

Antimikrobiální látky produkované bakteriemi a jejich využití v potravinářství

Gabriela Klapáková

Bakalářská práce
2021



Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně
Fakulta technologická

Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně

Fakulta technologická

Ústav technologie potravin

Akademický rok: 2020/2021

ZADÁNÍ BAKALÁŘSKÉ PRÁCE (projektu, uměleckého díla, uměleckého výkonu)

Jméno a příjmení: **Gabriela Klapálková**
Osobní číslo: **T18473**
Studijní program: **B2901 Chemie a technologie potravin**
Studijní obor: **Chemie a technologie potravin**
Forma studia: **Prezenční**
Téma práce: **Antimikrobiální látky produkované bakteriemi a jejich využití v potravinářství**

Zásady pro vypracování

Zpracujte literární rešerši na zadané téma zahrnující následující body:

1. Charakterizace a dělení významných antimikrobiálních látek produkované mikroorganismy.
2. Mechanismus účinku těchto látek na potravinářsky významné mikroorganismy.
3. Význam a jejich využití v potravinářském průmyslu.
4. Formulace závěru.

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

Seznam doporučené literatury:

- [1] DAVIDSON, P. M., SOFOS, J. N., BRANNERN, A. L. Antimicrobials in food. 3rd ed. Boca Raton: CRC Press, 2005, 721 p. ISBN 0-8247-4037-8
- [2] SALMINEN, Seppo, Atte von WRIGHT a Arthur OUWEHAND. Lactic acid bacteria: microbiology and functional aspects. 3rd ed., rev. and expanded. New York: Marcel Dekker, 2004, 633 p. ISBN 08-247-5332-1
- [3] WILSON, Charles L. Microbial food contamination. 2nd ed. Boca Raton: CRC Press, 2008, 607 p. ISBN 08-493-9076-1
- [4] Vědecké zdroje zahrnuté v databázích ScienceDirect, Web of Science, Scopus, SciFinder Scholar aj.

Vedoucí bakalářské práce: **Ing. Khatantuul Purevdorj**
Ústav inženýrství ochrany životního prostředí

Datum zadání bakalářské práce: **31. prosince 2020**

Termín odevzdání bakalářské práce: **21. května 2021**

L.S.

prof. Ing. Roman Čermák, Ph.D.
děkan

Ing. Robert Gál, Ph.D.
ředitel ústavu

PROHLÁŠENÍ AUTORA BAKALÁŘSKÉ PRÁCE

Beru na vědomí, že:

- bakalářská práce bude uložena v elektronické podobě v univerzitním informačním systému a dostupná k nahlédnutí;
- na moji bakalářskou práci se plně vztahuje zákon č. 121/2000 Sb. o právu autorském, o právech souvisejících s právem autorským a o změně některých zákonů (autorský zákon) ve znění pozdějších právních předpisů, zejm. § 35 odst. 3;
- podle § 60 odst. 1 autorského zákona má Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně právo na uzavření licenční smlouvy o užití školního díla v rozsahu § 12 odst. 4 autorského zákona;
- podle § 60 odst. 2 a 3 autorského zákona mohu užit své dílo – bakalářskou práci nebo poskytnout licenci k jejímu využití jen s předchozím písemným souhlasem Univerzity Tomáše Bati ve Zlíně, která je oprávněna v takovém případě ode mne požadovat přiměřený příspěvek na úhradu nákladů, které byly Univerzitou Tomáše Bati ve Zlíně na vytvoření díla vynaloženy (až do jejich skutečné výše);
- pokud bylo k vypracování bakalářské práce využito softwaru poskytnutého Univerzitou Tomáše Bati ve Zlíně nebo jinými subjekty pouze ke studijním a výzkumným účelům (tj. k nekomerčnímu využití), nelze výsledky bakalářské práce využít ke komerčním účelům;
- pokud je výstupem bakalářské práce jakýkoliv softwarový produkt, považují se za součást práce rovněž i zdrojové kódy, popř. soubory, ze kterých se projekt skládá. Neodevzdání této součásti může být důvodem k neobhájení práce.

Prohlašuji,

- že jsem na bakalářské práci pracoval samostatně a použitou literaturu jsem citoval. V případě publikace výsledků budu uveden jako spoluautor.
- že odevzdaná verze bakalářské práce a verze elektronická nahraná do IS/STAG jsou obsahově totožné.

Ve Zlíně, dne:

Jméno a příjmení studenta:

.....
podpis studenta

ABSTRAKT

Tato bakalářská práce se zabývá antimikrobiálními látkami produkovaných mikroorganismy, které se využívají nebo mají potenciální využití v potravinářském průmyslu. Cílem této práce bylo vytvořit přehled antimikrobiálních látek produkovaných mikroorganismy, blíže charakterizovat jejich vlastnosti, vznik, antimikrobiální účinek a jejich využití v potravinářském průmyslu. Jednotlivé látky byly rozděleny do skupin; organické kyseliny, oxid uhličitý, peroxid vodíku, reuterin, diacetyl a bakteriociny. Z organických kyselin byly charakterizovány kyselina octová, mléčná, benzoová, jablečná, propionová a adipová. Bakteriociny byly rozděleny do dvou skupin v závislosti na tom, zda jsou produkovány gram pozitivními nebo gram negativními bakteriemi.

Klíčová slova: Antimikrobiální látky, organické kyseliny, potravinářský průmysl, bakteriociny, peroxid vodíku, oxid uhličitý, reuterin, diacetyl

ABSTRACT

This bachelor thesis is about antimicrobial substances produced by microorganisms, which are used or have potential uses in the food industry. The target of this work was to create an overview of antimicrobial substances produced by microorganisms, to characterize their properties, origin, antimicrobial effect and their use in the food industry. The individual substances were divided into groups; organic acid, carbon dioxide, hydrogen peroxide, reuterin, diacetyl and bacteriocins. The organic acids were characterized; acetic acid, lactic acid, benzoic acid, malic acid, propionic acid and adipic acid. Bacteriocins were divided into two groups, depending on whether they are production gram-positive or gram-negative bacteria.

Keywords: Antimicrobials, organic acids, food industry, bacteriocins, hydrogen peroxide, carbon dioxide, reuterin, diacetyl

Na tomto místě bych ráda poděkovala především své vedoucí bakalářské práce paní Ing. Khatantuul Purevdorj za pozitivní přístup, věnovaný čas a úsilí při tvorbě této práce. Dále bych ráda poděkovala také celé mé rodinně a mému příteli za motivaci, podporu a pochopení při závěrečném dokončování studia a této závěrečné práce.

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

OBSAH

ÚVOD.....	8
1 ANTIMIKROBIÁLNÍ LÁTKY PRODUKOVANÉ BAKTERIEMI.....	9
1.1 HISTORIE ANTIMIKROBIÁLNÍCH LÁTEK.....	10
1.2 ORGANICKÉ KYSELINY	11
1.2.1 Kyselina octová.....	14
1.2.2 Kyselina mléčná.....	15
1.2.3 Kyselina propionová	18
1.2.4 Kyselina benzoová	20
1.2.5 Kyselina jablečná	22
1.2.6 Kyselina adipová.....	24
1.3 OXID UHLIČITÝ.....	24
1.4 PEROXID VODÍKU	26
1.5 DIACETYL	26
1.6 REUTERIN.....	27
1.7 NATAMYCIN.....	29
1.8 BAKTERIOCINY GRAMPOZITIVNÍCH MIKROORGANIZMŮ	31
1.8.1 Klasifikace bakteriocinů.....	33
1.9 BAKTERIOCINY GRAMNEGATIVNÍCH BAKTERIÍ	40
1.9.1 Koliciny.....	41
1.9.2 Mikrocinny	43
1.9.3 Pyociny.....	44
SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY.....	47
SEZNAM POUŽITÝCH SYMBOLŮ A ZKRATEK.....	57
SEZNAM OBRÁZKŮ	58
SEZNAM TABULEK.....	59

ÚVOD

Bakterie produkují látky, které mohou inhibovat růst jiných bakterií. Tyto látky nazýváme antimikrobiální látky. Mezi tyto látky můžeme zařadit například organické kyseliny, antibiotika nebo bakteriociny.

Antimikrobiální látky sloužili nejdříve jenom k prodloužení trvanlivosti a zachování kvality potravin prostřednictvím inhibice znehodnocujících mikroorganismů. Nicméně v posledních letech se však antimikrobiální látky stále častěji využívají k inhibici nebo inaktivaci patogenních mikroorganismů v potravinách. Tato funkce se stává stále důležitější, protože výrobci hledají stále nové a lepší nástroje pro zlepšení bezpečnosti potravin.

Navíc jsou antimikrobiální látky nadále jednou z nejdůležitějších skupin přídatných látek využívaných v potravinářství. Výzkum antimikrobiálních látek, zejména látek produkovaných mikroorganismy se za poslední roky dramaticky zvýšil. Primárním podnětem pro hledání nových antimikrobiálních látek je rozšířením spektra účinnosti těchto látek. Dalším důvodem může být i jejich omezené použití kvůli rozmezí pH, aktivitě vody nebo z důvodu interakcí se složkami potravin. Zájem o tyto antimikrobiální látky je také poháněn skutečností, že mezinárodní regulační standarty jsou velmi přísné, zejména pokud se jedná například o toxikologické hodnocení těchto látek.

Zatím nebyla objevena antimikrobiální látka, která by byla účinná proti všem nežádoucím mikroorganismům a byla aplikovatelná do všech potravin. Proto je zapotřebí dalšího výzkumu účinnosti antimikrobiálních látek produkovaných mikroorganismy ve vhodných kombinacích nebo ve vhodné kombinaci s fyzikálními metodami. Možná právě těmito kombinacemi by mohla vzniknout ta látka, kterou všichni hledají.

1 ANTIMIKROBIÁLNÍ LÁTKY PRODUKOVANÉ BAKTERIEMI

Slovo antimikrobiální bylo odvozeno z řeckých slov anti (proti), mikros (málo) a bios (život) a označuje všechny látky, které usmrcují nebo inhibují růst mikroorganismů [1, 2]. Mohou to být látky přírodního, polysyntetického nebo syntetického původu. Mezi přírodní antimikrobiální látky lze zařadit i látky, které jsou produkovány mikroorganismy a mají mikrobicidní nebo mikrobistatický účinek na růst jiných mikroorganismů [2, 3].

Antimikrobiální látky mohou být produkovány během primárního nebo sekundárního metabolismu mikroorganismů. Metabolismus je neustálý biochemický proces, který se vyskytuje v každém jednobuněčném nebo mnohobuněčném organismu po celý jeho život [4]. Primární (obecný) metabolismus je nezbytný pro existenci mikroorganismů a zásadním způsobem se podílí na růstu, vývoji a reprodukci daného organismu. Mezi primární metabolity můžeme zařadit látky, které vznikají mikrobiálními nebo kvasinkovými fermentačními procesy. Příkladem látek s antimikrobiálními účinky vzniklých během obecného metabolismu mikroorganismů jsou organické kyseliny nebo ethanol. Jedna z nejvýznamnějších organických kyselin využívaných v potravinářství je kyselina mléčná. Tento metabolit vzniká ve fermentačním procesu zvaném mléčné kvašení. Dalšími známými kyselinami jsou např. kyselina octová a propionová [5, 6].

Metabolity produkované sekundárním metabolismem jsou specifické sloučeniny, jejichž biosyntéza navazuje na primární metabolismus a jejich produkce je charakteristická jenom pro určitý druh mikroorganismu. Jejich význam není vždy jasně prokázán, avšak se předpokládá, že přináší určitou výhodu pro daný organismus. Například mohou hrát roli při získávání živin, role v interakcích s okolními organismy, mohou zvyšovat schopnost růstu a reprodukce. Dále mohou zvyšovat schopnost přežít v daném prostředí inhibicí růstu kompetitora nebo poskytují ochranu před kompetitory a predátory [5, 6].

Sekundární metabolismus se vyskytuje v bakteriích většinou během stacionární fáze růstu a je doprovázen přechodem energie a toku uhlíku z produkce biomasy směrem k produkci malých bioaktivních molekul (sekundárních metabolitů). Produkce sekundárních metabolitů se spouští během vyčerpání živin nebo při omezených podmínkách růstu [4, 5]. Mají neobvyklé struktury a vznikají z intracelulárních meziproductů (aminokyseliny, cukry, mastné kyseliny atd.), které jsou kondenzovány do složitějších struktur. Například u druhů *Streptomyces griseus* a *Bacillus subtilis* byla zjištěna schopnost produkce více než 50

různých sekundárních metabolitů. V současnosti se do popředí zájmu dostávají ribozomálně syntetizované látky bílkovinné povahy s antimikrobiálními účinky zvané bakteriociny [6, 7].

1.1 Historie antimikrobiálních látek

Doba antimikrobiálních látek začíná, když Louis Pasteur a Jules Joubert zjistí, že jeden typ bakterií může zabránit růstu jiného druhu bakterií [8]. Prvním antimikrobiálním činidlem na světě byl Salvarsan, lék na syfilis, který syntetizoval Paul Ehrlich v roce 1910 a za který získal Nobelovu cenu. Lék Salvarsan byl vyvinut ze sloučeniny 606, která byla zaměřena na bakterii *Treponema pallidum*, původce syfilisu. Po úspěšném testování sloučeniny 606 na syfilis u králíků, byla uvedena na trh pod názvem Salvarsan jako lék proti syfilisu u lidí [8, 9].

V roce 1935 Gerhard Domagk s dalšími vědci vyvinul sulfonamidy. Tyto léky byly syntetické sloučeniny a měly omezení z hlediska bezpečnosti a účinnosti. Objevili antibakteriální aktivitu syntetického červeného azobarviva s nízkou toxicitou, protosil, které se prokázalo účinností jako prevence u myši infikovaných bakteriemi *Streptococcus*. Domagkova vlastní dcera byla jednou z prvních, kdo tuto látku vyzkoušel. Dogmagkova dcera trpěla těžkou streptokokovou infekcí, kterou dostala po bodnutí nesterilizovanou jehlou a jako první se pomocí léku protosil vyléčila [8, 10, 11].

V roce 1928 objevil Alexander Fleming penicilin. Fleming zjistil, že růst *Staphylococcus aureus* byl inhibován v zóně obklopující kontaminovanou modrou plísní (plíseň rodu *Penicillium*) v kultivačních miskách. Toto zjištění vedlo k domněnce, že plíseň rodu *Penicillium* produkuje antimikrobiální látku, která by mohla inhibovat růst i jiných druhů bakterií než *Staphylococcus aureus*. Antibiotikum bylo pojmenováno penicilin a do klinické praxe se dostalo ve 40. letech 20. století [8].

Během následujících dvou desetiletí byly vyvinuty nové třídy antimikrobiálních látek. V roce 1944 byl objeven streptomycin, aminoglykosidové antibiotikum, které bylo získáno z půdní bakterie *Streptomyces griseus*. Poté byly z půdních bakterií objeveny chloramfenikol, tetracyklin, makrolidová a glykopeptidová antibiotika [8].

Jako první z nejstarších chemických konzervantů používaných v kosmetickém, farmaceutickém a potravinářském průmyslu byla kyselina benzoová. Benzoát sodný byl první chemickou konzervační látkou schválenou pro použití v potravinářství americkým Úřadem pro kontrolu potravin a léčiv (FDA). Jeho prvotní účinky byly popsány už v roce

1875, kdy byl zjištěn vztah mezi působením kyseliny benzoové a fenolu. Jelikož kyselinu benzoovou nebylo možné zpočátku vyrábět synteticky ve velkém množství, byla zavedena pro konzervování potravin až kolem roku 1900. Díky jejím výhodám (nízká cena, nízká toxicita, snadné zabudování do produktu) se kyselina benzoová stala jednou z nejpoužívanějších konzervačních látek na světě [12].

Historie bakteriocinů sahá do počátku 20. let 20. století. Historie bakteriocinů začíná u belgického vědce André Gratia, který v roce 1925 identifikoval první známý bakteriocin kolicin. Tento objev se stal souběžně s objevem penicilinu Alexanderem Flemिंगem v roce 1928. V závislosti na těchto pozorováních bakteriociny nedostaly stejnou úroveň pozornosti jako antibiotika, což vedlo k dominanci chemicky syntetizovaných širokospektrých antibiotik po zbytek 20. století až do současnosti. Dnes však vidíme nové možnosti, jak využít bakteriociny ve prospěch člověka a zvířat [13,14].

1.2 Organické kyseliny

První skupinou antimikrobiálních látek produkovaných mikroorganismy jsou organické kyseliny. Tyto kyseliny vznikají jako konečné produkty nebo meziprodukty fermentace různých substrátů mikroorganismy (viz Tabulka 1). Jsou to látky, které obsahují jednu nebo více karboxylových skupin, které mohou být kovalentně vázány ve skupinách, jako jsou amidy, estery a peptidy [12]. Jedná se o sloučeniny s kyselými vlastnostmi, které jsou známé jako slabé kyseliny, protože se částečně disociují ve vodném roztoku. Existují jako čisté kyseliny nebo ve formě solí (např. kyselina benzoová a benzoát sodný). Aktivita organických kyselin závisí na pH a na polaritě dané organické kyseliny. Nízkomolekulární kyseliny jsou rozpustné ve vodě, například kyselina mravenčí. Většina organických kyselin je rozpustná v organických rozpouštědlech [15]. Navíc mají tyto kyseliny široké spektrum účinku, působí na grampozitivní i gramnegativní bakterie a plísň [16]. Antimikrobiální aktivita také závisí na pufrační kapacitě potravinářské matrice a množství použitého okysličovačla [17]. Antimikrobiální aktivita kyselin za podobných podmínek se řídí řádem octová>propionová>mléčná. Organické kyseliny se také liší svými lipofilními vlastnostmi, které regulují jejich snadný vstup do buňky, aby mohly snáze procházet buněčnou membránou. Kyselina octová a propionová jsou více lipofilní než kyselina mléčná. Někdy mohou kyseliny vykazovat synergický účinek při použití ve vhodných kombinacích (např. kyselina octová s kyselinou mléčnou) [18].

Organické kyseliny patří mezi nejuniverzálnější přísady v potravinářském a nápojovém průmyslu. Nejběžnějšími organickými kyselinami používaných v potravinářství jsou kyselina citronová, octová, mléčná, jablečná, fumarová a glukonová. Kyselina citronová, jablečná a fumarová se přirozeně vyskytují v ovoci a zelenině. Tyto kyseliny jsou používány jako okyselující prostředky v nápojích, v konzervách, džusech, práškových nápojích atd. [19]. Okyselující látky pomáhají při konzervování potravin, umožňují zkrácení času použitého při sterilizačních procesech a zabraňují klíčení mikrobiálních spor při nízkých hodnotách pH. Některé organické kyseliny jsou známými chemickými konzervačními látkami vykazující široké spektrum antimikrobiálních a enzymatických aktivit [17]. Organické kyseliny se přidávají do potravin za účelem snížení pH a úpravy kyselé chuti produktů (ovocné džusy, želé, bonbóny, želatinové prášky, sycené nápoje, jogurty, ovoce, konzervovaná zelenina, nakládaná zelenina, olivy, sýry a další potraviny), ale také i ke kontrole mikrobiálního růstu. Organické kyseliny mohou zabraňovat žluknutí a dalším reakcím vytvářením komplexů s ionty mědi a železa. Používají se také jako pufrovací systémy pro úpravu konzistence a teploty tání bonbónů a sýrů [12, 19].

Tabulka 1 Konečné produkty metabolismu sacharidů některých mikroorganismů [18].

<i>Mikrobiální typ</i>	<i>Typ fermentace</i>	<i>Hlavní konečné produkty</i>
Kvasinky	Alkoholové kvašení	Ethanol, CO ₂
Bakterie mléčného kvašení	A) Homofermentace	Laktát
	B) Heterofermentace	Laktát, acetát, ethanol, diacetyl, aceton, CO ₂
Bifidobakterie	Mléčné kvašení	Laktát, acetát
Propionové bakterie	Propionové kvašení	Propionát, acetát, CO ₂
<i>Enterobakterie</i>	Smišené kvašení	Laktát, acetát, mravenčan, H ₂ , CO ₂ , sukcinát

<i>Mikrobiální typ</i>	<i>Typ fermentace</i>	<i>Hlavní konečné produkty</i>
<i>Bacillus,</i> <i>Pseudomonas</i>	Smíšené kvašení	Laktát, acetát, mravenčan, H ₂ , CO ₂ , 2,3- butandiol
<i>Clostridium</i>	Máselné kvašení	Butyrát, acetát, butanol, ethanol, aceton, isopropanol, H ₂ , CO ₂

Mechanismus působení organických kyselin

Základním mechanismem působení organických kyselin na bakterie je fakt, že nedisociované organické kyseliny mohou proniknout do buněčné stěny bakterií a narušit normální fyziologii určitých druhů bakterií, takové bakterie nazýváme citlivé na pH. Uvnitř buňky je pH vyšší než její disociační konstanta (pKa) a velká část kyseliny bude disociovat a uvolňovat svůj vodíkový iont (H⁺). Při pokusu o vyčerpání vodíkových iontů (H⁺) spotřebuje mikrobiální buňka obrovské množství energie, které povede k buněčné smrti [12, 20].

Způsob působení organických kyselin při inhibici mikrobiálního růstu souvisí s udržováním acidobazické rovnováhy, darováním protonů a produkcí energie buňkami. Mikrobiální buňka se obvykle snaží udržovat vnitřní pH blízko neutrality, protože změnami pH může docházet ke strukturálním změnám proteinů, fosfolipidů a nukleových kyselin. Dostupnost kovových iontů pro organismus se mění a cytoplazmatická membrána se stává propustnější, protože membrány jsou méně propustné pro nabitě molekuly než pro nenabitě molekuly. Tyto změny v permeabilitě membrány mohou mít dvojitý účinek tím, že zhorší transport živin do buňky nebo způsobí únik vnitřních metabolitů ven. Změny vyplývající z pH mohou ničit bakterie, plísňe a kvasinky. Syntéza makromolekul, udržování osmotických gradientů a aktivní transport molekul přes membránu závisí na energii generované buňkou ve formě adenosintrifosfátu (ATP) [12].

První experimenty Levina a Fellerse [21] z roku 1940 prokázaly, že kyselina octová je při vyšším pH smrtelnější než kyselina chlorovodíková nebo kyselina mléčná. Došli k závěru, že tato toxicita nebyla výsledkem samotné koncentrace vodíkových iontů, ale že je funkcí nedisociované molekuly. U kyseliny octové došlo ke snížení pH zvýšením inhibiční aktivity, což potvrdilo, že nedisociovaná molekula byla účinným inhibitorem [12].

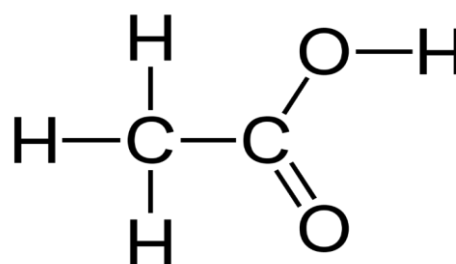
1.2.1 Kyselina octová

Kyselina octová patří mezi slabé organické kyseliny, ve zředěné formě se nazývá ocet. Kyselina octová se vyrábí synteticky i přirozeně pomocí octových bakterií, zejména rodu *Acetobacter* a *Gluconoacetobacter*. Mikrobiální produkce kyseliny octové je oxidativní proces, kdy ethanol je oxidován na kyselinu octovou a vodu. Tato biologická cesta představuje pouze asi 10 %

světové produkce, ale pro produkci octa zůstává důležitá, protože mnoho světových zákonů o čistotě potravin stanoví, že ocet používaný v potravinách musí být biologického původu. Za normálních podmínek se jedná o bezbarvou kapalinu s ostrým zápachem. Kyselina octová má vyšší rozpustnost ve vodě ve srovnání s jinými kyselinami kvůli počtu alkylových skupin v její struktuře. Někdy se označuje jako kyselina ethanová, v potravinářském průmyslu se označuje jako E260 [15, 22]. Kyselina octová, její soli a ocet se používají v různých potravinách k inhibici růstu grampozitivních i gramnegativních bakterií, kvasinek i plísní [18].

Mikroorganismy vykazují různou citlivost na kyselinu octovou v závislosti na jejich morfologických a strukturních vlastnostech [22]. Mechanismus antimikrobiálního působení kyseliny octové (organických kyselin) spočívá ve schopnosti nedisociované formy kyseliny octové pronikat přes buněčnou membránu a disociovat uvnitř buňky. Disociace vede ke snížení hodnoty intracelulárního pH a následně dochází k metabolické perturbaci. Antimikrobiální aktivita byla zjištěna vůči *Escherichia coli*, *Salmonella* spp., *Clostridium perfringens*, *Listeria monocytogenes* a druhy *Campylobacter* [15].

Kyselina octová je uznávána jako látka GRAS (látky všeobecně považovány za bezpečné) a v potravinářství se primárně využívá jako konzervant potravin. Dále se používá jako látka zlepšující chuť, ochucující látka a okyselující látka. Výše uvedená kyselina je hlavní složkou



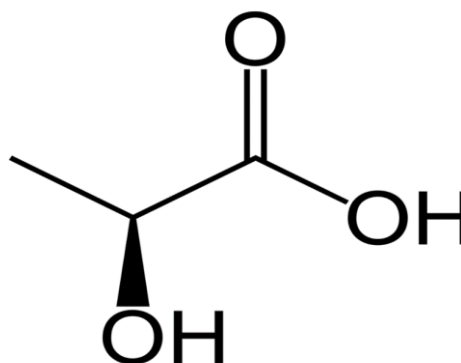
Obrázek 1 Strukturální vzorec kyseliny octové

octa, hlavně pro své aromatické vlastnosti. Ocet obsahuje 4 až 18 % kyseliny octové [18,19]. Ocet se vyrábí bakteriemi octového kvašení přeměnou ethanolu a kyslíku na kyselinu octovou a vodu. Vyrábí se především fermentací vín, jablečného vína, obilovin, sladového destilátu, ethanolu z cukrové třtiny, hroznové šťávy, jablečného džusu, rýže atd. A používá se v majonéze, hořčici, nakládané zelenině, nakládaných klobásách, salátových dresincích, kečupu, marinádě, konzervované zelenině a v dalších potravinách. Navíc se tato kyselina využívá jako povrchový dezinfekční prostředek a k prevenci snášení vajíček do poškozených rajčat ovocnými muškami [12, 19].

Kyselina octová se také využívá jako chemické činidlo pro výrobu mnoha chemických sloučenin nebo jako odvápnovací prostředek k odstranění vodního kamene z vodovodních kohoutků a konvic [15].

1.2.2 Kyselina mléčná

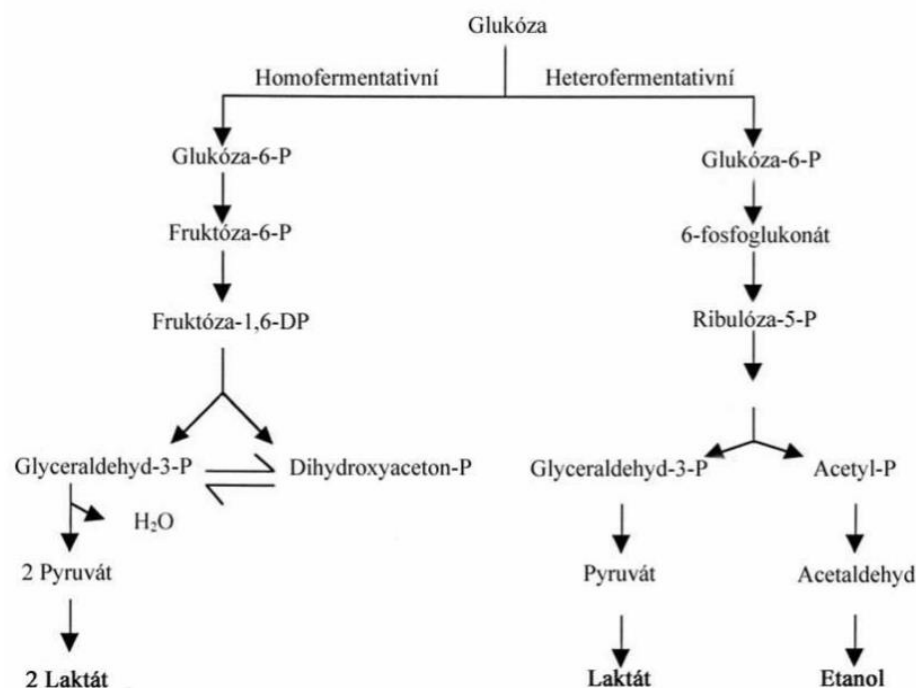
Bakterie mléčného kvašení (BMK) produkují velké množství kyseliny mléčné ze zkvasitelných sacharidů. Kyselina mléčná vzniká jako konečný produkt mléčného kvašení, které probíhá bez přístupu vzduchu, např. v mléce, sýrech nebo kyselém zelí [13, 18]. Tento proces probíhá podle biochemického hlediska dvěma různými metabolickými cestami, a proto se mléčné kvašení dělí na homofermentativní (homofermentace) a heterofermentativní (heterofermentace) (viz Obrázek 3) [15].



Obrázek 2 Strukturální vzorec kyseliny mléčné

Při homofermentace jsou hexózy fermentovány výhradně na kyselinu mléčnou. Tato přeměna probíhá Embden-Meyerhof-Parnasovou dráhou. Nejprve je molekula glukózy přeměněna na 2 molekuly pyruvátu za současného uvolnění energie v podobě 2 molekul adenosintrifosfátu (ATP). Následně se pyruvát redukuje na kyselinu mléčnou pomocí enzymu laktátdehydrogenáza. Během této přeměny také dochází k regeneraci kofaktoru NAD^+ (nikotinamidadenindinukleotidfosfát), který může být opětovně využit v glykolytické dráze jako příjemce elektronů. Mezi homofermentativní druhy BMK patří *Lactococcus* spp., *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus*, *Lactobacillus acidophilus*, *Streptococcus salivarius* subsp. *thermophilus* nebo *Lactobacillus helveticus* [12, 16].

Při heterofermentaci vznikají kromě kyseliny mléčné další vedlejší produkty jako je kyselina octová, ethanol, oxid uhličitý nebo kyselina mravenčí [17]. Tato cesta nese označení fosfoketolázová dráha. Tato dráha má stejný začátek jako u pentózafosfátové dráhy. Nejprve dochází k oxidativní dekarboxylaci glukóza-6-fosfátu na ribulóza-5-fosfát. Následně je ribulóza-5-fosfát izomerací přeměněn na xylulózu-5-fosfát a v dalším kroku je rozštěpen fosfoketolázou na glycerinaldehydfosfát (GAP) a acetylfosfát. GAP se metabolizuje stejným způsobem jako u glykolytické dráhy, což vede k tvorbě kyseliny mléčné. Acetylfosfát je redukován na ethanol přes acetaldehyd. Mezi heterofermentativní druhy patří *Leuconostoc* spp., *Levilactobacillus brevis*, *Limosilactobacillus fermentum* nebo *Limosilactobacillus reuteri* [12, 16].



Obrázek 3 Schéma kvašení glukózy bakterií mléčného kvašení [25]

Kyselinu mléčnou lze vyrobit pomocí BMK ve formě L- nebo D-izomeru. Kyselina L-mléčná je preferována pro potravinářské a farmaceutické aplikace a jako výchozí materiál při výrobě biopolymerů. Kromě toho se stereoizomery kyseliny mléčné liší také v antimikrobiální aktivitě, přičemž kyselina L-mléčná má větší inhibiční účinek než její D-izomer. Kyselina mléčná má velmi široké spektrum účinku. Inhibuje grampozitivní bakterie, gramnegativní bakterie, kvasinky a plísně (*Pseudomonas fragi*, *Listeria monocytogenes*, *Weizmannia coagulans*, *Mycobacterium tuberculosis*, *Escherichia coli*,

Staphylococcus aureus nebo *Brochothrix thermosphacta*). Například kyselina mléčná má větší inhibiční účinek při poklesu pH proti *Mycobacterium tuberculosis* [12, 27].

Bylo studováno i využití kyseliny mléčné ve formě spreje při omezení mikrobiálního růstu na jatečně upravených tělech za různých skladovacích podmínek. Využíval se roztok kyseliny mléčné o koncentraci 1,0 % až 1,25 %. Roztok se nastříkal na jatečně upravená těla telecího masa, které byly následně vakuově zabaleny. Maso bylo skladováno po dobu 14 dnů při teplotě 2 °C. Výsledkem bylo snížení růstu mikroorganismů. Studovalo se také použití 2% roztoku kyseliny mléčné, které vedlo ke změně barvy povrchu jatečně upraveného těla [12, 16], ale vliv kyseliny mléčné na barvu masa není v literatuře ještě úplně jasný. Van Netten et al. v roce 1995 [27] zjistili, že aplikace 2% nebo 5% kyseliny mléčné po dobu 120s vede k nepříjemným sensorickým vlastnostem i včetně barvy jatečně upravených těl prasat. Nicméně by mohli být tyto změny sníženy kyselinou askorbovou [27].

Nebo například Prasai et al. [28] v roce 1991 zkoumali použití postřiku 1% kyseliny mléčné na jatečně upravená těla hovězího masa, ale bez žádného nepříznivého účinku. Naproti tomu Kotula et al. [29] v roce 1994 pozorovali jasnější barvu masa po ošetření kyselinou mléčnou. Hovězí maso bylo ponořeno do roztoku kyseliny mléčné po dobu 120s. Ponoření masa do kyseliny mléčné způsobilo bledost masa, takže došlo ke zvýšení jasu masa a snížení zarudnutí masa [30].

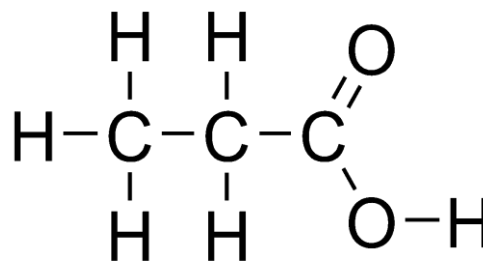
Nejvíce kyseliny mléčné se v Evropě vyrábí fermentací pomocí kmenů *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus*, pokud se jako substrát využívá syrovátka. Navíc je tato kyselina přirozeným meziproduktem metabolismu savců. V dnešní době je kyselina mléčná vyráběna i synteticky (např. z laktonitru) [18,23]. Byla také studována produkce kyseliny mléčné s využitím zemědělských odpadů jako zdroj substrátu pro fermentaci. Taniguchi et al. [31] využili ve své studii jako substrát fermentace slupky z manga, brambor, sladké kukuřice, pomerančové a zelené hrachové kůry. Fermentace probíhala pomocí 2 kultur *Lacticaseibacillus casei* a *Lactobacillus delbrueckii*. Ve výsledcích bylo nejvyšší koncentrace kyseliny mléčné dosaženo fermentací mango slupek pomocí *Lacticaseibacillus casei* (63,33 g/l) [22].

Kyselina mléčná je produkt bakteriální fermentace používaný v potravinářském průmyslu k výrobě sýrů, uzenin, jogurtů, okurek a podmáslí. Navíc lze tuto kyselinu použít jako potravinářskou přídatnou látku, okyselující látku, konzervační látku a látku zlepšující chuť. Okyselení přímým přidáním kyseliny mléčné lze použít k dosažení lepších sensorických vlastností konečného produktu a k zamezení rizika množení nežádoucích mikroorganismů.

Využívá se při výrobě džemů, želé, cukrářských výrobků, nápojů nebo se například využívá při balení španělských oliv, kde potlačuje další kvašení. Využívá se v pivovarnictví k okyselení rmutů ve varně nebo se nachází v kojenecké výživě. Také napomáhá při stabilizaci sušeného vaječného prášku nebo se využívá k okyselení hroznové šťávy (moštu) při výrobě vína. Kyselina mléčná se také používá při výrobě emulgátorů vápenatých a sodných stearyl-laktátů, které fungují jako kondicionéry těsta. Laktát vápenatý se používá jako zpevňující prostředek pro plátky jablek, aby se zabránilo změně barvy v ovoci a v práscích do pečiva [12, 19, 32].

1.2.3 Kyselina propionová

Kyselinu propionovou poprvé objevil Johann Gottlieb v roce 1844 mezi produkty degradace cukru. Následně pozoroval Albert Fitz (1878) produkci kyseliny propionové fermentací různých substrátů pomocí bakterie rodu *Propionibacterium*. Později Swick a Wood popsali soubor reakcí zapojených do procesu výroby propionátu, který je v současné době znám jako Wood-Werkmanův cyklus [12, 33].



Obrázek 4 Strukturní vzorec kyseliny propionové

Kyselina propionová je metabolickým vedlejším produktem mnoha organismů, od bakterií až po člověka, ačkoli jen málo organismů ji produkuje jako primární produkt fermentace (viz Tabulka 2). Metabolické cesty vedoucí k produkci kyseliny propionové lze rozdělit do tří tříd [33].

Do první třídy patří primární fermentační dráhy, které katabolizují různé zdroje uhlíku na propionát a zahrnují známé akrylátové a Wood-Werkmanovy cyklické cesty. Například propionát se vyrábí jako primární produkt fermentace cestami, které obsahují jako meziprodukt 1,2-propandiol [33].

Druhá třída zahrnuje katabolické cesty, které mohou degradovat řadu aminokyselin na kyselinu propionovou. Například degradace valinu, threoninu, isoleucinu a methioninu může vést k produkci propionátu a ATP prostřednictvím propionyl-CoA [33].

Nakonec třetí třída může využít anabolické cesty spojené s produkcí prekurzorů biomasy z pyruvátu nebo oxidu uhličitého k výrobě propionátu. Byly prozkoumány tři cesty spojené s anabolickým metabolismem, které vedou k syntéze propionyl-CoA. Cesta citramalátu,

kteřá je spojená s biosyntézou isoleucinu. Nebo cesty 3HB a 4HB (3-hydroxypropanoát / 4-hydroxybutanoát cykly), které jsou spojeny s fixací uhlíku [33].

Tabulka 2 Mikroorganizmy schopné produkovat během fermentace kyselinu propionovou [33]

Mikroorganizmy	Substráty	Produkty	Cesty
<i>Propionibacterium acidipropionici</i> <i>P. freudenreichii</i> <i>P. shermanii</i>	Glukóza, sacharóza, laktát, glycerol	Propionát, octan, sukcinát, CO ₂	Wood-Werkmanův cyklus
<i>Clostridium propionicum</i>	Glycerol, laktát, alanin, serin, threonin	Propionát, sukcinát, formiát, acetát, n-propanol	Akrylátová dráha
<i>Bacteroides fragilis</i> <i>B. ruminicola</i>	Glukóza	Acetát, laktát propionát, sukcinát, formiát, CO ₂	Sukcinátová cesta
<i>Veillonella parvula</i> <i>V. alcalescens</i>	Sacharóza, laktát	Propionát, acetát, CO ₂ , H ₂	Sukcinátová cesta
<i>Propionigenum modestum</i>	Sacharóza	Propionát, CO ₂	Sukcinátová cesta
<i>Selenomonas ruminantium</i> <i>S. sputigena</i>	Laktát, glukóza	Propionát, laktát, acetát, CO ₂	Sukcinátová cesta
<i>Megasphaera elsdenii</i>	Laktát	Acetát, propionát, butyrát	Akrylátová dráha
<i>Salmonella Typhimurium</i>	Deoxysacharidy, glukóza, 1,2-propandiol	1,2-propandiol, propanol, propionát, acetát, formiát, laktát, CO ₂	Dráha 1,2-propandiolu

Kyselina propionová je schválena FDA (Úřad pro kontrolu potravin a léčiv) a je obecně považována za látku GRAS. Jedná se o bezbarvou kapalinu s ostrým zápachem. Přirozeně se kyselina propionová vyskytuje v jablkách, sýrech, zrnech, jahodách a lidském potu. Propionát se primárně používá pro své antimikrobiální vlastnosti jako konzervant potravin nebo herbicid. Soli propionátu účinně potlačují růst plísní na površích potravin a v kombinaci s kyselinou mléčnou a kyselinou octovou mohou inhibovat růst *Listeria monocytogenes*. Antimikrobiální účinnost kyseliny propionové byla zjištěna také na růst *Escherichia coli* K12, *Salmonella*, *Lactiplantibacillus plantarum*, *Staphylococcus aureus*, *Sarcina lutea*, *Saccharomyces ellipsoideus*, *Proteus vulgaris* a *Torula* spp. [21, 33].

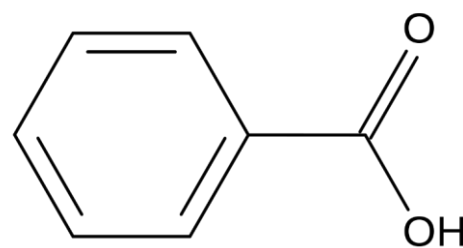
Propionové bakterie hrají hlavní roli při dozrávání několika druhů sýrů, např. při dozrávání ementálu. Takové sýry proto obsahují svou vlastní „přirodní“ kyselinu propionovou, i když ne v koncentracích schopných zabránit nežádoucí tvorbě plísní. Tavený sýr lze chránit proti

napadení plísní přidáním 0,2 až 0,3 % propionátu. Švýcarský sýr produkuje až 1 % kyseliny propionové z důvodu růstu a metabolismu propionových bakterií, které souvisí s jeho výrobou a charakteristickou chutí švýcarského sýra. Také složí jako konzervační látka, která omezuje růst plísní na sýru. Propionáty také slouží jako konzervační látky pro výrobu chleba a koláčů všeho druhu. Mohou být přidávány do chlebového těsta bez ovlivnění kynutí, protože na kvasinky mají propionáty malý nebo žádný inhibiční účinek. Používají se výhradně propionáty sodíku a vápníku. Na výrobu moučných cukrovinek se využívá hlavně propionát sodný a propionát vápenatý se primárně používá na výrobu chleba. Během výroby těsta se přidávají propionáty, jejichž koncentrace závisí na povaze produktu a požadované skladovatelnosti daného pečiva. Pečením se zničí většina plísní, ale během balení může dojít k opětovné kontaminaci povrchu a během skladování pak k jejich rozvoji [12, 34].

Kromě potravinářství díky antimikrobiálním vlastnostem propionátu dochází k rozšíření používání propionátů ve stavebních a čisticích prostředcích. V plastikářském průmyslu se používá při výrobě plastů pocházejících z celulózy, jako jsou textilie, membrány pro reverzní osmózu, vzduchové filtry atd. Ve farmaceutickém průmyslu se propionát sodný používá především v terapii zvířat k léčbě infekcí ran a v kosmetickém průmyslu se propionátové soli používají jako základ parfému společně s butylovým kaučukem ke zlepšení konzistence a trvanlivosti produktů [33].

1.2.4 Kyselina benzoová

Kyselina benzoová může vznikat během fermentace mléka z kyseliny hippurové nebo může vznikat degradací fenylalaninu. Dále může vznikat i autooxidací benzaldehydu produkovaného některými kmeny bakterií mléčného kvašení. Tyto procesy jsou závislé na typu fermentačního procesu a na typu mléka. Kmeny, které produkují kyselinu benzoovou v mléce, jsou *Lactococcus lactis*, *Lactocaseibacillus casei*, *Streptococcus thermophilus* a *Lactobacillus helveticus*. Kyselina benzoová byla také identifikována jako hlavní složka extraktů z ostružin a dalších potravin (viz tabulka 3) [12, 35, 36].



Obrázek 5 Strukturní vzorec kyseliny benzoové

Kyselina benzoová se také nazývá kyselina fenylformová nebo kyselina benzenkarboxylová. Tato kyselina je považována za látku bezpečnou látku, ale u citlivých jedinců mohou být

hlášeny nežádoucí účinky spojené s alergickými reakcemi, jako je astma, kopřivka, metabolická acidóza či křeče. Proto FAO (Organizace pro výživu a zemědělství) a WHO stanovili pro kyselinu benzoovou doporučené denní dávky. Ve Spojených státech jsou kyselina benzoová a benzoan sodný povolenými konzervačními látkami až do maximální povolené úrovně 0,1 %. Ve většině ostatních zemí se maximální přípustná množství obvykle pohybují mezi 0,15 % až 0,25 %. Pro výše uvedenou kyselinu byly stanoveny průměrné denní dávky 0 až 5 mg/kg tělesné hmotnosti [12, 36].

Kyselina benzoová je jednosytná středně silná aromatická kyselina. Kyselina benzoová tvoří bílý krystalický prášek, který je velmi dobře rozpustný v alkoholu, etheru a benzenu, ale špatně rozpustný ve vodě. Nízká rozpustnost kyseliny benzoové ve vodě komplikuje její použití ve výrobcích obsahujících velké množství vody, proto se ve vodě používá její rozpustná sůl benzoát sodný. Benzoát sodný, nemá sám o sobě žádnou konzervační aktivitu, proto se po přidání benzoátu sodného zvýší kyselost nealkoholického nápoje ($\text{pH} < 3,5$), takže se vytvoří volná nedisociovaná kyselina benzoová, která má konzervační vlastnosti [35, 37].

Tabulka 3 Přirozený výskyt kyseliny benzoové [12]

KATEGORIE	PRODUKTY
OVOCE	Jablka
	Meruňky
	Ostružiny
	Borůvky
	Třešně
	Brusinky
	Hrozny
	Švestky
	Jahody
FERMENTOVANÉ PRODUKTY	Pivo
	Mléčné výrobky, kultivované
	Černý čaj
	Víno
KOŘENÍ A PŘÍCHUTĚ	Skořice
	Hřebíček
	Lékořice
OSTATNÍ	Kávová zrna
	Med
	Tabák
	Zelený čaj

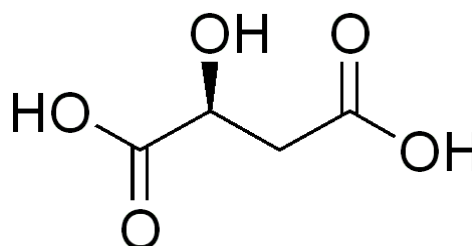
Kyselina benzoová má antimikrobiální aktivitu proti širokému spektru bakterií, kvasinek a plísní, které způsobují kažení potravin a alimentární intoxikace. Působí proti *Bacillus cereus*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Lactobacillus* spp., *Listeria monocytogenes*, *Micrococcus* spp., *Pseudomonas* spp., *Staphylococcus aureus* a *Streptococcus* spp. Gabel [38] v roce 1921 byl jedním z prvních, kdo prokázal, že kyselina benzoová byla účinná proti bakteriím v kyselém prostředí v koncentraci 0,1 % a v neutrálním prostředí v koncentraci 0,2 %, ale neaktivní v alkalickém prostředí.

Kyselina benzoová a benzoan sodný jsou nejvhodnější pro potraviny a nápoje, které se přirozeně pohybují v rozmezí pH pod 4,5. Pokud se tato kyselina používá v malém množství neovlivňuje chuť ani vůni. Kyselina benzoová se používá jako konzervační látka v nápojích, džemech, hořčici, kečupu, salátových zálivkách, sušeném ovoci, ovocných výrobcích, chemicky kypřeném pečivu, koření nebo například při výrobě margarínů. Navíc se kyselina benzoová a benzoát sodný používají jako antimikrobiální látky v jedlých obalech. Benzoát sodný se označuje jako E211 a pokud se používá s ustanovením je označován jako bezpečná látka GRAS. Benzoát sodný je také široce používán jako konzervační látka v okurkách, omáčkách a ovocných šťávách. Mikrobiální stabilita a kvalita rajčatové šťávy, fermentovaných okurek a mrkve byla zlepšena přidáním kombinace sorbátu a benzoátu nebo samotného benzoátu. Pokud do rajčatového koncentráту přidáme přídatek soli, kyseliny octové, benzoátu sodného a sorbanu draselného lze rajčatový koncentrát uchovávat až 12 měsíců při pokojové teplotě [12].

Kyselina benzoová se také kromě potravinářství využívá k výrobě zubních past, ústní vodě či v kosmetickém průmyslu k výrobě krémů. Navíc lze tuto kyselinu použít v kombinaci s kyselinou salicylovou jako fungicidní léčbu kožního onemocnění. Také se používá ke zlepšení vlastností alkydových pryskyřic pro barvy a nátěry. [35, 37].

1.2.5 Kyselina jablečná

Kyselina L-jablečná (kyselina 2-hydroxybutandiová) je dikarboxylová kyselina, která je meziproduktem v Krebsově cyklu a přirozeně se vyskytuje v mnoha druzích ovoce a zeleniny (jablko, pomeranč, grep, třešeň, mrkev a brokolice) [19]. Navíc se tato kyselina vyskytuje ve dvou formách stereoizomerů, L- a D-forma. Pouze kyselina L-jablečná se přirozeně



Obrázek 6 Strukturální vzorec kyseliny jablečné

vyskytuje v biologických systémech. Kromě kyseliny L-jablečné je i komerčně dostupná kyselina D-jablečná a kyselina DL-jablečná. Kyselina DL-jablečná se vyrábí hlavně chemickou syntézou pomocí hydratace kyseliny maleinové nebo fumarové při vysokých teplotách a tlacích [39, 40]. Kyselina jablečná je bílá, krystalická, pevná látka bez zápachu s vysokou rozpustností (558 g/l při 20 °C). Je velmi hygroskopická a má sklon k tvorbě hrudek [41].

Kyselinu jablečnou lze vyrobit fermentací glukózy za použití určitých kmenů plísní, kvasinek nebo bakterií, například kmeny rodu *Aspergillus*, *Brevibacterium*, *Saccharomyces cerevisiae*, *Candida glabrata*, *Zygosaccharomyces rouxii* a *Escherichia coli*. Výše zmíněná kyselina se dá také připravit enzymatickým postupem, při kterém se kyselina fumarová přeměňuje na kyselinu jablečnou pomocí enzymu fumaráza v mezistupni Krebsova cyklu [19].

Gong et al. [42] v roce 1996 popsal konverzi kyseliny fumarové ve vysoké koncentraci (60 g/l) na kyselinu L-jablečnou pomocí *Brevibacterium* spp. B2D. Optimální teplota pro biokonverzi kyseliny fumarové na kyselinu L-jablečnou byla 36 °C při pH 6,4. Výťažnost činila 89,8 %. Přidání 0,02 % povrchově aktivní látky zdvojnásobilo produkci kyseliny jablečné [42].

Kyselina jablečná se používá hlavně v potravinářství jako okyselující látka a látka zvyšující chuť v potravinářském a nápojovém průmyslu. Pokud je přidávána do potravin označuje se jako E296. Kyselina jablečná je široce používána v ovocných a zeleninových džusech, sycených nealkoholických nápojích (v nesycených nápojích je kyselina jablečná používána jako okysličovadlo, protože může zlepšit chuť a zamaskovat pachů některých solí), marmeládách, vínech a bonbónech pro zlepšením jejich sladkosti. Často se kyselina jablečná přidává v kombinaci s kyselinou citronovou, protože může simulovat kyselé chuťové vlastnosti přírodního ovoce, díky čemuž je chuť přirozenější. Pokud přidáme kyselinu jablečnou do pekařských výrobků s ovocnými náplněmi, výrobky získají silnější a přirozenější ovocnou chuť. Kyselina jablečná se využívá k tvorbě želé nebo jako doplněk výživy. Kromě potravinářství má kyselina jablečná uplatnění i v kosmetických přípravcích, jako je například samoopalovací krém, či pleťový krém, kde působí jako regulátor pH. Derivát kyseliny jablečné je monolaurylamid, který se používá jako čisticí prostředek pro péči o pokožku. Také je často obsažena v mýdlech, ústní vodě a zubní pastě. Existují také i další nepotravinářské aplikace, jako je například použití na čištění a povrchovou úpravu kovů, povrchovou úpravu textilu, bezproudové pokovování či infuze a barvy [22, 39, 41].

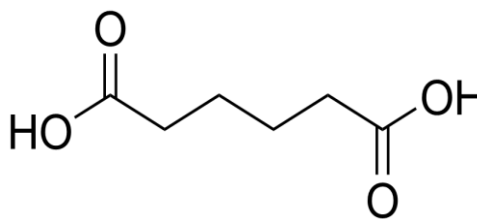
1.2.6 Kyselina adipová

Kyselina adipová (kyselina butan-1,4-dikarboxylová) vzniká při žluknutí tuků. Může vznikat biologickou cestou pomocí oxidace cyklohexanolu nebo cyklohexanonu na kyselinu adipovou prostřednictvím mikroorganismů *Acinetobacter*, *Pseudomonas* nebo *Xanthobacter*.

Také může vznikat nepatrné množství kyseliny adipové z alifatických aminů nebo diaminů pomocí *Nocardia* spp. [12, 41].

Kyselina adipová je nehydrokopická nasycená dikarboxylová kyselina s přímým řetězcem C6 a dnes je jednou z nejpoužívanějších chemikálií na světě. Jedná se o bílý krystalický prášek, který je rozpustný ve vodě, alkoholu a acetonu. Kyselina adipová má nízké antimikrobiální účinky, je schopna pouze snižovat pH a při vhodné koncentraci dokáže inhibovat růst mikroorganismů citlivých na nízké hodnoty pH. Kyselina adipová je schválena jako látka GRAS, pokud se používá jako pufr nebo neutralizační prostředek. Navíc se tato kyselina přirozeně nachází v řepě a cukrové třtině [12, 41].

Kyselina adipová se využívá v potravinářství a označuje se jako E355. V potravinářství se využívá jako kypřicí prostředek nebo k úpravě pH. Přidává se do želatinových dezertů, prášků do pečiva, ovocných nápojů v prášku, cukrovinek, sušenek, protože dodává hladkou a mírně kyselou chuť. Využívá při výrobě tavených sýru, kde zlepšuje jejich roztíratelnost. Kromě potravinářství se také využívá při výrobě změkčovadel, mazacích složek, polyesterových polyolů pro polyurethanové systémy a pro přípravu pesticidů, barviv, látek pro ošetření textilu, fungicidů a farmaceutik [12, 41].



Obrázek 7 Strukturální vzorec kyseliny adipové

1.3 Oxid uhličitý

Oxid uhličitý (CO₂) může vznikat při heterofermentativním kvašení pomocí bakterií mléčného kvašení. Nebo může vznikat během fermentace v důsledku přeměny cukru na alkohol, například



Obrázek 8 Strukturální vzorec oxidu uhličitého

z melasy, kukuřice, pšenice nebo brambor. Také může vznikat pomocí rozpadu (pomalá oxidace) všech organických materiálů, při dýchání zvířat i lidí. Oxid uhličitý se může vyrábět i průmyslově [18, 43].

Oxid uhličitý je bezbarvý plyn, který má slabý ostrý zápach a kyselou chuť. Při normální teplotě a tlaku je 1,53krát těžší než vzduch. CO₂ má několik zvláštních vlastností, jako je inhibiční a částečný dezinfekční účinek na určité bakterie a schopnost stimulovat chuťové vjemy, a proto si CO₂ našel uplatnění v různých potravinářských a zpracovatelských průmyslových odvětvích. Jedná se o látku, která za vhodných podmínek zabraňuje růstu mikroorganismů [43, 44]. Antimikrobiální účinek oxidu uhličitého se zvyšuje, pokud je aplikován pod tlakem. Aplikace oxidu uhličitého pod tlakem během tepelného zpracování může snížit dobu a teplotu potřebnou pro sterilizaci, pasterizaci nebo blanšírování, a proto minimalizovat tepelnou degradaci citlivých látek v přírodních produktech [45].

Oxid uhličitý je účinný pro prodloužení trvanlivosti potravin podléhající rychlé zkáze zpomalením růstu bakterií. Míra účinku závisí především na koncentraci oxidu uhličitého, například oxid uhličitý o koncentraci 10 % sníží množství přítomných bakterií o 50 %. Oxid uhličitý může snižovat růst například *Escherichia coli*, *Pseudomonas fluorescens*, *Listeria monocytogenes*, *Enterococcus faecalis*, *Bacillus cereus* nebo *Bacillus licheniformis* [18, 46].

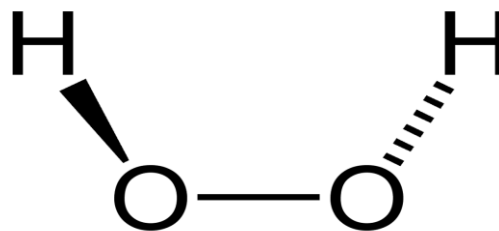
Nejběžnější a nejstarší aplikací CO₂ je výroba sycených nealkoholických nápojů a sodové vody, částečně se využívá i na výrobu šumivého vína a piva. Oxid uhličitý přispívá k charakteristické štiplavé chuti nealkoholických nápojů, protože má výrazný stimulační účinek na čichové a chuťové nervy. Sycení nápoje pomáhá zabránit růstu plísní [43].

Využívá se k balení v modifikované atmosféře nebo skladování v řízené atmosféře. Zvýšení hladiny oxidu uhličitého v okolí potravinářského materiálu prodlouží jejich trvanlivost s malým nebo žádným nepříznivým účinkem na kvalitu výrobku. Plynné složení skladovacího prostředí kolem potravin se mění buď vstříkáním oxidu uhličitého, aby se vytvořila atmosféra s vysokým CO₂, nebo vstříkáním dusíku, aby se vytvořila atmosféra s nízkým CO₂. Oxid uhličitý se také používá k ochraně obilí, ovoce a zeleniny před hmyzem. U masa, které je skladováno pomocí modifikované atmosféry, je kontrola mikroorganismů způsobena hlavně změnou intracelulárního pH v důsledku rozpustného oxidu uhličitého v lipidové dvojvrstvě mikroorganismů [43].

Kromě potravinářství našel oxid uhličitý své uplatnění jako inertní prostředí výbušných plynů, k chemické výrobě, hašení požárů, přípravě slévárenských forem, omývání gumy, svařování, k nafukování záchranných vorů a záchranných vest, k podpoře růstu rostlin ve sklenících, k znehybnění zvířat před porážkou nebo v lékařství [43, 44].

1.4 Peroxid vodíku

Peroxid vodíku v přítomnosti kyslíku produkují některé bakterie mléčného kvašení během fermentace sacharidů. Aby se zmírnily toxické účinky peroxidu vodíku, bakterie produkují enzymy (například kataláza), které štěpí peroxid vodíku. Účinnost těchto enzymových systémů se u bakterií mléčného kvašení liší a rychlost produkce peroxidu vodíku může být vyšší než rychlost jeho degradace [47].



Obrázek 9 Strukturální vzorec peroxidu vodíku

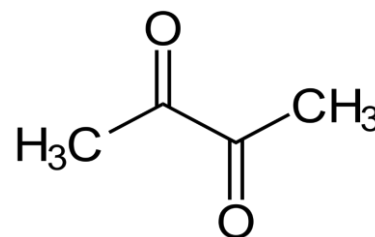
Peroxid vodíku byl poprvé uznán jako chemická sloučenina v roce 1818. Jedná se o bezbarvou kapalinu s hořkou chutí, která se obvykle vyrábí ve vodných roztocích o různé síle [48]. Peroxid vodíku je oxidační činidlo s dezinfekčními, antivirovými a antibakteriálními účinky. Peroxid vodíku je nestabilní a za uvolňování tepla se snadno rozkládá na kyslík a vodu [49].

Peroxid vodíku je uznáván jako látka GRAS a byl schválen pro aplikace jako bělicí nebo antimikrobiální látka při zpracování potravin. Je využíván jako povrchový dekontaminant čerstvých potravin. Bylo prokázáno, že ponoření plátků dýně nebo melounu do 5% roztoku peroxidu vodíku snižuje počet *Pseudomonas fluorescens* na povrchu plodů až o 90 %. Taktéž ošetření čerstvého jablka či papriky směsí peroxidu vodíku a kyseliny octové může snížit počet *Salmonella* spp. a *Pseudomonas fluorescens* [48, 50]. Dále se roztok peroxidu vodíku používá při zpracování sýra, kde řídí růst psychrotrofních gramnegativních bakterií [18].

Kromě potravinářství se peroxid vodíku využívá k regulaci sirovodíku v komunálním kalu, k oxidaci sulfidů a k předčištění odpadních vod. Dále se využívá při výrobě chemikálií, raketových paliv a také pro kosmetické a léčebné účely [48].

1.5 Diacetyl

Diacetyl (2,3-butandion) je produkován hlavně heterofermentativními druhy bakterií mléčného kvašení a také dalšími mikroorganismy, jako jsou *Achromobacter lipolyticum*, *Propionibacterium shermanii*, *Aerobacter* spp., *Enterobacter* spp. a kvasinkami. Vzniká jako vedlejší produkt při fermentaci sacharidů těmito mikroorganismy.



Obrázek 10 Strukturální vzorec diacetylů

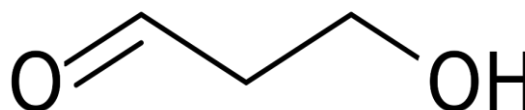
Nejprve pyruvát je přeměněn na α -acetolaktát, který je následně enzymem acetolaktátsyntáza konvertován na diacetyl. Diacetyl může také vznikat fermentací kyseliny citronové kmeny rodu *Streptococcus* a *Leuconostoc*. Diacetyl lze připravit i synteticky v laboratoři, ale z bezpečnostních důvodů je preferována mikrobiální produkce diacetylu před chemickou syntézou, z důvodu jeho využití v potravinářství a kosmetice [52, 53].

Diacetyl je polární (ve vodě rozpustná), těkavá sloučenina s máslovým zápachem. Má antimikrobiální účinek a bylo zjištěno, že má inhibiční účinek proti *Corynebacterium diphtheriae*, *Enterobacter aerogenes*, *Escherichia coli*, *Erysipelothrix* sp., *Klebsiella pneumoniae*, bakterie mléčného kvašení, *Mycobacterium phlei*, *Neisseria gonorrhoeae*, *Salmonella* spp. a *Staphylococcus aureus*. Obecně gramnegativní bakterie a plísně jsou citlivější než grampozitivní bakterie [51, 53].

Diacetyl se přirozeně vyskytuje v rostlinách, ovoci, kávě, medu, kakau a mléčných výrobcích. Je to přírodní vedlejší produkt fermentace a nachází se v pivu i víně, kde dodává máslovou chuť. Diacetyl je běžně spojován s mléčnými výrobky a je důležitou aromatickou sloučeninou v másle, margarínu, zakysané smetaně, jogurtu a řadě sýrů, včetně čedaru, goudy, camembertu. Diacetyl je někdy využíván jako příchut' karamelu, másla, kávy, popcornu, pečiva a cukrovinek [51, 54].

1.6 Reuterin

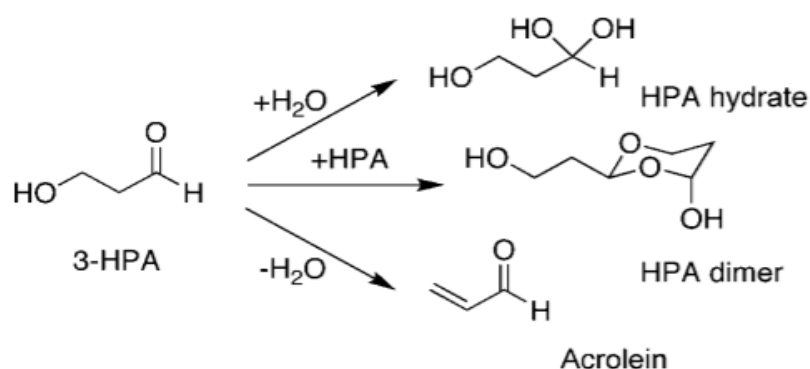
Reuterin je antimikrobiální sloučenina sestavená z hydratovaných, nehydratovaných a dimerních forem 3-hydroxypropionaldehydu (3-HPA). Jedná se o antimikrobiální látku, která je produkována *Limosilactobacillus reuteri* [18, 55].



Obrázek 11 Strukturní vzorec reuterinu

Limosilactobacillus reuteri je jedna z nejvíce studovaných probiotických bakterií. Využívá se jako probiotikum (probiotika jsou živé mikroorganismy, které při podávání v dostatečném množství poskytují hostiteli zdravotní výhody). *Lb. reuteri* je komenzální bakterie, která může přežít a přetrvávat v savčím gastrointestinálním traktu [56, 57]. Probiotické vlastnosti tohoto mikroorganismu jsou spojené s produkcí antimikrobiální sloučeniny 3-hydroxypropionaldehydu (3-HPA), označované také jako reuterin. Tato látka vzniká jako meziprodukt přeměny glycerolu na 1,3-propanediol. Kromě *Lb. reuteri* byla zjištěna schopnost produkce této látky i u některých zástupců rodů *Bacillus*, *Klebsiella*, *Citrobacter*,

Enterobacter a *Clostridium*. Reuterin je účinný proti grampozitivním i gramnegativním bakteriím, virům a plísním. Například působí proti *Escherichia*, *Salmonella*, *Shigella*, *Proteus*, *Pseudomonas*, *Clostridium*, *Bacillus* a *Staphylococcus* [56, 57]. Reuterin dokáže inaktivovat některé důležité enzymy jako například ribonukleotidreduktázu. Reuterin je aktivní v širokém rozmezí pH a odolný vůči mnoha proteolytickým a lipolytickým enzymům přítomným v potravinách [18]. Reuterin může dimerizovat za vzniku dimeru HPA. Dále může být hydratován za vzniku hydrátu HPA nebo může dojít k dehydrataci reuterinu na toxickou sloučeninu akrolein (viz. Obrázek 12). Schopnost produkovat reuterin v přírodě je relativně neobvyklá a *Limosilactobacillus reuteri* je jediná BMK, která je schopná v potravinách produkce a vylučování velkého množství reuterinu [55, 57].



Obrázek 12 Dimerizace, hydratace a dehydratace reuterinu [57]

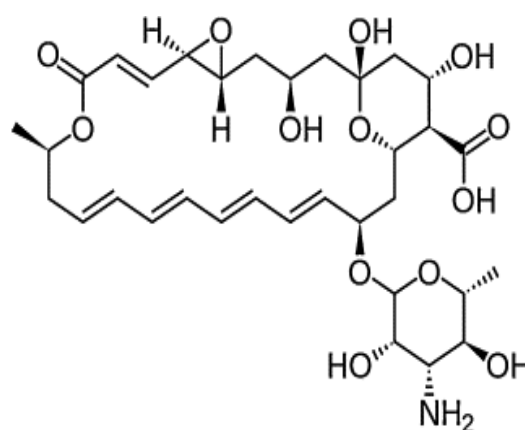
Bylo prokázáno, že kmeny *Limosilactobacillus reuteri* jsou účinné proti různým onemocněním, včetně průjmů, koliky a byl studován jako možná přísada k prevenci kažení potravin a růstu patogenů v potravinách [56]. Hojně se *Lb. reuteri* využívá k léčbě *Helicobacter pylori*. Infekce *H. pylori* je hlavní příčinou chronické gastritidy a peptických vředů, jakož i rizikovým faktorem pro maligní onemocnění žaludku [57].

Reuterin produkovaný BMK je potenciálním širokospektrálním konzervačním prostředkem pro potravinářský průmysl. Například Kuleasan a Cakmakci [58] studovali v roce 2002 využití reuterinu v potravinářství, kdy byla prokázána účinnost proti *Listeria monocytogenes* na povrchu uzenin. Klobásy byly na krátkou dobu ponořeny do roztoku reuterinu a následně byly na povrchu naočkovány *Listeria monocytogenes* nebo *Salmonella* spp. Tento výzkum vedl k významnému snížení počtu životaschopných buněk *L. monocytogenes*, ale antimikrobiální účinek proti *Salmonella* spp. nebyl pozorován [19].

Ve studii Montiel et al. [59] v roce 2014 zkoumali použití reuterinu, který byl nejdříve purifikován a aplikován na lososa uzeného za studena. Po purifikaci byla dosažená koncentrace reuterinu 1,3 M. Inhibiční aktivita s použitím *Escherichia coli* K12 jako indikátorového kmene byla odhadnuta na 510 AU/ml. Purifikovaný reuterin významně snížil růst *Listeria monocytogenes* u lososa uzeného za studena. Losos po 15 dnech při 8 °C vykazoval nižší počet *Listeria monocytogenes* o 2,0 log CFU/g než u uzeného lososa bez přídavku reuterinu. Přidání purifikovaného reuterinu by mohlo být použito jako nová technologie pro zlepšení bezpečnosti a prodloužení trvanlivosti konzervovaných mořských produktů, jako je například uzený losos [59]. Než však bude možné reuterin použít jako konzervační látku v potravinách, musí být důkladně studována jeho toxicita na člověka.

1.7 Natamycin

Natamycin je komerčně důležité antibiotikum produkované submerzní fermentací kmeny rodu *Streptomyces*, např. *Streptomyces natalensis*, *Streptomyces gilvosporeus* a *Streptomyces chattanoogensis*. Někdy je označován jako pimaricin, dřívější název, ale Světová zdravotnická organizace (WHO) jej již nepřijímá. Natamycin byl poprvé objeven v roce 1955 ze vzorku půdy v provincii Natal v Jihoafrické republice, a právě z této oblasti je odvozen jeho název [12, 60].



Obrázek 13 Struktura Natamycinu [60]

Komerční přípravky se vyrábějí řízenou fermentací v médiu na bázi dextrózy vybranými kmeny *Streptomyces*. Sušený natamycin získaný z fermentačního bujónu je bílý až krémově zbarvený a má malý či žádný zápach nebo chuť. V krystalické formě je natamycin velmi stabilní a běžně se vyskytuje v krystalické formě jako trihydrát [12, 60].

Má několik výhod jako konzervační prostředek, včetně širokého spektra působení, účinnosti při nízkých koncentracích a aktivity v širokém rozmezí pH. Díky své nízké toxicitě je natamycin jedním z mála antibiotik, které je podle pokynů FDA stále považováno za chemickou sloučeninu GRAS. Natamycin je obzvláště užitečný v potravinách k prevenci růstu plísní (jako jsou *Candida*, *Aspergillus*, *Penicillium* a *Trichoderma*), které mohou produkovat sekundární metabolity známé jako mykotoxiny. Proto se natamycin využívá

i v lékařství jako silné antifungální antibiotikum a k léčbě různých plísňových a kvasinkových onemocnění. Je komerčně prodáván jako produktová řada Natamax™ od společnosti Danisco a jako produktová řada Delvocid® od společnosti DSM. Oba přípravky obsahují přibližně 50 % natamycinu smíchaného s laktózou. Na farmaceutickém trhu je dostupný v různých recepturách, včetně očních kapek, mastí a krémů [12, 60].

Natamycin je jedním z celosvětově povolených konzervantů využívaných v potravinách (sýry, fermentované maso, jogurty, nápoje, víno a pečivo) k potlačení růstu kvasinek a plísní. Natamycin vykazuje dobrou stabilitu v potravinách za předpokladu, že pH potravin se pohybuje v rozmezí hodnot 5–9. V tabulce 4 jsou uvedeny různé aplikace natamycinu v potravinách a doporučené dávkování natamycinu v jednotlivých potravinách [12].

Tabulka 4 Způsoby aplikace a doporučené dávkování natamycinu v jednotlivých potravinách [12]

<i>Potraviny</i>	<i>Dávkování Natamycinu, ppm</i>	<i>Metody</i>
<i>Tvrký/polotvrký sýr</i>	1250-2000	Povrchová úprava stříkáním nebo ponořením
	500	Přímé přidání k potahovací emulzi
<i>Masné výrobky, suchá klobása</i>	1250-2000	Povrchová úprava stříkáním nebo ponořením
<i>Jogurt</i>	5-10	Přímé přidání do jogurtové směsi
<i>Pekárenské produkty</i>	1250-2000	Povrchová úprava stříkáním nebo ponořením
<i>Rajčatové pyré</i>	7,5	Přímé přidávání během míchání
<i>Ovocný džus</i>	2,5-10	Přímé přidání
<i>Víno</i>	30-40	Přímé přidání k zastavení fermentace
	3-10	Přidáno po plnění do lahví, aby se zabránilo růstu kvasinek / plísní

Natamycin se v potravinářství využívá například při výrobě sýrů, protože povrchový růst plísní může být omezujícím faktorem trvanlivosti sýrů. Existuje mnoho způsobů aplikace natamycinových přípravků. Natamycin lze aplikovat nastříkáním, natřením, ponořením nebo přidáním do plastového povlaku a poté namočením nebo natřením sýru (viz Tabulka 4). Tyto aplikace jsou často prováděny po delší dobu, aby byla zajištěna úplná ochrana sýru. Například při aplikaci natamycinu ponořením se doporučuje přidat do roztoku navíc 10 % soli, aby se zabránilo růstu bakterií. Natamycin je schválen americkým Úřadem pro kontrolu potravin a léčiv pro použití na jakýkoli standardizovaný sýr, pro který jsou povolena antimykotika. V Evropské unii (EU) je maximální povolená úroveň natamycinu na povrchu

tvrdého, polotvrdého a poloměkkého sýra 1 mg/dm² povrchu a natamycin by neměl být přítomen v hloubce větší než 5 mm [12, 60].

V masném průmyslu se natamycin často používá k ošetření povrchu suchých kvašených klobás a také se používá k ošetření povrchu vařených šunek. Předpisy EU pro maso jsou podobné těm, které platí pro sýry. Maximální povolená úroveň natamycinu na povrchu sušených uzenin je 1 mg/dm², přičemž žádný není přítomen v hloubce větší než 5 mm [12].

Natamycin se také využívá v pekárenském průmyslu nebo při výrobě jogurtů. Při výrobě jogurtu se využívá 5 až 10 µg natamycinu jako prevence růstu kvasinek v jogurtu. Neexistuje žádný nepříznivý účinek na startovací kultury jogurtu. Natamycin lze přidat před přidáním startovacích kultur nebo s ovocným přípravkem po fermentaci při výrobě ovocných jogurtů. V pekárenském průmyslu má natamycin potenciál jako sprej k prodloužení trvanlivosti pekařských výrobků. Například při postříkání tortill přípravkem s natamycinem to vedlo ke zvýšené ochraně růstu proti plísním [12, 60].

Natamycin se také používá ve vinařském průmyslu v Jižní Africe k výrobě sladkých vín, kde se natamycin přidává před ukončením fermentace, aby se zastavila fermentace kvasinek. Při výzkumu v ovocných džusech se ukázalo, že natamycin je účinným konzervačním prostředkem v nepasterizovaných, tak i v pasterizovaných ovocných šťávách, zabraňujících růstu kvasinek a plísní. Další potenciální aplikací jsou olivy, kde vědci zjistili, že natamycin účinně potlačuje růst plísní a produkci mykotoxinů na olivách [12, 60].

1.8 Bakteriociny grampozitivních mikroorganismů

Bakteriociny jsou heterogenní skupina bioaktivních bakteriálních peptidů nebo proteinů, které mají baktericidní nebo bakteriostatické účinky na podobné nebo blízce příbuzné bakteriální kmeny. Poprvé byly popsány v roce 1925, ale zájem o jejich výrobu, funkci a možné aplikace v potravinářském průmyslu vzrostl teprve nedávno. Byly popsány různé druhy bakteriocinů, které se dělí podle velikosti, inhibičního mechanismu, spektra účinku, interakce s imunitním systémem nebo podle biochemických vlastností [12, 61].

Z bakteriocinů produkovaných grampozitivními bakteriemi se zaměřuje zejména na ty, které produkují bakterie mléčného kvašení, včetně rodů *Lactococcus*, *Lactobacillus*, *Leuconostoc*, *Enterococcus*, *Pediococcus*, *Carnobacterium* a některé z rodu *Streptococcus*. Bakteriociny grampozitivních bakterií můžeme klasifikovat do čtyř skupin v závislosti na jejich molekulové hmotnosti, tepelné odolnosti a přítomnosti modifikovaných

aminokyselin. Dělí se na lantibiotika, malé nemodifikované peptidy, velké proteiny a cyklické peptidy [18]. Bakteriociny jsou složeny z peptidů nebo komplexů peptidů, které obvykle obsahují 30 až 60 aminokyselinových zbytků a jsou uvolňovány v bioaktivních formách extracelulárně. Několik studií dále ukázalo, že bakteriocinová antimikrobiální aktivita je zvýšena proti gramnegativním bakteriím v kombinaci s fyzikálně-chemickými vlivy (vysoký tlak, organické kyseliny, fenolové sloučeniny) [62]. Mnoho z nich působí na cytoplazmatickou membránu a narušují hybnou sílu protonů tvorbou porů ve fosfolipidové dvojvrstvě. Mezi další popsány způsoby účinku inhibice patří narušení syntézy proteinů, tvorba peptidoglykanu, klíčení spor nebo narušení transportu sodíku a draslíku. Některé bakterie mohou produkovat více než jeden bakteriocin, například *Streptococcus salivarius*, *Streptococcus uberis* a *Streptococcus mutans* (*Streptococcus uberis* 42 produkuje nisin U, což je bakteriocin třídy I, ale kromě toho produkuje i uberolysin, což je bakteriocin třídy IV) [63].

Jsou komerčně používány ve více než 40 zemích jako prostředky ke konzervování mléčných výrobků, sýrů, masa, ryb a salátů. Bakteriociny byli zkoumány pro využití při biologické konzervaci, kde sloužili jako prostředek ke zvýšení doby skladování a zvýšení bezpečnosti skladovaného masa v důsledku naočkování produktu „přirozeně“ vyskytujícími mikroorganismy nebo jejich produkty. Zatímco několik druhů BMK bylo spojeno s negativními atributy, jako je poškození a patogenita, většinu lze považovat za relativně neškodnou. V některých případech mohou dokonce přispět k bezpečnosti a trvanlivosti skladovaného masa a potravin. Požadavky na biokonzervační látky jsou uvedeny v tabulce 5. Musí to být látky bezpečné a stabilní [18, 63].

Obecně existují tři způsoby, kterými mohou být bakteriociny začleněny do potravin za účelem zvýšení jejich bezpečnosti. Prvním způsobem může být použití čištěného nebo semipurifikovaného přípravku bakteriocinu jako součást složky potravin. Druhým způsobem může být začlenění jako přísady, která byla dříve vyrobena bakteriocinem produkovaným bakteriemi mléčného kvašení. Třetím způsobem může být použitím BMK produkující bakteriocin jako startovací nebo doplňkovou kulturu přímo ve fermentovaném produktu pro produkci bakteriocinu in situ [64].

Aby byla zajištěna úplná účinnost bakteriocinů v potravinách, musí být u potravin, ve kterých bude bakteriocin aplikován, provedeny testy proti specifickým cílovým bakteriím. Některé faktory mohou totiž ovlivnit množení bakteriocinů v potravinách; jako je

koncentrace solí, pH, dusitany a dusičnany, enzymy, rozpustnost, obsah lipidů, rovnoměrná distribuce v potravinách a možná inaktivace jinými přísadami [64].

V poslední letech byly bakteriociny také začleňovány do obalových fólií za účelem kontroly patogenních bakterií přenášených potravinami. Využívají se také v medicíně, díky jejich antimikrobiálního účinků při léčbě infekcí vyvolaných patogenními kmeny rezistentními na léčiva [12, 62].

Tabulka 5 Kritéria pro biokonzervační látky [64]

Požadavky na biokonzervační látky

1.	Netoxické
2.	Schváleno podle předpisů (GRAS)
3.	Nízké náklady
4.	Žádné negativní organoleptické účinky
5.	Účinné v nízkých koncentracích
6.	Stabilní za skladovacích podmínek

1.8.1 Klasifikace bakteriocinů

1.8.1.1 Třída I. Lantibiotika

Lantibiotika jsou třídou bakteriocinů produkované grampozitivními bakteriemi, které se vyznačují přítomností neobvyklých aminokyselin v jejich struktuře. Lantibiotika jsou jedinečná v tom, že jsou produkována na ribozomu jako prepeptid, který prochází rozsáhlou posttranslační modifikací za vzniku biologicky aktivního peptidu. Tato skupina látek zahrnuje látky, které mají malou molekulovou hmotnost, genově kódované peptidy charakterizované přítomností polycyklických thioetherových aminokyselin lanthioninu nebo methyllanthioninu zapojených do tvorby kruhové struktury prostřednictvím intramolekulárních posttranslačních modifikací. Bakteriociny třídy I. vykazují antibakteriální aktivitu proti blízkce příbuzným grampozitivním bakteriím, ale obvykle neinhibují gramnegativní bakterie [65, 66].

Podle návrhu Junga z roku 1991 [67] jsou lantibiotika rozdělena na dvě skupiny na základě jejich strukturních a funkčních vlastností; typ A a typ B. Lantibiotika typu A jsou protáhlé,

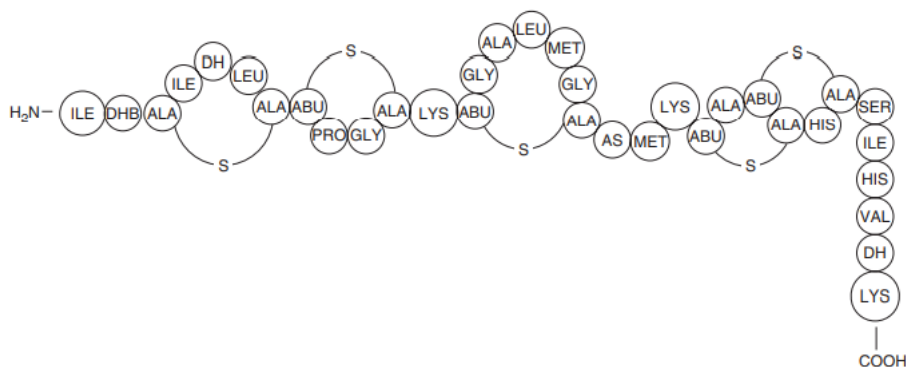
kationtové peptidy o délce až 34 aminokyselinových zbytků, které vykazují podobnosti v uspořádání jejich můstků Lan (Lanthionin). Tyto peptidy primárně působí narušením membránové integrity cílových organismů. Do této skupiny patří nisin, subtilin a epidermin [65, 69]. Například nisin, který je produkován kmeny *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* vykazuje široké spektrum antimikrobiálních účinků proti *L. monocytogenes*, *Staphylococcus aureus* a *Bacillus cereus*. [68].

Peptidy typu B jsou globulární, dlouhé peptidy, které mají až 19 aminokyselinových zbytků. Působí narušením funkce enzymu, např. inhibicí biosyntézy buněčné stěny. Mezi lantibiotika typu B patří cinnamycin, duramycin, duramycin B, duramycin C a ancovenin. Lantibiotika typu B jsou produkována různými kmeny *Streptomyces* a *Streptoverticillium*, většina z nich vykazuje omezenou antimikrobiální aktivitu, ale působí jako inhibitory řady důležitých enzymů včetně angiotenzinu a fosfolipázy A. Například cinnamycin inhibuje replikaci viru Herpes simplex-1. V důsledku těchto biologických aktivit mohou mít potenciální terapeutické využití [65, 69].

Nisin

Nisin byl prvně objeven v Anglii v roce 1928, kdy nastaly problémy při výrobě sýra. Dávky mléka byly kontaminovány kmenem *Lactococcus lactis* produkující nisin a v důsledku inhibičních vlastností nisinu byl potlačen růst startovacích kultur sýra. Nisin byl následně izolován a charakterizován. Nisin je produkován určitými kmeny *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* a je klasifikován jako polypeptidový bakteriocin třídy I, který vykazuje antibakteriální aktivitu proti širokému spektru grampozitivních bakterií a je účinný také proti bakteriálním sporám (převážně z rodu *Bacillus* a *Clostridium*). Primárním místem působení u citlivých mikroorganismů je cytoplazmatická membrána, kde způsobuje narušení funkce cytoplazmatické membrány [12, 70].

Existují devět variant nisinu. Nejstudovanější je varainta A. Nisin A obsahuje thioetherové aminokyseliny lanthionin a β -methyllanthionin, ale také kyselinu aminomáselnou (Abu), dehydroalanin (Dha) a dehydrobutyrin (Dhb). Nisin má flexibilní trojrozměrnou strukturu, která je určena jeho vnitřními thioetherovými kruhy. Může tvořit dimery nebo oligomery [70].



Obrázek 14 Struktura nisinu A [70]

V roce 1969 vydal výbor odborníků FAO a WHO mezinárodní přijetí nisinu mezi konzervanty potravin. Nisin, natamycin a pediocin zůstávají jedinými přírodními antimikrobiálními sloučeninami povolenými jako konzervační látky v potravinách [12].

Nisin funguje lépe v tekutých nebo homogenních potravinách ve srovnání s pevnými nebo heterogenními produkty, protože bakteriocin může být lépe a rovnoměrněji distribuován v celé potravinové matrici. V potravinách konzervovaných nisinem je třeba se vyhnout některým dalším přídatným látkám, protože může být například degradován v přítomnosti disulfiditanu sodného (používaná se jako antioxidant, bělidlo a antimikrobiální látka) a oxidu titaničitého (používá se jako bělicí prostředek). V potravinách se určitý podíl nisinu ztratí během tepelném ošetření a v průběhu času během skladování. Během procesu tavení při výrobě taveného sýra se obsah nisinu může snížit až o 20 %. Proto je nutné upravit hladinu nisinu tak, aby se vyrovnaly tyto ztráty. Stupeň ztráty nisinu závisí na rozsahu tepelného zpracování, době, po kterou se sýr udržuje roztavený, a hodnotě pH produktu. Například u procesu UHT může dojít až ke ztrátě 40 % obsahu nisinu [12, 70].

První využití nisinu jako konzervační látky je známá již od roku 1951, kdy při výrobě sýrů švýcarského typu se využívala startovací kultura produkující nisin k zabránění tzv. „foukání“ způsobenému bakteriemi *Clostridium butyricum* a *Clostridium tyrobutyricum* [12].

Nisin se také využívá v pasterizovaných mléčných výrobcích, jako jsou mléčné dezerty, smetana nebo sýr mascarpone. Protože v těchto případech často nemohou být produkty podrobeny úplné sterilizaci bez poškození jejich organoleptických vlastností, struktury nebo vzhledu, a jsou proto někdy konzervovány nisinem, aby se prodloužila jejich

trvanlivost. Přidávání nisinu do pasterizovaného mléka je povoleno v zemích, které mohou mít problémy s trvanlivostí kvůli vysokým okolním teplotám, přepravě na dlouhé vzdálenosti a nedostatečnému chlazení [12, 70].

Nisin se zkoumal i v mase a masném průmyslu, kvůli obavám z vysokých hladin dusitanů v konzervovaném masu. Ale výsledky výzkumu použití nisinu jako částečné náhrady dusitanu ukázaly, že pouze vysoké hladiny nisinu dosáhly dobré kontroly *Clostridium botulinum*. Lepší výsledky byly získány u vakuově balených vařených uzenin, kde mohou bakterie mléčného kvašení způsobit znehodnocení produkcí plynu, zápachu a slizu. Přidání nisinu do směsi uzenin v množství 1,25–6,25 mg/kg nebo ponoření vařené klobásy do roztoku nisinu v množství 5,0–25,0 mg/l se osvědčilo při zvyšování trvanlivosti při skladovacích teplotách 6–12 °C [12, 70].

Byly provedeny studie aplikace nisinu u čerstvých ryb z důvodu produkce botulotoxinu, protože ryby balené ve vakuu nebo v upravené atmosféře jsou totiž potenciálním rizikem botulismu. Proto se zkoumala aplikace nisinu postřikem na filety tresky, sledě a uzené makrely naočkované sporami *Clostridium botulinum* typu E. Výsledkem bylo významné zpoždění produkce toxinu při 10 a 26 °C [12, 70].

1.8.1.2 Třída II. Malé nemodifikované peptidy

Skupina bakteriocinů II. třídy je heterogenní skupina peptidů (<10 kDa) sestavená ze standardních aminokyselinových zbytků, které mohou být spojeny disulfidovými můstky nebo cyklizovány na N- a C-konci. Bakteriociny třídy II jsou největší skupinou, která byla charakterizována. Klaenhammer tuto skupinu v roce 1993 rozdělil do tří tříd [71]. Třída IIA zahrnuje peptidy podobné pediocinu, které mají N-koncovou shodu sekvence-Tyr-Gly-Asn-Gly-Val-Xaa-Cys. Třída IIB obsahuje bakteriociny vyžadující dva různé peptidy pro aktivitu. Některé příklady jsou laktacin F, laktokokiny G a M. Třída IIC obsahuje zbývající peptidy třídy včetně secernovaných sekretovaných bakteriocinů. Například laktokokcin B [68].

Bakteriociny třídy IIA jsou produkovány širokou škálou grampozitivních bakterií. V posledních letech se zjistilo, že mají potenciál jako přírodní konzervační látky v potravinách a v možných biomedicínských aplikacích prostřednictvím inhibice patogenních bakterií. Jako je například *Listeria monocytogenes*, *Staphylococcus aureus* a bakterie tvořící spory (*Bacillus cereus* a *Clostridium perfringens*). Ve třídě IIA nyní

existuje 28 různých bakteriocinů. Jednou z charakteristik, která spojuje všechny členy, je jejich úzké spektrum aktivity a jejich vysoká účinnost proti *L. monocytogenes* [71].

Třída IIB obsahuje dvoupeptidové nemodifikované bakteriociny. V současné době v této skupině existuje 16 dvoupeptidových nemodifikovaných bakteriocinů. Primárně skupina obsahovala pouze bakteriociny produkované BMK, ale dnes obsahuje také například bakteriocin brochochin-C, který je produkovaný *Brochothrix campestris*. Počet aminokyselinových zbytků v těchto peptidech se pohybuje od 40 a výše. Studie způsobu účinku bakteriocinů třídy IIB odhalily, že při kontaktu s peptidy dochází k permeabilizaci membrány cílových buněk, což vede k odlivu malých molekul, a nakonec k buněčné smrti [71].

Třída IIC jsou kruhové bakteriociny, které jsou jako ostatní bakteriociny třídy II syntetizovány ribozomálně, a proto jsou odlišné od enzymaticky syntetizovaných cyklických antimikrobiálních peptidů. Tyto peptidy jsou obecně tepelně stabilní, vykazují významnou odolnost vůči proteolytickému trávení a bylo prokázáno, že vykazují antilisteriální aktivitu. Dosud bylo charakterizováno osm cyklických bakteriocinů s vyloučením subtilisinu A a thuricinu CD [71].

Pediocin

Pediocin a bakteriociny podobné pediocinu patří do skupiny bakteriocinů IIA a jsou účinné proti druhům *Listeria*. Pediocin je bakteriocin produkovaný BMK rodu *Pediococcus*. Například kmen *Lactiplantibacillus plantarum* WHE92, který je izolovaný ze sýra, také produkuje pediocin [73]. Pediocin je kationt s nízkou molekulovou hmotností (2,7–17 kDa). Jedná se o peptid, který se skládá z 40–44 aminokyselin, jeho molekulární struktura obsahuje 4 molekuly lysinu, 3 molekuly histidinu, jednu molekulu kyseliny asparagové a 4 molekuly cysteinu, které jsou spojeny disulfidovými vazbami. N-konec pediocinu obsahuje hydrofilní aminokyseliny a strukturu β -listu. C-konec pediocinu obsahuje amfifilní aminokyseliny a α -helikální strukturu [76]. Pediocin je látka netoxická, neimunogenní a snadno hydrolyzovatelná žaludečními enzymy. Antimikrobiální aktivita pediocinu úzce souvisí s jeho strukturou, která zahrnuje tvorbu pórů v cílové membráně. Tyto póry vedou k odlivu malých intracelulárních látek, vyčerpání cytoplazmatického adenosintrifosfátu (ATP) a rozptýlení hybné síly protonu, a nakonec k buněčné smrti. Pediociny mají široké spektrum antimikrobiálního spektra proti grampozitivním bakteriím, ale stejně jako nisin mají malou nebo žádnou aktivitu proti gramnegativním bakteriím, kvasinkám a plísním [72, 73]. [74] a Anastasiadou et al. [75] v roce 2008 ve své studii prokázali spektrum působení

pediocinu SA-1 produkovaného *Pediococcus acidilactici* NRRL B 5627 vůči bakteriím, které způsobují kažení potravin nebo vůči některým patogenním bakteriím; jako je *Bacillus cereus*, *Clostridium sporogenes*, *Leuconostoc mesenteroides*, *Micrococcus flavus*, *Listeria monocytogenes*, *Staphylococcus carnosus* a *Levilactobacillus brevis* [76]

Pediocin se používá ke zlepšení bezpečnosti potravin a zvýšení jejich trvanlivosti. Pediocin je komerčně vyráběn pod názvem „Alta™2341“ a používá se v USA a evropských zemích jako konzervační prostředek k inhibici růstu *Listeria monocytogenes*. Aplikace pediocinu v konzervárenství v závislosti na vlastnostech potraviny má však několik omezení při přímé aplikaci. Omezení se týkají jeho konzervační aktivity, náchylnosti k adsorpci na složky potravin, proteolytické degradace a změny rozpustnosti. Existují čtyři způsoby aplikace pediocinu do potravin. Prvním způsobem je použití bakterií produkujících pediocin jako součást startérových kultur ve fermentovaných potravinách. Druhý způsob aplikace je přidání čistého nebo poločistého pediocinu do potravinářské matrice. Třetím způsobem aplikace je využití fermentovaných potravin, kde se zavede *Pediococcus* jako součást vyráběných potravin. Za čtvrté se může pediocin aplikovat na fólie, které se využívají k balení potravin [76].

Kiran et al. [77] ve studii zkoumali pediocin AcH/PA-1 produkovaný *Pediococcus pentosaceus* OZ, který byl izolovaný z lidského mateřského mléka a následně byl aplikovaný na výrobky z kuřecího masa. Výrobky byly ozářeny a naočkovány *Listeria monocytogenes* a čistěným pediocinem. Výrobky byly zabaleny a skladovány po dobu 4 týdnů při 4 °C. Po této době došlo ke značnému poklesu životaschopných *Listeria monocytogenes* ve výrobcích z kuřecího masa [76].

Sakacin

Sakacin patří do skupiny bakteriocinů produkovaných *Lactobacillus sakei*. Nejznámějšími izoláty sakacinu jsou sakacin A, G, K, P a Q. Zejména jsou známy sakacin A, který je malý, tepelně stabilní polypeptid a sakacin P, který je malý, tepelně stabilní, ribosomálně syntetizovaný polypeptid. První identifikovaný sakacin byl sakacin A produkovaný *Lb. sakei*, který byl izolovaný ze syrového masa. Podobně jako dříve popsány nisin i pediocin je způsob působení směřován na cytoplazmatickou membránu citlivých grampozitivních bakterií. Ve srovnání s nisinem a pediocinem mají sakaciny relativně úzké antibakteriální spektrum. Inhibují zejména bakterie rodu *Lactobacillus* a *Listeria*. Sakacin B je jediný zástupce sakacinů, který nemá antimikrobiální aktivitu proti *Listeria* spp. [72, 73].

Jedná se o přírodní antimikrobiální sloučeninu, která má schopnost prodloužit trvanlivost syrového masa tím, že inhibují růst mikroorganismů kazících maso a kontroluje růst *Listeria monocytogenes*. Sakacin A je schopen zabíjet buňky *Listeria* tím, že permeabilizuje jejich membránu a má hydrolytický účinek na jejich buněčnou stěnu, protože může narušit specifické vazby ve struktuře peptydoglykanu [72, 73].

V dnešní době jsou sakaciny studovány proti *Listeria monocytogenes* při výrobě potravin určených k přímé spotřebě nebo pro zabudování do obalových materiálů. Sakacin se zkoumá při výrobě uzenin, sušených masných výrobků (šunka) a sýrů. Také se používají k potlačení nežádoucího bakteriálního růstu, který by mohl způsobit slizkost, zápach a další vady produktu [78].

1.8.1.3 Třída III. Velké proteiny

Bakteriociny třídy III jsou velké tepelně labilní antimikrobiální proteiny, které nejsou tak dobře charakterizovány. Jsou také označovány jako bakteriolyliny. Bakteriociny třídy III mají strukturu typu domény s tím, že každá doména má jinou funkci. Do této skupiny bakteriocinů zařazujeme helveticin J produkovaný *Lactobacillus helveticus*, zoocin A produkovaný *Streptococcus equi* subsp. *zooepidemicus*, enterolysin A produkovaný *Enterococcus faecalis*, millericin B produkovaný *Streptococcus milleri* a linocin M18 produkovaný kmenem *Brevibacterium linens* [71].

Například enterolysin A je tepelně labilní protein se širokým inhibičním spektrem, který rozkládá buněčné stěny citlivých bakterií. Ukázalo se, že tento bakteriocin vykazuje širokou lytickou aktivitu proti několika bakteriálním rodům, např. *Lactobacillus*, *Lactococcus*, *Pediococcus*, *Enterococcus*, *Bacillus*, *Listeria* a *Staphylococcus* spp. [79].

Dále sem patří laktacin A a B. Laktacin A je produkován *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *lactis*. Laktacin A má úzký rozsah hostitelů a je teplotně labilní. Laktacin B je produkován *Lactobacillus acidophilus* a jeho molekulová hmotnost je 6000-6500 Da [71].

1.8.1.4 Třída IV. Cyklické peptidy

Cyklické peptidy jsou komplexní bakteriociny složené z bílkovin a jedné nebo více chemických skupin (lipidy, sacharidy) potřebné pro aktivitu. Cyklické bílkoviny byly ještě před několika lety neznámé, ale už nyní je vidět, že se vyskytují v nejrůznějších organismech, od bakterií po rostliny až zvířata. Podílejí se na mikrobiální obraně produkčních organismů v přítomnosti některých gramnegativních bakterií zapojených

do kontaktu mezi buňkami během procesu konjugace. Společnou charakteristikou většiny cyklických proteinů je jejich silná biologická aktivita (antibakteriální, antivirový nebo farmakologický účinek). Jejich biotechnologický zájem se tak v posledních letech zvýšil a stal se hlavní linií výzkumu [68, 80].

Velikost těchto bakteriocinů je od 3 400 do 7 200 Da a obsahují 58–78 vázaných aminokyselin. Ty jsou produkovány grampozitivními bakteriemi prostřednictvím genové translace. Jejich konce N a C jsou spojeny peptidovými vazbami za vzniku kruhové molekuly. Jedná se o látky velmi hydrofobní. Poskytují buněčnou membránu propustnou pro malé molekuly a tím narušují protonmotivní sílu, která nakonec vede k buněčné smrti. Díky svému širokému spektru účinku, stabilitě ve značném rozmezí pH a teplot tvoří jednu z nejatraktivnějších skupin inhibitorů, jaké byly dosud popsány. Dosud bylo popsáno pouze několik cirkulárních bakteriocinů, které zahrnují peptid enterocin AS-48 produkováný *Enterococcus faecalis* S-48, cirkulin A produkováný *Clostridium beijerinckii* ATCC25 752 a gassericin A. [80].

Enterocin AS-48 je prvním a nejintenzivněji charakterizovaným členem bakteriocinů třídy IV. Je také aktivní proti gramnegativním bakteriím, jako je *E. coli* O157: H7, *Myxococcus xanthus* a *Salmonella enterica* sérotyp Choleraesuis [80].

Gassericin A byl poprvé popsán v roce 1991 pod názvem reutericin 6. Gassericin A se vyrábí pomocí druhu *Lactobacillus gasseri* LA 39, také je známý jako JCM 11657. Kromě své antimikrobiální aktivity proti některým druhům laktobacilů je také aktivní proti některým potravinářským patogenům včetně *Listeria monocytogenes*, *Bacillus cereus* a *Staphylococcus aureus*. Je mírně rozpustný ve vodě, ale rozpustnost se zvyšuje přidáním acetonitrilu nebo alkoholu. Gassericin A dokáže zabránit produkci toxinu *Staphylococcus aureus* v mléce [80].

1.9 Bakteriociny gramnegativních bakterií

Gramnegativní bakterie produkují širokou škálu bakteriocinů, které jsou specificky pojmenovány podle rodu (např. klebicingy podle *Klebsiella pneumoniae*) nebo druhů (např. koliciny podle *Escherichia coli*, marcescingy podle *Serratia marcescens*) produkujících bakterií [81]. Bakteriociny gramnegativních bakterií můžeme rozdělit do tří skupin podle velikosti. Do první skupiny patří velké bakteriociny podobné kolicinu (25–80 kDa). Do druhé skupiny patří mnohem menší mikrocingy (<10 kDa) a do třetí skupiny můžeme zařadit vysokomolekulární bakteriociny. Strukturálně se bakteriociny skládají

z C-terminální cytotoxické domény (C-doména), N-terminální domény (T-doména) a z R-domény. N-terminální doména je odpovědná za vazbu na receptor na povrchu a translokaci do cílové buňky. C-terminální doména je aktivní část bakteriocinu, která působí cytotoxicky a R-doména zajišťuje vazbu na receptor (viz Obrázek 15) [82].

Bakteriociny produkované gramnegativními bakteriemi mohou inhibovat růst příbuzných gramnegativních bakterií a grampozitivních bakterií. Například *Bacillus* spp., *Enterobacter cloacae*, *Enterococcus faecalis*, *Staphylococcus aureus*, *Salmonella* spp., *Shigella* spp., *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Hafnia alvei*, *Klebsiella pneumoniae* nebo *Citrobacter freundii* [83].

Tato skupina bakteriocinů vykazuje velký potenciál pro použití v potravinářství. Mohli by se využívat pro kontrolu patogenních bakterií přenášených potravinami a proti znehodnocení potravin mikroorganismy. Používání bakteriocinů má minimální dopad na nutriční a sensorické vlastnosti potravin, čímž uspokojují poptávku spotřebitelů po produktech s nižším množstvím chemických přísad. Například velký potenciál pro využití v potravinářství vykazují pyociny či koliciny [81].

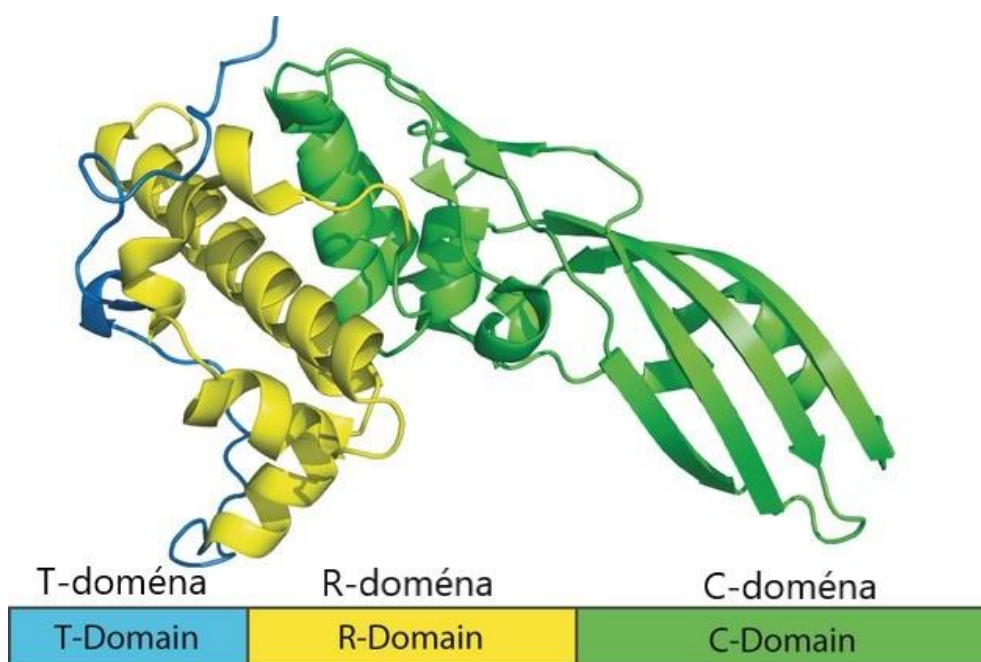
1.9.1 Koliciny

Koliciny jsou poměrně velká skupina antimikrobiálních proteinů produkovaných *Escherichia coli* a v menší míře dalšími druhy z čeledi *Enterobacteriaceae* (např. *Enterobacter cloacae*). Producenti kolicinů mohou být i jiné bakteriální druhy, např. *Citrobacter freundii* nebo *Shigella boydii*. V posledních letech je také rozšířena výroba antibakteriálních proteinů a peptidů v rostlinných expresních systémech. Tato výroba je myšlenkou mnoha výzkumných týmů po celém světě. Za tímto účelem byly exprimovány geny v mnoha známých rostlinách, jako jsou: brambory, rajčata, hlávkový salát, rýže, mrkev, sója, kukuřice, papája, quinoa, banán, hrášek nebo jablko. Nedávné výzkumy ukazují, že tato skupina proteinů má jedinečný potenciál, zejména jako alternativa k antibiotikům nebo pro využití v potravinářství při zpracování potravin. Využívali k tomu proteiny od bakterií (koliciny) a bakteriofágů (endolysiny). Například byli zkoumány koliciny odvozené od *Escherichia coli* a molekuly podobné kolicinu odvozené od jiných gramnegativních bakterií a překvapivě byli snadno a dobře exprimovány v rostlinách. Tyto látky jsou plně funkční a jsou až 106krát účinnější než antibiotika na molární bázi. Nicméně vývoj a schválení jakéhokoli produktu, který se má přidávat do potravin nebo používat jako lék, je složitý, zdlouhavý a obvykle nákladný proces. Nomad Bioscience je první společností,

kteřá úspěšně získala status GRAS pro své bakteriociny exprimované v rostlinách od FDA (Úřad pro kontrolu potravin a léčiv). Koliciny jsou první antimikrobiální látky, které se od roku 2015 mohou používat pro kontrolu růstu patogenních *Escherichia coli* v ovoci a zelenině. Následně v roce 2017 FDA a USDA (Ministerstvo zemědělství Spojených států amerických) přijaly koliciny jako antimikrobiální látky pro kontrolu *E. coli* v masných výrobcích [87].

Jedná se o vysokomolekulární proteiny, které obsahují ve své struktuře 449 až 629 aminokyselinových zbytků. Koliciny jsou produkovány buňkami, které ve většině případů obsahují plazmid, který kóduje molekulu kolicinu a několik dalších proteinů zapojených do mechanismu působení kolicinu. Proteiny jsou produkovány ve velkém množství a jsou přímo vylučovány do růstového média, obvykle během fáze exponenciálního růstu buňky. Za normálních podmínek je produkováno pouze malé množství kolicinu [82, 84].

Koliciny jsou organizovány ve třech specifických doménách: v translokační doméně, receptor vázající doméně a cytotoxické doméně (viz Obrázek 15). Každá doména má svou vlastní funkci. Translokační (T) doména se podílí na přenosu proteinu přes vnější membránu pomocí translokátorového proteinu, centrální doména (R) váže receptor a cytotoxická doména (C) vykazuje antibakteriální aktivitu [84].



Obrázek 15 Struktura Kolicinu [84]

Koliciny můžeme rozdělit do dvou skupin. Do skupiny A a B. Koliciny skupiny A používají k pronikání vnější membrány bakterií proteinový systém Tol. Do této skupiny patří například koliciny E1 až E9, kolicin A, K nebo N. Koliciny skupiny B používají k proniknutí vnější membrány bakterií proteinový systém Ton. Do této skupiny patří například kolicin 5, 10, B, D, M nebo V. Obecně jsou koliciny skupiny A kódovány na malých plazmidech s lyzačním genem a mohou být uvolňovány z bakterií, zatímco koliciny skupiny B jsou kódovány na velkých plazmidech bez lyzačního genu [82, 85].

Koliciny se přirozeně vyskytují v lidském střevě, kde jsou produkovány endogenně komenzálními enterobakteriemi. Bylo prokázáno, že koliciny inhibují kmeny *Salmonella* spp., *Listeria* a *Escherichia coli*, včetně patogenního kmene *E. coli* O157: H7 [81]. Například kolicin Z byl popsán jako produkt z extraintestinálního kmene *Escherichia coli* B1356, který byl izolovaný z anorektálního abscesu 17letého muže. Tento plazmid byl kompletně sekvenován a byly identifikovány geny pro aktivitu kolicinu Z. Kolicin Z vykazoval úzké inhibiční spektrum a byl aktivní pouze proti enteroinvazivním kmenům *E. coli* a *Shigella* [86]. Což by mohlo v budoucnosti vést i k potenciálnímu využití v potravinářství proti patogenním kmenům *E. coli*, která je častým původcem onemocnění přenášených z potravin.

Cursino et al. [88] ve studii z roku 2006 zkoumali kolicin Ib, E1 a microcin C7. Tyto látky jsou odvozené od kmene *Escherichia coli* H22 a mají schopnost inhibovat růst patogenních nebo potenciálně patogenních bakterií např. *Enterobacter*, *Escherichia*, *Klebsiella*, *Morganella*, *Salmonella*, *Shigella* a *Yersinia*. V myším modelu kmen *E. coli* H22 prokázal schopnost snížit populaci *Shigella flexneri* na nedetekovatelné hladiny ve stolici po 6denní inokulaci. Výsledky naznačují, že kmen *E. coli* H22 má potenciál být použit jako probiotikum pro hospodářská zvířata a lidi [85].

1.9.2 Mikrociny

Mikrociny jsou ribozomálně syntetizované hydrofobní antimikrobiální peptidy s nízkou molekulovou hmotností (<10 kDa). Mikrociny jsou převážně produkovány bakteriemi z čeledi *Enterobacteriaceae*. Tyto látky vykazují velkou toleranci vůči teplu, extrémnímu pH a proteázám. Mikrociny se vyrábějí jako prekurzorové peptidy, které mohou nebo nemusí podstoupit posttranslační modifikace v průběhu zrání na aktivní mikrocin [85].

Mikrociny mohou působit různými mechanismy účinku. Například mohou tvořit póry, inhibovat syntézu proteinů či replikaci DNA. Mikrociny jsou klasifikovány do dvou

kategorií podle molární hmotnosti, disulfidových vazeb ve struktuře a posttranslačních modifikací. Mikrocinů třídy I jsou posttranslačně modifikované peptidy s nízkou molární hmotností (<5 kDa). Do této skupiny patří microcin B17, C7-C51, D93 a J25. Mikrocinů třídy II mají vyšší molární hmotnost (5–10 kDa). Tuto třídu lze dále rozdělit do dvou podtříd; třída IIa a IIb. Mikrocinů ze třídy Ia vyžadují pro syntézu a sestavení funkčních peptidů tři různé geny. Do této skupiny patří microcin L, V a N. Mikrocinů třídy IIb jsou lineární peptidy s nebo bez posttranslačních modifikací na C-konci. Do této skupiny patří microcin E492, M a H47 [85].

Do skupiny mikrocinů patří například microcin J25 (MccJ25). Tento microcin je ribozomálně syntetizované peptidové antibiotikum s 21 aminokyselinovými zbytky. MccJ25 je aktivní proti patogenům jako jsou *Salmonella* spp., *Shigella* spp. a kmenu *E. coli* O157: H7. Tento microcin je vysoce odolný vůči trávení proteolytickými enzymy přítomnými v žaludku a střevním obsahu, proto by microcin zůstal aktivní v gastrointestinálním traktu a ovlivňoval by normální střevní mikroflóru. Z toho důvodu to omezuje jeho potenciální použití jako konzervační látky v potravinářství. Proto byla zkoumána varianta MccJ25 (G12Y), která byla inaktivována trávicími enzymy *in vitro* a *in vivo*. Tato varianta si zachovala téměř plnou antimikrobiální aktivitu a účinně inhibovala růst *Salmonella enterica* a *Escherichia coli* O157: H7 v odstředěném mléce a ve vaječném žloutku. Jedná se asi o první racionální modifikaci mikrocinu, která je zaměřená na zvýšení jeho potenciálního využití při konzervování potravin [89].

1.9.3 Pyociny

Pyociny jsou proteiny produkované kmeny *Pseudomonas aeruginosa*, které se účastní vnitrodruhové kompetice a interakce hostitel-patogen. Poprvé byly pyociny popsány v padesátých letech minulého století a od té doby získaly pozornost jako možná nová antibiotika či potenciální konzervanty potravin. Stále však existují jen omezené informace o mechanismech účinku, kterými tyto molekuly způsobují buněčnou smrt [90].

Na základě jejich struktury lze pyociny rozdělit do tří typů, nazývaných R, F a S. Liší se morfologií a způsobem usmrcování buněk. Pyociny typu R a F jsou komplexy s vysokou molekulovou hmotností, které se podobají ocasům fága. Pyociny typu S jsou složené proteinové komplexy. Jejich baktericidní aktivity jsou specifické pro jednotlivé kmeny a jsou používány jako typizační nástroj pro kmeny *Pseudomonas aeruginosa* spolu s dalšími typizačními schémata, jako je například sérotypizace [89].

Bylo zjištěno, že pyocin je aktivní proti grampozitivním bakteriím s maximální produkcí pozorovanou při 32 °C v médiu BHI (Brain heart infusion) během stacionární fáze růstu. Další analýza odhalila, že pyocin byl odolný vůči vysoké teplotě (100 °C po dobu 30 minut), detergentům (1% EDTA, Tween 20, Tween 80) a organickým rozpouštědlům (1% roztoku ethanolu, butanolu, methanolu, propanolu, chloroformu a acetonu). Překvapivě stabilita tohoto bakteriocinu při extrémních hodnotách pH (pH 1–11) prokázala výhodu oproti jiným bakteriocinům používaným jako konzervační látky v potravinách. Například oproti nisinu, který je stabilní při pokojové teplotě nebo při zahřátí v kyselém prostředí (maximální stabilita při pH 3). Další výhodou může být tepelná odolnost, protože tento bakteriocin může po vaření zůstat aktivní v potravinách a poskytnout další ochranu před nežádoucími bakteriemi. Nicméně, než bude tato látka schválena pro využití v potravinářství, musí být důkladně prozkoumána [91].

ZÁVĚR

Díky zpracování bakalářské práce na téma „Antimikrobiální látky produkované mikroorganismy a jejich využití v potravinářství“, jsem měla možnost se podrobně seznámit s touto problematikou. Získala jsem větší povědomí o možnostech využití těchto látek v potravinářství, dále pak o tom, jaké mohou způsobovat rizika při špatném používání, ale naopak i o jejich výhodách pro potravinářský průmysl.

Navzdory obrovskému úspěchu při snižování nemocí přenášených potravinami v průběhu času a prostředkům, které byly věnovány pro eliminaci patogenů přenášených potravinami, se každoročně stále vyskytuje příliš mnoho chorob přenášených potravinami. Se zvyšující se poptávkou po čerstvých, polozpracovaných nebo zpracovaných potravinách je třeba řešit problémy s jejich bezpečností, kvalitou a konzervací. Ve své práci se zabývám antimikrobiálními látkami, které se již používají v potravinářství a nesou status GRAS; například některé organické kyseliny (octová, mléčná, propionová). Avšak i látkami, které musí být ještě řádně prozkoumány, než se budou moci využívat v potravinářství a budou označovány jako látky GRAS; například některé bakteriociny (pyociny, mikrociny).

Všechny tyto látky by měli být jednoduše aplikovatelné do potravin, bezpečné pro lidskou konzumaci, ekonomicky dostupné, stabilní během technologického zpracování a skladování. Dále by neměli ovlivňovat organoleptické vlastnosti potravin a měli by být účinné při nízkých koncentracích.

Výzkum antimikrobiálních látek produkovaných mikroorganismy by mohl v budoucnosti vést k rozšíření antimikrobiálního spektra výše zmíněných látek, dosažení stabilnějších produktů a k objevení nových kmenů s antimikrobiálním účinkem.

SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY

- [1] *Antimicrobials*, Pharmacology, <http://amrls.cvm.msu.edu/pharmacology/antimicrobials/antimicrobials-an-introduction>.
- [2] Beneš, Jiří, 2018. *Antibiotika: systematika, vlastnosti, použití*. Praha: Grada Publishing, ISBN 9788027106363.
- [3] Joyce, Susan A., Lea Lango a David J. Clarke, 2011. *The Regulation of Secondary Metabolism and Mutualism in the Insect Pathogenic Bacterium Photorhabdus luminescens*. Elsevier, s. 1-25. *Advances in Applied Microbiology*. ISBN
- [4] Batt, Carl A. a Mary Lou Tortorello, 2014. *Encyclopedia of food microbiology: Production of Secondary Metabolites of Bacteria*. 2nd ed. Amsterdam: Elsevier, ISBN 9780123847300
- [5] Dowd, C.J. a B. Kelley, 2011. *Purification Process Design and the Influence of Product and Technology Platforms*. *Comprehensive Biotechnology*. Elsevier, s. 799-810. ISBN 9780080885049. Dostupné z: doi:10.1016/B978-0-08-088504-9.00137-9
- [6] Primary and Secondary Metabolites, 2021. Dostupné z: <https://bio.libretexts.org/@go/page/12413>
- [7] Sanchez, S. a Al. Demain, 2011. *Comprehensive Biotechnology: Secondary Metabolites*. Permagon, s. 155-167. ISBN 978-0-08-088504-9. Dostupné z: <https://www.sciencedirect.com.proxy.k.utb.cz/referencework/9780080885049/comprehensive-biotechnology>
- [8] Yamaguchi, K. a Tomoo Saga, 2009. *History of Antimicrobial Agents and Resistant*. *Japan Medical Association Journal*. 52(2), 103-108.
- [9] Salvarian, 2005. *The Top Pharmaceuticals That Changed The World*, 83(23) Dostupné z: <https://pubsapp.acs.org/cen/coverstory/83/8325/8325salvarian.html>
- [10] *Gerhard Domagk*, 2017. Science History Institute. Dostupné z: <https://www.sciencehistory.org/historical-profile/gerhard-domagk>
- [11] Britannica, 2007. The Editors of Encyclopaedia. "*Prontosil*". *Encyclopedia Britannica*, <https://www.britannica.com/science/Prontosil>.
- [12] Davidson, P. Michael, Branen, A.L. a Sofos, John N, 2005. *Antimicrobials in food*: CRC PRESS.

- [13] Nes, Ingolf F. *History, Current Knowledge, and Future Directions on Bacteriocin Research in Lactic Acid Bacteria*. Drider, Djamel a Sylvie Rebuffat, ed. *Prokaryotic Antimicrobial Peptides*. New York, NY: Springer New York, 2011, 2011-1-28, s. 3-12. ISBN 978-1-4419-7691-8. Dostupné z: doi:10.1007/978-1-4419-7692-5_1
- [14] *Bacteriocins history*. Syngulon. Dostupné z: <https://syngulon.com/bacteriocins-history/>
- [15] Vargas, Cesar, 2017. *Organic acids: characteristics, properties and synthesis*. New York: Nova Publishers. ISBN 9781634859523.
- [16] Salminen, Seppo a Atte Von Wright, 2004. *Lactic Acid Bacteria*. CRC Press, ISBN 9780429146442. Dostupné z: doi:10.1201/9780824752033
- [17] *Bakterie mléčného kvašení, probiotika a fermentované mléčné výrobky*, 2018. Praha: Potravinářská komora České republiky, Česká technologická platforma pro potraviny. ISBN 978-80-88019-34-3.
- [18] Ray, Bibek a Arun K. Bhunia, 2014. *Fundamental food microbiology*. Fifth edition. Boca Raton: CRS Press, Taylor & Francis Group, an informa business. ISBN 9781466564435.
- [19] Juliano Lemos Bicas, 2016. *Biotechnological Production of Natural Ingredients for Food Industry*. Bentham Science Publishers Ltd. ISBN 9781681082660. <http://search.ebscohost.com/login.aspx?direct=true&AuthType=ip,shib&db=nlebk&AN=1511871&lang=cs&site=ehost-live>.
- [20] Cetin - Karaca, Hayriye, 2011. *Evaluation Natural Antimicrobial Phenolic Compounds Against Foodborne Pathogens*. Dostupné z: https://www.researchgate.net/publication/254692470_Evaluation_of_Natural_Antimicrobial_Phenolic_Compounds_Against_Foodborne_Pathogens
- [21] Freese, E. and Levine, 1978. *Action mechanisms of preservatives and antiseptics*. In *Developments in Industrial Microbiology*. Vol. 19, edited by L. A. Underkofler. American Institute of Biological Sciences, Washington, D.C., p. 207
- [22] Coban, Hasan Bugra, 2020. *Organic acids as antimicrobial food agents: applications and microbial productions*. *Bioprocess and Biosystems Engineering*. 43(4), 569-591. ISSN 1615-7591. Dostupné z: doi:10.1007/s00449-019-02256-w

- [23] *Bulletin potravinárskeho výskumu: Produkty metabolismu bakterií mléčného kvašení s antimikrobiální aktivitou*, 2003. Bratislava: Výskumný ústav potravinársky. ISSN 0231-9950.
- [24] *Acetic acid: general information*. In: GOV.UK 2019, Dostupné z: <https://www.gov.uk/government/publications/acetic-acid-properties-uses-and-incident-management/acetic-acid-general-information>
- [25] Caplice, E., 1999. *Food fermentations: role of microorganisms in food production and preservation*. International Journal of Food Microbiology, 50(1-2), 131-149. ISSN 01681605. Dostupné z: doi:10.1016/S0168-1605(99)00082-3 100
- [26] Şanlinbaba, Pinar a Yalçın Gucer, 2015. *Antimicrobial activity of lactic acid bacteria*. Journal of International Scientific Publication, s. 451-457. ISSN1314-8591.
- [27] Van Netten, P., D.A.A. Mossel a J.Huis In 't Veld, 1995. *Lactic acid decontamination of fresh pork carcasses: a pilot plant study*. International Journal of Food Microbiology. 25(1), 19. ISSN 01681605. Dostupné z: doi:10.1016/01681605(94)00039-9
- [28] Prasai, R. K., Acuff, G. R., Lucia, L. M., Hale, D. S., Savell, J. W., & Morgan, J. B., 1991. *Microbiological effects of acid decontamination of beef carcasses at various locations in processing*. Journal of Food Processing, 54(11), 868–872.
- [29] Kotula, K. L., & Thelappurath, R., 1994. *Microbiological and sensory attributes of retail cuts of beef treated with acetic and lactic acid solutions*. Journal of Food Protection, 57(8), 665–670.
- [30] Pipek, Petr, Markéta Šikulová, Jarmila Jeleníková a Masatoshi Izumimoto, 2005. *Colour changes after carcasses decontamination by steam and lactic acid*. Meat Science. 69(4), 673 680. ISSN 03091740. Dostupné z: doi:10.1016/j.meatsci.2004.10.018
- [31] Taniguchi, M., Tokunaga, T., Horiuchi, K. et al., 2004. *Production of L-lactic acid from a mixture of xylose and glucose by co-cultivation of lactic acid bacteria*. Appl Microbiol. Biotechnol., 160–165, Dostupné z: <https://doi.org/10.1007/s00253-004-1671-x>

- [32] Teixeira, P., 2014. *Lactobacillus* | *Lactobacillus delbrueckii ssp. bulgaricus*. Encyclopedia of Food Microbiology. Elsevier, s. 425-431. ISBN 9780123847331. Dostupné z: doi:10.1016/B978-0-12-384730-0.00177-4
- [33] Gonzalez-Garcia, R., Tim Mccubbin, Laura Navone, Chris Stowers, Lars Nielsen a Esteban Marcellin, 2017. *Microbial Propionic Acid Production*. 3(2). ISSN 2311-5637. Dostupné z: doi:10.3390/fermentation3020021
- [34] Lück, Erich a Martin Jager, 1997. *Antimicrobial food additives: characteristics, uses, effects*. 2nd rev. and enl. ed. New York: Springer. ISBN 038761138x. Propionic Acid.
- [35] *Benzoic acid and sodium benzoate*. Geneva: WHO, 2000. Concise international chemical assessment document. ISBN 92-4-153026-X.
- [36] Yu, Hyung-Seok, Na-Kyoung Lee, Hye-Lin Jeon, Su Jin Eom, Mi-Young Yoo, Sang-Dong Lim a Hyun-Dong Paik, 2016. *Benzoic acid production with respect to starter culture and incubation temperature during yogurt fermentation using response surface methodology*. Korean journal for food science of animal resources 36(3), 427-434. ISSN 1225-8563. Dostupné z: doi:10.5851/kosfa.2016.36.3.427
- [37] Jorge, K., 2003. *Soft Drinks | Chemical Composition*. Encyclopedia of Food Sciences and Nutrition, Elsevier, s. 53465352 ISBN 9780122270550. Dostupné z: doi:10.1016/B0-12-227055-X/01101-9
- [38] Gabel, L.F., 1921. *The Relative Action of Preservatives in Pharmaceutical Preparations*. The Journal of the American Pharmaceutical Association 10(10), 767-768, ISSN 0898140X. Dostupné z: doi:10.1002/jps.3080101013
- [39] Lee, J.W., M. S. Han, S. Choi, J. Yi, T.W. Lee a S.Y. Lee 2011. *Organic Acids*. Comprehensive Biotechnology Elsevier, s. 149. ISBN 9780080885049. Dostupné z: doi:10.1016/B978-0-08-088504-9.00183-5
- [40] Khan, Obrar, Farhana Maqbool, Mujaddad-Ur-Rehman, Hayat, Munnazza, Farooqui, 2017. *Microbial organic acids production, biosynthetic mechanism and applications*-Mini review. Indian Journal of Geosciences. 46. 2165-2174.
- [41] Goldberg, I. a J.S. Rokem, 2009. *Organic and Fatty Acid Production*, Microbial Encyclopedia of Microbiology. Elsevier. ISBN 9780123739445. Dostupné z: doi:10.1016/B978-012373944-5.00156-5

- [42] Gong, C.S., Cao, N., Sun, Y. et al., 1996. *Production of L-malic acid from fumaric acid by resting cells of Brevibacterium spp.* Appl Biochem Biotechnol 57. Dostupné z: <https://doi.org/10.1007/BF02941728>
- [43] Kalyan, Morey, Wickle, Alagusundaram a Gayathri, 2007. *Applications of Carbon Dioxide in Food and Processing Industries: Current Status and Future Thrusts*. In: 2007 Minneapolis, Minnesota, 17-20, St. Joseph, MI: American Society of Agricultural and Biological Engineers. Dostupné z: doi:10.13031/2013.2353
- [44] Britannica, *The Editors of Encyclopaedia*. "Carbon dioxide". Encyclopedia Britannica. Dostupné z: <https://www.britannica.com/science/carbondioxide>.
- [45] Erkmén, Osman, 1997. *Antimicrobial Effect of Pressurized Carbon Dioxide on Staphylococcus aureus in Broth and Milk*. Department of Food Engineering, Faculty of Engineering, University of Gaziantep, 826 - 829. Dostupné z: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0023643897902772>
- [46] Martin, J.D., B.G. Werner a J.H. Hotchkiss, 2003. *Effects of Carbon Dioxide on Bacterial Growth Parameters in Milk as Measured by Conductivity*. Journal of Dairy Science. 86(6), 1932-1940 ISSN 0022-0302. Dostupné z: doi:10.3168/jds.S00220302(03)73780-1
- [47] Jensen, Werner K., Carrick Devine a Michael Dikeman, 2004. *Encyclopedia of meat sciences: Hydrogen peroxide*. 2. Oxford: Elsevier. ISBN012464970X
- [48] Abdollahi, M. a A. Hosseini, 2014. *Hydrogen Peroxide*. Encyclopedia of toxicology. Elsevier, s. 967-970 ISBN 9780123864550. Dostupné z: doi:10.1016/B978-0-12-386454-3.00736-3
- [49] *Hydrogen peroxide*: National Library of Medicine. Pubchem Dostupné z: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Hydrogen-peroxide>
- [50] Blackburn, Clive, 2006. *Food spoilage microorganisms raw milk*. Woodhead Publishing. Dostupné z: <https://app.knovel.com/hotlink/pdf/id:kt006MSB23/foodspoilagemicroorganisms/raw-milk>
- [51] Clark, Stephanie a Carl K. Winter, 2015. *Diacetyl in Foods: A Review of Safety and Sensory Characteristics*. Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety. 14(5), 634-64. ISSN 1541-4337. Dostupné z: doi:10.1111/1541-4337.12150

- [52] Labuda, 2009. *Flavor Compounds*. Encyclopedia of Microbiology. Elsevier, s. 305-320. ISBN 9780123739445. Dostupné z: doi:10.1016/B978-012373944-5.00148-6
- [53] Jay, 1982 “*Antimicrobial properties of diacetyl.*” Applied and environmental microbiology vol. 44,3, 525-32. doi:10.1128/AEM.44.3.525-532.1982
- [54] Schaeffer, V. a A. Iannucci, 2014. *Diacetyl*. Encyclopedia of Toxicology. Elsevier, s. 47-50. ISBN 9780123864550. Dostupné z: doi:10.1016/B978-0-12-3864543.01103-
- [55] Stevens, M., S. Vollenweider, C. Lacroix a E.T.H. Zurich, 2011. *The potential of reuterin produced by Lactobacillus reuteri as a broad spectrum preservative in food. Protective Cultures, Antimicrobial Metabolites and Bacteriophages for Food and Beverage*. Biopreservation. Elsevier, s. 129-160. ISBN 9781845696696. Dostupné z: doi:10.1533/9780857090522.1.129
- [56] Schaeffer L., Thomas Auchtung, Karley Hermans, Daniel Whitehead, Babak Borhan, Robert Britton, 2010. *The antimicrobial compound reuterin induces oxidative stress via interaction with thiol groups*. Microbiology. 156(6), 1589-1599. ISSN 1350-0872. Dostupné z: doi:10.1099/mic.0.035642-0
- [57] Mu, Qinghui, Vincent J. Tavella a Xin M. Luo, 2018. *Role of Lactobacillus reuteri in Human Health and Diseases*. *Frontiers in Microbiology*. ISSN 1664-302X. Dostupné z: doi:10.3389/fmicb.2018.00757
- [58] Kuleaşan H, Cakmakçı M., 2002. *Effect of reuterin produced by Lactobacillus reuteri on the surface of sausages to inhibit the growth of Listeria monocytogenes and Salmonella spp.* Nahrung. 46(6):40810. doi: 10.1002/15213803(20021101)46:6<408:AID-FOOD408>3.0.CO;2-T.
- [59] Montiel, R., I. Martín-Cabrejas, S. Langa, N. El Aouad, J.L. Arqués, F. Reyes a M. Medina, 2014. *Antimicrobial activity of reuterin produced by Lactobacillus reuteri on Listeria monocytogenes in cold smoked salmon*. Food Microbiology. ISSN 07400020 Dostupné z: doi:10.1016/j.fm.2014.05.006
- [60] Thomas, L.V. a J. Delves-Broughton, 2003. *Natamycin*. Encyclopedia of Food Sciences and Nutrition. Elsevier, s. 4109 4115. ISBN 9780122270550. Dostupné z: doi:10.1016/B0-12-227055-X/01380-8
- [61] Baron, Samuel, 1991. *Medical microbiology*. 3rd ed. New York: Churchill Livingstone. ISBN 0-443-08671-0.

- [62] Alvarez-Sieiro, Patricia, Manuel Montalbán-López, Dongdong MU a Oscar P. Kuipers, 2016. *Bacteriocins of lactic acid bacteria: extending the family*. *Applied Microbiology and Biotechnology*. 100(7), 2939-2951. ISSN 0175-7598. Dostupné z: doi:10.1007/s00253-016-7343-9
- [63] Lacroix, Christophe, 2011. Protective Cultures, *Antimicrobial Metabolites and Bacteriophages for Food and Beverage Biopreservation - 1.3 Bacteriocins of Gram-Positive Bacteria and the Nature of Bacteriocin-Like Inhibitory Substance*. Dostupné z: <https://app.knovel.com/hotlink/pdf/id:kt009273S1/protective-cultures-antimicrobial/bacteriocins-gram-positive>
- [64] Da Costa, Roger J., Flávia L. S. Voloski, Rafael G. Mondadori, Eduarda H. Duval a Ângela M. Fiorentini, 2019. *Preservation of Meat Products with Bacteriocins Produced by Lactic Acid Bacteria Isolated from Meat*. *Journal of Food Quality*. 1-12. ISSN 0146-9428. Dostupné z: doi:10.1155/2019/4726510
- [65] McAuliffe, Olivia, R. Paul Ross a Colin Hills, 2001. *Lantibiotics: structure, biosynthesis and mode of action*. *FEMS Microbiology Reviews*. 25(3), 285-308. ISSN 1574-6976. Dostupné z: doi:10.1111/j.1574-6976.2001.tb00579.x
- [66] Sugathan, Shiburaj, N. S. Pradeep a Sabu Abdulhameed, 2017. *Bioresources and Bioprocess in Biotechnology*. Singapore: Springer Singapore. ISBN 978-981-10-4282-9. Dostupné z: doi:10.1007/978-981-10-4284-3
- [67] Jung, G., 1991. *Lantibiotics: a survey*. Nisin and Novel Lantibiotics (Jung, G. and Sahl, H.-G., Eds.), pp. 1–34. ESCOM, Leide
- [68] Klaenhammer, Todd R., 1993. *Genetics of bacteriocins produced by lactic acid bacteria*. *Microbiology Reviews*. 12(1-3), 39-85. ISSN 01686445. Dostupné z: doi:10.1111/j.1574-6976.1993.tb00012.x
- [69] Sahl, Hans-Georg, Ralph W. Jack a Gabriele Bierbaum, 1995. *Biosynthesis and Biological Activities of Lantibiotics with Unique Posttranslational Modifications*. Dostupné z: <https://febs.onlinelibrary.wiley.com/doi/pdf/10.1111/j.14321033.1995.0827g.x>
- [70] Williams, G.C a J. Delves-Broughton, 2003. Nisin. *Encyclopedia of Food Sciences and Nutrition*. Elsevier, ISBN 9780122270550. Dostupné z: doi:10.1016/B0-12-227055-X/00829-4

- [71] Rea, Mary C., R. Paul Ross, Paul D. Cotter a Colin Hill, 2011. *Classification of Bacteriocins from Gram-Positive Bacteria*. Drider, Djamel a Sylvie Rebuffat, ed. Prokaryotic Antimicrobial Peptides. NY: Springer New York, s. 29-53. ISBN 978-1-4419-7691-8. Dostupné z: doi:10.1007/978-1-4419-7692-5_3
- [72] Rahman, Shafiur, 2007. *Handbook of food preservation*. 2nd ed. Boca Raton: CRC Press. Food science and technology (Taylor & Francis). ISBN 978-1-57444-606-7
- [73] Baines, David Seal, Richard, 2012. *Natural Food Additives, Ingredients and Flavourings*. Woodhead Publishing. Retrieved from <https://app.knovel.com/hotlink/pdf/id:kt00C5CTX2/natural-food-additives/front-matter>
- [74] Green, G.; Dicks, L.M.T.; Bruggeman, G.; Vandamme, E.J.; Chikindas, M.L.; 1997. *Pediocin PD-1, a bactericidal antimicrobial peptide from Pediococcus damnosus NCFB 1832*. Appl. Microbiol.,83(1):127-132.
- [75] Anastasiadou, S.; Papagianni, M.; Filiou, G.; Ambrosiadis, I.; Koidis, P., 1991. *Pediocin SA 1, an antimicrobial peptide from Pediococcus acidilactici NRRLB5627: Production conditions, purification and characterization*. Bioresource Technol., 99(13):5384-5390.
- [76] Niamah, Alaa K., 2018. *Structure, mode of action and application of pediocin natural antimicrobial food preservative: A review*. Basrah Journal of Agricultural Sciences. ISSN 25200860. Dostupné z: doi:10.33762/bagsr.2018.160126
- [77] Kiran, F. & Osmanagaoglu, 2014. *Inhibition of Listeria monocytogenes in chicken meat by pediocin AcH/PA-1 produced by Pediococcus pentosaceus OZF*. Agro Food Industry
- [78] Musatti, Alida, Daniele Cavicchioli, Chiara Mapelli, Danilo Bertoni, Johannes A. Hogenboom, Luisa Pellegrino a Manuela Rollini, 2020. *From Cheese Whey Permeate to Sakacin A: A Circular Economy Approach for the Food-Grade Biotechnological Production of an Anti-Listeria Bacteriocin*. Biomolecules. 10(4). ISSN 2218-273X. Dostupné z: doi: 10.3390/biom10040597
- [79] Nigutová, Katarína, Lenka Serenčová, Mária Piknová, Peter Javorský a Peter Pristaš, 2008. *Heterologous expression of functionally active enterolysin A, class III bacteriocin from Enterococcus faecalis, in Escherichia coli*. Protein Expression and

- Purification*. 60(1), 20 - 24. ISSN 10465928. Dostupné z: doi:10.1016/j.pep.2008.03.006
- [80] Pandey, Neha, R. K. Malik, J. K. Kaushik a Garima Singroha, 2013. *Gassericin A: a circular bacteriocin produced by Lactic acid bacteria Lactobacillus gasseri*. World Journal of Microbiology and Biotechnology. 29(11), ISSN 0959-3993. Dostupné z: doi:10.1007/s11274-013-1368-3
- [81] Prudêncio, Cláudia Vieira, Miriam Teresinha Dos Santos a Maria Cristina Dantas Vanetti, 2015. *Strategies for the use of bacteriocins in Gram-negative bacteria: relevance in food microbiology*. Journal of Food Science and Technology. 52(9), 5408-5417. ISSN 0022-1155. Dostupné z: doi:10.1007/s13197-014-1666-2
- [82] Milind, Chavan and Margaret A. Riley, 2007. *Molecular Evolution of Bacteriocins in Gramnegative Bacteria*. Dostupné z: <https://www.bio.umass.edu/biology/riley/node/193>
- [83] Gaillard-Gendron, Sandrine, David Vignon, Gilles Cottenceau, Marianne Graber, Nathalie Zorn, Alain van Dorsselaer a Anne-Marie Pons, 2000. *Isolation, purification and partial amino acid sequence of a highly hydrophobic new microcin named microcin L produced by Escherichia coli*. FEMS Microbiology Letters. Elsevier, 95-98. Dostupné z: <https://academic.oup.com/femsle/article-pdf/193/1/95/19117601/193-1-95.pdf>
- [84] Grinter, R., Milner, J., Walker, D., 2013. *Beware of proteins bearing gifts: protein antibiotics that use iron as a Trojan horse*. FEMS Microbiol. Lett., 338: 1-9.
- [85] Yang, Shih-Chun, Chih-Hung Lin, Calvin T. Sung a Jia-You Fang, 2014. *Antibacterial activities of bacteriocins: application in foods and pharmaceuticals*. Frontiers in Microbiology. ISSN 1664-302X. Dostupné z: doi:10.3389/fmicb.2014.00241
- [86] Micenková, L., Bosák, J., Kucera, J. et al., 2019. *Colicin Z, a structurally and functionally novel colicin type that selectively kills enteroinvasive Escherichia coli and Shigella strains*. Dostupné z: <https://doi.org/10.1038/s41598-019-47488-8>
- [87] Hahn-Löbmann, Simone, Anett Stephan, Steve Schulz, Tobias Schneider, Anton Shaverskyi, Daniel Tusé, Anatoli Giritch a Yuri Gleba, 2019. *Colicins and Salmocins – New Classes of Plant-Made Non-antibiotic Food Antibacterials*. Frontiers in Plant Science. ISSN 1664-462X. Dostupné z: doi:10.3389/fpls.2019.00437

- [88] Cursino, L., Smajs, D., Smarda, J., Nardi, R. M., Nicoli, J. R., Chartone-Souza, E., et al., 2006. *Exoproducts of the Escherichia coli strain H22 inhibiting some enteric pathogens both in vitro and in vivo*. J. Appl. Microbiol. 100, 821–829. Dostupné z: doi: 10.1111/j.1365-2672.2006.02834.x
- [89] Pomares, María Fernanda, Raúl A. Salomón, Olga Pavlova, Konstantin Severinov, Ricardo Farías a Paula A. Vincent, 2009. *Potential Applicability of Chymotrypsin Susceptible Microcin J25 Derivatives to Food Preservation*. Applied and Environmental. ISSN 0099-2240. Dostupné z: doi:10.1128/AEM.01070-09
- [90] Turano, Helena, Fernando Gomes, Renato M. Dominigos, et al., 2020. *Molecular Structure and Functional Analysis of Pyocin S8 from Pseudomonas aeruginosa Reveals the Essential Requirement of a Glutamate Residue in the H-N-H Motif for DNase Activity*. Journal of Bacteriology. ISSN 00219193. Dostupné z: doi:10.1128/JB.00346-20
- [91] Neves, P.R., J.A. Mcculloch, E.M. Mamizuka a N. Lincopan, 2014. *Pseudomonas | Pseudomonas aeruginosa*. Encyclopedia of Food Microbiology, Elsevier, s. 253-260. ISBN 9780123847331. Dostupné z: doi:10.1016/B978-0-12-384730-0.00283-4

SEZNAM POUŽITÝCH SYMBOLŮ A ZKRATEK

AMK – Aminokyselina

ATP – Adenosintrifosfát

BHI – Infuze mozkové a srdeční tkáně

BMK – Bakterie mléčného kvašení

CO₂ – Oxid uhličitý

DNA – Kyselina deoxyribonukleová

EDTA – Ethylendiamintetraoctová kyselina

EU – Evropská unie

FAD – Úřad pro kontrolu potravin a léčiv

FAO – Organizace pro výživu a zemědělství

GAP – Glycerinaldehydfosfát

GRAS – Látka všeobecně považovaná za bezpečnou (Generally Recognized As Safe)

in vitro – Testy ve zkumavce

in vivo – Testy v živém organismu

LAN – Lanthionin

ppm – Parts per million (mg.kg⁻¹)

RNA – Ribonukleová kyselina

UHT – Vysokoteplotní ošetření

USDA – Ministerstvo zemědělství Spojených států amerických

WHO – Světová zdravotnická organizace

SEZNAM OBRÁZKŮ

Obrázek 1	Strukturní vzorec kyseliny octové.....	14
Obrázek 2	Strukturní vzorec kyseliny mléčné.....	15
Obrázek 3	Schéma kvašení glukózy bakterií mléčného kvašení [25]	16
Obrázek 4	Strukturní vzorec kyseliny propionové	18
Obrázek 5	Strukturní vzorec kyseliny benzoové	20
Obrázek 6	Strukturní vzorec kyseliny jablečné	22
Obrázek 7	Strukturní vzorec kyseliny adipové.....	24
Obrázek 8	Strukturní vzorec oxidu uhličitého	24
Obrázek 9	Strukturní vzorec peroxidu vodíku.....	26
Obrázek 10	Strukturní vzorec diacetylu	26
Obrázek 11	Strukturní vzorec reuterinu.....	27
Obrázek 12	Dimerizace, hydratace a dehydratace reuterinu [57].....	28
Obrázek 13	Struktura Natamycinu [60].....	29
Obrázek 14	Struktura nisinu A [70].....	35
Obrázek 15	Struktura Kolicinu [84]	42

SEZNAM TABULEK

Tabulka 1 Konečné produkty metabolismu sacharidů některých mikroorganismů [18]. ...	12
Tabulka 2 Mikroorganismy schopné produkovat během fermentace kyselinu propionovou [33].....	19
Tabulka 3 Přírodní výskyt kyseliny benzoové [12].....	21
Tabulka 4 Způsoby aplikace a doporučené dávkování natamycinu v jednotlivých potravinách [12].....	30
Tabulka 5 Kritéria pro biokonzervační látky [64]	33