

Antimikrobiální účinek kyseliny olejové na vybrané kmeny bakterií

Petra Danišová

Bakalářská práce
2008



Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně
Fakulta technologická

Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně

Fakulta technologická

Ústav potravinářského inženýrství

akademický rok: 2007/2008

ZADÁNÍ BAKALÁŘSKÉ PRÁCE

(PROJEKTU, UMELECKÉHO DÍLA, UMELECKÉHO VÝKONU)

Jméno a příjmení: Petra DANIŠOVÁ

Studijní program: B 2901 Chemie a technologie potravin

Studijní obor: Chemie a technologie potravin

Téma práce: Antimikrobiální účinek kyseliny olejové na vybrané kmeny bakterií

Zásady pro vypracování:

1. Popsat vybrané kmeny bakterií
2. Experimentálně ověřit potenciální antimikrobiální účinek kyseliny olejové na vybrané kmeny bakterií

Rozsah práce:

Rozsah příloh:

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

Seznam odborné literatury:

dle vedoucího práce

Vedoucí bakalářské práce:

Ing. Daniela Kramářová, Ph.D.

Ústav potravinářského inženýrství

Datum zadání bakalářské práce:

8. ledna 2007

Termín odevzdání bakalářské práce:

31. května 2008

Ve Zlíně dne 12. května 2008

doc. Ing. Petr Hlaváček, CSc.
děkan



prof. Ing. Ignác Hoza, CSc.
vedoucí katedry

ABSTRAKT

Na základě vědeckých studií bylo potvrzeno, že mastné kyseliny vykazují značné antimikrobiální účinky. Cílem bakalářské práce bylo testovat antibakteriální účinek kyseliny olejové. Tato mastná kyselina se vyskytuje v mléce kokosových ořechů, slunečnicovém, sezamovém a olivovém oleji. Její antibakteriální účinek byl testován na *Escherichia coli*, *Pseudomonas fluorescens*, *Staphylococcus aureus* a *Salmonella Typhimurium*

Klíčová slova: kyselina olejová, antibakteriální účinek, mastná kyselina, lipidy, patogeny, *Escherichia coli*, *Pseudomonas fluorescens*, *Staphylococcus aureus* a *Salmonella Typhimurium*

ABSTRACT

The aim of this abstract labour is the application of oleic acid on particular bacteria: *Escherichia coli*, *Salmonella Typhimurium*, *Pseudomonas fluorescens* and *Staphylococcus aureus*. Oleic acid is 18-carbon fatty acid with once double bond. Oleic acid inhere in coconut milk, sunflower oil, sesame oil and olive oil.

Keywords: oleic acid, antibacterial effect, fatty acid, lipids, pathogens, *Escherichia coli*, *Pseudomonas fluorescens*, *Staphylococcus aureus* and *Salmonella Typhimurium*

Ráda bych velmi poděkovala vedoucí této bakalářské práce Ing. Daniele Kramářové PhD. za odborné vedení, podporu a ochotu. Její připomínky mi byly nápomoci v této práci. Poděkování dále patří Mgr. Leoně Buňkové PhD. a Mgr. Magdě Doležalové za pomoc a vstřícnost. Za podporu děkuji především mé rodině a manželovi.

Prohlašuji, že jsem na bakalářské práci pracovala samostatně a použitou literaturu jsem citovala. V případě publikace výsledků, je-li to uvolněno na základě licenční smlouvy, budu uvedena jako spoluautorka.

Ve Zlíně 31.5.2008

.....
Podpis diplomanta

OBSAH

ÚVOD.....	8
I TEORETICKÁ ČÁST	9
1. OBECNÉ VLASTNOSTI BAKTERIÍ.....	10
PODLE OPTIMÁLNÍ TEPLoty RŮSTU JE DĚLÍME NA:.....	10
PODLE NÁROKŮ NA VÝŽIVU ROZDĚLUJEME MIKROORGANISMY:	10
PODLE NÁROKŮ NA KYSLÍK DĚLÍME MIKROORGANISMY:.....	11
2. CHARAKTERISTIKA VYBRANÝCH BAKTERIÍ	12
2.1 ČELEĎ ENTEROBACTERIACEAE	12
2.1.1 Rod <i>Escherichia</i>	12
2.1.2 Rod <i>Salmonella</i>	13
2.2 ROD PSEUDOMONAS.....	15
2.3 ROD STAPHYLOCOCCUS	16
3. OBECNÉ ZÁSADY KULTIVACE MIKROORGANISMŮ	18
4. LIPIDY	19
4.1 MASTNÉ KYSELINY.....	19
4.2 KYSELINA OLEJOVÁ	22
4.2.1 Zdroje kyseliny olejové	22
II PRAKTICKÁ ČÁST.....	25
5. METODIKA.....	26
5.1 POUŽITÉ PŘÍSTROJE A POMŮCKY.....	26
5.2 MATERIÁL	26
5.2.1 Živné půdy.....	26
5.2.2 Pomnožovací média	27
5.2.3 Použité roztoky a chemikálie	27
5.3 ANTIMIKROBIÁLNÍ ÚČINEK KYSELINY OLEJOVÉ NA ESCHERICHIA COLI.....	28
5.3.1 Aplikace kyseliny olejové na <i>Escherichia coli</i> metodou v bujónu	28
5.4 ANTIMIKROBIÁLNÍ ÚČINEK KYSELINY OLEJOVÉ NA SALMONELLA TYPHIMURIUM	28
5.4.1 Aplikace kyseliny olejové na <i>Salmonella Typhimurium</i> metodou v bujónu.....	28
5.5 ANTIMIKROBIÁLNÍ ÚČINEK KYSELINY OLEJOVÉ NA STAPHYLOCOCCUS AUREUS	29
5.5.1 Aplikace kyseliny olejové na <i>Staphylococcus aureus</i> metodou v bujónu.....	29
5.6 ANTIMIKROBIÁLNÍ ÚČINEK KYSELINY OLEJOVÉ NA PSEUDOMONAS FLUORESCENS.....	29
5.6.1 Aplikace kyseliny olejové na <i>Pseudomonas fluorescens</i> metodou v bujónu.....	29
5.7 CHARAKTERISTIKA STATICKÉHO VYHODNOCOVACÍHO POČÍTAČOVÉHO PROGRAMU STATVYD	30
6. VÝSLEDKY A DISKUZE	31

6.1 VÝSLEDKY MĚŘENÍ ANTIMIKROBIÁLNÍHO ÚČINKU KYSELINY OLEJOVÉ NA ESCHERICHIA COLI	31
6.2 VÝSLEDKY MĚŘENÍ ANTIMIKROBIÁLNÍHO ÚČINKU KYSELINY OLEJOVÉ NA SALMONELLA TYPHIMURIUM	32
6.3 VÝSLEDKY MĚŘENÍ ANTIMIKROBIÁLNÍHO ÚČINKU KYSELINY OLEJOVÉ NA STAPHYLOCOCCUS AUREUS	33
6.4 VÝSLEDKY MĚŘENÍ ANTIMIKROBIÁLNÍHO ÚČINKU KYSELINY OLEJOVÉ NA PSEUDOMONAS FLUORESCENS	34
ZÁVĚR	36
SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY.....	37
SEZNAM POUŽITÝCH SYMBOLŮ A ZKRATEK	39
SEZNAM OBRÁZKŮ	40
SEZNAM TABULEK.....	41

ÚVOD

Na světě přibývá mnoho případů, které vznikají infekcí a intoxikací po požití kontaminovaných potravin. Vzhledem k ekonomickým a politickým změnám, které v naší společnosti proběhly, není důležitá kvantita, ale především kvalita potravin, jejich výživová hodnota (nutriční faktory) a hlavně zdravotní nezávadnost.

Escherichia coli, *Pseudomonas fluorescens*, *Staphylococcus aureus* a *Salmonella Typhimurium* jsou bakterie schopné způsobit onemocnění člověka. Jejich přítomnost v potravinách je velmi závažným zdravotním problémem. Je tedy nezbytně nutné hledat různé způsoby, jak co možná nejúčinněji ošetřit potraviny proti kontaminaci patogenními mikroorganismy.

Na mastné kyseliny je v poslední době pohlíženo, jako na možnou náhradu antibiotik. Antimikrobiální aktivita mastných kyselin závisí na stupni a typu nasycenosti, na délce řetězce a na vlastnostech rozpouštědla, ve kterém je aktivita vyhodnocována.

Předmětem této práce je studium antimikrobiálního účinku kyseliny olejové na výše uvedené kmeny bakterií. Kyselina olejová patří mezi nenasycené mastné kyseliny s jednou dvojnou vazbou s osmnácti atomy uhlíku v řetězci. Vyskytuje se v rostlinných (u slunečnicový, řepkový, olivový) olejích, ale také v másle, loji a vepřovém sádle. Je součástí biomembrán.

I. TEORETICKÁ ČÁST

1. OBECNÉ VLASTNOSTI BAKTERIÍ

Bakterie jsou jednobuněčné organismy, které se od sebe liší morfologickými znaky, barvitelností, pohyblivostí, kultivačními nároky, biochemickými a fyzikálními vlastnostmi atd. Podle toho se také systematicky rozdělují.

Zástupce bakterií řadíme do nadříše Prvojaderní (*Prokaryota*), říše Prvobuněční (*Protocellulata*) a oddělení Bakterie (*Bacteria*).

Bakteriální buňky vykazují morfologické vlastnosti. Základní je tvar buňky: kulovitý, tyčinkovitý a spirálový. Bakterie kulovitého tvaru jsou pojmenovány jako koky, tyčinkovité jako bakterie a mezi spirálovité patří např. spirochety. Tloušťka bakterií se většinou pohybuje zhruba od 0,5 do 1,5 μm a délka od 1 do 3 μm . Velikost bakterií závisí na stáří buněčné kultury, na růstové fázi i na kultivačních podmínkách. Mezi základní struktury bakteriální buňky patří cytoplazma, jádro, ribozómy, cytoplazmatická membrána a buněčná stěna. Některé bakterie obsahují navíc plazmidy, pouzdro, bičík, fimbrie, inkluze a mesozómy. (9)

Podle optimální teploty růstu je dělíme na:

- a) **psychrofilní mikroorganismy** – mají optimální teplotu růstu pod 20°C . Poměrně intenzivně rostou i při teplotách 0 - 5°C. Některé organismy, zvláště plísně, rostou ještě při teplotě - 10°C
- b) **mezofilní mikroorganismy** – rostou nejlépe při teplotách 20 - 40°C. Do této skupiny náleží většina saprofytických i parazitických mikroorganismů. U bakterií je optimální teplota 37°C a u kvasinek a plísní teplota 30°C
psychrotrofní mikroorganismy – jsou takové, které se dobře rozmnožují i při teplotách nižších než 10°C bez ohledu na jejich optimální teplotu.
- c) **termofilní mikroorganismy** – jsou charakteristické optimální teplotou růstu nad 45°C, většina z nich vyžaduje teplotu 50 - 60°C. Striktně termofilní mikroorganismy nerostou při teplotě pod 30°C (2)

Podle nároků na výživu rozdělujeme mikroorganismy:

- a) **autotrofní** – stačí jim k výživě pouze anorganické sloučeniny (řasy a některé bakterie)

- b) **heterotrofní** – využívají organické sloučeniny jako zdroj uhlíku, vodíku nebo energie (kvasinky, plísně a většina bakterií)
- **prototrofní** – k výživě jim stačí jednoduché organické uhlíkaté sloučeniny (sacharidy, ethanol, jednoduché organické kyseliny)
 - **autotrofní** – vyžadují složité sloučeniny (některé vitamíny, aminokyseliny)

Podle nároků na kyslík dělíme mikroorganismy:

- a) **aerobní** – vyžadují vzdušný kyslík, neboť mají vyvinutý pouze aerobní metabolismus (plísně, octové bakterie, hnilobné bakterie a některé kvasinky)
- b) **anaerobní** – nevyužívají volný kyslík, neboť mají pouze anaerobní metabolismus; vzdušný kyslík na ně působí inhibičně (sporotvorné bakterie rodu *Clostridium*)
- c) **mikroaerofilní** – mají anaerobní metabolismus, ale nízké koncentrace kyslíku urychlují jejich rozmnožování (mléčné bakterie rodu *Lactobacillus*)
- d) **fakultativně anaerobní mikroorganismy** – mají schopnost aerobního a anaerobního metabolismu, takže rostou za přítomnosti i nepřítomnosti vzdušného kyslíku. (16)

Pokud je mikroorganismus označen jako patogen, znamená to, že je schopný vyvolat v organismu onemocnění. Jako patogeny označujeme parazity, které jsou schopné poškodit svého hostitele. Virulence se používá jako kvantitativní pojem k vyjádření schopnosti mikroorganismu vyvolávat infekci. Faktory virulence jsou genetické, biochemické a strukturní. Vztahy mezi hostitelem a parazitem jsou dynamické, neboť oba organismy vzájemně ovlivňují své aktivity a funkce. Zvířata i lidé jsou v neustálém styku s mikroorganismy. V řídkých případech vstupují mikroorganismy do parazitického vztahu se svými hostiteli a vyvolávají onemocnění. (18)

2. CHARAKTERISTIKA VYBRANÝCH BAKTERIÍ

Bakalářská práce byla zaměřena na následující bakterie: *Escherichia coli*, *Pseudomonas fluorescens*, *Staphylococcus aureus* a *Salmonella Typhimurium*.

2.1 Čeleď *Enterobacteriaceae*

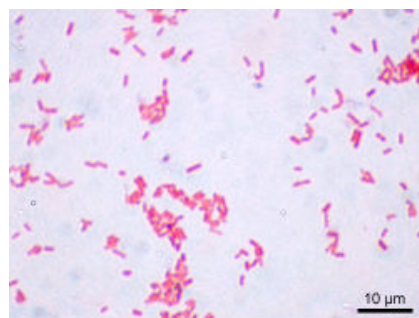
Gramnegativní tyčinky jsou dlouhé 2 – 3 μm řazené do rozsáhlé čeledi *Enterobacteriaceae* náleží k bakteriím velmi často izolovaným z klinického materiálu. Růstové optimum je 37°C. Hojně se vyskytují ve vodě, v půdě, na různých organických substrátech a mnozí jsou běžnou součástí mikroflóry obratlovců i bezobratlovců. Enterobakterie mohou vyvolávat velmi pestrou škálu infekcí postihujících kterýkoli orgán či systém lidského organismu (18)

2.1.1 Rod *Escherichia*

Příslušníci rodu, zejména pak *Escherichia coli*, patří k enterobakteriím nejčastěji se nacházejí v klinickém materiálu. Mohou infikovat dolní cesty dýchací, rány, způsobují infekce močových cest a u velmi oslabených pacientů i sepse. *Escherichia coli* se nachází ve spodní části střevního traktu člověka a teplokrevných zvířat. Slouží jako modelový organismus pro biochemické, genetické i fyziologické studie. Zkvašuje cukry (např. glukosu, laktosu, některé pentosy a alkoholické cukry) za intenzivní tvorby kyselin a plynu. (16)



Obrázek 1 *Escherichia coli* elektronový mikroskop



Obrázek 2 *Escherichia coli* barvení podle Grama

Je známo přes 700 serotypů *Escherichia coli* podle antigenů O, H a K. *Escherichia coli* může vyvolat tři typy onemocnění člověka:

- infekce močových cest (UTI – Urinary Tract Infections)
- neonatální meningitidu
- infekce gastrointestinálního traktu.

Tyto tři skupiny infekcí závisí na specifickém souboru patogenních faktorů. Jako patogen je *Escherichia coli* nejlépe známa pro schopnost vyvolat střevní onemocnění. V současnosti se rozlišuje pět tříd virotypů *Escherichia coli*, které způsobují průjmová onemocnění.

1. enteropatogenní (EPEC) – způsobují průjem kojenců a novorozenců, patogeneze je nejasná,
2. enterotoxické (ETEC) – tyto kmeny produkují termostabilní i termolabilní enterotoxiny, zapříčiňují tzv. cestovatelské průjmy,
3. enteroinvazivní (EIEC) – tyto kmeny dovedou pronikat do střevních epitelálních buněk a vyvolat zde zánětlivou reakci podobně jako shigelly,
4. enterohemorragické (EHEC) – produkují vero-cytotoxin (VTEC) vyvolávající mírný vodový průjem až po silné krvavé průjmy v důsledku poškození cévních endotelií. (5)

Prevencí pro onemocnění je nejdůležitější a nejúčinnější zabránit styku s infekčním agens. Zajistit bezpečnost pitné vody, hygienickou výchovu a zpracování potravin. Infekce VTEC se nejvíce získává z masa a nepasterizovaného mléka. (6)

2.1.2 Rod *Salmonella*

Salmonella má pouze jeden druh v rodu salmonel a to *Salmonella enterica* a sedm poddruhů (*Salmonella enterica* subsp. *arizonae*, *Salmonella enterica* subsp. *bongori*, *Salmonella enterica* subsp. *diarizonae*, *Salmonella enterica* subsp. *enterica*, *Salmonella enterica* subsp. *houtenae*, *Salmonella enterica* subsp. *indica*, *Salmonella enterica* subsp. *salamae*). *Salmonella* Typhi a *Salmonella* Typhimurium jsou pouze sérovary a je nutné je psát ve tvaru *Salmonella enterica* subsp. *enterica* serovar Typhimurium nebo zkráceně *Salmonella* Typhimurium. (4)

Salmonely jsou fakultativně anaerobní a chemoorganotrofní, gramnegativní rovné tyčinky pohyblivé pomocí bičíků. Optimální růstová teplota je 37°C. Glukosu a další sacharidy okyselují, obvykle s tvorbou plynu, oxidáza negativní, kataláza pozitivní. Produkují H₂S. Vyskytují se u člověka, teplokrevných i studenokrevných živočichů, v potravinách i prostředí. Patogenní pro člověka i mnoha zvířat. Je to infekční agens tyfu, střevních horeček, gastroenteritid a septikemií. (14)



Obrázek 3 *Salmonella* Typhimurium elektronový mikroskop



Obrázek 4 *Salmonella* Typhimurium barvení podle Grama

Druhy *Salmonella* Typhi a *Salmonella* Typhimurium způsobují vážná střevní onemocnění často i smrtelná, které jsou doprovázena silnou bolestí hlavy, břicha, malátností a vysokými horečkami – tzv. břišní tyf. Inkubační doba je několik hodin až týdnů. (17)

Typická salmonela má dva soubory antigenů O (somatické antigeny) a H (bičíkové antigeny). Somatické antigeny jsou termostabilní polysacharidy a bičíkové jsou strukturní bílkoviny bičíků. Ostatní salmonely z 2000 sérotypů nemají pro hostitele zvláštní preferenci. Všechny jsou potenciálními původci onemocnění člověka. (5)

Rod *Salmonella* zasluhuje zvláštní pozornost při hodnocení mikrobiálního stavu vajec. Ta mohou být kontaminována na povrchu skořápky (vodní drůbež) nebo ve vaječném obsahu. Přežití salmonel závisí na teplotě a podmínkách skladování. (6)

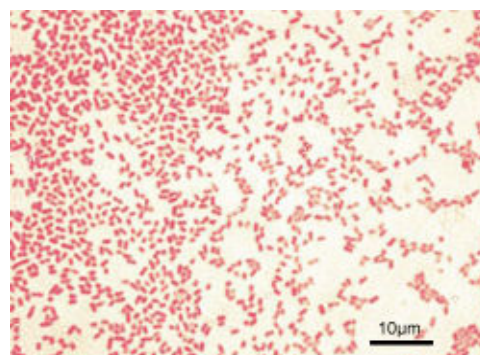
Tabulka 1 Výskyt salmonel v potravinách

Kategorie potravin	Množství [%]
jalovice	1
kráva / býk	2,7
mleté hovězí maso	7,5
vepřové maso	8,7
brojleři	20
mleté krůtí maso	44,6
mleté kuřecí maso	49,9

2.2 Rod *Pseudomonas*

Rod *Pseudomonas* se řadí do skupiny gramnegativních tyčinek a koků. Zahrnuje přísně aerobní bakterie bez kvasných schopností, které využívají nejrůznější organické sloučeniny jako zdroj energie a uhlíku. Některé druhy se používají pro průmyslové oxidace, hlavně pro výrobu léků. Řada z nich tvoří fenazinová barviva žlutých, zelených modrých nebo červených odstínů, která uvolňují do růstového prostředí. Tím způsobují nežádoucí zbarvení potravin. (16)

Zástupci rodu *Pseudomonas* způsobují nežádoucí chuťové i barevné změny ve vejcích. *Pseudomonas fluorescens* produkuje žlutozelený pyofluorescein, *Pseudomonas aeruginosa* modrozelený pyokyanin a *Pseudomonas putida* červený pyorubin. (15)

Obrázek 5 *Pseudomonas fluorescens* elektronový mikroskopObrázek 6 *Pseudomonas fluorescens* barvení podle Grama

Určité druhy vyvolávají v potravinách cizí vůně nebo pachy (ovocné, rybí) nebo pachuti (např. mýdlovou, hořkou apod.). Silné proteolytické schopnosti jim umožňují rozklad bílkovinných potravin. Lipolytické vlastnosti se uplatňují při kažení tuků. Většinou jsou psychrofilní povahy, takže jejich nežádoucí činnost v potravinách probíhá i při poměrně nízkých skladovacích teplotách. Některé druhy (*Pseudomonas aeruginosa*) jsou patogenní pro člověka, zvířata i rostliny. (16)

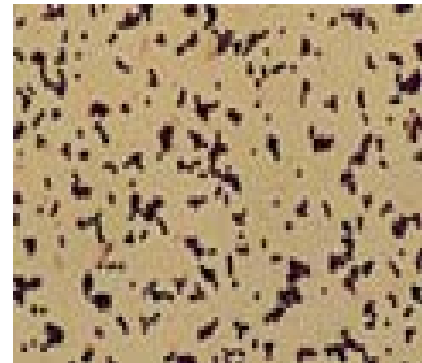
Pseudomonády se také podílejí na kažení kosmetických přípravků. Rozkládají parafinové uhlovodíky i estery kyseliny parahydroxybenzoové používané jako konzervační činidlo. Pomnožení pseudomonád vede ke zvýšení pH vlivem zvýšení obsahu čpavku a tím i ke vzniku zápachu. Sensorické změny jsou patrné, když počet těchto psychrotrofů dosahuje počtu 10^7 až 10^8 g⁻¹. (6)

2.3 Rod *Staphylococcus*

Rod *Staphylococcus* řadíme mezi grampozitivní koky, má aerobní i anaerobní metabolismus, takže je schopen zkvašovat cukry za tvorby kyselin. Tvoří žluté až oranžové kolonie, někdy bílé. *Staphylococcus aureus* rozeznáváme na základě jeho schopnosti koagulovat krevní plazmu. Rozmnožuje se i v prostředí 10% NaCl a je hostitelem řady bakteriofágů. V potravinách produkuje enterotoxiny bílkovinné povahy, které způsobují vážné až smrtelné otravy. Příznaky otravy se projevují za 1 až 6 hodin po požití potravin a vyznačují se křečemi a žaludeční nevolností, průjmy, zvracením, bolestí hlavy a pocením. K otravě dochází je-li koncentrace buněk *Staphylococcus aureus* v potravine řádu 10^5 až 10^7 g⁻¹. (16)



Obrázek 7 *Staphylococcus aureus* elektronový mikroskop



Obrázek 8 *Staphylococcus aureus* barvení podle Grama

Váženým problémem je přítomnost *Staphylococcus aureus* v lahůdkářských výrobcích, kde je zvýšený obsah vajec a majonézy. Ve vejcích je optimální růstové prostředí. Vyskytuje se jak v tekutém, tak v sušeném vaječném výrobku. Tím může docházet k tzv. sekundární kontaminaci dalších potravin (těstoviny, cukrářské či lahůdkářské výrobky) Při nižší vodní aktivitě, kterou bakterie snáší se může pomnožit a vyprodukovat enterotoxin. Za běžných podmínek je růst pomalejší než ostatních mikroorganismů, které rovněž způsobují kažení potravin. Pokud je však běžná mikroflóra potlačována (např. nízkou vodní aktivitou), pak *Staphylococcus aureus* může přerůst a stát se dominantní mikroflórou, přičemž jeho minimální teplota růstu je 7°C. Nebezpečný je i výskyt u balkánských sýrů, které jsou uchovávány ve slaném nálevu. (6)

Staphylococcus aureus je patogenní druh, který způsobuje angínu, hnisavé onemocnění kůže, hnisání ran a hnisavé onemocnění poraněných kostí. Nalézáme ho, ale i u zdravých osob např. v krku, v nose a na kůži *perigea*. (18)

3. OBECNÉ ZÁSADY KULTIVACE MIKROORGANISMŮ

Kultivace je nejdůležitější diagnostickou metodou přímého průkazu většiny bakterií. V diagnostice bakterií užíváme tzv. kultivace statické, kdy bakterie narostou v ohraničeném množství kultivační půdy, např. ve zkumavce nebo Petriho misce. Kontinuální kultivace se využívá při výrobě antibiotik nebo v potravinářském průmyslu. Bakterie mají značně různorodý metabolismus, a proto také rozdílné nároky na kultivaci. Saprophytické bakterie mají nároky skromné na kultivaci, naproti tomu bakterie s vysokým stupněm parazitismu značně náročné.

Kultivace slouží k přímému průkazu bakterií v klinickém materiálu. Cílem je získání tzv. čisté kultury bakterií, složené z bakterií stejného rodu i druhu (u některých bakterií můžeme podle morfologie kolonií na pevných půdách určit rod).

Podmínky kultivace: dostatek vhodných živin, vlhkost půd, optimální pH půdy, izotonie média, kultivační teplota, délka kultivace, atmosféra pro kultivaci (aerobní a fakultativně anaerobní, anaerobní, mikroaerobní).

Kultivační půdy dělíme podle konzistence na tekuté, polotekuté a pevné. Podle funkce na půdy základní, diagnostické, selektivní, selektivně-diagnostické, pomnožovací, transportní a půdy se sníženým redox-potenciálem. (18)

4. LIPIDY

Lipidy (řecky lipos = tuk) jsou látky biologického původu rozpustné v organických rozpouštědlech (např. chloroform, ether, benzen aj.) nebo částečně rozpustné nebo úplně nerozpustné ve vodě. Jediným společným znakem je převaha dlouhých nepolárních uhlovodíkových řetězců. Patří k významným složkám potravin. Hlavní stavební složky tvoří vyšší mastné kyseliny. Lipidy se dělí na homolipidy, heterolipidy, komplexní lipidy a doprovodné látky lipidů. Plní funkci rezervní, stavební, ochrannou a katalytickou.(7)

Homolipidy se skládají pouze z mastných kyselin vázaných na alkoholu (většinou glycerol). Mezi hlavní homolipidy patří vosky, jedná se o jednosytné alkoholy s mastnými kyselinami. Jsou ve vodě nerozpustné a velmi málo rozpustné v alkoholu. Dále jsem patří také tuky a oleje. Dělíme je na živočišné tuky (lůj, sádlo, máslo), oleje (rybí tuk) a rostlinné tuky (kakaové máslo, palmový tuk), oleje (olivový, řepkový, slunečnicový, sojový, kukuřičný, lněný). Heterolipidy obsahují kromě alkoholu, mastné kyseliny ještě jednu složku navíc. Dělí se na fosfolipidy, ceramidy a cerebrosidy, glykolipidy, sulfolipidy a sírany a sialolipidy. (7)

Komplexní lipidy obsahují nelipidové složky vázané kovalentními i různými fyzikálními vazbami. Nejdůležitější z nich jsou lipoproteiny a mukolipidy. Doprovodnými látkami lipidů se myslí jednak vitamíny rozpustné v tucích, A, D, E a K, dále přirozená barviva tuků a provitaminy vitamínu A – karotenoidy, ale také steroidy (steroidní hormony, žlučové kyseliny apod.) (13)

Lipidy jsou jediným zdrojem esenciálních mastných kyselin. Ty mají řadu důležitých funkcí v lidském organismu. Zodpovídají za dobrý stav pokožky, zúčastňují se výstavby buněčných membrán, jsou prekurzory prostaglandinů atd. Lipidy slouží hlavně jako rezerva energie pro organismus. (3)

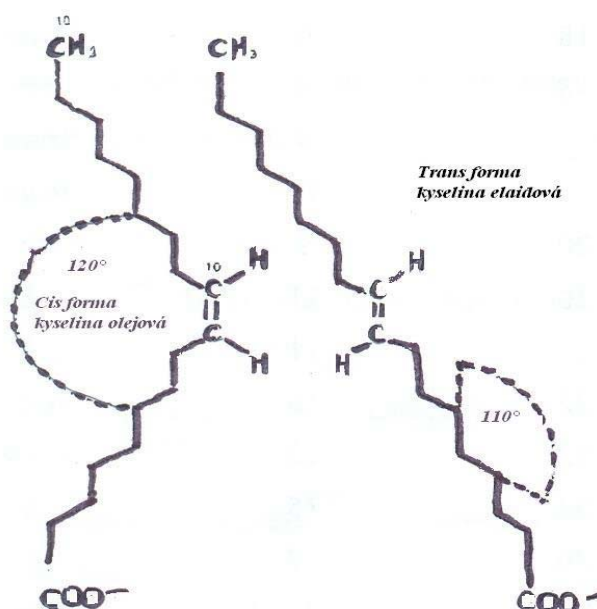
4.1 Mastné kyseliny

Mastné kyseliny jsou podstatnou a nejvýznamnější složkou všech lipidů. Mastné kyseliny se od sebe navzájem liší délkou uhlovodíkového řetězce, stupněm nenasycenosti, isomerií dvojných vazeb *cis* a *trans* a také přítomností dalších substituentů. (3)

Masné kyseliny dělíme do čtyř skupin:

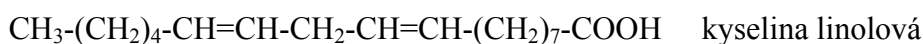
1. nasyčené mastné kyseliny – jsou to karboxylové kyseliny s dlouhými alifatickými uhlovodíkovými řetězci. Obsahují 4 až 60 atomů uhlíku a rovný nerozvětvený řetězec. Jejich obecný vzorec je $\text{CH}_3-(\text{CH}_2)_n-\text{COOH}$. Patří sem kyselina máselná, valerová, kapronová, kaprylová, které se vyskytují v másle a kozím mléce, ale také palmitová, stearová apod.

2. nenasyčené mastné kyseliny s jednou dvojnou vazbou (monoenové) – liší se navzájem počtem atomů uhlíku, polohou dvojně vazby a její konfigurací. Příkladem je kyselina olejová a kyselina elaidová.



Obrázek 9 Geometrická isomerie kyseliny olejové a kyseliny elaidové

3. nenasyčené mastné kyseliny s několika dvojnými vazbami (polyenové) – mezi nejznámější *dienové* mastné kyseliny patří kyselina linolová. Patří do řady n-6 mastných kyselin, tzn., že má první dvojnou vazbu na šestém uhlíku,



mezi *trienové* mastné kyseliny nejvíce se vyskytující v potravinách rostlinného původu patří α -linolenová kyselina patřící do řady n-3 a γ -linolenová kyselina patřící do řady n-6.

$\text{CH}_3\text{-CH}_2\text{-CH=CH-CH}_2\text{-CH=CH-CH}_2\text{-CH=CH-(CH}_2\text{)}_7\text{-COOH}$ kyselina α -linolenová

$\text{CH}_3\text{-(CH}_2\text{)}_4\text{-CH=CH-CH}_2\text{-CH=CH-CH}_2\text{-CH=CH-(CH}_2\text{)}_4\text{-COOH}$ kyselina γ -linolenová

Kyselina arachidonová patřící do řady n-6 se řadí mezi *tetraenové*.

$\text{CH}_3\text{-(CH}_2\text{)}_4\text{-(CH=CH-CH}_2\text{)}_4\text{-CH}_2\text{-CH}_2\text{-COOH}$ kyselina arachidonová

4. mastné kyseliny s trojnými vazbami a různými substituenty – do této skupiny patří alkinové, rozvětvené, cyklické kyseliny a hydroxykyseliny (7)

Tabulka 2 Složení mastných kyselin v některých tuhých tucích

Obsah (% veškerých mastných kyselin)						
Mastná kyselina	Kokosový tuk	Vepřové sádlo	Hovězí lůj	Mléčný tuk kravský	Lidský tuk podkožní	Tuk mateřského mléka
máselná	0	0	0	2-4	0	0
kapronová	0-0,8	0	0	1,4-2	0	0-0,1
kaprylová	5,5-9,5	0-0,2	0	0,5-1,5	0	0-0,1
kaprinová	4,5-9,5	0-0,2	0	1,6-2,7	0	0,5-1
laurová	44-52	0,1-0,6	0,1-0,4	1,7-3,7	0,3-0,7	3-4
myristová	13-19	1,4-2,4	2-3	7,9-12,1	3,1-4,3	6-8
palmitová	7,5-10,5	24-30	24-31	25-32	22-25	26-32
stearová	1-3	12-19	21-27	8-12	5,2-7	11-15
palmitoolejová	0-1,3	2,3-3,7	1,7-3	1,6-5	4,3-7	2,2-3
olejová	5-8	38-46	38-48	26-33	41-47	23-28
linolová	1,5-2,5	4,2-9,4	1,7-2	1-2,4	0-3	4-6
linolenová	0	0,1-1,3	0-0,2	0-0,5	0-1	0,5-1,5
arachidonová	0	0-1	0-1,1	0-0,8	0-0,5	0,4-1

4.2 Kyselina olejová

Kyselina olejová je kapalina s charakteristickým zápachem bledě žluté až hnědé barvy. Je nerozpustná ve vodě, s teplotou tání 15°C a teplotou varu 360°C, s molární hmotností 282,26 g/mol a hustotou 0,895 g/cm³.

Patří do skupiny nenasycených mastných kyselin s jednou dvojnou vazbou $\text{CH}_3 - (\text{CH}_2)_7 - \text{CH} = \text{CH} - (\text{CH}_2)_7 - \text{COOH}$ (11)

Kyselina olejová je nenasycená mastná kyselina řady Omega 9 mastné kyseliny (tj. kyselina olejová – v minimálním množství se vyskytuje prakticky ve všech rostlinných i živočišných potravinách a svými biologickými aktivitami významně přispívá ke zdraví. Napomáhá regulovat hladinu cholesterolu v krvi, a tím pomáhá udržovat zdravé srdce).

Příznivě působí jako prevence vzniku aterosklerosy. Podporuje zdravou kůži, vlasy, snižují krevní tlak. U těžkých případů rakoviny prsu s metastázemi se využívá léčby s protilátkou Herceptin. Kyselina olejová zvyšuje účinek léčby a oddaluje nástup rezistence k tomuto léku. (10)

4.2.1 Zdroje kyseliny olejové

Hlavními zdroji kyseliny olejové jsou rostlinné oleje, ale také mléko.

Mlékem se nazývá tekutý sekret mléčné žlázy savců. Sekrety mléčné žlázy se dělí na dvě skupiny – mléka nezralá a mléka zralá. Nezralé mléko (mlezivo) je vylučováno mléčnou žlázou na konci gravidity. Podle vzájemného poměru kaseinové a albuminové části bílkovin rozlišujeme u zralých mlék: mléka albuminová (ženské, psí, kočičí a kobyli) a mléka kaseinová (kravské, kozí, ovčí a velbloudí). V našich podmínkách se zpracovává především mléko kravské a v menší míře mléko kozí a ovčí. (8)

Tabulka 3 Průměrný obsah jednotlivých živin v 1 litru kravského mléka

Druh živin	Obsah živin [g/l]
Bílkoviny	34 – 36
Esenciální aminokyseliny	1,3
Mléčný tuk	28 – 40
Mléčný cukr	47 – 49
Minerální látky	3,2
Vitamíny	11,4 – 42,4

Palmojádrový olej se získává z jader palmy olejové. Nejprve se provede extrakce dužiny plodů, čímž se získá palmový olej. Od dužiny, která zůstane po extrakci, se oddělí jádra, ze kterých se už získá samotný palmojádrový olej. Tento olej se využívá hlavně v mydlářství a při výrobě cukrovinek. (12)

Tabulka 4 Složení palmojádrového oleje

Mastná kyselina	Obsah v %
C ₆ – kapronová	<0,8
C ₈ – kaprylová	3 – 8
C ₁₀ – kaprinová	3 – 7
C ₁₂ – laurová	47 – 51
C ₁₄ – myristová	15 – 20
C ₁₆ – palmitová	6,5 – 11
C _{18:0} – stearová	1,5 – 3
C_{18:1} – olejová	5 – 10
C _{18:2n6} - linolová	1 – 3



Obrázek 10 Plod palmy olejné

Panenské oleje se vyrábí ze semen a zrn, které se zbaví nečistot. Lisování se provádí mechanicky, za mírného zahřátí max. do 50°C. Oleje se filtrují přes filtry z bavlněné tkaniny a poslední filtrace se provádí přes filtrační papír. Oleje z prvního lisování za studena se plní do lahví z barevného skla, aby byly chráněny před účinkem světla. Výsledkem je produkt, který má originální barvu, vůni, chuť a vysoký obsah cenných látek (kyselina linolová, kyselina olejová, vitamíny, stopové prvky, minerální látky a lecitin).

Slunečnicový olej – působí proti kardiovaskulárním chorobám, zvýšené hladině cholesterolu a je vhodný při arterioskleróze.

Olivový olej – příznivý vliv na pohlavní orgány a nervosvalovou činnost a vynikající účinky na trávicí ústrojí (játra, žaludek, střeva a slinivka).

Sezamový olej – výborný regenerační prostředek, snižuje hladinu cholesterolu, posiluje paměť a působí antidepresivně a proti průjmu.

Sojový olej – příznivé účinky na mozkové a nervové buňky, používá se při arterioskleróze, snižuje hladinu cholesterolu a doporučuje se zvláště pro diabetiky a neurotiky.

Světlivkový olej – odbourává přebytečný cholesterol, vrací pružnost cévám, působí protirevmaticky a má mírné projímavé účinky.

Olej z dýňových semen – působí proti padání vlasů, zubnímu kazu, nachlazení a virózách.

Olej z pšeničných klíčků – působí při padání vlasů, akné, lupence a pomáhá na suchou kůži.

Olej ze sladkých mandlí – používá se při kožních onemocnění (ekzémy, furunkly), popáleninách a prasklinách kůže a může se použít i jako projímadlo. (1)



Obrázek 11 Olivový olej

II. PRAKTICKÁ ČÁST

5. METODIKA

5.1 Použité přístroje a pomůcky

- Biologický termostat BT 120 (Laboratorní přístroje Praha)
- Mikrobiologický inkubátor MEMMERT
- Vodní lázeň WB MEMMERT
- Bunsenův kahan
- Autokláv 2540 RL
- Chladnička Electrolux (1 – 4 °C)
- Myčka na nádobí Siemens
- Laboratorní sklo
- Automatická pipeta (100, 500 a 1000 μ l)
- Mikrovlnná trouba Electrolux
- Parní sterilizátor H + P Varioklav (121 °C, přetlak 0,1 MPa)
- pH – metr (GRYF)
- Sušárna KBC G100/250
- Váhy KERN 440 – 47N

5.2 Materiál

5.2.1 Živné půdy

Masopeptonový agar (MPA)

Masopeptonový agar se používá pro izolaci bakterií křížovým roztěrem. Je univerzálním médiem pro celou řadu bakterií.

Tabulka 5 Složení masopeptonového agaru

Látka	Množství [g.l ⁻¹]
chlorid sodný	3
masový extrakt	3
pepton	5
agar	15

5.2.2 Pomnožovací média

Masopeptonový bujon (MPB)

Bujon se používá pro inkubaci kultur celé řady bakterií, jako vhodné medium pro jejich růst.

Tabulka 6 Složení masopeptonového bujonu

Látka	Množství [g.l ⁻¹]
chlorid sodný	3
masový extrakt	3
pepton	5

5.2.3 Použité roztoky a chemikálie

- Fyziologický roztok (8,5 g NaCl na 1000 ml destilované vody)
- Kyselina olejová (98%)
- Chlorid sodný (Dodavatel: Petr Lukeš, Uherský Brod)
- Hydroxid draselný (10%)
- Destilovaná voda
- Ethanol
- Savo (Výrobce: Bochemie s.r.o., Bohumín)

5.3 Antimikrobiální účinek kyseliny olejové na *Escherichia coli*

Při testování antimikrobiálního účinku kyseliny olejové na *Escherichia coli* byla použita „metoda v bujonu“.

5.3.1 Aplikace kyseliny olejové na *Escherichia coli* metodou v bujonu

Experiment byl proveden na živné půdě MPA, jejíž složení je uvedeno v kapitole 5.2.1

Příprava půdy MPA

S přesností na 0,01g bylo naváženo 3,00g NaCl, 3,00g masového extraktu, 5,00g peptonu, 15,00g agaru do 1000ml destilované vody. Směs byla zahřívána do úplného rozpuštění a potom sterilována v autoklávu při 121°C po dobu 15 minut.

Příprava pomnožovacího bujonu

S přesností na 0,01g bylo naváženo 3,00g NaCl, 3,00g masového extraktu, 5,00g peptonu do 1000ml destilované vody. Hydroxidem draselným bylo upraveno pH na hodnotu 6,8 – 7,2. Směs byla zahřívána do úplného rozpuštění a potom sterilována v autoklávu při 121°C po dobu 15 minut.

Vlastní experiment

Bylo připraveno 5 x 50 ml roztoku sterilního bujonu a do něj bylo přidáno tolik kyseliny olejové, aby její celková koncentrace v bujonu byla 1; 1,5; 2 a 2,5%. Zároveň byl připraven kontrolní vzorek, který kyselinu olejovou neobsahoval. Ke všem vzorkům byla přidána suspenze *Escherichia coli* (500 µl). Vzorky byly inkubovány při 37°C po dobu 24 hod. Poté byla z každého vzorku provedena příslušná ředění a ta se očkovala v množství 100µl na Petriho misky s půdou MPA. Následovala opět inkubace při 37°C po dobu 24 hod.

5.4 Antimikrobiální účinek kyseliny olejové na *Salmonella*

Typhimurium

Při testování antimikrobiálního účinku kyseliny olejové na *Salmonella* Typhimurium byla použita „metoda v bujonu“.

5.4.1 Aplikace kyseliny olejové na *Salmonella* Typhimurium metodou v bujonu

Experiment byl proveden na živné půdě MPA (příprava půdy je popsána v kapitole 5.3.1)

Vlastní experiment

Bylo připraveno 5 x 50 ml sterilního bujonu (příprava bujonu je popsána v kapitole 5.3.1) a do něj bylo přidáno tolik kyseliny olejové, aby její celková koncentrace v bujonu byla 1; 1,5; 2 a 2,5%. Zároveň byl připraven kontrolní vzorek, který kyselinu olejovou neobsahoval. Ke všem vzorkům byla přidána suspenze *Salmonella* Typhimurium (500 μ l). Vzorky byly inkubovány při 37°C po dobu 24 hod. Poté byla z každého vzorku provedena příslušná ředění a ta se očkovala v množství 100 μ l na Petriho misky s půdou MPA. Následovala opět inkubace při 37°C po dobu 24 hod.

5.5 Antimikrobiální účinek kyseliny olejové na *Staphylococcus aureus*

Při testování antimikrobiálního účinku kyseliny olejové na *Staphylococcus aureus* byla použita „metoda v bujonu“.

5.5.1 Aplikace kyseliny olejové na *Staphylococcus aureus* metodou v bujonu

Experiment byl proveden na živné půdě MPA (příprava půdy je popsána v kapitole 5.3.1)

Vlastní experiment

Bylo připraveno 5 x 50 ml sterilního bujonu (příprava bujonu je popsána v kapitole 5.3.1) a do něj bylo přidáno tolik kyseliny olejové, aby její celková koncentrace v bujonu byla 1; 1,5; 2 a 2,5%. Zároveň byl připraven kontrolní vzorek, který kyselinu olejovou neobsahoval. Ke všem vzorkům byla přidána suspenze *Staphylococcus aureus* (500 μ l). Vzorky byly inkubovány při 37°C po dobu 24 hod. Poté byla z každého vzorku provedena příslušná ředění a ta se očkovala v množství 100 μ l na Petriho misky s půdou MPA. Následovala opět inkubace při 37°C po dobu 24 hod.

5.6 Antimikrobiální účinek kyseliny olejové na *Pseudomonas fluorescens*

Při testování antimikrobiálního účinku kyseliny olejové na *Pseudomonas fluorescens* byla použita „metoda v bujonu“.

5.6.1 Aplikace kyseliny olejové na *Pseudomonas fluorescens* metodou v bujonu

Experiment byl proveden na živné půdě MPA (příprava půdy je popsána v kapitole 5.3.1)

Vlastní experiment

Bylo připraveno 5 x 50 ml sterilního bujonu (příprava bujonu je popsána v kapitole 5.3.1) a do něj bylo přidáno tolik kyseliny olejové, aby její celková koncentrace v bujonu byla 1; 1,5; 2 a 2,5%. Zároveň byl připraven kontrolní vzorek, který kyselinu olejovou neobsahoval. Ke všem vzorkům byla přidána suspenze *Pseudomonas fluorescens* (500 μ l). Vzorky byly inkubovány při 25°C po dobu 24 hod. Poté byla z každého vzorku provedena příslušná ředění a ta se očkovala v množství 100 μ l na Petriho misky s půdou MPA. Následovala opět inkubace při 25°C po dobu 24 hod.

5.7 Charakteristika statického vyhodnocovacího počítačového programu STATVYD

Pro statistické vyhodnocení experimentů byl použit statistický program STATVYD verze 2.0 beta. Program umožňuje zpracování dat v prostředí Microsoft Excel.

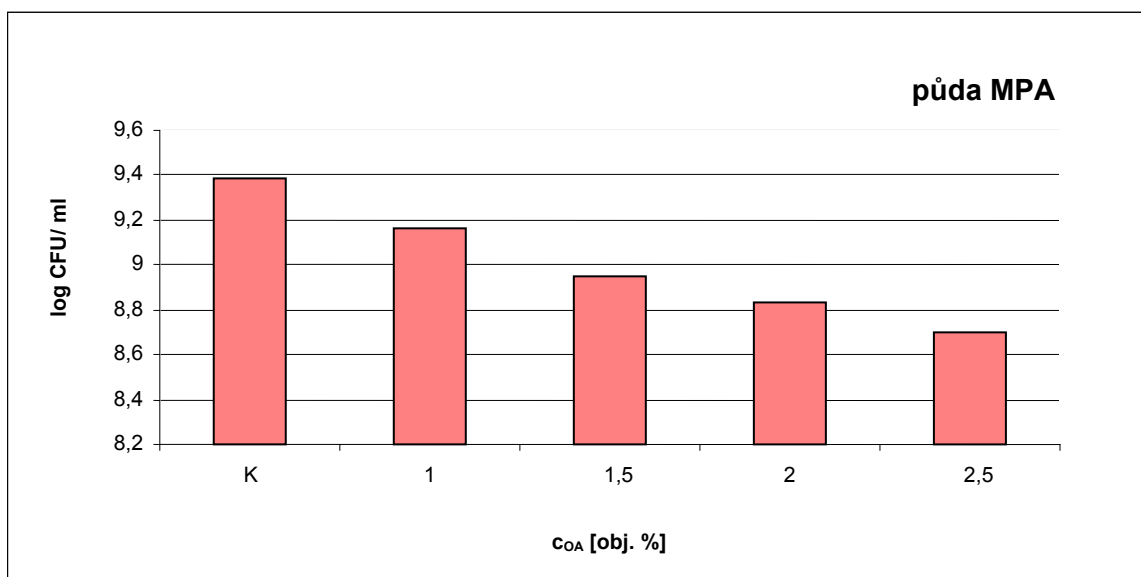
Při vyhodnocování dat se postupovalo následujícím způsobem. Nejprve bylo zapotřebí zvolit jeden ze tří modulů a to analýza rozptylu. Modul analýza rozptylu zahrnuje jednofaktorovou analýzu rozptylu pro nezávislé výběry. U analýzy rozptylu jde o testování významnosti odchylek hodnot mezi více jako dvěma výběrovými soubory. Jedná se o oboustranné testy. Mezi dále nabízenými metodami byla zvolena neparametrická analýza, ve které lze zadat 3 až 20 výběrových souborů, přičemž každý z výběrových souborů může zahrnovat až 200 dat. V tomto případě se pracovalo se čtyřmi až sedmi výběrovými soubory. Množství dat bylo různé. První analýzou software vyhodnotí, zda se hypotéza o shodě hodnot přijímá nebo zamítá. Pokud je hypotéza zamítnuta, je vhodné se zabývat tím, které soubory se od sebe liší. Software poskytuje tři možnosti párových testování. V tomto případě bylo zvoleno srovnání dvojic pro hladinu významnosti $\alpha = 0,05$ pro stejné rozsahy výběrů s maximálně 25 daty v jednom výběru a pro počet výběrů menší než 11. Samotné vyhodnocení je pak provedeno Kruskal-Wallisovým testem. Zobrazí se tabulka, kde jak v záhlaví, tak i v legendě jsou čísla výběrových souborů (popisky např. K, 0,1 % atd.). V jejich průsečících jsou výsledky testů. Zobrazí-li se „S“, pak na dané hladině významnosti nebyl shledán statisticky významný rozdíl mezi hodnotami srovnávaných souborů. Zobrazí-li se „R“, pak na dané hladině významnosti existuje statisticky významný rozdíl mezi hodnotami srovnávaných souborů.

6. VÝSLEDKY A DISKUZE

6.1 Výsledky měření antimikrobiálního účinku kyseliny olejové na *Escherichia coli*

Tabulka 7 Vyhodnocení CFU *Escherichia coli* na půdě MPA

Koncentrace [obj. %]	Kontrolní vzorek	1	1,5	2	2,5
CFU . ml ⁻¹	2,51.10 ⁹	1,46.10 ⁹	8,85.10 ⁸	6,8.10 ⁸	5.10 ⁸
log CFU . ml ⁻¹	9,39	9,16	8,95	8,83	8,7



Obrázek 12 Závislost CFU *Escherichia coli* na koncentraci OA

Pozn.: c_{OA} – koncentrace kyseliny olejové

Statistické hodnocení:

Tabulka 8 Statistické vyhodnocení antibakteriálního účinku OA na *Escherichia coli*

Kruskal-Wallisovým testem

Výběry	Výběry				
	K	1%	1,5%	2%	2,5%
K					
1%	S				
1,5%	S	S			
2%	R	S	S		
2,5%	R	S	S	S	

Pozn.: S – nebyl shledán statisticky významný rozdíl

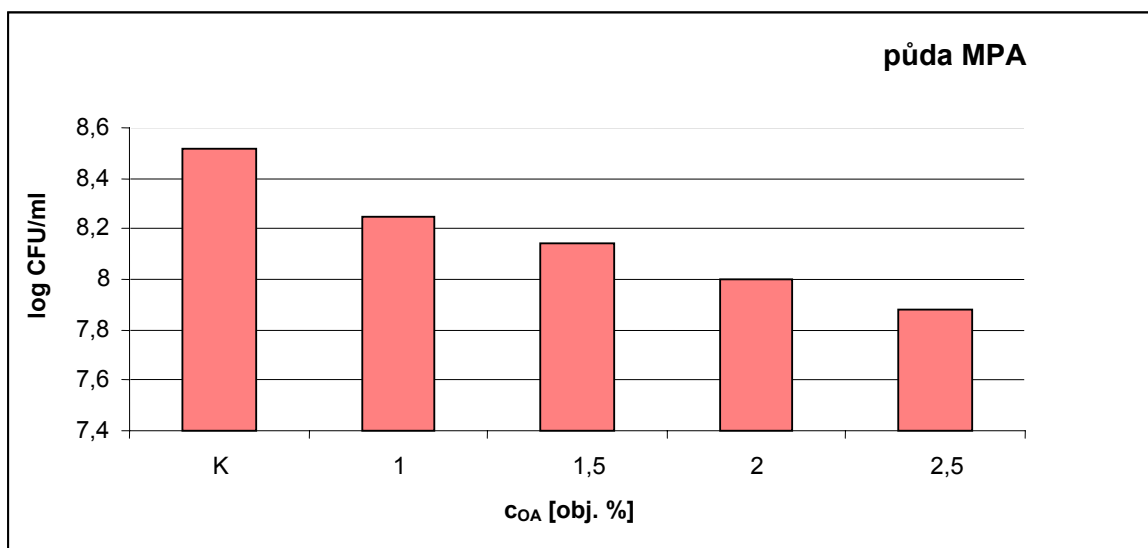
R – byl shledán statisticky významný rozdíl

Na hladině významnosti 5% existuje statisticky významný rozdíl mezi kontrolním vzorkem a koncentrací kyseliny olejové 2 a 2,5 obj. %

6.2 Výsledky měření antimikrobiálního účinku kyseliny olejové na *Salmonella Typhimurium*

Tabulka 9 Vyhodnocení CFU *Salmonella Typhimurium* na půdě MPA

Koncentrace [obj. %]	Kontrolní vzorek	1	1,5	2	2,5
CFU . ml ⁻¹	3,28.10 ⁸	1,76.10 ⁸	1,38.10 ⁸	9,9.10 ⁷	7,6.10 ⁷
log CFU . ml ⁻¹	8,52	8,25	8,14	8	7,88



Obrázek 13 Závislost CFU *Salmonella Typhimurium* na koncentraci OA

Statistické hodnocení:

Tabulka 10 Statistické vyhodnocení antibakteriálního účinku OA na *Salmonella* Typhimurium Kruskal-Wallisovým testem

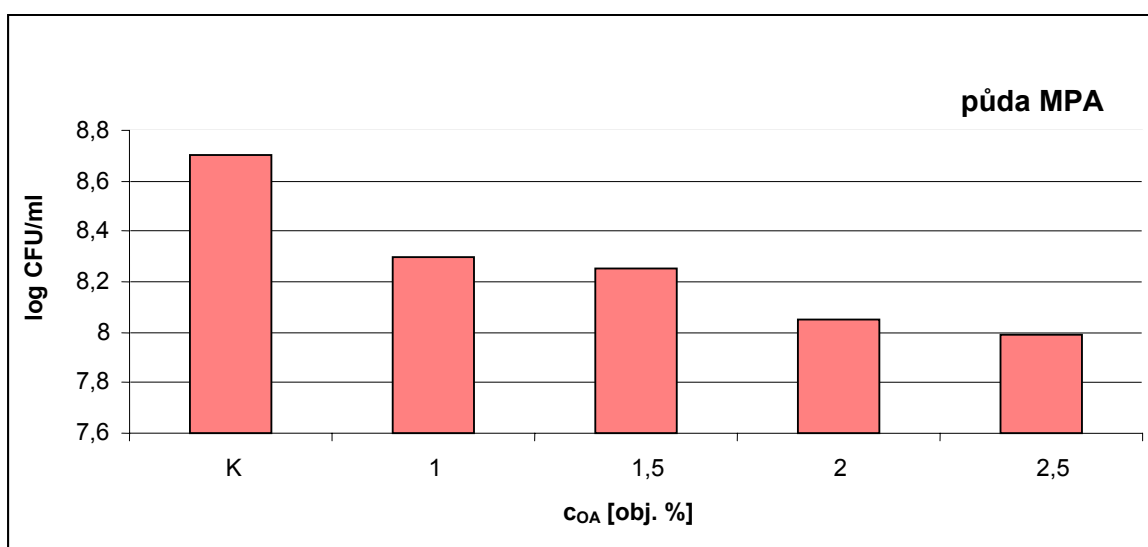
Výběry	Výběry				
	K	1%	1,5%	2%	2,5%
K					
1%	S				
1,5%	S	S			
2%	R	S	S		
2,5%	R	R	S	S	

Statisticky významný rozdíl je mezi kontrolním vzorkem a koncentracemi kyseliny olejové 2 a 2,5 obj.%, ale také mezi koncentracemi 1 a 2,5 obj.%

6.3 Výsledky měření antimikrobiálního účinku kyseliny olejové na *Staphylococcus aureus*

Tabulka 11 Vyhodnocení CFU *Staphylococcus aureus* na půdě MPA

Koncentrace [obj. %]	Kontrolní vzorek	1	1,5	2	2,5
CFU . ml ⁻¹	5,01.10 ⁸	1,98.10 ⁸	1,76.10 ⁸	1,12.10 ⁸	9,8.10 ⁷
log CFU . ml ⁻¹	8,7	8,3	8,25	8,05	7,99



Obrázek 14 Závislost CFU *Staphylococcus aureus* na koncentraci OA

Statistické hodnocení:

Tabulka 12 Statistické vyhodnocení antibakteriálního účinku OA na *Staphylococcus aureus* Kruskal-Wallisovým testem

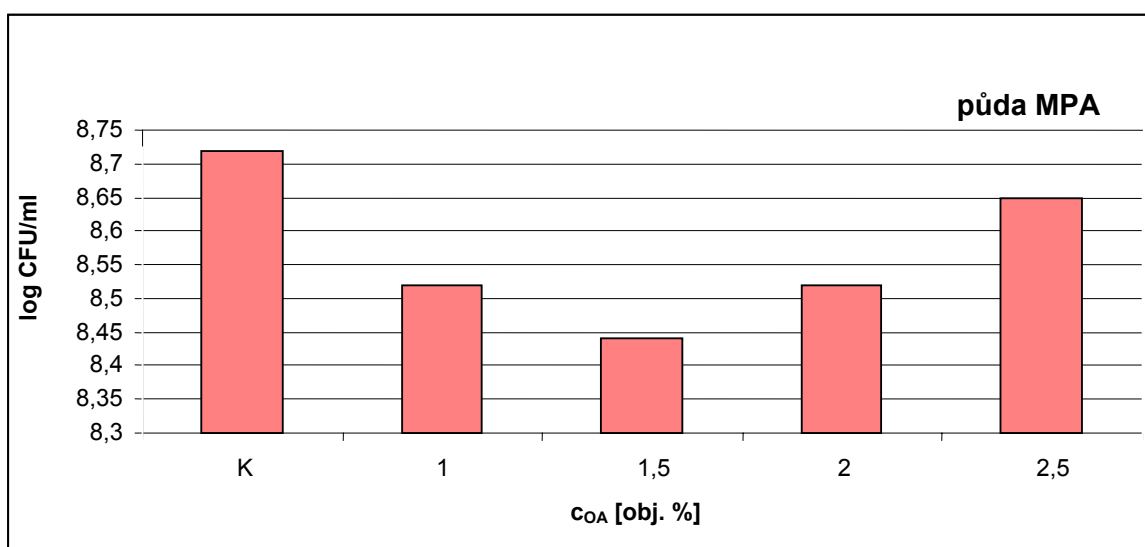
Výběry	Výběry				
	K	1%	1,5%	2%	2,5%
K					
1%	S				
1,5%	S	S			
2%	R	S	S		
2,5%	R	S	S	S	

Statisticky významné rozdíly mezi kontrolním vzorkem a koncentrací kyseliny olejové neexistují. Statisticky významné rozdíly jsou pouze mezi 2 a 2,5 obj.% kyseliny olejové.

6.4 Výsledky měření antimikrobiálního účinku kyseliny olejové na *Pseudomonas fluorescens*

Tabulka 13 Vyhodnocení CFU *Pseudomonas fluorescens* na půdě MPA

Koncentrace [obj. %]	Kontrolní vzorek	1	1,5	2	2,5
CFU . ml ⁻¹	5,2.10 ⁸	3,28.10 ⁸	2,78.10 ⁸	3,28.10 ⁸	4,44.10 ⁸
log CFU . ml ⁻¹	8,72	8,52	8,44	8,52	8,65



Obrázek 15 Závislost CFU *Pseudomonas fluorescens* na koncentraci OA

Statistické hodnocení:

Tabulka 14 Statistické vyhodnocení antibakteriálního účinku OA na *Pseudomonas fluorescens* Kruskal-Wallisovým testem

Výběry	Výběry				
	K	1%	1,5%	2%	2,5%
K					
1%	S				
1,5%	R	S			
2%	S	S	S		
2,5%	S	S	S	S	

Na hladině významnosti 5% existují statisticky významné rozdíly pouze kontrolním vzorkem a koncentrací kyseliny olejové 1,5 obj.%. Ostatní koncentrace jsou statisticky nevýznamné. *Pseudomonady* jsou známé tím, že degradují tuky. Štěpy tuků využívají ke svému metabolismu, proto ze zvyšující se koncentrací kyseliny olejové kolonie rostly.

ZÁVĚR

Cílem této bakalářské práce bylo sledovat účinek kyseliny olejové na vybrané kmeny bakterií. V celé práci byla uplatněna metoda „v bujónu“. Tato metoda byla použita u všech sledovaných bakterií. Z celkového pohledu na antibakteriální účinek kyseliny olejové nelze říci, zda existuje rozdíl mezi gramnegativní či grampozitivní skupinou bakterií. Nelze ale vyloučit, že by kyselina olejová nevykazovala žádný účinek.

S přidavkem kyseliny olejové byl značný úbytek růstu *Escherichia coli* až v koncentraci 2 a 2,5 obj.%. U *Salmonella Typhimurium* byl úbytek jak mezi kontrolním vzorkem a koncentrací kyseliny olejové 2 a 2,5 obj.%, tak i statistický rozdíl mezi koncentrací 1 a 2,5 obj.%. U *Staphylococcus aureus* byl úbytek stejný jako u *Escherichia coli* a to 1 a 2,5 obj.%. U *Pseudomonas fluorescens* byl úbytek růstu značný pouze při koncentraci 1,5 obj.%. Při vyšších koncentracích docházelo k nárůstu kolonií, nikoliv k úbytku.

O kyselině olejové je známo, že některé druhy bakterií ji využívají ke svým metabolismům. Pro jiné je součástí biomembrán, tedy je pro některé bakterie nepostradatelnou součástí.

SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY

- (1) Country Life magazín k pramenům zdraví, *Panenské oleje* [online] 2007 [cit.29.4.2008]. Dostupné na WWW: http://www.magazinzdravi.cz/soubory/panenske_oleje.pdf
- (2) ČECHOVÁ Leona, JANALÍKOVÁ Magda *Obecná mikrobiologie* 1. vyd. Zlín: UTB ve Zlíně 2007. ISBN 978-80-7318-519-9
- (3) DAVÍDEK J. aj. *Chemie potravin* 1. vyd. Praha: SNTL/ALFA 1983. ISBN 04-815-83
- (4) EUZÉBY J.P. *Revised Salmonella nomenclature: designation of Salmonella enterica (ex Kauffmann and Edwards 1952) Le Minor and Popoff 1987 sp. nov., nom. rev. as the neotype species of the genus Salmonella Lignieres 1900 (Approved Lists 1980), rejection of the name Salmonella choleraesuis (Smith 1894) Weldin 1927 (Approved Lists 1980), and conservation of the name Salmonella typhi (Schroeter 1886) Warren and Scott 1930 (Approved Lists 1980). Request for an Opinion International Journal of Systematic Bacteriology*, 1999 (number 49, pages 927-930). Printed in Great Britain
- (5) GREENWOOD David, SLACZ Richard, PEUTHERER John a kolektiv *Lékařská mikrobiologie – Přehled infekčních onemocnění: patogeneze, imunita, laboratorní diagnostika a epidemiologie*. GRADA Publishing. Praha 1999
- (6) GROSSMANN Miroslav *Mikrobiologie v hygieně* 1. vyd. Vyškov: VUŠPV 1999. ISBN 80-7231-037-2
- (7) HOZA Ignác, KRAMÁŘOVÁ Daniela *Potravinářská biochemie* 1. vyd. Zlín: UTB ve Zlíně 2005. ISBN 80-7318-295-5
- (8) HRABĚ Jan, BŘEZINA Pavel, VALÁŠEK Pavel *Technologie výroby potravin živočišného původu* 1. vyd. Zlín: UTB ve Zlíně 2006. ISBN 80-7318-405-2
- (9) JUNGBAUEROVÁ Ludmila *Úvod do mikrobiologie* Praha: Karolinum – nakladatelství Univerzity Karlovy 1998. ISBN 382-233-97
- (10) Natures Bounty, *Omega-9 mastné kyseliny* [online] 2008 [cit. 29.3.2008]. Dostupné na WWW: <http://www.omefor.cz/slozeni-produktu.html>
- (11) Otevřená encyklopedie, *Kyselina olejová* [online] 2008 [cit. 29.3.2008]. Dostupné na WWW: http://cs.wikipedia.org/wiki/Kyselina_olejová

- (12) Palm Kernel Oil, *OilsbyNaturate* [online] 2008 [cit. 21.3.2008]. Dostupné na WWW: <http://www.oilsbynaturate.com/products/palm-kernel-oil-non-hydrogenated-refined.htm>
- (13) POKORNÝ Jan, DUBSKÁ Ludmila *Technologie tuků* Praha SNTL 1986
- (14) SEDLÁČEK Ivo *Taxonomie prokaryot* 1. vyd. Brno: MU v Brně 2007. ISBN 80-210-4207-9
- (15) SIMEONOVÁ Jana aj. *Technologie drůbeže, vajec a minoritních produktů* 1. vyd. Brno: MZLU v Brně 1999. ISBN 80-7157-405-8
- (16) ŠILHÁNKOVÁ Ludmila *Mikrobiologie pro potravináře a biotechnology* Academia Praha 2002. ISBN 80-200-1024-6
- (17) ŠILHÁNKOVÁ Ludmila *Mikrobiologické zkoumání potravin* 1. vyd. Praha: VŠCHT v Čs redakci VN MON 1987
- (18) VOTAVA Miroslav a kolektiv *Lékařská mikrobiologie II. – Přehled vyšetřovacích metod v lékařské mikrobiologii* Brno: MU v Brně 2000. ISBN 80-210-2272-8

SEZNAM POUŽITÝCH SYMBOLŮ A ZKRATEK

UTI	Urinary Tract Infections (infekce močových cest)
MK	Mastná kyselina
OA	Kyselina olejová
c _{OA}	Koncentrace kyseliny olejové
MPA	Masopeptonový agar
MPB	Masopeptonový bujon
CFU	Colonia Forming Units (kolonie tvořící jednotky)

SEZNAM OBRÁZKŮ

Obrázek 1 <i>Escherichia coli</i> elektronový mikroskop.....	12
Obrázek 2 <i>Escherichia coli</i> barvení podle Grama	12
Obrázek 3 <i>Salmonella</i> Typhimurium elektronový mikroskop	14
Obrázek 4 <i>Salmonella</i> Typhimurium barvení podle Grama	14
Obrázek 5 <i>Pseudomonas fluorescens</i> elektronový mikroskop	15
Obrázek 6 <i>Pseudomonas fluorescens</i> barvení podle Grama.....	15
Obrázek 7 <i>Staphylococcus aureus</i> elektronový mikroskop.....	16
Obrázek 8 <i>Staphylococcus aureus</i> barvení podle Grama	16
Obrázek 9 Geometrická isomerie kyseliny olejové a kyseliny elaidové	20
Obrázek 10 Plod palmy olejný.....	23
Obrázek 11 Olivový olej.....	24
Obrázek 12 Závislost CFU <i>Escherichia coli</i> na koncentraci OA.....	31
Obrázek 13 Závislost CFU <i>Salmonella</i> Typhimurium na koncentraci OA.....	32
Obrázek 14 Závislost CFU <i>Staphylococcus aureus</i> na koncentraci OA	33
Obrázek 15 Závislost CFU <i>Pseudomonas fluorescens</i> na koncentraci OA.....	34

SEZNAM TABULEK

Tabulka 1 Výskyt salmonel v potravinách	15
Tabulka 2 Složení mastných kyselin v některých tuhých tucích	21
Tabulka 3 Průměrný obsah jednotlivých živin v 1 litru kravského mléka	23
Tabulka 4 Složení palmojadrového oleje.....	23
Tabulka 5 Složení masopeptonového agaru	27
Tabulka 6 Složení masopeptonového bujonu	27
Tabulka 7 Vyhodnocení CFU <i>Escherichia coli</i> na půdě MPA.....	31
Tabulka 8 Statistické vyhodnocení antibakteriálního účinku OA na <i>Escherichia coli</i> Kruskal-Wallisovým testem	31
Tabulka 9 Vyhodnocení CFU <i>Salmonella</i> Typhimurium na půdě MPA.....	32
Tabulka 10 Statistické vyhodnocení antibakteriálního účinku OA na <i>Salmonella</i> Typhimurium Kruskal-Wallisovým testem	33
Tabulka 11 Vyhodnocení CFU <i>Staphylococcus aureus</i> na půdě MPA.....	33
Tabulka 12 Statistické vyhodnocení antibakteriálního účinku OA na <i>Staphylococcus aureus</i> Kruskal-Wallisovým testem.....	34
Tabulka 13 Vyhodnocení CFU <i>Pseudomonas fluorescens</i> na půdě MPA	34
Tabulka 14 Statistické vyhodnocení antibakteriálního účinku OA na <i>Pseudomonas fluorescens</i> Kruskal-Wallisovým testem	35