

# **Působení monokaprinu na růst vybraných grampozitivních a gramnegativních bakterií**

Dora Jurčová

---

Bakalářská práce  
2009



Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně  
Fakulta technologická

Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně  
Fakulta technologická  
Ústav potravinářského inženýrství  
akademický rok: 2008/2009

# ZADÁNÍ BAKALÁŘSKÉ PRÁCE

(PROJEKTU, UMĚLECKÉHO DÍLA, UMĚLECKÉHO VÝKONU)

Jméno a příjmení: **Dora JURČOVÁ**  
Studijní program: **B 2901 Chemie a technologie potravin**  
Studijní obor: **Chemie a technologie potravin**  
  
Téma práce: **Působení monokaprinu na růst vybraných gram pozitivních a gram negativních bakterií**

Zásady pro vypracování:

## I. Teoretická část

- V teoretické části zpracujte literární rešerši týkající se charakteristiky, významu a využití monoacylglycerolů v potravinářství, popř. i kosmetice.
- Popište antimikrobní účinky monoacylglycerolů a mastných kyselin.

## II. Praktická část

- V praktické části proveďte sledování vlivu různých koncentrací monoacylglycerolu kyseliny kaprinové na růst vybraných gram pozitivních a gram negativních bakterií.
- Na základě teoretické části a výsledků praktické části formulujte návrhy a doporučení, týkající se využití monoacylglycerolu kyseliny kaprinové jako antimikrobní látky a zhodnoťte jeho využitelnost v potravinářství, popř. i kosmetice.

Rozsah práce:

Rozsah příloh:

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

Seznam odborné literatury:

- [1] Bergsson, G., Steingrímsson, Ó., Thormar, H. (2002). Bactericidal effects of fatty acids and monoglycerides on *Helicobacter pylori*. *Int. J. Antimicrob. Agents* 20: 258–262.
- [2] Davidson, P.M., Sofos, J.N., Branen, A.L. (2005). *Antimicrobials in food*. CRC Press, Boca Raton. 706 p.
- [3] Kabara, J.J., Swieczkowski, D.M., Conley, A.J., Truant, J.P. (1972). Fatty acids and derivatives as antimicrobial agents. *Antimicrob. Agents. Chemother.* 2: 23–28.
- [4] Moonen, H., Bas, H. (2004). Mono- and diglycerides. In Whitehurst, R.J. (ed.).
- [5] Mouloungui, Z., Rakotondrzafy, V., Peyrou, G., Gachen C., Eychenne V. (1998). Pure  $\alpha$ -monoglycerides for industrial applications. *Agro Food Ind. Hi-Tech* 9: 10–14.
- [6] Emulsifiers in Food Technology, 40 – 57. Blackwell Publishing.
- [6] Pokorný, J. a kol. (1986). *Technologie tuků*. SNTL, Praha. 452 s.
- [7] Thormar, H., Bergsson, G. (2001). Antimicrobial effects of lipids. *Recent Devel. Antiviral Res.* 1: 157–173.

Vedoucí bakalářské práce:

**RNDr. Leona Buňková, Ph.D.**

Ústav technologie tuků, tenzidů a kosmetiky

Datum zadání bakalářské práce:

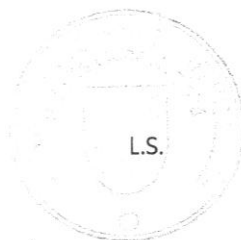
**19. února 2009**

Termín odevzdání bakalářské práce:

**31. května 2009**

Ve Zlíně dne 31. května 2009

  
doc. Ing. Petr Hlaváček, CSc.  
děkan



  
prof. Ing. Ignác Hoza, CSc.  
vedoucí katedry

## **ABSTRAKT**

Monoacylglyceroly patří k nejdůležitějším esterům glycerolu a mastných kyselin, které nachází široké uplatnění v potravinářství jako emulgátory a aditiva.

Bakalářská práce se zabývá inhibičními účinky 1-monoacylglycerolu kyseliny kaprinové (monokaprinu) v rozmezích koncentrací 25 – 1500 mg.l<sup>-1</sup> na růst vybraných grampozitivních (*Enterococcus*, *Bacillus*, *Staphylococcus*, *Micrococcus*) a gramnegativních (*Salmonella*, *Escherichia*, *Citrobacter*, *Pseudomonas*) bakterií. Grampozitivní bakterie byly vůči působení monokaprinu více citlivé než bakterie gramnegativní. Nejvíce citlivou bakterií byl *Micrococcus luteus*.

Klíčová slova: mastná kyselina, emulgátor, aditivum, inhibice, 1-monoacylglycerol, kyselina kaprinová, monokaprin, růst, bakterie.

## **ABSTRACT**

Monoacylglycerols are one of the most important esters of glycerol and fatty acids, which are in wide use as food emulsifiers and additives.

The study deals with the effects of 1-monoacylglycerolu capric acid (monocaprin) in the range of concentrations from 25 to 1500 mg.l<sup>-1</sup> on growth of selected grampositive (*Enterococcus*, *Bacillus*, *Staphylococcus*, *Micrococcus*) and gramnegative (*Salmonella*, *Escherichia*, *Citrobacter*, *Pseudomonas*) bacteria. Grampositive bacteria were against the action of monocaprin more sensitive than gramnegative bacteria. The most sensitive bacteria was *Micrococcus luteus*.

Keywords: fatty acid, emulsifier, additive, inhibition, 1-monoacylglycerol, capric acid, monocaprin, growth, bacteria.

## Poděkování, motto

Touhle cestou bych velmi ráda poděkovala a vyslovila uznání všem, kteří se podíleli a pomáhali mi při sestavování této práce. Mé poděkování patří především RNDr. Leoně Buňkové Ph.D., vedoucí mé bakalářské práce za trpělivost, odbornou pomoc, poskytnutí praktických rad a za propůjčení potřebného materiálu. Dále bych také poděkovala řediteli Ústavu inženýrství ochrany životního prostředí za umožnění praktického provedení experimentu. Mé další poděkování patří doc. Ing. Františku Buňkovi, Ph.D. za sestavení programu pro grafické vyhodnocení zjištěných poznatků. Nakonec bych ráda poděkovala mé rodině, které vděčím za finanční a psychickou podporu při studiu.

Prohlašuji, že jsem na bakalářské práci pracoval samostatně a použitou literaturu jsem citoval. V případě publikace výsledků, je-li to uvedeno na základě licenční smlouvy, budu uveden jako spoluautor.

Ve Zlíně 28.5. 2009

.....

Podpis studenta

# OBSAH

|  |           |
|--|-----------|
| ÚVOD .....   | 8         |
| <b>I TEORETICKÁ ČÁST .....</b>   | <b>9</b>  |
| <b>1 MONOACYLGLYCEROLY A MASTNÉ KYSELINY .....</b>   | <b>10</b> |
| 1.1 MASTNÉ KYSELINY .....  | 10        |
| 1.1.1 Struktura .....  | 10        |
| 1.1.2 Rozdělení mastných kyselin .....   | 10        |
| 1.2 MONOACYLGLYCEROLY .....  | 11        |
| 1.2.1 Výroba monoacylglycerolů .....   | 12        |
| 1.2.2 Vlastnosti monoacylglycerolů .....   | 13        |
| 1.2.3 Využití monoacylglycerolů .....  | 15        |
| 1.2.4 Antimikrobní účinky monoacylglycerolů a mastných kyselin .....                       | 17        |
| <b>2 CHARAKTERISTIKA TESTOVANÝCH BAKTERIÍ .....</b>  | <b>20</b> |
| 2.1 GRAMPOZITIVNÍ BAKTERIE .....   | 20        |
| 2.1.1 <i>Staphylococcus aureus</i> .....   | 20        |
| 2.1.2 <i>Bacillus cereus</i> .....   | 21        |
| 2.1.3 <i>Bacillus subtilis</i> .....   | 22        |
| 2.1.4 <i>Enterococcus faecalis</i> .....   | 23        |
| 2.1.5 <i>Micrococcus luteus</i> .....  | 23        |
| 2.2 GRAMNEGATIVNÍ BAKTERIE .....   | 24        |
| 2.2.1 <i>Pseudomonas aeruginosa</i> .....  | 25        |
| 2.2.2 <i>Proteus mirabilis</i> .....   | 26        |
| 2.2.3 <i>Salmonella enterica</i> .....   | 27        |
| 2.2.4 <i>Escherichia coli</i> .....  | 27        |
| 2.2.5 <i>Citrobacter freundii</i> .....  | 28        |
| <b>II PRAKTICKÁ ČÁST .....</b>   | <b>30</b> |
| <b>3 CÍLE PRÁCE .....</b>  | <b>31</b> |
| <b>4 MATERIÁL .....</b>  | <b>32</b> |
| 4.1 VYBRANÉ KULTURY MIKROORGANISMŮ .....   | 32        |
| 4.2 PŘÍPRAVA ŽIVNÝCH MÉDIÍ .....   | 33        |
| 4.3 POUŽITÉ POMŮCKY A ZAŘÍZENÍ .....   | 33        |
| <b>5 METODIKA .....</b>  | <b>35</b> |
| 5.1 PŘÍPRAVA BAKTERIÁLNÍ SUSPENZE .....  | 35        |
| 5.2 SLEDOVÁNÍ VLIVU MONOKAPRINU NA VYBRANÉ GRAMPOZITIVNÍ A<br>GRAMNEGATIVNÍ BAKTERIE ..... | 35        |
| <b>6 VÝSLEDKY .....</b>  | <b>37</b> |

|          |  |           |
|----------|--|-----------|
| 6.1      | PŮSOBENÍ 1-MONOKAPRINU NA RŮST <i>BACILLUS CEREUS</i> CCM 2010 .....   | 37        |
| 6.2      | PŮSOBENÍ 1-MONOKAPRINU NA RŮST <i>BACILLUS SUBTILIS</i> SUBSP. <i>SPIZIZENII</i> CCM 4062.....                         | 39        |
| 6.3      | PŮSOBENÍ 1-MONOKAPRINU NA RŮST <i>MICROCOCCUS LUTEUS</i> CCM 732 .....   | 41        |
| 6.4      | PŮSOBENÍ 1-MONOKAPRINU NA RŮST <i>ENTEROCOCCUS FAECALIS</i> CCM 4224 .....   | 42        |
| 6.5      | PŮSOBENÍ 1-MONOKAPRINU NA RŮST <i>STAPHYLOCOCCUS AUREUS</i> SUBSP. <i>AUREUS</i> CCM 3953.....                         | 45        |
| 6.6      | PŮSOBENÍ 1-MONOKAPRINU NA RŮST <i>SALMONELLA ENTERICA</i> SUBSP. <i>ENTERICA</i> SER. <i>ENTERITIDIS</i> CCM 4420..... | 47        |
| 6.7      | PŮSOBENÍ 1-MONOKAPRINU NA RŮST <i>PSEUDOMONAS AERUGINOSA</i> CCM 3955 .....  | 49        |
| 6.8      | PŮSOBENÍ 1-MONOKAPRINU NA RŮST <i>PROTEUS MIRABILIS</i> CCM 7188 .....   | 51        |
| 6.9      | PŮSOBENÍ 1-MONOKAPRINU NA RŮST <i>CITROBACTER FREUNDII</i> CCM 7187 .....  | 54        |
| 6.10     | INHIBIČNÍ ÚČINEK 1-MONOKAPRINU NA RŮST <i>ESCHERICHIA COLI</i> CCM 3954 .....  | 55        |
| <b>7</b> | <b>DISKUZE</b> .....   | <b>58</b> |
| <b>8</b> | <b>ZÁVĚR</b> .....   | <b>60</b> |
|          | <b>SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY</b> .....   | <b>61</b> |
|          | <b>SEZNAM POUŽITÝCH SYMBOLŮ A ZKRATEK</b> .....  | <b>66</b> |
|          | <b>SEZNAM OBRÁZKŮ</b> .....  | <b>67</b> |
|          | <b>SEZNAM TABULEK</b> .....  | <b>69</b> |
|          | <b>SEZNAM PŘÍLOH</b> .....   | <b>70</b> |
|          | <b>PŘÍLOHY</b> .....   | <b>71</b> |

## ÚVOD

Bezpečnost, nebo také nezávadnost potravin, je klíčovým zájmem občanů v celé Evropě. Evropská unie tak proto klade velký důraz na toto hledisko a samozřejmě i na kvalitu potravin. Zdravotní nezávadnost je základní požadavek, který musí být splněn u všech potravin uváděných na trh [1].

V současné době je hlavním cílem potravinářského průmyslu vyrábět potraviny s co nejdelší udržitelností a pokud možno výrobky dobré kvality. Za účelem splnění těchto požadavků a také pro potlačení růstu nežádoucích mikroorganismů v potravinách se používají různé typy přídatných látek (aditiv).

Změna životního stylu a mnoho činností mimo domov vedly k tomu, že dnes lidé tráví v kuchyni nad přípravou pokrmů stále méně času. Z tohoto důvodu se zvýšil zájem o potraviny, které umožňují svou přípravu během krátké doby. Proces výroby a skladování takových potravin vyžaduje přidavek různých chemických látek, které zajišťují jejich mikrobiologickou nezávadnost. Mezi takové látky patří právě zmiňovaná aditiva. Používáním potravinářských aditiv se také může dosáhnout vyšší chutnosti a lepšího vzhledu potravin, což má kladný vliv na spotřebitele. [2]

Monoacylglyceroly mastných kyselin jsou jedny z nejpoužívanějších emulgátorů v potravinách. Dalším významným poznatkem pro potravinářství bylo, že vykazují inhibiční účinek proti některým mikroorganismům. Proto se také rozšířilo jejich využití v potravinářském průmyslu. Kromě toho se monoacylglyceroly také používají v jiných odvětvích a to např. ve farmaceutickém nebo kosmetickém průmyslu.

V ČR je používání monoacylglycerolů mastných kyselin povoleno v nezbytném množství ke všem potravinám.



## **I. TEORETICKÁ ČÁST**

# 1 MONOACYLGLYCEROLY A MASTNÉ KYSELINY

## 1.1 Mastné kyseliny

### 1.1.1 Struktura

Mastné kyseliny jsou chápány jako karboxylové kyseliny s alifatickým uhlovodíkovým řetězcem s více než čtyřmi atomy uhlíku [3]. Většina mastných kyselin, které se vyskytují jako součást živých organismů má sudý počet atomů uhlíku. U těchto kyselin se body tání zvyšují s rostoucí délkou řetězce a klesají s přibývajícím počtem dvojných vazeb. V prostředí se mastné kyseliny nacházejí hlavně jako estery v přírodních olejích a tucích [4].

### 1.1.2 Rozdělení mastných kyselin

Mastné kyseliny lze podle struktury rozdělit na:

- Nasycené mastné kyseliny (tabulka 1)
- Nenasycené mastné kyseliny s jednou dvojnou vazbou (monoenové)
- Nenasycené mastné kyseliny s několika dvojnými vazbami (polyenové)
- Mastné kyseliny s trojnými vazbami a různými substituenty (rozvětvené, cyklické, s O-, N- nebo sirnými funkčními skupinami) [4]

Nasycené mastné kyseliny jsou karboxylové kyseliny s alifatickými uhlovodíkovými řetězci. Mají zpravidla rovný nerozvětvený řetězec a obsahují 4 až 60 atomů uhlíku [4]. V přírodě se vyskytují zejména jako esterově vázané na alkoholy a jsou hlavní složkou lipidů (tabulka 1).

Jejich obecný vzorec je:  $CH_3 - \text{CH}_2 \text{---} - COOH$

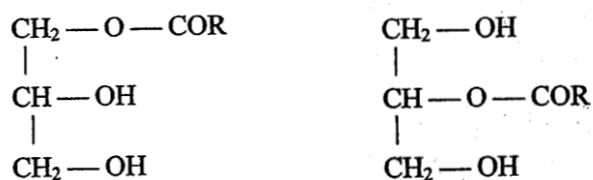
Kyseliny máselná, kapronová, kaprylová a kaprinová se v malém množství vyskytují v másle a kozím mléce [5]. Kyselina kaprinová způsobuje specifickou nepříjemnou chuť u kozího mléka [6]. Kyselinu laurovou můžeme najít např. ve skořici, kokosovém oleji nebo také v bobkovém listě. V kokosu se v malém množství nachází kyselina myristová. Kyseliny palmitová a stearová bývají v potravinách složkou lipidů. Kyselinu arachovou můžeme nalézt v podzemnici olejné [5].

Tabulka 1. Nasycené mastné kyseliny vyskytující se v lipidech [4]

| Triviální název | Počet atomů uhlíku | Mastná kyselina |
|-----------------|--------------------|-----------------|
| Máselná         | 4                  | Butanová        |
| Kapronová       | 6                  | Hexanová        |
| Kaprylová       | 8                  | Oktanová        |
| Kaprinová       | 10                 | Dekanová        |
| Laurová         | 12                 | Dodekanová      |
| Myristová       | 14                 | Tetradekanová   |
| Palmitová       | 16                 | Hexadekanová    |
| Stearová        | 18                 | Oktadekanová    |
| Arachová        | 20                 | Eikosanová      |

## 1.2 Monoacylglyceroly

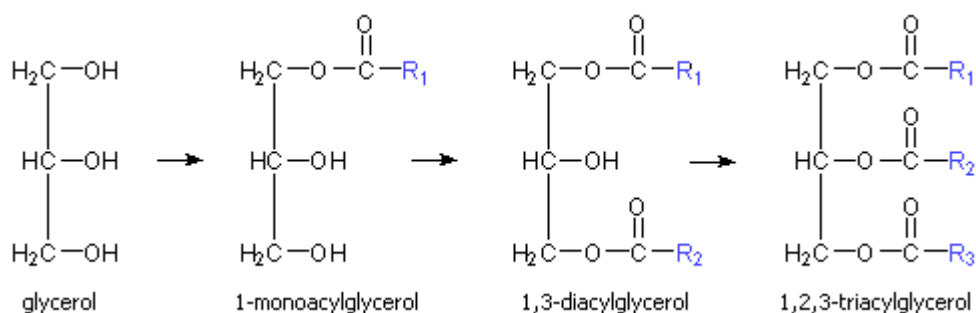
Monoacylglyceroly jsou estery trojsytného alkoholu glycerolu [7], v nichž jen jedna z hydroxylových skupin je esterifikována řetězcem mastné kyseliny, který je na molekulu glycerolu vázán kovalentně prostřednictvím esterové vazby. Monoacylglyceroly lze v závislosti na poloze esterických vazeb v glycerové části obecně rozdělit do dvou skupin, na 1-monoacylglyceroly a 2-monoacylglyceroly [8].



Obrázek 1. 1-monoacylglycerol a  
2-monoacylglycerol

### 1.2.1 Výroba monoacylglycerolů

Mono- a diacylglyceroly mohou být připraveny pomocí přímých esterifikací glycerolu a mastných kyselin [9].



Obrázek 2. Esterifikace glycerolu [10]

Triacylglycerol reaguje s glycerolem při vysoké teplotě (200 - 250 ° C) v přítomnosti alkalického katalyzátoru, obvykle hydroxidu sodného. Vzniká směs mono-, di- a triacylglycerolů a také malý zlomek nezreagovaného glycerolu [9].

Obchodní produkty obvykle obsahují 45 - 55 % monoacylglycerolů, 38 - 45 % diacylglycerolů, 8 - 12 % triacylglycerolů a 1 - 7 % volného glycerolu. MAG jsou vyráběny kontinuálním nebo diskontinuálním procesem. V diskontinuálním procesu se reakční čas pohybuje od 1 až do 4 hodin a při kontinuálním procesu může být doba méně než ½ hodiny [9].

Mastné kyseliny by měly být izolovány z tuku nebo oleje prostřednictvím zmýdelnění a následnou destilací. Tento postup je užitečný v případě produktů s vysokým obsahem mastných kyselin [9].

#### Molekulární destilace

Monoacylglyceroly mohou být od di- a triacylglycerolů a glycerolu odděleny pomocí molekulární destilace [9].

Za podmínek, které umožňují nižší destilující teploty (cca 140 - 170 ° C) a kratší dobu přítoku tekutiny, probíhá destilace pod vysokým tlakem. Monoacylglyceroly vyrobené tímto způsobem obsahují rovnovážné množství 1-monoacylglycerolů a 2-monoacylglycerolů. Poměr mezi oběma isomery je závislý na teplotě. Míra konstanty rovnováhy je nízká při pokojové teplotě a je závislá na složení mastných kyselin, krystalické formě a přítomnosti katalyzátoru [9].

Obsah 1-monoacylglycerolu v komerčním destilovaném monoacylglycerolu je obvykle 90 – 95 % , 3 - 4 % tvoří diacylglyceroly, 0,5 – 1 % tvoří volný glycerol a 0,5 – 1 % tvoří volné mastné kyseliny [9]. V takto připravených MAG se mastná kyselina váže do polohy 1 [7].

### 1.2.2 Vlastnosti monoacylglycerolů

První mono- a diacylglyceroly byly syntetizovány v roce 1853 Francouzem Berthelotem. Velkým průlomem však bylo použití mono- a diacylglycerolů ve velkém rozsahu v margarínovém průmyslu v 30. letech 20. století [9].

Vzhled monoacylglycerolů se mění od světle hnědého až slámového zbarvení olejnaté kapaliny až do bílé mírně naředěné tuhé látky. Pevná forma může být ve formě vloček, prášků nebo malých perliček v závislosti na použití dokončovacích technik. Monoacylglyceroly nejsou rozpustné ve vodě, ale mohou tvořit stabilní hydratované disperze [9].

Monoacylglyceroly mají lipofilní charakter, a proto je jim přiřazeno HLB (Hydrophile – lipophile balance) s nízkou hodnotou (<5) [4] [9].

V potravinářství se MAG používají zejména jako neionogenní emulgátory emulze typu V/O (voda v oleji) [9]. Obecně emulgátory patří mezi látky povrchově aktivní. Jsou to látky, které snižují mezipovrchové napětí na rozhraní dvou nemísitelných kapalin o značně rozdílné polaritě a tím podstatně usnadňují dispergaci jedné kapaliny ve druhé ve formě jemných kapek. Molekula emulgátoru se skládá z lipofilní (nepolární) a hydrofilní (polární) části, které se na mezifázovém rozhraní orientují tak, že směřují do prostředí o shodné polaritě. Orientace emulgátoru na fázovém rozhraní zabraňuje zpětnému spojování dispergované fáze ve větší kapky a tím zvyšuje stabilitu emulze. Tendence emulgátoru k vytváření typu emulze se určuje též pomocí tzv. HLB hodnoty, kterou se rozumí poměr mezi účinností hydrofilní a lipofilní části molekuly emulgátoru [11]. Tato vypočtená hodnota leží na stupnici v rozmezí hodnot 1 - 20. Pokud je hodnota HLB od 2 do 8, znamená to dobrou rozpustnost emulgátoru v tucích, zatímco HLB hodnoty mezi 14 a 18 představují emulgátory dobře rozpustné ve vodě. Příklad emulze „olej ve vodě“ (O/V) je např. mléko nebo majonéza (voda jako vnější fáze obklopuje jemně rozptýlený tuk). Příklad emulze „voda v tuku“ (V/O) je např. máslo nebo margarín (tuková fáze obklopuje jemně rozptýlenou vodu) [6].

Emulgátory jsou látky umožňující tvorbu stejnorodé směsi dvou nebo více nemísitelných kapalných fází nebo to jsou látky, které tuto směs udržují. Emulgátory se obecně řadí do kategorie přídatných látek neboli aditiv. Na obalech potravin se aditiva označují číselným kódem a písmenem E. Mezi emulgátory patří lecitin, estery mono- a diacylglycerolů mastných kyselin, polysorbáty, cukroestery, stearyllaktáty a sorbitanmonostearát. Používají se při výrobě celé řady potravin např. jemného pečiva a cukrářských výrobků, emulgovaných tuků, zmrzlin, dezertů, cukrovinek, kakaových a čokoládových výrobků, žvýkaček, emulgovaných omáček, tepelně opracovaných masných výrobků, práškových náhrad mléka a smetany, emulzních likérů, různých doplňků stravy a potravin ke snižování hmotnosti a mnoha dalších [12].

MAG jsou polymorfní, stejně jako TAG (triacylglyceroly) a mohou se v závislosti na teplotě vyskytovat ve třech krystalických formách:  $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\beta'$  [3] [9].

Z taveniny vykrytalizují v  $\beta$ -formu, na kterou se přemění přes metastabilní krystalickou  $\alpha$ -formu. Pro některé aplikace je  $\alpha$ -forma nejvýhodnější, dochází např. k snazšímu rozptýlování, zlepšení kypřících vlastností a zvýšení emulgačních schopností. Proto je nanejvýš žádoucí, aby přeměna  $\alpha$ -formy na  $\beta$ -formu byla pomalá. To může být provedeno s použitím vhodného  $\alpha$ -stabilního emulgátoru jako je propylenglykol ester, ester kyseliny sorbové nebo estery kyseliny mléčné, které mají stabilizovat  $\alpha$ -formu destilovaného MAG v emulgátorových směsích [9].

Důležitou vlastností emulgátorů používaných v pekárenství je jejich schopnost interagovat s bílkoviny mouky. Tato schopnost se projevuje zlepšením reologických vlastností kynutých těst. Těsto získá vyšší pružnost a to i tehdy, pokud použitá mouka obsahuje méně lepku. Vytvořený oxid uhličitý je zlepšenou strukturou těsta zadržován kynutím, čímž hotové pečivo získá vysoký objem, rovnoměrnou pórovitost a je křehké [11].

### **Chování monoacylglycerolů v přítomnosti vody**

Zahřátím destilovaných monoacylglycerolů ve vodě na jejich bod tání (okolo 80°C), dochází k vytvoření gelu. Struktura gelu je v laminární fázi a podobá se lipidové dvojvrstvě. Přesná teplota tvorby gelu závisí na délce řetězce mastné kyseliny a na čistotě monoacylglycerolu [9].

Když se přidá co-emulgátor (ionizovaná amfipatická molekula), elektrický odpor mezi opačně nabitými skupinami v dvojrůstvě způsobí zvýšené bobtnání, takže voda může tloušťku zvýšit [9].

Účinné co-emulgátory jsou silně hydrofilní a mohou být anionické, neionické nebo kationické. Ionické co-emulgátory zvyšují bobtnání a stabilitu monoacylglycerových gelů, zatímco neionické co-emulgátory tento účinek nevykazují. Příklady co-emulgátorů jsou mýdla, polyoxyethylen či estery sorbitanu s monoestery sacharózy [9].

### 1.2.3 Využití monoacylglycerolů

Monoacylglyceroly jsou látky používané jak v průmyslu potravin a léčiv, tak i ve zdravotnictví [11].

Vzhledem k jejich amfipatické povaze, mají MAG emulgační vlastnosti a vykazují inhibiční účinky proti některým typům mikroorganismů. Tato vlastnost umožňuje využití těchto látek v různých oblastech potravinářského průmyslu a v některých technických oborech [11].

Monoacylglyceroly mastných kyselin jsou známy tím, že mají antimikrobiální vlastnosti *in vitro* a při kontaktu inhibují viry, grampozitivní a gramnegativní bakterie a plísň [13].

Již v minulosti bylo prokázáno, že antimikrobiální aktivita MAG je poněkud proměnlivá v závislosti na počtu atomů uhlíku v řetězci a na přítomnosti jejich dvojných vazeb [14].

Monoacylglyceroly se již dnes vyrábějí běžně a patří k nejčastějším emulgátorům. Do pečiva stačí přidávat podstatně méně monoacylglycerolů než běžného tuku a přesto se získá kvalitní výrobek, který navíc obsahuje podstatně méně využitelné energie než běžné pečivo [15].

V potravinářské technologii mají největší použití MAG při výrobě chleba. Jakékoli funkce MAG a jiných emulgátorů v pekárenství závisí na vlastnostech dispergace emulgátorů při míchání těsta. Mezi faktory, které ovlivňují dispersibilní vlastnosti při míchání těsta jsou rovnováha mezi velikostí částic a tvrdostí nebo táním MAG. Tvrdost MAG je určována především strukturou jedlých tuků, z nichž jsou MAG vyrobeny [9].

MAG se přidávají do chlebového těsta z následujících důvodů: je známo, že MAG zvýší fermentační stabilitu těsta. Fermentační stabilita znamená, že plně fermentovaná těsta jsou odolná vůči mechanickému šoku např. během přepravy [9].

Kromě fermentační stability dochází k tvorbě komplexu mezi MAG a škrobem, konkrétněji amylózou, což je důležité pro prodloužení trvanlivosti chleba, čímž se docílí větší měkkosti střídky [9].

Zejména interakce MAG s amylózou a enzymatický rozklad amylopektinu specifickými amylázami jsou jedním z nejdůležitějších faktorů. Při pečení dochází k bobtnání škrobových zrn, což vede k převedení amylózy z amorfního do rozpustného stavu a převedení amylopektinu z krystalického do gelového stavu [9]. Kolem hydrofilní části MAG se vytváří krystalická struktura amylázy [7].

Je-li do těsta přidána specifická amyláza, během pečení bude amylopektin degradován a při skladování chleba nedojde k jeho rekrystalizaci. Přídavek MAG zvyšuje trvanlivost chleba přibližně o dva dny [9].

Interakce MAG se škrobem, a zejména amylózou, je také důležitá při výrobě suchých těstovin. Přídavek hydratovaného MAG do těstovinového těsta bude mít za následek menší ztráty při vaření a sníží se lepivost v konečně uvařených těstovinách a zachovávají si požadovanou pevnost [9] [11].

Kromě pekárenství se dále monoacylglyceroly spotřebovávají při výrobě emulgovaných tuků. Přídavek emulgátoru má zajistit jemnou distribuci kapiček vody v olejové fázi, stabilní krystalickou strukturu a dobrou roztíratelnost tuků [7].

V cukrovinkářském průmyslu se monoacylglyceroly používají pro zlepšení konzistence žvýkaček a k omezení lepivosti karamelových bonbónů [11].

Další uplatnění nacházejí MAG v kosmetice, kde se využívají MAG obsahující nasycené mastné kyseliny. Jsou stabilní vůči vzdušné oxidaci, vykazují dobré emulgační a měkčící vlastnosti. Jsou dobře snášeny kůží a sliznicí [16].

Ve farmaceutickém průmyslu se využívají MAG obsahující nejčastěji kyselinu olejovou a linoleovou nebo mastné kyseliny se středně dlouhým uhlíkatým řetězcem (8 – 10 uhlíků), které zlepšují resorpci léčiv ve tkáních [17] [18] [19].

Farmaceutické preparáty s obsahem mikrobicidních lipidů jsou používány k léčbě diagnostikovaných slizničních a kožních infekcí a rovněž jsou testovány jako přípravky zabraňující přenosu patogenních mikroorganismů na sliznicích [20] [21].



Monoacylglyceroly je možné rovněž využít v textilním nebo plastikářském průmyslu. V textiliích se používají pro zvýšení odolnosti vody a pro zlepšení antistatických vlastností. Rovněž se zlepšuje jejich barevná stálost a kontrast [22].

V plastikářském průmyslu se používají pro zlepšení antistatických a lubrikačních vlastností [23].

#### 1.2.4 Antimikrobní účinky monoacylglycerolů a mastných kyselin

Již řadu let jsou známy antimikrobní účinky mastných kyselin. Ve 20. letech 20. století bylo dokázáno, že dezinfekční účinek sodných a draselných mýdel (solí) mastných kyselin se výrazně neliší [24].

Antimikrobiální účinky mastných kyselin a monoacylglycerolů jsou dány počtem atomů uhlíku a přítomností dvojných vazeb v řetězci mastných kyselin [14] [25].

Antimikrobní účinky mohou být také ovlivněny složením potravin, neboť některé složky potravin jako jsou např. škroby, fosfolipidy nebo cholesterol mohou s monoacylglyceroly reagovat, čímž může dojít ke snížení jejich inhibičních účinků [24] [26].

Bylo zjištěno, že pneumokok je velmi citlivý k solím kyseliny laurové, olejové, linolové a linolenové. Stejně jako pneumokoky byly usmrceny i streptokoky, ale při vyšší koncentraci mýdla. Nenasycená mýdla, stejně jako estery kyseliny olejové, linolové a linolenové mají dezinfekční účinky proti stafylokokům, ale ne vůči střevním bacilům. V některých případech přítomnost nenasycených vazeb v molekule značně změnila aktivitu mýdla proti pneumokokům [24].

Dále bylo zjištěno, že pneumokoky a streptokoky nerostou v přítomnosti malého množství ricinoleátu sodného. Při použití zředěného mýdla s ricinovým olejem na 0,1% ztratí pneumokok svou schopnost růstu [25]. *Staphylococcus aureus* byl po 5 minutovém vystavení inhibován 20% roztokem ricinoleátu sodného. Avšak 10% roztok nepůsobil zcela baktericidně ani po jednohodinovém vystavení. Porovnáním pneumokokových vlastností nasyčených mýdel kyselin laurové, myristové, palmitové a stearové ukázalo, že mýdla obsahující 14 atomů uhlíku měly maximální antimikrobiální účinek [24].

U monokaprinu, což je 1-monoacylglycerol kyseliny kaprinové, bylo prokázáno, že má antimikrobiální účinek proti obaleným virům, kvasinkám a některým bakteriím [27].

Emulze monokaprinu byly aktivní proti *Campylobacter jejuni* a způsobily během 1 minuty snížení životaschopnosti bakterií o 6 – 7 řádů při pokojové teplotě [28].

Emulze monokaprinu inhibovala také kampylobactery izolované z lidí, což ukazuje na široké antikampylobakteriální účinky. Emulze 1,25 mM monokaprinu v citrát-laktátovém pufru při pH 4 - 5 způsobily během 10 minut snížení životaschopnosti mikroorganismů *Salmonella* spp. a *Escherichia coli* o 6 – 7 řádů. K monokaprinové emulzi byl také při nízkém pH více náchylný *C. jejuni*. [28].

Přídavkem 5 a 10 mM monokaprinových emulzí do kuřecího krmiva obohaceného o kampylobactery se výrazně snížila bakteriální kontaminace. Tyto výsledky jsou diskutovány s ohledem na možné využití monokaprinových emulzí pro kontrolu bakterií přenášených potravou z drůbeže na člověka [28].

Monokaprin je také velmi účinný proti grampozitivním kokům. Bylo prokázáno, že jeho působení spočívá v dezintegraci cytoplazmatické membrány [28].

Monokaprin o koncentraci 100 – 250 g.l<sup>-1</sup> je schopen zcela zastavit růst všech grampozitivních bakterií a kvasinek a koncentrace 100 – 400 g.l<sup>-1</sup> může zastavit růst vláknitých hub. Na druhou stranu se zjistilo, že některé gramnegativní bakterie a plísně *Mucor racemosus* mohou být vůči monokaprinu odolné [29].

Některé MAG dokážou zpomalit růst určitých druhů kvasinek (*Candida albicans*, *Saccharomyces cerevisiae*) v koncentracích od 100 do 500 mg.l<sup>-1</sup> [28].

Ababouch a kol. zkoumali schopnost mastných kyselin a monolaurinu v inhibici spor a vegetativních buněk *Bacillus cereus*. Výsledky ukázaly, že kyselina linolenová a monolaurin jsou účinnější než kyseliny laurová, linolová, olejová a stearová. Monolaurin (0,73 mM), kyselina linolová (0,178 mM) a kyselina linolenová (0,036 mM) inhibují jak sporotvorné tak i vegetativní buňky [24].

Spóry bakterií způsobujících kažení potravin (*Clostridium sporogenes*) a patogenních bakterií (*Bacillus cereus*, *Clostridium botulinum*) jsou citlivější na monoacylglyceroly než jejich vegetativní formy [24].

Beuchat srovnal účinky glycerolu a esterů sacharóz s mastnými kyselinami, benzoátu a kyseliny sorbové a její draselné soli proti *Vibrio parahaemolyticus*. Jeho výsledky naznačily, že C<sub>12:0</sub> monoacylglycerol (monolaurin) je mnohem aktivnější než deriváty s kratším (C<sub>8:0</sub>-C<sub>10:0</sub>)

nebo delším ( $C_{14:0}$ ) řetězcem. Také nízká MIC (minimální inhibiční koncentrace) monolaurinu ( $5 \text{ mg.l}^{-1}$ ) ukázala, že je účinnější než benzoát sodný ( $300 \text{ mg.l}^{-1}$ ) nebo kyselina sorbová ( $70 \text{ mg.l}^{-1}$ ). Estery kyseliny kaprinové a kaprylové vázané na sacharózu byly ve vyšších koncentracích účinnější proti *V. parahaemolyticus* než monolaurin [24].

Protože tyto estery byly dříve považovány za inaktivní proti gramnegativním bakteriím, inhibice růstu *V. parahaemolyticus* byla poněkud překvapující, ačkoli dříve byly uvedeny podobné účinky na jiné gramnegativní bakterie, ale jen tehdy, když byly přítomny chelotvorné kyseliny (kyselina citronová a polyfosforečná) [24].

Chelotvorné kyseliny působí tak, že uvolňují značné množství buněčných lipopolysacharidů z bakteriální buněčné stěny a způsobují, že se gramnegativní bakterie chovají jako gram-positivní [24].

Monoestery glycerolu a diestery sacharózy mají nejen vyšší antimikrobiální aktivitu než jejich příslušné volné mastné kyseliny, ale také mají srovnatelnou účinnost s běžně používanými antimikrobiálními látkami, jako jsou parabeny, kyselina sorbová a dehydrooctová kyselina [24].

## 2 CHARAKTERISTIKA TESTOVANÝCH BAKTERIÍ

### 2.1 Grampozitivní bakterie

Buněčná stěna grampozitivních buněk je tvořena silnou vrstvou peptidoglykanu, kterou procházejí lineární řetězce teikoových kyselin. Dále jsou na peptidoglykan vázány polysacharidy, jejichž složení je specifické pro jednotlivé skupiny bakterií. V buněčné stěně nejsou přítomny lipidy s výjimkou mykobakterií, korynebakterií či nokardií, které mohou obsahovat mnoho lipidů a vosků vázaných esterovými vazbami na peptidoglykan [30].

Grampozitivní bakterie se od gramnegativních odlišují tím, že grampozitivní bakterie po usmrcení a obarvení krystalovou violetí a moření Lugolovým roztokem zadržují komplex krystalové violeti a jodidu draselného v buněčné stěně a neodbarvují se organickými rozpouštědly (ethanol, aceton). Po dalším barvení safraninem nebo karbolfuchsinem se grampozitivní bakterie zbarví modrofialově (obrázek 3) [30].

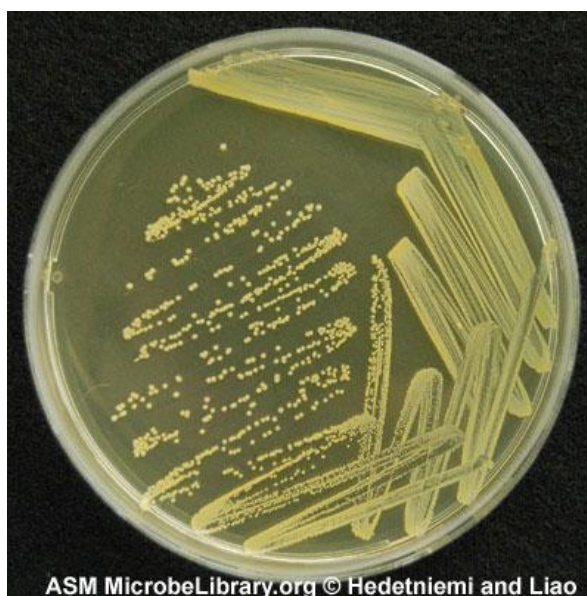


Obrázek 3. Grampozitivní bakterie [31]

#### 2.1.1 *Staphylococcus aureus*

*Staphylococcus aureus* patří mezi grampozitivní koky o průměru asi 1  $\mu\text{m}$ . Koky bývají uspořádány do shluků, někdy se však vyskytují v párech nebo ojedinele (obrázek 4). Netvoří spóry, jsou nepohyblivé a obvykle netvoří pouzdro. Stafylokoky jsou tolerantní k soli, čehož se využívá k selektivní izolaci ze stolice a z potravin na živných půdách s obsahem 7 – 10 % chloridu sodného [32].

*Staphylococcus aureus* je podmíněný patogen, přítomný v nose a na kůži určitého počtu zdravých osob. Infikuje nejčastěji poškozenou kůži, sliznice nebo hematomy v měkkých tkáních. Stafylokoková pneumonie je známou komplikací chřipky. Dostane-li se do potravin, produkuje zde enterotoxiny bílkovinné povahy, které jsou velmi nebezpečné a mohou způsobit vážné až smrtelné otravy. Některé z nich se inaktivují delším varem, a proto je nebezpečí otrav hlavně u těch potravin, které se již tepelně nepracovávají, jako jsou např. majonézy, saláty, krémy v cukrářských výrobcích, zmrzliny apod. Do těchto potravin se může *Staphylococcus aureus* dostat z hnisavých ložisek na ruku lidí připravujících příslušné potraviny nebo kýcháním a kašláním. K otravě potravinami dochází obvykle tehdy, je-li koncentrace buněk v řádu  $10^5$  až  $10^7 \cdot \text{g}^{-1}$  [33].



Obrázek 4. *Staphylococcus aureus* [34]

### 2.1.2 *Bacillus cereus*

*Bacillus cereus* patří mezi grampozitivní tyčinky. Podobá se *Bacillus anthracis*. Roste v nepravidelných koloniích podobného vzhledu jako *B. anthracis* (obrázek 5). Patří mezi druhy s poměrně velkými buňkami [33].

Spóry *Bacillus cereus* jsou vysoce termorezistentní a většina kmenů produkuje toxin. Tento mikroorganismus je hojně rozšířen v prostředí a v obilovinách, zejména v rýži. Hlavním příznakem otravy je zvracení. Kromě emetického toxinu *Bacillus cereus* také produkuje ve střevě termolabilní enterotoxin [33].

Po požití kontaminované potravy způsobuje průjmové onemocnění, které je podobné enteritidě vyvolané *Escherichia coli* nebo salmonelami. V kontaminované potravě je vždy přítomno obrovské množství bacilů asi  $10^{10} \cdot \text{g}^{-1}$  [33].



Obrázek 5. *Bacillus cereus* [34]

### 2.1.3 *Bacillus subtilis*

*Bacillus subtilis* je grampozitivní bakterie běžně se vyskytující v půdě. Má schopnost tvořit pevnou, ochrannou endospóru, což umožňuje, že organismus je odolný vůči extrémním podmínkám životního prostředí [35].



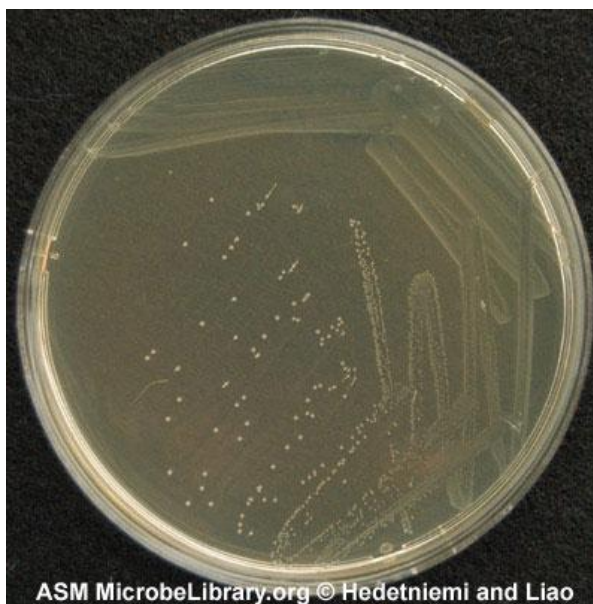
Obrázek 6. *Bacillus subtilis* [34]

*Bacillus subtilis* není lidským patogenem. Může kontaminovat potraviny, ale je jen zřídka zodpovědný za otravu potravinami. Spóry *Bacillus subtilis* mohou přežívat vysoké teploty, které se používají při vaření jídla, což může být příčinou lepivé konzistence zkaženého chlebového těsta, kterou způsobují polysacharidy produkované bakteriemi [35].

#### 2.1.4 *Enterococcus faecalis*

*Enterococcus faecalis* patří mezi grampozitivní koky. Jsou klasifikovány jako součást streptokoků skupiny D [36]. Původním stanovištěm enterokoků je intestinální trakt lidí a zvířat. Sekundárně se nacházejí v mléce a mléčných výrobcích, dále pak v potravinách s vyšším obsahem soli (sýry, uzeniny) [37]. Je jedním ze složek některých probiotických potravinových doplňků [36].

U lidí může vyvolat infekce životu nebezpečné, zejména v nosokomiálním prostředí, protože *Enterococcus faecalis* je rezistentní vůči antibiotikům. Může způsobit infekce močových cest, prostaty nebo také endokarditidu [35].



Obrázek 7. *Enterococcus faecalis* [34]

#### 2.1.5 *Micrococcus luteus*

*Micrococcus luteus* je grampozitivní aerobní kok. Koky bývají uspořádány v tetradách. Jedná se o nepohyblivé mikroorganismy. *Micrococcus luteus* se primárně vyskytuje na kůži savců, sekundárně se může vyskytovat v mase, půdě nebo také ve vodě [38].



V potravinách může tvořit žluté, oranžové až intenzivně růžové kolonie (obrázek 8). Do potravin se dostává hlavně vzdušnou kontaminací [33].

*Micrococcus* není považován za patogenní bakterii, ale jsou známé případy, kdy tahle bakterie způsobila kožní infekce u lidí s oslabeným imunitním systémem [39].



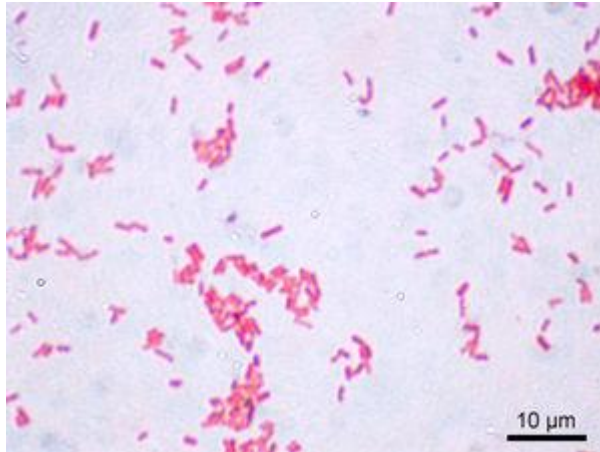
Obrázek 8. *Micrococcus luteus* [34]

## 2.2 Gramnegativní bakterie

Buněčná stěna gramnegativních buněk je tenčí, ale složitější než stěna bakterií grampozitivních. Tvoří ji tenká vrstva peptidoglykanu, nad níž se nachází vnější membrána, která se skládá z dvojvrstvy fosfolipidů a bílkovin. Mezi vnější membránou a peptidoglykanem je tzv. periplazmatický prostor. Obsah lipidů ve stěně je příčinou jejich zvýšené odolnosti proti aniontovým povrchově aktivním látkám. Stěnové lipopolysacharidy patogenů fungují jako endotoxiny (např. *Salmonella*), které jsou zodpovědné za antigenní specifitu označovanou jako O antigen [30].

Při použití Gramova barvení dojde u gramnegativních bakterií k vymytí komplexu krystalové violeti a jodidu draselného a po dalším barvení bakterie zůstanou zbarveny růžově (obrázek 9) [30].





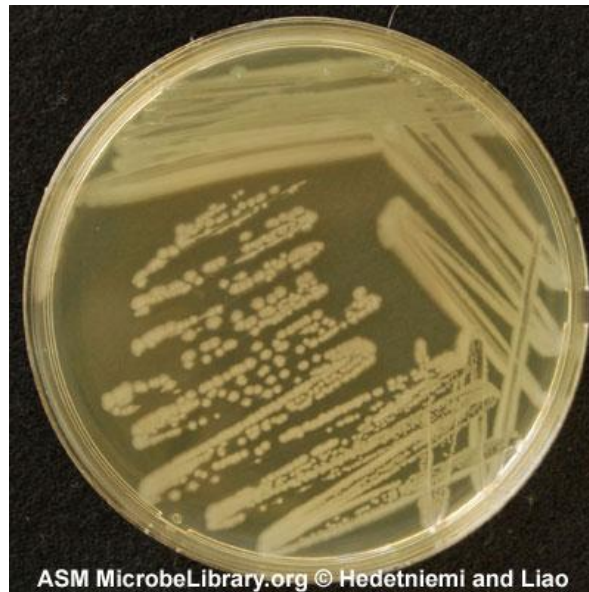
Obrázek 9. Gramnegativní bakterie [40]

### 2.2.1 *Pseudomonas aeruginosa*

*Pseudomonas aeruginosa* je gramnegativní bakterie. Netvoří spóry, nemá pouzdro a pohybuje se pomocí jednoho nebo několika bičíků. Je striktně aerobní. Může také růst anaerobně za přítomnosti nitrátů. Roste rychle i na jednoduchých půdách v širokém rozmezí teplot. Charakterizuje ji sladká ovocná vůně [33].

*Pseudomonas aeruginosa* je patogen, který způsobuje hnisavé onemocnění, obávaná zvláště při léčení rozsáhlých popálenin a u pacientů se sníženou odolností vůči infekčním chorobám. Zdrojem této bakterie je zejména maso, zelenina a zmražené potraviny. Také lidské mléko bývá zdrojem této infekce u novorozenců.

*Pseudomonas aeruginosa* produkuje řadu toxických látek, jako např. termolabilní enterotoxický protein. Velmi nebezpečná je *Pseudomonas aeruginosa* také v kosmetických přípravcích (krémy, pleťová mléka, oční léčidla), neboť při používání závadných výrobků může dojít k hnisavým onemocněním kůže a v případě očních léčidel dokonce i k oslepnutí [33].



Obrázek 10. *Pseudomonas aeruginosa* [34]

### 2.2.2 *Proteus mirabilis*

*Proteus mirabilis* patří mezi gramnegativní fakultativně anaerobní bakterie. Na pevných půdách se vyznačuje charakteristickým plazivým růstem (obrázek 11). *Proteus mirabilis* způsobuje u lidí 90 % všech infekcí způsobené bakteriemi rodu *Proteus* [41].



Obrázek 11. *Proteus mirabilis* [34]

Bakterie rodu *Proteus* patří mezi podmíněné patogeny, které vyvolávají infekce močových cest, podílejí se na etiologii střevních infekcí a kontaminují otevřené rány [41].

*Proteus mirabilis* je tyčinkovitá bakterie, která má schopnost produkovat vysoké hladiny ureázy. Ureáza hydrolyzuje močovinou na amoniak ( $\text{NH}_3$ ) a tím zvyšuje zásaditost moči. Pokud zůstane bez ošetření, zvýšená alkalita může vést k tvorbě krystalů [41].

### 2.2.3 *Salmonella enterica*

Salmonely patří mezi bakterie čeledi *Enterobacteriaceae*. Jsou to gramnegativní fakultativně anaerobní tyčinky. Normálně se vyskytují ve střevě zvířat. Onemocnění způsobené těmito bakteriemi se člení do tří skupin: tyfus, paratyfus a enteritidy [42].

*Salmonella enterica* má velký počet sérotypů. Sérotyp Typhi je patogenní pouze pro člověka, způsobuje velmi vážné a často až smrtelné onemocnění zvané břišní tyfus. Ostatní sérotypy jako je Typhimurium mohou způsobovat onemocnění označované jako salmonelóza. Je to druh, který se v přírodě vyskytuje poměrně často a dostává se do organismu také potravinami. Je patogenní pro člověka i pro hlodavce [43] [33].



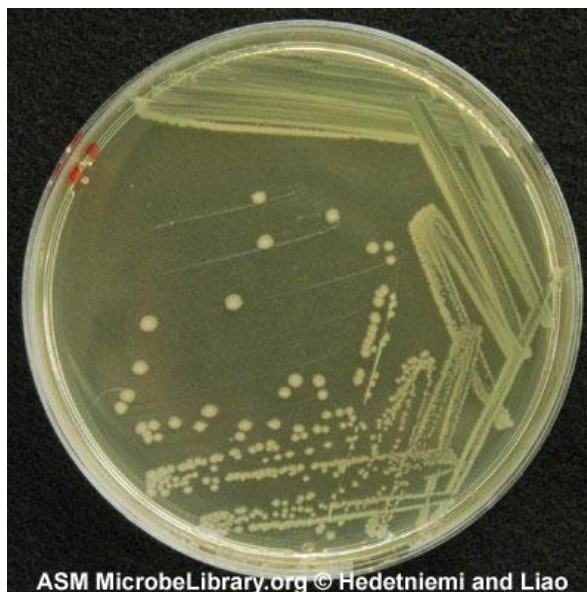
Obrázek 12. *Salmonella enterica* [34]

### 2.2.4 *Escherichia coli*

Kmeny *Escherichia coli* a příbuzné gramnegativní bakterie, tzv. koliformní tyčinky, jsou bakterie nacházející se ve střevní flóře člověka a zvířat a vyskytuje se tedy i ve výkalech.

Jejich přítomnost ve vodách nebo v potravinách slouží proto jako ukazatel, že zde došlo k znečištění fekáliemi [32] [44].

*Escherichia coli* je také široce rozšířeným střevním patogenem savců a ptáků, a protože její výskyt je vázán na fekální kontaminaci, nevyskytuje se samostatně mimo těla živočichů. Některé kmeny jsou patogenní pro člověka i zvířata a způsobují infekce a průjemová onemocnění [32]. *Escherichia coli* je hlavním původcem infekcí močových cest [45].



Obrázek 13. *Escherichia coli* [34]

### 2.2.5 *Citrobacter freundii*

*Citrobacter freundii* je gramnegativní fakultativně anaerobní bakterie. Jedná se o bakterii, která patří do čeledi *Enterobacteriaceae*. Lze ji nalézt v půdě, vodě, kanalizaci a také v potravinách. Druhy rodu *Citrobacter* využívají citrát jako zdroj uhlíku [46].

*Citrobacter freundii* je často příčinou oportunistických infekcí. Tato bakterie způsobuje novorozeneckou meningitidu a často je spojována s mozkovou abscesí. Úmrtnost a onemocnění meningitidou způsobené bakterií rodu *Citrobacter* je vysoká. Míra úmrtnosti novorozeneckou meningitidou je 25 až 50 %, 75 % lidí, kteří přežijí toto onemocnění mají vážné neurologické následky. Rovněž může způsobit infekci močového traktu, infekce a nozokomiální pneumonie. *Citrobacter freundii* byla také zkoumána pro biodegradaci kyseliny tříslivé používané v koželužství [47].



Obrázek 14. *Citrobacter freundii* [48]

## **II. PRAKTICKÁ ČÁST**

### 3 CÍLE PRÁCE

Cíle předložené práce byly vymezeny následovně:

- v teoretické části vypracovat literární rešerši týkající se obecné charakteristiky, využití a antimikrobních účinků monoacylglycerolů a také charakteristikou vybraných grampozitivních a gramnegativních bakterií, na kterých byly testovány účinky monoacylglycerolu na jejich růst,
- stanovit inhibiční účinek 1-monoacylglycerolu kyseliny kaprinové ( $C_{10:0}$ ) v koncentracích 25 – 1500 mg.l<sup>-1</sup> na růst vybraných grampozitivních a gramnegativních bakterií,
- ze zjištěných hodnot optické denzity buněk sestrojít růstové křivky jednotlivých bakterií v závislosti na koncentraci MAG se zaměřením parametry růstu (lag fáze, maximální hodnota optické denzity buněk a specifická růstová rychlost).

## 4 MATERIÁL

### 4.1 Vybrané kultury mikroorganismů

K testování antimikrobiálního účinku 1-monoacylglycerolu kyseliny kaprinové (C<sub>10:0</sub>) na mikroorganismy byly vybrány následující kultury grampozitivních a gramnegativních bakterií:

#### Grampozitivní bakterie:

*Bacillus cereus* CCM 2010

*Bacillus subtilis* subsp. *spizizenii* CCM 4062

*Enterococcus faecalis* CCM 4224

*Micrococcus luteus* CCM 732

*Staphylococcus aureus* subsp. *aureus* CCM 3953

#### Gramnegativní bakterie:

*Citrobacter freundii* CCM 7187

*Enterococcus faecalis* CCM 4224

*Escherichia coli* CCM 3954

*Proteus mirabilis* CCM 7188

*Pseudomonas aeruginosa* CCM 3955

*Salmonella enterica* subsp. *enterica* ser. *Enteritidis* CCM 4420

Všechny bakterie byly poskytnuty z České sbírky mikroorganismů (CCM). K oživení bakterií byl použit sterilní masopeptonový bujon. Poté, co byly do bujonu naočkovány poskytnuté bakterie, byla půda kultivována při teplotě 30 °C po dobu 24 hodin.

Poté bylo provedeno přeočkování bakterií na pevnou živnou půdu (masopeptonový agar). Půda byla opět kultivována při teplotě 30°C po dobu 24 hodin. Po kultivaci byly bakterie uchovávány v chladničce.



## 4.2 Příprava živných médií

Příprava masopeptonového bujonu (MPB) pro bakterie

Složení:

- Pepton .....5,0 g
- NaCl .....3,0 g
- Masový výtažek .....3,0 g
- Destilovaná voda....1000,0 ml

Příprava masopeptonového agaru (MPA) pro bakterie

Složení:

- Pepton .....5,0 g
- NaCl.....3,0 g
- Masový výtažek.....3,0 g
- Agar.....12,0 g
- Destilovaná voda....1000,0 ml

## 4.3 Použité pomůcky a zařízení

- Laboratorní sklo
  - Kádinky
  - Petriho misky
  - Zkumavky
- Laboratorní předvážky KERN
- Mikrovlnná trouba Elektrolux
- Chladnička Elektrolux
- Automatické mikropipety Biohit
- Bakteriologické kličky
- Autokláv Systec 2540 EL

- Biologický termostat Membert INE 600
- Flow Box Clean Air
- Mikrotitrační destička

## 5 METODIKA

### 5.1 Příprava bakteriální suspenze

Bakteriální suspenze byla připravena z inokula, které bylo připraveno zaočkováním 20 ml kultivačního média (masopeptonový bujón) příslušnými bakteriemi z Petriho misky. Po naočkování byla bakteriální suspenze kultivována při teplotě 30 °C po dobu 24 hodin.

### 5.2 Sledování vlivu monokaprinu na vybrané grampozitivní a gramnegativní bakterie

Vliv 1-monokaprinu na růst grampozitivních a gramnegativních bakterií byl zkoumán pomocí přístroje TECANA Sunrise. Bakterie byly očkované do mikrotitračních destiček, do nichž byla také přidána příslušná koncentrace monokaprinu. Naočkované mikrotitrační destičky byly kultivovány při teplotě 25 °C po dobu 24 hodin. Růst byl hodnocen jako změna optické denzity (O.D.) suspenze buněk. Nárůst bakterií byl měřen po 30 minutových intervalech při vlnové délce 600 nm. Přístroj byl řízen pomocí software Magellan.

Do každé jamky mikrotitrační destičky bylo pipetováno 250 µl kultivačního média (MPB) s jednou z následujících koncentrací 1-monokaprinu: 25 mg.l<sup>-1</sup>, 50 mg.l<sup>-1</sup>, 100 mg.l<sup>-1</sup>, 250 mg.l<sup>-1</sup>, 500 mg.l<sup>-1</sup>, 1000 mg.l<sup>-1</sup> a 1500 mg.l<sup>-1</sup> a dále také 5 µl bakteriální suspenze. Jako kontrola sloužily jamky, do nichž bylo pipetováno 250 µl kultivačního média s buněčnou suspenzí bez příslušné koncentrace 1-monokaprinu. U všech koncentrací 1-monokaprinu, včetně kontroly byl růst sledován ve 2 jamkách mikrotitrační destičky.

Naměřené hodnoty optické denzity byly zprůměrnovány a graficky vyhodnoceny jako růstové křivky. Tyto růstové křivky jsou uloženy v příloze.

Dále byly z naměřených hodnot spočteny relativní hodnoty O.D. v čase  $t$  ( $y = \ln(\text{O.D.}_t / \text{O.D.}_0)$ ). Pomocí Gompertzova modelu byla popsána závislost logaritmu relativní hodnoty O.D. ( $y$ ) na čase ( $t$ ):

$$y = A \cdot \exp \left\{ - \exp \left[ \frac{\mu_m \cdot e}{A} (a - t) + 1 \right] \right\}$$

kde:

- $\mu_m$  je maximální specifická růstová rychlost ( $\text{h}^{-1}$ );
- $\lambda$  je doba lag fáze;
- $A$  je asymptota [ $A=\ln(\text{O.D.}_\infty/\text{O.D.}_0)$ ] definovaná jako maximální dosažená hodnota [49].

Pro výpočet hodnot  $\mu_m$ ,  $\lambda$  a  $A$  byla použita nelineární regresní analýza (Marquardt-Levenburgova metoda).

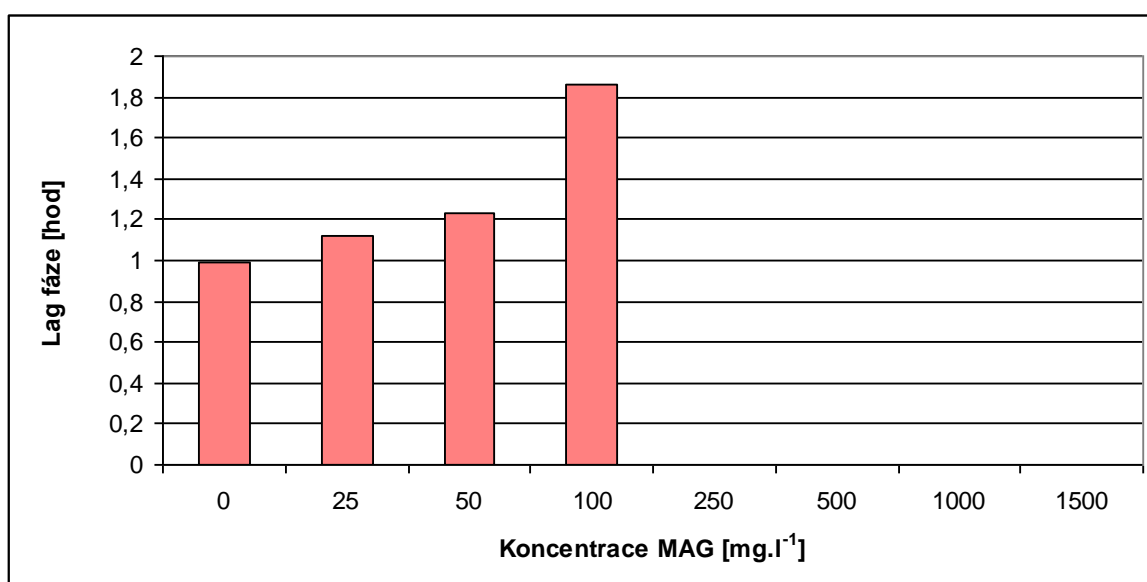
K výpočtu byl použit statistický software Unistat<sup>®</sup> 5.5.

## 6 VÝSLEDKY

### 6.1 Působení 1-monokaprinu na růst *Bacillus cereus* CCM 2010

Pro studium inhibičního účinku 1-monoacylglycerolu kyseliny kaprinové na růst *Bacillus cereus* CCM 2010 byly použity koncentrace MAG v rozmezí 25 – 1500 mg.l<sup>-1</sup>.

Z obrázku 15 lze pozorovat, že s rostoucí se koncentrací zvoleného MAG se postupně zvyšovaly hodnoty lag fáze, to znamená, že adaptace buněk na vytvořené prostředí s MAG trvala delší dobu. Lag fáze u kontroly, což byl bujón bez přídavku MAG, trvala 1 h a po přídavku monokaprinu o koncentraci 100 mg.l<sup>-1</sup> se zvýšila cca na 1,85 h.

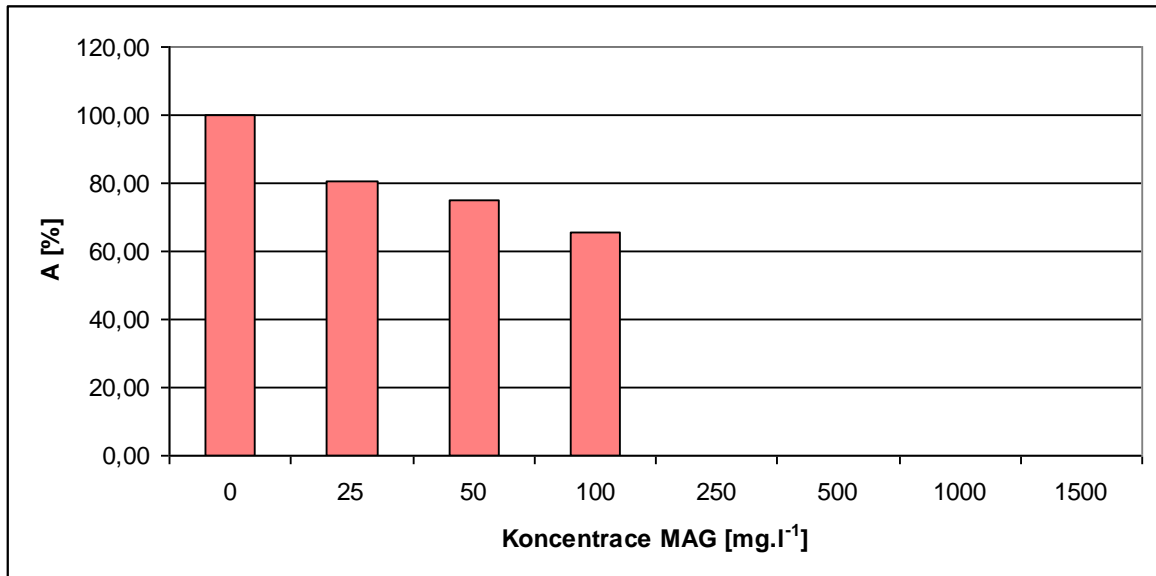


Obrázek 15. Vliv monokaprinu na dobu lag fáze *Bacillus cereus*

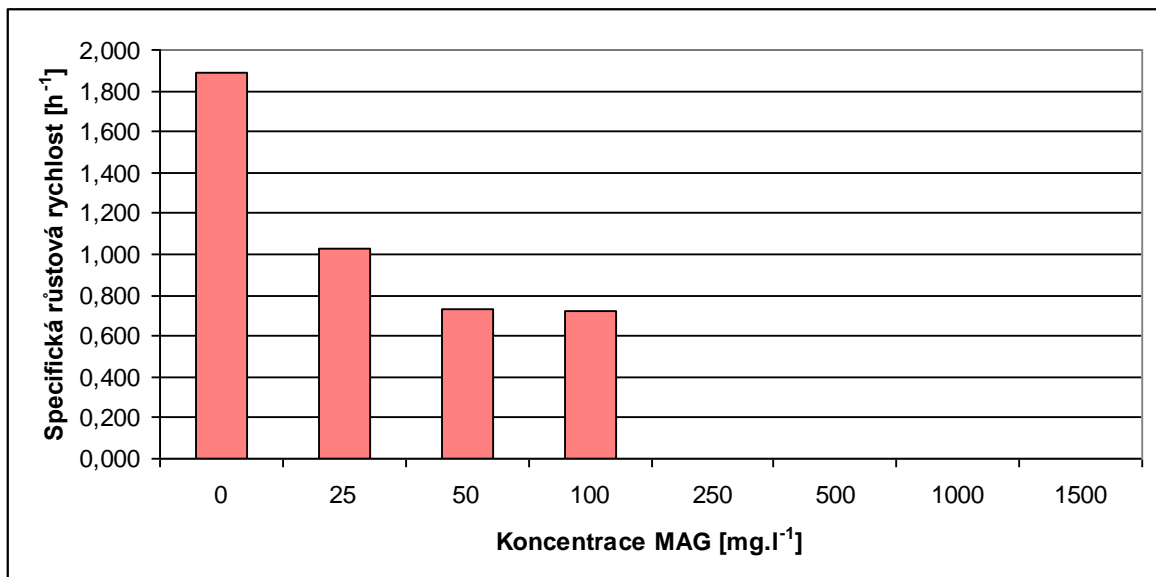
Z obrázku 16 lze pozorovat, že s růstem koncentrací MAG docházelo k postupnému snižování hustoty bakteriální suspenze. K největšímu poklesu došlo při koncentraci 100 mg.l<sup>-1</sup>, což po porovnání s kontrolním bujónem (100%) odpovídalo poklesu indexu růstu na 65 %. V rozmezí koncentrací monokaprinu 250 – 1500 mg.l<sup>-1</sup> došlo k úplné inhibici růstu *Bacillus cereus*.

Specifická růstová rychlost v kontrolním bujónu bez MAG odpovídala hodnotě 1,85 h<sup>-1</sup> a již při nejnižší aplikované koncentraci, která byla 25 mg.l<sup>-1</sup>, došlo k výraznému poklesu této specifické růstové rychlosti a to přibližně na 1 h<sup>-1</sup> (obrázek 17).

Obrázek 17 nám také znázorňuje, že s rostoucími koncentracemi MAG, u nichž byl ještě růst buněk pozorován, docházelo k postupnému snižování rychlosti růstu buněk bakterie *B. cereus*.



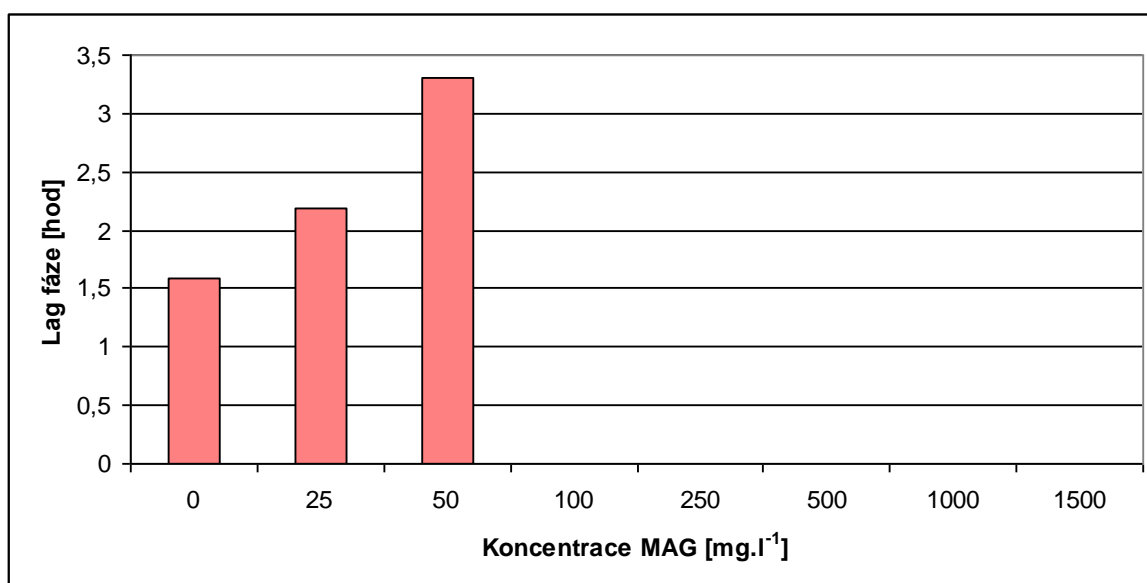
Obrázek 16. Vliv monokaprinu na hustotu buněčné suspenze *Bacillus cereus*



Obrázek 17. Vliv monokaprinu na specifickou růstovou rychlost *Bacillus cereus*

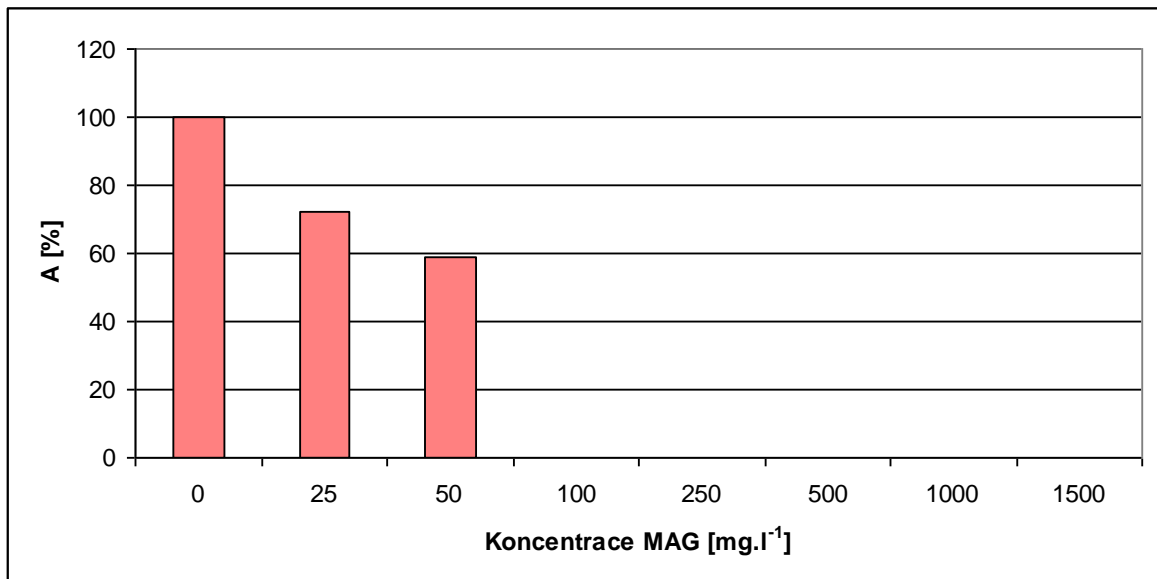
## 6.2 Působení 1-monokaprinu na růst *Bacillus subtilis* subsp. *spizizenii* CCM 4062

Pro sledování inhibičního účinku MAG na růst *Bacillus subtilis* CCM 4062 byly zvoleny stejné koncentrace 1-monoacylglycerolu kyseliny kaprinové jako v předchozím případě. U kontrolního bujónu byla doba lag fáze stanovena přibližně na 1,5 h (obrázek 18). Nejdelší adaptace (cca 3,3 h) buněk *B. subtilis* v přítomnosti monokaprinu byla zaznamenána při koncentraci 50 mg.l<sup>-1</sup>. U vyšších koncentrací (>100 mg.l<sup>-1</sup>) nebyl zaznamenán nárůst buněk *B. subtilis*.



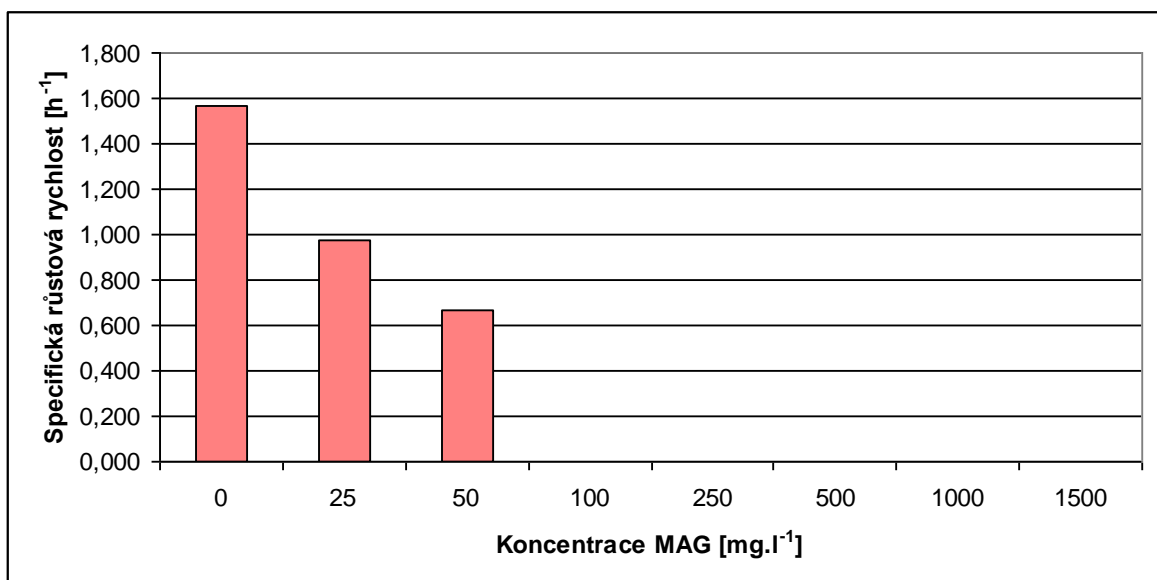
Obrázek 18. Vliv monokaprinu na dobu lag fáze *Bacillus subtilis*

Obrázek 19 znázorňuje snížení hustoty bakteriální suspenze. Po přidavku monokaprinu o koncentraci 50 mg.l<sup>-1</sup> došlo ke snížení hustoty bakteriální suspenze na 60 %. Zcela inhibiční účinky vykazoval monokaprin u koncentrací v rozmezí 250 – 1500 mg.l<sup>-1</sup>.



Obrázek 19. Vliv monokaprinu na hustotu buněčné suspenze *Bacillus subtilis*

Specifická růstová rychlost v kontrolním bujónu odpovídala přibližně hodnotě  $1,57 \text{ h}^{-1}$ . Snížení specifické růstové rychlosti lze opět pozorovat u koncentrace  $50 \text{ mg.l}^{-1}$ , jejíž hodnota ve srovnání s kontrolním bujónem klesla na  $0,69 \text{ h}^{-1}$  (obrázek 20).



Obrázek 20. Vliv monokaprinu na specifickou růstovou rychlost *Bacillus subtilis*



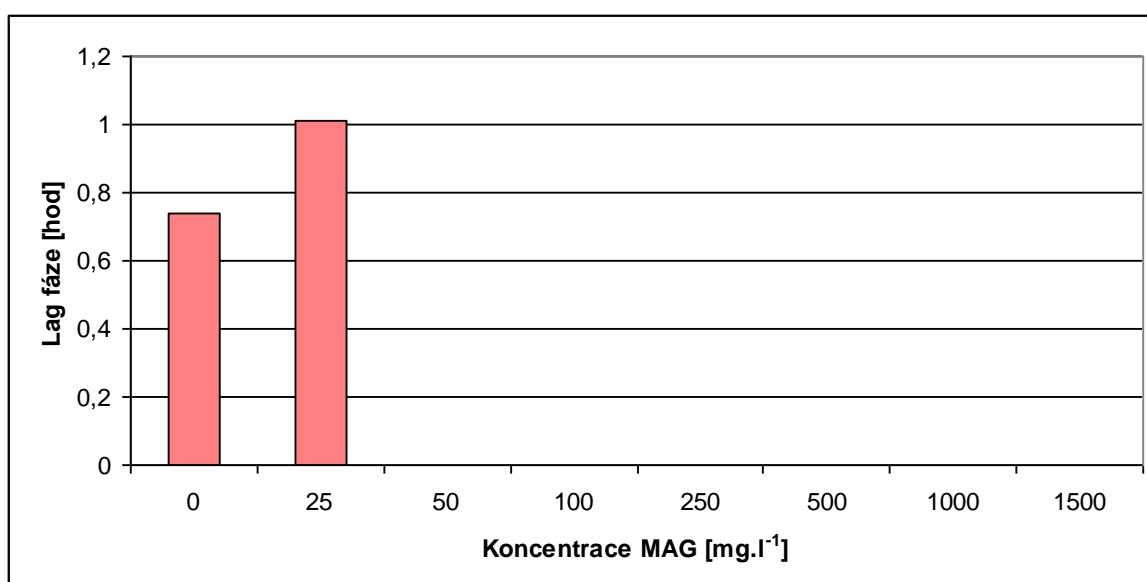
### 6.3 Působení 1-monokaprinu na růst *Micrococcus luteus* CCM 732

Dalším mikroorganismem, který byl použit pro studii působení vlivu monokaprinu o koncentracích 25 – 1500 mg.l<sup>-1</sup> na růst byl *Micrococcus luteus* CCM 732. K nárůstu bakterií došlo pouze u nejnižší koncentrace zvoleného MAG (25 mg.l<sup>-1</sup>).

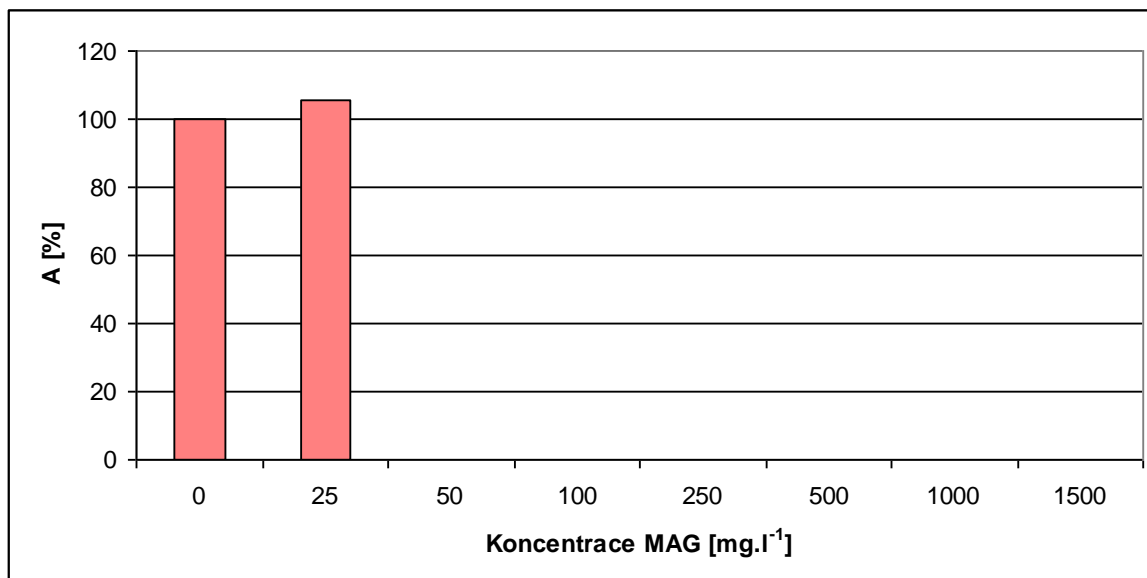
Doba lag fáze byla u kontrolního bujónu 0,75 h (obrázek 21). Adaptace buněk bakterie *Micrococcus luteus* na prostředí s MAG o koncentraci 25 mg.l<sup>-1</sup> se ve srovnáním s kontrolou bez monokaprinu zvýšila na 1 h. Po přidání MAG o koncentracích 50 – 1500 mg.l<sup>-1</sup> k bakteriální suspenzi došlo zcela k zastavení růstu buněk bakterie *Micrococcus luteus*.

Obrázek 22 znázorňuje, že nejnižší koncentrace zvoleného MAG nezpůsobila snížení hustoty bakteriální suspenze, ale naopak došlo k mírnému zvýšení hustoty buněk. Tento jev lze vysvětlit tím, že koncentrace 25 mg.l<sup>-1</sup> neměla výraznější vliv na růstové parametry buněk *M. luteus*, což bylo patrné i z doby lag fáze, která se při této koncentraci příliš nezvýšila.

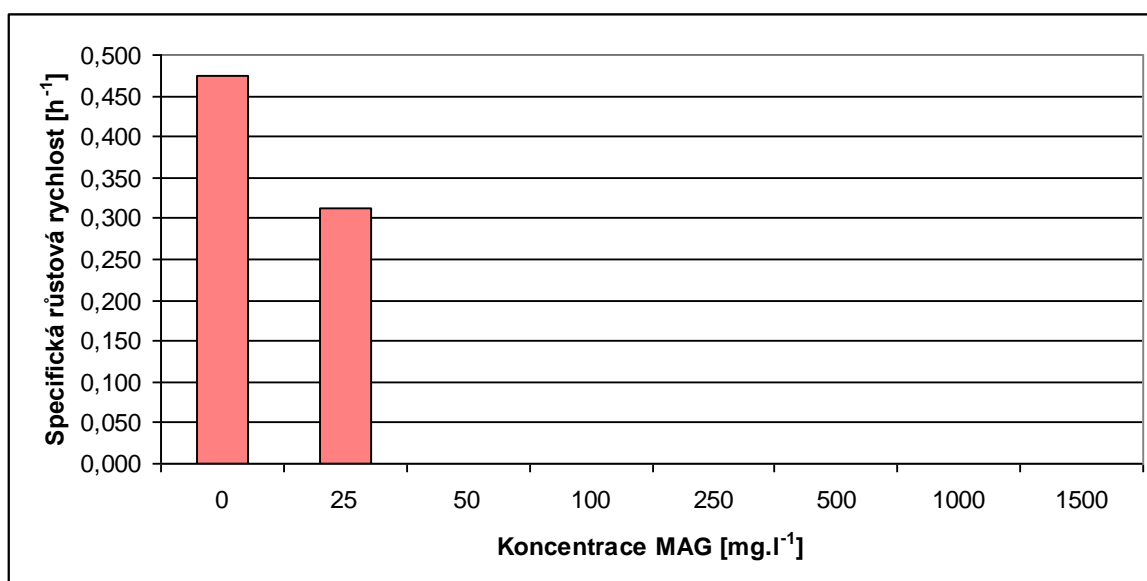
Specifická růstová rychlost bez přídavku MAG odpovídala hodnotě 0,47 h<sup>-1</sup> a po přidání monokaprinu o koncentraci 25 mg.l<sup>-1</sup> došlo k jejímu poklesu na 0,32 h<sup>-1</sup> (obrázek 23). U ostatních koncentrací (50 – 1500 mg.l<sup>-1</sup>) nebyl již zaznamenán růst buněk bakterie *M. luteus*.



Obrázek 21. Vliv monokaprinu na dobu lag fáze *Micrococcus luteus*



Obrázek 22. Vliv monokaprinu na hustotu buněčné suspenze *Micrococcus luteus*

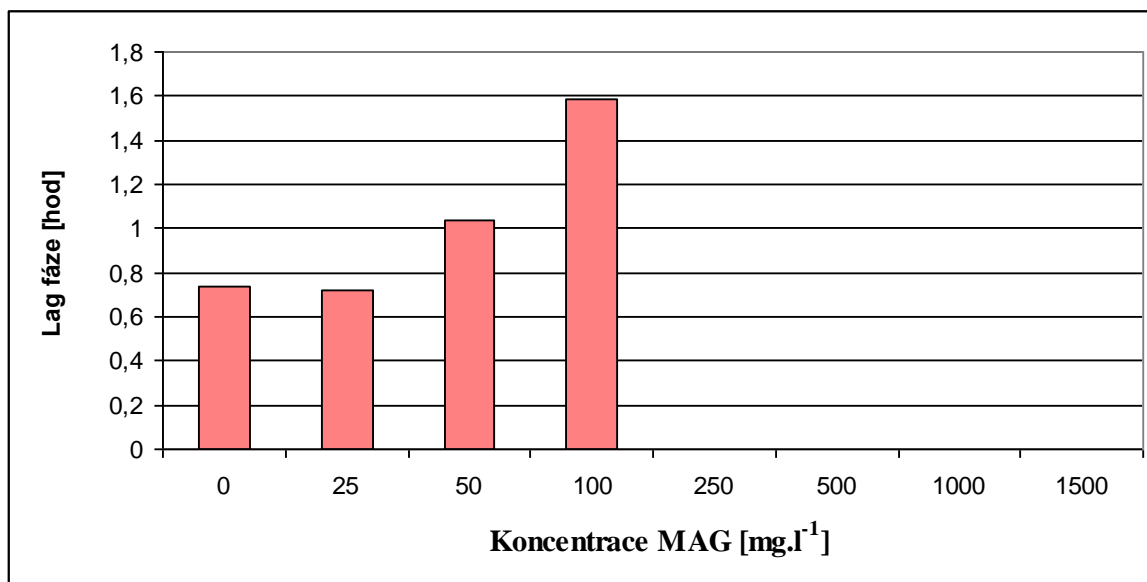


Obrázek 23. Vliv monokaprinu na specifickou růstovou rychlost  
*Micrococcus luteus*

#### 6.4 Působení 1-monokaprinu na růst *Enterococcus faecalis* CCM 4224

Na obrázku 24 můžeme sledovat růst bakterie *Enterococcus faecalis* CCM 4224 v přítomnosti MAG.

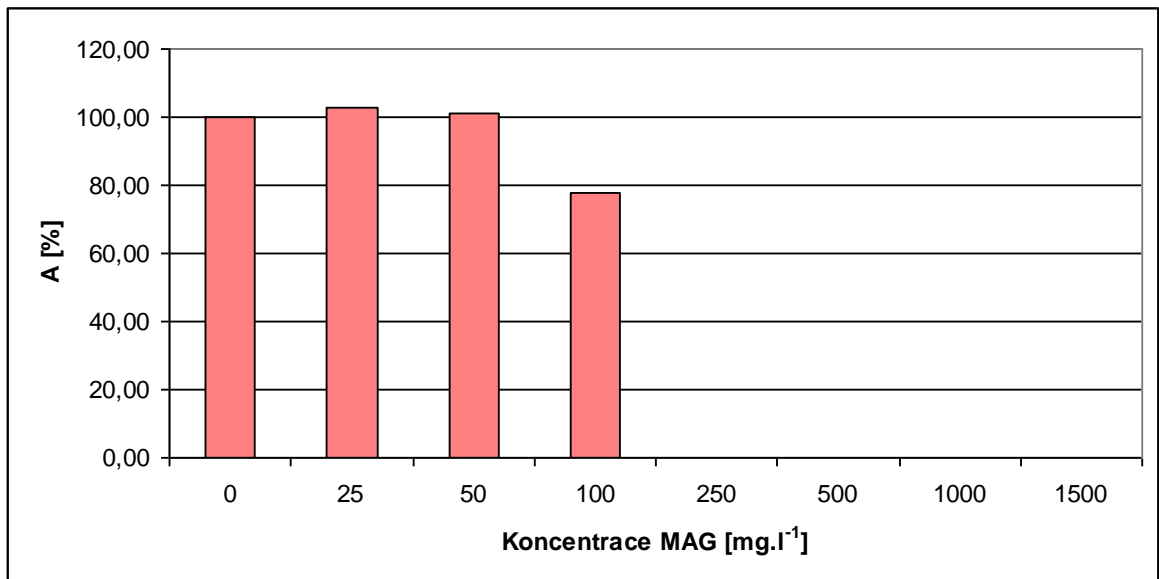
Po 24 hodinové kultivaci v přítomnosti monokaprinu o koncentracích v rozmezí 25 – 1500 mg.l<sup>-1</sup> vzrostla doba lag fáze ve srovnání s kontrolním bujónem (0,54 h) nejvíce u koncentrace 100 mg.l<sup>-1</sup> a to na 1,6 h. U koncentrací 25 a 50 mg.l<sup>-1</sup> nedošlo k výraznějšímu zvýšení doby lag fáze oproti kontrolnímu bujónu.



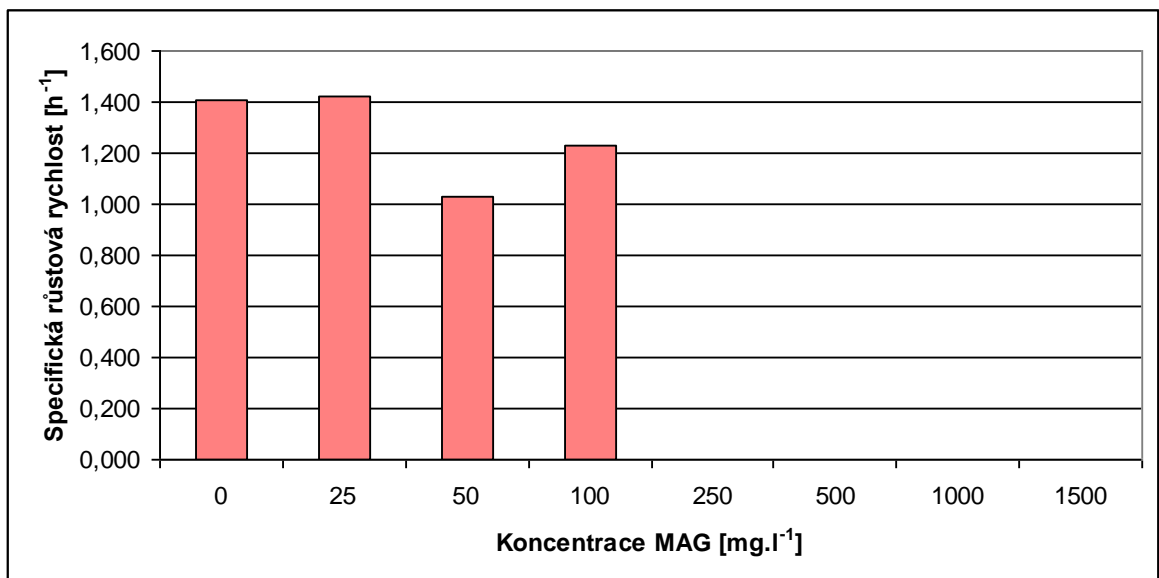
Obrázek 24. Vliv monokaprinu na dobu lag fáze *Enterococcus faecalis*

U koncentrací v rozmezí 25 – 50 mg.l<sup>-1</sup> nedošlo k poklesu hustoty bakteriální suspenze, což svědčí o tom, že při těchto koncentracích nejevil monokaprin inhibiční účinky vůči této bakterii (obrázek 25). Pokles růstu buněk byl sledován až při koncentraci MAG 100 mg.l<sup>-1</sup> a to na 78 %.

Snížení specifické růstové rychlosti v přítomnosti monokaprinu po srovnání s kontrolním bujónem bez přídavku MAG nebyla příliš výrazná. Nejnižší hodnota byla zaznamenána (1,03 h<sup>-1</sup>) při koncentraci 50 mg.l<sup>-1</sup> (obrázek 26).



Obrázek 25. Vliv monokaprinu na hustotu buněčné suspenze  
*Enterococcus faecalis*



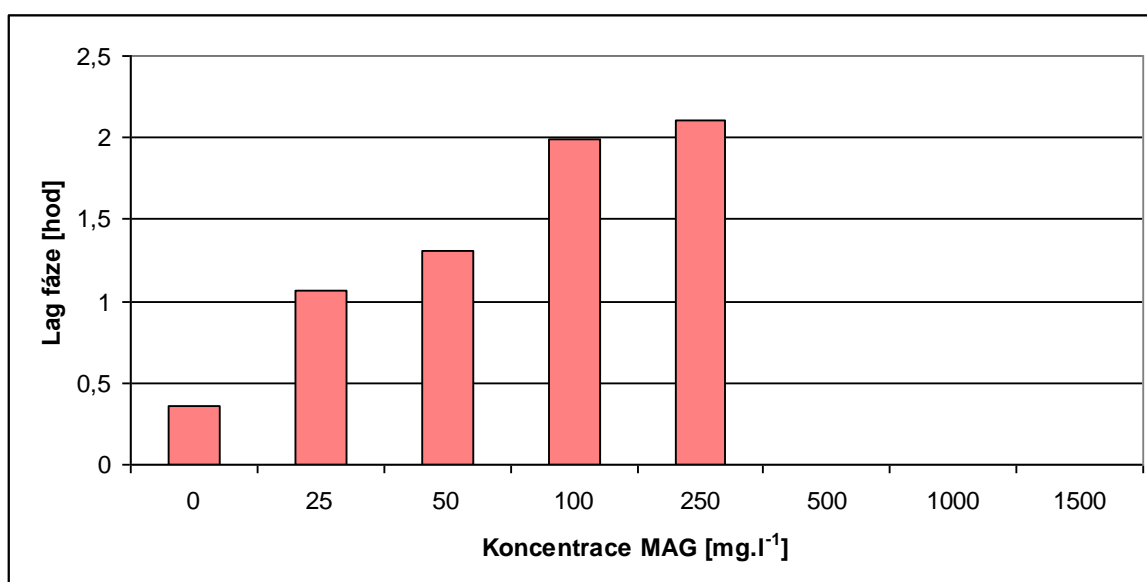
Obrázek 26. Vliv monokaprinu na specifickou růstovou rychlost  
*Enterococcus faecalis*

## 6.5 Působení 1-monokaprinu na růst *Staphylococcus aureus* subsp. *aureus* CCM 3953

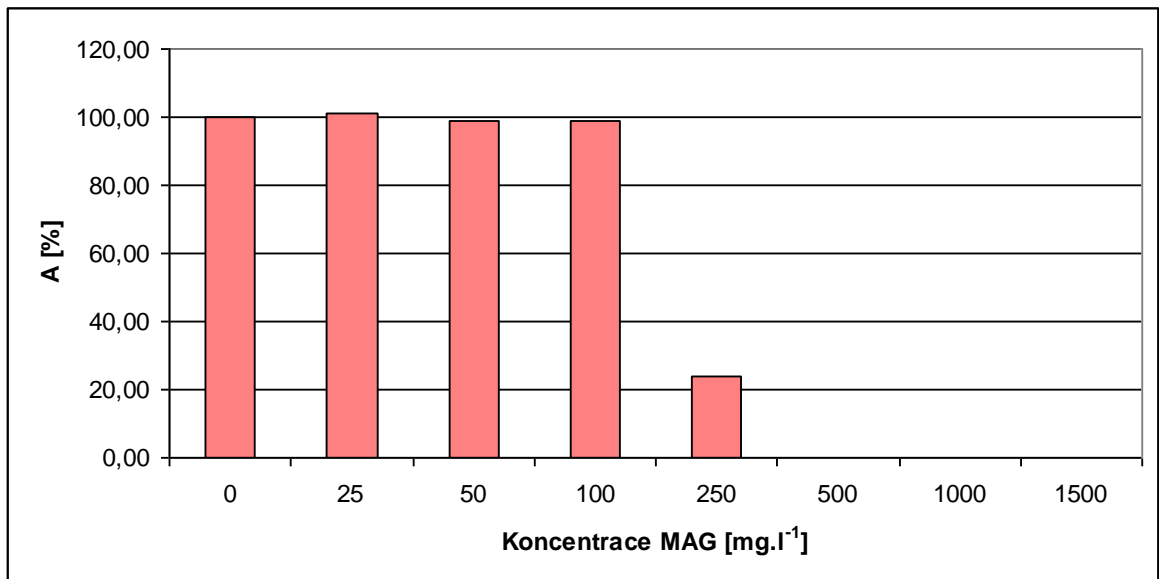
Monokaprin o koncentraci v rozmezí 25 – 1500 mg.l<sup>-1</sup> byl také použit pro studium inhibice růstu poslední zvolené grampozitivní bakterie *Staphylococcus aureus* CCM 3953. Z obrázku 27 lze pozorovat, že se stoupající koncentrací monokaprinu se postupně zvyšovala doba adaptace na prostředí s monokaprinem a nejdelší lag fáze (2 h) byla dosažena při koncentraci 250 mg.l<sup>-1</sup>.

Při koncentracích v rozmezí 25 – 100 mg.l<sup>-1</sup> nejevil monokaprin žádné inhibiční účinky na bakterii *Staphylococcus aureus*, ale jakmile byla tato koncentrace navýšena na 250 mg.l<sup>-1</sup> došlo ke snížení hustoty bakteriální suspenze na 24 % (obrázek 28). Koncentrace MAG nad 250 mg.l<sup>-1</sup> byla zcela inhibiční pro tuto bakterii.

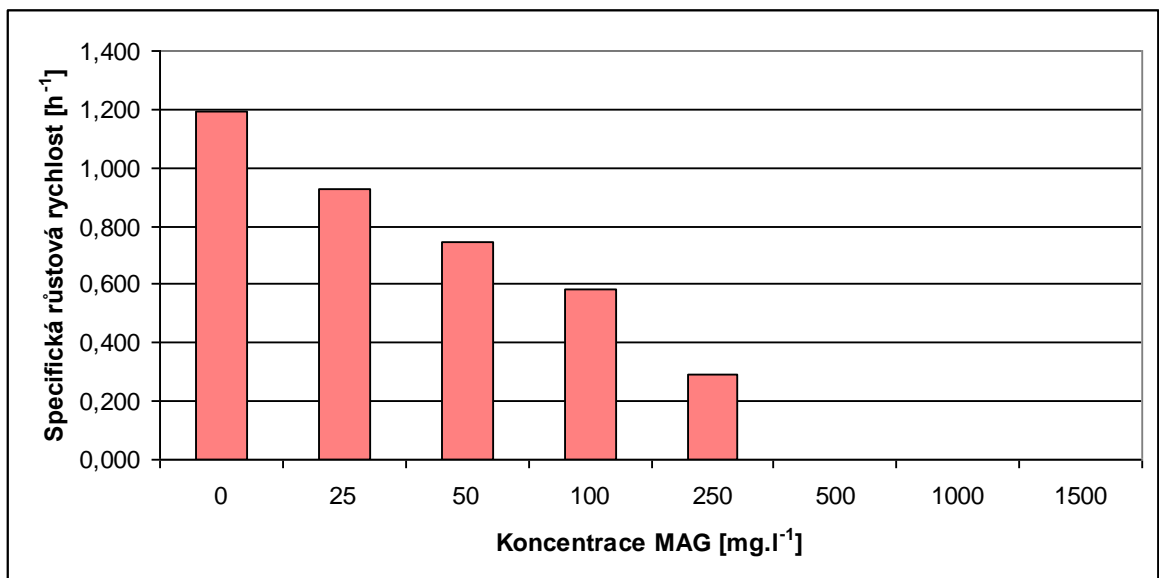
Nejmenší specifická růstová rychlost buněk bakterie *Staphylococcus aureus* byla zaznamenána při nejnižší zvolené koncentraci MAG. Naopak nejvýraznější pokles specifické růstové rychlosti způsobil monokaprin při koncentraci 250 mg.l<sup>-1</sup> a to na cca 0,3 h<sup>-1</sup>. Můžeme tedy tvrdit, že se zvyšující se koncentrací 1-monoacylglycerolu kyseliny kaprinové dochází u bakterie *Staphylococcus aureus* k rychlejšímu poklesu specifické růstové rychlosti (obrázek 29).



Obrázek 27. Vliv monokaprinu na dobu lag fáze *Staphylococcus aureus*



Obrázek 28. Vliv monokaprinu na hustotu buněčné suspenze  
*Staphylococcus aureus*

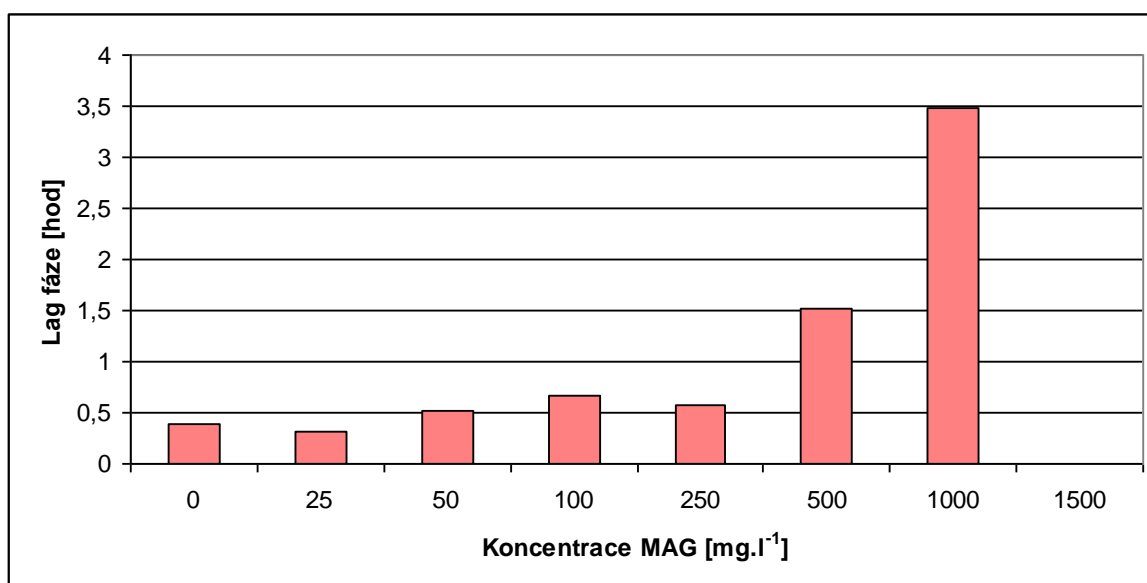


Obrázek 29. Vliv monokaprinu na specifickou růstovou rychlost  
*Staphylococcus aureus*

## 6.6 Působení 1-monokaprinu na růst *Salmonella enterica* subsp. *enterica* ser. Enteritidis CCM 4420

Pro sledování vlivu monokaprinu na růst buněk bakterie *Salmonella enterica* CCM 4420 byl opět použit 1-monoacylglycerol kyseliny kaprinové o koncentracích v rozmezí 25 – 1500 mg.l<sup>-1</sup>.

Buňky bakterie *Salmonella enterica* rostly v prostředí s monokaprinem až do koncentrace 1000 mg.l<sup>-1</sup>. Při této koncentraci byla zjištěna doba lag fáze 3,5 h, což je výrazné zvýšení oproti růstu v prostředí bez MAG, kdy byla doba lag fáze kratší než 0,5 h (obrázek 30). U koncentrací MAG v rozmezí 25 – 250 mg.l<sup>-1</sup> byla pozorována přibližně stejná doba adaptace buněk jako u kontroly a to cca 0,5 h.

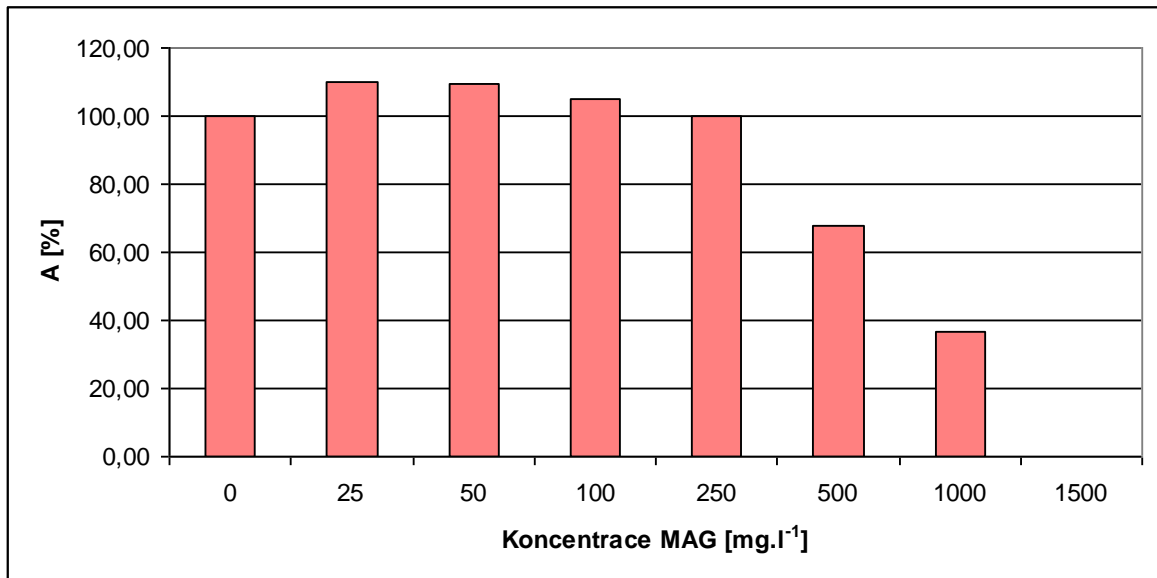


Obrázek 30. Vliv monokaprinu na dobu lag fáze *Salmonella enterica*

Při aplikaci monokaprinu v koncentracích 25 – 250 mg.l<sup>-1</sup> nebyl zaznamenán prakticky žádný inhibiční efekt na buňky bakterie *Salmonella enterica*.

Z obrázku 31 je patrné, že v přítomnosti monokaprinu o koncentracích 25 – 100 mg.l<sup>-1</sup> rostly buňky stejně jako v kontrolním bujónu. U některých koncentrací byl růst dokonce o něco vyšší. Tento jev je pravděpodobně způsoben tím, že buňky mohly MAG využívat jako zdroj uhlíku, a tím došlo k nepatrně vyššímu nárůstu oproti kontrole.

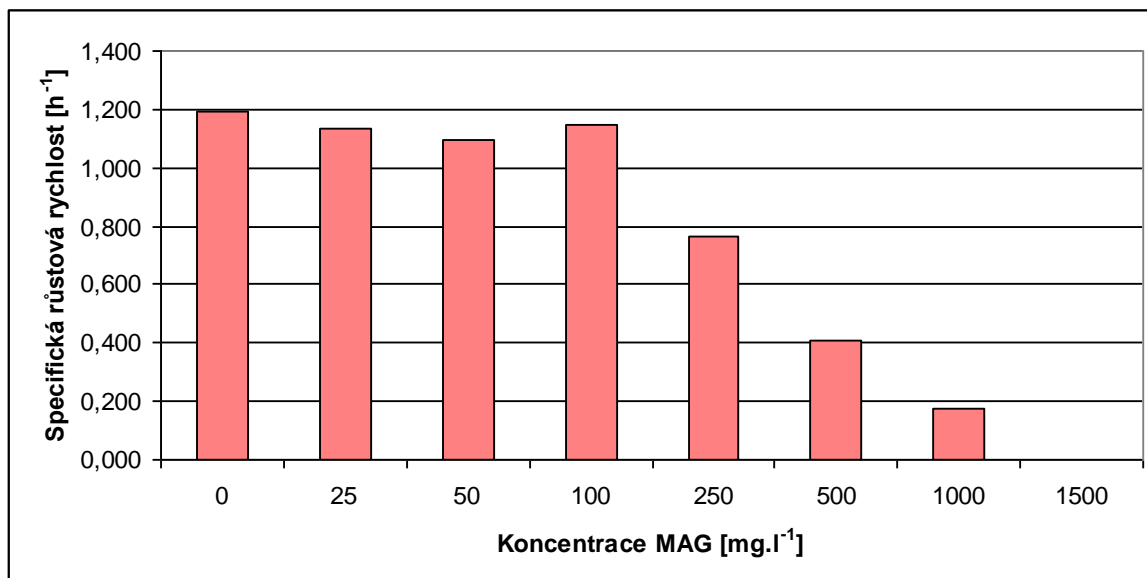
Nejúčinnější v inhibici bakterie *Salmonella enterica* byla druhá nejvyšší koncentrace monokaprinu ( $1000 \text{ mg.l}^{-1}$ ). Hustota bakteriální suspenze se snížila přibližně na 37 %. Výraznější pokles růstu bakteriální suspenze byl dosažen u koncentrací v rozmezí 250 –  $1000 \text{ mg.l}^{-1}$  (obrázek 31).



Obrázek 31. Vliv monokaprinu na hustotu buněčné suspenze *Salmonella enterica*

Specifická růstová rychlost v kontrolním bujónu byla přibližně  $1,2 \text{ h}^{-1}$ . K nejvýraznějšímu poklesu rychlosti růstu bakteriální suspenze došlo až při druhé nejvyšší koncentraci ( $1000 \text{ mg.l}^{-1}$ ) a to na cca  $0,2 \text{ h}^{-1}$  (obrázek 32).

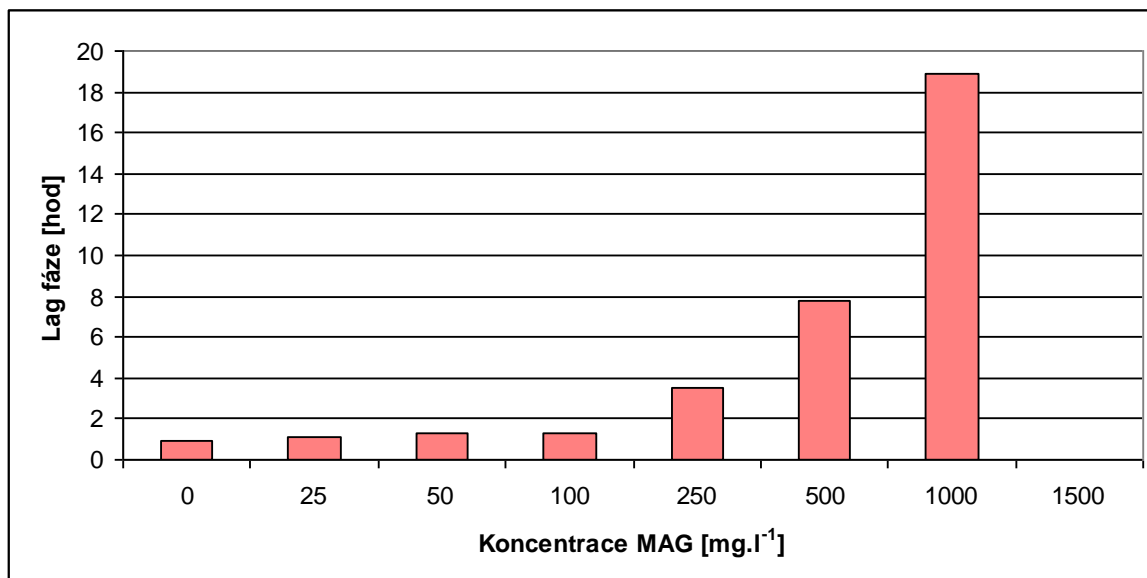




Obrázek 32. Vliv monokaprinu na specifickou růstovou rychlost  
*Salmonella enterica*

### 6.7 Působení 1-monokaprinu na růst *Pseudomonas aeruginosa* CCM 3955

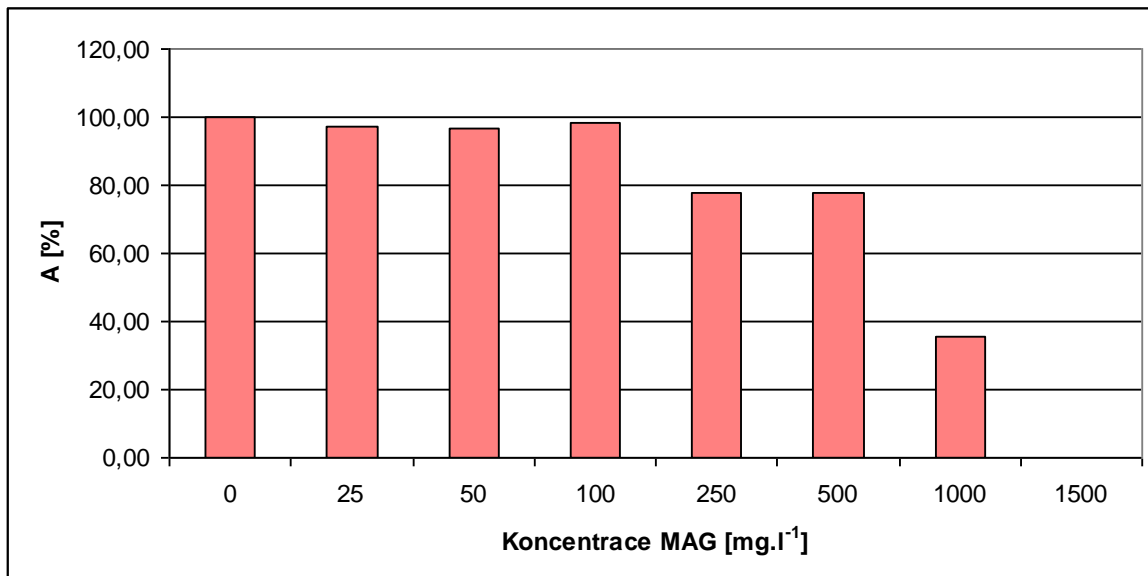
Pro zkoumání inhibičního účinku monoacylglycerolu kyseliny kaprinové vůči bakterii *Pseudomonas aeruginosa* CCM 3955 byly použity opět koncentrace v rozmezí 25 – 1500 mg.l<sup>-1</sup>. Po 24 hodinové kultivaci byla u koncentrací v rozmezí 25 – 100 mg.l<sup>-1</sup> zaznamenána nejkratší doba lag fáze, a to kolem cca 1 h. Poměrně delší dobu přizpůsobování se buněk na prostředí s MAG (cca 8 h) způsoboval monokaprin při koncentraci 500 mg.l<sup>-1</sup> (obrázek 33). Nejdéle se buňky bakterie *Pseudomonas aeruginosa* přizpůsobovaly přítomnosti MAG při druhé nejvyšší koncentraci (1000 mg.l<sup>-1</sup>), u níž byla zaznamenána doba lag fáze 19 h.



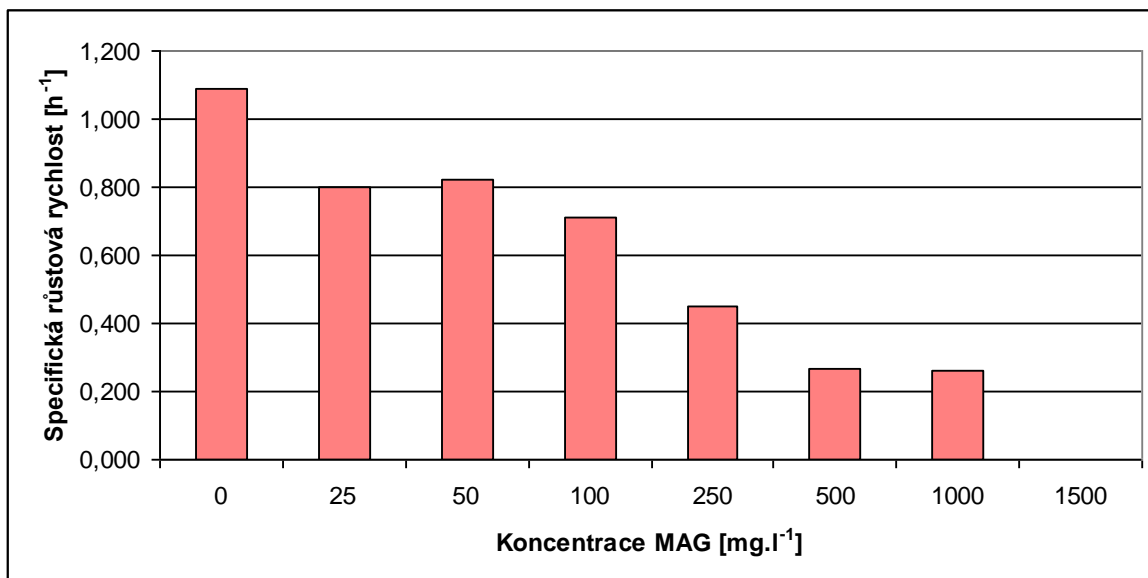
Obrázek 33. Vliv monokaprinu na dobu lag fáze *Pseudomonas aeruginosa*

Obrázek 34 znázorňuje vliv MAG na optickou denzitu buněk *P. aeruginosa*. Nižší koncentrace MAG nezpůsobily téměř žádný pokles bakteriální suspenze oproti kontrole bez monokaprinu. Teprve při koncentracích MAG 250 a 500 mg.l<sup>-1</sup> byl pozorován mírný pokles indexu růstu buněk, a to na cca 80 %. Největší snížení hustoty bakteriální suspenze (oproti kontrole bez MAG) na 36 % způsobil monokaprin při koncentraci 1000 mg.l<sup>-1</sup>. Největší inhibiční účinek vůči bakterii *Pseudomonas aeruginosa* vykazoval monokaprin při nejvyšší koncentraci (1500 mg.l<sup>-1</sup>), při níž nebyl pozorován nárůst této bakterie.

Při vyšších koncentracích došlo také k výraznému snížení specifické růstové rychlosti (obrázek 35). V kontrolním bujónu byla specifická růstová rychlost 1,1 h<sup>-1</sup>. Při nejnižší zvolené koncentraci došlo pouze k mírnému poklesu této rychlosti a teprve až při koncentracích 500 a 1000 mg.l<sup>-1</sup> byly více patrné inhibiční účinky monokaprinu, neboť došlo ke snížení specifické růstové rychlosti na 0,26 h<sup>-1</sup>.



Obrázek 34. Vliv monokaprinu na hustotu buněčné suspenze  
*Pseudomonas aeruginosa*



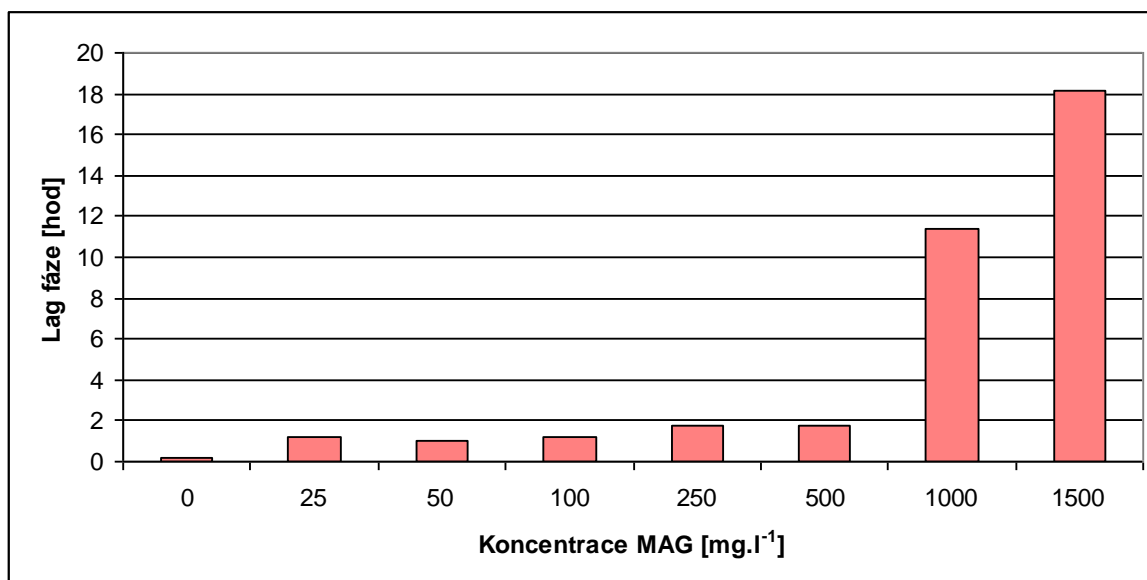
Obrázek 35. Vliv monokaprinu na specifickou růstovou rychlost  
*Pseudomonas aeruginosa*

## 6.8 Působení 1-monokaprinu na růst *Proteus mirabilis* CCM 7188

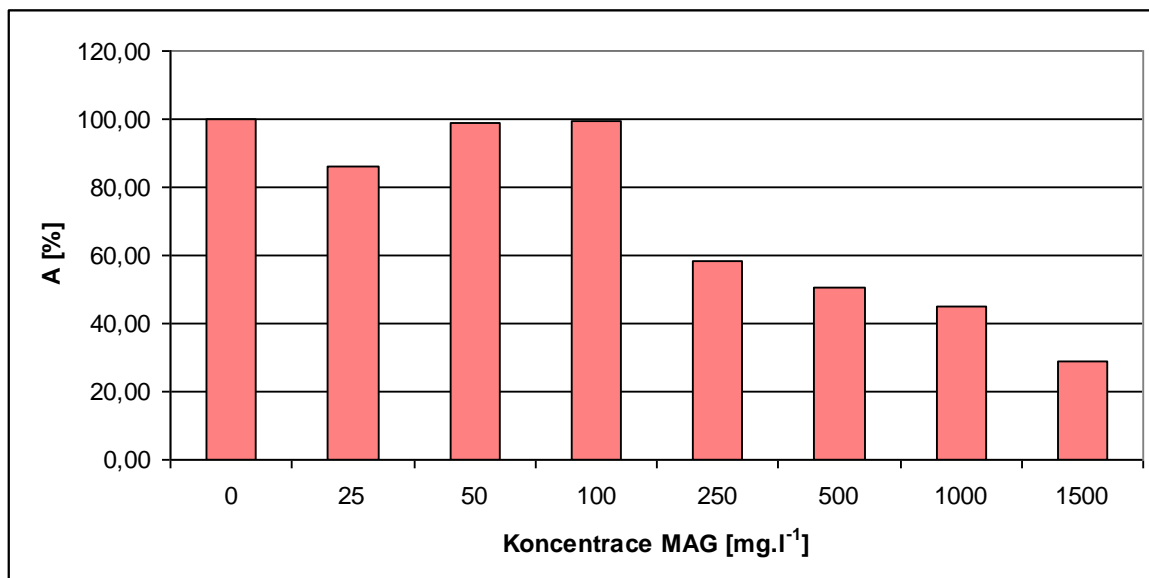
Výsledky účinku MAG kyseliny kaprinové na růst buněk *Proteus mirabilis* CCM 7188 znázorňuje obrázek 36.

Po 24 hodinové kultivaci lze pozorovat při koncentracích 25 – 500 mg.l<sup>-1</sup> mírné zvýšení doby lag fáze ve srovnání s kontrolním bujónem bez monokaprinu (0,2 h). Výraznějšího zvýšení doby lag fáze bylo však dosaženo až při vyšších koncentracích (1000 a 1500 mg.l<sup>-1</sup>), kde doba adaptace buněk odpovídala při koncentraci 1000 mg.l<sup>-1</sup> hodnotě 11 h a v případě nejvyšší koncentrace době 18 h.

Při nižších koncentracích se také téměř nezměnila hustota bakteriální suspenze, což dokazuje, že monokaprin při nižších koncentracích nemá příliš inhibiční účinky na buňky bakterie *Proteus mirabilis* (obrázek 37). Avšak při koncentracích 250 mg.l<sup>-1</sup> a vyšších byl zaznamenán pokles hustoty bakteriálních buněk až na 30 % po srovnání s kontrolním bujónem bez monokaprinu. Nejvíce byl tedy monokaprin inhibující při nejvyšší koncentraci (1500 mg.l<sup>-1</sup>).

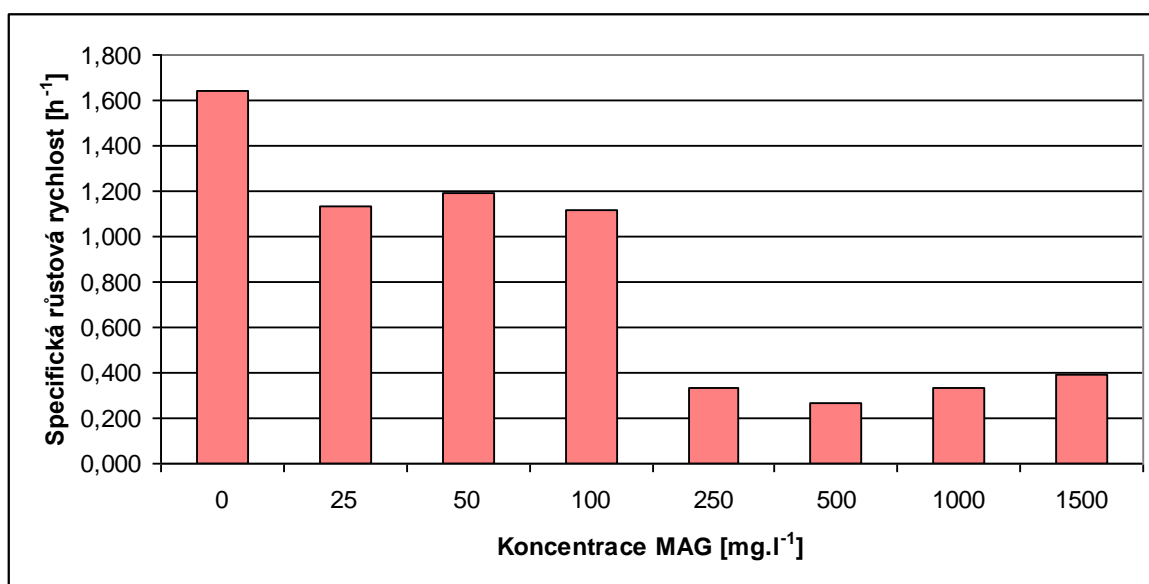


Obrázek 36. Vliv monokaprinu na dobu lag fáze *Proteus mirabilis*



Obrázek 37. Vliv monokaprinu na hustotu buněčné suspenze *Proteus mirabilis*

U bakterie *Proteus mirabilis* došlo působením monokaprinu ke snižování specifické růstové rychlosti (obrázek 38). Specifická růstová rychlost kontrolního bujónu bez MAG byla  $1,65 \text{ h}^{-1}$  a při aplikování MAG o koncentracích v rozmezí  $250 - 1500 \text{ mg.l}^{-1}$  došlo k poměrně výraznému poklesu této specifické růstové rychlosti. Nejvyšší pokles rychlosti růstu bakteriálních buněk *P. mirabilis* byl zaznamenán při koncentraci  $500 \text{ mg.l}^{-1}$  a to cca na  $0,27 \text{ h}^{-1}$ .



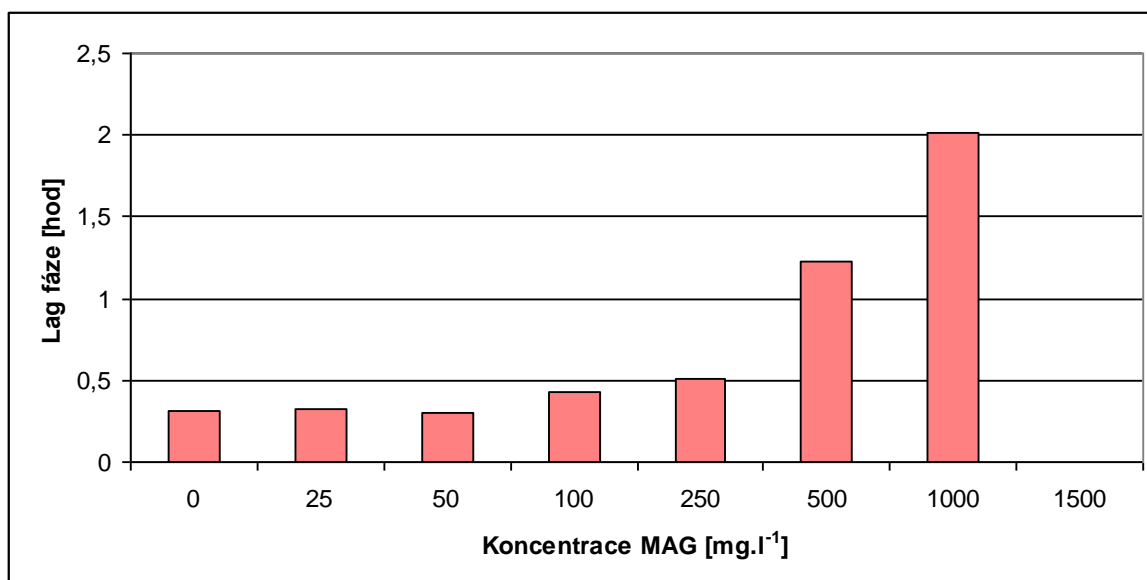
Obrázek 38. Vliv monokaprinu na specifickou růstovou rychlost *Proteus mirabilis*

## 6.9 Působení 1-monokaprinu na růst *Citrobacter freundii* CCM 7187

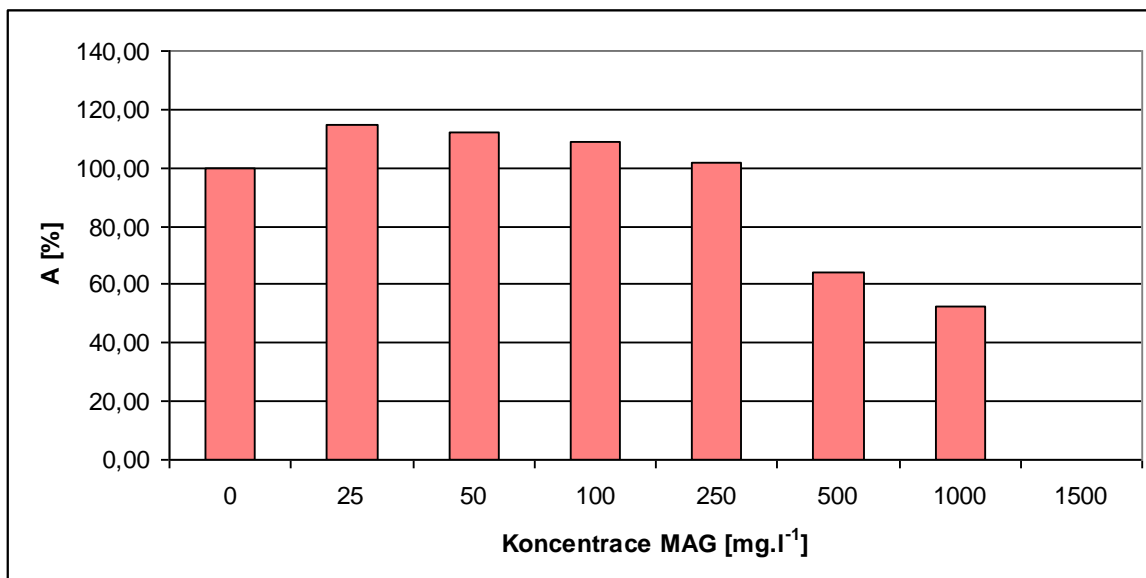
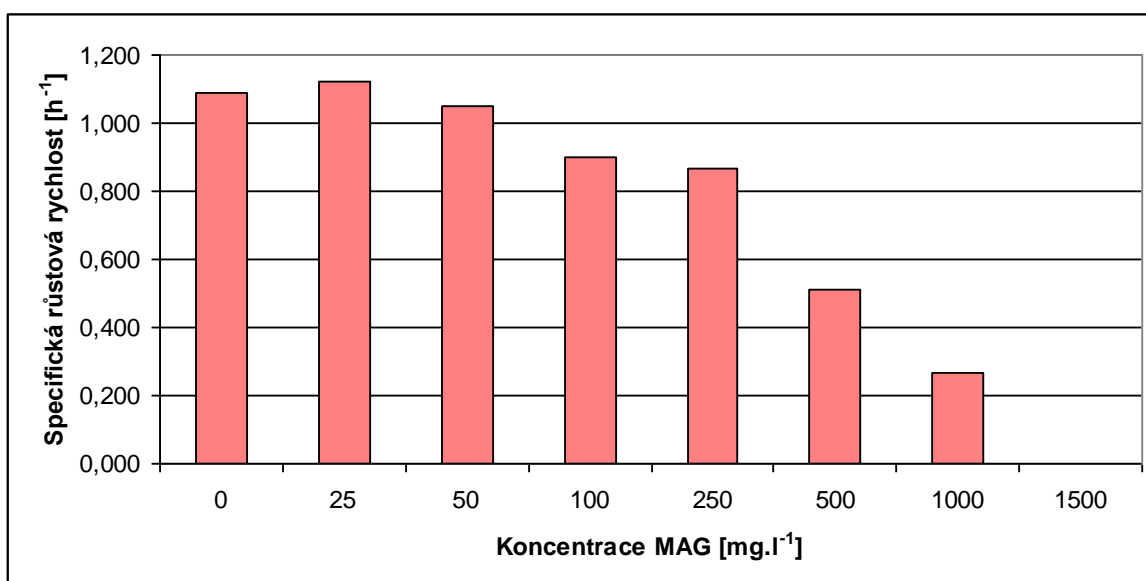
Další mikroorganismus, na jehož růst byl testován vliv 1-monoacylglycerolu kyseliny kapriové, byl *Citrobacter freundii* CCM 7187. Pro studie byly opět připraveny koncentrace monokaprinu v rozmezí 25 – 1500 mg.l<sup>-1</sup> a opětovné kultivování po dobu 24 hodin. S postupným zvyšováním koncentrací se prodlužovala doba přizpůsobování buněk prostředí s MAG (obrázek 39). Monokaprin prodloužil nejvíce dobu lag fáze při koncentraci 1000 mg.l<sup>-1</sup>, a to na 2 h ve srovnání s kontrolním bujónem bez MAG (cca 0,3 h).

Monokaprin při koncentracích v rozmezí 25 – 250 mg.l<sup>-1</sup> neměl inhibiční účinky na růst *C. freundii* CCM 7187. Inhibiční účinky začal zvolený MAG vykazovat až při vyšších koncentracích (500 a 1000 mg.l<sup>-1</sup>), při nichž se hustota bakteriálních buněk snížila asi na 30 % (obrázek 40).

Při stejných koncentracích (500 a 1000 mg.l<sup>-1</sup>) můžeme také sledovat největší pokles specifické růstové rychlosti (obrázek 41). U kontrolního bujónu odpovídá specifická růstová rychlost hodnotě asi 1,1 h<sup>-1</sup> a její pokles na hodnotu 0,27 h<sup>-1</sup> byl způsoben přidávkem monokaprinu o koncentraci 1000 mg.l<sup>-1</sup>. Při nejvyšší aplikované koncentraci nebyl zaznamenán žádný nárůst bakterie *Citrobacter freundii*.



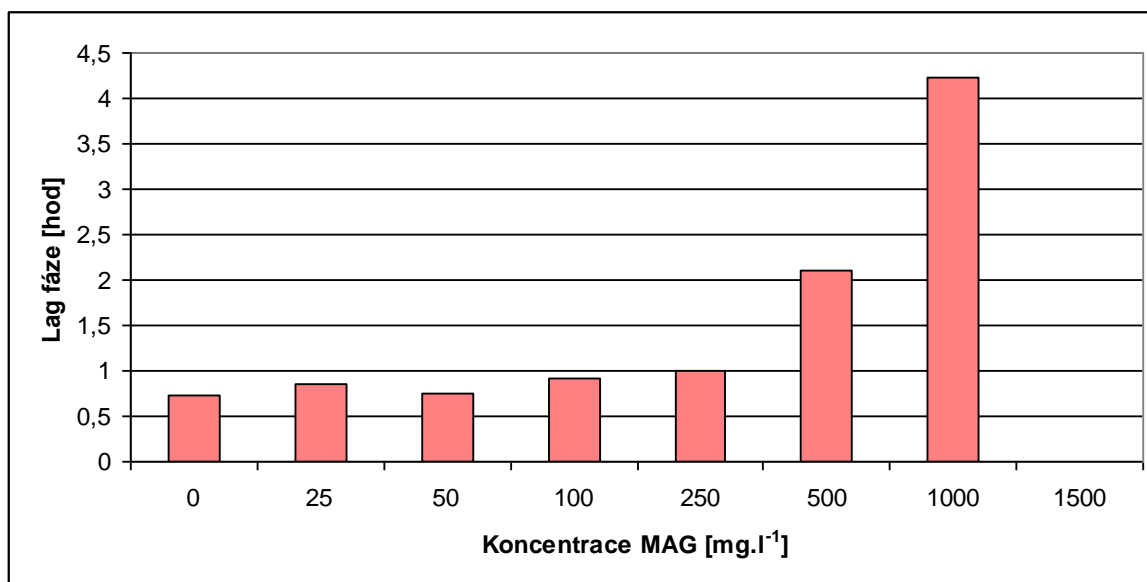
Obrázek 39. Vliv monokaprinu na dobu lag fáze *Citrobacter freundii*

Obrázek 40. Vliv monokaprinu na hustotu buněčné suspenze *Citrobacter freundii*Obrázek 41. Vliv monokaprinu na specifickou růstovou rychlost *Citrobacter freundii*

### 6.10 Inhibiční účinek 1-monokaprinu na růst *Escherichia coli* CCM 3954

Poslední gramnegativní bakterii, u níž byl studován pokles růstu vlivem monokaprinu, byla *Escherichia coli* CCM 3954. Zvolený MAG byl opět použit v rozmezí koncentrací 25 – 1500 mg.l<sup>-1</sup> a opět byla použita kultivace po dobu 24 hodin.

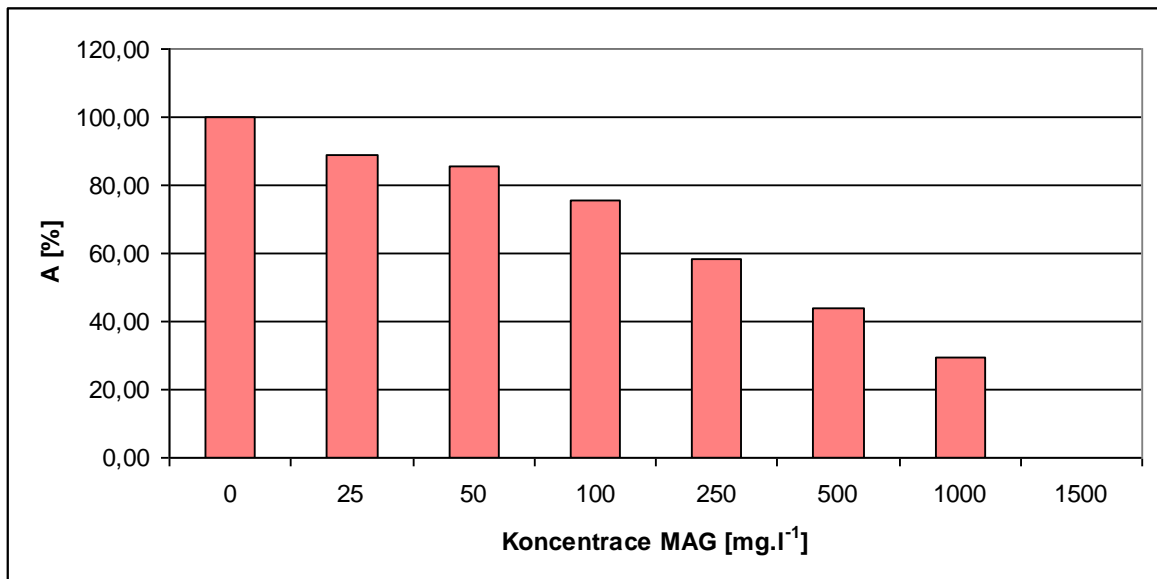
Obrázek 42 znázorňuje, že stejně jako u bakterie *Citrobacter freundii* došlo při nižších koncentracích ( 25 – 250 mg.l<sup>-1</sup>) pouze k méně výraznému prodloužení doby lag fáze (okolo 1 h) oproti kontrolním bujónu bez přídavku monokaprinu (přibližně 0,7 h). Ve srovnání s kontrolním bujónem byla doba adaptace buněk v prostředí s monokaprinem nejdelší při koncentraci 1000 mg.l<sup>-1</sup> (více než 4 h).



Obrázek 42. Vliv monokaprinu na dobu lag fáze *Escheichia coli*

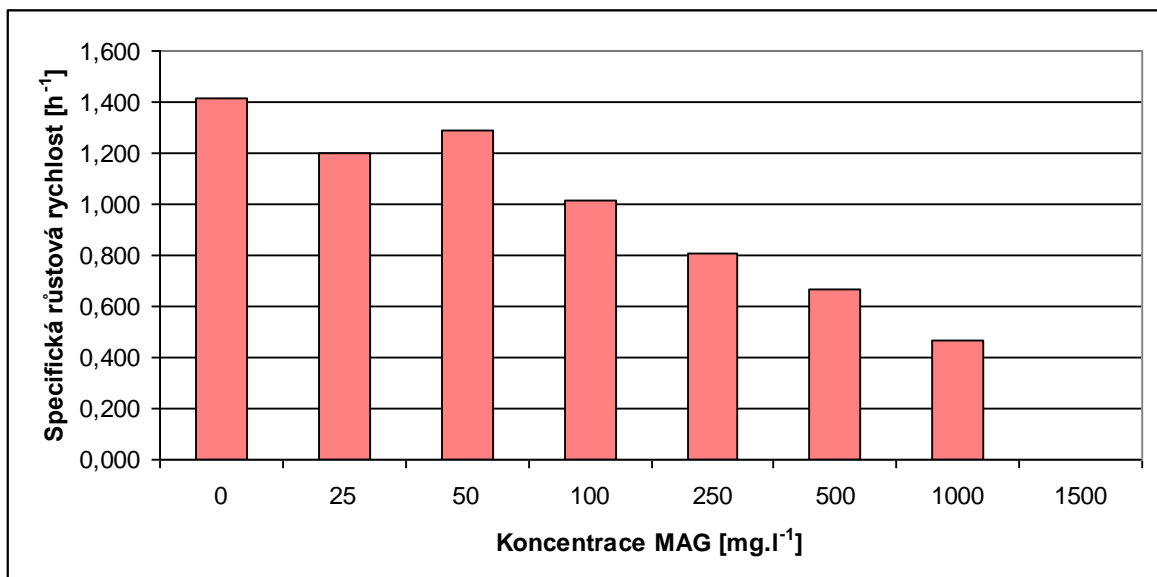
Na obrázku 43 můžeme pozorovat, že s růstem koncentrací se snižovala hustota bakteriálních buněk. Při nejvyšší testované koncentraci (1500 mg.l<sup>-1</sup>) vykazoval monokaprin největší inhibiční účinek. Nejvyšší koncentrace (1000 mg.l<sup>-1</sup>), při níž byl ještě zaznamenán růst bakterie *Escherichia coli*, snížila hustotu bakteriální suspenze na 30 % .





Obrázek 43. Vliv monokaprinu na hustotu buněčné suspenze *Escherichia coli*

Přídavkem 1-monoacylglycerolu kyseliny kaprinové o koncentraci 1000 mg.l<sup>-1</sup> se snížila také specifická růstová rychlost buněk bakterie *Escherichia coli* z hodnoty 1,4 h<sup>-1</sup>, což byla hodnota specifické růstové rychlosti buněk přítomných v bujónu bez MAG, na hodnotu 0,46 h<sup>-1</sup> (obrázek 44).



Obrázek 44. Vliv monokaprinu na specifickou růstovou rychlost *Escherichia coli*

## 7 DISKUZE

Lidé jsou každý den vystaveni vlivu mnoha chemických látek. Některé jsou pro život prospěšné a důležité (např. hlavní složky potravin), avšak některé, které jsou přítomny v potravinách nebo prostředí mohou vyvolávat nežádoucí zdravotní problémy [50]. V potravinách se mohou vyskytovat chemické látky jak rostlinného tak i živočišného původu. V procesu výroby mohou být potraviny kontaminovány řadou mikroorganismů a může tak dojít k porušení zdravotní nezávadnosti potravin a tím k ohrožení lidského zdraví. Mikroorganismy, které se do lidského organismu dostávají potravou mohou vyvolat onemocnění jako je např. salmonelóza. Mikroorganismy mohou také lidské zdraví ohrozit tak, že v potravině vytvoří toxické látky, které po konzumaci u člověka mohou vyvolat závažná onemocnění. Příkladem takových látek mohou být např. botulotoxin, toxin „zlatého stafylokoků“, toxiny plísní apod. [6].

Mikroorganismy lze v potravinách inhibovat fyzikálními metodami (např. zvýšením nebo snížením teploty, snížením vodní aktivity prostředí) nebo také přidáním látek s antimikrobiálními vlastnostmi [24]. Mezi takové látky se řadí také aditivní (přídavné) látky, jejichž vlastností je nejvíce využíváno v potravinářském průmyslu. V současné době jsou v potravinářství jako aditivní látky hojně používány monoacylglyceroly mastných kyselin.

Cílem této práce bylo sledování inhibičního účinku monoacylglycerolu u 5 kmenů grampozitivních a 5 kmenů gramnegativních bakterií. Pro testování inhibičního účinku monoacylglycerolu byl zvolen MAG nasycené mastné kyseliny, obsahující ve svém řetězci 10 atomů uhlíku, MAG kyseliny kaprinové. Pro studii růstu bakterií v přítomnosti MAG byly připraveny koncentrace 1-monoacylglycerolu v rozmezí 25 – 1500 mg.l<sup>-1</sup>.

Z experimentu je patrné, že u grampozitivních bakterií docházelo již při nižších koncentracích k inhibici růstu. Nejméně odolným mikroorganismem z testovaných grampozitivních bakterií vůči působení monokparinu byl *Micrococcus luteus*, u něhož po aplikování MAG o koncentraci 50 mg.l<sup>-1</sup> nebyl sledován žádný nárůst buněk. Poměrně citlivá byla bakterie *Bacillus cereus*, jejíž růst při koncentraci MAG 100 mg.l<sup>-1</sup> poklesl o 35 %. Také při aplikování této koncentrace byl zcela inhibován *Bacillus subtilis*.

Nejodolnější z grampozitivních bakterií vůči působení monokaprinu byl *Staphylococcus aureus*, jelikož nebyl zaznamenán žádný pokles růstu při aplikovaných koncentracích v rozmezí 25 – 100 mg.l<sup>-1</sup>. K výrazné inhibici této bakterie došlo až v přítomnosti monokaprinu o koncentraci 250 mg.l<sup>-1</sup>, kdy jsme mohli sledovat pokles růstu o cca 76 %. K podobným výsledkům, jako v našem experimentu, dospěli i jiní autoři [29].

U všech gramnegativních bakterií byl zaznamenán růst buněk ještě při druhé nejvyšší koncentraci MAG kyseliny kaprinové, což svědčí o tom, že gramnegativní bakterie byly vůči monokaprinu odolnější než bakterie grampozitivní.

V prostředí s monokaprinem byl u testovaných gramnegativních bakterií pozorován největší pokles růstu bakterie *Escherichia coli*, u které došlo při koncentraci 1000 mg.l<sup>-1</sup> ke snížení hustoty buněk o 70 %. Podobně jako *E. coli* byla citlivá i bakterie *Pseudomonas aeruginosa*. Po aplikování MAG o koncentraci 1000 mg.l<sup>-1</sup> byla z gramnegativních bakterií nejméně citlivá *Citrobacter freundii*, u které došlo pouze k poklesu růstu o 47 %. Nejodolnější testovanou bakterií byl *Proteus mirabilis*, u níž bylo možné pozorovat nárůst i při nejvyšší aplikované koncentraci 1-monoacylglycerolu kyseliny kaprinové. Při této koncentraci došlo k inhibici růstu pouze o 70 %.

Bakterie čeledi *Enterobacteriaceae* byly vůči nepříznivým podmínkám prostředí poměrně odolné. Antimikrobiální efekt kyseliny kaprinové u těchto bakterií byl sledován až při vyšších koncentracích.

Z výsledků experimentu vyplývá, že na 1-monoacylglycerol kyseliny kaprinové byly citlivější kmeny grampozitivních bakterií než kmeny gramnegativních bakterií.

## 8 ZÁVĚR

V bakalářské práci bylo sledováno působení 1-monoacylglycerolu kyseliny kaprinové na růst vybraných grampozitivních a gramnegativních bakterií.

Na základě získaných výsledků lze tvrdit, že:

- vybrané grampozitivní bakterie se ukázaly na vliv 1-monoacylglycerolu kyseliny kaprinové citlivější než testované gramnegativní bakterie,
- s postupně se zvyšující koncentrací aplikovaného monokaprinu docházelo k postupné inhibici bakteriální suspenze,
- na nejnižší aplikovanou koncentraci 1- monoacylglycerolu kyseliny kaprinové byl ze všech testovaných bakterií nejcitlivější *Micrococcus luteus*,
- nejodolnějším mikroorganismem vyšel *Proteus mirabilis*, u kterého byl pozorován růst i při nejvyšší aplikované koncentraci monokaprinu.
- u grampozitivních bakterií nedošlo k nárůstu buněk již po aplikování monokaprinu o koncentraci 500 mg.l<sup>-1</sup>,
- gramnegativní bakterie byly nejvíce inhibovány při koncentraci monokaprinu 1000 mg.l<sup>-1</sup> s výjimkou bakterie *Proteus mirabilis*.

## SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY

- [1] KVASNIČKOVÁ A. *Potravinářská aditiva* [online]. 7.3. 2008. [cit. 2.5. 2009]. Dostupný z WWW: <<http://www.bezpecnostpotravin.cz/index.aspx?ch=552&typ=1&val=71769&ids=0>>
- [2] MINISTERSTVO ZEMĚDĚLSTVÍ. *Nezávadné a kvalitní potraviny* [online]. 8.10. 2003. [cit. 2.5. 2009]. Dostupný z WWW: <<http://www.businessinfo.cz/cz/clanek/kvalita-jakost/nezavadne-a-kvalitni-potraviny/1000513/10380/>>
- [3] *Biochemie* [online]. [cit. 3.12. 2008]. Dostupný z WWW: <[www.cepac.cz](http://www.cepac.cz)>
- [4] HOZA, I., KRAMÁŘOVÁ, D. *Potravinářská biochemie I*. 1. vyd. Zlín: UTB, 2007. ISBN 978-80-7318-295-3.
- [5] VELÍŠEK, J. *Chemie potravin I*. 1. vyd., Tábor: OSSIS, 1999. 352s. ISBN 80-902391-3-7.
- [6] HVÍZDALOVÁ I. *Látky používané v německém masném průmyslu* [online]. 11.7. 2005. [cit. 29.11. 2008]. Dostupný z WWW: <<http://www.agronavigator.cz/default.asp?ch=13&typ=1&val=37632&ids=418>>
- [7] *Systematika povrchově aktivních látek* [online]. [cit. 13.12. 2008]. Dostupný z WWW: <[www.cepac.cz](http://www.cepac.cz)>
- [8] *Monoglyceride* [online]. [cit. 14.12. 2008]. Dostupný z WWW: <<http://en.wikipedia.org/wiki/Monoacylglycerol>>
- [9] MOONEN, H., BAS, H. (2004). *Mono- and diglycerides*. In Whitehurst, R.J. (ed.) *Emulsifiers in Food Technology*, 40 – 57. Blackwell Publishing.
- [10] *Lipidy* [online]. [cit. 4.4. 2009]. Dostupný z WWW: <<http://www.bioweb.genezis.eu/chemweb/lipidy/esterifikacia.gif>>
- [11] POKORNÝ, J. a kolektiv, *Technologie tuků*. 1 vyd. Praha: SNTL, 1986.
- [12] BUREŠOVÁ P. *Přídavné látky* [online]. 9.5. 2008. [cit. 15.2. 2009]. Dostupný z WWW: <<http://www.szpi.gov.cz/docDetail.aspx?docid=1005724&docType=ART&nid=11324>>

- [13] THORMAN H., HILMARSSON H. *The role of microbicidal lipids in host defense against pathogens and their potential as therapeutic agents* [online]. 29.7. 2007. [cit. 21.2. 2009]. Dostupný z WWW: <[http://www.sciencedirect.com/science?\\_ob=ArticleURL&\\_udi=B6T2N-4P2YWT3-1&\\_user=10&\\_coverDate=11%2F30%2F2007&\\_alid=866473469&\\_rdoc=5&\\_fmt=high&\\_orig=search&\\_cdi=4923&\\_sort=d&\\_docanchor=&view=c&\\_ct=51&\\_acct=C000050221&\\_version=1&\\_urlVersion=0&\\_userid=10&md5=aa8c2392b0a23daea8f9380a45c9da0a](http://www.sciencedirect.com/science?_ob=ArticleURL&_udi=B6T2N-4P2YWT3-1&_user=10&_coverDate=11%2F30%2F2007&_alid=866473469&_rdoc=5&_fmt=high&_orig=search&_cdi=4923&_sort=d&_docanchor=&view=c&_ct=51&_acct=C000050221&_version=1&_urlVersion=0&_userid=10&md5=aa8c2392b0a23daea8f9380a45c9da0a)>
- [14] KABARA, J.J., SWIECZKOWSKI, D.M., CONLEY, A.J., TRUANT, J.P. (1972). Fatty acids and derivatives as antimicrobial agents. *Antimicrob. Agents. Chemother.* 2: 23-28.
- [15] FILIP V., DOSTÁLOVÁ J., POKORNÝ J. *Snížením obsahu tuku ve stravě nebo jeho náhradou k prevenci obezity* [online]. 1.3. 2006. Dostupné na WWW: <<http://www.vyzivaspol.cz/clanky-casopis/snizenim-obsahu-tuku-ve-strave-nebo-jeho-nahradou-k-prevenci-obezity.html>>
- [16] BAREL, A.O., PAYE, M., MAIBACH, H.I. Handbook of cosmetic science and technology. *Marcel Dekker, Inc.*, New York, 2001. 886 s.
- [17] CHANG, C.-M., BODMEIER, R. Binding of drugs to monoglyceride-based drug delivery systems. *Int. J. Pharm.*, 1997a. 147: 135-142.
- [18] CHANG, C.-M., BODMEIER, R. Effect of dissolution media and additives on the drug release from cubic phase delivery systems. *J. Control. Release*, 1997b. 46: 215-222.
- [19] FLISYAR, K.A., WUELFING, W.P., LI, Z., REED, R.A. *Profiling of medium chain glycerides used in pharmaceutical formulation development by reversed-phase HPLC*. *J. Pharm. Biomed. Anal.*, 2006. 40: 896-900.
- [20] KRISTMUNDSÓTTIR, T., ÁRNADÓTTIR, S.G., BERGSON, G., THORMAN, H. Development and evaluation of microbicidal hydrogels containing monoglyceride as the active ingredient. *J. Pharm. Sci.*, 1999. 88: 1011-1015.

- [21] THORGEIRSDOTTIR, T.O., THORMAR, H., KRISTMUNDSDOTTIR, J. The influence of formulation variables on stability and mikrobicidal activity of monoglyceride monocaprin. *J. Drug Deliv. Sci. Technol.*, 2005. 15: 233-236.
- [22] BLAŽEJ, A. *Špeciálne chemické úpravy textilií*. Alfa, Bratislava, 1986, 268 s.
- [23] LANGMAIER, F., MLÁDEK, M., RADIL, M. *Pomocné látky kožedělného průmyslu*. SNTL, Praha, 1985. 456 s.
- [24] DAVIDSON, P., M., SOFAS, J., N., BRANEN, A., L., *Antimicrobia's in food. 3<sup>rd</sup>Ed.* CRC Press Taylor & Francis Group Boca Raton, 2005, 706s. ISBN 0-8247-4037-8.
- [25] THORMAR, H., BERGGSON, G. (2001). Antimicrobial effects of lipids. *Recent Devel. Antiviral Res.* 1: 157-173.
- [26] DUFOUR, M., MANSON, J.M., BREMER, P.J., DUFOUR, J.-P., COOK, G.M., SIMMONDS, R.S. (2007). Characterization of monolaurin resistance in *Enterococcus faecalis*. *Appl. Environ. Microbiol.* 73: 5507-5515.
- [27] M. SOTO, S. SKÚLASON, and T. KRISTMUNDSD. *Monocaprin: a potential topical agent for treating oral candidosis* [online] 22.3. 2007. [cit. 15.3. 2009]. Dostupný z WWW: <[http://iadr.confex.com/iadr/2007orleans/techprogram/abstract\\_91892.htm](http://iadr.confex.com/iadr/2007orleans/techprogram/abstract_91892.htm)>
- [28] THORMAR, H., HILMARSSON, H., BERGSSON, G. *Stable concentrated emulsions of the 1-monoglyceride of capric acid (/monocaprin)with microbicidal activities against the foo-borne bacteria Campylobacter jekáni, Salmonella spp., and Escherichia coli*. *Applied and environtmental mikrobiology*, Jan 2005, p. 522 – 526.
- [29] RŮŽIČKA, J., VELCLOVÁ, K., JANIŠ, R., KREJČÍ, J. *Antimicrobial effects of 1-monoacylglycerolů prepared by the catalytic reaction of glycidol and fatty acids*. *Eur Food Res Technol.*, Zlín: UTB, 2003, s. 329 – 331.
- [30] ČECHOVÁ, L., JANALÍKOVÁ, M. *Obecná mikrobiologie*. 1. vyd. Zlín: UTB, 2007. ISBN 978 – 80 – 7318 – 516 – 9.

- [31] *Atlas mikroorganismů* [online]. [cit. 4.4. 2009]. Dostupný z WWW: <[http://fv1.vfu.cz/sekce\\_ustavy/mikrobiologie/mikrobiologie/praktikum14/9.jpg](http://fv1.vfu.cz/sekce_ustavy/mikrobiologie/mikrobiologie/praktikum14/9.jpg)>
- [32] GREWOOD, D., SLAK, C., B., R., PEUTHERER, J., F. a kol. *Lékařská mikrobiologie – Přehled infekčních onemocnění: patogeneze, imunita, laboratorní diagnostika a epidemiologie*, Vydal Grada Publishing, spol. s. r. o., Praha 7, 1999, vyd. první.
- [33] ŠILHÁNKOVÁ, L., *Mikrobiologie pro potravináře a biotechnology*. Vydalo Victoria Publishing, a.s., Praha 1, 1995, ISBN 80-85605-71-6.
- [34] *Atlas mikroorganismů* [online]. [cit. 4.4. 2009]. Dostupný z WWW: <http://www.microbelibrary.org/>
- [35] *Bacillus subtilis* [online]. [cit. 5.3. 2009]. Dostupný z WWW: [http://en.wikipedia.org/wiki/Bacillus\\_subtilis](http://en.wikipedia.org/wiki/Bacillus_subtilis)
- [36] *Enterococcus faecalis* [online]. [cit. 8.3. 2009]. Dostupný z WWW: <[http://en.wikipedia.org/wiki/Enterococcus\\_faecalis](http://en.wikipedia.org/wiki/Enterococcus_faecalis)>
- [37] F. GÖRNER, E. VALÍK, *Aplikovaná mikrobiológia potravín*, vydalo vydavateľstvo Malé centrum, Radlinského 9, Bratislava, rok vydání 2004.
- [38] *Miniatlas – Micrococcus luteus* [online]. [cit. 18.3. 2009]. Dostupný z WWW: <<http://www.vscht.cz/obsah/fakulty/fpbt/ostatni/miniatlas/micr.htm>>
- [39] *Micrococcus luteus* [online]. [cit. 10.3. 2009]. Dostupný z WWW: [http://en.wikipedia.org/wiki/Micrococcus\\_luteus](http://en.wikipedia.org/wiki/Micrococcus_luteus)
- [40] *Atlas mikroorganismů* [online]. [cit. 4.4. 2009]. Dostupný z WWW: [http://im.encyklopedie.seznam.cz/wiki\\_cz//image/29/76629-250px-escherichia\\_coli\\_gram.jpg](http://im.encyklopedie.seznam.cz/wiki_cz//image/29/76629-250px-escherichia_coli_gram.jpg)
- [41] *Proteus mirabilis* [online]. [cit. 10.3. 2003]. Dostupný z WWW: [http://en.wikipedia.org/wiki/Proteus\\_mirabilis](http://en.wikipedia.org/wiki/Proteus_mirabilis)
- [42] *Potravinářská mikrobiologie I* [online]. [cit. 10.3. 2009]. Dostupný z WWW: <http://www.cepac.cz/>
- [43] *Salmonella enterica* [online]. [cit. 10.3. 2009]. Dostupný z WWW: <[http://en.wikipedia.org/wiki/Salmonella\\_enterica](http://en.wikipedia.org/wiki/Salmonella_enterica)>



- [44] ŠÍLHÁNKOVÁ, L. *Mikrobiologická zkoumání potravin*, 1 vyd. VŠCHT: 1987.
- [45] SEDLÁČEK, I., *Taxonomie prokaryot*, vydala Masarykova univerzita, Brno, 2007, ISBN 80-210-4207-9.
- [46] *Citrobacter* [online]. [cit. 10.3. 2009]. Dostupný z WWW: <<http://en.wikipedia.org/wiki/Citrobacter>>
- [47] JULIE L. BADGER, MONIQUE F., STINS, and KWAKG SIK Kim. *Citrobacter freundii Invades and Replicates in Human Brain Microvascular Endothelial Cells* [online]. 4.5. 1999. Dostupné z WWW: <<http://iai.asm.org/cgi/content/full/67/8/4208>>
- [48] *Miniatlas* [online]. [cit. 4.4. 2009]. Dostupný z WWW: <<http://www.sci.muni.cz/mikrob/Miniatlas/images/bakterie/kolonie/cfreund2p.jpg>>
- [49] ZWIETERING M. H., JONGERBURGER I., ROMBOUITS F. M., RIET VAN T K. Modeling of the bacterial growth curve. *Applied and environmental mikrobiology*, June 1990, p. 1875 – 1881.
- [50] *Kontaminující látky v potravinách* [online]. [cit. 4.5. 2009]. Dostupný z WWW: <http://www.eufic.org/article/cs/food-safety-quality/food-contaminants/artid/system-assessing-chemical-safety/>

**SEZNAM POUŽITÝCH SYMBOLŮ A ZKRATEK**

|                   |                                 |
|-------------------|---------------------------------|
| MAG               | Monoacylglycerol                |
| TAG               | Triacylglycerol                 |
| O/V               | Olej ve vodě                    |
| V/O               | Voda v oleji                    |
| C <sub>8:0</sub>  | Kyseliny kaprylová              |
| C <sub>10:0</sub> | Kyselina kaprinová              |
| C <sub>12:0</sub> | Kyselina laurová                |
| C <sub>14:0</sub> | Kyselina myristová              |
| MIC               | Minimální inhibiční koncentrace |
| CCM               | Česká sbírka mikroorganismů     |
| MPB               | Masopeptonový bujón             |
| MPA               | Masopeptonový agar              |
| O.D.              | Optická denzita                 |

## SEZNAM OBRÁZKŮ

|  |    |
|--|----|
| Obrázek 1. 1-monoacylglycerol a 2-monoacylglycerol.....  | 11 |
| Obrázek 2. Esterifikace glycerolu [10] .....   | 12 |
| Obrázek 3. Grampozitivní bakterie [31] .....   | 20 |
| Obrázek 4. <i>Staphylococcus aureus</i> [34] .....   | 21 |
| Obrázek 5. <i>Bacillus cereus</i> [34].....  | 22 |
| Obrázek 6. <i>Bacillus subtilis</i> [34].....  | 22 |
| Obrázek 7. <i>Enterococcus faecalis</i> [34].....  | 23 |
| Obrázek 8. <i>Micrococcus luteus</i> [34].....   | 24 |
| Obrázek 9. Gramnegativní bakterie [40].....  | 25 |
| Obrázek 10. <i>Pseudomonas aeruginosa</i> [34] .....   | 26 |
| Obrázek 11. <i>Proteus mirabilis</i> [34].....   | 26 |
| Obrázek 12. <i>Salmonella enterica</i> [34].....   | 27 |
| Obrázek 13. <i>Escherichia coli</i> [34] .....   | 28 |
| Obrázek 14. <i>Citrobacter freundii</i> [48] .....   | 29 |
| Obrázek 15. Vliv monokaprinu na dobu lag fáze <i>Bacillus cereus</i> .....                       | 37 |
| Obrázek 16. Vliv monokaprinu na hustotu buněčné suspenze <i>Bacillus cereus</i> .....            | 38 |
| Obrázek 17. Vliv monokaprinu na specifickou růstovou rychlost <i>Bacillus cereus</i> .....       | 38 |
| Obrázek 18. Vliv monokaprinu na dobu lag fáze <i>Bacillus subtilis</i> .....                     | 39 |
| Obrázek 19. Vliv monokaprinu na hustotu buněčné suspenze <i>Bacillus subtilis</i> .....          | 40 |
| Obrázek 20. Vliv monokaprinu na specifickou růstovou rychlost <i>Bacillus subtilis</i> .....     | 40 |
| Obrázek 21. Vliv monokaprinu na dobu lag fáze <i>Micrococcus luteus</i> .....                    | 41 |
| Obrázek 22. Vliv monokaprinu na hustotu buněčné suspenze <i>Micrococcus luteus</i> .....         | 42 |
| Obrázek 23. Vliv monokaprinu na specifickou růstovou rychlost <i>Micrococcus luteus</i> .....    | 42 |
| Obrázek 24. Vliv monokaprinu na dobu lag fáze <i>Enterococcus faecalis</i> .....                 | 43 |
| Obrázek 25. Vliv monokaprinu na hustotu buněčné suspenze <i>Enterococcus faecalis</i> .....      | 44 |
| Obrázek 26. Vliv monokaprinu na specifickou růstovou rychlost <i>Enterococcus faecalis</i> ..... | 44 |
| Obrázek 27. Vliv monokaprinu na dobu lag fáze <i>Staphylococcus aureus</i> .....                 | 45 |
| Obrázek 28. Vliv monokaprinu na hustotu buněčné suspenze <i>Staphylococcus aureus</i> .....      | 46 |
| Obrázek 29. Vliv monokaprinu na specifickou růstovou rychlost <i>Staphylococcus aureus</i> ..... | 46 |

|   |    |
|---|----|
| Obrázek 30. Vliv monokaprinu na dobu lag fáze <i>Salmonella enterica</i> .....                        | 47 |
| Obrázek 31. Vliv monokaprinu na hustotu buněčné suspenze <i>Salmonella enterica</i> .....             | 48 |
| Obrázek 32. Vliv monokaprinu na specifickou růstovou rychlost <i>Salmonella enterica</i> .....        | 49 |
| Obrázek 33. Vliv monokaprinu na dobu lag fáze <i>Pseudomonas aeruginosa</i> .....                     | 50 |
| Obrázek 34. Vliv monokaprinu na hustotu buněčné suspenze <i>Pseudomonas<br/>aeruginosa</i> .....      | 51 |
| Obrázek 35. Vliv monokaprinu na specifickou růstovou rychlost <i>Pseudomonas<br/>aeruginosa</i> ..... | 51 |
| Obrázek 36. Vliv monokaprinu na dobu lag fáze <i>Proteus mirabilis</i> .....                          | 52 |
| Obrázek 37. Vliv monokaprinu na hustotu buněčné suspenze <i>Proteus mirabilis</i> .....               | 53 |
| Obrázek 38. Vliv monokaprinu na specifickou růstovou rychlost <i>Proteus mirabilis</i> .....          | 53 |
| Obrázek 39. Vliv monokaprinu na dobu lag fáze <i>Citrobacter freundii</i> .....                       | 54 |
| Obrázek 40. Vliv monokaprinu na hustotu buněčné suspenze <i>Citrobacter freundii</i> .....            | 55 |
| Obrázek 41. Vliv monokaprinu na specifickou růstovou rychlost <i>Citrobacter freundii</i> .....       | 55 |
| Obrázek 42. Vliv monokaprinu na dobu lag fáze <i>Escheichia coli</i> .....                            | 56 |
| Obrázek 43. Vliv monokaprinu na hustotu buněčné suspenze <i>Escherichia coli</i> .....                | 57 |
| Obrázek 44. Vliv monokaprinu na specifickou růstovou rychlost <i>Escherichia coli</i> .....           | 57 |

## SEZNAM TABULEK

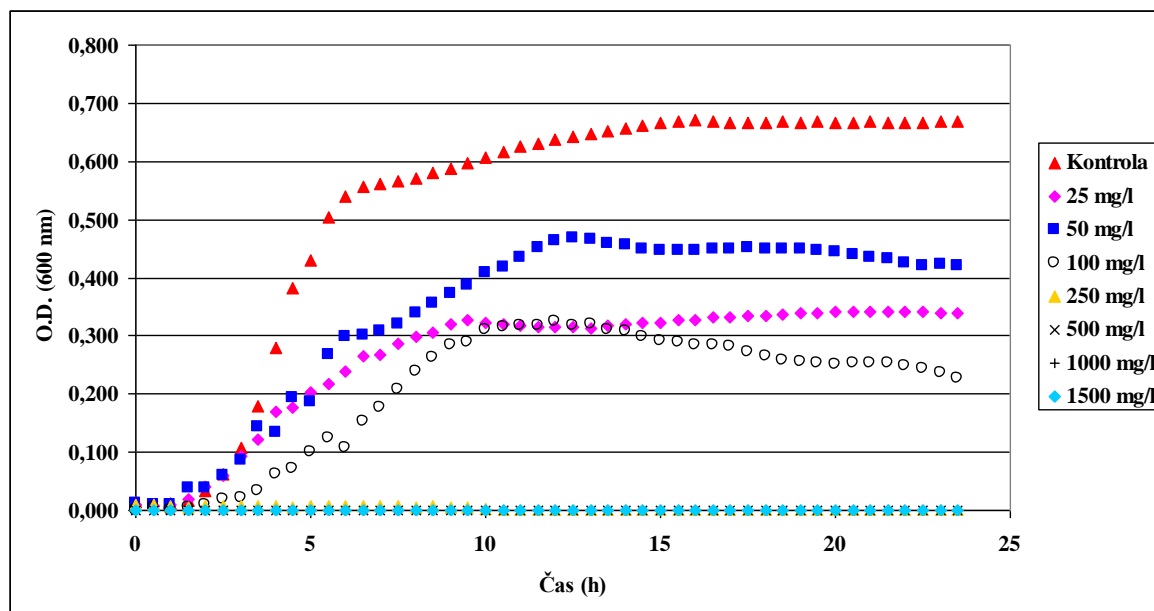
|  |    |
|--|----|
| Tabulka 1. Nasycené mastné kyseliny vyskytující se v lipidech..... | 11 |
|--|----|

**SEZNAM PŘÍLOH**

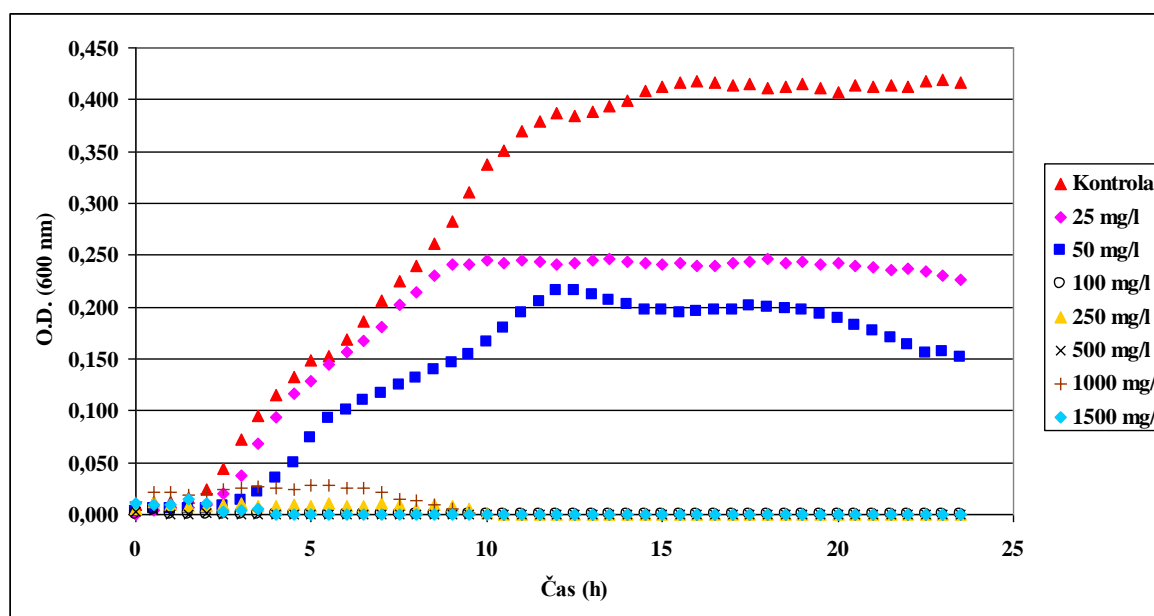
- PI. Působení 1-monokaprinu na růst *Bacillus cereus* CCM 2010**
- PII. Působení 1-monokaprinu na růst *Bacillus subtilis* subsp. *spizizenii* CCM 4062**
- PIII. Působení 1-monokaprinu na růst *Micrococcus luteus* CCM 732**
- PIV. Působení 1-monokaprinu na růst *Enterococcus faecalis* CCM 4224**
- PV: Působení 1-monokaprinu na růst *Streptococcus aureus* subsp. *aures* CCM 3953**
- PVI. Působení 1-monokaprinu na růst *Salmonella enterica* subsp. *enterica* ser. Enteritidis CCM 4420**
- PVII. Působení 1-monokaprinu na růst *Pseudomonas aeruginosa* CCM 3955**
- PVIII. Působení 1-monokaprinu na růst *Proteus mirabilis* CCM 7188**
- PIX. Působení 1-monokaprinu na růst *Citrobacter freundii* CCM 7187**
- PX. Působení 1-monokaprinu na růst *Escherichia coli* CCM 3954**

## PŘÍLOHY

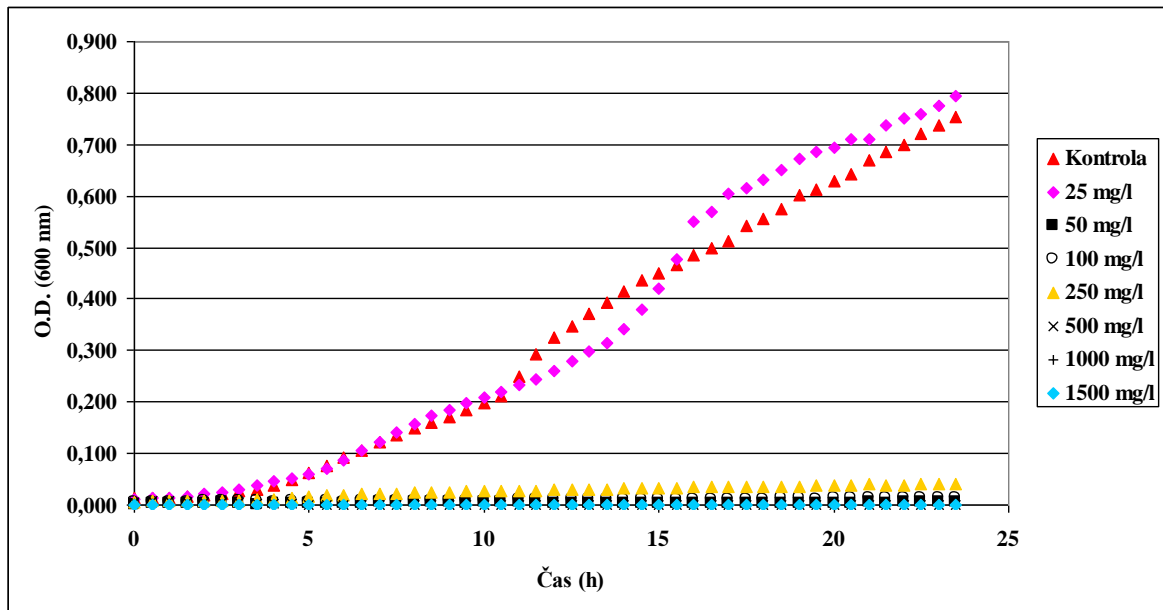
### PI. Působení 1-monokaprinu na růst *Bacillus cereus* CCM 2010



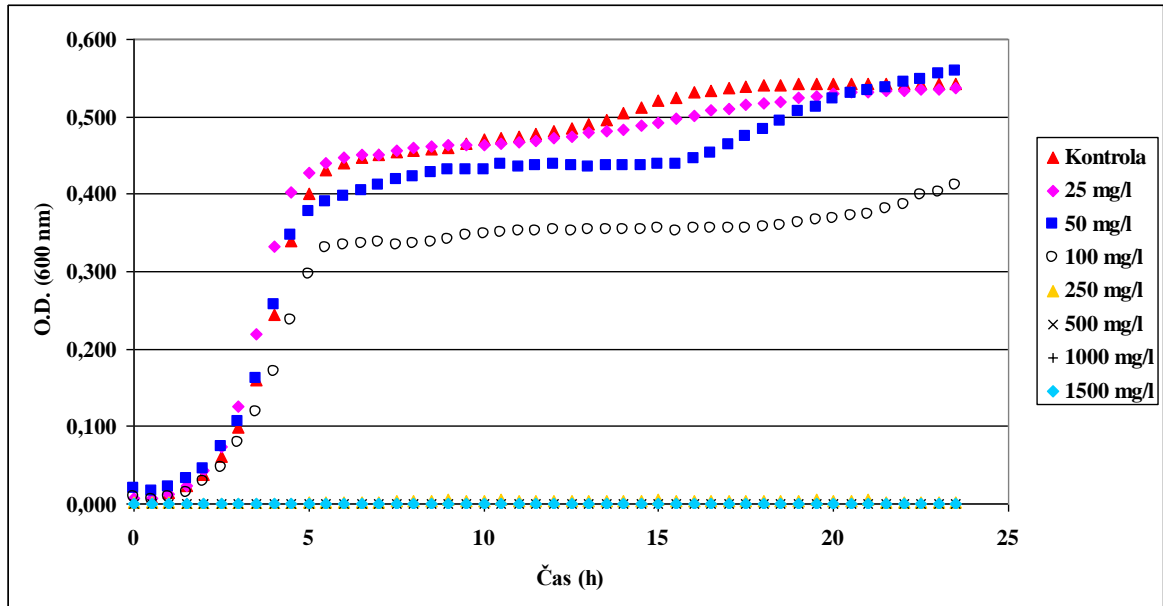
### PII. Působení 1-monokaprinu na růst *Bacillus subtilis* subsp. *spizizenii* CCM 4062



### PIII. Působení 1-monokaprinu na růst *Micrococcus luteus* CCM 732

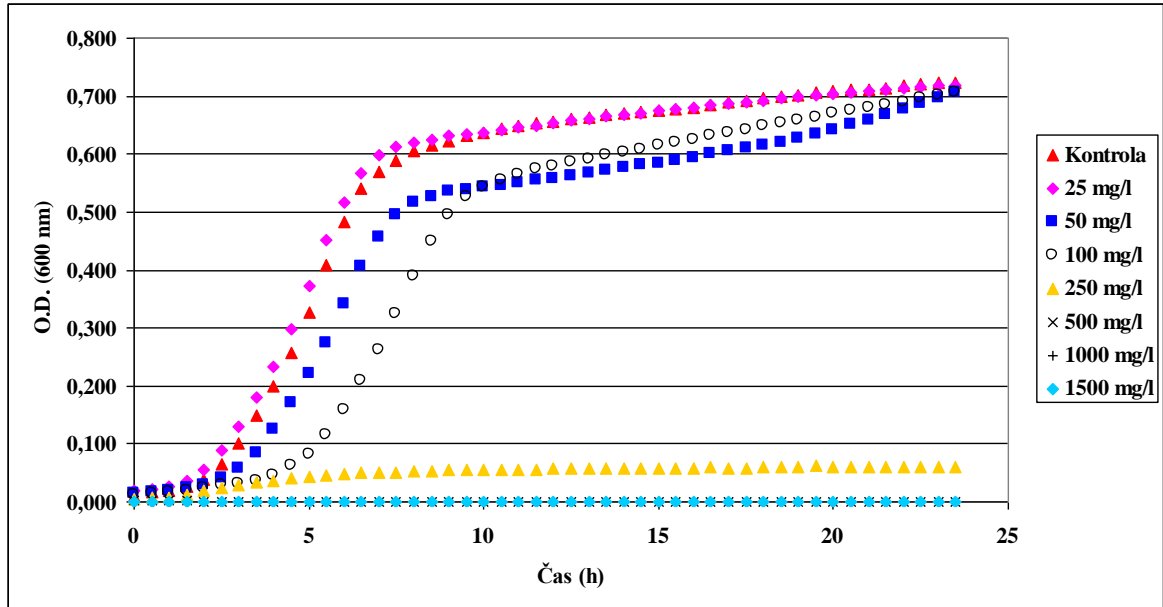


### PIV. Působení 1-monokaprinu na růst *Enterococcus faecalis* CCM 4224

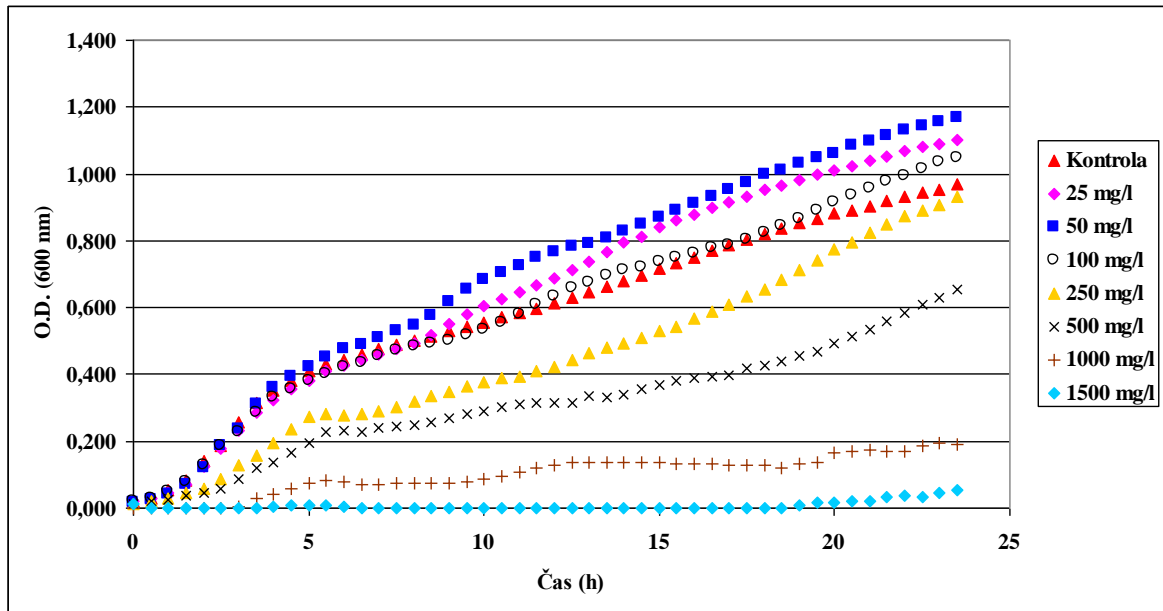




**PV: Působení 1-monokaprinu na růst *Streptococcus aureus* subsp. *aureus* CCM 3953**

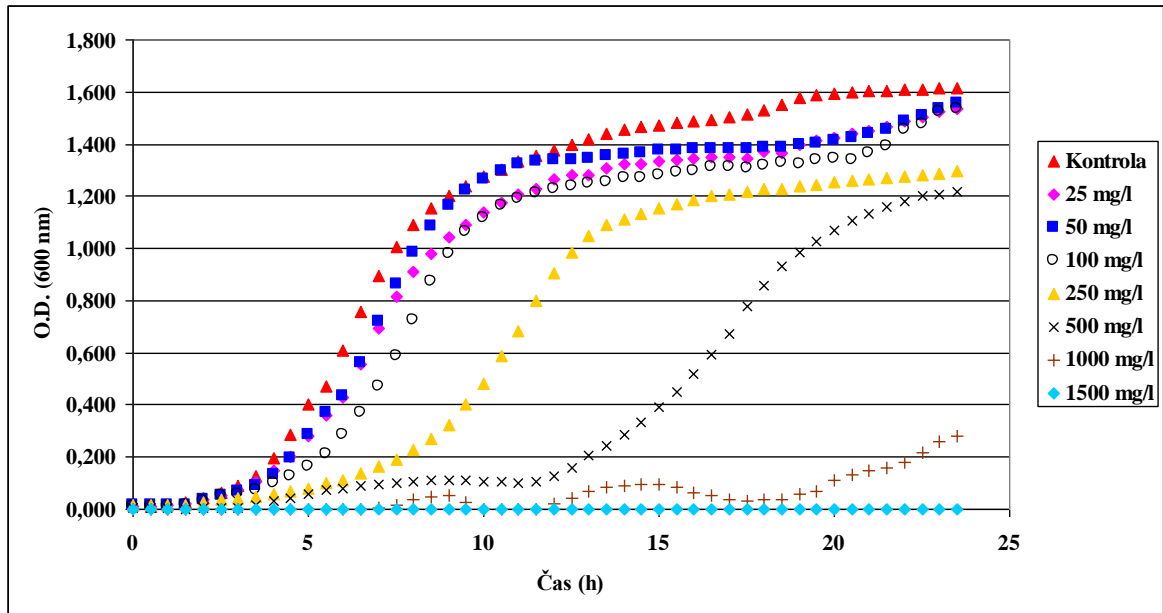


**PVI. Působení 1-monokaprinu na růst *Salmonella enterica* subsp. *enterica* ser. Enteritidis CCM 4420**

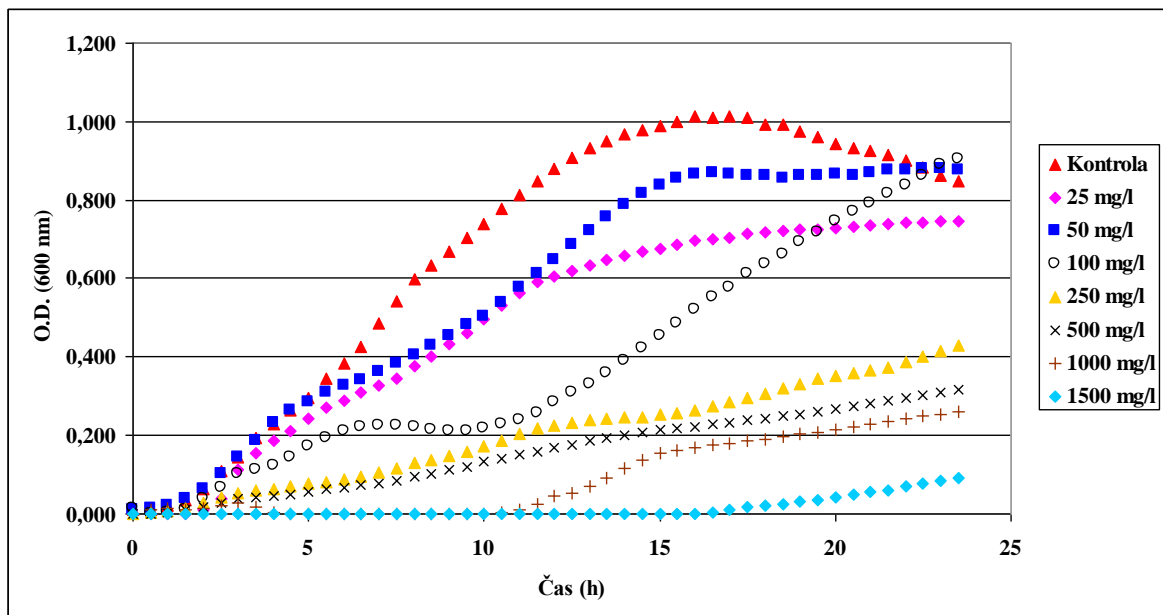


## PVII. Působení 1-monokaprinu na růst *Pseudomonas aeruginosa* CCM

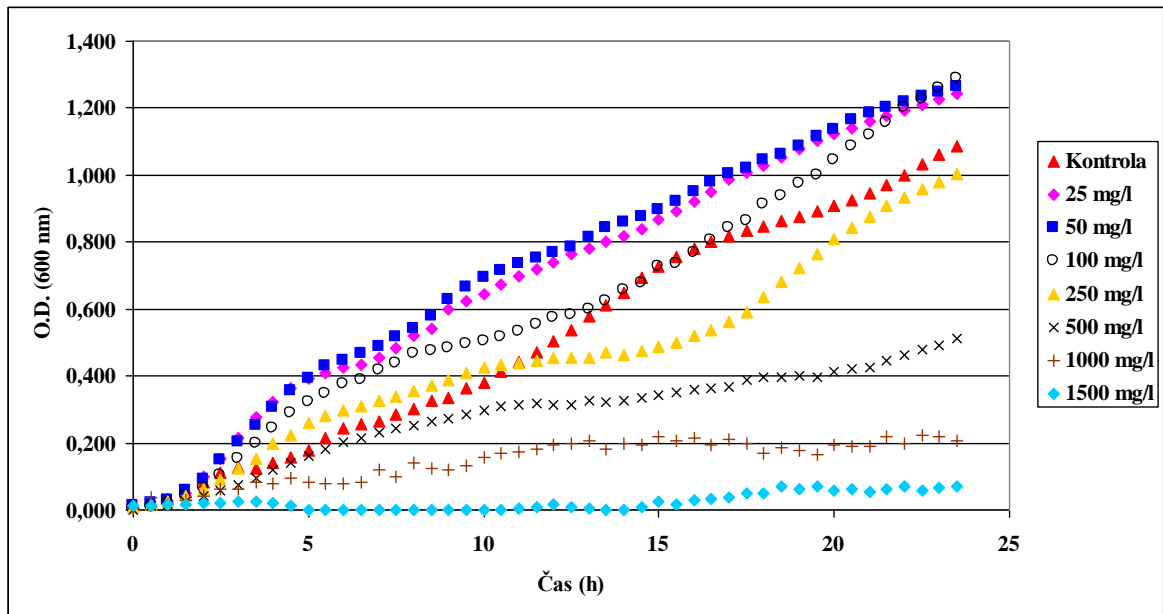
3955



## PVIII. Působení 1-monokaprinu na růst *Proteus mirabilis* CCM 7188



### PIX. Působení 1-monokaprinu na růst *Citrobacter freundii* CCM 7187



### PX. Působení 1-monokaprinu na růst *Escherichia coli* CCM 3954

