

Vliv skladování na mikroflóru sušeného ovoce

Bc. Jaroslav Kovář

Diplomová práce
2011



Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně
Fakulta technologická

Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně

Fakulta technologická

Ústav biochemie a analýzy potravin

akademický rok: 2010/2011

ZADÁNÍ DIPLOMOVÉ PRÁCE

(PROJEKTU, UMĚLECKÉHO DÍLA, UMĚLECKÉHO VÝKONU)

Jméno a příjmení: **Bc. Jaroslav KOVÁŘ**
Osobní číslo: **T09657**
Studijní program: **N 2901 Chemie a technologie potravin**
Studijní obor: **Technologie, hygiena a ekonomika výroby potravin**

Téma práce: **Vliv skladování na mikroflóru sušeného ovoce**

Zásady pro vypracování:

I. Teoretická část

1. Jednotlivé druhy ovoce a jejich popis
2. Sušené ovoce a jeho výroba
3. Mikroorganismy vyskytující se v sušeném ovoci
4. Jednotlivé druhy mikroorganismů a jejich charakteristika

II. Praktická část

1. Mikrobiologický rozbor sušeného ovoce v průběhu skladování



Rozsah diplomové práce:
Rozsah příloh:
Forma zpracování diplomové práce: **tištěná/elektronická**

Seznam odborné literatury:

- [1]BALAŠTÍK,J. Konzervace ovoce a zeleniny, SNTL, Praha 1975.
- [2]KYZLINK,V. Principles of Food Preservation, Elsevier, Amsterdam 1990.
- [3]ICMSF.Microorganisms in foods. 2 ed.,Plenum Publishers,New York 2005.
- [4]BEDNÁŘ,M.FRAŇKOVÁ,V.Lékařská mikrobiologie,bakteriologie,virologie,pa-razitologie 1.vyd., Marvil, Praha 1996.

Vedoucí diplomové práce: **Ing. Zuzana Mišková, Ph.D.**
Ústav technologie a mikrobiologie potravin
Datum zadání diplomové práce: **25. února 2011**
Termín odevzdání diplomové práce: **20. května 2011**

Ve Zlině dne 21. března 2011



doc. Ing. Petr Hlaváček, CSc.
děkan



doc. Ing. Miroslav Fišera, CSc.
ředitel ústavu

Příjmení a jméno: Jaroslav Kovář

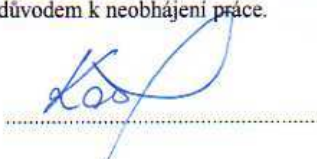
Obor: THEVP

PROHLÁŠENÍ

Prohlašuji, že

- beru na vědomí, že odevzdáním diplomové/bakalářské práce souhlasím se zveřejněním své práce podle zákona č. 111/1998 Sb. o vysokých školách a o změně a doplnění dalších zákonů (zákon o vysokých školách), ve znění pozdějších právních předpisů, bez ohledu na výsledek obhajoby^{1/};
- beru na vědomí, že diplomová/bakalářská práce bude uložena v elektronické podobě v univerzitním informačním systému dostupná k nahlédnutí, že jeden výtisk diplomové/bakalářské práce bude uložen na příslušném ústavu Fakulty technologické UTB ve Zlíně a jeden výtisk bude uložen u vedoucího práce;
- byl/a jsem seznámen/a s tím, že na moji diplomovou/bakalářskou práci se plně vztahuje zákon č. 121/2000 Sb. o právu autorském, o právech souvisejících s právem autorským a o změně některých zákonů (autorský zákon) ve znění pozdějších právních předpisů, zejm. § 35 odst. 3^{2/};
- beru na vědomí, že podle § 60^{3/} odst. 1 autorského zákona má UTB ve Zlíně právo na uzavření licenční smlouvy o užití školního díla v rozsahu § 12 odst. 4 autorského zákona;
- beru na vědomí, že podle § 60^{3/} odst. 2 a 3 mohu užit své dílo – diplomovou/bakalářskou práci nebo poskytnout licenci k jejímu využití jen s předchozím písemným souhlasem Univerzity Tomáše Bati ve Zlíně, která je oprávněna v takovém případě ode mne požadovat přiměřený příspěvek na úhradu nákladů, které byly Univerzitou Tomáše Bati ve Zlíně na vytvoření díla vynaloženy (až do jejich skutečné výše);
- beru na vědomí, že pokud bylo k vypracování diplomové/bakalářské práce využito softwaru poskytnutého Univerzitou Tomáše Bati ve Zlíně nebo jinými subjekty pouze ke studijním a výzkumným účelům (tedy pouze k nekomerčnímu využití), nelze výsledky diplomové/bakalářské práce využít ke komerčním účelům;
- beru na vědomí, že pokud je výstupem diplomové/bakalářské práce jakýkoliv softwarový produkt, považují se za součást práce rovněž i zdrojové kódy, popř. soubory, ze kterých se projekt skládá. Neodevzdání této součásti může být důvodem k neobhájení práce.

Ve Zlíně 18. 5. 2011



¹⁾ zákon č. 111/1998 Sb. o vysokých školách a o změně a doplnění dalších zákonů (zákon o vysokých školách), ve znění pozdějších právních předpisů, § 47 Zveřejňování závěrečných prací:

(1) Vysoká škola nevydělečně zveřejňuje disertační, diplomové, bakalářské a rigorózní práce, u kterých proběhla obhajoba, včetně posudků oponentů a výsledku obhajoby prostřednictvím databáze kvalifikačních prací, kterou spravuje. Způsob zveřejnění stanoví vnitřní předpis vysoké školy.

(2) Disertační, diplomové, bakalářské a rigorózní práce odevzdané uchazečem k obhajobě musí být též nejméně pět pracovních dnů před konáním obhajoby zveřejněny k nahlížení veřejnosti v místě určeném vnitřním předpisem vysoké školy nebo není-li tak určeno, v místě pracoviště vysoké školy, kde se má konat obhajoba práce. Každý si může ze zveřejněné práce pořizovat na své náklady výpisy, opisy nebo rozmnoženiny.

(3) Platí, že odevzdáním práce autor souhlasí se zveřejněním své práce podle tohoto zákona, bez ohledu na výsledek obhajoby.

²⁾ zákon č. 121/2000 Sb. o právu autorském, o právech souvisejících s právem autorským a o změně některých zákonů (autorský zákon) ve znění pozdějších právních předpisů, § 35 odst. 3:

(3) Do práva autorského také nezasahuje škola nebo školské či vzdělávací zařízení, užije-li nikoli za účelem přímého nebo nepřímého hospodářského nebo obchodního prospěchu k výuce nebo k vlastní potřebě dílo vytvořené žákem nebo studentem ke splnění školních nebo studijních povinností vyplývajících z jeho právního vztahu ke škole nebo školskému či vzdělávacího zařízení (školní dílo).

³⁾ zákon č. 121/2000 Sb. o právu autorském, o právech souvisejících s právem autorským a o změně některých zákonů (autorský zákon) ve znění pozdějších právních předpisů, § 60 Školní dílo:

(1) Škola nebo školské či vzdělávací zařízení mají za obvyklých podmínek právo na uzavření licenční smlouvy o užití školního díla (§ 35 odst. 3). Odpirá-li autor takového díla udělit svolení bez vážného důvodu, mohou se tyto osoby domáhat nahrazení chybějícího projevu jeho vůle u soudu. Ustanovení § 35 odst. 3 zůstává nedotčeno.

(2) Není-li sjednáno jinak, může autor školního díla své dílo užít či poskytnout jinému licenci, není-li to v rozporu s oprávněnými zájmy školy nebo školského či vzdělávacího zařízení.

(3) Škola nebo školské či vzdělávací zařízení jsou oprávněny požadovat, aby jim autor školního díla z výdělku jím dosaženého v souvislosti s užitím díla či poskytnutím licence podle odstavce 2 přiměřeně přispěl na úhradu nákladů, které na vytvoření díla vynaložily, a to podle okolností až do jejich skutečné výše; přitom se přihlédne k výši výdělku dosaženého školou nebo školským či vzdělávacím zařízením z užití školního díla podle odstavce 1.

ABSTRAKT

V diplomové práci je sledován vliv skladování na mikroflóru sušeného ovoce. Teoretická část se zabývá technologií výroby sušeného ovoce a vlivem jednotlivých mikroorganismů na zmíněný druh ovoce. V praktické části bylo provedeno mikrobiologické vyšetření šesti vzorků sušeného ovoce se zaměřením na celkové počty mikroorganismů, počty koliformních mikroorganismů a počty plísní. Těchto šest vzorků sušeného ovoce bylo vystaveno třem skladovacím vlivům a to skladování otevřeného a uzavřeného vzorku sušeného ovoce maximální teplotou do 20 °C, r.v. 70 – 75 % a skladování v inkubátoru při 30 °C, r.v. 70 – 75%.

Klíčová slova: sušené ovoce, mikroflóra, bakterie, plísně, skladování

ABSTRACT

The thesis studied the effect of storage on microflora of dried fruit. The theoretical part deals with the technology of production of dried fruits and the effect of microorganisms. The practical part was conducted microbiological testing 6 samples dried fruits with a focus on total viable counts, coliform counts of microorganisms and mold counts. The six samples of dried fruit was exposed to three storage elements and the open and closed storage sample of dried fruit to a maximum temperature of 20 °C, RH 70-75% and stored in an incubator at 30 °C, RH 70-75%.

Keywords: dried fruit, microflora, bacteria, fungi, storage

Chtěl bych poděkovat Ing. Zuzaně Míškové PhD. vedoucí mé diplomové práce, za odborné vedení, cenné rady, připomínky a odkazy na zdroje informací, dále laborantkám Ing. Hance Miklíkové a Olze Haukové.

Prohlašuji, že odevzdaná verze bakalářské/diplomové práce a verze elektronická nahraná do IS/STAG jsou totožné.

OBSAH

ÚVOD	11
I TEORETICKÁ ČÁST	12
1 OVOCE	13
1.1 JABLKA	13
1.2 SLIVONĚ	13
1.3 MERUŇKY	14
1.4 HROZNY RÉVY VINNÉ	14
1.5 BANÁNY	15
2 VÝROBA SUŠENÉHO OVOCE	16
2.1 TEORIE SUŠENÍ	16
2.2 ZPŮSOBY SUŠENÍ	16
2.2.1 Sušení na slunci	17
2.2.2 Sušení vzduchem	17
2.2.3 Sublimační sušení – lyofilisace	17
2.3 TECHNOLOGIE ZPRACOVÁNÍ OVOCE	18
2.3.1 Stručný pracovní postup	18
2.3.2 Zákroky vůči enzymům	18
2.4 BIO SUŠENÉ OVOCE	19
2.5 SKLADOVÁNÍ SUŠENÉHO OVOCE	19
3 MIKROORGANISMY NA SUŠENÉM OVOCI	21
3.1 MIKROFLÓRA NA OVOCI	21
3.2 MIKROFLÓRA NA SUŠENÉM OVOCI	21
3.3 PATOGENNÍ MIKROORGANISMY	22
3.3.1 Bakteriální patogeny	22
3.3.2 Fungi – houby, kvasinky, plísně	22
3.4 MIKROBIOLOGICKÁ KRITÉRIA	22
4 BAKTERIE	25
4.1 STAFYLOKOKY	25
4.1.1 <i>Staphylococcus aureus</i>	25
4.2 COLIFORMNÍ BAKTERIE	26
4.2.1 <i>Escherichia</i>	26
4.2.2 <i>Salmonella</i>	27
5 FUNGI – (HOUBY, KVASINKY, PLÍSNĚ)	28
5.1 PLÍSNĚ	28
5.1.1 <i>Aspergillus</i>	29
5.1.2 <i>Aureobasidium</i>	30

5.1.3	<i>Botrytis</i>	30
5.1.4	<i>Cladosporium</i>	30
5.1.5	<i>Fusarium</i>	30
5.1.6	<i>Penicillium</i>	30
5.1.7	<i>Rhizopus</i>	31
6	LABORATORNÍ VYŠETŘENÍ MIKROORGANISMŮ V POTRAVINÁCH POMOCÍ KULTIVAČNÍCH METOD	32
6.1	STANOVENÍ CELKOVÉHO POČTU MIKROORGANISMŮ PLOTNOVOU METODOU	32
6.2	KOLIFORMNÍ BAKTERIE STANOVENÉ PLOTNOVOU METODOU	32
6.3	STANOVENÍ POČTŮ KVASINEK A PLÍSNÍ PLOTNOVOU METODOU	32
6.4	STAFYLOKOKY STANOVENÉ PLOTNOVOU METODOU	32
7	CÍL PRÁCE	34
II	PRAKTICKÁ ČÁST	35
8	MATERIÁL A METODIKA	36
8.1	SUŠENÉ OVOCE	36
8.2	PŘÍSTROJE A POMŮCKY	37
8.3	KULTIVAČNÍ PŮDY A ŘEDÍCÍ ROZTOK	38
8.3.1	Půda Plate Count Agar	38
8.3.2	Půda Violet Red Bile Laktose Agar	38
8.3.3	Půda Chloramphenicol Yeast Glukose Agar	39
8.3.4	Půda Baird-Parker agar Base	39
8.3.5	Fyziologický roztok	40
8.4	POSTUP A ZNAČENÍ MIKROBIOLOGICKÉHO VYŠETŘENÍ	40
8.4.1	Skladovací pokus	41
8.4.2	Označení vzorku	41
8.4.3	Mikrobiologické vyšetření	41
9	POSTUP A VÝSLEDKY MIKROBIOLOGICKÉHO VYŠETŘENÍ	42
9.1	PŘÍPRAVA VZORKU	42
9.1.1	Odběr vzorků sušeného ovoce	42
9.1.2	Ředění	42
9.1.3	Inokulace	42
9.1.4	Inkubace	43
9.2	STANOVENÍ VZORKU	43
9.2.1	Stanovení celkového počtu mikroorganismů plotnovou metodou	43
9.2.2	Stanovení počtů koliformních mikroorganismů plotnovou metodou	44
9.2.3	Stanovení počtu plísní plotnovou metodou	44
9.2.4	Stanovení počtu stafylokoků plotnovou metodou	44
9.3	VÝPOČET A VYJÁDŘENÍ VÝSLEDKŮ	45
10	VÝSLEDKY A DISKUZE	46

10.1	VÝSLEDKY A DISKUZE PRVNÍHO AŽ PÁTÉHO MIKROBIOLOGICKÉHO VYŠETŘENÍ SUŠENÉHO OVOCE	46
ZÁVĚR		54
SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY		56
SEZNAM POUŽITÝCH SYMBOLŮ A ZKRATEK		59
SEZNAM OBRÁZKŮ		60
SEZNAM TABULEK		61

ÚVOD

Ovoce je přírodním zdrojem ochranných látek, které denně potřebujeme pro své zdraví, pro zdárný vývoj a růst. Ve své různorodosti zabezpečuje ovoce celý komplex vitamínů, minerálních látek, vlákniny. Vláknina ovoce je velmi potřebná pro zdraví. Kromě jiného váže na sebe toxické těžké kovy, které jsou pak z těla vyloučeny stolicí. Rovněž tak pektinové látky, kterých mají nejvíce jablka, švestky, meruňky, rybíz a angrešt, působí na organismus člověka příznivě. Po jejich podávání klesá zvýšená hladina krevního cholesterolu, a proto mají antisklerotický účinek, který se zvyšuje v kombinaci s vitamínem C.

Možnost využít ovoce po celý rok nám umožňuje dlouho známá metoda konzervování sušení ovoce. Sušené ovoce obsahuje mnoho zdraví prospěšných látek, které zůstávají z čerstvého ovoce zachovány a často je i převyšují (kromě nízkého množství vitamínu C v sušeném ovoci). Spolu s rozinkami, meruňkami a švestkami se běžně dají koupit sušené jablečné křížaly, borůvky, brusinky, třešně, rybíz, banánové plátky, fíky a jiné i exotické ovoce.

S ohledem na výše uvedené skutečnosti je předložená práce zaměřena na studium růstu mikroflóry u šesti vybraných vzorků sušeného ovoce za různých skladovacích podmínek.

I. TEORETICKÁ ČÁST

1 OVOCE

Podle plodů dělíme ovoce na jádroviny, peckoviny, drobné bobuloviny a jižní ovoce (citrusy, tropické a subtropické ovoce). Na sušení jsou vhodné skoro všechny druhy ovoce a nejlépe to, které má nízký obsah vody. Důležité je, aby plody byly čerstvé, co nekvalitnější, dobře vyzrálé, bez otlačených míst a stroupků a také by neměly být červivé. Na poškozených místech mohou kromě toho začít působit mikroorganismy a později může začít ovoce při skladování plesnivět [1].

1.1 Jablka

Jabloně, řazené dnes k druhu jabloň domácí (*Malus domestica*), vznikly šlechtěním a křížením jabloně nízké (*Malus pumila*) s jabloní lesní (*Malus sylvestris*) a dalším planým druhem [2].

Jablka obsahují přes 30 různých minerálních látek a stopových prvků, dále důležité vitamíny, jako je provitamin A, hodně vitamínu skupiny B, mezi nimi niacin a kyselinu listovou, vitamín C a E. Je také velmi významným zdrojem draslíku, který reguluje rovnováhu vody v lidském těle. Jablka patří mezi druhy s nejvšestrannějším použitím. Jablka jsou odolná a jejich skladování je snadné. Existuje velký počet druhů, které se liší velikostí a tvarem plodů, aromatem a dobou sklizně. Po letních jablkách, která jsou sklizňově konzumně zralá v přibližně stejnou dobu, následují podzimní a zimní odrůdy, které se sklízí až do konce října. K sušení jsou vhodné především staré odrůdy, jako Parména zlatá či Kanadská a Landberská renata a další odrůdy, u kterých jsou sacharidy a kyseliny ve vyváženém poměru (z 6 kg čerstvých jablek získáme 1 kg sušených) [3].

1.2 Slivoně

Slivoň švestka (*Prunus domestica*) pochází ze západní Asie a z Kavkazu samovolným křížením trnky a myrobalánu. Podle tohoto souhrnného názvu kulturní odrůdy slivoně švestky rozlišujeme podle vlastností plodů. Švestky dělíme na pravé švestky (var. *pruneau-liana*) nebo pološvestky (var. *mammilaris*). Plody jsou vejčité, velké 3 – 6 cm, nejrůznější barvy, a bohaté na obsah hořčičku, železa a vitamínu A. Dužina je převážně tuhé konzistence a dobře se odděluje od pecky [4].

Sušené švestky jsou oblíbenou surovinou používanou v kuchyni. Zásadní nevýhodou je, že se při jejich zpracování používá oxid siřičitý z důvodu jejich měkkosti a šťavnatosti. Vysoký obsah vody komplikují proces sušení. Probíhá-li sušení velmi pomalu, plody často začnou plesnivět. Při sušení se z fialových plodů stanou černé scvrklé plody skvělé chuti (ze 3 – 4 kg švestek získáme 1 kg sušených) [3].

1.3 Meruňky

Meruňka obecná (*Prunus armeniaca*) pochází ze střední Asie, Mandžuska a Číny. Do České republiky se dostala z Itálie přes Slovinsko, Štýrsko a Rakousko. Nejlepší meruňkové polohy jsou na jižní Moravě, jihozápadním a východním Slovensku [4].

Meruňky obsahují jen málo kyselin, zato se v nich ukrývá hodně minerálních a balastních látek, jakož i karotenů, nadprůměrně hodně draslíku, také vitamín B5 a kyselina listová. Meruňky patří k nejchutnějším druhům ovoce a pěstují se ve velkém pro obchod v jižní Africe, Turecku, Kalifornii, ale i v Řecku a Itálii. Meruňky se nedají dlouho skladovat a rychle se u nich objevují otlaky a pokud příliš změknou, nejsou vhodné k sušení. Meruňky se suší rozpůlené řeznou plochou nahoru. Nevýhodou je, že se při jejich zpracování používá oxid siřičitý z důvodu jejich měkkosti a šťavnatosti [3].

1.4 Hrozny révy vinné

Réva vinná (*Vitis vinifera*) je liánovitá, světlomilná a teplomilná rostlina, s mohutným kořenovým systémem, patřící do čeledi *Vitaceae*. Její odrůdy moštové i stolní jsou v Evropě pěstovány již po mnoho staletí. Plody obsahují vysoké množství sacharidů a důležité látky jako vitamín C a vitamíny skupiny B a směs nejdůležitějších minerálních látek draslík, vápník, fosfor a železo.

Rozinky jsou sušené bobule révy vinné (*Vitis vinifera*). Je to nejznámější a nejrozšířenější sušené ovoce, se kterým se od pradávna setkáváme. Sušením na slunci se získávají tmavohnědé až černé rozinky. Světle až středně hnědé rozinky se získají sušením ve speciálním sušicím tunelu. Zlaté až jasně žluté barvy se u rozinek sušených v tunelu docílí následným opracováním oxidem siřičitým. V závislosti na použité výchozí odrůdě jsou pak rozinky s jádry nebo bez jader. Rozinky jsou velmi sladké díky velké koncentraci cukrů.

Pokud se rozinky skladují delší dobu, tak cukr uvnitř krystalizuje, což však nesnižuje kvalitu. Na trhu existují tři typy sušených hroznů: rozinky, korintky a sultánky. Rozinky jsou sušené hrozny z Kalifornie nebo Středního východu. Korintky mají původ v řeckém Korintu a se získávají z malých bezsemenných hroznů černé barvy s menším obsahem cukru sušením na slunci, Sultánky jsou sušené velké bezsemenné odrůdy, které jsou výjimečně sladké [5].

1.5 Banány

Banánovník (*Musa*) je rod bylin z čeledi banánovníkovitých (*Musaceae*). Zahrnuje jak zakrslé druhy velké jen několik desítek centimetrů, tak zástupce náležící k nejvyšším bylinám světa (až 16 metrů). Plody banánovníků, banány, jsou žádanou komoditou, kvůli které byli rozliční zástupci rodu *Musa* zkulturněni a různě šlechtěni.

Banánovníky se pěstují převážně v tropických nížinách v takzvaném „banánovém pásmu“, zóně sahající po obou stranách rovníku až po 30. stupeň zeměpisné šířky. Banány obsahují hodnotné látky, jako například draslík, fosfor, hořčík a hodně stopových prvků, provitamin A, vitamín C a E. Představují rychlý zdroj energie z důvodu vysokého obsahu sacharidů a jsou lehce stravitelné [5].

2 VÝROBA SUŠENÉHO OVOCE

2.1 Teorie sušení

Sušení ovoce je jednou z nejstarších technik konzervování potravin. Sušením rozumíme zpravidla odnímání vody z ovoce převedením vlhkosti do plynného stavu. Odpařením 80 – 90 % vody se vytváří prostředí znemožňující mikrobiální a enzymatickou činnost, čímž se prodlužuje doba trvanlivosti. Teplo potřebné k odpaření přidáváme sušené látce při konvekčním sušení sušícím prostředím, při sálavém sušením sáláním, sušením vedením z plochy sušeným materiálem v přímém styku, zářením z infračerveného zdroje a mikrovlnné záření. Sušící prostředí proudící kolem sušené látky zároveň slouží k odvádění vlhkých par [6].

Na sušící proces má vliv mnoho činitelů, především teplota, která zvyšuje odpařovací schopnost, a podobně působí i rychlost vzduchu. Zvlášť na začátku sušení musí být rychlost vzduchu a teplota vysoká, později je menší a na konci je již bez vlivu. Voda se rychle odpaří z povrchu plodů, obsah vody se snižuje a současně se zvyšuje teplota plodů, která se ke konci vyrovná s teplotou vzduchu [7].

Během sušení a skladování vznikají nejen nežádoucí změny sensorické, ale také fyzikální a chemické. Vedle enzymatického hnědnutí, které eliminuje blanšírování nebo antioxidační namáčení a sušení při inaktivačních teplotách, nastává hnědnutí neenzymatické za vzniku produktů Maillardovy reakce. Bílkoviny s redukujícími cukry reagují nejen během sušení, ale také během skladování při vyšších teplotách. Maillardova reakce je nejintenzivnější jestliže výrobek obsahuje 5 – 10 % vody, naopak nad 10% vlhkosti se reakce mírně zpomaluje, při obsahu 3 % vody tato reakce již prakticky neprobíhá. Ukazatelem jakosti je též bobtnací schopnost sušených výrobků. Sušení je nevratný děj, takže nelze předpokládat úplnou dehydrataci, přesto je stupeň bobtnavosti závislý na způsobu sušení. [7].

2.2 Způsoby sušení

K sušení ovoce používáme tři základní typy sušení:

- sušení na slunci
- sušení vzduchem
- sublimační sušení – lyofilisace

2.2.1 Sušení na slunci

Tato metoda se již dnes využívá velmi málo. Vzhledem k tomuto způsobu sušení, může být vlhkost vyšší než 15 – 20 % a tím má sušené ovoce omezenou dobu trvanlivosti. Všeobecně je tento proces sušení nevhodný pro výrobu vysoce kvalitních produktů [6].

2.2.2 Sušení vzduchem

Hlavními typy sušících zařízení jsou sušárny skříňové, kde se ovoce suší na lískách či roštech, nebo sušárny pohyblivé, z nichž nejznámější jsou sušárny tunelové a pásové. Tento konvenční způsob sušení, kde se sušící vzduch ohřívá topnými tělesy a jeho cirkulaci zajišťují ventilátory, by teplota při sušení měla dosahovat v počáteční fázi 40 – 60 °C, ve střední fázi 60 – 80 °C a v závěrečné fázi 50 – 60 °C. Doba sušení se pohybuje od 8 do 14 hodin, dle velikosti a druhu ovoce. Vlhkost z ovoce se odstraňuje zahřátím plodů horkým vzduchem, který proudí kolem plodu a současně odvádí vodu v podobě vodní páry. Nejdůležitějšími činiteli při sušení jsou vzduch a jeho teplota, vlhkost a rychlost proudění. K dosažení velké rychlosti sušení je potřeba přivádět neustále horký a suchý vzduch. Nepřetržitý a rychlý přísun vody z vnitřku sušeného plodu na jeho povrch je však možný jen tehdy, zachová-li se kapilární systém v buněčném pletivu neporušený a na sušeném plodu se nevytvoří ztvrdlá a denaturovaná kůra. Proto je třeba v sušárenském prostoru udržovat optimální vlhkost vzduchu v rozmezí 60 – 70 %. Je tedy nutné regulovat přítok, odsávání a cirkulaci vzduchu a jeho teplotu [7].

2.2.3 Sublimační sušení – lyofilisace

Mezi moderní využívané postupy sušení patří také sublimační sušení neboli lyofilisace. Malé kousky ovoce určené k sušení jsou rychle zmrazeny na teplotu –25 až –30°C tak, aby se minimalizovalo poškození struktury ovoce krystaly ledu. Poté je ovoce umístěno do prostoru sušárny, ve které je udržován tlak nižší než tlak vodní páry při trojném bodu vody (610,5 Pa). Za těchto podmínek ze zmrazeného ovoce voda odchází sublimací přímo z ledu, takže sušené ovoce zachovává svou texturu. Odpařená vodní pára je odváděna

z prostoru sušení a kondenzuje na výparníku, který musí mít nižší teplotu než materiál při sušení. Potřebné teplo (sublimační teplo vody) je buď přiváděno do ovoce vedením nebo mikrovlnným zářením. Sušení ovoce probíhá ve dvou fázích, nejprve sublimací do obsahu vody kolem 15 %, poté desorpcí zbývající vody (do 2 % obsahu vody) [8].

2.3 Technologie zpracování ovoce

Při výběru suroviny je třeba dbát na kvalitu, maximální výtěžnost a co nejvyšší obsah sušiny. Ovoce má být lehce loupateľné, tak aby šla dužina od pecky, a nebo s malými jádřinci. Důležitý je též stupeň zralosti, protože ve zralém ovoci je více cukrů a vonných látek.

2.3.1 Stručný pracovní postup

Ovoce se pere, třídí, odstraňují se stonky, odpeckovává se nebo loupe a krájí. Dále se provádějí zákroky vůči enzymům. Po všech těchto úpravách nastává vlastní sušení, egalizace a balení.

Tab. 1. Doba sušení

Ovoce	Doba sušení/hod.	úprava	Stupeň vysušenosti
Jablka	8	plátky silné cca 10 mm	40%
Hrušky	10	čtvrtky	25%
Meruňky	12	půlky	30%
Švestky	12	půlky	35%
Broskve	10	tenké plátky	20%
Banány	8	plátky silné 8 mm	50%
Borůvky	10	celé	30%
Jahody	14	půlky	25%
Bezinky	12	celé	30%
Šípky	6	čtvrtky	50%

2.3.2 Zákroky vůči enzymům

Během sušení a skladování nastává enzymatické a neenzymatické hnědnutí. Aby nedocházelo k enzymatickému a neenzymatickému hnědnutí provádíme tyto metody:

- Alkalické zinkování – používá převážně u hrozinek a švestek.
- Blanšírování ovoce – provádí se velmi málo.
- Sírění ovoce – dnes nejvíce používaná metoda

Ovoce se síří nejčastěji spalováním síry a přívodem komprimovaného SO_2 nebo se ovoce před sušením ponoří 5 až 10 minut do 0,5 – 2% roztoku siřičitanů. Obsah SO_2 ze síření v ovoci během skladování klesá, a to tím více, čím déle se výrobek skladuje a čím je vyšší skladovací teplota. Přestože jsou v sušeném ovoci siřičitany povoleny, jejich použití je nepopulární pro mnoho spotřebitelů. Proto se začaly používat alternativní způsoby ke zpomalení enzymatického hnědnutí a dalších oxidačních reakcí při sušení. Jedna z alternativ k siřičitanům a tím je kyselina askorbová a její izomer kyselina erytrobová. Tyto sloučeniny se přidávají do lázně s roztokem obsahujícím inhibitor hnědnutí, někdy v kombinaci s organickou kyselinou, jako je kyselina citronová a vápenaté soli. Do této lázně se ovoce před sušením namáčí. [6,7].

2.4 Bio sušené ovoce

Biopotravina je vypěstovaný produkt ekologického zemědělství, tedy bez použití umělých hnojiv, škodlivých chemických postřiků či geneticky modifikovaných organismů a výrobků na jejich bázi. Při jejich produkci nesmí být užito chemických hnojiv, ošetřovacích prostředků a jiných látek, které narušují životní prostředí nebo se v něm přirozeně nevyskytují. Základním právním předpisem, který v Česku upravuje zásady ekologického zemědělství, je Zákon 242/2000 Sb. o ekologickém zemědělství vydaný Ministerstvem zemědělství a Nařízením Evropské Rady č. 834/2007 [9].

K zabránění enzymatické a neenzymatické zhnědnutí, se může ovoce namáčet v 2% roztoku kyseliny citronové. Jiné prostředky, jako například hojně používaný roztok kyseliny siřičité či spalování sirných plátků je v rozporu se zásadami zpracování ovoce v režimu ekologického zemědělství [10].

2.5 Skladování sušeného ovoce

Při sušení se musí ovoce více vysušit, protože během skladování přijme část vlhkosti ze vzduchu, a to tím více, čím je vzduch vlhčí a teplejší. Při sušení se jednotlivé kusy ovoce nevysuší stejnoměrně, proto se sušené ovoce egalizuje, tj. vyrovnává na stejnou vlh-

kost na hromadách nebo ve větších zásobnících. Pak se ovoce pytluje nebo se balí do spotřebitelských obalů.

Při skladování je důležité dodržovat maximální teplotu do 20 °C (velmi výhodné je uskladňování při teplotě 0 – 4 °C) a vlhkosti do 70 %. Po usušení je ovoce téměř sterilní, avšak nevhodným skladováním se často silně infikuje nežádoucími mikroorganismy. Zvlhlé sušené ovoce může začít plesnivět a kvasit. Dále musíme sušené ovoce chránit před nápořem hmyzích škůdců (zavíječů), je vhodné regulovat prostředí skladu feromonovými lepíci pásky nebo aplikací kapslí s násadou vosiček, které parazitují na vajíčkách zavíječů [8].

3 MIKROORGANISMY NA SUŠENÉM OVOCI

3.1 Mikroflóra na ovoci

Počáteční mikroflóra na ovoci pochází z oblasti růstu ovoce, až do doby sklizně a následné přepravě ke zpracování. Hlavními zdroji mikroflóry je půda, vzduch, voda, hmyz a volně žijící zvířata. Půda je primární zdroj tepla pro vznik plísní, a ty se hlavně šíří vzduchem. Plísně ovoce převážně napadá již před sklizní, ale toto napadení se velmi často projevuje po sklizni. Mezi nejvýznamnější druhy patří členové rodu *Aspergillus*, *Penicillium*, *Mucor*, *Alternaria*, a *Cladosporium*. Závlahové vody mohou být důležitým zdrojem mnoha mikroorganismů, včetně střevních patogenů, jako je *Salmonella*. Hmyz, ptáci a volně žijící zvířata velmi často porušující povrch ovoce. Takto porušené ovoce je kontaminováno převážně Gram-negativními bakteriemi zejména rodů *Pseudomonas*, *Xanthomonas*, *Enterobacter*, a *Corynebacterium*. Množství a četnost mikroorganismů se mění se zralostí ovoce [11].

3.2 Mikroflóra na sušeném ovoci

Stejně jako u ostatních ovocných výrobků tak i u sušeného ovoce jsou stanoveny výrobní postupy, které omezují mikrobiální kontaminaci v oblasti sušení na zařízení používaném při zpracování, skladování, použití obalů a přepravě sušeného ovoce. Tyto vypracované výrobní postupy mohou snížit mikrobiální zátěž na výrobku. Ošetřením oxidem siřičitým se ničí mnoho mikroorganismů na povrchu plodu. Sušené ovoce s aktivitou vody nižší než 0,85 a_w není tak náchylné k mikrobiálnímu kažení [12].

V dnešní době jsou velmi populární výroby „BIO“ z ekologického zemědělství. Toto sušené ovoce není ošetřeno sířením. Plody jsou před zpracováním často prány a maximálně ošetřeny máčením v 2% roztoku kyseliny citronové. Následným použitým typem sušením se ovlivňuje mikroflóra sušeného produktu. Pouze spory rodu *Aspergillus* jsou schopné přežít a v následném průběhu sušení mají potenciál ke vzniku a produkci ochratoxinu A. Nicméně špatné podmínky skladování po vysušení mohou způsobit šíření kvasinek a vláknitých hub, především rodu *Aspergillus* a *Penicillium*. Sušením celkově snižujeme mikrobiální zátěž, ale rozsah snížení závisí jak na druhu ovoce a taky na správném technologickém zpracování sušeného ovoce [11].

3.3 Patogenní mikroorganismy

Patogenní mikroorganismy mají různou velikost a biologické vlastnosti. Některé jsou schopné získávat živné látky z neživého prostředí a lze je pěstovat (kultivovat) na umělých půdách. Ostatní nejsou schopné růst mimo živého hostitele, jsou nitrobuněčnými parazity, tzn. že rostou a množí se pouze v hostitelské buňce. Patogenní mikroorganismy se rozdělují do čtyř hlavních skupin: bakterie, fungi (houby, kvasinky, plísňe), viry a parazité. [12].

3.3.1 Bakteriální patogeny

Přežívání patogenních bakterií na sušené ovoce je obvykle slabé a omezené na několik týdnů. Poměrně krátká doba skladování před dalším zpracováním se riziko kontaminace patogenními bakteriemi minimalizuje. Nejčastěji se na ovoci a sušeném ovoci vyskytují bakterie rodu *Staphylococcus*, *Escherichia* a *Salmonella*.

Například *E. coli* O157:non-H7 byl izolován z jednoho vzorku z konvenčně pěstovaných dovážených rozinek a z jednoho vzorku z ekologicky pěstovaných dovážených meruněk (Johannessen *et al* 1999) [11].

3.3.2 Fungi – houby, kvasinky, plísňe

Existuje možnost výskytu plísňí při nevhodném sušení nebo skladování a následným zvýšením vlhkosti u sušené ovoce nad 0,85 a_w . Nejčastěji se na ovoci a sušeném ovoci vyskytují plísňe rodu *Aspergillus*, *Aureobasidium* (*Pullularia*), *Botrytis*, *Cladosporium*, *Fusarium*, *Penicillium* a *Rhizopus*.

V důsledku hmyzího nebo mechanického proniknutí byla již také zjištěna infekce u hroznů rodem *Aspergillus*. Například výskyt *Aspergillus carbonarius*, na hroznech před nebo během sušení, může vést k vzniku ochratoxinu A a jeho produkci. U *Asp. carbonarius* a několika izolátů blízce příbuzných druhů *Asp niger* byl tento ochratoxin A již objeven (Abarca *et al*, 1994;. Teren *et al*, 1996;. Heenan *et al*, 1998)[11,13].

3.4 Mikrobiologická kritéria

Mikrobiologickým kritériem pro potravinu se rozumí přijatelnost výrobku nebo šarže potraviny založené na nepřítomnosti nebo přítomnosti nebo počtu mikroorganismů včetně parazitů anebo množství toxinů nebo metabolitů na jednotku hmotnosti, objemu,

plochy, nebo na šarži. Mikroorganismy zahrnuté do kritéria by měly být uznávány pro jednotlivé potraviny a technologické postupy jako patogenní mikroorganismy, indikátorové mikroorganismy nebo mikroorganismy způsobující kažení. Tam kde mohou být patogeny detekovány přímo a spolehlivě, měla být jejich detekce upřednostněna před stanovením indikátorových mikroorganismů. Pokud se provádí stanovení indikátorového mikroorganismu, mělo by být jasně určeno, zda se zkouška provádí za účelem odhalení neodpovídajících hygienických postupů nebo za účelem indikace možného zdravotního rizika [13].

Tab. 2. Bakteriální původci onemocnění z potravin (udávané hodnoty jsou k potravinám určeným k přímé spotřebě) [14,15].

Mikroorganismus	Nejvyšší mezní hodnota na g (ml)
<i>Bacillus cereus</i>	10 ⁵
Termotolerantní <i>Campylobacter</i>	negat/25
<i>Clostridium perfringens</i>	10 ⁵
<i>Escherichia coli</i> 0 157 a další verocytotoxin produkující <i>E.coli</i> (VTEC)	negat/25
<i>Escherichia coli</i>	10 ⁴
<i>Listeria monocytogenes</i>	negat/25
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	10 ⁴
<i>Salmonella</i> spp.	negat/25
<i>Shigella</i> spp.	negat/25
Koagulázopozitivní stafylokoky (<i>Staphylococcus aureus</i> a další druhy)	10 ⁴
<i>Yersinia enterocolitica</i> (suspektní patogenní kmeny)	negat/25
negat: neprokazatelnost ve hmotnosti (objemu) zkušebního vzorku specifikované za lo- mítkem	

Tab. 3. Původci kažení (udávané hodnoty jsou k potravinám určeným k přímé spotřebě) [14,15].

Mikroorganismus	Nejvyšší mezní hodnota na g(ml)
aerobní mezofilní organismy	10^5
kvasinky	10^5
plísně	růst plísni viditelný pouhým okem

Tab. 4. Tolerované hodnoty pro jednotlivé druhy, skupiny nebo podskupiny potravin[14,15].

Sušená zelenina a ovoce				
	n	c	m	M
<i>Escherichia coli</i>	5	2	10^3	10^4
Plísně	5	3	10^4	10^5

n – je rozsah výběru, čímž se rozumí počet vzorků určený k vyšetření, jehož účelem je rozhodnout zda posuzovaná šarže výrobku nebo její část bude posouzena jako vyhovující nebo nevyhovující stanoveným mikrobiologickým požadavkům.

m – je množství mikroorganismů, které se připouští u všech vzorků n;

M – je množství mikroorganismů, které se ještě připouští u počtu vzorků, které je nižší nebo rovná c;

c – je rozhodné číslo, čímž se rozumí počet vzorků z výběru n, u nichž se připouští hodnota M.

4 BAKTERIE

Většina bakterií je viditelná pod mikroskopem. Bakterie nemají na rozdíl od vyšších organismů pravé buněčné jádro (nukleus). Jelikož jim chybí jaderná membrána, genetický materiál leží v cytoplazmě ve formě nukleotidu. Bakterie se rozmnožují dělením. Většina bakterií je schopna růst nezávisle na hostiteli, a proto je lze kultivovat na umělých médiích (kultivačních půdách). Některé bakterie však nejsou schopné růst a množit se mimo hostitele [12].

4.1 Stafylokoky

Do rodu *Staphylococcus* bylo doposud zařazeno kolem 40 druhů a poddruhů. Z hlediska patogenity mají pro člověka největší význam koaguláty-pozitivní druh *S. aureus*.

Stafylokoky jsou charakterizovány jako gram-pozitivní, nesporulující, nepohyblivé a většinou neopouzdřené sférické koky o průměru asi 1 μm . Vyskytují se jednotlivě ve dvojicích a v nepravidelných shlucích, nebo v hrozníčcích.

Stafylokoky jsou do značné míry rezistentní k nepříznivým vlivům zevního prostředí. Odolávají zahřátí do 55 °C po dobu 30 minut.

Fakultativně anaerobní stafylokoky jsou poměrně nenáročné na kultivační podmínky. Rostou dobře na obyčejném živném agaru. Na pevných pomnožovacích půdách vyrůstají do 24 hodin inkubace při 37 °C v okrouhlých, hladkých, lesklých a mazlavých koloniích o průměru 1 – 3 milimetrů [15,16].

4.1.1 *Staphylococcus aureus*

Řadí se mezi biochemicky nejaktivnější bakteriální druhy. Produkuje řadu komplexních látek, exoenzymů a toxinů, z nichž mnohé se uplatňují jako faktory virulence. Dobře se adaptuje na kůži a sliznice a spolu se streptokoky patří mezi nejčastější původce pyogenních infekcí a intoxikací člověka [16].

Pyogenní aktivitu stafylokoka nemá více než deset různých typů enterotoxinů, které však vyvolávají dramaticky vyhlížející alimentární intoxikaci. Nejčastějšími příznaky jsou nevolnost, zvracení, křeče v břiše, průjem, pocení, bolest hlavy, vysílení a někdy i pokles teploty. Většina nakažených se velmi rychle uzdraví do 2 dnů [17].

4.2 Coliformní bakterie

Bakterie tvořící tuto skupinu mají 28 rodů v čeledi *Enterobacteriaceae*. Tyto bakterie jsou gramnegativní tyčinky se zaoblenými konci, 2-3 μm dlouhé, a 0,6-1 μm široké. Až na výjimky mají bičíky, a proto jsou pohyblivé. Mezi nejvýznamnější patří rod *Escherichia* a *Salmonella*.

Rostou na základních kultivačních půdách bez růstových přísad za přístupu vzduchu. Na pevných pomnožovacích půdách vyrůstají do 24 hodin při inkubační teplotě 37 °C v okrouhlých, hladkých, a hlenovitých koloniích o průměru 3 – 5 milimetrů [16].

Enterobakterie jsou rozšířeny po celém světě a často vyvolávají hromadná onemocnění epidemického, někdy endemického charakteru. Přenos se děje převážně kontaminovanými potravinami a vodou.

Největší význam této skupiny bakterií spočívá v tom, že kolonizují gastrointestinální trakt, zejména sliznici tlustého střeva. Některé druhy zejména rodu *Shigella* a *Salmonella* jsou původci infekcí trávicího traktu. Dostanou-li se enterobakterie z nějakých příčin mimo trávicí trakt, mohou vyvolat někdy i vážné infekce [16,17].

4.2.1 *Escherichia*

Rod *Escherichia* odpovídá vlastnostmi obecné charakteristice enterobakterií. Typovým druhem je *Escherichia coli*, (*E.coli*) a je běžným komensálem tlustého střeva. Fekálním znečištěním se dostává do vody, kde může přežít řadu týdnů. Slouží jako nejběžnější indikátor fekální kontaminace. Patogenita *E. coli* vyvolávají hlavně průjemová onemocnění.

E. coli jsou gram-negativní, fakultativně anaerobní bakterie. Jsou založeny na sérologických vlastnostech nebo přítomnostech faktorů virulence. Proto byly seskupeny do čtyři následujících skupin:

- Enteropatogenních (EPEC)
- 2. Enteroinvasive (EIEC)
- Enterotoxigenní (ETEC)
- Enterohaemorrhagic (EHEC).

Zatímco v prvních dvou případech patogenní mechanismy nejsou plně známy tak u posledních dvou případech bylo zjištěno, že patogenita se vztahuje k produkci toxinů. Z poslední skupiny byl zjištěn sérotyp 157: H7. Tento sérotyp je jeden z nejčastějších a je nejnebezpečnější. Zahrnuje vysoce virulentní kmeny, a proto mu byla v průběhu posledních 10 let věnována velká pozornost z důvodu zjištění, že tento sérotyp má schopnosti přežívat v kyselém prostředí [16,18].

4.2.2 *Salmonella*

Rod *Salmonella* jsou pohyblivé gramnegativní tyčinky a mají společné fimbrie typ I. Salmonely jsou primárními střevními patogeny člověka a zvířat. Často se nacházejí v odpadcích, v půdě a vodě. Za vhodných podmínek mohou ve vodě přežívat několik měsíců i let. Potraviny mohou být infikovány přímo (surovinou připravenou z infikovaných zvířat) nebo druhotně. Patogenita je trojího typu :

- skupina salmonel vyvolává septické onemocnění (patogen a součástečně prototypem této skupiny je *Salmonella typhi*, jediný vyvolavatel břišního tyfu.)
- skupina salmonel je rovněž invazivní, ale charakter onemocnění je hnisavý (v kloubech, na meningách, v kostech – *S. choleraesuis*, *S. dublin*, *S. panama*). Jde o tzv. salmonelózy s lokální manifestací.
- skupina je většina ostatních (zejména *S. typhimurium*, *S. enteritidis*) jsou sérotypy vyskytující se u více živočišných druhů, způsobují enterokolitidy a otravy z potravin.

S. typhimurium, a *S. enteritidis* vyvolávají gastroentericidity. Tato onemocnění jsou poměrně četná. Často se vyskytují v podobě explozivních epidemií postihující okruh strážníků jídelen nebo vývařoven, kde došlo k porušení technologické kázně při úpravě pokrmů. Jindy může být zdrojem nákazy potravinářský výrobek. Hlavními původci infekce jsou různí obratlovci a hlodavci Po nakažení je nástup nemoci krátký v rozmezí 18 – 36 hodin. Příznaky onemocnění jsou bolesti břicha, průjem, nevolnost a zvracení, někdy může být doprovázeno zvýšenou teplotou 38 – 39 °C. V mnoha případech onemocnění skončí do 48 hodin. Obecně zasaženými lidmi bývají děti, senioři a oslabení jedinci, úmrtí bývají jen zřídka [16, 19].

5 FUNGI – (HOUBY, KVASINKY, PLÍSNĚ)

Fungi jsou větší než bakterie a mají mnohem vyvinutější buněčnou strukturu. U těchto mikroorganismů je genetický materiál oddělen od cytoplazmy nukleovou (jadernou) membránou. Rozmnožují se jednobuněčnými nebo vícebuněčnými sporama, které vznikají buď pohlavně nebo nepohlavně. Rozmnožují se pučením (kvasinky), jiné například plísně, vytvářejí rostoucí kolonie buněk (mycelium) [12].

5.1 Plísně

Jako plísně označujeme mikroskopické vláknité eukaryotické mikroorganismy patřící mezi houby (*Fungi*). Podle přítomnosti a typu pohlavního rozmnožování náleží technicky důležité plísně do těchto taxonomických jednotek:

- Do třídy *Zygomycetes*, jež patří mezi *Zygomycotina* a je charakterizována jednobuněčným tj. nepřehrádkovým myceliem a pohlavní rozmnožováním s tvorbou tzv. zygospor. Nepohlavní rozmnožování se děje endosporami. Zde patří rody: *Mucor*, *Rhizopus*, *Thamnidium*.
- Do kmenu *Ascomycitina*, charakterizovaného přehrádkovým myceliem a pohlavním rozmnožováním za tvorby askospor tvořených v asku. Nepohlavní rozmnožování nastává exosporami. Zde patří rody: *Byssochlamys*, *Emericella*, *Eupenicillium*, *Euopium*.
- Do podkmenu *Deuteromycotina* (*Fungi imperfecti*, tl. Hoby nedokonalé) s přehrádkovým myceliem, avšak poze s ohlavním rozmnožováním pomocí exospor. Zde patří rody: *Aspergillus*, *Aureobasidium* (*Pullularia*), *Botrytis*, *Cladosporium*, *Fusarium*, *Penicillium* [20].

Plísně jsou mnohobuněčné mikroorganismy s mnoha specializovanými strukturami, které mají specifické funkce.

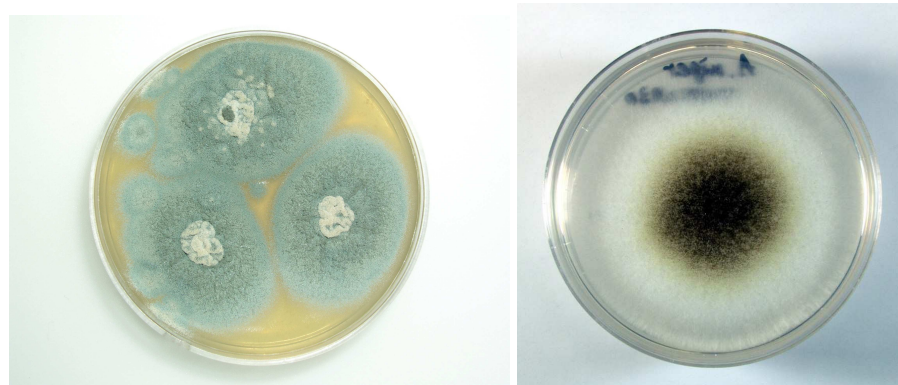
- ❖ Hyfy – jsou základní jednotkou plísni. Jsou to velmi jemná tenká vlákna, která tvoří spleť navázanou mycelium. Některá vlákna jsou předělená septy, která umožňují pohyb cytoplazmy mezi buňkami.
- ❖ Konidiofory – jsou hyfy, které nesou na svém konci drobné jednobuněčné kulovité nepohlavní spory nazvané kondie.

- ❖ Sporangiofory – jsou hyfy, na jejichž konci jsou vakovité útvary naplněné sporami, sporangia.
- ❖ Kondie – jsou nepohlavní spory různého typu a velikosti.

Plísně se rozmnožují jednak rozrůstáním hyf, jednak sporami. Spory vznikají buď vegetativním způsobem (tzv. nepohlavní neboli vegetativní spory), nebo po spájení (pohlavní spory) [12].

5.1.1 *Aspergillus*

Rod *Aspergillus* byl poprvé popsán již před 300 lety a v potravinách je důležitým zdrojem kažení. Mnoho druhů produkuje mykotoxiny a ty mohou být pro člověka velmi nebezpečné. Jsou to vláknité houby a nachází se v celé přírodě. Nejvíce se nacházejí v ovzduší a v půdě, obzvláště obdělávané při rozkladu rostlinných materiálů. Do tohoto rodu patří více než 100 uznávaných druhů a z toho asi 20 druhů vyvolává infekci u lidí. Mezi tyto je nejčastěji izolované druhy patří: *Aspergillus fumigatus* barva kolonií šedozeleňá nebo modro zelená, *Aspergillus flavus* barva kolonií žlutozelená a *Aspergillus niger* barva kolonií černá. Mezi další druhy, které nejsou často izolované jako oportunní patogeny jsou *Aspergillus clavatus*, *Aspergillus Glaucus*, *Aspergillus nidulans*, *Aspergillus oryzae*, *Aspergillus terreus*, *Aspergillus ustus* a *Aspergillus versicolor*. Tyto druhy u člověka vyvolávají oportunní infekce, alergické stavy a toxicitidu. Hlavním faktorem, který vede ke vzniku oportunních infekcí je imunoprese. Oportunní infekce je obecně nazývána aspergilóza. Mezi nejčastější formy aspergilózy u lidí je plicní onemocnění [21].



Obrázek 1: *Aspergillus fumigatus*, *Aspergillus niger*

5.1.2 *Aureobasidium*

Aureobasidium pullulans je všudypřítomná kvasinka -jako houba, která se nachází v půdě, vodě a vzduchu. Nachází se v široké škále druhů ovoce (např. hrozny révy vinné, jablek) a různých druhů zeleniny. *A. pullulans* nevyvolává žádné příznaky onemocnění, ale má velký význam v oblasti biotechnologie při výrobě různých enzymů [22].

5.1.3 *Botrytis*

Botrytis cinerea je houba, která postihuje mnoho druhů rostlin, ale nejvíce se nachází na vinných hroznech. Ve vinařství je obvykle známé jako *Botrytis banda hniloba* a obvykle se nazývá jako plíseň šedá. U ostatního ovoce způsobuje hnilobu. Onemocnění z plísně *Botrytis cinerea* je velmi vzácné [22].

5.1.4 *Cladosporium*

Cladosporium je z nejběžnějších plísní . Tyto druhy produkují olivovězelené až hnědé nebo černé kolonie, a mají tmavě pigmentované konidie. Výtrusy plísní *Cladosporium* jsou volně rozptýlené a často jsou velmi hojné ve venkovním ovzduší. Při vyšším výskytu vlhkosti mohou růst na povrch ovoce. *Cladosporium* druhy jsou zřídka patogenní pro člověka, ale mohou způsobovat infekci kůže, zánět nosních dutin a infekci plic [22].

5.1.5 *Fusarium*

Fusarium je velký rod vláknitých hub rozšířený v půdě a na rostlinách. Většina druhů je neškodná, ale některé druhy produkují mykotoxiny v obilovinách, které mohou ovlivnit zdraví lidí a zvířat, pokud se dostanou do potravinového řetězce.

Rodu *Fusarium oxysporum f.sp. cubense* je patogen, který způsobuje nemoc Panama u banánu (*Musa spp.*) Některé druhy mohou u člověka způsobit řadu oportunních infekcí[22].

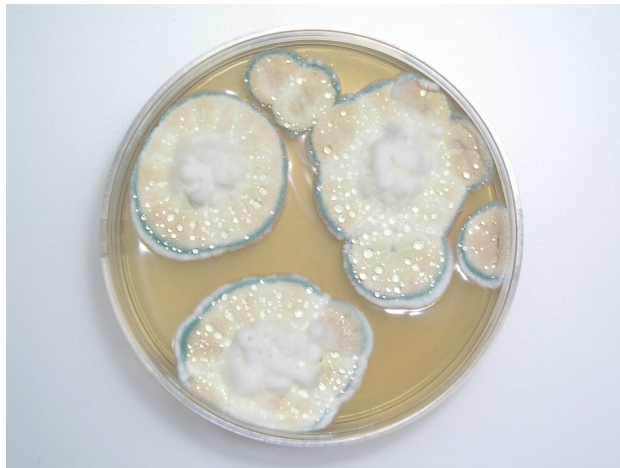
5.1.6 *Penicillium*

Penicillium je rod hub, který má velký význam v přírodě, v potravinářství a ve farmaceutickém průmyslu. Druhy *Penicillium* jsou všudypřítomné půdní houby a vyskytují se v chladném a mírném podnebí a patří mezi hlavní příčiny kažení potravin. Mnoho druhů produkuje vysoce toxické mykotoxiny. Typické barvy plísní na potravinách jsou modré až

modro-zelené, které se převážně nacházejí na citrusových plodech, viných hroznech, jádrovém a peckovém ovoci, ale i na jiných potravinách.

Penicillium spp. vyvolávají u lidí infekční onemocnění známou jako *penicilliosis*. Toto onemocnění způsobuje *Penicillium marneffi* a jsou to plicní nebo kožní infekce, které se projevují horečkou, kožními lézemi, anémií, hubnutím. Kromě těchto infekčních onemocnění produkuje *Penicillium verrucosum* nebezpečné mykotoxiny, ochratoxinu A, které jsou nefrotoxické a karcinogenní.

Naopak některé druhy mají velký význam v potravinářství a několik druhů rodu *Penicillium* ssp. se používají k výrobě sýrů a různých masných výrobků. Ve farmaceutickém průmyslu jsou zdrojem významných antibiotik, zejména penicilinu a griseofulvin [21,22].



Obrázek 2: *Penicillium verrucosum*

5.1.7 *Rhizopus*

Rhizopus je vláknitá houba, která se často nachází v půdě a na zralém ovoci. Některé druhy *Rhizopus* jsou příčinou vážného infekčního onemocnění tzv. zygomykózu (kvasinková infekce) a často toto onemocnění u lidí může být fatální.

Rod *Rhizopus* obsahuje několik druhů. Nejběžnější z nich jsou, *Rhizopus arrhizus*, *Rhizopus azygosporus*, *Rhizopus microsporus*, *Rhizopus schipperae*, a *Rhizopus stolonifer*. Kolonie rostou velmi rychle a jejich barva je zpočátku bílá nebo šedá až žlutavě hnědá. Patogenní druhy *Rhizopus* mohou růst i při teplotě 37 ° C [22].

6 LABORATORNÍ VYŠETŘENÍ MIKROORGANISMŮ V POTRAVINÁCH POMOCÍ KULTIVAČNÍCH METOD

6.1 Stanovení celkového počtu mikroorganismů plotnovou metodou

Celkové počty mikroorganismů (CPM) jsou aerobní a fakultativně anaerobní mikroorganismy (bakterie, kvasinky, plísně) tvoří počítatelné kolonie, vyrostlé za podmínek specifikované normou. Tato skupina se nejvíce přibližuje absolutnímu celkovému počtu mikroorganismů a nejlépe vystihuje stupeň mikrobiálního znečištění daného substrátu. CPM poskytují základní informace o stupni mikrobiální kontaminace a rekontaminace surovin, hotových výrobků a prostředí provozoven. Z výsledků lze usuzovat na úroveň technologie a dodržování hygienických směrnic při výrobě, přepravě a skladování. [23].

6.2 Koliformní bakterie stanovené plotnovou metodou

Koliformní bakterie jsou bakterie, které při určité teplotě tvoří charakteristické kolonie v půdě s krystalovou violetí, neutrální červení, žlučí a laktózou. Při 30 °C pro účely technologické a při 37 °C pro vyšetření související s ochranou zdraví [23].

6.3 Stanovení počtů kvasinek a plísní plotnovou metodou

Kvasinky a plísně jsou mikroorganismy, které při aplikaci metod tvoří kolonie na selektivní půdě při 25 °C. Kvasinky a plísně mají pozitivní i negativní význam. Mohou být producenty mykotoxinu, původci kažení potravin nebo indikátorem mikrobiologické jakosti potravin. Vyznačují se významnou proteolytickou, lipolytickou a sacharolytickou aktivitou. Některé druhy kvasinek nebo plísní mohou být termoresistentní [23].

6.4 Stafylokoky stanovené plotnovou metodou

Kultivační nároky stafylokoků nejsou nikterak specifické. Většinou postačí k růstu běžně

používaná základní média, některé však rostou rychleji na médiích obohacených např.

heminem nebo za kultivace při zvýšené tenzi CO₂. Většina stafylokoků roste za aerobních

podmínek v termostatu při 37 °C. Nejčastěji studovaným a uváděným oportunním patogenem z řad stafylokoků je koaguláty pozitivní druh *Staphylococcus aureus* subsp. *aureus* [23,28].

7 CÍL PRÁCE

Cílem diplomové práce bylo vyšetřit a zhodnotit vlivy skladování nakoupených vzorků sušeného ovoce. Pro mikrobiologické vyšetření byly zvoleny standardní plotnové metody v souladu s českými technickými metodami. Mikrobiologické vyšetření celkových počtu mikroorganismů, koliformních bakterií a plísní byla použita metoda přelivu a k mikrobiologickému vyšetření stafylokoků byla použita metoda rostěru. Výsledky prvního až pátého mikrobiologického vyšetření byly zaznamenány do tabulek č. 5 – 9.

II. PRAKTICKÁ ČÁST

8 MATERIÁL A METODIKA

8.1 Sušené ovoce

V maloobchodní síti byly zakoupeny vybrané druhy sušeného ovoce uvedené v následujícím přehledu:

1. Jablečné křížaly

- výrobce: Ing. B. Kratochvíl – IBK TRADE
- země původu: Česká republika
- hmotnost: 60 g
- minimální trvanlivost: 5.1.2011

2. Banánové plátky

- výrobce: PRO – BIO s.r.o.
- země původu: Filipíny
- hmotnost: 150 g
- minimální trvanlivost: 3.12.2010

3. Švestky bez pecky

- výrobce: SEEBERGER K.G.
- země původu: Německo
- hmotnost: 200 g
- minimální trvanlivost: 30.10.2010

4. Rozinky (TESCO ORGANIC)

- výrobce: HOPI – POPI
- země původu: Evropská unie

- hmotnost: 200 g
- minimální trvanlivost: 25.11.2010

5. Meruňky bez pecky (TESCO ORGANIC)

- výrobce: HOPI – POPI
- země původu: Evropská unie
- hmotnost: 100 g
- minimální trvanlivost: 25.1.2011

6. Meruňky bez pecky šířené

- výrobce: SEEBERGER K.G
- země původu: Německo
- hmotnost: 200 g
- minimální trvanlivost: 26.12.2010

8.2 Přístroje a pomůcky

- Běžné laboratorní sklo a mikrobiologické vybavení
- Inkubátor mikrobiologický Memmert, Německo
- Mikropipety: Nichipet (Japonsko), Hirschman Laborgerate (Německo)
- Parní sterilátor VARIOKLAV 75S, 135S, H+P Labortechnik, Německo
- Předvážky KERN 440-47N, Německo
- Stomacher, Seward, Velká Británie
- Termoblok Bio TDB-100, bitech, Česká republika
- Termostat BT120, Česká republika
- Třepačka Vortex Heidolph REAX top, Německo

8.3 Kultivační půdy a ředící roztok

8.3.1 Půda Plate Count Agar

Plate Count Agar (PCA) se používá pro stanovení počtu mikroorganismů v potravinách a ve vodě.

Složení PCA:	gram/litr
enzymatický hydrolyzát kaseinu	5,0
kvasničný extrakt	2,5
glukosa	1,0
agar	15,0

Příprava PCA:

23,5g půdy PCA (HIMEDIA, Indie) se naváží a rozpustí do 1000 ml destilované vody a zahřívá se do úplného rozpuštění. Sterilizuje se v autoklávu při 121 °C po dobu 15 minut.

8.3.2 Půda Violet Red Bile Laktose Agar

Violet Red Bile Laktose Agar (VRBA) se používá pro stanovení počtu koliformních mikroorganismů v potravinách, vodě a v mléčných výrobcích.

Složení VRBA:	gram/litr
kvasnicový extrakt	3,0
pepton	7,0
chlorid sodný	5,0
žlučová sůl č.3	1,5
laktosa	10,0
neutrální červeň	0,03
krystalová violet'	0,002
agar	12,0

Příprava VRBA:

38,5g půdy VRBA (OXID Ltd., Velká Británie) se naváží a rozpustí do 1000 ml destilované vody a zahřívá se do úplného rozpuštění. Sterilizuje se v autoklávu při 121 °C po dobu 15 minut.

8.3.3 Půda Chloramphenicol Yeast Glukose Agar

Chloramfenicol Yeast Glukóza Agar (CHYGA) je určen pro detekci a stanovení počtu kvasinek a plísní v potravinách. Kvasničný extrakt a glukosa prospívají růstu kvasinek a plísní za přítomnosti chloramfenikolu (tepelně-stabilní antibiotikum), který potlačuje růst kontaminující bakterie.

Složení CHYGA:	gram/litr
kvasničný extrakt	5,0
glukosa	20,0
chloramfenikol	0,1
agar	15,0

Příprava CHYGA:

41,1g půdy CHYGA (BIOKAR, Francie) se naváží a rozpustí v 1000 ml destilované vody a zahřívá se do úplného rozpuštění. Sterilizuje se v autoklávu při 121 °C po dobu 15 minut.

8.3.4 Půda Baird-Parker agar Base

Baird-Parker agar Base (BP) obohacená emulzí vaječného žloutku Tellurite se používá pro detekci a stanovení počtu koagulázních pozitivních stafylokoků ze vzorků potravin.

Složení BP:	gram/960 ml
glycin	12,0
slinivka břišní Digest kaseinu	10,0
sodný Pyruvate	10,0
hovězí extrakt	5,0

lithium chloridu	5,0
kvasnicový extrakt	1,0
agar	20,0
Emulze vaječného žloutku Tellurite	mililitr/100mililitrů
vaječný žloutek - emulze	30,0
draslík Tellurite 3,5% roztok	6,0
fyziologický roztok	64,0

Příprava BP:

63g půdy BP (OXID Ltd., Velká Británie) se naváží a rozpustí do 1000 ml destilované vody a zahřívá se do úplného rozpuštění. Sterilizuje se v autoklávu při 121 °C po dobu 15 minut. Po vychlazení na 48 °C přidáme 48,3 ml emulze vaječného žloutku (SIGMA-ALDRICH, USA).

8.3.5 Fyziologický roztok

Fyziologický roztok se připraví rozpuštěním a smícháním 8,5g chloridu sodného v 1000ml destilované vody, poté se připravený roztok sterilizuje při 121 °C po dobu 15 minut. Výsledná koncentrace chloridu sodného je 0,9% v roztoku.

8.4 Postup a značení mikrobiologického vyšetření

Mikrobiologické vyšetření mělo ověřit růst mikroflóry na 6-ti vzorcích sušeného ovoce za vlivu různých skladovacích podmínek. V obchodní síti bylo zakoupeno 6 druhů sušeného ovoce po třech baleních od jednoho druhu, stejné šarže a data minimální trvanlivosti. Z toho 5 druhů (jablečné křížaly, banánové plátky, švestky bez pecky, rozinky, meruňky bez pecky) nebylo ošetřeno sířením a 1 druh (meruňky bez pecky sířené) byl ošetřen sířením.

Sušené ovoce je běžnou potravinou, proto je nutné při skladování dodržovat maximální teplotu do 20 °C a relativní vlhkost 70 %. Proto bylo simulováno 5 skladovacích pokusů s následným mikrobiologickým vyšetřením se zaměřením na celkový počet mikroorganismů, počty stafylokoků, počty koliformních mikroorganismů a počty plísňů.

8.4.1 Skladovací pokus

Zakoupených 6 druhů sušeného ovoce bylo rozděleno do 3 následujících skladovacích pokusů s tímto označením **1A, 1B, 2A, 2B a 3A**:

Skupina sušeného ovoce skladovacího pokusu číslo 1:

- A. zakoupení a následné otevření
- B. skladování 1 měsíc otevřeného vzorku skupiny číslo 1 písmena A maximální teplotou do 20 °C, r.v. 70 – 75 %

Skupina sušeného ovoce skladovacího pokusu číslo 2:

- A. skladování 1 měsíc uzavřeného vzorku v inkubátoru při 30 °C, r.v. 70 – 75%
- B. skladování 1 měsíc otevřeného vzorku skupiny číslo 2 písmena A v inkubátoru při 30 °C, r.v. 70 – 75 %

Skupina sušeného ovoce číslo skladovacího pokusu číslo 3:

- A. otevření vzorku skupiny 3 po ukončení doby minimální trvanlivosti kde byl vzorek skladován uzavřen při maximální teplotě do 20 °C, r.v. 70 – 75 %

8.4.2 Označení vzorku

Vzorky sušené ovoce byly rozděleny na skupiny sušeného ovoce skladovacího pokusu číslo 1 – 3, označeno písmeny A – B rozdělení v kapitole 7.4.1. Dále číslicemi 1 – 6 s následujícím přiřazením: 1 – jablečné křížaly, 2 – banánové plátky, 3 – švestky bez pecky, 4 – rozinky, 5 – meruňky bez pecky, 6 – meruňky bez pecky sířené.

8.4.3 Mikrobiologické vyšetření

V prvním až pátém mikrobiologickém vyšetření v sušeném ovoci byly stanoveny:

- celkové počty mikroorganismů na PCA půdě
- počty koliformních mikroorganismů na půdě VRBA
- počty plísní na půdě CHYGA
- počty stafylokoků na půdě BP

9 POSTUP A VÝSLEDKY MIKROBIOLOGICKÉHO VYŠETŘENÍ

9.1 Příprava vzorku

9.1.1 Odběr vzorků sušeného ovoce

Odběr vzorků sušeného ovoce byl proveden sterilními pinzetami, rozkrájen sterilními skalpely a byl vložen do sterilních PE sáčků. Do sáčků s naváženým vzorkem byl přidán fyziologický roztok. Obsah PE sáčků byl homogenizován v poměru 1:9 v krokovém homogenizátoru po dobu 5-ti minut.

9.1.2 Ředění

Suspenzi bylo nutné před očkováním na Petriho misky ředit. Účelem ředění bylo dosáhnout takové koncentrace mikroorganismů ve vzorku, aby na tuhém médiu vyrostly jednotlivé kolonie, které se nepřekrývají okraji a zároveň byly počítatelné. Špatně odhadnuté ředění by vedlo k nepřesnému celkovému stanovení mikroorganismů. Metoda vychází se základního empiricky ověřeného předpokladu, že z 1 životaschopné buňky vyrůstá 1 kolonie. Pojem "životaschopnost" se v tomto případě rozumí schopnost buňky vytvářet na agarovém živném mediu viditelné makroskopické kolonie [24]. Vezme-li se v úvahu objem zkoušeného podílu vzorku a počet vyrostlých kolonií, je výsledek vyjádřen jako počet kolonií tvořících jednotek v předem určené navážce vzorku (CFU/g).

9.1.3 Inokulace

Na předem připravené a popisovačem označené Petriho misky s příslušnou kulturační půdou byly sterilní pipetou inkulovány 0,1 ml suspenze, pro plotnovou metodu rostěru a 1 ml suspenze, pro plotnovou metodu přelivu, vždy na 1 misku od každého ředění [24]. Bezprostředně po inokulaci byly Petriho misky obráceny dnem vzhůru, aby se vyhnulo případnému stékání zkondenzovaných par z víčka na kulturu, a výsledek by nešel vyhodnotit. Inukolované Petriho misky byly vloženy do termostatu s teplotou udržovanou ve vhodné výši [25].

9.1.4 Inkubace

Po inokulaci půdy byly mikroorganismy inkubovány při jejich optimální teplotě růstu. Pro kvantitativní a kvalitativní stanovení mikroorganismů v potravinách je pro každý druh normativně stanovena příslušná délka a teplota inkubace.

9.2 Stanovení vzorku

9.2.1 Stanovení celkového počtu mikroorganismů plotnovou metodou

Pracovní postup

Pro mikrobiologické vyšetření vzorku sušeného ovoce byly provedeny 4 ředění a použita metoda přelivu půdou PCA. Spodní strana Petriho misky byla označena číslem vzorku, stupněm ředění. Vzorek ve zkumavce s příslušným ředěním byl nejdříve promíchán krouživým pohybem v třepačce po dobu 5 – 10 s. Rotace byla zvolena tak, aby hladina vířící tekutiny dosahovala nejvýše 3 cm pod ústí zkumavky. Sterilní pipeta nebyly zanořena hlouběji než 1 cm. Z každého ředění bylo sterilní pipetou přeneseno 1 ml suspenze doprostřed sterilní Petriho misky a okamžitě zakryto. Pro přenos suspenze z každého naředěného vzorku byla použita jiná sterilní pipeta, s výjimkou práce, kdy se u jednotlivých vzorků postupovalo od nejvyššího ředění k nejnižšímu. Po inokulaci do všech Petriho misek byly vzorky přelity rozehřátou a na teplotu $(45 \pm 0,5) ^\circ\text{C}$ ochlazenou PCA půdou. Vrstva PCA půdy byla nalitá do výšky 4 - 5 mm. Půda se ihned po nalití dokonale promíchala s inokulem krouživými pohyby uzavřenou miskou položenou na pracovní ploše. Inokulované plotny se inkubovaly při teplotě $30 ^\circ\text{C}$ po dobu 24 hodin. Počty mikroorganismů v 1 g vzorku byly stanoveny tak aby počty těchto kolonií poskytovaly hodnotitelný výsledek. Metoda stanovení nezachycuje počet všech metabolicky aktivních buněk, ale pouze tzv. kolonie tvořících jednotek na gram (CFU/g) [23,25].

Po ukončení inkubace byly pro výpočet použity Petriho misky obsahující ne více než 300 CFU/g ve dvou po sobě jdoucích ředěních. Je nutné, aby jedna z těchto misek obsahovala alespoň 15 kolonií [23].

9.2.2 Stanovení počtu koliformních mikroorganismů plotnovou metodou

Stanovení počtu koliformních mikroorganismů plotnovou metodou byl v souladu s českou normou pro stanovení počtu koliformních bakterií. Pro stanovení koliformních mikroorganismů plotnovou metodou byly provedeny 4 ředění a použita metoda přelivu půdou VRBA. Pracovní postup probíhal, jak v bodě 6.2.1. Inokulované Petriho misky byly inkubovány při teplotě 37 °C po dobu 24 hodin. Tato teplota byla zvolena pro vyšetření v souvislosti s ochranou zdraví lidí. Po skončení inkubace byly spočítány charakteristické kolonie na miskách s 15 – 150 charakteristickými koloniemi [23,26].

9.2.3 Stanovení počtu plísni plotnovou metodou

Pracovní postup

Stanovení počtu plísni plotnovou metodou byl v souladu s českou normou pro stanovení počtu plísni. Pro stanovení plísni plotnovou metodou bylo provedeno 5 ředění a použita metoda přelivu půdou CHYGA. Pracovní postup probíhal, jak v bodě 6.2.1. Inokulované Petriho misky byly inkubovány dnem vzhůru po dobu 5 dnů při teplotě 20 – 25 °C [23,25,27].

9.2.4 Stanovení počtu stafylokoků plotnovou metodou

Stanovení počtu stafylokoků plotnovou metodou byl v souladu s českou normou pro stanovení počtu stafylokoků. Pro stanovení stafylokoků plotnovou metodou byly provedeny 3 ředění a použita metoda roztěru na půdě BP. Na předem dehydrované BP půdy v Petriho misce o tloušťce 3 mm bylo z každého ředění inkubováno sterilní pipetou 0,1 ml suspenze doprostřed dehydrované BP půdy. Poté byla sterilní skleněnou hokejkou roztírána suspenze po povrchu dehydrované BP půdy. Inkubované Petriho misky se inkubovaly při teplotě 37 °C po dobu 24 hodin. Tato teplota byla zvolena pro vyšetření v souvislosti s ochranou zdraví lidí. Po skončení inkubace byly spočítány charakteristické kolonie na miskách s 15 – 150 charakteristickými koloniemi [28].

9.3 Výpočet a vyjádření výsledků

Pro výpočet stanovení mikroorganismů se použijí misky obsahující ne více než 300 kolonií ve dvou po sobě jdoucích ředěních. Je nutné, aby jedna miska obsahovala alespoň 15 kolonií. Celkový počet mikroorganismů N na g výrobku se vypočte podle vzorce [29]:

$$N = \frac{\sum C}{(n_1 + 0,1 \cdot n_2) \cdot d} \rightarrow CFU / g$$

ΣC ... součet všech kolonií spočítaných na vybraných plotnách

n_1 ... počet ploten použitých pro výpočet z prvního ředění

n_2 ... počet ploten použitých pro výpočet z druhého ředění

d ... faktor prvního pro výpočet použitého ředění

10 VÝSLEDKY A DISKUZE

10.1 Výsledky a diskuze prvního až pátého mikrobiologického vyšetření sušeného ovoce

Skupina sušeného ovoce skladovacího pokusu číslo 1:

- A. zakoupení a následné otevření
- B. skladování 1 měsíc otevřeného vzorku skupiny číslo 1 písmena A maximální teplotou do 20 °C, r.v. 70 – 75%

Tab. 5. Výsledky počtu mikroorganismů sušeného ovoce skupiny číslo 1A – zakoupení a následném otevření.

VZOREK (CFU/g)	Sušené ovoce 1A – zakoupení a následné otevření			
	CPM	Koliformní	Plísně	Stafylokoky
Jablečné křížaly	$3,4 \cdot 10^2$	0	0	0
Banánové plátky	0	0	0	0
Švestky bez pecky	0	0	0	0
Rozinky	$3,6 \cdot 10^2$	0	$1,8 \cdot 10^2$	0
Meruňky bez pecky	$4,9 \cdot 10^3$	0	0	0
Meruňky b. p. sířené	$3,1 \cdot 10^3$	0	$5,3 \cdot 10^5$ *	0

* kolonie kvasinek

Tab. 6. Výsledky počtu mikroorganismů sušeného ovoce vzorku skupiny 1B – skladování 1 měsíc otevřeného vzorku písmena A maximální teplotou do 20 °C, r.v. 70 – 75%

VZOREK (CFU/g)	Sušené ovoce 1B – skladování 1 měsíc otevřeného vzorku maximální teplotou do 20 °C, r.v. 70 – 75%			
	CPM	Koliformní	Plísně	Stafylokoky
Jablečné křížaly	$1,2 \cdot 10^3$	0	0	0
Banánové plátky	0	0	0	0
Švestky bez pecky	0	0	0	0
Rozinky	$2,9 \cdot 10^3$	0	$5,5 \cdot 10^2$	0
Meruňky bez pecky	$9,7 \cdot 10^4$	0	0	0
Meruňky b. p. sířené	$4,1 \cdot 10^3$	0	$2,1 \cdot 10^6$ *	0

* kolonie kvasinek

Skupina sušeného ovoce skladovacího pokusu číslo 2:

- A.** skladování 1 měsíc uzavřeného vzorku skupiny číslo 2 v inkubátoru při 30 °C, r.v. 70 – 75%
- B.** skladování 1 měsíc otevřeného vzorku skupiny číslo 2 písmena A v inkubátoru při 30 °C, r.v. 70 – 75%

Tab. 7. Výsledky počtu mikroorganismů sušeného ovoce skupiny 2A – skladování uzavřeného vzorku v inkubátoru při 30 °C, r.v. 70 – 75%

VZOREK (CFU/g)	Sušené ovoce 2A – skladování 1 měsíc uzavřeného vzorku v inkubátoru při 30 °C, r.v. 70 – 75%			
	CPM	Koliformní	Plísně	Stafylokoky
Jablečné křížaly	$4,2 \cdot 10^2$	0	27	0
Banánové plátky	0	0	0	0
Švestky bez pecky	0	0	0	0
Rozinky	$6,5 \cdot 10^3$	0	$3,6 \cdot 10^2$	0
Meruňky bez pecky	$1,2 \cdot 10^4$	0	0	0
Meruňky b. p. sířené	$2,2 \cdot 10^2$	0	0	0

Tab. 8. Výsledky počtu mikroorganismů sušeného ovoce skupiny 2B – skladování 1 měsíc otevřeného vzorku skupiny číslo 2 písmena B v inkubátoru při 30 °C, r.v. 70 – 75%

VZOREK (CFU/g)	Sušené ovoce 2B – skladování 1 měsíc otevřeného vzorku inkubátoru při 30 °C, r.v. 70 – 75%			
	CPM	Koliformní	Plísně	Stafylokoky
Jablečné křížaly	$2,1 \cdot 10^3$	0	36	0
Banánové plátky	0	0	0	0
Švestky bez pecky	0	0	0	0
Rozinky	$1,6 \cdot 10^4$	0	$8,4 \cdot 10^2$	0
Meruňky bez pecky	$8,3 \cdot 10^4$	0	0	0
Meruňky b. p. sířené	$3,6 \cdot 10^3$	0	0	0

Skupina sušeného ovoce skladovacího pokusu číslo 3:

A. otevření vzorku skupiny 3 po ukončení doby minimální trvanlivosti

B. Tab. 9. Výsledky počtu mikroorganismů sušeného ovoce skupiny 3A – otevření vzorku skupiny 3 po ukončení doby minimální trvanlivosti.

VZOREK (CFU/g)	Sušené ovoce 3A – otevření vzorku skupiny 3 po ukončení doby minimální trvanlivosti			
	CPM	Koliformní	Plísně	Stafylokoky
Jablečné křížaly	$7,2 \cdot 10^2$	0	82	0
Banánové plátky	0	0	0	0
Švestky bez pecky	0	0	0	0
Rozinky	$1,1 \cdot 10^4$	0	$1,8 \cdot 10^2$	0
Meruňky bez pecky	$1,5 \cdot 10^4$	0	0	0
Meruňky b. p. sířené	0	0	0	0

Z uvedených tabulek č. 5 – 9 pro stanovení celkového počtu mikroorganismů a plísní v prvním až pátém mikrobiologickém vyšetření vyplývá, že hodnoty dosahovaly řádově od 10^1 – 10^4 CFU/g, ale v první skupině se ve vzorku č. 6 (meruňky bez pecky sířené) objevily kvasinky v řádu 10^5 – 10^6 .

Byly srovnány celkové počty mikroorganismů u všech skladovacích pokusů a vzorku sušeného ovoce. Rozdíly nárůstu celkového počtu mikroorganismů se vždy navýšil, až o jeden řád ve skupině jedna (viz Tab. 5 a Tab. 6) v průměrných hodnotách 10^2 na 10^3 a ve skupině dva (viz Tab. 7 a Tab. 8) v průměrných hodnotách 10^3 na 10^4 . Rozdíl nárůstu je zapříčiněn vlivem prostředí a lepšími podmínkami pro rozvoj mikroorganismů po otevření (porušení) obalu u vzorků sušeného ovoce. Větší projev nárůstu byl u skupiny jedna, kdy vzorky sušeného ovoce byly skladovány v běžném prostředí a byla zachována doporučená skladovací teplota a vlhkost. V druhém skladovacím pokusu byly vzorky skladovány v termostatu, takže mikroorganismy, měly lepší podmínky pro růst. Největší nárůst se projevilo u vzorku č. 5 (meruňky bez pecky).

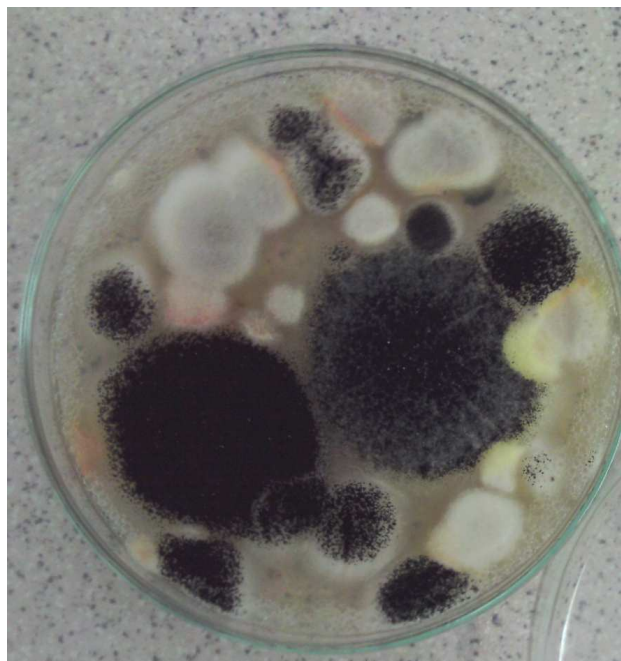
Dále byly porovnány hodnoty nárůstu celkových počtů mikroorganismů uzavřených vzorku a skladovací pokusy otevřených vzorků. Z těchto skladovacích pokusů vyplývá, že nárůsty až o jeden řád nahoru byly zjištěny u vzorků sušeného ovoce č. 1, 4, 5. Například největší nárůst byl u vzorku č. 4 (rozinky). Hodnoty celkových počtů mikroorganismů uzavřeného vzorku č. 4 byly $3,6 \cdot 10^2$ CFU/g, u otevřeného vzorku již byla hodnota $6,5 \cdot 10^3$ CFU/g, a po uplynutí doby minimální trvanlivosti hodnota dosáhla $1,1 \cdot 10^4$ CFU/g. Tyto nárůsty byly podobné ještě u vzorku sušeného ovoce č. 5 (Meruňky bez pecky). Nárůsty celkových počtů mikroorganismů, může být zapříčiněn vyšším obsahem sacharidů za přispění porušení skladovacích podmínek a délky skladování. [3, 5]. Z tohoto mikrobiologického vyšetření také vyplývá, že pokud porušíme předepsané skladovací podmínky (skladovací pokusy otevřených vzorků), urychlujeme nárůst mikroorganismů k hodnotám, které se blíží k hodnotám vyšetřených vzorků ve skladovacím pokusu č. 3 (po uplynutí minimální trvanlivosti).

Naopak nárůst v řádu se neprojevil u vzorku sušeného ovoce č. 1 (jablečné křížaly), kde hodnoty CPM zůstaly v řádu 10^2 . Tato skutečnost mohla být zapříčiněna vyšším obsahem kyseliny jablečné, která přirozeně potlačuje rozvoj mikroorganismů [3].

Výjimkou byl vzorek sušeného ovoce č. 6 (meruňky bez pecky šířené), který měl při skladovacím pokusu č. 2 nižší hodnotu počtů mikroorganismů $2,26 \cdot 10^2$ CFU/g, než u skladovacího pokusu č. 1 hodnota počtů mikroorganismů byla $3,1 \cdot 10^3$ CFU/g. Tato skutečnost mohla být zapříčiněna intenzivnějším uvolňováním SO_2 při vyšší skladovací teplotě, nebo vyčerpáními živinami pro mikroorganismy. Touto skutečností můžeme vysvětlit i růst kvasinek v mikrobiologickém vyšetření ve skladovacím pokusu č. 1, protože ve skladovacím pokusu č. 2 a 3 růst kvasinek nebyl detekován. Celkový počet mikroorganismů ani u jednoho vzorku nepřesahuje 10^5 CFU/g, přípustné množství není legislativně stanoveno.

Podle normy ČSN 56 9609 a Nařízení Komise (ES) č. 1441/2007 je u sušeného ovoce stanoven limit pro plísně 10^4 CFU/g [14,15]. Plísně byly zaznamenány u vzorku č. 1 (jablečné kroužky) a vzorku č. 4 (rozinky). Žádný z těchto vzorků nedosahuje maximální přípustné hodnoty pro plísně, navíc množství plísní nepřesahuje hodnotu 10^3 CFU/g, ani v jednom skladovacím pokusu. I když nedošlo k překročení stanovených limitů plísní na vzorku č. 4. Porušením technologického procesu při sušení rozinek a následnou vyšší hodnotou aktivity vody než $0,85a_w$ byl zjištěn výskyt plísní rodu *Aspergillus* a ke vzniku ochratoxinu A a jeho produkci. U *Asp. carbonarius* a několika izolátů blízkce příbuzných

druhů *Asp niger* byl tento ochratoxin A již objeven (Abarca *et al*, 1994;. T'eren *et al*, 1996;. Heenan *et al*, 1998) [11, 31]. Možnému výskytu plísní rodu *Aspergillus*, *Botrytis* nebo *Rhizopus*, může dojít již ve vinici jako důsledek hmyzího nebo mechanického porušení (Snowdon, 1990; Leog *et al*, 2004) [11].



Obrázek 3 : Vzorek č.4 (rozinky) skladovací pokus 3

U vzorků č. 2 a 3 nebyly detekovány žádné mikroorganismy ani v jednom skladovacím pokusu. Vzorek č. 2 (banánové plátky), možnou příčinou mohlo být tzv. glazování škrobovým sirupem s přísadkou SO_2 z důvodu zachování barvy [13], ale tato skutečnost nebyla uvedena na obalu. U vzorku č. 3 (švestky bez pecky) z důvodu zlepšení snadné manipulace se používají nátěry. Tyto nátěry se provádí rostlinnými oleji, mono a di-glyceridy, dextrózou nebo škroby [13]. Nic méně bylo zjištěno u sušených švestek, které prošly správným technologickým procesem, ale následnou špatnou manipulací byly kontaminovány plísněmi (Pitt a Christian, 1968; Pitt a Hocking, 1997) [11].

Při experimentálním stanovení nebyly u žádného vzorku detekovány koliformní bakterie a stafylokoky, které mají v potravinářské mikrobiologii význam především jako indikátorové mikroorganismy. Koliformní bakterie a stafylokoky jsou indikátory sekundární kontaminace potravin a správné výrobní a hygienické praxe (Burdychová, Sládková, 2007)

[23]. Přežívání patogenních bakterií na sušené ovoce je obvykle slabé a omezené na několik týdnů. Poměrně krátkou dobu skladování před dalším zpracováním se riziko kontaminace bakteriemi minimalizuje. Nicméně *E. coli* O157:non-H7 byl izolován z jednoho vzorku z konvenčně pěstovaných dovážených rozinek a v jednom vzorku z ekologicky pěstovaných dovážených meruněk (Johannessen *et al* 1999) [11, 31]. Maximální přípustné množství pro koliformní bakterie v sušeném ovoce je 10^4 CFU/g, jak uvádí norma ČSN 56 9609 a Nařízení Komise (ES) č. 1441/2007 [14,15].

Mikroflóra v sušeném ovoci se v průběhu jeho zpracování a skladování mění. Určení množství mikroorganismů je důležitým aspektem potravinářské mikrobiologie. V dnešní době byly vytipovány mikroorganismy a stanoveny limity informující o mikrobiologickém stavu a procesech probíhajících v potravinách [30]. Některé mikroorganismy slouží jako ukazatele výskytu patogenních mikroorganismů. V určených vzorcích se patogenní mikroorganismy musí dát zjišťovat lehce, rychle a levně standardizovanými metodami. Čerstvé ovoce je bohatým zdrojem živin pro růst mikroorganismů. Snížená aktivita vody v sušeném ovoci zabraňuje růstu většiny bakterií. Plísně jsou více tolerantní ke snížené aktivitě vody než bakterie. Plísně mohou růst a způsobit zkažení různých druhů sušeného ovoce. Další významnou schopností plísní je produkce mykotoxinů, a to již před sklizní, při nevhodném způsobu sušení a skladování [18].

Většina ovoce má vysoký obsah organických kyselin (kyselina jablečná, kyselina citronová, kyselina vinná), a proto má nízké pH. Vzhledem k nízkému pH je většina ovoce více náchylná poškozením plísněmi než bakteriemi. Některé druhy ovoce se před sušením ošetřuje oxidem siřičitým, což je nezbytné k zachování vzhledu ovoce, ale také SO_2 zcela eliminuje rozvoj mikroflóry i při dlouhodobém skladování [18].

V dnešní době jsou velmi populární výrobky „BIO“ z ekologického zemědělství, které se nesmí ošetřovat žádnými chemickými prostředky. Sušením se sice snižuje mikrobiologická zátěž, ale rozsah snížení závisí na druhu ovoce, technologickým zpracováním a dodržováním hygienických postupů a manipulaci se sušeným ovocem.

ZÁVĚR

V diplomové práci byla vyšetřena mikrobiologická kvalita zakoupených 6 druhů sušeného ovoce (jablečné křížaly, banánové plátky, švestky bez pecky, rozinky, meruňky bez pecky, meruňky bez pecky sířené). Dále byl posouzen vliv skladování na růst mikroflóry. Pro mikrobiologické vyšetření byly zvoleny standardní plotnové metody v souladu s českými technickými normami.

Výsledky celkového počtu mikroorganismů poskytovaly základní informace o stupni mikrobiální kontaminace sušeného ovoce. Byly srovnány celkové počty mikroorganismů u všech skladovacích pokusů a vzorku sušeného ovoce č.1, 4, 5, 6. Rozdíly nárůstu celkového počtu mikroorganismů se vždy navýšil, až o jeden řád ve skupinách skladovacího pokusu 1A, 1B, v průměrných hodnotách 10^2 na 10^3 a ve skupině skladovacího pokusu 2A, 2B v průměrných hodnotách 10^3 na 10^4 . Rozdíl nárůstu je zapříčiněn vlivem prostředí a lepšími podmínkami pro rozvoj mikroorganismů po otevření (porušení) obalu u vzorků sušeného ovoce. Větší projev nárůstu byl u skupiny sušeného ovoce skladovacího pokusu č.1A, 1B, kdy vzorky sušeného ovoce byly skladovány v běžném prostředí, ale byla zachována doporučená skladovací teplota a vlhkost. V druhém skladovacím pokusu byly vzorky skladovány v termostatu, takže vliv vnějšího prostředí byl vyšší. Dále byly porovnány hodnoty, nárůstu celkových počtů mikroorganismů skladovacích pokusů 1A, 2A, 3A. a skladovací pokusy 1B, 2B. Z těchto skladovacích pokusů vyplývá, že nárůsty, až o jeden řád nahoru byly zjištěny u vzorků sušeného ovoce č.1, 4, 5. Nárůsty celkových počtů mikroorganismů, může být zapříčiněn vyšším obsahem sacharidů za přispění porušení skladovacích podmínek a délky skladování. Z tohoto mikrobiologického vyšetření také vyplývá, že pokud porušíme předepsané skladovací podmínky jako u skladovacího pokusu 2A, 2B, urychlujeme tím nárůst mikroorganismů k hodnotám, které se blíží k vyšetřovaným vzorkům ve skladovacím pokusu č. 3A (po uplynutí minimální trvanlivosti).

Plísně byly zaznamenány u vzorku č. 1 (jablečné kroužky) a vzorku č. 4 (rozinky), Žádný z těchto vzorků nedosahuje maximální přípustné hodnoty pro plísně, navíc množství plísní nepřesahuje hodnotu 10^3 CFU/g ani v jednom skladovacím pokusu. Dle normy ČSN 56 9609 a Nařízení Komise (ES) č. 1441/2007 je u sušeného ovoce stanoven limit pro plísně 10^4 CFU/g.

Počet koliformních mikroorganismů a stafylokoků byl ve všech případech negativní, z čehož vyplývá, že hygienická a technologická kvalita výroby a distribuce sušeného ovoce je vyhovující.

Z dosažených výsledků taktéž vyplývá, že u zkoumaných vzorků sušeného ovoce nebyly překročeny stanovené limity pro jednotlivé skupiny mikroorganismů. To dokazuje, že kvalita sušeného ovoce je z hygienického a mikrobiologického hlediska vyhovující a ani zvýšená teplota skladování nemá výrazný vliv na vyskytující se mikroflóru. Ale, v posledních letech stoupá obliba sušeného ovoce prodávaného rovnou ke konzumaci. Toto sušené ovoce musí být skladováno v hermeticky uzavřených obalech a měla by být dodržována předepsaná teplota a vlhkost skladování, tak aby se předcházelo možným zdravotním rizikům po konzumaci sušeného ovoce. Při správném způsobu zpracování a skladování si sušené ovoce zachová vysoký obsah aktivních látek. Přihlédneme-li k nízkému obsahu vody, lze sušené ovoce považovat za optimální koncentrovaný komplexní zdroj přírodních antioxidantů včetně vitamínu C.

SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY

- [1] PEIKER,J. KYNCL,F.: Ovocnictví, Státní zemědělské nakladatelství, PRAHA, 1962, 544s, 07-046-62
- [2] KUTINA,J. a kolektiv.: Pomologický atlas 1, Zemědělské nakladatelství Brázda, PRAHA, 1991, 288s, 80-209-0089-6
- [3] ACHIM,S.: Sušíme ovoce, zeleninu, bylinky a houby, Grada Publishing, PRAHA, 2008, 128s, 978-80-247-2566-6
- [4] KUTINA,J. a kolektiv.: Pomologický atlas 2, Zemědělské nakladatelství Brázda, PRAHA, 1992, 304s, 80-209-0192-2
- [5] SEELIGER,D. HEIDRUM, B. MISCHA,G.u,a.: Obst und Gemüse, Teubner, München, 2008. 318s, 978-3-8338-1481-5
- [6] FRANCIS,F,J.: Wiley Encyclopedia of Food Science and Technology, John Wiley York, USA, 2000, 3000s, 0-471-19285-6
- [7] BALAŠTÍK,J.: Konzervace ovoce a zeleniny, SNTL, PRAHA, 1975, 336s, 04-821-75
- [8] KYZLINK,V.: Principles of Food Preservation, Elsevier, AMSTERDAM, 1990, 598s, 0-444-9884-40
- [9] zákona č. 242/2000 Sb.,o ekologickém zemědělství a o změně zákona č. 368/1992 Sb.,o správních poplatcích, ve znění pozdějších předpisů, jak vyplývá ze změn provedených zákonem č. 320/2002 Sb.a zákonem č. 553/2005 Sb. včetně vyhlášky Ministerstva zemědělství č. 16/2006 Sb., kterou se provádějí některá ustanovení zákona o ekologickém zemědělství
- [10] KADLEC,J. LAČNÁK,V.: Zpracování bioproduktů v potravinách, Bioinstitut, o.p.s., OLOMOUC, 2006, 32s, 80-87080-03-3
- [11] ICMSF.: Microorganisms in food. 2 ed., Plenum Publisher, New York, 2005, 763 s. 0-7514-0430-6
- [12] GOPFEROVÁ, D., JANOVSÁ, D., ŠEJDA, J. Mikrobiologie, imunologie a epidemiologie, Triton, Praha, 1997, 60 s, 80-8575-53-5

- [13] LOUND, B.M. BAIRD-PARKER,T,C. GOULD,G,W.: The Microbiological Safety and Quality of Food, Springer – Verlag, ASPEN, USA, 1999, 1955s, 0-8342-1323-6
- [14] ČSN 56 9609 Pravidla správné hygienické a výrobní praxe-Mikrobiologická kritéria pro potraviny. Principy stanovení a aplikace.
- [15] Nařízení Komise (ES) č. 1441/2007 ze dne 5 prosince 2007, kterým se mění nařízení Komise (ES) č. 2073/2005 ze dne 15. listopadu 2005 o mikrobiologických kritériích pro potraviny.
- [16] BEDNÁŘ,M., FRAŇKOVÁ, V. Lékařská mikrobiologie, bakteriologie, virologie, parazitologie, 1.vyd, Marvil, PRAHA, 1996. 558s,
- [17] SHINDLER,J.: Mikrobiologie pro studenty zdravotnických oborů, Grada Publishing, Praha, 2010, 223s, 978-80-247-3170-4
- [18] ROBINSON,Richard,K.: Encyclopedia of Food Mikrobiology, Elsevie, 2000, 2405s, 978-0-12-227070-3
- [19] JEFFRY,L. KORNACKI,Michael, DOYLE,P.: Principles of Microbiological Troubleshooting in the Industrial Food Processing Environmentquot; Springer, 2010, 140s, 1441955178
- [20] ŠILHÁNKOVÁ,L.: Mikrobiologie pro potravináře a biotechnology, Victoria Publishing, PRAHA, 1995, 363s, 80-85605-71-6
- [21] BLACKBURN,Clive,W.: Food Spoilage Microorganisms, Wooddhead Publishing, 2006, 753s, 978-1-85573-966-6
- [22] JAY,James,M.: Modern Food Mikrobiology (6th Edition), Springer-Verlag, 2000, 767s, 978-0-8342-1371-6
- [23] BURDYCHOVÁ,R. SLÁDKOVÁ,P.: Mikrobiologická analýza potravin 1. vyd., BRNO, Mendlova zemědělská a lesnická univerzita, 2007, 218s, 978-80-7375-116-6
- [24] JANDOVÁ,B., KOTOUČKOVÁ,L.: Praktikum z mikrobiologie 1 vyd., vydavatelství MU, BRNO, 1996, 67s, 80-210-1374-5

- [25] ČSN EN ISO 7218 Mikrobiologie potravin a krmiv – Všeobecné požadavky a doporučení pro mikrobiologické zkoušení. Česká technická norma. Úřad pro technickou normalizaci, metrologii a státní zkušebnictví. Praha 2008.
- [26] ČSN ISO 4832 Mikrobiologie – Všeobecné pokyny pro stanovení počtu koliformních bakterií. Technika počítání kolonií. Česká technická norma. Úřad pro technickou normalizaci, metrologii a státní zkušebnictví. Praha 1995.
- [27] ČSN ISO 7954 Mikrobiologie – Všeobecné pokyny pro stanovení počtu kvasinek a plísní. Technika počítání kolonií vykultivovaných při 25°C. Česká technická norma. Úřad pro technickou normalizaci, metrologii a státní zkušebnictví. Praha 1994.
- [28] ČSN ISO 6888-1 Mikrobiologie potravin a krmiv – Horizontální metoda stanovení počtu koagulázopozitivních stafylokoků (*Staphylococcus aureus* a další druhy) - Část 1: Technika s použitím agarové půdy podle Baird-Parkera. Úřad pro technickou normalizaci, metrologii a státní zkušebnictví. Praha 2000.
- [29] LUKÁŠOVÁ, J. a kol.: Mikrobiologie potravin – praktická cvičení, VFU, BRNO, 1997, 55s, 80-85114-74-7
- [30] MONTVILLE, J.T., MATTHEWS, R.K.: Food mikrobiology: an introduction 1st. ed. ASM Press, WASHINGTON, D.C, 2005, 380s, 1-55581-308-9
- [31] Trucksess, M. W. and Scott, P. M. (2007) 'Mycotoxins in botanicals and dried fruits: A review', Food Additives & Contaminants: Part A, 25:2, 181 - 192, First published on: 05 November 2007 (iFirst)

SEZNAM POUŽITÝCH SYMBOLŮ A ZKRATEK

var. – varianta

tzv. – tak zvané

např. – například

CPM – celkový počet mikroorganismů

PCA - Plate Count Agar

VRBA – Violet Red Bile Laktose Agar

CHYGA - Chloramfenicol Yeast Glukóza Agar

BP - Baird-Parker agar Base

PE – polyethylen

SEZNAM OBRÁZKŮ

Obr. 1. *Aspergillus fumigatus*, *Aspergillus niger*

Obr. 2. *Penicillium verrucosum*

Obr. 3. Vzorek č.4 (rozinky) skladovací pokus 3

SEZNAM TABULEK

Tab. 1. Doba sušení.....	18
Tab. 2. Bakteriální původci onemocnění z potravin (udávané hodnoty jsou k potravinám určeným k přímé spotřebě).....	23
Tab. 3. Původci kažení (udávané hodnoty jsou k potravinám určeným k přímé spotřebě).....	23
Tab. 4. Tolerované hodnoty pro jednotlivé druhy, skupiny nebo podskupiny potravin.....	24
Tab. 5. Výsledky počtu mikroorganismů sušeného ovoce skupiny číslo 1A – zakoupení a následném otevření.....	47
Tab. 6. Výsledky počtu mikroorganismů sušeného ovoce vzorku skupiny 1B – skladování 1 měsíc otevřeného vzorku písmena A maximální teplotou do 20 °C, r.v. 70 – 75%.....	48
Tab. 7. Výsledky počtu mikroorganismů sušeného ovoce skupiny 2A – skladování uzavřeného vzorku v inkubátoru při 30 °C, r.v. 70 – 75%.....	49
Tab. 8. Výsledky počtu mikroorganismů sušeného ovoce skupiny 2B – skladování 1 měsíc otevřeného vzorku skupiny číslo 2 písmena B v inkubátoru při 30 °C, r.v. 70 – 75%.....	50
Tab. 9. Výsledky počtu mikroorganismů sušeného ovoce skupiny 3A – otevření vzorku skupiny 3 po ukončení doby minimální trvanlivosti.....	51