

# Antimikrobiální účinek extraktů z rostlin na vybrané mikroorganismy

Bc. Eva Svobodová

---

Diplomová práce  
2024



Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně  
Fakulta technologická

---

Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně

Fakulta technologická  
Ústav technologie potravin

Akademický rok: 2023/2024

# ZADÁNÍ DIPLOMOVÉ PRÁCE

(projektu, uměleckého díla, uměleckého výkonu)

Jméno a příjmení: Bc. Eva Svobodová  
Osobní číslo: T22622  
Studijní program: N0721A210004 Technologie potravin  
Forma studia: Kombinovaná  
Téma práce: Antimikrobiální účinek extraktů z rostlin na vybrané mikroorganismy

## Zásady pro vypracování

### I. Teoretická část

Charakteristika přírodních antimikrobiálních látek obsažených v rostlinách.

Přehled a charakteristika vybraných rostlin použitých v praktické části.

Možnosti extrakce biologicky aktivních látek z rostlin.

### II. Praktická část

Příprava extraktů z vybraných rostlin a bylin.

Stanovení antimikrobiální aktivity vytvořených extraktů.

Zhodnocení získaných výsledků a jejich diskuze.

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

**Seznam doporučené literatury:**

- [1] BOR, T., S. O. Aljaloud, R. Gyawali a A. S. Ibrahim. *Antimicrobials from herbs, spices, and plants. Fruits, Vegetables, and Herbs: Bioactive Foods in Health Promotion*. Oxford: Academic Press, 2016, s. 551-578, ISBN: 978-0-12-802972-5
- [2] Taylor, T. M. *Handbook of Natural Antimicrobials for Food Safety and Quality*. 1st ed., Cambridge: Woodhead Publishing, 2015, 442 s., ISBN 978-1-78242-042-2
- [3] Vědecké zdroje zahrnuté v databázích ScienceDirect, Web of Science, Scopus, SciFinder Scholar aj.

Vedoucí diplomové práce: **Ing. Khatantuul Purevdorj, Ph.D.**  
Ústav inženýrství ochrany životního prostředí

Datum zadání diplomové práce: **1. ledna 2024**  
Termín odevzdání diplomové práce: **10. května 2024**

L.S.

---

**prof. Ing. Roman Čermák, Ph.D.**  
děkan

---

**Ing. Robert Gál, Ph.D.**  
ředitel ústavu

Ve Zlíně dne 10. února 2024

## **PROHLÁŠENÍ AUTORKY DIPLOMOVÉ PRÁCE**

Beru na vědomí, že:

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

### **Prohlašuji,**

- že jsem na diplomové práci pracovala samostatně a použitou literaturu jsem citovala. V případě publikace výsledků budu uvedena jako spoluautorka.
- že odevzdaná verze diplomové práce a verze elektronická nahraná do IS/STAG jsou obsahově totožné.

Ve Zlíně dne:

Jméno a příjmení studentky:

.....  
podpis studentky

## **ABSTRAKT**

Tato diplomová práce se zabývá antimikrobiálními účinky různých typů extraktů vybraných rostlin na mikroorganismy figurující v popředí problematiky potravinářského průmyslu. Teoretická část popisuje konkrétní antimikrobiální látky vyskytující se v rostlinách a jejich účinek. Zbylé kapitoly tvoří přehled nejčastější možnosti extrakce biologicky aktivních rostlinných látek a charakterizaci jedenácti použitých rostlin. V praktické části byly extrakty z rostlin získány pomocí louhování za tepla (nálev) i za studena (macerace) a působením mikrovlnného záření. Jako extrakční rozpouštědlo byla použita voda a ethanol. Antimikrobiální účinek byl testován a vyhodnocován pomocí diskové difúzní metody. Nejcitlivější bakteriální kmeny byly grampozitivní bakterie *S. aureus* a *E. feacalis*. Mezi nejúčinnější extrakty patřily vodné maceráty a vodné nálevy a mezi rostliny s největší antimikrobiální aktivitou patřila dobromysl obecná, jahodník obecný a máta peprná.

Klíčová slova: antimikrobiální účinek, antimikrobiální látka, rostlinný extrakt, extrakce

## **ABSTRACT**

This thesis undertakes an investigation into the antimicrobial properties exhibited by various extracts sourced from chosen plants, targeting microorganisms of relevance within the realm of the food industry. The theoretical section describes the specific antimicrobial substances that occur naturally in plants and their effect. The remaining chapters provide an overview of the most common methods for extracting biologically active plant compounds and a characterisation of the eleven plants used. In the practical section, extracts from plants were obtained using hot leaching (infusion) and cold leaching (maceration) and microwave radiation. Water and ethanol were used as extraction solvents. The antimicrobial effect was tested and evaluated using the disc diffusion method. The most sensitive bacterial strains were gram-positive bacteria *S. aureus* and *E. feacalis*. The most effective extracts were aqueous infusions of plants. Among the plants with the greatest antimicrobial activity were oregano, common strawberry, and peppermint.

Keywords: antimicrobial effect, antimicrobial substance, plant extract, extraction

Na tomto místě bych ráda poděkovala vedoucí mé diplomové práce, Ing. Khatantuul Purevdorj, Ph.D. za odborné vedení, cenné rady, připomínky, ochotu a čas, který mi věnovala. Dále bych chtěla poděkovat své sestře za pomoc při sběru a sušení rostlin pro praktickou část této diplomové práce. Děkuji bratrovi a nejbližším za bezmeznou podporu, trpělivost při studiu, a především při dokončování této závěrečné práce.

V neposlední řadě patří velké díky rodinným známým, kteří mi zpříjemňovali a umožnili poklidný pobyt ve Zlíně během studia a mým rodičům, kteří mě vždy podporovali, celou cestu k inženýrskému titulu prožívali se mnou a už od dětství mi připravili zázemí, díky kterému jsem se mohla věnovat tomu, co mě baví.

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

# OBSAH

ÚVOD.....	9
<b>I TEORETICKÁ ČÁST .....</b>	<b>10</b>
<b>1 PŘÍRODNÍ LÁTKY A JEJÍCH ÚČINEK .....</b>	<b>11</b>
1.1 PŘÍRODNÍ ANTIBAKTERIÁLNÍ LÁTKY OBSAŽENY V ROSTLINÁCH.....	12
1.1.1 Fenolické látky .....	13
1.1.2 Terpeny a terpenoidy.....	17
1.1.3 Alkaloidy.....	19
1.1.4 Organické sloučeniny síry.....	20
1.2 POUŽITÍ PŘÍRODNÍCH ROSTLINNÝCH ANTIMIKROBIÁLNÍCH LÁTEK PRO KONZERVACI POTRAVIN .....	21
<b>2 MOŽNOSTI EXTRAKCE BIOLOGICKY AKTIVNÍCH LÁTEK Z ROSTLIN .....</b>	<b>22</b>
2.1 VÝLUH .....	23
2.2 ODVAR .....	23
2.3 MACERACE.....	24
2.4 PERKOLACE.....	24
2.5 SOXHLETOVA EXTRAKCE .....	24
2.6 ULTRAZVUKEM ASISTOVANÁ EXTRAKCE .....	25
2.7 EXTRAKCE ZA POMOCI MIKROVLNNÝCH VLN .....	26
<b>3 PŘEHLED A CHARAKTERISTIKA VYBRANÝCH ROSTLIN POUŽITÝCH V PRAKTICKÉ ČÁSTI .....</b>	<b>27</b>
3.1 JITROCEL KOPINATÝ ( <i>PLANTAGO LANCEOLATA</i> ).....	27
3.2 MÁTA PEPRNÁ ( <i>MENTHA PIPERITA</i> ).....	27
3.3 JAHODNÍK OBECNÝ ( <i>FRAGARIA VESCA</i> ).....	28
3.4 KOPŘIVA DVOUDOMÁ ( <i>URTICA DIOICA</i> ).....	29
3.6 DOBROMYSL OBECNÁ ( <i>ORIGANUM VULGARE</i> ) .....	30
3.7 ŘEBŘÍČEK LÉKAŘSKÝ ( <i>ACHILLEA MILLEFOLIUM</i> ) .....	30
3.8 MĚSÍČEK LÉKAŘSKÝ ( <i>CALENDULA OFFICINALIS</i> ).....	31
3.9 PAMPELIŠKA LÉKAŘSKÁ ( <i>TARAXACUM OFFICINALE</i> ).....	32
3.10 BEZ ČERNÝ ( <i>SAMBUCUS NIGRA</i> ) .....	32
<b>II PRAKTICKÁ ČÁST .....</b>	<b>33</b>
<b>4 MATERIÁL A METODIKA .....</b>	<b>34</b>
4.1 POMŮCKY.....	34
4.2 PŘÍSTROJE .....	34
4.3 POUŽITÉ CHEMIKÁLIE A ROZTOKY .....	34

4.4	PŘÍPRAVA EXTRAKTŮ .....	35
4.4.1	Příprava nálevu.....	35
4.4.2	Macerace .....	36
4.4.3	Mikrovlnná extrakce (MAE – microwave assisted extraction).....	37
4.5	TESTOVANÉ KMENY BAKTERIÍ.....	38
4.5.1	Přehled a charakteristika vybraných kmenů .....	38
4.5.2	Identifikace bakterií pomocí MALDI – TOF .....	38
4.5.3	Uchovávání testovaných kmenů .....	39
4.6	STANOVENÍ MINIMÁLNÍ INHIBIČNÍ KONCENTRACE .....	39
4.6.1	Příprava bakteriální suspenze.....	39
4.6.2	Antimikrobiální test diskovou difúzní metodou .....	39
<b>5</b>	<b>VÝSLEDKY.....</b>	<b>41</b>
5.1	PROVEDENÍ TESTOVÁNÍ.....	41
5.2	ANTIMIKROBIÁLNÍ AKTIVITA ROSTLINNÝCH EXTRAKTŮ.....	41
5.2.1	Jitrocel kopinatý ( <i>Plantago lanceolata</i> ).....	41
5.2.2	Máta peprná ( <i>Mentha piperita</i> ) .....	42
5.2.3	Jahodník obecný ( <i>Fragaria vesca</i> ).....	43
5.2.4	Kopřiva dvoudomá ( <i>Urtica dioica</i> ).....	44
5.2.5	Dobromysl obecná ( <i>Origanum vulgare</i> ) .....	45
5.2.6	Řebříček lékařský ( <i>Achillea millefolium</i> ).....	47
5.2.7	Měsíček lékařský ( <i>Calendula officinalis</i> ) .....	48
5.2.8	Pampeliška lékařská ( <i>Taraxacum officinale</i> ) .....	49
5.2.9	Libeček lékařský ( <i>Levisticum officinale</i> ) .....	49
5.2.10	Bez černý ( <i>Sambucus nigra</i> ) .....	49
5.3	VLIV ZPŮSOBU ZÍSKÁNÍ EXTRAKTŮ Z TESTOVANÝCH ROSTLIN NA JEJICH ANTIMIKROBIÁLNÍ AKTIVITU .....	51
5.3.1	Inhibiční účinek nálevů z testovaných rostlin.....	51
5.3.2	Inhibiční účinek macerátů z testovaných rostlin.....	53
5.3.3	Inhibiční účinek extraktů získaných pomocí mikrovln z testovaných rostlin.....	55
<b>6</b>	<b>DISKUZE .....</b>	<b>58</b>
	<b>ZÁVĚR .....</b>	<b>62</b>
	<b>SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY.....</b>	<b>64</b>
	<b>SEZNAM POUŽITÝCH SYMBOLŮ A ZKRATEK.....</b>	<b>82</b>
	<b>SEZNAM OBRÁZKŮ .....</b>	<b>83</b>
	<b>SEZNAM TABULEK.....</b>	<b>84</b>



## ÚVOD

V poslední době roste výskyt multirezistentních kmenů bakterií a výskyt kmenů se sníženou citlivostí na antibiotika. Rezistence na antibiotika tak představuje hrozbu pro globální veřejné zdraví. Špatné hygienické podmínky a nedostatečná manipulace s potravinami navíc podporují další šíření antimikrobiální rezistence (Mandal et al., 2014).

Rostliny vyvíjejí účinný obranný systém proti patogenům produkcí sekundárních metabolitů. Během posledního desetiletí byla věnována velká pozornost studiu těchto metabolitů, a to především pro jejich antibakteriální aktivitu, zejména proti multirezistentním gramnegativním a grampozitivním bakteriím. Cílem těchto výzkumných týmů je objev nových antimikrobiálních látek z přírodních zdrojů pro terapeutické a preventivní účely proti mikrobiálním chorobám, pro podporu konzervačních látek a doplňkových látek v krmivech v živočišném průmyslu (Borges et al., 2015; Hochma et al., 2021).

Na základě zmíněných informací bylo cílem této diplomové práce vytvoření přehledu nejčastěji vyskytujících se antimikrobiálních látek v rostlinách, představení možností extrakce těchto látek z rostlin a charakterizace vybraných bylin použitých ve výzkumné části. Cílem praktické části bylo stanovení antimikrobiálního účinku jedenácti rostlin vůči indikátorovým bakteriálním kmenům dominující oblasti potravinářství a zjistit vliv způsobu extrakce na jejich antimikrobiální aktivitu.

## **I. TEORETICKÁ ČÁST**

## 1 PŘÍRODNÍ LÁTKY A JEJÍCH ÚČINEK

Za přírodní látky se označují organické sloučeniny, které vznikají během chemických reakcí probíhajících v buňkách živých organismů. Jsou to sloučeniny na bázi kyslíku, uhlíku nebo dusíku, koncentráty vitamínů, minerálů izolované ze živočišných, rostlinných nebo minerálních zdrojů. Přírodní látky se dělí do skupin podle svého chemického složení, struktury a především funkcí, kterou plní v organismu (Fin, 2009).

Existují různé definice, například podle nařízení REACH „*látkami vyskytujícími se v přírodě se rozumí přirozeně se vyskytující látka jako taková, nezpracovaná nebo zpracovaná pouze ručními, mechanickými nebo gravitačními prostředky, rozpuštěním; ve vodě, flotací, extrakcí vodou, destilací vodní párou nebo zahřátím pouze za účelem odstranění vody nebo která je extrahována ze vzduchu jakýmkoli způsobem*“ (Evropská unie, 2006; Klaschka, 2015).

Většina přírodních látek jsou složité směsi sloučenin patřících do různých tříd chemických látek, např. lipidy, cukry, peptidy, fenoly, terpeny, alkaloidy a jiné. Složení těchto směsí odvozených od určitého druhu se může lišit. Například složení přírodních látek pocházejících z rostliny závisí na podmínkách růstu rostliny, jako jsou klimatické nebo půdní parametry. Dále záleží na době sklizně, na výrobních metodách nebo na podmínkách skladování a samozřejmě na částech rostlin, které byly použity. I morfologicky identické rostliny mohou obsahovat různé metabolity (Buchbauer, 2014).

Přírodní látky, které jsou produktem metabolismu organismu se dělí do dvou hlavních kategorií: primární a sekundární metabolity. Komplex zahrnující biosyntézu biologických molekul a rozklad proteinů, tuků, nukleových kyselin a sacharidů je známý jako primární metabolismus. Spolu se sloučeninami, zapojenými do drah známých jako primární metabolity tvoří nezbytnou část pro přežití a fungování organismu. Hlavní rozdíl mezi primárními a sekundárními metabolity spočívá v jejich biologických účincích. Sekundární metabolity zahrnují látky, které obecně nejsou nezbytné pro růst, vývoj nebo reprodukci organismu. Jsou výsledkem adaptace organismu na okolní prostředí, nebo jsou produkovány, aby působily jako možný obranný mechanismus pro přežití organismu. Biosyntéza sekundárních metabolitů je odvozena od základních procesů fotosyntézy, glykolýzy a Krebsova cyklu za vzniku biosyntetických meziproductů, které v konečném důsledku vedou k tvorbě sekundárních metabolitů (Dewick, 2002; Colegate et al., 2007; Dias et al., 2012; Jabeen et al., 2014).

V posledních letech stále narůstá zájem o léčbu přírodními látkami po celém světě. Jedním z důvodů je narůstající antibiotická rezistence mikroorganismů na stále se rozrůstající množství antibiotik. Tento jev se tak stává celosvětovým problémem a jedním z možných řešení je nalezení bioaktivních látek s antimikrobiálními účinky, které by se daly využít k léčbě mikrobiálních infekcí způsobených rezistentními bakteriemi. Dle Světové zdravotnické organizace využívá rostlin nebo jiných přírodních látek pro léčbu samotnou či jen podpůrnou přibližně 80 % populace. Na našem území se k léčebným účelům využívá okolo dvou set druhů rostlin (Korbelář, 1990; Foster, 2005; Wenzel, 2014).

### 1.1 Přírodní antibakteriální látky obsaženy v rostlinách

Biologicky aktivní látky přirozeně se vyskytující v rostlinách jsou velkou skupinou, které dodávají barvu, chuť, vůni a texturu. Tyto sloučeniny byly vyvíjeny po tisíce let evoluce k ochraně organismů před účinky volných radikálů, virů, bakterií a hub. Jsou široce distribuovány v ovoci, zelenině, luštěninách, celozrnných výrobcích, ořechách, semenech, houbách, bylinkách, koření a v rostlinných nápojích, jako je víno a čaj (Barbieri, 2017).

V posledních letech mnoho studií ukázalo, že biologicky aktivní látky uplatňují svou antibakteriální aktivitu prostřednictvím různých mechanismů působení, jako je poškození bakteriální membrány a potlačení faktorů virulence, včetně inhibice aktivity enzymů a toxinů a tvorby bakteriálního biofilmu. Používání těchto látek v potravinářství získává v dnešní době velkou pozornost jak u spotřebitelů, tak u výrobců. Jedním z důvodů je především nesprávné použití a zacházení s antibiotiky, což vede k dramatickému vzestupu skupin mikroorganismů, včetně potravinových patogenů, které jsou odolné vůči antibiotikům (Gyawali a Ibrahim, 2014).

Účinnost antimikrobiálních látek je dvojího typu. V prvním případě jsou účinky vybrané látky baktericidní, tzn. že jsou pro mikrobiální buňku smrtící. Takové přírodní látky mají poměrně rychlou dobu účinku, obvykle do 48 hodin. Jsou často voleny jako léčebné přípravky u klinicky závažných stavů nebo v případě, že je obranyschopnost jedince příliš nízká. V případě druhém, jsou účinky vybrané látky pouze inhibiční neboli bakteriostatické. Dochází k zastavení nebo k zpomalení růstu mikrobiální kultury. Zároveň výrazně neovlivňuje jiné funkce hostitele nebo hostitelské buňky. Antimikrobiální látky takové povahy nezatěžují organismus, jejich dostupnost je každopádně náročnější na získání (Votava, 2005). Přehled základního dělení a nejčastějších rostlinných antimikrobiálních látek s mechanismy účinku je znázorněn v tabulce 1.

Tabulka 1 Přehled nejčastějších antimikrobiálních látek  
(Převzato a upraveno dle: Ashraf et al., 2023).

Třída	Podtřída	Zástupce	Rostlinný zdroj	Cílový patogen	Mechanismus účinku
Fenolické látky	Jednoduché fenoly	Katechol	Cibule kuchyňská	<i>Pseudomonas putida</i>	Rozpad buněčné stěny
	Fenolové kyseliny	Kyselina furolová	Bez černý	<i>Escherichia coli</i> , <i>Staphylococcus aureus</i>	Narušení buněčné membrány
	Flavonoidy	Kaempferol	Jahodník obecný	<i>Staphylococcus aureus</i> MRSA	Inhibice efluxní pumpy NorA
	Chinony	Hypericin	Třezalka tečkovaná	<i>Staphylococcus aureus</i> MRSA	Ovlivnění apoptosy
	Třísloviny	Epigalokatechin	Máta peprná	<i>Staphylococcus aureus</i> MRSA	Inhibice efluxní pumpy NorA a DNA gyrázy
Terpeny		Thymol	Dobromysl obecná	<i>Salmonella typhimurium</i> , <i>Escherichia coli</i>	Rozpad buněčných membrán
Alkaloidy		Piperidinový alkaloid	Lobelka nadmutá	<i>Staphylococcus aureus</i>	Inhibice efluxních pump
Organické sloučeniny siry		Alicin	Česnek kuchyňský	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Potlačení RNA polymerázy

### 1.1.1 Fenolické látky

Fenolové sloučeniny (též fenoly) jsou sekundárními metabolity, které lze nalézt v jednoduchých nebo polymerovaných formách a obsahují aromatickou kruhovou strukturu s jednou nebo více hydroxylovými skupinami (Randhir et al., 2004; Velderrain-Rodríguez et al., 2014).

Fenolické sloučeniny jsou nejrozšířenější skupinou látek nacházejících se v rostlinách a dosud bylo studováno více než 8000 fenolických struktur, které lze rozdělit do mnoha podskupin podle jejich chemické struktury, zdroje původu a biologických funkcí. Mezi běžně klasifikované podtřídy fenolových sloučenin patří (Patra, 2012; Ashraf et al., 2023):

- jednoduché fenoly,
- fenolové kyseliny,
- flavonoidy,
- chinony,
- třísloviny.

Jednoduché fenoly (například katechol a pyrogallol), které jsou alelochemickými látkami syntetizovanými rostlinami, prokázaly ve studiích antibakteriální aktivitu proti třem vybraným bakteriálním kmenům: *Corynebacterium xerosis*, *Pseudomonas putida* a *Pseudomonas pyocyanea*. Kromě toho bylo zjištěno, že katechol disponuje i antifungálním účinkem (Kocaçalışkan et al., 2006).

Jako mechanismus účinku byl hlášen rozpad buněčné stěny, který vede ke zvýšené permeabilitě a úniku intracelulárních složek, což negativně ovlivňuje genovou expresi a vede ke snížení syntézy proteinů (Ma et al., 2019).

Fenolové kyseliny jsou v rostlinných strukturách spojovány s cukry nebo organickými kyselinami. Mezi zástupce fenolických kyselin patří kyselina gallová a kyselina ferulová, obsažená v bezu černém. Bylo zjištěno, že kyselina gallová a kyselina ferulová mají významnou antimikrobiální aktivitu proti *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Listeria monocytogenes* a *Pseudomonas aeruginosa*. Způsob účinku těchto látek je narušení buněčné membrány prostřednictvím změn membránového potenciálu (Borges et al., 2013).

Další velmi rozsáhlou skupinou rostlinných fenolů jsou flavonoidy. Jsou to polyfenolické sloučeniny s nízkou molekulovou hmotností a rostliny je využívají ke stimulaci a regulaci růstu a k obranným účelům. Flavonoidy se podle chemického složení dělí do několika skupin, a to na flavony, flavonoly, flavanony, isoflavonoidy, neoflavonoidy, katechiny (flavanoly), antokyany a chalkony. Kromě své antioxidační aktivity vykazují flavonoidy také dobrou antibakteriální aktivitu proti grampozitivním i gramnegativním izolátům pravděpodobně kvůli jejich schopnosti inhibovat DNA gyrasu funkci buněčné membrány a bakteriální energetický metabolismus. V posledních letech byly flavonoidy studovány pro jejich schopnost interagovat s DNA helikasy, proteiny nezbytnými pro replikaci, opravu a rekombinaci DNA (Cushnie a Lamb, 2005; Njume et al., 2009, Periferakis et al., 2022).

Quercetin izolovaný z koprivy dvoudomé a apigenin, který se nachází v rostlinách jako je řebříček lékařský, dobromysl obecná a bez černý, patří do skupiny rostlinných flavonoidů, které působí inhibičně na *Helicobacter pylori* a *Escherichia coli*. Mechanismus jejich účinku spočívá v inhibici ligasy, enzymu důležitého pro sestavení bakteriální buněčné stěny (Wu et al., 2008).

Baicalein je flavon nacházející se například v jitroceli kopinatém. Inhibuje efluxní pumpu NorA, čímž zvyšuje účinnost antibiotik, jako jsou  $\beta$ -laktamy, ciprofloxacín a tetracyklin, proti methicilin-rezistentnímu *Staphylococcus aureus* (MRSA). Při současném podávání s tetracyklinem vykazuje baicalein také synergický účinek proti *Escherichia coli* v důsledku inhibice efluxní pumpy (Fujita et al., 2005; Chan et al., 2011).

Kaempferol, flavonol obsažený v mátě peprné, prokázal ve studiích silnou antimikrobiální aktivitu proti *Staphylococcus aureus* MRSA, pravděpodobně inhibicí funkce DNA gyrasy (Randhawa et al., 2016; Shao et al., 2016). Bylo rovněž zjištěno, že inhibuje funkci DNA

gyrasy u *E. coli*. U tohoto flavonoidu byla také prokázána schopnost inhibice biosyntézy mastných kyselin u *Mycobacterium*, *Pseudomonas aeruginosa* a *Vibrio cholerae* interakcí s kofaktory ACP (Acal carrier protein, protein přenášející acyl), čímž dále může ovlivnit funkci buněčného obalu a tvorbu bakteriálních biofilmů u citlivých bakteriálních kmenů. Kaempferol byl rovněž schopen inhibovat DNA helikasy (SaPriA = esenciální helikasa pro restart replikace DNA) u *Staphylococcus aureus* (Periferakis et al., 2022).

Chinony jsou toxické látky vyskytující se v rostlinách a v přírodě se vyskytují poměrně běžně, zejména ve formě antrachinonů, které mají projímavé účinky. Komplexní chinony se mohou stát občasným zdrojem toxicity. V úvahu přicházejí pouze dvě látky: hypericin jako izolát třezalky a fagopyrin (Vacek et al., 2007). U hyperforinu a hypericinu byla prokázána antimikrobiální aktivita proti grampozitivním bakteriím a virům.

V minulosti byl také pozorován vliv hypericinu na spuštění apoptosy a interakce (inhibice) hypericinu s enzymy, jako jsou proteinkinasy, tyrosinkinasy. Ve vysokých dávkách působí extrakt z třezalky toxicky a může způsobovat fotoalergie, průjemy a vnitřní krvácení. Účinné látky extraktu mohou také interagovat s léčivými a snižovat jejich koncentraci v tělních tekutinách. Tento efekt byl pozorován například při aplikaci cyklosporinu (Kubin et al., 2005).

Třísloviny (neboli taniny) jsou ve vodě rozpustné polyfenoly, oddělovány ve vakuolách v rostlinné buňce, což chrání ostatní buněčné složky. Existuje mnoho definic a dělení, avšak zatím se odborníci neshodli na jednom společném. Nejčastěji jsou rozdělovány do čtyř základních skupin spolu se dvěma hlavními skupinami – hydrolyzovatelné a kondenzované (Ky et al., 2016; Smeriglio et al., 2017).

Hydrolyzovatelné taniny jsou složeny ze sacharidů, ke kterým je esterifikací připojeno několik monomerních skupin kyseliny gallové. Gallotaniny zahrnují jednoduché deriváty kyseliny gallové a ellagotaniny od kyseliny ellagové. Označení „hydrolyzovatelné taniny“ pro gallotaniny a ellagitaniny je způsobeno skutečností, že tyto sloučeniny lze hydrolyzovat. Během hydrolyzy se podle skupiny taninů uvolňuje kyselina gallová nebo kyselina ellagová, úpravou zředěné kyseliny, zatímco kondenzované taniny nikoli. Standardně se vyskytují v kořenech, dřevnaté části rostlin, kůře, plodech a listech rostlin, jako například katechin izolovaný z máty (Macáková et al., 2014; Amarowicz a Janiak, 2019).

Kondenzované taniny, oligomerní nebo polymerní flavonoidy sestávající z flavanoidních prekurzorů, obvykle jsou spojeny ze dvou nebo více katechinových jednotek. Vzhledem

k tomu, že jsou to běžně se vyskytující látky v ovoci, například v hroznech je tato skupina taninů rozšířenější a zahrnuje katechin, epikatechin, galokatechin a epigalokatechin (Huang et al., 2018).

U epigalokatechinu, izolátu z máty peprné, byl ve studii potvrzen antimikrobiální účinek vůči *Staphylococcus aureus* MRSA. Antimikrobiální mechanismus spočívá v inhibici efluxní pumpy NorA, inhibici chromozomální peniciliny a DNA gyrazy (Graišar et al., 2007).

Ve studiích bylo potvrzeno, že třísloviny mají mnohem účinnější antimikrobiální účinek na grampozitivní bakterie než gramnegativní. Tento rozdíl v aktivitě je způsoben účinkem tříslovin. Taniny procházejí bakteriální buněčnou stěnou a interferují s metabolismem bakteriální buňky. Na druhou stranu dvouvrstvé buněčné stěny gramnegativních bakterií nabízejí velkou odolnost pro průchod tříslovin, a proto je jejich aktivita snížena (Chung et al., 1998).

Jeden z nejznámějších zástupců, kurkumin, hojně se vyskytující v kurkumě, prokázal antimikrobiální aktivitu proti *Escherichia coli* a *Staphylococcus aureus*. Antibakteriální aktivita je přičítána její schopnosti poškodit membránu zvýšením její propustnosti (Tyagi et al., 2015).

Antimikrobiální aktivity taninů jsou dobře zdokumentovány. Taniny v rámci výzkumu potvrdili inhibici růstu mnoha hub, kvasinek, bakterií a virů. Jejich antimikrobiální vlastnosti se zdály být spojeny s hydrolyzou esterové vazby mezi kyselinou galovou a polyoly hydrolyzovanými po dozrání mnoha jedlých plodů. Taniny v těchto plodech tak slouží jako přirozený obranný mechanismus proti mikrobiálním infekcím. Antimikrobiální vlastnosti tříslovin je možné využít při zpracování potravin ke zvýšení trvanlivosti určitých potravin. Taniny se aplikují při výrobě a barvení kůže, dále se využívají při číření vína a piva. (Choubey et al., 2018).

Fenolické látky prokázaly různé mechanismy proti různým bakteriím, od inhibice efluxních pump, narušení buněčné membrány a inhibice syntézy buněčné stěny až po inhibici biosyntézy klíčových enzymů. Pozorované vlastnosti fenolických látek jako antibakteriálních látek z nich činí žádoucí kandidáty pro další studie *in vitro* (Ashraf et al., 2023).

Vzhledem k tomu, že rostlinné materiály mohou obsahovat v různém množství fenolické látky, od jednoduchých až po vysoce polymerizované látky jako výše zmíněné taniny,



neexistuje proto žádný univerzální extrakční postup vhodný pro extrakci všech rostlinných fenolických látek. V závislosti na použitém rozpouštědlovém systému během extrakce bude z rostlinných materiálů extrahována směs fenolických látek rozpustných v rozpouštědle. Může také obsahovat některé ne-fenolické látky, jako je cukr, organické kyseliny a tuky. V důsledku toho mohou být vyžadovány další kroky k odstranění těchto nežádoucích součástí (Dai et al., 2010).

Pro extrakci fenolických látek z rostlinných materiálů se z rozpouštědel používají methanol, ethanol, aceton, ethylacetát a jejich kombinace. Často se aplikují s různými podíly vody. Výběr správného rozpouštědla ovlivňuje množství a rychlost extrahovaných polyfenolů. Zejména bylo obecně zjištěno, že methanol je účinnější při extrakci polyfenolů s nižší molekulovou hmotností, zatímco flavanoly s vyšší molekulovou hmotností se lépe extrahují vodným acetonem. Ethanol je dalším dobrým rozpouštědlem pro extrakci polyfenolů a je bezpečný pro lidskou spotřebu. Při přípravě fenolických extraktů bohatých na antokyany z rostlinných materiálů se používá okyselené organické rozpouštědlo, nejčastěji methanol nebo ethanol. Tento systém rozpouštědel denaturuje buněčné membrány, současně rozpouští antokyany a stabilizuje je (Prior et al., 2001; Shi et al., 2005; Xu et al., 2007).

### 1.1.2 Terpeny a terpenoidy

Terpeny jsou jednoduché uhlovodíky, zatímco terpenoidy (jsou také známé jako isoprenoidy) jsou terpeny s kyslíkovou skupinou a dalšími strukturálními přeskupeními. Tyto dva termíny se však často zaměňují (Boncan et al., 2020).

Terpeny jsou hlavními složkami bylinných pryskyřic a jsou zodpovědné za běžnou vůni různých rostlin. Monoterpeny jsou třídou terpenů, které se skládají ze dvou izoprenových jednotek, které se nacházejí v esenciálních olejích extrahovaných z mnoha rostlin. Během posledních dvou desetiletí byla studována antimikrobiální aktivita těchto sloučenin a několik prací ukazuje, že thymol a karvakrol, které se řadí mezi fenolické monoterpenoidy, jsou schopny inhibovat růst mnoha bakterií (Paduch et al., 2007).

Karvakrol se běžně vyskytuje mimo jiné v esenciálních olejích tymiánu a ve studiích prokázal schopnost inhibovat *Staphylococcus aureus* a *Salmonella Typhimurium* (Ashraf et al., 2023).

Thymol, který existuje též ve formě složky esenciálního oleje tymiánu, prokázal antibakteriální účinky na *Salmonella Typhimurium* a *Escherichia coli* rezistentní na tetracyklin, *Streptococcus pyogenes* rezistentní na erythromycin a *Staphylococcus aureus* MRSA. Mechanismus účinku podle mnoha studií zahrnuje rozpad buněčných membrán (Mahizan et al., 2019).

Lupeol (fytosterol a triterpen) je identifikován v mnoha jedlých druzích zeleniny, ale především v pampelišce. Přestože vykazuje významnou antimikrobiální aktivitu, mechanismus jeho účinku není jasný (Siddique a Saleem, 2011).

Za normálních okolností terpeny prokázaly silnější antimikrobiální aktivitu vůči grampozitivním bakteriím než vůči gramnegativním. Monoterpeny mění strukturu membrány změnou svého složení, což zvyšuje tekutost a propustnost a způsobuje změny v topologii membránových proteinů, což způsobuje narušení v celém dýchacím řetězci. Společně se silicemi jsou součástí pryskyřic, které jako komplex tvoří ochrannou bariéru rostliny před mikrobiální nákazou (Cowan, 1999; Paduch et al., 2007).

Terpenoidy jsou klasifikovány na základě počtu atomů uhlíku, které mají:

hemiterpenoidy (C 5), monoterpenoidy (C 10), homoterpenoidy (C 11,16), seskviterpenoidy (C 15), diterpenoidy (C 20), sesterpenoidy (C 25), triterpenoidy (C 30), tetraterpenoidy (C 40) a polyterpenoidy (C > 40, terpenoidy vyššího řádu) (Boncan et al., 2020).

Většina terpenoidů má multicyklické struktury, které se od sebe liší svými funkčními skupinami a jak již bylo zmíněno, základním uhlíkovým skeletem. Zejména je možné je nalézt ve vysoké koncentraci v reprodukčních strukturách a listech rostlin bezprostředně po odkvětu (Boncan et al., 2020).

Část sloučenin s nízkou molekulovou hmotností známých jako rostlinné těkavé látky se podílí na interakcích mezi rostlinou a prostředím a do určité míry i na reakci na abiotický stres. Terpenoidy, které jsou emitovány za účelem komunikace s okolím, se označují jako těkavé terpeny a zahrnují hemi-, mono-, homo-, seskvi- a některé diterpenoidy (Dudareva et al., 2004; Dudareva et al., 2006; Boncan et al., 2020).

Kyselina ursolová, pentacyklický triterpen, látka, identifikovaná v mnoha jedlých rostlinách, jako jsou jablka, listy majoránky, oregana, rozmarýnu, šalvěže, tymiánu, kůra černého bezu a mnoha dalších rostlin a plodů. Její antimikrobiální mechanismus účinku je spojen se schopností zpočátku ovlivňovat integritu bakteriální membrány, následovanou inhibicí syntézy proteinů a metabolické dráhy. Bylo prokázáno, že kyselina ursolová je schopna

podpořit aktivitu antibiotik a má destruktivní účinky na buněčnou membránu *Escherichia coli* (Horiuchi et al., 2007; Kim et al., 2012; Wang et al., 2016).

### 1.1.3 Alkaloidy

Alkaloidy jsou heterocyklické dusíkaté sloučeniny, jejichž chemické struktury jsou extrémně variabilní. Ve své čisté formě většina alkaloidů jsou bezbarvé, netěkavé, krystalické pevné látky bez zápachu, mívající hořkou chuť. Jsou produkovány širokou škálou rostlin a v medicíně se používají již od starověku (Cushnie, 2014).

Protože alkaloidy a další alelochemikálie obsahující dusík slouží hlavně jako obranné sloučeniny, musí být přítomny v adekvátní koncentraci a na správném místě a ve správný čas. To vyžaduje, aby metabolismus alkaloidů byl vysoce koordinovaný. Tvorba alkaloidů často závisí na vývojovém stádiu rostliny. Obsah a složení alkaloidů se může měnit v ročním nebo dokonce denním cyklu (Wink, 2016).

Jako soli se v rostlinách vážou nejčastěji na organické kyseliny, například na kyselinu šťavelovou, jablečnou, mléčnou a vinnou. Antibakteriální aktivita alkaloidů byla prokázána už v minulosti a mnoho studií ukazují, že tyto sloučeniny mohou hrát roli v léčbě mnoha infekčních onemocnění (Setyorini et al., 2022; Britannica, 2023).

Antimikrobiální aktivita alkaloidů je přičítána jejich schopnosti inhibovat činnost efluxních pump, jako je tomu i v případě piperinu. Tento piperidinový alkaloid prokázal antimikrobiální aktivitu proti *Staphylococcus aureus* a snížil hodnoty minimální inhibiční koncentrace fluorochinolonových antibiotik. Jeho inhibiční účinek proti MRSA byl způsoben již zmíněnou inhibicí efluxních pump (Ashraf et al., 2023).

Berberin je isochinolinový alkaloid, který se nachází v kůře stonku a kořenech druhů dřívěšálů a bylo zjištěno, že má antimikrobiální aktivitu proti různým mikrobům, včetně bakterií, hub, prvků a virů. Mechanismus účinku berberinu je připisován jeho schopnosti interkalovat do DNA, dále inhibovat RNA polymerasy, DNA gyrasu a topoisomerasu IV. Bylo rovněž prokázáno, že inhibuje protein FtsZ („Filamenting temperature-sensitive mutant Z“), čímž inhibuje buněčné dělení (Brynildsen et al., 2013).

Steroidní alkaloidy tomatidin a konesin mají schopnost potencovat účinek jiných antibiotik. Při použití samostatně nebo ve spojení s aminoglykosidovými antibiotiky prokázal tomatidin, který se nachází v rostlinách jako jsou rajčata a brambory, antimikrobiální aktivitu proti *Staphylococcus aureus*. Mohl by rovněž požit jako potenciátor účinku antibiotik

různých tříd, jako je ampicilin, ciprofloxacin a gentamicin, pokud se používá k léčbě infekcí způsobených bakteriemi *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus* nebo *Enterococcus faecalis* (Da-Costa-Rocha et al., 2014).

#### 1.1.4 Organické sloučeniny síry

Organosírné sloučeniny jsou organické molekuly obsahující síru, které jsou zodpovědné za silné aroma cibule a česneku. Jsou také přítomny v brukvovité zelenině, jako je zelí a brokolice. Bylo zjištěno, že několik organosírných sloučenin, jako je alicin, ajoen, dialkenylsulfidy a isothiokyanáty, jsou účinné proti grampozitivním i gramnegativním bakteriím. Výzkumy odhalily, že rostliny obsahující vysoké koncentrace polysulfidů mají širokospektrální antibakteriální aktivitu (Boghrafi et al., 2019; Eksi et al., 2019).

Diallylthiosulfínát, běžně známý jako "alicin", je organická sloučenina síry, která je izolována z česneku. Jeho antibakteriální účinek byl pozorován proti řadě patogenních mikrobů, včetně *Staphylococcus aureus* MRSA, *Pseudomonas aeruginosa*, *Streptococcus agalactiae*, *Staphylococcus epidermidis*. Alicin způsobuje především inhibici funkce sulfhydryl-dependentních enzymů, včetně alkoholdehydrogenasy a RNA polymerasy, což je primární mechanismus jeho antibakteriální aktivity. Dále bylo prokázáno, že alicin částečně inhibuje i syntézu proteinů a nukleových kyselin (Reiter et al., 2017; Nakamoto et al., 2019).

Ajoen, další organosírová sloučenina, není tak funkčně rozmanitý jako alicin. Vykazuje však účinnost proti grampozitivním i gramnegativním bakteriím spolu s některými kmeny hub, (*Aspergillus niger* a *Candida albicans*). Mechanismus účinku je stejný jako u alicinu, protože ajoen je také inhibitor sulfhydryl-dependentních enzymů (Nakamoto et al., 2019).

Isothiokyanáty se vyskytují výhradně v čeledi brukvovité/kapustovité jako je brokolice, zelí, květák a hořčice a vykazují aktivitu proti orálním patogenům a také proti *Helicobacter pylori*. Antimikrobiální mechanismus isothiokyanátů není dosud plně objasněn. Spekuluje se však, že jejich aktivita může být způsobena jejich reakcí s buněčnými proteiny a enzymy, které pak brání biochemickým procesům uvnitř buňky. Potvrzený účinek isothiokyanátů je inhibice ATP vazebného místa P-ATPasy v bakteriích (*Escherichia coli*) napadením cysteinového zbytku (Breier et al., 2000; Dufour et al., 2015; Barbieri, 2017).

## 1.2 Použití přírodních rostlinných antimikrobiálních látek pro konzervaci potravin

Hlavními požadavky na potraviny jsou čerstvost, přirozenost a minimální míra zpracování. Pojem přirozenost, čerstvost se vztahuje ke zdravým a neupraveným potravinám bez chemických konzervantů. Konzumace syrových potravin, jako je například ovoce, zelenina, živočišné a rostlinné produkty však může způsobit propuknutí onemocnění (Hochma et al., 2021).

Konvenční metody mikrobiální inaktivace a dekontaminace potravin zahrnují tepelné zpracování, dezinfekci, omývání vodou, sušení, mražení, chlazení, ozařování, balení v modifikované atmosféře, a především přidávání chemických konzervantů, solí nebo využívání antimikrobiálních látek. Přibývající důkazy o škodlivých účincích a zdravotních rizicích těchto chemických konzervačních látek však nedávají jinou možnost než najít nové metody, které sníží jejich množství v potravinách. Optimální alternativou je nahradit je vhodnými přísadami, které nemají žádné nepříznivé účinky. K dosažení těchto cílů jsou vhodnými kandidáty přírodní antimikrobiální sloučeniny, zejména rostlinné extrakty a sloučeniny izolované z rostlin vykazující širokospektrální antimikrobiální aktivitu (Hochma et al., 2021).

Ze sekundárních metabolitů rostlin jsou nejslibnějšími bio konzervačními prostředky esenciální oleje, rostlinné antimikrobiální peptidy a rostlinné extrakty v čisté nebo surové formě (Hochma et al., 2021).

## 2 MOŽNOSTI EXTRAKCE BIOLOGICKY AKTIVNÁCH LÁTEK Z ROSTLIN

Koncepce přípravy léčivé rostliny pro experimentální účely zahrnuje správný a včasný sběr rostlin, odpovídající sušení a mletí. Poté následuje extrakce, frakcionace, izolace bioaktivní sloučeniny a následné stanovení množství a kvality bioaktivních látek. Rostlina jako zdroj léčiv si v poslední době získává mezinárodní oblibu pro svůj přírodní původ, dostupnost v místních komunitách a levnější nákup. Také bylinná medicína může být užitečnou alternativní léčbou v případě četných vedlejších účinků a lékové rezistence.

Extrakce je proces separace aktivních rostlinných materiálů nebo sekundárních metabolitů, jako jsou alkaloidy, flavonoidy, terpeny, saponiny, steroidy a glykosidy z inertního nebo neaktivního materiálu pomocí vhodného rozpouštědla a standardního extrakčního postupu (Sasidharan et al., 2011; Azwanida, 2015; Ingle et al., 2017). Výběr rozpouštědla závisí na typu rostliny, části rostliny, která má být extrahována, povaze bioaktivních sloučenin a dostupnosti rozpouštědla. Obecně se při extrakci polární sloučeniny používají polární rozpouštědla, jako je voda, methanol a ethanol, zatímco nepolární rozpouštědla, jako je hexan a dichlormethan, se používají při extrakci nepolárních sloučenin. Během extrakce kapalina–kapalina je důležité vybrat dvě mísitelná rozpouštědla, jako je například voda–dichlormethan a voda–hexan. Ve všech kombinacích je přítomna voda kvůli její vysoké polaritě a mísitelnosti s organickým rozpouštědlem.

- Voda – je jedno z nejpolárnějších rozpouštědel a používá se při extrakci široké škály polárních sloučenin. Její výhody spočívají v tom, že rozpouští širokou škálu látek; je levná, netoxická, nehořlavá a jak již bylo zmíněno, vysoce polární. Mezi nevýhody se řadí její podpora růstu bakterií a plísní. Může způsobit hydrolyzu a ke koncentraci extraktu je potřeba velké množství tepla (Das et al., 2010; Tiwari et al., 2011).
- Alkohol – je též polární povahy, mísitelný s vodou a mohl by extrahovat polární sekundární metabolity. Mezi jeho výhody patří jeho samokonzervační vlastnosti v koncentraci nad 20 %. Při nízké koncentraci je netoxický a ke zkoncentrování extraktu je potřeba malé množství tepla. Nevýhodou je jeho neschopnost rozpouštět tuky a vosky, je hořlavý a těkavý (Das et al., 2010; Tiwari et al., 2011).

Sloučenina, která má být extrahována pomocí extrakce kapalina–kapalina, by měla být rozpustná v organickém rozpouštědle.

Extrakce pevná látka-kapalina je jednou z nejpoužívanějších metod extrakce bioaktivních sloučenin z různých matric, které jsou s nimi fyzikálně a chemicky spojeny a musí být převedeny do kapalné fáze pomocí procesů rozpouštění nebo desorpce. Tento typ extrakce se běžně používá v potravinářském, lékařském a aromatickém průmyslu k získání cenných látek, jako jsou karotenoidy nebo flavonoidy. Za tímto účelem bylo provedeno mnoho studií s cílem optimalizovat každý z faktorů spojených s extrakcí buď čistých sloučenin nebo standardizovaných extraktů, později analyzovaných na jejich bioaktivní vlastnosti a další integraci v různých průmyslových odvětvích (Ziaedini et al., 2010; Khoddami et al., 2013; Altemimi et al., 2017; Abubakar et al., 2020).

Rostlinné bioaktivní metabolity lze extrahovat konvenčními a moderními metodami. Konvenční metoda zahrnuje výluh/infuzi, odvar, maceraci, Soxhletovu extrakci a hydrodestilaci. Moderní metoda zahrnuje extrakci za pomoci ultrazvuku, extrakci za pomoci mikrovln a extrakci superkritickou tekutinou (Buhian, 2016).

## 2.1 Výluh

Jedná se o proces, který zahrnuje kontinuální extrakci za horka s použitím specifikovaného objemu vody jako rozpouštědla. Vysušený, rozemletý a práškový rostlinný materiál se umístí do čisté nádoby, ke kterému se přileje voda a promíchá se. Během celého procesu je aplikováno teplo, aby se extrakce urychlila. Proces trvá krátkou dobu, obvykle asi 15 minut. Poměr rozpouštědla k surovému léčivu je obvykle 4:1 nebo 16:1. Používá se pro extrakci ve vodě rozpustného a tepelně stabilního rostlinného materiálu (Sasidharan et al., 2011; Azwanida, 2015; Majekodunmi, 2015).

## 2.2 Odvar

Odvar lze definovat jako strategii používanou pro extrakci drsných materiálů, jako jsou kořeny a kůry. Existuje malý rozdíl od běžného procesu louhování, který spočívá v neustálém doplňování tepla, aby byla jemně rozdělená bylina nasycena vroucí vodou. Směs se nechá postupně pomalu vařit, na rozdíl od silného varu. Pro kompenzaci ztrát, které mohou vzniknout odpařováním, se do směsi přidává voda. Po ochlazení se odvar přefiltruje a poté se bylina odstraní. Proces trvá stejně jako příprava výluhu asi 15 minut (Sasidharan et al., 2011; Azwanida, 2015; Majekodunmi, 2015; Suna et al., 2019).

### 2.3 Macerace

Proces macerace je prastará technika, při které se do nádoby umístí nahrubo rozdrcený materiál, buď listy nebo stonková kůra nebo kořenová kůra, a zalije se příslušným roztokem. Nádoba se poté uzavře a uchovává při pokojové teplotě po dobu nejméně tří dnů během kterých se pravidelně zamíchá, aby se zajistila úplná extrakce. Na konci extrakce se obsah nádoby zfiltruje. Obecně je účelem procesu změkčit a rozložit pevné materiály, čímž se zvýší rozpustnost cílových molekul. Tato metoda je velmi vhodná pro termolabilní rostlinný materiál (Sasidharan et al., 2011; Ujang et al., 2013; Azwanida, 2015; Majekodunmi, 2015; Liberal et al., 2022).

### 2.4 Perkolace

Perkolace je proces, při kterém rozpouštědlo pomalu prochází surovými bylinnými prášky, rozpustné složky jsou extrahovány do rozpouštědla, zatímco nerozpustné složky zůstávají v přístroji. Zařízení používané v tomto procesu se nazývá perkolátor. Jedná se o skleněnou nádobu úzkého kužele s otvorem na obou koncích. Vysušený, rozemletý a jemně rozdrcený rostlinný materiál se zvlhčí extrakčním rozpouštědlem v čisté nádobě. Přidá se další množství rozpouštědla a směs se udržuje po dobu 4 hodin. Následně se obsah přenesse do perkolátoru s uzavřeným spodním koncem a nechá se stát po dobu 24 hodin. Extrakční rozpouštědlo se pak nalévá shora, dokud není vzorový materiál zcela nasycen. Poté se otevře spodní část perkolátoru a kapalina se nechá pomalu odkapat. Extrakt se oddělí filtrací a následnou dekantací. Matolin je poté exprimován a přidá se konečné množství rozpouštědla, aby se získal požadovaný objem. Hlavní výhodou této techniky je kratší doba zpracování a větší flexibilita. Kromě toho v tomto postupu není nutné uchýlit se ke kroku filtrace, protože samotný perkolátor má filtr umístěný na dně, což umožňuje shromažďování pouze konečné kapaliny. Navzdory tomu, že je účinnější než macerace, protože se jedná o konstantní proces, ve kterém se nasycené rozpouštědlo neustále vyměňuje za čerstvé rozpouštědlo (Sasidharan et al., 2011; Azwanida, 2015; Majekodunmi, 2015; Siddique et al., 2020; Zhang et al., 2021).

### 2.5 Soxhletova extrakce

Soxhletova extrakce je proces jinak známý jako kontinuální extrakce za tepla, který zahrnuje použití skleněného Soxhletova přístroje pro extrakci bylin. Skládá se z baňky s kulatým dnem, extrakční komory, sifonové trubky a chladiče nahoře. Vysušený, rozemletý a jemně



rozdrcený rostlinný materiál se vloží do porézního sáčku (náprstku) vyrobeného z čisté látky nebo silného filtračního papíru a těsně uzavře. Extrakční rozpouštědlo se nalije do spodní baňky, následuje náprstek do extrakční komory. Rozpouštědlo se potom zahřívá ze spodní baňky, odpařuje se a prochází chladičem, kde kondenzuje a stéká dolů do extrakční komory a tím, že se dostane do kontaktu, extrahuje léčivo. V důsledku toho, když hladina rozpouštědla v extrakční komoře dosáhne horní části sifonu, rozpouštědlo a extrahovaný rostlinný materiál proudí zpět do baňky. Celý proces opakovaně pokračuje, dokud není lék zcela extrahován, což je bod, kdy rozpouštědlo proudící z extrakční komory nezanechává žádné zbytky. Tato metoda je vhodná pro rostlinný materiál, který je částečně rozpustný ve zvoleném rozpouštědle a pro rostlinné materiály s nerozpustnými nečistotami. Není to však vhodná metoda pro termolabilní rostlinné materiály. Výhodou této metody je fakt, že lze vyextrahovat velké množství žádané látky menším množstvím rozpouštědla. Je také použitelný pro rostlinné materiály, které jsou tepelně stabilní. Není nutná žádná filtrace a lze použít velké množství tepla. Naopak nevýhodou je neschopnost pravidelného protřepávání není možné a metoda není vhodná pro termolabilní materiály (Sasidharan et al., 2011; Tatke a Jaiswa, 2011; Lope Pihie e al., 2012; Azwanida, 2015; Mohammad et al., 2016).

## 2.6 Ultrazvukem asistovaná extrakce

Byla navržena řada nových alternativ ke konvenčním technikám pro extrakci cílových sloučenin z různých matric, například ultrazvukem asistovaná extrakce (UAE) a mikrovlnná extrakce. Tyto nové techniky nabízejí obrovský potenciál snížit nebo eliminovat použití toxických chemických rozpouštědel a zároveň zlepšit efektivitu procesu a zvýšit výtěžky extrakce a kvalitu extraktu. Tyto techniky jsou také známé jako techniky extrakce za studena, protože teplota během procesu extrakce je poměrně nízká a neovlivňuje stabilitu extrahovaných sloučenin. Nové techniky lze také použít jako předúpravu nebo v kombinaci s ekologickými bezpečnými organickými rozpouštědly pro zvýšení účinnosti extrakce zlepšením propustnosti buněčných membrán, což je parametr řídící účinnost extrakce (Tiwari Brijesh, 2015).

UAE je potenciálně užitečná technologie, protože nevyžaduje složité nástroje a je relativně levná. Tento proces zahrnuje aplikaci zvukové energie o velmi vysoké frekvenci větší než 20 kHz, aby se narušily všechny rostlinné buňky a zvýšila se plocha povrchu vzorku pro pronikání rozpouštědla. V důsledku toho se uvolňují sekundární metabolity. Při této metodě by se měl rostlinný materiál nejprve usušit, rozemlít na jemný prášek a řádně prosít.

Připravený vzorek je poté smíchán s vhodným extrakčním rozpouštědlem a vložen do ultrazvukového extraktoru. Vysoká akustická energie urychluje proces extrakce snížením požadavků na teplo. Výhodou UAE je použitelnost pro malý vzorek; zkracuje dobu extrakce a množství použitého rozpouštědla a maximalizuje výtěžek. Nevýhody může být obtížnost reprodukovat tuto metodu a použití velkého množství energie (Pandeya Tripathi, 2014; Azwanida, 2015; Altemimi et al., 2017).

V poslední době je tato metoda široce používána při extrakci různých fenolických sloučenin z různých částí rostlin, jako jsou listy, stonky, plody a semena rostlin (Vinatoru, 2001).

Konvenční techniky extrakce pevná látka-kapalina, včetně macerace, infuze a Soxhletovy extrakce, jsou časově náročné a používají velké množství rozpouštědel (Wang a Weller, 2006).

## 2.7 Extrakce za pomoci mikrovlnných vln

Mikrovlnná extrakce (MAE) je proces využívající mikrovlnnou energii k usnadnění rozdělení analytů z matrice vzorku do rozpouštědla. Hlavní výhodou této techniky je zkrácení doby extrakce a objemu rozpouštědla ve srovnání s konvenčními extrakčními technikami. MAE patří mezi pokročilé extrakční postupy při přípravě léčivých rostlin a dochází během ní ke zvýšené extrakci v důsledku změn ve struktuře rostlinných buněk způsobených elektromagnetickými vlnami. Technika využívá mechanismus rotace dipólu a přenosu iontů vytěsněním nabitých iontů přítomných v rozpouštědle a materiálu vzorku (Eskillson et al., 2000; Veggi et al., 2012).

Jedná se o aplikaci elektromagnetického záření pohybující se ve frekvencích mezi 0,3 GHz a 300 GHz. Mikrovlny aplikované při frekvenci 2450 Hz poskytují energii mezi 600 a 700 W. Tato technika využívá mikrovlnné záření k bombardování objektu, který může absorbovat elektromagnetickou energii a přeměnit ji na teplo. Následně vytvořené teplo usnadňuje pohyb rozpouštědla do matrice vzorku. Mikrovlnná extrakce se vyznačuje výhodou použití minimálního množství rozpouštědla a doby extrakce a zároveň zvýšení výtěžnosti. Naopak nevýhodou je omezené použití této metody, která je vhodná pouze pro fenolické sloučeniny a flavonoidy. Fenolické sloučeniny s vyšším počtem substituentů hydroxylového typu (např. taniny) a ty, které jsou citlivé na zvýšenou teplotu (např. antokyany), nemusí být vhodné pro tento způsob extrakce (Sasidharan, S et al., 2011; Altemimi et al., 2017; Bhan 2017).

### 3 PŘEHLED A CHARAKTERISTIKA VYBRANÝCH ROSTLIN POUŽITÝCH V PRAKTICKÉ ČÁSTI

#### 3.1 Jitrocel kopinatý (*Plantago lanceolata*)

Jitrocel kopinatý (Obrázek 1) je vytrvalá rostlina, která patří do čeledi jitrocelovitých (*Plantaginaceae*). Listy vyrůstají v růžicích, jsou vejčité až eliptické s paralelní žilnatinou. Listy jsou lysé a mají celokrajný nebo nepravidelně zubatý okraj a jsou známy pro své vlastnosti při hojení ran (Samuelsen, 2000).

V listech jitrocele kopinatého byly potvrzené tyto látky:

- alkaloidy – indikain, plantagoïn (Schneider, 1990),
- flavonoidy – apidenin, plantagin a baikalein; mechanismus antimikrobiálního účinku: inhibice refluxní pumpy NorA
- fenolové kyseliny - deriváty kyseliny kávové (kyselina chlorogenová z vodného extraktu (Maksyutina, 1971),
- jiné organické kyseliny – methanolové extrakty, kyselina skořicová (Samuelsen, 2000).



Obrázek 1 Jitrocel kopinatý,  
list  
(Zdroj: Vlastní archiv autorky)

#### 3.2 Máta peprná (*Mentha piperita*)

Máta peprná (Obrázek 2) je hybrid máty klasnaté a máty vodní z čeledi hluchavkovitých (*Lamiaceae*). Nicméně ty, které dnes tvoří komerční byliny máty, jsou druhy rodu *Mentha* (Riachi et al., 2015).

Listy máty peprné mají charakteristickou, nasládlou, silnou vůni a aromatickou, teplou, štiplavou chuť s chladivou dochutí. Esenciální oleje rostliny se vyznačují převahou menthonu, isomenthonu a různých izomerů mentolu (Riachi et al., 2015).

V mátě peprné byly zjištěny převážně tyto látky:

- mentol, menton (Sokovic et al., 2009),



Obrázek 2 Máta peprná, list  
(Zdroj: Vlastní archiv autorky)

- flavonoly – myricetin, epigalokatechin galát, kaempferol; mechanismus antimikrobiálního účinku: inhibice refluxní pumpy, inhibice DNA gyrasy (Zheng a Wang, 2001),
- kyselina kávová; mechanismus antimikrobiálního účinku: rozrušení biofilmu bakterie a inhibice tvorby kyseliny mléčné (Singh et al., 2015),
- tokoferoly a taniny (Karuza et al., 1996; Sokovic et al., 2009).

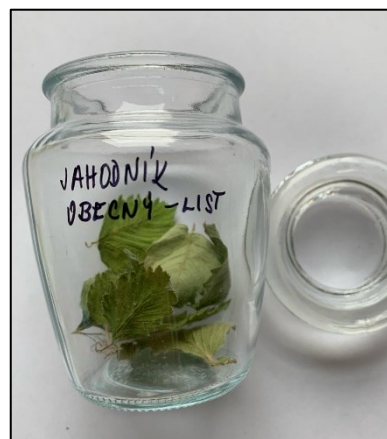
Mátový olej nachází široké uplatnění při ochucování žvýkaček, cukrovinek, zmrzlin, dezertů, pečiva, tabáku a alkoholických nápojů. Často se také používá při ochucování farmaceutických přípravků (Riachi et al., 2015).

### 3.3 Jahodník obecný (*Fragaria vesca*)

Jahodník obecný (Obrázek 3) thylidově lesní jahoda, rostlina z čeledi růžovitých (*Rosaceae*), je bohatým zdrojem biologicky aktivních fenolických sloučenin (Liberal et al., 2014).

Listy jahodníku obecného obsahují:

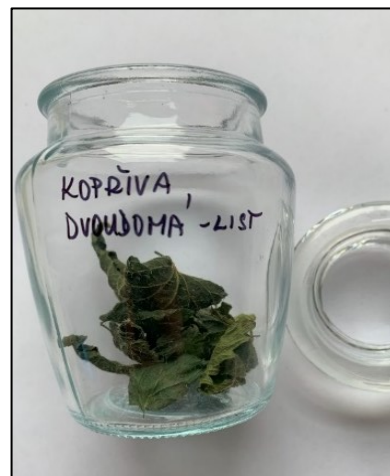
- fenolové kyseliny (Liberal et al., 2014; Yildirim et al., 2015),
- flavonoidy – kvercetin, kaempferol, kvercetin; mechanismus antimikrobiálního účinku: inhibice syntézy nosného proteinu (Ashraf et al., 2023),
- třísloviny, (Mubarack et al., 2011; Ivanov et al., 2015),
- hydrolyzované taniny – katechiny, přičemž hlavní fenolickou sloučeninou jsou ellagitaniny (Kanodia a Swarnamoni, 2008; Mudnic et al., 2009).



Obrázek 3 Jahodník obecný,  
list  
(Zdroj: Vlastní archiv autorky)

### 3.4 Kopřiva dvoudomá (*Urtica dioica*)

Kopřiva dvoudomá (Obrázek 4) je plevelná vytrvalá rostlina z čeledi kopřivovité (*Urticaceae*), známá svými žahavými listy. Konce listů a stonků mají špičky, které se při otírání odlamují a odhalují jehličky, které propichují kůži. Injikují směs acetylcholinu, kyseliny mravenčí a histaminu, což způsobuje svědivou, pálivou vyrážku (Jakubczyk et al., 2015; Petruzzello, 2024).



Obrázek 4 Kopřiva dvoudomá, list

(Zdroj: Vlastní archiv autorky)

Kopřiva dvoudomá se vyznačuje vysokým obsahem:

- fenolických látek – nejreprezentovanější kyselinou kávovou a kyselinou protokatechovou,
- flavonoidů jako je rutin, isoquercetin a quercetin; mechanismus antimikrobiálního účinku: inhibice efluxní pumpy, inhibice alanin ligasy u *Escherichia coli* (Zenão et al., 2017).

### 3.5 Libeček lékařský (*Levisticum officinale*)

Libeček lékařský (Obrázek 5), rostlina z čeledi miříkovitých (*Apiaceae*), je známá aromatická rostlina, která se běžně používá v potravinách, dochucovadlech a léčivých přípravcích. Esenciální olej je aromatická kapalina, kterou lze izolovat z kořenů libečku, nadzemních částí a semen destilací a extrakcí (Venskutonis, 2016; Jakubczyk et al., 2020).

Hlavními skupinami sekundárních metabolitů obsažených v libečku jsou:

- silice, terpeny, polyfenoly, alkaloidy (Venskutonis, 2016; Jakubczyk et al., 2020).

Velkou skupinu bioaktivních látek přítomných v listech libečku tvoří fenolické sloučeniny reprezentované následujícími podskupinami: fenolové kyseliny, flavonoidy stilbeny, (kumariny), třísloviny a chinony (Venskutonis, 2016; Jakubczyk et al., 2020).



Obrázek 5 Libeček lékařský, list

(Zdroj: Vlastní archiv autorky)

### 3.6 Dobromysl obecná (*Origanum vulgare*)

Dobromysl obecná (Obrázek 6) je významná léčivá bylina z čeledi hluchavkovitých (*Lamiaceae*).

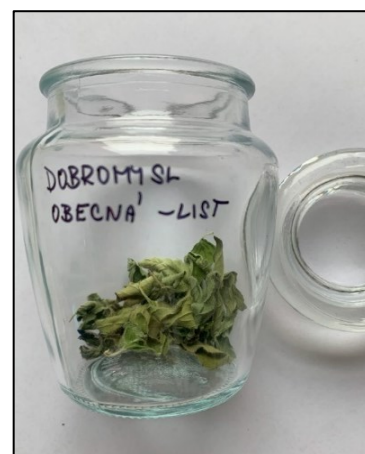
V olejích a různých extraktech z dobromysli bylo dosud rozpoznáno přes 100 těkavých i netěkavých složek. Na základě hydrofilních a hydrofobních vlastností existují dvě hlavní skupiny fytochemikálií, mezi které patří esenciální oleje a fenolické sloučeniny (fenolové kyseliny, flavonoidy a taniny). Další biologicky aktivní sloučeniny se skládají z terpenoidů a sterolů (Morshedloo et al., 2017),

Nejdůležitějšími antimikrobiální látky jsou tedy: (Burt, 2004; Leonelli Pires de Campo et al., 2022)

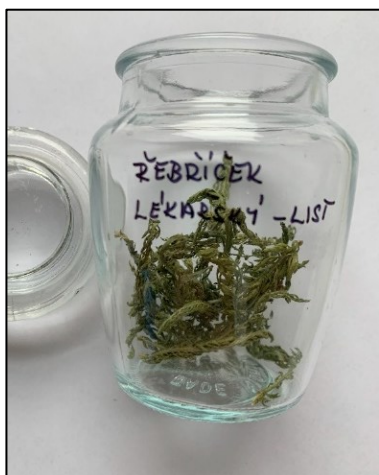
- netěkavé fenolové kyseliny – konkrétně kyselina rozmarýnová,
- flavonoidy - flavony, flavonoly, flavonoidní glykosidy (Skoula et al., 2008),
- terpeny – thymol, karvakol; mechanismus antimikrobiálního účinku: poškození buněčné stěny = snížení zásoby ATP a buněčná smrt (Mahizan et al., 2019),
- těkavé silice (Langeveld et al., 2013).

### 3.7 Řebříček lékařský (*Achillea millefolium*)

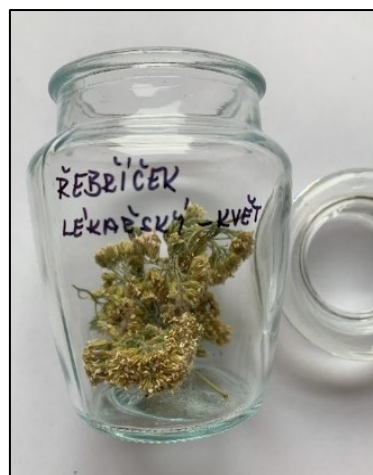
Řebříček lékařský (Obrázek 7,8) z čeledi hvězdnicovitých (*Asteraceae*), je kvetoucí rostlina vzpřímená, bylinná, vytrvalá rostlina, která vytváří jeden až několik stonků. Květenství obsahuje paprscité a kotoučové květy, které jsou bílé až růžové, kvetoucí od března do října (Garcia Oliveira et al., 2021).



Obrázek 6 Dobromysl obecná,  
list  
(Zdroj: Vlastní archiv autorky)



Obrázek 7 Řebříček lékařský,  
list  
(Zdroj: Vlastní archiv autorky)



Obrázek 8 Řebříček lékařský,  
květ  
(Zdroj: Vlastní archiv autorky)

Neustálý zájem o vývoj potravinářských produktů stoupá vzhledem k širokému složení rostliny.

Jedná se o přítomnost následujících látek:

- fenolických sloučenin, konkrétně chlorogenových luteolinu,
- flavonoidů – rutinu, apigeninu
- flavonolů – kvercetin,
- těkavých frakcí, převážně terpenů jako je borneol, kafr (Ali et al., 2017; Gaweł- Bęben, 2020; Mouhid et al., 2020).

### 3.8 Měsíček lékařský (*Calendula officinalis*)

Měsíček lékařský (Obrázek 9) je jednoletá rostlina z čeledi hvězdnicovitých (*Asteraceae*), která kvete od května do října. Její žluté až oranžové květy se používají pro léčivé přípravky.

V tomto druhu se nacházejí převážně následující chemické skupiny:

- terpeny – seskviterpeny, lykopen (tetraterpen),
- triterpenové saponiny, triterpenové alkoholy (Efstratiou et al., 2012),
- flavonoidní glykosidy, fenolové kyseliny, (Ramos et al., 1998; Faria et al., 2011).



Obrázek 9 Měsíček lékařský,  
květ  
(Zdroj: Vlastní archiv autorky)

### 3.9 Pampeliška lékařská (*Taraxacum officinale*)

Pampeliška lékařská (Obrázek 10) je bylinná vytrvalá rostlina z čeledi hvězdnicovitých (*Asteraceae*) původem z Asie.

Několik studií uvádí obsah široké škály sloučenin, včetně fenolických sloučenin, terpenů, které jsou zmiňovány jako zodpovědné za léčivou aktivitu různých rostlin. Autoři uvádějí přítomnost těchto látek:

- terpenoidů, terpenů – lupeol,
- flavonoidů – kumarinů, fenolů, flavonů (Fabri et al., 2011; Díaz et al., 2018).



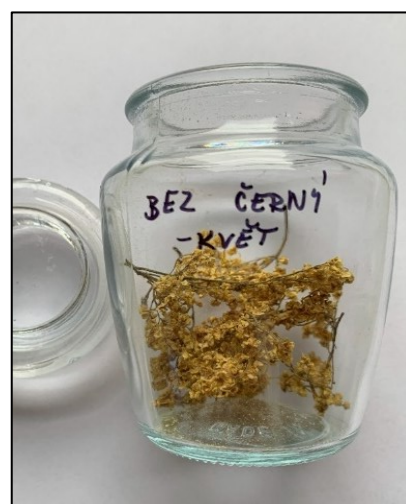
Obrázek 10 Pampeliška lékařská, květ

(Zdroj: Vlastní archiv autorky)

### 3.10 Bez černý (*Sambucus nigra*)

Bez černý (Obrázek 11) je léčivý keř nebo malý strom druhu z čeledi pižmovkovité *Adoxaceae* (Boroduske et al., 2021). Květiny mají silnou příjemnou vůni a tradičně se používají k ochucení vína, čaje a přidávají se do těsta používaného k přípravě pečiva (Tundis et al., 2019; Przybylska-Balcerek et al., 2021).

Většina složek květinových aromatických sloučenin bezu černého je terpenoidního původu a zahrnují monoterpeny. Květy i listy černého bezu jsou bohatým zdrojem bazických látek (flavonoidy).



Obrázek 11 Bez černý, květ

(Zdroj: Vlastní archiv autorky)

Studie dokázali, že na antibakteriální aktivitu extraktů z černého bezu největší vliv:

- apigenin, rutin – flavonoidy (Gorlenko et al., 2020),
- kempferol, kvarcetin – flavonoly,
- fenolové kyseliny – kyselina chlorogenová, kyselina sinapová
- ostatní organické sloučeniny – kyselina ferulová, protokatechuová (Jørgensen et al., 2000; Tundis et al., 2019).



## **II. PRAKTICKÁ ČÁST**

## 4 MATERIÁL A METODIKA

### 4.1 Pomůcky

- Základní laboratorní – mikrobiologické – pomůcky
- Laboratorní sklo
- Filtrační papír
- Párátka
- Titanová MALDI destička (Brucker)

### 4.2 Přístroje

- Chladnička
- Mikrovlnná trouba 700 B1 (Silvercrest)
- Automatické pipety (Finnpipette)
- Digitální váha (Testline)
- Termostat blokový suchý Bio TDB-100 (Biosan)
- Třepačka vortex (NEOTEC)
- Densitometr (Erba Lachema)
- Látalův anaerobní systém (Trios)
- Biologický termostat (Thermo scientific)
- Hmotnostní spektrometr MALDI Biotyper sirius systém (MALDI-TOF-MS) (BioVendor)

### 4.3 Použité chemikálie a roztoky

- Fyziologický roztok (Versylene)
- Destilovaná voda (Fisher chemical)
- Parafínový olej (Fagron)
- Ethanol 96% (TechniSolv)
- Matrice pro MALDI-TOF-MS (Kyselina skořicová) (Brucker)
- Organické rozpouštědlo (100% acetonitril + 2,5% kyselina trifluoroctová) (Brucker)
- Brucker bakteriální standard (BTS) (Brucker)
- Kyselina mravenčí 70% (Lach-ner)
- Bruker Bacterial Test Standard (Brucker)
- Krevní agar (LabMediaServis)
- McConkey agar (Trios)
- Mueller-Hinton agar (LabMediaServis)
- Mueller-Hinton agar s příměsí krve (LabMediaServis)

## 4.4 Příprava extraktů

Vybrané rostliny pro využití v praktické části byly nasbírány v období od června do srpna roku 2023 v okolí obce Nová Sídla v okrese Svitavy v Pardubickém kraji. Části rostlin byly sušeny mimo přímé sluneční světlo při pokojové teplotě v sušící síti tři až pět týdnů. Následně usušené rostliny byly rozdrcené tloučkem na jemný prášek a dle postupů uvedených v podkapitolách 4.4.1–4.4.3. byly připraveny jednotlivé extrakty z testovaných rostlin. Přehled použitých rostlin a jejich částí je prezentován v tabulce 2.

Tabulka 2 Přehled použitých rostlin a jejich částí

Název rostliny	Použitá část
Jitrocel kopinatý	list
Máta peprná	list
Jahodník obecný	list
Kopřiva dvoudomá	list
Dobromysl obecná	list
Řebříček lékařský	list, květ
Měsíček lékařský	květ
Pampeliška lékařská	květ
Libeček lékařský	list
Bez černý	květ

V praktické části bylo připraveno z usušených rostlinných vzorků šest typů extraktů. Tyto extrakty vytvořili tři pomyslné dvojice a jejich účinek na indikátorové bakterie byl dále ve výsledkové části porovnáván.

### 4.4.1 Příprava nálevu

#### 4.4.1.1 Nálev připravený při 100 °C

Nálev byl připraven dle práce autorů Studzińska et al. (2021). Deset gramů vzorku byl zalit 100 ml destilované vody o teplotě  $100 \pm 1$  °C. Byliny byly louhovány pod krytem po dobu 15 minut. Následně byl vodný výluh přefiltrován a výsledný extrakt byl uchováván v lednici.

#### 4.4.1.2 Nálev připravený podle doporučené teploty

Pro přípravu vodného výluhu, demonstrující domácí přípravu čaje, bylo použito 10 g vzorku, který byl zalit 100 ml destilované vody o vhodné teplotě. Teplota vody (70–90 °C) a doba

louhování (5–10 min) byla závislá na konkrétním druhu rostliny. Nálevy získané z listů rostlin byly připraveny při vyšších teplotách a vzorky z květů při 70 °C. Získaný výluh se přefiltroval a poté uchovával v lednici.

#### 4.4.2 Macerace

Vodné a ethanolové maceráty byly připraveny dle odborných publikací autorů Orhan et al. (2012) a Gallo et al. (2020).

##### 4.4.2.1 Vodný macerát

Vodný macerát (Obrázek 12) se připravil navážením 10 g vzorku a umístěním do uzavíratelné nádoby spolu se 100 ml destilované vody o pokojové teplotě  $20 \pm 1$  °C. Suspenze se ponechala při pokojové teplotě po dobu 3 dnů. Směs byla vždy dvakrát denně promíchána a na konci macerace byl extrakt získán filtrací. Poté se extrakt uchovával v lednici do doby spotřeby (Orhan et al., 2012; Gallo et al., 2020).



Obrázek 12 Vodné maceráty

(Zdroj: Vlastní archiv autorky)

##### 4.4.2.2 Ethanolový macerát

K 10 g navážce vzorku se přidalo 100 ml 96% ethanolu a po promíchání a se směs ponechala 3 dny macerovat při pokojové teplotě. Po dobu macerace byla směs vždy dvakrát denně promíchána. Extrakt byl následně přefiltrován (Obrázek 13). Před samotným testováním se ze vzorku odebral 1 ml extraktu a za použití termobloku se odpařilo rozpouštědlo do objemu 250  $\mu$ l. Víčko mikrozkušavky bylo zajištěno parafilmem a vzorek byl připraven k uchování v lednici při 2–4 °C (Orhan et al., 2012; Gallo et al., 2020).



Obrázek 13 Ethanolové maceráty

(Zdroj: Vlastní archiv autorky)

#### 4.4.3 Mikrovlnná extrakce (MAE – microwave assisted extraction)

Extrakty byly připraveny dle odborných publikací autorů Pan et al. (2012), Nkhili et al. (2009) a Ujang et al. (2013).

##### 4.4.3.1 Extrakce vodou (MAE H<sub>2</sub>O)

Deset gramů vzorku a 200 ml destilované vody bylo smícháno a suspenze se nechala třepat 90 minut při pokojové teplotě. Poté byl vzorek přenesen do mikrovlnné trouby. Extrakce byla provedena při kontrolovaném mikrovlnném výkonu 600 W při teplotě 80 °C po dobu 8 minut. Po extrakci se nechala nádoba s extraktem vychladnout na teplotu místnosti (Pan et al., 2003; Nkhili et al., 2009; Ujang et al., 2013).

##### 4.4.3.2 Extrakce ethanolem (MAE Eth.)

K 10 g vzorku se přidalo 200 ml roztoku ethanol-voda v poměru 1:1 (v/v). Takto připravená suspenze se třepala po dobu 90 minut při teplotě místnosti. Po kroku předběžné úpravy byl vzorek extrahován stejně jako u extrakce vodou – při kontrolovaném mikrovlnném výkonu 600 W při teplotě 80 °C po dobu 4 minut. Po extrakci se nechala nádoba vychladnout na teplotu místnosti (Pan et al., 2003; Ujang et al., 2013).

## 4.5 Testované kmeny bakterií

### 4.5.1 Přehled a charakteristika vybraných kmenů

Pro zpracování experimentální části diplomové práce byly využity mezinárodní standardní referenční kmeny, které disponují svojí antibiotickou citlivostí. Tyto kmeny byly získány z České národní sbírky typových kultur (CNCTC). Dále byly testovány citlivé a multirezistentní kmeny získané ze sbírky kultur v Oddělení klinické mikrobiologie Chrudimské nemocnice (viz Tabulka 3).

Tabulka 3 Přehled testovaných bakteriálních kmenů

Název bakterie	Zkratka	Původ	Podmínky kultivace
<i>Salmonella enteritidis</i>	<i>S. enteritidis</i>	izolát CHN OKM	teplota 37 °C, 24 hodin
<i>Yersinia enterocolitica</i>	<i>Y. enterocolitica</i>	izolát CHN OKM	teplota 37 °C, 24 hodin
<i>Escherichia coli</i> , CNCTC 5276	<i>E. coli</i>	CNCTC	teplota 37 °C, 24 hodin
<i>Escherichia coli</i> ESBL	<i>E. coli</i> ESBL	izolát CHN OKM	teplota 37 °C, 24 hodin
<i>Bacillus cereus</i>	<i>B. cereus</i>	izolát CHN OKM	teplota 37 °C, 24 hodin
<i>Campylobacter coli</i>	<i>C. coli</i>	izolát CHN OKM	85 % N <sub>2</sub> , 10 % CO <sub>2</sub> , 5 % O <sub>2</sub> teplota 40 °C, 48 hodin
<i>Staphylococcus aureus</i> , CNCTC 5480	<i>S. aureus</i>	CNCTC	teplota 37 °C, 24 hodin
<i>Staphylococcus aureus</i> MRSA	<i>S. aureus</i> MRSA	izolát CHN OKM	teplota 37 °C, 24 hodin
<i>Enterococcus faecalis</i> , CNCTC 5483	<i>E. faecalis</i>	CNCTC	teplota 37 °C, 24 hodin

CHN OKM – Chrudimská nemocnice, Oddělení klinické mikrobiologie; CNCTC – Česká národní sbírka typových kultur; ESBL –  $\beta$ -laktamasy s rozšířeným spektrem; MRSA – metilicilin-rezistentní *Staphylococcus aureus*

### 4.5.2 Identifikace bakterií pomocí MALDI – TOF

Každý bakteriální kmen využit v diplomové práci byl identifikován pomocí hmotnostní spektrometrie, MALDI TOF (Matrix assisted Laser Desorption/Ionization – Time of flight), konkrétně MALDI Biotyper sirius systém. Z izolace staré 24 hodin byla čistá bakteriální kultura z jedné izolované kolonie nanesena přímo na spoty ocelové destičky ve dvou paralelách o rozdílném množství nanesených buněk. Vzorky byly ihned převrstveny 1  $\mu$ l 98% roztoku kyseliny mravenčí. Po zaschnutí vzorků (10 min) byly překryty 1  $\mu$ l matricovým roztokem a ponechány krystalizaci (10 min). Matricový roztok představoval nasycený roztok kyseliny skořicové v 100% acetonitrilu s 2,5% kyseliny trifluoroctové.

Po zaschnutí byla ocelová destička vložena do spektrometru a identifikována pomocí knihovny hmotnostních spekter přístroje.

### 4.5.3 Uchovávání testovaných kmenů

Testované bakteriální kmeny byly nejdříve pomnoženy v BHI bujónu při teplotě 37 °C po dobu 42 hodin. Poté byly jednotlivé kmeny naočkovány na krevní agar a kultivovány 24 hodin při teplotě 37 °C s výjimkou *C. coli*, který byl inkubován za mikroaerofilních podmínek (85 % N<sub>2</sub>, 10 % CO<sub>2</sub>, 5 % O<sub>2</sub>) za použití inkubátoru s variabilní atmosférou a kvůli jeho špatné udržitelnosti byl okamžitě po záchytu v klinické laboratoři otestován na připravené extrakty. Narostené kultury byly skladovány při chladničkové teplotě. Každý týden byly kmeny pasážovány a následně kultivovány v BHI bujónu podle již zmíněných podmínek.

## 4.6 Stanovení minimální inhibiční koncentrace

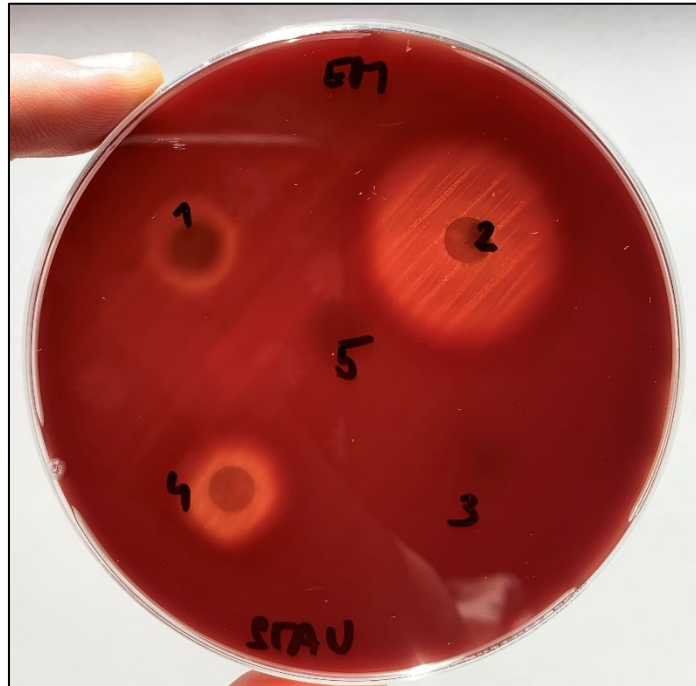
### 4.6.1 Příprava bakteriální suspenze

Bakteriální suspenze byla připravena odebráním několika kolonií a rozetřením o stěnu zkumavky fyziologickým roztokem. Suspenze bakterií odpovídala 0,5 McFarlandovy zákalové stupnice (to odpovídá přibližně  $1,5 \times 10^8$  CFU/ml). Dodržení koncentrace je důležité, jelikož množství resuspendovaných buněk může způsobit falešně pozitivní nebo falešně negativní výsledky. Stanovení se tedy provedlo srovnáním se standardním roztokem pomocí denzitometru, kalibrovaného právě na McFarlandovu stupnici (Díez-Aguilar et al., 2015; Eucast, 2020).

### 4.6.2 Antimikrobiální test diskovou difúzní metodou

Pro stanovení antimikrobiální aktivity byla použita disková difúzní metoda. V laminárním boxu byla nanášena na povrch agaru příslušná bakteriální suspenze o zákalu 0,5 McF pomocí sterilního tamponu a důkladně rozetřena ve třech směrech. Zásobní roztok extraktu byl použit o koncentraci 100 % (v/v). Deset mikro litrů každého ředění bylo impregnováno do sterilních prázdných disků o průměru 6 mm. Pět mikro litrů extraktu bylo střídavě nanášeno na obě strany disků a ponecháno zaschnout. Destilovaná voda a disky naplněné ethanolem byly použity jako negativní kontroly pro vodné a ethanolové extrakty, v daném pořadí. Všechny disky byly před aplikací na nanášenou bakteriální suspenzi zcela vysušeny. Pozitivní kontrolu pro jednotlivé bakteriální kmeny demonstrovaly specifické antibiotické

disky. Podle druhů bakteriálního kmenu proběhla kultivace v termostatu při teplotě 37 °C, 24 hodin nebo za mikroaerofilních podmínek (85 % N<sub>2</sub>, 10 % CO<sub>2</sub>, 5 % O<sub>2</sub>) za použití inkubátoru s variabilní atmosférou. Antibakteriální aktivita byla hodnocena přítomností a měřením průměru inhibiční zóny kolem plotének (Obrázek 14). Test byl opakován třikrát. Antibakteriální aktivita byla vyjádřena jako střední zóna inhibičních průměrů (mm) produkovaná přítomnou látkou (Razmavar et al., 2023).



Obrázek 14 Inhibiční zóny vytvořené působením ethanolového macerátu proti *Staphylococcus aureus*

(1 – Jitrocel kopinatý, 2 – Máta peprná, 3 – Jahodník obecný, 4 – Kopřiva dvoudomá, 5 – Dobromysl obecná; Zdroj: Vlastní archiv autorky).



## 5 VÝSLEDKY

### 5.1 Provedení testování

Bylo zhotoveno celkem 66 rostlinných extraktů z 11 druhů bylin, k jejichž přípravě byly využity metody popsány v kapitole 4.4 Příprava extraktů. Antimikrobiální účinek získaných látek byl následně testován v tripletu právě pomocí diskové difúzní metody a za výsledek byl prezentován průměr velikosti vytvořených zón v mm spolu se směrodatnou odchylkou.

V celém průběhu vyhodnocování výsledků praktické části figurují extrakty rostlin pro lepší přehled pod příslušným číselným označením (Obrázek 15). Z každého rostlinného vzorku bylo připraveno šest extraktů, které tvořili tři pomyslné dvojice, jejichž účinek byl navzájem porovnáván.

■ 1	■ 2	■ 3	■ 4	■ 5	■ 6	■ 7	■ 8	■ 9	■ 10	■ 11
■ Jitrocel kopinatý - list	■ Máta peprná - list	■ Jahodník obecný - list	■ Kopřiva dvoudomá - list							
■ Dobromysl obecná - list	■ Řebříček lékařský - květ	■ Řebříček lékařský - list	■ Měsíček lékařský - květ							
■ Pampeliška lékařská - květ	■ Libeček lékařský - list	■ Bez černý - květ								

Obrázek 15 Přehled jednotlivých použitých rostlin  
(Zdroj: Vlastní archiv autorky)

Pro přehlednější vyhodnocení výsledků byl vytvořen i souhrn použitých vybraných mikroorganismů (Obrázek 16). Každý bakteriální kmen je charakterizován svojí barvou v celkovém vyhodnocování výsledků praktické části této diplomové práce.

■ <i>S. enteritidis</i>	■ <i>Y. enterocolitica</i>	■ <i>E. coli</i>	■ <i>E. coli</i> ESBL	■ <i>C. coli</i>
■ <i>B. cereus</i>	■ <i>S. aureus</i>	■ <i>S. aureus</i> MRSA	■ <i>E. faecalis</i>	

Obrázek 16 Přehled testovaných bakteriálních kmenů  
(Zdroj: Vlastní archiv autorky)

### 5.2 Antimikrobiální aktivita rostlinných extraktů

#### 5.2.1 Jitrocel kopinatý (*Plantago lanceolata*)

Antimikrobiální účinek byl pozorován u 4 druhu extraktů ze 6 testovaných (Tabulka 3). Nálev připravený při 80 °C inhibičně působil proti *S. aureus* tvorbou inhibiční zóny o velikosti  $9,4 \pm 0,1$  mm. Dále byl zjištěn inhibiční účinek vodného macerátu na *E. faecalis* ( $12,6 \pm 0,2$  mm), *Y. enterocolitica* ( $12,1 \pm 0,1$  mm) a na *S. aureus* ( $8,6 \pm 0,1$  mm), jehož růst zastavil i ethanolový macerát vytvořením zóny kolem disku  $11,6 \pm 0,1$  mm. Dále byl ethanolový macerát aktivní proti rezistentní *E. coli* ESBL ( $8,3 \pm 0,1$  mm) a *B. cereus*

( $9,9 \pm 0,1$  mm). Mikrovlnná extrakce ethanolem (dále pouze MAE Eth.) projevila antimikrobiální účinek pouze proti dvojici bakterií *E. coli* ( $9,4 \pm 0,1$ mm) a *E. coli* ESBL ( $10,1 \pm 0,2$  mm).

Vůči působení látek obsažených ve zkoumaných extraktech z jitrocele byl nejvíce citlivý kmen *S. aureus*, jehož růst byl inhibován 3 různými extrakty ze 6 testovaných.

Tabulka 4 Antimikrobiální aktivita extraktů z jitrocele kopinatého na testované bakteriální kmeny [průměrné velikosti inhibičních zón  $\pm$  SD v mm, (-) žádný inhibiční účinek, MAE – mikrovlnná extrakce]

Jitrocel kopinatý - průměrné hodnoty inhibičních zón [mm] $\pm$ SD extraktů						
Indikátorové bakterie	Nálev 100 °C	Nálev 80 °C	Vodný macerát	Eth. macerát	MAE H <sub>2</sub> O	MAE Eth.
<i>Salmonella enteritidis</i>	-	-	-	-	-	-
<i>Yersinia enterocolitica</i>	-	-	$12,1 \pm 0,1$	-	-	-
<i>Escherichia coli</i>	-	-	-	-	-	$9,4 \pm 0,1$
<i>Escherichia coli</i> ESBL	-	-	-	$8,3 \pm 0,1$	-	$10,1 \pm 0,2$
<i>Campylobacter coli</i>	-	-	-	-	-	-
<i>Bacillus cereus</i>	-	-	-	$9,9 \pm 0,1$	-	-
<i>Staphylococcus aureus</i>	-	$9,4 \pm 0,1$	$8,6 \pm 0,1$	$11,6 \pm 0,1$	-	-
<i>Staphylococcus aureus</i> MRSA	-	-	-	-	-	-
<i>Enterococcus faecalis</i>	-	-	$12,6 \pm 0,2$	-	-	-

### 5.2.2 Máta peprná (*Mentha piperita*)

Extrakty z máty peprné (5/6) nejvíce působily na testované grampozitivní bakterie. Všechny grampozitivní kmeny prokázaly citlivost alespoň na jeden z testovaných extraktů. Velikosti inhibičních zón se pohybovala v rozmezí 8,1–24,4 mm. Největší inhibiční zóna ( $24,4 \pm 0,2$  mm) byla detekována po působení ethanolového macerátu na *S. aureus*. Obdobně velká inhibiční zóna ( $19,1 \pm 0,1$  mm) byla pozorována i u kmene *B. cereus*. Naopak vodný macerát na kmen *S. aureus* inhibičně nepůsobil, avšak jako jediný z testovaných extraktů inhiboval růst meticilin-rezistentního kmene *S. aureus* ( $9,5 \pm 0,1$  mm).

Z výsledků uvedených v tabulce 4 je patrné, že nejcitlivější bakterií na extrakty připravené z listů máty peprné byl jednoznačně *E. faecalis*. Inhibiční zóny byly pozorovány po působení

čtyř ze šesti testovaných extraktů této rostliny, konkrétně po působení nálevu připraveného při 100 °C, vodného macerátu, ethanolového macerátu a vodného mikrovlnného extraktu (dále jen MAE H<sub>2</sub>O) Velikosti vytvořených inhibičních zón se pohybovala v rozmezí 8,1–13,5 mm.

Z testovaných gramnegativních bakterií projeví citlivost pouze *Y. enterocolitica* a *E. coli* ESBL. Inhibiční zóny byly pozorovány pouze po působení nálevu připraveného při 80 °C. U *Y. enterocolitica* byla detekována inhibiční zóna o velikosti  $9,5 \pm 0,2$  mm a u *E. coli* o velikosti  $9,4 \pm 0,1$  mm. Ostatní testované gramnegativní kmeny byli rezistentní vůči působení zkoumaných extraktů z máty peprné.

Tabulka 5 Antimikrobiální aktivita extraktů z máty peprné na testované bakteriální kmeny [průměrné velikosti inhibičních zón  $\pm$  SD v mm, (-) žádný inhibiční účinek, MAE – mikrovlnná extrakce]

<b>Máta peprná - průměrné hodnoty inhibičních zón [mm] <math>\pm</math> SD extraktů</b>						
<b>Indikátorové bakterie</b>	Nálev 100 °C	Nálev 80 °C	Vodný macerát	Eth. macerát	MAE H <sub>2</sub> O	MAE Eth.
<i>Salmonella enteritidis</i>	-	-	-	-	-	-
<i>Yersinia enterocolitica</i>	-	$9,5 \pm 0,2$	-	-	-	-
<i>Escherichia coli</i>	-	-	-	-	-	-
<i>Escherichia coli</i> ESBL	-	$9,4 \pm 0,1$	-	-	-	-
<i>Campylobacter coli</i>	-	-	-	-	-	-
<i>Bacillus cereus</i>	$17,2 \pm 0,2$	-	$16,9 \pm 0,1$	$19,1 \pm 0,1$	-	-
<i>Staphylococcus aureus</i>	-	$9,7 \pm 0,1$	-	$24,4 \pm 0,2$	-	-
<i>Staphylococcus aureus</i> MRSA	-	-	$9,5 \pm 0,1$	-	-	-
<i>Enterococcus faecalis</i>	$8,5 \pm 0,2$	-	$8,1 \pm 0,1$	$13,5 \pm 0,2$	$12,3 \pm 0,2$	-

### 5.2.3 Jahodník obecný (*Fragaria vesca*)

Z tabulky 6 je patrné, že všechny testované mikroorganismy, s výjimkou *S. enteritidis* a *S. aureus* MRSA, byly citlivé vůči působení nálevu připraveného při 100 °C. Inhibiční zóny se pohybovaly v rozmezí 7,8–15,4 mm. Největší inhibiční zóna ( $15,4 \pm 0,1$  mm) byla detekována u *B. cereus* a dále sestupně u: *Y. enterocolitica* ( $13,3 \pm 0,2$  mm), *S. aureus* ( $11,7 \pm 0,3$  mm), *E. coli* ( $10,4 \pm 0,3$  mm), *E. coli* ESBL ( $9,5 \pm 0,3$  mm), *C. coli* ( $9,3 \pm 0,2$  mm), *E. faecalis* ( $7,8 \pm 0,2$  mm). Naopak nálev připravovaný při 80 °C vytvořil inhibiční zónu pouze proti dvěma gramnegativním bakteriím: *E. coli* ( $10,8 \pm 0,1$  mm)

a *C. coli* ( $8,8 \pm 0,2$  mm). Z dalších testovaných extraktů, který inhibičně působil na alespoň jeden ze zkoumaných indikátorových mikroorganismů, je vodný macerát a MAE H<sub>2</sub>O. Vodný macerát z jahodníku inhiboval *Y. enterocolitica* ( $13,9 \pm 0,2$  mm), *B. cereus* ( $15,9 \pm 0,2$  mm) a *E. faecalis* ( $8,1 \pm 0,1$  mm). MAE H<sub>2</sub>O inhibičně působila pouze proti *E. faecalis* ( $13,2 \pm 0,2$  mm).

Nejcitlivější bakterií byla jako v přechozím případě *E. faecalis*, jejíž růst byl inhibován po působení třech různých extraktů, tj. nálev (100 °C), vodný macerát a MAE H<sub>2</sub>O.

Tabulka 6 Antimikrobiální aktivita extraktů z jahodníku obecného na testované bakteriální kmeny [průměrné velikosti inhibičních zón  $\pm$  SD v mm, (-) žádný inhibiční účinek, MAE – mikrovlnná extrakce]

Jahodník obecný - průměrné velikosti inhibičních zón [mm] $\pm$ SD extraktů						
Indikátorové bakterie	Nálev 100 °C	Nálev 80 °C	Vodný macerát	Eth. macerát	MAE H <sub>2</sub> O	MAE Eth.
<i>Salmonella enteritidis</i>	-	-	-	-	-	-
<i>Yersinia enterocolitica</i>	$13,3 \pm 0,2$	-	$13,9 \pm 0,2$	-	-	-
<i>Escherichia coli</i>	$10,4 \pm 0,3$	$10,8 \pm 0,1$	-	-	-	-
<i>Escherichia coli</i> ESBL	$9,5 \pm 0,3$	-	-	-	-	-
<i>Campylobacter coli</i>	$9,3 \pm 0,2$	$8,8 \pm 0,2$	-	-	-	-
<i>Bacillus cereus</i>	$15,4 \pm 0,1$	-	$15,9 \pm 0,2$	-	-	-
<i>Staphylococcus aureus</i>	$11,7 \pm 0,3$	-	-	-	-	-
<i>Staphylococcus aureus</i> MRSA	-	-	-	-	-	-
<i>Enterococcus faecalis</i>	$7,8 \pm 0,2$	-	$8,1 \pm 0,1$	-	$13,2 \pm 0,2$	-

#### 5.2.4 Kopřiva dvoudomá (*Urtica dioica*)

Všechny extrakty připravené z kopřivy dvoudomé vykazovaly antimikrobiální aktivitu proti alespoň jednomu z indikátorových kmenů. Z tabulky 7 je patrné, že ethanolový macerát byl ze všech použitých typů extrakce nejúčinnější. Působil inhibičně na dvě testované gramnegativní bakterie: *E. coli* ( $9,3 \pm 0,2$  mm), *E. coli* ESBL ( $9,1 \pm 0,1$  mm) a na dvě grampozitivní: *B. cereus* ( $11,2 \pm 0,1$  mm) a *S. aureus* ( $16,4 \pm 0,3$  mm). Zmíněná inhibiční zóna *S. aureus* byla po působení extraktů z kopřivy ze všech změřených největší. MAE H<sub>2</sub>O zastavila růst pouze grampozitivní bakterie *S. aureus* vytvořením zóny o velikosti  $10,5 \pm 0,4$  mm. MAE Eth. naopak působila pouze proti gramnegativní bakterii *E. coli* ESBL vytvořením zóny  $11,2 \pm 0,1$  mm.

Ostatní vodné extrakty aktivně působili pouze proti grampozitivním bakteriím. Vodný nálev (100 °C) působil tvorbou inhibiční zóny o velikosti  $8,6 \pm 0,1$  mm proti *E. faecalis*. Působením vodného nálevu připraveného při teplotě 90 °C a vodného macerátu byl zjištěn inhibiční účinek pouze proti jediné bakterii *S. aureus* ( $11,2 \pm 0,3$  mm – nálev 90 °C) a ( $9,9 \pm 0,1$  mm – vodný macerát).

Vůči působení látek obsažených ve zkoumaných extraktech z kopřivy byl nejvíce citlivý kmen *S. aureus*, jehož růst byl inhibován 4 různými extrakty ze 6 testovaných, tj. nálev 90 °C, vodný i ethanolový macerát a MAE H<sub>2</sub>O.

Tabulka 7 Antimikrobiální aktivita extraktů z kopřivy dvoudomé na testované bakteriální kmeny [průměrné velikosti inhibičních zón  $\pm$  SD v mm, (-) žádný inhibiční účinek, MAE – mikrovlnná extrakce]

<b>Kopřiva dvoudomá - průměrné hodnoty inhibičních zón [mm] <math>\pm</math> SD extraktů</b>						
<b>Indikátorové bakterie</b>	Nálev 100 °C	Nálev 90 °C	Vodný macerát	Eth. macerát	MAE H <sub>2</sub> O	MAE Eth.
<i>Salmonella enteritidis</i>	-	-	-	-	-	-
<i>Yersinia enterocolitica</i>	-	-	-	-	-	-
<i>Escherichia coli</i>	-	-	-	$9,3 \pm 0,2$	-	-
<i>Escherichia coli</i> ESBL	-	-	-	$9,1 \pm 0,1$	-	$11,2 \pm 0,1$
<i>Campylobacter coli</i>	-	-	-	-	-	-
<i>Bacillus cereus</i>	-	-	-	$11,2 \pm 0,1$	-	-
<i>Staphylococcus aureus</i>	-	$11,2 \pm 0,3$	$9,9 \pm 0,1$	$16,4 \pm 0,3$	$10,5 \pm 0,4$	-
<i>Staphylococcus aureus</i> MRSA	-	-	-	-	-	-
<i>Enterococcus faecalis</i>	$8,6 \pm 0,1$	-	-	-	-	-

### 5.2.5 Dobromysl obecná (*Origanum vulgare*)

Z výsledků uvedených v tabulce 8 lze vidět, že všechny extrakty vykazovaly antimikrobiální aktivitu proti alespoň jednomu z indikátorových kmenů s výjimkou MAE Eth., která neprojevila žádný inhibiční účinek vůči testovaným bakteriím.

Připraveným extraktům z dobromysli dominoval svým antimikrobiálním účinkem jednoznačně vodný nálev (100 °C). Tento extrakt zastavil růst sedmi bakterií z devíti testovaných: *B. cereus* ( $12,7 \pm 0,3$  mm), *E. coli* ESBL ( $12,4 \pm 0,1$  mm), *S. aureus* ( $12,2 \pm 0,1$  mm), *E. coli* ( $12,1 \pm 0,1$  mm), *S. enteritidis* ( $11,3 \pm 0,3$  mm), *Y. enterocolitica*

( $10,3 \pm 0,2$  mm) a *E. faecalis* ( $9,7 \pm 0,3$  mm). Nálev připravený při teplotě  $80\text{ }^{\circ}\text{C}$  působil inhibičně pouze proti dvěma gramnegativním bakteriím: *S. enteritidis* ( $10,6 \pm 0,3$  mm) a *Y. enterocolitica* ( $12,3 \pm 0,2$  mm). U *Y. enterocolitica* byla po působení vodného macerátu změřena podobná zóna, a to o velikosti  $12,9 \pm 0,1$  mm. Dále působil vodný macerát převážně na grampozitivní bakterie (3/4). Jeho aktivita byla potvrzena vytvořením inhibičních zón proti *S. aureus* ( $12,5 \pm 0,1$  mm), *S. aureus* MRSA ( $13,0 \pm 0,2$  mm). Růst grampozitivních bakterií inhiboval i ethanolový macerát, který byl aktivní proti *B. cereus* ( $12,6 \pm 0,2$  mm) a *S. aureus* ( $8,8 \pm 0,1$  mm). U MAE H<sub>2</sub>O byl zjištěn inhibiční účinek pouze proti *E. faecalis* ( $10,6 \pm 0,2$  mm).

Mezi nejcitlivější bakterie proti působení extraktů z dobromysli patřili tři bakterie: *Y. enterocolitica*, *S. aureus* a *E. faecalis*. Každá z těchto indikátorových bakterií byla inhibována třemi různými druhy extraktů. Růst *Y. enterocolitica* byl potlačen nálevem  $100\text{ }^{\circ}\text{C}$ , nálevem  $80\text{ }^{\circ}\text{C}$  a vodným macerátem. *S. aureus* byl citlivý na antimikrobiální látky obsažené v nálevu  $100\text{ }^{\circ}\text{C}$ , vodném macerátu a ethanolovém macerátu. Růst *E. faecalis* byl inhibován třemi vodnými extrakty, tj. nálev  $100\text{ }^{\circ}\text{C}$ , vodný macerát a MAE H<sub>2</sub>O.

Tabulka 8 Antimikrobiální aktivita extraktů z dobromysli obecné na testované bakteriální kmeny [průměrné velikosti inhibičních zón  $\pm$  SD v mm, (-) žádný inhibiční účinek, MAE – mikrovlnná extrakce]

<b>Dobromysl obecná - průměrné hodnoty inhibičních zón [mm] <math>\pm</math> SD extraktů</b>						
<b>Indikátorové bakterie</b>	Nálev 100 °C	Nálev 80 °C	Vodný macerát	Eth. macerát	MAE H <sub>2</sub> O	MAE Eth.
<i>Salmonella enteritidis</i>	$11,3 \pm 0,3$	$10,6 \pm 0,3$	-	-	-	-
<i>Yersinia enterocolitica</i>	$10,3 \pm 0,2$	$12,3 \pm 0,2$	$12,9 \pm 0,1$	-	-	-
<i>Escherichia coli</i>	$12,1 \pm 0,1$	-	-	-	-	-
<i>Escherichia coli</i> ESBL	$12,4 \pm 0,1$	-	-	-	-	-
<i>Campylobacter coli</i>	-	-	-	-	-	-
<i>Bacillus cereus</i>	$12,7 \pm 0,3$	-	-	$16,2 \pm 0,2$	-	-
<i>Staphylococcus aureus</i>	$12,2 \pm 0,1$	-	$12,5 \pm 0,1$	$8,8 \pm 0,1$	-	-
<i>Staphylococcus aureus</i> MRSA	-	-	$13,0 \pm 0,2$	-	-	-
<i>Enterococcus faecalis</i>	$9,7 \pm 0,1$	-	$12,1 \pm 0,2$	-	$10,6 \pm 0,2$	-

### 5.2.6 Řebříček lékařský (*Achillea millefolium*)

V rámci diplomové práce se připravili extrakty řebříčku lékařského jak z květu, tak i z listu této rostliny. V tabulce 9 jsou uvedené výsledky inhibičního působení extraktů připravených z listů řebříčku. Oproti extraktům připravených z květů řebříčku (Tabulka 10) extrakty z listů této rostliny vykazovaly větší antimikrobiální aktivitu vůči indikátorovým kmenům. Alespoň jeden indikátorový kmen byl inhibován 4 druhy extraktů z listu. Nálev připravovaný při 100 °C vykazoval antimikrobiální účinek pouze na *S. aureus* ( $8,1 \pm 0,2$  mm). Naopak nálev připravovaný při nižší teplotě (80 °C) působil inhibičně pouze na gramnegativní bakterii *S. enteritidis* ( $12,4 \pm 0,1$  mm). Vodný macerát z listu řebříčku inhiboval růst kmene *C. coli* a *E. faecalis* s vytvořeními inhibiční zónami o velikosti  $9,0 \pm 0,1$  mm a  $15,6 \pm 0,2$  mm. Tato utvořená inhibiční zóna byla zároveň zónou největší. Ethanolový macerát byl aktivní pouze proti meticilin-rezistentní *S. aureus* ( $8,5 \pm 0,1$  mm). Extrakty MAE H<sub>2</sub>O a MAE Eth. nevykazovaly žádný inhibiční účinek vůči vybraným indikátorovým bakteriím.

Tabulka 9 Antimikrobiální aktivita extraktů z listu řebříčku lékařského na testované bakteriální kmeny [průměrné velikosti inhibičních zón  $\pm$  SD v mm, (-) žádný inhibiční účinek, MAE – mikrovlnná extrakce]

Řebříček lékařský, list - průměrné hodnoty inhibičních zón [mm] $\pm$ SD extraktů						
Indikátorové bakterie	Nálev 100 °C	Nálev 70 °C	Vodný macerát	Eth. macerát	MAE H <sub>2</sub> O	MAE Eth.
<i>Salmonella enteritidis</i>	-	$12,4 \pm 0,1$	-	-	-	-
<i>Yersinia enterocolitica</i>	-	-	-	-	-	-
<i>Escherichia coli</i>	-	-	-	-	-	-
<i>Escherichia coli</i> ESBL	-	-	-	-	-	-
<i>Campylobacter coli</i>	-	-	$9,0 \pm 0,1$	-	-	-
<i>Bacillus cereus</i>	-	-	-	-	-	-
<i>Staphylococcus aureus</i>	$8,1 \pm 0,2$	-	-	-	-	-
<i>Staphylococcus aureus</i> MRSA	-	-	-	$8,5 \pm 0,1$	-	-
<i>Enterococcus faecalis</i>	-	-	$15,6 \pm 0,2$	-	-	-

Při testování květu řebříčku lékařského vykazovaly antimikrobiální účinek pouze maceráty (Tabulka 10). Vodný macerát působil inhibičně, tak jako vodný macerát z listu, na *C. coli* ( $9,2 \pm 0,1$  mm) a na *B. cereus* ( $8,3 \pm 0,1$  mm). Růst *C. coli* zastavil i ethanolový

macerát. Byla změřena inhibiční zóna o velikosti  $10,5 \pm 0,2$  mm. Vodné nálevy a extrakty připravené mikrovlnným působením nevykazovaly žádnou inhibiční aktivitu.

Tabulka 10 Antimikrobiální aktivita extraktů z listu řebříčku lékařského (květ) na testované bakteriální kmeny [průměrné velikosti inhibičních zón  $\pm$  SD v mm, (-) žádný inhibiční účinek, MAE – mikrovlnná extrakce]

<b>Řebříček lékařský, květ - průměrné hodnoty inhibičních zón [mm] <math>\pm</math> SD extraktů</b>						
<b>Indikátorové bakterie</b>	Nálev 100 °C	Nálev 70 °C	Vodný macerát	Eth. macerát	MAE H <sub>2</sub> O	MAE Eth.
<i>Salmonella enteritidis</i>	-	-	-	-	-	-
<i>Yersinia enterocolitica</i>	-	-	-	-	-	-
<i>Escherichia coli</i>	-	-	-	-	-	-
<i>Escherichia coli</i> ESBL	-	-	-	-	-	-
<i>Campylobacter coli</i>	-	-	$9,2 \pm 0,1$	$10,5 \pm 0,2$	-	-
<i>Bacillus cereus</i>	-	-	$8,3 \pm 0,1$	-	-	-
<i>Staphylococcus aureus</i>	-	-	-	-	-	-
<i>Staphylococcus aureus</i> MRSA	-	-	-	-	-	-
<i>Enterococcus faecalis</i>	-	-	-	-	-	-

### 5.2.7 Měsíček lékařský (*Calendula officinalis*)

Z tabulky 11 je patrné, že ethanolový macerát měsíčku lékařského byl jediný druh extraktu vykazující inhibiční účinek proti vybraným bakteriím (6/9). Macerát působil inhibičně převážně proti grampozitivním bakteriím (4/4): *B. cereus* ( $16,2 \pm 0,2$  mm), *S. aureus* ( $13,4 \pm 0,3$  mm), *S. aureus* MRSA ( $14,2 \pm 0,3$  mm) a *E. faecalis* ( $18,3 \pm 0,2$  mm). Vytvořená zóna proti *E. faecalis* byla celkově největší vytvořená inhibiční zóna. Další působení macerátu bylo proti gramnegativním bakteriálním kmenům (2/5): *E. coli* ( $13,5 \pm 0,3$  mm) a *E. coli* ESBL (13,4 mm).



Tabulka 11 Antimikrobiální aktivita extraktů z měsíčku lékařského na testované bakteriální kmeny [průměrné velikosti inhibičních zón  $\pm$  SD v mm, (-) žádný inhibiční účinek, MAE – mikrovlnná extrakce]

Měsíček lékařský - průměrné hodnoty inhibičních zón [mm] $\pm$ SD extraktů						
Indikátorové bakterie	Nálev 100 °C	Nálev 70 °C	Vodný macerát	Eth. macerát	MAE H <sub>2</sub> O	MAE Eth.
<i>Salmonella enteritidis</i>	-	-	-	-	-	-
<i>Yersinia enterocolitica</i>	-	-	-	-	-	-
<i>Escherichia coli</i>	-	-	-	13,5 $\pm$ 0,3	-	-
<i>Escherichia coli</i> ESBL	-	-	-	13,4 $\pm$ 0,8	-	-
<i>Campylobacter coli</i>	-	-	-	-	-	-
<i>Bacillus cereus</i>	-	-	-	16,2 $\pm$ 0,2	-	-
<i>Staphylococcus aureus</i>	-	-	-	13,4 $\pm$ 0,3	-	-
<i>Staphylococcus aureus</i> MRSA	-	-	-	14,2 $\pm$ 0,3	-	-
<i>Enterococcus faecalis</i>	-	-	-	18,3 $\pm$ 0,2	-	-

### 5.2.8 Pampeliška lékařská (*Taraxacum officinale*)

V případě extraktů připravených z květů pampelišky lékařské se nepodařilo prokázat antimikrobiální účinky na vybrané bakteriální kmeny.

### 5.2.9 Libeček lékařský (*Levisticum officinale*)

Grampozitivní bakterie *S. aureus* je jediný kmen, který prokázal citlivost vůči působení látek obsažených v extraktech z libečku lékařského (Tabulka 12). Jeho růst byl inhibován pouze vodným a ethanolovým macerátem. Po působení vodného macerátu byla detekována inhibiční zóna o velikosti  $10,4 \pm 0,3$  mm a po působení ethanolového macerátu  $12,1 \pm 0,0$  mm. U ostatních testovaných extraktů této rostliny nebyla zjištěna žádná antimikrobiální aktivita.

### 5.2.10 Bez černý (*Sambucus nigra*)

Přehled výsledků působení extraktů z bezu černého je uvedena v tabulce 13. Z hodnot na první pohled vyplývá, že jediným účinným typem extrakce byla macerace. V případě vodného macerátu byla vytvořena inhibiční zóna pouze u *E. faecalis* ( $8,8 \pm 0,1$  mm). Daleko účinnější byl ethanolový macerát, který inhiboval růst *E. coli* ( $8,4 \pm 0,1$  mm), *E. coli* ESBL

( $8,6 \pm 0,1$  mm) a *S. aureus* MRSA ( $9,1 \pm 0,1$  mm). Jako v případě libečku u ostatních testovaných extraktů této rostliny nebyla zjištěna žádná antimikrobiální aktivita.

Tabulka 12 Antimikrobiální aktivita extraktů z libečku lékařského na testované bakteriální kmeny [průměrné velikosti inhibičních zón  $\pm$  SD v mm, (-) žádný inhibiční účinek, MAE – mikrovlnná extrakce]

<b>Libeček lékařský - průměrné hodnoty inhibičních zón [mm] <math>\pm</math> SD extraktů</b>						
<b>Indikátorové bakterie</b>	Nálev 100 °C	Nálev 70 °C	Vodný macerát	Eth. macerát	MAE H <sub>2</sub> O	MAE Eth.
<i>Salmonella enteritidis</i>	-	-	-	-	-	-
<i>Yersinia enterocolitica</i>	-	-	-	-	-	-
<i>Escherichia coli</i>	-	-	-	-	-	-
<i>Escherichia coli</i> ESBL	-	-	-	-	-	-
<i>Campylobacter coli</i>	-	-	-	-	-	-
<i>Bacillus cereus</i>	-	-	-	-	-	-
<i>Staphylococcus aureus</i>	-	-	$10,4 \pm 0,3$	$12,1 \pm 0,0$	-	-
<i>Staphylococcus aureus</i> MRSA	-	-	-	-	-	-
<i>Enterococcus faecalis</i>	-	-	-	-	-	-

Tabulka 13 Antimikrobiální aktivita extraktů z bezu černého na testované bakteriální kmeny [průměrné velikosti inhibičních zón  $\pm$  SD v mm, (-) žádný inhibiční účinek, MAE – mikrovlnná extrakce]

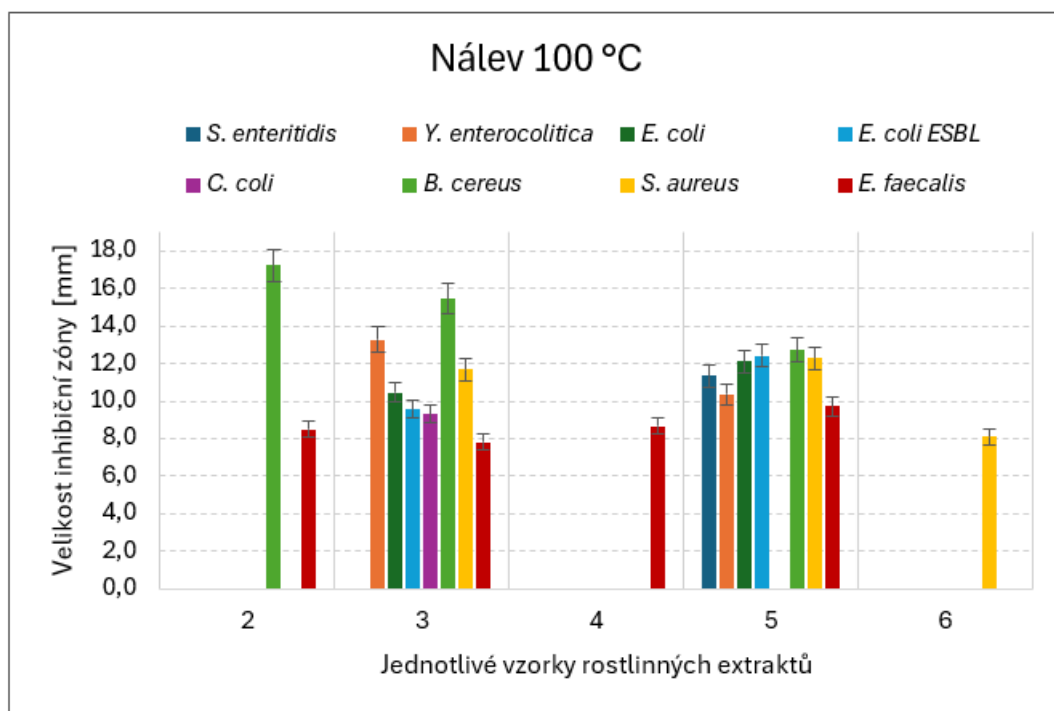
<b>Bez černý - průměrné hodnoty inhibičních zón [mm] <math>\pm</math> SD extraktů</b>						
<b>Indikátorové bakterie</b>	Nálev 100 °C	Nálev 70 °C	Vodný macerát	Eth. macerát	MAE H <sub>2</sub> O	MAE Eth.
<i>Salmonella enteritidis</i>	-	-	-	-	-	-
<i>Yersinia enterocolitica</i>	-	-	-	-	-	-
<i>Escherichia coli</i>	-	-	-	$8,4 \pm 0,1$	-	-
<i>Escherichia coli</i> ESBL	-	-	-	$8,6 \pm 0,1$	-	-
<i>Campylobacter coli</i>	-	-	-	-	-	-
<i>Bacillus cereus</i>	-	-	-	-	-	-
<i>Staphylococcus aureus</i>	-	-	-	-	-	-
<i>Staphylococcus aureus</i> MRSA	-	-	-	$9,1 \pm 0,1$	-	-
<i>Enterococcus faecalis</i>	-	-	$8,8 \pm 0,1$	-	-	-

### 5.3 Vliv způsobu získání extraktů z testovaných rostlin na jejich antimikrobiální aktivitu

#### 5.3.1 Inhibiční účinek nálevů z testovaných rostlin

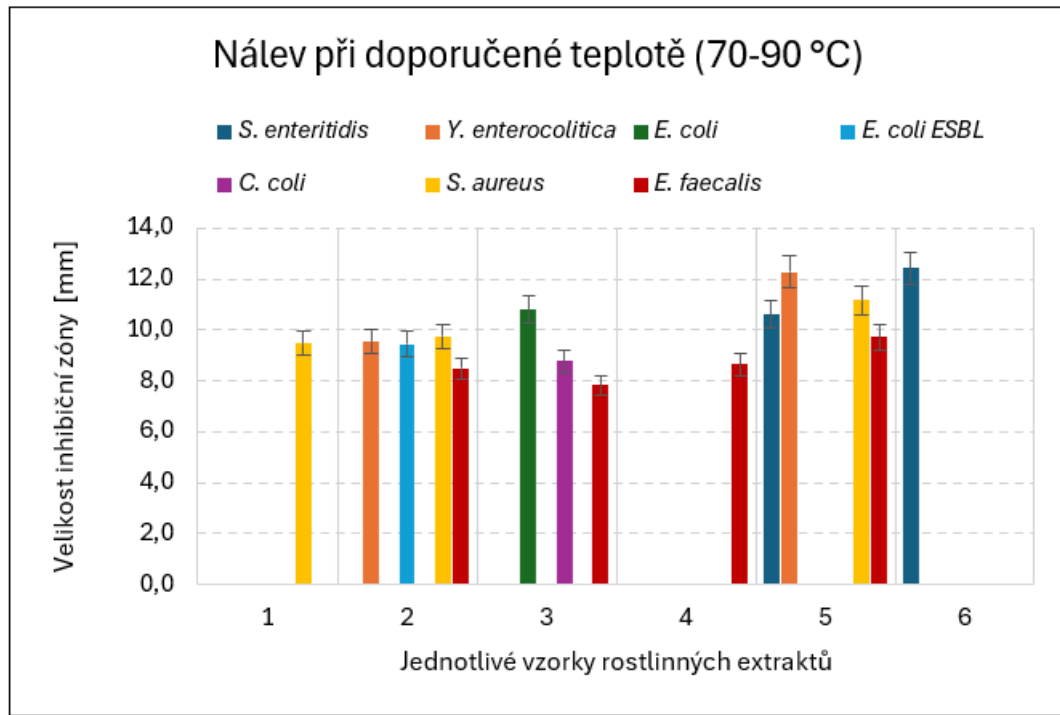
Nálev je za tepla získaný vodný výluh, kdy se rostlina zalije vroucí vodou a nechá se po určitou dobu louhovat. V této diplomové práci byly připraveny z vybraných 11 rostlin dva druhy nálevů: nálev připravený při 100 °C (dále jen nálev 100 °C) a nálev připravený při teplotě podle druhu rostliny od 70–90 °C se postupovalo podle instrukcí uvedených v kapitole 4.4.2. Jejich antimikrobiální aktivita byla testována proti 9 indikátorovým mikroorganismům.

Jak je patrné z výsledků (Obrázek 17), i při použití vysoké teploty (100 °C) při přípravě extraktů byla zaznamenána antimikrobiální aktivita u 5 nálevů z rostlin: máta peprná (2), jahodník obecný (3), kopřiva dvoudomá (4), dobromysl obecná (5) a řebříček lékařský (6). Největší inhibiční účinek byl detekován u nálevu z jahodníku obecného a z dobromysli obecné. Nálevy z obou rostlin inhibovaly 7 z 9 testovaných indikátorových mikroorganismů. Nálev z jahodníku inhibičně působil vůči: *Y. enterocolitica*, *E. coli*, *E. coli* ESBL, *C. coli*, *B. cereus*, *S. aureus* a *E. faecalis*. V případě dobromysli obecné se jednalo o kmeny: *S. enteritidis*, *Y. enterocolitica*, *E. coli*, *E. coli* ESBL, *B. cereus*, *S. aureus* a *E. faecalis*.



Obrázek 17 Antimikrobiální aktivita nálevů z rostlin: 2 – máta peprná, 3 – jahodník obecný, 4 – kopřiva dvoudomá, 5 – dobromysl obecná, 6 – list řebříčku lékařského.

Nejcitlivější kmen na testované nálevy byl *E. faecalis*, jeho růst byl inhibován po působení nálevu z máty peprné (2), jahodníku obecného (3), kopřivy dvoudomé (4) a dobromysli obecné (5).



Obrázek 18 Antimikrobiální aktivita nálevů z rostlin: 1 – jitrocel kopinatý, 2 – máta peprná, 3 – jahodník obecný, 4 – kopřiva dvoudomá, 5 – dobromysl obecná, 6 – list řebříčku lékařského.

Antimikrobiální aktivita nálevů připravovaných dle doporučené teploty výrobcem v rozmezí 70–90 °C z testovaných rostlin je uvedena v grafu na obrázku 18. Jak je vidět na tomto grafu, snížení teploty při přípravě nálevů vedlo ke zvýšení inhibičního účinku nálevu z máty peprné (2). Oproti předchozímu způsobu přípravy nálevu (100 °C) se rozšířil spektrum působení nálevu z máty o 2 bakteriální kmeny. Byla zaznamenána inhibice *Y. enterocolitica*, *E. coli* ESBL, *S. aureus* a *E. faecalis*. Naopak tento nálev z máty již neměl inhibiční účinek na *B. cereus*. Dále byl také zaznamenán inhibiční účinek nálevu z jitrocele na *S. aureus*. U některých rostlin snížení teploty při přípravě nálevu vedlo dokonce ke snížení antimikrobiální aktivity. Konkrétně se jednalo o nálev z jahodníku a dobromysli. U nálevu z jahodníku byla zaznamenána antimikrobiální aktivita pouze vůči 3 kmenům: *E. coli*, *C. coli* a *E. faecalis*. V případě dobromysli byl pozorován inhibiční účinek na *S. enteritidis*, *Y. enterocolitica*, *S. aureus* a *E. faecalis*. Nálevy obou rostlin připravovaných při 100 °C přitom inhibovaly 7 z 9 testovaných kmenů.

Nálevy z květu řebříčku lékařského (7), měsíčku lékařského (8), pampelišky lékařské (9), libečku lékařského (10) a bezu černého (11) inhibičně nepůsobili ani na jeden z indikátorových mikroorganismů.

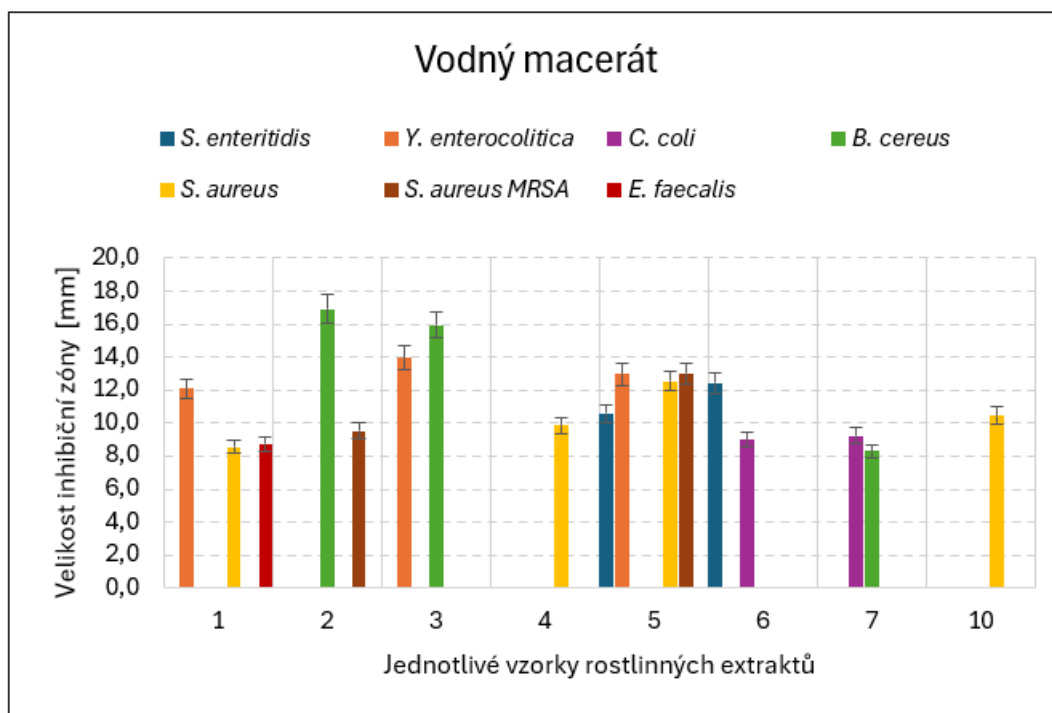
### 5.3.2 Inhibiční účinek macerátů z testovaných rostlin

Macerát je výluh získaný za studena. Rostlina se přelije vodou nebo jiným vhodným rozpouštědlem o teplotě 20–25 °C a nechá se louhovat předepsanou dobu za občasného zamíchání. Při přípravě vodného a ethanolového macerátu se postupovalo podle postupů uvedených v kapitole 4.4.2. Antimikrobiální účinek extraktů byl testován proti 9 indikátorovým mikroorganismům.

Jak je vidět v grafu uvedeném na obrázku 19, vodné maceráty z 8 testovaných rostlin, z celkových 11 použitých, prokázaly inhibiční účinek na alespoň jeden z indikátorových mikroorganismů. Konkrétně se jednalo o vodné maceráty z jitrocele kopinatého (1), máty peprné (2), jahodníku obecného (3), kopřivy dvoudomé (4), dobromysli obecné (5), květu řebříčku lékařského (6), listu řebříčku lékařského (7) a z libečku lékařského (10).

Vodné maceráty rostlin měly větší inhibiční účinek na grampozitivní kmeny než na gramnegativní. *Staphylococcus aureus* vykazoval největší citlivost, z testovaných kmenů jako jediný byl inhibován 4 různými maceráty: vzorek 1, 4, 5 a 10. Velikost inhibičních zón se pohybovala v rozmezí 8,6–10,4 mm. Největší inhibiční zóna ( $16,9 \pm 0,1$  mm) byla však detekována u kmene *B. cereus* po působení vodného macerátu z máty peprné. Naopak růst indikátorových kmenů *E. coli* a *E. coli* ESBL nebyl inhibován po působení žádného z testovaných vodných macerátů.

Největší inhibiční účinek prokázaly vodné maceráty z jitrocele kopinatého (vzorek 1) a z dobromysli obecné (vzorek 5).



Obrázek 19 Antimikrobiální aktivita nálevů z rostlin: 1 – jitrocel kopinatý, 2 – máta peprná, 3 – jahodník obecný, 4 – kopřiva dvoudomá, 5 – dobromysl obecná, 6 – list řebříčku lékařského, 7 – květ řebříčku lékařského, 10 – libeček lékařský.

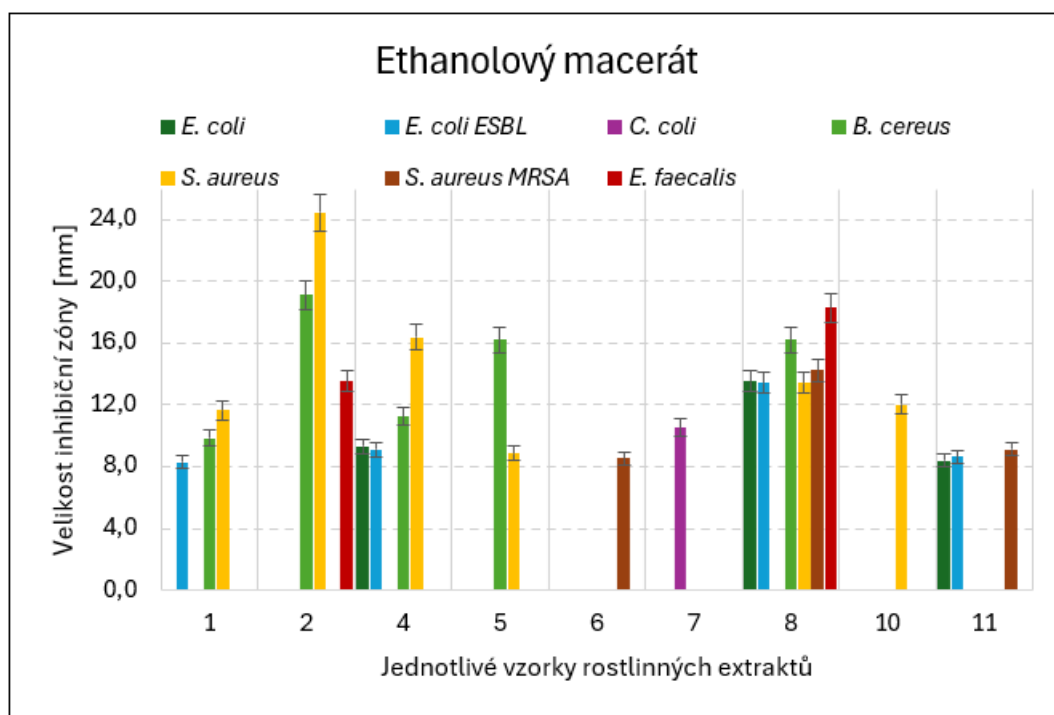
Jak vyplývá z grafu uvedeného na obrázku 20, ethanolové maceráty z 9 testovaných rostlin prokázaly inhibiční účinek na alespoň jeden z indikátorových mikroorganismů. Konkrétně se jednalo o maceráty z jitrocele kopinatého (1), máty peprné (2), kopřivy dvoudomé (4), dobromysli obecné (5), květu řebříčku lékařského (6), listu řebříčku lékařského (7), měsíčku lékařského (8), libečku lékařského (10) a z bezu černého (11). Největší inhibiční účinek prokázaly ethanolové maceráty z kopřivy dvoudomé (4) a z měsíčku lékařského (8). V případě macerátu z kopřivy byl inhibován růst *E. coli*, *E. coli* ESBL, *B. cereus* a *S. aureus*. V případě měsíčku byla zaznamenána antimikrobiální aktivita vůči *E. coli*, *E. coli* ESBL, *B. cereus*, *S. aureus*, *S. aureus* MRSA a *E. faecalis*.

Ethanolové maceráty z testovaných rostlin stejně jako vodné maceráty měly větší inhibiční účinek na grampozitivní kmeny než na gramnegativní. Největší citlivost prokázal opět kmen *Staphylococcus aureus*, jehož růst byl inhibován maceráty ze 6 různých rostlin: vzorek 1, 2, 4, 5, 8 a 10. Velikost inhibičních zón se pohybovala v rozmezí 8,8–24,4 mm. Největší inhibiční zóna ( $24,4 \pm 0,2$  mm) byla pozorována po působení ethanolového macerátu z máty peprné (2) na tento indikátorový mikroorganismus.

Ze získaných výsledků je patrné, že použité rozpouštědlo při maceraci může ovlivnit antimikrobiální aktivitu testovaných rostlin. Například vodný macerát z jahodníku obecného

(3) vykazoval antimikrobiální aktivitu vůči *Y. enterocolitica* a *B. cereus*, avšak při použití ethanolu jako rozpouštědla daný macerát nevykazoval žádný inhibiční účinek vůči indikátorovým kmenům. Dále také bylo zaznamenáno širší spektrum působení u vodných macerátů z dobromysli (5) a řebříčku (6 a 7) než u ethanolových macerátů. Naopak u bezu černého (11) a měsíčku lékařského (8) byla antimikrobiální aktivita pozorována pouze v případě ethanolových macerátů.

Nejúčinnějším ze všech testovaných macerátů byl prokazatelně ethanolový macerát z měsíčku (8), který inhiboval růst šesti zkoumaných bakterií: *E. coli*, *E. coli* ESBL, *B. cereus*, *S. aureus*, *S. aureus* MRSA a *E. faecalis*.

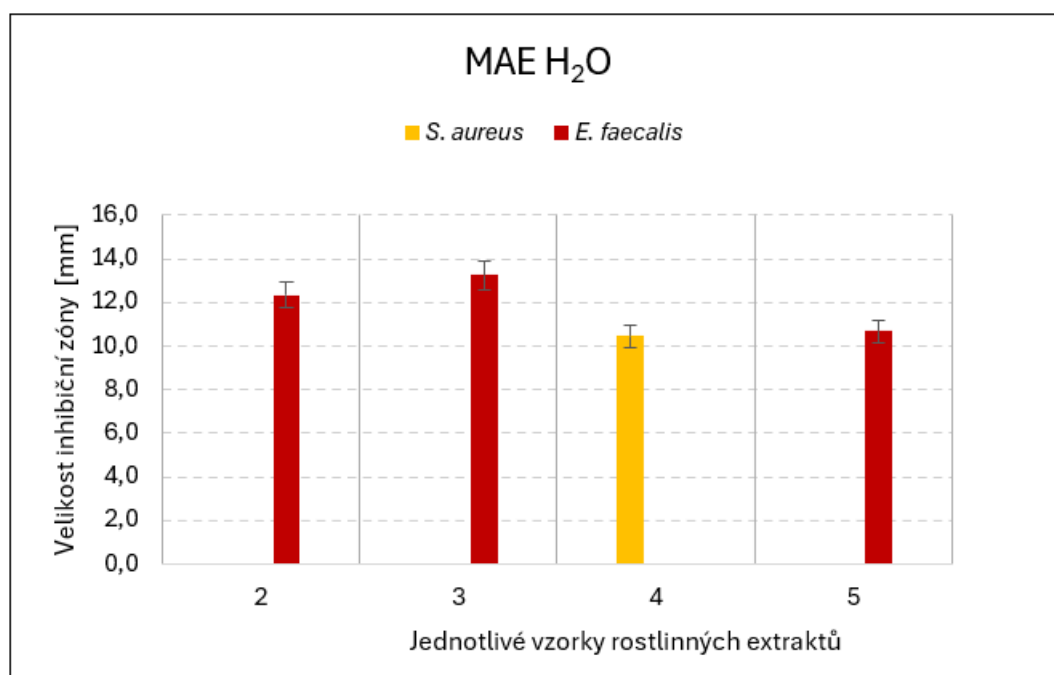


Obrázek 20 Antimikrobiální aktivita nálevů z rostlin: 1 – jitrocel kopinatý, 2 – máta peprná, 4 – kopřiva dvoudomá, 5 – dobromysl obecná, 6 – list řebříčku lékařského, 7 – květ řebříčku lékařského, 8 – měsíček lékařský, 10 – libeček lékařský, 11 – bez černý.

### 5.3.3 Inhibiční účinek extraktů získaných pomocí mikrovln z testovaných rostlin

MAE se v poslední době dostává do popředí zájmů vědeckých týmů při získávání extraktů z rostlin, a proto byl tento způsob extrakce zvolen i v této diplomové práci. Při přípravě extraktů se postupovalo podle postupů uvedených v kapitole 4.4.3. Antimikrobiální aktivita extraktů byla testována proti 9 indikátorovým mikroorganismům.

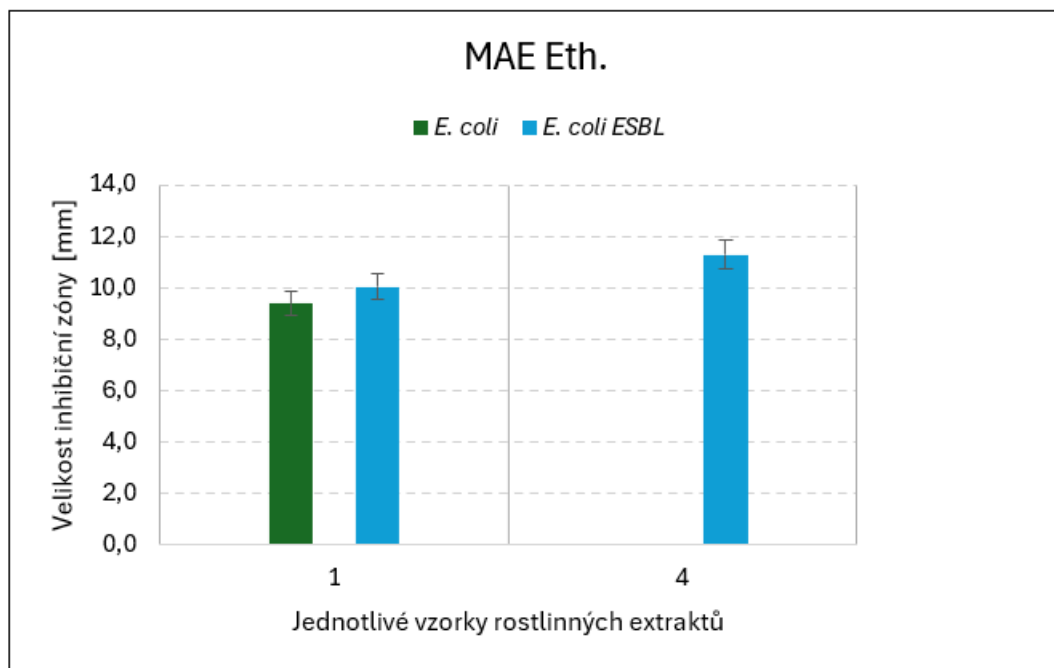
Z grafu na obrázku 21 je na první pohled zřejmé, že vodné extrakty MAE vykazovaly antimikrobiální účinek pouze na grampozitivní bakterie: *S. aureus* a *E. faecalis*. Kmen *E. faecalis* byl inhibován po působení extraktu z máty peprné (2), jahodníku obecného (3) a dobromysli obecné (5). Velikost inhibičních zón se pohyboval v rozmezí 10,6 – 13,2 mm. Extrakt z máty peprné inhiboval růst pouze *S. aureus*.



Obrázek 21 Antimikrobiální aktivita nálevů z rostlin: 2 – máta peprná, 3 – jahodník obecný, 4 – kopřiva dvoudomá, 5 – dobromysl obecná.

Jak je vidět na obrázku 22, oproti vodným extraktům, MAE Eth. působila antimikrobiálně pouze na gramnegativní bakterie. Ethanolový extrakt z jitrocele kopinatého (1) inhiboval růst *E. coli* (inhibiční zóna o velikosti  $9,4 \pm 0,1$  mm) a i *E. coli* ESBL (inhibiční zóna o velikosti  $10,1 \pm 0,2$  mm). Na tento rezistentní kmen (*E. coli* ESBL) působil inhibičně i extrakt z kopřivy dvoudomé (4).





Obrázek 22 Antimikrobiální aktivita nálevů z rostlin: 1 – jitrocel kopinatý, 4 – kopřiva dvoudomá.

## 6 DISKUZE

Při stanovení antimikrobiální aktivity vybraných rostlin, byly některé vzorky vyhodnoceny pozitivně v závislosti na použitém typu extrakce a indikátorové bakterii.

Účinnost extraktů mohla ovlivnit zvolená teplota, která v případě těkavých látek zapříčinila jejich odpaření. U ethanolových extraktů mohla baktericidní aktivita ethanolu ve vzorcích překrýt možnou aktivitu extrahovaných antimikrobiálních látek.

Zvolený typ rozpouštědla potvrdil vliv na antimikrobiální aktivitu látek ve vodných a ethanolových macerátech. Vodný macerát z jahodníku obecného vykazoval antimikrobiální aktivitu vůči dvěma bakteriím (*Y. enterocolitica* a *B. cereus*), avšak při použití ethanolu jako rozpouštědla daný macerát nevykazoval žádný inhibiční účinek. Dále také bylo zaznamenáno širší spektrum působení antimikrobiálních látek u vodných macerátů z dobromysli obecné a řebříčku lékařského na rozdíl od ethanolových macerátů. Naopak u bezu černého a měsíčku lékařského byla antimikrobiální aktivita pozorována pouze v případě ethanolových macerátů. Nejúčinnějším ze všech testovaných macerátů byl prokazatelně ethanolový macerát z měsíčku lékařského, který inhiboval růst šesti zkoumaných bakterií: *E. coli*, *E. coli* ESBL, *B. cereus*, *S. aureus*, *S. aureus* MRSA a *E. faecalis* (a v případě vodného macerátu žádnou antimikrobiální aktivitu neprokázal).

Krumina et al. (2015) testovali vodné maceráty a ethanolové extrakty měsíčku lékařského proti *Staphylococcus mutans* a ke stanovení byla použita disková difuzní i bujonová diluční metoda. Zatímco vodné extrakty nedokázaly růst inhibovat, ethanolové extrakty vykazovaly pozitivní výsledek (Krumina et al., 2015).

Z uvedené studie a z vlastního otestování v této diplomové práci vyplývá, že vodné extrakty z měsíčku lékařského nebyly vhodným typem extrakce k uplatnění antimikrobiálních vlastností této rostliny. Vzhledem k tomu, že měsíček obsahuje antimikrobiální látky, převážně terpeny, které jsou vysoce nepolární a ve vodě nerozpustné, mnohem častěji jsou připravovány ethanolové a methanolové extrakty nebo esenciální oleje s daleko lepší účinností. Ethanol se tak stal nejčastěji používaným organickým rozpouštědlem, protože hotové výrobky lze relativně bezpečně používat a najdou široké uplatnění v potravinářském průmyslu (Dog, 2009).

Mostafa et al. (2018) zkoumali ethanolové extrakty vybraných rostlin včetně tymiánu obecného (obsahující karvakrol, terpen, který je izolován i z dobromysli obecné, která byla použita v této výzkumné části a potvrdila antimikrobiální schopnosti). Autoři stanovovali

jejich antibakteriální aktivitu proti bakteriím způsobující otravy jídlem, včetně dvou kmenů gram pozitivních bakterií (*B. cereus* a *S. aureus*) a tří kmenů gram negativních bakterií (*E. coli*, *Salmonella Typhi* a *Pseudomonas aeruginosa*) pomocí diskové difúzní metody. Výsledky ukázaly, že všechny rostlinné extrakty byly potenciálně účinné. Extrakt z tymiánu byl účinný proti *S. aureus* a *P. aeruginosa* a zároveň byly tyto dvě bakterie vůči testovaným extraktům nejcitlivější (Mostafa et al., 2018).

I když po porovnání výsledků macerátů připravených v této diplomové práci dominoval ethanolový macerát měsíčku lékařského, v ostatních případech zpracování rostlinných vzorků zajistily vodné extrakty pozitivní výsledky antimikrobiálních účinků rostlin.

I za použití vysoké, sterilizační, teploty (100 °C) při přípravě extraktů byla zaznamenána antimikrobiální aktivita u 5 nálevů z rostlin (máta peprná, jahodník obecný, kopřiva dvoudomá, dobromysl obecná a řebříček lékařský). Největší inhibiční účinek byl detekován u nálevu z jahodníku obecného a z dobromysli obecné. Nálevy z obou rostlin inhibovaly 7 z 9 testovaných indikátorových mikroorganismů. V případě vodných macerátů prokázalo inhibiční účinek osm testovaných rostlin, z celkových jedenácti použitých, na alespoň jeden z indikátorových mikroorganismů. Konkrétně se jednalo o vodné maceráty z jitrocele kopinatého, máty peprné, jahodníku obecného, kopřivy dvoudomé, dobromysli obecné, květu řebříčku lékařského, listu řebříčku lékařského a z libečku lékařského.

Christaki et al. (2021) testovali deset rostlinných vodných extraktů získaných jako vedlejší produkt výroby esenciálních olejů (buď destilovaných vodou nebo vodní párou) a byly testovány *in vitro* proti třem kmenům *Salmonella Typhimurium* při 4 a 37 °C. Vodné extrakty dobromysly vykazovaly nejsilnější antimikrobiální reakci proti všem třem kmenům *S. Typhimurium*. Budoucí práce by se mohla zaměřit na hledání nových způsobů, jak maximalizovat jejich antimikrobiální účinek, např. kombinováním hydrodestilovaných extraktů s různým chemickým složením v potravinářských produktech. Kromě toho by budoucí studie mohly také odhalit mechanismy za účinky závislé na kmeni, které byly pozorovány v této studii (Christaki et al., 2021).

I přesto, že se většina studií a publikací zabývá především antioxidačními a protirakovinovými účinky dobromysli obecné, v této výzkumné části vykazovaly hojně antimikrobiální účinky. Extrakty z listů dobromysli byly v tomto ohledu jedny z nejúčinnějších, protože inhibovaly růst všech použitých indikátorových bakterií. Antimikrobiální schopnosti dobromysli potvrdila i studie autorů Fournomiti et al. (2015). Zjistili inhibiční účinky dobromysli proti klinickým izolátům *E. coli*, *Klebsiella oxytoca*

a *Klebsiella pneumoniae*. Koncentrace inhibující růst bakterií byly srovnatelné s některými testovanými syntetizovanými antibiotiky (Fournomiti et al., 2015).

Naopak extrakty připravené z květů pampelišky v praktické části diplomové práce nevykazovaly žádnou antimikrobiální aktivitu. Jiným závěrům došli autoři Kenny et al. (2015), kteří ve své studii hodnotili extrakty z kořene pampelišky z hlediska jejich antimikrobiálních vlastností proti grampozitivním a gramnegativním bakteriálním kmenům. Zjistili, že metanolový extrakt prokázal nejsilnější inhibici mikrobiálního růstu kmenů *S. aureus*, *S. aureus* MRSA a *B. cereus*. Podobným závěrům došli i autoři Xu et al. (2021). Ve své studii zkoumali *in vitro* antibiofilmovou aktivitu extraktu z pampelišky na *S. aureus*. Po aplikaci fenolického extraktu z pampelišky byl výrazně inhibován růst *S. aureus*. Tyto výsledky naznačují, že extrakty připravené z jiných částí pampelišky mohou mít inhibiční účinek (Kenny et al., 2015; Xu et al., 2021).

V této diplomové práci byly vůči aktivním látkám nejvíce citlivé grampozitivní bakterie *S. aureus* a *E. faecalis*. V obou případech byla proti nim potvrzena antimikrobiální aktivita 8 stejných rostlinných vzorků (tj. jitrocel kopinatý, máta peprná, jahodník obecný, kopřiva dvoudomá, dobromysl obecná, řebříček lékařský, měsíček lékařský a líbeček lékařský).

Je vědecky dokázáno, že grampozitivní bakterie nesou silnou vrstvu peptidoglykanu, který má potenciál inhibovat membránu narušující účinek mnoha esenciálních olejů. Obecně platí, že gramnegativní bakterie jsou odolnější vůči esenciálním olejům než grampozitivní bakterie. Gramnegativní bakterie jsou obklopeny tenkou peptidoglykanovou buněčnou stěnou, která je chráněna vnější membránou obsahující lipopolysacharid (LPS). LPS hraje klíčovou roli v bariérové funkci jejich vnější membrány. „Netekutá síť“ tvořená LPS je těžce překonatelnou bariérou pro hydrofobní molekuly. Kromě toho lipidická povaha terpenů působí synergicky, což vysvětluje vysoký průchod terpenů přes vnější membránu u gramnegativních bakterií. Malé hydrofilní látky jsou považovány za schopné procházet maticí porinových proteinů, a to je jeden z důvodů, proč jsou gramnegativní bakterie relativně odolné vůči hydrofobním antibiotikům a dalším lékům. Z toho vyplývá, že vnější membrána je propustná pro hydrofobní molekuly, z nichž některé mohou pomalu procházet porinovými proteiny. (Delcour, 2009).

Americký Úřad pro kontrolu potravin a léčiv a Evropská komise schválily některé esenciální oleje jako konzervační látky. Hlavní překážkou, se kterou se setkáváme při jejich používání, je nereprodukovatelnost standardní kvality. Esenciální oleje mají různé kvalitativní a kvantitativní výkyvy ve svém chemickém složení, které ovlivňují jejich biologickou

aktivitu. Kromě toho jejich silné aroma nebo chuť mění organoleptické vlastnosti potravin a mohou snížit přitažlivost některých potravinářských výrobků. Ačkoli existuje několik *in vitro* studií antimikrobiální aktivity rostlin, jsou sotva relevantní pro aplikaci esenciálních olejů pro konzervaci potravin, protože ve většině případů se výsledky *in vitro* antimikrobiální aktivity rostlinných extraktů lišily od výsledků pozorovaných v potravinách. V druhém případě může být nízká aktivita způsobena použitím ve studiích surových extraktů namísto čistých sloučenin, které mají vyšší účinnost. Surový extrakt rostlin obsahuje flavonoidy většinou v glykosidické formě, což brání jejich účinnosti proti mikroorganismům. Přítomnost extrakčního rozpouštědla také vytváří překážku pro použití rostlinných extraktů v potravinách. Použití antimikrobiálních peptidů získaných z rostlin v potravinách je tedy stále v rané fázi. Je zapotřebí dalšího výzkumu, aby se potvrdil jejich potenciál jako konzervačních látek v potravinách (Dhiman et al., 2019; Hochma et al., 2021).

## ZÁVĚR

Tato diplomová práce byla zaměřena na téma stanovení antimikrobiálních účinků extraktů z vybraných rostlin (jitrocel kopinatý, máta peprná, jahodník obecný, kopřiva dvoudomá, dobromysl obecná, řebříček lékařský, měsíček lékařský, pampeliška lékařská, libeček lékařský a bez černý) na indikátorové bakterie, u kterých je předpoklad výskytu v potravinářské oblasti (tj. *Salmonella enteritidis*, *Yersinia enterocolitica*, *Escherichia coli*, *Escherichia coli* ESBL, *Bacillus cereus*, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus aureus* MRSA, *Enterococcus faecalis* a *Campylobacter coli*). Cílem diplomové práce bylo vytvořit rostlinné extrakty na bázi výluhu, macerace a extrakce pomocí mikrovln a určit jejich antimikrobiální schopnosti pomocí diskové difúzní metody.

Na základě vyhodnocených dat a výsledků se mohou cíle diplomové práce vyhodnotit takto:

- Mezi rostliny s největší antimikrobiální aktivitou patřila dobromysl obecná, jahodník obecný a máta peprná.
- Antimikrobiální aktivita byla potvrzena převážně u vodných nálevů a vodného macerátu. Takto připravené extrakty byly neúčinnější z dobromysli obecné, jitrocele kopinatého, máty peprné, jahodníku obecného.
- Extrakce pomocí mikrovln byla nejméně účinnou metodou získání rostlinných extraktů. Extrakty získané vodnou extrakcí za použití mikrovln vykazovaly inhibiční účinek pouze proti grampozitivním bakteriím (*S. aureus*, *S. aureus* MRSA) a extrakty ethanolové za použití mikrovln prokázaly antimikrobiální aktivitu pouze proti gramnegativním bakteriím (*E. coli*, *E. coli* ESBL).
- Nejcitlivějšími bakteriálními kmeny vůči působení látek obsažených v rostlinných extraktech byly grampozitivní *S. aureus* a *E. faecalis*.

Ačkoli bylo dosud publikováno značné množství vědeckých prací, využití přírodních antimikrobiálních látek je jednou z největších výzev, kterým musí potravinářský průmysl v 21. století čelit. Hledání nových přírodních antimikrobiálních látek, které by bylo možné použít místo nebo v kombinaci s nízkou hladinou esenciálních olejů k překonání výše uvedených omezení, je v tomto směru nanejvýš důležité. Zkažení potravin je často způsobeno růstem mnoha patogenních bakteriálních kmenů. Prevence kažení potravin v potravinářství je založena především na aplikaci chemických konzervantů. Nepříznivé účinky těchto chemických konzervačních látek na lidské zdraví zvyšují poptávku po hledání

potenciálně účinných, zdraví bezpečných a především přírodních konzervačních látek. Rostlinné extrakty, které se ukázaly jako potenciálně účinné by mohly být použity jako přírodní alternativní prevence ke kontrole nemocí způsobených otravou jídlem a konzervací potravin, aby se zabránilo zdravotním rizikům způsobené aplikací chemicky antimikrobiálních látek (Christaki et al., 2021).

## SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY

ABUBAKAR, AbdullahiR a HAQUE, Mainul. Preparation of medicinal plants: Basic extraction and fractionation procedures for experimental purposes. Online. *Journal of Pharmacy And Bioallied Sciences*. 2020, roč. 12, č. 1. ISSN 0975-7406. Dostupné z: [https://doi.org/10.4103/jpbs.JPBS\\_175\\_19](https://doi.org/10.4103/jpbs.JPBS_175_19). [cit. 2024-04-20].

ALI, Sofi Imtiyaz; GOPALAKRISHNAN, B. a VENKATESALU, V. Pharmacognosy, Phytochemistry and Pharmacological Properties of *Achillea millefolium* L: A Review. Online. *Phytotherapy Research*. 2017, roč. 31, č. 8, s. 1140-1161. ISSN 0951418X. Dostupné z: <https://doi.org/10.1002/ptr.5840>. [cit. 2024-03-03].

ALTEMIMI, Ammar; LAKHSSASSI, Naoufal; BAHARLOUEI, Azam; WATSON, Dennis a LIGHTFOOT, David. Phytochemicals: Extraction, Isolation, and Identification of Bioactive Compounds from Plant Extracts. Online. *Plants*. 2017, roč. 6, č. 4. ISSN 2223-7747. Dostupné z: <https://doi.org/10.3390/plants6040042>. [cit. 2024-04-20].

AMAROWICZ, Ryszard a JANIĄK, Michał. Hydrolysable Tannins. Online. In: *Encyclopedia of Food Chemistry*. Elsevier, 2019, s. 337-343. ISBN 9780128140451. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/B978-0-08-100596-5.21771-X>. [cit. 2024-04-30].

ANAND, Uttpal; JACOBO-HERRERA, Nadia; ALTEMIMI, Ammar a LAKHSSASSI, Naoufal. A Comprehensive Review on Medicinal Plants as Antimicrobial Therapeutics: Potential Avenues of Biocompatible Drug Discovery. Online. *Metabolites*. 2019, roč. 9, č. 11. ISSN 2218-1989. Dostupné z: <https://doi.org/10.3390/metabo9110258>. [cit. 2024-02-20].

ASHRAF, Mohammad Vikas; PANT, Shreekar; KHAN, M. A. Hannan; SHAH, Ali Asghar; SIDDIQUI, Sazada et al. Phytochemicals as Antimicrobials: Prospecting Himalayan Medicinal Plants as Source of Alternate Medicine to Combat Antimicrobial Resistance. Online. *Pharmaceuticals*. 2023, roč. 16, č. 6. ISSN 1424-8247. Dostupné z: <https://doi.org/10.3390/ph16060881>. [cit. 2024-04-30]. DU, Dijun; WANG-KAN, Xuan;

AZWANIDA, N. "A Review on the extraction methods use in medicinal plants, principle, strength and limitation. *Medicinal & Aromatic Plants*, 04 (03), 3–8." (2015).

BARBIERI, Ramona; COPPO, Erika; MARCHESE, Anna; DAGLIA, Maria; SOBARZO-SÁNCHEZ, Eduardo et al. Phytochemicals for human disease: An update on plant-derived compounds antibacterial activity. Online. *Microbiological Research*. 2017, roč. 196, s. 44-68. ISSN 09445013. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.micres.2016.12.003>. [cit. 2024-05-04].

BHAN, Meenu. "Ionic liquids as green solvents in herbal extraction." *Int J Adv Res Dev* 2 (2017): 10-2. Dostupné z: <https://www.semanticscholar.org/paper/Ionic-liquids-as-green-solvents-in-herbal-Bhan/0aaf3918d2082e05a0ca28979befca14118f5e5f> [cit. 2024-05-01].



BOGHRATI, Zahra a IRANSHAHI, Mehrdad. Ferula species: A rich source of antimicrobial compounds. Online. *Journal of Herbal Medicine*. 2019, roč. 16. ISSN 22108033. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.hermed.2018.10.009>. [cit. 2024-05-01].

BONCAN, Delbert Almerick T.; TSANG, Stacey S.K.; LI, Chade; LEE, Ivy H.T.; LAM, Hon-Ming et al. Terpenes and Terpenoids in Plants: Interactions with Environment and Insects. Online. *International Journal of Molecular Sciences*. 2020, roč. 21, č. 19. ISSN 1422-0067. Dostupné z: <https://doi.org/10.3390/ijms21197382>. [cit. 2024-04-21].

BORGES, Anabela; SAAVEDRA, Maria a SIMOES, Manuel. Insights on Antimicrobial Resistance, Biofilms and the Use of Phytochemicals as New Antimicrobial Agents. Online. *Current Medicinal Chemistry*. 2015, roč. 22, č. 21, s. 2590-2614. ISSN 09298673. Dostupné z: <https://doi.org/10.2174/0929867322666150530210522>. [cit. 2023-10-18].

BORODUSKE, Anete; JEKABSONS, Kaspars; RIEKSTINA, Una; MUCENIECE, Ruta; ROSTOKS, Nils et al. Wild Sambucus nigra L. from north-east edge of the species range: A valuable germplasm with inhibitory capacity against SARS-CoV2 S-protein RBD and hACE2 binding in vitro. Online. *Industrial Crops and Products*. 2021, roč. 165. ISSN 09266690. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2021.113438>. [cit. 2024-03-03].

BREIER, A; ZIEGOLHÖFFER A. "Lysine is the Lord", thought some scientists in regard to the group interacting with fluorescein isothiocyanate in ATP-binding sites of P-type ATPases but, is it not cysteine? *Gen Physiol Biophys*. 2000 Sep;19(3):253-63. PMID: 11316056.

BRITANNICA, T. Editors of Encyclopaedia (2023, 21. května). *alkaloid*. *Encyklopedie Britannica*. <https://www.britannica.com/science/alkaloid>

BUHIAN, William; CRUIZ, Patrick et al. "Bioactive metabolite profiles and antimicrobial activity of ethanolic extracts from Muntingia calabura L. leaves and stems." *Asian Pacific journal of tropical biomedicine* 6.8 (2016): 682-685.

BUCHBAUER, G. (2004). Über biologische Wirkungen von Duftstoffen und ätherischen Ölen. *Wiener Medizinische Wochenschrift*, 154, 539-547.

BURT, Sara. Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods—a review. Online. *International Journal of Food Microbiology*. 2004, roč. 94, č. 3, s. 223-253. ISSN 01681605. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2004.03.022>. [cit. 2024-03-03].

CANTÓN, Rafael a María-Isabel MOROSINI. Emergence and spread of antibiotic resistance following exposure to antibiotics. *FEMS Microbiology Reviews* [online]. 2011, 2011-09-01, 35(5), 977-991 [cit. 2023-09-20]. ISSN 1574-6976. Dostupné z: doi:10.1111/j.1574-6976.2011.00295.x

COLEGATE, Steven a RUSSELL J; Molyneux, eds. Bioactive natural products: detection, isolation, and structural determination. CRC press, 2007.

COPPO, Erika a MARCHESE, Anna. Antibacterial Activity of Polyphenols. Online. *Current Pharmaceutical Biotechnology*. 2014, roč. 15, č. 4, s. 380-390. ISSN 13892010. Dostupné z: <https://doi.org/10.2174/138920101504140825121142>. [cit. 2023-07-27].

COWAN, Marjorie Murphy. Plant Products as Antimicrobial Agents. Online. *Clinical Microbiology Reviews*. 1999, roč. 12, č. 4, s. 564-582. ISSN 0893-8512. Dostupné z: <https://doi.org/10.1128/CMR.12.4.564>. [cit. 2023-09-28].

CUSHNIE, T.P. Tim a LAMB, Andrew J. Antimicrobial activity of flavonoids. Online. *International Journal of Antimicrobial Agents*. 2005, roč. 26, č. 5, s. 343-356. ISSN 09248579. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.ijantimicag.2005.09.002>. [cit. 2024-05-04].

CUSHNIE, T.P. Tim; CUSHNIE, Benjamart a LAMB, Andrew J. Alkaloids: An overview of their antibacterial, antibiotic-enhancing and antivirulence activities. Online. *International Journal of Antimicrobial Agents*. 2014, roč. 44, č. 5, s. 377-386. ISSN 09248579. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.ijantimicag.2014.06.001>. [cit. 2024-05-04].

DA-COSTA-ROCHA, Inês; BONNLAENDER, Bernd; SIEVERS, Hartwig; PISCHEL, Ivo a HEINRICH, Michael. Hibiscus sabdariffa L. – A phytochemical and pharmacological review. Online. *Food Chemistry*. 2014, roč. 165, s. 424-443. ISSN 03088146. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2014.05.002>. [cit. 2024-05-01].

DAI, Jin a MUMPER, Russell J. Plant Phenolics: Extraction, Analysis and Their Antioxidant and Anticancer Properties. Online. *Molecules*. 2010, roč. 15, č. 10, s. 7313-7352. ISSN 1420-3049. Dostupné z: <https://doi.org/10.3390/molecules15107313>. [cit. 2024-04-21].

DAS, Kuntal, et al. Techniques for evaluation of medicinal plant products as antimicrobial agent: Current methods and future trends. *Journal of medicinal plants research*, 2010, 4.2: 104-111.

DELCOUR, Anne H. Outer membrane permeability and antibiotic resistance. Online. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Proteins and Proteomics*. 2009, roč. 1794, č. 5, s. 808-816. ISSN 15709639. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.bbapap.2008.11.005>. [cit. 2024-05-05].

Dewick, Paul M. *Medicinal natural products: a biosynthetic approach*. John Wiley & Sons, 2002.

DHIMAN, Romika; AGGARWAL, Neeraj Kumar. Efficacy of plant antimicrobials as preservative in food. In: *Food preservation and waste exploitation*. London, UK: IntechOpen, 2019. p. 1-19.

DIAS, Daniel A.; URBAN, Sylvia a ROESSNER, Ute. A Historical Overview of Natural Products in Drug Discovery. Online. *Metabolites*. 2012, roč. 2, č. 2, s. 303-336. ISSN 2218-1989. Dostupné z: <https://doi.org/10.3390/metabo2020303>. [cit. 2024-04-19].

DÍAZ, Katy; ESPINOZA, Luis; MADRID, Alejandro; PIZARRO, Leonardo a CHAMY, Rolando. Isolation and Identification of Compounds from Bioactive Extracts of *Taraxacum officinale* Weber

ex F. H. Wigg. (Dandelion) as a Potential Source of Antibacterial Agents. Online. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*. 2018, roč. 2018, s. 1-8. ISSN 1741-427X. Dostupné z: <https://doi.org/10.1155/2018/2706417>. [cit. 2024-03-03].

DÍEZ-AGUILAR, María; MARTÍNEZ-GARCÍA, Laura; CANTÓN, Rafael a MOROSINI, María Isabel. Is a New Standard Needed for Diffusion Methods for In Vitro Susceptibility Testing of Fosfomycin against *Pseudomonas aeruginosa*? Online. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. 2016, roč. 60, č. 2, s. 1158-1161. ISSN 0066-4804. Dostupné z: <https://doi.org/10.1128/AAC.02237-15>. [cit. 2024-05-04].

DOG, Tieraona Low. Smart Talk on Supplements and Botanicals: Herbal Teas Versus Tinctures; Standardized Extracts; Green Tea. Online. *Alternative and Complementary Therapies*. 2009, roč. 15, č. 3, s. 101-103. ISSN 1076-2809. Dostupné z: <https://doi.org/10.1089/act.2009.15309>. [cit. 2024-05-04].

DUDAREVA, Natalia; NEGRE, Florence; NAGEGOWDA, Dinesh A. a ORLOVA, Irina. Plant Volatiles: Recent Advances and Future Perspectives. Online. *Critical Reviews in Plant Sciences*. 2006, roč. 25, č. 5, s. 417-440. ISSN 0735-2689. Dostupné z: <https://doi.org/10.1080/07352680600899973>. [cit. 2024-04-21].

DUDAREVA, Natalia; PICHERSKY, Eran a GERSHENZON, Jonathan. Biochemistry of Plant Volatiles. Online. *Plant Physiology*. 2004, roč. 135, č. 4, s. 1893-1902. ISSN 1532-2548. Dostupné z: <https://doi.org/10.1104/pp.104.049981>. [cit. 2024-04-21].

DUFOUR, Virginie; STAHL, Martin a BAYSSE, Christine. The antibacterial properties of isothiocyanates. Online. *Microbiology*. 2015, roč. 161, č. 2, s. 229-243. ISSN 1350-0872. Dostupné z: <https://doi.org/10.1099/mic.0.082362-0>. [cit. 2024-05-01].

EFSTRATIOU, Efstratios; HUSSAIN, Abdullah I.; NIGAM, Poonam S.; MOORE, John E.; AYUB, Muhammad A. et al. Antimicrobial activity of *Calendula officinalis* petal extracts against fungi, as well as Gram-negative and Gram-positive clinical pathogens. Online. *Complementary Therapies in Clinical Practice*. 2012, roč. 18, č. 3, s. 173-176. ISSN 17443881. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.ctcp.2012.02.003>. [cit. 2024-05-02].

EFSTRATIOU, Efstratios; HUSSAIN, Abdullah I.; NIGAM, Poonam S.; MOORE, John E.; AYUB, Muhammad A. et al. Antimicrobial activity of *Calendula officinalis* petal extracts against fungi, as well as Gram-negative and Gram-positive clinical pathogens. Online. *Complementary Therapies in Clinical Practice*. 2012, roč. 18, č. 3, s. 173-176. ISSN 17443881. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.ctcp.2012.02.003>. [cit. 2024-03-03].

EKSI, Gulnur; KURBANOGLU, Sevinc a OZKAN, Sibel A. Fortification of Functional and Medicinal Beverages With Botanical Products and Their Analysis. Online. In: *Engineering Tools in*

*the Beverage Industry*. Elsevier, 2019, s. 351-404. ISBN 9780128152584. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-815258-4.00012-3>. [cit. 2024-04-21].

FABRI, R.L; NOGUEIRA, M.S; DUTRA, L.B; BOUZADA, M.L.M a SCIO, E. Potencial antioxidante e antimicrobiano de espécies da família Asteraceae. Online. *Revista Brasileira de Plantas Mediciniais*. 2011, roč. 13, č. 2, s. 183-189. ISSN 1516-0572. Dostupné z: <https://doi.org/10.1590/S1516-05722011000200009>. [cit. 2024-03-03].

FARIA, Raquel Lourdes; CARDOSO, Lincoln Marcelo Lourenço; AKISUE, Gokithi; PEREIRA, Cristiane Aparecida; JUNQUEIRA, Juliana Campos et al. Antimicrobial activity of *Calendula officinalis*, *Camellia sinensis* and chlorhexidine against the adherence of microorganisms to sutures after extraction of unerupted third molars. Online. *Journal of Applied Oral Science*. 2011, roč. 19, č. 5, s. 476-482. ISSN 1678-7757. Dostupné z: <https://doi.org/10.1590/S1678-77572011000500007>. [cit. 2024-03-03].

FAZLY, Bazaz; SALTWG. Local anaesthetics as antibacterial agents: effects on cellular respiration and the leakage of cytoplasmic constituents. *Microbios*. 1983;37(149-150):139-49. PMID: 6353168

FOURNOMITI, Maria; KIMBARIS, Athanasios; MANTZOURANI, Ioanna; PLESSAS, Stavros; THEODORIDOU, Irene et al. Antimicrobial activity of essential oils of cultivated oregano (*Origanum vulgare*), sage (*Salvia officinalis*), and thyme (*Thymus vulgaris*) against clinical isolates of *Escherichia coli*, *Klebsiella oxytoca*, and *Klebsiella pneumoniae*. Online. *Microbial Ecology in Health & Disease*. 2015, roč. 26. ISSN 1651-2235. Dostupné z: <https://doi.org/10.3402/mehd.v26.23289>. [cit. 2024-05-05].

FUJITA, Mai; SHIOTA, Sumiko; KURODA, Teruo; HATANO, Tsutomu; YOSHIDA, Takashi et al. Remarkable Synergies between Baicalein and Tetracycline, and Baicalein and  $\beta$ -Lactams against Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus*. Online. *Microbiology and Immunology*. 2005, roč. 49, č. 4, s. 391-396. ISSN 0385-5600. Dostupné z: <https://doi.org/10.1111/j.1348-0421.2005.tb03732.x>. [cit. 2024-04-30].

GARCIA-OLIVEIRA, Paula; BARRAL, Marta; CARPENA, María; GULLÓN, Patricia; FRAGA-CORRAL, María et al. Traditional plants from Asteraceae family as potential candidates for functional food industry. Online. *Food & Function*. 2021, roč. 12, č. 7, s. 2850-2873. ISSN 2042-6496. Dostupné z: <https://doi.org/10.1039/D0FO03433A>. [cit. 2024-03-03].

GAWEŁ-BĘBEN, Katarzyna; STRZEPEK-GOMÓŁKA, Marcelina; CZOP, Marcin; SAKIPOVA, Zuriyadda; GŁOWNIAK, Kazimierz et al. *Achillea millefolium* L. and *Achillea biebersteinii* Afan. Hydroglycolic Extracts–Bioactive Ingredients for Cosmetic Use. Online. *Molecules*. 2020, roč. 25, č. 15. ISSN 1420-3049. Dostupné z: <https://doi.org/10.3390/molecules25153368>. [cit. 2024-03-03].

GILMORE, Michael S; LEBRETON, Francois a VAN SCHAİK, Willem. Genomic transition of enterococci from gut commensals to leading causes of multidrug-resistant hospital infection in the antibiotic era. Online. *Current Opinion in Microbiology*. 2013, roč. 16, č. 1, s. 10-16. ISSN 13695274. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.mib.2013.01.006>. [cit. 2024-05-04].

GYAWALI, Rabin a IBRAHİM, Salam A. Natural products as antimicrobial agents. Online. *Food Control*. 2014, roč. 46, s. 412-429. ISSN 09567135. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2014.05.047>. [cit. 2024-05-04].

HASSAWI, Dhia a KHARMA, Abeer. Antimicrobial Activity of Some Medicinal Plants Against *Candida albicans*. Online. *Journal of Biological Sciences*. 2005, roč. 6, č. 1, s. 109-114. ISSN 17273048. Dostupné z: <https://doi.org/10.3923/jbs.2006.109.114>. [cit. 2024-05-08].

HOCHMA, Efrat; YARMOLINSKY, Ludmila; KHALFIN, Boris; NISNEVITCH, Marina; BEN-SHABAT, Shimon et al. Antimicrobial Effect of Phytochemicals from Edible Plants. Online. *Processes*. 2021, roč. 9, č. 11. ISSN 2227-9717. Dostupné z: <https://doi.org/10.3390/pr9112089>. [cit. 2024-04-30].

HORIUCHI, Kumiko; SHIOTA, Sumiko; HATANO, Tsutomu; YOSHIDA, Takashi; KURODA, Teruo et al. Antimicrobial Activity of Oleanolic Acid from *Salvia officinalis* and Related Compounds on Vancomycin-Resistant Enterococci (VRE). Online. *Biological and Pharmaceutical Bulletin*. 2007, roč. 30, č. 6, s. 1147-1149. ISSN 0918-6158. Dostupné z: <https://doi.org/10.1248/bpb.30.1147>. [cit. 2024-04-30].

HUANG, Qianqian; LIU, Xiuli; ZHAO, Guoqi; HU, Tianming a WANG, Yuxi. Potential and challenges of tannins as an alternative to in-feed antibiotics for farm animal production. Online. *Animal Nutrition*. 2018, roč. 4, č. 2, s. 137-150. ISSN 24056545. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.aninu.2017.09.004>. [cit. 2024-04-30].

CHAN, Ben C.L.; IP, Margaret; LAU, Clara B.S.; LUI, S.L.; JOLIVALT, Claude et al. Synergistic effects of baicalein with ciprofloxacin against NorA over-expressed methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) and inhibition of MRSA pyruvate kinase. Online. *Journal of Ethnopharmacology*. 2011, roč. 137, č. 1, s. 767-773. ISSN 03788741. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.jep.2011.06.039>. [cit. 2024-04-30].

CHIN, Young-Won; BALUNAS, Marcy J.; CHAI, Hee Byung a KINGHORN, A. Douglas. Drug discovery from natural sources. Online. *The AAPS Journal*. 2006, roč. 8, č. 2, s. E239-E253. ISSN 1550-7416. Dostupné z: <https://doi.org/10.1007/BF02854894>. [cit. 2024-02-20].

CHOUBEY, Sneha; GOYAL, Soniya; VARUGHESE, Lesley Rachel; KUMAR, Vinod; SHARMA, Anil K. et al. Probing Gallic Acid for Its Broad Spectrum Applications. Online. *Mini-Reviews in*

*Medicinal Chemistry*. 2018, roč. 18, č. 15, s. 1283-1293. ISSN 13895575. Dostupné z: <https://doi.org/10.2174/1389557518666180330114010>. [cit. 2024-04-30].

CHRISTAKI, Eirini; MARCOU, Markella a TOFARIDES, Andreas. Antimicrobial Resistance in Bacteria: Mechanisms, Evolution, and Persistence. Online. *Journal of Molecular Evolution*. 2020, roč. 88, č. 1, s. 26-40. ISSN 0022-2844. Dostupné z: <https://doi.org/10.1007/s00239-019-09914-3>. [cit. 2024-04-30].

CHRISTAKI, Stamatia; MOSCHAKIS, Thomas; KYRIAKOUDI, Anastasia; BILIADERIS, Costas G. a MOURTZINOS, Ioannis. Recent advances in plant essential oils and extracts: Delivery systems and potential uses as preservatives and antioxidants in cheese. Online. *Trends in Food Science & Technology*. 2021, roč. 116, s. 264-278. ISSN 09242244. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2021.07.029>. [cit. 2024-05-10].

CHUNG, King-Thom; WONG, Tit Yee; WEI, Cheng-I; HUANG, Yao-Wen a LIN, Yuan. Tannins and Human Health: A Review. Online. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*. 1998, roč. 38, č. 6, s. 421-464. ISSN 1040-8398. Dostupné z: <https://doi.org/10.1080/10408699891274273>. [cit. 2024-04-30].

INGLE, Krishnananda et al. "Phytochemicals: Extraction methods, identification and detection of bioactive compounds from plant extracts." *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry* 6.1 (2017): 32-36.

IVANOV, I; PETKOVA, N; DENEV, P; PAVLOV, A. Polyphenols Content and Antioxidant Activities in Infusion and Decoction Extracts Obtained from *Fragaria vesca* L. Leaves. *Scien. Bull. Ser. F Biotechnol.* 2015, 19, 145–148.

JABEEN Sidra, et al. "Natural products sources and their active compounds on disease prevention: a review." *International Journal of Chemical and Biochemical Sciences* 6 (2014): 76-83.

JAKUBCZYK, Anna; ZŁOTEK, Urszula; SZYMANOWSKA, Urszula; RYBCZYŃSKA-TKACZYK, Kamila; JĘDERKA, Krystyna et al. In vitro Antioxidant, Anti-inflammatory, Anti-metabolic Syndrome, Antimicrobial, and Anticancer Effect of Phenolic Acids Isolated from Fresh Lovage Leaves [*Levisticum officinale* Koch] Elicited with Jasmonic Acid and Yeast Extract. Online. *Antioxidants*. 2020, roč. 9, č. 6. ISSN 2076-3921. Dostupné z: <https://doi.org/10.3390/antiox9060554>. [cit. 2024-03-03].

JAKUBCZYL, K; JANDA, K; SZKYRPAN, S; GUTOWSKA, I; WOLSKA, J. Pokrzywa zwyczajna (*Urtica dioica* L.) Stinging nettle (*Urtica dioica* L.) botanical characteristics, biochemical composition and health benefits. *Pomeranian J Life Sci.* 2015;61(2):191-198.

JØRGENSEN, Ulla; HANSEN, Merete; CHRISTENSEN, Lars P.; JENSEN, Karina a KAACK, Karl. Olfactory and Quantitative Analysis of Aroma Compounds in Elder Flower (*Sambucus nigra*

L.) Drink Processed from Five Cultivars. Online. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 2000, roč. 48, č. 6, s. 2376-2383. ISSN 0021-8561. Dostupné z: <https://doi.org/10.1021/jf000005f>. [cit. 2024-03-04].

KANODIA, Lalit a DAS, Swarnamoni. A comparative study of analgesic property of whole plant and fruit extracts of *Fragaria vesca* in experimental animal models. Online. *Bangladesh Journal of Pharmacology*. 2008, roč. 4, č. 1, s. 35-38. ISSN 1991-0088. Dostupné z: <https://doi.org/10.3329/bjp.v4i1.1049>. [cit. 2024-03-03].

KARAKAŞ, FATMA PEHLİVAN; YILDIRIM, ARZU a TÜRKER, ARZU. Biological screening of various medicinal plant extracts for antibacterial and antitumor activities. Online. *Turkish Journal of Biology*. ISSN 1303-6092. Dostupné z: <https://doi.org/10.3906/biy-1203-16>. [cit. 2024-05-08].

KHODDAMI, Ali; WILKES, Meredith a ROBERTS, Thomas. Techniques for Analysis of Plant Phenolic Compounds. Online. *Molecules*. 2013, roč. 18, č. 2, s. 2328-2375. ISSN 1420-3049. Dostupné z: <https://doi.org/10.3390/molecules18022328>. [cit. 2023-09-25].

KIM, Saeng-Gon; KIM, Min-Jung; JIN, Dong-Chun; PARK, Soon-Nang; CHO, Eu-Gene et al. Antimicrobial Effect of Ursolic Acid and Oleanolic Acid against Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus*. Online. *The Korean Journal of Microbiology*. 2012, roč. 48, č. 3, s. 212-215. ISSN 0440-2413. Dostupné z: <https://doi.org/10.7845/kjm.2012.029>. [cit. 2024-04-30].

KING, Jerry D.; KOCÍNCOVÁ, Dana; WESTMAN, Erin L. a LAM, Joseph S. Review *Pseudomonas aeruginosa*: Lipopolysaccharide biosynthesis in *Pseudomonas aeruginosa*. Online. *Innate Immunity*. 2009, roč. 15, č. 5, s. 261-312. ISSN 1753-4259. Dostupné z: <https://doi.org/10.1177/1753425909106436>. [cit. 2024-05-04].

KLASCHKA, Ursula. Naturally toxic: natural substances used in personal care products. Online. *Environmental Sciences Europe*. 2015, roč. 27, č. 1. ISSN 2190-4707. Dostupné z: <https://doi.org/10.1186/s12302-014-0033-2>. [cit. 2024-02-20].

KORBELÁŘ, J., ENDRIS Z. Naše rostliny v lékařství. 7. vyd. Ilustroval Jindřich KREJČA. Praha: Avicenum, 1990.

KRUMINA, G; RATKEVICH, L; NIKOLAJEVA, V; BABARIKINA, A a BABARYKIN, D. Influence of plant extracts on the growth of oral pathogens *Streptococcus mutans* and *Candida albicans* in vitro. Online. *Proceedings of the Estonian Academy of Sciences*. 2015, roč. 64, č. 1. ISSN 1736-6046. Dostupné z: <https://doi.org/10.3176/proc.2015.1.08>. [cit. 2024-04-15].

KUBIN, A.; WIERRANI, F.; BURNER, U.; ALTH, G. a GRUNBERGER, W. Hypericin - The Facts About a Controversial Agent. Online. *Current Pharmaceutical Design*. 2005, roč. 11, č. 2, s. 233-253. ISSN 13816128. Dostupné z: <https://doi.org/10.2174/1381612053382287>. [cit. 2024-04-30].

KWON, Jennie H. a POWDERLY, William G. The post-antibiotic era is here. Online. *Science*. 2021, roč. 373, č. 6554, s. 471-471. ISSN 0036-8075. Dostupné z: <https://doi.org/10.1126/science.abl5997>. [cit. 2024-05-04].

KY, I.; LE FLOCH, A.; ZENG, L.; PECHAMAT, L.; JOURDES, M. et al. Tannins. Online. In: *Encyclopedia of Food and Health*. Elsevier, 2016, s. 247-255. ISBN 9780123849533. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-384947-2.00683-8>. [cit. 2024-04-30].

LANGEVELD, Wendy T.; VELDHUIZEN, Edwin J. A. a BURT, Sara A. Synergy between essential oil components and antibiotics: a review. Online. *Critical Reviews in Microbiology*. 2013, roč. 40, č. 1, s. 76-94. ISSN 1040-841X. Dostupné z: <https://doi.org/10.3109/1040841X.2013.763219>. [cit. 2024-05-02].

LEONELLI PIRES DE CAMPOS, Anna Carolina; SALDANHA NANDI, Renata Daniela; SCANDORIEIRO, Sara; GONÇALVES, Marcelly Chue; REIS, Guilherme Fonseca et al. Antimicrobial effect of *Origanum vulgare* (L.) essential oil as an alternative for conventional additives in the Minas cheese manufacture. Online. *LWT*. 2022, roč. 157. ISSN 00236438. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2021.113063>. [cit. 2024-03-03].

LIBERAL, Ângela; MOLINA, Adriana K.; PEREIRA, Carla; DIAS, Maria Inês; FERREIRA, Isabel C.F.R. et al. Solid-liquid extraction of polyphenols. Online. In: *Technologies to Recover Polyphenols from AgroFood By-products and Wastes*. Elsevier, 2022, s. 73-112. ISBN 9780323852739. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/B978-0-323-85273-9.00004-1>. [cit. 2023-09-25].

LIBERAL, Joana; FRANCISCO, Vera; COSTA, Gustavo; FIGUEIRINHA, Artur; AMARAL, Maria Teresa et al. Bioactivity of *Fragaria vesca* leaves through inflammation, proteasome and autophagy modulation. Online. *Journal of Ethnopharmacology*. 2014, roč. 158, s. 113-122. ISSN 03788741. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.jep.2014.09.043>. [cit. 2024-03-03].

LIN, Derong; XIAO, Mengshi; ZHAO, Jingjing; LI, Zhuohao; XING, Baoshan et al. An Overview of Plant Phenolic Compounds and Their Importance in Human Nutrition and Management of Type 2 Diabetes. Online. *Molecules*. 2016, roč. 21, č. 10. ISSN 1420-3049. Dostupné z: <https://doi.org/10.3390/molecules21101374>. [cit. 2024-04-21].

LOPE PIHIE, Azimahtol Hawariah; ZAKARIA, Zainul Amiruddin a OTHMAN, Fezah. Antiproliferative and Proapoptotic Effects of *Labisia pumila* Ethanol Extract and Its Active Fraction in Human Melanoma HM3KO Cells. Online. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*. 2012, roč. 2012, s. 1-12. ISSN 1741-427X. Dostupné z: <https://doi.org/10.1155/2012/123470>. [cit. 2023-09-24].

MA, Changyang; HE, Nan; ZHAO, Yingying; XIA, Dandan; WEI, Jinfeng et al. Antimicrobial Mechanism of Hydroquinone. Online. *Applied Biochemistry and Biotechnology*. 2019, roč. 189, č.



4, s. 1291-1303. ISSN 0273-2289. Dostupné z: <https://doi.org/10.1007/s12010-019-03067-1>. [cit. 2024-04-30].

MACÁKOVÁ, Kateřina; KOLEČKÁŘ, Vít; CAHLÍKOVÁ, Lucie; CHLEBEK, Jakub; HOŠT'ÁLKOVÁ, Anna et al. Tannins and their Influence on Health. Online. In: *Recent Advances in Medicinal Chemistry*. Elsevier, 2014, s. 159-208. ISBN 9780128039618. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-803961-8.50006-3>. [cit. 2024-04-30].

MAHIZAN, Nik Amirah; YANG, Shun-Kai; MOO, Chew-Li; SONG, Adelene Ai-Lian; CHONG, Chou-Min et al. Terpene Derivatives as a Potential Agent against Antimicrobial Resistance (AMR) Pathogens. Online. *Molecules*. 2019, roč. 24, č. 14. ISSN 1420-3049. Dostupné z: <https://doi.org/10.3390/molecules24142631>. [cit. 2024-05-02].

MAHIZAN, Nik Amirah; YANG, Shun-Kai; MOO, Chew-Li; SONG, Adelene Ai-Lian; CHONG, Chou-Min et al. Terpene Derivatives as a Potential Agent against Antimicrobial Resistance (AMR) Pathogens. Online. *Molecules*. 2019, roč. 24, č. 14. ISSN 1420-3049. Dostupné z: <https://doi.org/10.3390/molecules24142631>. [cit. 2024-04-30].

MAJEKODUNMI, Stephen Olaribigbe. "Review of extraction of medicinal plants for pharmaceutical research." *Merit Res J Med* 3 (2015): 521-527.

MOHAMMAD AZMIN, Siti Nuurul Huda; ABDUL MANAN, Zainuddin; WAN ALWI, Sharifah Rafidah; CHUA, Lee Suan; MUSTAFFA, Azizul Azri et al. Herbal Processing and Extraction Technologies. Online. *Separation & Purification Reviews*. 2016, roč. 45, č. 4, s. 305-320. ISSN 1542-2119. Dostupné z: <https://doi.org/10.1080/15422119.2016.1145395>. [cit. 2023-09-24].

MOORE, John E.; BARTON, Mary D.; BLAIR, Iain S.; CORCORAN, Deborah; DOOLEY, James S.G. et al. The epidemiology of antibiotic resistance in *Campylobacter*. Online. *Microbes and Infection*. 2006, roč. 8, č. 7, s. 1955-1966. ISSN 12864579. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.micinf.2005.12.030>. [cit. 2024-05-05].

MORSHEDLOO, Mohammad Reza; CRAKER, Lyle E.; SALAMI, Alireza; NAZERI, Vahideh; SANG, Hyunkyung et al. Effect of prolonged water stress on essential oil content, compositions and gene expression patterns of mono- and sesquiterpene synthesis in two oregano (*Origanum vulgare* L.) subspecies. Online. *Plant Physiology and Biochemistry*. 2017, roč. 111, s. 119-128. ISSN 09819428. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2016.11.023>. [cit. 2024-05-02].

MOSTAFA, Ashraf A.; AL-ASKAR, Abdulaziz A.; ALMAARY, Khalid S.; DAWOUD, Turki M.; SHOLKAMY, Essam N. et al. Antimicrobial activity of some plant extracts against bacterial strains causing food poisoning diseases. Online. *Saudi Journal of Biological Sciences*. 2018, roč. 25, č. 2, s. 361-366. ISSN 1319562X. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2017.02.004>. [cit. 2024-05-08].

MOTAMEDI, Hossein; SEYYEDNEJAD, Seyyed Mansour; BAKHTIARI, Ameneh a VAFAEI, Mozhan. Introducing *Urtica dioica*, A Native Plant of Khuzestan, As an Antibacterial Medicinal Plant. Online. *Jundishapur Journal of Natural Pharmaceutical Products*. 2014, roč. 9, č. 4. ISSN 1735-7780. Dostupné z: <https://doi.org/10.17795/jjnpp-15904>. [cit. 2024-04-11].

MOTAMEDI, Hossein; SEYYEDNEJAD, Seyyed Mansour; BAKHTIARI, Ameneh a VAFAEI, Mozhan. Introducing *Urtica dioica*, A Native Plant of Khuzestan, As an Antibacterial Medicinal Plant. Online. *Jundishapur Journal of Natural Pharmaceutical Products*. 2014, roč. 9, č. 4. ISSN 1735-7780. Dostupné z: <https://doi.org/10.17795/jjnpp-15904>. [cit. 2024-04-11].

MOUHID, Lamia; GÓMEZ DE CEDRÓN, Marta; QUIJADA-FREIRE, Adriana; FERNÁNDEZ-MARCOS, Pablo J.; REGLERO, Guillermo et al. Yarrow Supercritical Extract Ameliorates the Metabolic Stress in a Model of Obesity Induced by High-Fat Diet. Online. *Nutrients*. 2020, roč. 12, č. 1. ISSN 2072-6643. Dostupné z: <https://doi.org/10.3390/nu12010072>. [cit. 2024-03-03].

MUBARACK, H. Muhamed; DOSS, A.; DHANABALAN, R. a VENKATASWA, R. Activity of Some Selected Medicinal Plant Extracts Against Bovine Mastitis Pathogens. Online. *Journal of Animal and Veterinary Advances*. 2011, roč. 10, č. 6, s. 738-741. ISSN 16805593. Dostupné z: <https://doi.org/10.3923/javaa.2011.738.741>. [cit. 2024-05-05].

MUDNIC, I.; MODUN, D.; BRIZIC, I.; VUKOVIC, J.; GENERALIC, I. et al. Cardiovascular effects in vitro of aqueous extract of wild strawberry (*Fragaria vesca*, L.) leaves. Online. *Phytomedicine*. 2009, roč. 16, č. 5, s. 462-469. ISSN 09447113. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.phymed.2008.11.004>. [cit. 2024-03-03].

MUNITA, Jose M. a ARIAS, Cesar A. Mechanisms of Antibiotic Resistance. Online. In: KUDVA, Indira T.; CORNICK, Nancy A.; PLUMMER, Paul J.; ZHANG, Qijing; NICHOLSON, Tracy L. et al. (ed.). *Virulence Mechanisms of Bacterial Pathogens*. Washington, DC, USA: ASM Press, 2016, s. 481-511. ISBN 9781683670711. Dostupné z: <https://doi.org/10.1128/9781555819286.ch17>. [cit. 2024-04-30].

NAKAMOTO, Masato; KUNIMURA, Kayo; SUZUKI, Jun-Ichiro a KODERA, Yukihiro. Antimicrobial properties of hydrophobic compounds in garlic: Allicin, vinylthiin, ajoene and diallyl polysulfides (Review). Online. *Experimental and Therapeutic Medicine*. 2019. ISSN 1792-0981. Dostupné z: <https://doi.org/10.3892/etm.2019.8388>. [cit. 2024-05-01].

Nařízení (ES) č. 1907/2006 o registraci, hodnocení, povolování a omezování chemických látek (REACH). <http://echa.europa.eu/de/regulations/reach/legislation> .

NEUBERGER, Arthur; VAN VEEN, Hendrik W.; POS, Klaas M. et al. Multidrug efflux pumps: structure, function and regulation. Online. *Nature Reviews Microbiology*. 2018, roč. 16, č. 9, s. 523-539. ISSN 1740-1526. Dostupné z: <https://doi.org/10.1038/s41579-018-0048-6>. [cit. 2024-04-30].

NJUME, C., AFOLAYAN, A. J., & Ndip, R. N. (2009). An overview of antimicrobial resistance and the future of medicinal plants in the treatment of *Helicobacter pylori* infections. *Afr. J. Pharm. Pharmacol*, 3(13), 685-699.

NKHILI, Ezzohra; TOMAO, Valerie; EL HAJJI, Hakima; EL BOUSTANI, Es-Seddik; CHEMAT, Farid et al. Microwave-assisted water extraction of green tea polyphenols. Online. *Phytochemical Analysis*. 2009, roč. 20, č. 5, s. 408-415. ISSN 0958-0344. Dostupné z: <https://doi.org/10.1002/pca.1141>. [cit. 2024-05-05].

OLIVEIRA, Diana; BORGES, Anabela a SIMÕES, Manuel. Staphylococcus aureus Toxins and Their Molecular Activity in Infectious Diseases. Online. *Toxins*. 2018, roč. 10, č. 6. ISSN 2072-6651. Dostupné z: <https://doi.org/10.3390/toxins10060252>. [cit. 2024-05-05].

ORHAN, DİDEM DELİORMAN; ÖZÇELİK, BERRİN; HOŞBAŞ, SANEM a VURAL, MECİT. Assessment of antioxidant, antibacterial, antimycobacterial, and antifungal activities of some plants used as folk remedies in Turkey against dermatophytes and yeast-like fungi. Online. *Turkish Journal of Biology*. ISSN 1303-6092. Dostupné z: <https://doi.org/10.3906/biy-1203-33> . [cit. 2023-09-25].

PADUCH, Roman; KANDEFER-SZERSZEŃ, Martyna; TRYTEK, Mariusz a FIEDUREK, Jan. Terpenes: substances useful in human healthcare. Online. *Archivum Immunologiae et Therapiae Experimentalis*. 2007, roč. 55, č. 5, s. 315-327. ISSN 0004-069X. Dostupné z: <https://doi.org/10.1007/s00005-007-0039-1> . [cit. 2024-05-05].

PAN, Xuejun; NIU, Guoguang a LIU, Huizhou. Microwave-assisted extraction of tea polyphenols and tea caffeine from green tea leaves. Online. *Chemical Engineering and Processing: Process Intensification*. 2003, roč. 42, č. 2, s. 129-133. ISSN 02552701. Dostupné z: [https://doi.org/10.1016/S0255-2701\(02\)00037-5](https://doi.org/10.1016/S0255-2701(02)00037-5). [cit. 2024-05-05].

PANDEY, Amita; and Shalini Tripathi. "Concept of standardization, extraction and pre phytochemical screening strategies for herbal drug." *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry* 2.5 (2014): 115-119.

PERIFERAKIS, Argyrios; PERIFERAKIS, Konstantinos; BADARAU, Ioana Anca; PETRAN, Elena Madalina; POPA, Delia Codruta et al. Kaempferol: Antimicrobial Properties, Sources, Clinical, and Traditional Applications. Online. *International Journal of Molecular Sciences*. 2022, roč. 23, č. 23. ISSN 1422-0067. Dostupné z: <https://doi.org/10.3390/ijms232315054>. [cit. 2024-05-07]

Petruzzello, M.. "stinging nettle." *Encyclopedia Britannica*, February 2, 2024. <https://www.britannica.com/plant/stinging-nettle>.

PRIOR, Ronald L.; LAZARUS, Sheryl A.; CAO, Guohua; MUCCITELLI, Helen a HAMMERSTONE, John F. Identification of Procyanidins and Anthocyanins in Blueberries and

Cranberries ( *Vaccinium* Spp. ) Using High-Performance Liquid Chromatography/Mass Spectrometry. Online. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 2001, roč. 49, č. 3, s. 1270-1276. ISSN 0021-8561. Dostupné z: <https://doi.org/10.1021/jf001211q>. [cit. 2024-04-21].

PRZYBYLSKA-BALCEREK, Anna; SZABLEWSKI, Tomasz; SZWAJKOWSKA-MICHAŁEK, Lidia; ŚWIERK, Dariusz; CEGIĘLSKA-RADZIEJEWSKA, Renata et al. Sambucus Nigra Extracts– Natural Antioxidants and Antimicrobial Compounds. Online. *Molecules*. 2021, roč. 26, č. 10. ISSN 1420-3049. Dostupné z: <https://doi.org/10.3390/molecules26102910>. [cit. 2024-03-04].

RAMOS, A; EDREIRA, A; VIZOSO, A; BETANCOURT, J; LÓPEZ, M et al. Genotoxicity of an extract of *Calendula officinalis* L. Online. *Journal of Ethnopharmacology*. 1998, roč. 61, č. 1, s. 49-55. ISSN 03788741. Dostupné z: [https://doi.org/10.1016/S0378-8741\(98\)00017-8](https://doi.org/10.1016/S0378-8741(98)00017-8). [cit. 2024-03-03].

RANDHAWA, Harmandeep K.; HUNDAL, Kanwarpreet K.; AHIRRAO, Pallavi N.; JACHAK, Sanjay M. a NANDANWAR, Hemraj S. Efflux pump inhibitory activity of flavonoids isolated from *Alpinia calcarata* against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. Online. *Biologia*. 2016, roč. 71, č. 5, s. 484-493. ISSN 0006-3088. Dostupné z: <https://doi.org/10.1515/biolog-2016-0073>. [cit. 2024-04-30].

RANDHIR, Reena; LIN, Yuan-Tong a SHETTY, Kalidas. Stimulation of phenolics, antioxidant and antimicrobial activities in dark germinated mung bean sprouts in response to peptide and phytochemical elicitors. Online. *Process Biochemistry*. 2004, roč. 39, č. 5, s. 637-646. ISSN 13595113. Dostupné z: [https://doi.org/10.1016/S0032-9592\(03\)00197-3](https://doi.org/10.1016/S0032-9592(03)00197-3). [cit. 2024-04-21].

REITER, Jana; LEVINA, Natalja; VAN DER LINDEN, Mark; GRUHLKE, Martin; MARTIN, Christian et al. Diallylthiosulfinate (Allicin), a Volatile Antimicrobial from Garlic (*Allium sativum*), Kills Human Lung Pathogenic Bacteria, Including MDR Strains, as a Vapor. Online. *Molecules*. 2017, roč. 22, č. 10. ISSN 1420-3049. Dostupné z: <https://doi.org/10.3390/molecules22101711>. [cit. 2024-05-01].

RIACHI, Liza G. a DE MARIA, Carlos A.B. Peppermint antioxidants revisited. Online. *Food Chemistry*. 2015, roč. 176, s. 72-81. ISSN 03088146. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2014.12.028>. [cit. 2024-03-01].

SAMUELSEN, Anne Berit. The traditional uses, chemical constituents and biological activities of *Plantago major* L. A review. Online. *Journal of Ethnopharmacology*. 2000, roč. 71, č. 1-2, s. 1-21. ISSN 03788741. Dostupné z: [https://doi.org/10.1016/S0378-8741\(00\)00212-9](https://doi.org/10.1016/S0378-8741(00)00212-9). [cit. 2024-03-01].

SASIDHARAN S, CENY, Saravanan D, Sundram KM, Yoga Latha L. Extraction, isolation and characterization of bioactive compounds from plants' extracts. *Afr J Tradit Complement Altern Med*. 2011;8(1):1-10. Epub 2010 Oct 2. PMID: 22238476; PMCID: PMC3218439 [cit. 2024-04-19].

SASIDHARAN, S et al. "Extraction, isolation and characterization of bioactive compounds from plants' extracts." *African journal of traditional, complementary, and alternative medicines* : AJTCAM vol. 8,1 (2011): 1-10.

SCHNEIDER G. *Arzneidrogen, Ein Kompendium für Pharmazeuten, Biologen und Chemiker*. Wissenschaftsverlag; Mannheim, Germany: 1990. p. 131. PAILER, M. a HASCHKE-HOFMEISTER, E. INHALTSSTOFFE AUS PLANTAGO MAJOR. Online. *Planta Medica*. 1969, roč. 17, č. 02, s. 139-145. ISSN 0032-0943. Dostupné z: <https://doi.org/10.1055/s-0028-1099839>. [cit. 2024-03-01].

SETYORINI, Dwi a ANTARLINA, Sri Satya. Secondary metabolites in sorghum and its characteristics. Online. *Food Science and Technology*. 2022, roč. 42. ISSN 1678-457X. Dostupné z: <https://doi.org/10.1590/fst.49822>. [cit. 2023-07-26].

SHAO, Jing; ZHANG, MengXiang; WANG, TianMing; LI, Yue a WANG, ChangZhong. The roles of CDR1, CDR2, and MDR1 in kaempferol-induced suppression with fluconazole-resistant *Candida albicans*. Online. *Pharmaceutical Biology*. 2016, roč. 54, č. 6, s. 984-992. ISSN 1388-0209. Dostupné z: <https://doi.org/10.3109/13880209.2015.1091483>. [cit. 2024-04-30].

SHI, John; NAWAZ, Haseeb; POHORLY, Joseph; MITTAL, Gauri; KAKUDA, Yukio et al. Extraction of Polyphenolics from Plant Material for Functional Foods—Engineering and Technology. Online. *Food Reviews International*. 2005, roč. 21, č. 1, s. 139-166. ISSN 8755-9129. Dostupné z: <https://doi.org/10.1081/FRI-200040606>. [cit. 2024-04-21].

SHRIRAM, Varsha; KHARE, Tushar; BHAGWAT, Rohit; SHUKLA, Ravi a KUMAR, Vinay. Inhibiting Bacterial Drug Efflux Pumps via Phyto-Therapeutics to Combat Threatening Antimicrobial Resistance. Online. *Frontiers in Microbiology*. 2018, roč. 9. ISSN 1664-302X. Dostupné z: <https://doi.org/10.3389/fmicb.2018.02990>. [cit. 2024-04-30].

SCHNEIDER, Tanja a SAHL, Hans-Georg. An oldie but a goodie – cell wall biosynthesis as antibiotic target pathway. Online. *International Journal of Medical Microbiology*. 2010, roč. 300, č. 2-3, s. 161-169. ISSN 14384221. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.ijmm.2009.10.005>. [cit. 2024-05-05].

SKOULA, Melpomene; GRAYER, Renée J.; KITE, Geoffrey C. a VEITCH, Nigel C. Exudate flavones and flavanones in *Origanum* species and their interspecific variation. Online. *Biochemical Systematics and Ecology*. 2008, roč. 36, č. 8, s. 646-654. ISSN 03051978. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.bse.2008.05.003>. [cit. 2024-05-02].

SMERIGLIO, Antonella; BARRECA, Davide; BELLOCCO, Ersilia a TROMBETTA, Domenico. Proanthocyanidins and hydrolysable tannins: occurrence, dietary intake and pharmacological effects.

Online. *British Journal of Pharmacology*. 2017, roč. 174, č. 11, s. 1244-1262. ISSN 0007-1188. Dostupné z: <https://doi.org/10.1111/bph.13630>. [cit. 2024-04-30].

SOKOVIC, M.D., VUKOJEVIC, J., MARIN, P.D., BRKIC, D.D., Vajs, V., van Griensven, L.J.L.D., 2009. Chemical composition of essential oils of *Thymus* and *Mentha* species and their antifungal activities. *Molecules* 14, 238–249.

SPARR ESKILSSON, Cecilia a BJÖRKLUND, Erland. Analytical-scale microwave-assisted extraction. Online. *Journal of Chromatography A*. 2000, roč. 902, č. 1, s. 227-250. ISSN 00219673. Dostupné z: [https://doi.org/10.1016/S0021-9673\(00\)00921-3](https://doi.org/10.1016/S0021-9673(00)00921-3). [cit. 2024-04-21].

STUDZIŃSKA-SROKA, Elżbieta; GALANTY, Agnieszka; GOŚCINIAK, Anna; WIECZOREK, Mateusz; KŁAPUT, Magdalena et al. Herbal Infusions as a Valuable Functional Food. Online. *Nutrients*. 2021, roč. 13, č. 11. ISSN 2072-6643. Dostupné z: <https://doi.org/10.3390/nu13114051>. [cit. 2023-09-23].

SUNA, Senem; TAMER, Canan Ece a ÖZCAN-SINIR, Gülşah. Trends and Possibilities of the Usage of Medicinal Herbal Extracts in Beverage Production. Online. In: *Natural Beverages*. Elsevier, 2019, s. 361-398. ISBN 9780128166895. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-816689-5.00013-4>. [cit. 2023-09-28].

TATKE, P., and Y. JAISWAL. "An overview of microwave assisted extraction and its applications in herbal drug research." *Research journal of medicinal plant* 5.1 (2011): 21-31.

TIWARI, Brijesh K. Ultrasound: A clean, green extraction technology. Online. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*. 2015, roč. 71, s. 100-109. ISSN 01659936. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.trac.2015.04.013>. [cit. 2023-09-25].

TIWARI, Prashant, et al. Phytochemical screening and extraction: a review. *Internationale pharmaceutica sciencia*, 2011, 1.1: 98-106.

TONG, Steven Y. C.; DAVIS, Joshua S.; EICHENBERGER, Emily; HOLLAND, Thomas L. a FOWLER, Vance G. *Staphylococcus aureus* Infections: Epidemiology, Pathophysiology, Clinical Manifestations, and Management. Online. *Clinical Microbiology Reviews*. 2015, roč. 28, č. 3, s. 603-661. ISSN 0893-8512. Dostupné z: <https://doi.org/10.1128/CMR.00134-14>. [cit. 2024-03-04].

TUNDIS, Rosa; URSINO, Claudia; BONESI, Marco; LOIZZO, Monica R.; SICARI, Vincenzo et al. Flower and Leaf Extracts of *Sambucus nigra* L: Application of Membrane Processes to Obtain Fractions with Antioxidant and Antityrosinase Properties. Online. *Membranes*. 2019, roč. 9, č. 10. ISSN 2077-0375. Dostupné z: <https://doi.org/10.3390/membranes9100127>. [cit. 2024-03-04].

TYAGI, Poonam; SINGH, Madhuri; KUMARI, Himani; KUMARI, Anita; MUKHOPADHYAY, Kasturi et al. Bactericidal Activity of Curcumin I Is Associated with Damaging of Bacterial

Membrane. Online. *PLOS ONE*. 2015, roč. 10, č. 3. ISSN 1932-6203. Dostupné z: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0121313>. [cit. 2024-04-30].

UJANG, Zanariah Binti; SUBRAMANIAM, Thavamanithevi; DIAH, Mazita Md; WAHID, Harmayumi Binti; ABDULLAH, Badariah Binti et al. Bioguided Fractionation and Purification of Natural Bioactives Obtained from *Alpinia conchigera* Water Extract with Melanin Inhibition Activity. Online. *Journal of Biomaterials and Nanobiotechnology*. 2013, roč. 04, č. 03, s. 265-272. ISSN 2158-7027. Dostupné z: <https://doi.org/10.4236/jbnb.2013.43033>. [cit. 2023-09-23].

VACEK, J.; KLEJDUS, B. a KUBÁŇ, V. Hypericin a hyperforin: biologicky aktivní komponenty třezalky tečkované (*Hypericum perforatum*) Jejich izolace, analýza a studium fyziologických účinků. In: . Akademie věd České republiky, Biofyzikální ústav, Brno: Česká a slovenská farmacie, 2007, s. 62–66.

VEGGI, Priscilla C., Julian MARTINEZ, and M. Angela A. MEIRELES. "Fundamentals of microwave extraction." *Microwave-assisted extraction for bioactive compounds: theory and practice*. Boston, MA: Springer US, 2012. 15-52.

VELDERRAIN-RODRÍGUEZ, G. R.; PALAFOX-CARLOS, H.; WALL-MEDRANO, A.; AYALA-ZAVALA, J. F.; CHEN, C-Y. O. et al. Phenolic compounds: their journey after intake. Online. *Food Funct*. 2014, roč. 5, č. 2, s. 189-197. ISSN 2042-6496. Dostupné z: <https://doi.org/10.1039/C3FO60361J>. [cit. 2024-04-21].

VENSKUTONIS, Petras Rimantas. Lovage (*Levisticum officinale* Koch.) Oils. Online. In: *Essential Oils in Food Preservation, Flavor and Safety*. Elsevier, 2016, s. 539-549. ISBN 9780124166417. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-416641-7.00062-6>. [cit. 2024-03-03].

VINATORU, Mircea. An overview of the ultrasonically assisted extraction of bioactive principles from herbs. Online. *Ultrasonics Sonochemistry*. 2001, roč. 8, č. 3, s. 303-313. ISSN 13504177. Dostupné z: [https://doi.org/10.1016/S1350-4177\(01\)00071-2](https://doi.org/10.1016/S1350-4177(01)00071-2). [cit. 2024-04-21].

WANG, Chao-Min; JHAN, Yun-Lian; TSAI, Shang-Jie a CHOU, Chang-Hung. The Pleiotropic Antibacterial Mechanisms of Ursolic Acid against Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA). Online. *Molecules*. 2016, roč. 21, č. 7. ISSN 1420-3049. Dostupné z: <https://doi.org/10.3390/molecules21070884>. [cit. 2024-04-30].

WANG, Lijun a WELLER, Curtis L. Recent advances in extraction of nutraceuticals from plants. Online. *Trends in Food Science & Technology*. 2006, roč. 17, č. 6, s. 300-312. ISSN 09242244. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2005.12.004>. [cit. 2023-09-25].

WENZEL, M. Léčivé rostliny: nejlepší využití pro zdraví celé rodiny. Praha: Grada, 2014. ISBN 978-80-247-5155-9.

WHO Promoting Safe Food Handling. [(accessed on 27 August 2020)];2019 Available online: [https://www.who.int/foodsafety/areas\\_work/food-hygiene/en/](https://www.who.int/foodsafety/areas_work/food-hygiene/en/)

WINK, M. Alkaloids: Properties and Determination. Online. In: *Encyclopedia of Food and Health*. Elsevier, 2016, s. 97-105. ISBN 9780123849533. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-384947-2.00019-2>. [cit. 2024-04-21].

WU, Dalei; KONG, Yunhua; HAN, Cong; CHEN, Jing; HU, Lihong et al. D-Alanine: d-alanine ligase as a new target for the flavonoids quercetin and apigenin. Online. *International Journal of* Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.ijantimicag.2008.06.010>. [cit. 2024-04-30].

XU, B.J. a CHANG, S.K.C. A Comparative Study on Phenolic Profiles and Antioxidant Activities of Legumes as Affected by Extraction Solvents. Online. *Journal of Food Science*. 2007, roč. 72, č. 2. ISSN 0022-1147. Dostupné z: <https://doi.org/10.1111/j.1750-3841.2006.00260.x>. [cit. 2024-04-21].

XU, P.; XU, X.B.; KHAN, A.; FOTINA, T. a WANG, S.H. Antibiofilm activity against *Staphylococcus aureus* and content analysis of *Taraxacum Officinale* phenolic extract. Online. *Polish Journal of Veterinary Sciences*. 2021, S. 243-251. ISSN 1505-1773. Dostupné z: <https://doi.org/10.24425/pjvs.2021.137659>. [cit. 2024-05-05].

YANG, Wangrong; MOORE, Ian F.; KOTEVA, Kalinka P.; BAREICH, David C.; HUGHES, Donald W. et al. TetX Is a Flavin-dependent Monooxygenase Conferring Resistance to Tetracycline Antibiotics. Online. *Journal of Biological Chemistry*. 2004, roč. 279, č. 50, s. 52346-52352. ISSN 00219258. Dostupné z: <https://doi.org/10.1074/jbc.M409573200>. [cit. 2024-04-30].

YILDIRIM, Arzu Birinci a TURKER, Arzu Ucar. Effects of regeneration enhancers on micropropagation of *Fragaria vesca* L. and phenolic content comparison of field-grown and in vitro-grown plant materials by liquid chromatography-electrospray tandem mass spectrometry (LC–ESI-MS/MS). Online. *Scientia Horticulturae*. 2014, roč. 169, s. 169-178. ISSN 03044238. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2014.01.038>. [cit. 2024-03-03].

ZENÃO, Soraia; AIRES, Alfredo; DIAS, Carla; SAAVEDRA, Maria José a FERNANDES, Conceição. Antibacterial potential of *Urtica dioica* and *Lavandula angustifolia* extracts against methicillin resistant *Staphylococcus aureus* isolated from diabetic foot ulcers. Online. *Journal of Herbal Medicine*. 2017, roč. 10, s. 53-58. ISSN 22108033. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.hermed.2017.05.003>. [cit. 2024-03-03].

ZHANG, Sheng; YAN, Xu; FU, Hao; LI, Wenlong a QU, Haibin. In-line monitoring and endpoint determination of percolation process of herbal medicine using ultraviolet spectroscopy combined with convolutional neural network. Online. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*. 2021, roč. 73,



č. 11, s. 1451-1459. ISSN 0022-3573. Dostupné z: <https://doi.org/10.1093/jpp/rgab105>. [cit. 2023-09-23].

ZHENG, W., Wang, S.Y., 2001. Antioxidant activity and phenolic compounds in selected herbs. *J. Agric. Food Chem.* 49 (11), 5165– 5170.

ZIAEDINI, A.; JAFARI, A. a ZAKERI, A. Extraction of Antioxidants and Caffeine from Green Tea (*Camelia sinensis*) Leaves: Kinetics and Modeling. Online. *Food Science and Technology International*. 2010, roč. 16, č. 6, s. 505-510. ISSN 1082-0132. Dostupné z: <https://doi.org/10.1177/1082013210367567>. [cit. 2023-09-25].

**SEZNAM POUŽITÝCH SYMBOLŮ A ZKRATEK**

ACP	(acal carrier protein) – protein přenášející acyl
ATP	(adenosine triphosphate) – adenosintrifosfát
DNA	(deoxyribonucleic acid) – deoxyribonukleová kyselina
ESBL	(extended spectrum $\beta$ -lactamases) – širokospektrá $\beta$ -laktamasa
FtsZ	(filamenting temperature-sensitive mutant Z) – "filamentující mutant Z citlivý na teplotu"
LPS	lipopolysacharid
MAE Eth.	mikrovlnná extrakce ethanolem
MAE H <sub>2</sub> O	mikrovlnná extrakce vodou
MAE	(microweve-assisted extraction) – mikrovlnná extrakce
MRSA	meticilin-rezistentní <i>Staphylococcus aureus</i>
RNA	(ribonucleic acid) – ribonukleová kyselina
SaPriA	„esenciální helikasa pro restart replikace DNA pro <i>Staphylococcus. aureus</i> “
UAE	(ultrasound-assisted extraction) – ultrazvukem asistovaná extrakce

**SEZNAM OBRÁZKŮ**

Obrázek 1 Jitrocel kopinatý, list .....	27
Obrázek 2 Máta peprná, list .....	27
Obrázek 3 Jahodník obecný, list .....	28
Obrázek 4 Kopřiva dvoudomá, list .....	29
Obrázek 5 Libeček lékařský, list .....	29
Obrázek 6 Dobromysl obecná, list .....	30
Obrázek 7 Řebříček lékařský, list .....	31
Obrázek 8 Řebříček lékařský, květ .....	31
Obrázek 9 Měsíček lékařský, květ .....	31
Obrázek 10 Pampeliška lékařská, květ .....	32
Obrázek 11 Bez černý, květ .....	32
Obrázek 12 Vodné maceráty .....	36
Obrázek 13 Ethanolové maceráty .....	37
Obrázek 14 Inhibiční zóny vytvořené působením ethanolového macerátu proti <i>Staphylococcus aureus</i> .....	40
Obrázek 15 Přehled jednotlivých použitých rostlin .....	41
Obrázek 16 Přehled testovaných bakteriálních kmenů .....	41
Obrázek 17 Antimikrobiální aktivita nálevů z rostlin: 2 – máta peprná, 3 – jahodník obecný, 4 – kopřiva dvoudomá, 5 – dobromysl obecná, 6 – list řebříčku lékařského. ....	51
Obrázek 18 Antimikrobiální aktivita nálevů z rostlin: 1 – jitrocel kopinatý, 2 – máta peprná, 3 – jahodník obecný, 4 – kopřiva dvoudomá, 5 – dobromysl obecná, 6 – list řebříčku lékařského. ....	52
Obrázek 19 Antimikrobiální aktivita nálevů z rostlin: 1 – jitrocel kopinatý, 2 – máta peprná, 3 – jahodník obecný, 4 – kopřiva dvoudomá, 5 – dobromysl obecná, 6 – list řebříčku lékařského, 7 – květ řebříčku lékařského, 10 – libeček lékařský. ....	54
Obrázek 20 Antimikrobiální aktivita nálevů z rostlin: 1 – jitrocel kopinatý, 2 – máta peprná, 4 – kopřiva dvoudomá, 5 – dobromysl obecná, 6 – list řebříčku lékařského, 7 – květ řebříčku lékařského, 8 – měsíček lékařský, 10 – libeček lékařský, 11 – bez černý .....	55
Obrázek 21 Antimikrobiální aktivita nálevů z rostlin: 2 – máta peprná, 3 – jahodník obecný, 4 – kopřiva dvoudomá, 5 – dobromysl obecná .....	56
Obrázek 22 Antimikrobiální aktivita nálevů z rostlin: 1 – jitrocel kopinatý, 4 – kopřiva dvoudomá .....	57

**SEZNAM TABULEK**

Tabulka 1 Přehled nejčastějších antimikrobiálních látek .....	13
Tabulka 2 Přehled použitých rostlin a jejich částí .....	35
Tabulka 3 Přehled testovaných bakteriálních kmenů .....	38
Tabulka 4 Antimikrobiální aktivita extraktů z jitrocele kopinatého na testované bakteriální kmeny [průměrné velikosti inhibičních zón $\pm$ SD v mm, (-) žádný inhibiční účinek, MAE – mikrovlnná extrakce] .....	42
Tabulka 5 Antimikrobiální aktivita extraktů z máty peprné na testované bakteriální kmeny [průměrné velikosti inhibičních zón $\pm$ SD v mm, (-) žádný inhibiční účinek, MAE – mikrovlnná extrakce] .....	43
Tabulka 6 Antimikrobiální aktivita extraktů z jahodníku obecného na testované bakteriální kmeny [průměrné velikosti inhibičních zón $\pm$ SD v mm, (-) žádný inhibiční účinek, MAE – mikrovlnná extrakce] .....	44
Tabulka 7 Antimikrobiální aktivita extraktů z kopřivy dvoudomé na testované bakteriální kmeny [průměrné velikosti inhibičních zón $\pm$ SD v mm, (-) žádný inhibiční účinek, MAE – mikrovlnná extrakce] .....	45
Tabulka 8 Antimikrobiální aktivita extraktů z dobromysli obecné na testované bakteriální kmeny [průměrné velikosti inhibičních zón $\pm$ SD v mm, (-) žádný inhibiční účinek, MAE – mikrovlnná extrakce] .....	46
Tabulka 9 Antimikrobiální aktivita extraktů z listu řebříčku lékařského na testované bakteriální kmeny [průměrné velikosti inhibičních zón $\pm$ SD v mm, (-) žádný inhibiční účinek, MAE – mikrovlnná extrakce] .....	47
Tabulka 10 Antimikrobiální aktivita extraktů z listu řebříčku lékařského (květ) na testované bakteriální kmeny [průměrné velikosti inhibičních zón $\pm$ SD v mm, (-) žádný inhibiční účinek, MAE – mikrovlnná extrakce] .....	48
Tabulka 11 Antimikrobiální aktivita extraktů z měsíčku lékařského na testované bakteriální kmeny [průměrné velikosti inhibičních zón $\pm$ SD v mm, (-) žádný inhibiční účinek, MAE – mikrovlnná extrakce] .....	49
Tabulka 12 Antimikrobiální aktivita extraktů z libečku lékařského na testované bakteriální kmeny [průměrné velikosti inhibičních zón $\pm$ SD v mm, (-) žádný inhibiční účinek, MAE – mikrovlnná extrakce] .....	50
Tabulka 13 Antimikrobiální aktivita extraktů z bezu černého na testované bakteriální kmeny [průměrné velikosti inhibičních zón $\pm$ SD v mm, (-) žádný inhibiční účinek, MAE – mikrovlnná extrakce] .....	50