

Vliv vybraných rostlinných olejů na mikroorganismy

Bc. Martina Bezoušková

Diplomová práce
2015



Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně
Fakulta technologická

Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně
Fakulta technologická
Ústav technologie tuků, tenzidů a kosmetiky
akademický rok: 2014/2015

ZADÁNÍ DIPLOMOVÉ PRÁCE

(PROJEKTU, UMĚLECKÉHO DÍLA, UMĚLECKÉHO VÝKONU)

Jméno a příjmení: **Bc. Martina Bezoušková**
Osobní číslo: **T11786**
Studijní program: **N2901 Chemie a technologie potravin**
Studijní obor: **Technologie a ekonomika výroby tuků, detergentů a kosmetiky**
Forma studia: **prezenční**
Téma práce: **Vliv vybraných rostlinných olejů na mikroorganismy**

Zásady pro vypracování:

I. Teoretická část

1. Charakteristika, složení a vlastnosti rostlinných olejů
2. Využití rostlinných olejů v kosmetice.
3. Působení rostlinných olejů na mikroorganismy.

II. Praktická část

1. Sledování vlivu vybraných rostlinných olejů na grampozitivní a gramnegativní bakterie.
2. Sledování vlivu vybraných rostlinných olejů na kvasinky a plísně.
3. Diskuze výsledků a formulace závěrů práce.

Rozsah diplomové práce:

Rozsah příloh:

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

Seznam odborné literatury:

1. BAREL, A. O., PAYE, M., MAIBACH, H. I. Handbook of Cosmetic Science and Technology. New York: Informa Healthcare, 2009. 869 p. ISBN 978-1-4200-6963-1.
2. GUNSTONE, FRANK D. Vegetable Oils in Food Technology: Composition, Properties and Uses (2rd Edition). Blackwell Publishing Ltd., 2011. ISBN 978-1-4443-3268-1.
3. ORTH, D. S., DENYER, S. P., KABARA, J. J. Cosmetic and Drug Microbiology. New York: Informa Healthcare, 2006. 375 p. ISBN 978-0-8493-7266-7.
4. GUNSTONE, F. D. The Chemistry of Oils and Fats. Sources, Composition, Properties and Uses. Blackwell Publishing, 2004. ISBN 1-4051-1626-9
5. O'BRIEN, RICHARD D. Fat and Oils : Formulating and Processing for Applications (3rd Edition). CRC Press, 2009. ISBN 978-1-4200-6166-6.

Vedoucí diplomové práce:

RNDr. Iva Hauerlandová, Ph.D.

Ústav technologie tuků, tenzidů a kosmetiky

Datum zadání diplomové práce:

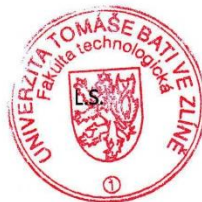
20. ledna 2015

Termín odevzdání diplomové práce:

18. května 2015

Ve Zlíně dne 20. ledna 2015


doc. Ing. Roman Čermák, Ph.D.
děkan




Ing. Martina Černeková, Ph.D.
ředitel ústavu

Příjmení a jméno: BEZCÍKOVÁ / HAZDINA

Obor: ITX

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 obhajoby¹⁾;
- 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. 3²⁾;
- beru na vědomí, že podle § 60³⁾ 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 § 60³⁾ 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 14.5.2015

Bezcíková

²¹ 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) Vysoké školy nevydělávají zveřejňují disertační, diplomové, bakalářské a rigorózní práce, u kterých proběhla obhajoba, včetně posudků oponentů a výskladu obhajoby prostřednictvím datové kvalifikační proci. kterou spravuje. Způsob zveřejnění stanoví vnitřní předpis vysoké školy.

(2) Disertační, diplomové, bakalářské a rigorózní práce odevzdané uchazečem k obhajobě musí být už nejmeně pět pracovních dnů před konáním obhajoby zveřejněny k nahlázení veřejnost v místě určeném vnitřním předpisem vysoké školy nebo tam, kde tak určeno, v místě pracoviště vysoké školy, kde se má konat obhajoba práce. Každý si může ze zveřejněné práce pořizovat na své vlastní úhrady výpisy, opisy nebo rozmnoženiny.

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

²² 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

(2) Do práva autorského také nezahrnuje škola nebo školské či vzdělávací zařízení, už jen nikoli za účelem přímého nebo nepřímého nepodstatného nebo ošidného prospěchu k výuce nebo k vlastní potřebě nebo vytvoření dílem nebo studentem ke splnění školních nebo studijních povinností vyplývajících z jeho právního vztahu ke škole nebo školskému či vzdělávacímu zařízení (školská díla).

²³ 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, § 68 Školní díla

(1) Škola nebo školské či vzdělávací zařízení mají za obvyklých podmínek právo se opíratí učením školní spolkou a další školního díla (č. 35 odst. 3). Opíratí o autor školního díla užití školní bez vážného důvodu, mohou se tyto osoby domáhat nahrazení chybějícího prožití jeho díla v soudu. Ustanovení § 35 odst. 3 neplatí neobdávání.

(2) Než se předává dílo, může autor školního díla své dílo užít či poskytnout jinému žákovi, není-li to v soupůru s upravenými zájmy školy nebo školního či vzdělávacího zařízení.

(3) Škola nebo školské či vzdělávací zařízení jsou oprávněny používat, aby jim autor školního díla z výpisku (m. doplněného v souvislosti) s užitím díla či poskytnutím žákovi podle odstavce 2 přiměřeně přispěl na úhradu nákladů, které na vytvoření díla vynaložil, a to pokud ukolnosti se do jejich skutečné výše; přitom se přihlíží ke vší výdělku dosaženému školou nebo školským či vzdělávacím zařízením z užití školního díla podle odstavce 1.

ABSTRAKT

Diplomová práce je zaměřena na rostlinné oleje a jejich antimikrobiální účinky, které by bylo možné využít v kosmetických prostředcích. V teoretické části jsou definovány rostlinné oleje, jejich fyzikální a chemické vlastnosti, technologický postup výroby a jejich získávání. Další část je zaměřena na atypické rostlinné oleje, kosmetické prostředky a jejich formy. Následně jsou charakterizovány mikroorganismy kontaminující kosmetické prostředky. V praktické části byly studovány antimikrobiální účinky atypických rostlinných olejů pomocí dvou kvalitativních difúzních metod. Vliv olejů byl sledován na bakteriích i mikroskopických houbách.

Klíčová slova: lipidy, rostlinné oleje, kosmetické prostředky, antimikrobiální účinky

ABSTRACT

The thesis focused on plant oils and its antimicrobial effects with possible application in cosmetic products. Theoretical part consisted of plant oil characterization, production and properties. Then, cosmetic products, their forms and microbial contaminants were discussed. Experimental part was devoted to determination of antimicrobial effects of selected non-traditional plant oils via qualitative diffusion methods. Inhibitory effect of oils was examined using bacteria, yeasts and filamentous fungi.

Keywords: lipids, plant oils, cosmetic products, antimicrobial effect

Touto cestou děkuji vedoucí mé diplomové práce RNDr. Ivě Hauerlandové, PhD. za odborné vedení, cenné rady, vstřícnost a ochotu, dále i za pomoc při zpracování práce.

Také bych chtěla poděkovat rodině a rodinným příslušníkům za podporu a trpělivost.

Motto:

„Chvála je příjemná, kritika je potřebná.“ (Jaromír Jágr)

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

OBSAH

ÚVOD	11
I TEORETICKÁ ČÁST	12
1 LIPIDY - TUKY A OLEJE	13
1.1 DEFINICE LIPIDŮ	13
1.2 DĚLENÍ LIPIDŮ - TUKŮ A OLEJŮ	14
1.3 HOMOLIPIDY	15
1.3.1 Acylglyceroly	15
1.4 FYZIKÁLNĚ-CHEMICKÉ VLASTNOSTI LIPIDŮ	17
1.4.1 Fyzikální vlastnosti	17
1.4.2 Chemické vlastnosti	18
2 ROSTLINNÉ OLEJE	19
2.1 ROZDĚLENÍ ROSTLINNÝCH OLEJŮ	19
2.2 TECHNOLOGIE VÝROBY ROSTLINNÝCH OLEJŮ	19
2.2.1 Získání suroviny a její zpracování	19
2.2.2 Získávání oleje	20
2.3 VYUŽITÍ ROSTLINNÝCH OLEJŮ V KOSMETICE.....	21
3 ATYPICKÉ ROSTLINNÉ OLEJE	23
3.1 BRUTNÁKOVÝ OLEJ	23
3.2 KONOPNÝ OLEJ.....	24
3.3 NIMBOVÝ OLEJ	26
3.4 TAMANU OLEJ	27
3.5 BRUSNICOVÝ OLEJ.....	28
3.6 AVOKÁDOVÝ OLEJ.....	29
3.7 HOŘČIČNÝ OLEJ.....	29
3.8 KOKOSOVÝ OLEJ	30
3.9 LNĚNÝ OLEJ	31
3.10 MOKŘADKOVÝ OLEJ.....	32
4 KOSMETICKÉ PROSTŘEDKY	34
4.1 KLASIFIKACE KOSMETICKÝCH PROSTŘEDKŮ	34
4.1.1 Kategorizace a zařazení KP (doporučení Colipy).....	34
4.2 FORMY KOSMETICKÝCH PŘÍPRAVKŮ	35
4.2.1 Roztoky a lotiony	35
4.2.2 Emulze.....	35
4.2.3 Suspenze.....	36
4.2.4 Gely	36
4.2.5 Pěny.....	36
4.2.6 Oleje	36
4.3 KOSMETICKÉ PROSTŘEDKY OBSAHUJÍCÍ ATYPICKÉ OLEJE	37
4.3.1 Saloos	37
4.3.2 Nobilis Tilia	37
4.3.3 SynCare	38

5	MIKROORGANIZMY V KOSMETICE	39
5.1	BAKTERIE KONTAMINUJÍCÍ KOSMETICKÉ PROSTŘEDKY	39
5.1.1	Čeď <i>Enterobacteriaceae</i>	40
5.1.2	Rod <i>Pseudomonas</i>	40
5.1.3	Rod <i>Staphylococcus</i>	41
5.1.4	Rod <i>Bacillus</i>	42
5.1.5	Rod <i>Micrococcus</i>	43
5.1.6	Rod <i>Clostridium</i>	43
5.2	KVASINKY	44
5.3	PLÍSNĚ	44
6	METODY STANOVENÍ ANTIMIKROBIÁLNÍ AKTIVITY ROSTLINNÝCH OLEJŮ	45
6.1	KVALITATIVNÍ METODY	45
6.1.1	Difúzní metody	45
6.1.1.1	Disková difúzní metoda	45
6.1.1.2	Agarová difúzní metoda	46
6.1.1.3	Epsilon test citlivosti k antimikrobiálním látkám (E-test)	46
6.2	KVANTITATIVNÍ METODY	46
6.2.1	Diluční metody	46
6.2.1.1	Agarová diluční metoda	47
6.2.1.2	Bujónová diluční metoda	47
7	CÍL PRÁCE	48
II	PRAKTICKÁ ČÁST	49
8	EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST	50
8.1	POUŽITÉ VZORKY	50
8.2	POUŽITÉ NÁSTROJE A POMŮCKY	50
8.3	KULTIVAČNÍ MÉDIA	51
8.3.1	Mueller-Hinton agar	51
8.3.2	Sabouraud dextrosebujón	52
8.4	POUŽITÉ MIKROORGANIZMY	52
8.5	DEKONTAMINACE A LIKVIDACE MATERIÁLU	54
9	METODIKA	55
9.1	PŘÍPRAVA SUSPENZE MIKROORGANIZMŮ	55
9.2	PŘÍPRAVA ROSTLINNÝCH OLEJŮ	55
9.3	SLEDOVÁNÍ ÚČINKU ROSTLINNÝCH OLEJŮ NA VYBRANÉ MIKROORGANIZMY DISKOVOU DIFÚZNÍ METODOU	55
9.4	SLEDOVÁNÍ ÚČINKU ROSTLINNÝCH OLEJŮ NA VYBRANÉ MIKROORGANIZMY AGAROVOU DIFÚZNÍ METODOU	56
10	VÝSLEDKY A DISKUZE	57
10.1	DIFÚZNÍ DISKOVÁ METODA – VLIV ROSTLINNÝCH OLEJŮ NA BAKTERIE	57
10.1.1	Vliv rostlinných olejů na bakterii <i>Serratia marcescens</i>	57
10.1.2	Vliv rostlinných olejů na bakterii <i>Bacillus cereus</i>	58
10.1.3	Vliv rostlinných olejů na bakterii <i>Escherichia coli</i>	59
10.1.4	Vliv rostlinných olejů na bakterii <i>Staphylococcus aureus</i>	60
10.1.5	Vliv rostlinných olejů na bakterii <i>Bacillus subtilis</i> CCM 4062	61

10.1.6	Vliv rostlinných olejů na bakterii <i>Salmonella Typhimurium</i>	62
10.1.7	Vliv rostlinných olejů na bakterii <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	63
10.1.8	Vliv rostlinných olejů na bakterii <i>Pseudomonas fluorescens</i>	64
10.1.9	Vliv rostlinných olejů na bakterii <i>Bacillus subtilis</i> CCM 2216	65
10.1.10	Vliv rostlinných olejů na bakterii <i>Bacillus sphaericus</i>	66
10.2	AGAROVÁ DIFÚZNÍ METODA – VLIV ROSTLINNÝCH OLEJŮ NA BAKTERIE	67
10.2.1	Vliv testovaných bakteriálních kmenů na tamanu olej	68
10.3	AGAROVÁ DIFÚZNÍ METODA – VLIV ROSTLINNÝCH OLEJŮ NA KVASINKY A PLÍSNĚ	69
10.3.1	Vliv plísňových a kvasinkových kmenů na tamanu olej.....	69
ZÁVĚR		71
SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY.....		72
SEZNAM POUŽITÝCH SYMBOLŮ A ZKRATEK.....		80
SEZNAM OBRÁZKŮ		82
SEZNAM TABULEK.....		84

ÚVOD

Tuky a oleje patří do širší skupiny lipidů, mohou být rostlinného i živočišného původu. Rostlinné oleje jsou při pokojové teplotě tekuté a jsou využívány v každodenním životě člověka, především v potravinářském a kosmetickém. Nejčastěji se získávají ze semen a plodů rostlin, následně procházejí dalšími úpravami k získání surového oleje. V kosmetických prostředcích představují rostlinné oleje jednu ze základních kosmetických ingrediencí.

Tato diplomová práce se věnuje atypickým rostlinným olejům, jako jsou například oleje mokřadkový, nimbový, konopný, tamanu aj. Tyto oleje mají všestranné vlastnosti a hojně se využívají při léčbě kožních chorob, ale i jako doplněk stravy při dietách.

Kosmetické prostředky se vyrábí dle stanovených předpisů správné výrobní praxe a jejich mikrobiální kvalita je dána jejich složením. Tyto prostředky mohou být kontaminovány mikroorganismy, které se mohou do prostředí dostat primární nebo sekundární cestou. Mikrobiální kontaminace přináší zdravotní rizika pro spotřebitele a může vést ke znehodnocení a změně vlastností kosmetického prostředku.

Cílem práce je studium vlivu deseti vybraných atypických rostlinných olejů na různé mikroorganismy, bakterie, kvasinky i plísňe. V praktické části byly použity kvalitativní metody, mezi které patří disková difúzní metoda a agarová difúzní metoda.

I. TEORETICKÁ ČÁST

1 LIPIDY - TUKY A OLEJE

Využití tuků a olejů je známo už od středověku, a to nejen v oblasti výživy, ale také v kosmetice, medicíně a následně i v technických disciplínách. Tuky a oleje jsou považovány za jedny z nejzákladnějších živin pro člověka i živočichy. Patří mezi nepostradatelnou rezervu a zdroj energie obsažený v potravě, dodávají organismu (tělu) esenciální mastné kyseliny (tj. mastné kyseliny, které si tělo neumí syntetizovat). Kromě toho tuky a oleje výrazně přispívají k pocitu nasycenosti po jídle, a jsou nosiči lipofilních vitaminů, tedy vitaminů rozpustných v tucích (vitaminy A, D, E, K). Slouží také k přípravě jídla a následně se podílí na organoleptických vlastnostech [1,2,3, 4].

Základními zdroji tuků je například maso, mléčné výrobky, ryby, ořechy a rostlinné oleje a tuky. Tuky se také vyskytují v lidské pokožce ve formě tukové zásoby (podkožní vazivo), kdy tuk je uložen v blízkosti orgánů a tyto orgány chrání před mechanickým poškozením. Tuk v lidské pokožce působí i jako tepelný izolátor. Tuky a oleje jsou zařazeny do skupiny lipidů. Jedná se o nadřazený pojem, který není zcela ustálený a přinášel řadu obtíží v jejich systematice. Tuky a oleje mohou být rostlinného i živočišného původu [1, 5, 6,7, 8, 9].

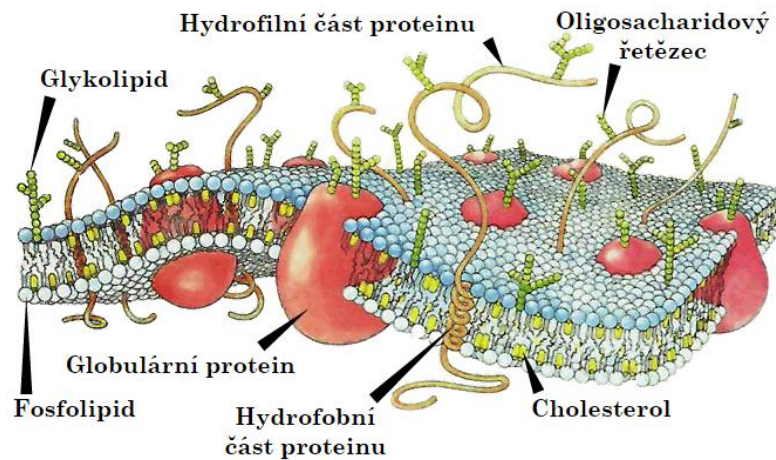
1.1 Definice lipidů

V současné době se můžeme v odborné literatuře setkat s několika možnými definicemi. Nejčastěji jsou lipidy (z řeckého *lipos*) definovány jako přírodní sloučeniny, které obsahují ve své molekule vázanou (zejména estericky) mastnou kyselinu (dále jen MK) o nejméně 4 atomech uhlíku. Toto vymezení je dostatečně široké, aby zahrnovalo látky mající různý chemický a fyzikální charakter.

Lipidy jsou definovány po chemické stránce jako deriváty mastných kyselin, především jejich estery a amidy. Lipidy jsou nestejnorodou skupinou sloučenin, mezi jejich společné vlastnosti patří relativní nerozpustnost ve vodě, následně dobrá rozpustnost v nepolárních rozpouštědlech (jako je např. chloroform, hexan aj.)

Do skupiny lipidů jsou zařazeny tuky, oleje, vosky a doprovodné látky lipidů. Jako doprovodné látky lipidů jsou označovány příbuzné sloučeniny lipidů, které se vyskytují v přítomnosti vlastních lipidů. Jedná se například o vitaminy, barviva, steroly, nebo i antioxidanty přírodního charakteru. Nerozpustnost lipidů je dána přítomností nepolárních uhlovodíkových struktur v jejich molekule. Mezi nejdůležitější funkci lipidů řadíme funkci biologickou (stavební), kdy jsou lipidy součástí biologických membrán, další funkce jsou

např. ochranná, rezervní a katalytická. Nedílnou rolí lipidů je díky stavební funkci i přenos stimulů v nervové tkáni [1, 3, 7, 8, 9,10, 11].



Obr. 1 Biologická membrána [11].

1.2 Dělení lipidů - tuků a olejů

Jak již bylo zmíněno, lipidy jsou nesourodou skupinou a lze je klasifikovat podle různých hledisek. Jedno z nejstarších a nejpoužívanějších rozdělení lipidů je rozdělení podle konzistence.

1. Vosky (tvrdé látky, které se nemastí)
2. Tuky (látky plastického nebo kašovitého charakteru, které se mastí)
3. Oleje (látky kapalné) – skupinu je možné dále rozčlenit na vysychavé, polovysychavé a nevysychavé oleje [7].

Další klasifikace lipidů je specifikována do tří skupin podle chemického složení.

1. Mastné kyseliny (MK) a jejich mýdla
2. Jednoduché lipidy – (zvané též homolipidy), což jsou sloučeniny MK a alkoholů, jež se dělí podle navázaného alkoholu na glyceridy (tuky a oleje) a vosky.
3. Složené lipidy – (heterolipidy) kromě homolipidů obsahují ve své molekule i další kovalentně vázané složky (např. kyselinu fosforečnou, sírovou, aj.)
4. Odvozené lipidy – (komplexní lipidy) obsahují jak homolipidy, tak i heterolipidy. Kromě kovalentních vazeb se zde vyskytují i složky, jež jsou vázané pomocí vodíkových vazeb nebo pomocí hydrofobních interakcí. Zahrnout sem můžeme steroidy, karotenoidy a lipofilní vitaminy.

Tato klasifikace se příliš nevžila a pojem lipid se téměř v běžné praxi nepoužívá, hovoří se zejména o tucích a olejích, popřípadě voscích [7, 10, 11].

1.3 Homolipidy

Jak již bylo zmíněno v klasifikaci lipidů, jednoduché lipidy neboli homolipidy (po chemické stránce nazývané též acylglyceroly), jsou estery mastných kyselin a alkoholů. Do homolipidů podle triviálních názvů řadíme jak vosky, tak i tuky a oleje [7, 11].

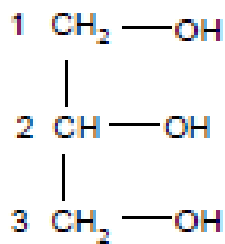
Vosky jsou po chemické stránce definovány jako estery vyšších mastných kyselin a jednofunkčních (jednosytných) alkoholů (alifatických nebo alicyklických). Této definici odpovídají ceridy a steridy. Mimo chemické definice existuje i definice technická, podle které jsou vosky skupinou komplexních organických substancí, jenž se svými vlastnostmi a použitím podobají vosku včelímu. Mezi fyzikální vlastnosti vosků patří jejich leštící schopnost, rozpouštějí se v organických nepolárních rozpouštědlech a jejich rozpustnost je závislá na teplotě. Vosky se dělí na živočišné a rostlinné. Jejich výskyt u rostlin je lokalizován na povrchu plodů a listů, tímto plní ochrannou funkci proti vysušování. U živočichů se vyskytují v pokožce nebo ve vlasech [7, 11, 14].

Tuky a oleje jsou dle chemické definice estery mastných kyselin a trojsytného alkoholu glycerolu. Představují tak nejvýznamnější skupinu homolipidů. Tuky a oleje vznikají chemickou reakcí nazývanou esterifikací, kdy se jedná o nukleofilní adici alkoholu na karboxylový uhlík MK za současného vyloučení vody [7, 11, 14].

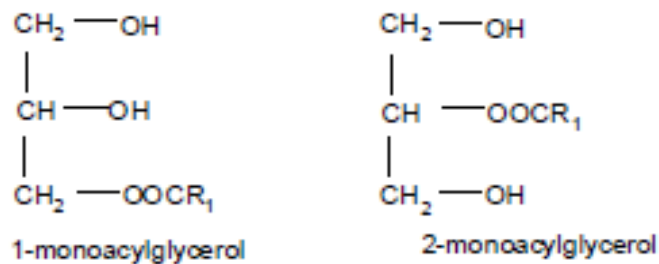
1.3.1 Acylglyceroly

Glycerol je trojsytný alkohol (1,2,3-propantriol), který obsahuje dvě primární a jednu sekundární alkoholovou skupinu. Na jednu molekulu glycerolu mohou být tudíž navázány až tři molekuly MK, díky navázání molekul kyselin se acylglyceroly mohou dělit na monoacylglyceroly, diacylglyceroly a triacylglyceroly.

Monoacylglyceroly (dále jen MAG) vznikají navázáním jedné MK na glycerol v poloze uhlíku 1 nebo 2 podle „sn“ systému (z anglického *Stereospecific Numbering*). V sumárním vzorci je můžeme napsat podle polohy uhlíku jako 1-MAG nebo 2-MAG [7, 11, 14].

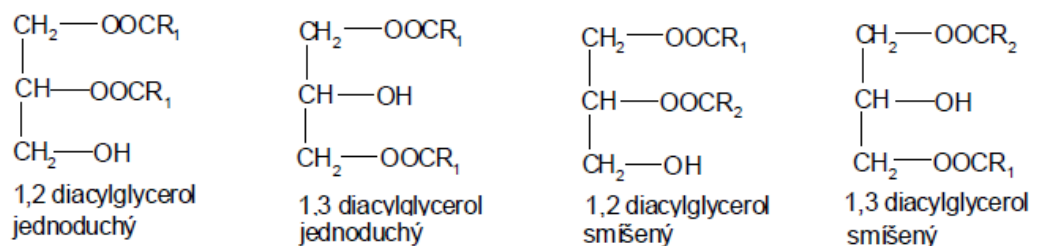


Obr. 2 Glycerol [7].



Obr. 3 Monoacylglyceroly [7].

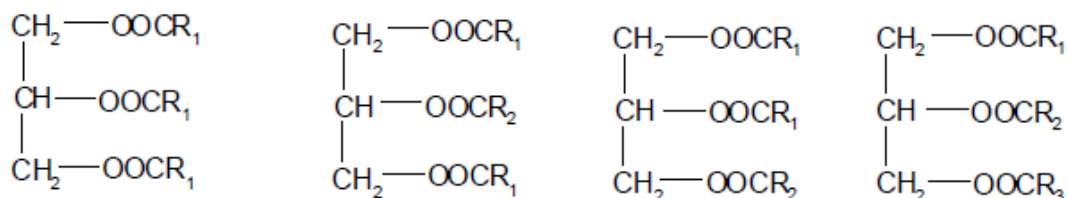
V případě, že se na glycerol navážou dvě molekuly MK, pak se jedná o diacylglyceroly (dále jen DAG). Stejně tak jako u MAG, mohou být dvě polohy navázaných MK, a to buď 1,2–DAG nebo 1,3–DAG. Souhrnně se MAG a DAG označují jako parciální estery glycerolu [7, 14].



Obr. 4 Diacylglyceroly [7].

V tukích a olejích přírodního charakteru jsou na glycerol nejčastěji navázány tři molekuly MK, hovoříme tak o triacylglycerolech (dále jen TAG). Možností navázání MK je několik, buď to mohou být MK stejné, nebo rozdílné. Pokud se jedná o navázání stejných MK na glycerol, jsou označovány za jednoduché TAG (např. 1,2,3-trioleoylglycerol

1,2,3-tripalmitoylglycerol, tristearoylglycerol) Jestliže jsou navázány různé MK na glycerol, pak jsou označovány za smíšené TAG. (např.1-palmitoyl-2-oleoyl-3-stearoylglycerol)[7, 11, 14].



Obr. 5 Jednoduchý TAG, smíšené TAG [7].

1.4 Fyzikálně-chemické vlastnosti lipidů

Všeobecně se o tucích a olejích tvrdí, že jsou nerozpustné ve vodě, na dotyk působí mastný dojem a mají mazací schopnost [6].

Mastné kyseliny jsou základní složkou jednoduchých i složených lipidů, jejich hydrofobní povaha je důvodem hydrofobního charakteru lipidů. Charakter navázaných MK na glycerol má vliv na fyzikální a chemické vlastnosti lipidů. Dle nasycenosti můžeme MK rozdělit do dvou skupin a to nasycené MK a nenasycené MK. Lipidy obsahující nasycené MK jsou obecně stabilnější a mají vyšší bod tání. Naopak je tomu u nenasycených MK, jejichž přítomnost snižuje chemickou stabilitu tuků, ale také snižuje jejich teplotu a bod tání [10, 15, 16].

1.4.1 Fyzikální vlastnosti

Mezi fyzikální vlastnosti TAG můžeme zařadit bod tání a tuhnutí, bod varu, rozpustnost, hustotu, index lomu a polymorfismus. Tyto vyjmenované vlastnosti jsou ovlivněny zejména typem a polohou, a v neposlední řadě i délkou řetězce MK a počtem dvojných vazeb v molekule TAG[14].

Bod tání nasycených MK je závislý na počtu uhlíků v řetězci. Pokud se v řetězci objevují kyseliny s lichým počtem uhlíků, jejich bod tání je nižší, než u kyselin s nižším počtem sudých atomů uhlíků v řetězci. U nenasycených MK je bod tání závislý na počtu dvojných vazeb v molekule lipidů a v případě většího počtu na jejich umístění. U TAG jsou body tání nestálé a obtížně stanovitelné. [14, 16].

Rozpustnost ve vodě u TAG je téměř nemožná, jelikož se jedná o nepolární látky, výjimku tvoří ricinový olej, tzn. že rozpustnost závisí na typu navázané MK na glycerol. Všeobecně můžeme říct, že tuky jsou při pokojové teplotě tuhé a oleje jsou téměř všechny tekuté, jelikož v jejich obsahu převažují monoenové MK a polyenové MK. Výjimku tvoří některé rostlinné tuky a oleje, u kterých převažují nasycené MK (např. kokosový tuk, kakaové máslo, aj.)[14, 20, 22, 23, 24].

1.4.2 Chemické vlastnosti

Do chemických vlastností lipidů můžeme zařadit reakce uhlíkatého řetězce nebo esterové skupiny. Tyto reakce jsou spjaty zejména s existencí dvojně vazby v řetězci a lze sem zařadit reakce oxidační, polymerizační, izomerační, hydrogenaci a cyklizaci nenasycených řetězců. Izomerační reakce probíhá díky dvojným vazbám v řetězci a způsobí změnu jejich konfigurace. Existuje geometrická a polohová izomerie. Hydrogenace hraje významnou úlohu při úpravách olejů, tato úloha spočívá ve zvýšení bodu tání tuků. Princip této operace spočívá v adici plynného vodíku na dvojnou vazbu. Polymerizační reakce lze definovat jako reakce, které doprovázejí reakce izomerační, při nichž vznikají cyklické MK.

Typ vznikajících polymerů je závislý především na teplotě a přístupu kyslíku. Stabilita tuků je dána mírou nenasycenosti MK, kdy vyšší obsah nenasycených MK způsobuje nižší stabilitu daného oleje. Důvodem je nestabilita dvojných vazeb a jejich náchylnost k oxidaci. Žluknutí tuků je souhrn rozkladných reakcí, jež jsou vyvolané oxidací kyslíkem a zhoršují tak sensorické vlastnosti, může vznikat např. nepříjemná chuť, zápach či nežádoucí změna konzistence. Negativně je ovlivněna i bezpečnost potravin, jež obsahují oxidované lipidy. Žluknutí se lze vyvarovat správným skladováním, tj. v temnu, chladu a bez přístupu vzduchu a vlhkosti[14, 16, 20, 22, 23, 24].

2 ROSTLINNÉ OLEJE

Základní pojmy související s rostlinnými oleji jsou vymezeny ve vyhláškách Ministerstva zemědělství. Ve vyhlášce č. 77/2003 Sb. kterou se stanoví požadavky pro mléko a mléčné výrobky, mražené krémy a jedlé tuky a oleje v § 11 se rostlinným tukem a olejem rozumí jedlý tuk a olej získaný ze semen, plodů nebo jader plodů olejnatých rostlin. V související vyhlášce č. 329/1997 Sb., pro škrob a výrobky ze škrobu, luštěniny a olejnatá semena v platném znění v § 9 se olejnatými semeny (dále jen "semena") rozumí suchá, čištěná a tříděná semena olejin neloupaná nebo loupaná, určená pro přímou spotřebu. Dále ve vyhlášce č. 77/2003 Sb. je stanovena teplota skladování u rostlinných tuků a olejů, která nesmí přesáhnout 20 °C. Rostlinné tuky a oleje tvoří z 95-98% lipidy a zbylé procenta tvoří ostatní látky [20, 25, 26].

2.1 Rozdělení rostlinných olejů

Rozdělení rostlinných olejů dle zastoupení a převahy dané MK.

1. Oleje s převládajícím obsahem kyseliny laurové a myristové –kokosový olej, palmojadrový olej
2. Oleje s obsahem kyseliny olejové a linolové – olivový olej, slunečnicový olej, bavlníkový olej, podzemnicový olej
3. Oleje s obsahem kyselin olejové, linolové a linolenové (do 10 %) – sójový olej, bezerukový řepkový olej
4. Oleje s obsahem kyseliny erukové – řepkový olej [33].

2.2 Technologie výroby rostlinných olejů

2.2.1 Získání suroviny a její zpracování

Prvopočátek technologie výroby oleje je sklizeň základních surovin, která je odlišná dle klimatických podmínek a druhu olejin. Velmi důležité jsou i podmínky uskladnění olejin do jejich zpracování, uskladnění by mělo probíhat za podmínek, kterými se docílí uchování jejich kvality. Před samotným skladováním je potřeba zbavit semena nadbytečné vody, která je pro skladování nebezpečná z důvodu možného znehodnocení suroviny. Následně jsou semena zbavena nečistot, jako jsou hlína, prach, atd. Do této fáze se může u některých druhů semen zařadit odslupkování semen a plodů. Dalším krokem pro získání oleje je drcení a mletí semen. Hlavním cílem tohoto kroku je rozrušení buněčných struktur a

umožnění snadnějšího odloučení oleje. Finálním krokem je proces klimatizace, při němž se z předešlého kroku drcená semena zahřívají na danou teplotu a současně se upravuje ve dvou fázích obsah vody [13, 15, 18].

V České republice je nejzákladnější a nejvýznamnější olejnatou surovinou řepka olejná, na druhém místě pak slunečnice a na pomyslném třetím, nikoliv bezvýznamném místě je sója. Mezi základní produkty tukařského a kosmetického průmyslu patří oleje, jenž jsou získávány ze semen rostlin, a to buď lisováním pod vysokým tlakem, nebo extrakcí pomocí rozpouštědel. Nejčastěji je to však kombinace obou postupů. V našich podmínkách se jedná o plně rafinované oleje rostlinného původu. Zpracování olejnin je uskutečňováno v místě jejich produkce a jedná se o velmi propletený a složitý proces. Surovárna je střediskem, v němž probíhá počátek zpracování olejnatých semen, následujícími operacemi jsou dezintegrace, klimatizace, lisování semen, extrakce rozemletých semen a zpracování šrotu. Výběr vhodných semen je základní faktor, který ovlivňuje kvalitu olejů. Dále se oleje a tuky mohou získávat mimo jiné i z dužin plodů [4, 13,15, 27, 28, 29].

2.2.2 Získávání oleje

Rostlinné oleje se získávají ze semen pomocí lisování, anebo extrakcí. Pokud se jedná o extrakci, tato operace se provádí za přítomnosti rozpouštědel a proto následuje rafinace (čištění), která pomáhá ke zbavení rozpouštědel a zlepšení organoleptických vlastností samotného oleje, který je následně bez nepříjemného pachu a přijatelné barvy [1, 2].

Rafinace zahrnuje sled operací, mezi které patří hydratace, odkyselení oleje, bělení oleje a dezorodace, kde se olej zbavuje mechanických nečistot a dalších příměsí, které se následně využívají pro účely chemické, potravinářské, ale i kosmetické. Na středisku se po zpracování získá olej surový lisovaný a extrahovaný, který se následně rafinuje (čistí) na odstředivkách. Mezi další operace v průběhu zpracování tuků a olejů můžeme zařadit operace, jejichž hlavním cílem je úprava jejich vlastností, především těch fyzikálních. Patří sem zejména frakcionace, interesterifikace a hydrogenace. První operací rafinace je hydratace neboli odsazení, která má za úkol zbavit oleje látek, jež jsou v nerozpustném stavu, děje se tak při zahřátí oleje s vodou nebo roztoky kyselin a v konečném kroku této fáze se separují (izolují) sraženiny. Neutralizace neboli odkyselení je hlavní operací ze všech kroků, které spadají pod proces rafinace [14, 15, 27, 28].

Touto operací se z olejů odstraňují volné MK a jejich obsah se pohybuje kolem 0,1 %. Surové oleje jako takové mají typické zabarvení a operací bělení se odstraňují pigmenty

(barviva) a zbytky mýdel, které vznikly během odkyselení. Závěrečným procesem rafinace je dezodorace, jež má za úkol zbavit látky nežádoucích vůní a chutí, tato operace je prováděna destilací vodní parou za vakua [14, 15, 27, 28].

2.3 Využití rostlinných olejů v kosmetice

Přírozně se vyskytující živočišné tuky a rostlinné oleje byly v historii kosmetiky používány jako nejčastější změkčovadla. Tyto oleje měly uklidňující a vyhlazující účinky na pokožku a měly i čistící vliv na vlasy a vousy. V oblasti kosmetických výrobků a výrobků pro osobní péči, se rostlinné oleje používají například při formulaci koupelových produktů, čistících přípravků, očního a pleťového make-upu nebo opalovacích přípravků. Rostlinné oleje jsou v kosmetických prostředcích využívány díky tomu, že udržují vodu v pokožce pomocí vytvoření tenké bariéry na povrchu kůže [30, 31, 32].

Mezi základní tuky a oleje, které byly v posledním půlstoletí (a v současnosti stále jsou) užívány v kosmetice, patří olej mandlový, avokádový, ricinový, kokosový, norkový, olivový, burákový, světlicový, sezamový, sójový olej, dále také olej z pšeničných klíčků nebo kakaové máslo. Základním faktorem výběru olejů používaných na kůži je pocit, který cítíme na pokožce. Mezi další významné faktory patří i okluzivní účinek, který je velmi důležitý k dosažení hydratace. Neméně důležitá je kompatibilita oleje s ostatními použitými ingrediencemi. Schopnost formovat stabilní emulze může být také velmi zásadní. Sensorické vlastnosti a stabilita jsou rozhodující pro moderní kosmetické formulace. Některé ze zmíněných materiálů byly užívány ke speciálním účelům až do nedávna. Kakaové máslo bylo dříve také využíváno k výrobě rtěnek, v současnosti je hojně využíváno k výrobě různých opalovacích prostředků a to z toho důvodu, že se pomalu rozpouští a má speciální texturu. Mandlový olej je vhodný k výrobě pleťových přípravků. Rostlinné oleje se mohou aplikovat i při masážích anebo aromaterapii [30, 31, 32].

V posledních 50 letech stále postupuje a sílí trend využití přírodních materiálů v kosmetice. Přírodní materiály jsou pozitivně vnímány a také stále více vyžadovány spotřebiteli. Dokladem této skutečnosti může být obliba certifikované přírodní kosmetiky a biokosmetiky. Také se postupně upouští od použití tuků živočišného původu. Jedním z hlavních důvodů tohoto posunu je snaha vývoje produktů, které budou uživatelům lépe vnímány. Díky těmto trendům je vyvíjeno značné úsilí v oblasti výzkumu rostlinných

olejů, a to především s cílem zlepšení jejich vlastností jako je čistota, stabilita, odolnost vůči oxidaci a mikrobiální degradaci [30, 31, 32].

3 ATYPICKÉ ROSTLINNÉ OLEJE

3.1 Brutnákový olej

INCI názvosloví: *Borago officinalis seed oil*

EN: Borago oil

Brutnákový olej je rostlinný olej, který je získáván lisováním semen byliny brutnáku lékařského (*Borago officinalis*). Brutnák lékařský je hojně pěstovaná jednoletá bylina s malými fialovými pěticípými květy, která se původně pěstovala v okolí města Aleppo (západní Sýrie), ale v současné době se hojně vyskytuje také v Evropských zemích. Její květy i listy jsou v některých oblastech součástí stravy [34].

Olej ze semen brutnáku má vysoký obsah kyseliny linolové (33-46 %), γ -linolenové (18-25 %), dalšími významně zastoupenými kyselinami jsou kyselina olejová a palmitová. Bývá využíván i jako doplněk stravy [35]. Kyselina γ -linolenová patří mezi esenciální mastné kyseliny, které si naše tělo neumí samo syntetizovat a musí být dodávány stravou. Hrají zásadní roli v růstu a zdraví vlasů a správnou funkci pokožky. Díky vysokému obsahu kyseliny, která spadá do skupiny velice důležitých omega-6 mastných kyselin, má olej při vnitřním užití celou řadu zajímavých účinků. Je uváděn například pozitivní účinek při léčbě artritidy, roztroušené sklerózy nebo zmírnění obtíží spojených s premenstruačním syndromem. Při aplikaci na kůži může mít pozitivní vliv na některé typy ekzémů a kožních onemocnění. Kyselina γ -linolenová je také příčinou protizánětlivého působení tohoto oleje na kůži [36].



Obr. 6 Borago officinalis [37].

Brutnákový olej se řadí mezi důležité ingredience kosmetického průmyslu. Slouží k výrobě kosmetických prostředků, jako jsou např. koupelové produkty, oční make-up, prostředky péče o pokožku a vlasy [35]. Olej má regenerační účinky na problematickou a zánětlivou pokožku a zásadní je jeho použití do přípravků pečujících o atopický ekzém, lupenku, erysipel (růže) či akné [65]. Brutnákový olej je získáván ze semen této rostliny. Jedině semena totiž obsahují dostatečně vysoké množství oleje. Zajímavé je, že brutnák lékařský je velmi často považován za plevel rostoucí na zahradách. Brutnák pěstovaný či rostoucí volně je díky svým květům výborný k výrobě medu [34].

3.2 Konopný olej

INCI názvosloví: *Cannabis sativa*

EN: Hemp seed oil

Konopný olej patří mezi oblíbené ingredience kosmetického průmyslu. Olej, který se získává lisováním ze semen konopí setého (*Cannabis sativa*) má poměrně zajímavé zastoupení mastných kyselin. Obsahuje více než 75 % nenasycených mastných kyselin a profil mastných kyselin v oleji může vypadat následovně: kysel. palmitová (4-9 %), stearová (2-4 %), olejová (8-15 %), linolová (53-60 %), α -linolenová (15-25 %), (0-5 %). Z hlediska účinků oleje jsou nejdůležitější právě kyselina linolová, α -linolenová a γ -linolenová. Především díky obsahu těchto kyselin má konopný olej výborné regenerační, zvláčňující, zklidňující, protizánětlivé účinky a také přispívá k vyšší odolnosti pokožky.

Kosmetické prostředky obsahující konopný olej pomáhají zmírnit kožní problémy, jako je suchost pokožky, atopický ekzém nebo lupénka [38].

Olej obsahuje i velké množství vitaminů, které mají ve spojení s nenasycenými kyselinami pozitivní účinky na pokožku. Omezuje vznik vrásek, zmírňuje nebo zamezuje projevům akné, působí velmi dobře jako olejový zábal na vlasy a jeho vtírání do nehtových lůžek posiluje růst a zdraví nehtů [65].



Obr. 7 *Cannabis sativa*

39].

Pro lisování oleje se používají semena různých potravinářských odrůd konopí setého (*Cannabis sativa*), které obsahují nízké hodnoty THC (tetrahydrocannabinolu). Evropskou legislativou jsou pro pěstování povoleny odrůdy s THC nižším než 0,2%, českou pak odrůdy s THC pod 0,3%. Nicméně v semínku se THC nevyskytuje u žádné z odrůd – THC je pouze v zelených částech rostliny[40].

U konopného oleje byly prokázány antibakteriální účinky. Tento olej má značnou inhibiční aktivitu vůči grampozitivním bakteriím *Bacillus subtilis* a *Staphylococcus aureus*, mírnou aktivitu vůči gramnegativní *Escherichia coli* a vysokou antimikrobiální aktivitu proti gramnegativní bakterii *Pseudomonas aeruginosa*. Některými autory byla ale zjištěna velmi silná inhibiční aktivita konopného oleje vůči *E. coli* [87, 88, 89].

3.3 Nimbový olej

INCI názvosloví: *Azadirachta seed oil*

EN: Neem oil

Nimbový oleje získáván ze sušených plodů stromu *Azadirachta indica*. Nejznámější a nejrozšířenější lokalitou výskytu těchto rostlin je Indie, kromě toho je ale široce distribuována do oblastí jižní a jihovýchodní Asie a pěstována v Africe, jižním Pacifiku, jižní a střední Americe a Austrálii. V lokalitách jako je Florida a Kalifornie se pak vyskytují rovněž rostoucí stromy, které dosahují výšky 6-25 metrů a každý rok opadávají[41]. Nimbový olej se svou charakteristickou vůní a vlastnostmi se vymyká ostatním známým rostlinným olejům. Obsahuje složku s názvem azadirachtin, která je velmi účinná proti mikrobům a plísním. Má také insekticidní vlastnosti a používá se jako přírodní pesticid proti mnoha zahradním škůdcům. Může se kombinovat s éterickými oleji pro ošetření podrážděné a problematické pokožky, včetně škrábanců a drobných oděrek. Výborně se hodí i na mykózy mezi prsty. Podporuje přirozenou obranyschopnost a tradičně se v aromaterapii používá při projevech virových a bakteriálních infekcí na pokožce, například při planých neštovicích [65].



Obr. 8 *Azadirachta indica* [42].

Hlavními složkami nimbového oleje jsou oxidované tetranor-triterpeny, zahrnující například azadirachtin, azadiradiol, epoxyazadiradiol, azadiron, nimbidin, nimbin, deacetylnimbin, salannin, gedunin, mahmoodin, 17-hydroxydiradiol a příbuzné deriváty. Mnohé z těchto látek mají medicínské využití, například při léčbě vaginálních infekcí,

malárie nebo některých kardiovaskulárních chorob. Jsou také součástí preparátů a mastí, které lze využít k léčbě ran, vředů, kožních alergických reakcí, ale také proti svědění v průběhu planých neštovic a svalovým bolestem [41]

Nimbový olej obsahuje látky, u kterých byla prokázána antibakteriální aktivita vůči různým druhům bakterií. Extrakty z nimby působí inhibičně například na gramnegativní bakterie *Escherichia coli* a *Klebsiella spp.*[43].Schopnost antibakteriálního působení byla u gramnegativních bakterií prokázána také přímo pro nimbový olej [44].

3.4 Tamanu olej

INCI názvosloví: *Calophyllum inophyllum seed oil*

EN: Tamanu oil

Tamanu je název, který se na ostrovech v jižních mořích používá pro olej z kalaby obvejčité neboli domby (*Calophyllum inophyllum*). Olej se lisuje z usušených jader plodů, je tmavě zelený a má specifické aroma. Je silně regenerační, má zklidňující účinky při bolestivých stavech pokožky, pomáhá regenerovat rány a jizvy. Tradičně se používá i k regeneraci kůže po vředech či pásovém oparu. Protože tamanu olej obsahuje protizánětlivé, antibiotické a antiseptické látky, je výborný jako součást ochranných a zklidňujících gelů, krémů či balzámů. Nehodí se samostatně na masáž, zato je výborný k lokálnímu použití při plísňích pokožky a drobných poraněních jako jsou štípance či boláky, ve zklidňujících přípravcích na bolestivé stavy kloubů, namožené svaly i na neuralgické bolesti kůže. Tamanu olej je vhodné synergicky doplňovat éterickými oleji podle požadovaných účinků. Při použití je třeba mít na paměti, že zvyšuje místní prokrvení pokožky [65].



Obr. 9 *Calophyllum inophyllum seed* [46].

3.5 Brusnicový olej

INCI názvosloví: *Vaccinium macrocarpon* (Cranberry) seed oil

EN: Large cranberry oil

Olej se lisuje z klikvy velkoplodé (*Vaccinium macrocarpon*), má přirozeně vysoké antioxidační účinky a je velmi odolný proti znehodnocení. Obsahuje rovnovážný poměr omega-6 a omega-3 esenciálních mastných kyselin, což je důležité, aby pokožka mohla tyto kyseliny absorbovat a využít [47].



Obr. 10 *Vaccinium macrocarpon* seed [48].

Brusnicový olej má výjimečné složení. Má vysoký obsah polynenasycených tuků a obsahuje rovnovážný poměr omega-6 a omega-3 esenciálních mastných kyselin, který je zásadní pro jejich využitelnost v organismu. Vysoký obsah vitamínu E přispívá k ochraně buněk před oxidativním stresem, proto je v kosmetice využíván v anti-aging přípravcích. Tento olej obsahuje 6,5 % nasycených mastných kyselin, z mononenasycených kyselin je hojně zastoupena kyselina olejová (22,2 %) a vysoký je obsah polynenasycených MK (kyselina linolová tvoří 37,7 %, kyselina linolenová pak přibližně 33,5 %) [65]. Brusnicový olej je velmi dobře snášen pokožkou, výborně se vstřebává a nezanechává pocit mastnoty. Zlepšuje elasticitu zralé nebo narušené pokožky, posiluje její odolnost a vlastní obranyschopnost. Využívá se v oční kosmetice k ošetření očního okolí. V literatuře byly popsány i antibakteriální účinky tohoto oleje a extraktů z klikvy [47].

3.6 Avokádový olej

INCI názvosloví: *Persea Americana Fruit Oil*

EN: Avocado oil

Avokádový olej obsahuje množství vitaminů C a E, významných antioxidantů, a také vitaminy řady B a lecitin. Olej má jemnou lehkou konzistenci, díky které se do suché pokožky snadno vstřebá a zbytečně ji nezatěžuje ani nedráždí. Citlivá pleť je tak ochráněna, posílena a zároveň bohatě regenerována díky obsahu lecitinu. Avokádový olej má protizánětlivé účinky díky tomu, že inhibuje produkci zánětlivých cytokinů [49, 65].



Obr. 11 *Persea Americanaseed* [50].

Dále také ulevuje od bolestí kloubů a svalů, je tak výborný pro masáže celého těla. Při vnitřním užití upravuje hladinu cholesterolu a pomáhá při zánětech močového měchýře. U některých složek oleje byla prokázána antimikrobiální aktivita, a to jak proti bakteriím, tak i proti mikroskopickým houbám [49, 65].

3.7 Hořčičný olej

INCI názvosloví: *Sinapis alba seed oil*

EN: Mustard oil

Hořčičný olej je získáván lisováním za studena ze semen hořčice seté (*Sinapis alba*). Jedná se primárně o jedlý olej tradičně využívaný především v asijské kuchyni. Hořčičný olej obsahuje množství esenciálních mastných kyselin omega 3 a 6 a také minerálních látek, které posilují imunitu a celkově zlepšují fungování organismu. Vnitřní užití podporuje

tvorbu žaludečních šťáv, působí proti nechutenství a urychluje činnost střev. Olej obsahuje 22 % kyseliny olejové, 14 % kyseliny linolové a má vysoký obsah kyseliny erukové (až 47 %). Tato MK je obsažena především v olejích rostlin čeledi *Brassicaceae* (brukvovité) [51].



Obr. 12 Sinapis alba seed [52].

Při vnějším užití podporuje olej prokrvení kožní tkáně, zahřívá svaly i klouby, a působí tak pozitivně na pohyblivost celého kloubního aparátu. Látky obsažené v hořčičném oleji jsou také výborným pomocníkem pro prokrvení pokožky, bojují proti prochlazení a špatnému prokrvování končetin, nedostatku energie a také celkové únavě [65].

3.8 Kokosový olej

INCI názvosloví: *Cocos nucifera oil*

EN: coconut oil

Kokosový olej se lisuje z usušené bílé dužniny kokosového ořechu ve formě kokosového „másla“, které je v panenském stavu bílé a tuhé a taje při 25°C. Olej má vysoký obsah nasycených mastných kyselin, jejich obsah bývá uváděn až 94 % a většinou jsou zastoupeny mastné kyseliny se středně dlouhým uhlíkovým řetězcem. Obsahuje relativně velké množství vitamínu E [65].



Obr. 13 *Cocos nucifera* [53].

Má široké využití v potravinářství, jedná se o jedlý olej, značné je také využití v kosmetice, při výrobě mýdel, šamponů, lotionů a v neposlední řadě nachází uplatnění i v klasické a alternativní medicíně a aromaterapii. Hodí se jako součást hydratačních olejů pro suchou, citlivou a jemnou pokožku. Plet' je po jeho aplikaci hladká a jemná, pokožku zvlhčuje a vytváří na ní ochrannou vrstvu. Protože je kokosový olej dobře přilnavý, používá se tradičně také jako regenerační prostředek na vysušené či poškozené vlasy. Má význam pro prevenci mikrobiálních kožních infekcí a byly popsány jeho antimikrobiální účinky proti prokaryotickým i eukaryotickým mikroorganismům [54].

3.9 Lněný olej

INCI názvosloví: *Linum usitatissimum seed oil*

EN: Linseed oil

Lněný olej je získáván ze sušených zralých semen lnu setého (*Linum usitatissimum*). Olej se získává lisováním za studena, někdy s následnou extrakcí pomocí rozpouštědel. Jedná se o jedlý olej výrazné chuti i pachu. Má široké využití, používá se jako impregnační látka při úpravě dřeva, v olejových barvách nebo při výrobě tmelů [55].



Obr. 14 *Linum usitatissimum seed* [56].

V kosmetice je lněný olej využíván pro své silné regenerační, zvláčňující a zjemňující účinky. Je vhodným doplňkem při léčbě ekzematických stavů pokožky, lupénky, popálenin, ztvrdlé či popraskané kůže. Lněný olej obsahuje velké množství nenasycených mastných kyselin, kyseliny olejové, linolenové a linolové, obsahuje i malé množství kyseliny arachidonové. Lněný olej není kvůli své tmavé barvě vhodný pro přímou masáž, ale je vhodný v kombinaci s ostatními oleji. Pravidelná používání lněného oleje zanechává pokožku vláčnou a hebkou. Olej je možno požívat i vnitřně, zejména z důvodu vysokého obsahu nenasycených mastných kyselin (tzv. vitamín F) snižujících hladinu cholesterolu [55, 65].

3.10 Mokřadkový olej

INCI názvosloví: *Limnanthes alba seed oil*

EN: Meadowfoam oil

Olej se získává lisováním ze semen zrcadlovky bílé (*Limnanthes alba*). Jedná se o velice stabilní rostlinný olej s výraznými antioxidačními účinky. Plet' přirozeně vyživuje, hydratuje a chrání ji před vnějšími vlivy. Podobně jako jojobový olej posiluje odolnost pleti, jeho výživný a hydratační účinek je však mnohem vyšší. Mastné kyseliny jsou v mokřadkovém oleji spojené méně silnými vazbami, proto se lépe vstřebává a je pokožkou efektivněji využitelný [65].



Obr. 15 Limnanthes alba seed oil [57].

4 KOSMETICKÉ PROSTŘEDKY

Podle platné legislativy je kosmetický prostředek (KP) definován jako jakákoli látka nebo směs určená pro styk s vnějšími částmi lidského těla (pokožkou, vlasovým systémem, nehty, rty, vnějšími pohlavními orgány) nebo se zuby a sliznicemi ústní dutiny, výhradně nebo převážně za účelem jejich čištění, parfemace, změny jejich vzhledu, jejich ochrany, jejich udržování v dobrém stavu nebo úpravy tělesných pachů. Každý kosmetický prostředek, který je uváděn na trh musí být bezpečný pro lidské zdraví, správně označený (mít veškeré náležitosti na obalu) a musí splňovat požadavky na obalové materiály a ingredience. Žádný KP uváděný na trh nesmí obsahovat přísady nebo jejich kombinace, které byly podrobeny zkouškám na zvířatech jinou než alternativní metodou. Ústředním kontrolním orgánem je Evropská komise a vymezení pojmů a bezpečnosti je možné vyhledat v Nařízení Evropského parlamentu a Rady (ES) č. 1223/2009 ze dne 30. listopadu 2009 o kosmetických přípravcích. Toto nařízení nahradilo vyhlášku č. 448/2009 Sb., o stanovení hygienických požadavků na kosmetické prostředky, ve znění pozdějších předpisů [58, 59, 60].

4.1 Klasifikace kosmetických prostředků

Podle doporučení Cosmetics Europe- The Personal Care Association (COLIPA) zveřejnila v roce 2007 Evropská komise kategorizaci KP, podle tohoto doporučení lze KP dělit na dekorativní kosmetiku, vlasovou kosmetiku, vlasová barviva, parfémy a vonné látky, skin care přípravky, opalovací přípravky a toaletní potřeby. V tomto rozdělení není přesná hranice, tudíž je možno v některých příkladech zaznamenat obtíže v kategorizaci, např. opalovací přípravky mohou být zařazeny do přípravků v péči o kůži (skin care přípravky)[59, 60].

4.1.1 Kategorizace a zařazení KP (doporučení Colipy)

1. Dekorativní kosmetika – nehtová a oční kosmetika, přípravky pro ošetření rtů, make-up
2. Vlasová kosmetika – vlasové vody a tonika, vlasové spreje, krémy, gely, kondicionéry a vlasové šampony
3. Vlasová barviva – barvicí šampony, bělicí přípravky
4. Parfémy a vonné látky – toaletní a kolínské vody, toaletní vody pro děti, holicí přípravky (péče před i po holení), parfémy

5. Skin care přípravky – pleťové přípravky, čistící pleťové přípravky, přípravky pro ošetření rukou, tělové krémy a lotiony, dětská kosmetika
6. Opalovací přípravky
7. Toaletní potřeby – toaletní mýdla, orální přípravky, holicí přípravky, zásypy a pudry, koupelové přípravky, antiperspiranty a deodoranty, depilační přípravky, přípravky v péči o nohy[60].

4.2 Formy kosmetických přípravků

Podle způsobu aplikace se mohou kosmetické prostředky vyskytovat v různých formách, může se jednat o tekuté, polotuhé nebo tuhé. Konečná forma KP je podmíněna vlastnosti surovin a jejich technologickému zpracování [60, 61].

4.2.1 Roztoky a lotiony

Roztoky jsou jedny z nejstarších a nejvyžívanějších forem KP. Roztoky jsou definovány jako homogenní jednofázové soustavy, ve kterých je nejvíce zastoupeno rozpouštědlo, nejčastěji se jedná o vodu nebo alkohol. Mezi hlavními složky roztoků patří parfemové kompozice nebo rostlinné extrakty. KP tohoto typu jsou na českém trhu označovány jako vody nebo tonika. V současnosti jsou více populární micelární vody, jedná se o přípravek určený primárně k čištění pleti a odstranění zbytku dekorativní kosmetiky v blízkosti očí (řasenka, linky). Dnešní název pro roztoky je lotion, kdy rozdílem je větší viskozita a většinou se jedná o zředěné emulze typu O/V. Lotiony se mohou podle použití a účinku klasifikovat na čistící, adstringentní a změkčující [59, 60, 62].

4.2.2 Emulze

Neméně důležitou formou KP jsou emulze, jež můžeme definovat jako disperzní systém dvou vzájemně nemísitelných kapalin, jednou z fází je voda– označována “V“ a druhou je obvykle olej – označován “O“. KP se tudíž vyskytují na trh ve formě emulzí typu O/V nebo V/O. Emulze jsou termodynamicky nestabilní a jejich vznik je závislý na typu emulgátoru. Zředěné emulze se označují jako mléka. Emulze nanosená na pokožku se rozrazí a následně se vodná fáze odpařuje, na pokožce tudíž zůstává jemný film látek tukového charakteru [59, 60, 62].

4.2.3 Suspenze

Suspenze jsou přípravky, kde dispergovanou fází tvoří pevné (popřípadě práškovité) částice a disperzní prostředí je tvořeno kapalinou. Při skladování dispergované částice nemají schopnost sedimentace díky přidávku zahušťovadla. Tato forma KP je hojně využívána v dekorativní kosmetice [59, 61].

4.2.4 Gely

KP ve formě gelů jsou stejnorodé systémy, kdy dispergované částice stejně jako dispergované prostředí tvoří kontinuální fází a jsou pohyblivé s celým objemem gelu. Dříve byly využívány hydrogely, které měly vnější fází vodu, později se začaly využívat olejové gely, u kterých je vnější fází olej. Hydrogely jsou ve většině případů transparentní a nachází se v nich větší množství vody dále polymery rozpustné ve vodě, humektanty, tenzidy, biologicky aktivní látky, konzervanty, vonné látky a barviva. Pro své emoliantní schopnosti jsou využívány olejové gely v kombinaci s lotiony. V olejových gelech se nachází polymer, který se dobře rozpouští v olejích [60].

4.2.5 Pěny

Definice pěn je vymezena na koloidní disperzní systém, v němž je disperzní fází kapalina a disperzním prostředím plyn. Plyn je obklopen kapalným filmem, ve kterém se nachází tenzidy a látky rozpustné ve vodě. Kosmetické pěny jsou z hlediska termodynamiky nestabilní. Hlavní roli v kosmetických přípravcích označovaných jako pěny hraje výběr tenzidů [60].

4.2.6 Oleje

Skupina olejů zahrnuje kapalné tuky, ale i tukovité látky. Označení olejů je podle doporučeného použití např. masážní oleje, koupelové oleje, oleje pro ošetření pleti. Pro přípravu olejů je využíváno prakticky všech tukových látek, které jsou při pokojové teplotě kapalné, přesto v dnešní době je využíváno spíše synteticky vyrobených olejů. Přírodní oleje mají nevýhodu v oxidaci, díky tomu se do těchto přípravků přidávají antioxidanty, které této reakci zabraňují. Oleje, které slouží pro ošetření pokožky, vytváří povrchový film a jeho tloušťka je závislá na viskozitě oleje [63].

4.3 Kosmetické prostředky obsahující atypické oleje

V České republice je v posledních letech velice atraktivní pojem BIO a přírodní kosmetika, na tuto sféru se zaměřily i některé následující firmy.

4.3.1 Saloos

Společnost patří na trhu mezi ryze českou značku, která se od roku 1993 vypracovala na našem trhu mezi největšího výrobce, který získal jako první firma certifikát přírodní biokosmetiky (dále jen CPK). Výrobky obsahují nejvyšší podíl čistých přírodních látek, vyloučily syntetické parfemace, konzervanty a barviva, díky tomu je tato kosmetika vhodná pro všechny typy pleti a nevyvolává alergické reakce. Standardy CPK bio pro přírodní biokosmetiku vycházejí z renomované mezinárodní certifikace Ecocert. Označení CPK bio lze najít pouze na výrobcích, které obsahují čisté přírodní suroviny a biosuroviny z ekologického zemědělství nebo volného sběru [64].



Obr. 16 Saloosbio brutnákový a konopný olej[64].

4.3.2 Nobilis Tilia

Na českém trhu působí firma od roku 1994, tehdy založila značku aromaterapeutické kosmetiky Nobela, později přejmenována na Nobilis Tilia. Firma se zabývá výrobou a vývojem kvalitní aromaterapeutické kosmetiky, vyhledáváním poctivých zdrojů 100% přírodních éterických olejů a kvalitních rostlinných olejů (v BIO kvalitě), stejně tak jako dalších bioaktivních látek. Společnost Nobilis Tilia s.r.o. je členem Unie kosmetiček a Asociace českých aromaterapeutů [65].



Obr. 17 NobilisTilia BIO brutnákový, konopný a nimbový olej [65].

4.3.3 SynCare

Další firmou, jež si získala své příznivce na českém trhu, patří společnost SynCare, jejíž název vznikl spojením dvou latinských slov, *syn* (pro, k) a *care* (pečovat). Své profesionální dermokosmetické přípravky na hranici lékařské a estetické péče přináší na trh od roku 1996. SynCare označuje za dermoskopické přípravky ty, jež respektují fyziologii lidské kůže a jejich používání je v souladu se zásadami volby jednotlivých typů KP. Společnost se zejména zaměřuje na suchou a citlivou pleť, ale také i pleť s aknézními projevy. SynCare ve své nabídce má produkty, které obsahují konopný olej v BIO kvalitě [66].



Obr. 18 SynCare přípravky s konopným olejem a BIO konopným olejem [66].

5 MIKROORGANIZMY V KOSMETICE

Mikroorganizmy (MO) můžeme definovat jako jednobuněčné či vícebuněčné organizmy, jež jsou schopny samostatné existence a rozmnožování. Živé organizmy můžeme rozdělit do tří domén, tj. *Bacteria*, *Archaea* a *Eukarya*. Tyto domény můžeme dále rozdělit podle typu buněk na prokaryotické (*Bacteria*, *Archaea*) a eukaryotické (*Eukarya*). Mikroorganizmy mají významný vliv a můžeme se s nimi setkat v běžném životě, např. se vyskytují na všech místech na Zemi, jsou významnými rozkladači organických, můžeme se s nimi setkat i v zemědělství (výroba krmiv), hrají významnou roli ve výživě člověka a mají i nežádoucí vliv na kvalitu potravin, surovin, ale i materiálů. Jsou ale také hojně využívány při výrobě potravin a při jejich průmyslovém zpracování. Mikroorganizmy mají svůj význam i v tukařském a kosmetickém průmyslu, kde mohou působit negativně a představovat tak zdravotní riziko pro člověka. V tukařském průmyslu hraje hlavní úlohu zpracování semen a plodů rostlin, důraz se klade na jejich skladování, kdy je důležitá správná teplota a vlhkost v místě skladování. Mikrobiologická bezpečnost a kvalita kosmetických prostředků je z hlediska spotřebitele velmi významná a bývá tedy spojována se snahou výrobců o to, aby KP neobsahovaly nežádoucí mikroorganismy. Množství mikroorganismů v kosmetickém prostředku je ukazatelem hygienických podmínek ve výrobě. Zdrojem kontaminace KP mohou být suroviny, voda, zaměstnanci a strojní zařízení. Mezi nejčastější mikrobiální kontaminanty v KP patří bakterie rodu *Pseudomonas*, *Staphylococcus*, *Clostridium*, dále bakterie čeledi *Enterobacteriaceae*, kvasinky a plísně. I když je dodržena správná výrobní praxe (SVP), mohou se MO v KP vyskytovat. Ke kontaminaci může dojít i během používání při kontaktu s pokožkou. Níže v této kapitole budou charakterizovány některé MO, které jsou významné v kosmetice a budou využity v praktické části této práce [67, 68].

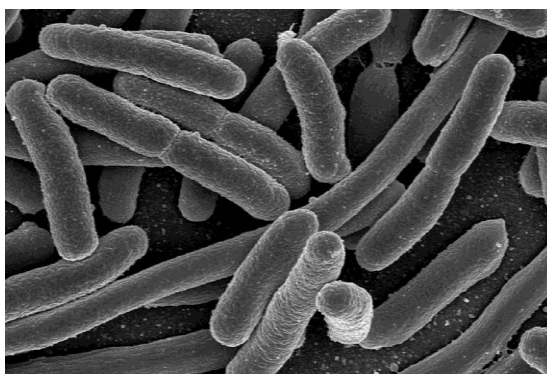
5.1 Bakterie kontaminující kosmetické prostředky

Bakterie jsou jednobuněčné organizmy s prokaryotickým typem buňky. Buňka prokaryot se organizačně liší od buňky eukaryota ve své struktuře, je výrazně jednodušší. Základním rozdílem je organizace buněčného jádra, velikost buňky a přítomnosti či nepřítomnosti buněčných organel. Některé bakterie mohou vykazovat větší odolnost vůči podmínkám prostředí. Odolnost vůči různým podmínkám prostředí je ovlivněna především typem buněčné stěny. Bakterie lze na základě stavby buněčné stěny rozdělit do dvou skupin, na bakterie grampozitivní (G+) a bakterie

gramnegativní (G-). Základní složkou obou typů buněčných stěn je peptidoglykan. Na rozdíl od gramnegativních bakterií je u grampozitivních bakterií buněčná stěna složena ze silné vrstvy peptidoglykanu. Díky složitosti buněčné stěny u gramnegativních bakterií je součástí jejich stěny vnější membrána, která je složena z dvojvrstvy fosfolipidů podobně jako u cytoplazmatické membrány, a díky tomu jsou gramnegativní bakterie vůči působení antimikrobním látkám odolnější [67, 69, 70].

5.1.1 Čeleď *Enterobacteriaceae*

Jedná se o gramnegativní bakterie, rovné pohyblivé tyčinky se zaoblenými konci, které se mohou vyskytovat buď jednotlivě, nebo v párech. Fakultativně anaerobní, nutričně nenáročné, jejich optimální růstová teplota je 37 °C. Nejznámější bakterií, která se řadí do čeledi *Enterobacteriaceae*, je *Escherichia coli*. *Escherichia coli* se běžně vyskytuje v trávicím traktu člověka, je součástí přirozené střevní mikroflóry a podílí se na produkci některých vitamínů. Z kosmetických prostředků bývá izolována a její výskyt je indikátorem fekální kontaminace. Dále do čeledi *Enterobacteriaceae*, která ohrožuje mikrobiální kontaminaci KP patří i *Serratia marcescens*, *Proteus mirabilis*, rody *Proteus*, *Klebsiella*, které mohou způsobovat infekce urogenitálního ústrojí, jejich výskyt je velmi závažný v dětské kosmetice (zásypy, dětské oleje apod.) Výskyt koliformních mikroorganismů v KP poukazuje na špatnou hygienickou úroveň výroby [70, 71].



Obr. 19 *Escherichia coli* [72].

5.1.2 Rod *Pseudomonas*

Jsou to gramnegativní aerobní nesporulující rovné či mírně zakřivené tyčinky, které jsou pohyblivé díky bičíkům. Jejich výskyt může být orientovaný samostatně, ve svazcích nebo

v krátkých řetězcích. Tento rod je nutričně nenáročný, rostou za aerobních podmínek – tudíž ke svému životu potřebují kyslík. Zdroje výskytu tohoto rodu jsou voda, biofilm na výrobním zařízení a špatná nebo nedostatečná sanitace. V kosmetice jsou významné především pro schopnost vyvolat infekce v oblasti očí, tudíž je zde riziko zejména při používání oční kosmetiky (řasenky, oční krémy). Nejčastějšími zástupci v oblasti kosmetiky jsou *Pseudomonas aeruginosa*, způsobující infekci očí a popálenin.

Pseudomonády mají schopnost se snadno přizpůsobit různorodým podmínkám prostředí. *Pseudomonas aeruginosa* produkuje řadu toxických proteinů, které nejenže způsobují rozměrné poškození tkání, ale mají schopnost aktivovat některé složky imunitního systému. Je označována za univerzální patogen, který je spojovaný s širokým spektrem infekcí člověka, následná kontrola infekcí je komplikovaná, neboť *P. aeruginosa* je přirozeně rezistentní k mnoha antimikrobiálním látkám [70, 73, 74].



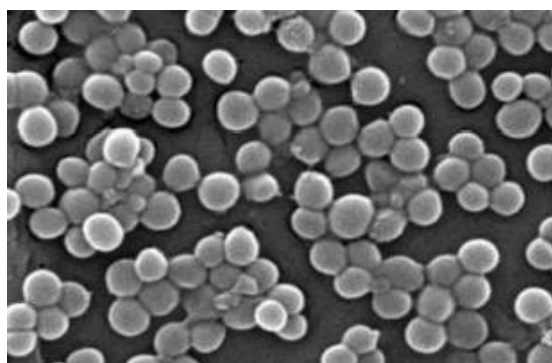
Obr. 20 *Pseudomonas aeruginosa* [75].

5.1.3 Rod *Staphylococcus*

Grampozitivní nepohyblivé koky, fakultativně anaerobní. Objevuje se u nich rezistence k lysozymu a jejich růst je viditelný při 10 % NaCl. Optimální teplota růstu těchto bakterií se pohybuje kolem 30 – 37 °C. Výskyt tohoto rodu je buď jednotlivý, nebo naopak se mohou koncentrovat ve shlucích v oblasti kůže, kožních žláz a na sliznicích teplokrevných obratlovců. Bakterie tohoto rodu řadíme mezi všudypřítomné mikroorganismy. Bakterie rodu *Staphylococcus* jsou často izolovány z potravin živočišného původu, ale také i ze zdrojů v prostředí (voda, půda, prach). Koaguláza negativní jsou druhy *S. epidermidis*, *S. cohnii*, *S. capitis*, *S. warneri*, *S. haemolyticus*, naopak koaguláza pozitivní jsou *S. aureus*, *S. lugdunensis*. Koaguláza negativní druhy jsou běžnými komenzály a mnohé druhy jsou

běžnou součástí mikroflóry kůže, koaguláza pozitivní stafylokoky jsou často oportunně patogenní, a mohou vyvolat onemocnění u oslabeného jedince.

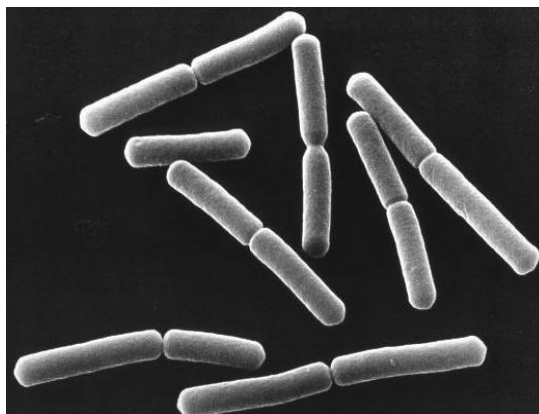
Staphylococcus aureus patří mezi nejběžnější lidské patogeny, který produkuje toxiny způsobující rozpad erytrocytů. Překlad latinského „*aureus*“ znamená zlato, kdy jejich charakteristický růst je v podobě žlutých až oranžových kolonií. Primárními nositelé jsou lidé, a tudíž se přenos těchto bakterií děje primární cestou, tzn. z poškozených rukou na potraviny nebo do KP. Je velmi odolným mikroorganizmem, pokud mu nevyhovují teplotní podmínky, dokáže několik let přežít ve stavu dormance. Odolnost získal díky tloušťce buněčné stěny, Prostup antimikrobiálních látek do buněk *S. aureus* je velice složitý, právě kvůli tloušťce a vlastnosti buněčné stěny. *S. aureus* je přítomen u většiny zdravých jedinců na kůži, ta je chráněna kožním filmem proti prostupu MO do těla [60, 69, 76].



Obr. 21 *Staphylococcus aureus* [77].

5.1.4 Rod *Bacillus*

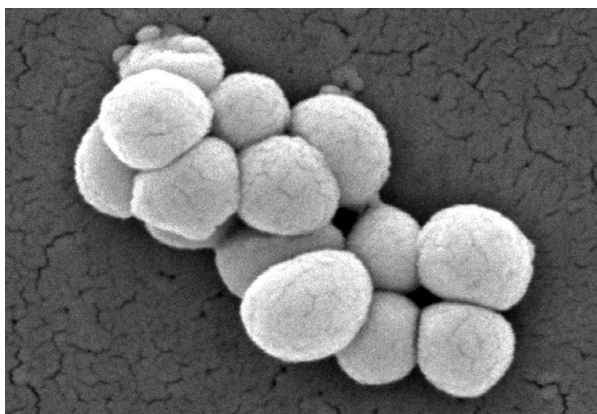
Do rodu *Bacillus* řadíme zástupce, kteří jsou aerobní nebo fakultativně anaerobní a kataláza pozitivní. Jsou to grampozitivní bakterie ve tvaru tyčinek, jejichž uspořádání je do dvojic nebo řetězců. Jejich optimální teplota růstu se pohybuje mezi 15 – 55 °C. Tento rod tvoří kulaté nebo oválné spory, přítomny na rostlinách, v půdě a ve vodě. V KP může dojít ke kontaminaci díky tvořícím se sporám, tato kontaminace může způsobit zdravotní komplikace nebo může vést ke znehodnocení výrobků díky produkci proteolytických enzymů. Některé druhy bacilů řadíme mezi běžné producenty antibiotik. Nejznámější zástupce rodu *Bacillus* je *Bacillus subtilis*, bakterie tyčinkového tvaru, které se pohybují díky bičíkům. Jsou hojně přítomny v půdě, z které mohou být snadno izolovány. Mohou přežít nepříznivé podmínky díky tomu, že jsou schopné tvořit endospory [70, 78].



Obr. 22 *Bacillus subtilis* [79].

5.1.5 Rod *Micrococcus*

Rod *Micrococcus* řadíme do skupiny nepatogenních, grampozitivních nepohyblivých koků a zahrnuje přísně aerobní zástupce, tvořící balíčky nebo shluky buněk. Všichni zástupci tohoto rodu jsou mírně halotolerantní, tzv. jejich růst je možný v přítomnosti 5% NaCl. Primární výskyt je lokalizován na kůži savců, dále i na solených potravinách, kde mohou tvořit žluté, oranžové až intenzivně růžové kolonie. Výskytem na kůži jsou charakterizovány především zástupci *Micrococcus luteus*, *M. varians*, *M. kristinae*, *M. sedentarius*. Rod *Micrococcus* obsahuje barviva, která chrání buňku před účinky UV záření. Optimální teplota růstu je 37 °C. *Micrococcus luteus* může velmi zřídka způsobit u lidí se sníženou imunitou kožní infekce nebo chronické kožní infekce [80, 82].



Obr. 23 *Micrococcus luteus* [81].

5.1.6 Rod *Clostridium*

Rod *Clostridium* patří mezi grampozitivní bakterie, z velké části saprofytické. Jsou citlivé ke kyslíku a mají schopnost vytvořit klidové stádium během nepříznivých podmínek, tzv. spory. Některé druhy díky menší citlivosti ke kyslíku jsou schopny pomalého

rozmnožování. Klostridia ve vegetativní formě jsou tyčinkovitého, protáhlého rovného tvaru. V kosmetickém průmyslu představují zdravotní riziko původci plynaté sněti *Cl. perfringens*, který roste při teplotě 43 – 47 °C, průkazný růst je i při 12 °C a 50 °C. Růst je zastaven při teplotě nižší než -12 °C [60,82, 83].



Obr. 24 *Clostridium perfringens* [84].

5.2 Kvasinky

Kvasinky se řadí mezi jednobuněčné eukaryotické mikroorganismy. Jejich růstové schopnosti jsou prokázány zejména ve vlhkém a teplém prostředí, tzn. jejich optimální růstovou teplotou je rozmezí 25 – 30 °C. Kvasinky jsou převážně využívány v potravinářském průmyslu, druh *Saccharomyces cerevisiae*. V kosmetickém průmyslu tvoří riziko kvasinky rodu *Candida*, které mohou kontaminovat oční kosmetiku a také způsobují některé druhy kožních onemocnění [60, 68].

5.3 Plísňe

Plísňe stejně jako kvasinky mají typ buňky eukaryotní. Jedná se o mikroskopické houby (*Fungi*), jež rostou při dostatečné vlhkosti prostředí. Optimální teplota růstu se pohybuje od 20 do 30 °C. Růst plísni je nejvýhodnější při kyselém pH, ke svému životu nepotřebují kyslík. V kosmetice jsou významné rody *Penicillium* a *Aspergillus*. Rod *Penicillium* působí problémy i při kontaminaci potravin. Plísňe rodu *Aspergillus* jsou toxinogenní, nejznámější zástupci jsou *Aspergillus fumigatus* a *A. flavus*, produkují aflatoxiny, které následně vstřebávají do kůže, a tím pádem můžeme pozorovat změny na kůži. Netoxinogenní plísňe mohou být původci infekčního onemocnění nehtů, nohou, vnějšího zvukovodu a očí [60, 68].

6 METODY STANOVENÍ ANTIMIKROBIÁLNÍ AKTIVITY ROSTLINNÝCH OLEJŮ

Růst mikroorganismů může být potlačen antimikrobiálními látkami. Ty většinou působí více či méně specificky pouze na určitou skupinu mikroorganismů. Citlivost konkrétního mikroorganismu na určitou látku je tedy třeba stanovit a prokázat pomocí testů citlivosti. Metody ke zjištění citlivosti k antimikrobiální aktivitě můžeme obecně rozdělit do dvou základních skupin – kvalitativní a kvantitativní, tj. difúzní metody a diluční metody [85].

6.1 Kvalitativní metody

Mezi kvalitativní metody patří především difúzní testy, které jsou využívány především pro svoji jednoduchost a rychlost stanovení. Tyto metody stanovují semikvantitativní citlivost bakterií k antimikrobiálním látkám [85].

6.1.1 Difúzní metody

Tyto metody jsou prováděny na pevných půdách, na povrch těchto půd se naočkují MO a látka, která se testuje je pipetou dávkována na papírový disk nebo do jamek, které jsou ve ztuhlé půdě vytvořeny za pomoci sterilních nástrojů. Principem následujících metod je radiální difúze testovaných antimikrobiálních látek ze zdroje do okolního média. Je-li MO na testovanou antimikrobiální látku citlivý, dochází k vytvoření “inhibiční zóny“ v okolí disku nebo jamky, tzn. zóny bez viditelného nárůstu buněk MO. K provedení testů tohoto typu se většinou využívá speciální kultivačních půd, které umožňují dobrou difúzi a srovnatelnost výsledků mezi různými pracovišti. Příkladem takové půdy je Mueller-Hinton agar, který se pro tyto účely používá nejčastěji [85, 86].

6.1.1.1 Disková difúzní metoda

Tato metoda slouží pro stanovení citlivosti nebo rezistence vybraného mikrobiálního kmene k testovaným antimikrobiálním látkám. Metoda je založena na naočkování agarové plotny standardizovanou suspenzí testovaného MO. Difúze antimikrobiální látky probíhá přes napuštěné papírové disky s inhibiční látkou vložené na agarovou půdu Petriho misek. Petriho misky by měly obsahovat maximálně šest papírových disků, aby byl po ukončení kultivace vhodně odečten průměr inhibiční zóny kolem každého disku. Na velikost inhibiční zóny má vliv druh MO, jeho citlivost k antimikrobiálním látkám, ale také i vlastnost půdy a rychlost růstu MO [86].

6.1.1.2 Agarová difúzní metoda

Metoda je podobná jako disková difúzní metoda, rozdílnost je v tom, že antimikrobiální látka se aplikuje do připravených vyhloubených jamek v agarové plotně na Petriho misce [85].

6.1.1.3 Epsilon test citlivosti k antimikrobiálním látkám (E-test)

Tato metoda je relativně nová a je podobná difúzní agarové metodě. Při tomto provedení jsou zde kombinovány principy difúzních i dilučních metod pro stanovení citlivosti k testovaným antimikrobiálním látkám pro dané MO. Výhodou od difúzní diskové metody je stanovení nejen inhibiční zóny, ale i stanovení hodnoty MIC (minimální inhibiční koncentrace). Tento test je vhodný pro malé množství vzorků nikoli pro rutinní použití, jelikož se jedná o finančně náročnou a pracnou metodu. Tak jako u difúzní diskové metody je princip obdobný, tzn. na povrch agarové plotny jsou nanášeny standardní inokula MO a následně jsou na tyto plotny aplikovány E-testové proužky, které mají na svých koncích obsaženy gradient antimikrobiální látky, která proniká do média a ovlivňuje tak růst sledovaného MO. Do agaru tak difundují antimikrobiální látky, čímž vytváří kontinuální koncentrační gradient podél stran E-proužků. Následně po uplynutí inkubační doby se vytvoří elipsoidní inhibiční zóna. Odečítání hodnot MIC probíhá v místě, kde okraj zóny protne okraj proužku s hranicí růstu bakterií [86].

6.2 Kvantitativní metody

Kvantitativními metodami se stanoví množství antimikrobiální látky účinné pro inhibici růstu MO tzv. MIC hodnota (minimální inhibiční koncentrace), nebo pro jejich usmrcení tzv. minimální baktericidní koncentraci (MBC).

6.2.1 Diluční metody

Cílem těchto metod je stanovení stupně rezistence testovaných MO k antimikrobiálním látkám. Podstatou metod je přidávek přesného množství testované antimikrobiální látky do kultivačního média, tyto látky lze přidávat jak do pevných, tak i do tekutých pŮd. Média se zaočkují danými bakteriemi a po jejich kultivaci se hodnotí nárůst, respektive absence nárůstu bakterií. Tyto metody jsou pro práci s rostlinnými oleji problematické, z důvodu špatné rozpustnosti olejů ve vodných médiích [85, 86].

6.2.1.1 Agarová diluční metoda

Jedná se o stanovení MIC na agarových půdách, obsahující danou koncentraci antimikrobiálních látek. Pro testované kmeny MO se využívají Mueller-Hinton agary, kdy na jedné plotně se současně může testovat až 36 různých kmenů MO. Antimikrobiální látka je přidána přímo do agaru a na povrch takto připravené plotny jsou očkované mikroorganismy. Kvantitativního stanovení je dosaženo přípravou agarů o různých koncentracích antimikrobiální látky. Touto metodou lze vyšetřit vysoký počet kmenů za srovnatelných podmínek. Po uplynutí doby inkubace se odečítá nejnižší koncentrace testované antimikrobiální látky, jež inhibovala růst kmene MO [85, 86].

6.2.1.2 Bujónová diluční metoda

Testování probíhá ve zkumavkách, kdy testovaný objem je větší než 1 ml, existují i modifikace této metody s využitím mikrotitračních destiček a následného měření zákalu spektrofotometrem. K tomuto testování je využíváno růstové médium Mueller-Hintonova bujónu s upravenou koncentrací hořčíku a vápníku. Antimikrobiální látka je v příslušné koncentraci přidávána přímo do tekutého kultivačního média, které je následně zaočkováno mikroorganizmem. Hodnocen je růst mikroorganismů v takto připravených půdách. Růst lze hodnotit buď měřením zákalu, nebo kultivačně vyočkováním na pevné půdy s následným stanovením počtu buněk. Stejně tak jako u předchozích metod se po uplynutí doby inkubace hodnotí MIC nejnižší koncentrace, při které nevznikl viditelný zákal, tzn., nebyl nalezen nárůst MO [85, 86].

7 CÍL PRÁCE

Cíle této diplomové práce byly stanoveny následovně:

1. Charakterizovat rostlinné oleje, shrnout jejich složení, výskyt a využití
2. Zaměřit se na atypické rostlinné oleje, které se vyskytují v kosmetických prostředcích
3. Vymezení kosmetických prostředků a jejich klasifikace
4. Charakterizovat mikroorganismy kontaminující kosmetické prostředky
5. V praktické části zhodnotit antimikrobiální aktivitu vybraných rostlinných olejů pomocí difúzních metod
6. Získané výsledky zpracovat a zformulovat závěry práce.

II. PRAKTICKÁ ČÁST

8 EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST

8.1 Použité vzorky

Pro testování byly použity tyto rostlinné oleje od firmy Nobilis Tilia:

- Avokádový olej (*Persea americana*) – jednodruhový olej lisovaný za studena (100 ml)
- Brusnicový olej (*Vaccinium macrocarpon*) – jednodruhový jedlý olej lisovaný za studena (20 ml)
- BIO Brutnákový olej (*Borago officinalis*) – jednodruhový jedlý olej lisovaný za studena (100 ml)
- Hořčičný olej (*Sinapis alba*) – jednodruhový jedlý olej lisovaný za studena (100 ml)
- BIO Kokosový olej (*Cocos nucifera*) – vícedruhový jedlý olej s přídavkem BIO slunečnicového oleje lisovaný za studena (100 ml)
- BIO Konopný olej (*Cannabis sativa*) – jednodruhový jedlý olej lisovaný za studena (100 ml)
- Lněný olej (*Linum usitatissimum*) – jednodruhový jedlý olej lisovaný za studena (100 ml)
- Mokřadkový olej (*Limnanthes alba*) – 100% čistý přírodní olej extrahovaný (20 ml)
- Nimbový olej (*Azadirachta indica*) – 100% čistý přírodní olej lisovaný za studena s antimikrobiálními účinky (200 ml)
- Tamanu olej (*Calophyllum inophyllum*) – 100% čistý přírodní olej lisovaný za studena s antimikrobiálními účinky

8.2 Použité nástroje a pomůcky

- Digitální váhy OHAUS
- Autokláv Varioklav H+P

- Bio Vortex V1 (Heidolph REAX top)
- Digitální Denzilometr
- Biologický termostat Memmert
- Vodní lázeň Memmert
- Automatická pipeta (přípevněná na láhev)
- Automatické fixní mikropipety
- Laboratorní sklo – kádinky, hokejky, láhve na fyziologický roztok a přípravu médií, zkumavky, Petriho misky
- Plastové pomůcky – lžičky, zkumavky, špičky pro automatické mikropipety, Eppendorf, sterilní slámky (brčka)
- Sterilní papírové disky, pinzeta, očkovací klička, běžné laboratorní vybavení

8.3 Kultivační média

Pro praktickou část diplomové práce byly připraveny dvě kultivační média. Jejich příprava je popsána v dalších podkapitolách.

8.3.1 Mueller-Hinton agar

Testy antimikrobiální aktivity byly provedeny na půdě Mueller-Hinton agar, která byla připravena následovně:

Na digitálních vahách naváženo 15,2 g směsi a doplněno destilovanou vodou do objemu 400 ml. Takto bylo připraveno 5 lahví, obsah lahví byl důkladně promíchán a následně proběhla sterilizace v autoklávu (20 min při 132 °C). Po sterilizaci byl tekutý agar rozlit do sterilních Petriho misek a ponechán při laboratorní teplotě do zatuhnutí. V níže uvedené tabulce je uvedeno složení Mueller-Hinton agaru (400 ml).

Tab. 1 Složení Mueller-Hinton agaru

Složka	Hmotnost [g]
Hovězí masová infuze	120
Kyselý hydrolyzát kaseinu	7
Škrob	0,6
Agar	6,8
Destilovaná voda	400

8.3.2 Sabouraud dextrosebujón

Médium bylo zvoleno pro kultivaci plísní a kvasinek. Na digitálních vahách bylo odváženo 12 g směsi Sabouraud dextrose broth a doplněno destilovanou vodou (400 ml). Takto připravený roztok byl důkladně promíchán a pipetován pomocí automatické pipety do zkumavek po 6 ml. Zkumavky s tekutým médiem byly sterilizovány v autoklávu 20 min při 132 °C. V níže uvedené tabulce je uvedeno složení Sabouraud dextrose bujónu (400 ml).

Tab. 2 Složení Sabouraud dextrose broth bujónu

Složka	Hmotnost [g]
Pepton (z masa a kaseinu-1:1)	4
Dextrosa	8
Destilovaná voda	400

8.4 Použité mikroorganismy

Pro sledování antimikrobiální aktivity vybraných rostlinných olejů byly použity následující bakterie, kvasinky a plísně, jež byly získané z České Sbirky Mikroorganismů (CCM).

G+ bakterie:

- *Bacillus cereus* CCM 2010
- *Bacillus sphaericus* CCM 1615
- *Bacillus subtilis* CCM 2216
- *Bacillus subtilis* CCM 4062
- *Staphylococcus aureus* CCM 3953

G- bakterie:

- *Serratia marcescens* CCM 303
- *Pseudomonas fluorescens* CCM 2798
- *Pseudomonas aeruginosa* CCM 3955
- *Salmonella enterica subsp. enterica ser. Typhimurium* CCM 4420
- *Escherichia coli* CCM 3954

Kvasinky a plísně:

Kmeny kvasinek a plísní byly získány ze sbírky Ústavu inženýrství životního prostředí Fakulty technologické Univerzity Tomáše Bati ve Zlíně.

- *Rhizopus*
- *Penicillium roqueforti*
- *Aspergillus niger*
- *Alternaria brassicicola*
- *Trichothecium roseum*
- *Penicillium camamberti*
- *Saccharomyces cerevisiae*
- *Candida sp.*

Uvedené bakteriální kmeny a kmeny kvasinek a plísní byly uchovávány na masopeptonovém agaru (MPA) nebo Sabouraud Dextrose agaru na Petriho miskách v lednici při teplotě 4 ± 2 °C.

8.5 Dekontaminace a likvidace materiálu

Materiál, který byl použit pro praktickou část této diplomové práce, byl zlikvidován. Kultivační média byla z Petriho misek vybrána do předem označených igelitových pytlů a dekontaminována Chloraminem. Následně prázdné Petriho misky byly omyty jarovou vodou a ponořeny do destilované vody. Takto umyté misky poté byly sterilizovány ve sterilizátoru.

9 METODIKA

V experimentální části této diplomové práce byly použity dvě kvalitativní metody, tj. disková difúzní a agarová difúzní metoda. Při první metodě byly testovány antimikrobiální účinky rostlinných olejů na papírových discích ve třech koncentracích. U druhé metody byly antimikrobiální účinky testovány na stejných olejích pomocí agarové difúzní metody. Antimikrobiální účinky byly testovány proti výše uvedeným bakteriálním a plísňovým kmenům.

9.1 Příprava suspenze mikroorganismů

Testované MO byly odebrány ze zásobních kultur sterilní kličkou a přeneseny do připravených plastových zkumavek, ve kterých byl připraven sterilní fyziologický roztok. Suspenze byla promíchána na Vortexu a následně byl měřen její zákal pomocí Densilometru. Suspenze byly upraveny na hodnotu zákalu 1 McFarlandovy zákalové stupnice.

9.2 Příprava rostlinných olejů

Pro testování byly připraveny tři koncentrace rostlinných olejů, poměr oleje a etanolu v jednotlivých vzorcích je uveden v *Tab. 3*.

Tab. 3 Poměr rostlinného oleje a etanolu

Pipetovaný objem oleje [μ l]	Pipetovaný objem etanolu [μ l]	Poměr oleje:etanolu
500	0	neředěný
500	500	1:1
250	750	1:3

9.3 Sledování účinku rostlinných olejů na vybrané mikroorganismy diskovou difúzní metodou

Petriho misky s Mueller-Hinton agarem, byly řádně popsány a připraveny pro inokulaci MO. Z připravených suspenzí mikroorganismů bylo pipetováno 100 μ l na Mueller-Hinton agar, následně bylo toto inokulum sterilní (vyžíhanou) hokejkou rovnoměrně rozetřeno po

celém povrchu půdy. Na povrch připraveného média bylo sterilní pinzetou vloženo 6 sterilních papírových disků přiměřeně daleko od sebe. Na tyto disky bylo následně aplikováno automatickou pipetou 5 μ l rostlinného oleje ve třech různých koncentracích. Bylo testováno 10 bakteriálních kmenů, 8 kmenů mikroskopických hub a 10 rostlinných olejů ve třech koncentracích (viz *Tab. 3*). Pro kontrolu byl na disky pipetován i etanol a sterilní destilovaná voda. Disky se sterilní destilovanou vodou sloužily jako negativní kontrolní test a nebyl zde předpokládán vznik inhibiční zóny. Vzhledem k tomu, že oleje byly ředěny v etanolu, byl testován i vliv samotného etanolu na růst mikroorganismů.

Takto připravené naočkované misky byly kultivovány v termostatu při optimální teplotě růstu pro daný mikroorganismus po dobu 24 hodin. Kultivace plísni byla prodloužena na 72 hodin z důvodu pomalejšího růstu. Po kultivaci bylo provedeno odečtení průměru inhibičních zón a takto naměřené hodnoty byly zaznamenány a vyhodnoceny graficky.

9.4 Sledování účinku rostlinných olejů na vybrané mikroorganismy agarovou difúzní metodou

Připravený Mueller-Hinton agar byl pro tuto metodu rozehrán ve vodní lázni a následně zchlazen na 50 °C. Ve sterilních válcích bylo odměřeno 15 ml agarů, které byly nality do sterilní Petriho misky, a k tomuto objemu byl pipetován 1 ml suspenze testovaných mikroorganismů, která byla připravena postupem popsáním výše. Obsah Petriho misky byl promíchán se suspenzí a ponechán po dobu 30 minut na zatuhnutí. Po uplynutí této doby byly do agarů pomocí krátkých sterilních brček dělány jamky, do kterých bylo pipetováno 5 μ l rostlinných olejů. Touto metodou bylo testováno 6 rostlinných olejů ve třech koncentracích a 10 bakteriálních kmenů. Kultivace Petriho misek s připravenými testovanými oleji proběhla v termostatu při teplotě příslušné pro daný mikroorganismus po dobu 24 hod. Kultivace plísni byla prodloužena na 72 hodin z důvodu pomalejšího růstu. Následně bylo provedeno odečtení průměrů inhibičních zón a takto naměřené hodnoty byly zaznamenány a vyhodnoceny graficky.

10 VÝSLEDKY A DISKUZE

V praktické části této práce bylo použito 10 rostlinných olejů od firmy Nobilis Tilia a byla testována jejich případná antimikrobiální aktivita pomocí dvou variant difúzní metody. U těchto rostlinných olejů se podle dostupné literatury mohou objevit antimikrobiální účinky na bakterie, plísně i kvasinky.

Testováno bylo 10 kmenů bakterií a 8 kmenů mikroskopických hub, z toho 6 kmenů plísní a 2 kmeny kvasinek.

V dalším textu jsou uvedeny výsledky získané difúzními metodami stanovení citlivosti mikroorganismů k antimikrobiálním látkám. Výsledky jsou uvedeny zvlášť pro jednotlivé metody a mikroorganismy, v závěru kapitoly jsou srovnány dvě varianty difúzní metody mezi sebou.

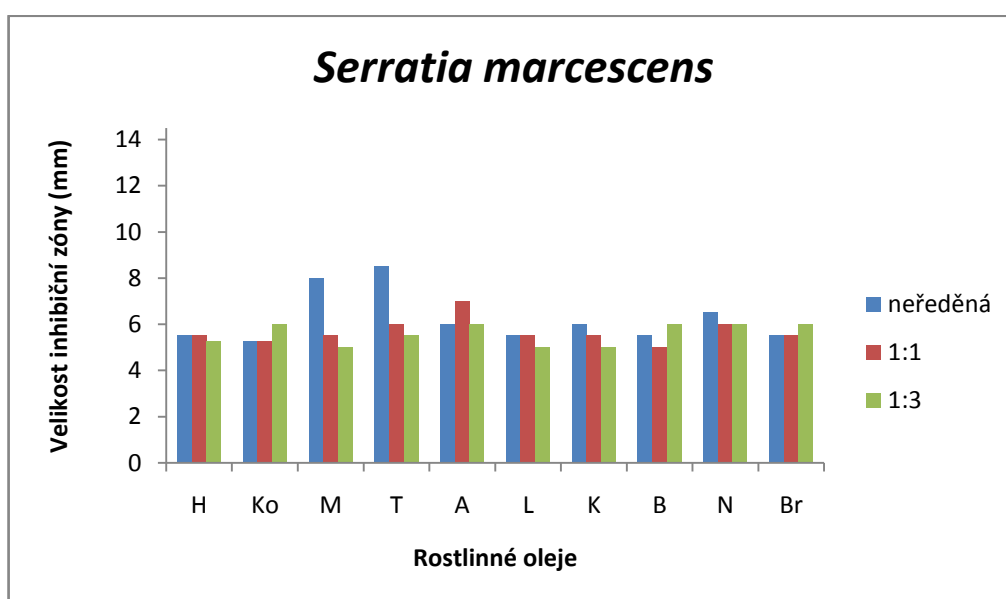
10.1 Difúzní disková metoda – vliv rostlinných olejů na bakterie

Při diskové difúzní metodě byly testované bakterie očkované na povrch připravených ploten s Mueller-Hinton agarem, a jednotlivé oleje byly nanášeny na sterilní papírové disky. Pokud byl daný mikroorganismus na testovaný olej citlivý, došlo kolem příslušného disku k vytvoření projasněné zóny, kde mikroorganismus neroste. Tato zóna se označuje jako zóna inhibice a její průměr je tím větší čím je mikroorganismus citlivější na látku nanesenou na disk. Antimikrobiální aktivita oleje byla tedy vyjádřena jako průměr radiální inhibiční zóny. Pro přesnost výsledků byla tato metoda prováděna pro každý vzorek ve třech opakování. Získané hodnoty byly zprůměrovány a graficky znázorněny v jednotlivých podkapitolách pro určitý bakteriální kmen.

10.1.1 Vliv rostlinných olejů na bakterii *Serratia marcescens*

Výsledky získané pro gramnegativní bakterii *Serratia marcescens* jsou graficky znázorněny na *Obr. 25*. Velikost samotného disku je 5 mm, o inhibici růstu tedy lze hovořit až po překročení této hranice hodnoty velikosti inhibiční zóny. Z grafu je patrné, že většina testovaných olejů neměla na růst *Serratia marcescens* větší inhibiční účinek. Velikost naměřených zón většiny vzorků sotva přesáhla hranici 5 mm. Výraznější inhibiční zóny měly pouze dva oleje, a to olej mokřadkový a olej tamanu. U těchto olejů klesal

inhibiční účinek s větším ředěním oleje. U neředěného tamanu oleje byla velikost inhibiční zóny 8,5 mm a u neředěného mokřadkového oleje to bylo 8 mm. U některých olejů byla inhibiční zóna větší u vyšších ředění. Příkladem takového oleje je olej kokosový a brutnákový v BIO kvalitě. Tento jev by mohl být vysvětlen buď vyšší koncentrací etanolu, který sám o sobě může mít na mikroorganismy inhibiční vliv, nebo lepší difúzí ředěnějšího vzorku do agaru. Nimbový olej při působení na *Serratia marcescens* vykazoval nejvyšší inhibiční zónu v neředěné koncentraci, v ředěních 1:1 a 1:3 byla stejná inhibiční zóna. Avokádový olej vykazoval v ředění 1:1 nejvyšší inhibiční zónu. U brusnicového oleje byla nejvyšší inhibiční zóna u ředění 1:3.



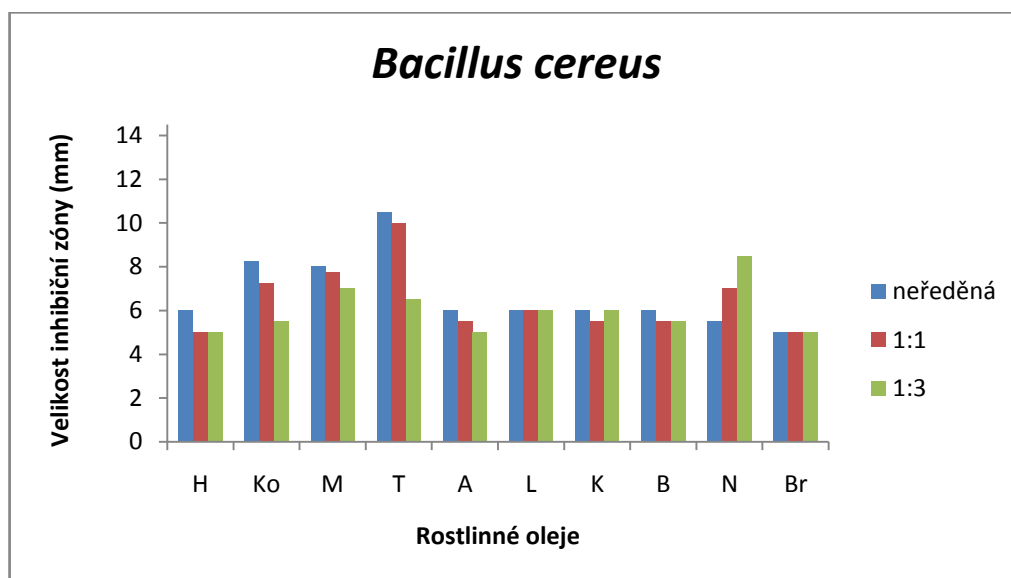
Obr. 25 Vliv rostlinných olejů na růst *Serratia marcescens* v uvedených třech koncentracích oleje: etanolu

Pozn. H – hořčičný olej, Ko – BIO kokosový olej, M – mokřadkový olej, T – tamanu olej, A – avokádový olej, L – lněný olej, K – BIO konopný olej, B – brusnicový olej, N – nimbový olej, Br – BIO brutnákový olej.

10.1.2 Vliv rostlinných olejů na bakterii *Bacillus cereus*

Na Obr. 26 je graficky znázorněna velikost inhibiční zóny u jednotlivých rostlinných olejů. *Bacillus cereus* byl k testovaným olejům citlivější než gramnegativní bakterie *Serratia marcescens*. Jediný rostlinný olej, pro který nebyla zjištěna žádná inhibice růstu bakterie *Bacillus cereus*, byl BIO brutnákový olej. Většina testovaných rostlinných olejů měla klesající schopnost inhibice růstu *Bacillus cereus* rostoucí koncentrací etanolu, toto se

týkalo především hořčičného, BIO kokosového, mokřadkového, tamanu a avokádového oleje. Nejvyšší inhibiční účinek měl opět tamanu olej, s inhibiční zónou o velikosti 10,5 mm pro neředěný olej, menší velikosti zón byly naměřeny pro vyšší ředění oleje. Naopak u nimbového oleje se zvyšující se koncentrací etanolu zvyšovala velikost inhibiční zóny. Konopný olej nevykazoval žádný antimikrobiální účinek ke grampozitivní bakterii *Bacillus cereus*. Nejvíce na tuto bakterii působil olej tamanu, olej kokosový, mokřadkový a nimbový.



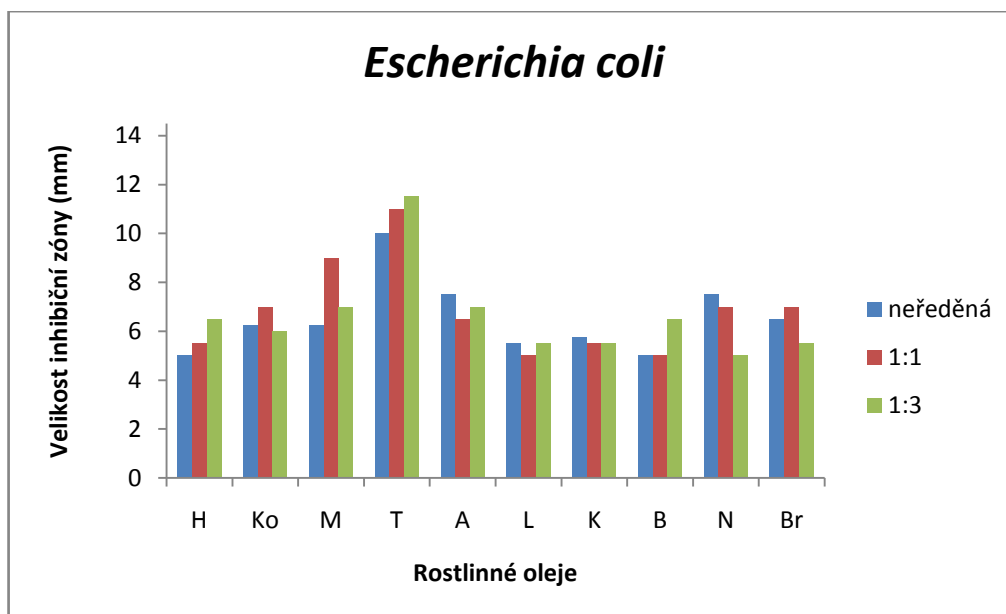
Obr. 26 Vliv rostlinných olejů na růst *Bacillus cereus* v uvedených třech koncentracích oleje:etanolu

Pozn. H – hořčičný olej, Ko – BIO kokosový olej, M – mokřadkový olej, T – tamanu olej, A – avokádový olej, L – lněný olej, K – BIO konopný olej, B – brusnicový olej, N – nimbový olej, Br – BIO brutnákový olej.

10.1.3 Vliv rostlinných olejů na bakterii *Escherichia coli*

Obecně lze říci, že citlivost *Escherichia coli* k rostlinným olejům byla vyšší než u další gramnegativní bakterie *Serratia marcescens*. Antimikrobiální účinek 10 testovaných olejů proti *Escherichia coli* byl nejvíce zřetelný u tamanu oleje, při ředění 1:3 byla velikost inhibiční zóny 11,5 mm u nezředěného oleje byla naměřena velikost 10 mm. Inhibiční účinek tohoto oleje byl tedy vyšší při vyšší koncentraci etanolu. Druhý olej, který vykazoval obdobný trend jako tamanu olej, byl hořčičný olej. U nimbového oleje inhibice naopak klesala s vyšším ředěním oleje v etanolu. Výsledky lze shrnout konstatováním, že

testovaná bakterie byla citlivá k působení tamanu oleje, mokřadkového oleje, o něco méně pak k působení oleje konopného, nimbového a brutnákového. Výše uvedené výsledky jsou graficky znázorněny na Obr. 27. Citlivost *E. coli* k rostlinným olejům je známa i z literatury, kde je dobře popsán inhibiční zejména účinek konopného oleje na tuto bakterii. Jednotlivé studie se však liší v účinných koncentracích oleje. Rozdíl v citlivosti však může být zaznamenán i v rámci různých kmenů stejného druhu [87, 88, 89].



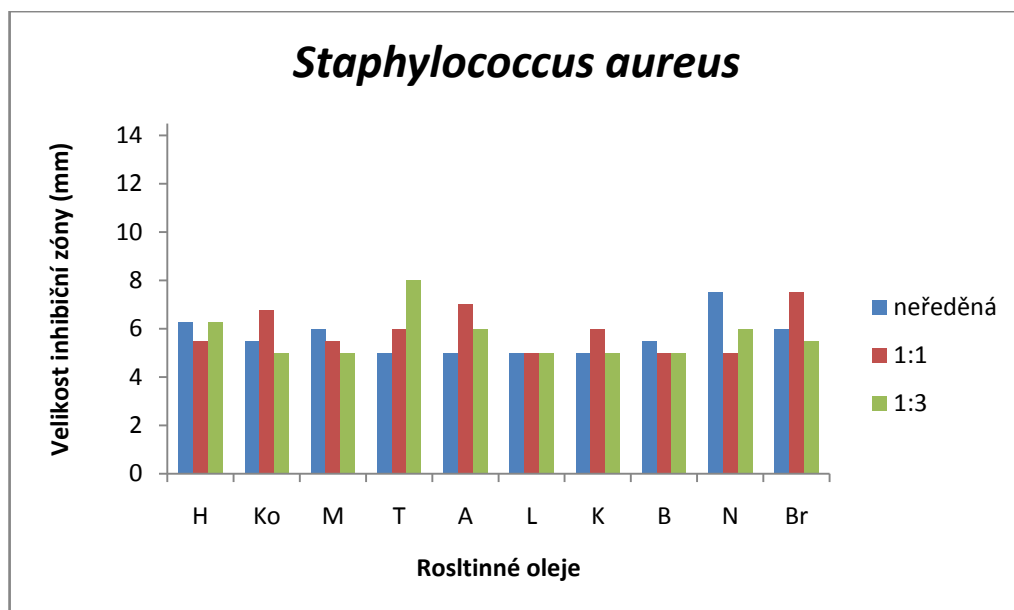
Obr. 27 Vliv rostlinných olejů na růst *Escherichia coli* v uvedených třech koncentracích oleje:etanolu

Pozn. H – hořčičný olej, Ko – BIO kokosový olej, M – mokřadkový olej, T – tamanu olej, A – avokádový olej, L – lněný olej, K – BIO konopný olej, B – brusnicový olej, N – nimbový olej, Br – BIO brutnákový olej.

10.1.4 Vliv rostlinných olejů na bakterii *Staphylococcus aureus*

Výsledky získané pro grampozitivní bakterii *Staphylococcus aureus* jsou znázorněny na Obr. 28. Inhibiční účinek deseti testovaných rostlinných olejů proti grampozitivní bakterii *Staphylococcus aureus* byl velice malý nebo žádný. Žádná inhibice růstu nebyla zaznamenána u lněného oleje, podobně tomu bylo i u konopného oleje v BIO kvalitě a oleje brusnicového. Největší inhibiční velikost se projevila u nezředěného nimbového oleje, inhibiční zóna měla velikost 7,5 mm, stejná velikost inhibiční zóny byla odečtena u BIO brutnákového oleje při ředění 1:1. Avokádový olej v koncentraci 1:1 měl velikost

inhibiční zóny 7 mm, která při ředění 1:3 byla nižší (6 mm), nejmenší hodnota se objevila u nezředěného oleje (5 mm), odpovídá velikosti papírového disku, tedy nedošlo k inhibici. Největší inhibiční zóna byla zřejmá u tamanu oleje, kdy její velikost dosahovala nejvyšších hodnot při ředění oleje etanolem 1:3, její hodnota činila 8 mm. V literatuře existují zmínky o citlivosti *S. aureus* ke konopnému oleji, avšak v této studii byla účinnost tohoto oleje velice nízká [87].



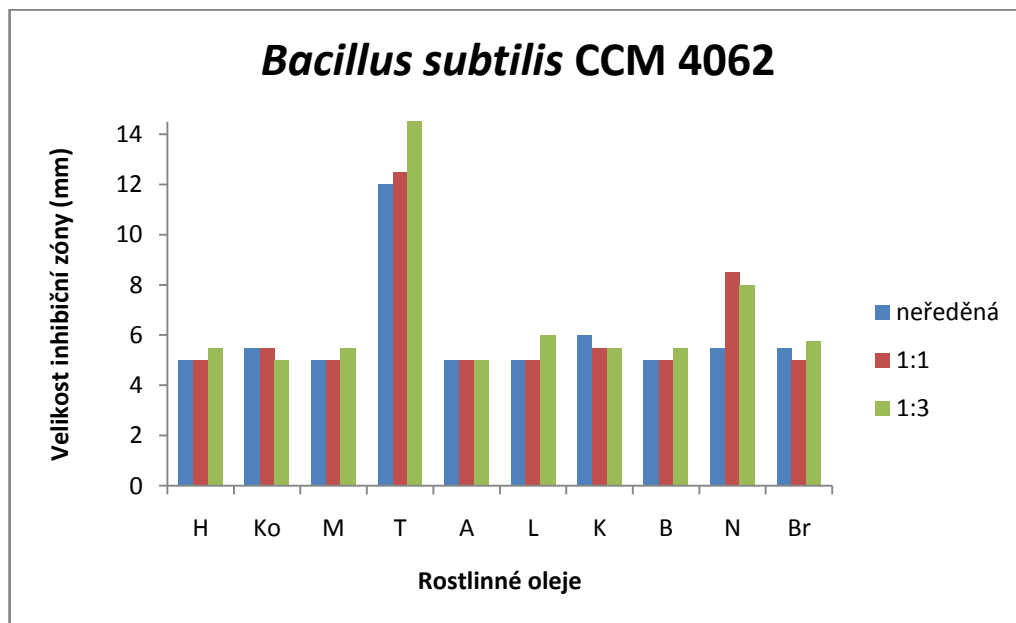
Obr. 28 Vliv rostlinných olejů na růst *Staphylococcus aureus* v uvedených třech koncentracích oleje:etanolu

Pozn. H – hořčičný olej, Ko – BIO kokosový olej, M – mokřadkový olej, T – tamanu olej, A – avokádový olej, L – lněný olej, K – BIO konopný olej, B – brusnicový olej, N – nimbový olej, Br – BIO brutnákový olej.

10.1.5 Vliv rostlinných olejů na bakterii *Bacillus subtilis* CCM 4062

Vliv deseti testovaných rostlinných olejů na grampozitivní bakterii *Bacillus subtilis* je znázorněn na Obr. 29. Z obrázku je zřejmé, že rostlinné oleje neměly výrazný antimikrobiální účinek k této vybrané bakterii. Výjimkou jsou dva testované oleje, olej tamanu a olej nimbový. Nimbový olej měl účinky slabší, nejvyšší naměřená velikost inhibiční zóny byla při ředění 1:1 (8,5 mm). Při koncentraci 1:3 byla naměřená velikost zóny 8 mm. Nejvýraznějším olejem, který potlačoval růst grampozitivní bakterie *Bacillus subtilis* CCM 4062, byl tamanu olej, u kterého byla nejvyšší hodnota naměřena u ředění

oleje etanolem 1:3, kde byla naměřena inhibiční zóna o velikosti 16 mm. S nižším ředěním vzorku klesal i antimikrobiální účinek, u ředění 1:1 se velikost zóny pohybovala na 12,5 mm a neředěný olej vykazoval inhibici 12 mm.



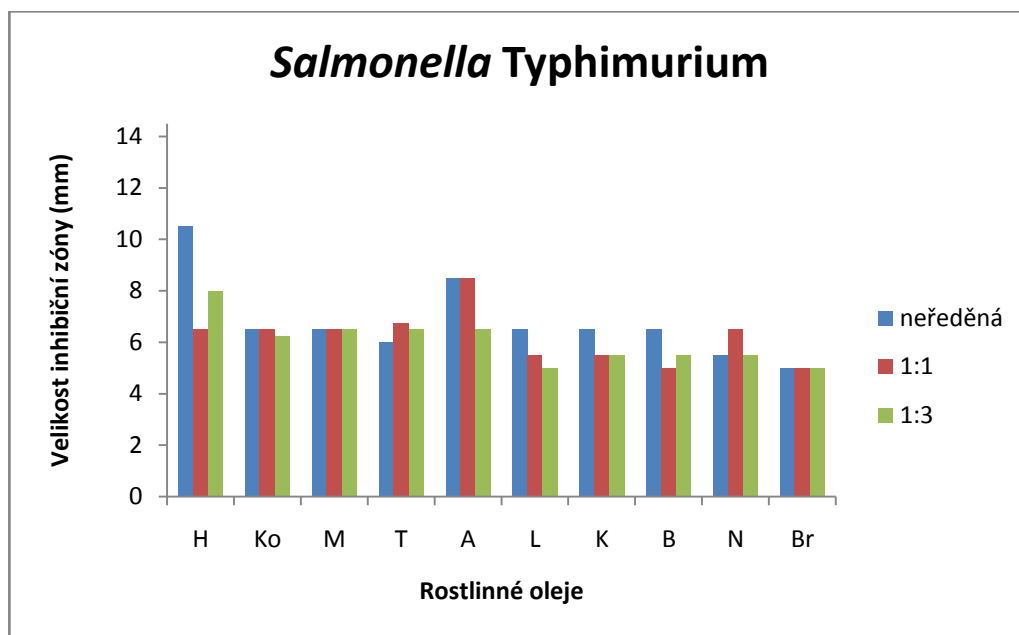
Obr. 29 Vliv rostlinných olejů na růst *Bacillus subtilis* CCM4062 v uvedených třech koncentracích oleje:etanolu

Pozn. H – hořčičný olej, Ko – BIO kokosový olej, M – mokřadkový olej, T – tamanu olej, A – avokádový olej, L – lněný olej, K – BIO konopný olej, B – brusnicový olej, N – nimbový olej, Br – BIO brutnákový olej.

10.1.6 Vliv rostlinných olejů na bakterii *Salmonella* Typhimurium

Z Obr. 30 lze vyčíst, že antimikrobiální účinky deseti testovaných olejů na gramnegativní bakterii *Salmonella* Typhimurium nebyly příliš výrazné. U BIO kokosového oleje byly naměřeny hodnoty velikosti inhibiční zóny u nezředěného oleje a u ředění 1:1 6,5 mm, mírně snížená hodnota u ředění 1:3, zde byla hodnota změřena na 6,25 mm. Velikost inhibiční zóny u mokřadkového oleje vůči *Salmonella* Typhimurium byla stejná ve všech třech ředění, a to 6 mm. U ostatních bakteriálních kmenů byl tamanu olej velice aktivní v jejich potlačení růstu, u *Salmonella* Typhimurium jeho inhibiční účinnost není příliš výrazná. Nejúčinnější byl vůči tomuto mikroorganizmu hořčičný olej, u jehož nejvyšší testované koncentrace byla naměřena inhibiční zóna 10,5 mm. U většiny testovaných bakterií tento olej inhibiční účinky neměl. Druhý nejaktivnější rostlinný olej z testovaných

olejů byl avokádový, který měl inhibiční zónu o velikosti 8,5 mm při nezředěné formě oleje a u ředění 1:1.

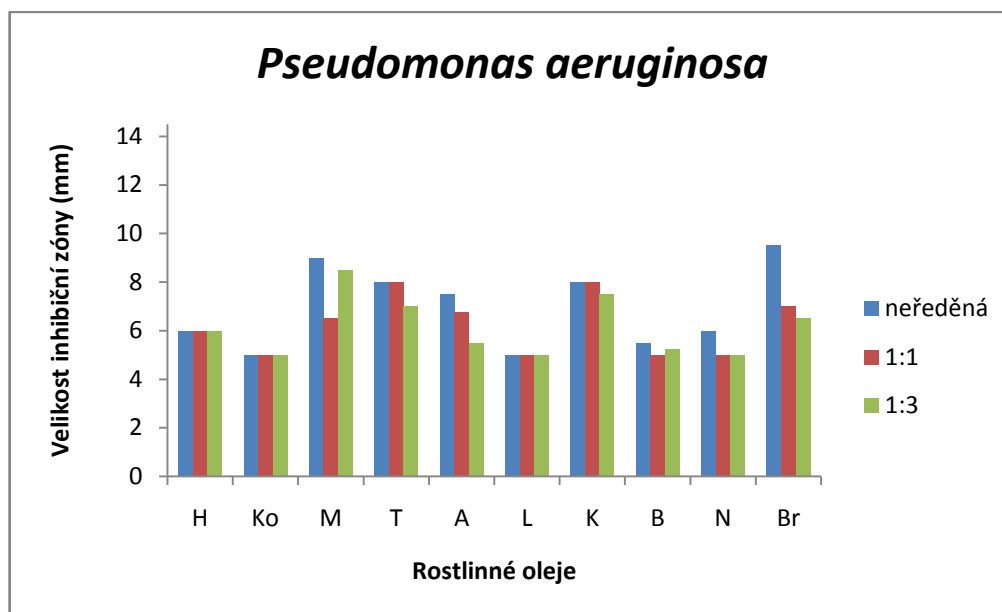


Obr. 30 Vliv rostlinných olejů na růst *Salmonella typhimurium* v uvedených třech koncentracích oleje:etanolu

Pozn. H – hořčičný olej, Ko – BIO kokosový olej, M – mokřadkový olej, T – tamanu olej, A – avokádový olej, L – lněný olej, K – BIO konopný olej, B – brusnicový olej, N – nimbový olej, Br – BIO brutnákový olej.

10.1.7 Vliv rostlinných olejů na bakterii *Pseudomonas aeruginosa*

Z Obr. 31 lze vyčíst, že minimální antimikrobiální působení proti gramnegativní bakterii *Pseudomonas aeruginosa* měl BIO kokosový olej spolu s olejem lněným. Brusnicový olej nevykazoval téměř žádné inhibiční vlastnosti vůči bakterii *Pseudomonas aeruginosa* při všech uvedených koncentracích. Jak je z obrázku zřejmé, antimikrobiální účinky spojené se vznikem výraznějších inhibičních zón měl olej tamanu, mokřadkový, avokádový, konopný a brutnákový olej. Mokřadkový olej měl v neředěné formě výrazné inhibiční účinky a inhibiční zónu o velikosti 9 mm, srovnatelné účinky měl olej konopný. Z testovaných rostlinných olejů měl největší inhibiční zónu olej BIO brutnákový, kdy jeho inhibice měla klesající tendenci s přibývajícím etanolem.



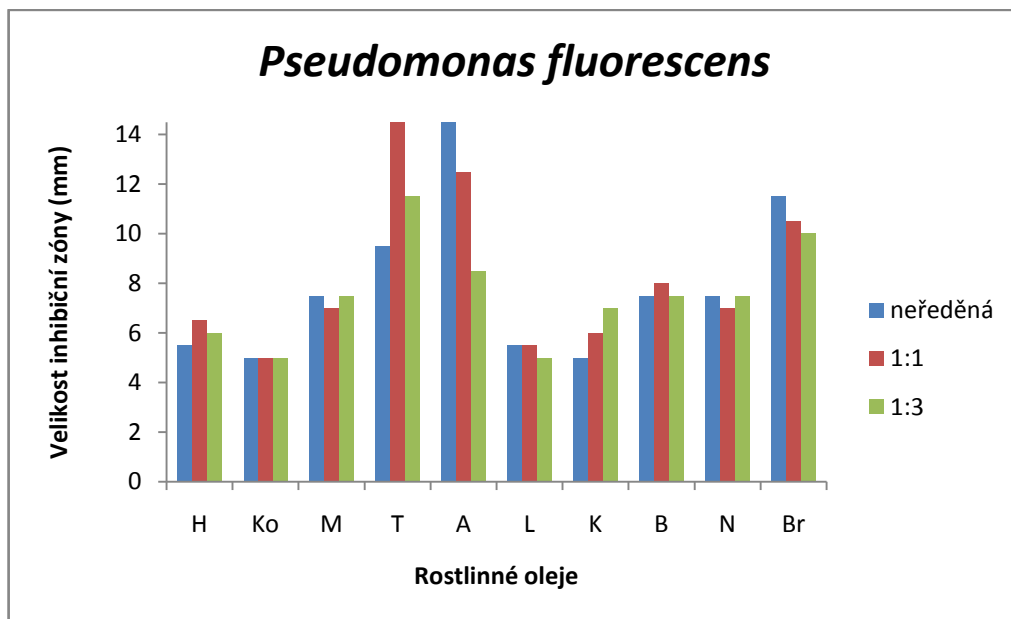
Obr. 31 Vliv rostlinných olejů na růst *Pseudomonas aeruginosa* v uvedených třech koncentracích oleje:etanolu

Pozn. H – hořčičný olej, Ko – BIO kokosový olej, M – mokřadkový olej, T – tamanu olej, A – avokádový olej, L – lněný olej, K – BIO konopný olej, B – brusnicový olej, N – nimbový olej, Br – BIO brutnákový olej.

10.1.8 Vliv rostlinných olejů na bakterii *Pseudomonas fluorescens*

Antimikrobiální účinky testovaných olejů proti gramnegativní bakterii *Pseudomonas fluorescens* jsou viditelné v Obr. 32. *Pseudomonas fluorescens* byla k testovaným olejům výrazně citlivější než druhý testovaný druh rodu *Pseudomonas*, *Pseudomonas aeruginosa*. Na oba druhy však působily inhibičně oleje tamanu, avokádový a brutnákový. Naměřené inhibiční zóny byly ale významně větší u *P. fluorescens*. Příkladem může být působení tamanu oleje na pseudomonády. U *P. aeruginosa* byla inhibiční zóna pro neředěný olej tamanu 8 mm, u *P. fluorescens* byla při použití stejného neředěného oleje naměřena zóna o velikosti 14,5 mm. Zdá se tedy, že citlivost ke konkrétnímu oleji se může lišit i u zástupců stejného rodu a tato vlastnost je tedy druhově závislá.

Kromě zmiňovaných neaktivnějších olejů působily inhibiči růstu *P. fluorescens* i olej mokřadkový, konopný, brusnicový a nimbový. *P. fluorescens* byla ze všech gramnegativních bakterií nejcitlivějším druhem.



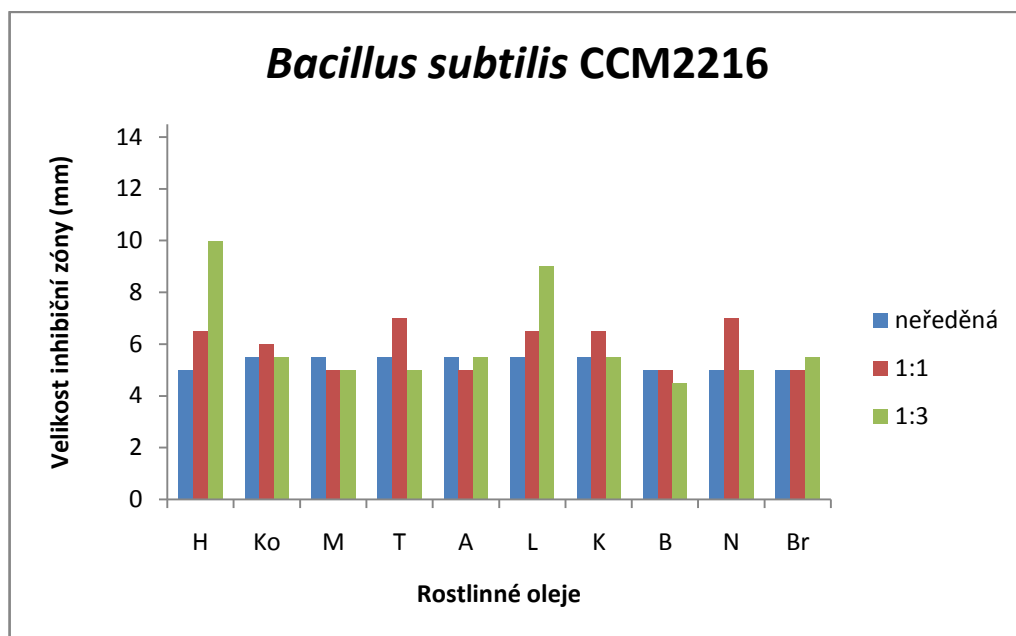
Obr. 32 Vliv rostlinných olejů na růst *Pseudomonas fluorescens* v uvedených třech koncentracích oleje:etanolu

Pozn. H – hořčičný olej, Ko – BIO kokosový olej, M – mokřadkový olej, T – tamanu olej, A – avokádový olej, L – lněný olej, K – BIO konopný olej, B – brusnicový olej, N – nimbový olej, Br – BIO brutnákový olej.

10.1.9 Vliv rostlinných olejů na bakterii *Bacillus subtilis* CCM 2216

Naměřené hodnoty testovaných olejů a jejich inhibiční vlastnosti proti grampozitivní bakterii *Bacillus subtilis* CCM 2216 nejsou příliš výrazné. Větší inhibiční zóny byly zaznamenány pouze u hořčičného a lněného oleje, v obou případech při nejvyšším ředění. Menší inhibiční účinky měl ještě olej tamanu, konopný a nimbový. Ostatní oleje neměly inhibiční účinek na růst této bakterie. Podobné účinky byly zaznamenány i pro další kmen stejného druhu, který byl v této práci testován. Na *B. subtilis* CCM 4062 působil inhibičně olej tamanu a olej nimbový.

Obecně lze oba kmeny druhu *B. subtilis* zařadit mezi bakterie, které jsou vůči působení rostlinných olejů poměrně odolné.

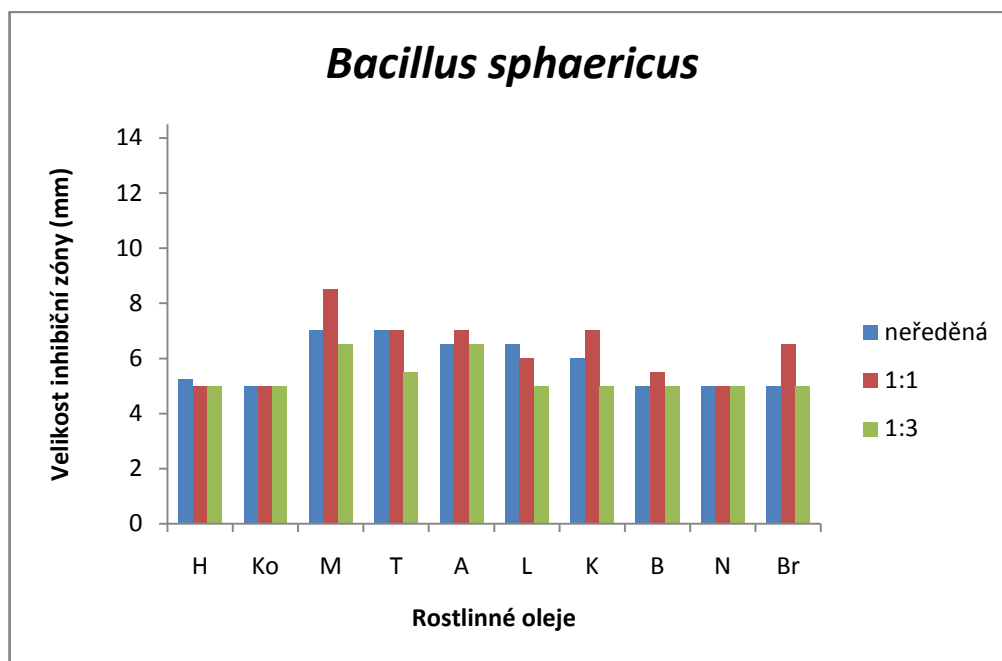


Obr. 33 Vliv rostlinných olejů na růst *Bacillus subtilis* CCM2216 v uvedených třech koncentracích oleje:etanolu

Pozn. H – hořčičný olej, Ko – BIO kokosový olej, M – mokřadkový olej, T – tamanu olej, A – avokádový olej, L – lněný olej, K – BIO konopný olej, B – brusnicový olej, N – nimbový olej, Br – BIO brutnákový olej.

10.1.10 Vliv rostlinných olejů na bakterii *Bacillus sphaericus*

Dalším druhem rodu *Bacillus*, který byl testován, je druh *B. sphaericus*. Výsledky získané pro tento druh jsou znázorněny na Obr. 34. Podobně jako u dalších zástupců rodu *Bacillus* i druh *Bacillus sphaericus* lze označit za poměrně odolný vůči působení rostlinných olejů. Na všechny druhy bacilů působil inhibičně tamanu olej, i když míra citlivosti se u jednotlivých zástupců rodu lišila. S výjimkou *B. sphaericus* byly všechny ostatní druhy bacilů citlivé i na olej nimbový. Nejvyšší antimikrobiální účinek na *B. sphaericus* měl mokřadkový olej, u kterého byla v ředění 1:1 naměřena zóna o velikosti 8,5 mm.



Obr. 34 Vliv rostlinných olejů na růst *Bacillus sphaericus* v uvedených třech koncentracích oleje:etanolu

Pozn. H – hořčičný olej, Ko – BIO kokosový olej, M – mokřadkový olej, T – tamanu olej, A – avokádový olej, L – lněný olej, K – BIO konopný olej, B – brusnicový olej, N – nimbový olej, Br – BIO brutnákový olej.

10.2 Agarová difúzní metoda – vliv rostlinných olejů na bakterie

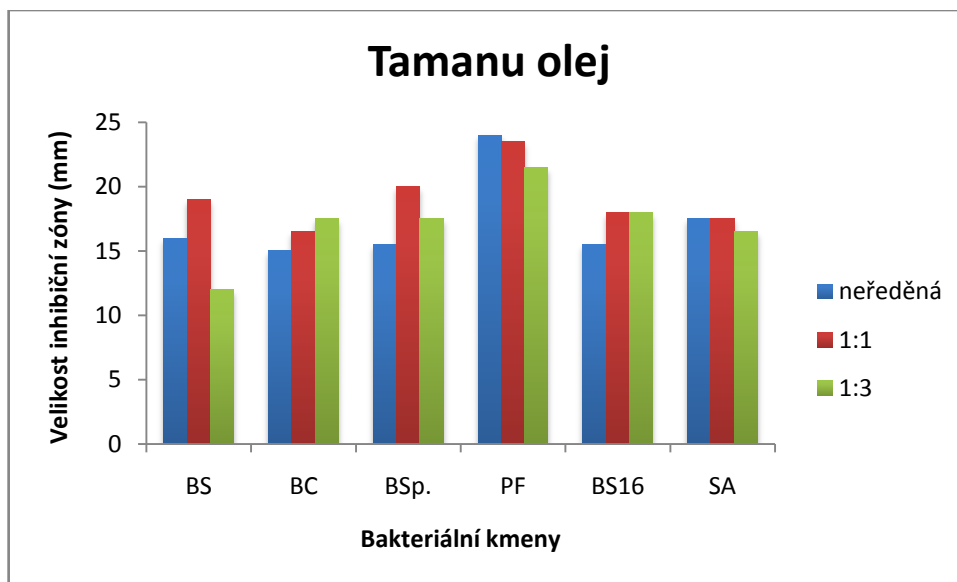
V předkládané práci byla pro stanovení citlivosti k rostlinným olejům testována i další varianta difúzní metody, a to metoda agarová. Při této metodě jsou mikroorganismy přidávány přímo do agarů a oleje jsou dávkovány do jamek vyhloubených do zaočkovaného agarů. Shodně s diskovou difúzní metodou i zde bylo testováno 10 bakteriálních kmenů spolu s 10 rostlinnými oleji. Každý olej byl testován paralelně na třech miskách a naměřené hodnoty byly zprůměrovány.

Obecně lze říci, že i při diskové metodě byly zjištěny poměrně malé inhibiční zóny, které ve většině případů nedosahovaly ani velikosti 10 mm (z toho 5 mm představuje průměr samotného disku). Větší zóny byly zjištěny spíše výjimečně a týkaly se pouze malého počtu testovaných olejů. Při agarové difúzní metodě byly inhibiční zóny ještě menší velikosti, prakticky s jedinou výjimkou. Jediný olej, který vykazoval výraznější inhibiční schopnost proti testovaným bakteriálním kmenům, byl tamanu olej. Proto byly graficky

zpracovány pouze pro tamanu olej, u ostatních olejů lze říci, že nedošlo k žádné nebo velice malé inhibici daných mikroorganismů.

10.2.1 Vliv testovaných bakteriálních kmenů na tamanu olej

Na Obr. 35 jsou uvedeny naměřené hodnoty u určitých bakteriálních kmenů. Při testování rostlinných olejů agarovou difúzní metodou proti testovaným bakteriálním kmenům byl nejvíce aktivní tamanu olej, jež vykazoval výrazné inhibiční vlastnosti. Největší naměřené hodnoty inhibice byly zpozorovány proti gramnegativní bakterii *Pseudomonas fluorescens*, jež měly klesající tendenci s přibývajícím koncentrací etanolu v oleji. Hodnota nezředěného oleje dosahovala 24 mm. U dalších bakteriálních kmenů nezředěná forma oleje nevykazovala výrazný průměr inhibiční zóny oproti jiným koncentracím u dané bakterie. U bakterie *Bacillus cereus* měl tamanu olej vzrůstající tendenci inhibice při zvyšujícím se ředění. Další bakteriální kmeny, které nejsou v níže uvedeném obrázku, měly nulové hodnoty inhibice, jednalo se o bakterie *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella Typhimurium*, *Serratia marcescens*.



Obr. 35 Vliv určitých bakteriálních kmenů na tamanu olej v uvedených třech koncentracích oleje:etanolu

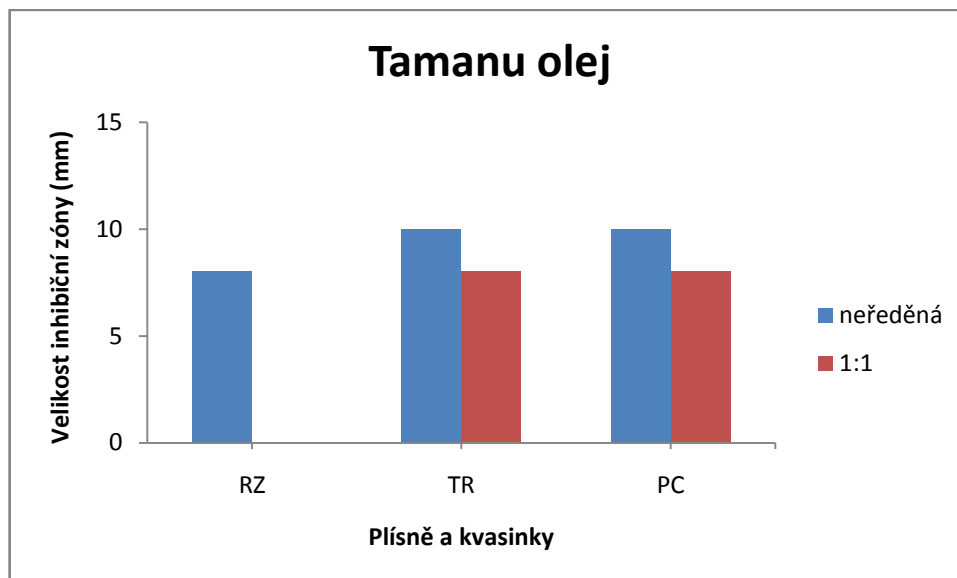
Pozn. BS – *Bacillus subtilis*, BC – *Bacillus cereus*, BSp. – *Bacillus sphaericus*, PF – *Pseudomonas fluorescens*, BS16 – *Bacillus subtilis* CCM2216, SA – *Staphylococcus aureus*

10.3 Agarová difúzní metoda – vliv rostlinných olejů na kvasinky a plísně

Při této metodě bylo použito 10 rostlinných olejů a 6 plísňových a kvasinkových kultur, takto testované oleje proti výše jmenovaným kulturám byly vyhodnoceny do grafů v níže uvedených podkapitolách. V této podkapitole je graficky znázorněn pouze jeden olej, který byl antimikrobiálně nejaktivnější. U BIO brutnákového a mokřadkového oleje při neředěné formě byla vyhodnocena inhibiční zóna o velikosti 8 mm proti *Penicillium camemberti*. Růst *Trichothecium roseum* byl potlačen BIO konopným a nimbovým olejem v nulovém ředění.

10.3.1 Vliv plísňových a kvasinkových kmenů na tamanu olej

Při testování plísňových a kvasinkových kmenů na výše jmenované oleje byly vyhodnoceny následující údaje. V *Obr. 36* je uvedeno antimikrobiální působení tamanu oleje v neředěné a ředěné (1:1) formě k určitým plísňovým a kvasinkovým kmenům. Byla naměřena největší inhibiční zóna u neředěné formy oleje v podobě 10 mm proti *Trichothecium roseum* a *Penicillium camemberti*, u *Rhizopus* byla naměřena hodnota 8 mm. Při ředění etanolem 1:1 byly vyhodnoceny výsledky pouze u *Trichothecium roseum* a *Penicillium camemberti*, opět byla velikost inhibiční zóny stejná (8 mm), u zbylé kultury byla hodnota inhibice nulová. Ředění 1:3 není vyhodnoceno z důvodu nulové antimikrobiální aktivity daného oleje. Zbylé testované plísňové a kvasinkové kultury měly výsledky s nulovými inhibičními zónami, proto nejsou graficky vyobrazeny. Tyto nulové hodnoty mohly být způsobeny sekundární kontaminací nebo antimikrobiální neschopností testovaných rostlinných olejů proti vybraným plísňovým a kvasinkovým kulturám.



Obr. 36 Vliv určitých plísňových a kvasinkových kmenů na tamanu olej v uvedených koncentracích

Pozn. RZ – *Rhizopus*, TR – *Trichothecium roseum*, PC – *Penicillium camemberti*

ZÁVĚR

V předkládané práci byl sledován vliv deseti netradičních rostlinných olejů na růst mikroorganismů - bakterií, kvasinek i plísní. Ke sledování případné antimikrobiální aktivity olejů byly zvoleny dvě difúzní metody, a to metoda disková a agarová.

Výsledky lze shrnout následovně:

- Bakterie byly vůči testovaným olejům citlivější než eukaryotické mikroskopické houby.
- Vůči testovaným olejům byly citlivé jak grampozitivní, tak i gramnegativní bakterie. Mezi odolnější druhy lze zařadit například grampozitivní bakterii *Staphylococcus aureus*. Mezi druhy citlivé pak naopak gramnegativní bakterii *Pseudomonas fluorescens*.
- Citlivost k určitému oleji se může lišit i u bakterií stejného rodu, jako tomu bylo u různých testovaných druhů rodu *Bacillus*
- Mezi oleje s nejvýraznější antimikrobiální aktivitou lze zařadit především tamanu olej, nimbový olej, mokřadkový olej a olej brutnákový.
- Antimikrobiální aktivita tamanu oleje byla potvrzena oběma použitými difúzními metodami.
- Nejúčinnějším olejem u skupiny mikroskopických hub byl olej tamanu

Závěrem lze říci, že výsledky získané pro některé z testovaných rostlinných olejů, lze považovat za slibné a bylo by vhodné je dále studovat. Antimikrobiální aktivita těchto olejů by mohla napomoci zvýšení mikrobiologické bezpečnosti a kvality kosmetických prostředků, ve kterých by tyto oleje představovaly jednu z ingrediencí.

SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY

- 1 - VELÍŠEK, J. *Chemie potravin*. 2. vyd. Tábor: Osis, 2002. Kapitola 3, Tuky a jiné lipidy, s. 73 – 162. ISBN 80-86659-00-3.
- 2 - LECERF, J-M. *Lipides et santé*. Cahiers de Nutrition et de Diététique. 2007, Issue 1. volume 42. Pages 24-33.
- 3 - VOET, D.; VOETOVÁ, J. G. *Biochemie*. 1. vyd. Praha: Victoria publishing, 1995. 1325 s. ISBN 80-85605-44-9.
- 4 - ALTEROVÁ, L. *Technologie tuků*. Praha: SNTL, 1986. 452 s. ISBN 04-833-79.
- 5 - DAVÍDEK, J., JANÍČEK, G., POKORNÝ, J. *Chemie potravin*. 1. vyd. Praha: SNTL, 1983. s. 54 – 85. ISBN 04-815-83.
- 6 - Fediol. *Oil Characteristics*, [online]. [cit. 2015-01-15]. Dostupné z WWW:<http://www.fediol.eu/web/oil+characteristics/1011306087/list1187970078/f1.html>.
- 7 - *Chemie tuků a jiných lipidů. Distanční text*. UTB ve Zlíně. 2008. 40 s.
- 8 - NOVÁK, F. *Úvod do klinické biochemie*. 1. vyd. Praha: Karolinum, 2002. 341 s. ISBN 80-246-0366-7.
- 9 - MURRAY, R. K, et al. *Harperova Biochemie*. 2. vyd. Jinočany: H&H, 1998. 872 s. ISBN 80-85787-38-5.
- 10 - *Laboratoř v oboru I. Distanční text*. UTB ve Zlíně. 2007. 51 s.
- 11 - *Biochemie. Distanční text*. UTB ve Zlíně. 2007. 141 s.
- 12 - *Cvičení z technologie potravin III. Distanční text*. UTB ve Zlíně. 2007. 59 s.
- 13 - *Tuky a oleje pro potravinářské využití. Distanční text*. UTB ve Zlíně. 2008. 129 s.
- 14 - Zvyšování exkluzivity výuky technologie tuků, kosmetiky a detergentů. *Analýza a hodnocení tuků a kosmetických přípravků*. [online]. [cit. 2015-01-03]. Dostupné z WWW:<http://kosmetika.ft.utb.cz/EntityDisplayTab.aspx?id=15>.
- 15 - HRABĚ, J., ROP. O., HOZA, I. *Technologie výroby a potravin rostlinného původu*. 1. vyd. Zlín: UTB, 2006. ISBN 80-7318-372-2.
- 16 - *Fyzikální a chemické vlastnosti lipidů. Distanční text*. UTB ve Zlíně. 2008. 54 s.
- 17 - KUČEROVÁ, J., PELIKÁN, M., HŘIVNA, L. *Zpracování a zbožiznalství rostlinných produktů*. Brno: Mendelova zemědělská a lesnická univerzita v Brně, 2007. 125 s. ISBN 978-80-7375-088-6.

- 18 - KADLEC, P., et al. *Technologie potravin. Co byste měli vědět o výrobě potravin?* Ostrava: KeyPublishing s.r.o., 2009. 534 s. ISBN 978-80-7418-060-6.
- 19 - DOBEŠ, M., HEJLOVÁ, Š. *Hygiena a technologie tuků a potravinářských polotovarů*. Brno: Vysoká škola veterinární v Brně, 1988. 175 s.
- 20 - Vyhláška MZe č. 329/1997 Sb., kterou se stanoví požadavky pro škrob a výrobky ze škrobu, luštěniny a olejnatá semena.
- 21 - KUSMIREK, Jan. *Tekuté slunce: rostlinné oleje pro masáže, aromaterapii, kosmetiku a výživu*. 1. vyd. Praha: One Woman Press, 2005, 213 s. ISBN 80-86356-41-8.
- 22 - WHITNEY, E., RADY ROLFES, S. *Understanding nutrition*. Twelfth edition. Belmont: Wadsworth Cengage Learning, 2008. The Lipids: Triglycerides, Phospholipids and Sterols, p. 133–171. ISBN-13 0-538-49412-3.
- 23 - DOSTÁL, J., et al. *Lékařská chemie II: Bioorganická chemie*. Brno: Masarykova univerzita, 2007. 166 s. ISBN 978–80–210–3789–2.
- 24 - BALOG CATALDO, C., DeBRUYNE, L. K., NOSS WHITNEY E. *Nutrition and Diet Therapy: Principles and Practise*. Sixth edition. Belmont: Thomson Wadsworth, 2002. 912 p. ISBN 0-534-57691-5.
- 25 - Vyhláška MZeč. 77/2003 Sb. ze dne 6. března 2003., kterou se stanoví požadavky pro mléko a mléčné výrobky, mražené krémy a jedlé tuky a oleje.[online]. [cit. 2015-01-03]. Dostupné z WWW: <http://www.szpi.gov.cz/docDetail.aspx?docid=1006126&nid=11816&hl=77/2003>.
- 26 - STAUFFER E, *Chemical And Physical Properties of Vegetable and Animal Oils*, [online]. [cit. 2015-01-02]. Dostupné z WWW: <http://www.swissforensic.org/publications/aafsvor/assets/aafsvor1.pdf>.
- 27 - VELÍŠEK, J. *Chemie potravin 1*. Rozš. a přeprac. 3. vyd. Tábor: OSSIS, 2009, 623 s. ISBN 978-80-86659-17-6.
- 28 - ULLRICH, L. *Chemia a technógia jedlých tukov a olejov*. 1. vyd. Bratislava: Slovenské vydavateľstvo technickej literatury, 1963, 436 s.
- 29 - KADLEC, P., MELZOCH, K. a VOLDŘICH, M. *Přehled tradičních potravinářských výrob: technologie potravin*. 1. vyd. Ostrava: Key Publishing, 2012, 569 s. ISBN 978-80-7418-145-0.

- 30 - *Vegetable Oil and Hydrogenated Vegetable Oil*, [online]. [cit. 2015-01-02]. Dostupné z WWW: <http://cosmeticsinfo.org/ingredient/vegetable-oil-and-hydrogenated-vegetable-oil>.
- 31 - BELITZ, H. D., GROSCHE W., SCHIEBERLE, P. *Food Chemistry*: 4th revised and extended Edition, Springer-Verlag, Berlin Heidelberg, 2009, ISBN 978-3-540-69933-0.
- 32 - MURRAY B., *The Role of Fats and Oils in Cosmetics*, Research Laboratories, Chesebrough. Pond's Inc. Trumbull, Connecticut 06611, [online]. [cit. 2015-01-02]. Dostupné z WWW: <http://link.springer.com/article/10.1007%2FBF02582522>.
- 33 - KADLEC, P. *Technologie potravin II*. 1. vyd. Praha: Vysoká škola chemicko-technologická, 2002, 236 s. ISBN 80-7080-510-2.
- 34 - Botanical. *Borage*. [online]. [cit. 2015-01-02]. Dostupné z WWW: <http://www.botanical.com/botanical/mgmh/b/borage66.html>.
- 35 - Cosmetics info. *Borago Officinalis Seed Oil*. [online]. [cit. 2015-01-02]. Dostupné z WWW: <http://cosmeticsinfo.org/ingredient/borago-officinalis-seed-oil>.
- 36 - GUNSTONE, F. D. *Nutraceutical Science and Technology. Minor Specialty Oils*. CRC Press, 2006. s. 584. ISBN 9781420015911.
- 37 - *Borago officinalis*. [online]. [cit. 2015-02-09]. z WWW: http://www.qbgdocents.org/Bloom_board/Bloom_Board_April_11/images/fullsize/19_Borago_officinalis.JPG.
- 38 - ARORA, R., et al. 34 *Indian Herbal Medicine for Cancer Therapy and Prevention*. Bioactive Foods and Extracts, p. 519.
- 39 - *Cannabis sativa*. [online]. [cit. 2015-04-11]. Dostupné z WWW: http://it.wikipedia.org/wiki/Cannabis_sativa#/media/File:Illustration_Cannabis_sativa0.jpg.
- 40 - Konopný olej. [online]. [cit. 2015-04-11]. Dostupné z WWW: <http://www.konopny-olej.eu/clanky/17-konopny-olej-jeho-vyroba-a-vyuziti>.
- 41 - KORIEM, K. M. M. *Review on pharmacological and toxicological effects of oleum azadirachti oil*. Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine. 2013; 3(10): p. 834-840.

- 42 - *Azadirachta indica*. [online]. [cit. 2015-03-06]. Dostupné z WWW: <http://www.pestnet.org/SummariesofMessages/Pests/PestManagement/Chemicalcontrol/Plantderivedproducts/Neem/Neem,Azadirachtaindica,ID,Samoa.aspx>.
- 43 - FARJANA, A., ZERIN, N., KABIR, S. *Antimicrobial activity of medicinal plant leaf extracts against pathogenic bacteria*. Asian Pacific Journal of Tropical Disease. 2014; 4(Suppl 2): p920-923.
- 44 - THANIGAIVEL, S., et. al. *In vivo and in vitro antimicrobial activity of Azadirachta indica (Lin) against Citrobacter freundii isolated from naturally infected Tilapia (Oreochromis mossambicus)*. Aquaculture 437. 2015.p.252–255.
- 45 - KILHAM, C. *Oil of Tamanu (Calophyllum Inophyllum)*. Woodland Hills: Total Health Communications, Jan, 2003 ProQuest Central; ProQuest Hospital Collection; ProQuest Science Journals.
- 46 - *Calophyllum inophyllum*. [online]. [cit. 2015-05-06]. Dostupné z WWW: <http://www.balinghasai-farms.info/2013/01/13/calophyllum-inophyllum>.
- 47 - WARIADI, N. *Antibacterial Effects Of The American Cranberry (Vaccinium Macrocarpon)*. University of Wisconsin, Madison, 2003, 210 p.
- 48 - *Vaccinium Macrocarpon (Cranberry) Seed*. [online]. [cit. 2015-05-06]. Dostupné z WWW: <http://www.alsagarden.com/en/311-vaccinium-macrocarpon-cranberry-canneberge-graines.html#sthash.0Vpi2OdX.dpbs>.
- 49 - REFUGIO, M., JERZ R. *Phytochemical analysis of avocado seeds*. (*Persea americana* Mill., c.v. Hass), Cuvillier Verlag, 2007, 316 p.
- 50 - *Persea Americana*. [online]. [cit. 2015-05-06]. Dostupné z WWW: <http://www.phytomania.com/autreavocatokcomp.jpg>.
- 51 - KULDEEP S. LABANA, SURINDER S. BANGA, SHASHI K. BANGA. *Breeding Oilseed Brassicas. Monographs on Theoretical and Applied Genetics – Svazek 19*, Springer Science & Business Media, 2013, 253 p.
- 52 - *Sinapis alba seed*. [online]. [cit. 2015-05-06]. Dostupné z WWW: <http://saskmustard.ca/consumer/mustard/index.html>.
- 53 - *Cocos nucifera*. [online]. [cit. 2015-05-06]. Dostupné z WWW: <http://ishmag.com/?p=3722>.

- 54 - GUPTA, A., MALAV, A., et. al. *Coconut Oil: The Healthiest Oil On Earth*. International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research (2010), Vol. 1, Issue 6
- 55 - KHANNA, R. K. *Biochemical Aspects of Crop Improvement*. CRC Press, 1990, 472 p.
- 56 - *Linum usitatissimum seed*. [online]. [cit. 2015-05-06]. Dostupné z WWW: http://www.123rf.com/photo_10193138_linum-usitatissimum-beautiful-flowers-and-seeds-on-white.html
- 57 - *Limnanthes alba seed*. [online]. [cit. 2015-05-06]. Dostupné z WWW: <http://francescapaige.com/products/ingredients/>
- 58 - Nařízení Evropského parlamentu a Rady (ES) č. 1223/2009 ze dne 30. listopadu 2009 o kosmetických přípravcích [online]. [cit. 2015-01-02]. Dostupné z WWW: <http://eur-lex.europa.eu/legal-content/CS/ALL/?uri=CELEX:32009R1223>.
- 59 - Zvyšování exkluzivity výuky technologie tuků, kosmetiky a detergentů. *Kosmetické přísady a prostředky* [online]. [cit. 2015-01-02]. Dostupné z WWW: <http://kosmetika.ft.utb.cz/EntityDisplayTab.aspx?id=24>.
- 60 - Zvyšování exkluzivity výuky technologie tuků, kosmetiky a detergentů. *Kosmetika a kosmetologie*. [online]. [cit. 2015-01-02]. Dostupné z WWW: <http://kosmetika.ft.utb.cz/EntityDisplayTab.aspx?id=19>.
- 61 - FERŤTEKOVÁ, V. a kol. *Kosmetika v teorii a praxi*. 4. vyd. Praha: Maxdorf, 2005, 341 s. ISBN 80-7345-046-1.
- 62 - VACÍK, J. a kol. *Chemieobecná a anorganická pro gymnázia*. Praha: SPN – pedagogické nakladatelství, 1995, 245 s. ISBN 80-85937-00.
- 63 - Zvyšování exkluzivity výuky technologie tuků, kosmetiky a detergentů. *Kosmetická technologie*. [online]. [cit. 2015-01-02]. Dostupné z WWW: <http://kosmetika.ft.utb.cz/EntityDisplayTab.aspx?id=16>.
- 64 - Saloos naturcosmetic. [online]. [cit. 2015-01-02]. Dostupné z WWW: <http://www.saloos.cz/>.
- 65 - Nobilis Tilia. [online]. [cit. 2015-01-02]. Dostupné z WWW: <http://www.nobilis.cz/>.
- 66 - SynCare. [online]. [cit. 2015-01-02]. Dostupné z WWW: <https://www.syncare.cz/>

- 67 - *Obecná mikrobiologie I – Struktura mikrobiální buňky. Distanční text 2007.* UTB ve Zlíně. 2007.103 s.
- 68 - Zvyšování exkluzivity výuky technologie tuků, kosmetiky a detergentů. *Mikrobiologie potravin a kosmetiky.* [online]. [cit. 2015-01-02]. Dostupné z WWW: <http://kosmetika.ft.utb.cz/EntityDisplayTab.aspx?id=7>.
- 69 - BEDNAŘÍKOVÁ, A. *Konzervační přísady v kosmetice.* Zlín 2013. Bakalářská práce. Univerzita Tomáše Bati. Vedoucí práce RNDr. Iva Hauerlandová, PhD.
- 70 - SEDLÁČEK, I. *Taxonomie prokaryot.* 1. vyd. Brno: Masarykova univerzita, 2007, 270 s. ISBN 80-210-4207-9.
- 71 - GARCIA, M. I. a C. LE BOUGUÉNEC. *Role of adhesion in pathogenicity of human uropathogenic and diarrhoeogenic Escherichia Coli.* Bulletin de l'Institut Pasteur. July-September 1996, Issue 3, pages 201-236.
- 72 - *Escherichia coli v elektronovém mikroskopu.* In: Wikipedia: the free encyclopedia[online]. San Francisco (CA): Wikimedia Foundation, [cit. 2015-04-11]. Dostupné z: http://commons.wikimedia.org/wiki/File:EscherichiaColi_NIAID.jpg.
- 73 - WINSOR, G. L., LAMD. K. W., FLEMING L., LO R., WHITESIDE M. D., HANCOCK R. E. W., BRINKMAN F. S. L. *Improved comparative analysis and population genomics capability for Pseudomonas genomes.* Pseudomonas Genome Database. [online]. [cit. 2015-04-18]. Dostupné z WWW: http://nar.oxfordjournals.org/content/39/suppl_1/D596.
- 74 - KERR K.G., SNELLING A.M. *Pseudomonas aeruginosa: a formidable and ever-present adversary.* Journal of Hospital Infection 73 (4), 2009, p. 338-344. [online]. [cit. 2015-04-12]. Dostupné z WWW: [http://www.journalofhospitalinfection.com/article/S0195-6701\(09\)00187-X/fulltext](http://www.journalofhospitalinfection.com/article/S0195-6701(09)00187-X/fulltext).
- 75 - *Pseudomonas aeruginosa.* [online]. [cit. 2015-04-12]. Dostupné z WWW: http://fr.wikipedia.org/wiki/Pseudomonas_aeruginosa#/media/File:Pseudomonas_aeruginosa_SEM.jpg.
- 76 - GEIS, P. A. *Cosmetic microbiology. A Practical approach* Second Edition. New York: Taylor Francis, 2006. [online]. [cit. 2015-04-10]. Dostupné z WWW:<http://www.anme.com.mx/libros/Cosmetic%20Microbiology%20-%20A%20Practical%20Approach.pdf>.

- 77 - *Staphylococcus aureus*. [online]. [cit. 2015-04-12]. Dostupné z WWW: http://cs.wikipedia.org/wiki/Staphylococcus_aureus#/media/File:MRSA_SEM_7821_lores.jpg.
- 78 - PARISH, J., *Developmental biology of prokaryotes*. Berkeley: University of California Press, Berkeley and Los Angeles.1979, xii, p. 297. ISBN 05-200-4016-3.
- 79 - *Bacillus subtilis*. [online]. [cit. 2015-04-11]. Dostupné z WWW: <http://www.astrobio.net/topic/origins/extreme-life/mutant-microbes-test-radiation-resistance>.
- 80 - ŠILHÁNKOVÁ, L. *Mikrobiologie:pro potravináře a biotechnology*. 3. oprav. a dopl. vyd. Praha: Academia, 2002. s. 363, ISBN 80-200-1024-6.
- 81 - *Micrococcus luteus*. [online]. [cit. 2015-04-11]. Dostupné z WWW: http://de.wikipedia.org/wiki/Micrococcus_luteus#/media/File:Micrococcus_luteus_9759.jpeg
- 82 - BEDNÁŘ, M., FRANĀKOVÁ, V., SCHINDLER, J., LOUČEK, A., VÁVRA, J. *Lékařská mikrobiologie, bakteriologie, virologie, parazitologie*, 1. vyd. Triton, 1996. s. 560. ISBN 80-2380-297-6.
- 83 - JULÁK J., PAVLÍK E.: *Lékařská mikrobiologie pro zubní lékařství*. Karolinum, Praha, 2010. ISBN 978-80-246-1141-9.
- 84 - *Clostridium perfringens*. [online]. [cit. 2015-04-11]. Dostupné z WWW: http://www.wikiskripta.eu/index.php/Clostridium_perfringens
- 85 - SOBKOVÁ, K. *Antibakteriální účinky přírodních látek*. [online]. 2009 [cit. 2015-04-18]. Dostupné z WWW:https://dspace.upce.cz/bitstream/10195/33854/1/SobkovaK_Antibakterialni%20ucinky_JM_2009.pdf
- 86 - SUCHÁ, P. *Účinky esenciálních olejů na růst vybraných bakterií*. Zlín 2013. Diplomová práce. Univerzita Tomáše Bati. Vedoucí práce RNDr. Iva Hauerlandová, PhD.
- 87 - ESRA M. M. A., AISHA Z. I. A., SALWA M. E. K., UMELKHEIR M. A. G. *Antimicrobial Activity of Cannabis sativa L*. Chinese Medicine, 2012, edition 3, p. 61-64

- 88 - PRAVEENA B., PRADEEP S. N. *Antioxidant and Antibacterial Activities in the Leaf Extracts of Indian Borage (Plectranthus amboinicus)*. Food and Nutrition Sciences, 2012, edition 3, p. 146-152
- 89 - KHAN A. B., WARNER P., WANG H. *Antibacterial properties of hemp and other natural fibre plants: A review*. BioResources 9 (2), 2014. p. 3642-3659. [online]. [cit. 2015-04-11]. Dostupné z WWW: http://www.ncsu.edu/bioresources/BioRes_09/BioRes_09_2_Review_3642_Khan_WW_Antibacterial_Hemp_Natural_Fiber_Plants_5326.pdf

SEZNAM POUŽITÝCH SYMBOLŮ A ZKRATEK

MK	Mastná kyselina.
MAG	Monoacylglycerol.
DAG	Diacylglycerol.
TAG	Triacylglycerol
GLA	γ -linoleová kyselina
KP	Kosmetický prostředek
EK	Evropská komise
COLIPA	Cosmetics Europe - The Personal Care Association
CPK	Certifikovaná přírodní kosmetika
MO	Mikroorganizmy
SVP	Správná výrobní praxe
G ⁺	Grampozitivní bakterie
G ⁻	Gramnegativní bakterie
MIC	Minimální inhibiční koncentrace
MBC	Minimální bakteriální koncentrace
CCM	Česká sbírka mikroorganismů
MPA	Masopeptonový agar
O/V	System olej ve vodě
V/O	System voda v oleji
H	Hořčičný olej
Ko	BIO kokosový olej
M	Mokřadkový olej
T	Tamanu olej
A	Avokádový olej
L	Lněný olej

K	BIO konopný olej
B	Brusnicový olej
N	Nimbový olej
Br	BIO brutnákový olej
BS	<i>Bacillus subtilis</i> CCM4062
BC	<i>Bacillus cereus</i>
BSp.	<i>Bacillus sphaericus</i>
PF	<i>Pseudomonas fluorescens</i>
BS16	<i>Bacillus subtilis</i> CCM2216
SA	<i>Staphylococcus aureus</i>
RZ	<i>Rhizopus</i>
TR	<i>Trichothecium roseum</i>
PC	<i>Penicillium camemberti</i>
ssp.	<i>subspecies</i>

SEZNAM OBRÁZKŮ

<i>Obr. 1 Biologická membrána [11].</i>	14
<i>Obr.2 Glycerol [7].</i>	16
<i>Obr. 3 Monoacylglyceroly [7].</i>	16
<i>Obr. 4 Diacylglyceroly [7].</i>	16
<i>Obr. 5 Jednoduchý TAG, smíšené TAG [7].</i>	17
<i>Obr. 6 Borago officinalis [37].</i>	24
<i>Obr. 7 Cannabis sativa [39].</i>	25
<i>Obr. 8 Azadirachta indica [42].</i>	26
<i>Obr. 9 Calophyllum inophyllum seed [46].</i>	27
<i>Obr. 10 Vaccinium macrocarpon seed [48].</i>	28
<i>Obr. 11 Persea Americanaseed [50].</i>	29
<i>Obr. 12 Sinapis alba seed [52].</i>	30
<i>Obr. 13 Cocos nucifera [53].</i>	31
<i>Obr. 14 Linum usitatissimum seed [56].</i>	32
<i>Obr. 15 Limnanthes alba seed oil [57].</i>	33
<i>Obr. 16 Saloosbio brutnákový a konopný olej[64].</i>	37
<i>Obr. 17 NobilisTilia BIO brutnákový, konopný a nimbový olej [65].</i>	38
<i>Obr. 18 SynCare přípravky s konopným olejem a BIO konopným olejem [66].</i>	38
<i>Obr. 19 Escherichia coli [72].</i>	40
<i>Obr. 20 Pseudomonas aeruginosa [75].</i>	41
<i>Obr. 21 Staphylococcus aureus [77].</i>	42
<i>Obr. 22 Bacillus subtilis [79].</i>	43
<i>Obr. 23 Micrococcus luteus [81].</i>	43
<i>Obr. 24 Clostridium perfringens [84].</i>	44
<i>Obr. 25 Vliv rostlinných olejů na růst Serratia marcescens v uvedených třech koncentracích oleje:etanolu</i>	58
<i>Obr. 26 Vliv rostlinných olejů na růst Bacillus cereus v uvedených třech koncentracích oleje:etanolu</i>	59
<i>Obr. 27 Vliv rostlinných olejů na růst Escherichia coli v uvedených třech koncentracích oleje:etanolu</i>	60
<i>Obr. 28 Vliv rostlinných olejů na růst Staphylococcus aureus v uvedených třech koncentracích oleje:etanolu</i>	61

<i>Obr. 29 Vliv rostlinných olejů na růst Bacillus subtilis CCM4062 v uvedených třech koncentracích oleje:etanolu</i>	<i>62</i>
<i>Obr. 30 Vliv rostlinných olejů na růst Salmonella typhimurium v uvedených třech koncentracích oleje:etanolu</i>	<i>63</i>
<i>Obr. 31 Vliv rostlinných olejů na růst Pseudomonas aeruginosa v uvedených třech koncentracích oleje:etanolu</i>	<i>64</i>
<i>Obr. 32 Vliv rostlinných olejů na růst Pseudomonas fluorescens v uvedených třech koncentracích oleje:etanolu</i>	<i>65</i>
<i>Obr. 33 Vliv rostlinných olejů na růst Bacillus subtilis CCM2216 v uvedených třech koncentracích oleje:etanolu</i>	<i>66</i>
<i>Obr. 34 Vliv rostlinných olejů na růst Bacillus sphaericus v uvedených třech koncentracích oleje:etanolu</i>	<i>67</i>
<i>Obr. 35 Vliv určitých bakteriálních kmenů na tamanu olej v uvedených třech koncentracích oleje:etanolu</i>	<i>68</i>
<i>Obr. 36 Vliv určitých plísňových a kvasinkových kmenů na tamanu olej v uvedených koncentracích</i>	<i>70</i>

SEZNAM TABULEK

<i>Tab. 1 Složení Mueller-Hinton agaru.....</i>	<i>52</i>
<i>Tab. 2 Složení Sabouraud dextrose broth bujónu.....</i>	<i>52</i>
<i>Tab. 3 Poměr rostlinného oleje a etanolu.....</i>	<i>55</i>