OR po zaočkování inokulem pokračovala obalením kousku masa v 50 mg křemičitých nanočástic s enkapsulovanou silicí

oregana. V experimentu byly následně použity 3 kontroly. Těmi byly vzorky KK, které se připravovaly obalením kousku masa v 25 mg čistých křemičitých nanočástic a sloužily jako kontrola křemičitých nanočástic. Dále jako kontrola sloužily vzorky KV, kdy kontrola spočívala v omytí masa sterilní destilovanou vodou, konkrétně 50 ml. Poslední kontrolou byly vzorky KZ, tedy kontrola nárůstu bakterií, takto ošetřené kousky masa už se dále nijak neošetřovaly. Všechny varianty byly připraveny ve třech opakováních. Takto ošetřené kousky masa byly skladovány v plastových Petriho miskách při chladírenské teplotě 4 °C a vyhodnocovány 1., 7. a 14. den skladování.

Tabulka č. 11: Zkratky variant zaočkování.

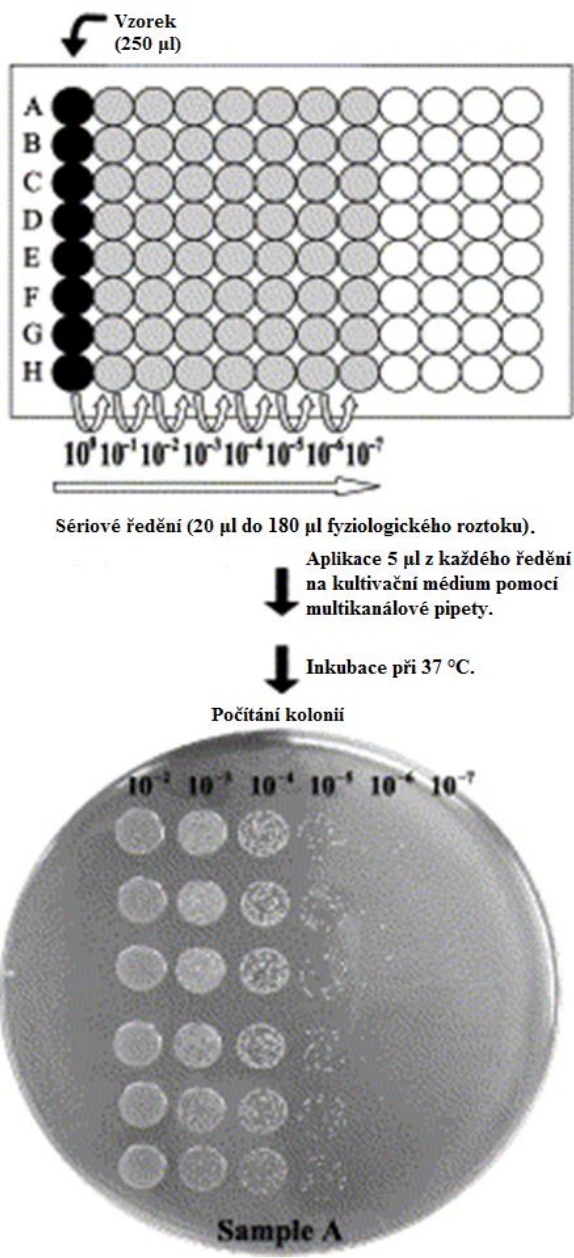
Zkratka	Varianta
OR + SE	oreganová silice + <i>Salmonella enteritidis</i>
OR + EC	oreganová silice + <i>Escherichia coli</i>
KK + SE	kontrola křemičitany + <i>Salmonella enteritidis</i>
KK + EC	kontrola křemičitany + <i>Escherichia coli</i>
KZ + SE	kontrola zaočkování + <i>Salmonella enteritidis</i>
KZ + EC	kontrola zaočkování + <i>Escherichia coli</i>
KV + SE	kontrola voda + <i>Salmonella enteritidis</i>
KV + EC	kontrola voda + <i>Escherichia coli</i>

4.6 Mikrobiologická analýza

Vzorky masa byly v příslušných dnech (1., 7. a 14. den po ošetření) vyhodnocovány pomocí mikrobiologické analýzy za použití kapkové metody dle Chen et al. (2003). K potřebám mikrobiologické analýzy bylo potřeba běžného laboratorního náradí, analýza se uskutečnila ve sterilním prostředí laminárního boxu (SCS-III, Merci, CZ). Každý vzorek byl přemístěn do sterilní Erlenmeyerovy baňky, kde se k němu přidal fyziologický roztok v množství 50 ml. Takto připravené vzorky se umístily na třepačku, kde se třepaly po dobu 5 minut. Z vytřepaných vzorků byla vždy odebrána tekutina, která byla pomocí multikanálové pipety v množství 200 µl napipetována do první jamky ve všech řádcích mikrodiluční destičky – dle obrázku č. 5. Do ostatních jamek destičky bylo následně napipetováno 180 µl fyziologického roztoku. Následně bylo pomocí multikanálové pipety odebráno 20 µl ze vzorkové tekutiny a přendáno do následujícího sloupce s fyziologickým roztokem a řádně promícháno. Tento postup

se opakoval v každém sloupci, a tak došlo k vytvoření ředící řady (Obrázek č. 5). V těchto krocích je velmi důležité vyměňovat špičky mezi každým ředěním.

Nakonec bylo z každého ředění každé varianty pomocí multikanálové pipety odpipetováno 5 μ l roztoku a naneseno na Petriho misky. Ty byly použity jak se selektivním, tak s neselektivním kultivačním médiem a vždy ve 2 opakováních. Takto připravené Petriho misky byly umístěny do termostatu, kde probíhala inkubace při teplotě 37 $^{\circ}$ C po dobu 24 hodin.



Obrázek č. 4: Schéma Kapkové metody dle Chen et al., (2003).

Po uplynutí 24 hodin byly vzorky vyhodnocovány. Vyhodnocení počtu bakterií po kultivaci spočívalo v spočítání narostlých kolonií na jednotlivých Petriho miskách. Počet bakterií vyjádřený pomocí jednotek KTJ.g⁻¹ byl poté stanoven pomocí následujícího vzorce:

$$N = C/v (n_1 + 0,1 n_2) d$$

Kde: **C** je celkový počet kolonií na všech spočítaných miskách (kapkách)

v je objem jedné kapky

n₁ je počet kapek v prvním ředění

n₂ je počet kapek ve druhém ředění

d je ředění, ze kterého vzešel první počet kapek

4.7 Senzorická analýza

Cílem sensorické analýzy bylo stanovit vliv oreganové silice na sensorické vlastnosti kachního masa a na jeho celkovou přijatelnost pro spotřebitele. K sensorické analýze hodnocení kachního masa ošetřeného oreganovou silicí v různých formách bylo přizváno 14 proškolených hodnotitelů a hodnocení probíhalo v sensorické laboratoři. Na začátku hodnocení byli hodnotitelé seznámeni pouze se základními informacemi týkající se samotné analýzy. Své hodnocení zaznamenávali do předem připravených formulářů (příloha č. 7). Tyto formuláře byly vytvořeny za použití nestrukturované grafické stupnice s hodnocením intenzity.

Příprava vzorků masa pro sensorickou analýzu byla provedena tak, aby bylo použito stejné maso jako během experimentu, a zároveň, aby úprava masa byla co nejvíce podobná běžné kulinární úpravě masa. Tudíž byla zakoupena kachní prsa, která byla celá upravena podle požadovaného ošetření. Celkem byly připraveny 3 varianty ošetření masa: oplach ve vodě, ošetření křemičitanovými nanočásticemi enkapsulovanými oreganovou silicí a ošetření emulzí čisté oreganové silice.

Takto ošetřená prsa byla skladována v lednici při teplotě 4 °C po dobu 24 hodin. Následující den byla všechna prsa důkladně omyta a vysušena. Takto připravené maso bylo připraveno pečením na pánvi z každé strany po dobu 10 minut, poté bylo přemístěno do sušárny předehřáté na 50 °C. Hodnotitelům byly servírovány teplé, přibližně 5gramové plátky ze středních částí masa. Tyto kousky byly zakódovány čtyřmístným kódem, který měl hodnotiteli znemožnit orientaci mezi vzorky. Maso bylo hodnotitelům podáváno společně s formulářem. Pro neutralizaci chuti mezi jednotlivými vzorky bylo hodnotitelům nabídnuto bílé pečivo, sklenka vody a 30% líh. Vzorky byly hodnotitelům předkládány v pořadí

od nejméně ošetřeného vzorku masa až po vzorek s předpokládaným nejvyšším chuťovým vjemem.

4.8 Statistické vyhodnocení

Statistické vyhodnocení výsledků bylo provedeno pomocí programu Statistica 12 (StatSoft CR s.r.o.). Výsledky mikrobiologické analýzy byly hodnoceny pomocí analýzy rozptylu s použitím jednofaktorového testu ANOVA a Tukeyho HSD testu. Rozdíly mezi jednotlivými způsoby ošetření byly hodnoceny za použití neparametrického chí – kvadrát testu (testu dobré shody). Rozdíly sensorické analýzy byly hodnoceny za použití analýzy rozptylu s použitím jednofaktorového testu ANOVA a Tukeyho HSD testu. Statistické testování mikrobiologické i sensorické analýzy bylo provedeno na hladině významnosti $\alpha = 0,05$.

5 Výsledky

5.1 Vyhodnocení mikrobiologické analýzy

Cílem mikrobiologické analýzy bylo prokázat antimikrobiální aktivitu oreganové silice enkapsulované do křemičitých nanočástic proti patogenním mikroorganismům na kachním mase. Stanovován byl i jejich vliv na celkový počet mikroorganismů. Vyhodnocení vzorků bylo prováděno podle počtu kolonií bakterií *E. coli* a *S. enteritidis* na selektivních kultivačních médiích. Celkový počet mikroorganismů byl pak stanovován na neselektivním agaru. Počet patogenních mikroorganismů i celkový počet mikroorganismů byl stanovován vždy 1., 7. a 14. den v průběhu skladování.

5.1.1 Bakterie *Salmonella enteritidis*

Z grafu č. 1 je zřejmé, že použitá oreganová silice enkapsulovaná do křemičitých nanočástic vykazovala výraznou antimikrobiální aktivitu proti patogenní bakterii *Salmonella enteritidis*, neboť se při vyhodnocování po 1., 7. i 14. dnu počty bakterií vždy rovnaly nule. Naproti tomu všechny 3 kontroly zaznamenaly nárůst bakterií.

Účinnost oreganové silice enkapsulované do křemičitých nanočástic (OR + SE) tak byla patrná již od 1. dne skladování, kdy byl počet bakterií na kontrole zaočkování (KZ + SE) 6,1 log KTJ.g⁻¹. V průběhu pokusu, tedy při 7. dni skladování, došlo ještě k výraznějšímu prohloubení rozdílů mezi vzorkem ošetřeným oreganovou silicí enkapsulovanou do křemičitých nanočástic a vzorkem s kontrolou zaočkování. Zatímco na vzorku OR + SE zůstával stále nulový nárůst bakterií, počet bakterií na kontrole zaočkování vzrostl až na 7,7 log KTJ.g⁻¹. Na konci každého opakování pokusu, tedy po uplynutí doby 14 dnů, zůstával počet bakterií *S. enteritidis* totožný jako po uplynutí doby 7 dnů, a to jak na vzorku OR + SE, tak na vzorku KZ + SE (viz příloha č. 5).

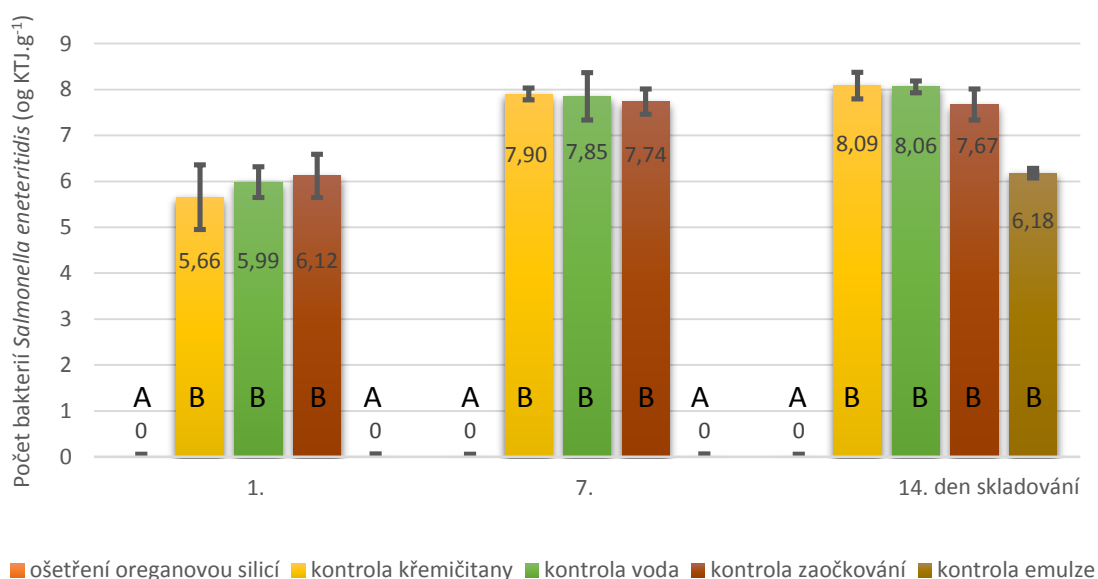
Počet bakterií *S. enteritidis* postupně vzrůstal i v případě vzorku ošetřeného pouze křemičitými nanočásticemi (KK + SE). Při vyhodnocení po 1. dni byl počet bakterií *S. enteritidis* na vzorku KK + SE 5,7 log KTJ.g⁻¹, při následném vyhodnocení, tedy po uplynutí doby 7 dnů tento počet vzrostl na necelých 7,9 log KTJ.g⁻¹. Můžeme tedy říci, že i samotné křemičité nanočástice vykazovaly první týden mírné antimikrobiální účinky. Jejich počet však oproti kontrole zaočkování vzrostl při 14. dnu pokusu, kdy se rovnal 8,1 log KTJ.g⁻¹.

Co se týče kontroly oplachu vodou (KV + SE), ta v porovnání s kontrolou zaočkování počet bakterií *S. enteritidis* příliš neovlivnila, mezi vzorky nejsou statisticky významné rozdíly.

Jejich počet byl při vyhodnocení po 1. dni pokusu 6 log KTJ.g⁻¹, při vyhodnocení po týdnu se rovnal 7,9 log KTJ.g⁻¹ a po 14 dnech dosahoval počtu 8,1 log KTJ.g⁻¹.

Zajímavé výsledky v počtu bakterií *S. enteritidis* vykazovalo ošetření masa kontrolou emulze. Ta vykazovala statisticky významné rozdíly jak oproti ošetření kontrolou zaočkování, tak oproti ošetření oreganovou silicí enkapsulovanou do křemičitých nanočástic. Při vyhodnocení po 1. dni a po 7. dni se sice počet bakterií *S. enteritidis* rovnal nule, 14. den pokusu však stoupl na 6,2 log KTJ.g⁻¹.

Graf č. 1: Počty bakterií *Salmonella enteritidis*.



Pozn.: Stejná písmena ve sloupcích grafu vyjadřují statisticky nevýznamné rozdíly mezi hodnotami v jednom dni ($p > 0,05$).

5.1.2 Bakterie *Escherichia coli*

U vzorků, které byly zaočkovány bakterií *Escherichia coli*, byla účinnost oreganové silice enkapsulované do křemičitých nanočástic (OR + EC) velmi podobná antimikrobiálnímu účinku proti bakterii *S. enteritidis*.

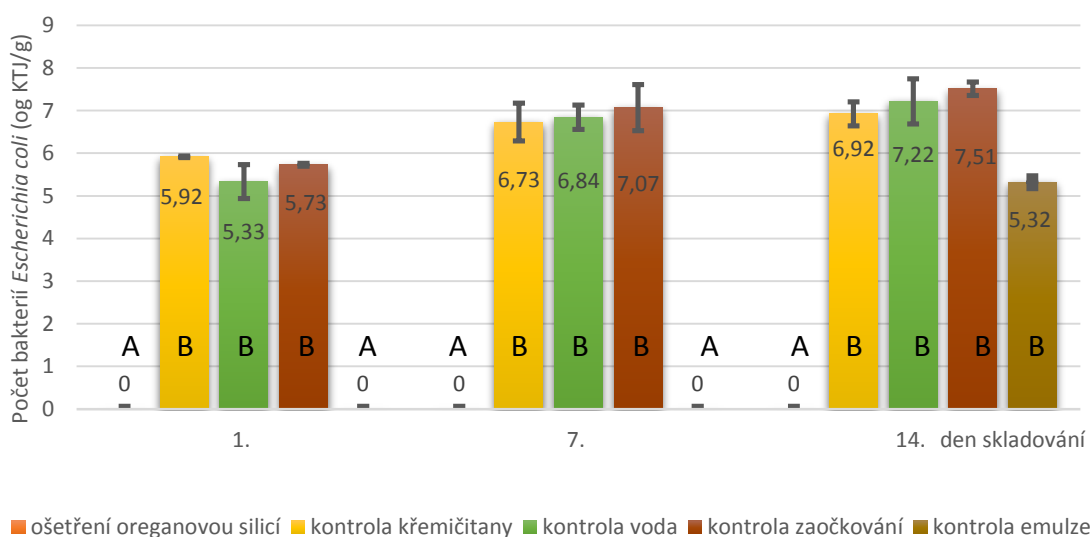
Z grafu č. 2 je patrné, že oreganová silice enkapsulovaná do křemičitých nanočástic byla stoprocentně účinná i proti bakterii *E. coli*. Počty log KTJ.g⁻¹ bakterie *E. coli* však byly nižší než počty log KTJ.g⁻¹ bakterie *S. enteritidis*. Po uplynutí doby 1 dnu se tyto počty sice také rovnaly téměř 6 log KTJ.g⁻¹, ale po 7 dnech tato hodnota dosahovala hodnoty 7 log KTJ.g⁻¹ a po 14 dnech 7,5 log KTJ.g⁻¹. Ale zatímco u bakterie *S. enteritidis* počet bakterií po 14 dnech

zůstal stejný jako při vyhodnocení po uplynutí doby 7 dní, u bakterie *E. coli* po 14 dnech ještě stále mírně rostl.

Počet bakterií *E. coli* postupně vzrůstal i v případě ošetření masa pouze křemičitými nanočásticemi (KK + EC). Při vyhodnocení po 24 hodinách se rovnal 5,9 log KTJ.g⁻¹, po týdnu dosahoval počtu 6,7 log KTJ.g⁻¹ a po 14 dnech 6,9 log KTJ.g⁻¹. Oproti KZ + EC, byl však počet bakterií *E. coli* při vyhodnocení KK + EC po 24 hodinách o 0,2 log KTJ.g⁻¹ vyšší.

Počet bakterií *E. coli* ovlivnila také kontrola emulze. Ta, stejně jako u bakterie *S. enteritidis*, vykazovala statisticky významné rozdíly, a to jak oproti ošetření kontrolou zaočkování, tak oproti ošetření vzorku oreganovou silicí enkapsulovanou do křemičitých nanočástic. Při vyhodnocení pokusu po 24 hodinách a po 1 týdnu se počet bakterií *E. coli* opět rovnal nule, 14. den pokusu však stoupl na 5,3 log KTJ.g⁻¹.

Graf č. 2: Počty bakterií *Escherichia coli*.



Pozn.: Stejná písmena ve sloupcích grafu vyjadřují statisticky nevýznamné rozdíly mezi hodnotami v jednom dni ($p > 0,05$).

5.1.3 Celkové počty mikroorganismů

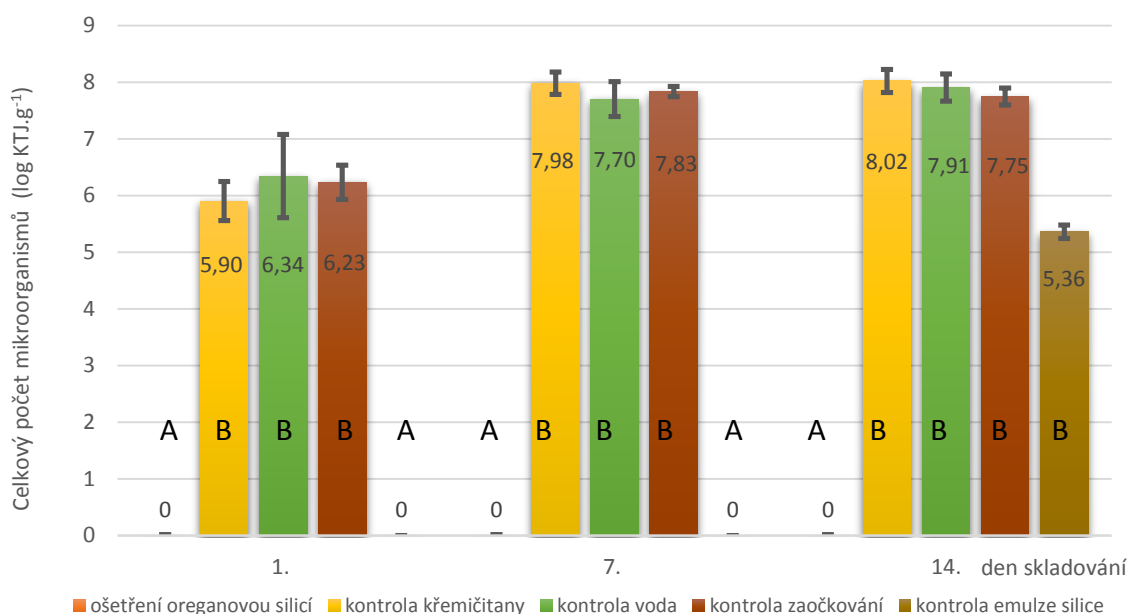
Oreganová silice enkapsulovaná do křemičitých nanočástic dokázala zcela inhibovat i celkové počty mikroorganismů. Z grafu č. 3 je patrné, že celkový počet bakterií u vzorků masa ošetřených jako kontrola zaočkování bakterií *S. enteritidis* v průběhu skladování rostl, při vyhodnocení po 1 dni dosahoval počtu 6,2 log KTJ.g⁻¹, po uplynutí doby 7 dnů vzrostl na hodnotu 7,8 log KTJ.g⁻¹, která zůstala stejná i při vyhodnocení po 14 dnech, tedy 7,8 log KTJ.g⁻¹.

Podobná situace nastala i v případě ošetření vzorků masa pouze křemičitými nanočásticemi. Při vyhodnocení po 1. dni pokusu dosahoval celkový počet mikroorganismů $5,9 \log \text{KTJ.g}^{-1}$, po uplynutí doby 7 dní se celkový počet mikroorganismů rovnal $8 \log \text{KTJ.g}^{-1}$, stejný zůstal i při vyhodnocování po 14 dnech, tedy $8 \log \text{KTJ.g}^{-1}$.

Co se týče celkového počtu mikroorganismů u vzorků masa zaočkovaných *S. enteritidis* a následně omytých vodou, probíhal postupný nárůst mikroorganismů po celou dobu trvání pokusu. Po 1. dni dosahoval celkový počet mikroorganismů hodnoty $6,3 \log \text{KTJ.g}^{-1}$, po 7. dni vzrostl celkový počet mikroorganismů na $7,7 \log \text{KTJ.g}^{-1}$ a 14. den se rovnal $7,9 \log \text{KTJ.g}^{-1}$.

Celkový počet mikroorganismů u vzorků ošetřených jako kontrola emulze se 1. a 7. den doby trvání pokusu rovnal nule, 14. den vyhodnocení však vzrostl na $5,4 \log \text{KTJ.g}^{-1}$.

Graf č. 3: Celkový počet mikroorganismů u vzorků masa zaočkovaných bakterií *Salmonella enteritidis*.



Pozn.: Stejná písmena ve sloupcích grafu vyjadřují statisticky nevýznamné rozdíly mezi hodnotami v jednom dni ($p > 0,05$).

Celkový počet mikroorganismů u vzorků, které byly vyhodnocovány společně se vzorky zaočkovanými bakterií *E. coli*, byl díky oreganové silici enkapsulované do křemičitých nanočástic inhibován po celou dobu trvání pokusu. Z grafu č. 4 je patrné, že celkový počet bakterií u vzorků masa ošetřených jako kontrola zaočkování bakterií *E. coli* v průběhu skladování rostl, při vyhodnocení po 1 dni dosahoval počtu $5,9 \log \text{KTJ.g}^{-1}$, po uplynutí doby

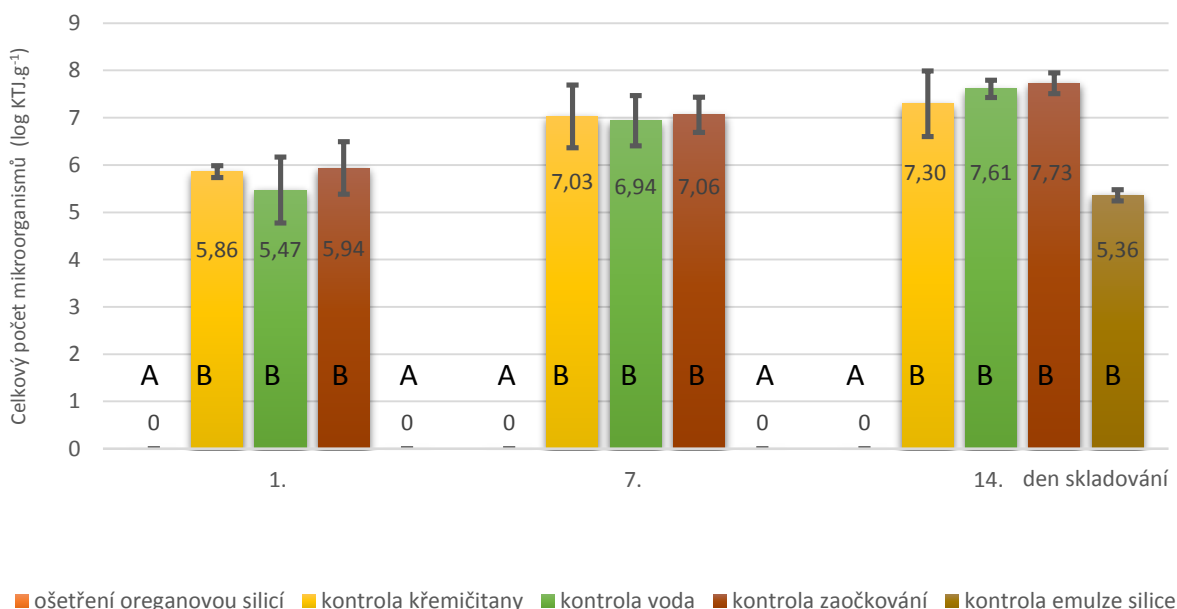
7 dnů vzrostl na hodnotu 7,1 log KTJ.g⁻¹ a při vyhodnocení po 14 dnech dosahoval hodnot 7,7 log KTJ.g⁻¹.

Podobná situace nastala i v případě ošetření vzorků masa pouze křemičitými nanočásticemi. Při vyhodnocení po 1. dni pokusu dosahoval celkový počet mikroorganismů 5,9 log KTJ.g⁻¹, po uplynutí doby 7 dní se celkový počet mikroorganismů rovnal 7 log KTJ.g⁻¹, stejný zůstal i při vyhodnocování po 14 dnech, tedy 7,3 log KTJ.g⁻¹.

Co se týče celkového počtu mikroorganismů u vzorků masa zaočkovaných bakterií *E. coli* a následně omytých vodou, byl celkový počet mikroorganismů nižší, než celkový počet mikroorganismů kontroly zaočkování. Po 1. dni trvání pokusu dosahoval celkový počet mikroorganismů hodnoty 5,5 log KTJ.g⁻¹, což je o 0,4 KTJ.g⁻¹ méně než celkový počet mikroorganismů na vzorku masa ošetřeném jako kontrola zaočkování. Po uplynutí doby 7 dní vzrostl celkový počet mikroorganismů na vzorku masa omytém vodou na 6,9 log KTJ.g⁻¹ a 14. den se rovnal 7,6 log KTJ.g⁻¹.

Celkový počet mikroorganismů u vzorků ošetřených jako kontrola emulze se 1. a 7. den doby trvání pokusu rovnal nule, 14. den vyhodnocení však vzrostl na 5,4 log KTJ.g⁻¹.

Graf č. 4: Celkový počet mikroorganismů u vzorků masa zaočkovaných bakterií *E. coli*.



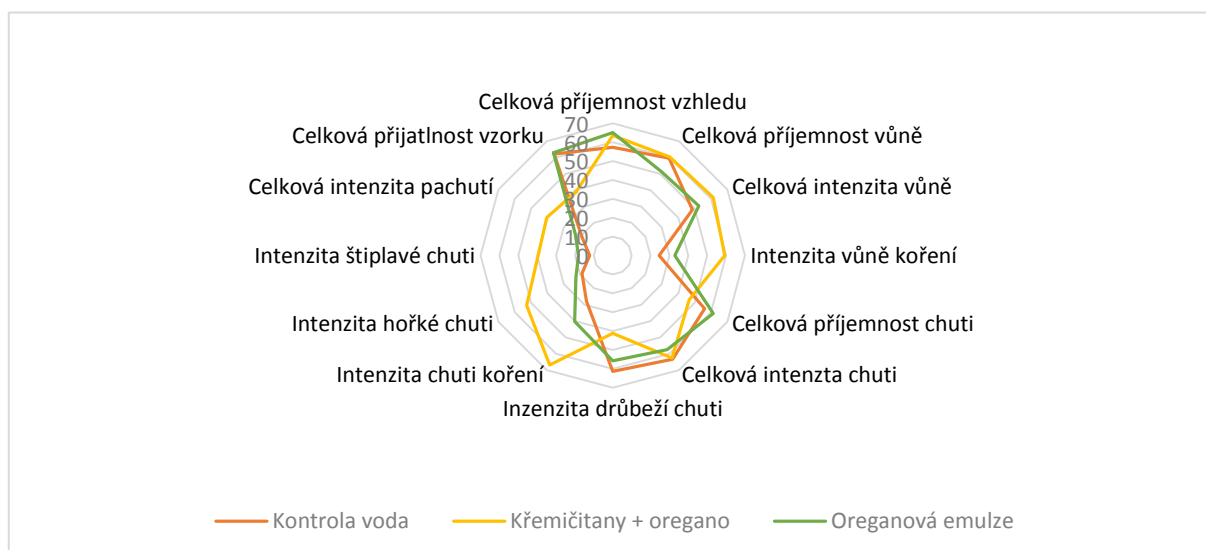
Pozn.: Stejná písmena ve sloupcích grafu vyjadřují statisticky nevýznamné rozdíly mezi hodnotami v jednom dni ($p > 0,05$).

Z grafů č. 3 a 4 je také patrné, že celkový počet mikroorganismů byl v případě vzorků masa zaočkovaných bakterií *E. coli* nižší, než celkový počet mikroorganismů u vzorků

zaočkovaných bakterií *S. enteritidis*. A to jak v případě vzorků kontrol zaočkování, tak v případě vzorků kontrol křemičitanů. A jinak tomu nebylo ani u vzorku ošetřeným oplachem vodou. Stejný počet bakterií, tedy nulový, zůstal v případě ošetření oreganovou silicí enkapsulovanou do křemičitých nanočástic. A nic se nezměnilo ani u vzorků kontrol emulze, kdy 1. a 7. den vyhodnocení byl celkový počet bakterií nulový a 14. den vzrostl na 5,4 KTJ.g⁻¹.

5.2 Vyhodnocení sensorické analýzy

Cílem sensorické analýzy bylo zjistit, jak ošetření křemičitými nanočásticemi s enkapsulovanou oreganovou silicí ovlivňuje sensorické vlastnosti kachního masa. Bylo důležité vyhodnotit celkovou přijatelnost vzorků ošetřených ve srovnání se vzorky kontrolními.



Graf č. 5: Hodnocení deskriptorů sensorické analýzy vzorků ošetřených oreganovou silicí enkapsulovanou do křemičitých nanočástic.

Pro vzájemné porovnání deskriptorů byl použit paprskový graf. Z tohoto grafu je patrné, že pro hodnotitele byly více přijatelné vzorky kontrol, ve srovnání se vzorkem ošetřeným oreganovou silicí enkapsulovanou do křemičitých nanočástic (graf č. 5). Z těchto kontrol preferovali hodnotitelé vzorek ošetřený emulzí oreganové silice před vzorkem pouze opláchnutým vodou, nicméně rozdíl byl malý a statisticky nevýznamný. Z grafu je také čitelné, že celková přijatelnost vzorku byla ovlivněna celkovou příjemností chuti, jelikož tam dali hodnotitelé přednost vzorkům kontrolním. Celková přijatelnost vzorku byla dále ovlivněna výskytem pachutí, které se více objevovaly u vzorků ošetřených oreganovou silicí enkapsulovanou do křemičitých nanočástic, než u obou kontrol. Grafy prokázaly, že přídavek silice potlačuje typickou drůbeží chuť, kterou právě oregano přebíjí, jeho vysoká koncentrace

může ale být negativní. Výsledky ukazují, že namísto příjemné chuti koření, se častěji objevovala chuť štiplavá a hořká. Někteří hodnotitelé zmínili také jiné pachutě, jako kořeněnou, nahořklou či oreganovou.

Z grafu je také patrné, že díky přidavku oreganové silice došlo u vzorků k potlačení typické drůbeží chuti, která byla přebita intenzivní chutí koření. Tu přebíjela oreganová silice enkapsulovaná do křemičitých nanočástic více, než oreganová silice aplikovaná na maso ve formě emulze.

Statistické vyhodnocení výsledků senzorké analýzy bylo provedeno na hladině významnosti $\alpha = 0,05$. Popis statisticky významných rozdílů je znázorněn v tabulce č. 12. V případě celkové přijatelnosti vzhledu ani vůně vzorků nebyl prokázán statisticky významné rozdíly. V případě intenzity vůně koření byl patrný statisticky významný rozdíl mezi čistým kachním masem a oběma kontrolními vzorky.

Tabulka č. 12: Zhodnocení deskriptorů u vzorků ošetřených oreganovou silicí a dvou kontrol: kontrola emulze a kontrola voda [%].

Hodnocené deskriptory	Kontrola voda		Křemičitany + oregano		Kontrola emulze	
	\bar{x}	σ	\bar{x}	σ	\bar{x}	σ
Celková příjemnost vzhledu	57,3	$\pm 22,3^a$	63,6	$\pm 24,3^a$	65,1	$\pm 15,6^a$
Celková příjemnost vůně	59,6	$\pm 17,9^a$	60,4	$\pm 24,2^a$	51,4	$\pm 20,6^a$
Celková intenzita vůně	48,7	$\pm 21,2^a$	61,4	$\pm 22,8^a$	52,6	$\pm 14,5^a$
Intenzita vůně koření	24,6	$\pm 22,6^a$	59,3	$\pm 27,1^b$	32,9	$\pm 19,4^{ab}$
Celková příjemnost chuti	56,1	$\pm 24,1^a$	46,8	$\pm 22,5^a$	61,4	$\pm 20,8^a$
Celková intenzita chuti	63,3	$\pm 25,0^a$	62,5	$\pm 24,1^a$	57,5	$\pm 13,1^a$
Intenzita drůbeží chuti	61,4	$\pm 24,6^a$	41,1	$\pm 21,8^a$	55,8	$\pm 19,9^a$
Intenzita chuti koření	27,9	$\pm 28,5^a$	66,8	$\pm 27,7^b$	40,3	$\pm 23,8^{ab}$
Intenzita hořké chuti	18,9	$\pm 27,4^a$	52,7	$\pm 33,1^b$	22,5	$\pm 20,1^{ab}$
Intenzita štiplavé chuti	12,3	$\pm 23,6^a$	39,5	$\pm 27,7^b$	18,1	$\pm 16,2^{ab}$
Celková intenzita pachutí	18,6	$\pm 23,4^a$	40,4	$\pm 25,4^a$	22,9	$\pm 17,7^a$
Celková přijatelnost vzorku	62,1	$\pm 26,0^a$	38,9	$\pm 18,4^a$	62,9	$\pm 17,8^a$

Pozn.: \bar{x} – aritmetický průměr; σ – směrodatná odchylka; a, b – stejná písmena v řádku znamenají statisticky nevýznamné rozdíly mezi hodnotami ($p > 0,05$).

6 Diskuze

Cílem této práce bylo zhodnocení vlivu oreganové silice enkapsulované do křemičitých nanočástic na dobu trvanlivosti kachního masa a výskyt patogenních mikroorganismů. Jelikož maso patří mezi suroviny, které snadno podléhají mikrobiální zkáze, je nutná jeho konzervace (Warriss, 2000). Metody konzervace mohou být různé. V poslední době dávají lidé stále častěji přednost přírodním konzervačním technikám před těmi chemickými (Kerth, 2013). Mezi takové patří i prodloužení trvanlivosti masa pomocí silic, které jsou díky svým antimikrobiálním vlastnostem známé už od středověku (Bakkali et al., 2008).

V této diplomové práci byl prokázán účinek silice enkapsulované do křemičitých nanočástic na celkový počet mikroorganismů i patogenních bakterií na kachním mase. Pro účely experimentu byla vybrána silice z oregana. Právě výběr silice může mít na antimikrobiální účinek velký vliv. Oreganová silice byla zvolena na základě předešlých studií jiných autorů, kterým se podařil antimikrobiální účinek oregana prokázat. Příkladem může být studie provedená autory Penalver et al. (2005), kteří dokázali antimikrobiální aktivitu oreganové silice proti bakteriím typicky se vyskytujícím na drůbežím mase. Mezi tyto testované bakterie patřila jak *Salmonella enteritidis*, tak *Escherichia coli*. Antimikrobiální účinek oreganové silice proti *E. coli* prokázali také Burt et Reinders, (2003), ti zároveň testovali účinek oreganové a tymiánové silice. Výsledkem jejich studie byla jasná převaha antimikrobiálního účinku silice oreganové, která vykazovala rozdíl počtu bakterií o 4 log KTJ.g⁻¹.

Studie některých autorů jsou naopak zaměřené pouze na antimikrobiální účinek hlavních součástí silic. Těmito složkami jsou v oreganové silici karvakrol a thymol a právě jimi se ve své práci zabývali Mastromatteo et al., (2009). Závěrem jejich studie bylo, že karvakrol a thymol jsou zodpovědné za hlavní antimikrobiální účinek. S tím však ve své práci nesouhlasí Bajpai et al., (2012), kteří tvrdí, že proti patogenním mikroorganismům je účinnější použití silice jako celku, tedy se všemi jejími složkami. Což ve své práci uvádí už i autoři Paster et al., (1995), jejichž názorem je, že za účinek silic může být zodpovědný synergický efekt jednotlivých chemických složek.

Zvolit vhodnou koncentraci silice může však být obtížné. Neboť množství, které je účinné proti patogenním mikroorganismům, může být zároveň nepříjemné ze sensorického hlediska. V diplomové práci byla použita koncentrace silice:křemičitanu 1:1 w/w, při které došlo k celkové inhibici počtů mikroorganismů. Lze se tedy domnívat, že použitou koncentraci je možné snížit a tím i kladně ovlivnit sensorické vlastnosti ošetřeného masa. Neboť právě sensorické vnímání chuti bylo v naší práci vnímáno oproti kontrolním vzorkům negativně.

Chuť byla hodnocena jako příliš intenzivní a hodnotitelé popisovali nepříjemné pachutě, jako jsou hořká, či nahořklá a svíravá chuť. Sensorické hodnocení chuti oreganové silice na mase bylo podobné i ve studii Chouliara et al., (2007). Autoři použili množství silice 1 % v/w, které bylo hodnotiteli označeno za velmi silnou chuť. K podobným závěrům došli ve své práci i Ntzimani et al., (2011), kteří ve své práci aplikovali oreganovou silici na kuřecí maso v množství 0,2 % v/w a hodnotitelé vnímali tuto chuť negativně, hlavní pachutě byla označena jako nahořklá.

Vzorek, který většina hodnotitelů sensorické analýzy označila jako nejlepší, co se týče celkové příjemnosti chuti, byl vzorek ošetřený jako kontrola emulze silice. Tento vzorek vykazoval zajímavé výsledky i při analýze mikrobiologické. Jak počet bakterií *S. enteritidis*, *E. coli*, tak i celkový počet mikroorganismů se 1. a 7. den vyhodnocení rovnal nule, 14. den vyhodnocení však vzrostl. Skandamis et Nychas, (2001) ve své studii zmiňují, že oreganová silice by mohla představovat jeden z faktorů, které musí bakterie překonat, aby mohly přežít. Čím vyšší je koncentrace silice, tím těžší je tuto překážku překonat. Koncentrace silice však po uplynutí určité doby klesá a může docházet k znovu oživení mikroorganismů a jejich dalšímu množení.

Tento trend se však neprojevil u oreganové silice enkapsulované do křemičitých nanočástic. Ty díky své schopnosti uvolňovat silici do prostředí postupně, zajistily, že vzorky masa s tímto ošetřením ani po 14 dnech nevykazovaly žádnou mikrobiální aktivitu. Tuto teorii ve své práci potvrzují i autoři Donsi et al., (2011), kteří tvrdí, že metoda enkapsulace dokáže zvýšit fyzikální stabilitu účinných látek, chránit je před interakcemi se složkami potravy. Rozhodující vliv na konečný antimikrobiální účinek enkapsulovaných silic však má typ látek, které se k enkapsulaci použijí. Moraes-Lovison et al., (2017) ve své práci použili nanoemulzi oreganové silice k ověření antimikrobiálního účinku proti bakteriím *E. coli* a *Staphylococcus aureus* v kuřecím páté. Koncentrace oreganové silice použité proti bakterii *E. coli* byla $0,6 \text{ mg.ml}^{-1}$ a její antimikrobiální účinek byl podobný účinku čisté oreganové silice, jak ve své práci zmiňují například autoři Burt et Reinders, (2003), či Lambert et al., (2001). Zvýšenou antimikrobiální aktivitu vykazoval ve studii autorů Gaysinsky et al., (2005) například eugenol a karvakrol enkapsulovaný do povrchově aktivních micel. Svým antimikrobiálním účinkem se osvědčila také enkapsulace silic do jílovitých nanočástic, které ve své práci použili autoři Tornuk et al., (2015). Ti použili tymiánovou silici enkapsulovanou do jílovitých nanočástic jako součást tzv. aktivního balení, kde byly jílovité nanočástice aplikovány do fólie, kterou bylo obaleno hovězí maso. V naší práci použité křemičité nanočástice MCM-41 byly již použité k inhibici plísně *Aspergillus niger*. V práci autorů Janatova et al., (2015) bylo do těchto

materiálů enkapsulováno 7 látek: thymol, karvakrol, tymochinon, eugenol, trans-cinnamaldehyd, diallyl disulfid a allyl isothiokyanát. A antifungální aktivita byla prokázána u 5 z nich: eugenolu, tymochinonu, cinnamaldehydu, tymolu a karvakrolu.

Z výsledků této diplomové práce je patrné, že samotné křemičité nanočástice žádnou antimikrobiální aktivitu nevykazují, mezi kontrolou křemičitanů a kontrolou zaočkování se nepotvrdily statisticky významné rozdíly a za působení proti mikroorganismům je tedy zodpovědný jak typ enkapsulované látky, tak i typ použitých nanočástic.

Antimikrobiální účinek silice může ovlivnit také druh použitého masa. Na kachním mase nebyl zatím testován žádný druh silice. Ale autoři Skandamis et al., (2002) ji již zkoušeli aplikovat na hovězí maso, kde působila proti bakterii *Salmonella typhimurim*. Při koncentraci oreganové silice 0,8 % v/w klesl počet mikroorganismů o 1 – 2 log KTJ.g⁻¹. Antimikrobiální účinek oreganové silice zkoušeli také na mletém hovězím mase autoři Emiroğlu et al., (2010). Ti dohromady testovali 5 různých koncentrací oreganové silice (1, 2, 3, 4 a 5 %) a zjistili, že čím vyšší koncentrace silice byla na mletém hovězím mase použita, tím vyšší antimikrobiální aktivitu proti *E. coli* oreganová silice vykazovala. Antimikrobiální účinek oreganové silice na mletém hovězím mase testovali také autoři Skandamis et Nychas, (2001), kteří zjistili, že při koncentraci 1 % v/v oreganové silice se celkový počet mikroorganismů sníží o 3,3 log KTJ.g⁻¹ oproti neošetřenému masu. Ve studii autorů Chouliara et al., (2007) byl testován antimikrobiální účinek oreganové silice na čerstvém kuřecím mase. Pro účely pokusu byla použita 1% v/v oreganová silice. Počet bakterií z čeledi *Enterobacteriaceae* se z původních 2,8 log KTJ.g⁻¹ snížil pod 1 log KTJ.g⁻¹ na dobu 9 dní. Po uplynutí této doby však začal počet bakterií znovu narůstat a 25. den pokusu dosahoval počtu 5,8 log KTJ.g⁻¹. Antimikrobiální účinek oreganové silice byl zkoumán i na mletém skopovém mase zaočkovaném bakterií *S. enteritidis*, autoři Govaris et al., (2010) použili k jeho ošetření 0,6% oreganovou silici. Zaznamenali pokles výskytu bakterie o 2,4 log KTJ.g⁻¹ už druhý den skladování, stejných hodnot dosahovaly i po celou dobu trvání pokusu.

V naší práci byl počet bakterií *S. enteritidis* a *E. coli* zaočkovaných na vzorcích kachního masa ošetřeného oreganovou silicí enkapsulovanou do křemičitých nanočástic zcela inhibován a v porovnání s výše uvedenými autory byl pokles bakterií nejvýraznější. Pokles počtu bakterií *S. enteritidis* představoval po 1. dni skladování 6,1log KTJ.g⁻¹, po 7. dni skladování se rovnal 7,7 log KTJ.g⁻¹ a stejný zůstal i po uplynutí doby 14 dnů. Bakterie *E. coli* reagovala na enkapsulovanou oreganovou silici podobně. Po 1. dni skladování klesl počet bakterií o 5,7 log KTJ.g⁻¹, po 7. dni skladování o 7,1 log KTJ.g⁻¹ a po 14. dnech skladování o 7,5 log KTJ.g⁻¹.

7 Závěr

V této diplomové práci byl zkoumán antimikrobiální účinek oreganové silice enkapsulované do křemičitých nanočástic jako možný způsob konzervace čerstvého kachního masa. Bylo dokázáno, že tento způsob konzervace je velice účinný a enkapsulovaná oreganová silice dokáže zcela inhibovat jak bakterie *Salmonella enteritidis*, tak bakterie *Escherichia coli*, které jsou častými patogeny drůbežního masa. Hypotéza práce byla tedy potvrzena. Počty bakterií na vzorcích masa ošetřených oreganovou silicí enkapsulovanou do křemičitých nanočástic byly po celou dobu skladování, tedy 1., 7. i 14. den vyhodnocení, nulové.

Křemičité nanočástice by tak mohly představovat materiál vhodný k enkapsulaci antimikrobiálních látek. Tyto mezoporézní materiály pomáhají silice uvolňovat postupně, čímž prodlužují dobu jejich antimikrobiálního účinku.

Do budoucna by však bylo vhodné vyzkoušet koncentraci oreganové silice nižší, než byla použita v této práci. Vzhledem k vysoké antimikrobiální aktivitě použité koncentrace oreganové silice je velmi pravděpodobné, že i snížená koncentrace by stále vykazovala výraznou antimikrobiální aktivitu. Vlivem vysoké koncentrace silice došlo totiž k negativnímu ovlivnění organoleptických vlastností vzorků masa. Tato koncentrace byla zodpovědná za hořkou a štiplavou chuť, která silně přebíjela chuť drůbežního masa.

8 Seznam literatury

- Abdul-Raouf, U. M., Beuchat, L. R., Ammar, M. S. 1993. Survival and growth of *Escherichia coli* O157:H7 on salad vegetables. *Applied and Environmental Microbiology*. 59 (7). 1999–2006.
- Adzitey, F., Adzitey, S. P. 2011. Duck Production: Has a Potential to Reduce Poverty among Rural Households in Asian Communities – A Review. *J. World's Poult. Res. Journal Homepage: J. World's Poult. Res.* 1 (11). 7–10.
- Ali, M. S., Kang, G.-H., Yang, H.-S., Jeong, J.-Y., Hwang, Y.-H., Park, G.-B., Joo, S.-T. 2007. A Comparison of Meat Characteristics between Duck and Chicken Breast. *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences*. 20 (6). 1002–1006.
- Aliagiannis, N., Kalpoutzakis, E., Mitaku, S. C., Ioanna, B. 2001. Composition and Antimicrobial Activity of the Essential Oils of Two Origanum Species. .
- Allos, B. M., Allos, B. M. 2001. *Campylobacter jejuni* Infections: update on emerging issues and trends. *Clinical Infectious Diseases : An Official Publication of the Infectious Diseases Society of America*. 32 (8). 1201–6.
- Altekruse, S. F., Stern, N. J., Fields, P. I., Swerdlow, D. L. 1999. *Campylobacter jejuni* an emerging foodborne pathogen. *Emerging Infectious Diseases*. 5 (1). 28–35.
- Aronal, A. P., Huda, N., Ahmad, R. 2012. Amino acid and fatty acid profiles of Peking and Muscovy duck meat. *International Journal of Poultry Science*. 11 (3). 229.
- Aureli, P., Costantini, A., Zoela, S. 1992. Antimicrobial Activity of Some Plant Essential Oils Against *Listeria monocytogenes*. *Journal of Food Protection*. 55 (5). 344–348.
- Bacílková, B., Paulusová, H. 2012. Vliv silic a jejich hlavních účinných látek na mikroorganismy a na archivní materiál. *Národní Archiv*. 1–28.
- Bai, J., Zheng, Y., Wang, G., Liu, P. 2016. Protective Effect of D-Limonene against Oxidative Stress-Induced Cell Damage in Human Lens Epithelial Cells via the p38 Pathway. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*. 2016 . 1–12.
- Bajpai, V. K., Baek, K.-H., Kang, S. C. 2012. Control of *Salmonella* in foods by using essential oils: A review. *Food Research International*. 45 (2). 722–734.
- Bakkali, F., Averbeck, S., Averbeck, D., Idaomar, M. 2008. Biological effects of essential oils – A review. *Food and Chemical Toxicology*. 46 (2). 446–475.
- Baláš, J. 2016. Potenciál mikroorganismů v masném průmyslu. *Maso*. 1 . 39–41.
- Başer, K. H. C. Buchbauer, G. 2010. *Handbook of essential oils : science, technology, and applications*. 2nd ed. CRC Press. p. 994. ISBN: 9781466590465.

- Beck, J. S., Vartuli, J. C., Roth, W. J., Leonowicz, M. E., Kresge, C. T., Schmitt, K. D., Chu, C. T. W., Olson, D. H., Sheppard, E. W., McCullen, S. B., Higgins, J. B., Schlenker, J. L. 1992. A new family of mesoporous molecular sieves prepared with liquid crystal templates. *Journal of the American Chemical Society*. 114 (27). 10834–10843.
- Bender, A. E. 1992. Meat and meat products in human nutrition in developing countries. Food and Agriculture Organization of the United Nations. p. 91. ISBN: 9251031460.
- Berger, R. G. 2007. *Flavours and Fragrances: Chemistry, Bioprocessing and Sustainability*. Berlin. Springer. p. 647. ISBN: 978-3-540-49338-9.
- Bernardos, A., Mondragón, L., Javakhishvili, I., Mas, N., de la Torre, C., Martínez-Máñez, R., Sancenón, F., Barat, J. M., Hvilsted, S., Orzaez, M., Pérez-Payá, E., Amorós, P. 2012. Azobenzene Polyesters Used as Gate-Like Scaffolds in Nanoscopic Hybrid Systems. *Chemistry - A European Journal*. 18 (41). 13068–13078.
- Billing, J., Sherman, P. W. 1998. Antimicrobial functions of spices: why some like it hot. *The Quarterly Review of Biology*. 73 (1). 3–49.
- Bogdanovičová, K., Janštová, K., Burešová, P. 2016. Hygiena gastronomického provozu a možný výskyt onemocnění z potravin. *Maso*. 3 . 18–21.
- Bruckner, S., Albrecht, A., Petersen, B., Kreyenschmidt, J. 2012. Characterization and Comparison of Spoilage Processes in Fresh Pork and Poultry. *Journal of Food Quality*. 35 (5). 372–382.
- Brychta, J., Klímová, E., Brychta, T., Bulawová, H. 2015. Kontaminace masných výrobků bakterií *Listeria monocytogenes*. *Maso*. 6 . 40–44.
- Burt, S. 2004. Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods — a review. *International Journal of Food Microbiology*. 94 (3). 223–253.
- Burt, S. A., Reinders, R. D. 2003. Antibacterial activity of selected plant essential oils against *Escherichia coli* O157:H7. *Letters in Applied Microbiology*. 36 (3). 162–167.
- Castillejos, L., Calsamiglia, S., Ferret, A. 2005. Effects of a specific blend of essential oil compounds and the type of diet on rumen microbial fermentation and nutrient flow from a continuous culture system. *Animal Feed Science and Technology*. 119 (1–2). 29–41.
- Dave, D., Ghaly, A. E. 2011. Meat Spoilage Mechanisms and Preservation Techniques: A Critical Review. *American Journal of Agricultural and Biological Sciences*. 6 (4). 486–510.
- Delves-Broughton, J., Blackburn, P., Evans, R. J., Hugenholtz, J. 1996. Applications of the bacteriocin, nisin. *Antonie van Leeuwenhoek*. 69 (2). 193–202.

- Donsì, F., Annunziata, M., Sessa, M., Ferrari, G. 2011. Nanoencapsulation of essential oils to enhance their antimicrobial activity in foods. *LWT - Food Science and Technology*. 44 (9). 1908–1914.
- Dorman, H. J., Deans, S. G. 2000. Antimicrobial agents from plants: antibacterial activity of plant volatile oils. *Journal of Applied Microbiology*. 88 (2). 308–16.
- Dudareva, N., Andersson, S., Orlova, I., Gatto, N., Reichelt, M., Rhodes, D., Boland, W., Gershenzon, J. 2005. The nonmevalonate pathway supports both monoterpene and sesquiterpene formation in snapdragon flowers. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 102 (3). 933–8.
- Duncan, T. V. 2011. Applications of nanotechnology in food packaging and food safety: Barrier materials, antimicrobials and sensors. *Journal of Colloid and Interface Science*. 363 (1). 1–24.
- Duthie, G., Campbell, F., Bestwick, C., Stephen, S., Russell, W. 2013. Antioxidant Effectiveness of Vegetable Powders on the Lipid and Protein Oxidative Stability of Cooked Turkey Meat Patties: Implications for Health. *Nutrients*. 5 (4). 1241–1252.
- Dvořáková, M., Valterová, I., Vaněk, T. 2011. Monoterpeny v rostlinách. *Chemické Listy*. 105 . 839–845.
- Edberg, S. C., Rice, E. W., Karlin, R. J., Allen, M. J. 2000. *Escherichia coli*: the best biological drinking water indicator for public health protection. *Journal of Applied Microbiology*. 88 (S1). 106S–116S.
- ElAmin, A. 2006. Foodborne Campylobacter infections increase [online] Food quality news. [cit. 2016-09-20]. Dostupné z <<http://www.foodqualitynews.com/Regulation-and-safety/Foodborne-Campylobacter-infections-increase>>
- Emiroğlu, Z. K., Yemiş, G. P., Coşkun, B. K., Candoğan, K. 2010. Antimicrobial activity of soy edible films incorporated with thyme and oregano essential oils on fresh ground beef patties. *Meat Science*. 86 (2). 283–288.
- Falowo, A. B., Fayemi, P. O., Muchenje, V. 2014. Natural antioxidants against lipid–protein oxidative deterioration in meat and meat products: A review. *Food Research International*. 64 . 171–181.
- Fernández, J., Pérez-Álvarez, J. A., Fernández-López, J. A. 1997. Thiobarbituric acid test for monitoring lipid oxidation in meat. *Food Chemistry*. 59 (3). 345–353.
- Galarneau, A., Cambon, H., Renzo, F. Di, Fajula, F. 2001. True Microporosity and Surface Area of Mesoporous SBA-15 Silicas as a Function of Synthesis Temperature. *Langmuir*. 17 (26). 8328–8335.

- Gaysinsky, S., Davidson, P. M., Bruce, B. D., Weiss, J. 2005. Growth inhibition of *Escherichia coli* O157:H7 and *Listeria monocytogenes* by carvacrol and eugenol encapsulated in surfactant micelles. *Journal of Food Protection*. 68 (12). 2559–66.
- Gill, A. ., Delaquis, P., Russo, P., Holley, R. . 2002. Evaluation of antilisterial action of cilantro oil on vacuum packed ham. *International Journal of Food Microbiology*. 73 (1). 83–92.
- Gill, C. O. 1983. Meat Spoilage and Evaluation of the Potential Storage Life of Fresh Meat. *Journal of Food Protection*. 46 (5). 444–452.
- Golian, J. 2016. Kvalita mäsa a mäsových výrobkov. *Maso*. 3 . 4–5.
- Göpfertová, D., Vaništa, J. 1997. Infekce na cestách a jejich prevence. Triton. ISBN: 9788085875423.
- Govaris, A., Solomakos, N., Pexara, A., Chatzopoulou, P. S. 2010. The antimicrobial effect of oregano essential oil, nisin and their combination against *Salmonella enteritidis* in minced sheep meat during refrigerated storage. *International Journal of Food Microbiology*. 137 (2). 175–180.
- Guillier, L., Pardon, P., Augustin, J.-C. 2005. Influence of stress on individual lag time distributions of *Listeria monocytogenes*. *Applied and Environmental Microbiology*. 71 (6). 2940–2948.
- Hao, Y. Y., Brackett, R. E., Doyle, M. P. 1998. Efficacy of plant extracts in inhibiting *Aeromonas hydrophila* and *Listeria monocytogenes* in refrigerated, cooked poultry. *Food Microbiology*. 15 (4). 367–378.
- Hoffmann, F., Cornelius, M., Morell, J., Fröba, M. 2006. Silica-Based Mesoporous Organic–Inorganic Hybrid Materials. *Angewandte Chemie International Edition*. 45 (20). 3216–3251.
- Chaudhry, Q., Scotter, M., Blackburn, J., Ross, B., Boxall, A., Castle, L., Aitken, R., Watkins, R. 2008. Applications and implications of nanotechnologies for the food sector. *Food Additives & Contaminants: Part A*. 25 (3). 241–258.
- Chen, C. Y., Nace, G. W., Irwin, P. L. 2003. A 6 x 6 drop plate method for simultaneous colony counting and MPN enumeration of *Campylobacter jejuni*, *Listeria monocytogenes*, and *Escherichia coli*. *Journal of Microbiological Methods*. 55 (2). 475–479.
- Cho, Y. S., Park, J. C., Lee, B., Kim, Y., Yi, J. 2002. Preparation of Mesoporous Catalyst Supported on Silica with Finely Dispersed Ni Particles. *Catalysis Letters*. 81 (1/2). 89–96.
- Chong, M. A. S., Zhao, X. S. 2004. Functionalized nanoporous silicas for the immobilization of penicillin acylase. *Applied Surface Science*. 237 (1–4). 398–404.

- Chouliara, E., Karatapanis, A., Savvaidis, I. N., Kontominas, M. G. 2007. Combined effect of oregano essential oil and modified atmosphere packaging on shelf-life extension of fresh chicken breast meat, stored at 4°C. *Food Microbiology*. 24 (6). 607–617.
- Inouye, S., Uchida, K., Maruyama, N., Yamaguchi, H., Abe, S. 2006. A Novel Method to Estimate the Contribution of the Vapor Activity of Essential Oils in Agar Diffusion Assay. *Nippon Ishinkin Gakkai Zasshi*. 47 (2). 91–98.
- Issenhuth-Jeanjean, S., Roggentin, P., Mikoleit, M., Guibourdenche, M., De Pinna, E., Nair, S., Fields, P. I., Weill, F.-X. 2014. Supplement 2008e2010 (no. 48) to the WhiteKauffmannLe Minor scheme. *Research in Microbiology*. 165 . 526–530.
- Jackson, T. C., Hardin, M. D., Acuff, G. R. 1996. Heat resistance of *Escherichia coli* O157:H7 in a nutrient medium and in ground beef patties as influenced by storage and holding temperatures. *Journal of Food Protection*. 59 (3). 230–7.
- Janatova, A., Bernardos, A., Smid, J., Frankova, A., Lhotka, M., Kourimská, L., Pulkrabek, J., Kloucek, P. 2015. Long-term antifungal activity of volatile essential oil components released from mesoporous silica materials. *Industrial Crops and Products*. 67 . 216–220.
- Jarvis, N. A., O’Byrne, C. A., Dawoud, T. M., Park, S. H., Kwon, Y. M., Crandall, P. G., Ricke, S. C. 2016. An overview of Salmonella thermal destruction during food processing and preparation. *Food Control*. 68 . 280–290.
- Kailasapathy, K. 2009. Encapsulation technologies for functional foods and nutraceutical product development. *CAB Reviews: Perspectives in Agriculture, Veterinary Science, Nutrition and Natural Resources*. 4 (33). 1–19.
- Kanatt, S. R., Chander, R., Sharma, A. 2008. Chitosan and mint mixture: A new preservative for meat and meat products. *Food Chemistry*. 107 (2). 845–852.
- Karre, L., Lopez, K., Getty, K. J. K. 2013. Natural antioxidants in meat and poultry products. *Meat Science*. 94 (2). 220–227.
- Keene, W. E., Hedberg, K., Herriott, D. E., Hancock, D. D., McKay, R. W., Barrett, T. J., Fleming, D. W. 1997. A Prolonged Outbreak of *Escherichia coli* O157:H7 Infections Caused by Commercially Distributed Raw Milk. *The Journal of Infectious Diseases*. 176 (3). 815–818.
- Kemp, R., Leatherbarrow, A. J. H., Williams, N. J., Hart, C. A., Clough, H. E., Turner, J., Wright, E. J., French, N. P. 2005. Prevalence and genetic diversity of *Campylobacter* spp. in environmental water samples from a 100-square-kilometer predominantly dairy farming area. *Applied and Environmental Microbiology*. 71 (4). 1876–82.

- Kerry, J. (Microbiologist), Kerry, J., Ledward, D. 2002. Meat processing : improving quality. CRC Press. p. 464. ISBN: 9780849315398.
- Kerth, C. R. 2013. The Science of Meat Quality. In: The Science of Meat Quality. p. i–xv. Oxford, UK. John Wiley & Sons, Inc. ISBN: 9781118530726.
- Kickelbick, G. 2003. Concepts for the incorporation of inorganic building blocks into organic polymers on a nanoscale. *Progress in Polymer Science*. 28 (1). 83–114.”
- Klabunde, K. J., Richards, R. 2001. Nanoscale materials in chemistry. In: *Nanoscale Materials in Chemistry*. p. i–xi. New York, USA. John Wiley & Sons, Inc. ISBN: 9780471220626.
- Klančnik, A., Piskernik, S., Bucar, F., Vučković, D., Možina, S. S., Jeršek, B. 2014. Reduction of microbiological risk in minced meat by a combination of natural antimicrobials. *Journal of the Science of Food and Agriculture*. 94 (13). 2758–2765.
- Kresge, C. T., Leonowicz, M. E., Roth, W. J., Vartuli, J. C., Beck, J. S. 1992. Ordered mesoporous molecular sieves synthesized by a liquid-crystal template mechanism. *Nature*. 359 (6397). 710–712.
- Kyle, R. 1994. New species for meat production. *The Journal of Agricultural Science*. 123 (1). 1.
- Lagouri, V., Blekas, G., Tsimidou, M., Kokkini, S., Boskou, D. 1993. Composition and antioxidant activity of essential oils from Oregano plants grown wild in Greece. *Zeitschrift Für Lebensmittel-Untersuchung Und -Forschung*. 197 (1). 20–23.
- Lambert, R. J. W., Skandamis, P. N., Coote, P. J., Nychas, G.-J. E. 2001. A study of the minimum inhibitory concentration and mode of action of oregano essential oil, thymol and carvacrol. *Journal of Applied Microbiology*. 91 (3). 453–462.
- Leistner, L. 2000. Basic aspects of food preservation by hurdle technology. *International Journal of Food Microbiology*. 55 (1). 181–186.
- Lemay, M.-J., Choquette, J., Delaquis, P. J., Gariépy, C., Rodrigue, N., Saucier, L. 2002. Antimicrobial effect of natural preservatives in a cooked and acidified chicken meat model. *International Journal of Food Microbiology*. 78 (3). 217–226.
- Lucca, A., Torres, E. A. F. da S. 2006. Street-food: The hygiene conditions of hot-dogs sold in São Paulo, Brazil. *Food Control*. 17 (4). 312–316.
- Luštická, I., Vyskočilová-Leitmannová, E., Červený, L. 2013. Funkcionalizace mezoporézních silikátových materiálů. *Chem. Listy*. 107 . 114–120.
- Mahmoud, S. S., Croteau, R. B. 2002. Strategies for transgenic manipulation of monoterpene biosynthesis in plants. *Trends in Plant Science*. 7 (8). 366–73.

- Mancini, R. A., Hunt, M. C. 2005. Current research in meat color. *Meat Science*. 71 (1). 100–121.
- Marejková, M., Zieg, J., Dušek, J., Bláhová, K., Petráš, P. 2009. A fatal case of diarrhea-associated hemolytic-uremic syndrome caused by enterohemorrhagic *Escherichia coli* O26. *Zprávy Epidemiologie a Mikrobiologie*. 18 (6). 3.
- Mastromatteo, M., Lucera, A., Sinigaglia, M., Corbo, M. R. 2009. Combined effects of thymol, carvacrol and temperature on the quality of non conventional poultry patties. *Meat Science*. 83 (2). 246–254.
- Matches, J. R., Liston, J. 1968. Low Temperature Growth of *Salmonella*. *Journal of Food Science*. 33 (6). 641–645.
- McCabe-Sellers, B. J., Beattie, S. E. 2004. Food safety: Emerging trends in foodborne illness surveillance and prevention. *Journal of the American Dietetic Association*. 104 (11). 1708–1717.
- McDonald, K., Sun, D.-W. 1999. Predictive food microbiology for the meat industry: a review. *International Journal of Food Microbiology*. 52 (1–2). 1–27.
- McMullen, L. M., Stiles, M. E. 1991. Changes in microbial parameters and gas composition during modified atmosphere storage of fresh pork loin cuts. *Journal of Food Protection (USA)*. 54 (10). 778–783.
- Medina-Meza, I. G., Barnaba, C., Barbosa-Cánovas, G. V. 2014. Effects of high pressure processing on lipid oxidation: A review. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*. 22 . 1–10.
- Min, B., Ahn, D. U. 2005. Mechanism of Lipid Peroxidation in Meat and Meat Products - A Review. *Food Sci . Biotechnol*. 14 (1). 152–163.
- Moraes-Lovison, M., Marostegan, L. F. P., Peres, M. S., Menezes, I. F., Ghiraldi, M., Rodrigues, R. A. F., Fernandes, A. M., Pinho, S. C. 2017. Nanoemulsions encapsulating oregano essential oil: Production, stability, antibacterial activity and incorporation in chicken pâté. *LWT - Food Science and Technology*. 77 . 233–240.
- Narasimha Rao, D., Sachindra, N. M. 2002. Modified atmosphere and vacuum packaging of meat and poultry products. *Food Reviews International*. 18 (4). 263–293.
- Novak, Bitsch, Langbehn, Pank, Skoula, Gotsiou, M Franz C 2000. Ratios of cis- and trans-Sabinene Hydrate in *Origanum majorana* L. and *Origanum microphyllum* (Benth) Vogel. *Biochemical Systematics and Ecology*. 28 (7). 697–704.

- Ntzimani, A. G., Gitrakou, V. I., Savvaidis, I. N. 2011. Combined natural antimicrobial treatments on a ready-to-eat poultry product stored at 4 and 8 C. *Poultry Science*. 90 (4). 880–888.
- Nychas, G.-J. E., Skandamis, P. N., Tassou, C. C., Koutsoumanis, K. P. 2008. Meat spoilage during distribution. *Meat Science*. 78 (1–2). 77–89.
- Ochman, H., Groisman, E. A. 1994. The origin and evolution of species differences in *Escherichia coli* and *Salmonella typhimurium*. *EXS*. 69 . 479–93.
- Parasuraman, S., Suresh, K. B., Sonwane, C. G. 2001. Recent Advances in Processing and Characterization of Periodic Mesoporous MCM-41 Silicate Molecular Sieves. .
- Parkhill, J., Dougan, G., James, K. D., Thomson, N. R., Pickard, D., Wain, J., Churcher, C., Mungall, K. L., Bentley, S. D., Holden, M. T. G., Sebaihia, M., Baker, S., Basham, D., Brooks, K., Chillingworth, T., Connerton, P., Cronin, A., Davis, P., Davies, R. M., Dowd, L., White, N., Farrar, J., Feltwell, T., Hamlin, N., Haque, A., Hien, T. T., Holroyd, S., Jagels, K., Krogh, A., Larsen, T. S., Leather, S., Moule, S., Ó’Gaora, P., Parry, C., Quail, M., Rutherford, K., Simmonds, M., Skelton, J., Stevens, K., Whitehead, S., Barrell, B. G. 2001. Complete genome sequence of a multiple drug resistant *Salmonella enterica* serovar Typhi CT18. *Nature*. 413 (6858). 848–852.
- Paster, N., Menasherov, M., Raviol, U., Juven, B. 1995. Antifungal Activity of Oregano and Thyme Essential Oils Applied as Fumigants Against Fungi Attacking Stored Grain. *Journal of Food Protection*. 58 (1). 81–85.
- Pecarski, D., Ketin, S., Omerovic, I., Mirkovic, M., Jugovic, Z., Biocanin, R. 2016. Chemical compositions and antimicrobial activities of oregano and thyme essential oils. *Bulgarian Chemical Communications*. 48 (4). 678–683.
- Penalver, P., Huerta, B., Borge, C., Astorga, R., Romero, R., Perea, A. 2005. Antimicrobial activity of five essential oils against origin strains of the Enterobacteriaceae family. *APMIS*. 113 (1). 1–6.
- Phillips, Croteau 1999. Resin-based defenses in conifers. *Trends in Plant Science*. 4 (5). 184–190.
- Polák, P., Juránková, J., Husa, P. 2014. Kamylobakteriόza. *Klinická Mikrobiologie a Infekční Lékařství*. 20 (2). 50–54.
- Prado, A. G. S., Moura, A. O., Nunes, A. R. 2011. Nanosized Silica Modified with Carboxylic Acid as Support for Controlled Release of Herbicides. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 59 (16). 8847–8852.

- Quintavalla, S., Vicini, L. 2002. Antimicrobial food packaging in meat industry. *Meat Science*. 62 (3). 373–380.
- Rathouský, J., Zukalová, M., Zukal, A. 1997. Supermolekulární templátování: nová strategie syntézy mezoporézních molekulových sít. *Chemické Listy*. 91 . 413–420.
- Resconi, V., Escudero, A., Campo, M. 2013. The Development of Aromas in Ruminant Meat. *Molecules*. 18 (6). 6748–6781.
- Rinaudo, M. 2006. Chitin and chitosan: Properties and applications. *Progress in Polymer Science*. 31 (7). 603–632.
- Robertson, G. L. 2010. *Food packaging and shelf life : a practical guide*. CRC Press/Taylor & Francis Group. p. 388. ISBN: 9781420078442.
- Sacchetti, G., Maietti, S., Muzzoli, M., Scaglianti, M., Manfredini, S., Radice, M., Bruni, R. 2005. Comparative evaluation of 11 essential oils of different origin as functional antioxidants, antiradicals and antimicrobials in foods. *Food Chemistry*. 91 (4). 621–632.
- Sağdıç, O., Kuşçu, A., Özcan, M., Özçelik, S. 2002. Effects of Turkish spice extracts at various concentrations on the growth of *Escherichia coli* O157:H7. *Food Microbiology*. 19 (5). 473–480.
- Şahin, F., Güllüce, M., Daferera, D., Sökmen, A., Sökmen, M., Polissiou, M., Agar, G., Özer, H. 2004. Biological activities of the essential oils and methanol extract of *Origanum vulgare* ssp. *vulgare* in the Eastern Anatolia region of Turkey. *Food Control*. 15 (7). 549–557.
- Sammet, K., Duehlmeier, R., Sallmann, H.-P., von Canstein, C., von Mueffling, T., Nowak, B. 2006. Assessment of the antioxidative potential of dietary supplementation with α -tocopherol in low-nitrite salami-type sausages. *Meat Science*. 72 (2). 270–279.
- Sanches-Silva, A., Costa, D., Albuquerque, T. G., Buonocore, G. G., Ramos, F., Castilho, M. C., Machado, A. V., Costa, H. S. 2014. Trends in the use of natural antioxidants in active food packaging: a review. *Food Additives & Contaminants: Part A*. 31 (3). 374–395.
- Shah, M. A., Bosco, S. J. D., Mir, S. A. 2014. Plant extracts as natural antioxidants in meat and meat products. *Meat Science*. 98 (1). 21–33.
- Shahidi, F., Zhong, Y. 2010. Novel antioxidants in food quality preservation and health promotion. *European Journal of Lipid Science and Technology*. 112 (9). 930–940.
- Shelef, L. A., Jyothi, E. K., Bulgarellii, M. A. 1984. Growth of Enteropathogenic and Spoilage Bacteria in Sage-Containing Broth and Foods. *Journal of Food Science*. 49 (3). 737–740.

- Schuman, J. D., Sheldon, B. W., Vandepopuliere, J. M., Ball Jr, H. R. 1997. Immersion heat treatments for inactivation of *Salmonella enteritidis* with intact eggs. *Journal of Applied Microbiology*. 83 (4). 438–444.
- Silver, Helayne, M. 1998. Listeriosis During Pregnancy : Obstetrical & Gynecological Survey. *Obsterical and Gynecological Survey*. 53 (12). 737–740.
- Skandamis, P. N., Nychas, G. J. 2001. Effect of oregano essential oil on microbiological and physico-chemical attributes of minced meat stored in air and modified atmospheres. *Journal of Applied Microbiology*. 91 (6). 1011–22.
- Skandamis, P., Tsigarida, E., Nychas, G.-J. . 2002. The effect of oregano essential oil on survival/death of *Salmonella typhimurium* in meat stored at 5°C under aerobic, VP/MAP conditions. *Food Microbiology*. 19 (1). 97–103.
- Smith, D. P., Fletcher, D. L., Buhr, R. J., Beyer, R. S. 1993. Pekin Duckling and Broiler Chicken Pectoralis Muscle Structure and Composition. *Poultry Science*. 72 (1). 202–208.
- Sousa, A., Souza, K. C., Reis, S. C., Sousa, R. G., Windmüller, D., Machado, J. C., Sousa, E. M. B. 2008. Positron annihilation study of pore size in ordered SBA-15. *Journal of Non-Crystalline Solids*. 354 (42–44). 4800–4805.
- Stecchini, M. L., Sarais, I., Giavedoni, P. 1993. Effect of essential oils on *Aeromonas hydrophila* in culture medium and in cooked pork. *Journal of Food Protection*. 56 (5). 406–409.
- Stranks, J. W. 2007. *The A-Z of food safety*. Thorogood. p. 475. ISBN: 9781854183842.
- SZÚ 2015. Vybrané infekční nemoci v ČR v letech 2006 – 2015 – absolutně [online] SZÚ. [cit. 2016-09-23]. Dostupné z <<http://www.szu.cz/publikace/data/vybrane-infekcni-nemoci-v-cr-v-letech-2006-2015-absolutne>>
- Tajkarimi, M. M., Ibrahim, S. A., Cliver, D. O. 2010. Antimicrobial herb and spice compounds in food. *Food Control*. 21 (9). 1199–1218.
- Tassou, C. C., Drosinos, E. H., Nychas, G. J. E. 1995. Effects of essential oil from mint (*Mentha piperita*) on *Salmonella enteritidis* and *Listeria monocytogenes* in model food systems at 4° and 10°C. *Journal of Applied Bacteriology*. 78 (6). 593–600.
- Tornuk, F., Hancer, M., Sagdic, O., Yetim, H. 2015. LLDPE based food packaging incorporated with nanoclays grafted with bioactive compounds to extend shelf life of some meat products. *LWT - Food Science and Technology*. 64 (2). 540–546.

- Tsigarida, E., Skandamis, P., Nychas, G.-J. E. 2000. Behaviour of *Listeria monocytogenes* and autochthonous flora on meat stored under aerobic, vacuum and modified atmosphere packaging conditions with or without the presence of oregano essential oil at 5 °C. *Journal of Applied Microbiology*. 89 (6). 901–909.
- Ultee, A., Gorris, L. G., Smid, E. J. 1998. Bactericidal activity of carvacrol towards the food-borne pathogen *Bacillus cereus*. *Journal of Applied Microbiology*. 85 (2). 211–8.
- Ultee, A., Kets, E. P., Smid, E. J. 1999. Mechanisms of action of carvacrol on the food-borne pathogen *Bacillus cereus*. *Applied and Environmental Microbiology*. 65 (10). 4606–10.
- Ultee, A., Slump, R. A., Steging, G., Smid, E. J. 2000. Antimicrobial activity of carvacrol toward *Bacillus cereus* on rice. *Journal of Food Protection*. 63 (5). 620–4.
- Vallet-Regi, M., Rámila, A., del Real, R. P., Pérez-Pariente, J. 2000. A New Property of MCM-41: Drug Delivery System. . 13 (2). 308–311.
- Velišek, J. 2014. *The Chemistry of Food*. 1st ed. Chichester. John Wiley & Sons, Ltd. p. 1125. ISBN: 978-1-118-38381-0.
- Vermeiren, L., Devlieghere, F., van Beest, M., de Kruijf, N., Debevere, J. 1999. Developments in the active packaging of foods. *Trends in Food Science & Technology*. 10 (3). 77–86.
- Vyhláška ministerstva zemědělství České republiky č. 69/2016 Sb., o požadavcích na maso, masné výrobky, produkty rybolovu a akvakultury a výrobky z nich, vejce a výrobky z nich ze dne 17. února 2016.
- Wang, Z., Thomas, J. 1998. Nanolayer Reinforcement of Elastomeric Polyurethane. *Chemistry of Materials*. 10 (2). 3769–3771.
- Warriss, P. D. 2000. *Meat science : an introductory text*. 1st ed. Wallingford. CABI Publishing. p. 310. ISBN: 1845933052.
- Wattenberg, L. W., Sparnins, V. L., Barany, G. 1989. Inhibition of N-nitrosodiethylamine carcinogenesis in mice by naturally occurring organosulfur compounds and monoterpenes. *Cancer Research*. 49 (10). 2689–92.
- Weiss, J., Gaysinsky, S., Davidson, M., McClements, J. 2009. Nanostructured Encapsulation Systems: Food Antimicrobials. In: *Global Issues in Food Science and Technology*. p. 425–479. Elsevier. ISBN: 9780123741240.
- WHO 2016. *Campylobacter* [online]. WHO. [cit. 2016-09-25]. Dostupné z <<http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs255/en/>>
- Yamaguchi, K., Shinohara, C., Kojima, S., Sodeoka, M., Tsuji, T. 1999. (2E,6R)-8-hydroxy-2,6-dimethyl-2-octenoic acid, a novel anti-osteoporotic monoterpene, isolated from Cistanche salsa. *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry*. 63 (4). 731–5.

- Zeng, Q. H., Wang, D. Z., Yu, A. B., Lu, G. Q. 2002. Synthesis of polymer montmorillonite nanocomposites by in situ intercalative polymerization. *Nanotechnology*. 13 (5). 549–553.
- Zhao, D., Feng, J., Huo, Q., Melosh, N., Fredrickson, G., Chmelka, F., Stucky, G. 1998. Triblock Copolymer Syntheses of Mesoporous Silica with Periodic 50 to 300 Angstrom Pores. *Science*. 279 (5350). 548–552.
- Zhao, X. S., Bao, X. Y., Guo, W., Lee, F. Y. 2006. Immobilizing catalysts on porous materials. *Materials Today*. 9 (3). 32–39.
- Zhou, G. H., Xu, X. L., Liu, Y. 2010. Preservation technologies for fresh meat – A review. *Meat Science*. 86 (1). 119–128.
- Zivanovic, S., Chi, S., Draughon, A. F. 2005. Antimicrobial Activity of Chitosan Films Enriched with Essential Oils. *Journal of Food Science*. 70 (1). M45–M51.
- Zukal, A., Thommes, M., Čejka, J. 2007. Synthesis of highly ordered MCM-41 silica with spherical particles. *Microporous and Mesoporous Materials*. 104 (1–3). 52–58.

9 Seznam zkratek

AIDS – syndrom získaného selhání imunity

CTAB – hexadecyltrimethylamonium bromid

DAMPP – dimethylallyldifosfát

EHEC – enterohemoragická *Escherichia coli*

EIEC – enteroinvazivní *Escherichia coli*

EPEC – enteropatogenní *Escherichia coli*

ETEC – enterotoxigenní *Escherichia coli*

HUS – Hemolyticko-uremický syndrom

IPP – isopentenyldifosfát

KTJ – kolonie tvořící jednotky

M41S – skupina materiálů tvořena mezoporézními křemičitany

MCM-41 – Mobil Composition of Matter

MUFA – mononenasyčené mastné kyseliny

PUFA – polynenasycené mastné kyseliny

TEOS – tetraethylorthosilikát

SFA – nasycené mastné kyseliny

SZÚ – Státní zdravotní ústav v Praze

10 Přílohy

Příloha č. 1: Syntéza křemičitých nanočástic.

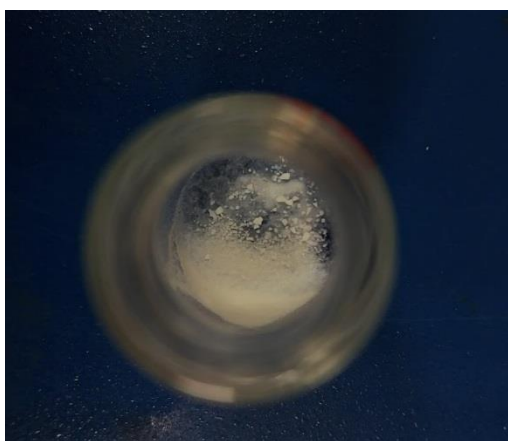


Obrázek č. 5: Před přidavkem TEOS.

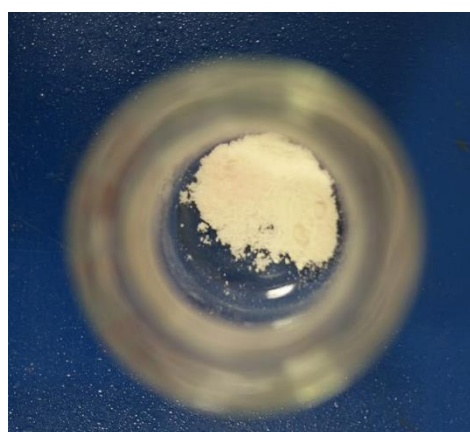


Obrázek č. 6: Po přidavku TEOS.

Příloha č. 2: Čisté křemičité nanočástice a nanočástice s enkapsulovanou oreganovou silicí.

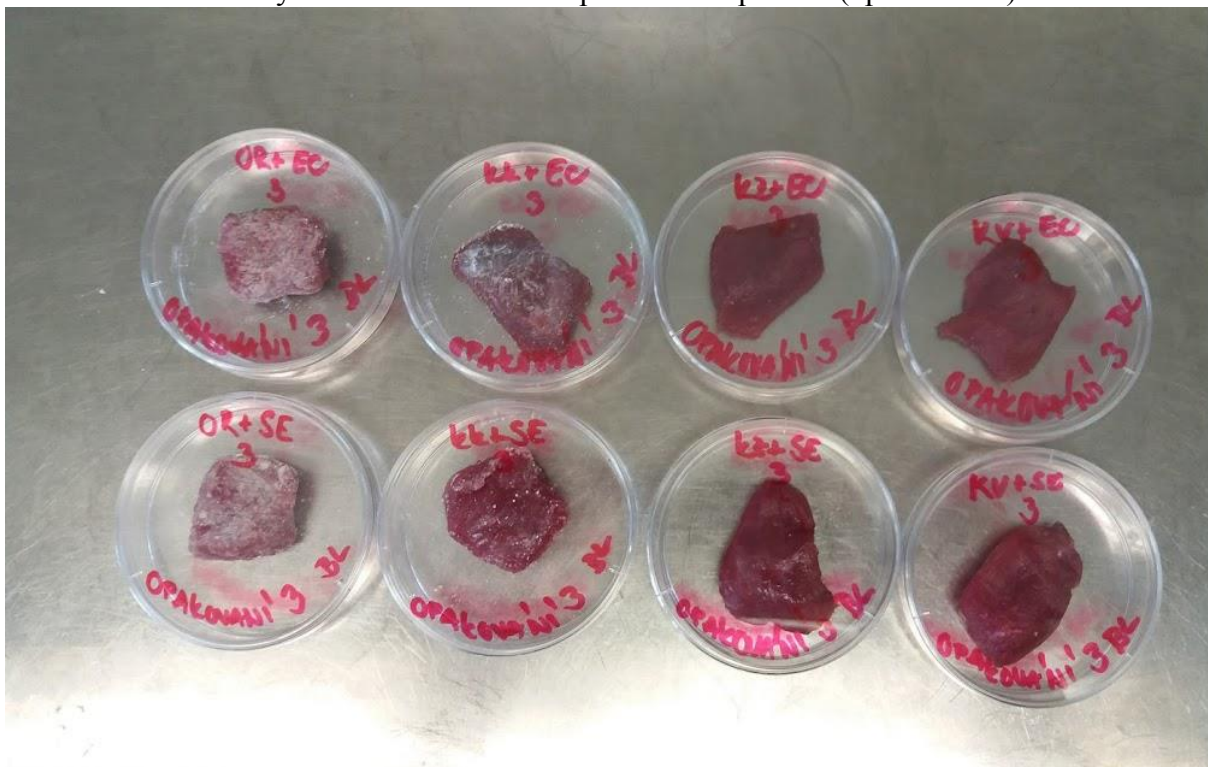


Obrázek č. 7: Čisté křemičité nanočástice.

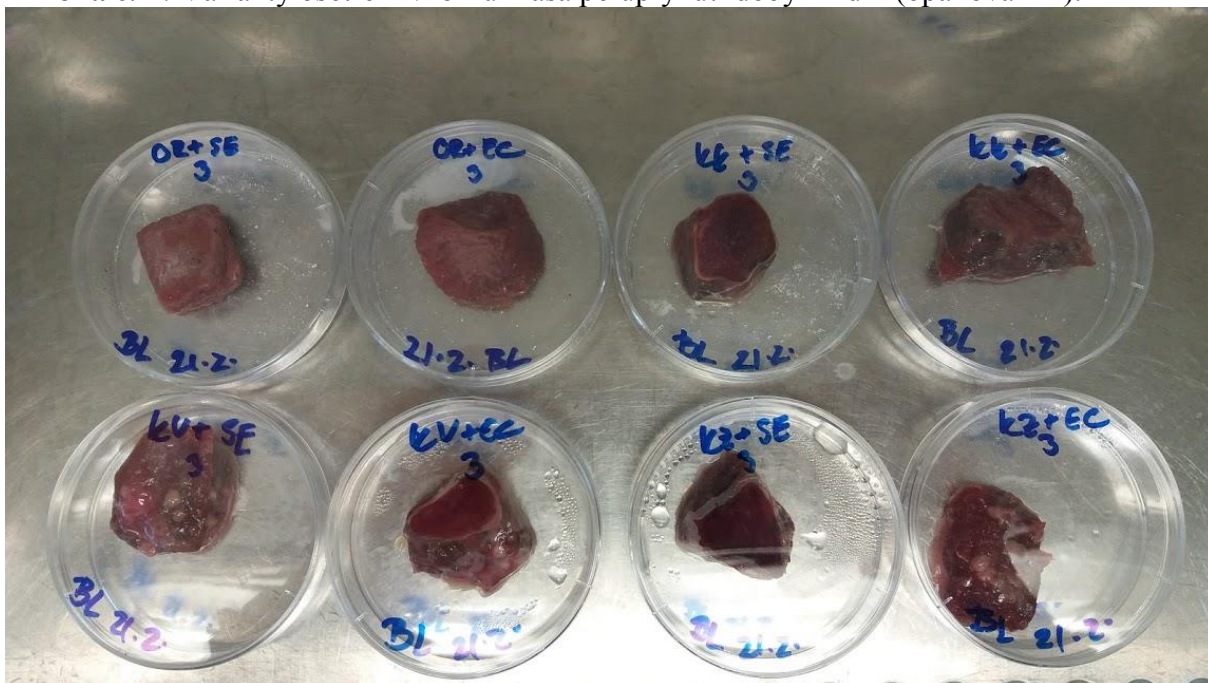


Obrázek č. 8: Křemičité nanočástice s enkapsulovanou oreganovou silicí.

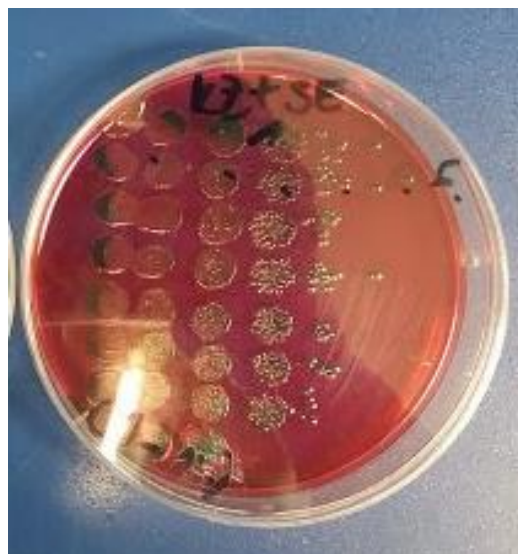
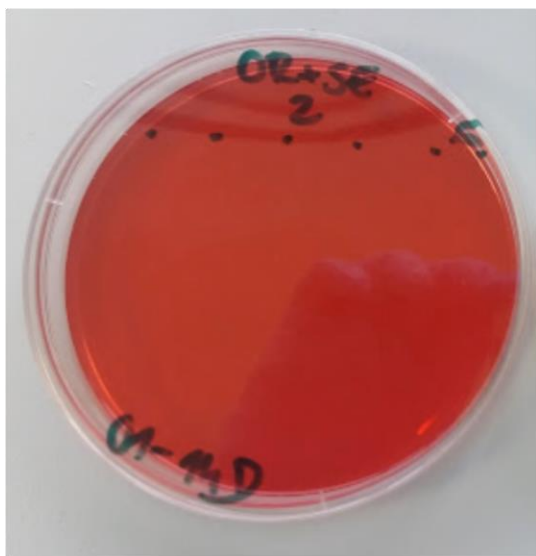
Příloha č. 3: Varianty ošetření vzorků masa při založení pokusu (opakování 3).



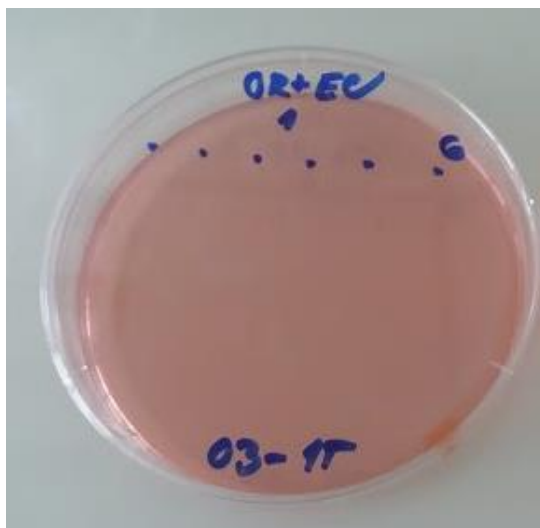
Příloha č. 4: Varianty ošetření vzorků masa po uplynutí doby 14 dní (opakování 1).



Příloha č. 5: Antimikrobiální aktivita oreganové silice enkapsulované do křemičitých nanočástic proti bakterii *Salmonella enteritidis* (OR + SE) po 14 dnech ve srovnání s kontrolou zaočkování *Salmonella enteritidis* (KZ + SE) po 14 dnech.



Příloha č. 6: Antimikrobiální aktivita oreganové silice enkapsulované do křemičitých nanočástic proti bakterii *Escherichia coli* (OR + EC) po 24 hodinách ve srovnání s kontrolou zaočkování *Escherichia coli* (KZ + EC) po 24 hodinách.



Příloha č. 7: Formulář senzoričké analýzy.

SENZORICKÉ HODNOCENÍ KACHNÍHO MASA

Jméno a příjmení:..... **Zdravotní stav:**.....

Datum:..... **Hodina:**..... **Vzorek č.:**.....

Úkol: Ochutnejte předložený vzorek masa. K hodnocení použijte grafické stupnice. Hodnocení zaznamenejte čárkou na úsečce.

CELK. PŘÍJEMNOST
VZHLEDU: _____
odporná _____ velmi příjemná

CELK. PŘÍJEMNOST
VŮNĚ: _____
odporná _____ velmi příjemná

CELK. INTENZITA
VŮNĚ: _____
neznatelná _____ velmi silná

INTENZITA VŮNĚ
KOŘENÍ: _____
neznatelná _____ velmi silná

CELK. PŘÍJEMNOST
CHUTI: _____
odporná _____ velmi příjemná

CELK. INTENZITA
CHUTI: _____
neznatelná _____ velmi silná

INTENZITA DRŮBEŽÍ
CHUTI: _____
neznatelná _____ velmi silná

INTENZITA CHUTI
KOŘENÍ: _____
neznatelná _____ velmi silná

INTENZITA HOŘKÉ
CHUTI: _____
neznatelná _____ velmi silná

INTENZITA ŠTIPLAVÉ
CHUTI: _____
neznatelná _____ velmi silná

CELK. INTENZITA
PACHUTÍ: _____
neznatelná _____ velmi silná

Uveďte prosím, jaké pachutě jste zaznamenali:.....

CELKOVÁ
PŘIJATELNOST
VZORKU: _____
zcela nepříjemný _____ vynikající

11 Seznam tabulek

Tabulka č. 1	Obsah živin [%] a vitamínů [mg.100 g ⁻¹] v kachním mase.	6
Tabulka č. 2	Členění děleného jatečně opracovaného těla drůbeže na druhy a skupiny a jejich charakteristika.	6
Tabulka č. 3	Hlášený výskyt salmonelózy v České republice v letech 2006 – 2015.	9
Tabulka č. 4	Hlášený výskyt břišního tyfu v České republice v letech 2006 – 2015.	10
Tabulka č. 5	Hlášený výskyt EHEC v ČR v letech 2006 – 2015.	11
Tabulka č. 6	Hlášený výskyt kampylobakterií v ČR v letech 2006 – 2015.	11
Tabulka č. 7	Hlášený výskyt listerií v ČR v letech 2006 – 2015.	12
Tabulka č. 8	Faktory ovlivňující mikrobiální kontaminaci.	13
Tabulka č. 9	Jednotlivé složky oreganové silice <i>Origanum vulgare</i> a strukturní vzorce majoritně zastoupených sloučenin.	21
Tabulka č. 10	Složení použité oreganové silice z Výzkumné stanice Uhřetěves.	26
Tabulka č. 11	Zkratky variant zaočkování.	28
Tabulka č. 12	Zhodnocení deskriptorů u vzorků ošetřených oreganovou silicí a dvou kontrol (kontrola emulze a kontrola voda [%]).	38

12 Seznam obrázků

Obrázek č. 1	Monotorepeny monocyklické.	18
Obrázek č. 2	Bicyklické monoterpenové uhlovodíky.	19
Obrázek č. 3	Schéma syntézy MCM-41.	24
Obrázek č. 4	Schéma Kapkové metody dle Chen et al., (2003).	29

13 Seznam grafů

Graf č. 1.	Počty bakterií <i>Salmonella enteritidis</i> .	33
Graf č. 2.	Počty bakterií <i>Escherichia coli</i> .	34
Graf č. 3.	Celkový počet mikroorganismů u vzorků zaočkovaných bakterií <i>Salmonella enteritidis</i> .	35
Graf č. 4.	Celkový počet mikroorganismů u vzorků zaočkovaných bakterií <i>E. coli</i> .	36
Graf č. 5.	Hodnocení deskriptorů senzorické analýzy vzorků ošetřených oreganovou silicí enkapsulovanou do křemičitých nanočástic.	37