

Antibakteriální účinky vybraných mastných kyselin

Kristýna Staňková

Bakalářská práce
2012

 Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně
Fakulta technologická

Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně
Fakulta technologická
Ústav technologie tuků, tenzidů a kosmetiky
akademický rok: 2011/2012

ZADÁNÍ BAKALÁŘSKÉ PRÁCE

(PROJEKTU, UMĚLECKÉHO DÍLA, UMĚLECKÉHO VÝKONU)

Jméno a příjmení: **Kristýna STAŇKOVÁ**
Osobní číslo: **T09170**
Studijní program: **B 2901 Chemie a technologie potravin**
Studijní obor: **Technologie výroby tuků, kosmetiky a detergentů**

Téma práce: **Antibakteriální účinky vybraných mastných kyselin**

Zásady pro vypracování:

I. Teoretická část

1. V teoretické části zpracujte literární rešerši zaměřenou na mastné kyseliny. Popište vliv mastných kyselin na růst grampozitivních a gramnegativních bakterií.

II. Praktická část

1. V praktické části studujte působení mastných kyselin na vybrané grampozitivní a gramnegativní bakterie. Získané výsledky zpracujte a zhodnoťte vliv studovaných mastných kyselin na růst a množení mikroorganismů.

Rozsah bakalářské práce:

Rozsah příloh:

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

Seznam odborné literatury:

[1]McClements, D. J. Food Emulsions. Principles, Practise and Technicques. CRC Press, 1999. ISBN 0-8493-8008-1.

[2]Whitehurst, R. J. Emulsifiers in Food Technology. Blackwell Publishing, 2004. ISBN 1-4051-1802-4.

[3]Gunstone, F. D. The Chemistry of Oils and Fats. Sources, Composition, Properties and Uses. Blackwell Publishing, 2004. ISBN 1-4051-1626-9.

[4]Buňková, L., Buňka, F., Janiš, R., Krejčí, J., Doležalková, I., Pospíšil, Z., Růžička, J., Tremlová, B. Comparison of antibacterial effect of seven 1-monoglycerides on food-borne pathogens or spoilage bacteria. Acta Vet. BRNO. 2011, 80, 29-39.

Vedoucí bakalářské práce:

doc. RNDr. Leona Buňková, Ph.D.

Ústav technologie tuků, tenzidů a kosmetiky

Datum zadání bakalářské práce:

24. února 2012

Termín odevzdání bakalářské práce:

21. května 2012

Ve Zlíně dne 24. února 2012


doc. Ing. Roman Čermák, Ph.D.
děkan




doc. Ing. Rahula Janiš, CSc.
ředitel ústavu

PROHLÁŠENÍ

Prohlašuji, že

- beru na vědomí, že odevzdáním diplomové/bakalářské práce souhlasím se zveřejněním své práce podle zákona č. 111/1998 Sb. o vysokých školách a o změně a doplnění dalších zákonů (zákon o vysokých školách), ve znění pozdějších právních předpisů, bez ohledu na výsledek obhajoby ¹⁾;
- beru na vědomí, že diplomová/bakalářská práce bude uložena v elektronické podobě v univerzitním informačním systému dostupná k nahlédnutí, že jeden výtisk diplomové/bakalářské práce bude uložen na příslušném ústavu Fakulty technologické UTB ve Zlíně a jeden výtisk bude uložen u vedoucího práce;
- byl/a jsem seznámen/a s tím, že na moji diplomovou/bakalářskou práci se plně vztahuje zákon č. 121/2000 Sb. o právu autorském, o právech souvisejících s právem autorským a o změně některých zákonů (autorský zákon) ve znění pozdějších právních předpisů, zejm. § 35 odst. 3 ²⁾;
- beru na vědomí, že podle § 60 ³⁾ odst. 1 autorského zákona má UTB ve Zlíně právo na uzavření licenční smlouvy o užití školního díla v rozsahu § 12 odst. 4 autorského zákona;
- beru na vědomí, že podle § 60 ³⁾ odst. 2 a 3 mohu užít své dílo – diplomovou/bakalářskou práci nebo poskytnout licenci k jejímu využití jen s předchozím písemným souhlasem Univerzity Tomáše Bati ve Zlíně, která je oprávněna v takovém případě ode mne požadovat přiměřený příspěvek na úhradu nákladů, které byly Univerzitou Tomáše Bati ve Zlíně na vytvoření díla vynaloženy (až do jejich skutečné výše);
- beru na vědomí, že pokud bylo k vypracování diplomové/bakalářské práce využito softwaru poskytnutého Univerzitou Tomáše Bati ve Zlíně nebo jinými subjekty pouze ke studijním a výzkumným účelům (tedy pouze k nekomerčnímu využití), nelze výsledky diplomové/bakalářské práce využít ke komerčním účelům;
- beru na vědomí, že pokud je výstupem diplomové/bakalářské práce jakýkoliv softwarový produkt, považují se za součást práce rovněž i zdrojové kódy, popř. soubory, ze kterých se projekt skládá. Neodevzdání této součásti může být důvodem k neobhájení práce.

Ve Zlíně 21.5.2012


.....

¹⁾ zákon č. 111/1998 Sb. o vysokých školách a o změně a doplnění dalších zákonů (zákon o vysokých školách), ve znění pozdějších právních předpisů, § 47 Zveřejňování závěrečných prací:

(1) Vysoká škola nevydělečně zveřejňuje disertační, diplomové, bakalářské a rigorózní práce, u kterých proběhla obhajoba, včetně posudků oponentů a výsledku obhajoby prostřednictvím databáze kvalifikačních prací, kterou spravuje. Způsob zveřejnění stanoví vnitřní předpis vysoké školy.

(2) Disertační, diplomové, bakalářské a rigorózní práce odevzdané uchazečem k obhajobě musí být též nejméně pět pracovních dnů před konáním obhajoby zveřejněny k nahlížení veřejnosti v místě určeném vnitřním předpisem vysoké školy nebo není-li tak určeno, v místě pracoviště vysoké školy, kde se má konat obhajoba práce. Každý si může ze zveřejněné práce pořizovat na své náklady výpisy, opisy nebo rozmnoženiny.

(3) Platí, že odevzdáním práce autor souhlasí se zveřejněním své práce podle tohoto zákona, bez ohledu na výsledek obhajoby.

²⁾ zákon č. 121/2000 Sb. o právu autorském, o právech souvisejících s právem autorským a o změně některých zákonů (autorský zákon) ve znění pozdějších právních předpisů, § 35 odst. 3:

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

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

(1) Škola nebo školské či vzdělávací zařízení mají za obvyklých podmínek právo na uzavření licenční smlouvy o užití školního díla (§ 35 odst. 3). Odpirá-li autor takového díla udělit svolení bez vážného důvodu, mohou se tyto osoby domáhat nahrazení chybějícího projevu jeho vůle u soudu. Ustanovení § 35 odst. 3 zůstává nedotčeno.

(2) Není-li sjednáno jinak, může autor školního díla své dílo užít či poskytnout jinému licenci, není-li to v rozporu s oprávněnými zájmy školy nebo školského či vzdělávacího zařízení.

(3) Škola nebo školské či vzdělávací zařízení jsou oprávněny požadovat, aby jim autor školního díla z výdělku jím dosaženého v souvislosti s užitím díla či poskytnutím licence podle odstavce 2 přiměřeně přispěl na úhradu nákladů, které na vytvoření díla vynaložily, a to podle okolností až do jejich skutečné výše; přitom se přihlédne k výši výdělku dosaženého školou nebo školským či vzdělávacím zařízením z užití školního díla podle odstavce 1.

ABSTRAKT

Bakalářská práce je zaměřena na stanovení antimikrobiálních účinků různých mastných kyselin. Teoretická část obsahuje strukturu a rozdělení mastných kyselin a charakteristiky vybraných bakterií. V experimentální části jsou zhodnoceny účinky mastných kyselin na bakterie vyhodnocením jejich růstové křivky po dobu 18 hodin.

Klíčová slova: mastná kyselina, bakterie, růstová křivka

ABSTRACT

The thesis is concentrated on determination of antimicrobial effects of various fatty acid. The theoretical part includes the structure and distribution of fatty acids and characteristic of selected bacteria. In the experimental part, the effect of fatty acid, are evaluated by their growing curve for 18 hours.

Keywords: fatty acid, bacteria, growing curve

Poděkování

Ráda bych zde poděkovala vedoucí bakalářské práce doc. RNDr. Leoně Buňkové Ph.D. a RNDr. Ivě Hauerlandové za cenné rady, velkou ochotu a čas, který mi věnovaly při realizaci mé práce.

Prohlášení

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

Ve Zlíně

.....

Podpis studenta

OBSAH

OBSAH	7
ÚVOD	9
I TEORETICKÁ ČÁST	10
1 MASTNÉ KYSELINY	11
1.1 NÁZVOSLOVÍ A KLASIFIKACE MASTNÝCH KYSELIN	11
1.1.1 Kyselina kaprylová.....	12
1.1.2 Kyselina kaprinová.....	12
1.1.3 Kyselina laurová.....	13
1.1.4 Kyselina myristová.....	13
1.1.5 Kyselina palmitová.....	13
1.1.6 Kyselina olejová.....	13
1.2 VLV MASTNÝCH KYSELIN NA RŮST BAKTERÍ.....	13
2 BAKTERIE	15
2.1 GRAMNEGATIVNÍ BAKTERIE	15
2.1.1 <i>Enterobacteriaceae</i>	15
2.1.1.1 <i>Escherichia coli</i>	15
2.1.1.2 <i>Klebsiella pneumoniae</i>	16
2.1.1.3 <i>Enterobacter</i>	16
2.1.1.4 <i>Serratia marcescens</i>	16
2.1.1.5 <i>Citrobacter freundii</i>	17
2.1.2 <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	17
2.2 GRAMPOZITIVNÍ BAKTERIE.....	18
2.2.1 <i>Bacillus</i>	18
2.2.1.1 <i>Bacillus cereus</i>	18
2.2.1.2 <i>Bacillus subtilis</i>	19
2.2.2 <i>Enterococcus faecalis</i>	19
2.2.3 <i>Micrococcus luteus</i>	20
2.2.4 <i>Staphylococcus aureus</i>	20
2.3 RŮST A MNOŽENÍ BAKTERÍ	21
II PRAKTICKÁ ČÁST	23
3 MATERIÁL, ZAŘÍZENÍ A POMŮCKY	24
3.1 POUŽITÉ MIKROORGANISMYSY	24
3.2 SLOŽENÍ ŽIVNÉHO MÉDIA	24
3.3 POUŽITÉ ZAŘÍZENÍ A POMŮCKY	25
4 METODIKA PRÁCE	26
4.1 PŘÍPRAVA BAKTERIÁLNÍ SUSPENZE	26
4.2 SLEDOVÁNÍ VLVU MK NA RŮST BAKTERÍ.....	26
5 VÝSLEDKY	28

5.1	PŮSOBENÍ VYBRANÝCH MK NA RŮST BUNĚK <i>BACILLUS CEREUS</i> CCM 2010	28
5.2	PŮSOBENÍ VYBRANÝCH MK NA RŮST BUNĚK <i>BACILLUS SUBTILIS</i> SUBSP. <i>SPIZIZENII</i> CCM 4062	28
5.3	PŮSOBENÍ VYBRANÝCH MK NA RŮST BUNĚK <i>ENTEROCOCCUS FAECALIS</i> CCM 4224	29
5.4	PŮSOBENÍ VYBRANÝCH MK NA RŮST BUNĚK <i>MICROCOCCUS LUTEUS</i> CCM 732 30	
5.5	PŮSOBENÍ VYBRANÝCH MK NA RŮST BUNĚK <i>STAPHYLOCOCCUS AUREUS</i> SUBSP. <i>AUREUS</i> CCM 3953	31
5.6	PŮSOBENÍ VYBRANÝCH MK NA RŮST BUNĚK <i>CITROBACTER FREUNDII</i> CCM 7187	32
5.7	PŮSOBENÍ VYBRANÝCH MK NA RŮST BUNĚK <i>ESCHERICHIA COLI</i> CCM 3954	32
5.8	PŮSOBENÍ VYBRANÝCH MK NA RŮST BUNĚK <i>PSEUDOMONAS AERUGINOSA</i> CCM 3955	33
5.9	PŮSOBENÍ VYBRANÝCH MK NA RŮST BUNĚK <i>SALMONELLA ENTERICA</i> SUBSP. <i>ENTERICA</i> SER. <i>ENTERITIDIS</i> CCM 4420	34
5.10	PŮSOBENÍ VYBRANÝCH MK NA RŮST BUNĚK <i>SERRATIA MARCESCENS</i> SUBSP. <i>MARCESCENS</i> CCM 303.....	35
6	DISKUZE	36
	ZÁVĚR	40
	SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY.....	41
	SEZNAM POUŽITÝCH SYMBOLŮ A ZKRATEK.....	47
	SEZNAM OBRÁZKŮ	48
	SEZNAM TABULEK.....	49
	SEZNAM PŘÍLOH.....	50

ÚVOD

Vztahy mezi bakteriemi a člověkem jsou, z hlediska člověka, jak pozitivní, tak negativní. Již od pradávna lidé využívali kvasných pochodů bakterií, využívali je v biotechnologii a průmyslu, produkovali antibiotika. Na druhé straně mohou být bakterie až původci infekčních onemocnění nebo mohou způsobovat kažení nejrůznějších materiálů.

Potraviny a kosmetické prostředky jsou bohaté na zdroje uhlíku, dusíku a dalších prvků, a proto jsou vhodným prostředím pro mikroorganismy. Ty zde mohou růst a rozmnožovat se, a tím způsobovat kažení. Proto je pro lepší ochranu a kvalitu výrobků před nežádoucími mikroorganismy snaha přidávat do těchto maticí antimikrobiální látky a aditiva.

Mezi antibakteriální látky se řadí látky chemické povahy, jako je sůl, dusitany a siřičitany, dále kyselina sorbová, kyselina benzoová a její soli. V současnosti je snaha využívat spíše antimikrobiální látky z přírodních zdrojů, mezi často používané lze zařadit mastné kyseliny a jejich monoacylglyceroly.

Cílem bakalářské práce je zhodnotit inhibiční vliv vybraných mastných kyselin na růst gram pozitivních a gram negativních bakterií, jež mohou způsobovat infekci či změnu kvality potravin a kosmetických prostředků.

I. TEORETICKÁ ČÁST

1 MASTNÉ KYSELINY

Lipidy jsou nesourodá skupina přirozených látek rostlinného a živočišného původu. Jejich charakteristickým rysem je hydrofobní řetězec. Sloučeniny jsou ve vodě nerozpustné, nebo jen mírně rozpustné, můžeme je rozpouštět v organických rozpouštědlech. Z chemického pohledu jsou to deriváty mastných kyselin (MK) a alkoholů, některé však mohou obsahovat i další typy molekul včetně zbytku kyseliny fosforečné (fosfolipidy), cukernou složku (glykolipidy) nebo peptidy (lipoproteiny). [1,2]

Mastné kyseliny jsou alifatické karboxylové kyseliny, které získáváme hydrolyzou lipidů. Většina z nich má nerozvětvený řetězec se sudým počtem atomů uhlíku, protože jsou syntetizovány kondenzací dvojuhlíkatých jednotek acetylkoenzymu A. [3]

1.1 Názvosloví a klasifikace mastných kyselin

Většina MK má triviální název (tabulka 1). Poprvé byly tyto názvy použity v době, kdy ještě nebyla známa jejich struktura a byly jednoduše pojmenovávány podle původu. Například kyselina palmitová, která je součástí palmového oleje nebo kyselina olejová z oleje olivového. [4]

Celý systematický název závisí na chemických a biochemických pravidlech, ukazuje čísla atomů uhlíku, a pokud je to nutné, číslo, pozici, typ a konfiguraci nenasyceného centra. [4]

Symboly jako 18:2 indikují MK s osmnácti uhlíky a dvěma nenasycenými centry. Organická chemie používá symboly n-6 nebo ω6, říkající, že první nenasycený uhlíkový atom je na uhlíku číslo 6 včetně jeho metylskupiny. Symboly jako jsou c (Z), t (E), e a a, jsou někdy používány pro cis a trans olefiny, etyleny a pro nenasycené s trojnou vazbou. Další forma jsou zkratky, například CLA (konjugovaná kyselina linolová), EPA (eikosapentaenová kyselina) a další. [4]

MK se většinou klasifikují podle délky uhlovodíkového řetězce na nižší MK, pokud mají do 10 uhlíkových atomů, a na vyšší MK, které mají 12 a více uhlíkových atomů. Podle počtu dvojných vazeb se rozlišují na nasycené (neobsahují v řetězci dvojnou vazbu) a nenasycené (s obsahem dvojně nebo trojně vazby). [3]

Tabulka 1 – Přehled některých mastných kyselin [4]

Triviální název	Symbol	Nenasycenost
Nasyčené MK		
Kyselina laurová	12:0	-
Kyselina myristová	14:0	-
Kyselina palmitová	16:0	-
Kyselina stearová	18:0	-
Monoenové MK		
Kyselina olejová	18:1	9c
Kyselina petroselová	18:1	6c
Kyselina eruková	22:1	13c
Polyenové MK		
Kyselina linolová	18:2	9c12c
Kyselina linoleová (α)	18:3 (n-3)	9c12c15c
Kyselina linoleová (γ)	18:3 (n-6)	6c12c15c
Kyselina arachidonová	20:4 (n-6)	5c8c11c14c
Kyselina eikosapentaenová	20:5 (n-3)	5c8c11c14c17c
Kyselina dokosaheptaenová	22:6 (n-3)	4c7c10c13c16c19c
Kyselina eleostearová	18:3	9c11t13t
Kyselina ricinolejová	18:1	12-OH 9c

1.1.1 Kyselina kaprylová

Kyselina kaprylová, která se také nazývá oktanová kyselina, má středně dlouhý mastný řetězec ($C_8H_{16}O_2$). Můžeme ji nalézt v kokosovém a palmovém oleji, másebném tuku a v lidském mléce kojící matky. O této kyselině je známo, že má fungicidní, antibakteriální a antivirové vlastnosti. Mnozí odborníci uvádějí, že tato MK léčí kandidózu, způsobenou kvasinkami rodu *Candida*. [5,6]

1.1.2 Kyselina kaprinová

Kyselina kaprinová s 10 uhlíky se vykytuje spolu s másebnou, kapronovou a kaprylovou kyselinou v másle a kozím mléce. [7]

1.1.3 Kyselina laurová

Kyselina laurová má středně dlouhý uhlíkatý řetězec a vyskytuje se především v kokosovém oleji, kde je asi z 50 %. V těle je přeměněna na monolaurin a monoglyceridové směsi, které vykazují antivirové, antimikrobiální a antimykotické vlastnosti. Bylo zjištěno, že kyselina laurová díky svým antivirovým vlastnostem působí i proti HIV / AIDS. [8]

1.1.4 Kyselina myristová

Kyselina myristová (tetradekanová) je nasycená kyselina, vyskytuje se téměř v každé rostlinné a živočišné buňce. Její estery se využívají jako vonná aditiva v potravinářství a kosmetice. [9]

1.1.5 Kyselina palmitová

Kyselina palmitová (hexadekanová), je jednou z nejrozšířenějších MK v přírodě. Bývá součástí všech přírodních olejů a tuků. Ve formě solí je obsažena v mýdlech. [9]

1.1.6 Kyselina olejová

Kyselina olejová (oktadecenová) je monoenoová mastná kyselina. Je nutnou složkou lipidů, které vytvářejí biologické membrány, vzniká proto u všech organismů. Bohatým zdrojem této kyseliny jsou rostlinné oleje. Pravidelná konzumace snižuje vznik cévních chorob, a může působit preventivně proti nádorovým onemocněním. V kosmetice je využívána v šampónech, pro barvené a melírované vlasy. [8,10,11]

1.2 Vliv mastných kyselin na růst bakterií

Mastné kyseliny a jejich estery se využívají jako konzervační látky v mnoha potravinách a kosmetických přípravcích. Nevykazují nebo mají jen mírnou toxicitu. Mýdla neboli soli MK, byla dlouho užívána jako čistící a dezinfekční prostředky téměř 4 000 let. V 70. letech minulého století výzkumy prokázaly, že jejich účinnost je závislá na přítomnosti lipázy, ta uvolňuje MK a monoacylglyceroly. [12]

MK a jejich estery mají, na rozdíl od antibiotik, jiný nespecifický mechanismus působení a zatím není vůči těmto látkám znám žádný vývoj rezistence. Typ inhibice a mechanismus je závislý na použité koncentraci. Tyto látky se nemohou uplatnit jako univerzální ochranný prostředek, neboť jejich efekt není dost široký, ale je možná jejich kombinace s látkami, které potlačují růst bakterií. [13,14]

I když antibakteriální účinky MK a jejich derivátů nejsou zcela definovány, jde o narušení permeability cytoplazmatické membrány a o inhibici absorpce aminokyselin. Efekt MK proti bakteriím je ovlivněna přítomností škrobu, bílkovin jako je albumin, fosfolipidů a dalších povrchově aktivních látek, např. cholesterolu. Aktivita může být dále ovlivněna teplotou varu a koncentrací. Další hypotéza se zakládá na penetraci MK s krátkým a středně dlouhým uhlovodíkovým řetězcem v nedisociovaných formách do bakteriální buňky, kde způsobuje okyselování obsahu buňky. [14,15,16]

Při studiích MK a jejich derivátů jako antimikrobiálních látek bylo zjištěno, že kyselina laurová má z nasycených MK největší inhibiční účinky proti grampozitivním bakteriím. Monoenové kyseliny měly větší inhibiční účinky než nasycené MK, ale byly méně účinné než kyseliny dienové. Nenasycené sloučeniny byly rovněž méně aktivní než dienové. Obecně platí, že esterifikací na karboxylovou skupinu dojde k takové sloučenině, která je méně aktivní, avšak monoacylglyceroly mohou být výjimkou. [17]

MK s krátkými řetězci mají pouze malý nebo žádný dezinfekční účinek. Také bylo zjištěno, že sodná a draselná mýdla nemají zřetelně odlišné dezinfekční účinky. Bylo zjištěno, že pneumokoky jsou citlivé vůči kyselině laurové, olejové, linolové a linolenové. Při vyšších koncentracích těchto kyselin byly usmrceny i streptokoky. Nenasycená mýdla a estery kyseliny olejové, linolové a linolenové vykazují inhibiční účinky vůči stafylokokům, ale ne vůči enterobakteriím. Pneumokoky a stafylokoky již nerostou v přítomnosti malého množství ricinoleátu sodného. V roztoku zředěném 1:1000 byly usmrceny streptokoky, ale bakterie intestinálního traktu byly nedotčené. Ukázalo se, že mýdla obsahující 14 atomů uhlíků jsou nejúčinnější. Závěry říkají, že inhibiční efekt nenasycených MK vzrůstá s množstvím dvojných vazeb v molekule. [16]

Při studiích mléčného tuku bylo zjištěno, že většina grampozitivních bakterií je oproti gramnegativním vysoce citlivá k účinkům nenasycených MK. To je dáno tím, že grampozitivní bakterie nemají ve své buněčné stěně lipopolysacharidy. Avšak existují i výjimky, jako např. *Vibrio cholerae* a *Helicobacter pylori*. [18]

2 BAKTERIE

Bakterie jsou jednobuněčné organismy, jejich velikost se pohybuje v řádu tisícín milimetru. Jsou tvořeny prokaryotickou buňkou, ta nemá pravé jádro, kružnicová molekula DNA je uložena v cytosolu a nazývá se nukleoid. Na povrchu buňky je buněčná stěna, která buňku chrání a udržuje její tvar. Zničit buněčnou stěnu znamená většinou usmrtit bakterii. Některé bakterie obsahují nad buněčnou stěnou vnější membránu tvořenou lipopolysacharidy. Tyto se nazývají gramnegativní. [19,20]

Jedna z nejpoužívanějších metod pro identifikaci a charakterizaci bakterií je Gramovo barvení. Tato metoda řadí bakterie do dvou skupin na základě složení jejich buněčné stěny. [21]

2.1 Gramnegativní bakterie

Gramnegativní bakterie obsahují méně peptidoglykanu a mají složitější buněčnou stěnu. Vnější membrána, která stěnu obaluje, je složena s lipopolysacharidů. Tyto druhy jsou více nebezpečné než grampozitivní. Lipopolysacharidy často působí jako toxiny a vnější membrána jim poskytuje ochranu. Tím bývá vysvětlována i větší rezistence těchto bakterií vůči antibiotikům. Jako další ochrana jim slouží kapsula, pouzdro, kterým se přichycují k substrátu, nebo se jimi váží dohromady. Mohou se také spojovat pomocí povrchových výběžků, tzv. pilusů. [21]

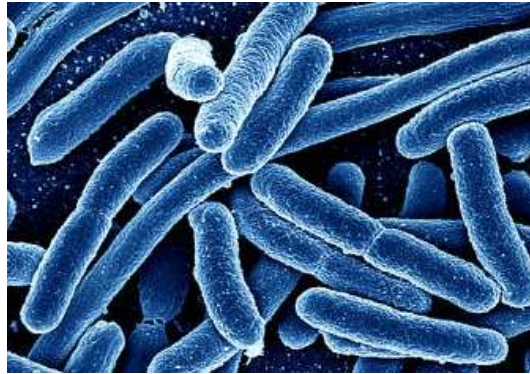
2.1.1 *Enterobacteriaceae*

Zástupci čeledi *Enterobacteriaceae* jsou pohyblivé i nepohyblivé, fakultativně anaerobní i aerobní tyčinkovité nesporulující bakterie. Většina se pohybuje pomocí peritrichálních bičíků. Osídlují trávicí ústrojí lidí a zvířat. Někteří zástupci této čeledi mohou být i patogenní. [22,23]

2.1.1.1 *Escherichia coli*

Escherichia coli (obr. 1) je jednou z neprostudovanějších bakterií, která se využívá jako modelový organismus v laboratořích mikrobiologie. Žije ve střevech zdravých lidí a zvířat. Většina kmenů jsou nám užitečné a neškodné, ale některé kmeny mohou být patogenní a způsobovat těžké křeče v břiše, krvavý průjem a zvracení. Mezi patogenní se řadí enteropatogenní *E. coli* (EPEC), enterotoxigenní *E. coli* (ETEC), enterohemoragické kmeny (EHEC) a mnohé další. K nákaze může dojít požitím kontaminované vody či

potraviny, zvláště pak syrovou zeleninou a nedostatečně tepelně zpracovaným hovězím masem. Symptomy jsou horší u dětí a starších osob a obzvláště u osob, trpících jinou nemocí. [22,24,25,26]



Obrázek 1 – *Escherichia coli* [27]

2.1.1.2 *Klebsiella pneumoniae*

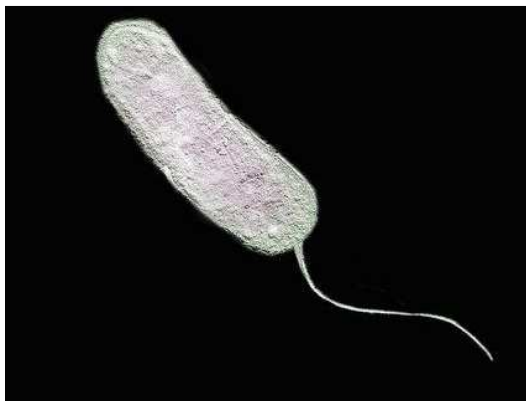
Bakterie rodu *Klebsiella* jsou příbuzné rodu *Enterobacter*. Jsou nepohyblivé, většinou mají polysacharidové pouzdro, od *Escherichia* je odlišuje jejich bílý pigment. Běžně osídlují lidské střevo, okolní prostředí je častým zdrojem infekcí. Stejně jako *E.coli* mohou vyvolávat močové infekce, dále jsou původci pneumonií, sepsí, meningitidy. Klebsibely obecně jsou primárně rezistentní na ampicilin a na některá další antibiotika. [22]

2.1.1.3 *Enterobacter*

Rod *Enterobacter* se vyskytuje v prostředí a také v trávicím ústrojí člověka. Řadí se ke koliformním bakteriím, příležitostně mohou způsobit infekce močových cest a lehčí průjemy obzvláště u malých dětí. [28]

2.1.1.4 *Serratia marcescens*

Na rozdíl od předešlých koliformních bakterií se spíše vyskytuje v okolí střeva než v samotném střevu. Za posledních 30. let se stala významnou příčinou nozokomiálních infekcí. *Serratia* může být rezistentní na některá antibiotika. Většina kmenů má červenou pigmentaci, jsou to pohyblivé tyčinky (obr. 2). [15,22]

Obrázek 2 – *Serratia marcescens* [27]

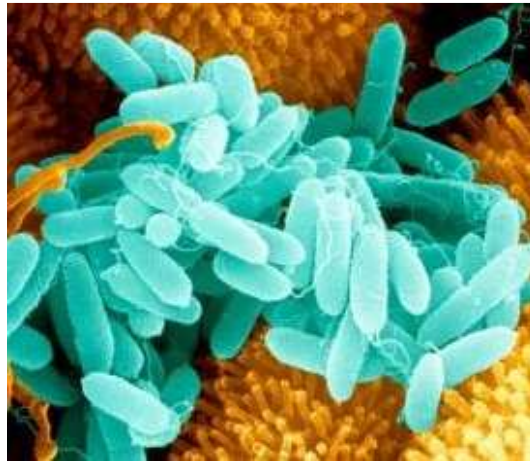
2.1.1.5 *Citrobacter freundii*

Citrobacter freundii se vyskytuje ve formě rovných tyčinek, buď samostatně, nebo v kratších řetězcích (obr. 3). Tyto bakterie jsou příbuzné salmonelám, ale na rozdíl od nich běžně osídlují střevo. Ve vyšších koncentracích mohou příležitostně vyvolat lehké průjmy a jsou také původci močových infekcí. Mohou způsobit bakteriémie, sepse, endokarditiny, meningitidy a mozkové abscesy. [22,29]

Obrázek 3 – *Citrobacter freundii* [27]

2.1.2 *Pseudomonas aeruginosa*

Rod tvoří aerobní tyčinky (obr. 4), které jsou volně žijící, nalezneme je v půdě, na pobřeží moří a na rostlinných a živočišných tkáních. Vytváří žlutozelený fluoreskující nebo namodralý pigment. Vylučují toxin A, který způsobuje zánět močových cest, středního ucha nebo hnisání popálenin. Zdrojem bývá kontaminovaná pitná voda, klimatizace, zvlhčovače vzduchu aj. [29,30,31,32,32]



Obrázek 4 – *Pseudomonas aeruginosa* [27]

2.2 Grampozitivní bakterie

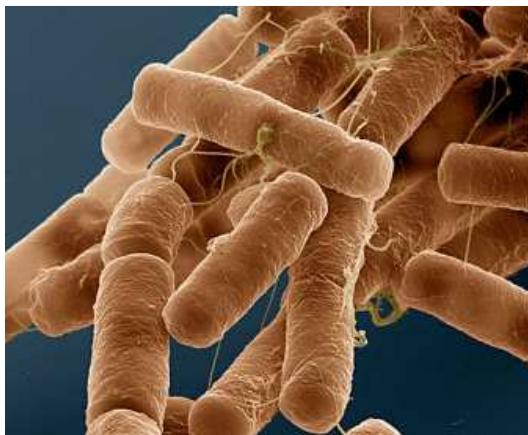
Jako grampozitivní bakterie označujeme ty, které mají jednodušší buněčnou stěnu s mohutnou vrstvou peptidoglykanu, kterou procházejí lineární řetězce teikoových kyselin. Buněčná stěna neobsahuje lipidy, až na výjimky, jako jsou mykobakterie, korynebakterie nebo nokardie. Buněčná stěna neobsahuje ani bílkoviny. [34]

2.2.1 *Bacillus*

Bacillus je grampozitivní, sporulující fakultativně anaerobní rod. Optimální teplota pro růst je 30 – 35 °C, nebývají ničeny pasterizací. Mohou způsobovat průjmy, žaludeční křeče a zvracení. [35,36]

2.2.1.1 *Bacillus cereus*

Bacillus cereus je tyčinka (obr. 5), která roste v nepravidelných koloniích. Vyskytuje se v prostředí, v půdě, na rostlinách a na potravinách, které mají cereální původ. Zdrojem intoxikace mohou být právě tyto produkty nesprávně skladované, zejména rýže. Tento druh způsobuje několik typů infekcí a intoxikací, způsobuje septikémie, meningitidy a oční infekce. Mezi symptomy patří nevolnost, zvracení a břišní křeče, dále průjem a rektální tenesmus. To je způsobeno enterotoxinem, který produkují. Obvykle tyto problémy trvají méně než 24 hodin a není nutné vyhledávat lékařskou pomoc. [31,37,38]

Obrázek 5 – *Bacillus cereus* [27]

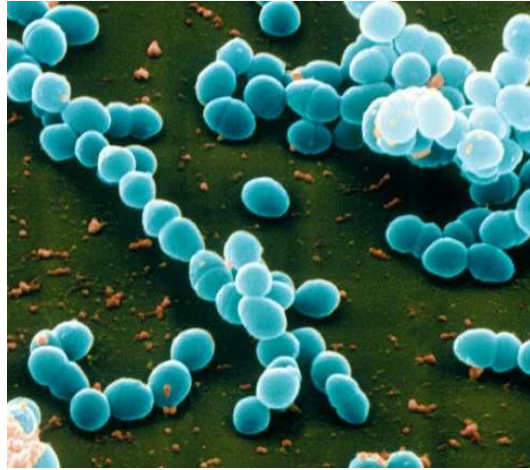
2.2.1.2 *Bacillus subtilis*

Bacillus subtilis (obr. 6) je všudypřítomnou bakterií, která se nachází ve vodě, půdě a ovzduší, kde rozkládá zbytky rostlin. Tím, že vytváří endospory, dokáže přežít extrémní podmínky, jako je např. vysoká teplota a vysychání. *B. subtilis* je považován za neškodný organismus, nepovažuje se za patogenní pro člověka, zvířata ani rostliny. [39]

Obrázek 6 – *Bacillus subtilis* [27]

2.2.2 *Enterococcus faecalis*

Enterococcus (obr. 7) se přirozeně vyskytuje v tlustém střevě savců a dalších orgánech. Je stále více vnímán jako lidský patogen, což je dáno zvýšeným nárůstem rezistence na používaná antibiotika, která potlačují růst jiných bakterií. Tím se dosáhlo, že *E. faecalis* se stal jedním z moderních a dominantních patogenů, a to hlavně po léčených nemocech jako jsou trauma, chemoterapie a poorganové operace. Na druhou stranu se setkáváme s prodejem těchto kultur v probiotických produktech. [38,40,41]

Obrázek 7 – *Enterococcus faecalis* [27]

2.2.3 *Micrococcus luteus*

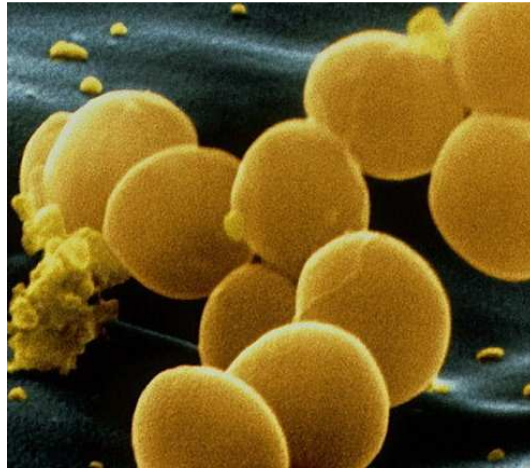
Micrococcus luteus (obr. 8) je to typický organismus žijící v prostředí. Nalezneme jej v soli, prachu, vodě a vzduchu. Jako oportunní patogen se může nacházet spolu se stafylokoky na lidské kůži. [42,43]

Obrázek 8 – *Micrococcus luteus* [44]

2.2.4 *Staphylococcus aureus*

Stafylokoky jsou nesporulující, nepohyblivé a většinou fakultativně anaerobní koky, které netvoří spory ani pouzdro (obr. 9). Dělí se na koaguláza-negativní a koaguláza-pozitivní. Většinou vytváří shluky, mohou se vyskytovat i v párech nebo ojedinele. Dobře snáší sůl, což se využívá při selektivní izolaci, kdy se používají živné půdy s obsahem chloridu sodného. [45]

Bakterie produkuje toxiny, nejvýznamnější je tvorba termostabilních enterotoxinů bílkovinné povahy, které způsobují otravy z jídla – tzv. enterotoxikózy, které mohou být až smrtelné a dále způsobuje onemocnění kůže. Nebezpečí otrav je hlavně u potravin, které se tepelně nepracovávají. Zdrojem této bakterie je člověk, vyskytuje se hlavně na kůži a na nosní sliznici a do potravin se většinou dostává hnisavými ložisky na ruce, kýchním nebo kašláním. [22,31,37]



Obrázek 9 – *Staphylococcus aureus* [27]

2.3 Růst a množení bakterií

Bakterie se množí za ideálních podmínek geometrickou řadou. Populace buněk prochází růstovými fázemi a při každém cyklu se počet buněk zdvojnásobí. Nakonec vyčerpají živiny nebo jsou inhibovány zplodinami svého metabolismu a růst se zpomalí, až zastaví. Jejich množení můžeme vyjádřit růstovou křivkou. Růstová křivka je charakteristická několika úseky, tzv. růstovými fázemi. [46]

Lag-fáze je fáze přípravná, kdy se buňky nemnoží, přizpůsobují se novým podmínkám, zvětšují se, aktivují enzymatický systém. Délka fáze je závislá na druhu mikroorganismu, fyziologickém stavu buněk a na složení nového prostředí. Fáze zrychleného růstu značí přizpůsobení buněk k novému prostředí, snižuje se počet odumírajících buněk a na konci této fáze mají buňky velkou intenzitu metabolismu a jsou schopny se s velkou rychlostí dělit. [34]

Fáze exponenciální neboli fáze logaritmická (log-fáze). Při této fázi jsou podmínky optimální pro růst bakterií. Populace exponenciálně vzrůstá s časem, a tak se zvyšuje jejich výskyt. [47]

Stacionární fáze je zastavení přírůstu počtu živých buněk, ale často při něm dochází ještě k pomalému rozmnožování, tím se kompenzuje počet odumírajících buněk. Fáze poklesu, což je fáze postupného odumírání buněk, může trvat týdny až měsíce. Nastává vznikem zplodin metabolismu nebo vyčerpáním živin. [37]

II. PRAKTICKÁ ČÁST

3 MATERIÁL, ZAŘÍZENÍ A POMŮCKY

3.1 Použité mikroorganismy

K testování byly vybrány tyto kultury mikroorganismů:

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

Escherichia coli CCM 3954

Pseudomonas aeruginosa CCM 3955

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

Serratia marcescens subsp. *marcescens* CCM 303

3.2 Složení živného média

Masopeptonového agar (MPA)

Složení:

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

Masopeptonový bujon (MPB)

Složení:

- Pepton (HiMedia, Bombai, Indie) 5,0 g
- NaCl (LachNer, Neratovice, ČR)..... 3,0 g
- Masový výtažek (HiMedia, Bombai, Indie)..... 3,0 g
- Destilovaná voda..... 1000,0 ml

Při výrobě masopeptonového bujónu i agaru byly všechny komponenty naváženy, doplněny vodou a v případě bujónu rozpipetovány do zkumavek po 5 ml. Následně byly sterilovány v autoklávu při 121 °C po dobu 20 minut. MPA byl poté rozlit na Petriho misky. Misky s MPA sloužily k uchovávání mikroorganismů.

3.3 Použité zařízení a pomůcky

- Autokláv Systec 2540 EL
- Automatické mikropipety Biohit
- Bakteriologické kličky
- Biologický termostat Memert INE 600
- Flow Box Clean Air
- Chladnička Elektrolux
- Laboratorní předvážky KERN
- Laboratorní sklo (kádinky, Petriho misky, zkumavky)
- Mikrotitrační destička
- Mikrovlnná trouba Elektrolux

4 METODIKA PRÁCE

4.1 Příprava bakteriální suspenze

Bakteriální suspenze byla připravena zaočkováním bakterií z Petriho misek. Tyto byly očkované do zkumavek, které obsahovaly 5 ml MPB. Suspenze byla kultivována v termostatu po dobu 24 hodin při teplotě 30 °C.

4.2 Sledování vlivu MK na růst bakterií

Růst bakterií v přítomnosti určité koncentrace MK byl sledován měřením růstové křivky po dobu 18 hodin.

Nejprve byl připraven roztok MPB s MK o koncentracích 25 – 1500 $\mu\text{l/ml}$, jak je uvedeno v tabulce 2.

Tabulka 2 – hodnoty pro výrobu roztoku MPB s MK

MPB [ml]	MK [μl]	Koncentrace MK [$\mu\text{l/ml}$]
4	-	0
3,998	2	25
3,996	4	50
3,992	8	100
3,980	20	250
3,960	40	500
3,920	80	1000
3,880	120	1500

Tyto roztoky byly pipetovány v množství 200 μl do jamek mikrotitrační destičky, které byly poté zaočkované 5 μl příslušné bakteriální suspenze. Na jedné mikrotitrační destičce byla sledována účinnost jedné kyseliny na růst pěti bakteriálních kmenů, dle vzoru v tabulce 3:

Tabulka 3 – Schéma zaočkování mikrotitrační destičky

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	0 kontrola	0 kontrola	0 MO1	0 MO1	0 MO2	0 MO2	0 MO3	0 MO3	0 MO4	0 MO4	0 MO5	0 MO5
B	25 kontrola	25 kontrola	25 MO1	25 MO1	25 MO2	25 MO2	25 MO3	25 MO3	25 MO4	25 MO4	25 MO5	25 MO5
C	50 kontrola	50 kontrola	50 MO1	50 MO1	50 MO2	50 MO2	50 MO3	50 MO3	50 MO4	50 MO4	50 MO5	50 MO5
D	100 kontrola	100 kontrola	100 MO1	100 MO1	100 MO2	100 MO2	100 MO3	100 MO3	100 MO4	100 MO4	100 MO5	100 MO5
E	250 kontrola	250 kontrola	250 MO1	250 MO1	250 MO2	250 MO2	250 MO3	250 MO3	250 MO4	250 MO4	250 MO5	250 MO5
F	500 kontrola	500 kontrola	500 MO1	500 MO1	500 MO2	500 MO2	500 MO3	500 MO3	500 MO4	500 MO4	500 MO5	500 MO5
G	1000 kontrola	1000 kontrola	1000 MO1	1000 MO1	1000 MO2	1000 MO2	1000 MO3	1000 MO3	1000 MO4	1000 MO4	1000 MO5	1000 MO5
H	1500 kontrola	1500 kontrola	1500 MO1	1500 MO1	1500 MO2	1500 MO2	1500 MO3	1500 MO3	1500 MO4	1500 MO4	1500 MO5	1500 MO5

Čísla v tabulce značí koncentraci použitého roztoku, v jamkách pro kontrolu nebyla pipetována suspenze bakterie. Symboly MO1 – MO5 značí 5 různých testovaných bakterií. Bakterie byly vždy pipetovány 2× vedle sebe.

Na takto připravené destičce byla po dobu 18 hodin při teplotě 25 °C na přístroji Benchmark Microplate Reader (Bio-Rad) měřena změna optické denzity suspenze buněk, výsledné hodnoty byly zaznamenávány softwarem Microplate Manager (Bio-Rad).

Z naměřených hodnot optické denzity byl vypočítán průměr, ze kterého byla sestrojena růstová křivka. Změna růstu bakterií v prostředí mastné kyseliny byla hodnocena jako index růstu dle Blaszyk a Holley [48]:

$$IR = \frac{(OD_{600} - NK)}{PK} \cdot 100$$

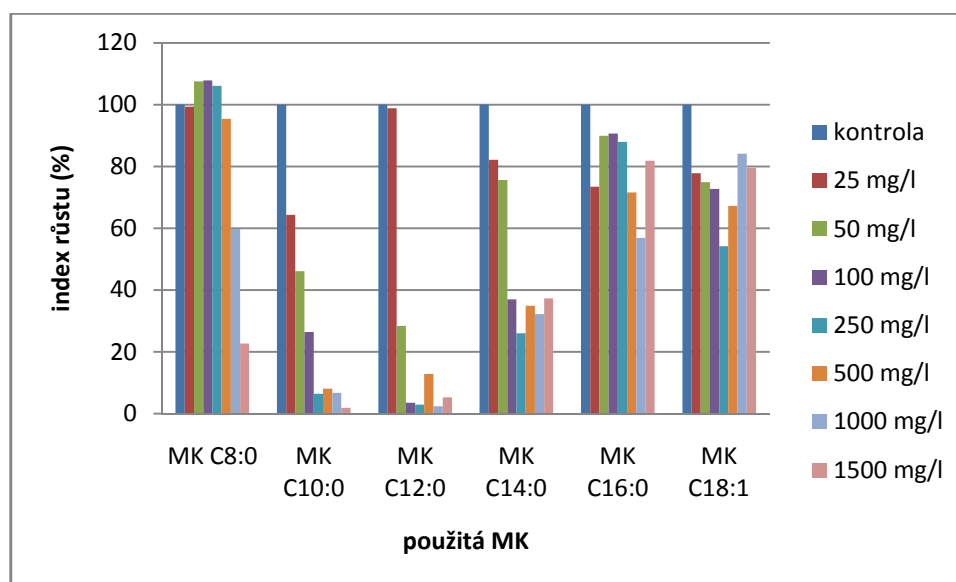
kde IR je index růstu buněk, OD_{600} je hodnota optické denzity testované kultury v médiu s příslušnou koncentrací MK, NK je optická denzita negativní kontroly pro příslušnou koncentraci MK bez buněčné suspenze a PK je optická denzita pozitivní kontroly s buněčnou suspenzí.

5 VÝSLEDKY

5.1 Působení vybraných MK na růst buněk *Bacillus cereus* CCM 2010

Vliv všech testovaných MK na růst bakterií byl sledován v rozmezí koncentrací MK 25 – 1500 mg/l. Po 18 hodinách kultivace vykazovaly největší inhibiční účinky na růst *B. cereus* MK C10:0 a MK C12:0. U MK C10:0 byl inhibiční účinek znát při koncentraci 250 mg/l a vyšší, kde index růstu klesl pod 8 % a při nejvyšší koncentraci byl nárůst buněk minimální. Velmi účinná byla také MK C12:0, která při použitých koncentracích 100, 250, 1000 a 1500 mg/l způsobila až 98% inhibici.

Obrázek 10 – Vliv testovaných MK na růst buněk *Bacillus cereus* CCM 2010 po 18 hodinách kultivace

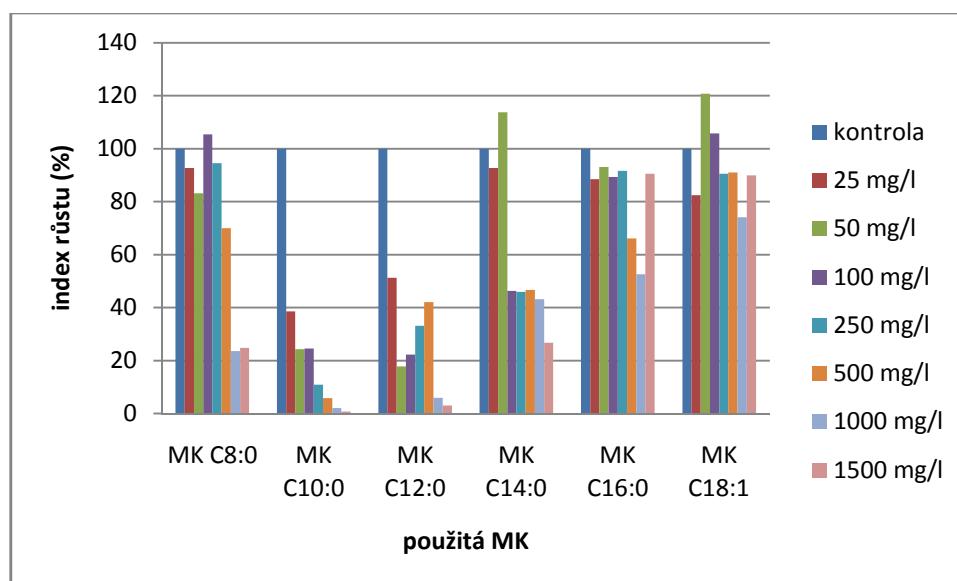


5.2 Působení vybraných MK na růst buněk *Bacillus subtilis* subsp. *spizizenii* CCM 4062

Dle grafického znázornění na obrázku 11 lze u *Bacillus subtilis* pozorovat inhibiční účinek podobný jako u *B. cereus*, tj. u MK C10:0 a MK C12:0. U MK C10:0 byl pozorován účinek již při koncentraci 50 mg/l, kde index růstu dosáhl hodnoty 24 % a se zvyšující se koncentrací se dále snižoval. U MK C12:0 lze inhibiční účinek pozorovat také při použití koncentrace 50 mg/l, při této koncentraci byl index růstu roven 18 %. Při použité koncentraci 250 mg/l a 500 mg/l index růstu stoupl na 33 a 42 %, přičemž při dalších

použitých koncentracích 1000 a 1500 mg/l nedosáhl více než 6 %. Při použití MK C14:0 byla u koncentrace 250 500 a 1000 mg/l, zjištěna cca 55 % inhibice. *Bacillus subtilis* subsp. *spizizenii* CCM 4062 byl odolný vůči působení mastných kyselin s vyšším počtem uhlíků (MK C16:0 a C18:1).

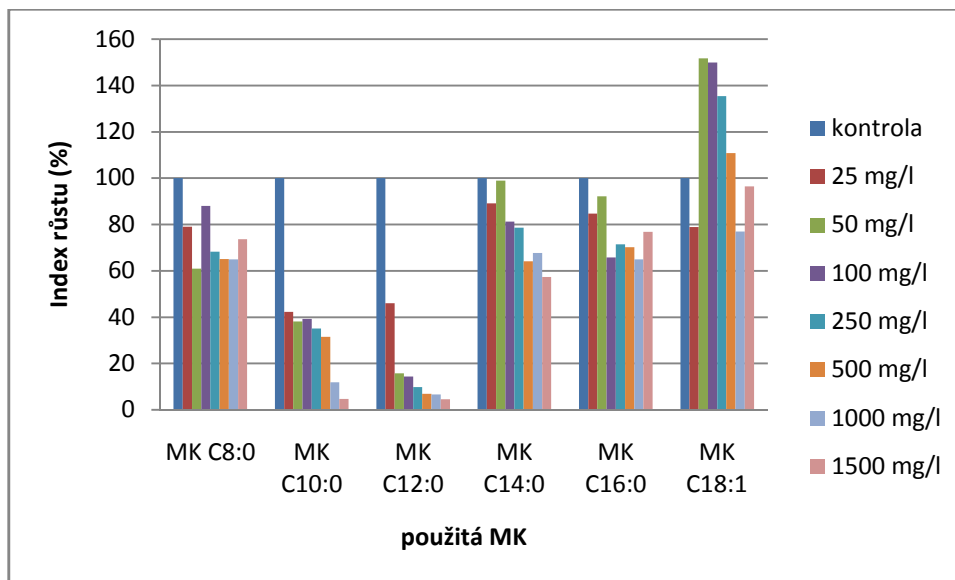
Obrázek 11 – Vliv MK na růst buněk *Bacillus subtilis* subsp. *spizizenii* CCM 4062 po 18 hodinách kultivace



5.3 Působení vybraných MK na růst buněk *Enterococcus faecalis* CCM 4224

Podobně jako u *B. cereus* a *B. subtilis* byly vůči *E. faecalis* nejúčinnějšími MK C10:0 a C12:0. MK C10:0 působila inhibičně v koncentracích 1000 a 1500 mg/l, kdy byla pozorována 89% a 95% inhibice růstu a MK C12:0 již při koncentraci od 250 mg/l a více, kdy byl pozorován 16% a nižší index růstu. Při přidavku MK C18:1 byl pozorován negativní inhibiční účinek, kdy index růstu stoupl až na 151 %.

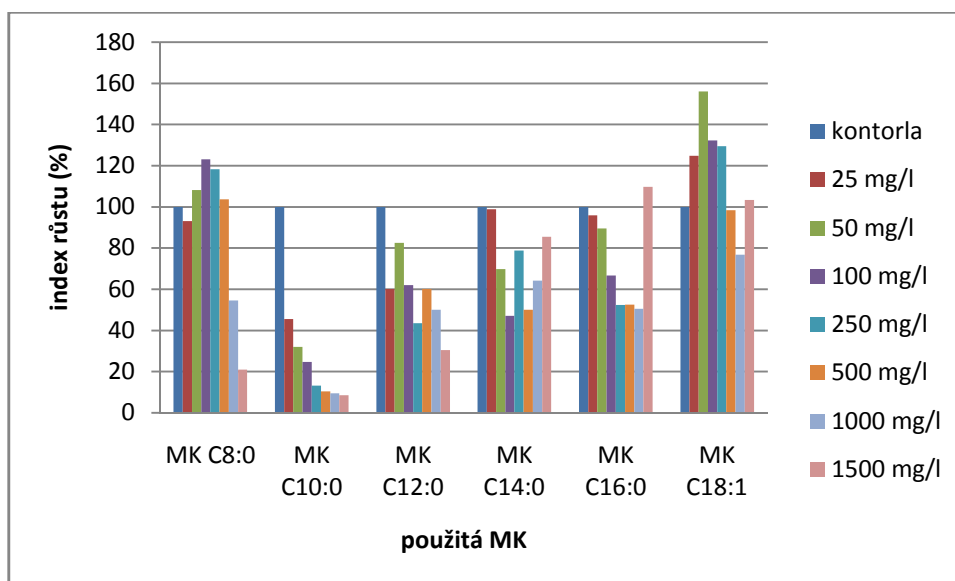
Obrázek 12 – Vliv MK na růst buněk *Enterococcus faecalis* CCM 4224 po 18 hodinách kultivace



5.4 Působení vybraných MK na růst buněk *Micrococcus luteus* CCM 732

Pro sledování účinků MK na růst bakterií *Micrococcus luteus* CCM 732 byly použity stejné koncentrace mastných kyselin jako u předchozích bakterií.

Obrázek 13 – Vliv MK na růst buněk *Micrococcus luteus* CCM 732 po 18 hodinách kultivace



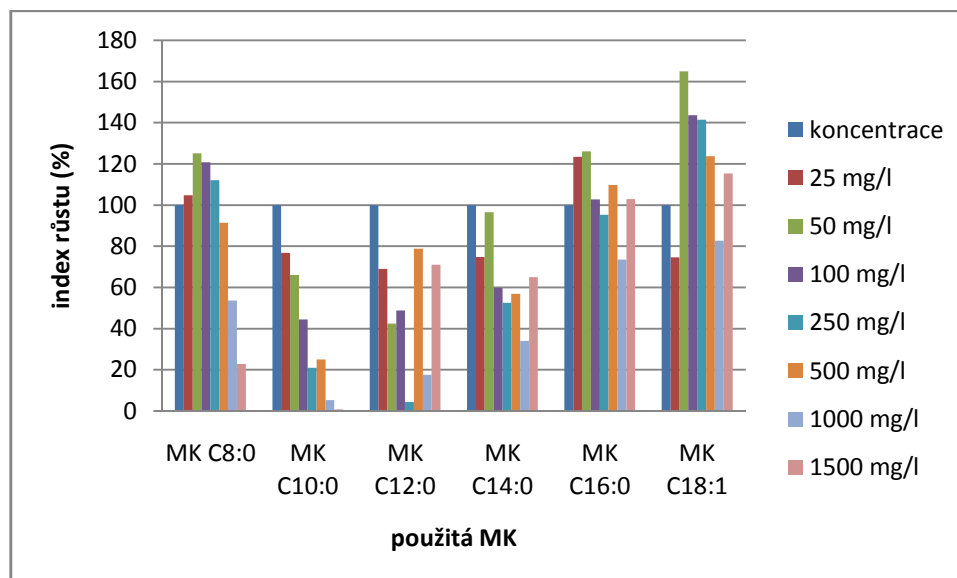
U MK C10:0 docházelo v rozmezí koncentrací 250 – 1500 mg/l k postupnému snižování indexu růstu, kde výsledný index růstu byl kolem 10 %. MK C8:0 vykazovala 79 % inhibici při své nejvyšší koncentraci a to 1500 mg/l. Jako nejméně účinná MK byla vyhodnocena MK C18:1, tato při koncentraci 50 mg/l zvedla růst buněk až o 56 % oproti kontrolnímu vzorku.

5.5 Působení vybraných MK na růst buněk *Staphylococcus aureus* subsp. *aureus* CCM 3953

Na bakterii *Staphylococcus aureus* subsp. *aureus* CCM 3953 vykazovala dobré inhibiční účinky MK C8:0 při koncentraci 1500 mg/l, při které byla zjištěna 77% inhibice růstu.

Při aplikaci kyseliny kaprinové v koncentracích 250 – 1500 mg/l na růst *S. aureus* klesl index růstu na 21, 25, 5 a 1 %. MK C12:0 ovlivnila růst buněk *S. aureus* při koncentraci 250 mg/l, index růstu po 18 hodinách byl vyhodnocen na hodnotu 4 %. MK C14:0 a C18:1 inhibiční účinek na stafylokoky neprokázaly.

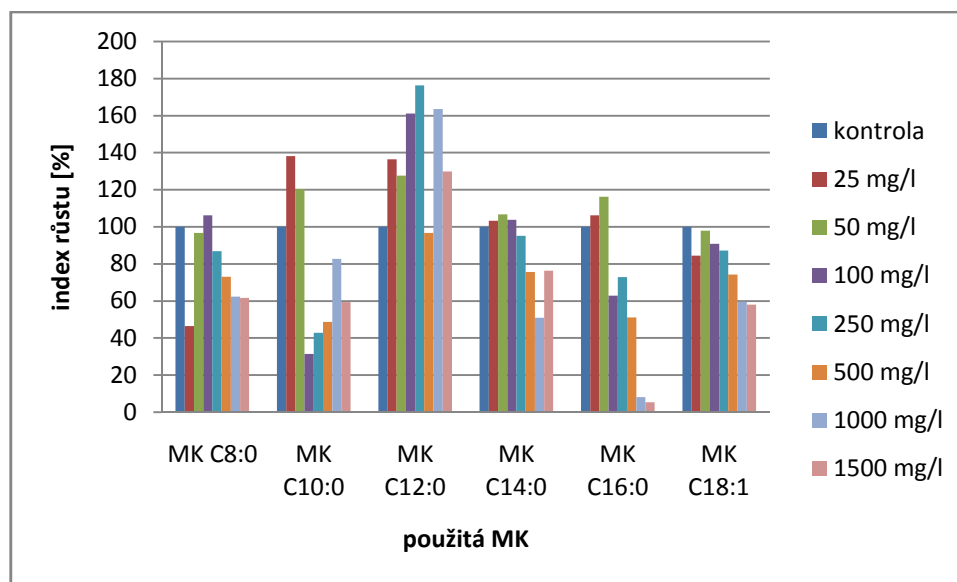
Obrázek 14 – Vliv MK na růst buněk *Staphylococcus aureus* subsp. *aureus* CCM 3953 po 18 hodinách kultivace



5.6 Působení vybraných MK na růst buněk *Citrobacter freundii* CCM 7187

Při sledování MK a jejich inhibičních účinků na bakterii *Citrobacter freundii* CMC 7187 se jako nejúčinnější projevila MK C16:0 při koncentracích 1000 a 1500 mg/l, kdy došlo ke snížení indexu růstu na 8 %, respektive na 5 %. Ostatní MK nevykazovaly významný inhibiční účinek, mnohdy spíše podporovaly růst bakterií v testované kultuře.

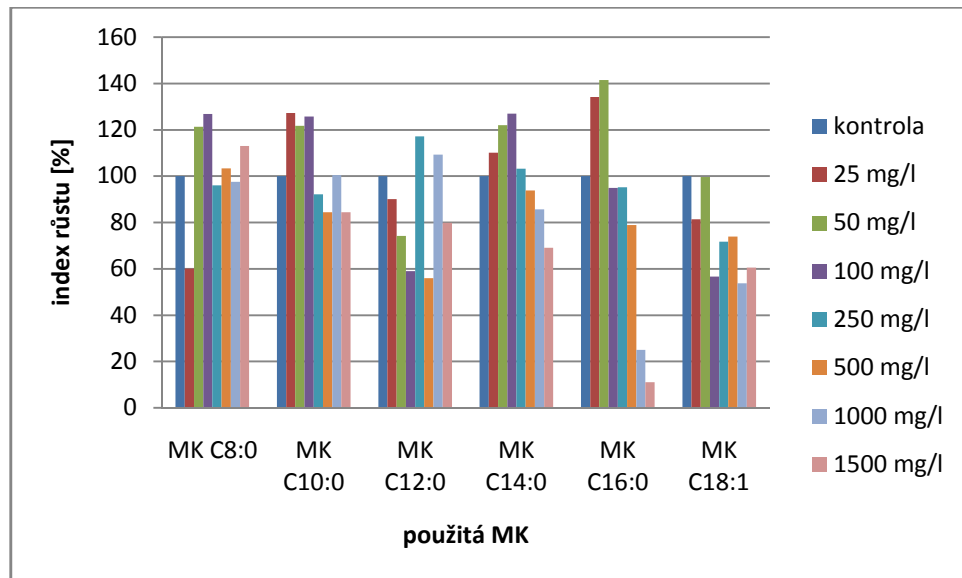
Obrázek 15 – Vliv MK na růst buněk *Citrobacter freundii* CCM 7187 po 18 hodinách kultivace



5.7 Působení vybraných MK na růst buněk *Escherichia coli* CCM 3954

U testovaných MK při koncentracích 25 – 1500 mg/l lze s výjimkou MK C16:0 pozorovat nedostatečný inhibiční účinek na *E. coli*. U MK C8:0, C12:0, C14:0 a C18:1 bylo pozorováno snížení růstu buněk ne méně než 53 %. U kyseliny palmitové se inhibiční efekt projevila při nejvyšších testovaných koncentracích (1000 mg/l a 1500 mg/l), při kterých došlo k redukci růstu o 85 %, respektive o 89 %, ale při použití koncentrací nižších (25 a 50 mg/l) k nárůstu o 34 a 41 %.

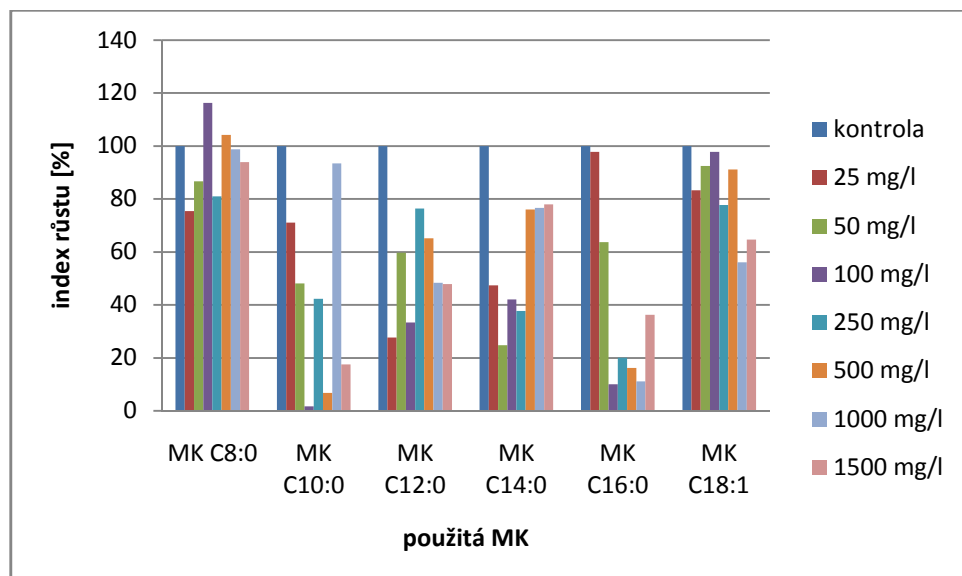
Obrázek 16 – Vliv MK na růst buněk *Escherichia coli* CCM 3954 po 18 hodinách kultivace



5.8 Působení vybraných MK na růst buněk *Pseudomonas aeruginosa* CCM 3955

Vůči růstu *Pseudomonas aeruginosa* CCM 3955 byly nejúčinnější kyselina kaprinová a palmitová.

Obrázek 17 – Vliv MK na růst buněk *Pseudomonas aeruginosa* CCM 3955 po 18 hodinách kultivace

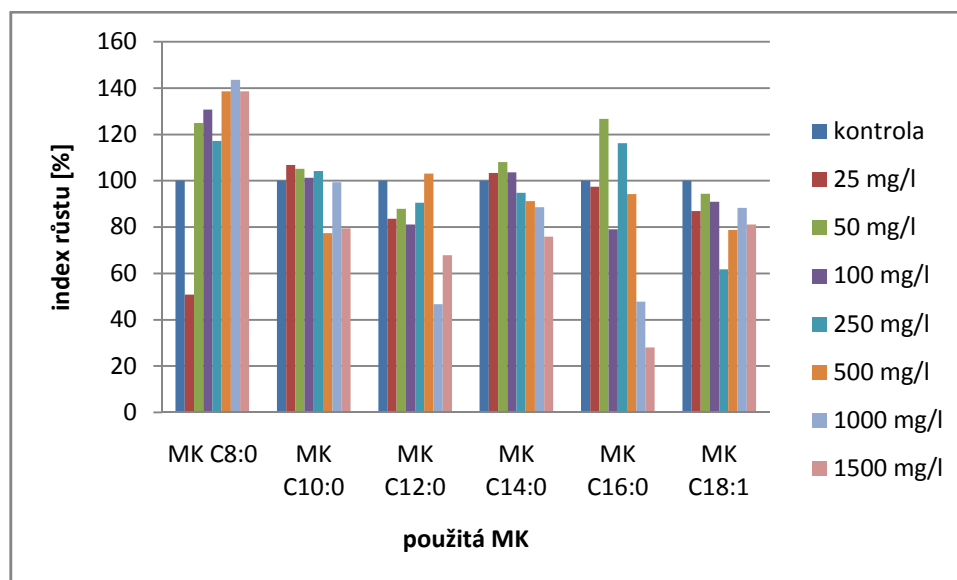


MK C8:0 nevykazovala téměř žádný antibakteriální účinek, dokonce při vyšší koncentraci, 100 mg/l podporovala růst buněk v testované kultuře. U MK C10:0 byl inhibiční efekt patrný při koncentracích 100, 500 a 1500 mg/l. MK C16:0 působila nejvíce inhibičně při koncentracích 100 až 1000 mg/l, kdy byl pozorován pokles růstu o 78 %, respektive 90 %. Při použití koncentrace 500 mg/l klesl index růstu na 20 % oproti kontrole.

5.9 Působení vybraných MK na růst buněk *Salmonella enterica* subsp. *enterica* ser. Enteritidis CCM 4420

Ovlivnění růstu buněk bylo také sledováno pro bakterii *Salmonella enterica* subsp. *enterica* ser. Enteritidis CCM 4429, která, jak je patrné z obrázku 18, je velice odolnou bakterií vůči účinkům

Obrázek 18 – Vliv MK na růst buněk *Salmonella enterica* subsp. *enterica* CCM 4420 po 18 hodinách kultivace



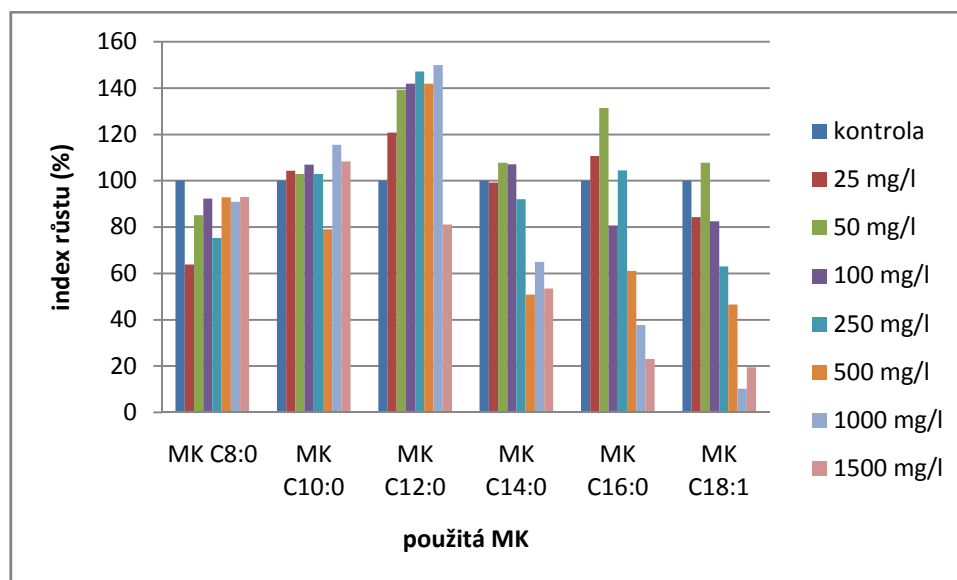
MK. Ani při jedné testované MK o koncentracích 25 – 1500 mg/l se neprojevil inhibiční účinek, který by snížil růst testovaných bakterií o více než 20 %. U kyseliny palmitové

bylo pozorováno i při nejvyšší koncentraci snížení hustoty bakterií pouze o 72 % oproti kontrolnímu vzorku.

5.10 Působení vybraných MK na růst buněk *Serratia marcescens* subsp. *marcescens* CCM 303

Poslední bakterií, u které byly testovány inhibiční účinky zvolených MK, byla *Serratia marcescens* subsp. *marcescens* CCM 303. Větší změny indexu růstu byly patrné pouze po aplikaci kyseliny olejové v koncentracích 1000 a 1500 mg/l. Index růstu při těchto koncentracích dosáhl 10 % respektive 19 %. MK C8:0 a C12:0 nevykazovaly žádný inhibiční účinek a dokonce při použití MK C12:0 rostla bakterie lépe než v kontrolním vzorku.

Obrázek 19 – Vliv MK na růst buněk *Serratia marcescens* subsp. *marcescens* CCM 303 po 18 hodinách kultivace



6 DISKUZE

Cílem práce bylo zhodnotit inhibiční účinky různých mastných kyselin na růst bakterií. Bylo použito 5 kmenů grampozitivních (*Bacillus cereus* CCM 2010, *Bacillus subtilis* subsp. *spizizenii* CCM 4062, *Enterococcus faecalis* CCM 4224, *Micrococcus luteus* CCM 732 a *Staphylococcus aureus* subsp. *aureus* CCM 3953) a 5 kmenů gramnegativních bakterií (*Citrobacter freundii* CCM 7187, *Escherichia coli* CCM 3954, *Pseudomonas aeruginosa* CCM 3955, *Salmonella enterica* subsp. *enterica* ser. Enteritidis CCM 4420 a *Serratia marcescens* subsp. *marcescens* CCM 303). Pro testování inhibičních efektů byly použity následující mastné kyseliny: kaprylová (MK C8:0), kaprinová (MK C10:0), laurová (MK C12:0), myristová (MK C14:0), palmitová (MK C16:0) a kyselina olejová (MK C18:1). Pro studie růstu bakterií byly všechny mastné kyseliny testovány v rozmezí koncentrací 25 – 1500 mg/l.

Z experimentu vyplývá, že grampozitivní bakterie byly k účinkům testovaných mastných kyselin citlivější než bakterie gramnegativní. [34] Ty se pravděpodobně dokázaly více přizpůsobit nepříznivým podmínkám. Nejnižší sledovaná koncentrace mastných kyselin (25 mg/l) nepůsobila inhibičně na žádnou z testovaných bakterií.

Z testovaných grampozitivních bakterií byl nejvíce odolný vůči inhibičnímu efektu mastných kyselin *Micrococcus luteus* CCM 732, u něhož byla zjištěna inhibice při použití mastné kyseliny kaprinové při koncentraci 250 mg/l a více, kde po 18 hodinách kultivace byl inhibiční účinek vyšší než 80 %. Nejméně odolným mikroorganismem byl *Bacillus cereus* CCM 2010, u něhož po stejné době kultivace byl zjištěn inhibiční efekt u kyseliny kaprinové při použití 250 mg/l a více a u kyseliny laurové při použití 100 mg/l inhibiční účinek z 90 % a více.

Z testovaných gramnegativních bakterií byla nejvíce odolná vůči mastným kyselinám bakterie *Escherichia coli* CCM 3954 a bakterie *Salmonella enterica* subsp. *enterica* ser. Enteritidis CCM 4420. Na *E. coli* působila negativně kyselina stearová při koncentracích 1000 mg/l a 1500 mg/l, při kterých došlo k 25% a 11% inhibici růstu. *Salmonella enterica* subsp. *enterica* ser. Enteritidis CCM 4420 taktéž nerostla při aplikaci kyseliny stearové, při koncentraci 1500 mg/l došlo k inhibici růstu na 28 %.

V této studii nebyly zaznamenány inhibiční účinky kyseliny kaprylové vůči bakteriím *Bacillus cereus*, *Enterococcus faecalis*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella enterica* a *Serratia marcescens*. Ale z literatury plyne, že kyselina kaprylová

redukovala počet bakterií *Salmonella* Enteritidis na drůbeži do jedné minuty o 5 řádů a do 24 hodin tyto patogeny kompletně inhibovala. [49] Působení kyseliny kaprylové na enterobakterie izolované z ryb (*Edwardsiella*, *Yersinia*) studovali Kollanoor a kol. [50] Minimální inhibiční koncentrace kyseliny kaprylové se u těchto patogenů pohybovala v rozmezí 7,5 – 50 mM, Inhibiční účinky spektra mastných kyselin byly rovněž testovány na klinických a veterinárních izolátech bakterií *Escherichia coli* a *Salmonella*. Na *E. coli* působily inhibičně kyseliny kaprylová a kaprinová v koncentracích do 5 mg/ml, salmonely byly inhibovány pouze kyselinou kaprylovou. Inhibiční efekt nebyl prokázán u ostatních mastných kyselin s počtem uhlíků 12 až 18, včetně nenasycených. [51,52] Vůči enteropatogennímu kmenu *E. coli* působily v blízkosti pH 7 inhibičně kyseliny kaprylová a kapronová, se snižujícím se pH byl inhibiční efekt pozorován i u kyseliny kaprinové. U kyseliny laurové, myristové a olejové nebyly zaznamenány výrazné inhibiční účinky ani při nízkém pH. [53] Účinky MAG C8:0 jsou rovněž popsány v literatuře. Nair a kol. zjistili, že monokaprylin způsobuje v koncentracích 5450 – 10900 mg/l výraznou redukci počtu buněk streptokoků a stafylokoků, a to již po 6 hodinách působení. [48] Po aplikaci kyseliny kaprinové byla pozorována inhibice u všech grampozitivních bakterií. Při použití koncentrace 250 mg/l vykazovala redukční účinky na *Bacillus cereus*, *Bacillus subtilis* a *Micrococcus luteus*, pro redukci bakterií *Enterococcus faecalis* a *Staphylococcus aureus* byla koncentrace 1000 mg/l. Inhibičními účinky kyseliny kaprinové a laurové na patogenní bakterii *Staphylococcus aureus* se zabývali i další autoři. [54] Jejich výsledky ukazují, že v důsledku nižšího pH (způsobeného právě díky přítomnosti kyseliny) se prodlužuje doba lag-fáze. Podobně i v této práci bylo zjištěno, že při aplikaci mastných kyselin do bujónu dochází k prodloužení doby lag-fáze v této práci (viz. přílohy). Doba lag-fáze se prodlužovala se zvyšující se koncentrací testovaných mastných kyselin.

V naší studii bylo dále zjištěno, že bakterie *Citrobacter freundii*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* a *Serratia marcescens* jsou schopny růst i za přídavku kyseliny laurové, zatímco na *Bacillus cereus*, *Bacillus subtilis* a *Enterococcus faecalis* tato kyselina působila inhibičně. Podobně i Bergsson a kol. sledovali inhibiční účinky nasyčených i nenasycených mastných kyselin a jejich monoacylglycerolů na stafylokoky a vybrané streptokoky. [55] Streptokoky byly inhibovány kyselinami laurovou a palmitolejovou. Mezi další testované kyseliny byla zařazena kyselina myristová, která neprokázala dobré inhibiční účinky. U *Bacillus cereus* způsobila přibližně 60% inhibici a u *Bacillus subtilis* přibližně 55% inhibici při použití koncentrace 100 mg/l a vyšší. Na bakterii *E. coli* měla

tato kyselina stimulační účinek, jejíž nárůst byl o 27 % oproti čisté kultuře. Podobně i další autoři nepozorovali inhibiční působení této kyseliny. [12] Tato kyselina byla testována po částečné hydrolyze mléka na bakterie, *K. pneumoniae* a *E. faecalis*. Naproti tomu tito autoři poukazují na to, že výše zmiňovaná kyselina laurová působí proti enterokokům.

Inhibice růstu nebyla pozorována ani u kyseliny palmitové, až při použití nejvyšších koncentracích (1000 a 1500 mg/l) měla inhibiční efekt pouze u *Citrobacter freundii* a *E. coli* a to kolem 90 %.

Kyselina olejová nezpůsobila redukci růstu buněk u testovaných mikroorganismů až na výjimku, *Serratia marcescens*, která při vysoké koncentraci, tj. 1000 mg/l snížila schopnost růstu o 90 %. Kyselina olejová byla schopna inhibovat růst *Staphylococcus aureus* v biofilmu díky tomu, že se zvyšující se koncentrací kyseliny olejové došlo k poklesu životaschopnosti buněk díky přítomnosti oxidačních látek, které působily toxicky na *S. aureus*. [56] Inhibiční účinky kyseliny olejové testovala i Doležalová, která zjistila, že statisticky významný úbytek počtu bakterií byl zaznamenán pouze při použití 2% a 2,5% koncentrace této kyseliny na bakterie *E. coli*, *S. Typhimurium* a *S. aureus*. *P. fluorescens* byla ke kyselině olejové odolná. [57]

Inhibiční účinky mastných kyselin byly testovány i na *Listeria monocytogenes*. Tato bakterie byla inhibována působením kyseliny kaprinové, laurové a linolenové v koncentraci 500 μM . [58] Podle Wang a Johnson [59] působí na *L. monocytogenes* inhibičně kyseliny laurová, linolová a linolenová v koncentracích 10 – 200 $\mu\text{g/ml}$, přičemž snížení pH z 6 na pH 5 tento účinek ještě zesílí.

Růst *Clostridium perfringens* byl inhibován kyselinou kaprylovou, kaprinovou, laurovou, myristovou, a olejovou, inhibice byla způsobena poškozením cytoplazmatických struktur buňky. [52,53]

Mastné kyseliny působí inhibičně i proti bakteriím způsobujícím sexuálně přenosná onemocnění. [60] *Chlamydia trachomatis* vykazovala citlivost vůči kyselině kaprinové a laurové. [61] Antibakteriální efekt byl u *Neisseria gonorrhoeae* zaznamenán při kyselině laurové a palmitolejové. [62]

Souhrnně lze říci, že mastné kyseliny, s výjimkou kyselin s velmi krátkým řetězcem (6 uhlíků a méně), vykazují rovněž aktivitu vůči gramnegativním bakteriím. Grampozitivní bakterie jsou vůči působení mastných kyselin citlivější. Z nasycených mastných kyselin vykazuje vůči grampozitivním bakteriím nejlepší účinky kyselina laurová (C12:0),

z mononenasycených mastných kyselina palmitolejová (C16:1) a z polynenasycených kyselina linolenová (C18:2). [60]

ZÁVĚR

Předložená práce byla zaměřena na studium antimikrobiálního efektu vybraných mastných kyselin na 10 druhů bakterií. Růst bakterií byl sledován 18 hodin měřením optické hustoty, z této hodnoty byl vypočítán index růstu.

Ze získaných výsledků bylo možné učinit tyto závěry:

- V laboratorním prostředí nebyly prokázány významné inhibiční účinky vybraných mastných kyselin.
- Antimikrobiální účinek prokázaly u některých bakterií kyseliny: kaprinová, laurová a stearová, bylo ale nutné použít mastné kyseliny ve vyšších koncentracích
- Gramnegativní bakterie byly vůči účinkům mastných kyselin odolnější než grampozitivní bakterie.
- Nejcitlivějšími bakteriemi byly *Bacillus cereus* a *Bacillus subtilis*, ale pouze při použití kyseliny kaprinové a kyseliny laurové.
- Nejodolnějšími bakteriemi byly *Escherichia coli*, *Salmonella enterica* a *Serratia marcescens*.

Vybrané mastné kyseliny by se pravděpodobně nemohly uplatnit jako univerzální antimikrobiální látky, jelikož žádná z nich neprokázala inhibiční efekt u všech zkoumaných bakterií.

SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY

- [1] DOSTÁL, Jiří, Hana PAULOVÁ, Jiří SLANINA a Eva TÁBORSKÁ. *Biochemie pro bakaláře*. Brno: Masarykova univerzita, 2003, 173 s. ISBN 80-210-3232-4.
- [2] MCCLEMENTS, David Julian. *Food emulsions: principles, practice, and techniques*. Boca Raton: CRC Press, 1999, 378 s. ISBN 08-493-8008-1.
- [3] DOSTÁL, Jiří a Petr KAPLAN. *Lékařská chemie*. Brno: Masarykova univerzita, 2001, 223 s. ISBN 80-210-2731-2.
- [4] GUNSTONE, Frank D. *The chemistry of oils and fats: sources, composition, properties, and uses*. Boca Raton, Florida: CRC Press, 2004, 288 s. ISBN 1-4051-1626-9.
- [5] *Caprylic acid against candida*, [online]. [cit. 2012-02-16]. Dostupné z: <<http://www.natural-cancer-cures.com/caprylic-acid.html>>
- [6] *The candida diet*, [online]. [cit. 2012-02-16]. Dostupné z: <www.thecandidadiet.com>
- [7] HOZA, Ignác a Daniela KRAMÁŘOVÁ. *Potravinářská biochemie I*. Zlín: Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně, 2005, 168 s. ISBN 978-80-7318-295-3.
- [8] *Learn about the many benefits of lauric acid in coconut oil*, [online]. [cit. 2012-02-17]. Dostupné z: <http://www.naturalnews.com/026819_lauric_acid_coconut_oil.html>
- [9] KODÍČEK, Milan. *Biochemické pojmy: Výkladový slovník*. Praha: Vysoká škola chemicko-technologická, 2004, 171 s. ISBN 978-80-7080-669-2.
- [10] ŠENKÝŘOVÁ, Petra. *Nenasycené mastné kyseliny ve výživě člověka*. Bakalářská práce. Masarykova Univerzita v Brně, 2006, 33 s.
- [11] SCHLOSSMAN, Mitchell L. *The chemistry and manufacture of cosmetics: Volume III - Ingredients, Book two*. 3rd ed. Carol Stream: Allured Publishing Corporation, 2002. ISBN 09-317-1077-4.
- [12] Q. SUN CYNTHIA, O'CONNOR J. CHARMIAN A ANTHONY M. ROBERTON. The antimicrobial properties of milkfat hydrolysis by calf

- pregastric lipase. *Chemico-Biological Interactions* 140, 2002: 158-159.
- [13] BUŇKOVÁ, Leona, František BUŇKA, Rahula JANIŠ, Jiří KREJČÍ, Iva DOLEŽÁLKOVÁ, Zdeněk POSPÍŠIL, Jan RŮŽIČKA a Bohuslava TREMLOVÁ. Comparison of antibacterial effect of seven 1-monoglycerides on food-borne pathogens or spoilage bacteria. *Acta Veterinaria Brno*. 2011, roč. 80, č. 1, s. 29-39. ISSN 0001-7213. DOI: 10.2754/avb201180010029.
- [14] NAVRÁTIL, Jan. *Inhibice růstu vybraných bakterií vlivem monokaprylinu*. Bakalářská práce. UTB ve Zlíně, 2009, 63 s.
- [15] HEJAZI, A. a F. R. FALKINER. *Serratia marcescens*. *The pathological Society of Great Britain and Ireland*. 1997, DOI: 10.1099/00222615-46-11-903.
- [16] DAVIDSON, P. Michael, John Nikolaos SOFOS a Alfred Larry BRANEN. *Antimicrobials in food*. 3rd ed. Boca Raton, FL: Taylor, 2005, 706 s. ISBN 978-082-4740-375.
- [17] KABARA Jon J., Dennis M. SWIECYKOWSKI, Anthony J. CONLEY a Joseph P. TRUANT. Fatty acids and derivatives as antimicrobial agents. *American society for microbiology*. 1972, DOI: 10.1128/AAC.2.1.23.
- [18] SPRONG R.C., HULSTEIN M.F.E. a R. MEER. *Bovine milk fat components inhibit food-borne pathogens*, *International Dairy Journal*, 2002, vol 12, p 209 – 215.
- [19] SCHINDLER, Jiří. *Ze života bakterií*. Praha: Academia, 2008, 143 s. ISBN 978-80-200-1666-9.
- [20] ZÁVODSKÁ, Radka. *Biologie buněk: základy cytologie, bakteriologie, virologie*. Praha: Scientia, 2006, 160 s. ISBN 80-869-6015-3.
- [21] CAMBELL, Neil A Jane B REECE. *Biologie*, Brno: Computer Press, a. s., 2006, 1332 s. ISBN: 80-251-1178-4.
- [22] JULÁK, Jaroslav. *Úvod do lékařské bakteriologie*. Praha: Karolinum, 2006, 404s. ISBN 80-246-1270-4.
- [23] HRUBÝ, Stanislav a Bohumil TUREK. *Mikrobiologická problematika ve výživě*. Brno: IDVPZ, 1996, 145 s. ISBN 80-7013-232-9.

- [24] *E.coli*, [online]. [cit. 2012-02-09]. Dostupné na: WWW <<https://www.mayoclinic.com/health/e-coli/DS01007>>
- [25] *Fact sheet, E. coli*, [online]. [cit. 2012-02-09]. Dostupné na: WWW <<http://www.doh.wa.gov/ehsphi/factsheet/ecoli.htm>>
- [26] *E. coli infection*, [online]. [Cit. 2012-02-09]. Dostupné na: WWW <<http://familydoctor.org/familydoctor/en/diseases-conditions/ecoli-infection.html> 9.2>
- [27] *The leading provider of science images and footage*, [online]. [Cit. 2012-03-02]. Dostupné na: WWW <<http://www.sciencephoto.com/>>
- [28] KLABAN, Vladimír. *Ilustrovaný mikrobiologický slovník*. Praha: Galén, 2005, 654 s. ISBN 80-726-2341-9.
- [29] VAŘEJKA, František, Jiří SMOLA a Oldřich MRÁZ. *Speciální veterinární mikrobiologie*. Praha: SZN, 1989, 258 s. ISBN 80-209-0042-X.
- [30] GÖRNER, Fridrich a Lubomír VALÍK. *Aplikovaná mikrobiológia požívatin: princípy mikrobiológie požívatin, potravinársky významné mikroorganizmy a ich skupiny, mikrobiológia potravinárskych výrob, ochorenia mikrobiálneho povodu, ktorých zárodoky sú prenášané požívatinami*. Bratislava: Malé centrum, 2004, 528 s. ISBN 80-967-0649-7.
- [31] KADLEC, Pavel, Karel MELZOCH a Michal VOLDŘICH. *Co byste měli vědět o výrobě potravin?: Technologie potravin*. Ostrava: Key Publishing, 2009, 536 s. Monografie (Key Publishing). ISBN 978-80-7418-051-4.
- [32] *Pseudomonas aeruginosa*, [online]. [cit. 2012-02-17]. Dostupné na: WWW <<http://www.textbookofbacteriology.net/pseudomonas.html>>
- [33] *Pseudomonas genome database*, [online]. [cit. 2012-02-17]. Dostupné na: WWW <<http://www.pseudomonas.com>>
- [34] BUŇKOVÁ, Leona a Magda DOLEŽALOVÁ. *Obecná mikrobiologie*. 2 nezměněné vydání. Zlín: Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně, 2010, 190 s. ISBN 978-80-7318-973-0.
- [35] FERNANDES, Rhea. *Microbiology handbook: Dairy products*. Cambridge: Leatherhead Pub., and Royal Society of Chemistry, 2009, 173 p. ISBN 978-1-

905224-62-3.

- [36] ADAMS, Martin R. a Maurice O. MOSS. *Food microbiology*. 3rd ed. Cambridge, UK: RSC Publishing, 2008, 463 s. ISBN 08-540-4284-9.
- [37] ŠILHÁNKOVÁ, Ludmila. *Mikrobiologie pro potravináře a biotechnology*. Praha: Victoria Publishing, 1995, 361 s. ISBN 80-856-0571-6.
- [38] LUND, Barbara M, Tony C BAIRD-PARKER a G GOULD. *The microbiological safety and quality of food*. Gaithersburg, Md.: Aspen Publishers, 2000, ISBN 08-342-1323-0.
- [39] *Bacillus subtilis final risk assessment*, [online]. [cit. 2012-02-20]. Dostupné na: WWW <http://www.epa.gov/biotech_rule/pubs/fra/fra009.htm 9.2>
- [40] FAZAL, Nadeem, Alla SHELIP, Erum SIDDIQUI, Ashraf ALI, Anser C. AZIM a Walid M. AL-GHOUL. Differential effector responses by circulating/blood and tissue/peritoneal neutrophils following burn combined with *Enterococcus faecalis* infection. DOI: 10.1111/j.1574-695X.2011.00881.x.
- [41] PESSIONE, Alessandro, Cristina LAMBERTI, Luca COCOLIN, Simona CAMPOLONGO, Alexander GRUNAU, Sonia GIUBERGIA, Leo EBERL, Kathrin RIEDEL a Enrica PESSIONE. Different protein expression profiles in cheese and clinical isolates of *Enterococcus faecalis* revealed by proteomic analysis. DOI: 10.1002/pmic.201100468.
- [42] YOUNGJIN, Choi, Jung EUNKYOUNG, Park HYUNJOO, Jung SEUNHO a Kim SUNGHYUN. Effect of Initial Carbon Sources on the Performance of a Microbial Fuel Cell Containing Environmental Microorganism *Micrococcus luteus*. *Bull. Korean Chem. Society*, 2007. Vol. 28. No 9. 1591
- [43] KOOKEN, Jennifer M., Karen F. FOX a Alvin FOX. Characterization of *Micrococcus* strains isolated from indoor air. *Molecular and cellular probes*. 2012, DOI: 10.1016/j.mcp.2011.09.00
- [44] *Biosynthesis of hydrocarbon fuels*, [online]. [cit. 2012-03-02]. Dostupné na: WWW <<http://www.networlddirectory.com/blogs/archives/Technology-blog/466392985-Sep-23-2010.html>>

- [45] GREENWOOD, David, Richard C SLACK a J PEUTHERER. *Medical microbiology: a guide to microbial infections : pathogenesis, immunity, laboratory diagnosis, and control*. 16th ed. New York: Churchill Livingstone, 2002, 709 s. ISBN 04-430-7077-6.
- [46] VOTAVA, Miroslav. *Lékařská mikrobiologie obecná*. 2., přepr. vyd. Brno: Neptun, 2005, 351 s. ISBN 80-868-5000-5.
- [47] *Bacterial growth curve*, [online]. [cit. 2012-02-24]. Dostupné na: WWW <<http://www.corrosion-club.com/waterbactgrowth.htm>>
- [48] BUŇKOVÁ, Leona. *Účinky přídatných látek používaných v potravinářství a kosmetice na růst vybraných bakterií*. Rigorózní práce, Masarykova Univerzita v Brně, 2008. 94 s.
- [49] VASUDEVAN P., P. MAREK, M. K. M NAIR a T. ANNAMALAI. In vitro Inactivation of Salmonella Enteritidis in autoclaved chicken cecal contents by caprylic acid. *Poultry science association*. 2005. Research 14: 122-125
- [50] KOLLANOOR, A., P. VASUDEVAN, M. KUMAR, M. NAIR, T. HOAGLAND a K. VENKITANARAYANAN. Inactivation of bacterial fish pathogens by medium-chain lipid molecules (caprylic acid, monocaprylin and sodium caprylate). *Aquaculture*, 2007, Research 38: 1293-1300.
- [51] MAROUNEK, M., E. SKŘIVANOVÁ a V. RADA. Susceptibility of Escherichia coli to C2-C18 fatty acids. *Folia Microbiologica*, 2003, Research 48: 731-735.
- [52] SKŘIVANOVÁ, E., M. MAROUNEK, V. BENDA a P. BREZINA. Susceptibility of *Escherichia coli*, *Salmonella* sp. and *Clostridium perfringens* to organic acids and monolaurin. *Veterinarni Medicina*. 2006, Research 51: 81-88.
- [53] SKŘIVANOVÁ, E. a M. MAROUNEK. Influence of pH on antimicrobial activity of organic acids against rabbit enteropathogenic strain of Escherichia coli. *Folia Microbioogica*. 2007, Research 52: 70-72.
- [54] SADO KAMDEM, S., M.E. GUERZONI, J. BARANYI a C. PIN. Effect of capric, lauric and α -linolenic acids on the division time distributions of single cells of *Staphylococcus aureus*. *International Journal of Food Microbiology*.

- 2008, roč. 128, č. 1, s. 122-128. ISSN 01681605. DOI: 10.1016/j.ijfoodmicro.2008.08.002.
- [55] BERGSSON, G., J. ARNFINNSSON, Ó. STEINGRÍMSSON a H. THORMAR. Killing of Gram-positive cocci by fatty acids and monoglycerides, *APMIS*. 2001b, Research 109: 670-678.
- [56] STENZ, Ludwig, Patrice FRANÃ§OIS, Adrien FISCHER, Antoine HUYGHE, Manuela TANGOMO, David HERNANDEZ, James CASSAT, Patrick LINDER a Jacques SCHRENZEL. Impact of oleic acid (cis -9-octadecenoic acid) on bacterial viability and biofilm production in *Staphylococcus aureus*. *FEMS Microbiology Letters*. 2008, roč. 287, č. 2, s. 149-155. ISSN 03781097. DOI: 10.1111/j.1574-6968.2008.01316.x.
- [57] DOLEŽALOVÁ, Magda. *Mikroflóra povrchu kuřat z obchodní sítě a zkoušky prevence kontaminace patogenními bakteriemi*. Disertační práce. UTB ve Zlíně. 2009. 97 stran
- [58] SPRONG, R.C., M.F.E., HULSTEIN a R. van der MEER Bovine milk fat components inhibit food-borne pathogens. *International Dairy Journal*. 2002, Research 12: 209-205.
- [59] WANG, L.-L. a E.A. JOHNSON. Inhibition of *Listeria monocytogenes* by fatty acids and monoglycerides. *Applied and Environmental Microbiology*. 1992, Research 58: 624-629.
- [60] THORMAR, H. a G. BERGSSON. Antimicrobial effects of lipids. *Recent Development in Antiviral*, 2001 Research 1: 157-173.
- [61] BERGSSON, G., J. ARNFINNSSON, S. M. KARLSSON, Ó. STEINGRÍMSSON a H. THORMAR. In vitro inactivation of *Chlamydia trachomatis* by fatty acids and monoglycerides. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. 1998, Research 42: 2290-2294.
- [62] BERGSSON, G., Ó. STEINGRÍMSSON a H. THORMAR. In vitro susceptibilities of *Neisseria gonorrhoeae* to fatty acids and monoglycerides. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. 1999, Research 43: 2790-2792.

SEZNAM POUŽITÝCH SYMBOLŮ A ZKRATEK

AIDS / HIV	Syndrom získaného selhání imunity / Virus lidské imunitní nedostatečnosti
CCM	Česká sbírka mikroorganismů
CLA	Konjugovaná kyselina linolová
EHEC	Enterohemoragická <i>E. coli</i>
EPA	Eikosapentaenová kyselina
EPEC	Enteropatogenní <i>E. coli</i>
ETEC	Enterotoxigenní <i>E. coli</i>
MK	Mastná kyselina
MO	Mikroorganismus
MPA	Masopeptonový agar
MPB	Masopeptonový bujón

SEZNAM OBRÁZKŮ

Obrázek 1 – <i>Escherichia coli</i> [27]	16
Obrázek 2 – <i>Serratia marcescens</i> [27]	17
Obrázek 3 – <i>Citrobacter freundii</i> [27]	17
Obrázek 4 – <i>Pseudomonas aeruginosa</i> [27]	18
Obrázek 5 – <i>Bacillus cereus</i> [27]	19
Obrázek 6 – <i>Bacillus subtilis</i> [27]	19
Obrázek 7 – <i>Enterococcus faecalis</i> [27]	20
Obrázek 8 – <i>Micrococcus luteus</i> [44]	20
Obrázek 9 – <i>Staphylococcus aureus</i> [27]	21
Obrázek 10 – Vliv testovaných MK na růst buněk <i>Bacillus cereus</i> CCM 2010 po 18 hodinách kultivace	28
Obrázek 11 – Vliv MK na růst buněk <i>Bacillus subtilis</i> subsp. <i>spizizenii</i> CCM 4062 po 18 hodinách kultivace	29
Obrázek 12 – Vliv MK na růst buněk <i>Enterococcus faecalis</i> CCM 4224 po 18 hodinách kultivace	30
Obrázek 13 – Vliv MK na růst buněk <i>Micrococcus luteus</i> CCM 732 po 18 hodinách kultivace	30
Obrázek 14 – Vliv MK na růst buněk <i>Staphylococcus aureus</i> subsp. <i>aureus</i> CCM 3953 po 18 hodinách kultivace	31
Obrázek 15 – Vliv MK na růst buněk <i>Citrobacter freundii</i> CCM 7187 po 18 hodinách kultivace	32
Obrázek 16 – Vliv MK na růst buněk <i>Escherichia coli</i> CCM 3954 po 18 hodinách kultivace	33
Obrázek 17 – Vliv MK na růst buněk <i>Pseudomonas aeruginosa</i> CCM 3955 po 18 hodinách kultivace	33
Obrázek 18 – Vliv MK na růst buněk <i>Salmonella enterica</i> subsp. <i>enterica</i> CCM 4420 po 18 hodinách kultivace	34
Obrázek 19 – Vliv MK na růst buněk <i>Serratia marcescens</i> subsp. <i>marcescens</i> CCM 303 po 18 hodinách kultivace	35

SEZNAM TABULEK

Tabulka 1 – Přehled některých mastných kyselin [4]	12
Tabulka 2 – hodnoty pro výrobu roztoku MPB s MK	26
Tabulka 3 – Schéma zaočkování mikrotitrační destičky	27

SEZNAM PŘÍLOH

PŘÍLOHA P I: VLIV MASTNÝCH KYSELIN NA RŮST *Bacillus cereus* CCM 2010

PŘÍLOHA P II: VLIV MASTNÝCH KYSELIN NA RŮST *Bacillus subtilis* subsp. *spizizenii* CCM 4062

PŘÍLOHA P III: VLIV MASTNÝCH KYSELIN NA RŮST *Enterococcus faecalis* CCM 4224

PŘÍLOHA P IV: VLIV MASTNÝCH KYSELIN NA RŮST *Micrococcus luteus* CCM 732

PŘÍLOHA P V: VLIV MASTNÝCH KYSELIN NA RŮST *Staphylococcus aureus* subsp. *aureus* CCM 3953

PŘÍLOHA P VI: VLIV MASTNÝCH KYSELIN NA RŮST *Citrobacter freundii* CCM 7187

PŘÍLOHA P VII: VLIV MASTNÝCH KYSELIN NA RŮST *Escherichia coli* CCM 3954

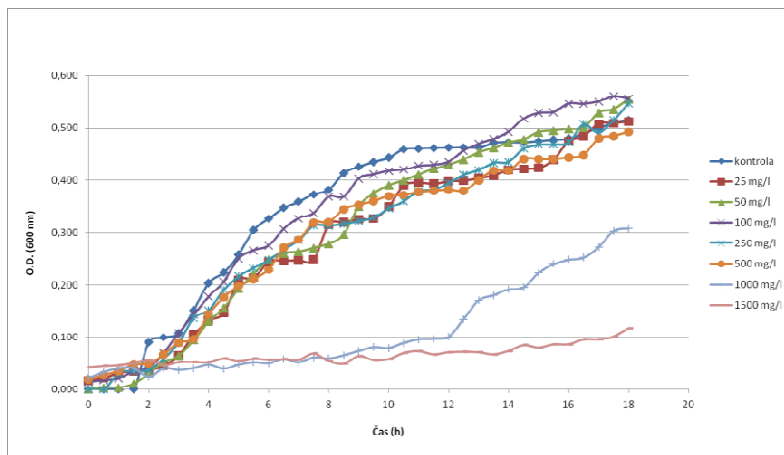
PŘÍLOHA P VIII: VLIV MASTNÝCH KYSELIN NA RŮST *Pseudomonas aeruginosa* CCM 3955

PŘÍLOHA P IX: VLIV MASTNÝCH KYSELIN NA RŮST *Salmonella enterica* subsp. *enterica* ser. Enteritidis CCM 4420

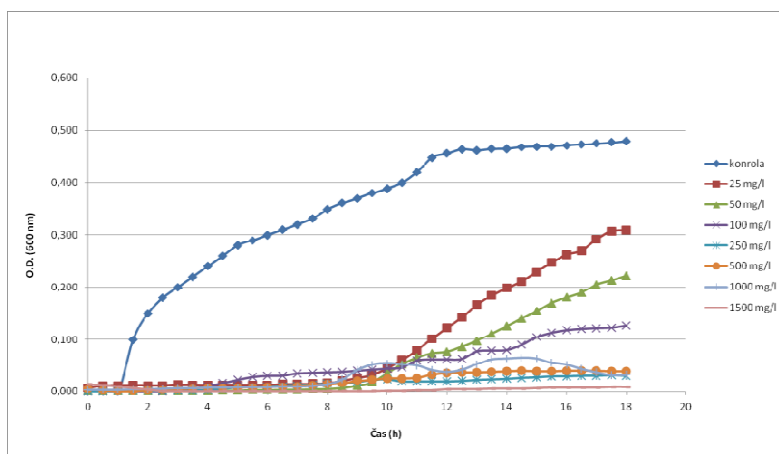
PŘÍLOHA P X: VLIV MASTNÝCH KYSELIN NA RŮST *Serratia marcescens* subsp. *marcescens* CCM 303

PŘÍLOHA P I: VLIV MASTNÝCH KYSELIN NA RŮST *Bacillus cereus* CCM 2100

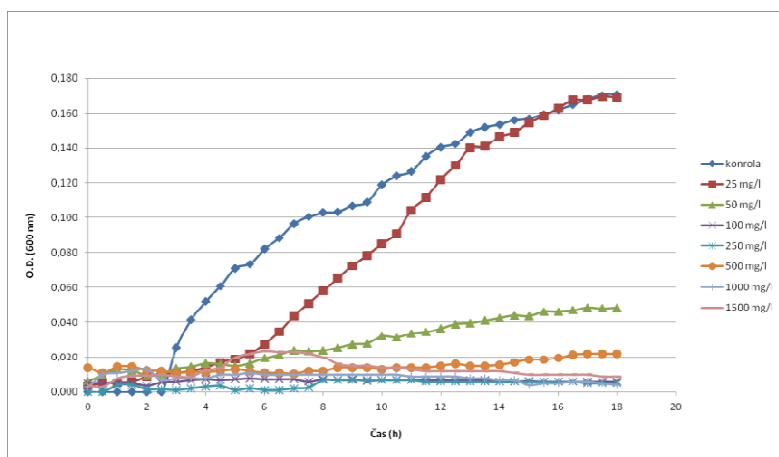
PI A: Vliv kyseliny kaprylové na růst *Bacillus cereus* CCM 2100



PI B: Vliv kyseliny kaprinové na růst *Bacillus cereus* CCM 2100

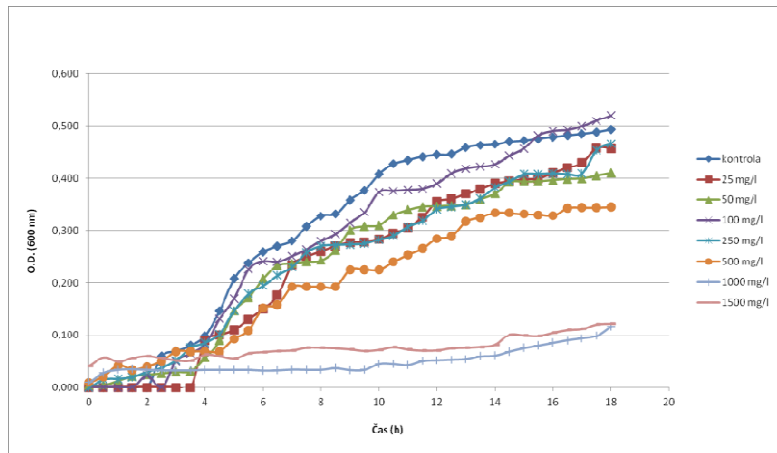


PI C: Vliv kyseliny laurové na růst *Bacillus cereus* CCM 2100

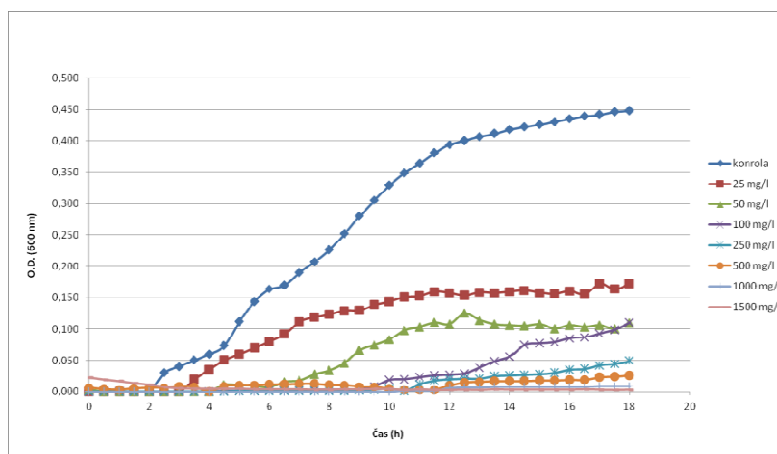


PŘÍLOHA P II: VLIV MASTNÝCH KYSELIN NA RŮST *Bacillus subtilis* subsp. *spizizenii* CCM 4062

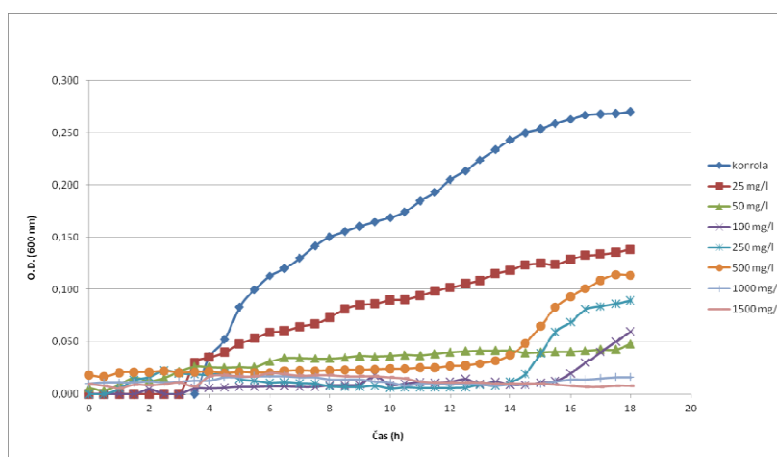
PII A: Vliv kyseliny kaprylové na růst *Bacillus subtilis* subsp. *spizizenii* CCM 4062



PII B: Vliv kyseliny kaprinové na růst *Bacillus subtilis* subsp. *spizizenii* CCM 4062

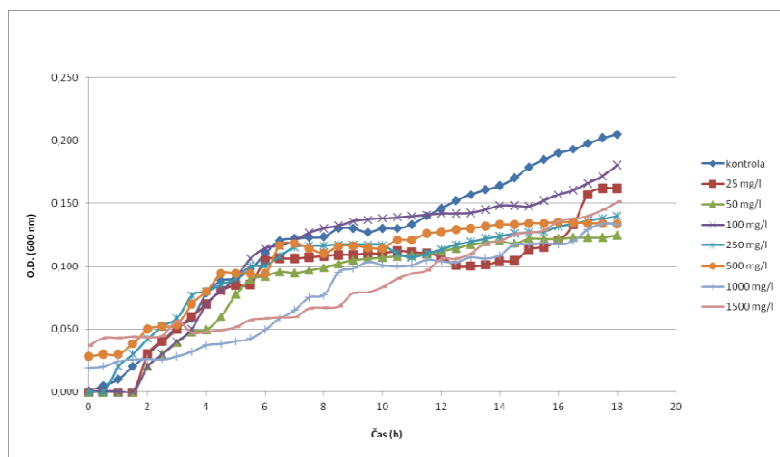


PII C: Vliv kyseliny laurové na růst *Bacillus subtilis* subsp. *spizizenii* CCM 4062

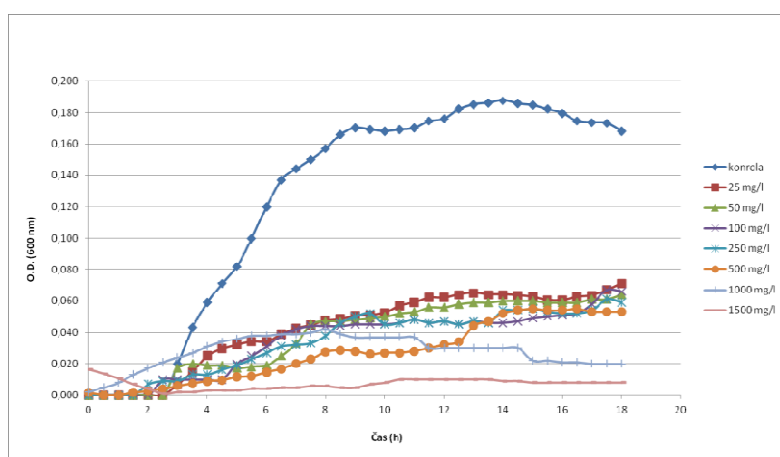


PŘÍLOHA P III: VLIV MASTNÝCH KYSELIN NA RŮST *Enterococcus faecalis* CCM 4224

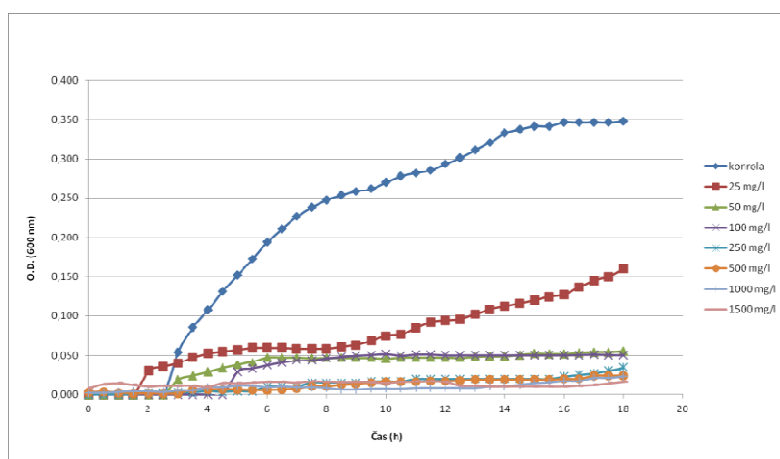
PIII A: Vliv kyseliny kaprylové na růst *Enterococcus faecalis* CCM 4224



PIII B: Vliv kyseliny kaprinové na růst *Enterococcus faecalis* CCM 4224

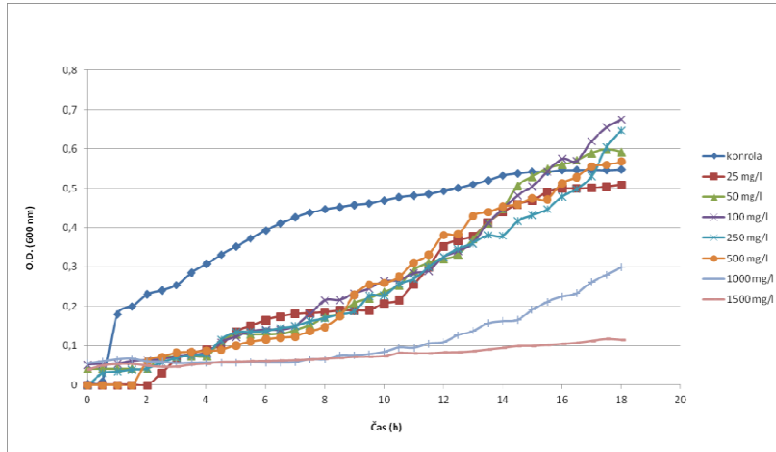


PIII C: Vliv kyseliny laurové na růst *Enterococcus faecalis* CCM 4224

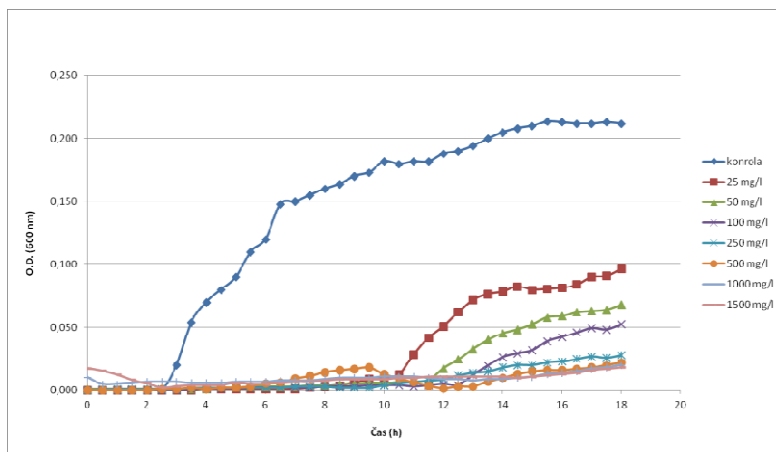


PŘÍLOHA P IV: VLIV MASTNÝCH KYSELIN NA RŮST *Micrococcus luteus* CCM 732

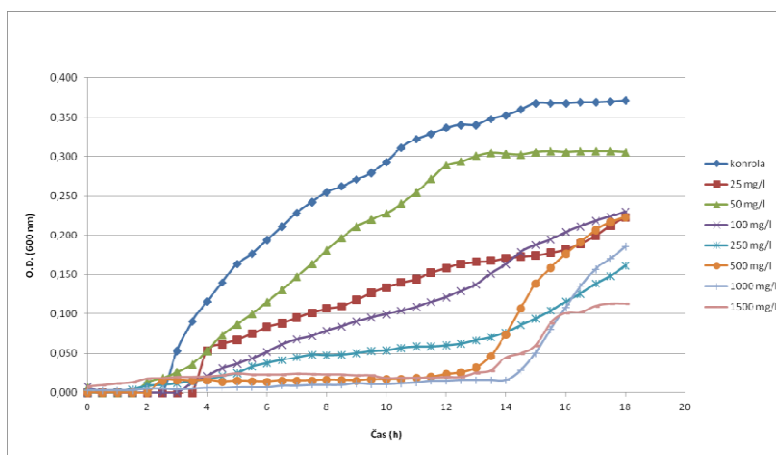
PIV A: Vliv kyseliny kaprylové na růst *Micrococcus luteus* CCM 732



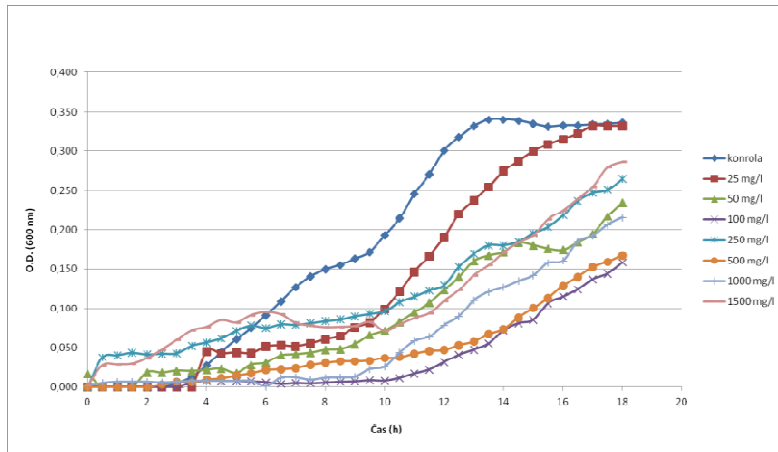
PIV B: Vliv kyseliny kaprinové na růst *Micrococcus luteus* CCM 732



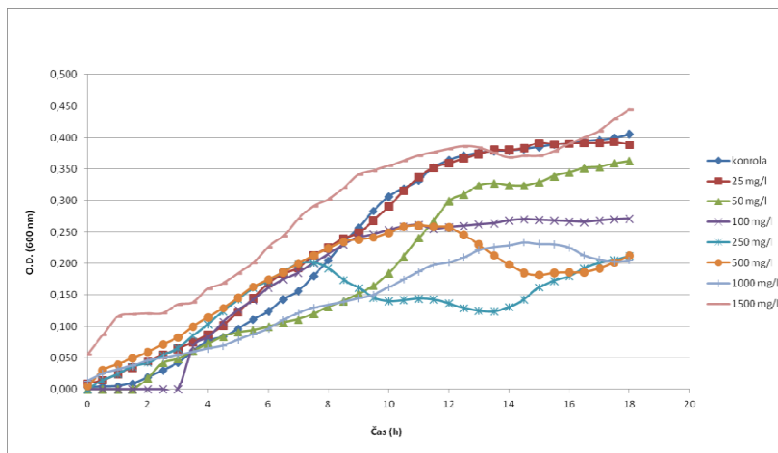
PIV C: Vliv kyseliny laurové na růst *Micrococcus luteus* CCM 732



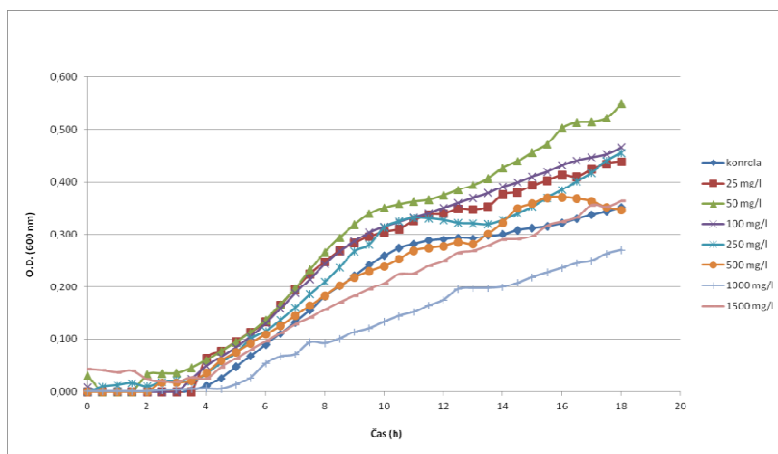
PIV D: Vliv kyseliny myristové na růst *Micrococcus luteus* CCM 732



PIV E: Vliv kyseliny palmitové na růst *Micrococcus luteus* CCM 732

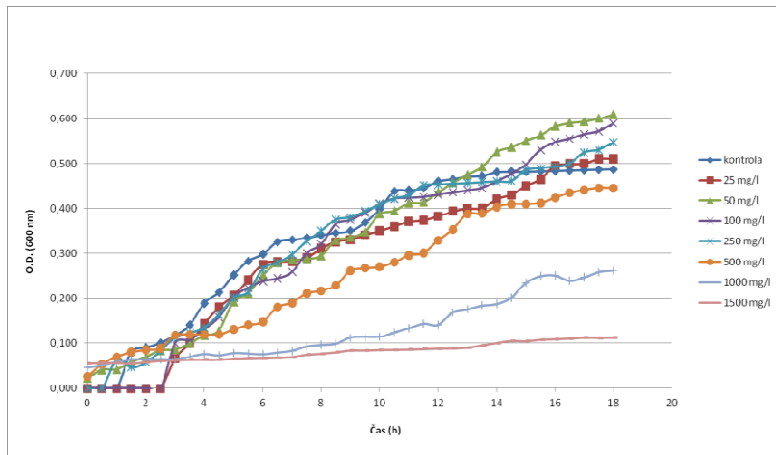


PIV F: Vliv kyseliny olejové na růst *Micrococcus luteus* CCM 732

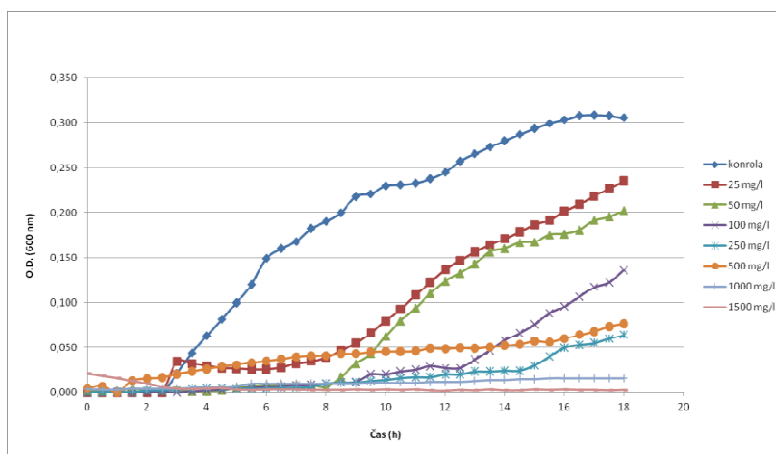


PŘÍLOHA P V: VLIV MASTNÝCH KYSELIN NA RŮST *Staphylococcus aureus* subsp. *aureus* CCM 3953

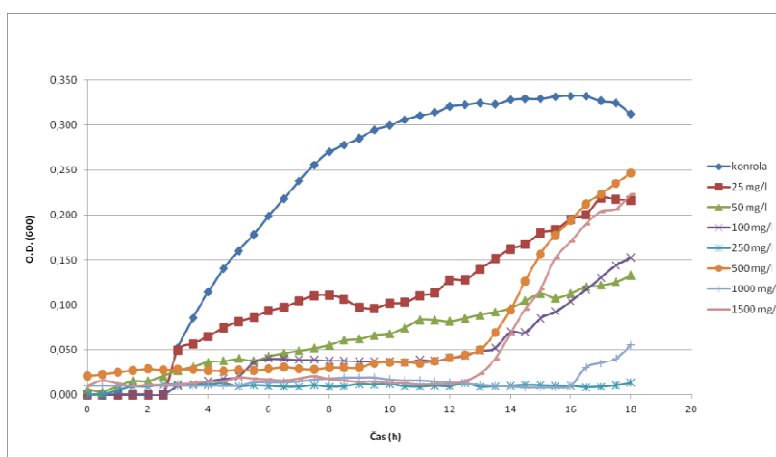
PV A: Vliv kyseliny kaprylové na růst *Staphylococcus aureus* subsp. *aureus* CCM 3953



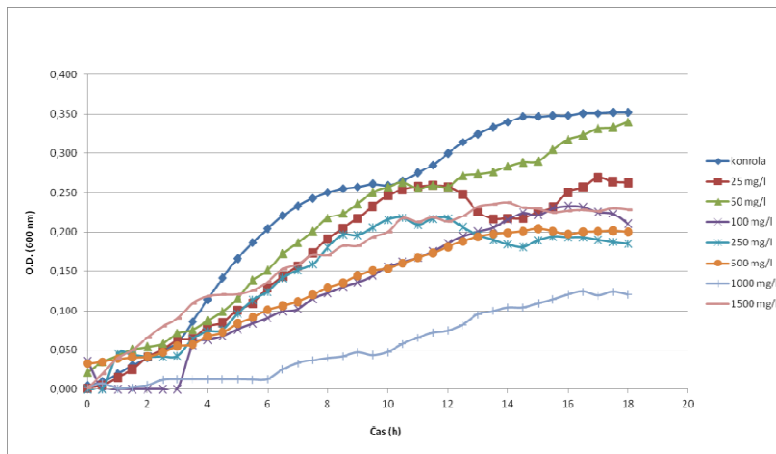
PV B: Vliv kyseliny kaprinové na růst *Staphylococcus aureus* subsp. *aureus* CCM 3953



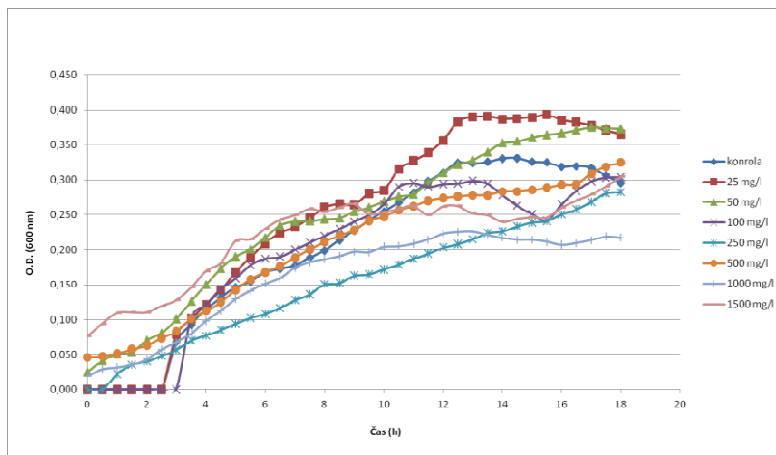
PV C: Vliv kyseliny laurové na růst *Staphylococcus aureus* subsp. *aureus* CCM 3953



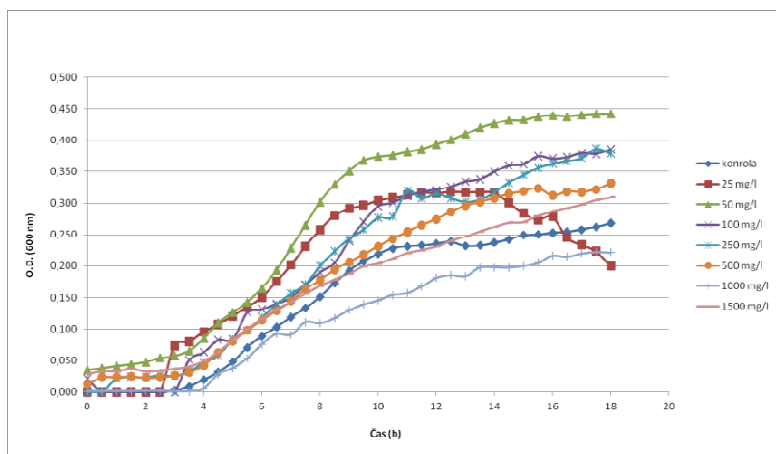
PV D: Vliv kyseliny myristové na růst *Staphylococcus aureus* subsp. *aureus* CCM 3953



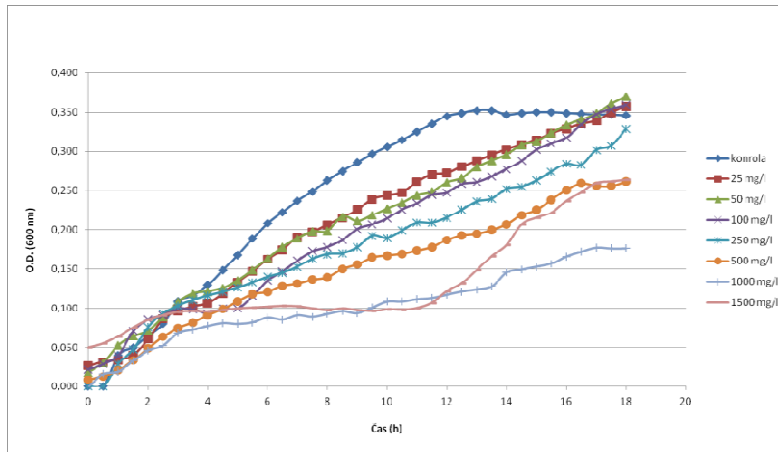
PV E: Vliv kyseliny palmitové na růst *Staphylococcus aureus* subsp. *aureus* CCM 3953



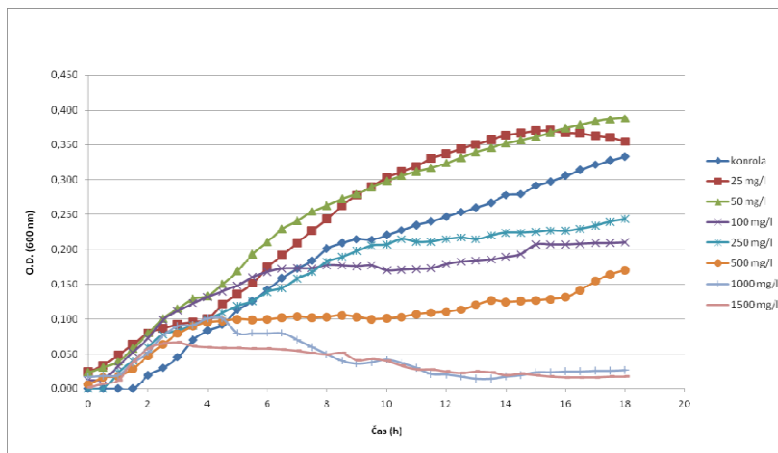
PV F: Vliv kyseliny olejové na růst *Staphylococcus aureus* subsp. *aureus* CCM 3953



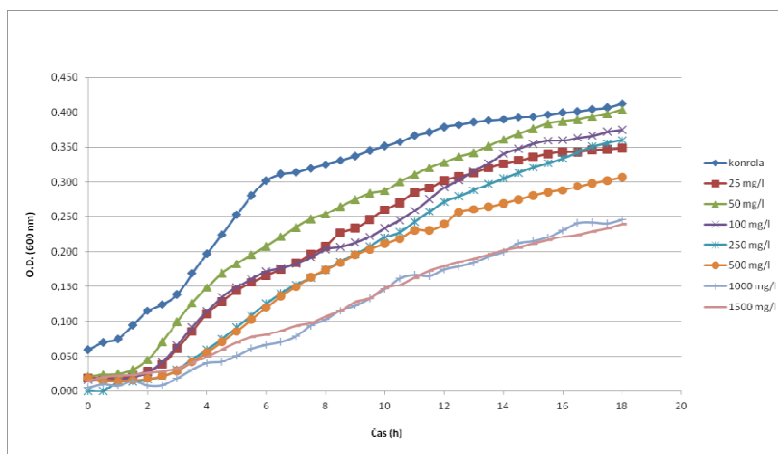
PVI D: Vliv kyseliny myristové na růst *Citrobacter freundii* CCM 7187



PVI E: Vliv kyseliny palmitové na růst *Citrobacter freundii* CCM 7187

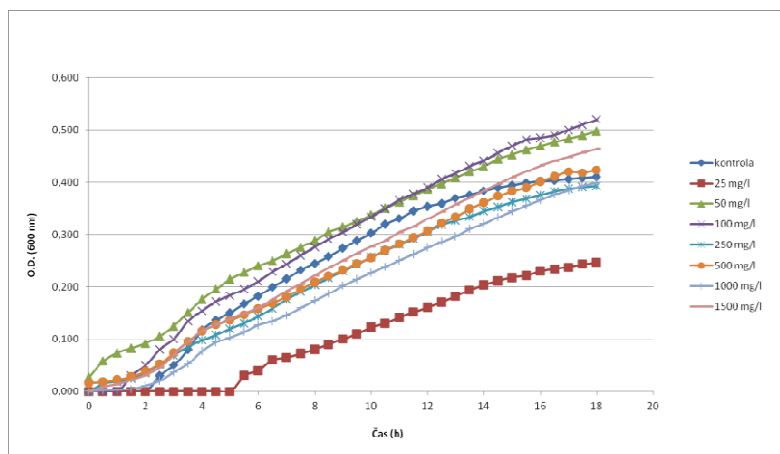


PVI F: Vliv kyseliny olejové na růst *Citrobacter freundii* CCM 7187

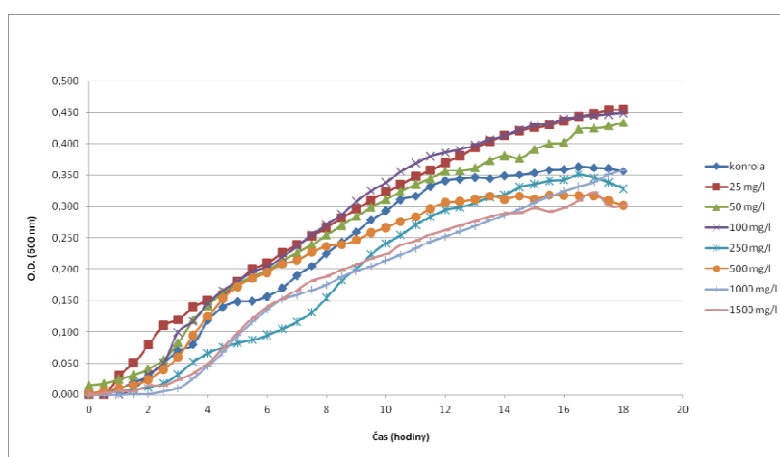


PŘÍLOHA P VII: VLIV MASTNÝCH KYSELIN NA RŮST *Escherichia coli* CCM 3954

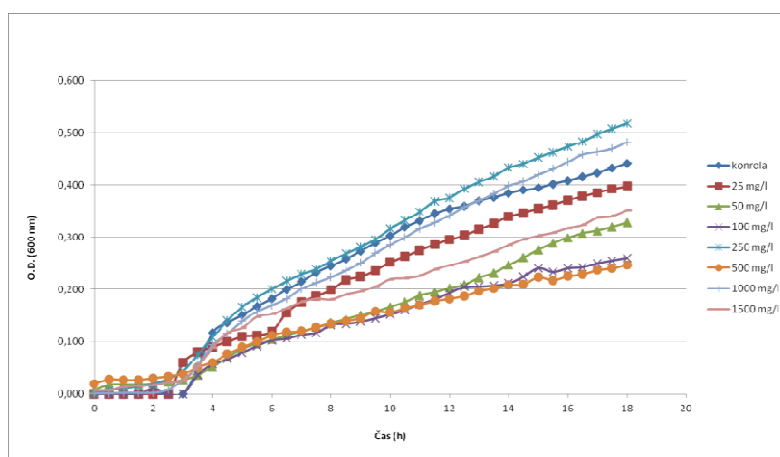
PVII A: Vliv kyseliny kaprylové na růst *Escherichia coli* CCM 3954



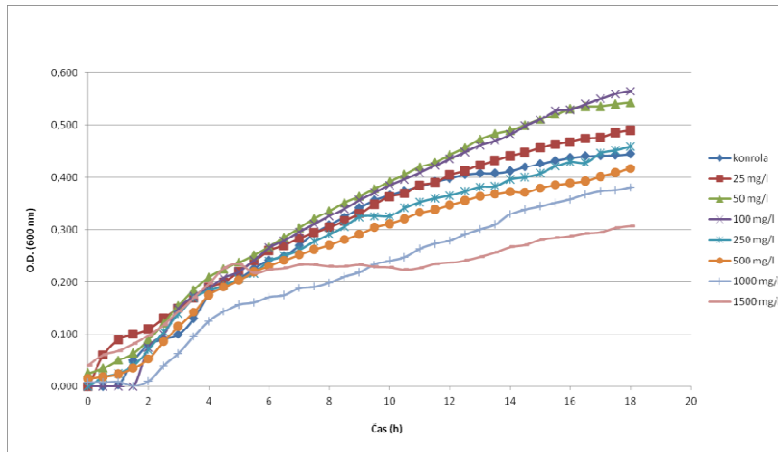
PVII B: Vliv kyseliny kaprinové na růst *Escherichia coli* CCM 3954



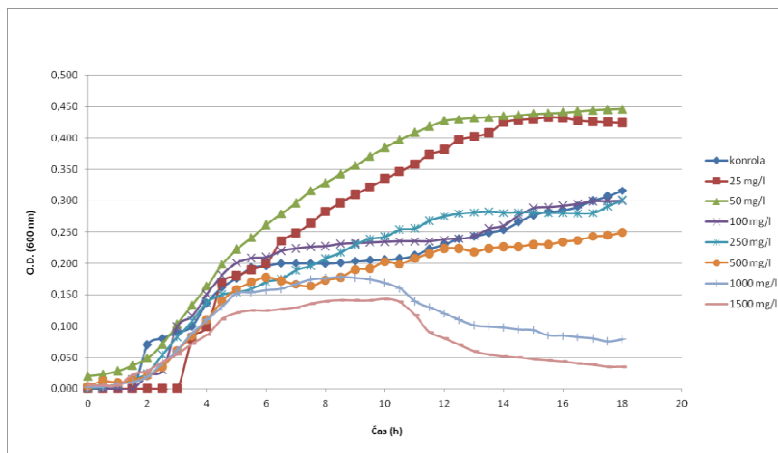
PVII C: Vliv kyseliny laurové na růst *Escherichia coli* CCM 3954



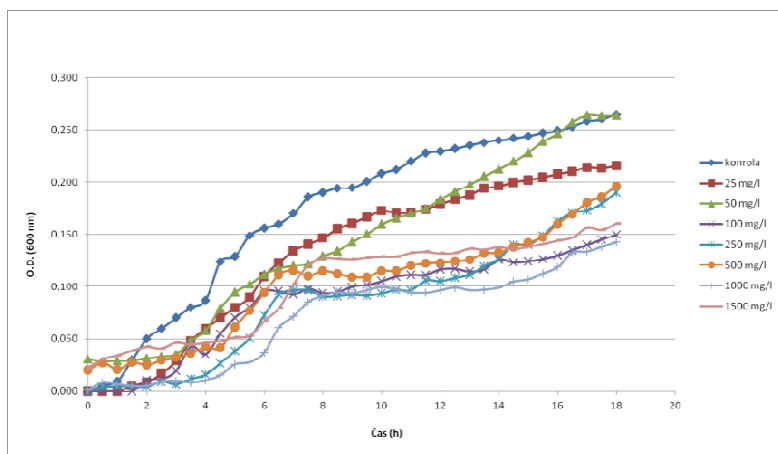
PVII D: Vliv kyseliny myristové na růst *Escherichia coli* CCM 3954



PVII E: Vliv kyseliny palmitové na růst *Escherichia coli* CCM 3954



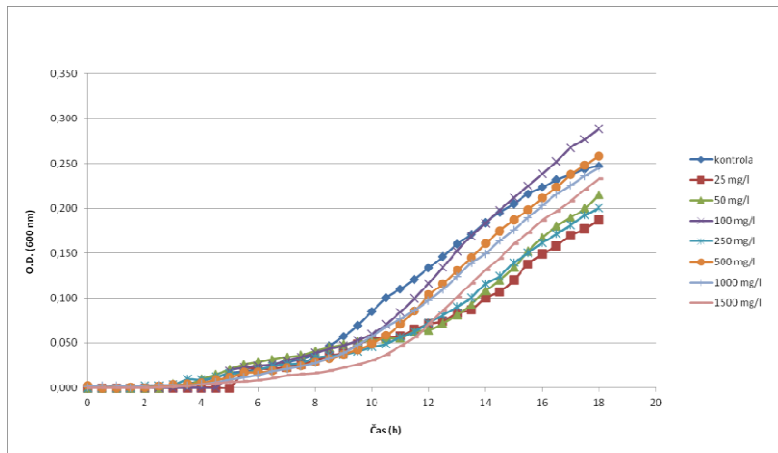
PVII F: Vliv kyseliny olejové na růst *Escherichia coli* CCM 3954



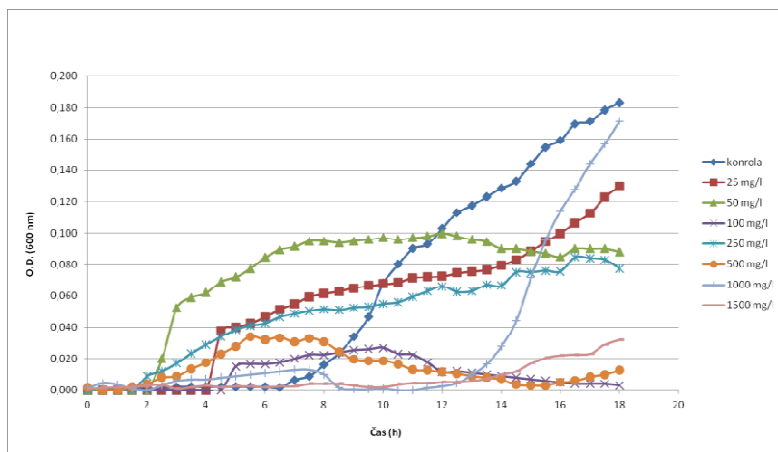
PŘÍLOHA P VIII: VLIV MASTNÝCH KYSELIN NA RŮST

Pseudomonas aeruginosa CCM 3955

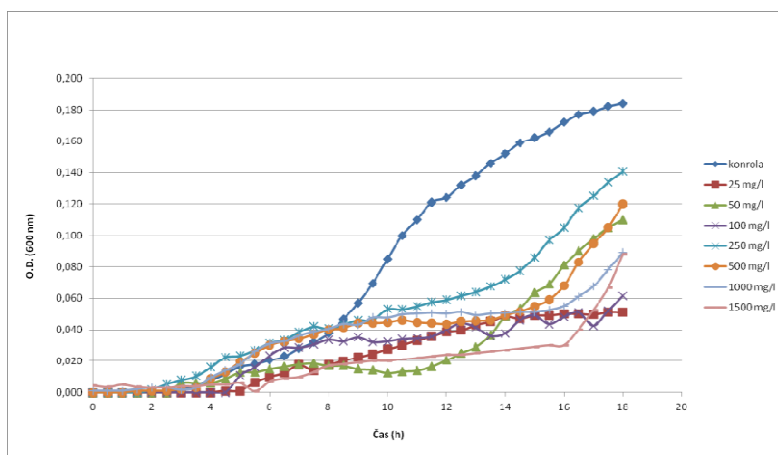
PVIII A: Vliv kyseliny kaprylové na růst *Pseudomonas aeruginosa* CCM 3955



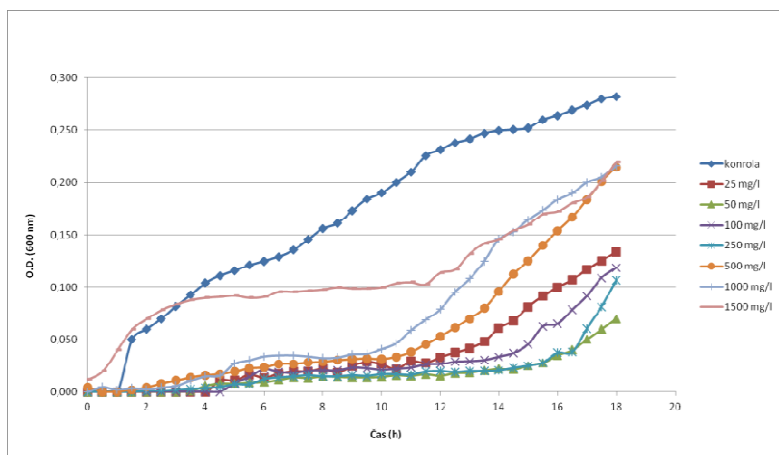
PVIII B: Vliv kyseliny kaprinové na růst *Pseudomonas aeruginosa* CCM 3955



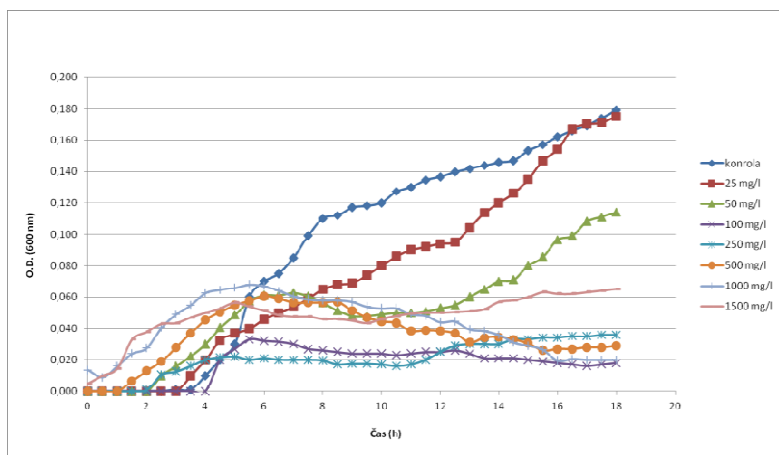
PVIII C: Vliv kyseliny laurové na růst *Pseudomonas aeruginosa* CCM 3955



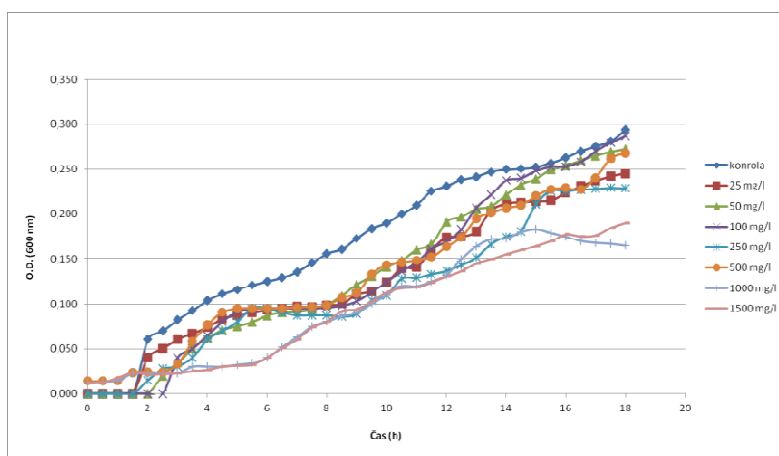
PVIII D: Vliv kyseliny myristové na růst *Pseudomonas aeruginosa* CCM 3955



PVIII E: Vliv kyseliny palmitové na růst *Pseudomonas aeruginosa* CCM 3955

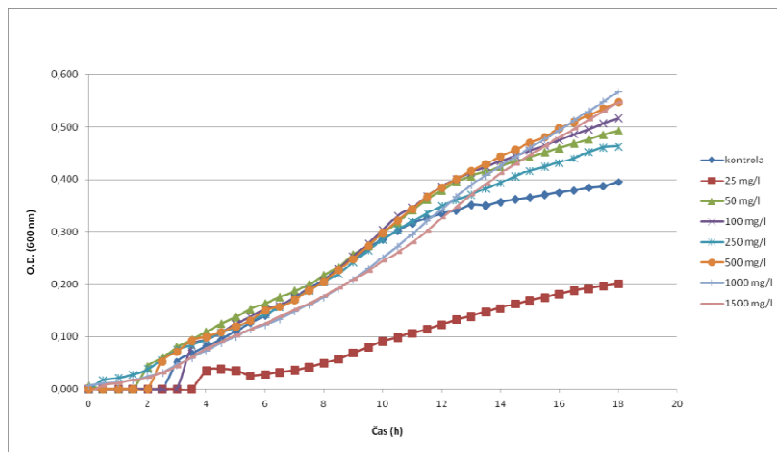


PVIII F: Vliv kyseliny olejové na růst *Pseudomonas aeruginosa* CCM 3955

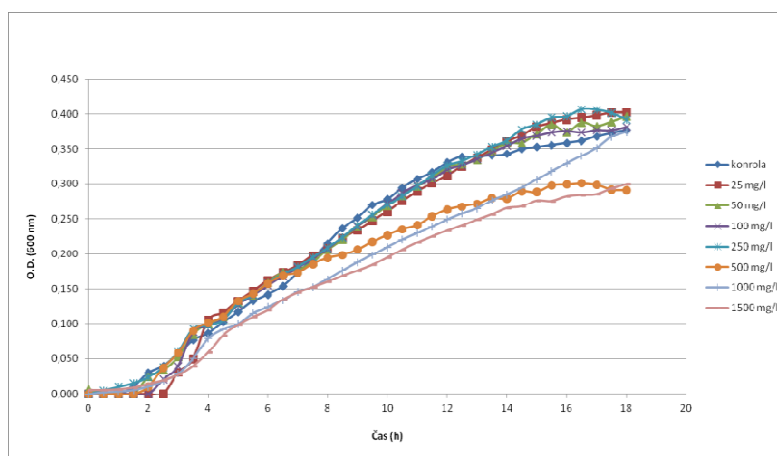


PŘÍLOHA P IX: VLIV MASTNÝCH KYSELIN NA RŮST *Salmonella enterica* subsp. *enterica* ser. Enteritidis CCM 4420

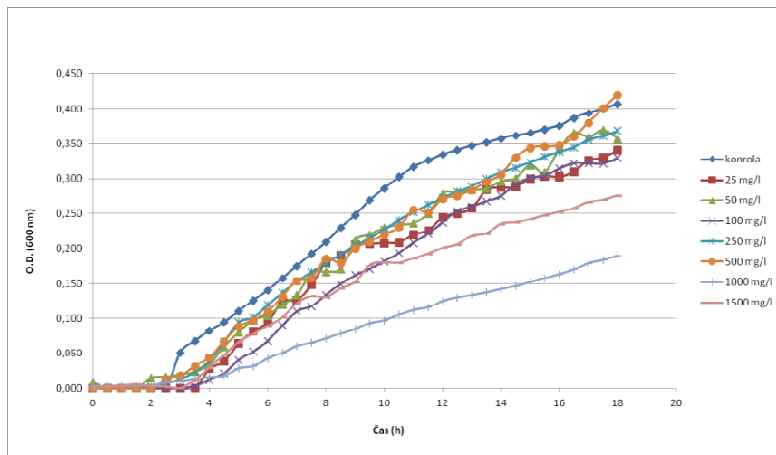
PIX A: Vliv kyseliny kaprylové na růst *Salmonella enterica* subsp. *enterica* ser. Enteritidis CCM 4420



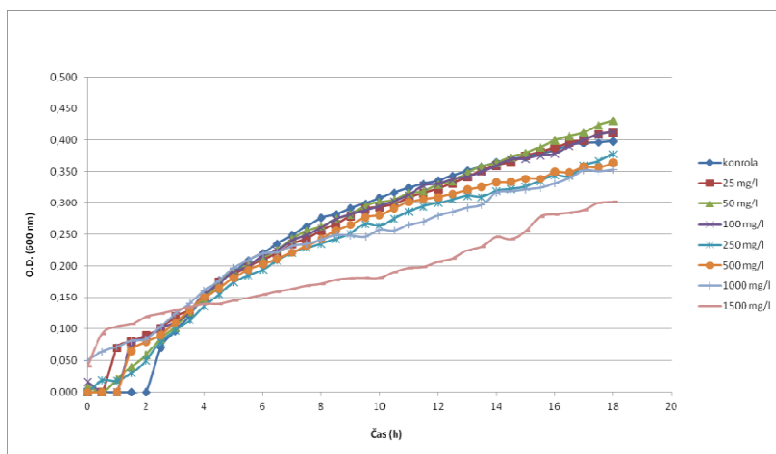
PIX B: Vliv kyseliny kaprinové na růst *Salmonella enterica* subsp. *enterica* ser. Enteritidis CCM 4420



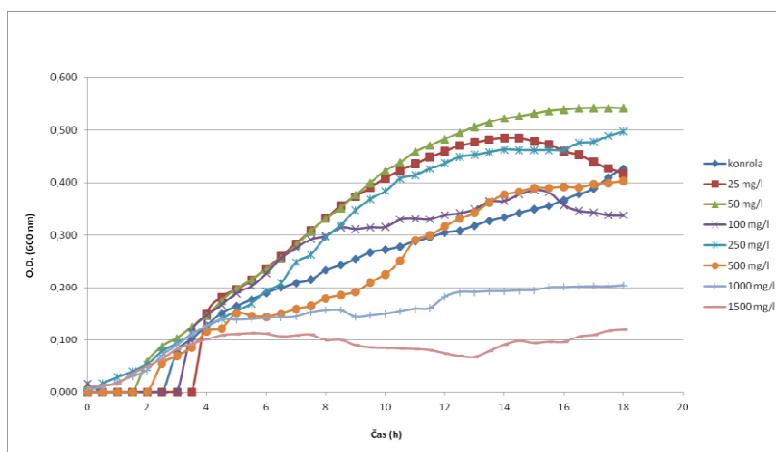
PIX C: Vliv kyseliny laurové na růst *Salmonella enterica* subsp. *enterica* ser. Enteritidis CCM 4420



PIX D: Vliv kyseliny myristové na růst *Salmonella enterica* subsp. *enterica* ser. Enteritidis CCM 4420

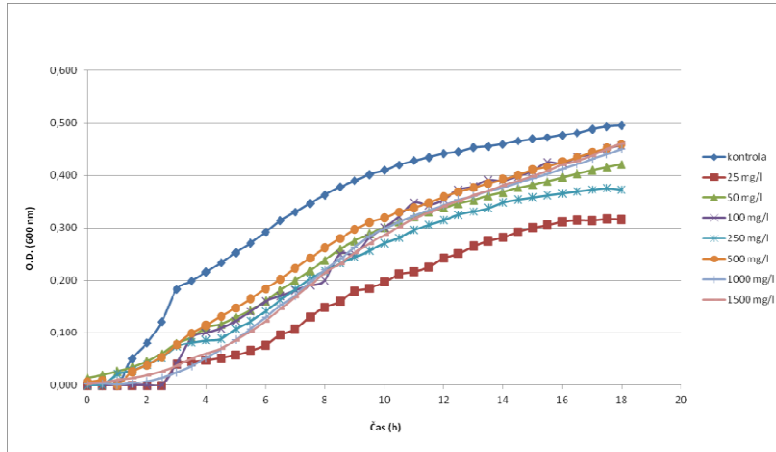


PIX E: Vliv kyseliny palmitové na růst *Salmonella enterica* subsp. *enterica* ser. Enteritidis CCM 4420

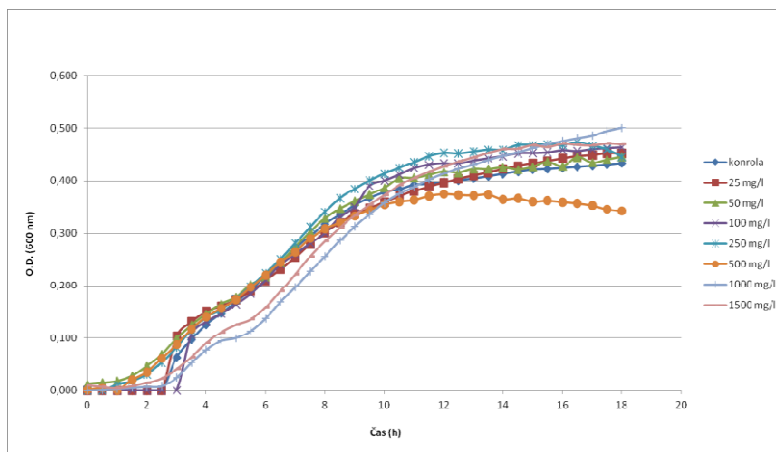


PŘÍLOHA P X: VLIV MASTNÝCH KYSELIN NA RŮST *Serratia marcescens* subsp. *marcescens* CCM 303

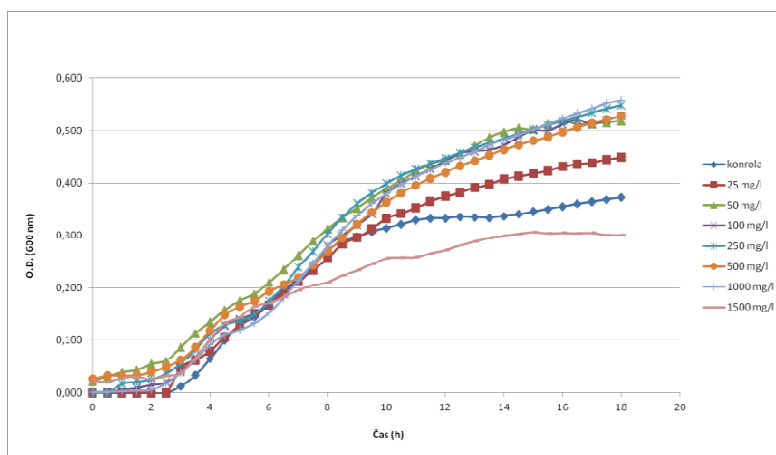
PX A: Vliv kyseliny kaprylové na růst *Serratia marcescens* subsp. *marcescens* CCM 303



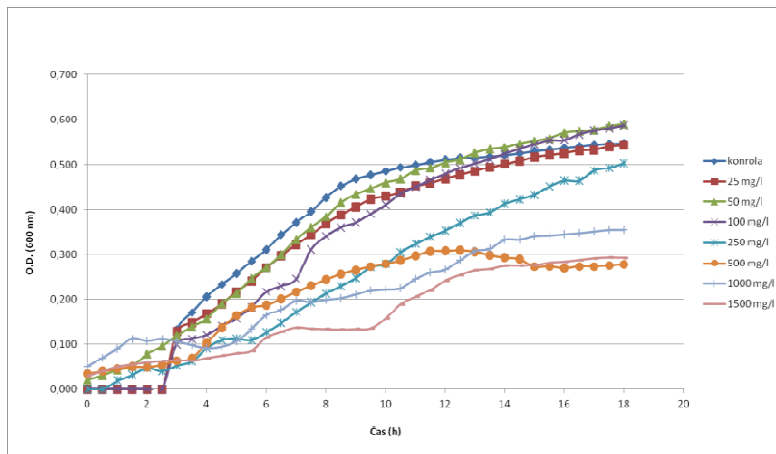
PX B: Vliv kyseliny kaprinové na růst *Serratia marcescens* subsp. *marcescens* CCM 303



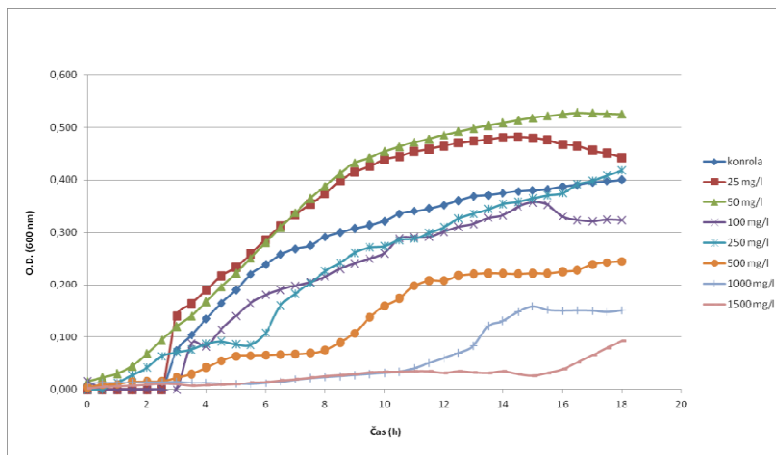
PX C: Vliv kyseliny laurové na růst *Serratia marcescens* subsp. *marcescens* CCM 303



PX D: Vliv kyseliny myristové na růst *Serratia marcescens* subsp. *marcescens* CCM 303



PX E: Vliv kyseliny palmitové na růst *Serratia marcescens* subsp. *marcescens* CCM 303



PX F: Vliv kyseliny olejové na růst *Serratia marcescens* subsp. *marcescens* CCM 303

