

Přehled antimikrobiálních látek

Kristýna Šestáková

Bakalářská práce
2007



Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně
Fakulta technologická

Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně

Fakulta technologická

Ústav potravinářského inženýrství

akademický rok: 2006/2007

ZADÁNÍ BAKALÁŘSKÉ PRÁCE

(PROJEKTU, UMĚLECKÉHO DÍLA, UMĚLECKÉHO VÝKONU)

Jméno a příjmení: **Kristýna ŠESTÁKOVÁ**
Studijní program: **B 2901 Chemie a technologie potravin**
Studijní obor: **Chemie a technologie potravin**

Téma práce: **Přehled antimikrobiálních látek**

Zásady pro vypracování:

1. rozdělit antimikrobiální látky dle struktury (složení, původu)
2. popsat účinek vybraných antimikrobiálních látek
3. navrhnout možnosti jejich využití v potravinářském průmyslu

Rozsah práce:

Rozsah příloh:

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

Seznam odborné literatury:

dle doporučení vedoucího BP

Vedoucí bakalářské práce:

Ing. Daniela Kramářová, Ph.D.

Ústav potravinářského inženýrství a chemie

Datum zadání bakalářské práce:

8. ledna 2007

Termín odevzdání bakalářské práce:

4. června 2007

Ve Zlíně dne 2. května 2007

Ignác Hoza
prof. Ing. Ignác Hoza, CSc.
děkan



Ignác Hoza
prof. Ing. Ignác Hoza, CSc.
ředitel ústavu

ABSTRAKT

Antimikrobiální látky jsou nedílnou součástí potravinářského průmyslu. Cílem této práce je vytvořit přehled používaných látek a zároveň popsat látky potenciálně použitelné, jejich antimikrobiální účinek, případně možnosti jejich použití. Jednotlivé látky byly rozděleny do několika skupin podle různých kritérií. Jedná se o skupinu organických a mastných kyselin, bakteriocinů, látek anorganických a přírodních látek s antibakteriálním účinkem. Díky moderním spotřebitelským trendům se do popředí zájmu dostávají látky přírodního charakteru, obzvláště ty rostlinného původu. Velké rezervy použití v potravinářském průmyslu má rovněž skupina látek bakteriocinů, monoacylglycerolů i mastných kyselin. Rozsah práce nedovoluje bližší popis případných negativních účinků na lidské zdraví.

Klíčová slova: antimikrobiální látky, mastné kyseliny, bakteriociny, *lysozym*, esenciální oleje

ABSTRACT

Antimicrobial substances are the part of food industry. The aim of this bachelor work was to create the overview in using antimicrobial substances and simultaneously to describe potentially applicable substances, to describe antimicrobial effect or their possibilities of application in food industry. Individual substances was sorted to the several groups based on different criteria. This work is interested/focused on the group of organic acids and fatty acids, bacteriocins, inorganic substances and nature substances with antimicrobial effect. Due to the modern consumer trends are the centre of an interest the nature substances and especially plant origin. The group of bacteriocins, monoacylglycerols also fatty acids has a great reserve of the use in food industry. The extent of thesis do not allow the further particulars of possible negative effects on the human health.

Keywords: antimicrobial substances, fatty acids, bacteriocins, *lysozyme*, essential oils

Chtěla bych vyjádřit poděkování vedoucímu bakalářské práce Ing. Daniele Kramářové,
Ph.D. za hodiny konzultací a odbornou pomoc.

OBSAH

ÚVOD	8
I TEORETICKÁ ČÁST	9
1 ORGANICKÉ KYSELINY A JEJICH DERIVÁTY	10
1.1 KYSELINA BENZOOVÁ	10
1.2 KYSELINA SORBOVÁ.....	11
1.3 PARABENY	12
1.4 KYSELINA MRAVENČÍ.....	13
1.5 KYSELINA OCTOVÁ.....	14
1.6 KYSELINA PROPIONOVÁ	14
1.7 KYSELINA MLÉČNÁ.....	15
1.8 KYSELINA FUMAROVÁ.....	16
1.9 KYSELINA KAPRYLOVÁ	17
1.10 KYSELINA KAPRINOVÁ	17
1.11 KYSELINA LAUROVÁ	18
1.12 KYSELINA OLEJOVÁ	18
2 DALŠÍ ORGANICKÉ LÁTKY	20
2.1 BAKTERIOCINY	20
2.1.1 Nisin	20
2.1.2 Natamycin	22
2.1.3 Další bakteriociny.....	22
2.2 BIFENYL A JEHO DERIVÁTY, THIOBENDAZOL	22
2.3 DIMETHYLDIKARBONÁT (DMDC).....	23
2.4 ALKYLENOXIDY	24
2.5 HEXAMETHYLENTETRAMIN	24
2.6 EDTA – DVOJSODNO-VÁPENATÁ SŮL KYSELINY ETHYLEN- DIAMINOTETRAOCTOVÉ	24
3 ANORGANICKÉ LÁTKY	26
3.1 OXID SIŘIČITÝ A SIŘIČITANY	26
3.2 DUSITANY	27
3.3 KYSELINA BORITÁ A JEJÍ SOLI	28
3.4 CHLORID SODNÝ	28
3.5 DALŠÍ ANORGANICKÉ LÁTKY	29
3.5.1 Peroxid vodíku H ₂ O ₂	29
3.5.2 Fosfáty	30
3.5.3 Oxid uhličitý.....	30

4	PŘÍRODNÍ ANTIMIKROBIÁLNÍ LÁTKY	32
4.1	LYSOZYM	32
4.2	ROSTLINNÉ FYTONCIDY	33
4.2.1	Allicin.....	35
4.2.2	Karvakrol a Thymol	36
4.2.3	<i>p</i> -cymen	37
4.2.4	Eugenol.....	37
4.2.5	Cinnamaldehyd – aldehyd skořicový	38
4.2.6	Terpineny.....	38
4.2.7	Linalol	39
	ZÁVĚR	40
	SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY.....	42
	SEZNAM POUŽITÝCH SYMBOLŮ A ZKRATEK	49
	SEZNAM OBRÁZKŮ	51
	SEZNAM TABULEK.....	52
	SEZNAM PŘÍLOH.....	53

ÚVOD

Pro výrobu potravin má velký význam, jakým způsobem je zajištěná jejich bezpečnost a trvanlivost. Navzdory zlepšení v porážkové hygieně a výrobních technologiích, trpí každoročně v průmyslových zemích asi 30 % lidí nemocemi přenášených potravou.

Moderní spotřebitelské trendy i legislativa nutí potravinářský průmysl hledat nové možnosti pro bezpečnost a uchovatelnost potravin. Požadavky spotřebitelů na vysokou kvalitu potravin nejlépe bez konzervačních látek, ale přesto bezpečně a šetrně zpracované, mají svůj vliv na vývoj potravinářského průmyslu.

Mikrobiální kontaminace potravin je nejen zdravotním rizikem, ale i ekonomickým problémem. Je tedy důležité hledat způsoby, jak zabránit kontaminaci před patogenními i hnilobnými mikroorganismy.

Antimikrobiální látky mají velký podíl na konzervaci potravin, obzvláště v překážkové technologii. Jedná se o látky rozmanitého charakteru, přes jednoduché chemické sloučeniny až po proteiny, látky z přírodních zdrojů, ale i látky chemicky syntetizované.

V současnosti dostávají „zelenou“ obzvláště antimikrobiální látky z přírodních zdrojů, zejména rostlinných, ale i zástupci mastných kyselin. Zde jsou značné možnosti využití těchto sloučenin. Na druhou stranu používání klasických konzervačních látek je už časem prověřený postup, ale stále se objevují možná zdravotní rizika spojená s jejich použitím.

I. TEORETICKÁ ČÁST

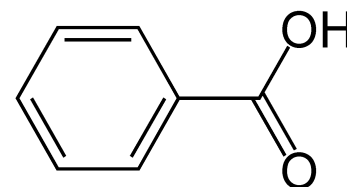
1 ORGANICKÉ KYSELINY A JEICH DERIVÁTY

Slabé organické kyseliny patří mezi nejběžnější konzervační látky. Molekuly těchto kyselin inhibují růst buněk bakterií, plísní i kvasinek. Tyto konzervační látky mají optimální inhibiční efekt při nízkých hodnotách pH, které podporují nedisociovaný stav molekuly. Nedisociovaná molekula je volně permeabilní přes plazmatickou membránu a je takto schopna vstupu do buňky. Následně, při vyšším pH uvnitř buňky, molekula disociuje, což má za následek uvolnění nabitých anionů a protonů, které nemohou projít plazmatickou membránou. [1]

Mastné kyseliny podporují transport protonů přes bakteriální membránu čímž dojde ke kolapsu protonového gradientu. Tímto způsobem dojde ke spotřebování buněčné energie a následuje denaturace proteinů a nukleových kyselin citlivých na kyselé prostředí. Nejvíce účinné jsou mastné kyseliny s délkou řetězce okolo 12 atomů uhlíku, G^+ bakterie jsou obecně citlivější na působení mastných kyselin než G^- . [2]

1.1 Kyselina benzoová

Pro konzervaci potravin se používá samotná kyselina nebo její soli, které jsou rozpustnější ve vodě. V praxi je více využíváno benzoátu sodného. [3] Kyselina benzoová je přirozenou složkou řady rostlin (volná, ve formě esterů, amidů), lze ji nalézt: v ovoci - především bobulovité ovoce (brusinky), v mléčných výrobcích. [4]



Aktivní formou je nedisociovaná kyselina, jejíž optimální konzervační účinnost je v rozmezí pH 2,5 – 4,0, což ji předurčuje ke konzervaci kyselých potravin (ovoce). [3]

Působí především proti kvasinkám a plísním (antimykotické činidlo) v koncentraci 500-1000 $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$. V mikroorganismech zabraňuje funkci redoxních enzymů látkové přeměny, ruší funkce cytoplazmatické membrány. [5] Zabraňuje využití aminokyselin mikroorganismy, inhibuje transport substrátů a enzymů, narušuje oxidativní fosforylaci a cyklus kyseliny citronové. Ve vyšších koncentracích může způsobovat negativní chuťové vlastnosti. [3]

Podle vyhlášky 304/2004 Sb. v novelizovaném znění 152/2005 Sb., je její použití povoleno pro ochucené nealkoholické nápoje, alkoholické nápoje s obsahem alkoholu méně než

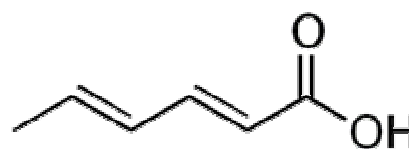
15 %, kromě piva a vína, nealkoholické sudové pivo, džemy, rosoly, výrobky z ovoce bez přidaného cukru, vařenou červenou řepu, olivy, emulgované studené omáčky, aspiky atd. Vyhláška dále povoluje použití v kombinaci s kyselinou sorbovou a také v kombinaci s kyselinou sorbovou a parabeny. [6]

Pro člověka je přijatelný denní příjem (ADI - Acceptable Daily Intake) stanoven na 5 mg.kg^{-1} tělesné hmotnosti. [5]

1.2 Kyselina sorbová

Jedná se o hexa-2,4-dienovou kyselinu, která byla poprvé izolována z nezralých bobulí jeřábu (*Sorbus aucuparia*).

[7] Kyselina sorbová se přidává většinou jako sodná nebo



draselná sůl, která je ve vodě rozpustnější. Optimální pH pro její působení je pod 6,5. Je využívána jako výborný prostředek pro potlačení růstu plísní a kvasinek. Je schopná působit také proti plísním produkujícím mykotoxiny (*Aspergillus flavus*, *Aspergillus ochraceus*...), proti kvasinkám rodů *Candida* je neúčinná, neboť ji dokáží využít. [5] Účinek proti plísním souvisí s neschopností plísní metabolizovat α , β – nenasycené dienové alifatické (2,4-alkadienové) sloučeniny. [4]

Její účinek souvisí částečně i s inhibicí enzymů skupiny *dehydrogenas*, které se účastní oxidace mastných kyselin a zčásti s interferencí a transportem látek cytoplazmatickými membránami.

Použité množství je různé podle druhu potraviny v rozmezí $200\text{--}2000 \text{ mg.kg}^{-1}$ substrátu. V potravinách může někdy docházet k autooxidaci za vzniku příslušných nestabilních hydroperoxidů, konečnými produkty jsou pak ethanol a monoaldehyd fumarové kyseliny (β -karboxyakrolein), který další reakcí s aminokyselinami či proteiny způsobuje hnědnutí potravin konzervovaných kyselinou sorbovou. [3]

Všeobecně bývá doporučováno kombinovat přiměřeně snížené dávky kyseliny sorbové s termosterilací, s bakteriociny, SO_2 nebo s přidavkem solí.

Osvědčená je aplikace kyseliny sorbové při výrobě marmelád či džemů, kde se používá k ošetření povrchu proti povrchovému plesnivění. [5] České i evropské předpisy připouštějí, aby se při výrobě džemů používala kyselina sorbová, ale pouze u takových

výrobků, které mají snížený obsah cukru. [8] LD₅₀ (letální dávka) činí 10g na 1 kg živé hmotnosti spotřebitele. [5]

Některé plísně (např. *Penicillium roqueforti*) jsou schopny dekarboxylovat kyselinu sorbovou na penta-1,3-dien, který způsobuje u sýrů nežádoucí zápach po petroleji, zejména u sýrů, které by byly povrchově ošetřeny kyselinou sorbovou. [3]

Dle novely 152/2005 Sb. se samostatně smí používat pro ochucené nápoje na bázi vína, ochucené alkoholické nápoje i koncentráty, víno, medovinu, sušené ovoce, ovocné a zeleninové přípravky, olivy, sýry plátkové, tavené i nezrající, balený chléb, balené jemné pečivo, emulgované studené omáčky, aspiky... Je možné ji kombinovat s kyselinou benzoovou i parabeny. [6]

Sorbát vápenatý je stabilní proti oxidaci a používá se pro výrobu fungistatických obalů, ale použití je značně omezené. [9]

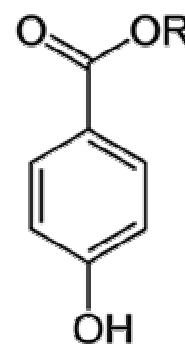
1.3 Parabeny

Parabeny jsou alkylestery (methyl-, ethyl-, propylester) *p*-hydroxybenzoové kyseliny. Z derivátů kyseliny benzoové jsou nejčastěji používány methyl a ethylester, případně také jejich kombinace. [5]

Některé parabeny lze nalézt v přírodních rostlinných zdrojích, (př. methylparaben v brusinkách). [7]

V potravinářském průmyslu našly uplatnění především při výrobě rosolů, sirupů, džemů, i při přípravě nealkoholických nápojů. [4] Jsou účinné v kyselém i mírně alkalickém prostředí, působí i v prostředí o pH 7 i vyšším (v roztocích nedisociují). Jejich antimikrobiální účinnost vzrůstá s délkou alkylového zbytku, ale se vzrůstající délkou řetězce zároveň klesá jejich rozpustnost ve vodě. Nemají velký vliv na chuť ani vůni konzervovaných potravin. Používají se v množstvích 500–1000 mg. kg⁻¹ podle druhu použité potraviny.

Účinkují především proti plísním a kvasinkám, méně proti G⁺ bakteriím. Jejich účinek spočívá v působení na buněčnou membránu. [3]



Parabeny jsou známy jako příčina kožních projevů z kontaktu (vyrážka kolem úst) u citlivých jedinců. Po požití potravin s parabeny byly popsány případy tzv. generalizovaného kontaktního ekzému. [10]

U parabenů bylo zkoumáno synergické působení s rostlinnými éterickými oleji. Tyto látky byly testovány samostatně a v kombinaci (0,2 % fenykl, 0,1 % parabeny). Vzorky byly odečítány v pravidelných intervalech. Kombinace těchto látek vykazovala antimikrobiální aktivitu už pouze po 1 hodinové kultivaci, kdy došlo ke snížení počtu mikroorganismů až o 4 logaritmické řády. [11]

Evropský parlament vydal roku 2006 směrnici (2006/52/ES), která mění možnosti použití parabenů, jedná se především o propyl *p*-hydroxybenzoát (E 216) a propyl *p*-hydroxybenzoát sodný (E 217). Úřad stanovil celkový přijatelný denní příjem (ADI) pro methylester, ethylester a kyselinu *p*-hydroxybenzoovou a jejich sodné soli v celkové výši 0-10 mg.kg⁻¹ tělesné hmotnosti.

Propylparaben byl ze směrnice 95/2/ES vyjmut, protože není k dispozici hodnota dávky bez pozorovaného nepříznivého účinku (NOAEL - No-Observed-Adverse-Level). U mladých krys měl na rozdíl od methylparabenu a ethylparabenu vliv na pohlavní hormony a samčí pohlavní orgány. [12] Vyhláška 152/2005 Sb. neudává možné použití parabenů samostatně, ale pouze v kombinaci s kyselinou sorbovou a kyselinou benzoovou i sorbovou společně.[6]

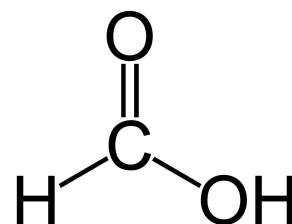
1.4 Kyselina mravenčí

Z mastných kyselin vykazuje nejvyšší antimikrobiální účinnost, zejména proti bakteriím a kvasinkám. Bakterie mléčného kvašení a plísně jsou poměrně odolné. [3]

V přírodě se nachází v žihadlech, zejména včel a mravenců. [7]

V malých koncentracích je obsažena také v malinách, brusinkách, borůvkách, slívách, višních. [4] Kyselina mravenčí reaguje se složkami plazmatické membrány mikroorganismů a způsobuje konkurenční inhibici jejich endoenzymů.

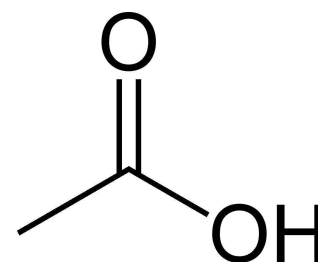
Značná disociační schopnost kyseliny mravenčí ji předurčuje pro použití v silně kyselých potravinách. Dále je její použitelnost ovlivněna její schopností hydrolyzovat pektiny, čímž porušuje pevnost ovocné dužniny. [5] Lze ji použít pro konzervaci kyselých ovocných šťáv



a dření. [3] Je uvedena v mezinárodním číselném seznamu ISN (International Numbering System – mezinárodní číselný systém aditiv) pod číslem 236 jako konzervant. V České republice mezi aditivními látkami není zahrnuta.

1.5 Kyselina octová

V potravinářství se používá jako konzervační prostředek a současně jako okyselující látka. Podle mezinárodních zákonů je pro potravinářské použití určena pouze kyselina octová vyrobená biologickou cestou, zejména fermentací za přístupu kyslíku pomocí rodu *Acetobacter*. [7]



Její účinnost se vztahuje na kvasinky a bakterie, méně pak na plísně. Bakterie octového, máselného a mléčného kvašení jsou tolerantní. [3]

Účinnost kyseliny octové spočívá v působení na cytoplazmatickou membránu (inhibice transportu látek membránami, inhibice elektronového transportu) a také tím, že konkuruje v enzymových reakcích zpracovávaných aminokyselin (především kyselině asparagové, glutamové a β-alaninu).

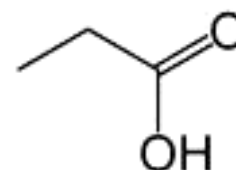
S rostoucím pH její účinnost roste, ale musí být aplikována v chuťově snesitelných koncentracích (do 1,5-3 % obsahu kyselin). Vyšší koncentrace než 4 až 6 % kyseliny octové působí na vegetativní formy mikroorganismů letálně. Spory jsou schopny snášet 6% ocet velmi dlouho.

Při konzervaci potravin organickými kyselinami lze využívat jejich různých synergických účinků. Často se jedná o spolupůsobení kyseliny octové s mléčnou, nebo přítomnost octa a glukózy či sacharózy stejně tak s NaCl. [5]

Používá se zejména pro přípravu nálevů konzervované zeleniny, pro výrobu kečupů, dresingů, majonéz, v rybích výrobcích. [3]

1.6 Kyselina propionová

Biologicky ji produkují bakterie rodu *Propionibacterium* jako konečný produkt svého anaerobního metabolismu. Může také vznikat metabolickým rozkladem mastných kyselin s lichým počtem



uhlíků nebo rozkladem některých aminokyselin. [7] Díky slabé disociaci molekuly je kyselina propionová účinná i ve slabě kyselých prostředích do pH 6, s optimem působení při pH 5. [4]

Propionová kyselina a její sodná a vápenatá sůl vykazují protiplísňové účinky, působí proti bakteriím a na kvasinky prakticky nepůsobí. Používají se především proti plísním v pečárenském průmyslu a proti nitkovitosti chleba a pečiva (*Bacillus subtilis*). Dále je možno je používat k ochraně drůbežích a rybích výrobků, majonéz. [5]

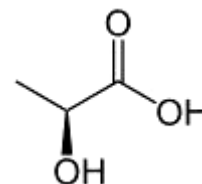
Vyhláška 152/2005 Sb. udává nejvyšší povolené množství této kyseliny v rozmezí 1000-3000 mg.kg⁻¹. [6]

I když tyto sloučeniny v těstě poněkud snižují vývin CO₂ (negativně ovlivňují metabolismus kvasinek), jsou přesto používány k ochraně chleba a jiného pečiva proti plísním. Díky snížení CO₂ bývá nutné ekvivalentně zvýšit dávku droždí. [13]

Antimikrobiální účinek je založen na neschopnosti plísní a některých bakterií metabolizovat tříuhlíkaté zbytky a dochází tak k akumulaci kyseliny propionové uvnitř buněk. [4]

1.7 Kyselina mléčná

Systematický název 2-hydroxypropanová kyselina, je kyselina opticky aktivní. Účastní se několika biochemických procesů, kde v živočišných organismech převládá L-mléčná kyselina. Kyselinu mléčnou produkují především bakterie označované jako bakterie mléčného kvašení, patřící mezi G⁺, nesporulující, acidofilní, anaerobní tyčinky nebo koky. [7]



Vyskytuje se jako přirozený konzervační prostředek řady fermentovaných výrobků (např. jogurty, kysané zelí, olivy). Jako aditivum se používá často jako acidulant. Bakteriostatický vliv má na *Mycobacterium tuberculosis*. Často se používá k povrchové dekontaminaci masa. [3]

Všeobecně je známo, že slabě cukernaté roztoky a polotekuté hmoty mohou za vhodných podmínek mléčně zkvasit. Bakterie mléčného kvašení vytváří během tohoto procesu kyselinu mléčnou, která chrání hmotu před ostatními mikroorganismy, které nesnáší kyselé prostředí. Kyselina mléčná vyprodukovaná bakteriemi by sama potravinu nestačila konzervovat, proto je důležitý vznik také určitého množství kyseliny octové, ethanolu

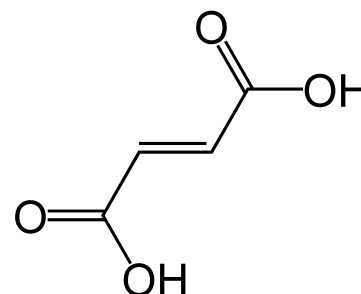
i některých bakteriocinů. Tyto vznikající látky se pak v anaerobním prostředí uplatňují synergicky. [5]

Základním anaerobním katabolickým procesem sacharolytických mikroorganismů je tzv. glykolýza (Embden-Meyerhofova dráha). Jedná se o přeměnu hexos v pyruvát ($\text{CH}_3\text{-CO-COOH}$), který je společným meziproduktem u většiny živých organismů. U tzv. homofermentativních mléčných bakterií (rody: *Streptococcus*, *Pedicoccus*, *Lactococcus*, *Enterococcus*) je pyruvát vzniklý glykolýzou redukován na laktát – anion kyseliny mléčné. Samovolné mléčné kvašení se uplatňuje při konzervaci zelí, okurek i zelené píce, kde zabraňuje rozvoji hnilobných bakterií. Tohoto procesu se využívá také při výrobě sýrů a mléčně kvašených nápojů. [14]

Kmeny bakterií mléčného kvašení, které byly schopny produkovat kyselinu mléčnou nejrychleji potlačovaly růst *Bacillus cereus*. Zvýšené koncentrace mléčné a octové kyseliny vytvořené při společné kultivaci bakterií mléčného kvašení a *Bacillus cereus* naznačily, že *B. cereus* stimuluje biosyntetické kapacity bakterií mléčného kvašení. [15]

1.8 Kyselina fumarová

Jedná se o 2-butendiovou kyselinu, patřící mezi nenasycené, dikarboxylové kyseliny. Její přítomnost lze očekávat v rostlinných i živočišných potravinách, ve větším množství byla prokázána v houbách, obilovinách a sýrech. [4] V některých zemích se používá k inhibici mléčného kvašení vín. Estery kyseliny fumarové (monomethyl-, monoethylester)



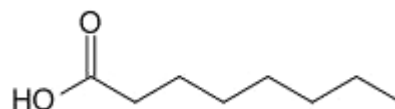
zpomalují tvorbu botulotoxinu a konzervovaného masa a brání plesnivění chleba. [3] V potravinářství se spíše používá jako látka okyselující (E 297), používá se v nápojích a prášcích do pečiva. Lze ji také využít jako náhradu za kyselinu vinnou a příležitostně místo kyseliny citronové. [7] Dále je její použití povoleno do náplní, polév na jemné pečivo i jiných cukrovinek na bázi cukru, gelovitých dezertů, instantních nápojů v prášku na bázi ovoce, žvýkačky atd. V nejvyšším použitelném množství 1000-4000 $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ dle typu potraviny. [6]

Byla zjištěna také antimikrobiální činnost dimethylesteru kyseliny fumarové (DMF) proti *E.coli* (K12). Nejvyšší inhibiční účinnost byla pozorována při koncentraci 200 ppm (per

part milion). Inhibice byla zřetelná v počátečních fázích růstu. Při tepelném ošetření byl ale DMF a jeho antimikrobiální účinnost méně stabilní., ale DMF byl méně citlivý na hodnoty pH. [16]

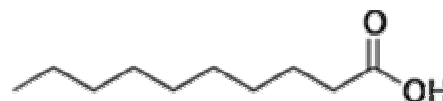
1.9 Kyselina kaprylová

Mezi hlavní patogeny zapojující se do degradace potravinářských výrobků patří *Listeria monocytogenes* a *Escherichia coli*. Tímto znehodnocením jsou postihovány nepasterované i pasterované mléčné pokrmy a produkty. Byl sledován antibakteriální účinek kyseliny kaprylové (C₈) a jejího monoacylglycerolu (monokaprylin) na *L. monocytogenes* a *E. coli* O157:H7 v mléce. Do vzorků pasterovaného mléka obsahující dané koncentrace C₈ a monokaprylinu byly naočkovány směsí těchto mikroorganismů. Kultivací při 37°C byla u všech vzorků snížena populace obou patogenů přibližně o 5,0 log CFU.ml⁻¹ za 6 hodin. Výsledky ukázaly, že monokaprylin může být potenciálně použit k potlačení *L. monocytogenes* a *E. coli* O157:H7 v mléce a mléčných produktech. Je ještě ovšem třeba provést sensorické studie před doporučením jejich použití. [17]



1.10 Kyselina kaprinová

Kaprinová (C₁₀) spolu s testovanou kaprylovou kyselinou (C₈) bránily utilizaci glukózy u dvou kmenů *E. coli*. Antimikrobiální aktivita zde byla vyjadřována jako IC₅₀ (koncentrace, se kterou bude využita jen polovina počáteční glukózy v substrátu). Pro testovanou kyselinu kaprinovou a dané kmeny *E. coli* byla IC₅₀ rovna 1,25–2,03 g.l⁻¹. Zároveň bylo zjištěno, že účinnost mastných kyselin s délkou řetězce C₈ a C₁₀ závisí na pH. Zaručená baktericidní aktivita byla při pH blízko 7. [2]



Monoacylglyceroly jsou látky využívané v potravinářském i farmaceutickém průmyslu. Mají amfifilní povahu, díky které mají emulgační vlastnosti a vykazují také inhibiční vlastnosti proti některým typům mikroorganismů. Studie byla zaměřena na účinky 2 monoacylglycerolů (monokaprin a monolaurin) proti určitým druhům bakterií (*Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae* a další), kvasinkám (*Saccharomyces cerevisiae*, *Candida albicans*, *Aureobasidium pullulans* a další) i vláknitých hub (*Aspergillus niger*, *Mucor racemosus*, *Rhizopus stolonifer* aj). Výsledky

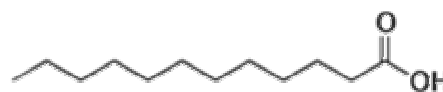
prokázaly, že monokaprin byl účinnější než monolaurin. Monokaprin omezil růst všech testovaných G^+ bakterií, kvasinek u vláknitých hub (vyjma *Mucor racemosus*). Dokonce byly inhibovány i dva druhy G^- bakterií (*Klebsiella pneumoniae* a *Acinetobacter lwoffii*). Minimální inhibiční koncentrace byla pro monokaprin stanovena v rozmezí 100–250 mg.l^{-1} . Antimikrobiální spektrum monolaurinu bylo užší, téměř výhradně se týkalo G^+ bakterií. [18]

1.11 Kyselina laurová

Systematický název je dodekanová kyselina, patří mezi

nasyčené mastné kyseliny. Nalézáme ji v kokosovém

a palmojádrovém oleji. Předpokládají se její antimikrobiální účinky. [7]



Byla použita při experimentu sledujícím účinnost kukuřičných zeinových filmů, které byly impregnovány nisinem, EDTA a kyselinou laurovou na kultury *Listeria monocytogenes* a *Salmonella enteritidis*. Při aplikaci pouze nisinu nebo kyseliny laurové bylo pozorováno snížení počtu buněk *L. monocytogenes* po 48 hodinách. Po 24 hodinách expozice kyseliny laurové v kombinaci s výše uvedenými látkami na *L. monocytogenes* nebyly pozorovány žádné buňky. U bakterie *Salmonella enteritidis* byl pozorován účinek pouze bakteriostatický. [19]

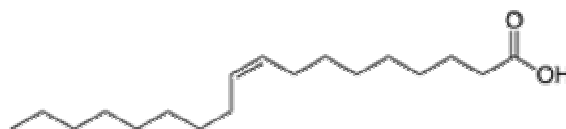
Účinky proti listeriím byly pozorovány u dalších volných mastných kyselin (kaprinová, laurová, myristová, palmitová, stearová, olejová, linolová a linolenová) a monolaurinu (ester glycerolu a kyseliny laurové). Kyselina laurová prokazovala největší inhibiční účinky, následovaná monolaurinem a kyselinou kaprinovou. [20]

1.12 Kyselina olejová

Kyselina olejová byla použita pro snížení

bakteriální kontaminace na kůži komerčně

porážených kuřat. Byla aplikována



v různých koncentracích (0-10 %) při mytí povrchu kuřat. Na vzorcích kůže, která byla dvakrát opláchnutá 10% roztokem kyseliny olejové, byly značně sníženy počty aerobních bakterií spojených s drůbeží. Výsledky této studie naznačují, že některé G^- bakterie (jako *Campylobacter*) jsou dost citlivé vůči antibakteriálním účinkům kyseliny olejové,

naopak některé G^+ bakterie jsou značně odolné. Antibakteriální účinky zřejmě spočívají v přerušení bakteriální membrány, následné lyzi buňky, inhibici příjmu nutrientů buňkou, případně tvorbě peroxidů či jiných volných radikálů. Volná kyselina olejová má relativně nízké antibakteriální účinky, nicméně přídavek sodných solí některých kyselin zvyšuje baktericidní účinky těchto sloučenin. [21]

Některé studie antimikrobiální účinky kyseliny olejové neprokázaly. Marounek a kol. nepozorovali inhibiční účinky kyseliny olejové na utilizaci glukózy v substrátu bakterií *Escherichia coli*. [2] Rovněž nebyla prokázána účinnost na některé bakterie kazící maso. [22]

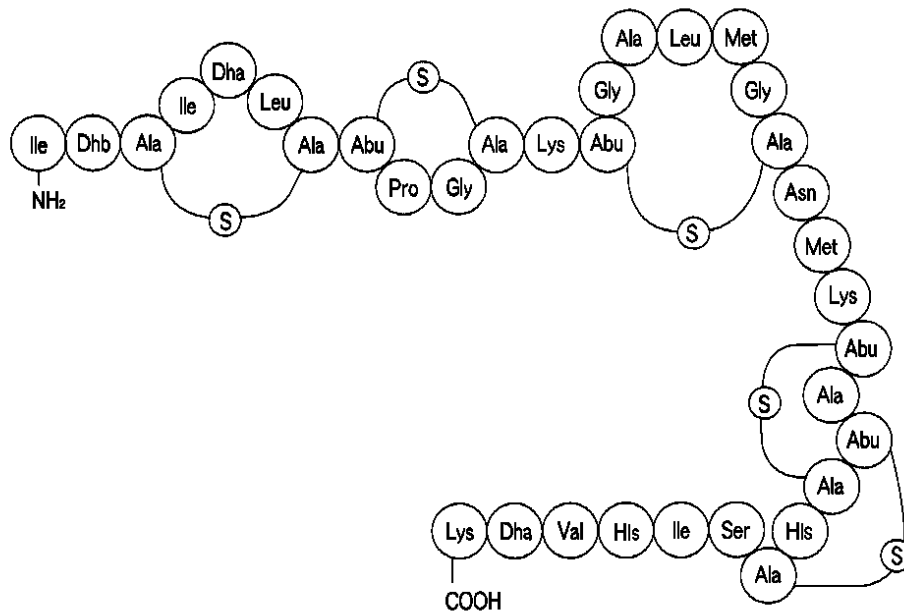
2 DALŠÍ ORGANICKÉ LÁTKY

2.1 Bakteriociny

Bakteriociny jsou antibakteriální proteiny produkované bakteriemi, které zastavují nebo inhibují růst dalších bakterií. Mnoho bakterií mléčného kvašení produkuje vysoký počet rozmanitých bakteriocinů. Tyto bakteriociny vyprodukované bakteriemi mléčného kvašení se nachází v četných fermentovaných i nefermentovaných potravinách. Jako konzervační prostředek je dnes široce používán především nisin. Bakteriociny jsou obvykle tříděny do 3 nebo 4 skupin, které jsou rozděleny na základě podobných či rozdílných vlastností a také podle složení peptidů i některých aminokyselin (AMK). [23]

2.1.1 Nisin

Jedná se o polycyklický peptid skládající se ze 34 AMK, z nichž některé patří mezi neobvyklé (např. dehydroalanin, dehydrobutirin...). Pro komerční využití se získává z přírodních substrátů jako je mléko (není chemicky syntetizován). [7]



Obr.1. Primární struktura nisinu

Nisin je produkován bakteriemi mléčného kvašení, zejména kmeny *Lactococcus lactis*. Díky tomu je běžně přítomen v sýrech, případně některých mléčných kysaných výrobcích.

V trávicím traktu se nisin rychle a přirozeně rozkládá. [5] Nisin je po konzumaci inaktivován *trypsinem* a *pankreatinem* a nemá žádný vliv na střevní mikroflóru. Vědeckým výborem pro potraviny při Evropské unii (SCF – Scientific Committee on Food) byl stanoven ADI pro nisin ve výši $0,13 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ tělesné hmotnosti. [24]

Byl zařazen do třídy I. označované jako lanthibiotika. Do této třídy patří bakteriociny s peptidy, které obsahují 19-50 AMK. [23]

U nisinu existují dva způsoby antimikrobiálního působení: nisin se váže na lipidovou složku buněčné stěny a následně dochází k inhibici její syntézy. Vytváří póry v cytoplazmatické membráně. [24]

Nisin inaktivuje řadu G^+ bakterií, zejména rody *Bacillus* a *Clostridium*, kde působí především na vegetativní stádia. Je neúčinný proti kvasinkám a plísním, proti G^- je málo účinný.

Do potravin bývá přidáván v množstvích $2-5 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ především do konzerv technologicky málo kyselých potravin (zelenina, dětská výživa aj.) určených k termosterilaci. Při obvyklé sterilaci tj. 120°C u konzerv s pH 5,2 – 5,3 podléhá nisin destrukci asi z 75 %. V kyselém prostředí je stálejší i při zvýšených teplotách. [5]

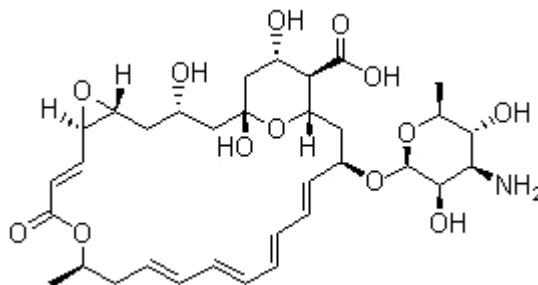
Podle vyhlášky 152/2005 Sb. je nisin (E 234) povolen pro zrající sýry a tavené sýry, vaječné obsahy do množství $12,5 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$, v menším povoleném množství pak také do pudinků ze semoliny, „Clotted cream“ a „Mascarpone“. [6]

Nisin je často používán ve spojení s jinými synergicky působícími konzervačními metodami (technologie překážek), především nízké pH a zvýšená koncentrace solí. [24]

Byla studována antimikrobiální aktivita při aplikaci nisinu do jedlých filmů připravených na bázi škrobu. Výsledky poukázaly na vhodnost použití takového jedlého filmu s nisinem, kde je takový film možnou bariérou před další kontaminací a zároveň alespoň částečně vyrovnává inaktivace nisinu. [25] Na Arkansaské univerzitě byl vyvinut nový jedlý obal, který zastavuje nebo zpomaluje růst bakterie *Listeria monocytogenes*. Funkční součástí tohoto jedlého filmu jsou proteiny zein a nisin. Účinnost tohoto nového filmu byla testována na mražených kuřecích prsou. [24]

2.1.2 Natamycin

Natamycin označovaný také jako pimaricin, je polyenový bakteriocin, který je produkován určitými kmeny *Streptomyces natalensis* nebo *Streptococcus lactis*. Je aktivní proti většině plísní a kvasinek v množství 5–10 mg.kg⁻¹, ale neúčinný proti bakteriím. [3]



Jeho fungistatické působení není závislé na pH. Při správném použití neovlivňuje vůni ani chuť ošetřených potravin a také z hygienického hlediska je nezávadný. Akceptovatelný denní příjem byl stanoven do 0,3 mg.kg⁻¹ tělesné hmotnosti. [5]

Novela 152/2005 Sb. určuje použití natamycinu pro přírodní, tvrdé, polotvrdé sýry a pro trvanlivé masné výrobky uzené studeným kouřem pouze k povrchovému ošetření, v množství 1 mg. dm⁻² (nepřítomnost v hloubce 5 mm). [6]

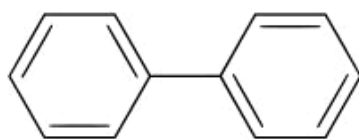
2.1.3 Další bakteriociny

Bakterie jsou zdrojem antimikrobiálních peptidů, které byly zkoumány pro potravinářské aplikace. Bakteriociny byly nejprve charakterizovány u G⁻ bakterií. Mezi G⁺ bakteriemi byly plně využity bakterie mléčného kvašení, jako zásobárna antimikrobiálních peptidů s potravinovými aplikacemi. (viz. příloha I.)

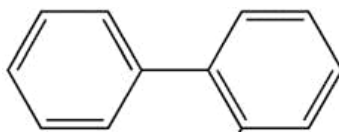
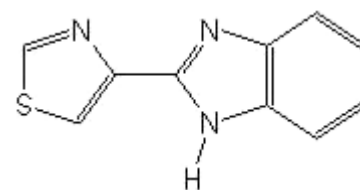
Bakteriociny mají využití zejména v překážkové technologii, která využívá synergický účinek spolupůsobících látek nebo ošetření. [23]

2.2 Bifenyl a jeho deriváty, Thiobendazol

Bifenyl a *o*-fenylfenol i jeho sodná sůl se používají k povrchovému ošetření citrusů. Jsou účinné proti plísním. Částečně se ukládá na povrchu slupek, proto se nedoporučuje používat slupky z takto ošetřených plodů pro další použití, např. pro výrobu marmelád. [4]



bifenyl

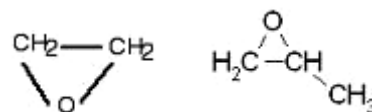
*o*-fenylfenol

thiobendazol

Česká legislativa umožňuje použití DMDC pro ochucené nealkoholické nápoje a nápojové koncentráty, konzervované výluhy z čaje a z aromatických bylin, nealkoholické víno v maximálním množství 250 mg.l^{-1} při výrobě, bez detekovatelných reziduí. [6] Podle nařízení komise (ES) č. 643/2006 je povolen maximální přírůvek 200 mg.l^{-1} u částečně zkvašeného hroznového moštu, vín šumivých, šumivých dosycených CO_2 , perlivých, likérových vín, stolního vína. Přidávání se musí provádět krátce před plněním do lahví.[28]

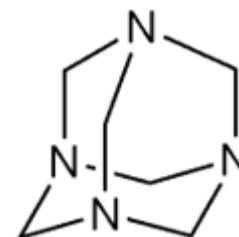
2.4 Alkylenoxidy

Ethylenoxid a propylenoxid se používají jako plynná fumigační (působí ve formě par a plynů) činidla k dekontaminaci sušeného ovoce, koření a případně i jiných sušených materiálů. [5]



2.5 Hexamethylenetetramin

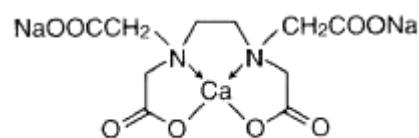
Je heterocyklická organická sloučenina nazývaná také hexamin, urotropin nebo methenamin. Jako potravinářské aditivum číslem E 239 je používán jako konzervant pro některé druhy sýrů. V některých zemích ovšem není povolen (např. Rusko). [7]



Česká vyhláška 304/2004 Sb. v novele 152/2005 Sb. dovozuje používat hexamin výhradně pro výrobu sýru *Provolone* v nejvyšším povoleném množství 25 mg.kg^{-1} (zbytkové množství vyjádřené jako formaldehyd). [6]

2.6 EDTA – dvojsodno-vápenatá sůl kyseliny ethylen-diaminotetraoctové

V potravinářském průmyslu je používána jako antioxidant, a konzervant v nejvyšších přijatelných množstvích $75\text{--}250 \text{ mg.kg}^{-1}$ v potravinách



jako jsou studené emulgované omáčky, sterilované luštěniny, zelenina, žampiony, sterilované rybí výrobky atd.s označením E 385. [6]

EDTA je známá zesilovacím účinkem u slabě kyselých konzervačních prostředků proti G^- bakteriím, u kterých způsobuje propustnost vnější membrány. Byl také prokázán účinek

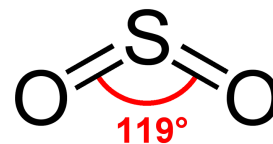
EDTA proti plísním a růstu kvasinek, který byl pravděpodobně způsoben inhibicí syntézy buněčné stěny. [1]

V systémech kombinující různé ochranné látky jako nisin, kyselinu octovou, mléčnou, sorbát draselný a hexametafosfát sodný byl pozorován účinek EDTA na růst *E.coli* O157:H7. Výsledky poukázaly, že sama EDTA nebyla schopná zastavit růst *E.coli* O157:H7 na sekaném hovězím mase. V experimentech, které kombinovaly ošetření nisin/EDTA byl pozorován omezený růst *E.coli* O157:H7 při 10°C. Použitím fixace v gelech alginátu vápenatého se zvýšila účinnost kombinace nisin/EDTA při 10°C, ale při 30°C tato kombinace již účinná nebyla. [29]

3 ANORGANICKÉ LÁTKY

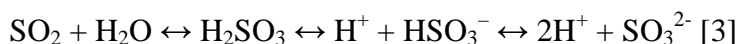
3.1 Oxid siřičitý a siřičitany

Oxid siřičitý a jeho deriváty jsou v potravinářství používány jako konzervační prostředky, k inhibici reakcí enzymového i neenzymového hnědnutí a také pro bělení potravin. [3]



Česká legislativa (vyhláška 304/2004 Sb.) dovoluje použití osmi příbuzných látek, které bývají souhrnně označovány jako siřičitany (E 220 – E 228) a vyjadřují se v přepočtu na koncentraci oxidu siřičitého. Dále se používají siřičitan sodný; draselné, sodné a vápenaté disiřičitany i hydrogensiřičitany. [24]

V kyselých potravinách (pH 3-4) převládají hydrogensiřičitany. Vzájemné poměry disociovaného i nedisociovaného podílu závisí na pH:



Nedisociovaná kyselina siřičitá je účinná proti plísním, bakteriím a jako jediná forma je účinná i proti kvasinkám. V prostředí s vyšším pH se pak v roztoku vyskytuje především hydrogensiřičitanový iont, který vykazuje antimikrobní účinek proti bakteriím, ale ne proti kvasinkám.

Oxid siřičitý a siřičitany inhibují především bakterie, méně citlivé jsou kvasinky a plísně. Aplikují se pro inhibici růstu octových a mléčných bakterií a pro inhibici divokých kvasinek u vín. [4]

Oxid siřičitý vykazuje bakteriostatický účinek při koncentraci 1-2 mg.dm⁻³, vyšší koncentrace působí baktericidně. Používaná množství se podle druhu potravin pohybují v rozmezí 10 až 2000 mg.dm⁻³ (resp. mg.kg⁻¹). [3]

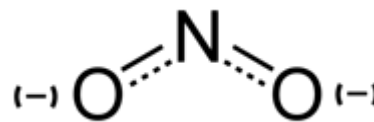
Vyhláška 304/2004 Sb. povoluje použití siřičitanů (přepočteno jako oxid siřičitý) pro velkou skupinu potravin. Jedná se především o víno, ovocné šťávy, nápojové koncentráty, vinný a ovocný ocet, sušené brambory, loupané (syrové) brambory, sušenou zeleninu a ovoce, sušené houby apod. [30]

Směrnice evropského parlamentu a rady ze dne 5. července 2006 doporučuje aktualizovat stávající předpisy používání oxidu siřičitého a siřičitanů ve vařených korýších, stolním hroznovém vínu a liči. [12]

V EU musí být potraviny, které byly ošetřeny siřičitany v koncentracích nad 10 mg.kg^{-1} řádně označené. [31]

3.2 Dusitany

Dusitany se používají do solících směsí pro nakládání masa (standardní směs obsahuje 0,5-0,6 % NaNO_2), kde



vykazují zřetelné antimikrobiální účinky zvláště proti bakterii *Clostridium botulinum* a zároveň potlačují produkci toxinů (zabraňují vyklíčení spor). Při nakládání masa se zejména využívá jejich schopnost stabilizovat hemové pigmenty. Dusičnany samy o sobě nevykazují antimikrobiální aktivitu, ale prostřednictvím mikrobiálních enzymů (*nitrátreduktas*) jsou zredukovány na dusitany. [5, 3]

Pro použití v potravinářství je možno aplikovat sodné a draselné soli dusitanů i dusičnanů (E 249–252), především u masných výrobků tepelně neopracovaných, nakládaných, solených i sušených, do masných konzerv. Dusičnany sodné a draselné mohou být aplikovány také u tvrdých, polotvrdých a poloměkkých sýrů. Povolené množství je vyjadřováno jako povolené dávkování nebo povolená rezidua mg.kg^{-1} většinou jako NaNO_2 . Zbytková množství se pohybují od 50–250 mg.kg^{-1} . [6]

Aniony jsou nejúčinnější při pH 5–5,5, předpokládá se, že účinek je založen na oxidaci thiolových skupin mikrobiálních enzymů.

Laktobacily a ostatní mikroorganismy přítomné v mikroflóře láku jsou proti dusitanům odolné. [5]

Obava před tvorbou karcinogenních N-nitrosaminů vedla ke snížení množství dusitanů používaných v masném průmyslu, zejména pro vytváření barviv jako nitrosohemoglobin a jeho následná přeměna na nitrosomyochrom.

V současné technologii masných výrobků se podařilo stabilizovat nízké hladiny nitrosodimethylaminu především díky snížení obsahu dusitanů v solících směsích, přechodem z klasického uzení na použití udící kapaliny a inhibicí tvorby nitrosaminů přidávkem kyseliny askorbové, difosforečnanu a tokoferolů. [32]

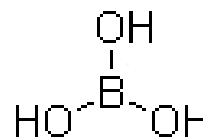
Pro inhibici *Clostridium botulinum* je podle úřadu EFSA (Evropský úřad pro bezpečnost potravin) rozhodující přidávané množství dusitanů. Současná legislativa je ale založena na

stanovení maximálních reziduálních množství v potravinách, kde uvedená přidávaná množství jsou spíše orientační. [33]

Limitní hodnota pro dusitanový ion je $ADI = 0,06 \text{ mg.kg}^{-1}$ tělesné hmotnosti. Díky možným rizikům při použití dusitanových a dusičnanových solí se hledají možné alternativy k tomu solení. Údržnost masných výrobků je možno podpořit preparáty na bázi kyseliny mléčné. Pro vybarvení výrobku byla zkoušena aplikace plynných směsí CO, NO a N₂ při kutrování. (příloha II) [24]

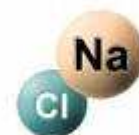
3.3 Kyselina boritá a její soli

Kyselina boritá a tetraboritan sodný jsou pod označením E 284, E 285 určeny pouze pro konzervaci kaviáru v nejvyšším povoleném množství 4 000 mg.kg⁻¹. [6] Konzervační účinek spočívá v inhibici *dekarboxylas* aminokyselin a metabolismu fosfátů. [3]



3.4 Chlorid sodný

V potravinářství se běžně používá v kombinaci s dalšími konzervačními prostředky nebo metodami, ale za aditivní látku se nepovažuje. Jeho antimikrobiální aktivita souvisí především se snižováním aktivity vody.



V podstatě se jedná o osmoanabiózu, tedy nepřímé vysoušení prostředí mikroorganismů. Při velmi vysokých koncentracích může docházet u nehalofilních mikroorganismů až k plazmolýze. [3, 5]

Citlivost mikroorganismů na koncentraci je různá, viz tabulka 1. [5]

Tabulka 1. Citlivost mikroorganismů na koncentraci NaCl

koncentrace NaCl v roztoku (%)	a _w	účinek na:
10	0,94	potlačuje <i>Cl. botulinum</i> , salmonely
16	0,90	potlačuje běžné bakterie
22	0,86	potlačuje stafylokoky a běžné kvasinky

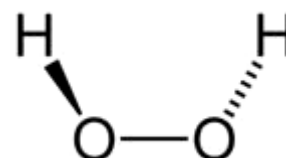
Zástupci rodu *Escherichia* se přestávají množit už při koncentraci 8–9 %, hnilobné bakterie při 10–12 % NaCl v prostředí. *Clostridium botulinum* přestává růst a tvořit toxiny již při 5–10 % NaCl v prostředí. [5]

Byl zjišťován účinek NaCl na *Escherichia coli* a *Staphylococcus aureus* pomocí transmisní elektronové mikroskopie (TEM). Kultury mikroorganismů byly kultivované v médiu s 0,5 a 10% koncentrací NaCl. Buňky *E. coli* vykazovaly větší morfologické poškození než buňky *S. aureus*. Při koncentraci 10 % NaCl v médiu bylo zaznamenáno značné poškození buněk *E. coli*. Obecně *S. aureus* byl velmi tolerantní na NaCl a nebylo zaznamenáno žádné větší poškození buněčné stěny nebo plazmatické membrány. [34] Při vyšetřování účinku NaCl na růst a produkci bakteriocinu u *Lactobacillus amylovorus* DCE 471 bylo zjištěno, že zvýšená koncentrace NaCl negativně ovlivnila buněčný růst, produkci bakteriocinu (amylovorin L471) i produkci biomasy. Experimenty byly prováděny za podmínek kvašení kvasu (teploty, pH). [35]

3.5 Další anorganické látky

3.5.1 Peroxid vodíku H₂O₂

Peroxid vodíku je jako dezinfekce (v porovnání s konzervačními látkami) používán díky rychlým letálním účinkům na mikroorganismy a nemá dlouhodobý nebo konzervující účinek.



Antimikrobiální působení peroxidu vodíku nespočívá v jeho oxidačních vlastnostech, ale primárně spočívá v produkci jiných silných oxidačních činidel jako singletový kyslík, peroxidové radikály a hydroxylové radikály. [36] Tyto reaktivní kyslíkové deriváty způsobují nevratné poškození velkého množství buněčných částí např. enzymů, složek membrány a DNA. Buňky se mohou chránit před toxicitou H₂O₂ buď činností *katalas* nebo v případě poškození DNA opravením poškození. [37]

Největší aktivita H₂O₂ byla prokázána proti anaerobním a G⁻ bakteriím. Bylo zjištěno, že koncentrace 5,3–12 ppm v chladící vodě pro drůbež zredukovala populaci *E. coli* 97-99,9 %.

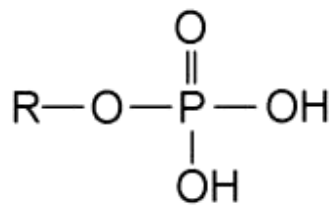
Peroxid vodíku má udělen status GRAS (Generally Recognized As Safe – Obecně uznávaný jako bezpečný) a je úřadem FDA (Food and Drug Administration of the United

States – Úřad pro potraviny a léčiva) schválen pro balení a povrchovou sterilizaci v potravinářství.

Dovolené použití peroxidu vodíku jako přímého aditiva je omezeno, s možností použití pro: mléko určené pro výrobu sýrů, víno, sušená vejce, kukuřičný sirup a pro bělicí účinky u drobů (střev), hovězí kopyta, instantní čaj, syrovátky, emulgátory. Dále byly testovány aplikace na skladovanou zeleninu a ovoce ve formě par, kde byla pozorována redukce spor plísní. Při použití u hub byly pozorovány barevné změny. [36]

3.5.2 Fosfáty

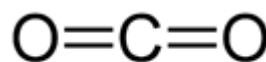
Kyselina fosforečná a její soli mají v potravinářském průmyslu velmi široké uplatnění jako regulátory kyselosti, emulgátory, stabilizátory, zvlhčující látky, zahušřovadla, kypřící látky. Pro různé typy potravin jsou povoleny ve velmi



širokém rozsahu množství od 0,5–30 g.kg⁻¹ jako nejvyšší povolené množství vyjádřené jako P₂O₅. Pro fosfáty je stanoveno ADI = 70 mg.kg⁻¹ tělesné hmotnosti. Fosforečnany mají také určité bakteriostatické účinky. Ale při běžném dávkování např. u masných výrobků (5 g.kg⁻¹) je toto množství pro bakteriostatický účinek nedostatečné. [6, 24]

3.5.3 Oxid uhličitý

Je látkou, která za vhodných podmínek zabraňuje přímo nebo nepřímo vegetaci mikroorganismů. Inhibiční princip je výsledkem



společného působení několika faktorů, kde nejvíce převládá částečné nebo úplné vytěsnění vzduchu, případně znemožnění přístupu kyslíku k potravíně. Při vyšších koncentracích oxidu uhličitého může také docházet k pronikání do mikrobiálních buněk a k jeho chemickému působení v nich. [5]

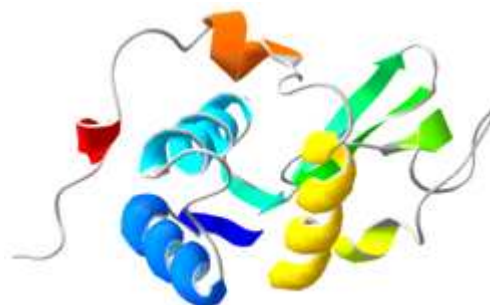
Oxid uhličitý je také používán pro systémy aktivního balení. Vysoké koncentrace CO₂ jsou žádané v některých obalových systémech, protože brání povrchovému růstu mikroorganismů. Takové potraviny jsou např. čerstvé maso, drůbež, ryby, sýry a jahody. Oxid uhličitý je více prostupný přes plastové fólie než kyslík, a je důležité, aby byl během skladování aktivně produkovan. [38]

Podle vyhlášky 152/2005 Sb. je oxid uhličitý zařazen mezi látky, které je možné přidávat v nezbytném množství tzv. *quantum satis* (qs) – nejnižší množství, které je nezbytné k dosažení požadovaného technologického účinku. [6]

4 PŘÍRODNÍ ANTIMIKROBIÁLNÍ LÁTKY

4.1 Lysozym

Lysozym (muramidasa) patří k enzymům třídy hydrolas, skládá se z 129 AMK zesíťovaných čtyřmi disulfidovými můstky. Je schopen hydrolyzovat β -1,4-glykosidickou vazbu mezi N-acetyl-D-glukosaminem a N-acetylmuramovou kyselinou (peptidoglykan) v bakteriálních stěnách. [39]



Nejvíce je obsažen ve slepičím vaječném bílku a kravském mléce, dále v lidském mlezivu, kvěťáku a zelí. V Evropské unii je použití povoleno při výrobě tvrdých sýrů, kde zabraňuje pozdnímu duření sýrů a při výrobě vína.

G^+ bakterie jsou obecně citlivější na působení lysozymu, protože peptidoglykan v jejich buněčné stěně je přímo vystaven jeho účinku. G^- bakterie mají buněčnou stěnou často chráněnou vnější membránou, čímž jsou chráněny před hydrolyzou peptidoglykanu a následnou lyzí buňky. Na působení lysozymu má vliv také řada dalších parametrů jako aktivita vody (a_w), pH, obsah tuku atd. [40]

Pomocí mikrotitrační deskové analýzy byl zhodnocen vzájemný účinek EDTA (kyselina ethylendiaminotetraoctová), laktoferinu, nisinu a *lysozymu* i monolaurinu na bakterie *Listeria monocytogenes*, *Escherichia coli*, *Salmonella enteritidis* a *Pseudomonas fluorescens*. Nízké úrovně EDTA podporovaly synergický účinek s nisinem a *lysozymem* proti *L. monocytogenes*. EDTA také zvýšila účinnost nisinu a *lysozymu* proti dvěma kmenům *E. coli* (O157:H7, O104:H21) v TSB půdě (Trypton Soy Broth). Různé kombinace EDTA, nisinu, *lysozymu* a monolaurinu vykazovaly baktericidní účinek proti některým G^- bakteriím. [41]

Bylo navrhováno použití *lysozymu* do aktivních obalových materiálů, které jsou schopny uvolňovat antimikrobiální látky do potravin během skladování. Výsledky prováděných testů ukazují, že včlenění *lysozymu* do polymerních materiálů (jednovrstevných i více vrstevných) nevede ke ztrátě účinnosti. [42]

Pro některé aktivní obalové materiály je důležité, aby aktivní lysozym, byl nepohyblivý a nedocházelo k jeho uvolňování do zabalených potravin, ale aby působil přímo z aktivního

filmu. Byly připraveny různě zesítené filmy z polyvinylalkoholu lišící se v množství lysozymu i zesítení. Výsledky této studie signalizují, že vyvinuté aktivní filmy jsou účinné pro zpomalení růstu vybraných mikroorganismů. [43]

Lysozym je enzym poměrně termostabilní. Částečná denaturace antimikrobiálního *lysozymu* při 80°C po 20 minut při pH 6 a současném použití s glycinem může navodit antimikrobiální účinnost pro G⁻ patogenní mikroorganismy přenášené potravou. Zvýšený baktericidní účinek proti *E. coli* K12 se pozvolna snižoval se stoupající koncentrací sacharózy a NaCl v médiu. Úplné potlačení bylo pozorováno při 2% koncentraci sacharózy a při 0,1% koncentraci NaCl. [44]

4.2 Rostlinné fytoncidy

Mnohé z fytoncidů bývají látky sensoricky velmi výrazné a dosti těkavé (silice, éterické oleje), ale i látky poměrně stabilní. Tyto látky jsou podstatnou součástí esenciálních olejů rostlinných materiálů. [5]

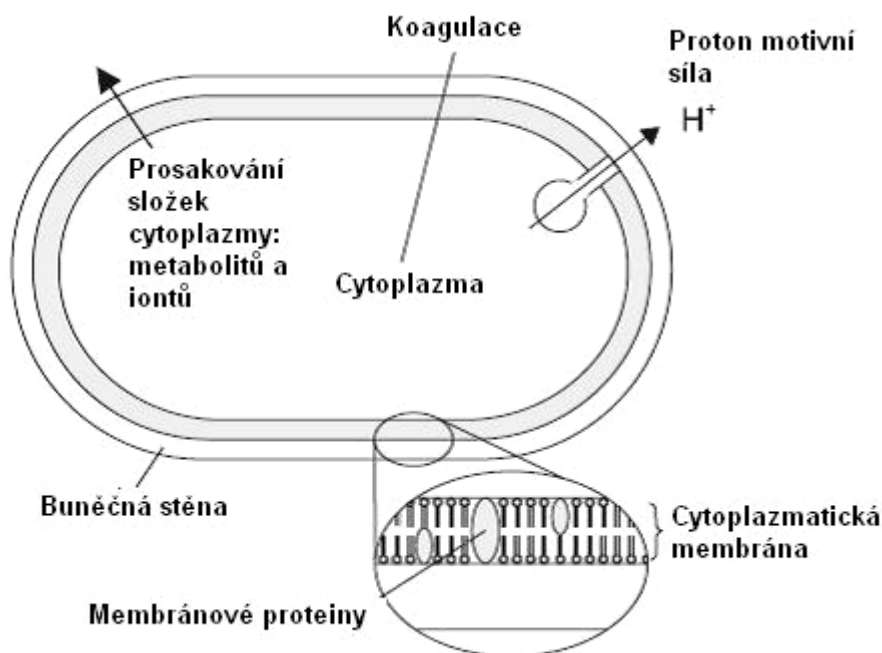
Z rostlinných materiálů jsou získávány lisováním, fermentací, extrakcí a nejběžněji destilací s vodní párou. Esenciální olej může obsahovat i více než 60 jednotlivých složek. Hlavní složka může představovat až 85% podíl v esenciálním oleji, zatímco ostatní látky mohou být přítomny jen ve stopovém množství. (viz příloha III) Některé z těchto minoritní složek mohou hrát důležitou roli antibakteriálního účinku a to zřejmě synergistickým působením s dalšími součástmi esenciálního oleje. Takovým případem je šalvěj, některé druhy mateřídoušky i oregano. [45]

Za antimikrobiální aktivitu v potravinářsky významných rostlinách může odpovídat řada fenolových sloučenin, terpenoidních látek, dusíkatých heterocyklických sloučenin a mnoho dalších. Antimikrobiální účinky vykazují také některé sloučeniny, které můžeme řadit mezi aromatické látky, většinou hydrofóbní povahy (např. jednoduché fenoly, které jsou složkami silic, kouřová aromata pro uzení potravin...). [4]

Obecně se jeví, že citlivost bakterií k antimikrobiálnímu účinku esenciálních olejů se zvyšuje při nižším pH potraviny, nižší skladovací teplotě i množstvím kyslíku přítomného v obalu. Při nízkém pH se zvyšuje hydrofóbnost esenciálních olejů, což umožní snadnější rozptýlení v lipidech buněčné membrány cílových bakterií. Přítomnost tuku a bílkovin v potravinách obecně snižuje účinek esenciálních olejů. [45]

Již dávno je známo, že koření a jejich esenciální oleje vykazují různé úrovně antimikrobiální činnosti. Nejznámější obsažené účinné látky jsou allicin v česneku, eugenol v hřebíčku, cinnamaldehyd a eugenol ve skořici, karvakrol a thymol v oreganu i tymiánu a vanilin ve vanilkových luscích. [46]

Součásti esenciálních olejů zřejmě působí na buněčné proteiny začleněné v cytoplazmatické membráně. V cytoplazmatické membráně bývají také lokalizovány enzymy jako *ATP-asa*. Je možné, že lipofilní uhlovodíkové molekuly se hromadí v lipidové dvojvrstvě a deformují vzájemnou vazbu lipidů a proteinů, případně může nastat i přímá interakce lipofilních sloučenin s hydrofóbními částmi proteinů. [45]

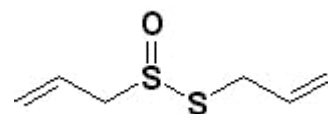


Obr. 3. Schéma působení esenciálních olejů na bakteriální buňku

Na obrázku jsou znázorněny lokalizace a mechanismy v bakteriální buňce, které jsou zřejmě místem účinku složek esenciálních olejů: degradace buněčné stěny, poškození cytoplazmatické membrány, poškození membránových proteinů, vytékání obsahu buněk, koagulace cytoplazmy a ztráta protonmotivní síly. [45]

4.2.1 Allicin

Allin se vyskytuje v česneku v koncentraci do 1,8 %. Mechanickým poškozením česnekového stroužku se enzym *alliinasa* dostane do kontaktu s cytosolickým allinem a vytvoří se sulfidy jako allicin. Allicin je nestabilní a rozkládá se enzymaticky nebo termicky na těkavé látky jako diallydisulfid, diallytrisulfid, metylallyldisulfid a metylallyl-trisulfid. [24]



Allicin působí na mnohé patogenní i hnilobné mikroorganismy (např. *Bacillus subtilis*, *Salmonella paratyphi*). [5]

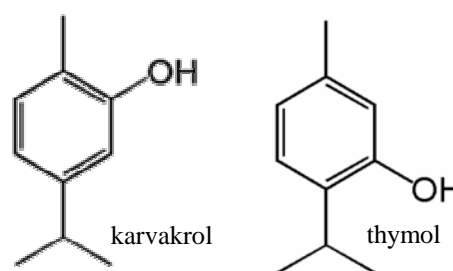
Esenciální olejové extrakty rostlin rodu *Allium* (česnek, cibule) projevily zřetelnou antimikrobiální aktivitu. Česnek vykazoval nevyšší inhibiční účinnost při všech použitých koncentracích. Byly použity různé koncentrace jednotlivých extraktů (50, 100, 200, 300 a 500 ml.l⁻¹) z tří typů cibulí (pór, žlutá a červená) a česneku proti bakteriím *Staphylococcus aureus* a *Salmonella enteritidis* a třem plísním *Aspergillus niger*, *Penicillium cyclopium* a *Fusarium oxysporum*. Plíseň *Fusarium oxysporum* byla nejméně citlivá na dané extrakty, zatímco *Aspergillus niger* a *Penicillium cyclopium* byly významně potlačeny i při nízkých koncentracích. [47]

Na syrovém kuřecím salámu byly zkoumány účinky ekvivalentních koncentrací čerstvého česneku, česnekového prášku a česnekového oleje proti oxidaci tuků a mikrobiálnímu růstu během uskladnění při 3°C. Přídavek čerstvého česneku (30 g.kg⁻¹) nebo prášku (9 g.kg⁻¹) podstatně snížil počáteční počet aerobních buněk na plotně, čímž došlo k prodloužení skladovatelnosti na 21 dnů. Přídavek česnekového oleje neměl zásadní vliv na počty buněk ve srovnání s kontrolním vzorkem. Sensorická analýza poukázala na silnější příchut' česnekového prášku. [48]

Byly prokázány také anti-listeriální účinky česnekové šťávy v různých koncentracích (1, 2,5, 5 %). 5% česneková šťáva silně snížila počet bakteriálních buněk ve srovnání s počátečním množstvím. Při použití skenovací elektronové mikroskopie bylo u buněk *Listeria monocytogenes* pozorováno nabobtnání, částečně deformovaný tvar i vznik pórů. [49]

4.2.2 Karvakrol a Thymol

Karvakrol a thymol jsou základní esenciální oleje tymiánu a oregana. Obě sloučeniny se vyznačují tím, že činí buněčnou membránu propustnou. Karvakrol a thymol způsobují dezintegraci buněčné membrány



G^- bakterií uvolněním lipopolysacharidů a zvyšují propustnost cytoplazmatické membrány pro ATP. Studie provedená s bakterií *Bacillus cereus* ukázala, že karvakrol interaguje s buněčnou membránou, kde se rozpustí ve fosfolipidové dvojvrstvě a je přijatý mezi řetězce mastných kyselin. [45]

Byl studován účinek esenciálních olejů (jejich hlavních složek) na bakterii *Bacillus cereus*, coby sporotvorný patogen spojený s častými nemocí přenášenými potravou. Jako živná půda byl použit mrkvový bujón. Koncentrace 15 μl karvakrolu nebo 30 μl thymolu na 100 ml úplně potlačila bakteriální růst po více než 60 dnů při 16°C. [50]

Přírodní antimikrobiální směs karvakrolu byla podrobena testům týkajících se jeho účinku na růst a produkci toxinu bakterií *Bacillus cereus*. Karvakrol při koncentraci 0,06 $\text{mg}\cdot\text{ml}^{-1}$ snižoval počet životaschopných buněk a zároveň došlo ke snížení produkce toxinu o 80 %. Karvakrol může být potenciálně přidáván do potravinářských výrobků pod hodnotou minimální inhibiční koncentrace, čímž se snižuje riziko produkce toxinu *B. cereus*. Při nízkých koncentracích není tolik ovlivněná vůně ani chuť výrobku. [51]

Bohužel, přes evidentní antimikrobiální působení při těchto koncentracích dochází k nepříznivému ovlivnění vůně a chuti. Snížením přidávaného množství a spojením s překážkovou technologií by mohla být vytvořena přijatelná kombinace. [50]

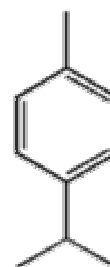
V několika studiích byly provedeny aplikace esenciálních olejů na různé typy potravin. Tymianový olej ve směsi s krájeným vepřovým masem při koncentraci 0,8 $\mu\text{l}\cdot\text{g}^{-1}$ oleje slabě potlačil růst *Listeria monocytogenes* [45]. Směs tymianového a oregánového oleje byla použita pro potlačení přirozené mikroflóry u baleného asijského okouna (celá ryba), [52] Slabý až střední antimikrobiální účinek tymianového oleje byl zaznamenán při použití v mycí vodě (koncentrace 0,1-10 $\text{ml}\cdot\text{l}^{-1}$) u salátu a lociky, na bakterie *Escherichia coli*. [45]

Olej z oregana byl aplikovaný v kombinaci s modifikovanou atmosférou v koncentraci 8 $\mu\text{l}\cdot\text{g}^{-1}$ na plátky z hovězího masa. Byl pozorován výrazný inhibiční účinek na přírodní mikroflóru i na bakterie *Listeria monocytogenes*. [53] Při aplikaci na krájené hovězí maso

v koncentraci 0,5-10 $\mu\text{l.g}^{-1}$ oleje z oregana a v kombinaci s různou atmosférou obalu byl účinek slabší. Na spory *Clostridium botulinum* naočkované do vakuově baleného krájeného vepřového masa byl olej z oregana neúčinný. [45] Při inokulaci salátu z tresčích jiker bakteriemi *Salmonella enteritidis* došlo při použití oleje z oregana ($5-20 \mu\text{l.g}^{-1}$) k výraznému snížení počtu buněk při všech použitých hodnotách pH i teplotě uskladnění. [54] Růst bakterií byl snížen také při aplikaci tohoto oleje na *Escherichia coli* přítomné v salátu z lilku. [45]

4.2.3 *p*-cymen

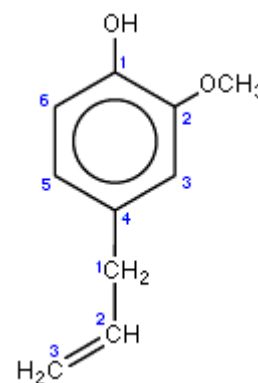
Je základní složkou oleje z tymiánu, oregana i kmínu. [7] U mikroorganismů způsobuje nabobtnání cytoplazmatické membrány. Antibakteriální účinky *p*-cymenu se ztrácí, je-li použit samostatně. V kombinaci s karvakolem byl pozorován synergismus proti bakterii *Bacillus cereus*. Zvýšení účinnosti pravděpodobně spočívá v začlenění *p*-cymenu do lipidových dvojvrstev. Zde usnadní transport karvakolu přes cytoplazmatickou membránu. [45]



4.2.4 Eugenol

Je hlavní složka především hřebíčkové silice (asi 85 %), dále jej můžeme nalézt v muškátovém oříšku, skořici i bobkovém listu. [7]

Byla zkoumána antimikrobiální aktivita 14 druhů koření použitím surových ethanolových extraktů a esenciálních olejů pro potlačení bakterií rodu *Salmonella* v potravinách. Mezi ostatními ethanolovými extrakty byl výtažek z hřebíčku nejvíce účinný na



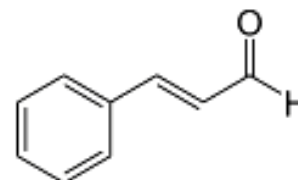
potlačení růstu daných bakterií. Obecně účinnost olejů z koření byla vyšší v porovnání s odpovídajícími ethanolovými výtažky. Autoři shrnuli antibakteriální účinnost jednotlivých druhů koření v následujícím pořadí (jako esenciální oleje) : hřebíček > kůra citroníku > kmín > kardamon > koriandr > muškátový oříšek > muškátový květ > zázvor > česnek > bazalka > nať z citroníku. [55]

Hřebíčkový olej byl použit k ošetření masa a sýru v koncentraci 0,5 a 1 % při teplotě 30°C a 7°C. Při 1% koncentraci hřebíčkového oleje byla pozorována výraznější inhibiční aktivita proti *Listeria monocytogenes*. [56]

Alkoholové extrakty z hřebíčku (eugenol) a nového koření prokázaly důrazný inhibiční účinek na dvě psychrotrofní patogenní bakterie *Listeria monocytogenes* a *Aeromonas hydrophila*, na pečeném hovězím mase i na kouscích vařených kuřecích prsou. [57, 58]

4.2.5 Cinnamaldehyd – aldehyd skořicový

Cinnamaldehyd se získává ze skořicového oleje destilací s vodní parou. Jsou známy také metody jeho syntézy. Přirozeně jej nalézáme v kůře stromů rodu *Cinnamomum*, tedy skořicovníku. [7]



Ve studii, kterou provedli Juneja a spol. byl hodnocen účinek karvakrolu, aldehydu skořicového a thymolu na vařeném mletém hovězím a kuřecím mase, které bylo nevhodným způsobem chlazeno. Testovaným mikroorganismem byly spory *Clostridium perfringens*. Skořicový aldehyd byl podstatně účinnější než ostatní látky i při nejnižší koncentraci 0,5 % a při nevhodné rychlosti chlazení 21 hodin. [59, 60]

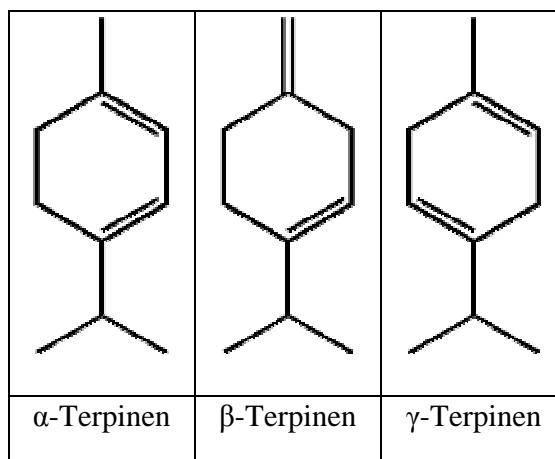
Testy provedené *in vitro* potvrdily účinek cinnamaldehydu na buňky *Escherichia coli* a *Listeria monocytogenes*, kde buňky *L. monocytogenes* byly více odolnější vůči účinkům cinnamaldehydu. Bakterie *Lactobacillus sakei* byla rezistentní. [61]

Směs olejů z tymiánu a skořice vykazovala inhibiční účinky na *Pseudomonas putida* ve vařených krevetách, při povrchovém ošetření. Nicméně použití těchto olejů mělo negativní vliv na organoleptické vlastnosti. [62] Kyselina skořicová účinkovala na přirozenou mikroflóru u krájeného kiwi a sladkého melounu, kde došlo ke zpomalení kažení bez nepříznivých sensorických důsledků. [63]

4.2.6 Terpineny

Terpineny jsou tři izomery, klasifikované jako terpeny. Vzájemně se liší polohou dvojných vazeb. α -terpinen lze izolovat ze silic kardamonu, majoránky, γ -terpinen nalézáme v silicích tymiánu, oregana i v jiných přírodních zdrojích. β -terpinen nemá žádný přírodní zdroj, byl připraven uměle. [7]

Antimikrobiální účinnost vykazuje α -terpinen,

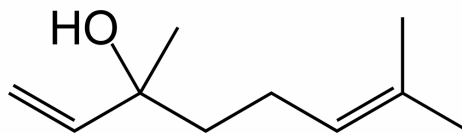


který při testech provedených Dorman a spol. byl schopen inhibovat růst 11 z 25 použitých mikroorganismů. [64]

4.2.7 Linalol

Je řazen mezi necyklické monoterpeny, s chemickým názvem 3,7-dimethylokta-1,6-dien-3-ol.

Hlavní rostlinné zdroje jsou Koriandr setý,



Mateřídouška obecná, Citroník limonový, Saturejka horská. [65] Ve studii provedené s 25 různými mikroorganismy byl linalol schopen potlačit růst ve 23 případech. [64]

Esenciální olej připravený z rostliny Koriandru setého, kde bývá linalol majoritní složkou, byl podroben sérii testů na vyhodnocení účinnosti toho oleje pro potlačení růstu *Listeria monocytogenes* na vakuově balené šunce. Výsledky poukázaly, že použití tohoto oleje pro vakuově balenou šunku není vhodné. Dochází zde ke snížení účinnosti tohoto oleje. [66]

Koriandrový olej byl schopen výrazně potlačit růst psychrotrofní patogenní bakterie *Aeromonas hydrophila* na povrchu vařeného vepřového masa při koncentraci $1250 \mu\text{g}\cdot\text{cm}^{-2}$. [45]

Rostlinné materiály jsou velkým zdrojem různých látek, které se vyznačují různým stupněm antibakteriální aktivity. Některé jsou značně aromatické, což omezuje jejich použití pro potraviny. Byla provedena řada studií této aktivity u různých esenciálních olejů, nebo přímo jejich složek. Srovnání mezi jednotlivými studii je obtížné, díky rozdílnému složení olejů získaných z rostlin. Mimo jiné, antimikrobiální aktivitu vykazují také esenciální oleje získané z: rozmarýnu, citronové trávy, šalvěže, tykve, čajovníku, [45], saturejky [67], černého pepře, nového koření, kmínu [22], bazalky, bobkového listu, majoránky [68]. Proti *Campylobacter jejuni* vykazovaly aktivitu: kořen zázvoru, jasmín, měsíček, pačuli, gardénie, semena mrkve, semena celeru, pelyněk. [69]. Inhibiční účinky proti bakteriím byly objeveny také u křenu selského, yzopu lékařského, máty [70], indonéského zázvoru (*Alpinia*) [71] a guavy [72].

ZÁVĚR

Cílem práce bylo shrnout antimikrobiální látky používané v potravinářství, popsat jejich účinek a případně způsob jejich použití. Zároveň popsat látky potenciálně použitelné v potravinářském průmyslu. Sloučeniny byly rozděleny do skupin jako organické kyseliny, anorganické látky a látky přírodního původu.

Ve skupině organických kyselin nacházíme látky všeobecně známé a používané pro konzervaci potravin (kyseliny benzoová, sorbová, parabeny), ale i mastné kyseliny (kaprylová, kaprinová, laurová). Organické kyseliny působí proti bakteriím, kvasinkám i plísním s různým stupněm účinnosti.

Ve skupině dalších organických látek nacházíme skupinu označenou jako bakteriociny. Tyto proteiny produkované některými bakteriemi mléčného kvašení inhibují růst ostatních bakterií. Běžně je nacházíme ve fermentovaných výrobcích. Mezi potravinářsky využívané patří nisin a natamycin. V současné době byla již navržena řada použití i pro jiné bakteriociny. Mezi organické látky byly také zařazeny sloučeniny jako bifenyl a thiobendazol určené výhradně pro ošetření povrchu citrusového ovoce, dimethyl-dikarbonát, který je účinný proti kvasinkám v nápojích (víno i nealkoholické nápoje). Alkylenoxidy mohou být používány jako fumigační přípravky pro ošetření sušeného ovoce nebo koření. Kyselina ethylendiaminotetraoctová (její sodnovápenatá sůl) EDTA má v potravinářství široké použití, mimo antibakteriální účinek vykazuje také synergický účinek se slabě kyselými konzervačními prostředky.

Oxid siřičitý, siřičitany inhibují především bakterie, méně citlivé jsou kvasinky a plísně. Nedisociovaná kyselina siřičitá je účinná i proti kvasinkám a plísním. Oxid siřičitý může u citlivých jedinců vyvolávat prudké reakce. Dusitany vykazují zřetelné účinky proti *Clostridium botulinum* a jsou součástí solných směsí pro nakládání masa. V současné době obava před vznikem karcinogenních N-nitrosaminů vedla ke snížení množství dusitanů. Podle úřadu EFSA by mělo být rozhodující právě přidávané množství dusitanů. Vývoj je zaměřen na hledání alternativ pro inhibiční účinek *Cl. botulinum*, ale i pro vybarvení masa. V tomto směru byla zkoušena aplikace plynných směsí oxidu uhličitého, dusného i dusíku při výrobě.

V mnoha potravinách je přirozeně přítomný *lysozym*, který působí na G^+ bakterie. Hledají se různé kombinace ošetření či látek, které by tento účinek rozšířily i na G^- bakterie.

Lysozym je také častou součástí vyvíjených aktivních obalových materiálů s pozitivním účinkem na prodloužení skladovatelnosti potravin.

Skupina rostlinných antimikrobiálních látek je velmi různorodá a obsáhlá. V práci byly vybrány ty látky, které byly označeny jako silné či výrazně účinné. Je nutné dodat, že v případě některých esenciálních olejů, které mohou mít velký počet aktivních látek, je účinek připisován synergickému působení všech těchto složek.

Přední antimikrobiální součásti koření a jejich esenciálních olejů jsou eugenol v hřebíčku, allicin v česneku, cinnamaldehyd ve skořici, karvakrol a thymol v tymiánu a oreganu nebo linalol v koriandru. Zde je obtížné provádět detailnější srovnání, protože účinnost jednotlivých olejů může být ovlivněna tím, zda byl použit extrakt, esenciální olej nebo samotné koření, dále se zde podílí faktory jako země původu, nadmořská výška růstu rostliny i období sklizně. Mnoho olejů prokazuje inhibiční účinky vůči patogenním nebo hnilobným bakteriím *in vitro*, ale při aplikaci v potravinách dochází k selhání toho účinku. Nejsilnější složky esenciálních olejů jsou fenolické povahy. Obecně jsou G^+ bakterie citlivější na působení těchto olejů. Problémem pro úspěšnou aplikaci je také časté ovlivnění organoleptických vlastností potravin. Některé studie doporučují snížené množství těchto látek v kombinaci s překážkovou technologií. Zde je ještě nutné provést řadu testů týkajících se samotného antibakteriálního účinku, tak sensorických testů.

Je nutné vnímat antimikrobiální látky jako součást celkové strategie kontroly patogenů v rámci kompletního výrobního řetězce, nikoli jako náhradu správné hygienické praxe.

SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY

- [1] BRUL, S., COOTE, P. Preservative agents in foods: Mode of action and antimicrobial resistance mechanisms, *International Journal of Food Microbiology*, 50, 1999, p. 1-17
- [2] MAROUNEK, M., SKŘIVANOVÁ, E., RADA, V. Suceptibility of *Escherichia coli* to C₂ – C₁₈ Fatty acids, *Folia Microbiology*, 48, 2003, p. 731-735
- [3] VELÍŠEK, J. *Chemie potravin 3*, 2. Vyd. Tábor. OSSIS, 2002
- [4] DAVÍDEK, J., JANÍČEK, G., POKORNÝ, J. *Chemie potravin*, Praha, SNTL, 1983
- [5] KYZLINK, V. *Teoretické základy konzervace potravin*, Praha, SNTL, 1988
- [6] Vyhláška 152/2005 Sb Ministerstva zdravotnictví ze dne 15. dubna 2005 (novela k 304/2004 Sb)
- [7] dostupné na: <http://en.wikipedia.org>
- [8] dostupné na: <http://www.szpi.gov.cz/cze/informace/article.asp?id=58471&cat=2190&ts=2ec56>
- [9] LUEC, E. Food applications of sorbic acid and its salts, *Food-Additives-and-Contaminants*, 1990, 7 (5), p. 711-715
- [10] dostupné na: http://www.chpr.szu.cz/vedvybor/dokumenty/studie/alerg_2003_3_deklas.pdf
- [11] HODGSON, J., STEWART, J., FYFE, L. Synergistic antimicrobial properties of plant essential oils and parabens: Potential for the preservation of food, *International Biodeterioration & Biodegradation*, 36, 1995, p. 465
- [12] Směrnice evropského parlamentu a rady 2006/52/ES, ze dne 5. července 2006
- [13] TICHÁ, J. *Mikroorganismy a jiní škůdci v mlýnskopekárenském průmyslu a ochrana proti nim*, Praha, SNTL, 1988
- [14] ŠILHÁNKOVÁ, L. *Mikrobiologie pro potravináře a biotechnology*, Praha, Academia, 2002

- [15] ROSSLAND, E., LANGSRUD, T., GRANUM, PE., SORGHAUG, T. Production of antimicrobial metabolites by strains of *Lactobacillus* or *Lactococcus* co-cultured with *Bacillus cereus* in milk, *International Journal of Food Microbiology*, 98 (2), 2005, p. 193-200
- [16] WANG, H.H., SUN, D.W., KUANG, R. Inhibition of *Escherichia coli* by dimethyl fumarate, *International Journal of Food Microbiology*, 65, 2001, p. 125–130
- [17] BRÁZDILOVÁ, O. Využití kyseliny kaprylové v různých odvětvích průmyslu, Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně, Fakulta technologická, Bakalářská práce, 2005
- [18] RŮŽIČKA, J., VELCLOVÁ, K., JANIŠ, R., KREJČÍ, J. Antimicrobial effects of 1-monoacylglycerols prepared by catalytic of glycidol with fatty acids, *Food Research Technology*, 217, 2003, p. 329-331
- [19] HOFFMAN, K.L., HAN, I.Y., DAWSON, P.L. Antimicrobial effects of corn zein films impregnated with nisin, lauric acid and EDTA, *Food Protection*, 64, 2001, p. 885-889
- [20] MBANDI, E., BRYWING, M., SHELEF, L.A. Antilisterial effects of free fatty acids and monolaurin in beef emulsions and hot dogs, *Food Microbiology*, 21, 2004, p. 815–818
- [21] HINTON, A., INGRAM, K.D. Use of oleic acid to reduce the population of the bacterial flora of poultry skin, *Journal of Food Protection*, 63, 200, p. 1282-1286
- [22] OUATTARA, B., SIMARD, R.E, HOLLEY, R.A., PIETTE G.J.P., BÉGIN, A. Antibacterial activity of selected fatty acids and essential oils against six meat spoilage organisms, *International Journal of Food Microbiology*, 37, 1997, p. 155-162
- [23] CLEVELAND, J., MONTVILLE, T.J., NES, I.F., CHIKINDAS, L. Bacteriocins: safe, natural antimicrobials for food preservation, *International Journal of Food Microbiology*, 71, 2001, p. 1-20
- [24] dostupné na: <http://www.agronavigator.cz> (Ústav zemědělských a potravinářských informací)

- [25] SANJURJORA, K., FLORESB, S., GERSCHENSONB, L., JAGUSA, R. Study of the performance of nisin supported in edible films, *Food Research International*, 39, 2006, p. 749–754
- [26] MINÁRIK, E. Dimethyldikarbonát účinné antiseptikum vo vinárstve, *Vinohrad*, 2, 2003, s. 24
- [27] VAN DER RIET, W.B., BOTHA, A., PINCHES, S.E. The effect of dimethyldicarbonate on vegetative growth and ascospores of *Byssochlamys fulva* suspended in apple juice and strawberry nectar, *International Journal of Food Microbiology*, 8, 1989, p. 95-102
- [28] Nařízení komise (ES) č. 643/2006 ze dne 27. dubna 2006, *Úřední věstník Evropské komise*
- [29] FANG, T., J., TSAI, H.CH. Growth patterns of *Escherichia coli* O157:H7 in ground beef treated with nisin chelators, organic acids and their combinations immobilized in calcium alginate gels, *Food Microbiology*, 20, 2003, p 243 - 253
- [30] Vyhláška č. 304/2004 Sb. Ministerstva zdravotnictví ze dne 6. května 2004
- [31] dostupné na: http://www.efsa.europa.eu/en/science/nda/nda_opinions/food_allergy/341.html
- [32] INGR, J. Nitrosaminy v masných výrobcích a dalších potravinách, *Výživa a potraviny*, č.3, 2006 s. 76-77
- [33] The effect of Nitrites/Nitrates on the Microbiological Safety of Meat Products, *The EFSA Journal*, 14, 2003, p. 1–13 (dostupné na: http://www.efsa.europa.eu/en/science/biohaz/biohaz_opinions/229.html)
- [34] HAJMEERA, M., CEYLANB, E., MARSDENC, J.L., FUNGC, D.Y.C. Impact of sodium chloride on *Escherichia coli* O157:H7 and *Staphylococcus aureus* analysed using transmission electron microscopy, *Food Microbiology*, 23, 2006, p. 446–452
- [35] NEYSENS, P., MESSENS, W., VUYST, de L. Effect of sodium chloride on growth and bacteriocin production by *Lactobacillus amylovorus* DCE 471, *International Journal of Food Microbiology*, 88, 2003, p. 29-39

- [36] SCHURMAN, J.J. Antibacterial activity of hydrogen peroxide against *Escherichia coli* O157:H7 and *Salmonella* spp. in fruit juices, both alone and in combination with organic acids, Thesis submitted, the Faculty of the Virginia Polytechnic Institute and State University in partial fulfillment of the requirements for the degree of Master of Science in Food Science and Technology, 2001
- [37] JUVEN, B., PIERSON, M. Antibacterial effect of Hydrogen Peroxide and methods for its detection and quantitation, *Journal of Food Protection*, 59 (11), 1996, p. 1233-1241
- [38] dostupné na: www.foodscience.afisc.csiro.au/actpac_text.htm
- [39] MAKKI, F., DURANCE, T.D. Thermal inactivation of lysozyme as influenced by pH, sucrose and sodium chloride and inactivation and preservative effect in beer, *Food Research International*, 29, 1996, p. 635-645
- [40] NAIKIMBUGWE, D., MASSCHALEK, B., ANIM, G., MICHIELS, CH. W. Inactivation of gram-negative bacteria in milk and banana juice by hen egg white and lambda lysozyme under high hydrostatic pressure, *International Journal of Food Microbiology*, 112, 2006, p. 19-25
- [41] BRANEN, J.K., DAVIDSON, M., Enhancement of nisin, lysozyme and monolaurin antimicrobial activities by ethylenediaminetetraacetic acid and lactoferin, *International Journal of Food Microbiology*, 90, 2004, p. 63-74
- [42] BUONOCORE, G.G., CONTE, A., CORBO, M.R., SINIGAGLIA, M., DEL NOBILE, M.A. Mono- and multilayer active films containing lysozyme as antimicrobial agent, *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 6, 2005, p. 459-464
- [43] CONTE, A., BUONOCORE, G.G., SINIGAGLIA M., DEL NOBILE, M.A. Development of immobilized lysozyme based active film, *International Journal of Food Microbiology*, 78, 2007, p. 741-745
- [44] IBRAHIM, H.R., HIGASHIGUCHI, S., SUGIMOTO, Y., AOKI, T. Antimicrobial synergism of partially-denatured lysozyme with plicic acid: effect of sucrose and sodium chloride, *Food Research International*, 29, 1996, p. 771-777

- [45] BURT,S. Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods-review, *International Journal of Food Microbiology*, 94, 2004, p. 223-253
- [46] VALERO, M., SALMERÓN, M.C. Antibacterial activity of 11 essential oils against *Bacillus cereus* in tyndalized carrot broth, *International Journal of Food Microbiology*, 85, 2003, p. 73-81
- [47] BENKEBLIA, N. Antimicrobial activity of essential oils extracts of various onions (*Allium cepa*) and garlic (*Allium sativum*), *Lebensmittel-Wissenschaft und Technologie*, 37, 2004, p. 263–268
- [48] SALLAM,Kh., ISHIOROSHI, M., SAMEJIMA, K. Antioxidant and antimicrobial effects of garlic in chicken sausage, *Lebensmittel-Wissenschaft und Technologie*, 37, 2004, p. 849-855
- [49] KIM, J.E., CHOI, N.H., KANG, S.CH. Anti-listerial properties of garlic shoot juice at growth and morphology of *Listeria monocytogenes*, *Food Control*, 18, 2007, p. 1198-1203
- [50] VALERO, M., GINER, M.J. Effects of antimicrobial components of essential oils on growth of *Bacillus cerues* INRA L2104 in the sensory qualities of carroth broth, *International Journal of Food Microbiology*, 106, 2006, p. 90-94
- [51] ULTEE, A., SMID, E.J. Influence of carvacrol on growth and toxin production by *Bacillus cereus*, *International Journal of Food Microbiology*, 64, 2001, p. 373-378
- [52] HARPAZ, S., GLATMAN, L., DRABKIN,V., GELMAN, A.Effects of herbal essentail oils used to extend the shelf life of freshwater-reared Asian sea Bass fish(*Lates cacarifer*), *Journal of Food Protection*, 66, 2003, p. 410-417
- [53] TSIGARIDA,E., SKANDAMIS, P., NYCHAS G-J.E. Behaviour of *Listeria monocytogenes* and autochthonous flora on meat stored under aerobic, vacuum and modified atmosphere packaging conditions with or without the presence of oregano essential oil at 5°C, *Journal of Applied Microbiology*, 89, 2000, p. 901-909

- [54] KOUTSOUMANIS, K., LAMBROPOULOU, K., NYCHAS, G-J.E. A predictive model for the non-thermal inactivation of *Salmonella enteritidis* in food model system supplemented with a natural antimicrobial, *International Journal of Food Microbiology*, 49, 1999, p. 63-74
- [55] NANASOMBAT, S., LOHASUPTHAWEE, P. Antibacterial activity of crude ethanolic extracts and essential oils of spices against *Salmonella* and other enterobacteria, *KMITL Sci. Tech. J.* ,5, 2005 p. 527-538
- [56] MENON, K.V., GARG, S.R. Inhibitory effect of clove oil on *Listeria monocytogenes* in meat and cheese, *Food Microbiology*, 18, 2001, p. 647-650
- [57] HAO, Y.Y., BRACKET,R.E., DOYLE,M.P. Inhibition of *Listeria monocytogenes* and *Aeromonas hydrophila* by plant extracts in refrigerated cooked beef, *Journal of Food Protection*, 61, 1998, p. 307-312
- [58] HAO, Y.Y., BRACKET,R.E., DOYLE, M.P. Efficacy of plant extracts in inhibiting *Aeromonas hydrophila* and *Listeria monocytogenes* in refrigerated, cooked poultry, *Food Microbiology*, 15, 1998, p. 367-378
- [59] JUNEJA, V., THIPPAREDDI, H., FRIEDMAN, M. Control of *Clostridium perfringens* in cooked ground beef by carvacrol, cinnamaldehyde, thymol, or oregano oil, during chilling, *Journal Food Protection*, 7, 2006, p. 1546-1551
- [60] JUNEJA, V., FRIEDMAN, M. Carvacrol, cinnamaldehyde, oregano oi, and thymol inhibit *Clostridium perfringens* spore germination and outgrowth in ground turkey during chilling, *Journal Food Protection*, 1, 2007, p. 218-222
- [61] GILL, A.O., HOLLEY, R.A. Disruption of *Escherichia coli*, *Listeria monocytogenes* and *Lactobacillus sakei* cellularmembranes by plant oil aromatics, *International Journal of Food Microbiology*, 108, 2006, p. 1-9
- [62] OUATTARA, B., SABATO,S.F., LACROIX, M., Combined effect of antimicrobial coating and gamma irradiation on shelf life extension of pre-cooked shrimp (*Penaeus spp.*), *International Journal of Food Microbiology*, 68, 2001, p. 1-9

- [63] ROLLER, S., SEESHAR, P. Carvacrol and cinnamic acid inhibit microbial growth in fresh-cut melon and kiwifruit at 4°C and 8°C, *Letters in Applied Microbiology*, 35, 2002, p. 390-394
- [64] DORMAN, H.J.D., DEANS, S.G. Antimicrobial agents from plants: antibacterial activity of plant volatile oils, *Journal of Applied Microbiology*, 88, 2000, p. 308–316
- [65] dostupné z : <http://faf.vfu.cz/html/index2.html> (virtuální učebnice farmakognozie)
- [66] GILL, A.O., DELAQUIS, P., RUSSO, P., HOLLEY, R.A. Evaluation of antilisterial action of cilantro oil on vacuum packed ham, *International Journal of Food Microbiology*, 73, 2002, p. 83-92
- [67] VAGIONAS, K., GRAIKOU, K., NGASSAPA, O., RUNYORO, D., CHINOU, I. Composition and antimicrobial activity of the essential oils of the three *Satureja* species growing in Tanzania, *Food Chemistry*, 103, 2007, p. 319-324
- [68] MEJHOLM, O., DALGAARD, P. Antimicrobial effect of essential oils on the seafood spoilage micro-organism *Photobacterium phosphoreum* in liquid media and fish products, *Letters in Applied Microbiology*, 34, 2002, p. 27-31
- [69] FRIEDMAN M., HENIKA, P.R., MANDRELL, R.E. Bactericidal activities of plant essential oils and some of their isolated constituents against *Campylobacter jejuni*, *Escherichia coli*, *Listeria monocytogenes* and *Salmonella enterica*, *Journal of Food Protection*, 65, 2002, p. 1545-1560
- [70] NEDOROSTOVÁ, L., KLOUČEK, P., ŠTOLCOVÁ, M., KOKOŠKA, L. The uses of antimicrobial properties of essential oils for food protection, Katedra rostlinné výroby, Česká zemědělská univerzita v Praze
- [71] SHARMA, K.D., HASHINAGA, F. Alpinia leaf extract: A prospective natural food preservative, *Journal of Scientific & Industrial Research*, 63, 2004, p. 689-693
- [72] FUKUMOTO, S., GOTO, T., HAYASHI, S. Antibacterial substance comprising guava, *Japanese Patent Application*, 2006

SEZNAM POUŽITÝCH SYMBOLŮ A ZKRATEK

G ⁺	grampozitivní bakterie
G ⁻	gramnegativní bakterie
ADI	přijatelný denní příjem (Accetable Daily Intake)
LD ₅₀	letální dávka (poloviční letální dávka)
NOAEL	hodnota dávky bez pozorovaného nepříznivého účinku (No-Observed-Adverse-Level)
ISN	mezinárodní číselný seznam (International Numbering System)
DMF	dimethylester kyseliny fumarové
C ₈	kyselina kaprylová
C ₁₀	kyselina kaprinová
IC ₅₀	koncentrace se kterou bude využita polovina substrátu
EDTA	kyselina ethylen-diaminotetraoctová, dvojsodno-vápenatá sůl
AMK	aminokyseliny
SCF	Vědecký výbor pro potraviny při Evropské komisi (Scientific Committee on Food)
DMDC	Dimethyldikarbonát
EU	Evropská unie
EFSA	Evropský úřad pro bezpečnost potravin (European Food Safety Authority)
a _w	aktivita vody
TEM	transmisní elektronová mikroskopie
DNA	kyselina deoxyribonukleová
ppm	parts per million (mg.kg ⁻¹)
GRAS	obecně uznáný jako bezpečný (Generally Recognized As Safe)

FDA	Úřad pro potraviny a léčiva Spojených států amerických (Food and Drug Administration of the United States)
TSB	kultivační půda – Trypton Soy Broth
ATP	adenozintrifosfát
<i>in vitro</i>	testy ve zkumavce

SEZNAM OBRÁZKŮ

Obr. 1. Primární struktura nisinu.....	20
Obr. 2. Mitochondrie.....	23
Obr. 3. Schéma působení esenciálních olejů na bakteriální buňku.....	34

SEZNAM TABULEK

Tab. 1. Citlivost mikroorganismů na koncentraci NaCl	28
---	-----------

SEZNAM PŘÍLOH

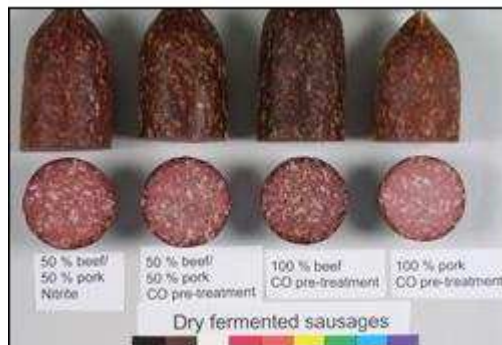
- P I Bakteriociny jako potravinářské konzervační prostředky: příklady navrhovaných aplikací, převzato z [23]
- P II Zkušenosti s náhradou dusitanů oxidem uhelnatým v tepelně opracovaných a fermentovaných masných výrobcích. Projekt řešen v norském potravinářském středisku MATFORSK
- P III Hlavní složky některých esenciálních olejů, které vykazovaly antimikrobiální aktivitu, převzato z [45]
- P IV Rostliny obsahující vybrané esenciální oleje nebo jejich složky
- P V Příklady mikroorganismů kazících potraviny nebo způsobující alimentární onemocnění

P I. Bakteriociny jako potravinářské konzervační prostředky: příklady navrhovaných aplikací, převzato z [23]

Bakteriocin	Použití	Závěry	Odkazy
Nisin A	Spojení nisinu s masitým pojivovým systémem (spojka v masných výrobcích)	Přídavek nisinu může redukovat nežádoucí bakterie v mletých masných produktech	Cutter and Siragusa, 1998.
Pediocin AcH	Použití pediocinu AcH produkovaného <i>Lactobacillus plantarum</i> WHE 92 pro postřikání povrchu sýru Münster na začátku doby zrání	Postřik zabraňuje růstu <i>L. monocytogenes</i> a může být použit jako ošetření proti listeriím	Ennahar et al., 1996
Enterocin 4	Použití producenta enterocinu <i>Ent. Faecalis</i> INIA4 jako startovací kultury při výrobě sýra Manchego (španělský tvrdý sýr)	Použití startovací <i>Ent. Faecalis</i> inhibuje <i>L. monocytogenes</i> Ohio, ale ne <i>L. monocytogenes</i> Scott A	Nunez et al., 1997
Linocin M-18	Aplikace <i>Brevibacterium. lines</i> jako startovací kultury pro výrobu červeného roztíratelného sýra	Způsobí snížení počtu o 2 log řády u <i>L. ivanovi</i> and <i>L. monocytogenes</i>	Eppert et al., 1997
Nisin A	Použití nisinu pro kontrolu <i>L. monocytogenes</i> v sýru Rikota	Nisin účinně inhibuje <i>L. monocytogenes</i> po 8 týdnů	Davies et al., 1997
Piscicolin 126	Aplikace piscicolinu 126 pro potlačení <i>L. monocytogenes</i> v dábělské šunkové pastě	Efektivnější než komerčně používané bakteriociny	Jack et al., 1996
Leucocin A	Použití leucocine produkovaného <i>Leu. gelidum</i> UAL 187 pro potlačení kažení masa	Naočkování vakuově baleného hovězího masa producentem bakteriocinu oddálí kažení způsobené <i>Lactobac. sake</i> až o 8 týdnů	Leisner et al., 1996
Lactocin 705	Použití lactocinu 705 pro snížení růstu <i>L. monocytogenes</i> v sekaném hovězím mase	Lactocin inhibuje růst <i>L. monocytogenes</i> v hovězím sekaném mase	Vignolo et al., 1996

Bakteriocin	Použití	Závěry	Odkazy
Pediocin AcH	Použití pediocinu produkovaného <i>P. acidilactici</i> pro inhibici <i>L. monocytogenes</i>	Startovací kultura <i>P. acidilactici</i> přispívá k efektivnímu snížení <i>L. monocytogenes</i> během výroby suchých drůbežích nevařených párků	Baccus- Taylor et al., 1993
Pediocin	Exprese operonu pediocinu u <i>Sac. cerevisiae</i>	potenciální aplikace v konzervaci vína a pečených výrobků	Schoeman et al., 1999
Pediocin AcH	Přidávání pediocinu k syrové drůbeži	Regulace růstu <i>L. monocytogenes</i> při 5°C po 28 dnů	Goff et. al., 1996
Pediocin PA-1	Použití kmenů <i>P. acidilactici</i> jako startovacích kultur pro fermentaci salámů	Pediocin efektivně přispívá k inhibici <i>L. monocytogenes</i>	Foegeding et. al., 1992
Enterocin	Přidání enterocinu pro inokulaci šunky, vepřového masa, kuřecích prsou, paštik, salámů	Regulace růstu <i>L. monocytogenes</i> podle různých podmínek	Aymerich et. al., 2000 a, b

P II. Zkušenosti s náhradou dusitanů oxidem uhelnatým v tepelně opracovaných a fermentovaných masných výrobcích. Projekt byl řešen v norském potravinářském středisku MATFORSK



Vzorky v pořadí zleva:

č.1.: 50 % hovězího masa+50 % vepřového masa + dusitany

č.2.: 50 % hovězího masa+50 % vepřového masa+ ošetření oxidem uhličitým

č.3.: 100 % hovězí maso + ošetření oxidem uhličitým

č.4.: 100 % vepřové maso+ ošetření oxidem uhličitým

P III. Hlavní složky některých esenciálních olejů, které vykazovaly antimikrobiální aktivitu, převzato z [45]

Běžný název esenciálního oleje	Latinský název rostlinného zdroje	Hlavní složka	Přibližné % složení
„Cilantro“ (Koriandr setý, listy)	<i>Coriandrum sativum</i>	linalol	26 %
		e-2-decanal	20 %
Koriandr (Koriandr setý, semena)	<i>Coriandrum sativum</i>	linalol	70 %
		e-2-decanal	—
Skořice (cinamon) (Skořicovník cejlonský)	<i>Cinnamomum zeylandicum</i>	trans-skořicový aldehyd	65 %
Oregano (Dobromysl obecná)	<i>Origanum vulgare</i>	karvakrol	stopové množství – 80 %
		thymol	stopové množství – 64 %
		γ -terpinen	2–52 %
		p-cymen	stopové množství – 52 %
Rozmarýn (Rozmarýna lékařská)	<i>Rosmarinus officinalis</i>	α -pinen	2–52 %
		bornyl acetát	0-17 %
		kafr	2-14 %
		1,8-eukalyptol	3-89 %
Šalvěj (Šalvěj lékařská)	<i>Salvia officinalis L.</i>	kafr	6-15 %
		α -pinen	4-5 %
		β -pinen	2-10 %
		1,8-eukalyptol	6-14 %
		α -tujon	20-42 %

Běžný název esenciálního oleje	Latinský název rostlinného zdroje	Hlavní složka	Přibližné % složení
Hřebíček (Hřebíčkovce vonný, poupata)	<i>Syzygium aromaticum</i>	eugenol	75-85 %
		eugenolacetát	8-15 %
Tymián (Mateřídouška obecná)	<i>Thymus vulgaris</i>	thymol	10-64 %
		karvakrol	2-11 %
		γ -terpinen	2-31 %
		p-cymen	10-56 %

P IV. Rostliny obsahující vybrané esenciální oleje nebo jejich složky



Tymián (*Thymus vulgaris*)



Oregano (*Oreganum vulgare* - Dobromysl obecná)



Koriandr (*Coriandrum sativum* - Koriandr setý)



Hřebíček (*Syzygium aromaticum* - hřebíčkovce vonný)

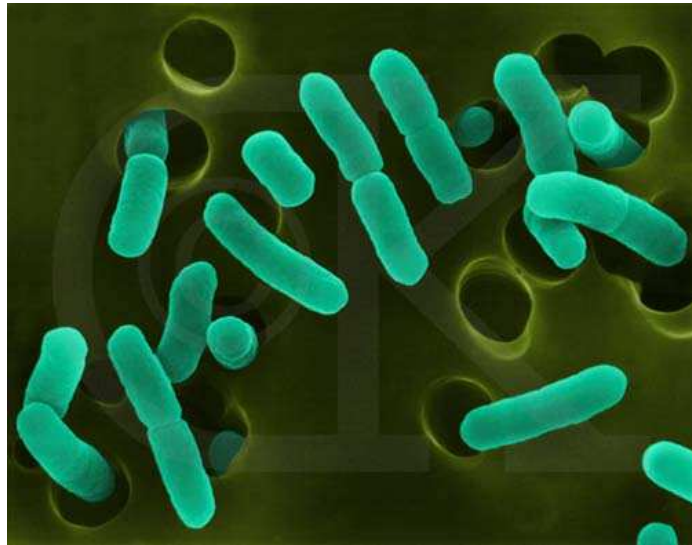


Skořicovník (*Cinnamomum casia*)

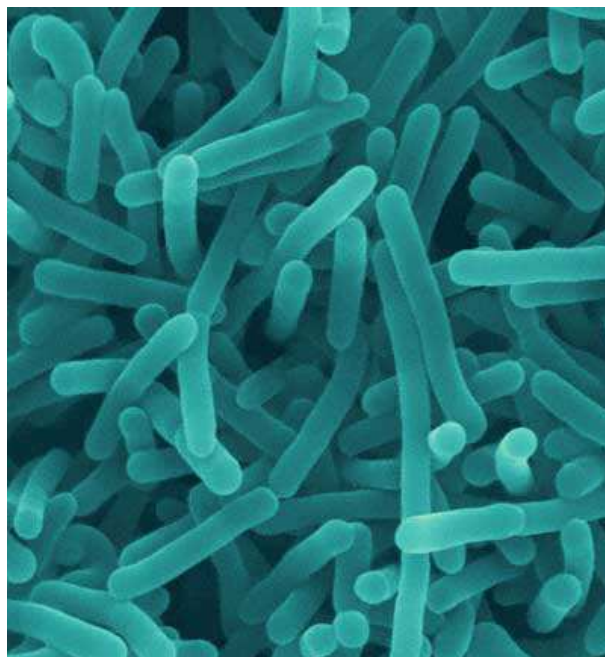


Guava (*Psidium guajava*)

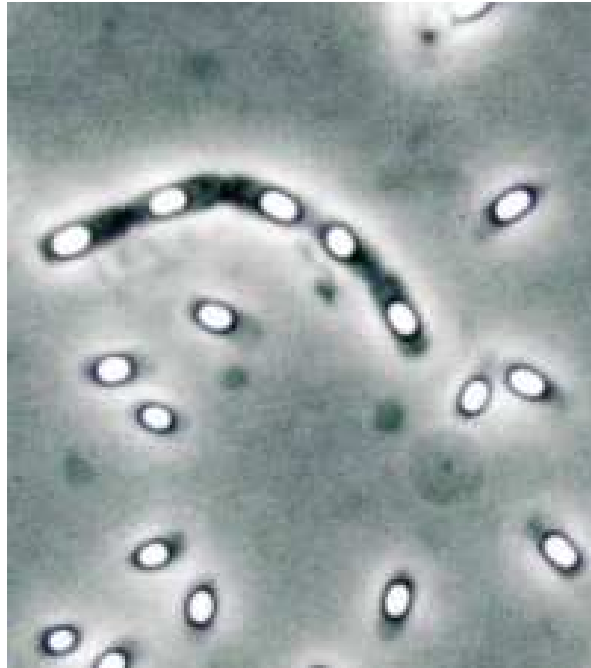
P V. Mikroorganismy kazící potraviny nebo způsobující alimentární onemocnění



Escherichia coli - anaerobní G^- bičíkatá tyčinkovitá bakterie žijící v tlustém střevě teplokrevných živočichů. Některé kmeny mohou být patogenní.



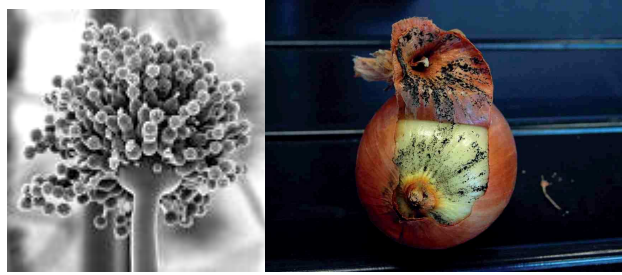
Listeria monocytogenes – aerobní nebo fakultativně aerobní G^+ tyčinka, může tvořit i kokovité formy, je pohyblivá a nesporelující. Jedná se o patogenní bakterii s ubikvitním výskytem



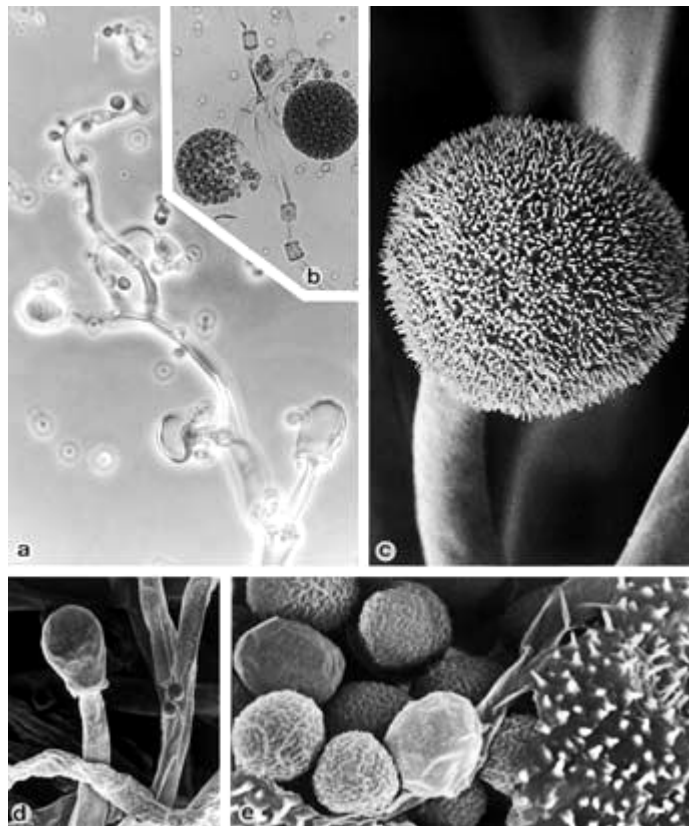
Bacillus cereus – G^+ , sporulující, pohyblivá, silná, neopouzdrěná, rovná tyčka, tvořící vlákna. Požití kontaminované potraviny vede k otravám způsobených toxinem.



Clostridium botulinum – anaerobní, nepohyblivá, sporotvorná G^+ tyčinka, nacházejí se v trávicím ústrojí zvířat i lidí, v půdě, bahně, vodě a prachu. Endospory jsou vysoce odolné vůči teplotě (přežívají záhřev 2 hodiny ve vroucí vodě). Produkuje termolabilní botulotoxin, typu A – G.



Aspergillus niger – tvoří plst'ovo-vatové, bezbarvé nebo zbarvené mycelium, osmotolerantní, xerotolerantní, produkce mykotoxinů. Vyskytuje se ubikvitně, způsobuje kažení potravin.



a) sporangiofor, b,c) sporangium a chlamydospora, d) kolumela, e) sporangiofor

Mucor racemosus –rod *Mucor* tvoří vzdušné mycelium, zpočátku bílé nebo šedé, později tmavé, rychle se rozrůstající. *Mucor racemosus* často způsobuje kažení rostlinných produktů, obzvláště zralých plodů