

Vliv monoacylglycerolů na růst kvasinek a plísní v přírodních ovocných šťávách

Bc. Zdeněk Máčalík

Diplomová práce
2011



Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně
Fakulta technologická

Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně

Fakulta technologická

Ústav technologie tuků, tenzidů a kosmetiky

akademický rok: 2010/2011

ZADÁNÍ DIPLOMOVÉ PRÁCE

(PROJEKTU, UMĚLECKÉHO DÍLA, UMĚLECKÉHO VÝKONU)

Jméno a příjmení: **Bc. Zdeněk MÁČALÍK**
Osobní číslo: **T09581**
Studijní program: **N 2901 Chemie a technologie potravin**
Studijní obor: **Technologie a ekonomika výroby tuků, detergentů a kosmetiky**

Téma práce: **Vliv monoacylglycerolů na růst kvasinek a plísní v přírodních ovocných šťávách**

Zásady pro vypracování:

I. Teoretická část

1. Zpracujte literární rešerši týkající se inhibičních účinků monoacylglycerolů na růst kvasinek a plísní.
2. Zabývejte se mikroorganismy, které mohou být izolovány z přírodních ovocných šťáv a charakterizujte jejich možný vliv na údržnost a zdravotní nezávadnost těchto produktů.

II. Praktická část

1. Sledujte inhibiční účinky monoacylglycerolů na plísně v podmínkách in vitro.
2. Provedte mikrobiologickou analýzu vzorků jablečného moštu, izolujte čisté kultury kvasinek a plísní a proveďte základní testy vedoucí k rodové identifikaci.
3. Sledujte vliv přídavku monoacylglycerolů do jablečného moštu na přítomné kvasinky a plísně.
4. Zhodnoťte využitelnost aplikovaných látek pro prodloužení údržnosti ovocných šťáv.

Rozsah diplomové práce:

Rozsah příloh:

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

Seznam odborné literatury:

- [1] BLACKBURN, C. W. Food spoilage microorganisms. Boca Raton: CRC Press, 2006. 712 s. ISBN 0-849-391563.
- [2] BUŇKOVÁ, L., KREJČÍ, J., JANIŠ, R., KAŠPÁRKOVÁ, V., VLTAVSKÁ, P., KULEDOVÁ, L., BUŇKA, F. Influence of monoacylglycerols on growth inhibition of micromycetes in vitro and on bread. European Journal of Lipid Science and Technology. 2010, 112, s. 173-179.
- [3] HUI, Y.H. Handbook of fruits and fruit processing. Ames : Blackwell Publishing, 2006. 699 s.
- [4] JAY, J. M. Modern Food Microbiology. 6th edition. Gaithersburg : Aspen Publishers, Inc., 2000. 767 s. ISBN 0-8342-1671-X.
- [5] RŮŽIČKA, J.; VELCLOVÁ, K.; JANIŠ, R., KREJČÍ, J. Antimicrobial effects of 1-monoacylglycerols prepared by catalytic reaction of glycidol with fatty acids. European Food Research and Technology. 2003, 217, s. 329-331.

Vedoucí diplomové práce:

RNDr. Iva Doležálková

Ústav technologie tuků, tenzidů a kosmetiky

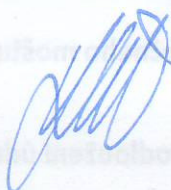
Datum zadání diplomové práce:

25. února 2011

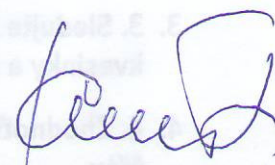
Termín odevzdání diplomové práce:

20. května 2011

Ve Zlíně dne 25. února 2011



doc. Ing. Petr Hlaváček, CSc.
děkan



doc. Ing. Rahula Janiš, CSc.
ředitel ústavu

Příjmení a jméno: Máčalík Zdeněk

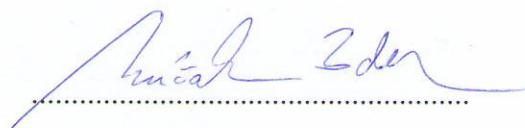
Obor: TEVTDK

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 19.5.2011


.....

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 vzdělávacímu 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). Odpírá-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 vyšší výdělku dosaženého školou nebo školským či vzdělávacím zařízením z užití školního díla podle odstavce 1.

ABSTRAKT

Monoacylglyceroly patří k významným potravinářským aditivům s širokými možnostmi použití. Tato práce se zabývá inhibičními účinky tří monoacylglycerolů (1-monokaprin, 1-monolaurin, 1-monoacylglycerol kyseliny 1-adamantankarboxylové) a jejich kombinací na růst kvasinek a mikromycet v podmínkách *in vitro* a v přírodních ovocných šťávách. Výsledky ukazují, že 1-monokaprin je schopen po určitou dobu zastavit růst kvasinek. Další dva monoacylglyceroly se jeví jako méně účinné. Jako účinné inhibitory růstu mikromycet se jeví opět 1-monokaprin a jeho kombinace. V praktické části jsou dále uvedeny a popsány kultury kvasinek a plísní, které byly izolovány z jablečného moštu.

Klíčová slova:

Monoacylglycerol, 1-monokaprin, 1-monolaurin, monoacylglycerol kyseliny adamantan-
karboxylové, mikromycety, kvasinky, inhibice, ovocná šťáva.

ABSTRACT

Monoacylglyceroles are important food additives with many uses. This master thesis deals with the inhibitory effects of three monoacylglycerols (1-monocaprin, 1-monolaurin, 1-monoacylglycerol of 1-adamantanecarboxylic acid) and their combinations on the growth of yeasts and filamentous fungi *in vitro* and in natural fruit juices. The results showed that the most efficient is 1-monocaprin, which is capable of inhibiting the growth of yeasts in unpasteurized fruit juice. Two other monoacylglycerols seem to be less efficient. Regarding the activity against filamentous fungi, 1-monocaprin alone or combined with other monoacylglycerols seems to be a potent growth inhibitor. The practical part of master thesis also includes characterization of yeasts and molds isolated from fruit juice.

Keywords:

Monoacylglycerols, 1-monocaprin, 1-monolaurin, monoacylglycerol of adamantanecarboxylic acid, filamentous fungi, yeasts, inhibition, fruit juice.

Poděkování:

Především bych chtěl poděkovat RNDr. Ivě Doležákové za odborné rady, cenné podněty, připomínky a trpělivé vedení při mé diplomové práci. Dále bych chtěl poděkovat laborantkám paní Olze Haukové a Ing. Haně Miklíkové za rady a pomoc v laboratoři a dále pracovníkům Ústavu technologie tuků, tenzidů a kosmetiky a Ústavu technologie a mikrobiologie potravin za poskytnutou pomoc.

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

Podpis

OBSAH

ÚVOD	11
I TEORETICKÁ ČÁST	12
1 OVOCE A OVOCNÉ ŠŤÁVY	13
1.1 CHEMICKÉ SLOŽENÍ OVOCE	13
1.2 DRUHY OVOCE VYUŽÍVANÉ PRO VÝROBU, MOŠTŮ, ŠŤÁV, DŽUSŮ, ATD.....	13
1.2.1 Jablečný mošt	14
1.2.2 Hruškový mošt	14
1.2.3 Višňový mošt.....	14
1.2.4 Třešňový mošt	14
1.2.5 Rybízový mošt.....	14
1.2.6 Švestkový mošt	15
1.2.7 Borůvkový mošt	15
1.2.8 Révové mošty	15
1.2.9 Malinový mošt.....	15
1.2.10 Ostružinový mošt	15
1.2.11 Angrešťový mošt.....	16
1.2.12 Bezinkový mošt.....	16
1.2.13 Jahodový mošt.....	16
1.3 VÝROBA A ZPŮSOB KONZERVACE.....	16
1.3.1 Získávání šťávy	16
1.3.2 Pasterace moštu	17
2 MONOACYLGLYCEROLY	18
2.1 VÝROBA MONOACYLGLYCEROLŮ	18
2.2 APLIKACE MONOACYLGLYCEROLŮ.....	18
2.2.1 Antimikrobní účinky monoacylglycerolů.....	19
2.2.2 Mechanismus inhibičního účinku monoacylglycerolů na kvasinky a plísně.	21
3 KVASINKY	22
3.1 ROZMNOŽOVÁNÍ KVASINEK.....	22
3.1.1 Vegetativní rozmnožování	22
3.1.2 Pohlavní rozmnožování.....	22
3.2 KVASINKY NA OVOCI A V OVOCNÝCH ŠŤÁVÁCH.....	23
3.3 VÝSKYT KVASINEK NA DRUHOTNÝCH STANOVIŠTÍCH.....	23
4 MIKROSKOPICKÉ HOUBY (MIKROMYCETY)	24
4.1 TAXONOMIE MIKROMYCET	24
4.2 MORFOLOGIE MIKROMYCET	25
4.3 ROZMNOŽOVÁNÍ MIKROMYCET	26
4.3.1 Vegetativní rozmnožování	26
4.3.2 Pohlavní rozmnožování.....	27

4.4	PLÍSNĚ NA OVOCI A V OVOCNÝCH ŠTÁVÁCH	27
4.4.1	Třída: <i>Zygomycetes</i>	27
4.4.1.1	Čeleď: <i>Mucoraceae</i>	28
4.4.1.2	Čeleď: <i>Absidiaceae</i>	28
4.4.1.3	Čeleď: <i>Gibertellaceae</i>	29
4.4.2	Třída: <i>Ascomycetes</i>	29
4.4.2.1	Řád: <i>Eurotiales</i>	29
4.4.2.2	Řád: <i>Hypocreales</i>	31
4.4.2.3	Řád <i>Capnodiales</i>	31
4.4.2.4	Řád: <i>Leotiales</i>	31
4.4.2.5	Řád: <i>Pleosporales</i>	31
4.4.2.6	Řád: <i>Dothideales</i>	31
4.4.2.7	Řád: <i>Sordariales</i>	32
4.4.3	Třída: <i>Deuteromycetes (Fungi imperfecti)</i>	32
4.5	MYKOTOXINY	32
4.5.1	Aflatoxiny	32
4.5.2	Citrinin	33
4.5.3	Ochratoxin A	33
4.5.4	Patulin	33
II	PRAKTICKÁ ČÁST	34
5	MATERIÁL A METODIKA	35
5.1	MATERIÁL	35
5.1.1	Analyzovaný materiál	35
5.1.2	Kultivační půdy	35
5.1.3	Monoacylglyceroly	36
5.1.4	Použité chemikálie	37
5.1.5	Přístroje a pomůcky	38
5.2	METODIKA	39
5.2.1	Stanovení inhibičních účinků MAG na růst plísní <i>in vitro</i>	39
5.2.2	Izolace kvasinkových a plísňových kultur z jablečného moštu	40
5.2.3	Příprava roztoků monoacylglycerolů a jejich aplikace do moštů	40
5.2.4	Mikrobiologická analýza vzorků jablečného moštu	41
6	VÝSLEDKY	42
6.1	INHIBIČNÍ ÚČINKY MONOACYLGLYCEROLŮ NA RŮST MIKROMYCET <i>IN VITRO</i>	42
6.1.1	Vliv monoacylglycerolů na růst <i>Aspergillus niger</i>	42
6.1.2	Vliv monoacylglycerolů na růst <i>Alternaria alternata</i>	45
6.1.3	Vliv monoacylglycerolů na růst <i>Penicillium roqueforti</i>	48
6.1.4	Vliv monoacylglycerolů na růst plísně <i>Mucor racemosus</i>	51
6.2	IZOLACE KULTUR KVASINEK A PLÍSNÍ Z JABLEČNÉHO MOŠTU	54
6.2.1	Izolace a charakterizace kvasinek	54
6.2.2	Izolace plísní	56
6.3	INHIBIČNÍ ÚČINKY MONOACYLGLYCEROLŮ NA RŮST KVASINEK V JABLEČNÉM MOŠTU	62
6.3.1	Vliv 1-monokaprinu na růst kvasinek v jablečném moštu	62
6.3.2	Vliv 1-monolaurinu na růst kvasinek v jablečném moštu	63

6.3.3	Vliv monoacylglycerolu kyseliny adamantankarboxylové na růst kvasinek v jablečném moštu	64
6.3.4	Vliv kombinací MAG na růst kvasinek v jablečném moštu	65
6.4	INHIBIČNÍ ÚČINKY MONOACYLGLYCEROLŮ NA RŮST MIKROMYCET V JABLEČNÉM MOŠTU	66
6.4.1	Vliv 1-monokaprinu na růst mikromycet v jablečném moštu.....	66
6.4.2	Vliv 1-monolaurinu na růst mikromycet v jablečném moštu.....	67
6.4.3	Vliv monoacylglycerolu kyseliny adamantankarboxylové na růst mikromycet v jablečném moštu	68
6.4.4	Vliv kombinací MAG na růst mikromycet v jablečném moštu	69
DISKUZE		71
ZÁVĚR		74
SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY.....		76
SEZNAM POUŽITÝCH SYMBOLŮ A ZKRATEK		81
SEZNAM OBRÁZKŮ		82
SEZNAM TABULEK.....		84
SEZNAM PŘÍLOH.....		85

ÚVOD

Již v období pravěku se primitivní lidé snažili prodloužit trvanlivost potravin, například sušením nejrůznějších plodů, či ukládáním potravy v chladných jeskyních s cílem vytvořit si zásoby na méně příznivé časy. V dnešní době se již nemusíme spoléhat jen na sušení, či chlad. Zvýšení údržnosti potravin při zachování organoleptických a biologických vlastností jako u čerstvé potraviny se stalo prioritou ve většině potravinářských podniků. Bylo vyvinuto nepřehledné množství účinných konzervačních metod. Ty lze rozdělit do tří hlavních kategorií: metody fyzikální, biologické a chemické. První dvě kategorie jsou spotřebiteli většinou kladně přijímány, k chemickým metodám se ale spotřebitelé staví v dnešní době poněkud rozpačitě a dávají přednost výrobkům konzervovaným jinými způsoby.

Monoacylglyceroly jsou látky přírodního charakteru, jsou meziproduktem metabolismu tuků a jejich výskyt je běžný i v živočišných produktech, například v mléce. Jsou tedy považovány za bezpečné, plně kompatibilní s lidským tělem, bez negativních účinků na lidský organizmus. Vlivu těchto látek na růst a množení mikroorganismů byla věnována řada studií a schopnost některých monoacylglycerolů potlačit růst bakterií, kvasinek či vláknitých hub byla prokázána v podmínkách *in vitro*. Inhibiční účinky monoacylglycerolů v reálných podmínkách konkrétních potravin však nejsou dostatečně zdokumentovány, přestože jejich využití v potravinách pro potlačení růstu nežádoucích mikroorganismů je vzhledem k přírodnímu charakteru slibné.

Tato práce se zabývá monoacylglyceroly jakožto inhibitory růstu kvasinek a mikroskopických vláknitých hub (mikromycet) v přírodním nepasterovaném jablečném moštu. Výhodou použití monoacylglycerolů v přírodních ovocných šťávách je zejména zachování nutriční hodnoty a cenných biologicky aktivních látek, které se při tepelné úpravě pasterací mohou znehodnotit.

Cílem této práce je nalézt monoacylglyceroly či jejich kombinace vhodné pro aplikaci v ovocných šťávách a zhodnotit potenciál těchto látek pro prodloužení údržnosti ovocných šťáv.

I. TEORETICKÁ ČÁST

1 OVOCE A OVOCNÉ ŠŤÁVY

1.1 Chemické složení ovoce

Ovoce obsahuje mnoho cenných látek potřebných pro udržení zdraví lidského organismu. Především jde o vitamíny (vitamín C, vitamíny skupiny B a prekurzory vitamínu A - karoteny). Také je bohaté na celulózu, která pomáhá udržovat správnou funkci zažívacího ústrojí.

Největší podíl tvoří voda, její obsah se pohybuje v rozmezí 70 - 95 %. Je nezbytná při biochemických reakcích v buňkách a tkáních. Hlavní energetickou složkou ovoce jsou sacharidy. Nejvíce jsou zastoupeny monosacharidy (glukóza, fruktóza) a disacharid sacharóza, dozráváním se obsah sacharidů zvyšuje. Z polysacharidů je nejvíce obsažen škrob a vláknina (celulóza, hemicelulóza, pektin, lignin). Bílkoviny a lipidy jsou v ovoci obsaženy jen ve velmi malém množství [1].

Z kyselin lze jmenovat kyselinu citronovou, jablečnou a vinnou. Z ostatních kyselin je významná kyselina askorbová. V některém ovoci lze nalézt kyselinu sorbovou (jeřabiny) a kyselinu benzoovou (borůvky), nežádoucí je kyselina oxalová [2].

Nelze opomenout třísloviny, které jsou-li obsaženy v menším množství dodávají ovoci chuťovou výraznost, ale ve větším množství působí svíravou chuť (jeřabiny, plané trnky) [3].

Charakteristické zbarvení ovoce je dáno obsahem rostlinných barviv, především antokyanů, flavonoidů, karotenoidů a chlorofylu. Z aromatických látek jsou to především estery mastných kyselin, aldehydy, ketony, alkoholy, terpenové látky. Ovoce obsahuje také velké množství enzymů, patří sem zejména enzymy oxidační (L-askorbáza, peroxidáza, fenoloxidáza a další), které v ovoci katalyzují oxidační a redukční děje a enzymy pektolytické [4].

1.2 Druhy ovoce využívané pro výrobu, moštů, šťáv, džusů, atd.

Pro výrobu moštů se nejčastěji používají: jablka, hrušky, hrozny, rybíz, švestky, třešně, višně, dřínky. Při výběru ovoce hraje důležitou roli jeho zralost, je důležitý poměr sacharidů a kyselin, jelikož z nezralého ovoce získáváme mošt hrubé chuti, kdežto z přezrálých plodů naopak mošt mdlé chuti. Taktéž je výhodné při výrobě smísit dohromady více druhů ovoce (např. višně a třešně, jablka a hrušky, atd.), abychom získali ideální surovinu

s vyváženým podílem kyselin. Při použití méně kyselé suroviny je vhodné přikyselení např. kyselinou citronovou. Pro výrobu šťáv se nejčastěji používají jablka, jahody, maliny, ostružiny, dřínky, rybíz, třešně, višně [4, 5, 6].

1.2.1 Jablečný mošt

Jablka jsou nejčastější surovinou pro výrobu moštů. Mají harmonický poměr sacharidů a kyselin, proto není nutné získaný mošt přislazovat, ani ředit vodou pro snížení kyselosti. Na přípravu moštu vybíráme jablka zralá, tj. s černajícími jádry. Jablka nezralá nebo předčasně spadaná dávají mošty kyselé, málo sladké a někdy trpké. Naopak jablka přezralá mají nízkou výtěžnost a mošt z nich je mdlý, málo kyselý. Nedoporučuje se zpracovávat shnilé, zaschlé nebo nápadně malé plody [3, 5, 7].

1.2.2 Hruškový mošt

Mošt z odrůd hrušek pěstovaných u nás bývá většinou málo kyselý, proto se zdá sladký a mdlý. Z tohoto důvodu se samostatný hruškový mošt vyrábí spíše vzácně. Doporučuje se míchat hrušky s jablky v poměru 3 : 1. Lze také k hruškám přidat malé množství zralých planých hrušek a mošt tím získá příjemně natrpklou, tříslavinovou chuť [3, 5, 7].

1.2.3 Višňový mošt

Patří k těm nejchutnějším, je ale nutné upravit poměr sacharidů a kyselin. Nejlépe scelením s třešňovým moštem z tmavých třešní v poměru 1 : 1, nebo ředěním vodou na 1 l šťávy 0,5 až 1 l vody a 0,12 až 0,25 kg cukru [3, 5, 7].

1.2.4 Třešňový mošt

Samostatný třešňový mošt je vyhovující jakosti pouze v případě, pokud je vyroben z tmavých odrůd třešní a je-li chuťově upraven z důvodu bezvýrazné chuti. Kyselost je zvyšována přidávkou 1 až 4 g kyseliny citrónové na 1 l šťávy [3, 5, 7].

1.2.5 Rybízový mošt

Velmi oblíbený je mošt z červeného rybízu, který je vyráběn z plně vyzrálého ovoce. Po vylisování obsahuje přibližně 2 % kyselin, proto se ředí na cca 1,2 % kyselin přidáním 1 až 1,2 l vody a 0,25 až 0,35 kg cukru na 1 l šťávy.

Mošt z černého rybízu se vyrábí buď jako jednodruhový, nebo v různých poměrech s bílým a červeným rybízem. Mošt z černého rybízu se přislazuje a ředí nejvíce, na 1 l šťávy se přidává 0,25 až 0,40 kg cukru a 1 až 1,6 l vody [3, 5, 7].

1.2.6 Švestkový mošt

Je jemný a aromatický nápoj. Vyrábí se vyluhováním zralých nebo přezrálých švestek párou nebo lisováním za tepla. Při lisování za studena je nízká výtěžnost a získaný mošt je nevýrazné chuti a barvy [3, 5, 7].

1.2.7 Borůvkový mošt

Mošt plné barvy a pikantní chuti po čerstvém ovoci. Musí být vyráběn pouze z čerstvých plodů, jinak je nahořklé chuti. Pro získání intenzivnější barvy je dobré jej lisovat zatepla. Získaná šťáva se upravuje přidávkem 0,1 až 0,2 l vody a 0,15 až 0,30 kg cukru na 1 l šťávy [3, 5, 7].

1.2.8 Révové mošty

Vinný mošt má poměrně vysoký obsah sacharidů (v průměru 18 %) a přiměřené množství kyselin. Má vynikající chuť i vůni. Modré odrůdy dávají mošt intenzivní barvy, proto je možné je mísit s bílými odrůdami v poměru 1 : 1 bez obav, že by získaný mošt byl příliš světlý. Vhodné je i míchání barevného moštu s jablečným moštem [3, 5, 7].

1.2.9 Malinový mošt

Má intenzivní vůni, samostatně se většinou nevyrábí. Je výbornou aromatizující složkou při výrobě jiných moštů, zejména rybízových. Je připravován lisováním za tepla, za studena i vyluhováním horkou párou. Získaná šťáva se upravuje přidávkem 0,7 l vody a 0,15 kg cukru na 1 l šťávy [3, 5, 7].

1.2.10 Ostružinový mošt

Aromatický, výrazné chuti a barvy. Narozdíl od malin je nutné plody před lisováním rozdrtit, získaná šťáva se ředí 0,2 až 0,5 l vody a přidává se 60 až 100 g cukru na 1 l [3, 5, 7].

1.2.11 Angreštový mošt

Má harmonickou chuť, ale méně výraznou vůni. Je vhodný ke scelení s rybízovým moštem. Pro výrobu jednodruhového moštu je dobré použít světlé odrůdy, jelikož z červenoplodých odrůd se získává nevzhledně narůžovělý odstín moštu. Vylisovaná šťáva se ředí 0,5 až 1 l vody a přidává se 0,1 až 0,3 kg cukru na 1 l [3, 5, 7].

1.2.12 Bezinkový mošt

Nejčastěji se připravuje jako barevná složka do jiných moštů. Bobulky se drtí a poté lisují zatepla. Pro přímou spotřebu mošt upravujeme přidavkem 0,5 l vody, 0,15 kg cukru a 5 – 8 g kyseliny citronové na 1 l šťávy [3, 5, 7].

1.2.13 Jahodový mošt

Připravujeme jej z vyzrálých jahod, tak získáme aromatický nápoj, který je poněkud méně chuťově výrazný, proto jej upravíme přidavkem 2 g kyseliny citronové a 0,1 až 0,15 kg cukru na 1 l [5].

1.3 Výroba a způsob konzervace

Mošty jsou přírodní ovocné šťávy konzervované ve většině případů pouze pasterací bez chemických konzervačních látek. Jsou osvěžující, levné a chutné. Připravují se z méně hodnotného nebo padaného ovoce, které rychle podléhá zkáze a nelze jej skladovat.

Mošt lze vyrobit prakticky z jakéhokoliv ovoce. To má být čerstvé, nikoliv nahnilé nebo plesnivé. Obsah cukrů a kyselost jsou poté upraveny mírným zředěním vodou a přislazením, popřípadě přidavkem kyseliny citronové [2, 4, 6].

Přehled hlavních způsobů získávání moštů, z různých druhů ovoce, viz tabulka v příloze č. 1 [7].

1.3.1 Získávání šťávy

Ovoce po vyprání je zbaveno třapin a stopek, které by mohly nepříznivě ovlivnit chuť výsledného produktu, rozdrceno a ihned lisováno.

Ovoce je drceno několika způsoby:

- jablka a hrušky jsou drceny na speciálních elektrických drtičích na ovoce

- bobulové a peckové ovoce je drceno a zároveň lisováno na speciálních mlýncích, nebo na lisovacích odstředivkách.

Šťáva z drtě je lisována zatepla nebo zastudena:

- u světlého ovoce (jablka, hrušky, meruňky, broskve, atd.) lisujeme zejména zastudena na košových, plachetkových, nebo na ručních šroubových lisech,
- barevné druhy lisujeme většinou zatepla, tím získáme více barviva ze slupek a také více šťávy [1, 2, 6, 8].

Vylisovaná šťáva obsahuje velké množství kalů, které lze v moštu ponechat, nebo je odstranit filtrací, často se používá čiření (tzv. tanino-želatinové čiření) [2, 4].

1.3.2 Pasterace moštu

Vyčištěný a přefiltrovaný mošt obsahuje velké množství bakterií, kvasinek a plísní. Z tohoto důvodu je nezbytná pasterace, aby se mošt při skladování nekazil a nekvasil [2].

Je možné také přidávat chemická konzervační činidla, jako jsou benzoany a sorbáty. Jelikož v souvislosti s těmito látkami panuje určitá averze, zabývá se tato práce jinými možnostmi jak pomocí chemických látek (monoacylglycerolů) prodloužit trvanlivost ovocných šťáv a moštů (více dále v praktické části této práce).

2 MONOACYLGLYCEROLY

Monoacylglyceroly, někdy také uváděny jako monoglyceridy (MAG) patří společně s diacylglyceroly (DAG) mezi parciální estery trojsytného alkoholu glycerolu s vyššími mastnými kyselinami (MK). Řadí se do skupiny lipidů. MAG vznikají substitucí vodíku jedné hydroxylové skupiny zbytkem mastné kyseliny (acylem). Navázaný zbytek mastné kyseliny do značné míry určuje vlastnosti těchto látek. MAG se vyskytují ve dvou izomerních formách jako 1-monoacylglyceroly nebo jako 2-monoacylglyceroly. Při acylaci dalších hydroxylových skupin vznikají již zmíněné diacylglyceroly (DAG) a triacylglyceroly (TAG). MAG vykazují povrchovou aktivitu (neionické tenzidy) a hojně se používají jako potravinářské emulgátory. MAG jsou také přirozenou součástí jedlých tuků a olejů. Jsou dobře rozpustné v polárních rozpouštědlech (etanol, isopropanol, atd.), hůře se rozpouštějí v nepolárních rozpouštědlech (aceton, atd.) [9, 10, 11, 12].

2.1 Výroba monoacylglycerolů

V současné době existuje několik možností jak lze monoacylglyceroly připravit:

- interesterifikace
 - acidolýza
 - alkoholýza (glycerolýza)
 - transesterifikace esterů vyšších MK s glycerolem
- esterifikace MK s glycerolem
- hydrolýza TAG
- adice MK na glycidol nukleofilním otevřením epoxidového kruhu [12]

V této práci byly monoacylglyceroly vyrobeny z glycidolu a mastných kyselin za katalýzy chromium (III) acetát hydroxidu podle postupu, který ve své studii uvádí Janiš *et al.* [13].

2.2 Aplikace monoacylglycerolů

Monoacylglyceroly se uplatňují zejména při výrobě margarínů a mražených smetanových krémů, kde se využívá jejich poměrně dobrých emulgačních vlastností. V pekárenské výrobě se MAG používají zejména díky schopnosti interagovat s proteiny mouky

a tím zlepšovat konzistenci kynutých těst. Působí větší nakynutí těsta, zvýšení odolnosti těsta vůči mechanickému šoku a v neposlední řadě prodlužují dobu čerstvosti hotového pečiva [9].

Výhodou těchto látek je jejich biodegradabilita a zároveň to, že nemají iritující účinky vůči pokožce a sliznicím. Proto nacházejí široké uplatnění také v jiných oborech, například ve farmaceutickém průmyslu, v zubním lékařství a v kosmetice [11]. V současnosti jsou monoacylglyceroly produkovány ve značném množství, celosvětová produkce představuje přibližně 200 000 tun za rok [13].

2.2.1 Antimikrobní účinky monoacylglycerolů

V nedávné době bylo zjištěno, že monoacylglyceroly mají inhibiční účinky na růst řady bakterií, kvasinek či plísní a taktéž jsou schopny inaktivovat některé viry. Antimikrobiální aktivita mastných kyselin a monoacylglycerolů se odvíjí od délky jejich uhlíkového řetězce a počtu dvojných vazeb [9].

K působení monoacylglycerolů jsou citlivé především bakterie s buněčnou stěnou grampozitivního typu [14, 15]. Antibakteriálními účinky monoacylglycerolů na gramnegativní bakterie se zabývali např. Altieri *et al.* [16], kteří uvádí že růst *Y. enterocolitica* a *E. coli*, byl při koncentraci monolaurinu 50 ppm z více jak 90 % inhibován po dobu 96 hodin. Slibné jsou i účinky některých MAG na *Helicobacter pylori* [17].

Růstem kvasinek v přítomnosti monoacylglycerolů se zabývali například Růžička *et al.* [14]. Minimální inhibiční koncentrace MAG k. kaprinové se u testovaných kvasinek rodu *Saccharomyces*, *Candida*, *Zygosaccharomyces* a *Aureobasidium* pohybovala v rozmezí 150 - 200 µg/ml. U kvasinek *Saccharomyces cerevisiae* a *Candida albicans* byla prokázána úplná inhibice růstu při použití MAG k. undecenové v koncentraci 250 µg/ml [18].

Pokud jde o vliv MAG na růst plísní, byla publikována celá řada studií. Například Altieri *et al.* [19] se zabýval inhibicí růstu plísně *Fusarium* sp. pomocí MAG k. laurové a myristové. Ve své práci uvádí, že koncentrace 20 ppm MAG k. laurové je dostatečná pro kompletní inhibici růstu plísně *Fusarium avenaceum in vitro*. U MAG k. laurové nebyly zjištěny dostatečné inhibiční vlastnosti ani při koncentraci 50 ppm. Také u MAG s lichým počtem uhlíků (MAG k. undekanové a undecenové) byla prokázána schopnost zastavit či zpomalit růst mikromycet. Kompletní inhibice růstu plísní rodu *Alternaria*, *Cladospori-*

um a *Trichothecium* bylo dosaženo při aplikaci MAG k. undecenové v koncentraci 500 - 1000 $\mu\text{g/ml}$ [18].

Buňková *et al.* [20] se zabývala studiem inhibičních účinků MAG k. kaprylové, kaprinové a laurové na plísně *in vitro* a aplikací roztoků těchto MAG na chléb za účelem prodloužení doby použitelnosti. Ve studii uvádí, že růst plísní *in vitro* byl nejvíce inhibován monoacylglyceroly mastných kyselin s krátkým řetězcem (k. kaprylová, k. kaprinová), MAG k. laurové byl méně účinný. Autoři dále zjistili, že aplikace roztoků obou testovaných MAG na povrch pečiva brání růstu mikromycet po dobu nejméně dvou týdnů. Možnostem využití monoacylglycerolů pro prodloužení údržnosti potravin se věnují i další studie. Bautista *et al.* [21] použil MAG k. laurové k prodloužení údržnosti u přírodních sýrů. Ve své práci uvádí, že monoacylglycerol prodloužil dobu skladovatelnosti o 35 %. Některé monoacylglyceroly inhibují nežádoucí mikroorganismy také v mléce a mléčných výrobcích, či v mletém hovězím mase [22, 23].

Skutečnost, že MAG mají určité antimikrobní účinky významně rozšířila možnosti jejich využití i mimo potravinářství. Například v medicíně jsou využívány k výrobě transportních systémů pro vstřebávání léčiv nebo posilují účinek některých antibiotik. Bergsson *et al.* se ve svých studiích [24, 25] zabývali vlivem MAG na původce sexuálně přenosných nemocí *Chlamydia trachomatis* a *Neisseria gonorrhoeae*. Autoři dospěli k závěru, že MAG by mohly být použity jako účinné látky, které by působily jako prevence chorob těmito mikroorganismy způsobenými.

Kristmundsdottir *et al.* publikoval studii [26], ve které zjišťoval vliv MAG k. kaprinové a laurové na *Herpes simplex virus*. Bylo zjištěno, že MAG k. kaprinové dokáže v koncentraci 20 $\text{mmol}\cdot\text{dm}^{-3}$ snížit aktivitu tohoto viru více než statisícinásobně. MAG k. laurové byl proti tomuto viru neúčinný. Na tuto práci studii navázal Hillmarsson *et al.*, který se zabýval studiem antivirotických účinků MAG v prostředí s nízkým pH [27].

Inhibiční účinky MAG zejména vůči patogenním kvasinkám a plísním by mohly být využity i v textilním a obuvnickém průmyslu, kde by monoacylglyceroly sloužily jako hlavní komponenta antimikrobiálních vložek do oděvů a stélek do obuvi [9]. Bergsson *et al.* zjistil, že MAG kyseliny kaprinové je účinný proti kvasince *Candida albicans*, původci kožních onemocnění [28].

2.2.2 Mechanismus inhibičního účinku monoacylglycerolů na kvasinky a plísně.

Mechanismus působení monoacylglycerolů není dosud zcela známý. Inhibiční účinek je přisuzován mastným kyselinám, které mají spolu se svými estery (na rozdíl od antibiotik) několik nesespecifických mechanismů účinku. Mastná kyselina a její deriváty pronikají do cytoplazmatické membrány a působí její deformaci, tím je porušena její semipermeabilita. Druhá z hypotéz tvrdí, že mastné kyseliny pronikají dovnitř buněk a působí jejich okyselení. Snížení pH poté může vést k inaktivaci enzymů [9].

3 KVASINKY

Kvasinky jsou mikroorganismy, které člověka provází už od starověku. Člověk je využíval k přípravě potravin dříve, než jejich přítomnost tušil a cokoliv o nich věděl. Jsou řazeny mezi eukaryotické organismy. Na jejich povrchu se nachází silná buněčná stěna, pod ní je cytoplazmatická membrána. V cytoplazmě kvasinek se nachází orgány typické pro eukaryotickou buňku jako je jádro, mitochondrie, endoplazmatické retikulum, vakuoly a Golgiho aparát. Kromě membránových útvarů lze v cytoplazmě nalézt také zřetelná zrna zásobních látek, například volutinu, glykogenu nebo lipidů (*Rhodotorula* spp.) [29].

Morfologie kvasinek souvisí s jejich způsobem rozmnožování. Nejčastěji je tvar buněk elipsoidní, vejčitý, kulovitý, protáhlý, válcovitý, citrónovitý nebo trojúhelníkovitý. U některých rodů se vykytují kromě jednotlivých buněk také zaškrcovaná vlákna z podlouhlých buněk (pseudomycelium), nebo vlákna se stejným průměrem po celé délce rozdělené přehrádkami (mycelium) [29].

3.1 Rozmnožování kvasinek

3.1.1 Vegetativní rozmnožování

Kvasinky se mohou rozmnožovat pučením, nebo příčným dělením. Ve většině případů se pučící buňka od mateřské buňky ihned odděluje, nebo mohou zůstat spojeny a tvoří tak tzv. buněčné svazky.

Příčné dělení se u kvasinek vyskytuje méně (např. u rodu *Schizosaccharomyces*). Mateřská buňka se prodlužuje růstem na pólech a poté se vytvoří přepážka, díky které vzniknou dvě dceřiné buňky [30].

3.1.2 Pohlavní rozmnožování

Pohlavní rozmnožování kvasinek lze definovat jako spájení dvou haploidních buněk (tzv. konjugace) a spájení jejich jader (tzv. karyogamie) za vzniku diploidní buňky – zgoty. Poté následuje redukční dělení (meióza) diploidního jádra za vzniku čtyř haploidních jader, která tvoří základ pro tvorbu pohlavních spor, nebo se dělí další mitózou za vzniku spor [30].

3.2 Kvasinky na ovoci a v ovocných šťávách

Největší množství kvasinek se vyskytuje na povrchu ovoce, lze je ale nalézt i na suchých skořápkových plodech. Kvasinky zkvašují sacharidy obsažené v ovocných šťávách na alkohol, čehož se využívá při výrobě vína a různých destilátů.

V našich zeměpisných podmínkách se na ovoci vyskytují především tyto rody:

- a) sporotvorné: *Saccharomyces*, *Torulaspota*, *Hansenula*, *Pichia*, *Debaryomyces*, *Saccharomycodes*,
- b) nesporotvorné: *Kloeckera*, *Candida*, *Torulopsis*.

Nejhojnějším druhem na ovoci je *Saccharomyces cerevisiae*, druhým nejrozšířenějším zástupcem je *Kloeckera apiculata*. Dále lze jmenovat např. *Saccharomyces oviformis* (která snáší koncentraci alkoholu až 16 %), zřídka se vyskytuje *Saccharomyces uvarum*. Z nesporulujících druhů se často vyskytuje anamorfní forma *Metschnikowia pulcherrima* (*Candida pulcherrima*) [31, 32].

3.3 Výskyt kvasinek na druhotných stanovištích

Mezi druhotná stanoviště výskytu kvasinek patří zejména zařízení provozů moštáren, vinařských provozů, apod. Nejvíce se zde vyskytují zástupci rodů pocházející z přírodních stanovišť, popřípadě i jiné rody, jako např. *Rhodotorula* spp., *Sporobolomyces* spp., atd. *Saccharomyces cerevisiae* tvoří trvalou mikroflóru zařízení závodů vyrábějících víno a mošty. Některé jiné sacharomycety způsobují biologické zákalý vín, zejména pak *S. oviformis*. Červené kvasinky, *Rhodotorula*, *Sporobolomyces*, ale také *Torulopsis* jsou běžnou mikroflórou ve sklepech, cisternách a na dalším zařízení [31, 32].

4 MIKROSKOPICKÉ HOUBY (MIKROMYCETY)

Jako mikroskopické vláknité houby (mikromycety) či plísně označujeme mnohobuněčné eukaryotické mikroorganismy vytvářející jemné vláknité povlaky (mycelium) na různých substrátech. Jsou řazeny mezi houby (*Fungi*) [30, 33].

V přírodě se plísně a houby účastní rozkladných činností při tvorbě humusu a velké množství jich žije v symbióze s kořeny vyšších rostlin. Na druhou stranu se v půdě nachází i velké množství parazitických a patogenních plísní, které zde přežívají ve formě spor či v saprofytické fázi životního cyklu. Takovéto plísně mohou infikovat živé rostlinné i živočišné organismy. V jiných případech se mohou běžné saprofytické druhy stát vážnými škůdci, kteří znehodnocují skladované plodiny, čerstvé i konzervované potraviny. Znehodnocení potravin je způsobeno jednak produkcí mykotoxinů a také enzymatickými pochody, při kterých jsou štěpeny sacharidické, bílkovinné i lipidické složky a kvalita těchto produktů je zhoršena [33].

Naopak v některých průmyslových odvětvích jsou plísně hojně využívány:

- a) v potravinářství při výrobě sýrů a fermentovaných salámů (*Penicillium camemberti*, *P. roqueforti*, *P. nalgiovense*),
- b) v chemickém průmyslu k syntéze organických kyselin (*Aspergillus niger*), vitaminů, hormonů, stimulatorů růstu rostlin (*Fusarium* spp.),
- c) ve farmaceutickém průmyslu k výrobě antibiotik (*Penicillium chrysogenum*, *P. notatum*), atd.,
- d) saprofytické mikromycety jsou schopny štěpit organické látky v odpadních vodách a tím mohou přispívat k jejich čištění [33].

4.1 Taxonomie mikromycet

Taxonomické rozdělení mikromycet bylo v minulosti častokrát pozměňováno a i v současné době je dále zpracováváno v rámci projektu Assembling the Fungal Tree of Life (AFTOL) [34]. Dále je uvedeno rozdělení podle přítomnosti a typu pohlavního rozmnožování, na základě kterého lze nejdůležitější plísně zařadit do těchto taxonomických jednotek:

1. Třída *Zygomycetes* (plísň pravé, houby spájivé) je charakteristická jednobuněčným, nesegmentovaným myceliem, pohlavním rozmnožováním pomocí zygospor a nepohlavním rozmnožováním endosporami.
2. Třída *Ascomycetes* (houby vřeckaté) se segmentovaným myceliem, pohlavním rozmnožováním askosporami vytvářenými v asku a nepohlavním rozmnožováním za pomoci exospor.
3. Nesystematická umělá skupina *Deuteromycetes* (*Fungi imperfecti*, houby nedokonalé) se segmentovaným myceliem, ale pouze s nepohlavním způsobem rozmnožování tvorbou exospor [30, 33, 35].

4.2 Morfologie mikromycet

Stélka plísni je tvořena vláknitými hyfami, které vytváří mycelium. Vývojově dokonalejší houby třídy *Ascomycetes* mají hyfy segmentované, časté je rozdělení hyf na jedno nebo vícejaderné úseky. U zástupců třídy *Zygomycetes* se segmentace vyskytuje jen u starších hyf a slouží k oddělení reprodukčních orgánů [30].

Hyfy jsou většinou větvené, nebo dochází k jejich srůstání postranními výběžky za tvorby anastomóz. Díky anastomózám si mohou sousední hyfy vyměňovat haploidní jádra a dochází také k lepšímu transportu živin, cytoplazmy a organel v myceliu. Hyfy rostou pouze na svém vrcholu (apikální růst), jejich tloušťka je několik mikrometrů, délka úseků mezi jednotlivými přehrádkami dosahuje desítky až stovky mikrometrů [30].

Tvrký polokulovitý útvar tvořený hustou spleť hyf se nazývá sklerocium. To má většinou tmavou barvu, několika milimetrový průměr a je odolné vůči nepříznivým podmínkám. Nacházíme jej většinou u druhů, které netvoří pohlavní ani vegetativní spory. Kožovitá spleť hyf se nazývá stroma a nalézáme ho často u plísni parazitujících na ovoci a rostlinném materiálu [35].

V každé buňce je jedno (monokaryotické mycelium), dvě (dikaryotické mycelium) nebo více (heterokaryotické mycelium) jader, která jsou haploidní povahy. Cytoplazma buněk je podobného složení jako u kvasinek, s tím rozdílem, že u plísni jsou hlavní rezervní látkou lipidy, které tvoří v buňkách kapénky o různé velikosti viditelné i pod světelným mikroskopem. Dále jsou pozorovatelná i granula volutinu (polyfosfát) a glykogenu. Vzácně je v buňkách mikromycet nacházen škrob. Bílkoviny se v plísňovém

těle vyskytují v omezeném množství. Dále lze u některých druhů nalézt látky antibiotické povahy (*Penicillium*), alkaloidy (*Claviceps*), steroidy a terpeny [30, 35].

Buněčná stěna se skládá zejména z polysacharidů. Je tvořena především chitinem (polysacharid tvořený N-acetylglukózaminem) a chitózánem (deacetylovaný chitin), dále jsou přítomny také glukany, manany a polysacharidy složené z galaktózinu nebo z 6-deoxyhexóz, hlavně z fukózy (6-deoxy-L-galaktóza) a z ramnózy (6-deoxy-L-manóza). Často je obsažena také celulóza a látky podobné ligninu, které zvyšují pevnost buněčné stěny. Kromě polysacharidů obsahuje buněčná stěna plísni také bílkoviny a velké množství lipidů. Kromě neutrálních lipidů jsou obsaženy také vosky, které odpovídají za obecně velmi špatnou smáčivost vegetativních i sporonosných hyf [35].

Sporonosné části mycelia mají většinou nápadné zbarvení, jelikož stěny konidií obsahují různá barviva. Tvorba těchto látek je dána geneticky. Nejčastěji je tvořeno barvivo zelené až modrozelené (u rodů *Penicillium*, *Aspergillus*), dále se vyskytuje béžové, hnědé až černé zbarvení (rod *Aspergillus*), růžové zbarvení (*Trichothecium*) atd. Stěny endospor a blána sporangia u zygomycet obsahují většinou hnědočerné barvivo melanoidní povahy, jež chrání spory před nepříznivými vlivy ultrafialového záření. Stěny vegetativních hyf jsou většinou bez pigmentace. Pouze u některých čeledí třídy *Deuteromycetes* lze nalézt v hyfách zelenočerné barvivo, které má rovněž ochrannou funkci před UV zářením [35].

4.3 Rozmnožování mikromycet

Plísně se mohou rozmnožovat buď rozrůstáním hyf nebo pomocí spor. Spory mohou vznikat nepohlavně (vegetativní spory) nebo spájením (pohlavní spory) [35, 36].

4.3.1 Vegetativní rozmnožování

Vegetativní spory jsou tvořeny buď na vegetativních hyfách, nebo na speciálních fruktifikačních orgánech. Spory tvořené uvnitř těchto orgánů se nazývají endospory a spory tvořené vně těchto orgánů se nazývají exospory.

Endospory (sporangiospory) vznikají ve speciálních útvarech zvaných sporangia. Ty mohou mít buď kulovitý nebo hruškovitý tvar. Část sporangioforu, která zasahuje do sporangia, se nazývá kolumela. Tvar kolumely je jedním ze znaků, podle kterých

lze plísně určovat. Sporangia se u potravinářsky významných plísní vyskytují pouze u třídy *Zygomycetes*. Sporangiospory mají většinou více jader.

Exospory mohou mít různé tvary od kulovitých, elipsoidních, válcovitých až po srpkovité či spirálovitě stočené. Mohou být jednobuněčné (mikrokonidie) nebo vícebuněčné (tzv. makrokonidie). Mohou vznikat různými způsoby, např. rozpadem vlákna na jednotlivé buňky (oidie, artrospory), pučením (blastospory) nebo tvorbou fialospor. Fialospory vznikají ze speciálních lahvovitých útvarů, tzv. fialid a vyskytují se například u rodů *Aspergillus*, *Penicillium*, *Paecilomyces*, *Phialophora*, *Trichoderma*, *Verticillium* a *Stachybotrys* [35].

4.3.2 Pohlavní rozmnožování

Mezi pohlavní spory patří oospory, zygospory, askospory a bazidiospory. Vznikají splnutím jader pohlavních buněk, tj. gamet tvořících se v gametangiích. Proces splývání se nazývá gametogamie. Rozlišujeme homothalický proces splývání jader, kdy splývají pohlavně odlišné gamety na jednom jedinci a heterothalický proces, kdy splývají pohlavně odlišné gamety na dvou různých jedincích. Samčí gamety jsou antheridia s pohlavními buňkami spermatozoidy, samičí gamety jsou oogonia s oosférami [36, 37].

4.4 Plísně na ovoci a v ovocných šťávách

V tomto přehledu jsou uvedeny plísně, které se mohou podílet na kažení ovoce a ovocných šťáv. Nebylo snahou popsat všechny druhy, jelikož by to bylo nad rámec této práce, byly vybrány pouze druhy nejvýznamnější.

4.4.1 Třída: *Zygomycetes*

Řád: *Mucorales*

Zástupci tohoto řádu jsou nejznámější běžně se vyskytující plísně. Tvoří řídké vatovité nebo plstnaté porosty vzdušného mycelia, které je většinou světle zabarvené, méně pak tmavě šedé či hnědé. Často obsazují substrát jako první mikroskopické houby. Mycelium roste velmi rychle a brzy sporuluje. Jejich hlavním rezervoárem je půda, kde působí jako saprofyti, dále se vyskytují na rostlinných či živočišných zbytcích, na přezrálém ovoci, skladovaných potravinách, či trusu zvířat. Patogenních druhů je méně [33].

Do řádu *Mucorales* patří 14 čeledí: *Mucoraceae*, *Gibbertellaceae*, *Dicranophoraceae*, *Saskenaeaceae*, *Phycomycetaceae*, *Absidiaceae*, *Mortierellaceae*, *Pilobolaceae*, *Choanephoraceae*, *Thamniaceae*, *Cunninghamellaceae*, *Mycotyphaceae*, *Syncephalastraceae* a *Sigmoideomycetaceae* [38].

4.4.1.1 Čeleď: *Mucoraceae*

Čeleď *Mucoraceae* představuje jednu z největších co do počtu zástupců, jsou zde zastoupeny rody *Mucor*, *Actinomucor*, *Rhizomucor*, *Parasitella*, *Zygorhynchus* a *Circinomucor*, *Thamnidium*, atd. [38].

Rod: *Mucor*

Zahrnuje přes 100 druhů, které se vyskytují na různých potravinách, např. na chlebu, másle, mase, ovoci, zelenině. Tvoří vláknitý, většinou bělavý porost s kulovitými nahnědlými sporangii, jejichž kolumela má různé tvary [33].

Mezi druhy významné z hlediska kažení ovoce a ovocných šťáv lze zařadit tyto:

Mucor circinelloides, *M. fragilis*, *M. hiemalis*, *M. mucedo*, *M. racemosus* (syn. *M. dimorphosporus*), *M. fuscus* (syn. *M. petriularis*), *M. plumbeus*, *M. piriformis* (syn. *M. wosnessenskii*) [38, 39, 40].

Ostatní druhy z čeledi *Mucoraceae*, podílející se na kažení ovoce a ovocných šťáv:

Actinomucor elegans, *Rhizomucor pusillus*, *Thamnidium elegans* (zejména při chladírenských teplotách) [39, 40].

4.4.1.2 Čeleď: *Absidiaceae*

Čeleď *Absidiaceae* patří k největším v celém řádu. Byla vymezena pro deset rodů, které byly původně řazeny do čeledi *Mucoraceae*, protože tvoří apofyzální sporangia. Jsou zde zastoupeny druhy rodů *Rhizopus*, termofilní *Thermomucor*, *Citrinella* a *Absidia*. Některé druhy jsou pro člověka patogenní (např. *Absidia corymbifera*), na ovoci lze nalézt *Absidia ramosa* (syn. *Mycocladius ramosus*) [38].

Rod: *Rhizopus*

V přírodě hojně rozšířený, vyskytuje se v půdě, na hnilých substrátech, působí zejména kažení ovoce, kde způsobuje hnilobu. Některé druhy rozkládají pektiny a mohou vytvářet

mykotoxiny. Od rodu *Mucor* se liší tím, že tvoří delší vlákna (více jak 1 cm dlouhá), a že sporangiofory vyrůstají po 2 až 3 ze šlahounovitých hyf, tzv. stolonů, v místech kde vznikají kořínkovité útvary zvané rhizoidy. Druhy *Rhizopus japonicus* a *R. delemar* se využívají k výrobě alkoholických nápojů (zejména v Japonsku), *R. stolonifer* pak k průmyslové výrobě kyseliny fumarové, další druhy k oxidaci steroidních sloučenin při výrobě léčiv. Některé druhy mohou být patogenní pro člověka [33, 35].

Na kažení ovoce a ovocných šťáv se nejvíce podílí *Rhizopus stolonifer* (syn. *R. nigricans*), *Rhizopus microsporus*, *Rhizopus oryzae* (syn. *R. arrhizus*) a další [38, 39, 40].

Rod: Absidia

Z tohoto rodu se významněji na kažení ovoce podílí plíseň *Absidia ramosa* (syn. *Mycocladus ramosus*) [38].

4.4.1.3 Čeleď: Gibertellaceae

Tato čeleď je vymezena pouze pro jeden druh *Gibertella persicaria*, která způsobuje skladištní poškození broskví, nektarinek, rajčat a hrušek [38].

4.4.2 Třída: Ascomycetes

Mycelium u většiny druhů je dobře vyvinuto, bohatě rozvětvené se segmentovanými hyfami. V přehrádce mají jeden pór, který umožňuje pohyb cytoplazmy a jader. Hyfy velmi často tvoří nepravé pletivo, tzv. plektenchym. Typickým rozmnožovacím útvarem je vřecko (askus), ve kterém jsou tvořeny askospory. Zástupci této třídy se vyskytují téměř ve všech možných biotopech, většina z nich jsou saprofyti, ale některé druhy mohou být parazity rostlin, živočichů a také člověka [41].

4.4.2.1 Řád: Eurotiales

Rod: Eurotium

Plísně osmofilní povahy, vyskytují se na substrátech s nízkou vodní aktivitou, příležitostně je lze nalézt na i na ovoci [42].

Rod: *Aspergillus* (kropidlák)

Tento rod obsahuje více než 200 druhů, jsou častým kontaminantem potravin, produkují mykotoxiny a mohou být i příležitostným patogenem člověka (mykózy). Zástupci jsou bohatě enzymaticky vybaveni (amylolytické, pektolytické a proteolytické enzymy).

Na ovoci a v ovocných šťávách lze příležitostně nalézt *A. flavus*, který může produkovat aflatoxiny B a kyselinu cyklopiazonovu. Dále *A. versicolor* (producent mykotoxinu sterigmatocystinu), *A. niger* (produkuje ochratoxin A), *A. fumigatus* (produkuje mykotoxiny fumitremorginy, verruculogen a gliotoxin), *A. carbonarius* (společně s *A. niger* často na plodech révy vinné, producent ochratoxinu A). Na kažení ovocných šťáv se také podílí *A. nidulans* (teleomorfa *Emericella nidulans*) u kterého byla zjištěna produkce mykotoxinů sterigmatocystinu a emestrinu [35, 40, 41, 42, 43].

Rod: *Penicillium* (štetičkovec)

Druhově bohatý rod – více než 250 druhů, jedny z nejčastějších hub (půda, ovzduší), významní rozkladači rostlinných zbytků, častý kontaminant potravin.

Na ovoci a v ovocných šťávách lze nalézt *Penicillium chrysogenum* (syn. *P. notatum*, *P. meleagrinum*), které je producentem antibiotika penicilinu. Hnilobu jablek způsobují *P. solitum* (produkuje cyklopenin, cyklopenol, kompaktiny), *P. crustosum* (producent mykotoxinu penitremu, roquefortinu C, kyseliny terestrové aj.) a *P. expansum* (mykotoxiny patulin, citrinin, chaetoglobosin C, roquefortin C). Hnilobu citrusových plodů způsobují *P. digitatum* (původce zelené hniloby citrusů, produkuje tryptoquivaliny) a *P. italicum* (modrozelená hniloba citrusů, produkuje kyselinu italickou a verrucolon) [35, 40, 41, 42].

Rod: *Paecilomyces*

Nejvýznamnějším zástupcem tohoto rodu je *Paecilomyces niveus* (teleomorfa *Byssochlamys nivea*), patří mezi obvyklé kontaminující druhy. Je častou příčinou kažení nedostatečně tepelně ošetřených potravin, zejména moštů, ovocných dření, kompotů (zejména meruněk), ovocných šťáv, protlaků apod. Některé izoláty mohou produkovat mykotoxin patulin. Je termotolerantní (teplotní maximum 40 °C), askospory mohou po určitou dobu přežívat i teploty vyšší než 80 °C. Podobná je *Paecilomyces variotii*, která je rezistentní vůči působení sorbátu, produkuje patulin, je příležitostným původcem mykóz zvířat a člověka [35, 40, 41, 42].

4.4.2.2 Řád: *Hypocreales*

Rod: *Trichoderma*

Z tohoto rodu lze jmenovat jako zástupce plíseň *Trichoderma viride* (teleomorfa *Hypocrea rufa*), která se hojně vyskytuje a lze ji mimo jiné nalézt i na ovoci. Produkuje mykotoxiny trichodermin, emodin aj. [35, 40].

4.4.2.3 Řád *Capnodiales*

Rod: *Cladosporium*

Na kažení ovoce se podílí *Cladosporium herbarum* (teleomorfa *Mycosphaerella tassiana*), působí čerň u jablek (tzv. melanózu), které znehodnocuje jako materiál pro výrobu moštů. Produkce mykotoxinů není známá, rozkládá celulózu, pektiny a lipidy [35, 40].

4.4.2.4 Řád: *Leotiales*

Rod: *Botrytis*

Zástupci rodu se vyskytují velmi hojně po celém světě jako fytopatogenní plísně, které způsobují zvláště hniloby ovoce a zeleniny (např. jahod, vinných hroznů, rajčat, hrušek a jablek) i při nízkých teplotách (psychrofilní druhy). Plíseň *Botrytis cinerea* (teleomorfa *Botryotinia fuckeliana*) tvoří na vinných hroznech tzv. ušlechtilou plíseň při výrobě vín tokajského typu. Produkce mykotoxinů nebyla zjištěna [35, 40].

4.4.2.5 Řád: *Pleosporales*

Rod: *Alternaria*

Příslušníci tohoto rodu jsou hojně rozšířeni po celém světě, rostou na různých substrátech rostlinného původu včetně ovoce (hlavně jablka, hrušky a citrusové plody). Mohou produkovat řadu toxinů, např. toxický metabolit AAT (*Alternaria alternata* toxin) podobný fumonisinu, kyselinu tenuazonovou a dále řadu méně významných toxinů, např. alternariol [40].

4.4.2.6 Řád: *Dothideales*

Rod: *Phoma*

Zástupci tohoto rodu tvoří tmavě zbarvená pyknidia, způsobují škody na ovoci a zelenině. Některé druhy produkují hořké látky [35].

4.4.2.7 Řád: *Sordariales*

Rod: *Monilia*

Plísně způsobující nemoc jádrovin a peckovin tzv. moniliózu. Nejčastěji se nemoc vyskytuje na slivoních, třešních, višních, meruňkách a broskvoních. Je způsobena především druhy *Monilia fructigena* a *Monilia laxa* [35, 44].

4.4.3 Třída: *Deuteromycetes (Fungi imperfecti)*

Zástupce *Trichothecium roseum*, je rychle rostoucí plíseň, která se vyskytuje po celém světě, roste v půdě a na rostlinných substrátech, např. na cereáliích, působí hnilobu jablek, může se projevovat fytopatogenně. Produkuje mykotoxiny trichotheceny [33, 40, 42].

4.5 Mykotoxiny

Značná část potravin je znehodnocena v důsledku činnosti plísní, jelikož tyto mikroorganismy produkují velké množství metabolitů. Mezi ně patří i mykotoxiny. Některé plísně jsou důležitými producenty látek s farmaceutickým využitím (např. penicilin, cyklosporin, statiny). Jiné produkují látky, které jsou pro ostatní organizmy toxické – mykotoxiny. Mezi nejznámější patří aflatoxiny, ochratoxin, patulin. Další jako například trichotheceny, zearalenon a fumonisiny, jsou důležitými kontaminanty potravin a krmiv. Většina mykotoxinů působí na člověka hepatotoxicky nebo nefrotoxicky, u některých byly prokázány karcinogenní účinky [45].

4.5.1 Aflatoxiny

Aflatoxiny jsou nejsilnější přírodní karcinogenní látkou (nejsilnější je typ B₂), působící na všechny obratlovce včetně člověka. V potravinách lze nalézt aflatoxiny typu B₁, B₂, G₁, G₂. Další biotransformací v organismu obratlovců může dojít ke vzniku aflatoxinů řady M, P, H, Q, aj. [46].

Hlavními producenty aflatoxinů jsou plísně rodu *Aspergillus*, hlavně druhy *A. flavus*, *A. parasiticus* a *A. nomius* [45].

Tyto látky mohou u člověka vyvolat Reyův syndrom, zánět jater, primární hepatom, kwashiokor, stavy útlumy imunity, atd. [47].

4.5.2 Citrinin

Silně nefrotoxický mykotoxin, který byl v minulosti používán jako antibiotikum. Plísně produkující tuto látku jsou v potravinách hojně rozšířené. Hlavním producentem citrininu je *Penicillium verrucosum*, *P. expansum*, *P. radicum*, *P. citrinum* [47, 48].

4.5.3 Ochratoxin A

Producenty ochratoxinu A jsou zástupci rodů *Aspergillus* a *Penicillium*. U lidí způsobuje utlumení imunity, je pravděpodobný karcinogen, působí nefrotoxicky [47, 48].

4.5.4 Patulin

Patulin byl dříve využíván jako antibiotikum. Je produkován plísněmi rodů *Aspergillus*, *Byssoschlamys*, *Penicillium*, hlavním producentem je *P. expansum* [45]. Jsou jím často kontaminovány ovocné dřeně, kompoty, šťávy a mošty. Jedná se o prokázaný karcinogen, akutní otrava způsobuje edém plic [47].

II. PRAKTICKÁ ČÁST

5 MATERIÁL A METODIKA

5.1 Materiál

5.1.1 Analyzovaný materiál

Ke všem analýzám byl použit nepasterizovaný čistě přírodní jablečný mošt, vyrobený v domácích podmínkách slečnou Martinou Pastyříkovou z Luhačovic (vyroben na podzim 2010). Mošt byl pro analýzy uchováván v 0,5 l PET lahvích v mrazničce při teplotě -25 ± 1 °C.

5.1.2 Kultivační půdy

Pro stanovení inhibičního účinku monoacylglycerolů na růst kvasinek a mikroskopických vláknitých hub bylo použito komerčně dodávané médium Fungal Agar (HiMedia Bombay, India).

Ke stanovení schopnosti kvasinek zkvašovat vybrané sacharidy bylo použito následující médium podle [49]:

- Beef Extract (HiMedia Bombay, India).....3,0 g
- Pepton (HiMedia Bombay, India).....10,0 g
- NaCl (Ing. Petr Lukeš, Uherský Brod).....5,0 g
- roztok bromkresolové červeni.....1 ml
- destilovaná voda.....1000 ml

Do média byl přidáván sterilní 5% roztok sacharidu na výslednou koncentraci 1-2 %.

Použité sacharidy: D-glukóza (Lachema a.s., Brno), Galaktóza (Lachema a.s., Brno), Sacharóza (Lachema a.s., Brno), Laktóza (Lachema a.s., Brno), Maltóza (Lachema a.s., Brno).

Fyziologický roztok:

- NaCl (Ing. Petr Lukeš, Uherský Brod).....8,5 g
- destilovaná voda.....1000 ml

Všechna média byla sterilizována v autoklávu po dobu 20 minut při 121 °C.

5.1.3 Monoacylglyceroly

Ke zjištění inhibičních účinků na růst kvasinek a mikromycet *in vitro* a v jablečném moštu byly použity tyto monoacylglyceroly:

MAG kyseliny kaprinové (MAG C10:0)

MAG kyseliny laurové (MAG C12:0)

MAG kyseliny adamantankarboxylové (MAG ACA)

Monoacylglyceroly kyseliny kaprinové a laurové byly vyrobeny v laboratořích Ústavu tuků, tenzidů a kosmetiky (ÚTTTK) Univerzity Tomáše Bati ve Zlíně. Monoacylglycerol kyseliny adamantankarboxylové byl poskytnut pracovníky ÚTTTK.

Postup výroby MAG:

Monoacylglyceroly kyseliny kaprinové (1-monokaprin) a laurové (1-monolaurin) byly vyrobeny adicí mastných kyselin na glycidol (2,3-epoxy-propanol) za katalýzy chromium (III) acetát hydroxidů způsobem, který byl podrobně popsán v publikacích [12] a [50]. Reakce byla provedena ve skleněném dvouplášťovém reaktoru. Navážka mastné kyseliny činila 50 g. Po jejím rozpuštění byl přidán chromium (III) acetát hydroxid tak, aby jeho množství bylo 0,5 % hm. navážky mastné kyseliny. Tato směs byla zahřívána při teplotě 90 °C 30 minut. Po uplynutí této doby byl přidán ke směsi glycidol tak, aby jeho množství bylo v poměru mastná kyselina : glycidol 1 : 1,3. Tato reakční směs byla zahřívána v reaktoru při 90 °C po dobu 2 hodin. Po této době byl zjištěn stupeň konverze dle [12]. Výsledný produkt byl dvakrát přečištěn rekrystalizací v etanolu a filtrací pod tlakem. Poté byl přebytečný etanol odpařen na vakuové odparce.

Postup při stanovení stupně konverze:

Po ukončení zahřívání reakční směsi byly tyčinkou odebrány vzorky. Každý vzorek byl zvážen, rozpuštěn v 5 ml směsi xylen : etanol (1 : 1) a titrován alkoholickým roztokem 0,1 M KOH (za přídavku indikátoru fenolftaleinu) do prvního fialového zbarvení trvajících nejméně 10 sekund. Hmotnostní procenta dané mastné kyseliny vztažené na navážku mastné kyseliny byly vyjádřeny rovnicí (R-1):

$$\%C = \frac{a \cdot c_{KOH} \cdot M_k}{1000 \cdot m \cdot p} \cdot 100 \quad (\text{R-1})$$

Kde: a – spotřeba 0,1 M KOH při titraci [ml]

c_{KOH} – přesná koncentrace KOH [mol.l⁻¹],

M_k – molární hmotnost dané mastné kyseliny [g.mol⁻¹],

m – navážka odebraného vzorku [g],

p – poměr skutečné navážky kyseliny do reakce k celkové hmotnosti všech reaktantů.

Poté byla vypočtena konverze dle rovnice (R-2):

$$\%MAG = 100 - \%C \quad (\text{R-2})$$

Konverze reakce při výrobě MAG k. kaprinové byla 96,5 %, při výrobě MAG k. laurové 98,1 %. Konverze adamantankarboxylové kyseliny byla 98,9 %.

5.1.4 Použité chemikálie

Destilovaná voda

Ethanol denaturovaný 96%

Glycidol (2,3-epoxy-propanol) 96 % (Sigma-Aldrich, Praha)

Chromium (III) acetát hydroxid (Sigma-Aldrich, Praha)

Hydroxid draselný (Lachema a.s., Brno)

Xylen (Lachema a.s., Brno)

Fenolftalein

Kyselina kaprinová (Sigma-Aldrich, Praha)

Kyselina laurová (Sigma-Aldrich, Praha)

Monoacylglycerol kyseliny 1-adamantankarboxylové (ÚTTTK , UTB Zlín)

NaCl (Ing. Petr Lukeš, Uherský Brod)

D-glukóza (Lachema a.s., Brno)

Galaktóza (Lachema a.s., Brno)

Sacharóza (Lachema a.s., Brno)

Laktóza (Lachema a.s., Brno)

Maltóza (Lachema a.s., Brno)

Methylenová modř

Bromkresolová červeň

Desinfekce Spitaderm (Ekolab Hygiene, Brno)

Savo Original (Bochemie, Bohumín)

Jar Lemongrass (Rakona, Rakovník)

5.1.5 Přístroje a pomůcky

Box pro práci ve sterilním prostředí EUROFLOW EF/S Clean Air (Nizozemí)

Mikropipety Nichipet (Japonsko)

Mikropipety Eppendorf Reseach (Anglie)

Mikropipety BioHit (Anglie)

Mikropipety Hirschmann Labopette (Německo)

Autokláv H+P Varioklav (Německo)

Autokláv Systec 2540 (Nizozemí)

Automatický sterilizátor klíček

Sušárna Memmert UNB 500 (Německo)

Sušárna KBC G-100/250 (Polsko)

Vakuová odparka Heidolph 2 (Německo)

Vakuová pumpa Vacuubrand MD 4C NT (Německo)

Mikrovlnná trouba Electrolux (Švédsko)

Chladnička Electrolux (Švédsko)

Magnetické míchadlo LAVAT MM4 (ČR)

Skleněný dvouplášťový reaktor

Digitální byreta Brand 25 ml (Německo)

Laboratorní váhy Kern 572 (Německo)

Analytické váhy Sartorius Basic Plus (Německo)

Mikroskop Olympus CX41 (Japonsko)

Fotoaparát Olympus C3040 (Japonsko)

Petriho misky

Laboratorní sklo a další laboratorní pomůcky

5.2 Metodika

5.2.1 Stanovení inhibičních účinků MAG na růst plísni *in vitro*

Pro zjištění inhibičních účinků MAG na mikromycety *in vitro* byl použit Fungal Agar s přídavkem 2% roztoku patřičného MAG (MAG C10:0, MAG C12:0, MAG ACA) v etanolu. Výsledné koncentrace inhibiční látky v agaru byly následující: 250 $\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$, 750 $\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$, 1000 $\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$, 1500 $\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$. V případě kombinací (MAG C10:0/MAG C12:0, MAG C10:0/ MAG ACA a MAG C12:0/MAG ACA v poměru 1 : 1) byly MAG aplikovány do agaru tak, aby jejich výsledná koncentrace byla: 200 $\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$, 400 $\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$, 500 $\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$, 1000 $\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$. Byly také připraveny misky s Fungal Agarem bez přídavku MAG jako pozitivní kontrola. Misky s připraveným agarem byly ponechány 2 dny při pokojové teplotě, poté byly vpichem sterilní jehlou naočkovány plísně (vždy 2 vpichy na jednu misku). Po naočkování byl denně zaznamenáván průměr kolonií po dobu 14 dnů. Z naměřených hodnot byly vyjádřeny následující růstové parametry:

A – maximální průměr kolonie dosažený během experimentální doby 14 dnů [cm],

μ_{max} – maximální radiální rychlost růstu [cm/den],

Dále byl proveden přibližný odhad délky lag fáze (λ) tj. doba po které začne radiální růst kolonie) [den], a hodnoty MDT – tj. doba růstu kolonie potřebná k dosažení průměru 1 cm [den]. Parametry byly definovány podle Altieri *et al.* [19].

Pro stanovení inhibičních účinků v podmínkách *in vitro* byly použity následující kultury plísni poskytnuté Ústavem technologie a mikrobiologie potravin: *Aspergillus niger*, *Alternaria alternata*, *Penicillium roqueforti*, *Mucor racemosus*.

5.2.2 Izolace kvasinkových a plísňových kultur z jablečného moštu

Jablečný mošt byl naředěn fyziologickým roztokem pomocí desítkového ředění na koncentraci 10^{-2} . Poté bylo 0,1 ml naředěného moštu naočkováno na sterilní misky s Fungal Agarem. Po dvoudenní kultivaci při 25 ± 1 °C byly izolovány kultury kvasinek. Ty byly přečištěny pomocí křížového roztěru. Po 5 dnech kultivace misek s naočkováným naředěným moštem byly izolovány také kultury plísní.

5.2.3 Příprava roztoků monoacylglycerolů a jejich aplikace do moštů

Byly připraveny 20% (w/v) zásobní roztoky všech tří monoacylglycerolů (MAG C10:0, MAG C12:0 a MAG ACA) v absolutním etanolu. MAG byly do jablečného moštu aplikovány v rozmezí koncentrací 50 až $1500 \mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$. Objemy, které byly pipetovány pro dosažení přesné koncentrace MAG v moštu jsou uvedeny v tabulce 1.

Tab. 1. – Aplikace roztoků MAG do jablečného moštu

Konc. MAG [$\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$]	Objem MAG [μl]	Objem moštu [ml]
0	0	30
50	7,5	29,99
250	37,5	29,96
500	75	29,92
1000	150	29,85
1500	225	29,77
100 + 100	15 + 15	29,27
150 + 150	22,5 + 22,5	29,95
250 + 250	37,5 + 37,5	29,92

Byly zvoleny následující koncentrace monoacylglycerolů v moštu:

MAG C10:0: $50 \mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$, $250 \mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$, $500 \mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$, $1000 \mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$, $1500 \mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$

MAG C12:0: $50 \mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$, $250 \mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$, $500 \mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$, $1000 \mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$, $1500 \mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$

MAG ACA: $50 \mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$, $250 \mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$, $500 \mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$, $1000 \mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$, $1500 \mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$

Kombinace MAG:

MAG C10:0/ MAG C12:0 v poměru 1/1: $200 \mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$, $300 \mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$, $500 \mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$

MAG C10:0/ MAG ACA v poměru 1/1: $200 \mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$, $500 \mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$

MAG C12:0/ MAG ACA v poměru 1/1: $200 \mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$, $500 \mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$

Dále byl připraven vzorek moštu bez přídavku MAG, který sloužil jako kontrola.

5.2.4 Mikrobiologická analýza vzorků jablečného moštu

Vzorky moštů byly uskladněny po dobu 4 týdnů při teplotě 5 °C. Po každém týdnu byl proveden mikrobiologický rozbor. Jednotlivé vzorky byly vhodně naředěny ve zkumavkách se sterilním fyziologickým roztokem. Poté bylo 0,1 ml naředěného vzorku inokulováno rozetřením sterilní hokejkou na Petriho misky s Fungal Agarem a misky byly kultivovány při teplotě 25 ± 1 °C. Po 5 dnech byly odečteny počty kolonií kvasinek a po 14 dnech byly odečteny počty kolonií mikromycet. Výsledky byly vyjádřeny jako CFU (colony-forming units, kolonie tvořící jednotky) na 1 ml vzorku.

6 VÝSLEDKY

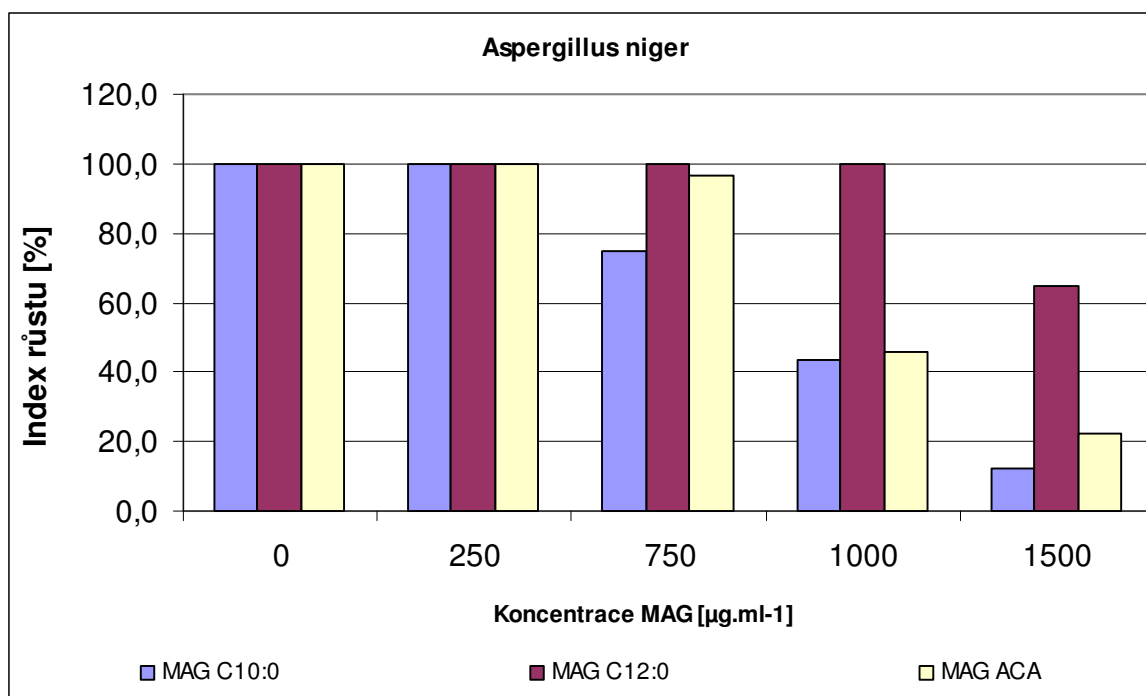
6.1 Inhibiční účinky monoacylglycerolů na růst mikromycet *in vitro*

Do agaru s přidavkem 1-monokaprinu byly naočkovány kultury plísní. Ty byly ponechány při teplotě 25 ± 1 °C po dobu 14 dní. Každý den bylo prováděno měření průměru kolonií.

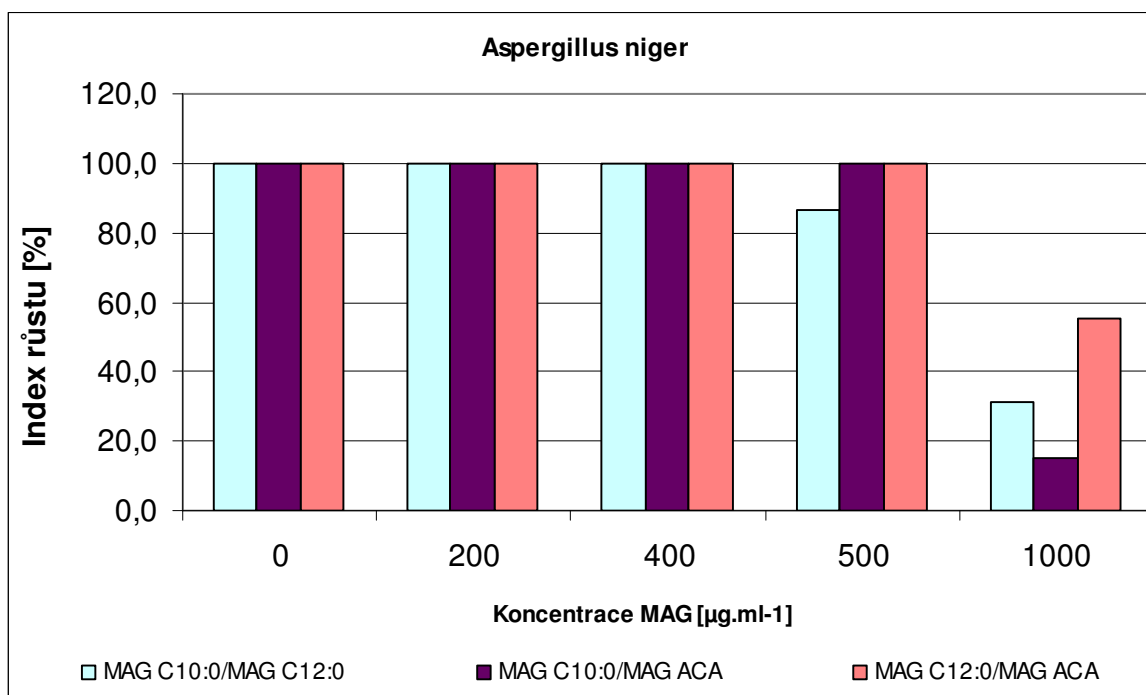
6.1.1 Vliv monoacylglycerolů na růst *Aspergillus niger*

Tato mikromyceta patří k druhům méně vnímavým k přítomnosti MAG, o této skutečnosti svědčí, že radiální růst nebyl zastaven ani při nejvyšších koncentracích inhibiční látky, avšak u všech testovaných monoacylglycerolů byla zjištěna snižující se rychlost růstu se zvyšujícím se obsahem inhibiční látky oproti kontrole bez MAG.

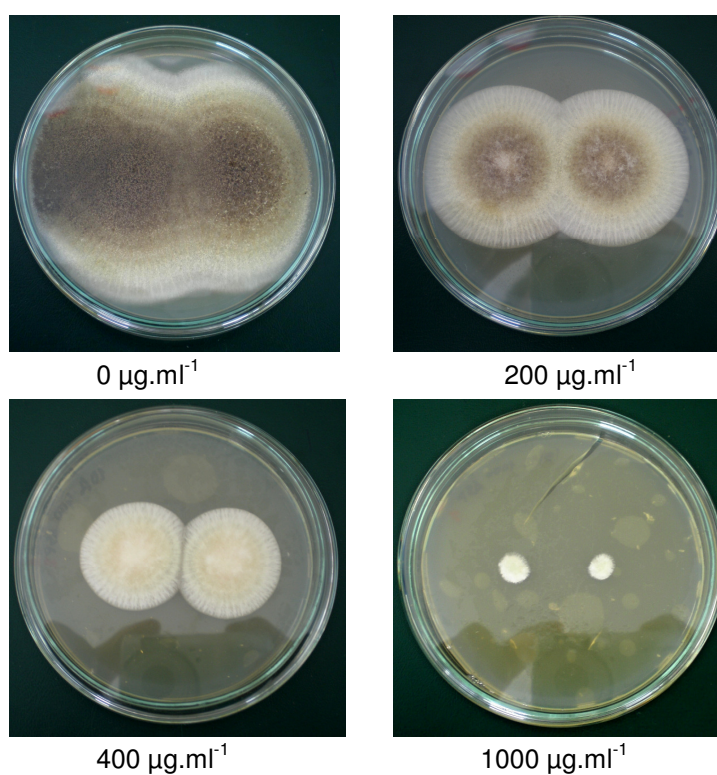
Z obrázků 1 a 2 (viz níže) je patrné, že při použití kombinací MAG lze dosáhnout stejného inhibičního účinku při nižší celkové koncentraci, než při použití jen jednoho typu MAG. V případě plísně *Aspergillus niger* bylo například dosaženo stejného snížení rychlosti růstu oproti pozitivní kontrole u $1000 \mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$ MAG C10:0/MAG ACA jako v případě $1500 \mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$ MAG C10:0.



Obr. 1. – Vliv MAG na růst plísně *Aspergillus niger*.



Obr. 2. – Vliv MAG na růst plísně *Aspergillus niger*.



Obr. 3. – Růst plísně *Aspergillus niger* na agaru s rozdílnou koncentrací kombinace MAG C:10/MAG ACA.

Tab. 2. – Kinetické parametry růstu plísně *Aspergillus niger* na agaru s obsahem MAG.

	$A [cm]^*)$	$\mu_{max} [cm/den]^*)$	$\lambda [den]$	$MDT [den]$
MAG C10:0				
0 $\mu g.ml^{-1}$	$>6,00 \pm 0,00$	$0,77 \pm 0,35$	1	2
250 $\mu g.ml^{-1}$	$>6,00 \pm 0,00$	$0,71 \pm 0,26$	1	3
750 $\mu g.ml^{-1}$	$4,48 \pm 0,68$	$0,32 \pm 0,22$	4	7
1000 $\mu g.ml^{-1}$	$2,60 \pm 0,60$	$0,19 \pm 0,13$	4	10
1500 $\mu g.ml^{-1}$	$0,73 \pm 0,26$	$0,05 \pm 0,05$	6	-
MAG C12:0				
0 $\mu g.ml^{-1}$	$>6,00 \pm 0,00$	$0,77 \pm 0,35$	1	2
250 $\mu g.ml^{-1}$	$>6,00 \pm 0,00$	$0,64 \pm 0,20$	1	3
750 $\mu g.ml^{-1}$	$>6,00 \pm 0,00$	$0,52 \pm 0,23$	2	4
1000 $\mu g.ml^{-1}$	$>6,00 \pm 0,00$	$0,45 \pm 0,21$	2	5
1500 $\mu g.ml^{-1}$	$3,90 \pm 0,30$	$0,28 \pm 0,24$	6	8
MAG ACA				
0 $\mu g.ml^{-1}$	$>6,00 \pm 0,00$	$0,77 \pm 0,35$	1	2
250 $\mu g.ml^{-1}$	$>6,00 \pm 0,00$	$0,76 \pm 0,19$	1	2
750 $\mu g.ml^{-1}$	$5,80 \pm 0,70$	$0,41 \pm 0,24$	1	4
1000 $\mu g.ml^{-1}$	$2,75 \pm 0,46$	$0,45 \pm 0,21$	2	7
1500 $\mu g.ml^{-1}$	$1,35 \pm 0,18$	$0,20 \pm 0,08$	9	13
MAG C10:0/MAG C12:0				
0 $\mu g.ml^{-1}$	$>6,00 \pm 0,00$	$0,77 \pm 0,35$	1	2
200 $\mu g.ml^{-1}$	$>6,00 \pm 0,00$	$0,66 \pm 0,27$	1	3
400 $\mu g.ml^{-1}$	$>6,00 \pm 0,00$	$0,55 \pm 0,24$	2	4
500 $\mu g.ml^{-1}$	$5,20 \pm 0,25$	$0,37 \pm 0,15$	2	5
1000 $\mu g.ml^{-1}$	$1,88 \pm 0,13$	$0,13 \pm 0,09$	4	10
MAG C10:0/MAG ACA				
0 $\mu g.ml^{-1}$	$>6,00 \pm 0,00$	$0,77 \pm 0,35$	1	2
200 $\mu g.ml^{-1}$	$>6,00 \pm 0,00$	$0,73 \pm 0,26$	1	3
400 $\mu g.ml^{-1}$	$>6,00 \pm 0,00$	$0,61 \pm 0,30$	2	4
500 $\mu g.ml^{-1}$	$>6,00 \pm 0,00$	$0,56 \pm 0,28$	2	4
1000 $\mu g.ml^{-1}$	$0,90 \pm 0,82$	$0,06 \pm 0,08$	6	-
MAG C12:0/MAG ACA				
0 $\mu g.ml^{-1}$	$>6,00 \pm 0,00$	$0,77 \pm 0,35$	1	2
200 $\mu g.ml^{-1}$	$>6,00 \pm 0,00$	$0,68 \pm 0,20$	1	3
400 $\mu g.ml^{-1}$	$>6,00 \pm 0,00$	$0,46 \pm 0,14$	1	3
500 $\mu g.ml^{-1}$	$>6,00 \pm 0,00$	$0,45 \pm 0,16$	1	4
1000 $\mu g.ml^{-1}$	$3,30 \pm 0,41$	$0,24 \pm 0,17$	5	8

Legenda k tabulce 2:

*) Průměrné hodnoty (n = 4)

A – maximální průměr kolonie dosažený během experimentální doby 14 dnů [cm],

μ_{max} – maximální radiální rychlost růstu [cm/den],

λ – lag fáze (tj. doba po které začne radiální růst kolonie) [den],

MDT – doba růstu kolonie potřebná k dosažení průměru 1 cm [den].

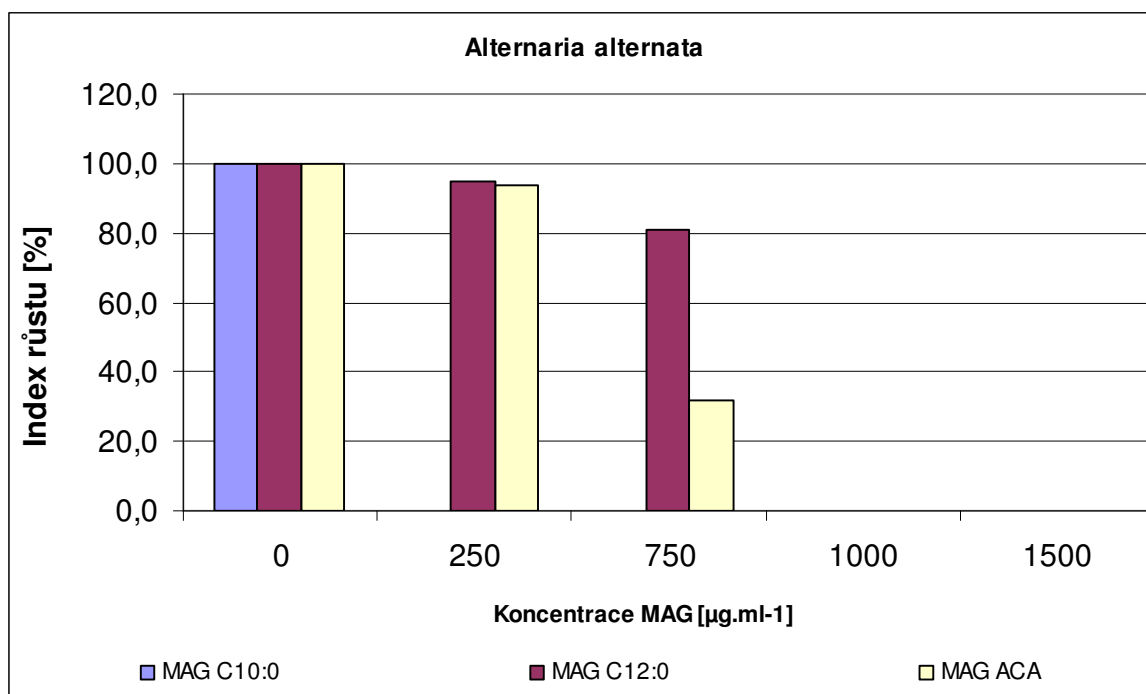
V tabulce 2 jsou uvedeny parametry popisující růst *A. niger* v prostředí různých koncentrací monoacylglycerolů.

Z obrázku 3 (výše) je patrná klesající rychlost radiálního růstu kolonií se zvyšující se koncentrací MAG v médiu.

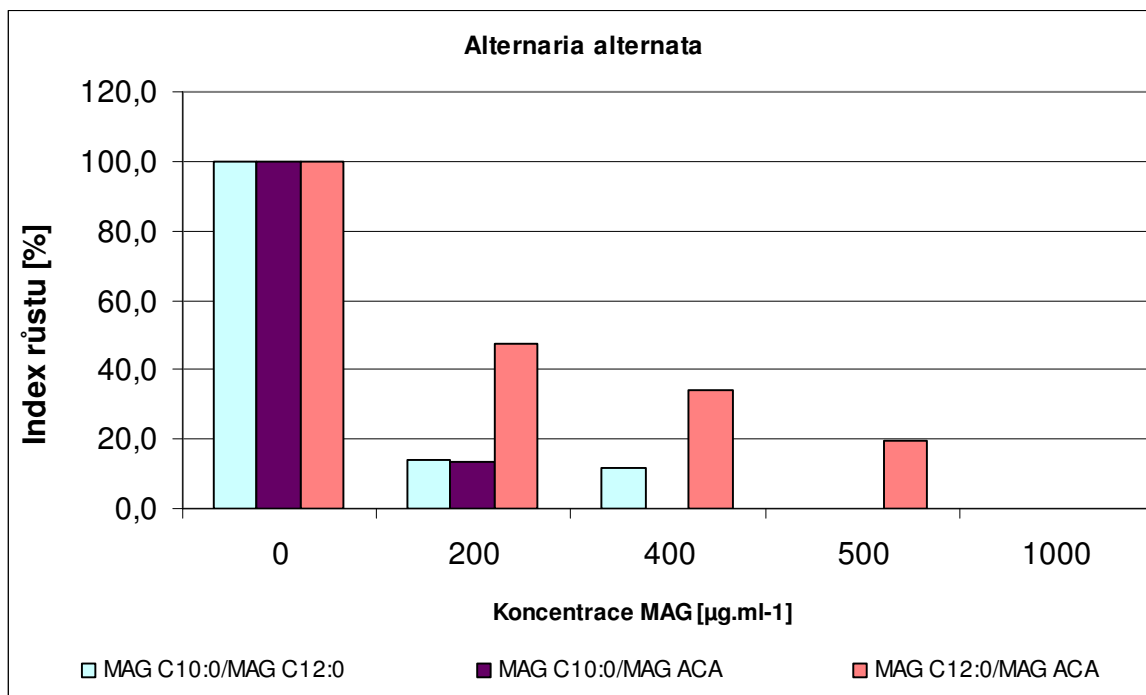
6.1.2 Vliv monoacylglycerolů na růst *Alternaria alternata*

Tato mikromyceta byla nejvíce vnímavá na přítomnost MAG v kultivačním médiu. Její růst byl zcela zastaven v případě MAG C10:0 již od koncentrace $250 \mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$. Další MAG zcela inhibovaly růst až při vyšších koncentracích, např. kombinace MAG C10:0/MAG ACA od koncentrace $400 \mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$, kombinace MAG C10:0/MAG C12:0 od koncentrace $500 \mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$, tato skutečnost je patrná z obrázků 4 a 5. Přídavek MAG výrazně prodloužil dobu lag-fáze a to ve většině koncentrací (Tab. 3). K podobným závěrům došla i Němcová ve své práci [51].

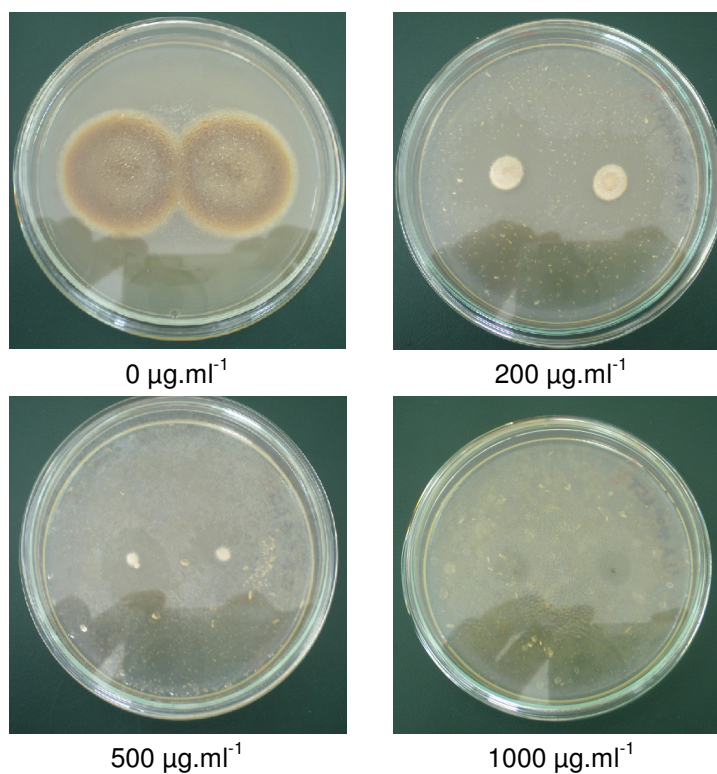
Inhibiční působení MAG je patrné i z obrázku 6, na kterém je vidět rozdíl ve velikosti kolonií po 7 dnech kultivace.



Obr. 4. – Vliv MAG na růst plísně *Alternaria alternata*.



Obr. 5. – Vliv MAG na růst plísně *Alternaria alternata*.



Obr. 6. – Růst plísně *Alternaria alternata* na agaru s rozdílnou koncentrací kombinace MAG C:12/MAG ACA.

Tab. 3. – Kinetické parametry růstu plísně *Alternaria alternata* na agaru s obsahem MAG.

	$A [cm]^{*)}$	$\mu_{max} [cm/den]^{*)}$	$\lambda [den]$	$MDT [den]$
MAG C10:0				
0 $\mu g.ml^{-1}$	$>6,00 \pm 0,00$	$0,75 \pm 0,19$	1	2
250 $\mu g.ml^{-1}$	$0,00 \pm 0,00$	$0,00 \pm 0,00$	-	-
750 $\mu g.ml^{-1}$	$0,00 \pm 0,00$	$0,00 \pm 0,00$	-	-
1000 $\mu g.ml^{-1}$	$0,00 \pm 0,00$	$0,00 \pm 0,00$	-	-
1500 $\mu g.ml^{-1}$	$0,00 \pm 0,00$	$0,00 \pm 0,00$	-	-
MAG C12:0				
0 $\mu g.ml^{-1}$	$>6,00 \pm 0,00$	$0,75 \pm 0,19$	1	2
250 $\mu g.ml^{-1}$	$5,70 \pm 0,10$	$0,41 \pm 0,21$	2	4
750 $\mu g.ml^{-1}$	$4,85 \pm 0,85$	$0,35 \pm 0,20$	3	7
1000 $\mu g.ml^{-1}$	$0,00 \pm 0,00$	$0,00 \pm 0,00$	-	-
1500 $\mu g.ml^{-1}$	$0,00 \pm 0,00$	$0,00 \pm 0,00$	-	-
MAG ACA				
0 $\mu g.ml^{-1}$	$>6,00 \pm 0,00$	$0,75 \pm 0,19$	1	2
250 $\mu g.ml^{-1}$	$5,63 \pm 0,31$	$0,40 \pm 0,18$	2	3
750 $\mu g.ml^{-1}$	$1,90 \pm 0,35$	$0,14 \pm 0,08$	5	10
1000 $\mu g.ml^{-1}$	$0,00 \pm 0,00$	$0,00 \pm 0,00$	-	-
1500 $\mu g.ml^{-1}$	$0,00 \pm 0,00$	$0,00 \pm 0,00$	-	-
MAG C10:0/MAG C12:0				
0 $\mu g.ml^{-1}$	$>6,00 \pm 0,00$	$0,75 \pm 0,19$	1	2
200 $\mu g.ml^{-1}$	$0,85 \pm 0,47$	$0,06 \pm 0,08$	4	-
400 $\mu g.ml^{-1}$	$0,70 \pm 0,21$	$0,05 \pm 0,04$	4	-
500 $\mu g.ml^{-1}$	$0,00 \pm 0,00$	$0,00 \pm 0,00$	-	-
1000 $\mu g.ml^{-1}$	$0,00 \pm 0,00$	$0,00 \pm 0,00$	-	-
MAG C10:0/MAG ACA				
0 $\mu g.ml^{-1}$	$>6,00 \pm 0,00$	$0,75 \pm 0,19$	1	2
200 $\mu g.ml^{-1}$	$0,80 \pm 0,39$	$0,06 \pm 0,02$	1	-
400 $\mu g.ml^{-1}$	$0,00 \pm 0,00$	$0,00 \pm 0,00$	-	-
500 $\mu g.ml^{-1}$	$0,00 \pm 0,00$	$0,00 \pm 0,00$	-	-
1000 $\mu g.ml^{-1}$	$0,00 \pm 0,00$	$0,00 \pm 0,00$	-	-
MAG C12:0/MAG ACA				
0 $\mu g.ml^{-1}$	$>6,00 \pm 0,00$	$0,75 \pm 0,19$	1	2
200 $\mu g.ml^{-1}$	$2,85 \pm 0,26$	$0,20 \pm 0,16$	4	7
400 $\mu g.ml^{-1}$	$2,03 \pm 0,04$	$0,14 \pm 0,09$	4	9
500 $\mu g.ml^{-1}$	$1,18 \pm 0,69$	$0,08 \pm 0,06$	4	13
1000 $\mu g.ml^{-1}$	$0,00 \pm 0,00$	$0,00 \pm 0,00$	-	-

Legenda k tabulce 3:

*) Průměrné hodnoty (n = 4)

A – maximální průměr kolonie dosažený během experimentální doby 14 dnů [cm],

μ_{max} – maximální radiální rychlost růstu [cm/den],

λ – lag fáze (tj. doba po které začne radiální růst kolonie) [den],

MDT – doba růstu kolonie potřebná k dosažení průměru 1 cm [den].

6.1.3 Vliv monoacylglycerolů na růst *Penicillium roqueforti*

Tato mikromyceta není tak citlivá na přítomnost MAG jako tomu bylo v případě *A. alternata*. Růst byl téměř zastaven na miskách s nejvyšších koncentrací (1500 $\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$) MAG C10:0 a MAG ACA. Ostatní MAG a jejich kombinace byly méně účinné (Tab. 4).

Tab. 4. – Kinetické parametry růstu plísně *Penicillium roqueforti* na agaru s obsahem MAG.

	$A [\text{cm}]^*)$	$\mu_{\text{max}} [\text{cm}/\text{den}]^*)$	$\lambda [\text{den}]$	MDT [den]
MAG C10:0				
0 $\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$	$>6,00 \pm 0,00$	$0,66 \pm 0,24$	1	1
250 $\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$	$>6,00 \pm 0,00$	$0,28 \pm 0,13$	1	4
750 $\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$	$2,40 \pm 0,39$	$0,17 \pm 0,10$	4	9
1000 $\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$	$1,00 \pm 0,53$	$0,07 \pm 0,06$	5	14
1500 $\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$	$0,58 \pm 0,25$	$0,04 \pm 0,02$	7	-
MAG C12:0				
0 $\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$	$>6,00 \pm 0,00$	$0,66 \pm 0,24$	1	2
250 $\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$	$4,75 \pm 0,30$	$0,34 \pm 0,15$	2	4
750 $\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$	$4,10 \pm 0,16$	$0,29 \pm 0,11$	2	5
1000 $\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$	$3,60 \pm 0,12$	$0,26 \pm 0,10$	2	6
1500 $\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$	$2,15 \pm 0,20$	$0,15 \pm 0,09$	3	10
MAG ACA				
0 $\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$	$>6,00 \pm 0,00$	$0,66 \pm 0,24$	1	2
250 $\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$	$5,30 \pm 0,35$	$0,38 \pm 0,12$	1	3
750 $\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$	$1,68 \pm 0,24$	$0,12 \pm 0,08$	2	10
1000 $\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$	$0,50 \pm 0,07$	$0,04 \pm 0,06$	11	-
1500 $\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$	$0,20 \pm 0,10$	$0,01 \pm 0,03$	12	-
MAG C10:0/MAG C12:0				
0 $\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$	$>6,00 \pm 0,00$	$0,66 \pm 0,24$	1	1
200 $\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$	$>6,00 \pm 0,00$	$0,59 \pm 0,20$	1	3
400 $\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$	$>6,00 \pm 0,00$	$0,52 \pm 0,22$	2	4
500 $\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$	$>6,00 \pm 0,00$	$0,46 \pm 0,23$	2	4
1000 $\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$	$4,63 \pm 0,63$	$0,33 \pm 0,20$	3	7
MAG C10:0/MAG ACA				
0 $\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$	$>6,00 \pm 0,00$	$0,66 \pm 0,24$	1	2
200 $\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$	$>6,00 \pm 0,00$	$0,60 \pm 0,26$	1	3
400 $\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$	$6,00 \pm 0,16$	$0,43 \pm 0,23$	2	4
500 $\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$	$5,93 \pm 0,38$	$0,42 \pm 0,21$	2	5
1000 $\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$	$2,68 \pm 0,29$	$0,19 \pm 0,14$	3	10
MAG C12:0/MAG ACA				
0 $\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$	$>6,00 \pm 0,00$	$0,66 \pm 0,24$	1	2
200 $\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$	$>6,00 \pm 0,00$	$0,53 \pm 0,17$	1	3
400 $\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$	$>6,00 \pm 0,00$	$0,43 \pm 0,20$	2	4
500 $\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$	$>6,00 \pm 0,00$	$0,42 \pm 0,17$	2	4
1000 $\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$	$4,13 \pm 0,13$	$0,29 \pm 0,24$	3	8

*) Průměrné hodnoty (n = 4)

Legenda k tabulce 4:

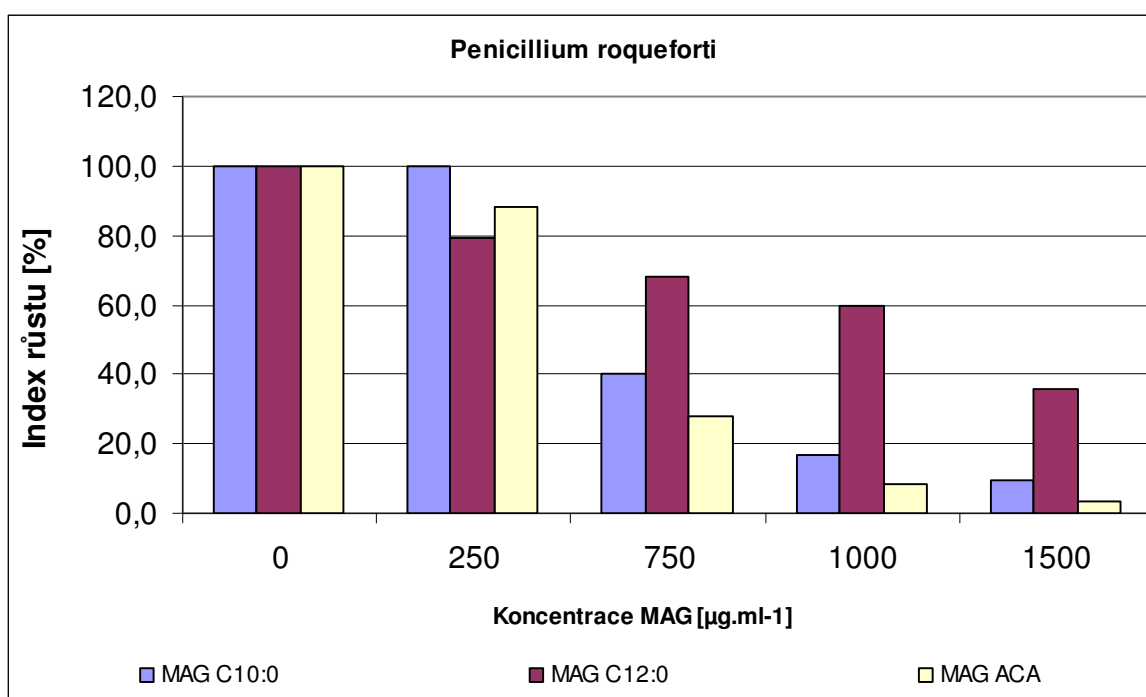
A – maximální průměr kolonie dosažený během experimentální doby 14 dnů [cm],

μ_{max} – maximální radiální rychlost růstu [cm/den],

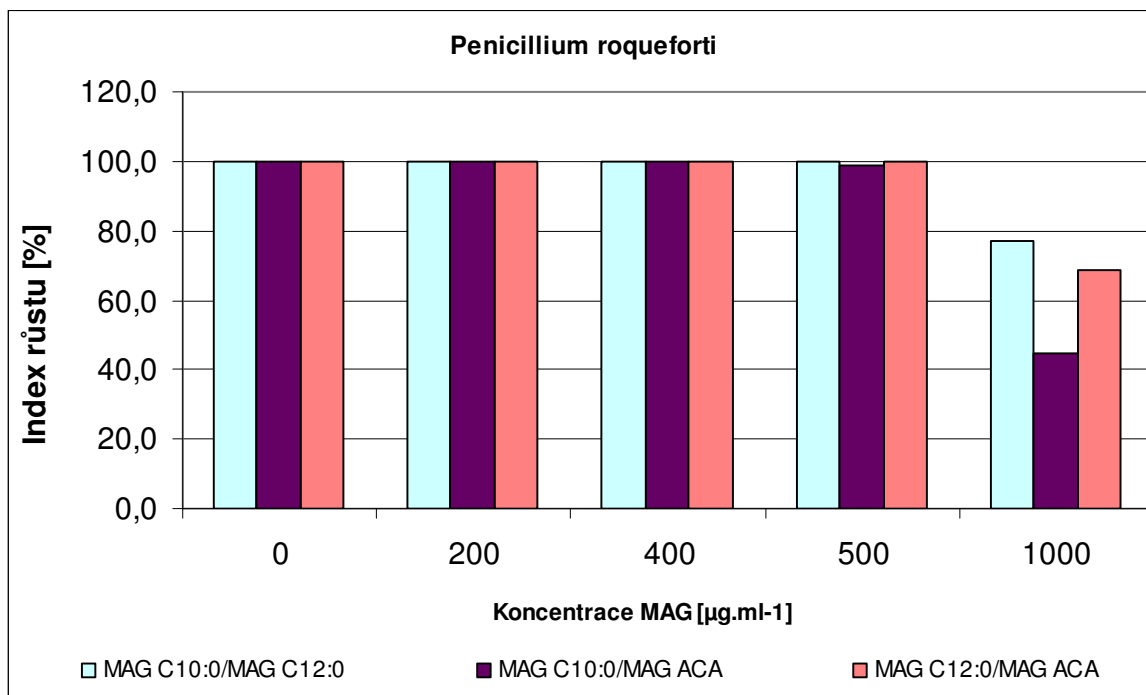
λ – lag fáze (tj. doba po které začne radiální růst kolonie) [den],

MDT – doba růstu kolonie potřebná k dosažení průměru 1 cm [den].

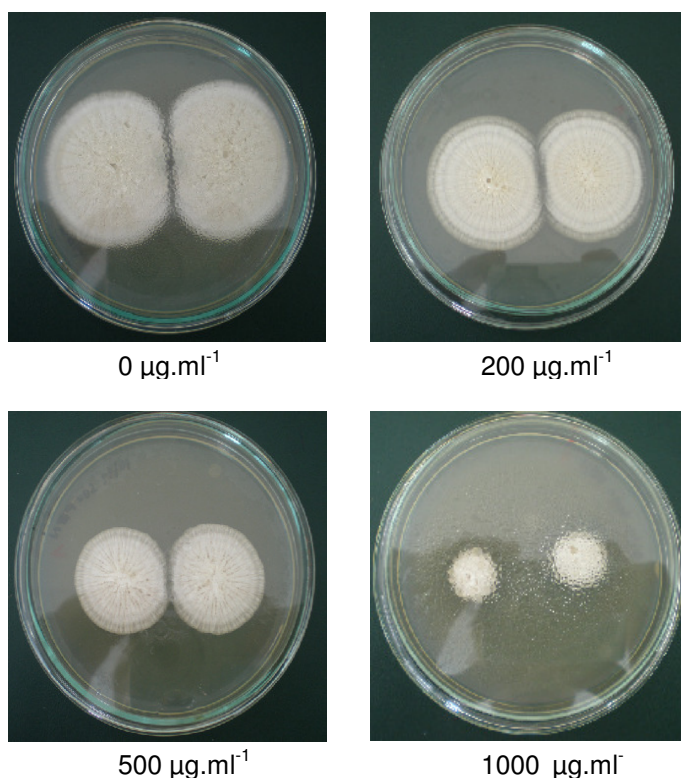
Z obrázků 7 a 8 je patrné, že nejúčinnější byly MAG C10:0 a MAG ACA. K úplné inhibici růstu *P. roqueforti* však nedošlo v žádné koncentraci MAG.



Obr. 7. – Vliv MAG na růst plísně *Penicillium roqueforti*.



Obr. 8. – Vliv MAG na růst plísně *Penicillium roqueforti*.

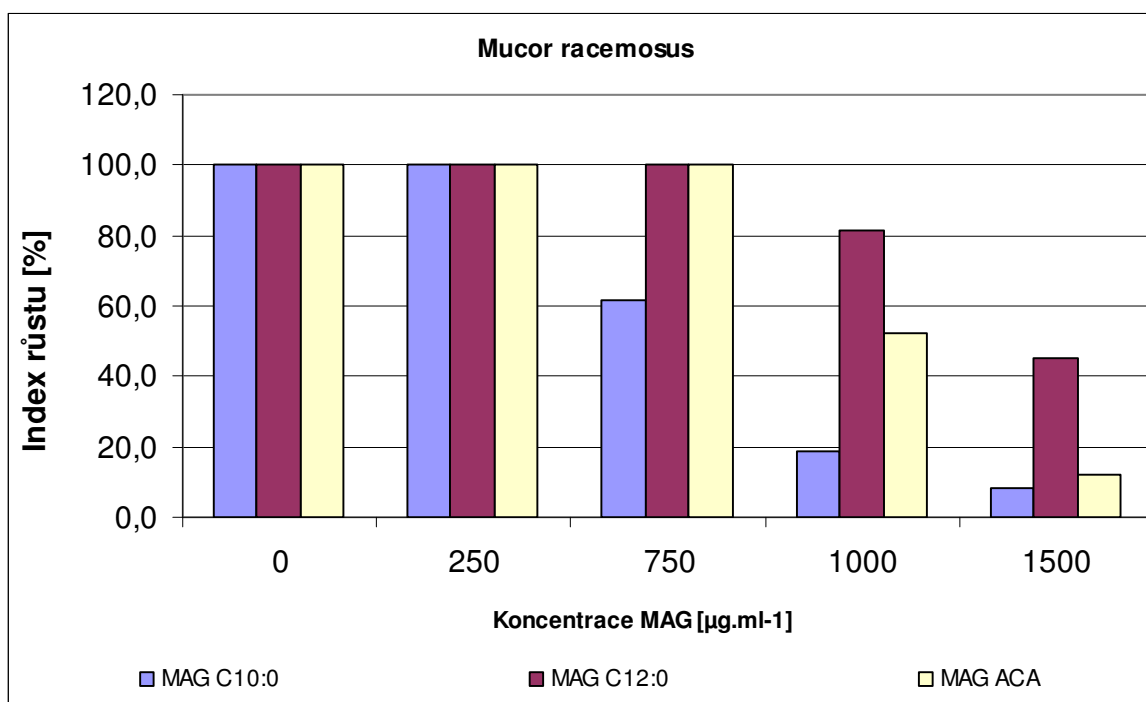


Obr. 9. – Růst plísně *P. roqueforti* na agaru s rozdílnou koncentrací kombinace MAG C10:0/MAG C12:0.

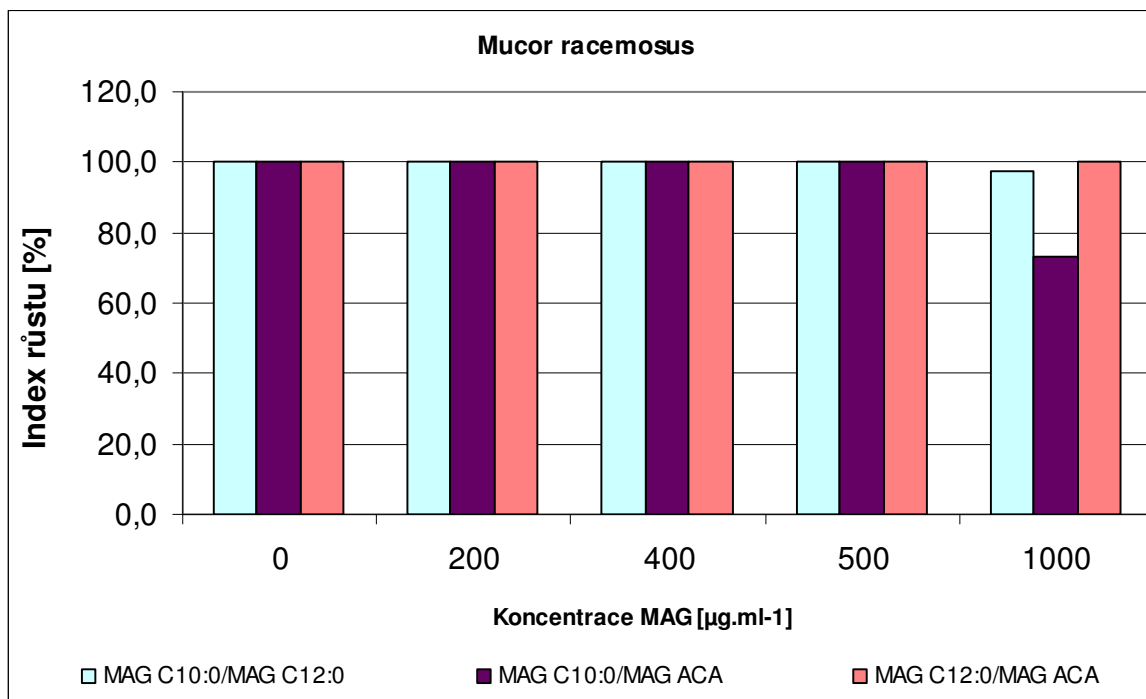
Inhibiční působení kombinace MAG C10:0/MAG C12:0 je vidět z obrázku 9, na kterém je zaznamenán rozdíl velikostí kolonií po 7 dnech kultivace.

6.1.4 Vliv monoacylglycerolů na růst plísně *Mucor racemosus*

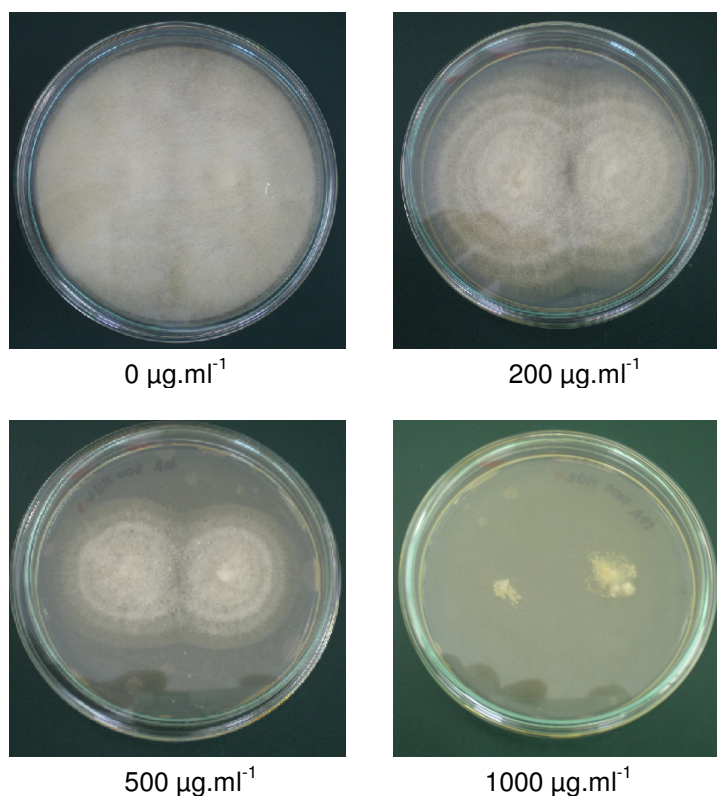
Tato rychle rostoucí plíseň vykazovala podobnou citlivost na MAG jako v předchozích případech. S rostoucí koncentrací MAG rychlost růstu významně klesala. Například u MAG C10:0 bylo u koncentrace $1500 \mu\text{g.ml}^{-1}$ pozorováno snížení radiální rychlosti růstu z $1,83 \text{ cm.den}^{-1}$ (pozitivní kontrola bez MAG) na $0,03 \text{ cm.den}^{-1}$ (Tab. 5). Zároveň v tomto případě došlo k prodloužení doby lag-fáze z 1 dne na 9 dnů. Podobný účinek měl i MAG ACA v koncentraci $1500 \mu\text{g.ml}^{-1}$, který snížil rychlost radiálního růstu na $0,05 \text{ cm.den}^{-1}$ a délka lag-fáze byla 10 dnů. Údaje o účincích všech MAG a jejich kombinací jsou patrné z obrázků 10 a 11. Inhibiční působení kombinace MAG C10:0/MAG ACA je vidět z obrázku 12, na kterém je zaznamenán rozdíl velikostí kolonií po 7 dnech kultivace.



Obr. 10. – Vliv MAG na růst plísně *Mucor racemosus*.



Obr. 11. – Vliv MAG na růst plísně *Mucor racemosus*.



Obr. 12. – Růst plísně *M. racemosus* na agaru s rozdílnou koncentrací MAG C10:0/MAG ACA.

Tab. 5. – Kinetické parametry růstu plísně *Mucor racemosus* na agaru s obsahem MAG.

	$A [cm]^{*)}$	$\mu_{max} [cm/den]^{*)}$	$\lambda [den]$	$MDT [den]$
MAG C10:0				
0 $\mu g.ml^{-1}$	$>6,00 \pm 0,00$	$1,83 \pm 0,30$	1	1
250 $\mu g.ml^{-1}$	$>6,00 \pm 0,00$	$1,11 \pm 0,32$	1	2
750 $\mu g.ml^{-1}$	$3,70 \pm 0,00$	$0,26 \pm 0,19$	2	8
1000 $\mu g.ml^{-1}$	$1,13 \pm 0,15$	$0,08 \pm 0,07$	6	14
1500 $\mu g.ml^{-1}$	$0,48 \pm 0,61$	$0,03 \pm 0,06$	9	-
MAG C12:0				
0 $\mu g.ml^{-1}$	$>6,00 \pm 0,00$	$1,83 \pm 0,30$	1	1
250 $\mu g.ml^{-1}$	$>6,00 \pm 0,00$	$1,05 \pm 0,29$	1	2
750 $\mu g.ml^{-1}$	$>6,00 \pm 0,00$	$0,74 \pm 0,27$	1	3
1000 $\mu g.ml^{-1}$	$4,88 \pm 0,33$	$0,35 \pm 0,13$	1	4
1500 $\mu g.ml^{-1}$	$2,70 \pm 0,43$	$0,19 \pm 0,16$	6	9
MAG ACA				
0 $\mu g.ml^{-1}$	$>6,00 \pm 0,00$	$1,83 \pm 0,30$	1	1
250 $\mu g.ml^{-1}$	$>6,00 \pm 0,00$	$0,99 \pm 0,30$	1	2
750 $\mu g.ml^{-1}$	$5,60 \pm 0,19$	$0,40 \pm 0,22$	2	5
1000 $\mu g.ml^{-1}$	$3,13 \pm 0,73$	$0,22 \pm 0,16$	3	9
1500 $\mu g.ml^{-1}$	$0,73 \pm 0,38$	$0,05 \pm 0,09$	10	-
MAG C10:0/MAG C12:0				
0 $\mu g.ml^{-1}$	$>6,00 \pm 0,00$	$1,83 \pm 0,30$	1	1
200 $\mu g.ml^{-1}$	$>6,00 \pm 0,00$	$1,07 \pm 0,33$	1	2
400 $\mu g.ml^{-1}$	$>6,00 \pm 0,00$	$0,95 \pm 0,37$	1	2
500 $\mu g.ml^{-1}$	$>6,00 \pm 0,00$	$0,81 \pm 0,35$	1	3
1000 $\mu g.ml^{-1}$	$5,85 \pm 0,32$	$0,42 \pm 0,27$	3	7
MAG C10:0/MAG ACA				
0 $\mu g.ml^{-1}$	$>6,00 \pm 0,00$	$1,83 \pm 0,30$	1	1
200 $\mu g.ml^{-1}$	$>6,00 \pm 0,00$	$1,02 \pm 0,25$	1	2
400 $\mu g.ml^{-1}$	$>6,00 \pm 0,00$	$0,69 \pm 0,28$	1	3
500 $\mu g.ml^{-1}$	$>6,00 \pm 0,00$	$0,63 \pm 0,28$	1	3
1000 $\mu g.ml^{-1}$	$4,38 \pm 0,41$	$0,31 \pm 0,30$	4	9
MAG C12:0/MAG ACA				
0 $\mu g.ml^{-1}$	$>6,00 \pm 0,00$	$1,83 \pm 0,30$	1	1
200 $\mu g.ml^{-1}$	$>6,00 \pm 0,00$	$1,17 \pm 0,35$	1	2
400 $\mu g.ml^{-1}$	$>6,00 \pm 0,00$	$0,89 \pm 0,35$	1	2
500 $\mu g.ml^{-1}$	$>6,00 \pm 0,00$	$0,71 \pm 0,27$	1	3
1000 $\mu g.ml^{-1}$	$>6,00 \pm 0,00$	$0,39 \pm 0,25$	3	6

Legenda k tabulce 54:

*) Průměrné hodnoty (n = 4)

A – maximální průměr kolonie dosažený během experimentální doby 14 dnů [cm],

μ_{max} – maximální radiální rychlost růstu [cm/den],

λ – lag fáze (tj. doba po které začne radiální růst kolonie) [den],

MDT – doba růstu kolonie potřebná k dosažení průměru 1 cm [den].

6.2 Izolace kultur kvasinek a plísní z jablečného moštu

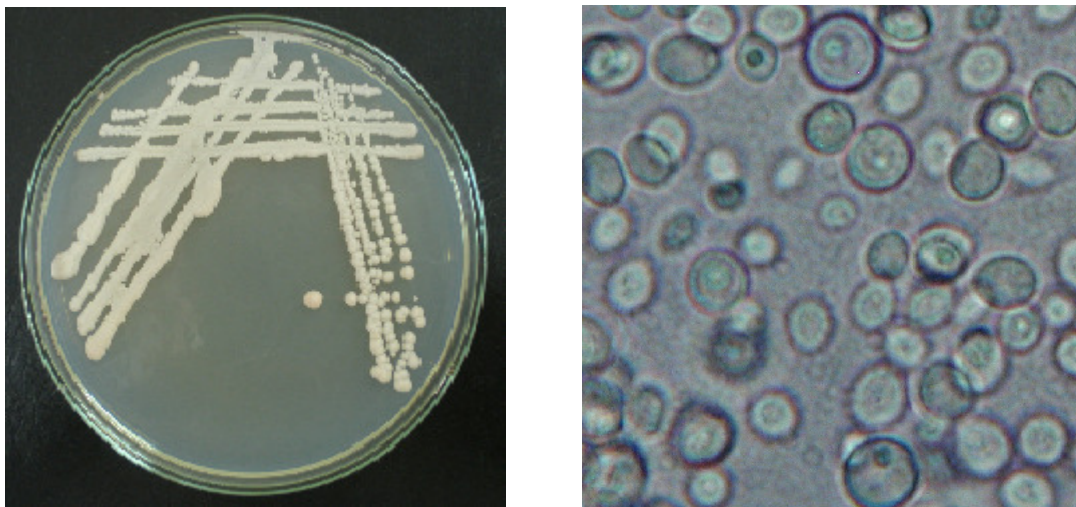
6.2.1 Izolace a charakterizace kvasinek

Pomocí křížového roztěru byly z moštu izolovány čtyři čisté kultury kvasinek. Z těchto kultur byly provedeny mikroskopické preparáty a byl proveden test na schopnost fermentace sacharidů.

Izolát č. 1: Hladké lesklé kolonie krémové barvy (Obr.13). Tvorba narůžovělého pigmentu při kultivaci na denním světle, růžové precipitační zóny. Poměrně velké buňky, v mikroskopickém preparátu nebyly nalezeny žádné pučící kvasinky. V tekutém médiu tvořila kultura nejprve sediment, poté byla vytvořena blanka na povrchu.

Zkvašování sacharidů: Glu +, Gal +, Mal +, Sac +, Lac -.

Dle morfologických znaků a schopnosti zkvašovat sacharidy je možné, že se jedná o zástupce rodu *Saccharomyces spp.*



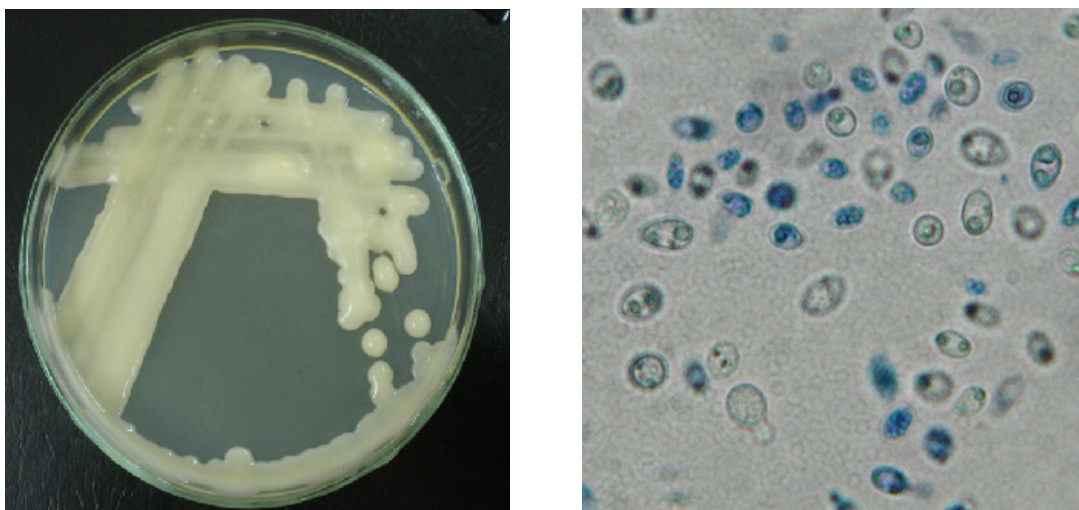
Obr. 13. – Růst kvasinky č. 1 na Fungal agaru (vlevo), mikroskopický preparát barvený metylénovou modří, zvětšení 20x100 (vpravo).

Izolát č. 2: Hvězdčovitité kolonie, které nejsou ostře ohraničeny, krémová barva (Obr. 14). Tvorba pigmentu ani precipitačních zón nebyla zjištěna. V tekutém médiu tvořila kultura pouze sediment. Na mikroskopickém preparátu bylo nalezeno poměrně velké množství pučících buněk.

Zkvašování sacharidů: Glu +, Gal +, Mal -, Sac +, Lac -.

Izolát č. 4: Kulaté, lesklé, slizovité, nažloutlé kolonie (Obr. 16). Charakteristické velmi rychlým růstem oproti předchozím třem izolátům. Bez vyloučeného pigmentu do okolí. V tekutém médiu kultura tvořila pouze sediment. V mikroskopickém preparátu byly pozorovány i pučící buňky.

Zkvašování sacharidů: Glu +, Gal -, Mal -, Sac +, Lac -.



Obr. 16. – Růst kvasinky č. 4 na Fungal agaru (vlevo), mikroskopický preparát barvený metylénovou modří, zvětšení 20x100 (vpravo).

6.2.2 Izolace plísní

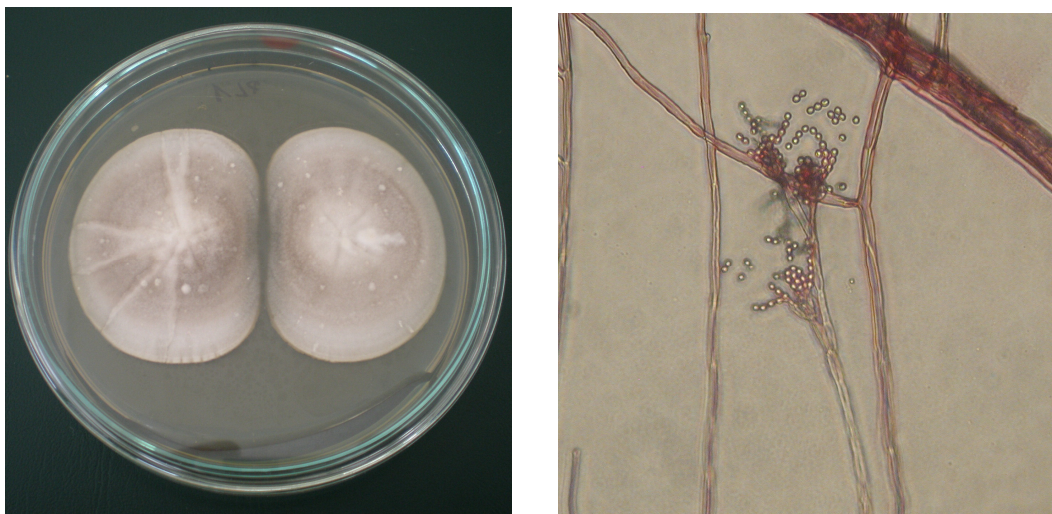
Z jablečného moštu bylo izolováno celkem 9 čistých plísňových kultur. Tyto kultury byly kultivovány na Fungal Agar. Z nich byly připraveny také mikroskopické preparáty, které byly kultivovány taktéž na Fungal Agar.

Poznámka:

Na základě pozorování růstu plísní a jejich mikroskopických preparátů byly některé kultury podrobněji taxonomicky zařazeny. Toto zařazení je kvůli velké náročnosti pouze informativní a nelze jej chápat (z hlediska omezených zkušeností autora) jako absolutně správné.

Izolát č. 1: Sametové kolonie světle šedé barvy, s paprčitými rýhami. Nevylučuje do média žádný pigment. Spodní strana kolonií světle hnědá. Konidiofory s hladkou stopkou, konidie vyrůstají z fialid v řetězcích, jsou kulovité, hladké (Obr. 17).

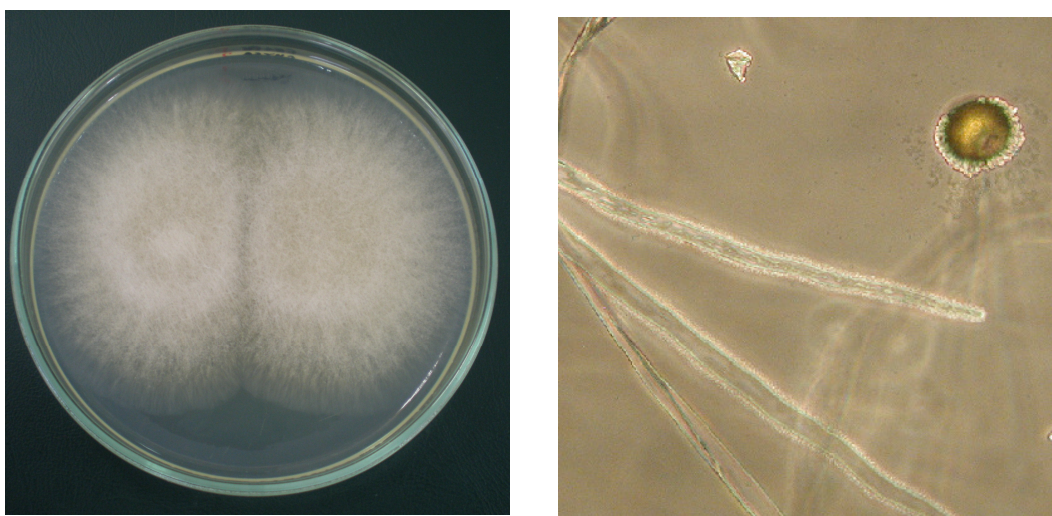
Na základě makromorfologických a mikromorfologických znaků lze tvrdit, že tato plíseň patří do rodu *Penicillium*.



Obr. 17. – Růst plísně č. 1 na Fungal Agar (vlevo); konidie a konidiofor – zvětšení 20x 40 (vpravo).

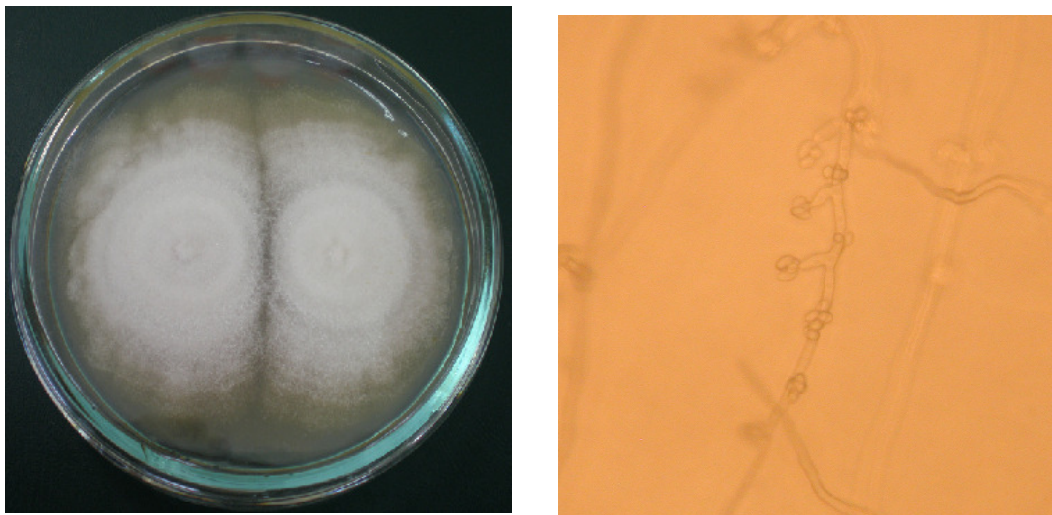
Izolát č. 2: Rychle rostoucí plíseň. Nevylučuje do média žádný pigment. Spodní strana kolonií nebyla zbarvena. Pod mikroskopem patrné stolony s rhizoidy. Sporangia kulovitá, hladká. Sporangiospory vejčité, některé nepravidelné.

Na základě makromorfologických (Obr. 18) a mikromorfologických znaků patří tato plíseň pravděpodobně do rodu *Rhizopus*, nejspíše se jedná o druh *Rhizopus stolonifer*.



Obr. 18. – Růst plísně č. 2 na Fungal Agar (vlevo); sporangium se sporangiosporami – zvětšení 20x 40 (vpravo).

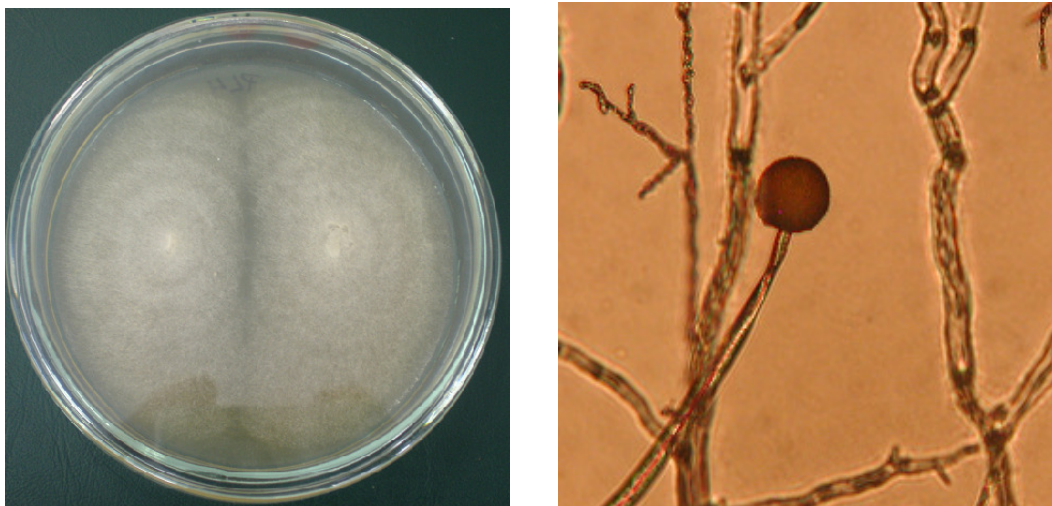
Izolát č. 3: Pomalu rostoucí plíseň se sametovými koloniemi bílé barvy, které byly po delší době zbarveny do slabě růžového odstínu. Pigment nebyl do okolí vylučován. Spodní strana kolonií narůžovělá. Vzhled kolonií a fruktifikačních orgánů je patrný z obrázku 19.



Obr. 19. – Růst plísně č. 3 na Fungal Agar (vlevo); vpravo fruktifikační orgány (zvětšení 20x 40).

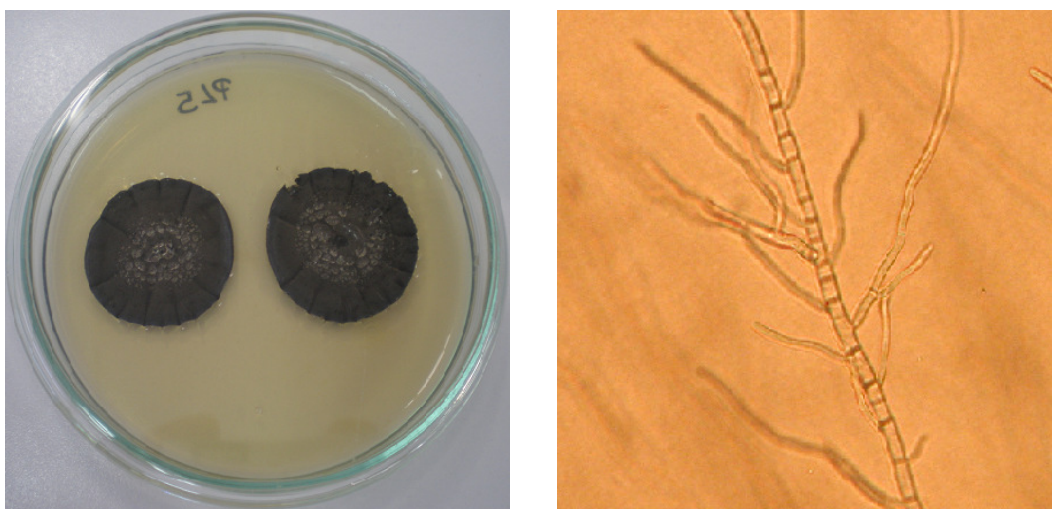
Izolát č. 4: Rychle rostoucí plíseň. Kolonie světle žlutohnědé barvy. Nízké mycelium. Nevylučuje pigment do média. Spodní strana kolonií není zbarvena. Sporangia kulovitá, hladká. Sporangiospory kulovité.

Na základě makromorfologických (Obr. 20) a mikromorfologických znaků patří tato plíseň pravděpodobně do rodu *Mucor*.



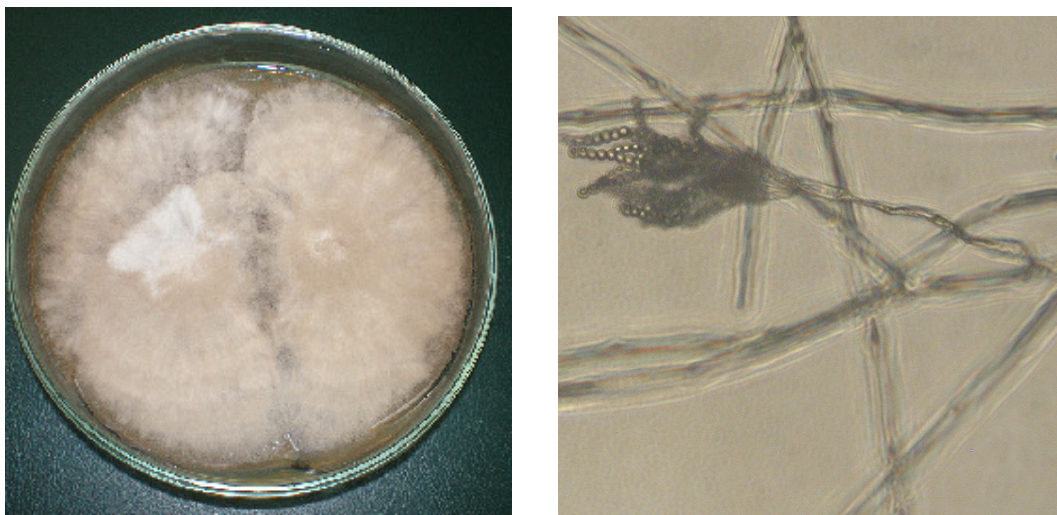
Obr. 20. – Růst plísně č. 4 na Fungal Agar (vlevo); sporangium se sporangiosporami – zvětšení 20x 40 (vpravo).

Izolát č. 5: Pomalu rostoucí plíseň, kolonie tmavě hnědé až černé, s paprsčitými rýhami. Vylučuje čirý exudát. Nevylučuje pigment do média. Spodní strana kolonií černě zbarvena. Mycelium hustě segmentováno (Obr. 21).



Obr. 21. – Růst plísně č. 5 na Fungal Agar (vlevo); mycelium (vpravo).

Izolát č. 6: Kolonie hnědě zbarvené, hladké, nízké. Spodní strana kolonií tmavě hnědá. Nevylučuje pigment do média. Konidiofory s hladkou stopkou. Konidie vyrůstají z fialid v dlouhých řetězcích, jsou kulovité, hladké (Obr. 22).



Obr. 22. – Růst plísně č. 6 na Fungal Agar (vlevo); konidie a konidiofor – zvětšení 20x 40 (vpravo).

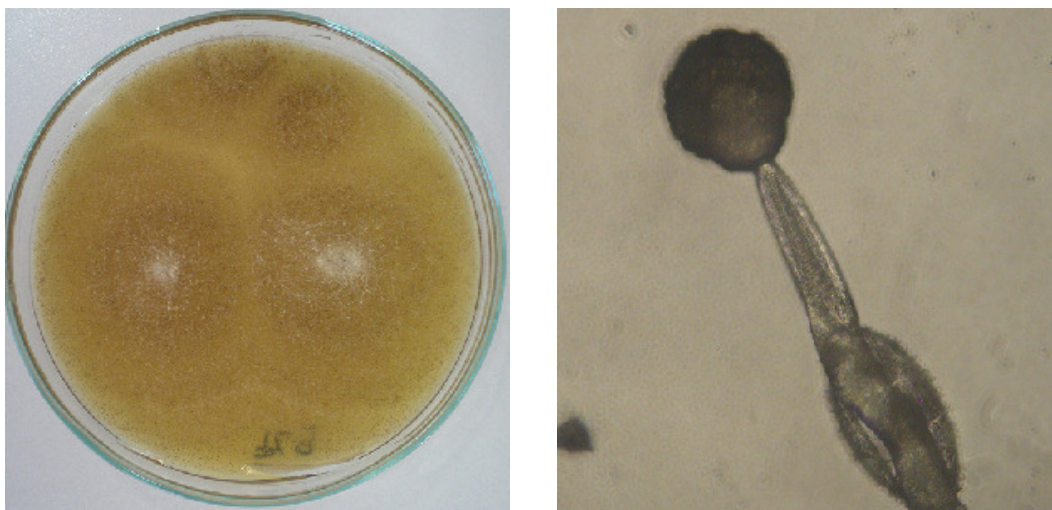
Izolát č. 7: Kolonie tmavě hnědé až tmavě zelené barvy, nepravidelné, povrch bradavičnatý. Nevylučuje pigment do média. Spodní strana kolonií světle hnědá. Konidiofory s hladkou stopkou. Velké množství konidií vyrůstá z fialid v dlouhých řetězcích, jsou kulovité až elipsoidní, hladké (Obr. 23).



Obr. 23. – Růst plísně č. 7 na Fungal Agar (vlevo); konidie a konidiofor – zvětšení 20x 40 (vpravo).

Izolát č. 8: Kolonie rychle rostoucí, tmavě hnědě zbarvené, spodní strana kolonií nezbarvena. Nevylučuje pigment do kultivačního média. Sporangiofory pod sporangiem často ohnuté, zprohýbané. Sporangia velká, kulovitá, ostnitá (Obr. 24). Sporangiospory elipsoidní.

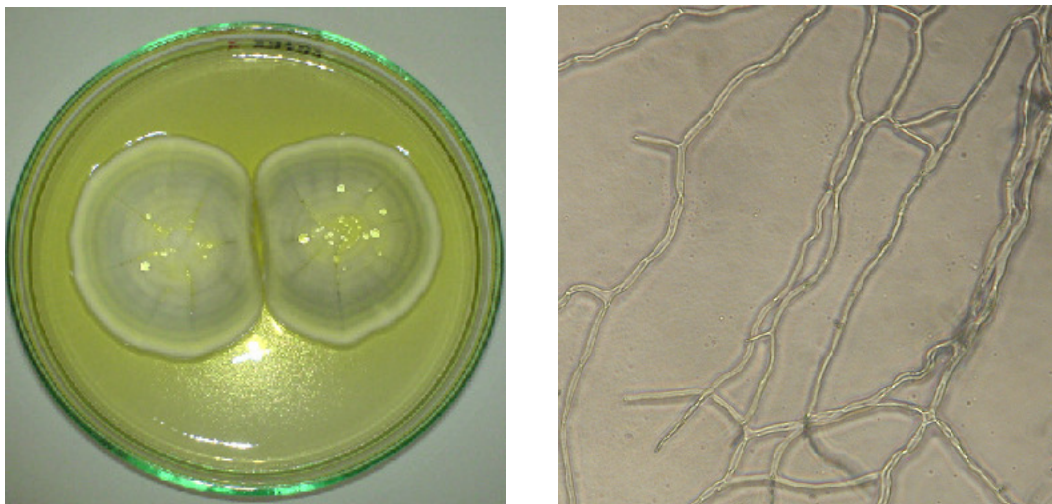
Na základě makromorfologických a mikromorfologických znaků patří tato plíseň pravděpodobně do rodu *Mucor*.



Obr. 24.– Růst plísně č. 8 na Fungal Agar (vlevo); sporangiofor se sporangiem – zvětšení 20x 40 (vpravo).

Izolát č. 9: Pomalu rostoucí kolonie, sametové s paprscitými rýhami. Bílé barvy, později začínají velmi výrazně žloutnout. Nakonec žlutá barva kolonie přechází do tmavě zeleného zbarvení. Žlutý pigment je vylučován také do kultivačního média, které je jím později zcela obarveno. Na povrchu kolonií vylučován žlutý exudát (Obr. 25).

Na základě výše uvedených znaků lze tuto plíseň zařadit do rodu *Penicillium*. S největší pravděpodobností se jedná o druh *Penicillium chrysogenum*, pro který je vylučování žlutého pigmentu a žlutého exudátu charakteristickým znakem, kterým se liší od ostatních penicilií.

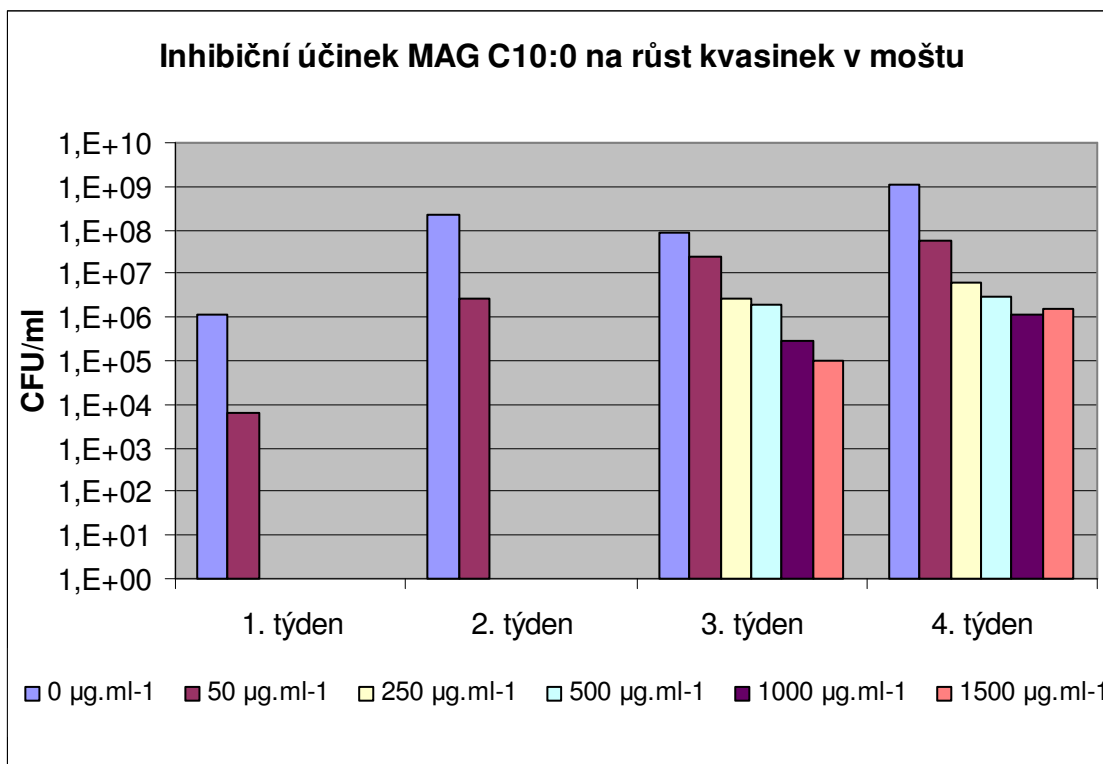


Obr. 25. – Růst plísně č. 9 na Fungal Agar (vlevo); mycelium (vpravo).

6.3 Inhibiční účinky monoacylglycerolů na růst kvasinek v jablečném moštu

6.3.1 Vliv 1-monokaprinu na růst kvasinek v jablečném moštu

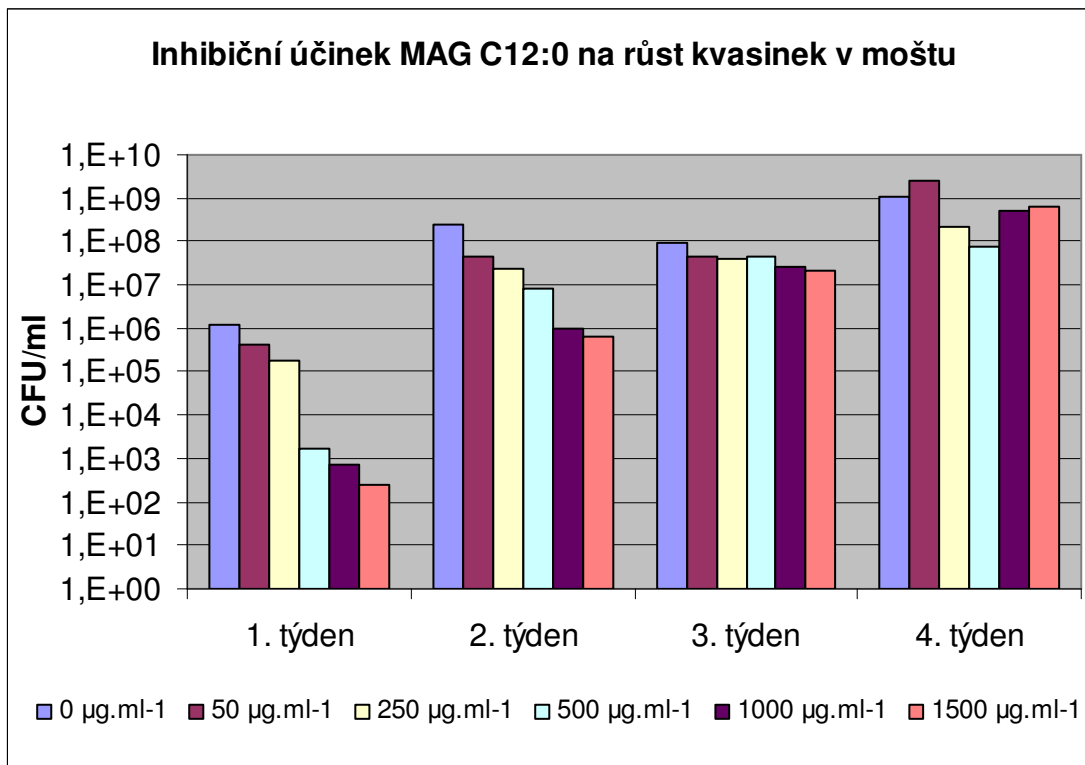
Pro studium inhibičního účinku 1-monokaprinu na růst kvasinek v nepasterovaném jablečném moštu byly vybrány koncentrace MAG v rozmezí 50 až 1500 $\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$. Z obrázku 26 je patrné, že v prvních dvou týdnech kvasinky v moštu nerostly při koncentracích MAG 250 - 1500 $\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$. Růst kvasinek při koncentracích monokaprinu vyšších než 250 $\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$ byl pozorován až po 3. týdnu skladování, kdy inhibiční účinek již nebyl tak velký. K trvalému zabránění růstu kvasinek nedošlo v žádné z použitých koncentrací. Téměř nulový inhibiční účinek byl pozorován v moštu s koncentrací 50 $\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$, kde kvasinky rostly už po prvním týdnu (podobně jako v kontrolním vzorku bez MAG).



Obr. 26. – Inhibiční účinek 1-monokaprinu na růst kvasinek v jablečném moštu.

6.3.2 Vliv 1-monolaurinu na růst kvasinek v jablečném moštu

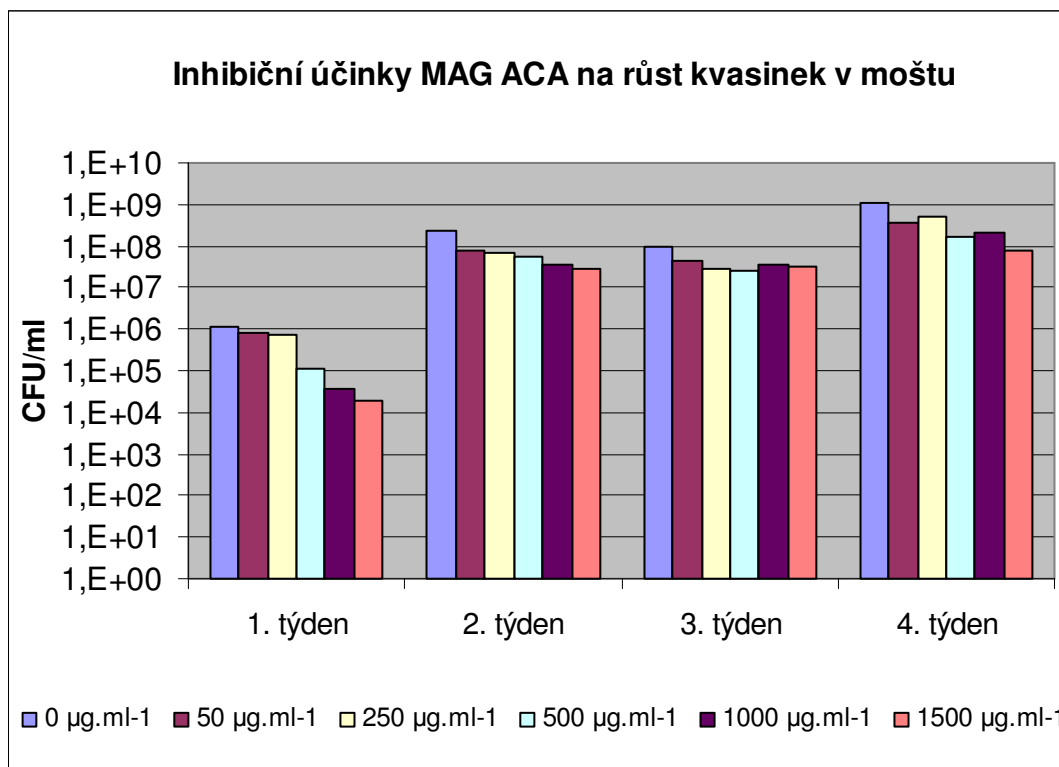
Pro studium inhibičního účinku 1-monolaurinu na růst kvasinek v nepasterizovaném moštu bylo vybráno stejné rozmezí koncentrací MAG jako v předchozím případě. Z obrázku 27 je patrné, že u tohoto monoacylglycerolu nedošlo k úplné inhibici růstu kvasinek ani ve vzorcích s nejvyšší koncentrací MAG. Růst kvasinek byl ale oproti kontrolnímu vzorku zpočátku značně zpomalen, po dvou týdnech skladování bylo množství kvasinek srovnatelné u všech vzorků i u kontrolního vzorku bez MAG.



Obr. 27. – Inhibiční účinek 1-monolaurinu na růst kvasinek v jablečném moštu.

6.3.3 Vliv monoacylglycerolu kyseliny adamantankarboxylové na růst kvasinek v jablečném moštu

Ke studiu inhibičních účinků bylo použito stejných koncentrací jako u předchozích dvou monoacylglycerolů. Inhibiční účinky na kvasinky se u tohoto MAG jeví jako nejslabší ze všech tří testovaných (Obr. 28). Výrazné zpomalení růstu kvasinek je patrné pouze po prvním týdnu skladování moštu, od druhého týdne skladování byla hodnota CFU/ml ve všech koncentracích MAG srovnatelná s kontrolním vzorkem bez MAG.



Obr. 28. – Inhibiční účinek MAG ACA na růst kvasinek v jablečném moštu.

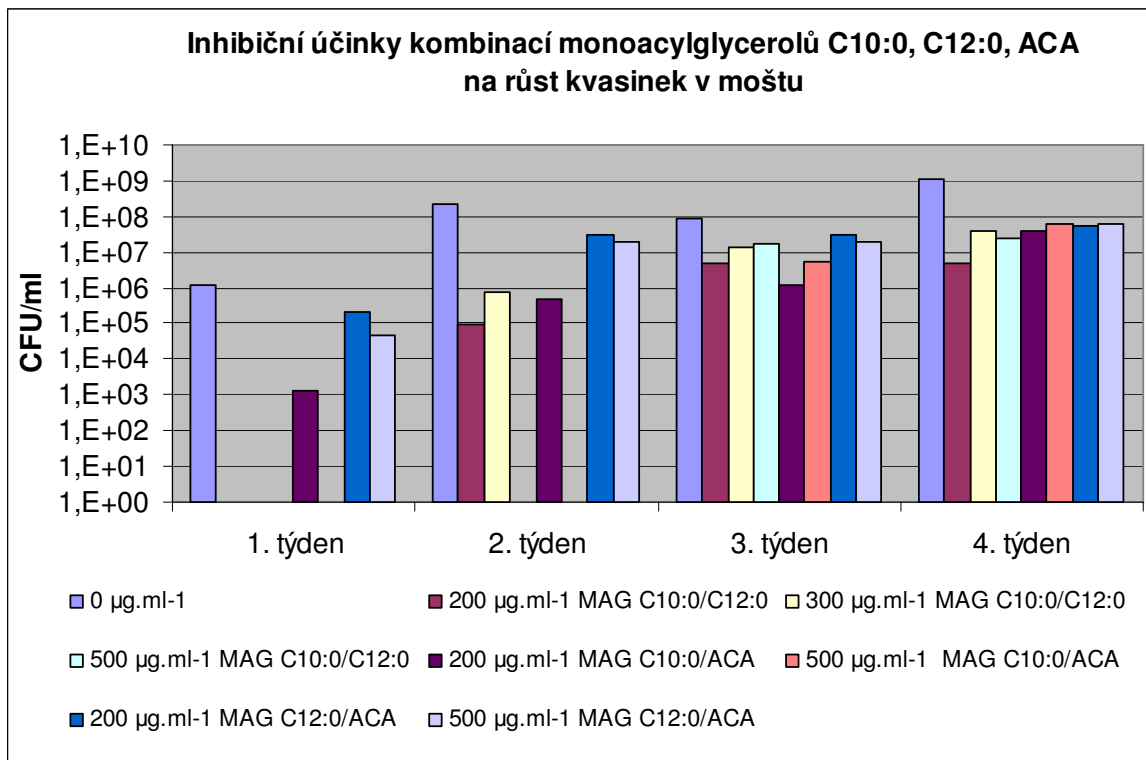
6.3.4 Vliv kombinací MAG na růst kvasinek v jablečném moštu

Ve všech případech byly použity kombinace dvou MAG v poměru 1:1. Byly studovány jejich účinky na růst kvasinek v jablečném moštu při těchto koncentracích: MAG C10:0/C12:0 200 µg.ml⁻¹, 300 µg.ml⁻¹ a 500 µg.ml⁻¹; MAG C10:0/ACA 200 µg.ml⁻¹ a 500 µg.ml⁻¹; MAG C12:0/ACA 200 µg.ml⁻¹ a 500 µg.ml⁻¹.

Jako nejúčinnější se jeví kombinace MAG C10:0/C12:0, které působily úplnou inhibicí růstu kvasinek po dobu 7 - 14 dnů skladování. V koncentraci 200 µg.ml⁻¹ a 300 µg.ml⁻¹ kvasinky nerostly po dobu 1 týdne a v koncentraci 500 µg.ml⁻¹ byl růst kvasinek po dobu dvou týdnů. Po této době inhibice růstu nebyla již tak významná.

O něco méně byla účinná kombinace MAG C10:0/ACA, kde nebyl při koncentraci 200 µg.ml⁻¹ pozorován žádný významnější inhibiční účinek. Při koncentraci 500 µg.ml⁻¹ byla zjištěna úplná inhibice růstu po dobu dvou týdnů, po této době hodnota CFU/ml prudce stoupla.

Nejméně účinná byla kombinace MAG C12:0/ACA, kde nebyl zjištěn významný inhibiční účinek na růst kvasinek v moštu. U této kombinace byla hodnota CFU/ml téměř srovnatelná s hodnotou u kontrolního vzorku bez MAG (Obr. 29).

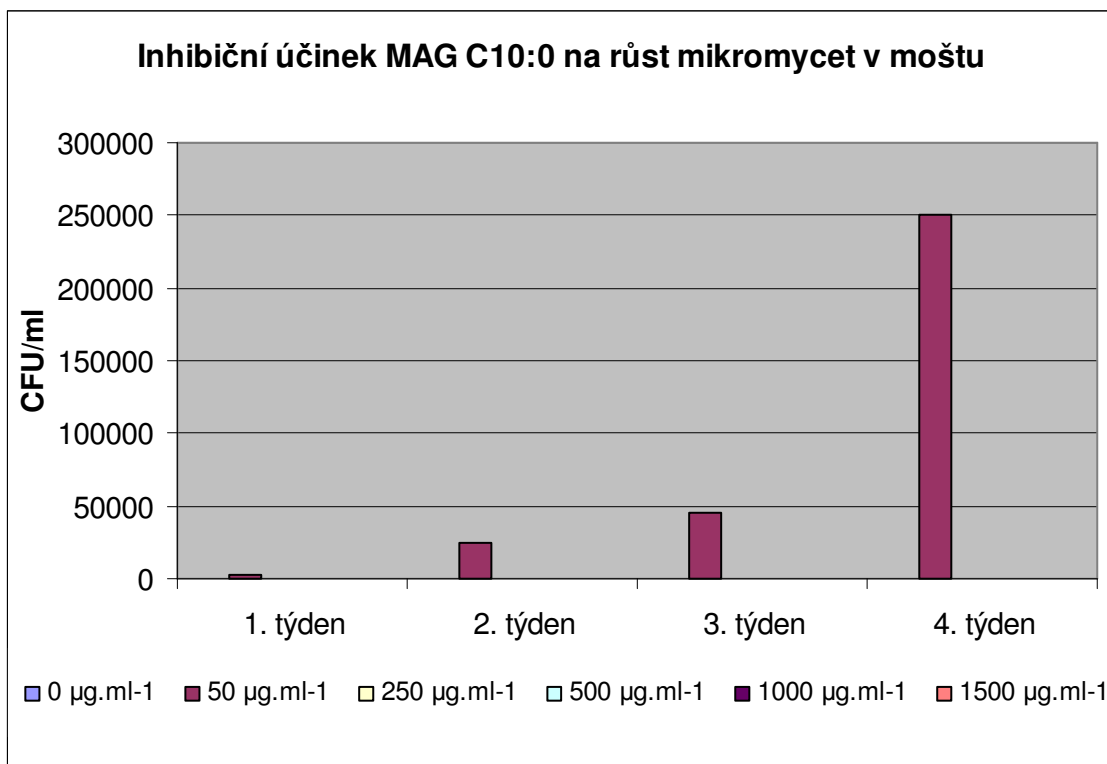


Obr. 29. – Inhibiční účinky kombinací monoacylglycerolů C10:0, C12:0, ACA na růst kvasinek v moštu.

6.4 Inhibiční účinky monoacylglycerolů na růst mikromycet v jablečném moštu

6.4.1 Vliv 1-monokaprinu na růst mikromycet v jablečném moštu

Ke studiu inhibičních účinků 1-monokaprinu na růst mikromycet bylo použito stejných koncentrací jako v předchozích případech (50 – 1500 µg.ml⁻¹). Byla zjištěna úplná inhibice růstu mikromycet po celou dobu skladování (4 týdny) při všech koncentracích MAG, kromě koncentrace nejnižší (50 µg.ml⁻¹), která růst mikromycet neinhibovala (Obr. 30).

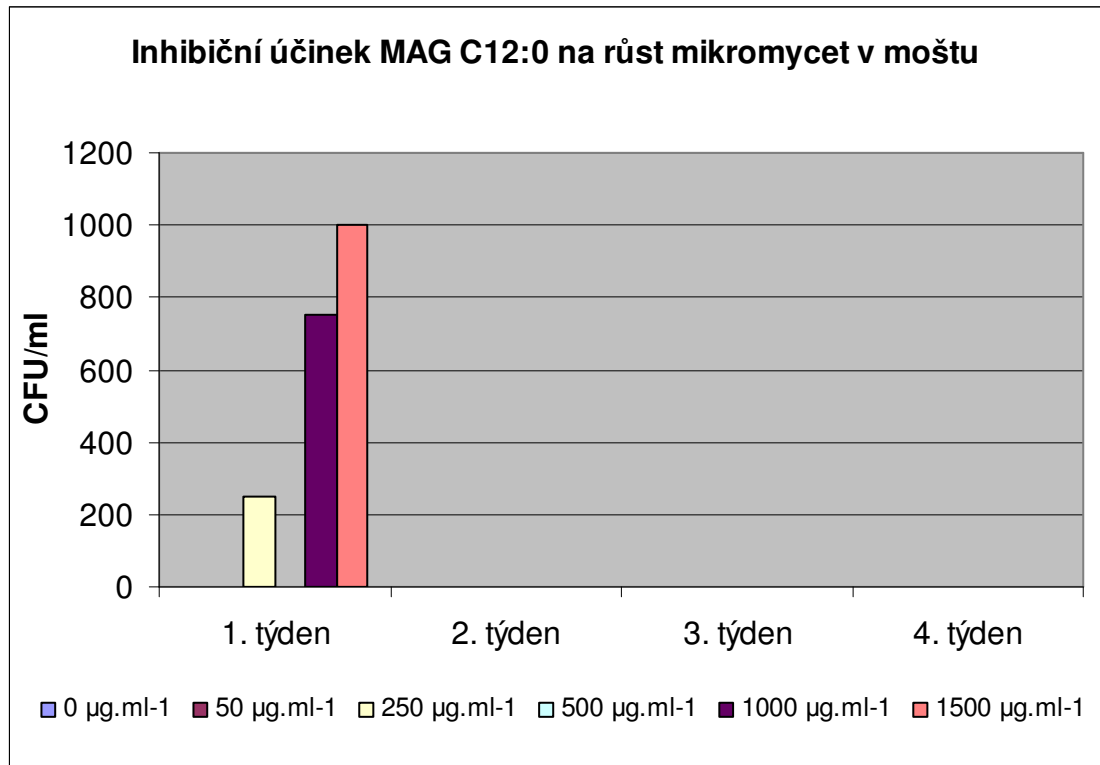


Obr. 30. – Inhibiční účinek 1-monokaprinu na růst mikromycet v jablečném moštu.

6.4.2 Vliv 1-monolaurinu na růst mikromycet v jablečném moštu

Pro zjištění inhibičních účinků 1-monolaurinu bylo použito stejných koncentrací MAG jako u kvasinek.

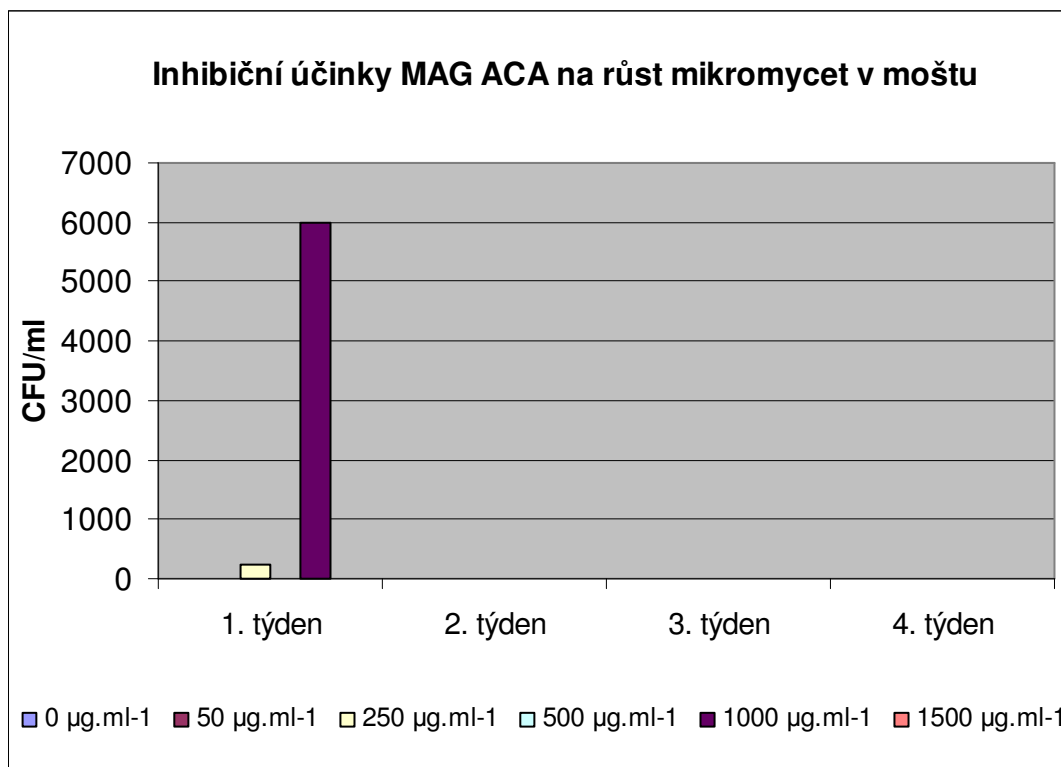
Bylo zjištěno, že v prvním týdnu rostly mikromycety ve třech koncentracích MAG ($250 \mu\text{g.ml}^{-1}$, $1000 \mu\text{g.ml}^{-1}$, $1500 \mu\text{g.ml}^{-1}$). V dalších třech týdnech došlo k zastavení růstu, a žádné životaschopné mikromycety již nebyly zjištěny (Obr. 31).



Obr. 31. – Inhibiční účinek 1-monolaurinu na růst mikromycet v jablečném moštu.

6.4.3 Vliv monoacylglycerolu kyseliny adamantankarboxylové na růst mikromycet v jablečném moštu

Účinky tohoto monoacylglycerolu jsou obdobné jako v předchozím případě. U dvou koncentrací 250 µg.ml⁻¹ a 1000 µg.ml⁻¹ byl po prvním týdnu skladování zaznamenán růst mikromycet. V dalších třech týdnech již nebyly žádné mikromycety zjištěny. Došlo tedy k úplné inhibici jejich růstu (Obr. 32).

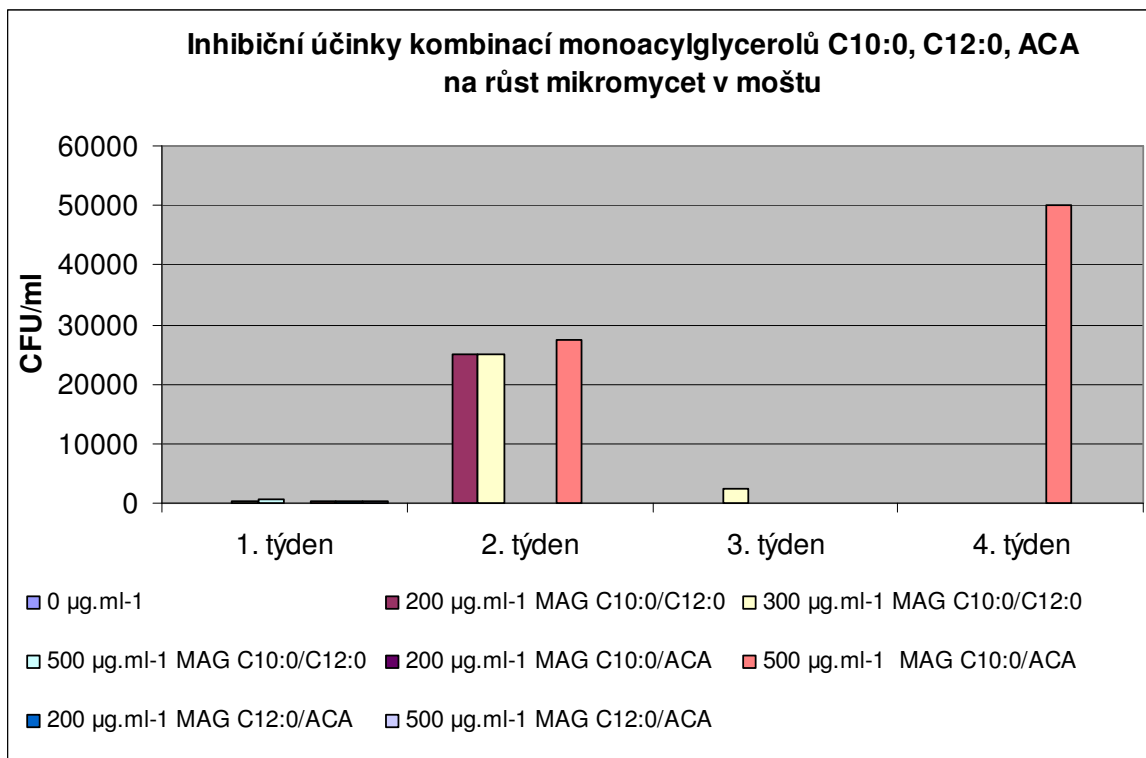


Obr. 32. – Inhibiční účinek MAG ACA na růst mikromycet v jablečném moštu.

6.4.4 Vliv kombinací MAG na růst mikromycet v jablečném moštu

Pro zjištění inhibičních účinků kombinací MAG bylo použito stejných koncentrací MAG jako při zjišťování inhibice kombinací u kvasinek (MAG C10:0/C12:0 200 µg.ml⁻¹, 300 µg.ml⁻¹ a 500 µg.ml⁻¹; MAG C10:0/ACA 200 µg.ml⁻¹ a 500 µg.ml⁻¹; MAG C12:0/ACA 200 µg.ml⁻¹ a 500 µg.ml⁻¹).

Významné inhibiční účinky byly zjištěny u těchto kombinací: MAG C10:0/C12:0 v koncentraci 500 µg.ml⁻¹, MAG C10:0/ACA v koncentraci 200 µg.ml⁻¹, a u kombinace MAG C12:0/ACA v obou koncentracích - 200 µg.ml⁻¹ i 500 µg.ml⁻¹, u kterých byl během 2., 3. a 4. týdnu zcela inhibován růst mikromycet (Obr. 33).



Obr. 33. – Inhibiční účinky kombinací monoacylglycerolů C10:0, C12:0, ACA na růst mikromycet v moštu.

DISKUZE

Cílem práce bylo zhodnotit účinky vybraných monoacylglycerolů a jejich kombinací na růst kvasinek a mikromycet v prostředí *in vitro* a v jablečném moštu.

Nejprve byly sledovány účinky monoacylglycerolů k. kaprinové, k. laurové a kyseliny 1-adamantankarboxylové v prostředí *in vitro* na růst vláknitých hub *Aspergillus niger*, *Alternaria alternata*, *Penicillium roqueforti* a *Mucor racemosus*. Bylo zjištěno, že k přítomnosti monoacylglycerolu je nejvíce citlivá *A. alternata*, u které došlo ke kompletní inhibici růstu i při nejnižších testovaných koncentracích monoacylglycerolů. Ostatní plísňe vykazovaly vůči působení MAG nižší citlivost, zpomalení růstu vlivem přítomnosti MAG v kultivačním médiu bylo však zaznamenáno i u těchto druhů mikroskopických hub. Souhrnně lze říci, že inhibiční aktivita monoacylglycerolů v podmínkách *in vitro* roste se zvyšující se koncentrací těchto látek.

Jako nejúčinnější se v podmínkách *in vitro* jevil MAG kyseliny kaprinové, velmi účinný byl také MAG kyseliny 1-adamantankarboxylové. Ze studovaných monoacylglycerolů měl nejslabší antimikrobní aktivitu MAG kyseliny laurové. Inhibičními účinky MAG k. kaprinové a laurové na růst mikromycet *in vitro* se zabývali i Růžička *et al.* [14] a Buňková *et al.* [20]. Autoři se shodují, že MAG k. kaprinové má na růst mikromycet větší vliv ve srovnání s MAG k. laurové, což je v souladu s výsledky předkládané práce.

Vzhledem k tomu, že velikost kolonií byla sledována po dobu 14-ti dnů s pravidelnými odečty ve 24-ti hodinových intervalech, bylo možné vyjádřit přibližné hodnoty následujících růstových parametrů: A – maximální průměr kolonie dosažený během experimentální doby 14 dnů [cm], μ_{max} – maximální radiální rychlost růstu [cm/den], lag fáze (λ) tj. doba po které začne radiální růst kolonie [den] a MDT – tj. doba růstu kolonie potřebná k dosažení průměru 1 cm [den].

Všechny sledované růstové parametry byly do značné míry ovlivněny přidavkem MAG do média a měnily se v závislosti na použitých koncentracích. Příkladem může být růst *M. racemosus*. U kontrolní kultury rostoucí bez přidavku MAG byl pozorován nárůst plísňe po celé ploše misky, v přítomnosti MAG k. kaprinové v koncentraci 1500 $\mu\text{g/ml}$ byl maximální dosažený průměr kolonie (A) pouze 0,48 cm. Hodnota μ_{max} kontroly byla 1,83 cm/den, při nejvyšší testované koncentraci MAG k. kaprinové klesla téměř na nulu (0,03 cm/den). Bez přidavku MAG začal radiální růst kolonie (parametr λ) během 24-ti hodin kultivace oproti 9 dnům při 1500 $\mu\text{g/ml}$ MAG k. kaprinové. Průměru 1 cm (parametr

MDT) dosáhla kontrolní kultura během jednoho dne, v přítomnosti MAG v koncentraci 1500 $\mu\text{g/ml}$ bylo stejného průměru dosaženo až na konci experimentální doby.

Obecně lze říci, že s rostoucí koncentrací MAG klesá hodnota A i růstová rychlost μ_{max} , doba trvání lag-fáze se zvyšuje a roste i doba potřebná k dosažení průměru 1 cm. Tyto výsledky se shodují s prací Altieri *et al.* [19], kteří u parametrů růstu *Fusarium* spp. zaznamenali obdobné trendy.

Kromě jednotlivých monoacylglycerolů, byly testovány i kombinace studovaných MAG v poměru 1:1 s cílem zjistit, zda nedochází k synergickému účinku. Nejúčinnější byla kombinace MAG k. kaprinové a kyseliny 1-adamantankarboxylové, která měla v některých případech při koncentraci 1000 $\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$ stejný inhibiční účinek jako samotný MAG k. kaprinové v koncentraci 1500 $\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$. Zde bylo zřejmě dosaženo synergického efektu dvou různých monoacylglycerolů.

Po vyhodnocení experimentů *in vitro* byly studovány účinky monoacylglycerolů na růst kvasinek a plísní v jablečném moštu. Inhibiční látka byla aplikována přímo do moštu v rozmezí koncentrací 50 – 1500 $\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$, v případě kombinací MAG v rozmezí 200 – 500 $\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$. Růst kvasinek a plísní v jablečném moštu byl sledován po dobu čtyř týdnů, kdy po každém týdnu skladování byl proveden mikrobiologický rozbor naočkováním vzorku moštu na sterilní Petriho misky s Fungal Agarem.

Ze získaných hodnot $\text{CFU}\cdot\text{ml}^{-1}$ ze všech čtyř týdnů byly sestrojeny grafy, ze kterých lze po srovnání s kontrolním vzorkem bez monoacylglycerolu zjistit inhibiční aktivitu pro každý použitý MAG a každou jeho koncentraci.

Jako nejúčinnější ze studovaných látek lze jednoznačně určit MAG k. kaprinové, který dokázal inhibovat růst mikromycet v jablečném moštu po celou dobu skladování a to v koncentracích 250 – 1500 $\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$. Přídavek tohoto MAG do jablečného moštu způsobil také úplnou inhibici růstu kvasinek po dobu 14 dnů, po této době byl růst kvasinek zaznamenán u všech testovaných koncentrací. Tento dočasný inhibiční efekt MAG lze vysvětlit adaptací kvasinek na prostředí s obsahem monoacylglycerolu, dále je možné, že monoacylglyceroly jsou postupně degradovány vlivem činnosti mikroorganismů.

V případě MAG kyseliny laurové a MAG kyseliny adamantankarboxylové nebyly na růst kvasinek v jablečném moštu zjištěny významné inhibiční účinky. Při studování vlivu těchto dvou MAG na mikromycety byl zaznamenán růst mikromycet jen v prvním týdnu

skladování. Poté již růst plísní zaznamenán nebyl. To mohlo být také způsobeno rostoucí koncentrací etanolu produkovaného kvasinkami. Nelze tedy jednoznačně tvrdit, že růst plísní byl zastaven účinkem monoacylglycerolu, nebo obsahem alkoholu v nakvašeném moštu.

Z výsledků experimentální části práce, a to jak v podmínkách *in vitro* tak i v jablečné šťávě vyplývá, že pouze MAG k. kaprinové by bylo možné použít k prodloužení trvanlivosti moštů. Na schopnosti tohoto MAG blokovat růst mikromycet a kvasinek se shodují mnohé studie, autoři se však rozcházejí v otázce účinné koncentrace. Řiháková [52] zjistila, že při koncentraci 1-monolaurinu $500 \mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$ došlo k úplné inhibici klíčení spor plísně *Aspergillus niger*. Na druhou stranu Růžička *et al.* [14] ve své studii uvádí, že při koncentraci $750 \mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$ nebyla pozorována u 1-monolaurinu inhibice růstu plísní *in vitro* a při koncentraci $500 \mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$ nebyla zjištěna ani inhibice růstu kvasinek. Nevýhodou MAG k. kaprinové je skutečnost, že při vyšších koncentracích nepříznivě ovlivňuje sensorické vlastnosti ovocné šťávy, což bylo zjištěno při orientačních čichových zkouškách. Možným řešením by mohla být kombinace MAG k. kaprinové s jinými monoacylglyceroly případně dalšími antimikrobními látkami, které na chuť a vůni šťávy nemají vliv. Kombinace monoacylglycerolů testované v předkládané práci však nelze doporučit, jelikož ve studovaných koncentracích 200 až $500 \mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$ nebyly jejich inhibiční účinky na růst kvasinek a plísní v moštu dostatečné.

Součástí práce byla také izolace kvasinek a plísní z jablečného moštu použitého pro studium antimikrobních účinků MAG. Celkem byly izolovány čtyři druhy kvasinek. Tyto druhy byly podrobně popsány a vyfotografovány. Na základě mikromorfologických a makromorfologických znaků a jejich schopnosti fermentovat určité sacharidy byly taxonomicky zařazeny dva izoláty jako *Saccharomyces* spp. a *Rhodotorula* spp.

V případě plísní bylo izolováno z moštu celkem 9 kmenů, z toho bylo 5 taxonomicky zařazeno (dva izoláty do rodu *Penicillium*, jeden izolát do rodu *Rhizopus*, dva izoláty do rodu *Mucor*). Dvě plísně byly blíže určeny – *Rhizopus stolonifer*, *Penicillium chrysogenum*.

ZÁVĚR

V této práci byly studovány účinky tří monoacylglycerolů: 1-monokaprinu, 1-monolaurinu a monoacylglycerolu kyseliny adamantankarboxylové na růst kvasinek a vláknitých hub (mikromycet) v přírodních ovocných šťávách.

Na základě získaných výsledků lze konstatovat následující závěry:

- v podmínkách *in vitro* lze dosáhnout účinné inhibice růstu mikromycet po přidavku 1-monokaprinu
- nejúčinnějším inhibitorem růstu kvasinek byl 1-monokaprin, u kterého byl v případě koncentrací 250 – 1500 $\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$ úplně inhibován růst kvasinek v jablečném moštu po dobu 14 dní,
- k úplné inhibici růstu mikromycet po celou dobu skladování moštu došlo u 1-monokaprinu v koncentracích 250 – 1500 $\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$,
- růst kvasinek v přítomnosti 1-monolaurinu a také v přítomnosti MAG ACA byl během prvních dvou týdnů spíše zpomalen, k úplné inhibici růstu nedošlo v žádné koncentraci,
- mikromycety rostly v přítomnosti 1-monolaurinu a také v přítomnosti MAG ACA pouze během prvního týdne, poté byl jejich růst zcela potlačen u všech koncentrací MAG,
- nejúčinnější kombinací byla MAG C10:0/C12:0 v koncentraci 500 $\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$, u které byla pozorována úplná inhibice růstu kvasinek po dobu 14 dnů,
- u kombinací MAG C10:0/C12:0 v koncentraci 500 $\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$, MAG C10:0/ACA v koncentraci 200 $\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$ a MAG C12:0/ACA v koncentracích 200 $\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$ a 500 $\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$ byl pozorován růst mikromycet pouze v prvním týdnu, poté byl jejich růst zcela potlačen.

Na základě zjištěných závěrů lze tvrdit, že přidavkem 1-monokaprinu bylo možné potlačit růst nežádoucích mikroorganismů v nepasterizované jablečné šťávě po dobu 2 až 3 týdnů, Monoacylglycerol k. kaprinové by mohl být využíván v průmyslové výrobě ovocných šťáv jako přírodní konzervant, avšak pro dlouhodobé skladování by bylo vhodné jej doplnit nějakou další metodou konzervace pro posílení jeho účinků (např. anaerobní prostředí,

či šetrná pasterace). Zbylé dva monoacylglyceroly (MAG C12:0 a MAG ACA) vykazovaly příliš malé inhibiční účinky.

SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY

- [1] BALAŠTÍK, J. *Konzervování v domácnosti*. Vyd. 1. Kyjov : BOMA Print, 2001. 231 s. ISBN: 80-86528-07-3.
- [2] VLACHOVÁ, L. *Zavařujeme ovoce, zeleninu a houby*. Vyd. 1. Praha : Merkur, 1986. 288 s. 51-480-86.
- [3] PŮHONÝ, K. *Konzervace a ukládání potravin v domácnosti*. Vyd. 3. Praha : Státní zemědělské nakladatelství, 1982. 272 s. 07-005-82.
- [4] HOSTAŠOVÁ, B., NĚMEC, E., VLACHOVÁ, L. *Domácí konzervování ovoce a zeleniny*. Vyd. 3. Praha : Avicenum, 1987. 320 s. 08-018-87.
- [5] BALAŠTÍK, J. *Konzervování potravin v domácnostech*. Vyd. 4. Praha : SZN, 1969. 303 s. 07-027-69.
- [6] HANOUSEK, M. *Domácí výroba moštů*. Vyd. 1. Praha : Grada, 2006. 75 s. ISBN: 80-247-1445-0.
- [7] PŮHONÝ, K. *Konzervace a ukládání potravin v domácnosti*. Vyd. 6. Praha : Státní zemědělské nakladatelství, 1988. 320 s. 07-013-88.
- [8] MATĚJČIKOVÁ, J. *Medoviny, sirupy, šťávy*. Vyd. 1. Praha : Public, 2010. 64 s. ISBN: 978-80-901640-5-5.
- [9] BUŇKOVÁ, L., et al. *Inhibiční působení 1-monoacylglycerolů na bakterie*. Potravinářská revue. 2010, vol. 1, s. 82-85. ISSN: 1801-9102.
- [10] DAVÍDEK, J., HAJŠLOVÁ, J., POKORNÝ, J., VELÍŠEK, J. *Chemie potravin*. Vyd. 2. Praha : VŠCHT, 1991. 142 s. ISBN: 80-7080-097-6.
- [11] *Chemie a technologie tenzidů a detergentů - systematika povrchově aktivních látek*. Zlín : Cepac Morava, eLearningový portál UTB Zlín, 2007. 57 s. Dostupné z WWW: http://utb-files.cepac.cz/moduly/M0006_chemie_a_technologie_tuku_a_detergentu/distancni_text_III/M0006_chemie_a_technologie_tuku_a_detergentu_distancni_text_iii.pdf
- [12] BOBÁLOVÁ, J. *Studium možnosti syntézy monoacylglycerolů z glycidolu za katalýzy Cr (III) komplexů*. Zlín, 2001. 75 s. Diplomová práce. UTB ve Zlíně.

- [13] JANIŠ, R., KREJČÍ, J., KLÁSEK, A. *Preparation of 1-monoacylglycerols from glycidol and fatty acids catalyzed by the chromium (III) fatty acid system*. European Journal of Lipid Science and Technology. 2000, s. 351–354.
- [14] RŮŽIČKA, J., et al. *Antimicrobial effects of 1-monoacylglycerols prepared by catalytic reaction of glycidol with fatty acids*. European Food Research and Technology. 2003, vol. 217, s. 329-331.
- [15] BUŇKOVÁ L., et al. *Comparison of antibacterial effect of seven 1-monoglycerides on food-borne pathogens or spoilage bacteria*. Acta Veterinaria, 2011. vol 80, s. 29-39.
- [16] ALTIERI, C., et al. *Effectiveness of fatty acids and their monoglycerides against gram-negative pathogens*. International Journal of Food Science and Technology. 2009, vol. 44, s. 359-366.
- [17] PETSCHOW, B. W., et al. *Susceptibility of Helicobacter pylori to bactericidal properties of medium-chain monoglycerides and free fatty acids*. Antimicrobial Agents and Chemotherapy. 1996. vol 40, s. 302-306.
- [18] DOLEŽALOVÁ, M., et al. *Antimicrobial properties of 1-monoacylglycerols prepared from undecanoic (C11:0) and undecenoic (C11:1) acid*. European Journal of Lipid Science and Technology. 2010. vol 112, s. 1106–1114.
- [19] ALTIERI, C., et al. *Antifungal activity of fatty acids and their monoacylglycerols against Fusarium spp. in a laboratory medium*. International Journal of Food Science and Technology. 2009, vol. 44, s. 242-245.
- [20] BUŇKOVÁ, L., et al. *Influence of monoacylglycerols on growth inhibition of micro-mycetes in vitro and on bread*. European Journal of Lipid Science and Technology. 2010. vol 112, s. 173-179.
- [21] BAUTISTA, D., A., et al. *Extending the shelf-life of cottage cheese using monolaurin*. Food Research International. 1993. vol. 23, s. 203-208.
- [22] McLAY, J.C., et al. *Inhibition of bacterial foodborne pathogens by the lactoperoxidase system in combination with monolaurin*. International Journal of Food Microbiology, 2002. vol 73, s. 1-9.

- [23] MANSOUR, M., MILLIÈRE, J. B. *An inhibitory synergistic effect of a nisinmonolaurin combination on Bacillus sp. vegetative cells in milk*. Food Mikrobiology, 2001. vol 18, s. 87-94.
- [24] BERGSSON, G., et al. *In Vitro Inactivation of Chlamydia trachomatis by Fatty Acids and Monoglycerides*. Antimicrobial Agents and Chemotherapy. 1998. vol. 42, s. 2290-2294.
- [25] BERGSSON, G., et al. *In Vitro Susceptibilities of Neisseria gonorrhoeae to Fatty Acids and Monoglycerides*. Antimicrobial Agents and Chemotherapy. 1999. vol. 43, s.2790-2792.
- [26] KRISTMUNDSDOTTIR, T., et al. *Development and Evaluation of Microbicidal Hydrogels Containing Monoglyceride as the Active Ingredient*. Journal of Pharmaceutical Science. 1999. vol. 88, s. 1011-1015.
- [27] HILLMARSSON, H., et al. *Virucidal activities of medium and long-chain fatty alcohols, fatty acids and monoglycerides against herpes simplex virus types 1 and 2: comparison at different pH levels*. AMPIS. 2005. vol 113, s. 58-65. ISSN: 0903-4641.
- [28] BERGSSON, G., et al. *In Vitro Killing of Candida albicans by Fatty Acids and Monoglycerides*. Antimicrobial Agents and Chemotherapy. 2001. vol. 45, s. 3209-3212.
- [29] ŠÍPICKÝ, M., ŠUBÍK, J. *Genetika kvasinek*. Vyd. 1. Bratislava : VEDA, 1992. 312 s. ISBN: 80-224-0396-2.
- [30] BUŇKOVÁ, L., DOLEŽALOVÁ, M. *Obecná mikrobiologie*. Vyd. 2. Zlín : UTB, 2010. 190 s. ISBN: 978-80-7318-973-0.
- [31] KOČKOVÁ-KRATOCHVÍLOVÁ, A. *Taxonómia kvasiniek a kvasinkovitých mikroorganizmov*. Vyd. 1. Bratislava : Alfa, 1990. 704 s. ISBN: 80-05-00644-6.
- [32] WALKER, G. M. *Yeast Physiology and Biotechnology*. Vyd. 1. Salisbury : Acorn Bookwork, 1998. 320 s. ISBN: 0-471-96447-6.
- [33] FASSATIOVÁ, O. *Plísňe a vláknité houby v technické mikrobiologii*. Vyd. 1. Praha : SNTL, 1979. 240 s. 04-824-79.
- [34] Houby. In Wikipedia: the free encyclopedia [online]. St. Petersburg (Florida): Wikipedia Foundation, 22.1.2005, last modified on 21. 3. 2011 [cit. 2011-04-04]. Dostupné z WWW: <<http://cs.wikipedia.org/wiki/Houby>>.

- [35] ŠILHÁNKOVÁ, L. *Mikrobiologie pro potravináře*. Vyd. 1. Praha : SNTL, 1983. 304 s. 04-824-83.
- [36] AMBROŽOVÁ, J. *Mikroskopické praktikum z hydrobiologie*. Vyd. 1. Praha : VŠCHT, 2002. 183 s. ISBN: 80-7080-496-3.
- [37] HÄUSLEROVÁ, J. *Mikromycety ve vodním prostředí*. Vyd. 1. Praha : Česká vědecko-technická společnost, MŽP ČR, 1991. 154 s. ISBN: 80-02-00747-6.
- [38] LEPŠOVÁ, A. *Zygomycetes* [online]. České Budějovice : Jihočeská univerzita 2001 [cit. 2011-04-10].
Dostupné z WWW: <<http://rum.prf.jcu.cz/public/mykol/zygo01.doc>>.
- [39] KUBÁTOVÁ, A., VÁŇOVÁ, M. *Atlas zygomycet* [online]. Praha : Univerzita Karlova, 2009 [cit. 2011-04-10].
Dostupné z WWW: <<http://botany.natur.cuni.cz/cs/atlas-zygomycetu-2009>>.
- [40] KUBÁTOVÁ, A., SAVICKÁ, D., et al. *Miniatlas mikroorganismů* [online]. Praha : VŠCHT, 2001 [cit. 2011-04-10]. Dostupné z WWW: <<http://www.vscht.cz/obsah/fakulty/fpbt/ostatni/miniatlas/obsah.htm>>.
- [41] JANKOVSKÝ, L. *Základy mykologie*. Vyd. 1. Brno : Mendelova zemědělská a lesnická univerzita, 2005. 106 s.
- [42] KUBÁTOVÁ, A. *Atlas mikroskopických saprotrofních hub (Ascomycota)* [online]. Praha : Univerzita Karlova, 2006 [cit. 2011-04-10]. Dostupné z WWW: <<http://botany.natur.cuni.cz/cs/atlas-mikroskopicky-ch-saprotrofnich-hub-ascomycota-2006>>.
- [43] KOZAKIEWITZ, Z. *Aspergillus species on stored products*. Vyd. 1. Surrey : C.A.B. International Mycological Institute, 1989. 372 s. ISBN: 0-85198-632-3.
- [44] Chovatelka.cz, *Monilióza jádrovín a peckovín* [online]. 2009 [cit. 2011-04-11].
Dostupné z WWW: <<http://www.chovatelka.cz/choroby-rostlin-clanek/monilioza-jadrovin-a-peckovin-66#article-body>>.
- [45] DIJKSTERHUI, J., SAMSON, R. A. *Food mycology: a multifaceted approach to fungi and food*. Vyd. 4. Boca Raton : CRC Press, 2007. 427 s. ISBN: 978-0-8493-9818-6.

- [46] COLE, R. J., COX, R. H. *Handbook of toxic fungal metabolites*. New York : Academic Press, 1981.
- [47] ŠIMŮNEK, J., BŘEZINA, P. *Mykotoxiny*. Vyd. 1. Vyškov : VVŠ PV, 1996. 74 s.
- [48] OVERY, D. P., FRISVAD, J. C. *New Penicillium species associated with bulbs and root vegetables*. *Systematic and Applied Mikrobiology*. 2003. vol 26, s. 631-639.
- [49] JANDOVÁ, B., KOTOUČKOVÁ, L. *Praktikum z mikrobiologie*. Vyd. 1. Brno : MU, 1996. 69 s. ISBN: 80-210-1374-5.
- [50] JANIŠ, R., KLÁSEK, A., BOBÁLOVÁ, J. Chromium (III) acetate hydroxide - an efficient catalyst for preparation of 1-monoacylglycerols by the glycidol-fatty acid reaction. *Journal of Food Lipids*. 2006, vol. 13, s. 199-209.
- [51] NĚMCOVÁ, Z. *Příprava 1-monoacylglycerolu z kyseliny perfluoroundekanové a testování antimikrobní aktivity*. Zlín, 2011. 76 s. Diplomová práce. UTB ve Zlíně.
- [52] ŘIHÁKOVÁ, Z., et al. *Antifungal activity of lauric acid derivates against Aspergillus niger*. *European Food Research and Technology*. 2001, vol. 213, s. 488-490.

SEZNAM POUŽITÝCH SYMBOLŮ A ZKRATEK

MAG	monoacylglycerol
DAG	diacylglycerol
TAG	triacylglycerol
MAG C10:0	1-monokaprin, monoacylglycerol kyseliny kaprinové
MAG C12:0	1-monolaurin, monoacylglycerol kyseliny laurové
MAG ACA	monoacylglycerol kyseliny 1-adamantankarboxylové
Glu	glukóza
Gal	galaktóza
Sac	Sacharóza
Lac	Laktóza
Mal	Maltóza

SEZNAM OBRÁZKŮ

<i>Obr. 1. – Vliv MAG na růst plísně Aspergillus niger.</i>	42
<i>Obr. 2. – Vliv MAG na růst plísně Aspergillus niger.</i>	43
<i>Obr. 3. – Růst plísně Aspergillus niger na agaru s rozdílnou koncentrací kombinace MAG C:10/MAG ACA.</i>	43
<i>Obr. 4. – Vliv MAG na růst plísně Alternaria alternata.</i>	45
<i>Obr. 5. – Vliv MAG na růst plísně Alternaria alternata.</i>	46
<i>Obr. 6. – Růst plísně Alternaria alternata na agaru s rozdílnou koncentrací kombinace MAG C:12/MAG ACA.</i>	46
<i>Obr. 7. – Vliv MAG na růst plísně Penicillium roqueforti.</i>	49
<i>Obr. 8. – Vliv MAG na růst plísně Penicillium roqueforti.</i>	50
<i>Obr. 9. – Růst plísně P. roqueforti na agaru s rozdílnou koncentrací kombinace MAG C10:0/MAG C12:0.</i>	50
<i>Obr. 10. – Vliv MAG na růst plísně Mucor racemosus.</i>	51
<i>Obr. 11. – Vliv MAG na růst plísně Mucor racemosus.</i>	52
<i>Obr. 12. – Růst plísně M. racemosus na agaru s rozdílnou koncentrací MAG C10:0/MAG ACA.</i>	52
<i>Obr. 13. – Růst kvasinky č. 1 na Fungal agaru (vlevo), mikroskopický preparát barvený metylénovou modří, zvětšení 20x100 (vpravo).</i>	54
<i>Obr. 14. – Růst kvasinky č. 2 na Fungal agaru (vlevo), mikroskopický preparát barvený metylénovou modří, zvětšení 20x100 (vpravo).</i>	55
<i>Obr. 15. – Růst kvasinky č. 3 na Fungal agaru (vlevo), mikroskopický preparát barvený metylénovou modří, zvětšení 20x100 (vpravo).</i>	55
<i>Obr. 16. – Růst kvasinky č. 4 na Fungal agaru (vlevo), mikroskopický preparát barvený metylénovou modří, zvětšení 20x100 (vpravo).</i>	56
<i>Obr. 17. – Růst plísně č. 1 na Fungal Agar (vlevo); konidie a konidiofor – zvětšení 20x 40 (vpravo).</i>	57
<i>Obr. 18. – Růst plísně č. 2 na Fungal Agar (vlevo); sporangium se sporangiosporami – zvětšení 20x 40 (vpravo).</i>	57
<i>Obr. 19. – Růst plísně č. 3 na Fungal Agar (vlevo); vpravo fruktifikační orgány (zvětšení 20x 40).</i>	58

<i>Obr. 20. – Růst plísně č. 4 na Fungal Agarů (vlevo); sporangium se sporangiosporami – zvětšení 20x 40 (vpravo).....</i>	<i>59</i>
<i>Obr. 21. – Růst plísně č. 5 na Fungal Agarů (vlevo); mycelium (vpravo).....</i>	<i>59</i>
<i>Obr. 22. – Růst plísně č. 6 na Fungal Agarů (vlevo); konidie a konidiofor – zvětšení 20x 40 (vpravo).....</i>	<i>60</i>
<i>Obr. 23. – Růst plísně č. 7 na Fungal Agarů (vlevo); konidie a konidiofor – zvětšení 20x 40 (vpravo).....</i>	<i>60</i>
<i>Obr. 24.– Růst plísně č. 8 na Fungal Agarů (vlevo); sporangiofor se sporangiem – zvětšení 20x 40 (vpravo).</i>	<i>61</i>
<i>Obr. 25. – Růst plísně č. 9 na Fungal Agarů (vlevo); mycelium (vpravo).</i>	<i>62</i>
<i>Obr. 26. – Inhibiční účinek 1-monokaprinu na růst kvasinek v jablečném moštu.</i>	<i>63</i>
<i>Obr. 27. – Inhibiční účinek 1-monolaurinu na růst kvasinek v jablečném moštu.</i>	<i>64</i>
<i>Obr. 28. – Inhibiční účinek MAG ACA na růst kvasinek v jablečném moštu.</i>	<i>65</i>
<i>Obr. 29. – Inhibiční účinky kombinací monoacylglycerolů C10:0, C12:0, ACA na růst kvasinek v moštu.</i>	<i>66</i>
<i>Obr. 30. – Inhibiční účinek 1-monokaprinu na růst mikromycet v jablečném moštu.</i>	<i>67</i>
<i>Obr. 31. – Inhibiční účinek 1-monolaurinu na růst mikromycet v jablečném moštu.</i>	<i>68</i>
<i>Obr. 32. – Inhibiční účinek MAG ACA na růst mikromycet v jablečném moštu.</i>	<i>69</i>
<i>Obr. 33. – Inhibiční účinky kombinací monoacylglycerolů C10:0, C12:0, ACA na růst mikromycet v moštu.</i>	<i>70</i>

SEZNAM TABULEK

<i>Tab. 1. – Aplikace roztoků MAG do jablečného moštu.....</i>	40
<i>Tab. 2. – Kinetické parametry růstu plísně <i>Aspergillus niger</i> na agaru s obsahem MAG.</i>	44
<i>Tab. 3. – Kinetické parametry růstu plísně <i>Alternaria alternata</i> na agaru s obsahem MAG.</i>	47
<i>Tab. 4. – Kinetické parametry růstu plísně <i>Penicillium roqueforti</i> na agaru s obsahem MAG.</i>	48
<i>Tab. 5. – Kinetické parametry růstu plísně <i>Mucor racemosus</i> na agaru s obsahem MAG.</i>	53

SEZNAM PŘÍLOH

Příloha P I: Přehled způsobů získávání moštů

PŘÍLOHA P I: PŘEHLED ZPŮSOBŮ ZÍSKÁVÁNÍ MOŠTŮ [5]

Postup		Zpracované druhy ovoce	Úprava ovoce	Drcení	Ošetření drti
I.	Lisování zastudena	jablka, hrušky	praní	ano	–
		réva vinná (bílé odrůdy)	praní, odzrnění v případě odležení	ano	před lisováním drť „masitých“ odrůd necháme 1 den odležet
		angrešt	praní	ano	před lisováním 1 den odležet
		rybíz bílý, červený	praní, odzrnění v případě odležení	ano	před lisováním 1 den odležet
		třešně, višně	praní	ano	–
		maliny, ostružiny	–	pomačkáme	necháme několik hodin odležet
II.	Lisování zatepla	třešně, višně	praní	ano (pecky nedrtíme)	Zahříváme při teplotě drti 65-70 °C 20 minut za stálého míchání
		modré odrůdy révy, rybíz, bezinky	praní, odzrnění	ano	
		švestky, borůvky	praní	ano	
III.	Vyluhování párou	maliny, ostružiny	–	–	paření 50 minut
		bezinky, modré odrůdy révy	praní, odzrnění	–	paření 50 minut
		třešně, višně, borůvky, rybíz	praní	–	paření 50 minut
		angrešt	praní	ano	paření 50 minut
		jablka hrušky	praní	ano	paření 80 minut