

Vliv vybraných monoacylglycerolů na růst mikromycet

Bc. Renata Grégrová

Diplomová práce
2012



Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně
Fakulta technologická

Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně

Fakulta technologická

Ústav analýzy a chemie potravin

akademický rok: 2011/2012

ZADÁNÍ DIPLOMOVÉ PRÁCE

(PROJEKTU, UMĚLECKÉHO DÍLA, UMĚLECKÉHO VÝKONU)

Jméno a příjmení: **Bc. Renata GRÉGROVÁ**
Osobní číslo: **T10508**
Studijní program: **N 2901 Chemie a technologie potravin**
Studijní obor: **Technologie, hygiena a ekonomika výroby potravin**

Téma práce: **Vliv vybraných monoacylglycerolů na růst mikromycet**

Zásady pro vypracování:

I. Teoretická část

- 1. Zpracujte literární rešerši zaměřenou na charakterizaci monoacylglycerolů, jejich využití a vliv na růst mikroorganismů.**
- 2. Věnujte se problematice výskytu a významu mikromycet v potravinách.**

II. Praktická část

- 1. Studujte vliv monoacylglycerolů různých mastných kyselin na růst potravinářsky významných mikromycet.**
- 2. Zdokumentujte průběh kultivace mikromycet v přítomnosti různých koncentrací monoacylglycerolů a získané výsledky srovnajte a vyhodnoťte.**

Rozsah diplomové práce:

Rozsah příloh:

Forma zpracování diplomové práce: **tištěná**

Seznam odborné literatury:

1. JAY, J. M. **Modern Food Microbiology. Sixth Edition.** Gaithersburg, Maryland: Aspen Publishers, 2000. ISBN 0-8342-1671-X.
2. WHITEHURST, R. J. **Emulsifiers in Food Technology.** Oxford: Blackwell Publishing, 2004. ISBN 1-4051-1802-4.
3. OSTRÝ, V., MALÍŘ, F. **Vláknité mikromycety (plísňe), mykotoxiny a zdraví člověka.** Brno: Národní centrum ošetřovatelství a nelékařských zdravotnických oborů, 2003. ISBN 8070133953.
4. HOCKING, A. D., PITT, J. I., SAMSON, R. A., THRANE, U. **Advances in Food Mycology.** New York: Springer, 2006. ISBN 0-387-28385-4.

Vedoucí diplomové práce:

RNDr. Iva Doležálková

Ústav technologie tuků, tenzidů a kosmetiky

Datum zadání diplomové práce:

6. ledna 2012

Termín odevzdání diplomové práce:

21. května 2012

Ve Zlíně dne 15. února 2012


doc. Ing. Roman Čermák, Ph.D.
děkan




doc. Ing. Miroslav Fišera, CSc.
ředitel ústavu

Příjmení a jméno: Grégrová Renata

Obor: Technologie, hygiena a ekonomika výroby potravin

PROHLÁŠENÍ

Prohlašuji, že

- beru na vědomí, že odevzdáním diplomové 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 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 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 užít své dílo – diplomovou 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 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 práce využít ke komerčním účelům;
- beru na vědomí, že pokud je výstupem diplomové 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 14.5.2012

.....

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 nevdělečně 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:*

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

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

(1) *Škola nebo školské či vzdělávací zařízení mají za obvyklých podmínek právo na uzavření licenční smlouvy o užití školního díla (§ 35 odst. 3). 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 výši výdělku dosaženého školou nebo školským či vzdělávacím zařízením z užití školního díla podle odstavce 1.*

ABSTRAKT

Tato diplomová práce je zaměřena na vláknité mikromycety a jejich růst na půdách s přidavkem vybraných monoacylglycerolů. Teoretická část se zabývá taxonomií mikromycet, jejich rozmnožováním a základní charakteristikou vybraných druhů. Dále je pozornost věnována i monoacylglycerolům, jejich výrobě a antimikrobiálním účinkům. V praktické části byl sledován vliv monoacylglycerolů na růst kolonií mikromycet. Bylo zjištěno, že některé monoacylglyceroly potlačují růst vláknitých hub a jejich inhibiční účinek se zvyšuje se vzrůstající koncentrací těchto látek.

Klíčová slova: mikromycety, monoacylglyceroly (MAG), MAG kyseliny palmitové, MAG kyseliny laurové, MAG kyseliny undekanové, MAG kyseliny kaprinové, MAG kyseliny kaprylové

ABSTRACT

This diploma thesis is focused on filamentous micromycetes and their growth on media supplemented with selected monoacylglycerols. The theoretical part summarizes taxonomy of filamentous fungi, their growth and multiplication, and characterization of selected fungal species. Great attention was also paid on monoacylglycerols, their production, properties and antimicrobial activity. In the experimental part, the effect of monoacylglycerols on the growth of filamentous fungi was examined. Some monoacylglycerols were proven to be active in inhibiting the growth of micromycetes and their inhibitory action was increasing with an increasing concentration of these compounds.

Keywords: micromycetes, monoacylglycerols (MAG), MAG of palmitic acid, MAG of undecanoic acid, MAG of capric acid, MAG of lauric acid, MAG of caprylic acid

Poděkování

Ráda bych touto cestou poděkovala vedoucí mé diplomové práce, paní RNDr. Ivě Hauerlandové za odborné vedení, cenné rady a věcné připomínky a věnovaný čas při zpracování diplomové práce.

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

Ve Zlíně 14.5.2012

.....

OBSAH

OBSAH	8
ÚVOD.....	10
TEORETICKÁ ČÁST.....	11
1 MIKROMYCETY.....	12
1.1 CHARAKTERISTIKA VLÁKNITÝCH MIKROMYCET	12
1.1.1 Pododdělení: Zygomycotina (houby spájkivé)	13
1.1.2 Pododdělení Ascomycotina (houby vrčkaté)	14
1.1.3 Pododdělení Deuteromycotina (houby nedokonalé)	14
1.1.4 Pododdělení Basidiomycotina (houby stopkovýtrusé)	14
1.2 MORFOLOGIE PLÍSNÍ.....	15
1.3 ROZMNOŽOVÁNÍ MIKROMYCET	16
1.3.1 Vegetativní rozmnožování.....	17
1.3.2 Pohlavní rozmnožování.....	17
1.4 CHARAKTERISTIKA VYBRANÝCH MIKROMYCET	17
1.4.1 Třída: Ascomycetes.....	17
1.4.2 Třída: Zygomycetes.....	25
1.4.3 Třída: Deuteromycetes.....	26
2 MONOACYLGLYCEROLY	28
2.1 VÝROBA MONOACYLGLYCEROLŮ	29
2.2 ANTIMIKROBNÍ ÚČINKY MONOACYLGLYCEROLŮ	30
2.2.1 Mechanismus inhibičního účinku monoacylglycerolů na plísně.....	32
PRAKTICKÁ ČÁST.....	33
3 MATERIÁL A POUŽITÉ METODY	34
3.1 MATERIÁL.....	34
3.1.1 Mikroorganismy.....	34
3.1.2 Monoacylglyceroly.....	34
3.1.3 Další použité chemikálie:.....	35
3.1.4 Kultivační půdy.....	35
3.1.5 Pomůcky a přístroje	35
3.2 METODY.....	36
3.2.1 Příprava kultivační půdy.....	36
3.2.2 Očkování mikromycet.....	36
3.2.3 Hodnocení růstu mikromycet	36

4	VÝSLEDKY	38
4.1	Vliv MONOACYLGLYCEROLŮ NA RŮST BAKTERIÍ	38
4.1.1	Vliv monoacylglycerolů na růst <i>Penicillium candidum</i>	38
4.1.2	Vliv monoacylglycerolů na růst <i>Penicillium vulpinum</i>	39
4.1.3	Vliv monoacylglycerolů na růst <i>Penicillium roqueforti</i>	40
4.1.4	Vliv monoacylglycerolů na růst <i>Penicillium camemberti</i>	42
4.1.5	Vliv monoacylglycerolů na růst <i>Penicillium funiculosum</i> F8080	43
4.1.6	Vliv monoacylglycerolů na růst <i>Aspergillus niger</i>	44
4.1.7	Vliv monoacylglycerolů na růst <i>Aspergillus niger</i> F8155.....	45
4.1.8	Vliv monoacylglycerolů na růst <i>Phoma</i> sp.....	46
4.1.9	Vliv monoacylglycerolů na růst <i>Trichothecium roseum</i>	47
4.1.10	Vliv monoacylglycerolů na růst <i>Alternaria brassicicola</i>	49
4.1.11	Vliv monoacylglycerolů na růst <i>Scopulariopsis</i> sp. (izolát A)	50
4.1.12	Vliv monoacylglycerolů na růst <i>Scopulariopsis</i> sp. (izolát B)	51
4.1.13	Vliv monoacylglycerolů na růst <i>Rhizopus</i>	53
4.1.14	Vliv monoacylglycerolů na růst <i>Chaetomium globosum</i> F8156	54
4.1.15	Vliv monoacylglycerolů na růst <i>Paecilomyces variotii</i> F398	55
5	DISKUZE	57
6	ZÁVĚR	59
7	SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY	60
8	SEZNAM POUŽITÝCH SYMBOLŮ A ZKRATEK	65
9	SEZNAM OBRÁZKŮ	66

ÚVOD

Problematika nezávadnosti potravin a zabezpečení jejich kvality je trvale předmětem zájmu zástupců průmyslu, obchodu i vědy. Z mikrobiologického hlediska je prostředkem k zajištění bezpečnosti a nezávadnosti potravin snaha potlačit růst a množení nežádoucí mikroflóry.

Mikroorganismů kontaminujících potraviny je celá řada. Liší se nároky na živiny a prostředí i svými fyziologickými vlastnostmi. V současnosti jsou hledány nové látky, které by působily inhibičně na co možná největší množství mikroorganismů. Požadavky na tyto látky jsou však značně vysoké. Tyto látky by především neměly mít negativní vliv na organismus, neměly by ovlivňovat chuť a vlastnosti výrobku nežádoucím způsobem. Vhodná látka by měla inhibovat mikroorganismy, být pokud možno co nepřirozenější a přírodního původu, mohla by i zlepšovat vlastnosti daného produktu. Touto vhodnou látkou by mohly být například monoacylglyceroly. Jsou to látky přirozeně se vyskytující jakožto meziprodukt metabolismu tuků a organismus je dobře snáší. Byly prokázány inhibiční účinky monoacylglycerolů jak na některé nežádoucí mikroorganismy, tak i na některé zástupce mikroskopických vláknitých hub. Výhodné jsou monoacylglyceroly i pro své vlastnosti, zejména schopnost snižovat povrchové napětí na rozhraní dvou nemísitelných fází, díky čemuž se mohou uplatnit jako emulgační činidla.

Vliv studovaných monoacylglycerolů na růst mikroorganismů byl sledován na zástupcích vláknitých mikromycet.

Vláknité mikromycety jsou eukaryotní mnohobuněčné organizmy, které se díky své morfologické i fyziologické rozmanitosti k nejrůznějším podmínkám prostředí vyskytují prakticky všude tam, kde se vyskytuje organická hmota. V životním prostředí člověka jsou přítomny, v půdě, vodě, ovzduší, na povrchu živých i odumřelých organismů, na plochách, předmětech, v krmivu, v potravinových surovinách rostlinného původu a potravinách. Zvláště potraviny jsou z hlediska zdraví člověka vhodným a rizikovým substrátem pro růst, rozmnožování a osídlování toxinogenními mikromycetami a následnou produkcí mykotoxinů. Mykotoxiny jsou sekundární metabolity vláknitých mikroskopických hub. Přítomnost mykotoxinů v poživatinách může mít několik příčin. Může to být z důvodu kažení poživatin jejich plesnivěním, nebo zpracování polotovarů a meziproduktů s obsahem mykotoxinů ve výrobě potravin.

TEORETICKÁ ČÁST

1 MIKROMYCETY

1.1 Charakteristika vláknitých mikromycet

Vláknité mikromycety jsou spolu s jinými skupinami organismů, které společně sdílejí podobné vlastnosti, řazeny do samostatné říše hub (*Fungi*)[1]. Z praktického hlediska se houby dělí do dvou skupin podle velikosti, přestože toto dělení nemá nic společného se systematickou příslušností. První skupinu tvoří houby mikroskopické. Mikroskopické houby dále dělíme na vláknité mikroskopické houby, kvasinky a kvasinkovité mikroorganismy[2]. Do druhé skupiny jsou pak řazeny houby makroskopické velikosti.

Houby patří mezi eukaryotické organismy, tzn., že buňky hub mají pravé jádro, které je od cytoplazmy odděleno jadernou membránou. Cytoplazma obsahuje mitochondrie a další buněčné orgány, plazmatická membrána je tvořena lipidy, glykoproteiny a steroly. Buněčná stěna plísni je většinou vícevrstevná a je složena hlavně z polysacharidů. Kromě chitinu (polysacharid N-acetylglukózáminu) a chitózanu (deacetylovaný chitin) jsou zde přítomny také glukany, manany a polysacharidy složené z galaktózáminu nebo z 6-deoxyhexóz. Často se zde vyskytuje i celulóza a látky podobné ligninu, které zvyšují pevnost stěny. Kromě polysacharidů jsou zde vždy přítomny také bílkoviny, lipidy a také **vosky**, tj. estery mastných kyselin a vyšších alkoholů, které přispívají značnou měrou k nízké smáčitelnosti vegetativních i sporonosných hyf [3, 4].

Mikroskopické houby patří mezi chemoorganotrofní mikroorganismy. energii získávají oxidací organických sloučenin, které zároveň využívají i jako zdroj uhlíku. V přírodě jsou tyto mikroorganismy schopny rozložit veškeré organické sloučeniny živočišného i mikrobiálního původu až na oxid uhličitý, vodu a amoniak a vrací tak tyto látky do koloběhu, který je nutný pro zachování života na Zemi. Na druhé straně jsou však chemoorganotrofní mikroorganismy původci nežádoucího rozkladu potravin a potravinářských surovin a způsobují také rozklad nepotravinářského organického materiálu uloženého ve vlhku [5].

Plísně jsou aerobní a potřebují pro svůj růst vzdušný kyslík. Proto rostou hlavně na povrchu jimi napadnutých materiálů. Jejich náročnost na kyslík je ale rozdílná. Závislost růstu plísni na kyslíku je spojena s výskytem esenciální složky steroidů (ergosterol) v cytoplasmatické membráně, které k syntéze kyslík potřebují. Plísně jsou na rozdíl od bakterií přizpůsobivější k určitým extrémním podmínkám prostředí. Dobře snáší nižší hodnoty pH, nižší obsah vody a nižší teploty[6].

Velká morfologická rozmanitost, adaptabilita a schopnost plísní přizpůsobit se nejrůznějším ekologickým podmínkám, umožňuje jejich výskyt prakticky všude tam, kde existuje organická hmota. V životním a pracovním prostředí člověka jsou přítomny v ovzduší, v půdě, vodě, na povrchu živých i odumřelých organismů, předmětů, v krmivech, v potravinových surovinách rostlinného původu a v potravinách [7].

V současné době existuje několik systémů členění hub, které se shodují v klasifikaci pravých hub do čtyř taxonomických skupin: *Chytridiomycota*, *Zygomycota*, *Ascomycota* a *Basidiomycota* [8].

Klasifikace podle Váni (1998) [9]:

Říše: Houby

Oddělení: *Chytridiomycota*

Oddělení: *Eumycota* (vlastní houby)

Pododdělení: *Zygomycotina*

Pododdělení: *Ascomycotina*

Pomocné pododdělení: *Deuteromycotina*

Pododdělení: *Basidiomycotina*

1.1.1 Pododdělení: *Zygomycotina* (houby spájkivé)

Stélka obsahuje coenocytické hyfy, přehrádky většinou oddělují jen rozmnožovací struktury. Základní složkou buněčných stěn je chitin, doprovázený chitosanem nebo jinými cukry. Nepohlavně se rozmnožují sporangiosporami [10].

Pohlavně se rozmnožují :

- splýváním dvou gametangií (gametangiogamie),
- haplobiotický životní cyklus
- u některých skupin plazmogamie předchází karyogamii - párování jader v mladé zygospoře.

Vyskytují se jako saprofyty půdní, koprofilní. Některé skupiny zahrnují parazity rostlin, hub i živočichů. Z biotechnologického hlediska slouží k produkci různých látek.

Zástupci pododdělení *Zygomycotina* jsou například rod *Mucor* nebo rod *Rhizopus*.

1.1.2 Pododdělení *Ascomycotina* (houby vřeckaté)

Do této skupiny patří houby, jejichž výtrusy vznikají endogenně ve vřecku, obvykle v počtu osmi. Vřecko má povahu meiosporangia (zralé je tvořeno diploidní buňkou, obvykle je jediná v životním cyklu). U mnoha zástupců za normálních podmínek houba žije jen v anamorfním stadiu. Stélka má přehrádkové mycelium, ve středu přehrádky je jednoduchý pór, který umožňuje průchod cytoplazmy a organel [10].

Při pohlavním procesu dochází ke vzniku dikaryotických hyf, tvoří plodnice, ve kterých dochází ke karyogamii v koncových buňkách a z nich vznikají vřecka.

Jedná se o nejpočetnější skupinu hub, zahrnující cca 60 % známých taxonů.

Zástupci pododdělení *Ascomycotina* jsou např. rody *Aspergillus*, *Penicillium*, *Cladosporium*, *Phoma* a *Alternaria*.

1.1.3 Pododdělení *Deuteromycotina* (houby nedokonalé)

Taxonomická jednotka, která byla uměle vytvořena pro klasifikaci hub v anamorfní fázi. Patří sem pouze:

- druhy, u nichž se nevytváří teleomorfa nebo není známa. Po objevení teleomorfy je druh zařazen do přirozeného systému a z Deuteromycet vyřazen.
- anamorfy všech hub. I těch u kterých se teleomorfy vzácně tvoří, ale anamorfa je převládajícím stadiem.

Rozmnožují se konidiiemi. Ty jsou tvořeny přímo na myceliu nebo na konidioforech. Vysokou genetickou variabilitu druhu zajišťuje parasexuální proces, prostřednictvím styku dvou haploidních hyf dojde ke vzniku heterokaryotického a později diploidního mycelia [10].

Historicky je systém založen na morfologii konidií, v současnosti je však preferováno členění podle tvorby mycelia, charakteru konidií a konidiomat. V pojetí rodů a druhů se neshoduje se systémem přirozeným.

Patří sem například rod *Fusarium* nebo *Trichothecium*.

1.1.4 Pododdělení *Basidiomycotina* (houby stopkovýtrusé)

Skupina hub s převážně makroskopickými plodnicemi, charakteristickým znakem je příslušnost bazidií.

Stélka má vláknité přeřrádkované mycelium, u většiny opatřené soudkovitým dolipórem. Rozlišujeme monokaryotické a dikaryotické mycelium, které ve vegetativní fázi převažuje. U některých druhů se vyskytují útvary zajišťující rovnoměrnou distribuci dělicích se jader v buňkách mycelia (tzv. přezky). Buněčná stěna je tvořena chitinem a polyglukany [10].

Rozmnožují se nepohlavně i pohlavně. Nepohlavní rozmnožování je méně významné. Pohlavně se rozmnožují tak, že splývají primární mycelia za vzniku dikaryotického mycelia. Na něm se vytváří plodnice, v jejich koncových buňkách dochází ke karyogamii a následné meióze. Haploidní bazidiospory vznikají vně na stopečkách.

Do této skupiny patří asi 22000 druhů rozšířených po celém světě. Řadí se sem saprofyté, symbionti i parazité.

1.2 Morfologie plísni

Základem těla mikromycet je vegetativní vláknitý útvar- stélka (thalus) [2]. Stavební jednotkou stélky je duté vlákno- hyfa. Ta může být opatřena přeřrádkou nebo je coenocytická (bez přeřrádek). Typ přeřrádky je charakteristická pro jednotlivá oddělení hub. Jednotlivé buňky hyfy mohou mít jedno jádro (monokaryotické mycelium), dvě jádra (dikaryotické mycelium) nebo více geneticky odlišných jader (heterokaryóza) [8].

Hyfy mohou být větvené, nebo dochází k jejich srůstání postranními výběžky za tvorby spojek - anastomóz. Díky anastomózám si mohou sousední hyfy vyměňovat haploidní jádra. Díky tomuto propojení dochází také k lepšímu transportu živin, cytoplazmy a organel v myceliu. Hyfy rostou pouze na svém vrcholu (apikální rust), jejich tloušťka je několik mikrometru, délka úseku mezi jednotlivými přeřrádkami dosahuje desítky až stovky mikrometru [11]. V růstové zóně hyfy se nachází několik typů měchýřků (vezikulů) s enzymy a složkami pro tvorbu buněčné stěny. Tyto vezikuly jsou cytoskeletem směřovány do koncové části hyfy, kde svůj obsah vylévají do periplazmatického prostoru.

Tvrký polokulovitý útvar tvořený hustou spleťí hyf se nazývá sklerocium. Vyskytuje se hlavně u těch druhů, u nichž není známá tvorba pohlavních ani vegetativních spor. Kožovitá spleť hyf se nazývá stroma a nalézá se často u plísni parazitujících na ovoci a jiném rostlinném materiálu. U některých rodů plísni se kolem jednotlivých buněk mycelia může vytvořit velmi silný obal. Obsah buňky se pak zahustí a vytváří se chlamydospory, které jsou odolné proti nepříznivým podmínkám.

Sporonosné části mycelia mají většinou nápadné zbarvení. Barva mycelia je způsobena pigmenty, které zbarvují nejen buněčnou stěnu vegetativní části plísní, ale hlavně jejich výtrusy - spory. Tvorba pigmentů je dána geneticky. Nejčastěji je tvořeno barvivo zelené nebo modrozelené (velmi často u rodů *Penicillium* a *Aspergillus*), dále se vyskytuje béžové, hnědé až černé zbarvení (rod *Aspergillus*), případně růžové zbarvení (*Trichothecium*) apod. Stěny endospor a blána sporangia u zygomycet obsahují většinou tmavě hnědé barvivo melanoidní povahy, které chrání spory před nepříznivými vlivy ultrafialového záření. Stěny vegetativních hyf jsou většinou bez pigmentace. Pouze u některých čeledí deuteromycet lze nalézt v hyfách zelenočerné barvivo s ochrannou funkcí [12].

Cytoplazma buněk mikromycet obsahuje eukaryotické organely - endoplazmatické retikulum a mitochondrie, rozeznatelné pouze elektronovým mikroskopem. Vakuoly, zrníčka polyfosfátů a kapičky tuku můžeme zjistit v cytoplazmě již ve světelném mikroskopu [13]. Převážnou část buňky tvoří voda, dále jsou obsaženy bílkoviny, glykogen, nukleové kyseliny. Hlavní rezervní látkou plísní jsou lipidy, které tvoří v buňkách různě velké kapénky, které jsou u strašících kultur z buněk uvolňovány. Kromě tuků je zásobní látkou také glykogen a volutin (polyfosfátová granula). Ojedinele byl zjištěn i škrob. Monosacharidy se vyskytují vzácně, obvykle ve fosforylované formě. Bílkoviny se v tělech hub nacházejí jen v omezené míře, protože houby jich mnoho nepotřebují. Kromě uvedených látek se v buňkách některých hub mohou vyskytovat např. látky antibiotické povahy (např. u rodu *Penicillium*), alkaloidy (např. rod *Claviceps*) nebo steroidy a terpeny [4].

Některé houby mají schopnost růst v kvasinkové nebo vláknité formě. Tento fenomén se nazývá dimorfismus. Dimorfických je značný počet mikromycet patogenních pro živočichy [1].

Hyfy vláknitých hub rostou převážně apikálně, tedy na svém volném konci. V růstové zóně hyfy se nachází několik typů měchýřků (vezikulů) s enzymy a složkami pro tvorbu buněčné stěny. Tyto vezikuly jsou cytoskeletem směřovány do koncové části hyfy, kde svůj obsah vylévají do periplazmatického prostoru.

1.3 Rozmnožování mikromycet

Plísně se rozmnožují jednak sporama a jednak rozrůstáním hyf. Spory vznikají buď vegetativním způsobem (tj. nepohlavní spory) nebo po spájení (pohlavní spory) [13]. Spory jsou lehké, ve vodě odpudivé a velice snadno se uvolňují z rozmnožovacích útvarů do okolního prostředí a kontaminují tak i další povrchy předmětů [12].

Spory mohou sloužit k šíření mikroskopických hub nebo jsou to útvary sloužící pro přečkání nepříznivého období. K šíření slouží u mikromycet např. sporangiospory, konidie nebo askospory. Tyto spory jsou většinou malé, tvoří se ve velkém množství a jejich uvolňování je obvykle načasováno do nejprůzračnějších podmínek. Přeživací funkci mají např. makrocysty, sklerocia, zygospor, askospory nebo chlamydospor. Tyto spory jsou obvykle větší a obsahují značné množství zásobních látek. U jednoho druhu mikromycet se mohou vytvářet různé druhy spor, a to většinou v závislosti na podmínkách prostředí [4].

1.3.1 Vegetativní rozmnožování

Vegetativní spory se tvoří buď na vegetativních hyfách nebo na zvláštních fruktifikačních orgánech. Podle způsobu tvorby rozeznáváme oidie neboli artrospory, které vznikají rozpadem vláken v jednotlivé buňky. Fialospory vznikají ze speciální lahvovité buňky neboli fialidy. Jestliže je hyfa nesoucí konidie zřetelně odlišena od ostatních hyf, nazývá se konidiofor.

Endospory vznikající ve vakovitém útvaru zvaném sporangium se nazývají sporangiospory. Sporangium je umístěno na sporangioforu. Z potravinářsky důležitých plísní se sporangia vyskytují pouze u třídy *Zygomycetes*. Sporangiospory mají většinou více jader [13].

1.3.2 Pohlavní rozmnožování

Většina pravých hub je schopna pohlavního rozmnožování, jehož výsledkem je tvorba askospor, bazidiospor nebo zygospor. Pohlavní spory vznikají u heterotalických kmenů spojením jedinců s odlišným pohlavním typem a u homotalických kmenů fúzí jedinců stejného pohlavního typu [8].

Zygomycota jsou charakteristická vytvářením přeměněných hyf zvaných gametangia, která splynou do podoby tlustostěnného zoosporangia obsahujícího zygosporu. *Ascomycota*, neboli houby vřeckovýtrusné produkují pohlavní spory ve vakovité struktuře zvané vřečko, spory se pak nazývají askospory. *Basidiomycota* produkují své pohlavní spory na stopkách – basidiích [1].

1.4 Charakteristika vybraných mikromycet

1.4.1 Třída: *Ascomycetes*

Řád: *Eurotiales*

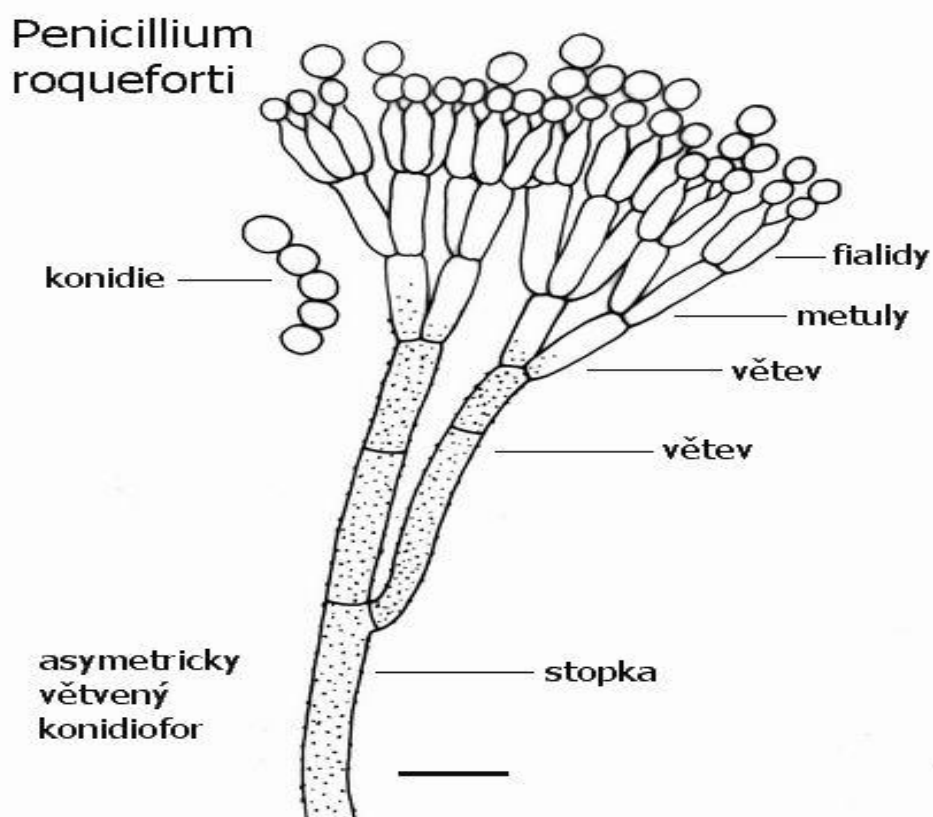
Rod: *Penicillium*

Rod *Penicillium* zahrnuje asi 220 druhů, částečně se jedná o imperfektní stádia rodů *Eupenicillium* a *Talaromyces*, které vytváří pohlavní askospory a jsou řazeny do třídy *Ascomycetes*. Plísň tohoto rodu se vyskytují ve formě septovaného nepigmentovaného mycelia, konidiofory jsou na koncích větvené (Obr 1) v podobě metuly, na kterou přisedají fialidy, z nichž se odškrucují dlouhé řetízky konidií zelenošedé až modré barvy [14].

Penicilia se vyskytují v půdě, ve vodě, na povrchu živých i odumřelých organismů, jejich spory se nachází v ovzduší a ulpívají na nejrůznějších substrátech, na nichž dovedou při minimálních požadavcích na živiny vyklíčit. Vyskytují se prakticky na všech potravinách, zejména pak na pečivu, ovoci a citrusových plodech [7].

Některé druhy, například *Penicillium camemberti*, *Penicillium candidum* nebo *Penicillium roqueforti* se používají jako startérové kultury při výrobě sýrů. Podobně jako zástupci rodu *Aspergillus* i zástupci rodu *Penicillium* dovedou produkovat mykotoxiny, a to i některé kmeny užívané v potravinářství [15].

Až donedávna byl celý rod považován za nepatogenní pro člověka. To již neplatí po prokázání schopnosti jihoasijského druhu *Penicillium marneffei* vyvolat infekci u člověka. Tento druh může v oblastech jižní Asie vyvolávat disseminované infekce u nemocných AIDS, které postihují hlavně plíce, játra a kůži. Kromě zmíněného druhu existuje několik dalších druhů (*Penicillium expansum*, *Penicillium islandicum*) podezřelých z účasti na vzniku lidských onemocnění – onychomykóz a dermatomykóz. Druh *Penicillium veridicatum* produkuje ochratoxin A a způsobuje tak ochratoxikózy nejen u zvířat, ale i u lidí. Konidie penicilií, které se dostanou do dýchacích cest astmatiků nebo alergiků, mohou zhoršovat jejich stav mechanickým drážděním [16].



Obr. 1. Nákres konidioforu *Penicillium roqueforti* [19].

Rod *Aspergillus*

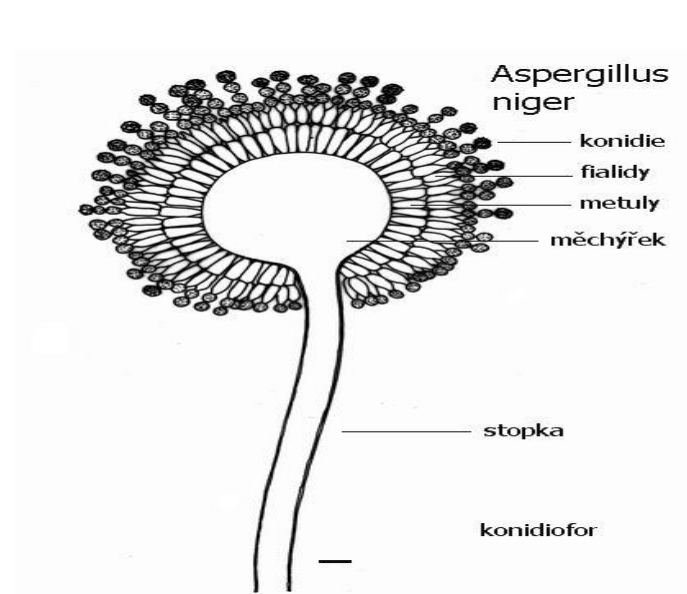
Rod *Aspergillus* obsahuje více než 200 druhů. Zástupci jsou enzymaticky velmi aktivní, často produkují proteolytické, amylolytické i pektolytické enzymy a jsou velmi častým kontaminantem různých druhů potravin, především ovoce, zeleniny, tuků, jedlých olejů a potravin s vysokým obsahem lipidických látek. Velmi častý je výskyt na obilí a pekařských výrobcích [12, 17]. Mnozí zástupci jsou xerofilní a jsou tedy schopni růstu a množení i při nízkých hodnotách vodní aktivity (a_w) [18].

Druhy náležící do rodu *Aspergillus* se rozmnožují se nepohlavními konidii. Mycelium je plst'ovité až vatovité, může být bezbarvé, ale u mnohých druhů je nápadně zbarvené. Starší kolonie jsou úplně překryty bílou, žlutou, zelenou, hnědou nebo černou vrstvou spor [9]. Konidiofory jsou dlouhé, až 3 mm, mají hladkou nezbarvenou stopku, měchýřek je kulovitý a je pokrytý, nákres konidioforu na obr 2. Přítomnost mykotoxinů v potravinách může mít několik příčin. Může to být z důvodu kažení potravin jejich plesnivěním, nebo zpracováním polotovarů

a meziproductů s obsahem mykotoxinů ve výrobě potravin. Po celém povrchu vrstvou metul a fialid, kordialní hlavice jsou paprsčité.

Některé druhy jsou toxinogenní, příkladem mohou být *Aspergillus flavus*, *A. parasiticus* nebo *A. niginus*. *Aspergillus niger* byl považován za netoxinogenní druh, ale u některých kmenů byla zjištěna produkce mykotoxinu ochratoxinu A.

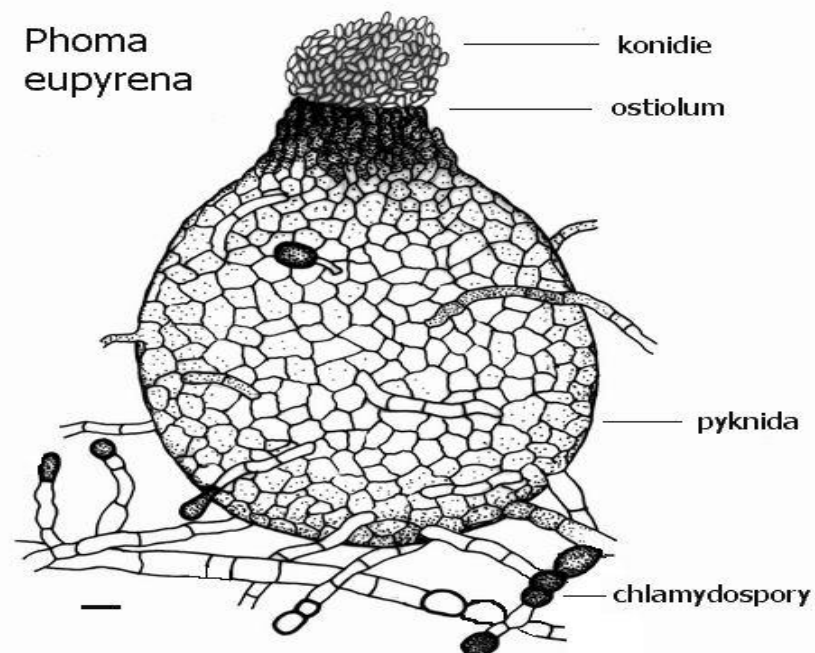
Z potravinářského hlediska jsou důležité zejména druhy *A. flavus*, *A. niger*, *A. parasiticus* nebo *A. nidulans*. Některé kmeny se díky svému enzymatickému vybavení využívají v průmyslu, např. *A. niger* na výrobu kyseliny citronové, další druhy na výrobu amyláz či pektináz [9].



Obr. 2. Nákres konidioforu *Aspergillus niger* [19].

Rod *Phoma*

Rod *Phoma* je široce rozšířený a tvořený velkým množstvím druhů, které obývají různé ekologické niky. Druh *P. herbarum* byl izolován z půdy, vzduchu, trusu a peří ptáků [12]. Rozmnožuje se nepohlavně konidiiemi a chlamydosporami. Kolonie jsou rychle rostoucí. Teplotní optimum růstu je 20 - 21°C, minimum pro růst je -3°C a maximum 32°C. Pyknidy jsou oválné až kulovité se slabě pigmentovanou stěnou a tmavším ústím. Konidie uvnitř pyknid jsou elipsovité, hladké. V myceliu se tvoří jednotlivě nebo v řetězcích tmavě pigmentované chlamydospory (Obr. 3).

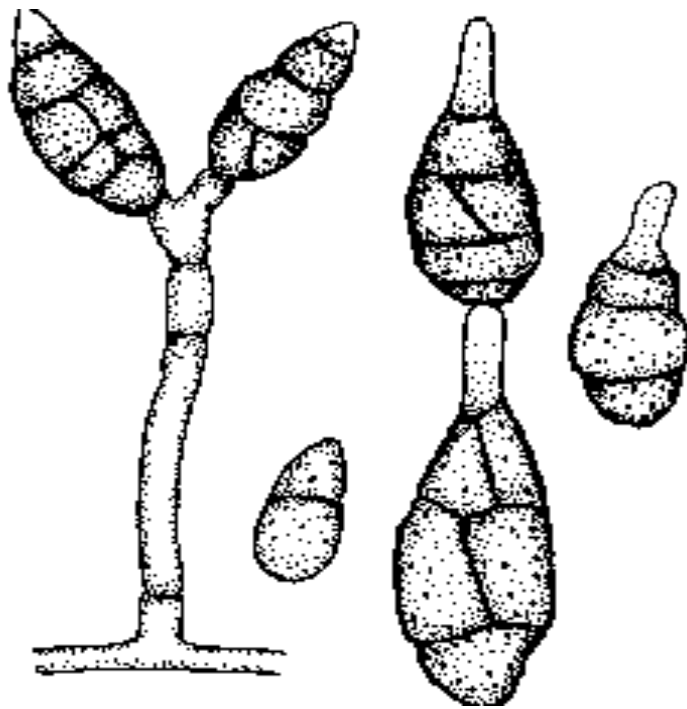


Obr. 3. Nákres konidioforu *Phoma eupyrena* [19].

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 [19].

Konidiofory, jak je vidět na Obr. 4, jsou hustě článkované, málo větvené a vytvářejí po stranách i na koncích vícebuněčné konidie. Ty jsou poměrně velké a mohou být zbarveny žlutě, okrově, světle nebo tmavě hnědě.



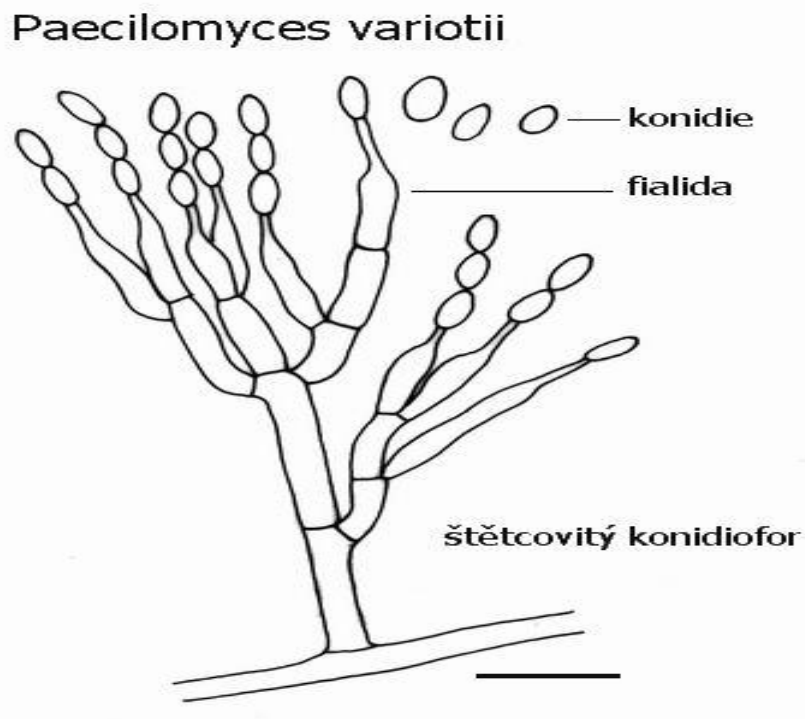
Obr. 4. Nákres konidioforu u rodu *Alternaria* [19].

Rod *Paecilomyces*

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. *Paecilomyces variotii* je rezistentní vůči působení sorbátu, produkuje patulin, je příležitostným původcem mykóz zvířat a člověka [17].

Konidiofory nepravidelně štětcovitě větvené (Obr. 6), s krátkou hladkou stopkou, s větvemi a s metulami, na nichž vyrůstají fialidy. Fialidy jsou typicky protáhlé a s dlouhým krčkem. Konidie vyrůstají z fialid v řetězcích, jsou elipsovité, některé často i méně pravidelného tvaru (např. hruškovitého) [19].



Obr. 5. Nákres konidioforu *Paecilomyces variotii* [19].

Rod *Fusarium*

Plísně rodu *Fusarium* se vyznačují bohatým septovaným šedým, žlutým, hnědým, růžovým, červeným nebo fialovým myceliem, na kterém se tvoří dva typy konidií, mikrokonidie a makrokonidie. Mikrokonidie jsou jednobuněčné, elipsoidního nebo oválného tvaru a mají podstatně menší velikost než makrokonidie. Makrokonidie mají charakteristický rohlíčkovitý nebo srpovitý tvar, jsou tvořeny vždy několika buňkami. U velkého množství druhů se mikrokonidie a makrokonidie vyskytují současně, některé druhy mikrokonidie nevytváří vůbec, jiné mohou produkovat jenom mikrokonidie bez makrokonidií.

Některé druhy vytváří kromě toho ještě chlamydozpy – zduřelé buňky se silnou stěnou uprostřed nebo na konci hyf, případně i v makrokonidiích [12].

Mikroskopické houby rodu *Fusarium* jsou široce rozšířeny v půdě, ale také ve vodě a ovzduší. Jsou to parazité rostlin a způsobují velké škody na rostoucích obilovinách a při skladování rostlinných produktů, jako je kukuřice, ovoce, brambory, citrusy atd. Některé

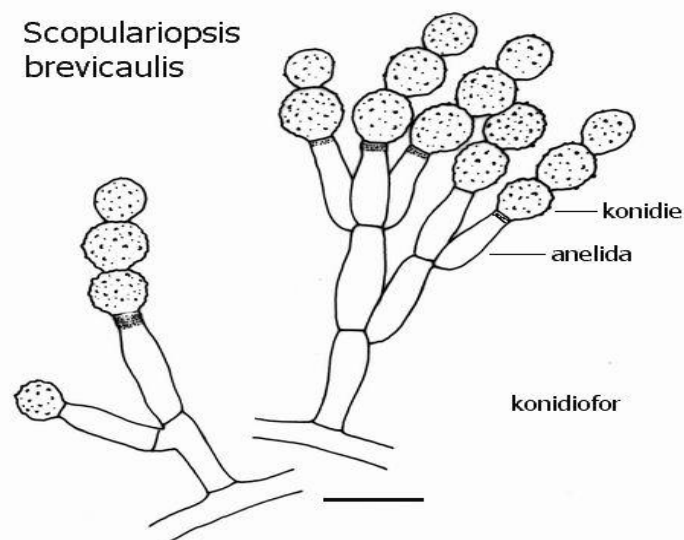
druhy mají schopnost produkovat mykotoxiny v obilí, což může ovlivnit zdraví lidí i zvířat, jestliže se tyto mykotoxiny dostanou do jejich potravního řetězce [20].

Mezi nejznámější toxiny produkované plísněmi tohoto rodu patří skupina trichothecenových mykotoxinů, jako jsou T2 toxin, deoxynivalenol, zearalenon a moniliformin. Fumonisy produkované plísní *Fusarium moniliforme* jsou uváděny jako možné karcinogeny pro člověka. Některé druhy mohou produkovat toxická antibiotika [8].

Dříve byli zástupci rodu *Fusarium* považováni za nepatogenní pro člověka, v současné době jsou však popsány případy mykotických onemocnění určitých osob se sníženou imunitou nebo s oslabeným organizmem [21].

Rod *Scopulariopsis*

Množí se nepohlavními konidii a pohlavními askosporami. Teplotní optimum růstu je mezi 24 a 30°C. Minimální teplota pro růst je 5°C a maximální teplota je 37°C. Rod *Scopulariopsis* má nepravidelně štětcovitě větvené konidiofory, které mají válcovitý tvar a produkují konidie v řetízcích. Konidie jsou vejčité až kulovité s bradavičnatou stěnou. Kolonie jsou okrajově sametově zbarvené. Hojně se vyskytují po celém světě, zvláště na potravinách a krmivech rostlinného i živočišného původu, jako příležitostný patogen způsobuje onemocnění člověka a živočichů (onychomykózy, dermatomykózy) [19].



Obr 6. Nákres konidioforu *Scopulariopsis brevicaulis* [19].

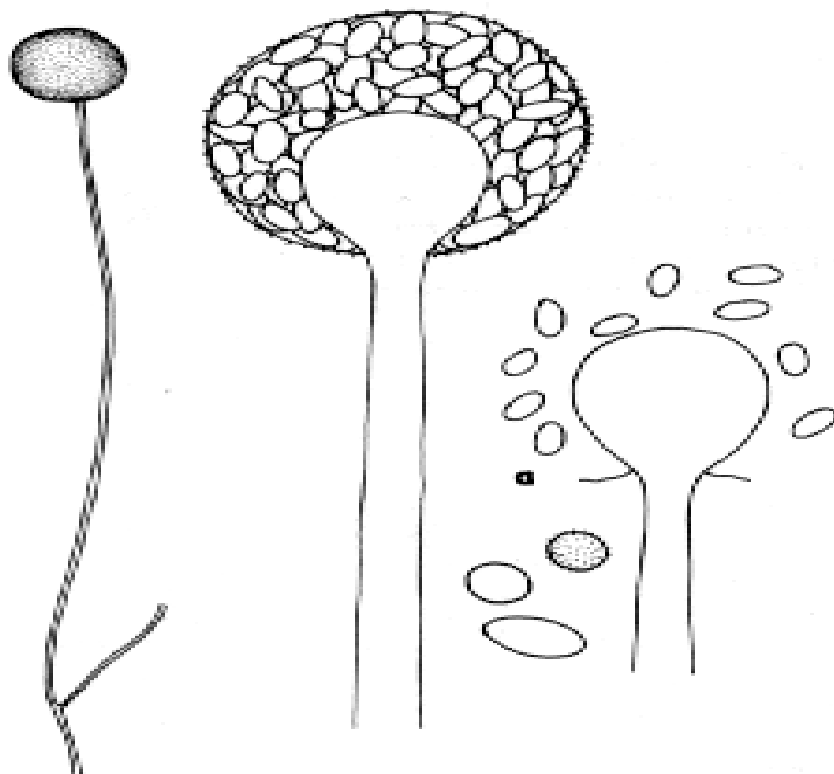
1.4.2 Třída: Zygomycetes

Rod *Mucor*

Rod 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 (Obr. 5) [7].

Vyskytuje se běžně v přírodě; je nalézán v půdě, na rostlinách a kazícím se ovoci a zelenině; může být původcem infekcí u řady živočichů. U člověka vyvolává rhinocerebrální mykózy, otomykózy a infikuje rozsáhlé popáleniny.

Většina zástupců neroste při 37°C. Jejich mycelium je neseptované, spory nejsou volné, ale uzavřené v kulovitém sporangiu. V infikované tkáni se nacházejí silné hyfy. Jsou rezistentní vůči řadě antimykotik kromě amfotericinu B.[22]



Obr. 7. Nákres konidioforu u rodu *Mucor* [23].

Rod *Rhizopus*

Jde o velmi rozšířený rod plísní, které poměrně rychle rostou na různých kultivačních půdách. Tvoří výrazně rozvětvené mycelium šedé barvy. Sporangiofory se vyskytují ve svazcích po

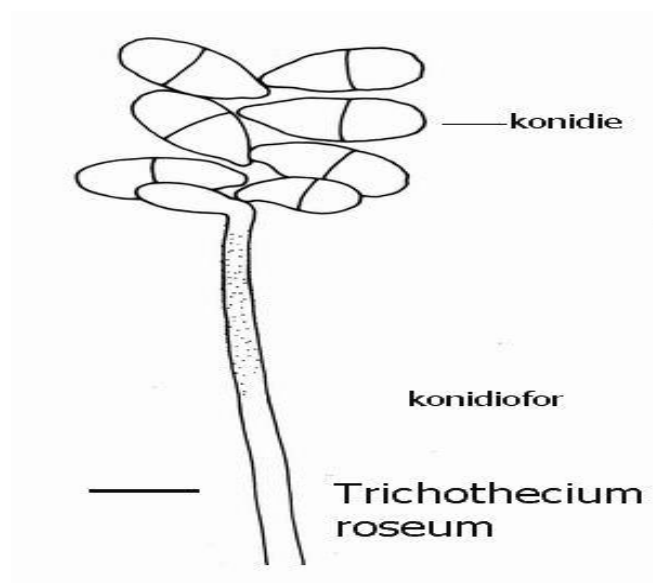
dvou, třech i více, a téměř nikdy se nevětví. Vyrůstají ve výhoncích, stolonech, které vytváří na pevném podkladu kořínkovitě rozvětvené, tmavohnědě zbarvené rhizoidy. Sporangia jsou kulovitěho tvaru, konec sporangioforu pod sporangiem je rozšířený v tzv. apofýzu a přechází spojitě v čočkovitou kolumelu. Po prasknutí sporangia se kolumela s apofýzou typicky kloboukovitě obrací, což je pro tento rod charakteristické [12].

Rod *Rhizopus* je v přírodě velmi rozšířený, způsobuje kažení ovoce i dalších potravin, v mlékárenském průmyslu může znehodnocovat sýry. Bývá původcem vzdušné kontaminace laboratorních půd. Některé druhy jsou schopné tvořit mykotoxiny, některé jsou patogenní. Zástupci tohoto rodu mají fermentační schopnosti, mohou vyvolat také alkoholové kvašení. Známé je použití pro průmyslovou produkci kyseliny fumarové a při mikrobiálních transformacích steroidních sloučenin při výrobě některých léků [21].

1.4.3 Třída: *Deuteromycetes*

Rod *Trichothecium roseum*

Taxonomicky patří mezi mitosporní houby. Rozmnožuje se nepohlavně konidii. Kolonie rodu *Trichothecium* rostou rychle. Optimální teplota pro růst se pohybuje kolem 25°C, růstové minimum je mezi 5 a 15°C a maximum je 35°C. Konidiofory jsou nevětvené, vzpřímené, až 2 mm dlouhé. Na jejich konci vyrůstají konidie střídavě se odchylojící od hlavní osy konidioforu a tvoří řetízky charakteristického tvaru, které se snadno rozpadají. Konidie jsou dvoubuněčné, mají přímou přehrádku, jsou vejčité až hruškovité a mají hladký povrch. Rozeznatelné jsou jejich růžové kolonie. Vyskytují se po celém světě, obzvláště na rostlinných substrátech a v půdě. Produkují mykotoxiny, patřící do skupiny trichothecenů [19].

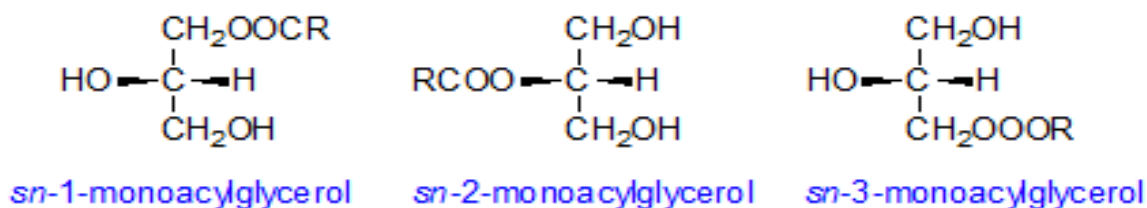


Obr. 8. Nákres konidioforu *Trichothecium roseum* [19].

2 MONOACYLGLYCEROLY

Monoacylglyceroly, někdy také uváděny jako monoglyceridy (MAG) patří společně s diacylglyceroly (DAG) mezi parciální estery trojsytného alkoholu glycerolu s vyššími mastnými kyselinami [25]. Vznikají substitucí vodíku hydroxylové skupiny glycerolu zbytkem mastné kyseliny (acylem) [26]. V živých systémech se častěji než monoacylglyceroly vyskytují triacylglyceroly, obsahující 3 esterově vázané mastné kyseliny, a diacylglyceroly se dvěma mastnými kyselinami. Triacylglyceroly slouží v rostlinných i živočišných organizmech jako rezerva energie a jsou neopominutelnou součástí výživy člověka.

Molekula monoacylglycerolů má amfifilní povahu [27], což do značné míry ovlivňuje vlastnosti těchto látek. Podle toho, která hydroxylová skupina glycerolu je esterifikována mastnou kyselinou, lze rozlišit tři stereochemické formy MAG (Obr. 9).



Obr. 9. stechiometrické formy monoacylglycerolu (R je nasycený nebo nenasycený uhlovodíkový řetězec, Externí uhlíky jsou často pojmenovány α a centrální β) [30].

Jak již bylo zmíněno, molekula MAG je amfipatická, což znamená, že je tvořena jak polární (hydrofilní), tak i nepolární (lipofilní) částí [31]. Díky tomu se molekuly MAG v disperzích orientují na rozhraní mezi nepolární fází (olej nebo vzduch) a polární fází (voda) tak, že hydrofobní konce molekul, tvořené převážně řetězcem mastných kyselin, směřují do hydrofobní fáze, zatímco hydrofilní části molekul směřují do vodné fáze. Molekuly tak vytvoří mezi fázemi orientovaný molekulární film, který usnadňuje dispergaci a stabilizuje disperzi [28]. Tyto vlastnosti předurčují monoacylglyceroly pro využití v různých odvětvích průmyslu, kde se nejčastěji uplatňují jako emulgátory [29].

Fyzikální a chemické vlastnosti MAG jsou určeny především typem a polohou mastné kyseliny vázané na glycerol. Podle charakteru navázané mastné kyseliny mohou být MAG ve

formě kapalné nebo pevné. U kapalných MAG se můžeme setkat s bílým, slámovým až hnědým zabarvením, konzistence je většinou olejovitá. Pevné MAG mohou být ve formě vloček, prášku či drobných korálků. Jsou dobře rozpustné v polárních rozpouštědlech (etanol, isopropanol, atd.), hůře se rozpouštějí v nepolárních rozpouštědlech (aceton, atd.).

Bod tání MAG stoupá s rostoucím počtem atomů uhlíku v molekule, přírůstek je tím menší, čím je větší počet atomů uhlíku. Se zvyšující se nenasyceností mastných kyselin bod tání klesá. Teplota tání monoacylglycerolů je velmi blízká teplotě tání příslušné mastné kyseliny.

MAG jsou také přirozenou součástí jedlých tuků a olejů. V lidském organismu MAG vznikají jako přirozený produkt lipázou katalyzované hydrolýzy tuků a jsou tedy obecně považovány za bezpečné, bez nežádoucích účinků a toxicity vůči sliznicím [32, 29].

Hlavní oblastí využití MAG je bezesporu potravinářský průmysl, ve kterém se uplatňuje shruba 60 - 72 % z celkové roční produkce monoacylglycerolů. Asi 12 % celkové světové produkce MAG je určeno pro kosmetický průmysl. Díky svým lubrikačním, emulgačním a změkčovacím vlastnostem jsou MAG využívány i v textilním a plastikářském průmyslu.

2.1 Výroba monoacylglycerolů

Monoacylglyceroly lze připravit několika způsoby:

1. Hydrolýzou triacylglycerolu
2. Adicí mastných kyselin na glycidol nukleofilním otevřením epoxidového kruhu [33]
3. Interesterifikací:
 - a) acidolýza
 - b) alkoholýza
 - c) transesterifikace esterů vyšších mastných kyselin s glycerolem
4. esterifikací mastných kyselin s glycerolem [26].

V průmyslovém měřítku je pro výrobu MAG nejčastěji využívána glycerolýza přírodních tuků a olejů, přímá esterifikace mastných kyselin s glycerolem a hydrolýza.

Při glycerolýze reagují triacylglyceroly s glycerolem v přítomnosti anorganického katalyzátoru za vysokých reakčních teplot (180 – 220 °C). Při této reakci dochází k přenosu acylových řetězců mastných kyselin triacylglycerolů na glycerol [34].

Zajímavým způsobem syntézy MAG je adice mastných kyselin na glycidol prostřednictvím epoxidového kruhu glycidolu. Reakce je značně univerzální a umožňuje výrobu monoacylglycerolu téměř z jakékoli organické kyseliny. Výhodné jsou i mírné reakční podmínky a kratší doba reakce.

Adiční reakce na násobných vazbách mohou probíhat radikálovým nebo iontovým mechanismem.[35]

Tato reakce patří mezi nejnovější způsoby syntézy MAG a vede k získání velmi čistého produktu. Syntéza MAG probíhá otevřením epoxidového kruhu a následnou nukleofilní adicí MK na glycidol za katalýzy aminů nebo amoniových solí, komplexů $Ti(O-i-Pr)_4$ a lanthanoidů [36]. Jako účinné katalyzátory se využívají komplexy tranzitních kovů (chrom, zinek, hliník), přičemž nejlepších výsledků bylo dosaženo použitím chromitých komplexů vyrobených tavením mastných kyselin a chromitých solí ($CrCl_3 \cdot 6H_2O$) při $160^\circ C$. [37]

2.2 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.

K působení monoacylglycerolů jsou citlivé především bakterie s buněčnou stěnou grampozitivního typu. Příčinou vyšší odolnosti gramnegativních bakterií k působení monoacylglycerolů jsou pravděpodobně rozdíly ve stavbě buněčné stěny [38, 39, 40]. U grampozitivních bakterií je buněčná stěna tvořena silnou vrstvou peptidoglykanu, přes kterou směrem k povrchu buňky probíhají lineární řetězce teichoových kyselin. Buněčná stěna gramnegativních bakterií je tenčí, tvoří ji pouze tenká vrstva peptidoglykanu, nad kterou je tzv. vnější membrána. Ta svojí stavbou připomíná membránu cytoplazmatickou a poskytuje gramnegativním bakteriím další ochrannou vrstvu [41].

Podle mnohých autorů jsou z hlediska antimikrobiální aktivity nejúčinnější monoacylglyceroly kyselin kaprinové a laurové.

Isaacs a kol. uvádí, že mastné kyseliny a jejich monoacylglyceroly, které obsahují 8 až 12 uhlíků v řetězci mastné kyseliny vykazují vyšší antivirovou a antibakteriální aktivitu v porovnání s jejich homology s delšími řetězci. Antibakteriální aktivita nasycených mastných kyselin se projevuje především proti bakteriím grampozitivním [42].

Antimikrobní účinky monoacylglycerolů připravených katalytickou reakcí glycidolu s mastnými kyselinami se zabývali na Fakultě technologické Růžička a kol. Tato studie byla zaměřena na účinky dvou typů MAG (monokaprinu a monolaurinu). Antimikrobní účinky byly studovány na bakteriích, kvasinkách a plísních. Výsledky ukázaly, že minimální inhibiční koncentrace (MIC) monokaprinu byla 100 – 250 mg/l. Při této koncentraci byl MAG schopen zastavit činnost některých testovaných kvasinek a grampozitivních bakterií. V koncentraci 100 – 400 mg/l zastavil růst plísní. Některé z testovaných mikroorganismů byly vůči účinku monokaprinu rezistentní, a to některé gramnegativní bakterie a také plíseň *Mucor racemosus*. Antimikrobní účinek monolaurinu byl zřetelný zejména u grampozitivních bakterií. Minimální inhibiční koncentrace se pohybovala v rozmezí 20 – 200 mg/l.

V nedávné době byla prokázána i dobrá účinnost monoacylglycerolů s jedenácti uhlíky. Vyšetřovala se antimikrobní aktivita monoacylglycerolů s lichým počtem uhlíků připravených z undekanové (MAG C11:0) a undecenové kyseliny. Výsledky ukázaly, že obě studované kyseliny úspěšně inhibovaly Gram pozitivní koky (*Staphylococcus aureus*) a sporotvorné tyčinky (*Bacillus cereus*). Gram negativní bakterie byly vysoce odolné proti monoacylglycerolu C11:0 a vykazovaly i značnou toleranci vůči monoacylglycerolu C11:1. Minimální inhibiční koncentrace (MIC) monoacylglycerolu C11:1 byla možná určit pouze pro *Escherichia coli*. Kompletní inhibice tří rodů hub (*Alternaria*, *Cladosporium* a *Trichothecium*) bylo dosaženo použitím monoacylglycerolu C11:1 v koncentraci vyšší než 750mg/ml. Růst *Aspergillus niger*, *Mucor racemosus*, *Trichoderma*, *Phoma* a *Scopulariopsis* byl výrazně snížen.

Obecně lze říci, že monoacylglycerol C11:1 byl účinnější než monoacylglycerol C11:0 u všech testovaných mikroorganismů. Testované mikromycety produkují značnou škálu rozkladných enzymů, v přítomnosti monoacylglycerolů byla pozorována schopnost adaptace metabolismu a některé mikromycety byly schopny využít testované monoacylglyceroly jako zdroj uhlíku.

Biocidní potenciál monoacylglycerolů se řídí charakterem mastných kyselin vázaných na glycerol. Kyselina laurová tvoří nejúčinnější nasycené a kyselina palmitoolejová tvoří nejúčinnější nenasycené deriváty. Mastné kyseliny se středně dlouhým řetězcem a jejich monoacylglyceroly vykazují vyšší aktivitu než ty s dlouhým řetězcem [43]

2.2.1 Mechanismus inhibičního účinku monoacylglycerolů na 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 nescifických 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.

PRAKTICKÁ ČÁST

3 MATERIÁL A POUŽITÉ METODY

3.1 Materiál

3.1.1 Mikroorganismy

1. *Penicillium candidum*
2. *Penicillium vulpinum*
3. *Aspergillus niger*
4. *Penicillium camemberti*
5. *Phoma* sp.
6. *Trichothecium roseum*
7. *Alternaria brassicicola*
8. *Scopulariopsis* sp. (izolát A)
9. *Penicillium roqueforti*
10. *Scopulariopsis* sp. (izolát B)
11. *Rhizopus* sp.
12. *Trichoderma* sp.
13. *Glyocladium virens* F8042
14. *Paecilomyces variotii* F398
15. *Aspergillus niger* F8155
16. *Chaetomium globosum* F8156
17. *Penicillium funiculosum* F8080

3.1.2 Monoacylglyceroly

Monoacylglyceroly byly vyrobeny adicí příslušných kyselin (Sigma Aldrich, Praha) na glycidol (oxiran-2-yl)metanol (Sigma Aldrich, Praha) za katalýzy chromium (III) acetát hydroxidu $[\text{Cr}_3(\text{CH}_3\text{COO})_7](\text{OH})_2$ (Sigma Aldrich, Praha) postupem podle Janiš a kol. (2000). Vyrobené produkty byly purifikovány rekrystalizací v etanolu a filtrací. Jejich čistota byla ověřena vysokoúčinnou kapalinovou chromatografií (HPLC). Monoacylglyceroly byly vyrobeny v laboratořích Ústavu tuků, tenzidů a kosmetiky (ÚTTTK) Univerzity Tomáše Bati ve Zlíně.

Zásobní roztoky jednotlivých monoacylglycerolů o koncentraci 10 % (w/v) byly připraveny rozpuštěním příslušné navážky MAG v 96 % etanolu.

Pro testování vlivu monoacylglycerolů na růst potravinářsky významných mikromycet byly zvoleny níže uvedené monoacylglyceroly:

Monoacylglycerol kyseliny kaprylové- MAG C8:0

Monoacylglycerol kyseliny kaprinové- MAG C10:0

Monoacylglycerol kyseliny undekanové- MAG C11:0

Monoacylglycerol kyseliny laurové- MAG C12:0

Monoacylglycerol kyseliny palmitové- MAG C16:0

3.1.3 Další použité chemikálie:

96 % Ethanol

Destilovaná voda

3.1.4 Kultivační půdy

Po stanovení účinku monoacylglycerolů na růst mikromycet bylo použito komerčně dodávané kultivační médium Sabouraud agar (SAB, Hi-Media). Tato živná půda byla sterilizována v autoklávu při teplotě 121°C po dobu 20 minut.

3.1.5 Pomůcky a přístroje

Mikropipety

Autokláv

Plastové i skleněné Petriho misky

Plastové zkumavky s uzávěrem

Lžička

Jehla- očkovací

Analytické váhy

Popisovací fix

Kahan

Skleněné lahve 0,5l s uzávěrem

Skleněné lahve 1,0l s uzávěrem

Kádinka 50 ml

Fotoaparát

Stativ

Program na PC ACC 32

3.2 Metody

3.2.1 Příprava kultivační půdy

Kultivační půda Sabouraud Agar byla připravena do skleněné sklenice s plastovým uzávěrem. Podle návodu na obalu se na 1 litr destilované vody naváží na analytických vahách 65 g půdy. Půda byla sterilizována v autoklávu při 121°C po dobu 20 minut.

Po sterilizaci v autoklávu byly do půd ochlazených na 60°C přidány jednotlivé MAG ve formě 10 % roztoku, tak aby výsledná koncentrace MAG v médiu byla 250, 750, 1000 a 1500 µg/ml. Půdy byly následně nality na Petriho misky a ponechány vyschnout při laboratorní teplotě do druhého dne.

3.2.2 Očkování mikromycet

Zaočkování kultivační půdy vybranými druhy mikromycet bylo provedeno vpichem očkovací jehlou. Po zaočkování byla Petriho miska ihned uzavřena, aby nedošlo k nežádoucí kontaminaci mikroorganismy z prostředí a ze vzduchu. Jednotlivé misky byly pečlivě popsány a kultivovány při laboratorní teplotě 14 dnů. Od každé koncentrace každého monoacylglycerolu, i čisté kultivační půdy bez přídavku monoacylglycerolu, byly naočkovány dvě Petriho misky.

3.2.3 Hodnocení růstu mikromycet

Během kultivace byly jednotlivé Petriho misky fotografovány. Při pořizování fotografií byl ke každé misce přiložen štítek červené barvy o rozměrech 2 x 4 cm. Tento štítek sloužil při obrazové analýze jako měřítko pro výpočet plochy kolonií. Fotografie byly vhodně popsány a

výpočet plochy kolonií byl proveden s použitím počítačového programu pro analýzu obrazu ACC 32.

Fotografie byly pořizovány denně po celou dobu kultivace, tedy 14 dní. Počítačová analýza obrazu umožnila změřit plochu kolonií jednotlivých mikromycet a tyto hodnoty byly zaznamenávány do tabulek. Inhibiční účinek monoacylglycerolů byl vyjádřen jako index růstu (IR) po 7 a 14 dnech kultivace. Hodnota IR srovnává velikost kolonie mikromycety rostoucí na půdě s přídatkem určité koncentrace MAG s velikostí kolonie kontrolní kultury, tedy mikromycety rostoucí na půdě bez přídatku MAG:

$$IR (\%) = \frac{\text{plocha kolonie (MAG)}}{\text{plocha kolonie kontroly}} \times 100$$

Hodnoty indexu růstu byly zaneseny do tabulek a byly zhotoveny grafy pro jednotlivé testované mikroorganismy.

4 VÝSLEDKY

Antimikrobiální účinek monoacylglycerolů byl studován na širokém spektru potravinářsky významných mikromycet. Zkoumány byly účinky těchto monoacylglycerolů: monoacylglycerol kyseliny kaprylové (MAG C8:0), monoacylglycerol kyseliny kaprinové (MAG C10:0), monoacylglycerol kyseliny undekanové (MAG C11:0), monoacylglycerol kyseliny laurové (MAG C12:0) a monoacylglycerol kyseliny palmitové (MAG C16:0).

4.1 Vliv monoacylglycerolů na růst bakterií

Byla zvolena skupina pěti monoacylglycerolů. Testovány byly MAG nasycených mastných kyselin se sudým počtem uhlíků (MAG kyseliny kaprylové MAG C8:0, MAG kyseliny kaprinové MAG C10:0, MAG kyseliny laurové MAG C12:0, MAG kyseliny palmitové MAG C16:0) a MAG nasycených mastných kyselin s lichým počtem uhlíků (MAG kyseliny undekanové MAG C11:0).

Tyto uvedené MAG byly testovány na patnácti druzích vláknitých mikromycet. Růst vláknitých hub na pevném médiu Sabouraud Agar byl dokumentován pořízením fotografií, které byly následně zpracovány pomocí obrazové analýzy s využitím počítačového programu ACC32.

Hodnoty indexu růstu jednotlivých mikromycet rostoucích v přítomnosti pěti monoacylglycerolů jsou formou grafů prezentovány v následujících podkapitolách.

4.1.1 Vliv monoacylglycerolů na růst *Penicillium candidum*

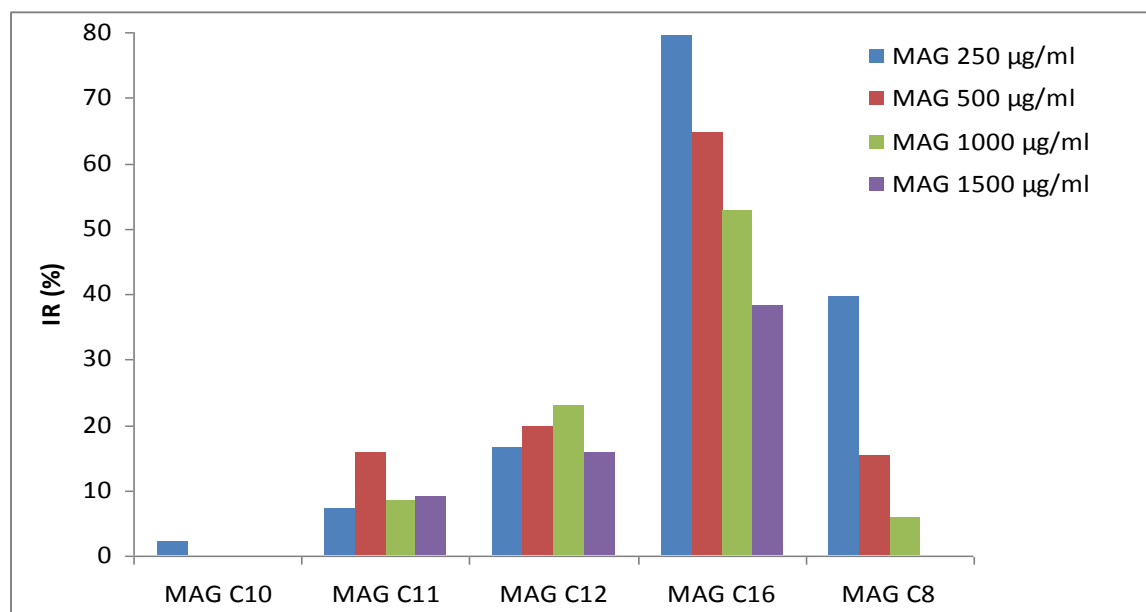
Antimikrobiální účinky vybraných monoacylglycerolů na růst *Penicillium candidum* byly sledovány za použití těchto koncentrací MAG: 250, 500, 1000 a 1500 µg/ml.

Případný inhibiční účinek monoacylglycerolů po 7 dnech kultivace byl hodnocen jako index růstu a je graficky znázorněn na obr 10.

Pokles hodnoty indexu růstu byl zaznamenán se zvyšující se koncentrací monoacylglycerolů. Nejlepší inhibiční účinky na růst a množení *Penicillium candidum* byly zjištěny pro MAG kyseliny kaprinové (MAG C10:0). Pro tento MAG v koncentraci 500, 1000 a 1500 µg/ml nebyl zaznamenán žádný růst a došlo tedy k úplné inhibici růstu. Nejnižší účinnost byla pozorována u MAG kyseliny palmitové (MAG C16:0), u kterého je viditelný růst při všech použitých koncentracích. U MAG kyselin laurové a undekanové (MAG C12:0 a MAG C11:0) je patrný značný pokles růstu mikromycet oproti kontrolnímu vzorku bez přídavku MAG. Tento inhibiční

účinek byl pozorován už u nejnižší testované koncentrace 250 $\mu\text{g/ml}$ a další zvýšení koncentrace nevedlo ke zlepšení antifungální aktivity a index růstu byl téměř stejný i v rozmezí koncentrací 500 - 1500 $\mu\text{g/ml}$.

Ačkoli byla po 7 dnech kultivace pozorována inhibice růstu *P. candidum* způsobená přítomností monoacylglycerolů v médiu, po 14 dnech kultivace byl zaznamenán nárůst mikromycety po celé ploše Petriho misky a to nejen u kontrolního vzorku, ale i u všech vzorků s přidavkem MAG.

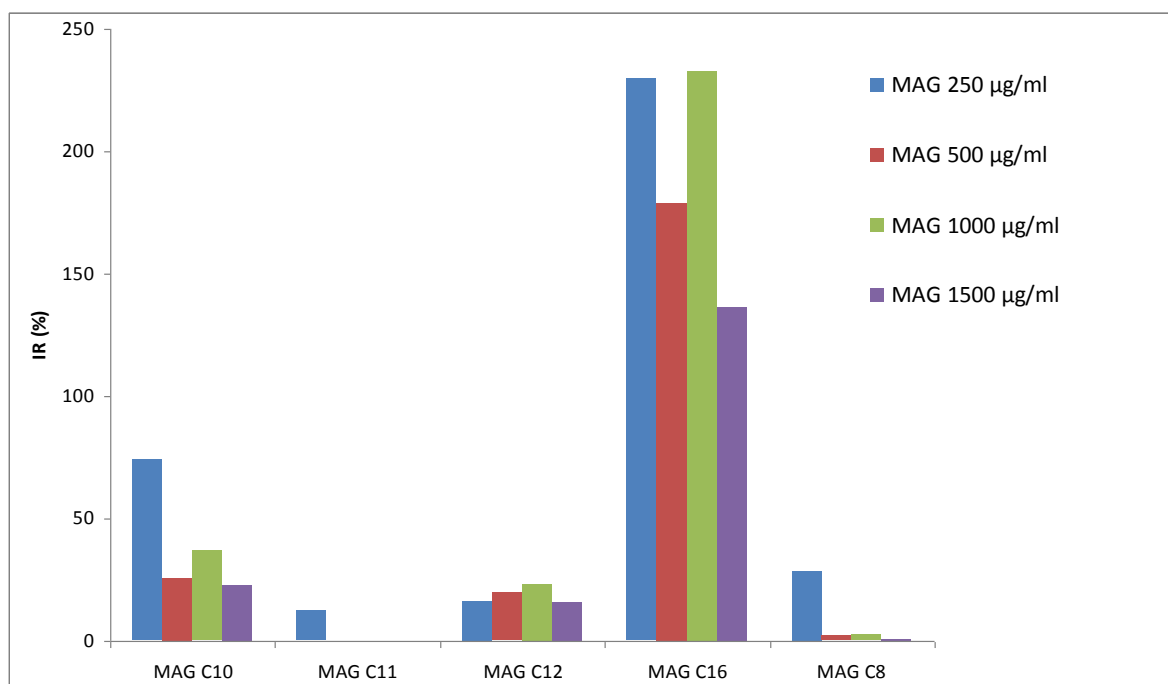


Obr. 10. Vliv monoacylglycerolů na růst *Penicillium candidum* po 7 dnech kultivace.

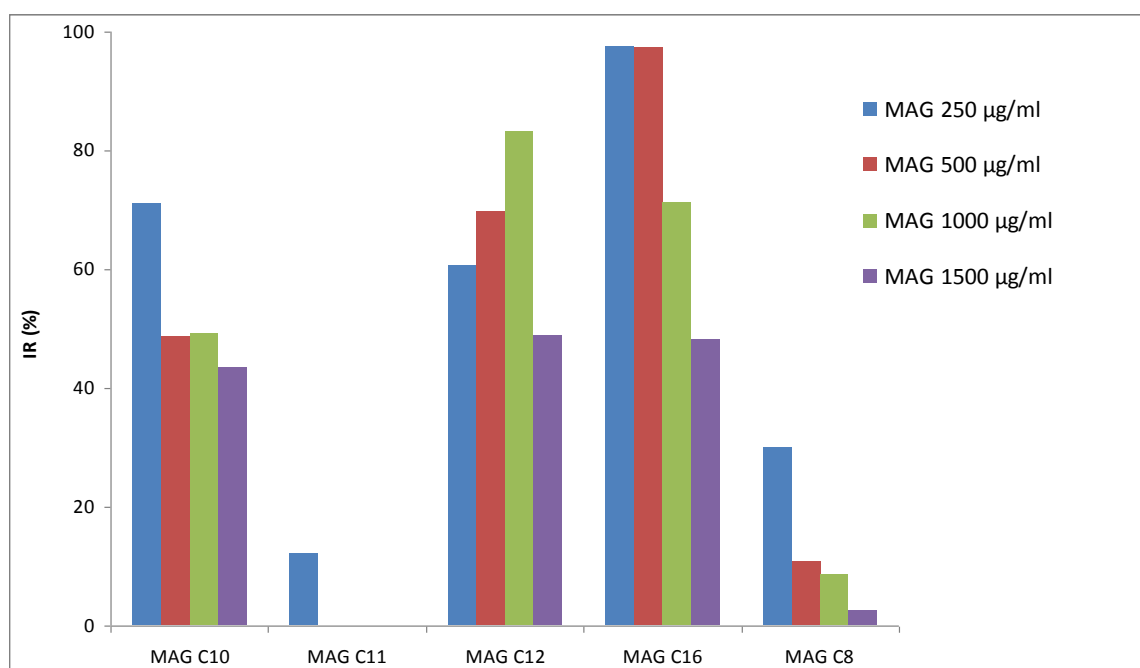
4.1.2 Vliv monoacylglycerolů na růst *Penicillium vulpinum*

Účinky vybraných monoacylglycerolů na růst *Penicillium vulpinum* byly studovány ve stejných koncentracích jako u *P. candidum* a účinek MAG byl hodnocen jako index růstu. Výsledky jsou a graficky znázorněny na obr 11.

Pokles hodnoty indexu růstu byl zaznamenán se zvyšující se koncentrací monoacylglycerolů. Nejlepší inhibiční účinky na růst a množení *Penicillium vulpinum* byly zjištěny pro MAG kyseliny undekanové (MAG C11:0), kde už při koncentraci 500 $\mu\text{g/ml}$ nebyl pozorován růst *P. vulpinum* a došlo tedy k úplné inhibici růstu. Velmi dobré antimikrobiální účinky vykázal také MAG kyseliny kaprylové (MAG C8:0), kde ještě při koncentracích 500 a 1000 $\mu\text{g/ml}$ dosáhl po 7 dnech kultivace index růstu hodnot 1,965 a 2,416 %, po 14 dnech se index růstu zvýšil na hodnoty 10,644 a 8,847%, jak je vidět na obr. 12.



Obr. 11. Vliv monoacylglycerolů na růst *Penicillium vulpinum* po 7 dnech kultivace.



Obr. 12. Vliv monoacylglycerolů na růst *Penicillium vulpinum* po 14 dnech kultivace.

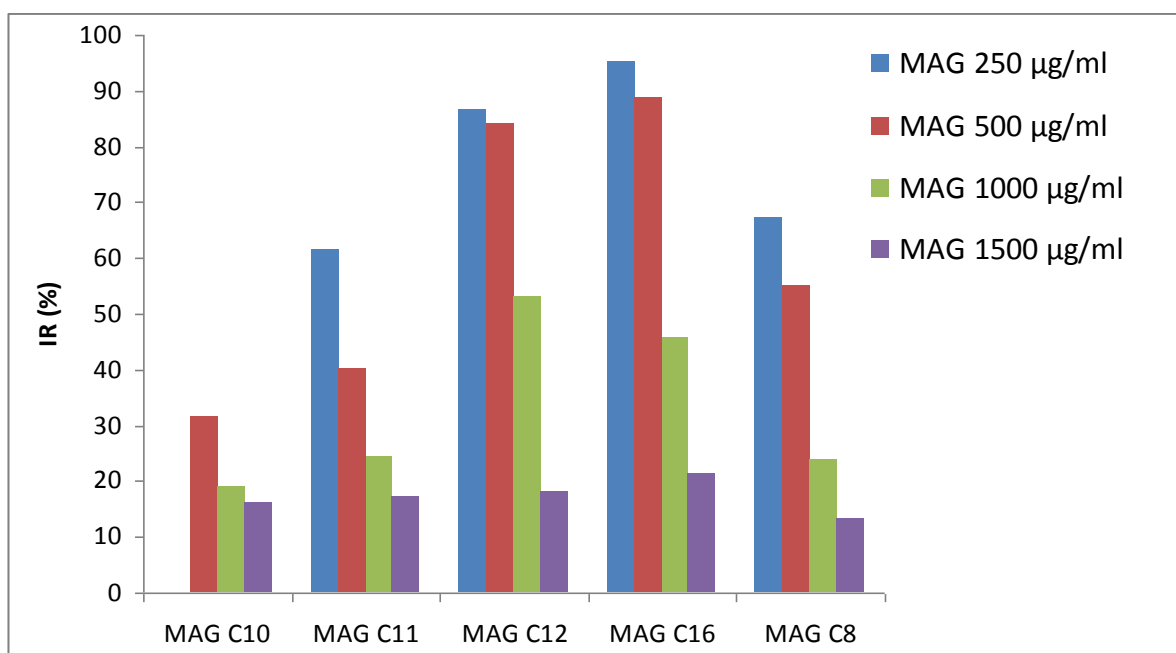
4.1.3 Vliv monoacylglycerolů na růst *Penicillium roqueforti*

Pro sledování účinků monoacylglycerolů na růst *Penicillium roqueforti* byly zvoleny stejné koncentrace MAG jako v případě *Penicillium vulpinum*. Výsledky vyjádřené jako

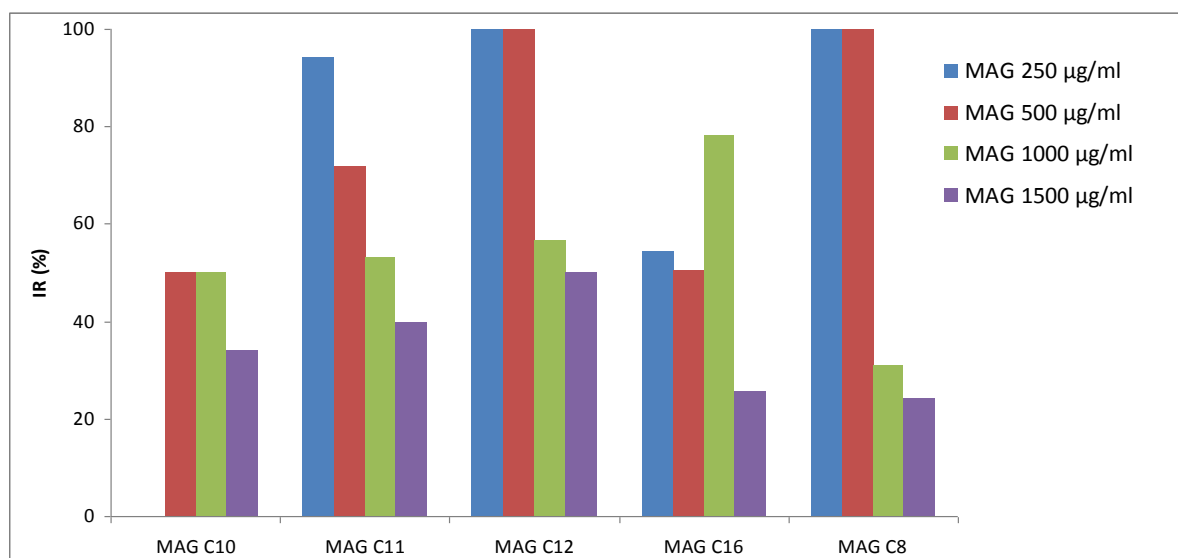
index růstu uvádí obr. 13.

Nejlepší inhibiční účinky na růst a množení *Penicillium roqueforti* byly zjištěny pro MAG kyseliny kaprinové (MAG C10:0), kdy při koncentraci 250 $\mu\text{g/ml}$ nedošlo k růstu a index růstu byl roven hodnotě 0, při vyšší koncentraci 500 $\mu\text{g/ml}$ vláknité mikromycety na povrchu Petriho misky rostly, ale jejich index růstu byl roven pouze hodnotě 31,566 %. Nejhorší antimikrobní účinek byl prokázán u MAG kyseliny palmitové (MAG C16:0), kde zvláště při nižších koncentracích 250 a 500 $\mu\text{g/ml}$ hodnoty indexu byly stále vysoké 95,454 a 88,774 %. Špatné inhibiční účinky byly sledovány i u MAG kyseliny laurové (MAG C12:0), kde při koncentraci 250 a 500 $\mu\text{g/ml}$ došlo také jen k poklesu indexu růstu na 86,890 a 84,163 %.

Po 14ti denní kultivaci se nejlepší antimikrobiální účinek opět projevil u MAG kyseliny kaprinové (MAG C 10:0). Indexy růstu vzrostly u téměř všech monoacylglycerolů, jen u MAG kyseliny palmitové (MAG C 16:0) se index růstu po 7 dnech snížil, jak je vidět na obr. 14.



Obr. 13. Vliv monoacylglycerolů na růst *Penicillium roqueforti* po 7 dnech kultivace.



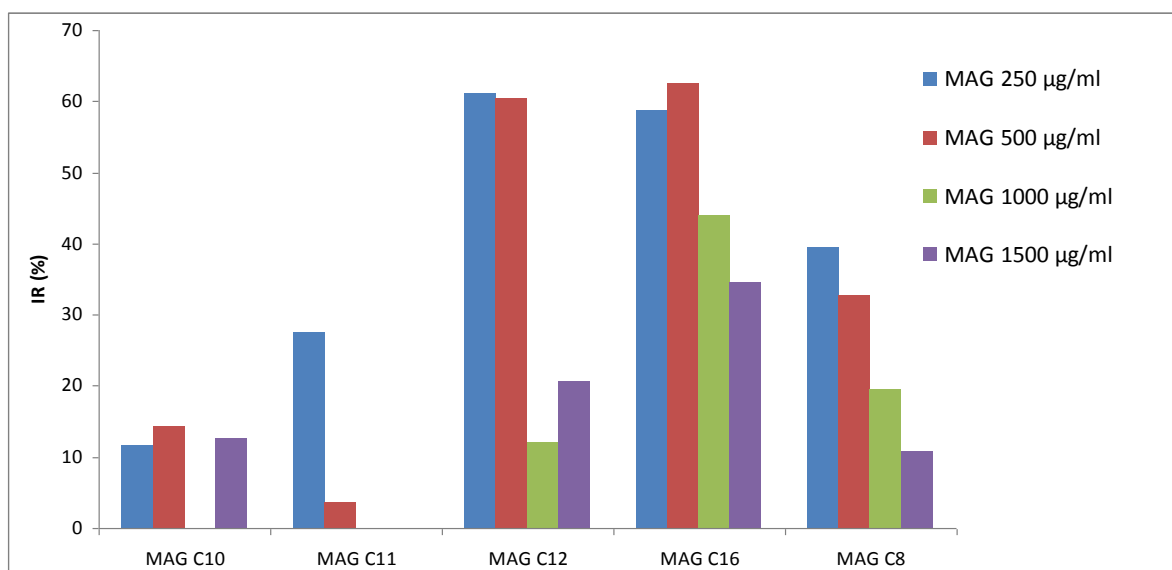
Obr. 14. Vliv monoacylglycerolů na růst *Penicillium roqueforti* po 14 dnech. kultivace

4.1.4 Vliv monoacylglycerolů na růst *Penicillium camemberti*

Vliv monoacylglycerolů na růst *P. camemberti* je graficky znázorněn na obr. 15.

Nejlepší inhibiční účinky na růst a množení *Penicillium camemberti* byly prokázány u MAG kyselin kaprinové a undekanové. U MAG kyseliny undekanové (MAG C11:0) jsou antimikrobiální účinky znát již od koncentrace 500 µg/ml, kdy byl index růstu snížen pod hodnotu 3,587 %. U koncentrací 1000 a 1500 µg/ml nebyl zaznamenán žádný růst a došlo k úplné inhibici růstu. Nejmenší účinek byl zaznamenán u MAG kyseliny palmitové (MAG C16:0), kde index růstu u koncentrace 500 µg/ml klesl jen na hodnotu 62,619 %. U MAG kyseliny laurové (MAG C12:0) byl největší inhibiční efekt pozorován u koncentrace 1000 µg/ml, kde byl index růstu snížen na hodnotu 11,997 %.

.I přes obsah monoacylglycerolů v živné půdě došlo k nárůstu kolonií *Penicillium Camemberti* po 14-ti denní kultivaci na celé ploše Petriho misky.



Obr. 15. Vliv monoacylglycerolů na růst *Penicillium camemberti* po 7 dnech kultivace.

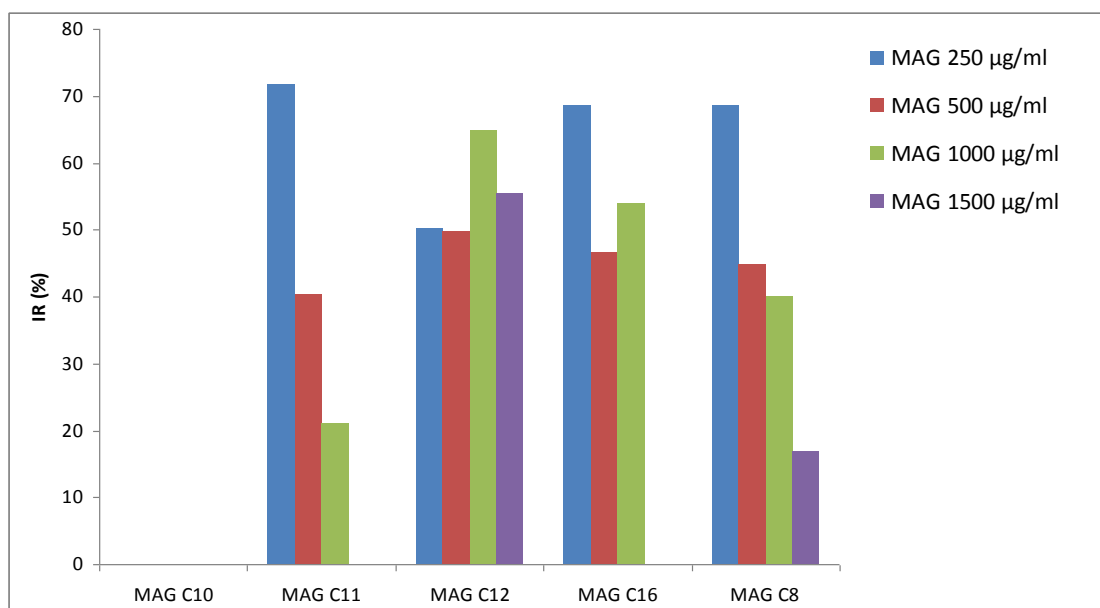
4.1.5 Vliv monoacylglycerolů na růst *Penicillium funiculosum* F8080

Pro sledování účinků monoacylglycerolů na růst *Penicillium funiculosum* byly studovány na stejných koncentracích jako ostatní mikromycety 250- 1500 µg/ml.

Index růstu je graficky znázorněn na obr. 16.

Nejlepší inhibiční účinky na růst a množení *Penicillium funiculosum* byly zjištěny pro MAG kyseliny kaprinové (MAG C10:0), který úplně zabránil růstu této mikromycety už při nejnižší testované koncentraci, tedy koncentraci 250 µg/ml. Jako účinný se z antimikrobiálního hlediska jeví i MAG kyseliny undekanové (MAG C11:0), u kterého byl zastaven růst mikromycet při koncentraci 1500 µg/ml. Téměř žádný inhibiční vliv neměl MAG kyseliny laurové (MAG C 12:0).

Po 14 dnech kultivace došlo k tomu, že všechny Petriho misky, kontrolní vzorky i vzorky, které obsahovaly MAG, byly prorostlé po celé ploše koloniemi *Penicillium funiculosum*, a prot nebylo možné je graficky znázornit.



Obr. 16. Vliv monoacylglycerolů na růst *Penicillium funiculosum* po 7 dnech kultivace.

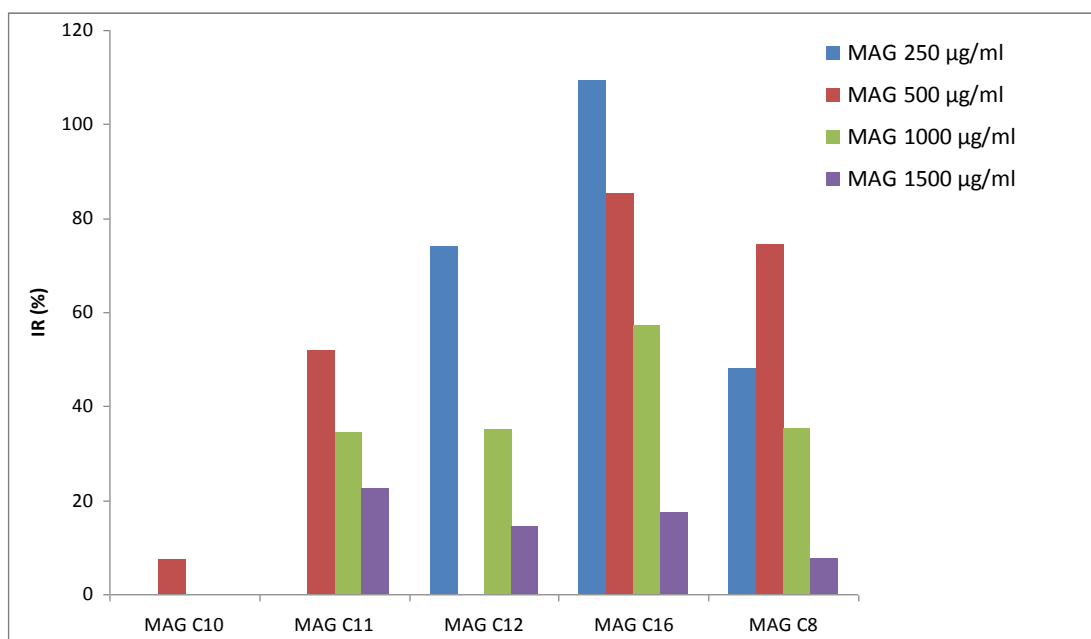
4.1.6 Vliv monoacylglycerolů na růst *Aspergillus niger*

Pro studium účinků vybraných monoacylglycerolů na růst *Aspergillus niger* byly použity koncentrace MAG:250-1500µg/ml jako u ostatních mikromycet.

Po 7denní kultivaci byl zhodnocen účinek monoacylglycerolů na potlačení růstu mikromycet jako hodnota indexu růstu. Jeho výsledek byl zaznačen do grafu na obr. 17.

Snižující se hodnota indexu růstu byla zjištěna se zvyšující se koncentrací monoacylglycerolů. MAG kyseliny kaprinové (MAG C10:0) snížil IR nejvíce. Od koncentrace 1000µg/ml dochází k zastavení růstu a nastává úplná inhibice růstu. Další monoacylglycerol, u kterého byly prokázány dobré antimikrobiální účinky je MAG kyseliny undekanové (MAG C11:0), kde byl index růstu snížen u koncentrace 500 µg/ml na hodnotu 51,753 %, u vyšších koncentrací byl snížen až na 22,384 %. U MAG kyseliny kaprylové (MAG C8:0) je antimikrobiální účinek znát až při koncentraci 1500µg/ml, kdy klesl index růstu na hodnotu 7,734 %. Nejslabší inhibiční účinek na růst *A. niger* měl MAG kyseliny palmitové (MAG C16:0).

Testované MAG prokázali svůj antimikrobní účinek už po 7 dnech kultivace byly narostlé kolonie *Aspergillus niger* po celé Petriho misce. U grafického znázornění bylo dosaženo 100% indexu růstu.



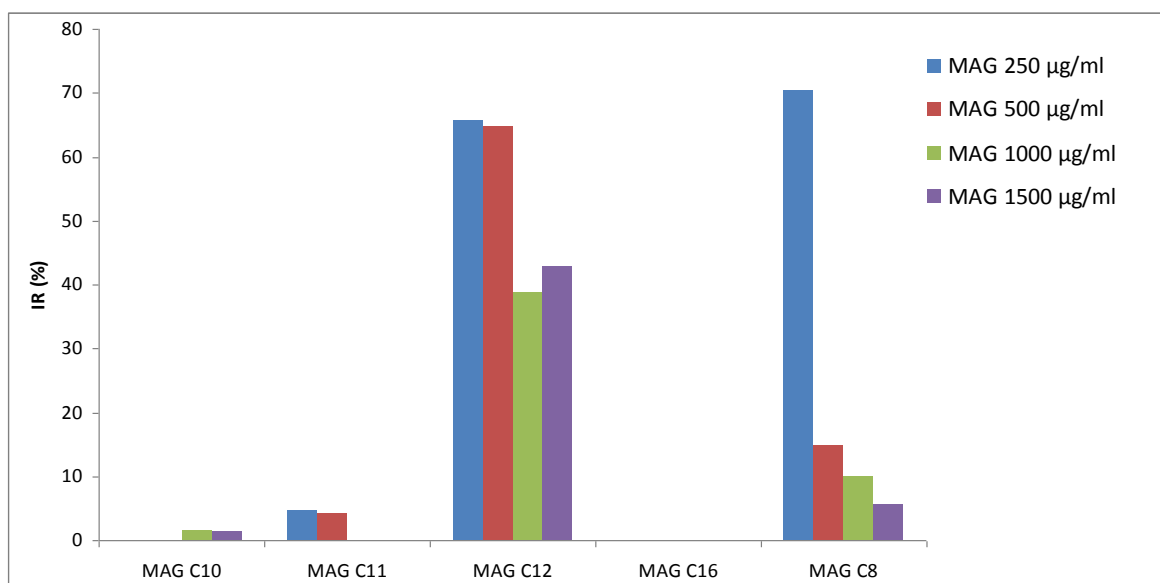
Obr. 17. Vliv monoacylglycerolů na růst *Aspergillus niger* po 7 dnech kultivace.

4.1.7 Vliv monoacylglycerolů na růst *Aspergillus niger* F8155

Pro sledování účinků monoacylglycerolů na růst *Aspergillus niger* byly studovány na koncentracích MAG: 250, 500, 1000, 1500 µg/ml.

Index růstu a graficky znázorněn na obr. 18.

Pokles hodnoty indexu růstu byl zaznamenán se zvyšující se koncentrací monoacylglycerolů. Nejvyšší aktivitu vůči *Aspergillus niger* F8155 mají MAG kyseliny palmitové, MAG kyseliny undekanové a MAG kyseliny kaprinové. MAG kyseliny palmitové (MAG C16:0) úplně zabránil růstu mikromycet už při koncentraci 250 µg/ml. U MAG kyseliny undekanové při koncentraci 1000 µg/ml nedošlo k růstu mikromycet. MAG kyseliny kaprinové (MAG C10:0) zastavil růst *A. niger* při koncentracích 250 a 500 µg/ml. U koncentrace 1000 µg/ml byla hodnota indexu růstu 1,550 % a u koncentrace 1500 µg/ml byla 1,289 %. Nejhorší antimikrobiální účinky byly prokazatelné u MAG kyseliny laurové (MAG C12:0). Jako špatný inhibitor se ukázal i MAG kyseliny kaprylové (MAG C8:0) při koncentraci 250 µg/ml, kdy dosahoval hodnoty 70,442 %. Testované MAG prokázali svůj antimikrobiální účinek už po 7 dnech kultivace, ovšem po 14 dnech kultivace byly mikromycet rozrosteny po celé ploše Petriho misky. Grafické znázornění by dosahovalo u všech MAG 100%.

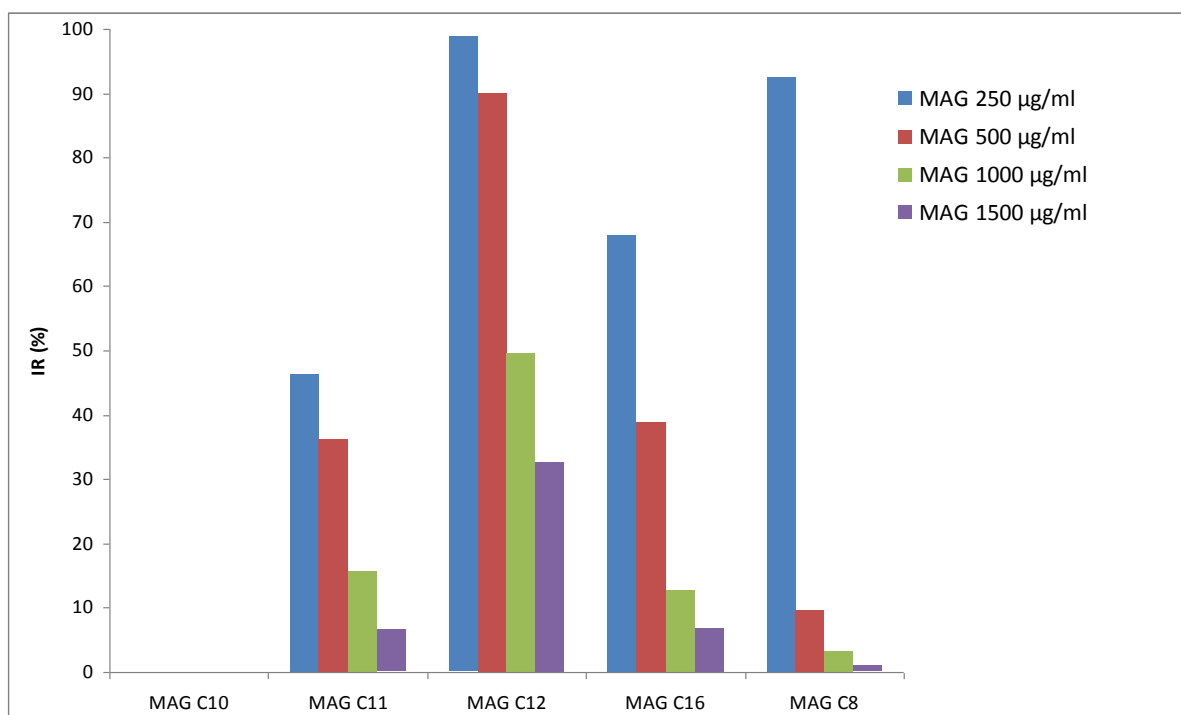
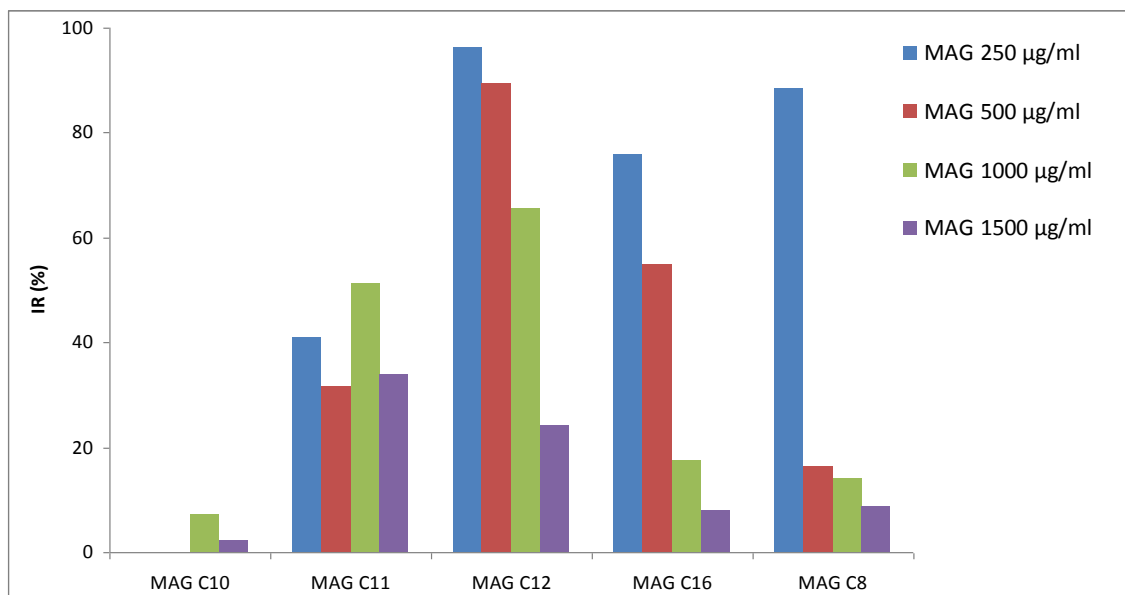


Obr. 18. Vliv monoacylglycerolů na růst *Aspergillus niger* F8155 po 7 dnech kultivace.

4.1.8 Vliv monoacylglycerolů na růst *Phoma* sp.

Pro sledování účinků monoacylglycerolů na růst *Phoma* byly zvoleny stejné koncentrace MAG jako v případě *P. camemberti*. Výsledky vyjádřené jako index růstu uvádí obr. 19.

Inhibiční účinky na růst a množení *Phoma* sp. byly prokázány u MAG kyseliny kaprinové (MAG C10:0), kde nedošlo k růstu po dobu 7 dní, vyhodnocení bylo možné až po 14 dnech kultivace, kdy nastal růst mikromycety. Velmi dobré antimikrobiální účinky vykazoval i MAG kyseliny kaprylové (MAG C8:0), od koncentrace 500 µg/ml dosáhl index růstu hodnoty 9,548 %, u vyšších koncentrací se ještě snížil. Po 14 denní kultivaci se hodnoty IR pro MAG C8:0 v rozmezí koncentrací 500 - 1500 µg/ml mírně zvýšily, avšak stále nepřesahovaly hodnotu 20 %. Nejmenší antimikrobiální účinky vykazoval MAG kyseliny laurové (MAG C12:0). Antimikrobiální účinek po 14-ti denní kultivaci byl vyhodnocen jako index růstu a znázorněn graficky na obr. 20.

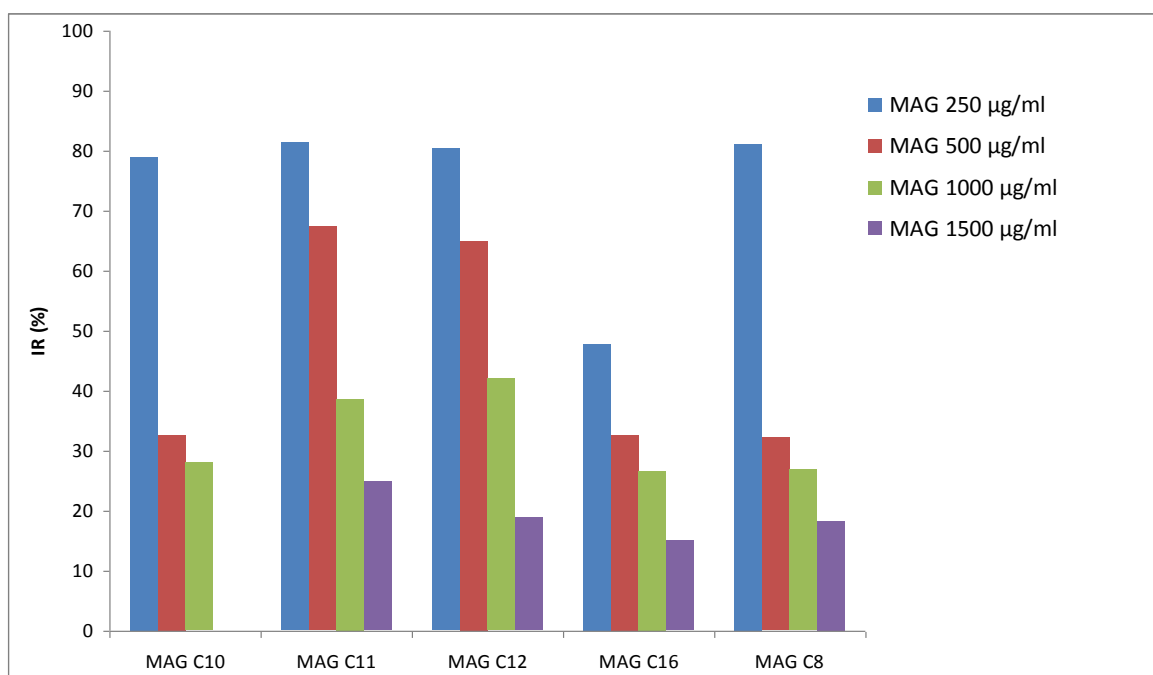
Obr. 19. Vliv monoacylglycerolů na růst *Phoma* sp. po 7 dnech kultivace.Obr. 20. Vliv monoacylglycerolů na růst *Phoma* sp. po 14 dnech kultivace.

4.1.9 Vliv monoacylglycerolů na růst *Trichothecium roseum*

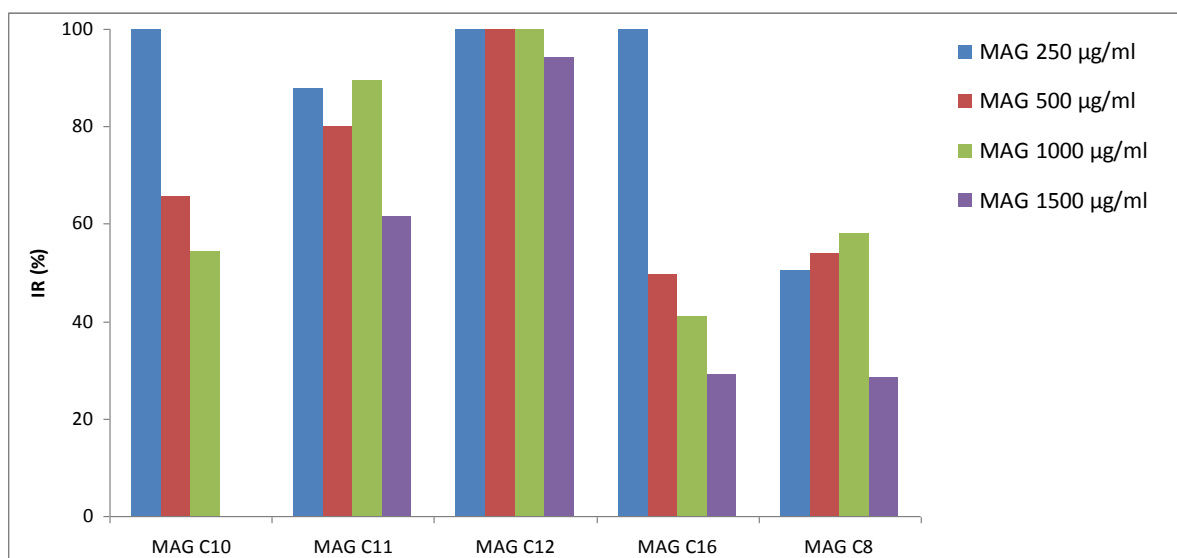
Růst *Trichothecium roseum* v přítomnosti MAG byl sledován ve stejných koncentracích jako u ostatních druhů mikromycet, tedy 250, 500, 1000, 1500 µg/ml.

Indexem růstu byl vyhodnocen inhibiční účinek po kultivaci 7 dní růstu a znázorněn jako graf na obr. 21, účinek po 14 dnech kultivace je vyjádřen na obr. 22.

U *Trichothecium roseum* byl testován jako MAG s nejlepšími antimikrobiálními vlastnostmi MAG kyseliny palmitové (MAG C16:0), u kterého došlo k výraznému poklesu už při koncentraci 250 $\mu\text{g/ml}$ na hodnotu 47,801 %. MAG kyselin undekanové (MAG C11:0) a laurové (MAG C12:0) měly téměř stejné antimikrobní účinky a mezi zvolenými monoacylglyceroly se jeví jako monoacylglyceroly s nejnižší schopností inhibovat růst této plísně. U MAG kyseliny kaprinové (MAG C10:0) byl antimikrobní účinek prokázán při koncentraci 1500 $\mu\text{g/ml}$, kdy už došlo ke kompletní inhibici růstu. Po 14 denní kultivaci došlo k navýšení indexů růstu u téměř všech monoacylglycerolů, především při koncentraci 250 $\mu\text{g/ml}$. Jen u MAG kyseliny kaprylové se index růstu snížil už od koncentrace 250 $\mu\text{g/ml}$.



Obr. 21. Vliv monoacylglycerolů na růst *Trichothecium roseum* po 7 dnech kultivace.



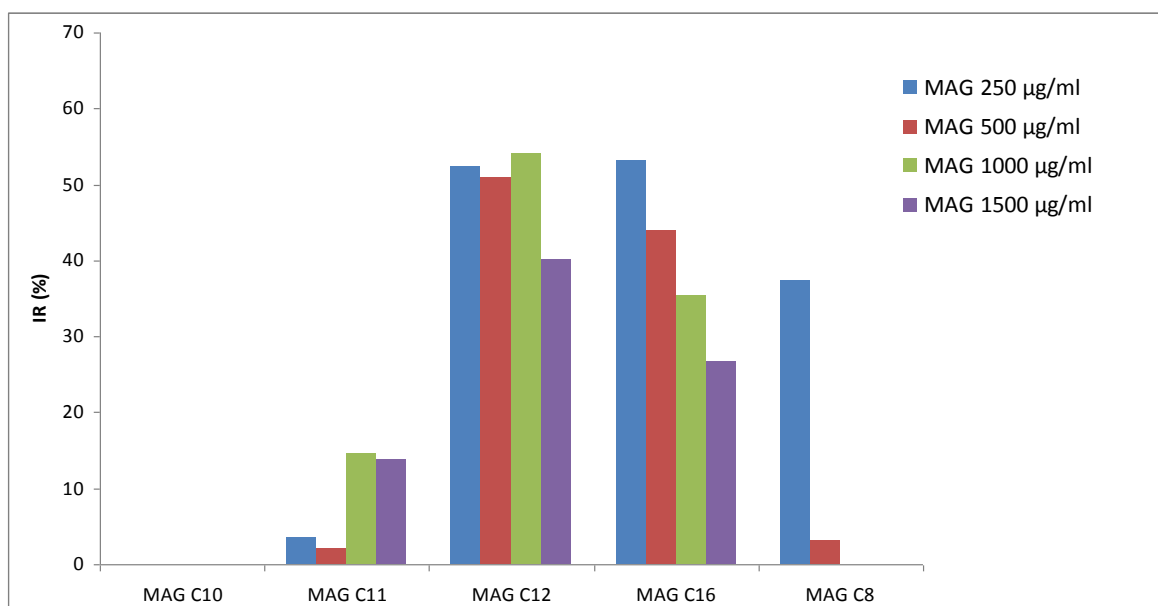
Obr. 22. Vliv monoacylglycerolů na růst *Trichothecium roseum* po 14 dnech kultivace.

4.1.10 Vliv monoacylglycerolů na růst *Alternaria brassicicola*

Na obr. 23 je graficky znázorněn index růstu *Alternaria brassicicola* po 7 dnech kultivace v přítomnosti testovaných monoacylglycerolů.

Nejvyšší inhibiční aktivitu měly MAG kyseliny kaprinové (MAG C 10:0), kde došlo k úplné inhibici růstu. Velmi dobré antimikrobiální účinky vykazuje i MAG kyseliny kaprylové (MAG C 8:0), kde už při koncentraci 500 µg/ml byla hodnota indexu růstu 3,149 % a při koncentraci 1000 µg/ml nebyl zjištěn růst této plísně.

Po 14 dnech kultivace došlo k tomu, že všechny Petriho misky- kontrolní vzorky i vzorky obsahující MAG- byly i přes obsah MAG v živné půdě k prorostení kolonií *A. brassicicola* po celé ploše. Proto nebylo možné graf znázornit.

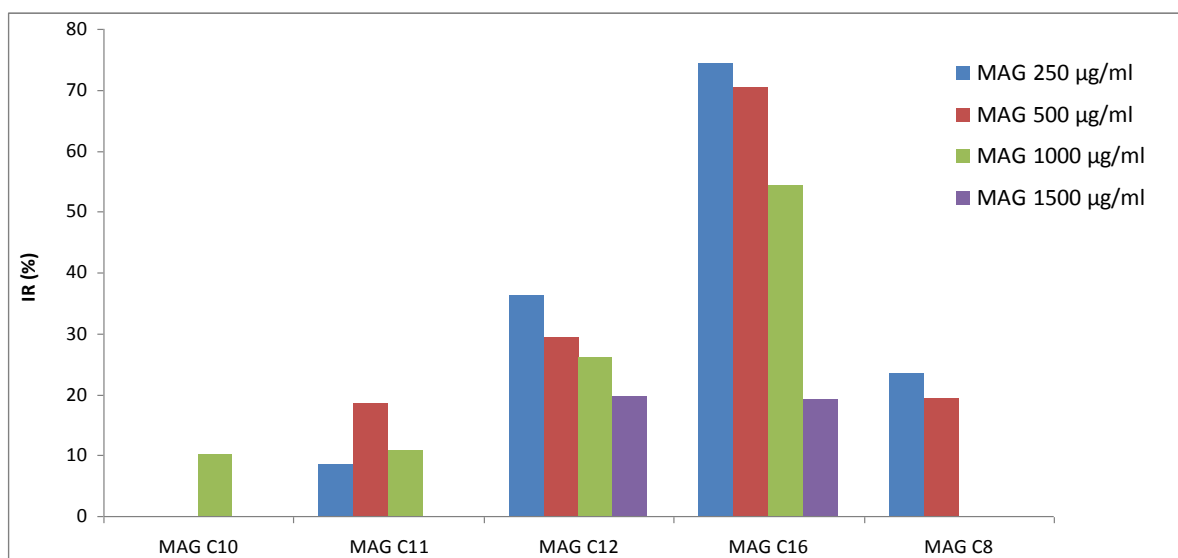


Obr. 23. Vliv monoacylglycerolů na růst *Alternaria Brassicicola* po 7 dnech kultivace.

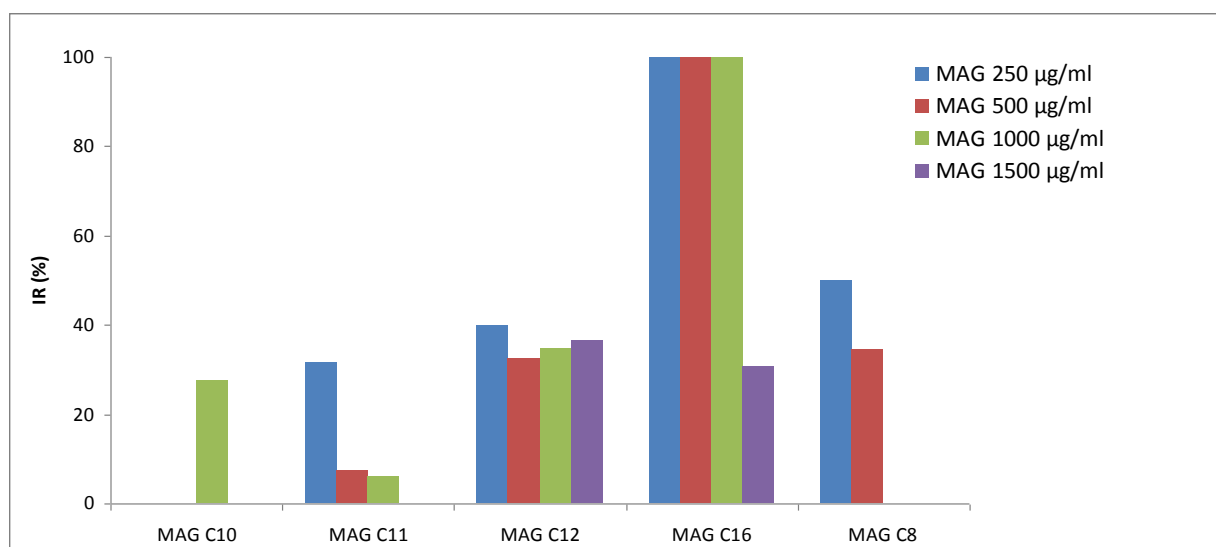
4.1.11 Vliv monoacylglycerolů na růst *Scopulariopsis* sp. (izolát A)

Účinek monoacylglycerolů na růst *Scopulariopsis* byly zvoleny stejné koncentrace jako u výše zmíněných vláknitých hub.

Podobně jako u *Alternaria brassicicola* byl nejlepší MAG kyseliny kaprinové (MAG C10:0), viz obr. 24 a obr. 25, kde ke kompletní inhibici růstu došlo při koncentracích 250, 500 a 1500 µg/ml. Antimikrobní účinky byly prokázány i u MAG kyseliny undekanové (MAG C11:0) s úplnou inhibicí růstu při koncentraci 1500 µg/ml. Dobrý inhibiční účinek byl pozorován i u MAG kyseliny kaprylové (MAG C8:0), v koncentraci 1000 µg/ml byl růst *Scopulariopsis* sp. potlačen. Nejhorší antimikrobní účinky byly prokázány u MAG kyseliny palmitové (MAG C16:0).



Obr. 24. Vliv monoacylglycerolů na růst *Scopulariopsis* sp. (izolát A) po 7 dnech kultivace.



Obr. 25. Vliv monoacylglycerolů na růst *Scopulariopsis* sp. (izolát A) po 14 dnech kultivace.

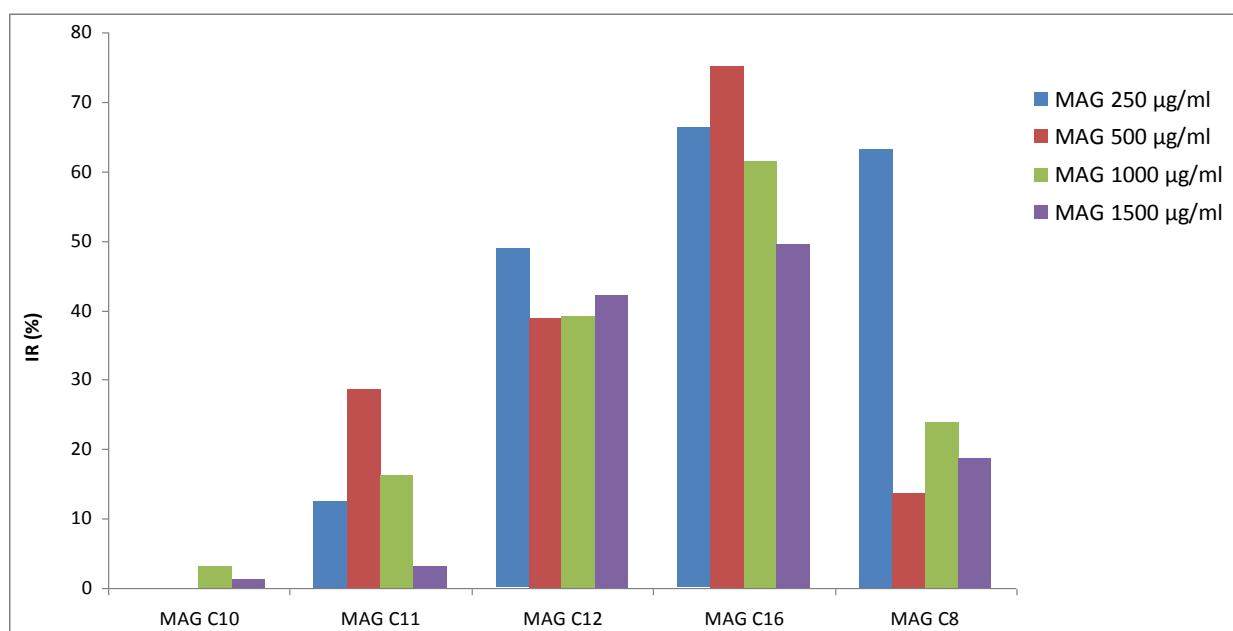
4.1.12 Vliv monoacylglycerolů na růst *Scopulariopsis* sp. (izolát B)

Účinky vybraných monoacylglycerolů na růst *Scopulariopsis* sp. byly studovány na vybraných koncentracích MAG: 250, 500, 1000, 1500 µg/ml.

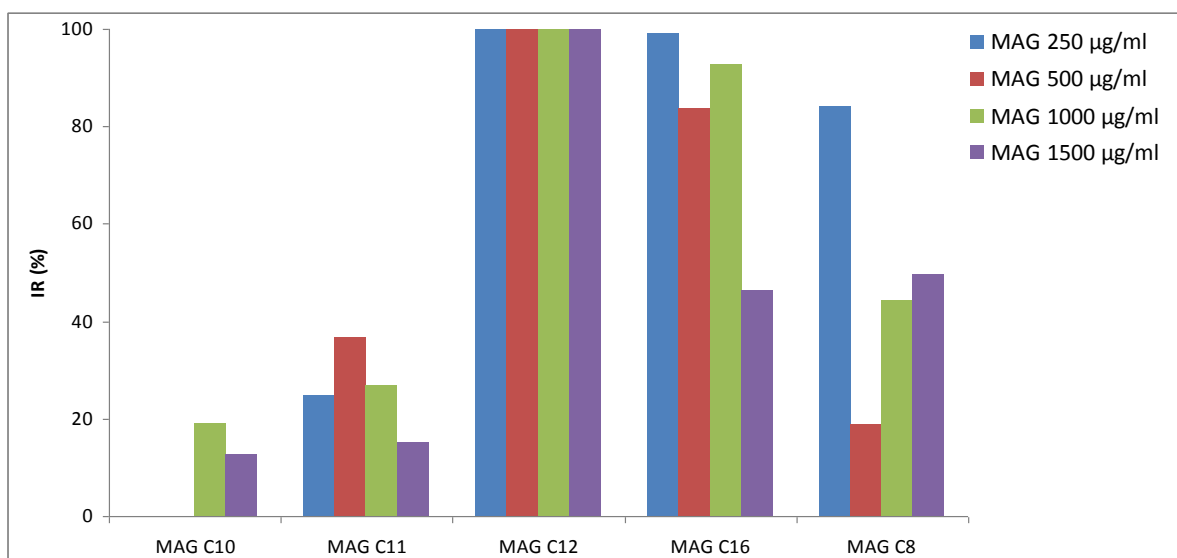
Případný účinek MAG po 7denní kultivaci byl hodnocen jako index růstu a graficky znázorněn na obr. 26, graficky znázorněn je i případný antimikrobiální účinek po 14-ti denní kultivaci na obr. 27.

Pokles hodnoty indexu růstu byl zaznamenán se zvyšující se koncentrací monoacylglycerolů. Nejlepší inhibiční účinky na růst a množení *Scopulariopsis* sp. byl zjištěn pro monoacylglycerol mastné kyseliny s 10-ti uhlíky v molekule, tedy pro MAG kyseliny kaprinové (MAG C10:0), kdy byl hydrolyzou triacylglycerolu a při koncentracích 250 a 500 µg/ml prokázána úplná inhibice růstu této plísně. Při koncentraci 1000 µg/ml byla hodnota indexu růstu 3,189 % a u koncentrace 1500 µg/ml byla hodnota 1,259 %. Relativně dobré antifungální účinky měl i MAG kyseliny undekanové (MAG C11:0) při koncentraci 1500 µg/ml, kdy hodnota indexu růstu dosahovala pouze 3,132 %. Slabá antimikrobiální aktivita byla zjištěna u MAG kyseliny palmitové (MAG C16:0), kdy hodnota indexu růstu u koncentrace 500µg/ml neklesla pod 75,119 %.

I po 14-ti denní kultivaci se nejlepší antimikrobiální účinky projeví u MAG kyseliny kaprinové (MAG C10:0). Při koncentraci 250 a 500 µg/ml nedošlo k nárůstu mikromycet, při koncentraci 1000 µg/ml byla hodnota indexu růstu 19,034 % a při koncentraci 1500 µg/ml byla hodnota 12,620 %. U MAG kyseliny palmitové (MAG C16:0) narostly po 14-ti denní kultivaci kolonie mikromycet po celé Petriho misce, proto je možné konstatovat, že je monoacylglycerolem s nejhorsími antimikrobiálními účinky.



Obr. 26. Vliv monoacylglycerolů na růst *Scopulariopsis* sp.(izolát B) po 7 dnech kultivace.



Obr. 27. Vliv monoacylglycerolů na růst *Scopulariopsis* sp. (izolát B) po 14 dnech kultivace.

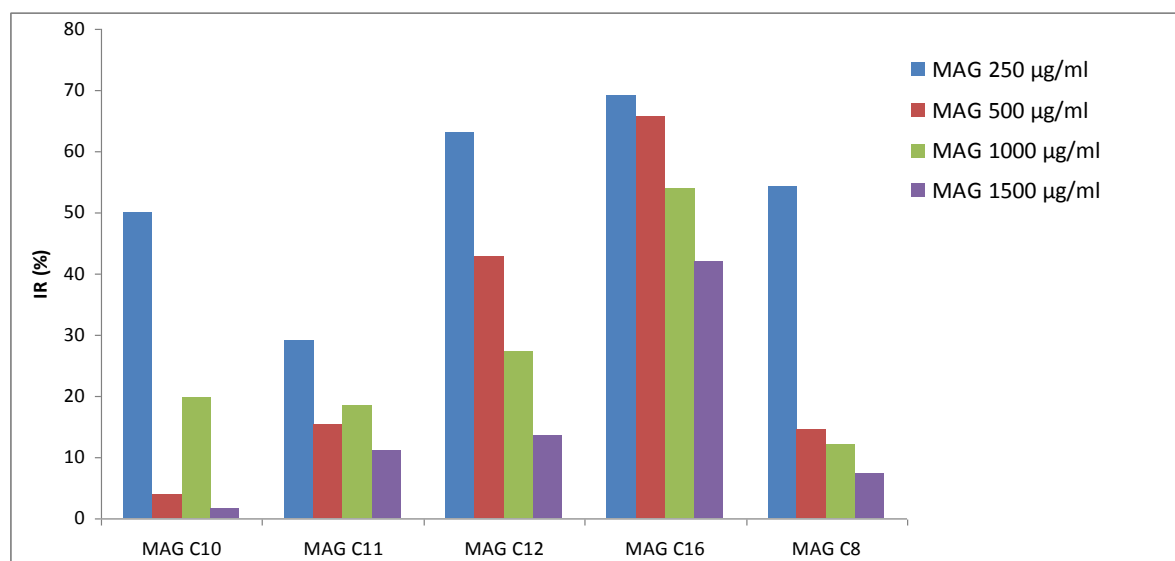
4.1.13 Vliv monoacylglycerolů na růst *Rhizopus*

Pro studium účinků studovaných monoacylglycerolů na růst *Rhizopus* byla zvolena škála koncentrací: 250- 1500 µg/ml.

Hodnoty indexu růstu po 7denní kultivaci jsou znázorněny na obr. 28.

MAG kyseliny kaprinové (MAG C 10:0), snížil index růstu nejvíce, u koncentrace 500 µg/ml dosahoval indexu růstu 4,019 % a u koncentrace 1500 µg/ml jen 1,559 %. Není nižší antimikrobiální účinek byl viditelný u MAG kyseliny palmitové (MAG C 16:0), kde došlo k poklesu indexu růstu u koncentrace 250µg/ml na hodnotu 69,15 % a u koncentrace 500 µg/ml na hodnotu 65,769 %. U MAG kyseliny undekanové došlo k největšímu poklesu indexu růstu u všech koncentrací, u koncentrace 250µg/ml dosahovala hodnota indexu růstu jen 28,939 %, což je nejméně ze zkoumaných monoacylglycerolů.

Grafické znázornění kultivace po 14 dnech není možné, neboť kolonie *Rhizopus* byly prorostlé po celé ploše Petriho misek u všech testovaných MAG.



Obr. 28. Vliv monoacylglycerolů na růst *Rhizopus* sp. po 7 dnech kultivace.

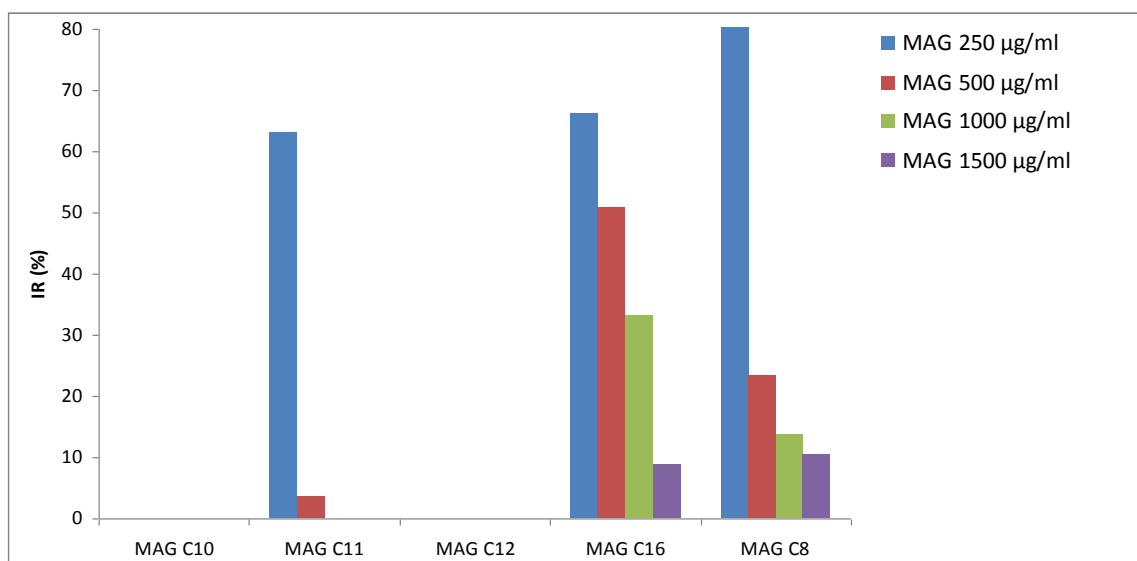
4.1.14 Vliv monoacylglycerolů na růst *Chaetomium globosum* F8156

Účinky vybraných monoacylglycerolů na růst *Chaetomium globosum* byly studovány na vybraných koncentracích MAG: 250, 500, 1000, 1500 µg/ml.

Případný účinek MAG po 7denní kultivaci byl hodnocen jako index růstu a graficky znázorněn na obr. 29.

Pokles hodnoty indexu růstu byl zaznamenán se zvyšující se koncentrací monoacylglycerolů. Nejlepší inhibiční účinky na růst a množení *Chaetomium globosum* byly zjištěny pro monoacylglyceroly kyselin s 10-ti a 12-ti uhlíky v molekule, tedy pro MAG kyseliny kaprinové (MAG C10:0) a MAG kyseliny laurové (MAG C12:0), v jejichž přítomnosti tato plíseň nerostla už při koncentraci 250 µg/ml. Nejhorší antimikrobní účinek se projevil pro MAG kyseliny kaprylové (MAG C8:0), kde při koncentraci 250 µg/ml byla hodnota indexu růstu 80,294 %.

Po 14-ti denní kultivaci byly výsledky vyhodnoceny a grafické znázornění růstu v přítomnosti MAG bylo u této mikromycety obdobné jako u *A. brassicicola*.



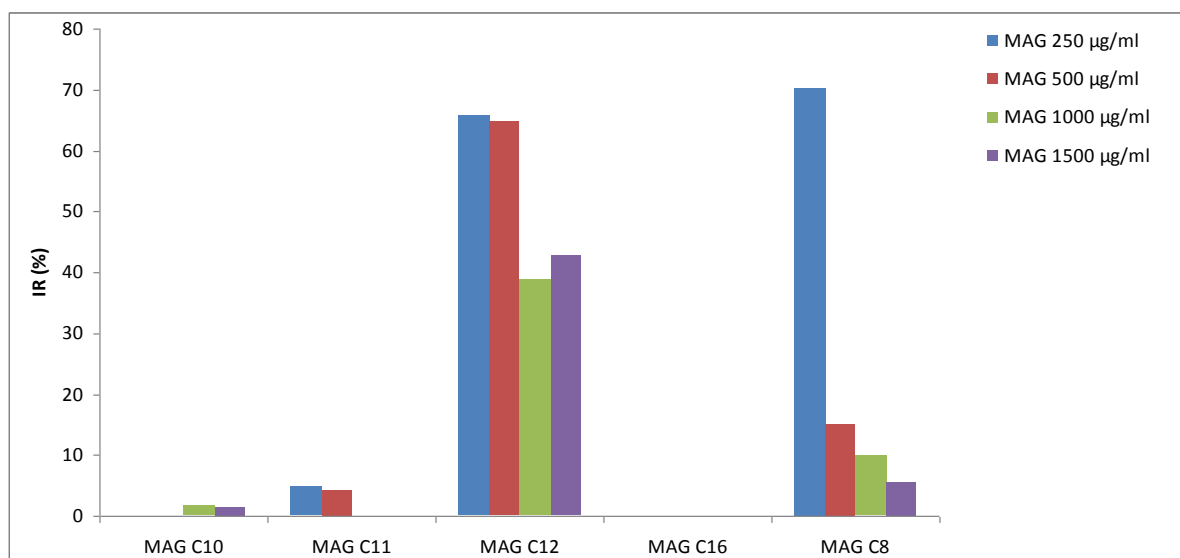
Obr. 29. Vliv monoacylglycerolů na růst *Chaetomium globosum* po 7 dnech kultivace.

4.1.15 Vliv monoacylglycerolů na růst *Paecilomyces variotii* F398

Posledním druhem mikromycet, který byl testován na citlivost k působení monoacylglycerolů byl *Paecilomyces variotii*. Rozmezí testovaných koncentrací bylo stejné jako u ostatních mikromycet, tedy 250 - 1500 µg/ml. Hodnoty indexu růstu jsou zaznamenány na obr 30.

Nejvyšší aktivitu vůči *Paecilomyces variotii* mají MAG kyseliny kaprinové, palmitové a undekanové. U MAG kyseliny kaprinové (MAG C10:0) nedošlo k růstu při koncentraci 250 a 500 µg/ml, u koncentrace 1000 µg/ml byla hodnota indexu růstu 1,550 % a u koncentrace 1500µg/ml byla hodnota IR 1,289 %. U MAG kyseliny palmitové (MAG C16:0) nedošlo k nárůstu mikromycet na Petriho misce již při koncentraci 250 µg/ml. MAG kyseliny undekanové (MAG C11:0) zabránil růstu mikromycet při koncentraci 1000 µg/ml a došlo tedy k úplné inhibici růstu. Jako nejhorší z pěti zkoumaných monoacylglycerolů se projevil MAG kyseliny laurové. Jako špatný inhibitor se ukázal i MAG kyseliny kaprylové, jehož IR hodnota při koncentraci 250 µg/ml Hydrolyzou triacylglycerolu byla 70,442 %.

I když nebyl po 7 dnech kultivace byla pozorována inhibice mikromycet *Paecilomyces variotii* způsobená přítomností monoacylglycerolů v médiu, po 14 dnech kultivace byl zaznamenán nárůst mikromycety po celé ploše Petriho misky a to nejen u všech vzorků, do kterých byl dodán monoacylglycerol, ale i u kontrolního vzorku



Obr. 30. Vliv monoacylglycerolů na růst *Paecilomyces variotii* po 7 dnech kultivace.

5 DISKUZE

Pro sledování antimikrobiálních účinků monoacylglycerolů bylo vybráno pět monoacylglycerolů, lišících se v navázané kyselině i vlastnostech. Mezi těmito monoacylglyceroly byly MAG nasycených mastných kyselin (MAG kyseliny kaprylové, MAG kyseliny kaprinové, MAG kyseliny laurové i MAG kyseliny palmitové) a MAG kyseliny s lichým počtem uhlíků v molekule (MAG kyselina undekanová). Každý monoacylglycerol byl testován ve čtyřech koncentracích (250, 500, 1000 a 1500 µg/ml) a pro studium vlivu MAG na růst mikroskopických vláknitých hub bylo vybráno patnáct druhů potravinářsky významných plísní. Z takto pořízených snímků mohl být porovnán růst mikromycet v přítomnosti určitého monoacylglycerolu o určité koncentraci s růstem kontrolní kultury rostoucí na půdě bez přídavku MAG.

Z výsledků experimentální části diplomové práce vyplývá, že některé monoacylglyceroly mají schopnost zpomalit či úplně potlačit růst mikromycet. Tato schopnost byla patrná zejména u MAG kyseliny kaprinové (MAG C10:0), který se jeví téměř u všech sledovaných mikromycet jako nejlepší inhibitor růstu. U třinácti plísní z celkového počtu patnácti testovaných projevil tento MAG nejvyšší inhibiční aktivitu. Zbývající dva druhy mikromycet *Penicillium vulpinium* a *Trichoderma roseum* byly sice také omezeny v růstu monoacylglycerolem kyseliny kaprinové, avšak jiné MAG byly účinnější. Za další monoacylglycerol se značnými antimikrobiálními účinky byl označen MAG kyseliny undekanové (MAG C11:0). Za MAG s nejslabšími inhibičními účinky byly na základě dosažených výsledků označeny MAG kyseliny palmitové (MAG C16:0) a MAG kyseliny laurové (MAG C 12:0). Přítomností MAG C16:0 v médiu většina studovaných plísní nebyla výrazněji ovlivněna. Pokud jde o MAG C12:0 lze říci, že tento MAG má určité inhibiční účinky na růst plísní, avšak kompletní inhibice růstu nebyla většinou zaznamenána, a to ani v nejvyšší testované koncentraci.

Zajímavá byla také možnost porovnání několika druhů od jednoho rodu mikromycet a jejich podobná i rozdílná citlivost na MAG. Od rodu *Penicillium* bylo zkoumáno 5 druhů (*P. candidum*, *P.vulpinum*, *P.camemberti*, *P. roqueforti*, *P.funiculosum*). U všech druhů rodu *Penicillium* byla vyzorována jejich nízká citlivost na MAG kyseliny palmitové (MAG C16:0). Nejlepší inhibiční účinky na růst a množení druhů rodu *Penicillium* byly zjištěny pro MAG kyseliny kaprinové (MAG C10:0). A velmi dobré antimikrobiální účinky vykazaly také MAG kyselin kaprylové (MAG C8:0), a undekanové (MAG C11:0). Citlivost k těmto monoacylglycerolům se u jednotlivých druhů liší pouze v koncentraci. Na MAG kyseliny

laurové (MAG C12:0) reagují jednotlivé druhy *Penicillium* značně rozdílně. Na aktivitě MAG kyseliny kaprinové (MAG C10:0) k rodu *Penicillium* se shodují i studie Buňkové a kol (2010) a Růžičky a kol. (2003), které uvádí dobrou inhibiční aktivitu MAG kyseliny kaprinové. Autoři píšou o tom, že MAG C10:0 má na růst těchto mikromycet větší vliv než MAG C12:0, což bylo potvrzeno i v této diplomové práci.

Rod *Scopulariopsis* byl zastoupen 2 izoláty, které nebyly druhově určeny - *Scopulariopsis* sp. (izolát A) a *Scopulariopsis* sp. (izolát B). U obou izolátů se projevíly velmi dobré antimikrobiální účinky MAG kyselin kaprinové (MAG C10:0), undekanové (MAG C11:0) a laurové (MAG C 12:0). Nejhorší inhibiční účinky byly pozorovány u MAG kyseliny palmitové (MAG C16:0). Citlivost jednotlivých izolátů *Scopulariopsis* sp. se liší u MAG kyseliny kaprylové (MAG C8:0), zatímco *Scopulariopsis* sp. (izolát A) je k tomuto monoacylglycerolu citlivý od nízkých koncentrací, u druhu *Scopulariopsis* sp. (izolát B) byly výraznější inhibiční účinky pozorovány až ve vyšších koncentracích.

Oba druhy *Aspergillus niger* se v citlivosti na jednotlivé monoacylglyceroly značně liší. Podobná je jen jejich citlivost vůči MAG kyseliny kaprinové (MAG C10:0).

Mikromycety byly ke zkoumaným MAG kyselin kaprylové (MAG C8:0), kaprinové (MAG C10:0) a undekanové (MAG C11:0) citlivé, odolnost mikromycet klesala s narůstající koncentrací. Poměrně značná odolnost téměř všech studovaných mikromycet byla zjištěna vůči MAG kyseliny palmitové (MAG C16:0), která působila částečnou inhibi růstu mikromycet až při vysokých koncentracích. Nejrozdílněji se chovaly mikromycety k MAG kyseliny laurové (MAG C12:0). Tato skutečnost ukazuje, že citlivost či rezistence mikromycet k působení monoacylglycerolů závisí i na konkrétním druhu mikroorganismu.

6 ZÁVĚR

V této práci byly studovány účinky pěti monoacylglycerolů a jejich vliv na růst a množení 15 vybraných druhů mikromycet.

Výsledky experimentální části práce lze shrnout následovně:

- účinek monoacylglycerolů je závislý na typu navázané kyseliny
- nejvyšší inhibiční účinek na růst mikromycet byl zjištěn u MAG kyseliny kaprinové (MAG C10:0) a MAG kyseliny undekanové (MAG C11:0)
- nejvyšší odolnost mikromycet k působení monoacylglycerolů byla pozorována u MAG kyseliny palmitové (MAG C16:0), který byl v porovnání s ostatními MAG téměř neúčinný
- citlivost mikromycet k MAG kyseliny kaprylové (MAG C 8:0) a MAG kyseliny laurové (MAG C12:0) je závislá na druhu mikromycet a koncentraci monoacylglycerolu
- studované druhy rodu *Penicillium* mají podobnou citlivost ke všem použitým; monoacylglycerolům. Dva izoláty rodu *Scopulariopsis* mají také podobnou citlivost na MAG, krom MAG kyseliny kaprylové (MAG C 8:0) kde se citlivost liší. Naproti tomu, u dvou různých kmenů *Aspergillus niger* byly rozdíly v citlivosti k jednotlivým MAG značné.

Na základě zjištěných závěrů lze tvrdit, že monoacylglyceroly mohou být ideální volbou při problematice zabezpečení kvality a hledání nových, pokud možno přirozených látek s antimikrobiálním účinkem. Jejich spektrum aktivity je široké, nepůsobí jen na mikromycety, ale i na kvasinky a bakterie a lidským organizmem jsou dobře snášeny. Jejich antimikrobní účinek je závislý na koncentraci MAG a na druhu bakterie, kvasinky nebo mikromycety. Nejvhodnější se zdají být monoacylglyceroly kyselin se středně dlouhým řetězcem.

7 SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY

- [1] KLABAN, V., *Svět mikrobů:ilustrovaný lexikon mikrobiologie životního prostředí*, Hradec Králové: Gaudeamus, 2001, ISBN 80-7041-687-4, 416 stran
- [2] LEDERBERG, J., BLOOM, B.R., *Encyclopedia of microbiology*, San Diego: Academic Press, 2000, ISBN 0-12-226804-0, 1142 stran
- [3] BEDNÁŘ, M., FRAŇKOVÁ, V., SCHINDLER, J., SOUČEK, A., VÁVRA, J. *Lékařská mikrobiologie*. Marvil, Praha 1996. 558 stran
- [4] e-learningový program, *Obecná mikrobiologie*, distanční text, dostupné na cepac.cz
- [5] e-learningový program, *Obecná mikrobiologie II*, distanční text, dostupné na cepac.cz
- [6] OSTRÝ, V., *Nebezpečí, která na nás číhá v domácnostech: Toxinogenní plísně a mykotoxiny v potravinách* [online], 1998, dostupný z WWW: <http://www.chrp.szu/edukacce/plisne.html> (cit. 11.2.2008)
- [8] BETINA, V., *Mykotoxiny-chémia-biológia-ekológia*, Alfa Bratislava, 1990, ISBN 80-05-00631-4, 285 stran
- [9] GÖRNER, F., VALÍK, L', *Aplikovaná mikrobiológia potravín*, Malé Centrum Bratislava, 2004, ISBN 80-967064-9-7, 528 stran
- [10] *Morfologie mikromycet*, dostupný z WWW:
<http://botany.upol.cz/atlasy/system/deuteromycotina.php> (cit. 12.4.2012)

[11] BUNKOVÁ, L., DOLEŽALOVÁ, M. *Obecná mikrobiologie*. Vyd. 2. Zlín : UTB, 2010, ISBN: 978-80-7318-973-0, 190 stran

[12] ŠILHÁNKOVÁ, L. *Mikrobiologie pro potravináře*. Vyd. 1. Praha : SNTL, 1983. ISBN 80-200-1024-6., 304 stran

[13] VÁŇA, J., *Systém a vývoj hub a houbových organismů*, 2.vyd, Karolinum Praha, 1998, ISBN 80-7184-603-1, 164 stran

[14] TOMÁNKOVÁ, E., RADA, V., KILLER, J., *Potravinářská mikrobiologie*, 1.vyd. Praha: Česká zemědělská univerzita v Praze, 2006, ISBN 80-213-1583-0, 168 stran

[7] FASSATIOVÁ, O., *Plísně a vláknité houby v technické mikrobiologii*. Vyd. 1. Praha : SNTL, 1979, 80-04-824-79, 240 stran

[16] TRUSKOVÁ, I. *Zdravotné aspekty mykotoxínů*. In SÝKOROVÁ, S. – CHVÍLOVÁ, M., *Mykotoxíny 2007*. Praha: Výzkumný ústav rostlinné výroby, 2007, ISBN 80-97011-06-5, s. 26-27

[17] JANKOVSKÝ, L., *Základy mykologie.*, Vyd. 1., Brno : Mendelova zemědělská a lesnická univerzita, 2005, 106 stran

[18] RAY, B., *Fundamental food microbiology*, CRC Press, boca Raton, 2004, ISBN 0-203-99825-1, 608 stran

[19] KUBÁTOVÁ, A., SAVICKÁ, D., et al, *Miniatlas mikroorganismů* [online]. Praha : VŠCHT, 2001 [cit. 2012-04-10]. Dostupné z WWW: <http://www.vscht.cz/obsah/fakulty/fpbt/ostatni/miniatlas/obsah.htm>

[20] MILLIGAN, C., *The occurrence of Fusarium mycotoxins in food processing and methods of analysis*, In SÝKOROVÁ, S., CHVÍLOVÁ, M., *Mykotoxiny*, Praha: Výzkumný ústav rostlinné výroby, 2007, ISBN 978-80-97011-06-5, s. 23-25

[21] KLABAN, V., *Ilustrovaný mikrobiologický slovník*. 1.vyd. Praha: Galén, 2005, ISBN 80-7262-341-9, 654 stran

[22] POLSTER, M., *Nižší houby v poživatinách* in Hrubý, S., a kol, *Mikrobiologie v hygieně výživy*, Avicenum Praha, 1984, strany 21-42

[23] studentský web, nákresy mikromycet, dostupné z WWW:

www.primat.cz/vutbr-ffa/predmety/mikrobiologie-q9666/.../download (cit 30.5.2012)

[24] OSTRÝ, V., MALÍŘ, F., *Vláknité mikromycety (plísňe), mykotoxiny a zdraví člověka*, Brno: Národní centrum ošetřovatelství a nelékařských zdravotnických oborů, 2003, ISBN 80-0701-339-53, 349 stran

[25] BUŇKOVÁ, L., et al. *Inhibiční působení 1-monoacylglycerolu na bakterie*, Potravinářská revue, 2010, vol. 1, ISSN: 1801-9102, strany 82-85

[26] POKORNÝ, J., DUBSKÁ, L. a kol.: *Technologie tuků*, Praha SNTL, 1986

[27] KABARA, J.J., MARSHALL, D.L. *Antimicrobials in Food*. 3rd ed. Boca Raton: CRC Press, 2005. Chapter 11, Medium-Chain Fatty Acids and Esters, s. 327-360

[28] DAVÍDEK, J., JANÍČEK, G., POKORNÝ, J., *Chemie potravin*, SNTL, Praha, 1983, 629 stran

[29] WHITEHURST, R. J., *Emulsifiers in food technology*, Blackwell Publishing, Oxford, 2004, ISBN 0-203-99982-1, 244 stran

[30] *Di- and monoacylglycerols* [online], (cit. 6.4.2012), Dostupný z WWW:

<<http://www.lipidlibrary.co.uk>>

[31] *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_tecnologie_tuku_a_detergentu/

[distanni_text_III/M0006_chemie_a_tecnologie_tuku_a_detergentu_distancni_text_iii.pdf](#)

[32] BERGSSON, G., ARNFINNSSON, STEINGRIMSSON, Ó., THORMAR, H., In vitro killing of *Candida albicans* by fatty acids and monoglycerides. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 45, ISBN 3209-3212, 2001

[33] BOBÁLOVÁ, J. *Studium možnosti syntézy monoacylglycerolu z glycidolu za katalýzy Cr (III) komplexu*. Zlín, 2001, Diplomová práce, UTB ve Zlíně, 75 stran

[34] 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, strany 302-306

[35] ČERVINKA, O., DĚDEK, V., FERLES, M.: *Organická chemie*, Praha, SNTL, 1970

[36] POSPÍŠILÍKOVÁ, V.: *Příprava MAG z glycidolu katalyzovaná organokovovými komplexy*, diplomová práce VUT Brno, 1998

[37] LOK, C. M., MANK, A. P. J., WARD, J. P., *Synthesis of glycidolesters and*

mono/diacylglycerols from glycidol, Chemistry and Physics of Lipids, 36, 1956, strany 329-334

[38] ALTIERI, C., BEVILACQUA, A., CARDILLO, D., SINIGAGLIA, D. *Effectiveness of fatty acids and their monoglycerides against gram-negative pathogens*. International Journal of Food Science and Technology 44: 359-366, 2009

[39] KABARA, J. J., SWIECZKOWSKI, D. M., CONLEY, A. J., TRUANT, J. P., *Fatty acids and derivatives as antimicrobial agents*, Antimicrobial Agents and Chemotherapy 2, 1972, strany 23-28

[40] SKŘIVANOVÁ, E., MAROUNEK, M., BENDA, V., BŘEZINA, P. *Susceptibility of Escherichia coli, Salmonella sp. and Clostridium perfringens to organic acids and monolaurin*, Veterinární Medicína, 2006, vol. 51, strany 81 - 88

[41] BEDNÁŘ, M., FRAŇKOVÁ, V., SCHINDLER, J., SOUČEK, A., VÁVRA, J., *Lékařská mikrobiologie*, Marvil, Praha 1996, ISBN 80-903-459-03, 558 stran

[42] Antimicrobial properties of 1-monoacylglycerols prepared from undecanoic (C11:0) and undecenoic (C11:1) acid

[43] KELSEY, J. A. a kol.: *Fatty acids and monoacylglycerols inhibit growth of Staphylococcus aureus*, LIPIDS, VOL. 41. no. 10, 2006

8 SEZNAM POUŽITÝCH SYMBOLŮ A ZKRATEK

MAG	monoacylglycerol
MAG C8:0	monoacylglycerol kyseliny kaprylové
MAG C10:0	monoacylglycerol kyseliny kaprinové
MAG C11:0	monoacylglycerol kyseliny undekanové
MAG C12:0	monoacylglycerol kyseliny laurové
MAG C16:0	monoacylglycerol kyseliny palmitové

9 SEZNAM OBRÁZKŮ

Obr. 1	Nákres konidioforu <i>Penicillium roqueforti</i>	19
Obr. 2	Nákres konidioforu <i>Aspergillus niger</i>	20
Obr. 3	Nákres konidioforu <i>Phoma eupyrena</i>	21
Obr. 4	Nákres konidioforu u rodu <i>Alternaria</i>	22
Obr. 5	Nákres konidioforu <i>Paecilomyces variotii</i>	23
Obr. 6	Nákres konidioforu <i>Scopulariopsis brevicaulis</i>	24
Obr. 7	Nákres konidioforu u rodu <i>Mucor</i>	25
Obr. 8	Nákres konidioforu <i>Trichothecium roseum</i>	27
Obr. 9	Stechiometrické formy monoacylglycerolu.....	28
Obr.10	Vliv monoacylglycerolů na růst <i>Penicillium candidum</i> po 7 dnech kultivace.....	39
Obr.11	Vliv monoacylglycerolů na růst <i>Penicillium vulpinum</i> po 7 dnech kultivace.....	40
Obr.12	Vliv monoacylglycerolů na růst <i>Penicillium vulpinum</i> po 14 dnech kultivace.....	40
Obr. 13	Vliv monoacylglycerolů na růst <i>Penicillium roqueforti</i> po 7 dnech kultivace.....	41
Obr.14	Vliv monoacylglycerolů na růst <i>Penicillium roqueforti</i> po 14 dnech kultivace.....	42
Obr.15	Vliv monoacylglycerolů na růst <i>Penicillium camemberti</i> po 7 dnech kultivace.....	43
Obr. 16	Vliv monoacylglycerolů na růst <i>Penicillium funiculosum</i> po 7 dnech kultivace.....	44
Obr. 17	Vliv monoacylglycerolů na růst <i>Aspergillus niger</i> po 7 dnech kultivace.....	45
Obr. 18	Vliv monoacylglycerolů na růst <i>Aspergillus niger</i> 2 po 7 dnech	46

Obr. 19 Vliv monoacylglycerolů na růst <i>Phoma</i> sp. po 7 dnech kultivace...	47
Obr. 20 Vliv monoacylglycerolů na růst <i>Phoma</i> sp. po 14 dnech kultivace.....	47
Obr. 21 Vliv monoacylglycerolů na růst <i>Trichothecium roseum</i> po 7 dnech kultivace.....	48
Obr. 22 Vliv monoacylglycerolů na růst <i>Trichothecium roseum</i> po 14 dnech kultivace.....	49
Obr. 23 Vliv monoacylglycerolů na růst <i>Alternaria Brassicicola</i> po 7 dnech kultivace.....	50
Obr. 24 Vliv monoacylglycerolů na růst <i>Scopulariopsis</i> sp. (izolát A) po 7 dnech kultivace.....	51
Obr. 25 Vliv monoacylglycerolů na růst <i>Scopulariopsis</i> sp. (izolát A) po 14 dnech kultivace.....	51
Obr. 26 Vliv monoacylglycerolů na růst <i>Scopulariopsis</i> sp.(izolát B) po 7 dnech kultivace.....	52
Obr. 27 Vliv monoacylglycerolů na růst <i>Scopulariopsis</i> sp. (izolát B) po 14 dnech.....	53
Obr. 28 Vliv monoacylglycerolů na růst <i>Rhizopus</i> sp. po 7 dnech kultivace.....	54
Obr. 29 Vliv monoacylglycerolů na růst <i>Chaetomium globosum</i> po 7 dnech kultivace.....	55
Obr. 30 Vliv monoacylglycerolů na růst <i>Paecilomyces variotii</i> po 7 dnech kultivace.....	56