

Vliv *Tecoma lapacho* na růst vybraných druhů prokaryotických a eukaryotických organismů

Bc. Helena Fomiczewová

Diplomová práce
2008



Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně
Fakulta technologická

Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně

Fakulta technologická

Ústav potravinářského inženýrství

akademický rok: 2007/2008

ZADÁNÍ DIPLOMOVÉ PRÁCE

(PROJEKTU, UMĚLECKÉHO DÍLA, UMĚLECKÉHO VÝKONU)

Jméno a příjmení: **Bc. Helena FOMICZEWOVÁ**

Studijní program: **N 2901 Chemie a technologie potravin**

Studijní obor: **Technologie, hygiena a ekonomika výroby potravin**

Téma práce: **Vliv Tecome lapacho na růst vybraných druhů prokaryotických a eukaryotických organismů**

Zásady pro vypracování:

1. Fyziologický popis rostliny Tecome lapacho.
2. Biologicky aktivní látky.
3. Experimentální část – příprava extraktů Tecome lapacho.
4. Vliv účinků rostliny Tecome lapacho na vybrané organismy.

Rozsah práce:

Rozsah příloh:

Forma zpracování diplomové práce: **tištěná**

Seznam odborné literatury:

LUBECK, W. Léčíme se čajem lapacho. Praha: Nakladatelství Ivo Železný, 2002. 99 s. ISBN 80--237--3655--8.

JULÁK, J. Úvod do lékařské bakteriologie. Praha: Karolinum, 2006. 404 s. ISBN 80-246-1270-4.

ČECHOVÁ, L. Základy obecné mikrobiologie. Zlín: Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně, 2006. 142 s. ISBN 80-7318-487-7.

MALÍŘ, F; OSTRÝ, V. Vláknité mikromycety (plísňe), mykotoxiny a zdraví člověka. Brno: Národní centrum ošetřovatelství a nelékařských zdravotnických oborů, 2003. 349 s. ISBN 80-7013-395-3.

Vedoucí diplomové práce:

Ing. Daniela Kramářová, Ph.D.

Ústav potravinářského inženýrství

Datum zadání diplomové práce:

21. listopadu 2007

Termín odevzdání diplomové práce:

31. května 2008

Ve Zlíně dne 2. května 2008

doc. Ing. Petr Hlaváček, CSc.
děkan



prof. Ing. Ignác Hoza, CSc.
vedoucí katedry

ABSTRAKT

Diplomová práce je věnována rostlině *Tecoma lapacho*. Čajový odvar připravený z této rostliny svými bioaktivními látkami příznivě působí na lidský organismus. Kromě toho vědecké výzkumy ukazují, že lapacho vykazuje antibakteriální, antivirové, antimykotické a antiparazitické účinky. Cílem práce bylo vyrobit a testovat extrakt rostliny *Tecoma lapacho* na jeho potenciální antibakteriální a antimykotické účinky. Antibakteriální účinek extraktu byl ověřován na tyto kmeny bakterií: *Bacillus cereus*, *Escherichia coli*, *Shigella flexneri* a *Staphylococcus aureus*. Antimykotický účinek extraktu byl testován na kvasince *Candida albicans*.

Klíčová slova: *Tecoma lapacho*, extrakce, *Bacillus cereus*, *Escherichia coli*, *Shigella flexneri*, *Staphylococcus aureus*, *Candida albicans*.

ABSTRACT

This thesis deals with the plant called *Tecoma lapacho*. Tea prepared from this plant has a positive influence on human organism, because of its bioactive substances. The scientific researches reflect lapacho's antibacterial, antiviral, antimycotic and antiparasitic effects. This work's ambition was to produce an extract of *Tecoma lapacho* plant and to test it for potential antibacterial and antimycotic effects. Extract's antibacterial influences were tested for these strains of bacteria: *Bacillus cereus*, *Escherichia coli*, *Shigella flexneri* and *Staphylococcus aureus*. An antimycotic effect of this extract was tested for a yeast of *Candida albicans*.

Keywords: *Tecoma lapacho*, extraction, *Bacillus cereus*, *Escherichia coli*, *Shigella flexneri*, *Staphylococcus aureus*, *Candida albicans*.

Velmi děkuji touto cestou Ing. Daniele Kramářové, Ph.D. a Mgr. Magdě Doležalové za odborné vedení, ochotu a trpělivost. Jejich cenné rady a podpora mi pomohly při tvorbě této diplomové práce.

OBSAH

ÚVOD.....	10
I TEORETICKÁ ČÁST	11
1 FYZIOLOGICKÝ POPIS ROSTLINY <i>TECOME LAPACHO</i>	12
1.1 BOTANICKÉ OZNAČENÍ	12
2 ZPRACOVÁNÍ ČAJE LAPACHO	13
3 BIOAKTIVNÍ LÁTKY ČAJE LAPACHO	14
3.1 FLAVONOIDY	14
3.2 NAFTOCHINONY	15
3.2.1 Lapachol.....	16
3.2.2 β -lapachon.....	17
3.3 XYLODION.....	18
3.4 SAPONINY	18
3.5 VITAMINY	18
3.5.1 Vitamin B ₁ (thiamin).....	18
3.5.2 Vitamin A (retinol).....	19
3.5.3 Vitamin C (kyselina L-askorbová).....	20
3.6 MINERÁLNÍ LÁTKY A STOPOVÉ PRVKY.....	21
3.6.1 Význam minerálních látek a stopových prvků obsažených v lapachu	22
4 VLIV <i>TECOME LAPACHO</i> NA PROKARYOTICKÉ A EUKARYOTICKÉ ORGANISMY	24
5 ANTIBAKTERIÁLNÍ VLASTNOSTI LAPACHA	25
5.1 ROD <i>BACILLUS</i>	26
5.2 ROD <i>ESCHERICHIA</i>	27
5.3 ROD <i>SHIGELLA</i>	29
5.4 ROD <i>STAPHYLOCOCCUS</i>	31
6 ANTIMYKOTICKÉ VLASTNOSTI LAPACHA	33
6.1 ROD <i>CANDIDA</i>	34
7 ANTIPARAZITICKÉ VLASTNOSTI LAPACHA	36
7.1 ROD <i>PLASMODIUM</i>	36
7.2 ROD <i>SCHISTOSOMA</i>	37
7.3 ROD <i>TRYPANOSOMA</i>	37
8 ANTIVIROVÉ VLASTNOSTI LAPACHA	38
8.1 <i>HERPES SIMPLEX VIRUS</i>	38
8.2 ROD <i>INFLUENZA</i>	39
9 DALŠÍ LÉČIVÉ ÚČINKY ČAJE LAPACHA	40

II	PRAKTICKÁ ČÁST	41
10	METODIKA	42
10.1	POUŽITÉ PŘÍSTROJE A POMŮCKY	42
10.2	MATERIÁL	42
10.2.1	Živné půdy.....	42
10.2.2	Pomnožovací médium.....	44
10.2.3	Použité roztoky a chemikálie	44
10.2.4	Testované mikroorganismy	45
10.3	PŘÍPRAVA EXTRAKTU <i>TECOME LAPACHO</i>	45
10.3.1	Příprava acetonového extraktu <i>Tecome lapacho</i>	45
10.3.2	Příprava hexanového extraktu <i>Tecome lapacho</i>	45
10.3.3	Příprava ethanolového extraktu <i>Tecome lapacho</i>	46
10.3.4	Příprava vodného výluhu <i>Tecome lapacho</i>	46
10.4	ANTIBAKTERIÁLNÍ ÚČINEK EXTRAKTU <i>TECOME LAPACHO</i> NA <i>BACILLUS CEREUS</i>	47
10.4.1	Aplikace extraktu <i>Tecome lapacho</i> na <i>Bacillus cereus</i> diskovou difúzní metodou	47
10.4.2	Aplikace extraktu <i>Tecome lapacho</i> na <i>Bacillus cereus</i> „metodou v bujónu“	48
10.4.2.1	Aplikace extraktu <i>Tecome lapacho</i> na <i>Bacillus cereus</i> metodou v bujónu – pilotní pokus	49
10.4.2.2	Aplikace extraktu <i>Tecome lapacho</i> na <i>Bacillus cereus</i> metodou v bujónu – vlastní experiment.....	49
10.5	ANTIBAKTERIÁLNÍ ÚČINEK EXTRAKTU <i>TECOME LAPACHO</i> NA <i>ESCHERICHIA COLI</i>	51
10.5.1	Aplikace extraktu <i>Tecome lapacho</i> na <i>Escherichia coli</i> diskovou difúzní metodou	51
10.5.2	Aplikace extraktu <i>Tecome lapacho</i> na <i>Escherichia coli</i> „metodou v bujónu“	52
10.5.2.1	Aplikace extraktu <i>Tecome lapacho</i> na <i>Escherichia coli</i> metodou v bujónu – pilotní pokus	52
10.5.2.2	Aplikace extraktu <i>Tecome lapacho</i> na <i>Escherichia coli</i> metodou v bujónu – vlastní experiment.....	53
10.6	ANTIBAKTERIÁLNÍ ÚČINEK EXTRAKTU <i>TECOME LAPACHO</i> NA <i>SHIGELLA FLEXNERI</i>	54
10.6.1	Aplikace extraktu <i>Tecome lapacho</i> na <i>Shigella flexneri</i> diskovou difúzní metodou	54
10.6.2	Aplikace extraktu <i>Tecome lapacho</i> na <i>Shigella flexneri</i> „metodou v bujónu“	55
10.6.2.1	Aplikace extraktu <i>Tecome lapacho</i> na <i>Shigella flexneri</i> metodou v bujónu – pilotní pokus	55
10.6.2.2	Aplikace extraktu <i>Tecome lapacho</i> na <i>Shigella flexneri</i> metodou v bujónu – vlastní experiment.....	56

10.7	ANTIBAKTERIÁLNÍ ÚČINEK EXTRAKTU <i>TECOME LAPACHO</i> NA <i>STAPHYLOCOCCUS AUREUS</i>	58
10.7.1	Aplikace extraktu <i>Tecome lapacho</i> na <i>Staphylococcus aureus</i> diskovou difúzní metodou	58
10.7.2	Aplikace extraktu <i>Tecome lapacho</i> na <i>Staphylococcus aureus</i> „metodou v bujónu“	59
10.7.2.1	Aplikace extraktu <i>Tecome lapacho</i> na <i>Staphylococcus aureus</i> metodou v bujónu – pilotní pokus	59
10.7.2.2	Aplikace extraktu <i>Tecome lapacho</i> na <i>Staphylococcus aureus</i> metodou v bujónu – vlastní experiment	60
10.8	ANTIMYKOTICKÝ ÚČINEK EXTRAKTU <i>TECOME LAPACHO</i> NA <i>CANDIDA</i> <i>ALBICANS</i>	61
10.8.1	Aplikace extraktu <i>Tecome lapacho</i> na <i>Candida albicans</i> „metodou roztěrem na půdu“	61
10.8.1.1	Aplikace extraktu <i>Tecome lapacho</i> na <i>Candida albicans</i> metodou roztěrem na půdu – vlastní experiment	61
10.9	STATISTICKÝ POČÍTAČOVÝ PROGRAM STATVYD	62
11	VÝSLEDKY A DISKUSE	64
11.1	VÝSLEDKY PŘÍPRAVY EXTRAKTU <i>TECOME LAPACHO</i>	64
11.1.1	Výsledky přípravy acetonového extraktu <i>Tecome lapacho</i>	64
11.1.2	Výsledky přípravy hexanového extraktu <i>Tecome lapacho</i>	64
11.1.3	Výsledky přípravy ethanového extraktu <i>Tecome lapacho</i>	64
11.1.4	Výsledky přípravy vodného výluhu <i>Tecome lapacho</i>	65
11.2	VÝSLEDKY MĚŘENÍ ANTIBAKTERIÁLNÍHO ÚČINKU EXTRAKTU <i>TECOME</i> <i>LAPACHO</i> „DISKOVOU DIFÚZNÍ METODOU“	65
11.3	VÝSLEDKY MĚŘENÍ ANTIBAKTERIÁLNÍHO ÚČINKU EXTRAKTU <i>TECOME</i> <i>LAPACHO</i> NA <i>BACILLUS CEREUS</i> „METODOU V BUJÓNU“	66
11.4	VÝSLEDKY MĚŘENÍ ANTIBAKTERIÁLNÍHO ÚČINKU EXTRAKTU <i>TECOME</i> <i>LAPACHO</i> NA <i>ESCHERICHIA COLI</i> „METODOU V BUJÓNU“	71
11.5	VÝSLEDKY MĚŘENÍ ANTIBAKTERIÁLNÍHO ÚČINKU EXTRAKTU <i>TECOME</i> <i>LAPACHO</i> NA <i>SHIGELLA FLEXNERI</i> „METODOU V BUJÓNU“	75
11.6	VÝSLEDKY MĚŘENÍ ANTIBAKTERIÁLNÍHO ÚČINKU EXTRAKTU <i>TECOME</i> <i>LAPACHO</i> NA <i>STAPHYLOCOCCUS AUREUS</i> „METODOU V BUJÓNU“	79
11.7	SHRNUTÍ ÚČINKU EXTRAKTU <i>TECOME LAPACHO</i> NA VYBRANÉ DRUHY BAKTÉRIÍ	84
11.8	VÝSLEDKY MĚŘENÍ ANTIMYKOTICKÉHO ÚČINKU EXTRAKTU <i>TECOME</i> <i>LAPACHO</i> NA <i>CANDIDA ALBICANS</i> „METODOU ROZTĚREM NA PŮDU“	85
	ZÁVĚR	89
	SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY	92
	SEZNAM POUŽITÝCH SYMBOLŮ A ZKRATEK	97
	SEZNAM OBRÁZKŮ	98
	SEZNAM TABULEK	100

SEZNAM PŘÍLOH.....	102
---------------------------	------------

ÚVOD

Lidstvo se vrací k využívání přírodních látek jako léčivých prostředků. Vědecké výzkumy potvrzují léčivou hodnotu rostlin, známou již dřívějším civilizacím.

Příznivé účinky rostliny *Tecoma lapacho* byly vědecky uznány. Dle vyjádření mnoha botaniků, chemiků i lékařů se jedná o jednu z neúčinnějších léčivých rostlin na světě. Léčivé účinky se neváží na jednu jedinou její složku. Jedná se o kombinaci bioaktivních látek, která umožňuje široké fytotherapeutické využití. Největší síla je připisována stimulačním účinkům na imunitní systém. Lehký čajový odvar zlepšuje obranyschopnost těla až o 48 %.

Mezi nejvýznamnější účinky lapacha patří antibakteriální, antimykotické, antiparazitické a antivirové vlastnosti. Vzhledem k tomu, že je v současné době celosvětově pozorován vzestup rezistence k antimikrobním přípravkům, je důležité věnovat pozornost novým poznatkům vědy a hledat další možnosti boje proti organismům, které mohou vyvolávat nejrůznější nemoci. Odolnost bakterií představuje vážný problém nejen při terapii infekčních onemocnění, ale i v epidemiologické praxi. Důležitý je pohled odborníků různých vědeckých oborů.

Člověk je také nucen potýkat se s negativními dopady působení hub, zejména pokud jde o degradaci potravin, krmiv. Některé kvasinky se mohou vyskytovat jako nežádoucí kontaminanty průmyslových výrob, některé kvasinky či plísně mohou vyvolávat infekční onemocnění, alergie nebo otravy.

Velmi rozšířeným biologickým jevem v přírodě je parazitismus. Paraziti mohou vyvolat velmi vážná onemocnění, jejichž nejhoršími důsledky může být i např. srdeční selhání.

Viry představují další heterogenní skupinu mikroorganismů, které napadají jak živočišné buňky, rostlinné buňky, buňky určitých druhů bakterií i buňky hub. V posledních letech byly zjištěny i viry napadající sinice, zelené řasy nebo prvoky. Viry mohou vyvolávat nejrůznější nemoci, mohou být i původci určitého typu rakovinných nádorů.

Cílem této práce je vyrobit a testovat antibakteriální a antimykotické účinky extraktu ze stromu *Tecoma lapacho*. Pro testování byly vybrány tyto kmeny bakterií: *Bacillus cereus*, *Escherichia coli*, *Shigella flexneri* a *Staphylococcus aureus*. Pro ověření antimykotického účinku byla vybrána kvasinka *Candida albicans*.

I. TEORETICKÁ ČÁST

1 FYZIOLOGICKÝ POPIS ROSTLINY *TECOME LAPACHO*

1.1 Botanické označení

Rostlina *Tecome lapacho* se řadí do čeledi *Bignoniaceae*, třídy *Tecorneae* a rodu *Tabebuia gomes ex. DC.*

Druhy lapacha, z nichž se dnes převážně vyrábí lékařská droga (čaj) pro světový trh, jsou *Tabebuia impetiginosa* a *Tabebuia avellanadae*. *Tabebuia impetiginosa* je v odborném světě známá také pod názvy *Bignonia heptaphylla*, *Gelsemium avellanadae*, *Tabebuia nicaraguensis*, *Tecoma adenophylla*, *Tabebuia dugandii*, *Tabebuia ipe*. Lapacho je nabízeno a popisováno pod nejrůznějšími názvy, avšak mezi nejrozšířenější patří v Evropě *Tecome lapacho*. [1]

Strom lapacho roste na rozsáhlých územích Jižní a Střední Ameriky, např. v Argentině, Bolívii, Brazílii, Kolumbii, Ekvádoru, Peru a Venezuele. Dokáže se přizpůsobit nejrůznějším životním podmínkám, je robustní a poměrně nenáročný. Lapacho se vyskytuje jako strom, ale i jako keř. Plně vzrostlé stromy dosahují výšky až 25 m s průměrem kmene až 75 cm. Dožít se může až 700 let. Kmeny stromů jsou většinou rovné, až do dvou třetin své délky (měřeno od země) jsou bez větví. Jejich kůra je poměrně hladká, na vnější straně šedá a uvnitř hnědočervená. Dřevo je extrémně tvrdé, snese velké mechanické zatížení a má zelenohnědé až zelenožluté zbarvení. Dřevem probíhají mizní kanálky, obsahující žluté krystaly, tzv. lapachol. Lapacho kvete od prosince do února každého roku. Délka květů bývá 4-7,5 cm, v průměru mívají 1-5 cm. Barva je na vnější straně od růžově červené až do temně červené, uvnitř jsou květy zlatožluté až světle žluté. [1]



Obr. 1: *Tecome lapacho* [2]

2 ZPRACOVÁNÍ ČAJE LAPACHO

Čaj lapacho je přírodní produkt z vnitřní kůry stromu *Tecoma lapacho*. Tato vnitřní kůra se sklízí podobně jako u korkového dubu. Stromy není nutné kácet, potřebná kůra se odstraňuje a poté znovu dorůstá. Kůra se sklízí u divoce rostoucích stromů jednou do roka, na plantážích dvakrát ročně. Plná kombinace účinných látek v optimálním složení nastupuje teprve až u asi čtyřicetiletých stromů. I při průmyslovém zpracování a využívání stromu lapacho zůstává kůra, která je nabízena jako čaj. Díky tomu, že mají stromy dlouhé a rovné kmeny je sklizeň velice jednoduchá. Kůra se oloupe a vnitřní mízní pletivo se seškrábe. Toto drobně nařezané dřevo je nabízeno buď jako sypaný čaj nebo v čajových sáčcích. [1, 3]

Kvalitní čaj by měl mít hnědočervenou barvu. Velké množství lapacha, které se dostává na trh, je však nízké kvality, přezrálé či nesprávně sklizené. Takové lapacho má velice málo nebo žádné z bioaktivních složek. [2]



Obr. 2: Kůra stromu *Tecoma lapacho* [2]

3 BIOAKTIVNÍ LÁTKY ČAJE LAPACHO

Léčivé účinky kůry stromu lapacho uvedli poprvé ve známost vědec, lékař a farmakolog prof. dr. Walter Accorsi z univerzity v brazilském Sao Paulu, botanik dr. Theodoro Meyer a lékař dr. Praz Ruiz v Argentině.

Při výzkumu kůry stromu lapacha se brzy objevily dvě její významné, terapeuticky užitečné vlastnosti. Odstraňovala nemocným bolesti a současně způsobovala zřetelný vzestup počtu červených krvinek. Léčba lapachem byla doporučena při různých nemocích, především při cukrovce, rakovině, leukémii, nádorech a revmatismu. [1]

V osmdesátých letech minulého století se začaly provádět dalekosáhlé vědecké studie. Bylo zjištěno, že léčebné síly stromu lapacho se neváží na jednu jedinou jeho složku, ale na jedinečnou kombinaci účinných látek, které umožňují široké terapeutické využití. Právě kvůli neobyčejné kompozici účinných látek mohou už i malé dávky výtažku lapacha přispět rozhodujícím způsobem například ke zpomalení růstu nádorů. Pokud se komponenty užívají izolovaně, zmizí mnohé z léčivé síly. [1]

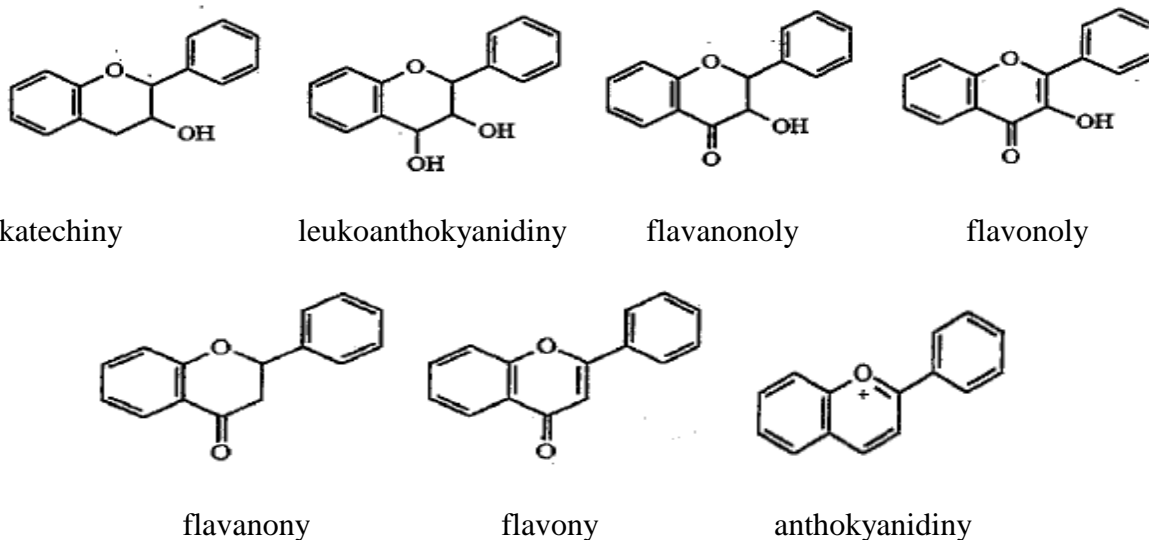
Dnes je lapacho pokládáno za velmi účinný stimulátor imunitního systému, který právě při pravidelném užívání v malých dávkách zvyšuje množství obranných látek v těle a tím posiluje celý organismus. Do dnešní doby byly v lapachu objeveny tyto účinné látky: flavonoidy, naftochinony (lapachol, lapachon), saponiny, xylodion, vitaminy, minerální látky a stopové prvky. [4]

3.1 Flavonoidy

Flavonoidní látky jsou rozsáhlou skupinou v přírodě vyskytujících se fytochemických látek, které najdeme ve všech rostlinách. Nachází se v kůře stromů, v listech, ve slupkách plodů, v květech nebo semenech rostlin. [5, 6]

Flavonoidy mají v molekule dva benzenové kruhy spojené tříuhlíkovým řetězcem. Jednotlivé deriváty se liší stupněm substituce a oxidace. Vyskytují se jako volné látky nebo častěji vázané v glykosidy. [7]

Podle stupně oxidace C₃ řetězce se rozeznávají následující základní struktury flavonoidů: katechiny, leukoanthokyanidiny, flavanony, flavanonoly, flavony, flavonoly, anthokyanidiny. [7]



Některé flavonoidní látky vykazují významné biologické účinky, tyto pak nazýváme jako bioflavonoidy. Tyto látky pozitivně působí na pružnost a permeabilitu krevních kapilár a na srdeční činnost. Vytvářejí oxidačně-redukční systémy s redoxním potenciálem velice blízkým redoxnímu potenciálu systému kyselina L-askorbová \leftrightarrow kyselina L-dehydroaskorbová a mohou tento oxidačně redukční systém dočasně zastupovat. [8]

Bioflavonoidy vykazují silné antioxidační účinky a působí proti volným radikálům. V komplexní souhře s ostatními účinnými látkami obsaženými v čaji lapacho vykazují vynikající léčebné účinky, pro které je lapacho tolik ceněné. Pomáhají při léčbě křečových žil, hemoroidů, bérceových vředů a také vykazují protizánětlivý účinek, který pomáhá zmírňovat alergické reakce dýchacího ústrojí. [1, 5, 9]

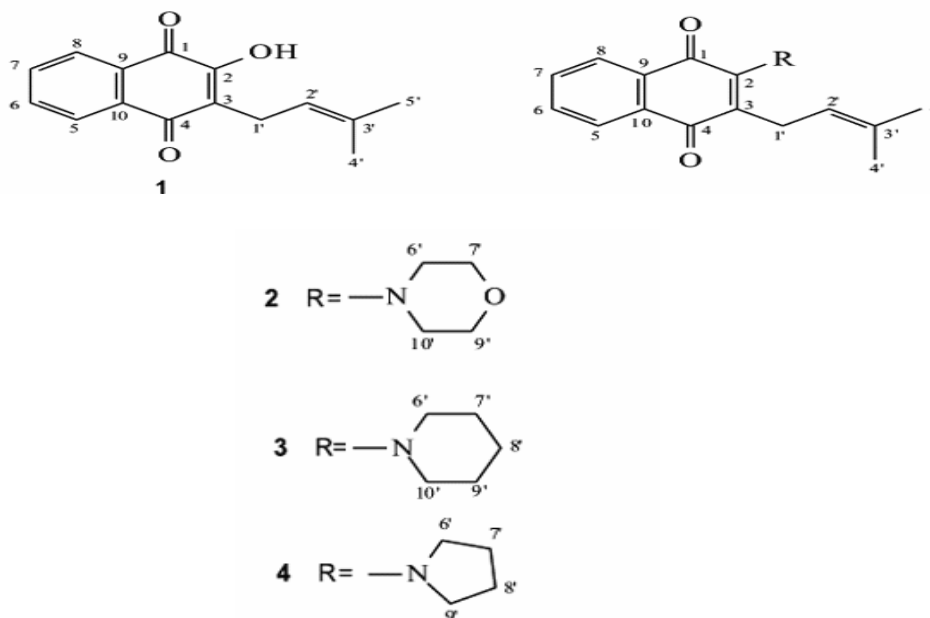
3.2 Naftochinony

Výzkumy a chemickou analýzou byly jako hlavní obsahové látky nalezeny lapachol, a od něj odvozený β -lapachon.

Vykazují především inhibiční účinky na enzym *DNA-topoizomerasu I*, čímž se tyto látky řadí mezi antivirotika a protirakovinná léčiva. β -lapachon i lapachol, se zdají být účinné především proti několika typům rakoviny, včetně rakoviny plic, hrudníku, prostaty a rovněž jsou účinné proti velmi nebezpečným melanomům. [10]

3.2.1 Lapachol

Lapachol je chinon s prokazatelně sterilizujícím účinkem.



1- lapachol

2, 3, 4 - deriváty lapacholu

Tato látka, která dostala označení lapachol, brání růstu nádorů a léčí záněty. Později byl lapachol testován v renomovaném americkém National Cancer Institute (NCI) s ohledem na její účinky při léčbě tumorů. [1]

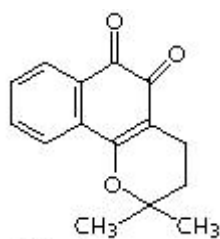
V roce 1975 vyvinula výzkumná skupina lapachol, který dokázal prodloužit délku života u myší, které byly naočkovány leukemickými buňkami. Ve studii z roku 1980 u devíti pacientů s různými druhy rakoviny (jater, ledvin, prsou, prostaty) výzkumný tým zaznamenal, že čistý lapachol vykazoval schopnost zmírnit pocit bolesti pacientů, zmenšit nádory a dokonce dokázal kompletní remisi u tří pacientů. [11]

Lapachol vykazuje jednoznačnou antivirovou aktivitu proti původci *Polia* typu I, proti *Herpes simplex* typu I a II i proti původcům chřipky. Lapachol navíc brání vzniku žaludečních vředů a vředů na dvanáctníku. V izolované formě a ve vysokých dávkách (denně 1500 mg a více) snižuje lapachol srážlivost krve. Podle Dr. J. B. Blocka z NCI, hlavního autora klinické studie o lapacholu, však ani při takto vysokých dávkách nebyla

zjištěna toxicita ve vztahu k játrům a ledvinám. Při výše uvedených dávkách byly prokázány zřetelné protinádorové účinky. [1]

3.2.2 β -lapachon

β -lapachon byl preklinicky testován na protinádorové a antivirové účinky. Ve studii z roku 1968 lapachony prokázaly významnou účinnost proti rakovinovým nádorům u krys. Následně v roce 1974 NCI zaznamenal, že u první fáze klinických zkoušek lapachony nedokázaly vykázat terapeutické účinky bez následných vedlejších účinků. [12]



β -lapachon

Mechanismus účinku β -lapachonu spočívá v přerušení replikace DNA. Inhibicí *topoizomerasy I* drží β -lapachon DNA těsně u sebe a nedochází tedy k syntéze bílkovinných molekul. Vzhledem k tomu, že rakovinné buňky rostou a reprodukují se mnohem rychleji než běžné somatické buňky, jsou mnohem vnímavější k inhibičnímu účinku β -lapachonu na *topoizomerasu I*. [10]

Studie z roku 2002 zkoumala vliv β -lapachonu na buňky lidského mnohonásobného myelomu (nádor z plazmatických buněk, nejčastěji v kostní dřeni). β -lapachon vykázal signifikantní cytotoxický účinek. [13]

Další studie z roku 2005 ukázala, že nádorové buňky jsou citlivější na působení β -lapachonu, pokud byly před jeho použitím ozářeny. Ozáření způsobilo dlouhotrvající vzestup aktivity *NAD(P)H:chinonoxidoreduktasy*, a citlivost nádorových buněk byla závislá na aktivitě sledovaného enzymu. Pokud byl nejdříve použit β -lapachon, a buňky byly ozářeny následně, nebyl účinek tak výrazný. Kombinace ozáření a následné léčby β -lapachonem byla mnohem účinnější. [14]

3.3 Xylodion

Vědci identifikovali v čaji lapacho důležitý antimykotický (houby ničící) faktor, kterému dali označení xylodion. Xylodion silně působí proti kvasince *Candida albicans*. Kromě toho vykazuje antibakteriální a antitoxické účinky. [1]

3.4 Saponiny

Saponiny se řadí mezi heteroglykosidy, které se vyskytují převážně v rostlinách. Množství a zastoupení závisí na druhu rostliny a klimatických podmínkách. Saponiny vykazují některé společné vlastnosti, např. hořkou chuť, detergenční účinky (tvoří emulze typu olej ve vodě), hemolytické účinky, reagují se žlučovými kyselinami, cholesterolem a jinými 3- β -hydroxysteroidy. [7]

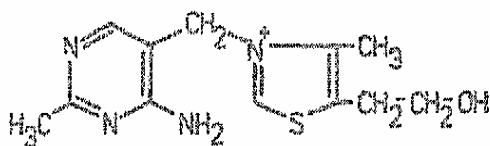
V čaji připraveném z kůry stromu lapacha jsou obsaženy saponiny, které působí proti patogenním houbám, zejména proti kvasinkám a plísním. Saponiny vytváří klima, které je může zničit. Navíc při trávení v tenkém střevě saponiny z lapacha napomáhají vstřebávání důležitých látek z jiných léčivých bylin a tím tak lapacho zesiluje působnost jiných prostředků podporujících zdraví. Kromě toho jsou saponiny obsažené v lapachu schopny redukovat růst nádorů. Tuto skutečnost objevili japonští vědci, kteří si následovně dali patentovat speciální lapachové saponiny jako lék proti nádorovým onemocněním. [1]

3.5 Vitaminy

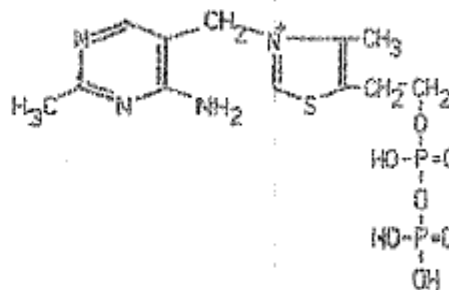
Vitaminy jsou organické nízkomolekulární sloučeniny syntetizované autotrofními organismy. Heterotrofní organismy je syntetizují jen v omezené míře a získávají je jako exogenní látky především potravou, některé z nich prostřednictvím střevní mikroflóry. Nejsou zdrojem energie, ani stavebním materiálem, ale mají funkci jako součást katalyzátorů biochemických reakcí a proto bývají označovány jako exogenní esenciální biokatalyzátory. [15]

3.5.1 Vitamin B₁ (thiamin)

V roce 1926 byl laboratorně izolován vitamin B₁ a o něco později začaly pokusy na osobách postižených onemocněním beri-beri. [5]



thiamin



thiamindifosfát

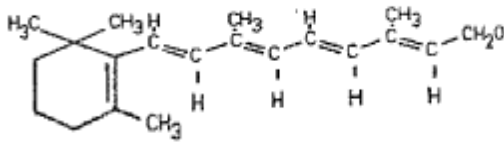
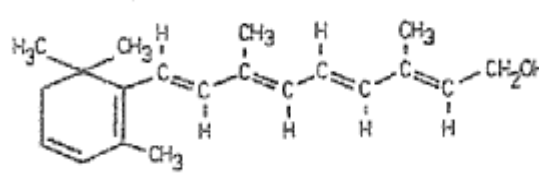
Thiamin se vyskytuje především jako volná látka a ve formě fosforečných esterů. Biochemicky účinnou formou je thiamindifosfát (TDP), vznikající z thiaminu účinkem enzymu *thiaminokinasy* v různých orgánech. TDP je kofaktorem řady enzymů *dekarboxylas*, katalyzujících jak oxidační tak neoxidační dekarboxylaci α -ketokyselin. Je koenzymem *pyruvátdehydrogenasy* v metabolismu sacharidů a *α -ketoglutarátdehydrogenasy* v citrátovém cyklu. Druhá aktivní forma thiamintrifosfát (TTP) působí v nervech a pravděpodobně i ve svalech. [8]

Thiamin podporuje tvorbu acetylcholinu, látky, která je nezbytná pro paměť, úroveň pozornosti a chápání. Projevem nedostatku je neschopnost koncentrace, nejistota, nedostatek iniciativy. Mnohé pokusy potvrzují, že tento vitamin podporuje paměť i u nemocných s Alzheimerovou chorobou. [5]

Nejvýznamnějším zdrojem thiaminu jsou cereálie, maso a masné výrobky, mléko a mléčné výrobky, vejce, ale také pivovarské kvasnice. Ve stopovém množství byl při chemickém rozboru thiamin stanoven i v prášku lapachové kůry. Současná doporučená výživová dávka thiaminu pro průměrného obyvatele ČR činí $1,1 \text{ mg} \cdot \text{den}^{-1}$. [8, 15]

3.5.2 Vitamin A (retinol)

Retinol je po chemické stránce alkohol obsahující ve své molekule šestičlenný β -jononový kruh s bočním řetězcem složeným ze dvou isoprenoidních jednotek. Podle počtu dvojných vazeb rozlišujeme vitaminy A_1 (all-*trans*-retinol) a A_2 (3-dehydroretinol). [8]

vitamin A₁vitamin A₂

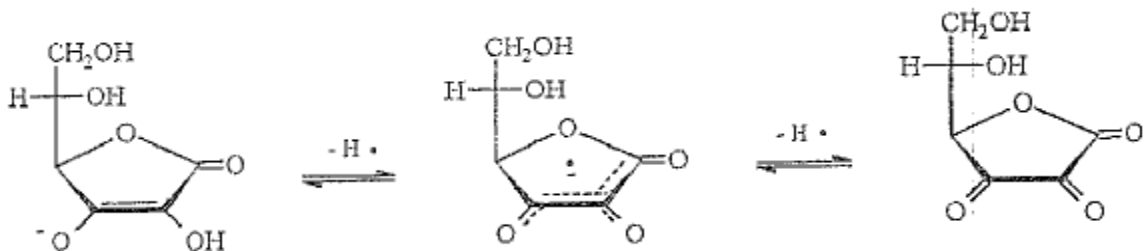
Retinol zasahuje v živočišných organismech do látkové přeměny na několika různých místech. Uplatňuje se především v biochemii zrakového vjemu. Retinol se významně podílí na fotoreceptci v oční sítnici, a proto má nezastupitelnou roli v procesu vidění. Aktivní formou vitamínu A je i oxidací vznikající aldehyd 11-*cis*-retinal. Ten je součástí fotorecepčního pigmentu tyčinek oční sítnice – rhodopsinu. Bílkovinou část tohoto chromoproteinu tvoří proteiny nazývané opsiny. [8, 15]

Potřeba vitamínu je kryta asi z 50 % provitaminy z potravin rostlinného původu. Další potřeba vitamínu je kryta retinoidy zeleniny, dále retinolem a retinoidy masa, mléka, ovoce, tuků a vajec. Retinol byl také stanoven v kůře stromu *Tecoma lapacho*, a to v množství $1,3 \cdot 10^{-6} \mu\text{g} \cdot \text{mg}^{-1}$. [1, 15]

Ženy, obzvláště v počátečním stadiu těhotenství, by neměly přijímat více vitamínu A jak $3000 \mu\text{g} \cdot \text{den}^{-1}$. Výživová doporučená dávka pro dospělého člověka činí kolem $900 \mu\text{g} \cdot \text{den}^{-1}$, pro děti kolem $400 \mu\text{g} \cdot \text{den}^{-1}$. [8]

3.5.3 Vitamin C (kyselina L-askorbová)

Kyselina L-askorbová je γ -laktón hexonové kyseliny s endiolovou strukturou na druhém a třetím uhlíku. Lze ji odvodit od několika různých hexos.



kys. L-askorbová

L-askorbylradikál

kys. L-dehydroaskorbová

Vitamin C je velmi dobře rozpustný ve vodě, v neutrálním, kyselém a alkalickém prostředí za katalytických účinků těžkých kovů (Cu, Fe) snadno podléhá oxidaci za vzniku kyseliny L-dehydroaskorbové. Tuto oxidaci katalyzují různé enzymy jako jsou *peroxidasa*, *askorbasa* nebo *cytochromoxidasa*. Přenos elektronů je reverzibilní, dokud není porušena kruhová struktura kyseliny L-dehydroaskorbové. Pokud dojde k jejímu hydrolytickému rozštěpení, vzniká kyselina 2,3-dioxo-L-gulonová a aktivita vitaminu C zaniká. [8]

Vitamin C je vitaminem pouze pro člověka a několik dalších živočichů (primáti, morčata a netopýři). Podílí se především na významných hydroxylačních reakcích probíhajících v organismu. Vitamin C se účastní biosyntézy mukopolysacharidů, absorpce železa, jeho transportu, stimuluje transport sodných, chloridových iontů a zřejmě i vápenatých iontů, uplatňuje se v metabolismu cholesterolu. Velmi důležitými reakcemi souvisejícími s antioxidačními vlastnostmi vitaminu jsou reakce s aktivními formami kyslíku, resp. s volnými radikály. Studie, kterou provedli vědci na University of Yale v USA za spolupráce s Národním ústavem pro výzkum rakoviny a její výsledky zveřejnili roku 2001, prokázala, že pravidelná konzumace vitaminu C je dostačující jako účinná prevence vzniku rakoviny žaludku. [15, 16]

Nejvíce vitaminu C se nachází v černém rybízu, kiwi, zelené paprice, kopru, šípčích a citrusových plodech. Dnes je doporučený denní příjem vitaminu C pro muže i ženy v produktivním věku 75 mg. Požadavek se zvyšuje při extrémní tělesné zátěži, trvalém psychickém stresu apod. [8]

3.6 Minerální látky a stopové prvky

Minerální látky, včetně stopových prvků, jsou integrujícími složkami všech živých organismů. Prvky, jejichž biologická funkce je prokázána, se zpravidla označují jako prvky biogenní. Jako stopový se označuje takový prvek, jehož celkové množství v daném substrátu nepřesahuje $50 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$, avšak někteří autoři volí hranici vyšší. Esenciální stopové prvky jsou zpravidla součástí biochemicky účinných látek, které jsou nezbytné pro normální činnost buněk nebo jsou i aktivátory těchto účinných látek. Organismus získává esenciální stopové prvky výživou, tj. exogenně. [17]

Minerálními látkami potravin rozumíme prvky obsažené v popelu potravin nebo přesněji prvky, které zůstávají ve vzorku potravin po úplné oxidaci organického podílu na oxid uhličitý, vodu aj. Minerální podíl tvoří u většiny potravin 0,5-3 hmot.%. [15]

Obsah minerálií a stopových prvků se může v různých potravinách značně lišit. Vyskytují se ve formě anorganických a organických solí a jen v menší míře jsou součástí některých komplexů. [17]

3.6.1 Význam minerálních látek a stopových prvků obsažených v lapachu

Sodné ionty jsou důležité k udržení osmotického tlaku v extracelulárních tekutinách.

Draslík je lokalizován převážně v buňkách, a to ve formě draselných iontů. Draselné ionty se podílejí na transportním systému, při kterém transport sodných iontů z buněk směrem ven je spjat s transportem draselných iontů směrem dovnitř. [17]

V lidském těle je uloženo asi 99 % veškerého vápníku v kostech a zubech ve formě fosforečnanu vápenatého. Vápník je nezbytnou stavební a funkční součástí buněčných membrán. V ionizované formě je nezbytný pro srážení krve a pro kontrakci svalů, včetně svalu srdečního. [17, 18, 19]

Fosfor je po vápníku druhým nejčastěji zastoupeným minerálem v těle. U dospělého člověka dosahuje asi 1 % tělesné váhy. Asi 85 % fosforu je koncentrováno v kostech a zubech, zbytek je v krvi a dalších tkáních. Je přítomný v každé buňce těla a podílí se na většině biologických reakcí. [5]

Železo je v živočišných organismech přítomno jako součást důležitých oxidoredukčních pigmentů a enzymů. Jsou to zejména hemové bílkoviny, hemoglobin, myoglobin, *cytochromoxidasa*, *peroxidasa*, *katalasa* apod. [17]

Mangan se vyskytuje jako součást nebo aktivátor řady důležitých enzymů, enzymů zapojených do oxidativní fosforylace a do syntézy mastných kyselin, cholesterolu apod. [17]

Kobalt je součástí vitamínu B₁₂ (kobalaminu). Napomáhá vstřebávání železa, je aktivátorem některých enzymů, podporuje procesy tvorby krve a napomáhá regeneraci organismu po onemocněních. [5]

Selen je významným antioxidantem, který chrání organismus nejen proti volným radikálům, ale i proti škodlivému záření a virové a bakteriální infekci. Selen může do jisté míry zastoupit vitamin E, je pravděpodobně inhibítozem autooxidace lipidů v organismu. Má důležitou úlohu ochranného faktoru jater. [5, 17]

Tab. 1: Obsah minerálií a stopových prvků v kůře lapacha [1]

Účinná látka	Množství [$\mu\text{g}\cdot\text{mg}^{-1}$]	Účinná látka	Množství [$\mu\text{g}\cdot\text{mg}^{-1}$]
sodík, Na	0,084	železo, Fe	5,000
draslík, K	0,120	mangan, Mn	0,810
vápník, Ca	83,000	kobalt, Co	0,009
fosfor, P	0,006	selen, Se	Stopové

4 VLIV *TECOME LAPACHO* NA PROKARYOTICKÉ A EUKARYOTICKÉ ORGANISMY

Chemickým komponentům a biologicky aktivním látkám rostliny *Tecome lapacho*, které jsou velice dobře dokumentovány, jsou připisovány rozličné účinky. Jasně se prokázalo časté medicínální využití u velkého počtu nemocí způsobených mikroorganismy. V červeném pletivu (kambiu) stromu lapacho jsou vázána velká množství molekul kyslíku ve zvlášť hodnotné formě, pro lidský organismus snadno využitelné. Kyslík v této formě může velmi efektivně napomáhat hubení bakterií, virů, plísní a parazitů. Tělesné buňky jsou kyslíkem lépe vyživovány a povlaky, které brání látkové výměně, se uvolňují od cévních stěn. Současně se podstatně zlepšuje vitalita a flexibilita těchto důležitých cév. Mnichovský badatel Bernard Kreher napsal dizertační práci o působení lapacha na imunitní systém. Došel k vysoce zajímavým výsledkům. Zjistil, že aktivita tělesného obranného systému se posílila o více než 48 %. [1]

Přestože je tento strom znám pro své mnohostranné léčivé účinky, neexistuje ještě žádný srovnávací farmakologický výzkum účinků látek z kůry lapacha při různých formách jeho výskytu, takže dodnes není přesně známo, zda mají všechny odrůdy stejné nebo podobné léčivé účinky.

Vědecké výzkumy a zkušenosti mnohých lékařů znalých přírodní medicíny ukázaly, že čajový odvar z lapacha vykazuje antibakteriální, antivirové, antimykotické, antiparazitické, antitoxické a protizánětlivé účinky. [12, 20]

5 ANTIBAKTERIÁLNÍ VLASTNOSTI LAPACHA

Zástupce bakterií řadíme do nadříše Prvojaderní (*Prokaryota*), říše Prvobuněční (*Protozellulata*) a oddělení Bakterie (*Bacteria*). [21]

Bakterie jsou jednobuněčné prokaryotické organismy, které nemají jádro oddělené membránou, jedinou membránou uvnitř buňky je cytoplazmatická membrána. [22]

Bakterie se od sebe liší morfologickými znaky, barvitelností, pohyblivostí, kultivačními nároky, biochemickými a fyzikálními vlastnostmi atd. Tvar buněk bakterií je nejčastěji tyčinkovitý (bakterie mohou být rovné, zakřivené – vibria, lehce zakřivené, lehce zvlňené – spirily, šroubovicovitého tvaru – spirochety) nebo mají tvar kulovitý (koky, diplokoky, streptokoky, stafylokoky, sarciny). Významnou strukturou je bakteriální stěna tvořená peptidoglykanem, jejíž stavba a barvitelnost Gramovou metodou umožňuje rozdělení bakterií na Gram-pozitivní a Gram-negativní. Gram-pozitivní bakterie mají buněčnou stěnu tvořenou peptidoglykanem s teikoovými kyselinami, je silná a barví se anilínovými barvivy (krystalová violet) fialově. Gram-negativní bakterie mají nad vrstvou peptidoglykanu ještě biomembránu z lipopolysacharidů a proteinů, buněčná stěna je tenká a barví se anilínovými barvivy červeně. Povrchové struktury bakterií jsou nositeli významných adhesivních, toxických, antigenních a jiných biologických účinků a účastní se tvorby biofilmů. [22, 23, 24]

Antibakteriální vlastnosti čaje lapacha byly klinicky ověřeny a vykazují silné účinky u Gram-pozitivních bakterií, u kterých je v současné době celosvětově pozorován vzestup rezistence k antimikrobním přípravkům. [20, 25]

Studie z roku 2006 zkoumala antibakteriální aktivitu látek izolovaných z kůry vůči *Helicobacter pylori*. Účinek byl srovnáván se standardními léčivy – amoxicilinem, metronidazolem a tetracyklinem. Spektroskopickou analýzou byly určeny izolované látky - 2-(hydroxymethyl)anthrachinon, anthrachinon-2-karboxylová kyselina a 2-hydroxy-3-(3-methyl-2-butenyl)-1,4-naftochinon (lapachol). [26]

Další studie zkoumala antibakteriální aktivitu β -lapachonu, 3-hydroxy- β -N-lapachonu a α -lapachonu na methicilin resistantní *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis* a *Staphylococcus haemolyticus*. Antibakteriální aktivita byla prokázána, nebyl ale pozorován baktericidní účinek. [27]

Tecoma lapacho snižuje množení bakterií typu *Bacillus*, *Brucella*, *Escherichia*, *Shigella*, *Staphylococcus* a *Streptococcus*. [20]

5.1 Rod *Bacillus*

Do rodu *Bacillus* patří poměrně značný počet druhů. Do jejich příbuzenstva z řádu *Bacillales* patří řada dalších medicínsky významných bakterií, např. stafylokoky a listerie, do širšího příbuzenstva z třídy *Bacilli* pak např. laktobacily, streptokoky a enterokoky. [22]

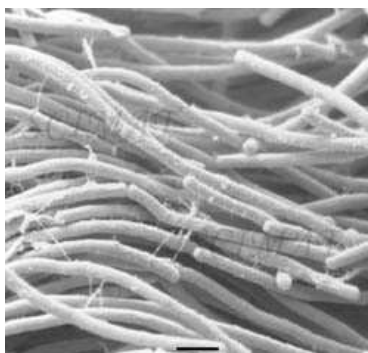
Bacily jsou aerobní nebo fakultativně anaerobní Gram-pozitivní sporulující tyčinky. Jsou poměrně velké, o délce až 10 μm a průměru kolem 1 μm , často mají na jednom konci buňky svazek peritrichálních bičků. Charakteristická je pro ně tvorba endospór. Bacily jsou růstově nenáročné, rostou dobře na běžných kultivačních médiích. Vyskytují se v přírodě, půdě, prachu, vodě, některé ve zvířatech, rostlinách a hmyzu. Kontaminace z okolního prostředí je také velmi častá, např. v potravinářském průmyslu nebo i v mikrobiologických laboratořích. [22]

Prominentním lidským patogenem rodu *Bacillus* je *Bacillus anthracis*, významným patogenem je též *Bacillus cereus*. Jen příležitostně mohou lidská onemocnění vyvolávat i *Bacillus alvei*, *Bacillus coagulans*, *Bacillus subtilis* a další. Některé jsou využívány jako producenti antibiotik, např. *Bacillus polymyxa* produkující polymyxin, některé bacily produkují enzymy, které se využívají v potravinářském průmyslu (např. *amylasy*) nebo při výrobě pracích prostředků (*proteasy*). Bacily, produkující *proteasy* patří mezi proteolytické bakterie, které mají v přírodě význam v koloběhu dusíku. [22, 28]

Bacillus anthracis je původcem onemocnění zvaného antrax, česky sněť slezinná. Jsou jím za podobných příznaků postihováni nejen lidé, ale i zvířata, hlavně býložravci (ovce, krávy apod.). Charakter a průběh onemocnění je určen především bránou vstupu do organismu, podle kterého se rozvine buď kožní, plicní nebo gastrointestinální forma. [22]

Bacillus cereus má morfologické a růstové vlastnosti podobné jako *Bacillus anthracis*, na rozdíl od něj však *Bacillus cereus* netvoří pouzdro a roste ve velkých plstnatých koloniích na krevním agaru, obklopených zónou úplné hemolýzy. Disponuje řadou toxinů a faktorů virulence: produkuje *fosfolipasu*, hemolysiny a enterotoxiny. Podobně jako řada dalších bacilů se i *Bacillus cereus* běžně vyskytuje v okolním prostředí, v půdě, prachu, vzduchu a vodě a je též častou součástí fyziologické střevní mikroflóry, kde

i přes své výše uvedené možnosti vyvolává onemocnění jen za určitých podmínek. Nejčastějším onemocněním vyvolaným *Bacillus cereus* jsou otravy z potravin. Proto je nutné, aby potravina určená po dokonalém prohřátí ke skladování, byla rychle zchlazena a uložena do ledničky (spóry totiž přežívají i var). Ke vzniku otravy z potravin je třeba požit značné množství bakterií (infekční dávka se uvádí kolem 10^7 CFU.g⁻¹ pro dospělé a 10^5 CFU.g⁻¹ pro děti). Onemocnění pak probíhá jako enterotoxikóza. Podle toho, který z enterotoxinů se uplatní, probíhá buď jako syndrom zvracení, který má inkubační dobu 1-5 hodin, nebo jako průjmový syndrom, který má inkubační dobu 8-16 hodin a projevuje se vodnatým průjmem a bolestmi břicha. Zdrojem infekce bývají obvykle potraviny, které byly po uvaření delší dobu skladovány a přežívající spóry bacilů v nich vyklíčily, pomnožily se a vyprodukovaly enterotoxiny. Tyto enterotoxikózy trvají kolem 24 hodin. Otravy z potravin obvykle odezní bez terapie, vhodná je hydratace pacienta. V případě systémových infekcí je nutná antibiotická terapie. Prevencí enterotoxikóz je pouze náležité zacházení s potravinami. Potraviny musí být důkladně povařeny, nesmí se kontaminovat smísením s potravinami nevařenými nebo použitím znečištěného nádobí a pokud nejsou potraviny konzumovány ihned, musejí být uchovávány v chladu, alespoň při 4°C. [22, 29]



Obr. 3: *Bacillus cereus* [30]

5.2 Rod *Escherichia*

Rod *Escherichia*, který řadíme do čeledi *Enterobacteriaceae* zahrnuje 7 druhů, z nichž významný je hlavně druh *Escherichia coli*, výjimečně též *Escherichia fergusonii*, *Escherichia hermanii* a *Escherichia vulneris*. [22]

Rod *Escherichia* je typovým rodem čeledi *Enterobacteriaceae*. *Enterobacteriaceae* jsou nesporolující Gram-negativní tyčinky, 2-3 μm dlouhé a asi 1 μm silné, někdy se vyskytují i v téměř kulovité kokobacilární nebo naopak vláknité formě. Jejich mikroskopická

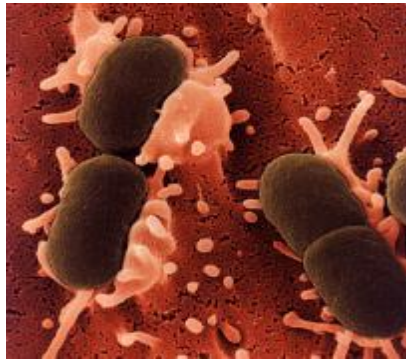
morfologie je v rámci celé čeledi uniformní, málo charakteristická a neumožňuje jejich rozlišení. Až na výjimky (*Klebsiella*, *Shigella*, *Salmonella*) jsou pohyblivé pomocí peritrichálních bičků. Na povrchu nesou četné fimbrie, které jsou významné jako faktory virulence umožňující adhesi. Jsou fakultativně anaerobní, tj. schopné růstu za přítomnosti kyslíku i v anaerobním prostředí, kdy z cukrů tvoří fermentativním metabolismem kyseliny, někdy i plyn. Mají *katalasu*, nemají *oxidasu*. [22, 31]

Enterobakterie dobře rostou na běžných kultivačních médiích při teplotě 37°C, druhy vázané na jiné organismy než na člověka nebo druhy vázané na okolní prostředí pak rostou i při nižších teplotách. Na selektivně diagnostických půdách mohou být částečně rozlišeny, např. podle schopnosti zkvašovat laktosu (půdy Endova a McConkey), nebo podle odolnosti proti žlučovým solím (Deoxycholátcitrátový agar). [22]

Enterobakterie jsou hojně rozšířeny v přírodě, v okolním prostředí (např. *Klebsiella* nebo *Serratia*), kde je jejich přežívání umožněno jejich odolností proti změnám teploty a částečně i vyschnutí. Dále se vyskytují ve vodě, v rostlinách a ve zvířatech, pro které mohou být patogenní. Některé lékařsky významné druhy pravidelně osídlují lidské střevo, a to hlavně rody *Escherichia*, *Klebsiella*, *Enterobacter*, *Serratia*, *Citrobacter* a *Proteus*, které bývají (s výjimkou *Proteus*) pro své příbuzné vlastnosti shrnovány pod názvem koliformní bakterie. [22]

Escherichia coli je modelovým organismem pro nejrůznější pokusy v mikrobiologii, často se používá v různých biotechnologických procesech, genetických manipulacích apod. Je pravidelnou a nezbytnou součástí střevní mikroflóry lidí a teplokrevných živočichů. Ve střevní mikroflóře se její symbiotický účinek projevuje produkcí vitamínu K, jakož i potlačováním případného osídlení střevními patogeny. [22]

Extraintestinálně je *E. coli* významný patogen. Kmeny *E. coli*, obsahující enterotoxiny, popř. jiné faktory virulence, včetně invazivních a kolonizačních faktorů, způsobují průjemová onemocnění. *E. coli* je také hlavní příčinou infekcí močového ústrojí, infekcí ran a sepsí. Také má prvořadý význam při hygienickém posuzování vody a potravin. Slouží jako indikátor fekálního znečištění a případného výskytu střevních patogenů. [31]

Obr. 4: *Escherichia coli* [32]

5.3 Rod *Shigella*

Taxonomicky patří rod *Shigella* do čeledi *Enterobacteriaceae*, je blízkce příbuzný rodu *Escherichia*, od něhož je odlišitelný hybridizací DNA. Podobné jsou rovněž jejich biochemické vlastnosti, z nichž mají diferenciální význam hlavně testy na pohyblivost, produkci plynu z glukosy, zkvašování laktosy, xylosy a přítomnost *b-galaktosidasy*, které jsou u shigell negativní. Od escherichií se shigelly liší hlavně svou patogenitou i antigenní strukturou, takže mohou být dobře odlišeny sérologicky. Tyto rozdíly ovšem neplatí pro enteroinvazivní *Escherichia coli*, které se shigellám podobají biochemicky, vyvolávají rovněž průjemová onemocnění a mají podobnou antigenní strukturu. Rod *Shigella* zahrnuje čtyři druhy, které jsou totožné s antigenními skupinami: *Shigella dysenteriae*, *Shigella flexneri*, *Shigella boydii*, *Shigella sonnei*. Biochemicky se tyto druhy liší prakticky různou schopností zkvašovat mannitol, *Shigella sonnei* může opožděně zkvašovat laktosu, má pozitivní *b-galaktosidasu* a *ornitindekarboxylasu*. [22]

Shigelly jsou Gram-negativní, nepohyblivé, fakultativně anaerobní, nesporulující tyčinky. Jejich hostitelem je prakticky pouze člověk a primáti, v kontaminovaném prostředí včetně potravin přežívají poměrně špatně, lépe se udržují v kontaminované vodě. [22]

Izolace shigell z potravin se pokládá za obtížnou, neboť růst shigell je inhibován doprovodnou mikroflórou, zejména koliformními bakteriemi a bakteriemi rodu *Proteus*. [33]

Shigelly jsou na rozdíl od salmonel výhradně lidskými patogeny, přenáší se přímým kontaktem nebo předměty. Shigelly jsou původci průjemového onemocnění zvaného bacilární dysentérie, úplavice nebo shigelóza. Je to vysoce nakažlivé onemocnění, jehož

původcem je nejčastěji *Shigella dysenteriae* a *Shigella flexneri*. Jde o typickou „nemoc špinavých rukou“. Shigelly jsou velmi dobře adaptovány na množení ve střevním epitelu a vybaveny několika faktory virulence. Významným toxinem je tzv. Shiga toxin, uvolňovaný z lyzovaných buněk *Shigella dysenteriae* sérovar 1, který působí jako enterotoxin (na kličce králíčího střeva), jako neurotoxin (na myších) a jako cytotoxin (někdy nazýván verotoxin). V epitelu tlustého střeva se shigelly množí za vzniku vředů a nekrotizace a uvolňování hlenu, hnisu a krve do stolice, jen vzácně mohou pronikat do hlubších struktur nebo až do krevního oběhu. [22, 24, 29]

Přenos shigelózy je v našich podmínkách prakticky výhradně fekálně-orální, znečištěnými rukama nebo přímým kontaktem. Infekční dávka udávaná pro shigelly je velmi nízká (10^1 - 10^2 buněk), proto potravina kontaminovaná již nízkým počtem těchto bakterií může vyvolat onemocnění. Malé epidemie se vyskytují v zařízeních s velkou koncentrací osob a nedostatečnou zdravotnickou kontrolou. Statisticky je u nás výskyt shigellóz menší než výskyt salmonelóz, přestože infekční dávka je u shigell daleko menší než u salmonel. Onemocnění vyvolávají nejčastěji druhy *Shigella dysenteriae* a *Shigella flexneri*, které jsou také nejvíce virulentní. Po inkubační době několika hodin až dní probíhá vlastní onemocnění (průjmy, někdy horečky apod.). Nebezpečí dehydratace však není tak závažné jako u salmonelóz. [22]



Obr. 5: *Shigella flexneri* [34]

5.4 Rod *Staphylococcus*

K roku 2005 uvádí List of Bacterial Names celkem 40 druhů stafylokoků s 24 poddruhy. Státní zdravotní ústav pak celkem 49 druhů a poddruhů. Rod *Staphylococcus* je jedním z pěti rodů čeledi *Staphylococcaceae*. Ta je řazena k řádu *Bacillaceae*, kam též patří např. rody *Bacillus* a *Listeria*.

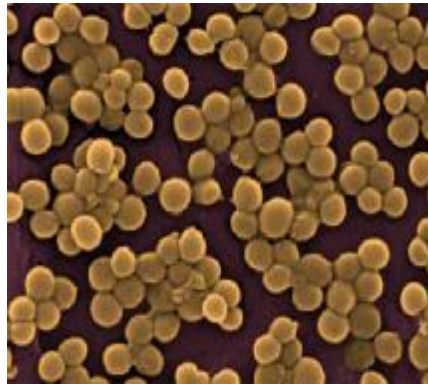
Stafylokoky jsou nesporulující, nepohyblivé, většinou neopouzřené Gram-pozitivní koky o průměru cca 1 μm , tvořící obvykle hroznovité shluky. Až na striktně anaerobní druhy *Staphylococcus aureus* subsp. *anaerobius* a *Staphylococcus saccharolyticus* jsou fakultativně anaerobní a mají pozitivní *katalasu*, tj. rozkládají peroxid vodíku na vodu a kyslík. Jsou poměrně růstově nenáročné, dobře rostou např. na živném a krevním agaru, kde tvoří hladké okrouhlé kolonie, které jsou u většiny druhů bílé, u některých zbarvené karotenoidními pigmenty žlutě až žlutohnědě, u některých druhů vykazují hemolýzu. V zevním prostředí poměrně dobře přežívají, zvláště za přítomnosti bílkovin odolávají suchu, záhřevu až na 55°C. Tolerují poměrně vysoké koncentrace solí až do obsahu 10 % NaCl. [22]

Uvnitř souboru stafylokoků je význačným diferenačním znakem produkce enzymu *plasmakoagulasy*, podle níž se stafylokoky dělí na *koagulasa-negativní* a *koagulasa-pozitivní*. *Koagulasa-negativní* stafylokoky, zejména *Staphylococcus epidermidis*, jsou běžnou součástí fyziologické flóry lidského těla. Vyskytují se hlavně na kůži a v horních cestách dýchacích. Mezi *koagulasa-pozitivní* stafylokoky patří např. *Staphylococcus aureus* a *Staphylococcus intermedius*, pro které je přirozeným hostitelem člověk. [22]

Stafylokoky jsou značně odolné vůči faktorům vnějšího prostředí. Produkují toxiny bílkovinné povahy, které napomáhají jejich průniku a rozmnožování ve tkáních hostitele. [24]

Vážným problémem je přítomnost *Staphylococcus aureus* v lahůdkářských výrobcích, zejména v těch, které obsahují vejce nebo majonézu. Výskyt této bakterie je nebezpečný taktéž v sýrech balkánského typu, které jsou uchovávány ve slaném nálevu. Může zde dlouhodobě přežívat. Pro člověka a prakticky pro všechny teplokrevné živočichy je patogenní. Běžně je nazývaný jako zlatý stafylokok. Přestože se poměrně často vyskytuje na kůži a sliznicích zdravých osob, je vybaven bohatým sortimentem faktorů virulence

povahy antigenů, povrchových složek, extracelulárních enzymů (*plasmakoagulasy*, *stafylokinasy*), toxinů (hemolysiny, toxin syndromu toxického šoku, enterotoxiny) a příležitostně vyvolává řadu závažných endogenních i exogenních onemocnění. Lidský organismus je však vůči stafylokokové infekci poměrně značně odolný. K onemocnění dochází zpravidla při oslabení organismu nebo při infekci velkou dávkou virulentního kmene. Jako příležitostné lidské patogeny se uplatňují *Staphylococcus epidermidis*, *Staphylococcus haemolyticus*, *Staphylococcus hominis*, *Staphylococcus saprophyticus*, *Staphylococcus sciuri*, *Staphylococcus warneri*. Kmeny stafylokoků permanentně kontaminují v nemocnicích velké množství pomůcek, přístrojů, různých materiálů a povrchů. [22, 25, 35, 36]



Obr. 6: *Staphylococcus aureus* [37]

6 ANTIMYKOTICKÉ VLASTNOSTI LAPACHA

Mikroskopické houby se staly neoddelitelnou součástí životního a pracovního prostředí člověka. Jsou využívány k produkci nejrůznějších typů a druhů potravin (mléčné výrobky, alkoholické nápoje, droždí aj.) a organických látek (enzymy, kyseliny, vitaminy a další růstové látky), včetně antibiotik. Některé kvasinky se mohou vyskytovat jako nežádoucí kontaminanty některých průmyslových výrob, zejména kvasinky, které velmi dobře rostou v prostředí se zvýšeným obsahem cukrů a solí (zástupci rodu *Zygosaccharomyces*). V neposlední řadě se jedná o nepříjemné zdravotní dopady na člověka, ať už formou infekčních onemocnění, alergií nebo otrav. Dříve jimi byli postiženi hlavně pracovníci v zemědělství, kde se alergie dýchacích cest projevovala jako tzv. farmářská plíce nebo jako senné rýmy. Dnes se toto onemocnění vyskytuje hojně i ve městech. Příčinou jsou spóry rodů *Cladosporium*, *Penicillium*, *Aspergillus*, *Botrytis* atd. Jsou přítomny ve venkovním prostředí, ale také v bytech a pracovnách, kde se udržuje vlhko a nacházejí se zbytky polorozložených organických látek. Nebezpečné je také znehodnocení potravin mykotoxiny. [38, 23, 39]

Mikroskopické houby dělíme z praktického hlediska na vláknité mikromycety (mikroskopické vláknité houby, plísňe), kvasinky a kvasinkové mikroorganismy. [38]

Mikromycety jsou vícebuněčné nebo jednobuněčné (kvasinky) eukaryotní organismy s heterotrofní výživou (jsou závislé na organickém substrátu). Živiny získávají absorpcí z okolního prostředí. Mikromycety jsou v převážné většině saprofytické organismy, které plní v ekosystémech nenahraditelnou roli destruentů a podílí se tak významně na koloběhu látek a energie v přírodě. Jen nepatrná část hub se přizpůsobila k parazitizmu jiných organismů, včetně člověka. [38]

V případě mnoha patogenních hub hrají spóry rovněž významnou úlohu v patogenezi mykotických onemocnění jako jsou mykózy, mykotoxikózy, mykoalergie. Mykózy dělíme podle postiženého orgánu na houbová onemocnění kůže (dermatofyty, případně dermatomykózy) a na kvasinkové houby a plísňe. [40, 38]

V životním a pracovním prostředí člověka jsou mikromycety přítomny v ovzduší, půdě, vodě, na povrchu živých a odumřelých organismů, v krmivu, v potravinových surovinách rostlinného původu a potravinách. [38]

Čaj lapacho je velmi účinný proti některým druhům hub, které mohou lidskému tělu působit velké nepříjemnosti. Normalizuje látkovou přeměnu cukru, posiluje játra, ledviny a slezinu a celkově působí na obranný systém tak, že produkuje imunitní buňky, které útočí na houbové spóry. V Jižní Americe se velmi úspěšně používá proti kvasinkovému onemocnění tzv. kandydóze (onemocnění kůže, sliznic, nehtů a vnitřních orgánů) způsobenému kvasinkou *Candida albicans*. [1, 41]

6.1 Rod *Candida*

Candida je kvasinka, vřeckovýtrusá houba z čeledi *Cryptococcaceae*. Z mnoha kvasinek, existuje jich několik set, je patogenních pouze několik. Existuje asi 200 druhů candid, z nichž je *Candida albicans* nejčastější, s výskytem 90 %. [42]

Kvasinky rodu *candida* se vyznačují rozmanitými tvary buněk (oválný, elipsoidní, cylindrický, trojhranný až protáhlý tvar). Tvoří pseudomycelium s blastosporami. Jejich kolonie jsou kulaté, hvězdicovitého tvaru, barvy bílé nebo krémové, hladké, vypouklé, mazlavé konzistence a kvasné vůně. Oxidují organické kyseliny, rozkládají bílkoviny a tuky. Živí se na úkor jiných organismů. [36, 42, 43]

Kvasinky *Candida albicans* jsou součástí běžné mikroflóry zdravých lidí, vyskytují se tedy přirozeně. Nazývají se obligátními symbionty. V normální koncentraci jsou pro hostitele dokonce nezbytné, protože se částečně živí odumřelými a odpadními látkami (zastávají čistící funkci) a také vytvářejí pro hostitelský organismus užitečné trávicí enzymy. Kvasinky *Candida albicans* potřebují vlhké prostředí, a tak se vyskytují převážně na sliznicích jako jsou ústa, žaludek, střeva nebo vagína. [42, 44]

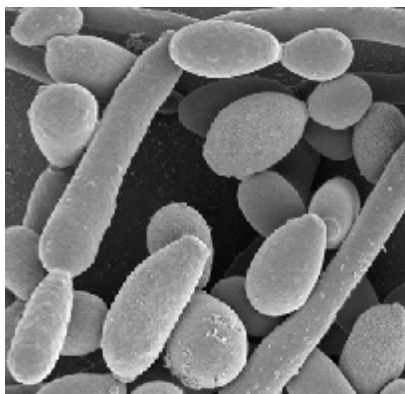
Patogenními mikroorganismy se stávají až od určité koncentrace, tedy tehdy, když se začnou nekontrolovaně množit a kvasinková forma se změní v invazivní formu plísňovou, která může vyvolávat nejrůznější fyziologické stavy a příznaky. Dochází tak k porušení fyziologické rovnováhy. V míře, v jaké je narušena rovnovážná hodnota pH a stoupá bazicita ve střevě a kyselost v krvi, stoupá patogenita, a houba přestává žít v symbióze. Velmi důležitou vlastností je schopnost adheze, tedy možnost houby se pevně uchytit na povrchu sliznice. [42]

Výživou pro *Candida albicans* je koncentrovaný cukr, výrobky z denaturované mouky, šťávy se sklonem ke kvašení, ovoce, pivo a alkohol. Na sliznici vytvářejí kolonie a poté

rychle pronikají hlouběji do tkáně; přitom vytvářejí enzym štěpící bílkoviny, který narušuje povrch sliznice a usnadňuje tak houbám pronikání dovnitř. Houba se zde rozmnožuje pouze lokálně. Postižen je pouze určitý orgán nebo systém orgánů. Od určité koncentrace však překonává hranici orgánů, přenáší se krevním oběhem do jiných orgánů (plíce a ledviny jsou hlavními sekundárními orgány) a mykóza se generalizuje. Tato kvasinka vylučuje velká množství toxických látek jako kyseliny, alkoholy a toxiny, které silně zatěžují játra, což může postupem času vést k různým chronickým nemocem.

Mezi nejvýznamnější faktory napomáhající mykózám patří podstatně snížená odolnost a narušená buněčná imunita. Z potravin jsou to cukr a veškeré koncentrované sladkosti, příliš mnoho obilných výrobků, živočišných bílkovin a odklon od přirozeného pěstování rostlin. Dále užívání antikoncepčních prostředků, stálé rostoucí nasazování kortikoidů a antibiotik. [40, 41, 42]

Candida albicans může být příčinou únavy až vyčerpanosti, deprese, bolesti svalů a kloubů, kožních vyrážek, ale především vaginálních výtoků. V extrémních případech může zachvátit vnitřní orgány a vést ke smrti. Kandidózy vnitřních orgánů vznikají především u oslabených jedinců, u těhotných žen a novorozenců. V Německu je počet letálních případů zhruba 7000 ročně. [42, 45]



Obr. 7: *Candida albicans* [46]

Čaj lapacho je sice neúčinný při přímém použití proti kvasinkám, jak jednoznačně dokládají mnohé laboratorní pokusy, avšak nepřímo se v Jižní Americe už celá staletí velmi úspěšně používá na léčbu tohoto onemocnění. Základem problémů je totiž zhoršená látková přeměna v celém těle, a ta se užíváním lapacha normalizuje. Z těchto důvodů by se měl čaj lapacho používat i vnitřně. [1]

7 ANTIPARAZITICKÉ VLASTNOSTI LAPACHA

Parazitologie je nauka o cizopasných živočiších. Parazitologie je oborem, který v sobě zahrnuje studium parazita a jeho vztah s hostitelem i prostředím. Není oborem pouze zoologickým, ale rovněž oborem interdisciplinárním. Původně klasické parazitologické disciplíny jako systematika, morfologie či ekologie parazitů se dnes vyvíjejí, a to i díky používání metod molekulární taxonomie, elektronové mikroskopie či matematického modelování. Náplní parazitologie je studium živočichů „parazitů“, kteří si vytvořili životní strategie na úkor jiných živočichů „hostitelů“. Význam parazitů pro člověka a jiné živočichy je bezesporný, mnoho parazitárních onemocnění je sledováno Světovou zdravotnickou organizací (World Health Organization, WHO) a jinými mezinárodními vládními i nevládními organizacemi. [47, 48]

Parazitizmus je velmi rozšířený biologický jev v přírodě, který pomáhá udržovat ekologickou rovnováhu v ekosystémech, patří mezi nejsložitější úroveň vzájemných vztahů dvou organismů. Jedná se o koexistenční vztah dvou heterospecifických (různých druhů) organismů, z nichž jeden je parazit, který získává výhody na úkor jiného organismu. Paraziti jsou skupinou predátorů živících se tkáněmi jiných živých organismů. Žijí tedy v těsném spojení se svými hostiteli, na kterých jsou metabolicky závislí. [47]

Klíčovou složkou lapacha, která prokazuje značnou aktivitu proti rozličným onemocněním způsobených parazity je lapachol. Rostlina *Tecoma lapacho* vykazuje antiparazitické vlastnosti proti rodům *Plasmodium*, *Trypanosoma* a *Schistosoma*. Výsledky zkoušek byly klinicky uznány. [49, 50]

Při zevním napadení parazity se doporučuje mytí v silném lapachovém čaji a částečné nebo celkové lapachové koupele. Ve velmi těžkých případech navíc postižená místa vícekrát denně potírat lapachovou tinkturou. Napadení parazity poukazuje vždy na silné znečištění organismu. Při vnitřním napadení parazity se doporučuje léčebná kúra lapachového čaje, případně doplnit stravu lapachovými kapslemi. [1]

7.1 Rod *Plasmodium*

Rod *Plasmodium* systematicky řadíme spolu s rody *Toxoplasma* a *Cryptosporidium* do kmene *Apicomplexa* (*Sporozoa*), podříše *Protozoa*. Rod *Plasmodium* se řadí mezi permanentní (trvalé) parazity. Konkrétně se vyskytuje v krvinkách. [47]

Nemoc vyvolaná parazitem rodu *Plasmodium* se nazývá malárie. Původcem malárie jsou čtyři druhy prvoků tohoto rodu – *Plasmodium vivax*, *Plasmodium ovale*, *Plasmodium malariae*, *Plasmodium falciparum*. Všechny druhy jsou rozšířeny v subtropích a tropech. V České republice byla malárie eradikována v roce 1960 - přenašeč přítomen, ale nemá zde vhodné podmínky. Inkubační doba bývá 10-14 dnů. Onemocnění se projevuje jako horečka s třesavkou a anémií. [47]

7.2 Rod *Schistosoma*

Rod *Schistosoma* patří mezi nejvýznamnější parazitické zástupce helmintů. *Schistosoma* se spolu s rody *Fasciola* a *Dicrocoelium* řadí do třídy *Trematoda*, kmene *Plathelminthes*. [47]

Schistosoma parazituje v cévní soustavě obratlovců, včetně člověka. Způsobuje onemocnění člověka a zvířat - schistosomózu (dříve bilharzióza).

Schistosomóza se vyskytuje v tropických a subtropických oblastech a přenáší se přes kontaminované vodní prostředí. Během onemocnění dochází k horečkám, anémii, otokům, zduření uzlin, bolestem hlavy a k poškození kůže, v pozdějším stádiu dochází k poškození krevních cév, které může přecházet až v karcinomy. [47]

7.3 Rod *Trypanosoma*

Systematicky řadíme rod *Trypanosoma* mezi mikroparazitické zástupce protozoí. *Trypanosoma* je rodem podřádu *Trypanosomatina*, který řadíme do řádu *Kinetoplastida*, kmene *Sarcomastigophora*. [47]

Trypanosomóza patří mezi protozoární onemocnění. Podle oblasti výskytu rozlišujeme Africkou trypanosomózu (Spavá nemoc) a Americkou trypanosomózu (Chagasova nemoc).

Při onemocnění dochází ke vzniku primárního zánětu v místě vniku, k nepravidelným vysokým horečkám. Dalšími příznaky jsou nechutenství, anémie, průjmy, zvětšená játra a slezina. Po roce se objevují příznaky postižení centrální nervové soustavy (zánět mozkových blan s krvácením), poruchy vidění, spavost a hubnutí. Nejzávažnější důsledky jsou srdeční selhání při vývoji parazitů v srdeční svalovině nebo ztráta nervové kontroly zažívací trubice, je-li napaden nervový systém. Akutní fáze může končit i smrtelně, zejména u menších dětí. [47, 51]

8 ANTIVIROVÉ VLASTNOSTI LAPACHA

Viry jsou nukleoproteinové částice, které nesou určitou genetickou informaci, avšak nemají vlastní enzymové vybavení pro zajištění základních životních funkcí. Představují nebuněčné formy, které postrádají některé životně důležité systémy, zejména proteosyntetický aparát. Virově specifické bílkoviny jsou tak syntetizovány prostřednictvím příslušných systémů hostitelských buněk. Proto viry nemohou žít samostatně (autonomně), ale jenom jako vnitrobuněční paraziti. Tento parazitismus probíhá na genetické a biochemické úrovni, neboť v hostitelské buňce přejímá virový genom informační a řídicí funkce potřebné pro tvorbu nových virionů. [23]

Proniknutí viru do hostitelské buňky se nazývá virovou infekcí. Většina virů poškozuje, případně i ničí hostitelskou buňku nebo ovlivňuje její kontrolní mechanismy. Některé viry mohou v hostitelské buňce zůstat v latentním stavu. Jejich genetický materiál se stává součástí genetického materiálu hostitelské buňky jako tzv. provirus (u bakteriálních virů jako tzv. profág). [23, 52]

Viry představují velmi heterogenní skupinu mikroorganismů. Specifické viry napadají určité živočišné buňky a vyvolávají specifická onemocnění hostitele, jiné napadají rostlinné buňky (fytoviry). Bakteriofágy (fágy) napadají buňky určitých druhů bakterií, mykoviry napadají buňky hub. V posledních letech byly zjištěny i viry napadající sinice (cyanofágy), zelené řasy nebo prvoky. [23]

Jednotlivé komponenty čaje lapacha vykazují významné antivirové vlastnosti proti virům *Herpes simplex* typu I a II, *Influenza*, *Polia virus* a *Vesicular stomatitis virus*. [12]

8.1 *Herpes simplex virus*

Herpes simplex virus (HSV) náleží do čeledi *Herpesviridae*, podčeledi *Alphaherpesviridae*. HSV typ I a typ II jsou rozlišitelné imunologicky za použití vysoce specifických, nebo monoklonálních protilátek. [43]

Původcem nakažlivého onemocnění je *Herpes simplex virus* (HSV), a to buď typ I nebo typ II. HSV působí nejen v oblasti orální, kde se projevuje opary (*Herpes labialis*), ale také v oblasti genitální, gluteální či anální (*Herpes genitalis*). [53, 54]

Projevem oparu jsou bolestivé puchýřky na kůži, které praskají a zasychají ve strupy, na sliznici se opar projevuje jako afty. [24]

8.2 Rod *Influenza*

Influenza je nakažlivá nemoc způsobena RNA virem. Chřipkové viry A, B a C patří do čeledi *Orthomyxoviridae* a dělí se do dvou rodů. Viry typu A a typu B jsou řazeny jako dva druhy do rodu *Influenzavirus*. Virus chřipky typu C je považován za zvláštní rod. [55]

Influenza neboli chřipka je nakažlivé onemocnění, které postihuje převážně dýchací cesty. V současné době je patrně nejčastější infekcí, která postihuje člověka. Každý rok dostane chřipku 10-30 % světové populace. Mezi symptomy patří bolesti hlavy, suchý kašel a zvýšená teplota. Dále se přidává celková slabost, bolesti svalů, kloubů atd. U dětí se první příznaky mohou projevit už po 24 hodinách. [54, 55]

Velmi důležitá je prevence, která spočívá jak v častém pohybu na vzduchu, výživné stravě tak v dostatečném příjmu vitaminů. Chřipce je možné předejít očkováním. [56]

9 DALŠÍ LÉČIVÉ ÚČINKY ČAJE LAPACHA

Lehký čajový odvar zlepšuje obranyschopnost těla až o 48 %, stimuluje tvorbu červených krvinek, omezuje vznik různých krevních onemocnění a posiluje srdce a cévy. Je silným antioxidantem, který snižuje přecitlivělost těla na různé chemikálie. Dále snižuje vstřebávání glukózy a tak se využívá pro snížení rizika vzniku *diabetu*. Zlepšuje metabolismus, činnost kostní dřeně, sleziny a slinivky. Lapacho omezuje vznik ekzémů, impetiga, migrén, bolestí kloubů, artritidy, Parkinsonovy choroby, roztroušené sklerózy a vaginálních výtoků. Zklidňuje psychiku, pozitivně ovlivňuje spánek a zlepšuje odolnost centrálního nervového systému. [57]

Lapacho povzbuzuje činnost střev a zažívání, pomáhá játrům při odvádění škodlivých látek z těla a zbavuje tělo kyselin. Uklidňuje podrážděnou, zarudlou kůži a snižuje svědivost. [3]

Čaj lapacho odvádí z těla jedy, nečistoty, těžké kovy. Působí močopudně a aktivuje přirozenou funkci potních žláz. Lapacho se dá velmi dobře kombinovat s jinými rostlinnými léky, protože přímo nebo nepřímo dokáže posílit účinky doprovodných preparátů. [1]

II. PRAKTICKÁ ČÁST

10 METODIKA

10.1 Použité přístroje a pomůcky

- Autokláv – Varioklav, Dampfsterilisator
- Biologický termostat – Biological thermostat BT 120
- Bunsenův kahan
- Digestoř – Merci s.r.o
- Filtrační aparatura
- Chladnička - Whirlpool
- Kultivační nádoby
- Laboratorní sklo
- Mikropipeta (100, 500 a 5000 μ l)
- Mikrovlnná trouba – Elektrolux EMM 2005
- Myčka nádobí – Siemens SE 250CZ
- Vakuová rotační odparka – Ingos, RVO 400 A
- Sušárna – KBC 100/250
- Sterilní hokejka, očkovací klička
- Váhy – Schoeller instruments
 - Kern 440-47N

10.2 Materiál

10.2.1 Živné půdy

Mikroorganismy jsou v laboratořích kultivovány na sterilních živných půdách. Jejich složení musí vyhovovat všem požadavkům daného organismu na výživu, pH, osmotické poměry a další fyzikálně-chemické podmínky. Připravovaná živná média musí být izotonická, musí obsahovat zdroj uhlíku a dusíku v koncentraci a formě optimální pro kultivovaný organismus, potřebné růstové faktory a dostatek vody.

Masopeptonový agar č. 1

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

Tab. 2: Složení masopeptonového agaru č.1 na 1000 ml destilované vody

SLOŽKA	MNOŽSTVÍ [g]
masový výtazek (Protose – BE)	3,0
pepton	5,0
NaCl	5,0
agar	15,0

pH 6,8-7,0

Masopeptonový agar č. 2

Tab. 3: Složení masopeptonového agaru č.2 na 1000 ml destilované vody

SLOŽKA	MNOŽSTVÍ [g]
masový výtazek (Protose – BE)	10,0
pepton	10,0
NaCl	5,0
agar	15,0

pH 6,8-7,2

Sabouraud dextrose agar

Sabouraud dextrose agar se používá pro kultivaci kvasinek, plísní a acidotolerantních bakterií.

Tab. 4: Složení Sabouraud dextrose agaru na 1000 ml destilované vody

SLOŽKA	MNOŽSTVÍ [g]
mykologický pepton	10,0
dextrosa	40,0
agar	15,0

pH 5,6±0,2

10.2.2 Pomnožovací médium**Masopeptonový bujón**

Masopeptonový bujón svým složením vyhovuje požadavkům na výživu celému spektru organismů.

Tab. 5: Složení masopeptonového bujónu na 1000 ml destilované vody

SLOŽKA	MNOŽSTVÍ [g]
masový výtazek (Protose – BE)	3,0
pepton	5,0
NaCl	5,0

pH 6,8-7,0

10.2.3 Použité roztoky a chemikálie

- Aceton – Penta, Švec, Chrudim
- Destilovaná voda
- Dezinfekční prostředky (jar, savo)
- Ethanol – Lukeš, Uherský Brod
- Fyziologický roztok (8,5 g NaCl na 1000 ml destilované vody)

- Hexan – Penta, Švec, Chrudim
- Hydroxid draselný (2% KOH)
- *Tecome lapacho* – Oxalis, spol. s r.o., Slušovice

10.2.4 Testované mikroorganismy

- *Bacillus cereus*
- *Escherichia coli*
- *Shigella flexneri*
- *Staphylococcus aureus*
- *Candida albicans*

Všechny kmeny byly poskytnuty ze sbírky laboratoře UPI, UTB ve Zlíně.

10.3 Příprava extraktu *Tecome lapacho*

Pro přípravu extraktu *Tecome lapacho* byla zvolena tato rozpouštědla: 100% aceton, 100% hexan, 100% ethanol a 40% ethanol. Dále byla použita destilovaná voda k přípravě vodného výluhu.

10.3.1 Příprava acetonového extraktu *Tecome lapacho*

Bylo připraveno šest 50 ml odměrných baněk. Do tří z nich bylo s přesností na 0,01 g naváženo 0,25 g (odpovídá koncentraci 5 g.l⁻¹) kůry *Tecome lapacho* a do dalších tří bylo naváženo 0,5 g (odpovídá koncentraci 10 g.l⁻¹) kůry *Tecome lapacho*. Kůra byla následně zalita acetonem. Dva připravené extrakty (5 g.l⁻¹ a 10 g.l⁻¹) byly vystaveny dennímu světlu a pokojové teplotě (20°C) po dobu 14 dní. Další dva takto připravené extrakty (5 g.l⁻¹ a 10 g.l⁻¹) byly obaleny alobalem a ponechány ve tmě po dobu 14 dní a poslední dva extrakty (5 g.l⁻¹ a 10 g.l⁻¹) byly dány do termostatu a vystaveny teplotě 37°C. Po 14 dnech byly sledovány výsledné extrakty z kůry *Tecome lapacho*.

10.3.2 Příprava hexanového extraktu *Tecome lapacho*

Bylo připraveno šest 50 ml odměrných baněk. Do tří z nich bylo s přesností na 0,01 g naváženo 0,25 g (odpovídá koncentraci 5 g.l⁻¹) kůry *Tecome lapacho* a do dalších tří bylo

naváženo 0,5 g (odpovídá koncentraci 10 g.l^{-1}) kůry *Tecome lapacho*. Kůra byla následně zalita hexanem. Dva připravené extrakty (5 g.l^{-1} a 10 g.l^{-1}) byly vystaveny dennímu světlu a pokojové teplotě (20°C) po dobu 14 dní. Další dva takto připravené extrakty (5 g.l^{-1} a 10 g.l^{-1}) byly obaleny alobalem a ponechány ve tmě po dobu 14 dní a poslední dva extrakty (5 g.l^{-1} a 10 g.l^{-1}) byly dány do termostatu a vystaveny teplotě 37°C . Po 14 dnech byly sledovány výsledné extrakty z kůry *Tecome lapacho*.

10.3.3 Příprava ethanolového extraktu *Tecome lapacho*

Bylo připraveno osm 50 ml odměrných baněk. Do čtyř z nich bylo s přesností na 0,01 g naváženo 0,25 g (odpovídá koncentraci 5 g.l^{-1}) kůry *Tecome lapacho* a do dalších čtyř bylo naváženo 0,5 g (odpovídá koncentraci 10 g.l^{-1}) kůry *Tecome lapacho*. Kůra byla následně zalita 40% ethanolem. Dva připravené extrakty (5 g.l^{-1} a 10 g.l^{-1}) byly vystaveny dennímu světlu a pokojové teplotě (20°C) po dobu 14 dní. Další dva takto připravené extrakty (5 g.l^{-1} a 10 g.l^{-1}) byly obaleny alobalem a ponechány ve tmě po dobu 14 dní, další dva extrakty (5 g.l^{-1} a 10 g.l^{-1}) byly dány do termostatu a vystaveny teplotě 37°C . Poslední dva extrakty (5 g.l^{-1} a 10 g.l^{-1}) byly umístěny do chladničky a vystaveny teplotě 4°C . Po 14 dnech byly sledovány výsledné extrakty z kůry *Tecome lapacho*.

Dále byly připraveny čtyři 100 ml odměrné baňky. Do dvou z nich bylo s přesností na 0,01 g naváženo 0,5 g (odpovídá koncentraci 5 g.l^{-1}) kůry *Tecome lapacho* a do dalších dvou bylo naváženo po 1,0 g (odpovídá koncentraci 10 g.l^{-1}) kůry *Tecome lapacho*. Kůra byla následně zalita 100% ethanolem. Dva připravené extrakty (5 g.l^{-1} a 10 g.l^{-1}) byly vystaveny dennímu světlu a pokojové teplotě (20°C) po dobu 14 dní. Další dva takto připravené extrakty (5 g.l^{-1} a 10 g.l^{-1}) byly obaleny alobalem a ponechány ve tmě po dobu 14 dní. Po 14 dnech byly sledovány výsledné extrakty z kůry *Tecome lapacho*.

10.3.4 Příprava vodného výluhu *Tecome lapacho*

Byly připraveny čtyři 100 ml odměrné baňky. Do dvou z nich bylo s přesností na 0,01 g naváženo 0,5 g (odpovídá koncentraci 5 g.l^{-1}) kůry *Tecome lapacho* a do dalších dvou bylo naváženo 1,0 g (odpovídá koncentraci 10 g.l^{-1}) kůry *Tecome lapacho*. Kůra byla následně zalita destilovanou vodou. Dva připravené extrakty (5 g.l^{-1} a 10 g.l^{-1}) byly vystaveny dennímu světlu a pokojové teplotě (20°C) po dobu 14 dní. Další dva takto

připravené extrakty (5 g.l^{-1} a 10 g.l^{-1}) byly obaleny alobalem a ponechány ve tmě po dobu 14 dní. Po 14 dnech byly sledovány výsledné extrakty z kůry *Tecome lapacho*.

10.4 Antibakteriální účinek extraktu *Tecome lapacho* na *Bacillus cereus*

Pro testování antibakteriálního účinku extraktu *Tecome lapacho* byla použita disková difúzní metoda a metoda nazvána jako „metoda v bujónu“.

10.4.1 Aplikace extraktu *Tecome lapacho* na *Bacillus cereus* diskovou difúzní metodou

Příprava půdy MPA č. 1:

S přesností na 0,01 g bylo naváženo 3,0 g masového výtažku (Protose – BE), 5,0 g peptonu, 5,0 g chloridu sodného a 15,0 g agaru do 1000 ml destilované vody. 2% KOH bylo pH upraveno na hodnotu v rozmezí 6,8–7,0. Směs byla následně sterilována v autoklávu při 121°C po dobu 15 min.

Příprava půdy MPA č. 2:

S přesností na 0,01 g bylo naváženo 10,0 g masového výtažku (Protose – BE), 10,0 g peptonu, 5,0 g chloridu sodného a 15,0 g agaru do 1000 ml destilované vody. 2% KOH bylo pH upraveno na hodnotu v rozmezí 6,8–7,2. Směs byla následně sterilována v autoklávu při 121°C po dobu 15 min.

Oživení kultury (přeočkování na Petriho misku):

Na povrch tuhého kultivačního média (MPA č. 2) byla přenesena kultura, která byla následně metodou křížového roztěru rozetřena sterilní kličkou.

Část A:

Do 250 ml odměrné baňky bylo s přesností na 0,01 g naváženo 12,5 g (odpovídá koncentraci 50 g.l^{-1}) kůry *Tecome lapacho*. Kůra byla následně zalita 40% ethanolem. Takto připravený extrakt byl obalen alobalem a uchován ve tmě po dobu 14 dní. Po této době byl extrakt přefiltrován. Z extraktu byly následně připraveny další extrakty o výsledných koncentracích 0,5; 1,0; 1,5; 2,0; 3,0; a 5,0 % lapacha.

Sterilní disky o průměru 0,5 mm byly připraveny z filtračního papíru. Na šest disků bylo pipetou nanášeno 15 μl ethanolového extraktu *Tecome lapacho* o koncentracích 0,5; 1,0;

1,5; 2,0; 3,0; a 5,0 %. Zároveň byl připraven kontrolní disk, který byl napuštěn pouze 40% ethanolem. Disky se nechaly 24 hod zaschnout. Následně byla do 5 ml fyziologického roztoku sterilní kličkou přeočkována kultura *Bacillus cereus*. Ze vzniklé suspenze bylo pipetou přeočkováno 100 µl bakteriální suspenze na Petriho misky s masopeptonovým agarem (MPA č. 1) a rozetřeno sterilní hokejkou. Poté byly disky pomocí sterilní injekční jehly kladeny na plotny a následovala inkubace při 37°C po dobu 24 hod.

Část B:

Do 250 ml odměrné baňky bylo s přesností na 0,01 g naváženo 12,5 g (odpovídá koncentraci 50 g.l⁻¹) kůry *Tecome lapacho*. Kůra byla následně zalita destilovanou vodou. Takto připravený extrakt byl umístěn do chladničky při 4°C po dobu 14 dní. Po této době byl extrakt přefiltrován a na závěr sterilován v autoklávu při 121°C po dobu 15 min. Z extraktu byly následně připraveny další extrakty o celkových koncentracích 0,5; 1,0; 1,5; 2,0; 3,0; a 5,0 % lapacha.

Sterilní disky o průměru 0,5 mm byly připraveny z filtračního papíru. Na šest disků bylo pipetou nanášeno 15 µl vodného extraktu *Tecome lapacho* o koncentracích 0,5; 1,0; 1,5; 2,0; 3,0; a 5,0 %. Zároveň byl připraven kontrolní disk, který byl napuštěn pouze destilovanou vodou. Disky se nechaly 24 hod zaschnout. Následně byla do 5 ml fyziologického roztoku sterilní kličkou přeočkována kultura *Bacillus cereus*. Ze vzniklé suspenze byla kultura pipetou přeočkována (100 µl) na Petriho misky s masopeptonovým agarem (MPA č. 1) a rozetřena sterilní hokejkou. Poté byly disky pomocí sterilní injekční jehly kladeny na plotny a následovala inkubace při 37°C po dobu 24 hod.

10.4.2 Aplikace extraktu *Tecome lapacho* na *Bacillus cereus*

„metodou v bujónu“

Příprava pomnožovacího bujónu:

Bylo naváženo 3,0 g masového výtažku (Protose – BE), 5,0 g peptonu a 5,0 g chloridu sodného do 1000 ml destilované vody. pH bylo upraveno 2% KOH na hodnotu v rozmezí 6,8 – 7,0. Bujón byl sterilován při 121°C po dobu 15 min.

Masopeptonový agar č.1 (MPA č. 1) a masopeptonový agar č. 2 (MPA č. 2) pro bakteriální kmen *Bacillus cereus* byli připraveny postupem uvedeným v kapitole 10.4.1. Stejně tak

oživení kultury přeočkováním na Petriho misku bylo provedeno postupem uvedeným v této kapitole.

10.4.2.1 Aplikace extraktu *Tecome lapacho* na *Bacillus cereus* metodou v bujónu – pilotní pokus

Do 250 ml odměrné baňky bylo s přesností na 0,01 g naváženo 2,5 g kůry *Tecome lapacho*. Kůra byla následně zalita 40% ethanolem. Takto připravený extrakt byl obalen alobalem a ponechán ve tmě po dobu 14 dní. Po této době byl extrakt přefiltrován.

Do 10 ml pomnožovacího bujónu byla sterilní kličkou přeočkována kultura *Bacillus cereus*, která byla následně inkubována při 37°C po dobu 24 hod. Dále bylo připraveno 5 x 50 ml sterilního bujónu. Do 2 lahvíček s bujónem byl přidán pouze 40% ethanol a to v množství 5,5 ml a 33,3 ml. Do dalších dvou lahvíček s bujónem byl přidán 40% etanolový extrakt *Tecome lapacho* tak, aby jeho koncentrace v bujónu byla 0,1 % (odpovídá množství 5,5 ml) a 0,4 % (odpovídá 33,3 ml). Zároveň byl připraven kontrolní vzorek, který neobsahoval ani 40% ethanol ani 40% etanolový extrakt *Tecome lapacho*. Ke všem vzorkům byla přidána namnožená kultura *Bacillus cereus* v množství 500 µl. Vzorky byly inkubovány při 37°C po dobu 24 hod. Poté byla z každého vzorku provedena příslušná ředění a ta se očkovala v množství 100 µl na Petriho misky s masopeptonovým agarem (MPA č. 1). Poté opět následovala inkubace při 37°C po dobu 24 hod. Cílem pilotního pokusu bylo zjistit, zda má etanolový výluh *Tecome lapacho* antibakteriální účinky na kulturu *Bacillus cereus*.

10.4.2.2 Aplikace extraktu *Tecome lapacho* na *Bacillus cereus* metodou v bujónu – vlastní experiment

Část A:

Do 250 ml odměrné baňky bylo s přesností na 0,01 g naváženo 12,5 g (odpovídá koncentraci 50 g.l⁻¹) kůry *Tecome lapacho*. Kůra byla následně zalita 40% ethanolem. Takto připravený extrakt byl obalen alobalem a ponechán ve tmě po dobu 14 dní. Po této době byl extrakt přefiltrován a použit pro testování.

Do 10 ml pomnožovacího bujónu byla sterilní kličkou přeočkována kultura *Bacillus cereus*, která byla následně inkubována při 37°C po dobu 24 hod. Dále bylo

připraveno 5 x 50 ml sterilního bujónu. Do čtyř lahviček s bujónem byl přidán 40% ethanolový extrakt *Tecome lapacho* tak, aby jeho koncentrace v bujónu byla 0,1; 0,25; 0,5; a 1,0 %. Zároveň byl připraven kontrolní vzorek, který 40% ethanolový extrakt *Tecome lapacho* neobsahoval. Ke všem vzorkům byla přidána kultura *Bacillus cereus* v množství 500 µl. Vzorky byly inkubovány při 37°C po dobu 24 hod. Poté byla z každého vzorku provedena příslušná ředění a ta se očkovala v množství 100 µl na Petriho misky s masopeptonovým agarem (MPA č. 1). Poté opět následovala inkubace při 37°C po dobu 24 hod. Po uplynulé době byly odečítány kolonie.

Část B:

Do 250 ml odměrné baňky bylo s přesností na 0,01 g naváženo 12,5 g (odpovídá koncentraci 50 g.l⁻¹) kůry *Tecome lapacho*. Kůra byla následně zalita 40% ethanolom. Takto připravený extrakt byl obalen alobalom a uchován ve tmě po dobu 14 dní. Po této době byl extrakt přefiltrován, ethanol byl odpařen na vakuové rotační odparce a odpařené množství ethanolu bylo nahrazeno sterilní destilovanou vodou. Extrakt byl zakalený, a proto byla provedena následná filtrace extraktu přes papírový filtr. Extrakt byl na závěr sterilován v autoklávu při 121°C po dobu 15 min.

Do 10 ml pomnožovacího bujónu byla sterilní kličkou přeočkována kultura *Bacillus cereus*, která byla následně inkubována při 37°C po dobu 24 hod. Dále bylo připraveno 4 x 50 ml sterilního bujónu. Do tří lahviček s bujónem byl přidán extrakt *Tecome lapacho* tak, aby jeho koncentrace v bujónu byla 0,5; 1,0; a 1,5 %. Zároveň byl připraven kontrolní vzorek, který extrakt *Tecome lapacho* neobsahoval. Ke všem vzorkům byla přidána kultura *Bacillus cereus* v množství 500 µl. Vzorky byly inkubovány při 37°C po dobu 24 hod. Poté byla z každého vzorku provedena příslušná ředění a ta se očkovala v množství 100 µl na Petriho misky s masopeptonovým agarem (MPA č. 1). Poté opět následovala inkubace při 37°C po dobu 24 hod. Po uplynulé době byly odečítány kolonie.

Část C:

Do 250 ml odměrné baňky bylo s přesností na 0,01 g naváženo 12,5 g (odpovídá koncentraci 50 g.l⁻¹) kůry *Tecome lapacho*. Kůra byla následně zalita destilovanou vodou. Takto připravený extrakt byl umístěn do chladničky a vystaven teplotě 4°C po dobu 14 dní. Po této době byl extrakt přefiltrován a na závěr sterilován v autoklávu při 121°C po dobu 15 min.

Do 10 ml pomnožovacího bujónu byla sterilní kličkou přeočkována kultura *Bacillus cereus*, která byla následně inkubována při 37°C po dobu 24 hod. Dále bylo připraveno 4 x 50 ml sterilního bujónu. Do tří lahviček s bujónem byl přidán extrakt *Tecome lapacho* tak, aby jeho koncentrace v bujónu byla 0,5; 1,0; a 1,5 %. Zároveň byl připraven kontrolní vzorek, který extrakt *Tecome lapacho* neobsahoval. Ke všem vzorkům byla přidána kultura *Bacillus cereus* v množství 500 µl. Vzorky byly inkubovány při 37°C po dobu 24 hod. Poté byla z každého vzorku provedena příslušná ředění a ta se očkovala v množství 100 µl na Petriho misky s masopeptonovým agarem (MPA č. 1). Poté opět následovala inkubace při 37°C po dobu 24 hod. Po uplynulé době byly odečítány kolonie.

10.5 Antibakteriální účinek extraktu *Tecome lapacho* na *Escherichia coli*

Pro testování antibakteriálního účinku extraktu *Tecome lapacho* byla použita disková difúzní metoda a metoda nazvána jako „metoda v bujónu“.

10.5.1 Aplikace extraktu *Tecome lapacho* na *Escherichia coli* diskovou difúzní metodou

Masopeptonový agar č.1 (MPA č. 1) a masopeptonový agar č.2 (MPA č.2) pro bakteriální kmen *Escherichia coli* byli připraveny postupem uvedeným v kapitole 10.4.1. Stejně tak oživení kultury přeočkováním na Petriho misku bylo provedeno postupem uvedeným v této kapitole.

Část A:

Ethanolové extrakty byly připraveny postupem uvedeným v kapitole 10.4.1 v části A.

Sterilní disky o průměru 0,5 mm byly připraveny z filtračního papíru. Na šest disků bylo pipetou naneseo 15 µl ethanolového extraktu *Tecome lapacho* o koncentracích 0,5; 1,0; 1,5; 2,0; 3,0; a 5,0 %. Zároveň byl připraven kontrolní disk, který byl napuštěn pouze 40% ethanolom. Disky se nechaly 24 hod zaschnout. Následně byla do 5 ml fyziologického roztoku sterilní kličkou přeočkována kultura *Escherichia coli*. Ze vzniklé suspenze bylo pipetou přeočkováno 100 µl na Petriho misky s masopeptonovým agarem (MPA č. 1) a kultura byla rozetřena sterilní hokejkou. Poté byly disky pomocí sterilní injekční jehly kladeny na plotny a následovala inkubace při 37°C po dobu 24 hod.

Část B:

Vodné výluhy byly připraveny postupem uvedeným v kapitole 10.4.1 v části B.

Sterilní disky o průměru 0,5 mm byly připraveny z filtračního papíru. Na šest disků bylo pipetou nanášeno 15 µl vodného extraktu *Tecome lapacho* o koncentracích 0,5; 1,0; 1,5; 2,0; 3,0; a 5,0 %. Zároveň byl připraven kontrolní disk, který byl napuštěn pouze destilovanou vodou. Disky se nechaly 24 hod zaschnout. Následně byla do 5 ml fyziologického roztoku sterilní kličkou přeočkována kultura *Escherichia coli*. Ze vzniklé suspenze bylo pipetou přeočkováno 100 µl na Petriho misky s masopeptonovým agarem (MPA č. 1) a rozetřeno sterilní hokejkou. Poté byly disky pomocí sterilní injekční jehly kladeny na plotny a následovala inkubace při 37°C po dobu 24 hod.

10.5.2 Aplikace extraktu *Tecome lapacho* na *Escherichia coli***„metodou v bujónu“**

Masopeptonový agar č.1 (MPA č. 1) a masopeptonový agar č. 2 (MPA č. 2) pro bakteriální kmen *Escherichia coli* byli připraveny postupem uvedeným v kapitole 10.4.1. Stejně tak oživení kultury přeočkováním na Petriho misku bylo provedeno postupem uvedeným v této kapitole. Pomnožovací bujón byl připraven postupem uvedeným v kapitole 10.4.2.

10.5.2.1 Aplikace extraktu *Tecome lapacho* na *Escherichia coli* metodou v bujónu – pilotní pokus

Ethanolový extrakt *Tecome lapacho* byl připraven postupem uvedeným v kapitole 10.4.2.1. Do 10 ml pomnožovacího bujónu byla sterilní kličkou přeočkována kultura *Escherichia coli*, která byla následně inkubována při 37°C po dobu 24 hod. Dále bylo připraveno 5 x 50 ml sterilního bujónu. Do 2 lahvíček s bujónem byl přidán pouze 40% ethanol a to v množství 5,5 ml a 33,3 ml. Do dalších dvou lahvíček s bujónem byl přidán 40% ethanolový extrakt *Tecome lapacho* tak, aby jeho koncentrace v bujónu byla 0,1 % (odpovídá množství 5,5 ml) a 0,4 % (odpovídá 33,3 ml). Zároveň byl připraven kontrolní vzorek, který neobsahoval ani 40% ethanol ani 40% ethanolový extrakt *Tecome lapacho*. Ke všem vzorkům byla přidána kultura *Escherichia coli* v množství 500 µl. Vzorky byly inkubovány při 37°C po dobu 24 hod. Poté byla z každého vzorku provedena příslušná ředění a ta se očkovala v množství 100 µl na Petriho misky

s masopeptonovým agarem (MPA č. 1). Poté opět následovala inkubace při 37°C po dobu 24 hod. Po uplynulé době následoval odečet kolonií. Cílem pilotního pokusu bylo zjistit, zda ethanolový výluh *Tecome lapacho* vykazuje antibakteriální účinky na kulturu *Escherichia coli*.

10.5.2.2 Aplikace extraktu *Tecome lapacho* na *Escherichia coli* metodou v bujónu – vlastní experiment

Část A:

Ethanolový extrakt *Tecome lapacho* byl připraven postupem uvedeným v kapitole 10.4.2.2 v části A.

Do 10 ml pomnožovacího bujónu byla sterilní kličkou přeočkována kultura *Escherichia coli*, která byla následně inkubována při 37°C po dobu 24 hod. Dále bylo připraveno 7 x 50 ml sterilního bujónu. Do šesti lahvíček s bujónem byl přidán 40% ethanolový extrakt *Tecome lapacho* tak, aby jeho koncentrace v bujónu byla 0,1; 0,25; 0,5; 1,0; 2,0; a 3,0 %. Zároveň byl připraven kontrolní vzorek, který 40% ethanolový extrakt *Tecome lapacho* neobsahoval. Ke všem vzorkům byla přidána kultura *Escherichia coli* v množství 500 µl. Vzorky byly inkubovány při 37°C po dobu 24 hod. Poté byla z každého vzorku provedena příslušná ředění a ta se očkovala v množství 100 µl na Petriho misky s masopeptonovým agarem (MPA č. 1). Poté opět následovala inkubace při 37°C po dobu 24 hod. Po uplynulé době následoval odečet kolonií.

Část B:

Ethanolový extrakt *Tecome lapacho* byl připraven postupem uvedeným v kapitole 10.4.2.2 v části B.

Do 10 ml pomnožovacího bujónu byla sterilní kličkou přeočkována kultura *Escherichia coli*, která byla následně inkubována při 37°C po dobu 24 hod. Dále bylo připraveno 4 x 50 ml sterilního bujónu. Do tří lahvíček s bujónem byl přidán extrakt *Tecome lapacho* tak, aby jeho koncentrace v bujónu byla 0,5; 1,0; a 1,5 %. Zároveň byl připraven kontrolní vzorek, který extrakt *Tecome lapacho* neobsahoval. Ke všem vzorkům byla přidána kultura *Escherichia coli* v množství 500 µl. Vzorky byly inkubovány při 37°C po dobu 24 hod. Poté byla z každého vzorku provedena příslušná ředění a ta se očkovala v množství 100 µl na Petriho misky s masopeptonovým agarem (MPA č. 1). Poté opět

následovala inkubace při 37°C po dobu 24 hod. Po uplynulé době následoval odečet kolonií.

Část C:

Vodný výluh *Tecome lapacho* byl připraven postupem uvedeným v kapitole 10.4.2.2 v části C.

Do 10 ml pomnožovacího bujónu byla sterilní kličkou přeočkována kultura *Escherichia coli*, která byla následně inkubována při 37°C po dobu 24 hod. Dále bylo připraveno 4 x 50 ml sterilního bujónu. Do tří lahviček s bujónem byl přidán extrakt *Tecome lapacho* tak, aby jeho koncentrace v bujónu byla 0,5; 1,0; a 1,5 %. Zároveň byl připraven kontrolní vzorek, který extrakt *Tecome lapacho* neobsahoval. Ke všem vzorkům byla přidána kultura *Escherichia coli* v množství 500 µl. Vzorky byly inkubovány při 37°C po dobu 24 hod. Poté byla z každého vzorku provedena příslušná ředění a ta se očkovala v množství 100 µl na Petriho misky s masopeptonovým agarem (MPA č. 1). Poté opět následovala inkubace při 37°C po dobu 24 hod. Po uplynulé době následoval odečet kolonií.

10.6 Antibakteriální účinek extraktu *Tecome lapacho* na *Shigella flexneri*

Pro testování antibakteriálního účinku extraktu *Tecome lapacho* byla použita disková difúzní metoda a metoda nazvána jako „metoda v bujónu“.

10.6.1 Aplikace extraktu *Tecome lapacho* na *Shigella flexneri*

diskovou difúzní metodou

Masopeptonový agar č.1 (MPA č. 1) a masopeptonový agar č. 2 (MPA č. 2) pro bakteriální kmen *Shigella flexneri* byly připraveny postupem uvedeným v kapitole 10.4.1. Stejně tak oživení kultury přeočkováním na Petriho misku bylo provedeno postupem uvedeným v této kapitole.

Část A:

Ethanolové extrakty byly připraveny postupem uvedeným v kapitole 10.4.1 v části A.

Sterilní disky o průměru 0,5 mm byly připraveny z filtračního papíru. Na šest disků bylo pipetou nanášeno 15 µl ethanolového extraktu *Tecome lapacho* o koncentracích

0,5; 1,0; 1,5; 2,0; 3,0; a 5,0 %. Zároveň byl připraven kontrolní disk, který byl napuštěn pouze 40% ethanolem. Disky se nechaly 24 hod zaschnout. Následně byla do 5 ml fyziologického roztoku sterilní kličkou přeočkována kultura *Shigella flexneri*. Ze vzniklé suspenze bylo pipetou přeočkováno 100 µl bakteriální suspenze na Petriho misky s masopeptonovým agarem (MPA č. 1) a kultura byla rozetřena sterilní hokejkou. Poté byly disky pomocí sterilní injekční jehly kladeny na plotny a následovala inkubace při 37°C po dobu 24 hod.

Část B:

Vodné výluhy byly připraveny postupem uvedeným v kapitole 10.4.1 v části B.

Sterilní disky o průměru 0,5 mm byly připraveny z filtračního papíru. Na šest disků bylo pipetou nanесeno 15 µl vodného extraktu *Tecome lapacho* o koncentracích 0,5; 1,0; 1,5; 2,0; 3,0; a 5,0 %. Zároveň byl připraven kontrolní disk, který byl napuštěn pouze destilovanou vodou. Disky se nechaly 24 hod zaschnout. Následně byla do 5 ml fyziologického roztoku sterilní kličkou přeočkována kultura *Shigella flexneri*. Ze vzniklé suspenze bylo pipetou přeočkováno 100 µl bakteriální suspenze na Petriho misky s masopeptonovým agarem (MPA č. 1) a kultura byla rozetřena sterilní hokejkou. Poté byly disky pomocí sterilní injekční jehly kladeny na plotny a následovala inkubace při 37°C po dobu 24 hod.

10.6.2 Aplikace extraktu *Tecome lapacho* na *Shigella flexneri*

„metodou v bujónu“

Masopeptonový agar č.1 (MPA č. 1) a masopeptonový agar č. 2 (MPA č. 2) pro bakteriální kmen *Shigella flexneri* byli připraveny postupem uvedeným v kapitole 10.4.1. Stejně tak oživení kultury přeočkováním na Petriho misku bylo provedeno postupem uvedeným v této kapitole. Pomnožovací bujón byl připraven postupem uvedeným v kapitole 10.4.2

10.6.2.1 Aplikace extraktu *Tecome lapacho* na *Shigella flexneri* metodou v bujónu – pilotní pokus

Ethanolový extrakt *Tecome lapacho* byl připraven postupem uvedeným v kapitole 10.4.2.1.

Do 10 ml pomnožovacího bujónu byla sterilní kličkou přeočkována kultura *Shigella flexneri*, která byla následně inkubována při 37°C po dobu 24 hod. Dále bylo

připraveno 5 x 50 ml sterilního bujónu. Do 2 lahvíček s bujónem byl přidán pouze 40% ethanol a to v množství 5,5 ml a 33,3 ml. Do dalších dvou lahvíček s bujónem byl přidán 40% ethanolový extrakt *Tecome lapacho* tak, aby jeho koncentrace v bujónu byla 0,1 % (odpovídá množství 5,5 ml) a 0,4 % (odpovídá 33,3 ml). Zároveň byl připraven kontrolní vzorek, který neobsahoval ani 40% ethanol ani 40% ethanolový extrakt *Tecome lapacho*. Ke všem vzorkům byla přidána kultura *Shigella flexneri* v množství 500 µl. Vzorky byly inkubovány při 37°C po dobu 24 hod. Poté byla z každého vzorku provedena příslušná ředění a ta se očkovala v množství 100 µl na Petriho misky s masopeptonovým agarem (MPA č. 1). Poté opět následovala inkubace při 37°C po dobu 24 hod. Po uplynulé době následoval odečet kolonií. Cílem pokusu bylo zjistit, zda ethanolový výluh *Tecome lapacho* vykazuje antibakteriální účinky na kulturu *Shigella flexneri*.

10.6.2.2 Aplikace extraktu *Tecome lapacho* na *Shigella flexneri* metodou v bujónu – vlastní experiment

Část A:

Ethanolový extrakt *Tecome lapacho* byl připraven postupem uvedeným v kapitole 10.4.2.2 v části A.

Do 10 ml pomnožovacího bujónu byla sterilní kličkou přeočkována kultura *Shigella flexneri*, která byla následně inkubována při 37°C po dobu 24 hod. Dále bylo připraveno 6 x 50 ml sterilního bujónu. Do pěti lahvíček s bujónem byl přidán 40% ethanolový extrakt *Tecome lapacho* tak, aby jeho koncentrace v bujónu byla 0,1; 0,25; 0,5; 1,0; a 2,0 %. Zároveň byl připraven kontrolní vzorek, který 40% ethanolový extrakt *Tecome lapacho* neobsahoval. Ke všem vzorkům byla přidána kultura *Shigella flexneri* v množství 500 µl. Vzorky byly inkubovány při 37°C po dobu 24 hod. Poté byla z každého vzorku provedena příslušná ředění a ta se očkovala v množství 100 µl na Petriho misky s masopeptonovým agarem (MPA č. 1). Poté opět následovala inkubace při 37°C po dobu 24 hod. Po uplynulé době následoval odečet kolonií.

Část B:

Ethanolový extrakt *Tecome lapacho* byl připraven postupem uvedeným v kapitole 10.4.2.2 v části B.

Do 10 ml pomnožovacího bujónu byla sterilní kličkou přeočkována kultura *Shigella flexneri*, která byla následně inkubována při 37°C po dobu 24 hod. Dále bylo připraveno 4 x 50 ml sterilního bujónu. Do tří lahviček s bujónem byl přidán extrakt *Tecome lapacho* tak, aby jeho koncentrace v bujónu byla 0,5; 1,0; a 1,5 %. Zároveň byl připraven kontrolní vzorek, který extrakt *Tecome lapacho* neobsahoval. Ke všem vzorkům byla přidána kultura *Shigella flexneri* v množství 500 µl. Vzorky byly inkubovány při 37°C po dobu 24 hod. Poté byla z každého vzorku provedena příslušná ředění a ta se očkovala v množství 100 µl na Petriho misky s masopeptonovým agarem (MPA č. 1). Poté opět následovala inkubace při 37°C po dobu 24 hod. Po uplynulé době následoval odečet kolonií.

Část C:

Vodný výluh *Tecome lapacho* byl připraven postupem uvedeným v kapitole 10.4.2.2 v části C.

Do 10 ml pomnožovacího bujónu byla sterilní kličkou přeočkována kultura *Shigella flexneri*, která byla následně inkubována při 37°C po dobu 24 hod. Dále bylo připraveno 4 x 50 ml sterilního bujónu. Do tří lahviček s bujónem byl přidán extrakt *Tecome lapacho* tak, aby jeho koncentrace v bujónu byla 0,5 %, 1,0 % a 1,5 %. Zároveň byl připraven kontrolní vzorek, který extrakt *Tecome lapacho* neobsahoval. Ke všem vzorkům byla přidána kultura *Shigella flexneri* v množství 500 µl. Vzorky byly inkubovány při 37°C po dobu 24 hod. Poté byla z každého vzorku provedena příslušná ředění a ta se očkovala v množství 100 µl na Petriho misky s masopeptonovým agarem (MPA č. 1). Poté opět následovala inkubace při 37°C po dobu 24 hod. Po uplynulé době následoval odečet kolonií.

10.7 Antibakteriální účinek extraktu *Tecome lapacho* na *Staphylococcus aureus*

Pro testování antibakteriálního účinku extraktu *Tecome lapacho* byla použita disková difúzní metoda a metoda nazvána jako „metoda v bujónu“.

10.7.1 Aplikace extraktu *Tecome lapacho* na *Staphylococcus aureus* diskovou difúzní metodou

Masopeptonový agar č.1 (MPA č. 1) a masopeptonový agar č. 2 (MPA č. 2) pro bakteriální kmen *Staphylococcus aureus* byly připraveny postupem uvedeným v kapitole 10.4.1. Stejně tak oživení kultury přeočkováním na Petriho misku bylo provedeno postupem uvedeným v této kapitole.

Část A:

Ethanolové extrakty byly připraveny postupem uvedeným v kapitole 10.4.1 v části A.

Sterilní disky o průměru 0,5 mm byly připraveny z filtračního papíru. Na šest disků bylo pipetou naneseo 15 µl ethanolového extraktu *Tecome lapacho* o koncentracích 0,5; 1,0; 1,5; 2,0; 3,0; a 5,0 %. Zároveň byl připraven kontrolní disk, který byl napuštěn pouze 40% ethanolem. Disky se nechaly 24 hod zaschnout. Následně byla do 5 ml fyziologického roztoku sterilní kličkou přeočkována kultura *Staphylococcus aureus*. Ze vzniklé suspenze bylo pipetou přeočkováno 100 µl bakteriální kultury na Petriho misky s masopeptonovým agarem (MPA č. 1) a ta byla rozetřena sterilní hokejkou. Poté byly disky pomocí sterilní injekční jehly kladeny na plotny a následovala inkubace při 37°C po dobu 24 hod.

Část B:

Vodné výluhy byly připraveny postupem uvedeným v kapitole 10.4.1 v části B.

Sterilní disky o průměru 0,5 mm byly připraveny z filtračního papíru. Na šest disků bylo pipetou naneseo 15 µl vodného extraktu *Tecome lapacho* o koncentracích 0,5; 1,0; 1,5; 2,0; 3,0; a 5,0 %. Zároveň byl připraven kontrolní disk, který byl napuštěn pouze destilovanou vodou. Disky se nechaly 24 hod zaschnout. Následně byla do 5 ml fyziologického roztoku sterilní kličkou přeočkována kultura *Staphylococcus aureus*. Ze vzniklé suspenze bylo pipetou přeočkováno 100 µl kultury na Petriho misky

s masopeptonovým agarem (MPA č. 1) a kultura byla rozetřena sterilní hokejkou. Poté byly disky pomocí sterilní injekční jehly kladeny na plotny a následovala inkubace při 37°C po dobu 24 hod.

10.7.2 Aplikace extraktu *Tecome lapacho* na *Staphylococcus aureus*

„metodou v bujónu“

Masopeptonový agar č.1 (MPA č. 1) a masopeptonový agar č. 2 (MPA č. 2) pro bakteriální kmen *Staphylococcus aureus* byly připraveny postupem uvedeným v kapitole 10.4.1. Stejně tak oživení kultury přeočkováním na Petriho misku bylo provedeno postupem uvedeným v této kapitole. Pomnožovací bujón byl připraven postupem uvedeným v kapitole 10.4.2.

10.7.2.1 Aplikace extraktu *Tecome lapacho* na *Staphylococcus aureus* metodou v bujónu – pilotní pokus

Ethanolový extrakt *Tecome lapacho* byl připraven postupem uvedeným v kapitole 10.4.2.1. Do 10 ml pomnožovacího bujónu byla sterilní kličkou přeočkována kultura *Staphylococcus aureus*, která byla následně inkubována při 37°C po dobu 24 hod. Dále bylo připraveno 5 x 50 ml sterilního bujónu. Do 2 lahvíček s bujónem byl přidán pouze 40% ethanol a to v množství 5,5 ml a 33,3 ml. Do dalších dvou lahvíček s bujónem byl přidán 40% ethanolový extrakt *Tecome lapacho* tak, aby jeho koncentrace v bujónu byla 0,1 % (odpovídá množství 5,5 ml) a 0,4 % (odpovídá 33,3 ml). Zároveň byl připraven kontrolní vzorek, který neobsahoval ani 40% ethanol ani 40% ethanolový extrakt *Tecome lapacho*. Ke všem vzorkům byla přidána kultura *Staphylococcus aureus* v množství 500 µl. Vzorky byly inkubovány při 37°C po dobu 24 hod. Poté byla z každého vzorku provedena příslušná ředění a ta se očkovala v množství 100 µl na Petriho misky s masopeptonovým agarem (MPA č. 1). Poté opět následovala inkubace při 37°C po dobu 24 hod. Po uplynulé době následoval odečet kolonií. Cílem pokusu bylo zjistit, zda ethanolový výluh *Tecome lapacho* vykazuje antibakteriální účinky na kulturu *Staphylococcus aureus*.

10.7.2.2 Aplikace extraktu *Tecome lapacho* na *Staphylococcus aureus* metodou v bujónu – vlastní experiment

Část A:

Ethanolový extrakt *Tecome lapacho* byl připraven postupem uvedeným v kapitole 10.4.2.2 v části A.

Do 10 ml pomnožovacího bujónu byla sterilní kličkou přeočkována kultura *Staphylococcus aureus*, která byla následně inkubována při 37°C po dobu 24 hod. Dále bylo připraveno 5 x 50 ml sterilního bujónu. Do čtyř lahviček s bujónem byl přidán 40% ethanolový extrakt *Tecome lapacho* tak, aby jeho koncentrace v bujónu byla 0,1; 0,25; 0,5; a 1,0 %. Zároveň byl připraven kontrolní vzorek, který 40% ethanolový extrakt *Tecome lapacho* neobsahoval. Ke všem vzorkům byla přidána kultura *Staphylococcus aureus* v množství 500 µl. Vzorky byly inkubovány při 37°C po dobu 24 hod. Poté byla z každého vzorku provedena příslušná ředění a ta se očkovala v množství 100 µl na Petriho misky s masopeptonovým agarem (MPA č. 1). Poté opět následovala inkubace při 37°C po dobu 24 hod. Po uplynulé době následoval odečet kolonií.

Část B:

Ethanolový extrakt *Tecome lapacho* byl připraven postupem uvedeným v kapitole 10.4.2.2 v části B.

Do 10 ml pomnožovacího bujónu byla sterilní kličkou přeočkována kultura *Staphylococcus aureus*, která byla následně inkubována při 37°C po dobu 24 hod. Dále bylo připraveno 4 x 50 ml sterilního bujónu. Do tří lahviček s bujónem byl přidán extrakt *Tecome lapacho* tak, aby jeho koncentrace v bujónu byla 0,5; 1,0; a 1,5 %. Zároveň byl připraven kontrolní vzorek, který extrakt *Tecome lapacho* neobsahoval. Ke všem vzorkům byla přidána kultura *Staphylococcus aureus* v množství 500 µl. Vzorky byly inkubovány při 37°C po dobu 24 hod. Poté byla z každého vzorku provedena příslušná ředění a ta se očkovala v množství 100 µl na Petriho misky s masopeptonovým agarem (MPA č. 1). Poté opět následovala inkubace při 37°C po dobu 24 hod. Po uplynulé době následoval odečet kolonií.

Část C:

Vodný výluh *Tecome lapacho* byl připraven postupem uvedeným v kapitole 10.4.2.2 v části C.

Do 10 ml pomnožovacího bujónu byla sterilní kličkou přeočkována kultura *Staphylococcus aureus*, která byla následně inkubována při 37°C po dobu 24 hod. Dále bylo připraveno 4 x 50 ml sterilního bujónu. Do tří lahviček s bujónem byl přidán extrakt *Tecome lapacho* tak, aby jeho koncentrace v bujónu byla 0,5; 1,0; a 1,5 %. Zároveň byl připraven kontrolní vzorek, který extrakt *Tecome lapacho* neobsahoval. Ke všem vzorkům byla přidána kultura *Staphylococcus aureus* v množství 500 µl. Vzorky byly inkubovány při 37°C po dobu 24 hod. Poté byla z každého vzorku provedena příslušná ředění a ta se očkovala v množství 100 µl na Petriho misky s masopeptonovým agarem (MPA č. 1). Poté opět následovala inkubace při 37°C po dobu 24 hod. Po uplynulé době následoval odečet kolonií.

10.8 Antimykotický účinek extraktu *Tecome lapacho* na *Candida albicans*

Pro testování antimykotického účinku extraktu *Tecome lapacho* byla použita metoda nazvána jako „metoda roztěrem na půdu“.

10.8.1 Aplikace extraktu *Tecome lapacho* na *Candida albicans*

„metodou roztěrem na půdu“

Pomnožovací bujón byl připraven postupem uvedeným v kapitole 10.4.2. Stejně tak oživení kultury přeočkováním na Petriho misku bylo provedeno postupem uvedeným v této kapitole.

Příprava Sabouraud dextrose agaru:

S přesností na 0,01 g bylo naváženo 65,0 g Sabouraud dextrose agaru do 1000 ml odměrné baňky, která byla po rysku doplněna destilovanou vodou. Agar byl po rozpuštění rozdělen do tří lahviček. Následně byl k agaru přidán 40% ethanolový extrakt *Tecome lapacho* tak, aby jeho celková koncentrace v agaru byla 0,5; 1,0; a 1,5 %. Směs byla sterilována v autoklávu při 121 °C po dobu 15 min.

10.8.1.1 Aplikace extraktu *Tecome lapacho* na *Candida albicans* metodou roztěrem na půdu – vlastní experiment

Část A:

Ethanolový extrakt *Tecome lapacho* byl připraven postupem uvedeným v kapitole 10.4.2.2 v části A.

Do 10 ml pomnožovacího bujónu byla sterilní kličkou přeočkována kultura *Candida albicans*, která byla následně inkubována při 30°C po dobu 24 hod. Poté byla provedena příslušná ředění a ta se očkovala v množství 100 µl na Petriho misky se Sabouraud dextrose agarem, který byl při přípravě smíchán s ethanolovým extraktem *Tecome lapacho* tak, aby jeho celková koncentrace v agaru byla 0,5; 1,0; a 1,5 %. Zároveň byla příslušná ředění očkovaná v množství 100 µl na Petriho misky s kontrolní půdou, která extrakt neobsahovala. Poté opět následovala inkubace při 30°C po dobu 24 hod. Po uplynulé době následoval odečet kolonií.

Část B:

Vodný výluh *Tecome lapacho* byl připraven postupem uvedeným v kapitole 10.4.2.2 v části C.

Do 10 ml pomnožovacího bujónu byla sterilní kličkou přeočkována kultura *Candida albicans*, která byla následně inkubována při 30°C po dobu 24 hod. Poté byla provedena příslušná ředění a ta se očkovala v množství 100 µl na Petriho misky se Sabouraud dextrose agarem, který byl při přípravě smíchán s vodným extraktem *Tecome lapacho* tak, aby jeho výsledná koncentrace v agaru byla 0,5; 1,0; a 1,5 %. Zároveň byla příslušná ředění očkovaná v množství 100 µl na Petriho misky s kontrolní půdou, která extrakt neobsahovala. Poté opět následovala inkubace při 30°C po dobu 24 hod. Po uplynulé době následoval odečet kolonií.

10.9 Statistický počítačový program STATVYD

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

Při vyhodnocování dat se postupovalo následujícím způsobem. Nejprve byl z nabídky modulů vybrán modul analýza rozptylu, který zahrnuje jednofaktorovou analýzu rozptylu. Jedná se o testování významnosti odchylek hodnot mezi více než dvěma výběrovými soubory. Mezi dále nabízenými metodami byla zvolena neparametrická analýza, ve které lze zadat 3 až 20 výběrových souborů, přičemž každý může zahrnovat až 200 dat. V tomto případě se pracovalo se 4 až 7 výběrovými soubory. Množství dat bylo různé. Program následně vyhodnotí, zda existují mezi srovnávanými soubory statisticky významné rozdíly.

Tzn. software vyhodnotí, zda se hypotéza o shodě hodnot přijímá nebo zamítá. Pokud je hypotéza zamítnuta, je vhodné zabývat se tím, které soubory se od sebe liší.

Program poskytuje tři možnosti testování dvojic. V tomto případě bylo zvoleno srovnávání dvojic pro hladinu významnosti $\alpha = 0,05$ pro stejné rozsahy výběrů s max. 25 pozorováními v jednom výběru a pro počet výběrů menší než 11. Samotné vyhodnocení je provedeno Kruskal-Wallisovým testem. Následně se zobrazí tabulka, která má v záhlaví i v legendě čísla výběrových souborů. V průsečících jsou pak výsledky testů v podobě písmen S, R. Zobrazí-li se „S“, pak na hladině významnosti nebyl shledán statisticky významný rozdíl mezi hodnotami srovnávaných souborů. Zobrazí-li se „R“, pak na hladině významnosti existuje statisticky významný rozdíl mezi hodnotami srovnávaných souborů.

11 VÝSLEDKY A DISKUSE

11.1 Výsledky přípravy extraktu *Tecome lapacho*

11.1.1 Výsledky přípravy acetonového extraktu *Tecome lapacho*

Při extrakci acetonem nedošlo po 14 dnech k žádnému výraznému zbarvení. Koncentrace 5 g.l^{-1} byla nízká a výsledné zbarvení extraktu bylo velmi mírně nažloutlé, přičemž nebyl zjištěn významný rozdíl mezi uchováním extraktu na denním světle při pokojové teplotě (20°C), uchováním ve tmě a uložením extraktu do termostatu při teplotě 37°C . Při použití většího množství kůry *Tecome lapacho* – koncentrace 10 g.l^{-1} vzniklo po 14 dnech mírně hnědé zbarvení, a to u extraktu uloženého ve tmě. Extrakty uložené na denním světle při pokojové teplotě a v termostatu neměly vliv na zbarvení. Takové extrakty byly jen velmi světle žlutého odstínu. Aceton nebyl vyhodnocen jako vhodné extrakční činidlo.

11.1.2 Výsledky přípravy hexanového extraktu *Tecome lapacho*

Extrakce hexanem neměla žádný vliv na zbarvení roztoku. Extrakt byl i po 14 dnech nezabarvený a naprosto čirý. Nebyl shledán žádný rozdíl mezi použitými koncentracemi a ani různými metodami uchování extraktu. Hexan je pro extrakci látek z kůry stromu *Tecoma lapacho* nevhodné extrakční činidlo.

11.1.3 Výsledky přípravy ethanolového extraktu *Tecome lapacho*

40% ethanol byl vyhodnocen jako nejvhodnější extrakční činidlo. Obě použité koncentrace (5 g.l^{-1} a 10 g.l^{-1}) byly dostatečné, aby intenzita zbarvení extraktu byla silná (dohněda). Jako nejvhodnější metoda uchování extraktu po dobu testovaných 14 dní byla zvolena metoda uchování ve tmě. Takto připravený extrakt byl tmavě hnědě zbarvený, zakalený, charakteristické dřevnaté vůně po *Tecome lapacho* a ethanolu. 40% ethanol byl zvolen jako vhodné extrakční činidlo pro přípravu extraktu *Tecome lapacho*. Tento extrakt byl následně zkoumán pro jeho antibakteriální vlastnosti.

Při extrakci 100% ethanolem došlo při použití koncentrace 5 g.l⁻¹ pomocí obou metod (uložení na denním světle při pokojové teplotě a ve tmě) ke stejné světle žlutému zbarvení. Při koncentraci 10 g.l⁻¹ vzniklo tmavší žluto-hnědé zbarvení. Zbarvení ale nebylo natolik intenzivní, aby 100% ethanol byl zvolen za vhodné extrakční činidlo.

11.1.4 Výsledky přípravy vodného výluhu *Tecome lapacho*

Vodný výluh se po 14 dnech zbarvil dožluta. Výraznější zbarvení vzniklo při použití koncentrace 10 g.l⁻¹. Vodný výluh byl také zvolen k testování antibakteriálního účinku *Tecome lapacho*.

11.2 Výsledky měření antibakteriálního účinku extraktu *Tecome lapacho* „diskovou difúzní metodou“

Vyhodnocení citlivosti testovaných bakteriálních kmenů k extraktu *Tecome lapacho*.

Tab. 6: Změřený průměr zón inhibice okolo každého disku u vybraných druhů bakterií v [mm]

	<i>Bacillus cereus</i>		<i>Escherichia coli</i>		<i>Shigella flexneri</i>		<i>Staphylococcus aureus</i>	
	Část A	Část B	Část A	Část B	Část A	Část B	Část A	Část B
K	–	5	–	–	5	5	–	–
0,5 %	–	–	–	–	6	6	–	–
1,0 %	–	–	–	–	6	6	–	–
1,5 %	–	–	–	–	7	6	–	–
2,0 %	–	13	–	–	7	7	–	–
3,0 %	–	–	–	–	7	7	–	–
5,0 %	–	–	–	–	7	8	–	–

K – kontrolní vzorek

Výsledky prokázaly citlivost pouze bakteriálního kmene *Shigella flexneri* k extraktu *Tecome lapacho*. Tato bakterie vykazala citlivost k ethanolovému extraktu i k vodnému výluhu.

U bakterie *Bacillus cereus* byla inhibiční zóna naměřena okolo disku, který byl napuštěn 2% vodným výluhem.

U ostatních bakteriálních kmenů nebyla diskovou difúzní metodou prokázána citlivost k extraktu *Tecome lapacho*. Důvodem mohly být nedostatečné laboratorní podmínky.

11.3 Výsledky měření antibakteriálního účinku extraktu *Tecome lapacho* na *Bacillus cereus* „metodou v bujónu“

Vyhodnocení pilotního pokusu

Ethanolový extrakt *Tecome lapacho* prokázal inhibiční účinky na bakteriální kmen *Bacillus cereus*. Na základě výsledků byly zvoleny pro další testování účinku ethanolového extraktu následující koncentrace: 0,1; 0,25; 0,5; a 1 obj. %.

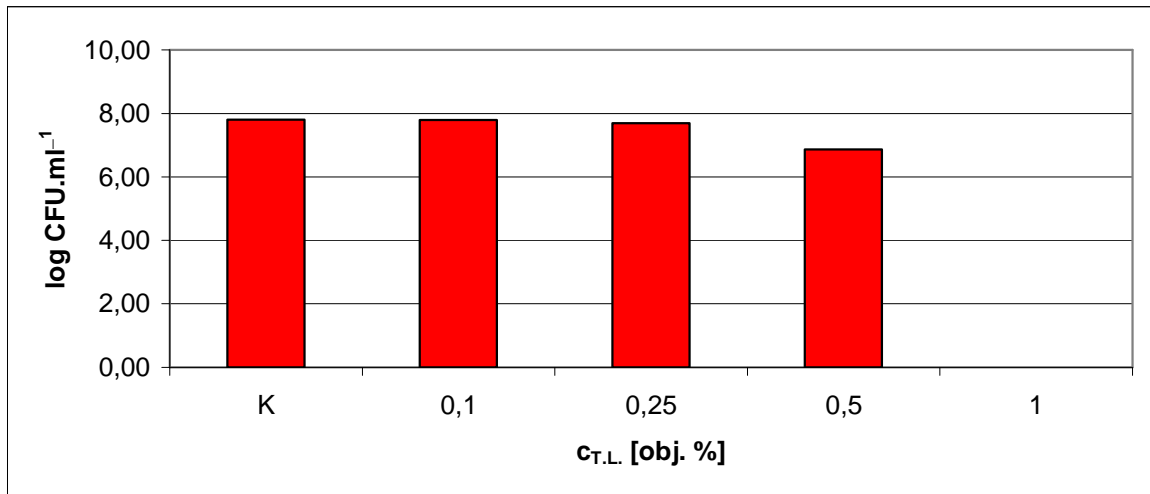
Vyhodnocení vlastního experimentu - část A:

Tab. 7: Vyhodnocení počtu buněk *Bacillus cereus* na MPA č. 1 - část A

$c_{T.L.}$ [obj. %]	K	0,1	0,25	0,5	1
CFU.ml⁻¹	$6,45 \cdot 10^7$	$6,20 \cdot 10^7$	$5,00 \cdot 10^7$	$7,25 \cdot 10^6$	0
log CFU.ml⁻¹	7,81	7,80	7,70	6,86	-

$c_{T.L.}$ [obj. %] – koncentrace *Tecome lapacho* [obj. %]

K – kontrolní vzorek



Obr. 8: Závislost log CFU.ml⁻¹ *Bacillus cereus* na koncentraci *Tecome lapacho* - část A

Statistické vyhodnocení:

Tab. 8: Antibakteriální účinek *Tecome lapacho* na *Bacillus cereus* -

Kruskal-Wallisův test

Výběry	Výběry				
	K	0,1 %	0,25 %	0,5 %	1 %
K					
0,1 %	S				
0,25 %	S	S			
0,5 %	S	S	S		
1 %	R	R	S	S	

S – nebyl shledán statisticky významný rozdíl

R – byl shledán statisticky významný rozdíl

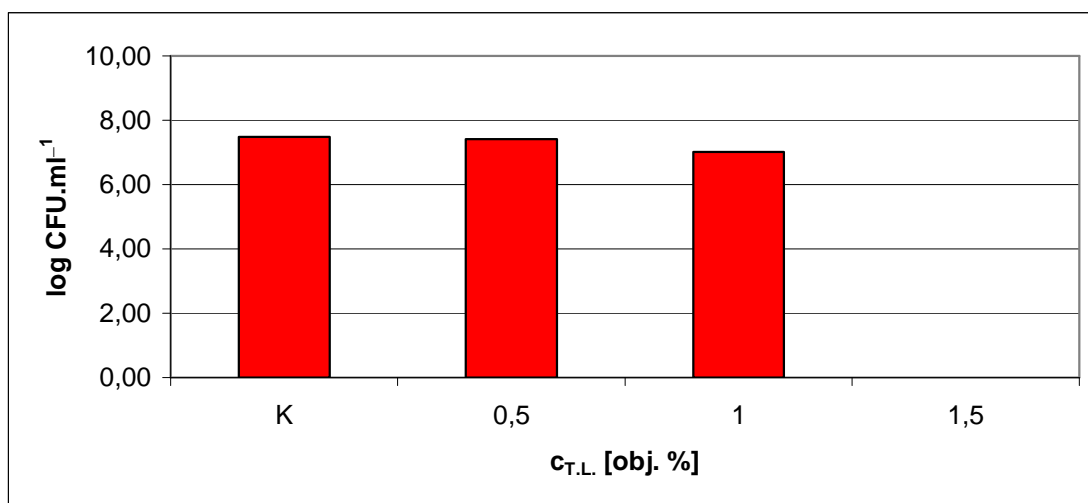
V tomto případě byly hodnoceny statisticky významné rozdíly pouze mezi kontrolním vzorkem a příslušnými koncentracemi extraktu *Tecome lapacho*, nikoliv mezi koncentracemi navzájem.

Na hladině významnosti 5 % existuje statisticky významný rozdíl mezi kontrolním vzorkem a koncentrací extraktu *Tecome lapacho* 1 obj. %. Při této koncentraci byl růst bakterie *Bacillus cereus* zcela potlačen.

Vyhodnocení vlastního experimentu - část B:

Tab.9 : Vyhodnocení počtu buněk *Bacillus cereus* na MPA č. 1 - část B

$c_{T.L.}$ [obj. %]	K	0,5	1	1,5
CFU.ml ⁻¹	$3,06 \cdot 10^7$	$2,60 \cdot 10^7$	$1,03 \cdot 10^7$	0
log CFU.ml ⁻¹	7,48	7,41	7,01	-

Obr. 9: Závislost log CFU.ml⁻¹ *Bacillus cereus* na koncentraci *Tecome lapacho* - část B

Statistické vyhodnocení:

Tab. 10: Antibakteriální účinek *Tecome lapacho* na *Bacillus cereus* –

Kruskal-Wallisův test

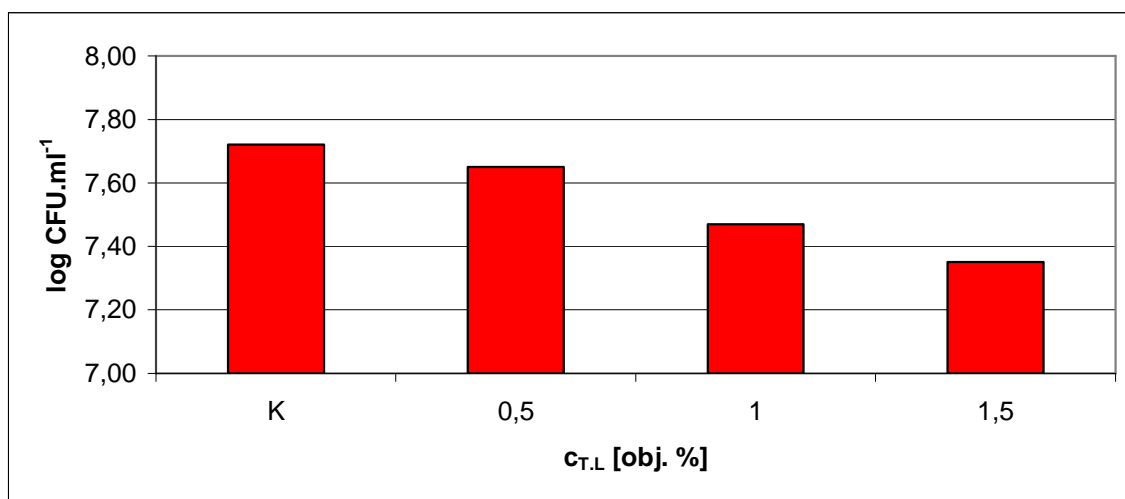
Výběry	Výběry			
	K	0,5 %	1 %	1,5 %
K				
0,5 %	S			
1 %	S	S		
1,5 %	R	R	S	

Na hladině významnosti 5 % existuje statisticky významný rozdíl. Koncentrace 1,5 obj. % extraktu *Tecome lapacho* prokázala zcela inhibiční účinek na růst bakterie *Bacillus cereus*.

Vyhodnocení vlastního experimentu - část C:

Tab.11 : Vyhodnocení počtu buněk *Bacillus cereus* na MPA č. 1 - část C

c _{T,L} [obj. %]	K	0,5	1	1,5
CFU.ml ⁻¹	5,20.10 ⁷	4,50.10 ⁷	2,95.10 ⁷	2,25.10 ⁷
log CFU.ml ⁻¹	7,72	7,65	7,47	7,35

Obr. 10: Závislost log CFU.ml⁻¹ *Bacillus cereus* na koncentraci *Tecome lapacho* - část C

Statistické vyhodnocení:

Tab. 12: Antibakteriální účinek *Tecome lapacho* na *Bacillus cereus* –
Kruskal-Wallisův test

Výběry	Výběry			
	K	0,5 %	1 %	1,5 %
K				
0,5 %	S			
1 %	S	S		
1,5 %	R	S	S	

Na hladině významnosti 5 % existuje statisticky významný rozdíl mezi kontrolním vzorkem a koncentrací extraktu *Tecome lapacho* 1,5 obj. %.

Zhodnocení efektivity jednotlivých metod

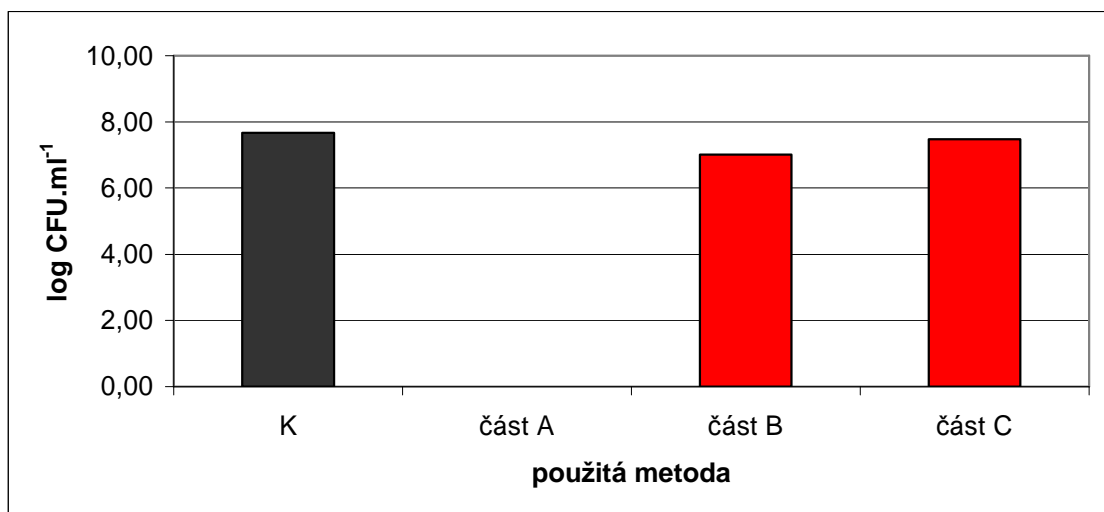
Pro testování antibakteriálního účinku rostliny *Tecome lapacho* byly zvoleny 3 metody, označené jako část A, část B, část C:

Část A – použití 40% ethanolového extraktu *Tecome lapacho*;

Část B – použití 40% ethanolového extraktu, ethanol byl následně odpařen a extrakt byl doplněn destilovanou vodou;

Část C – použití vodného výluhu.

Jako srovnávací koncentrace extraktu pro všechny 3 metody byla zvolena koncentrace 1 obj. %. Tato koncentrace byla nejvyšší společnou zkoušenou koncentrací u všech metod.



Obr. 11: Grafické zhodnocení efektivity použitých metod – pro koncentraci 1 obj. %

Z grafu je patrné, že při použité koncentraci 1 obj. % byla nejúčinnější metoda s použitím 40% ethanolového extraktu – část A, kdy došlo k úplné inhibici růstu bakteriálního kmene *Bacillus cereus*. Méně účinná byla metoda označená jako část B, nejméně efektivní byla metoda s použitím vodného výluhu – část C.

11.4 Výsledky měření antibakteriálního účinku extraktu *Tecome lapacho* na *Escherichia coli* „metodou v bujónu“

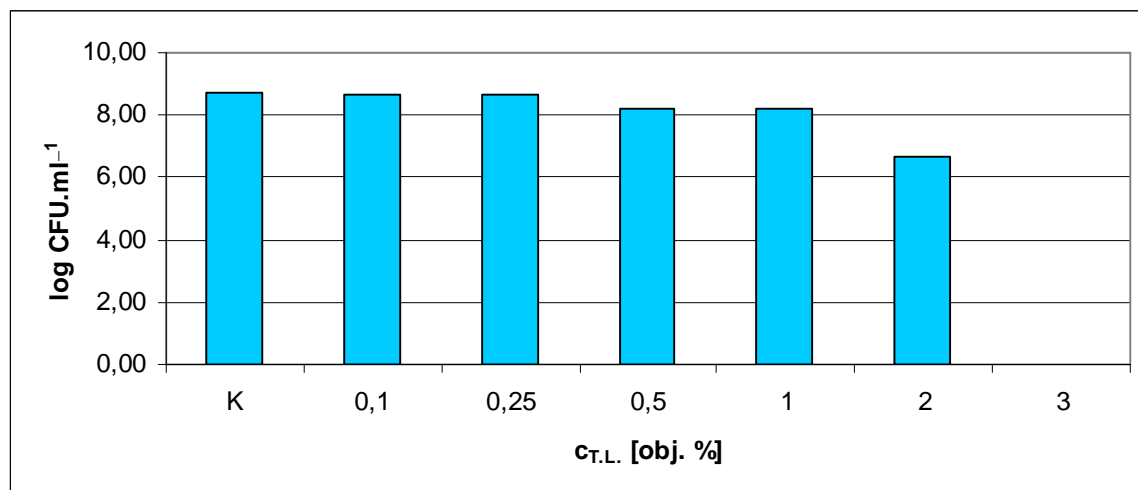
Vyhodnocení pilotního pokusu

Citlivost bakteriálního kmene *Escherichia coli* k ethanolovému extraktu *Tecome lapacho* byla prokázána. Na základě výsledků byly zvoleny pro další testování účinku ethanolového extraktu následující koncentrace: 0,1; 0,25; 0,5; 1,0; 2,0; a 3,0 obj. %.

Vyhodnocení vlastního experimentu - část A:

Tab. 13: Vyhodnocení počtu buněk *Escherichia coli* na MPA č. 1 - část A

c _{T.L.} [obj. %]	K	0,1	0,25	0,5	1	2	3
CFU.ml ⁻¹	5,32.10 ⁸	4,70.10 ⁸	4,32.10 ⁸	1,67.10 ⁸	1,55.10 ⁸	4,67.10 ⁶	0
log CFU.ml ⁻¹	8,73	8,67	8,64	8,22	8,19	6,67	-



Obr. 12: Závislost log CFU.ml⁻¹ *Escherichia coli* na koncentraci *Tecome lapacho* - část A

Statistické vyhodnocení:

Tab. 14: Antibakteriální účinek *Tecome lapacho* na *Escherichia coli* –
Kruskal-Wallisův test

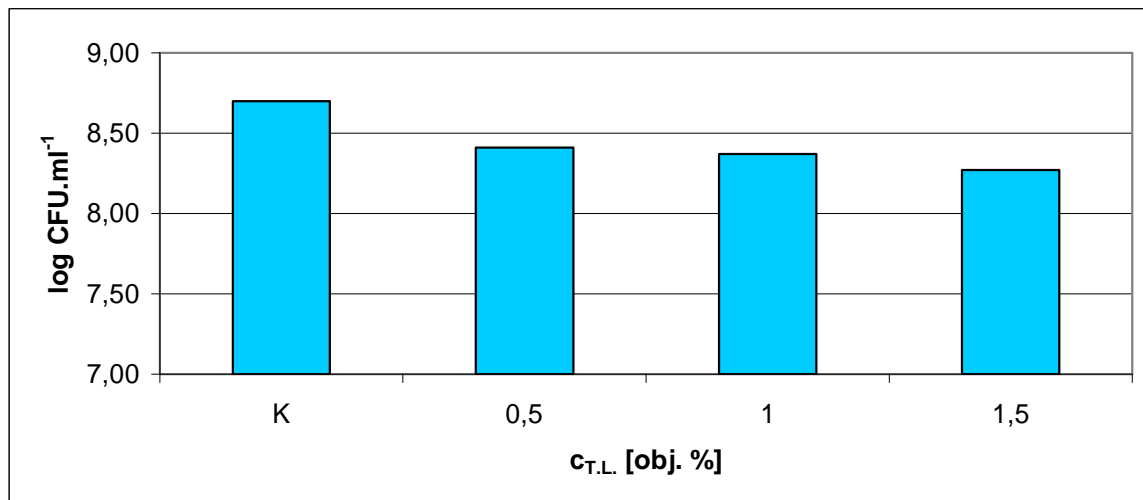
Výběry	Výběry						
	K	0,1 %	0,25 %	0,5 %	1 %	2 %	3 %
K							
0,1 %	S						
0,25 %	S	S					
0,5 %	S	S	S				
1 %	S	S	S	S			
2 %	R	S	S	S	S		
3 %	R	R	R	S	S	S	

Na hladině významnosti 5 % existují statisticky významné rozdíly. Významné snížení počtu kolonií bylo zaznamenáno již při 2 obj. % extraktu *Tecome lapacho*. Při koncentraci 3 obj. % extraktu *Tecome lapacho* došlo k úplnému potlačení růstu bakteriálního kmene *Escherichia coli*.

Vyhodnocení vlastního experimentu - část B:

Tab.15 : Vyhodnocení počtu buněk *Escherichia coli* na MPA č. 1 - část B

c _{T.L.} [obj. %]	K	0,5	1	1,5
CFU.ml ⁻¹	5,07.10 ⁸	2,60.10 ⁸	2,32.10 ⁸	1,86.10 ⁸
log CFU.ml ⁻¹	8,70	8,41	8,37	8,27



Obr. 13: Závislost log CFU.ml⁻¹ *Escherichia coli* na koncentraci *Tecome lapacho* - část B

Statistické vyhodnocení:

Tab. 16: Antibakteriální účinek *Tecome lapacho* na *Escherichia coli* –
Kruskal-Wallisův test

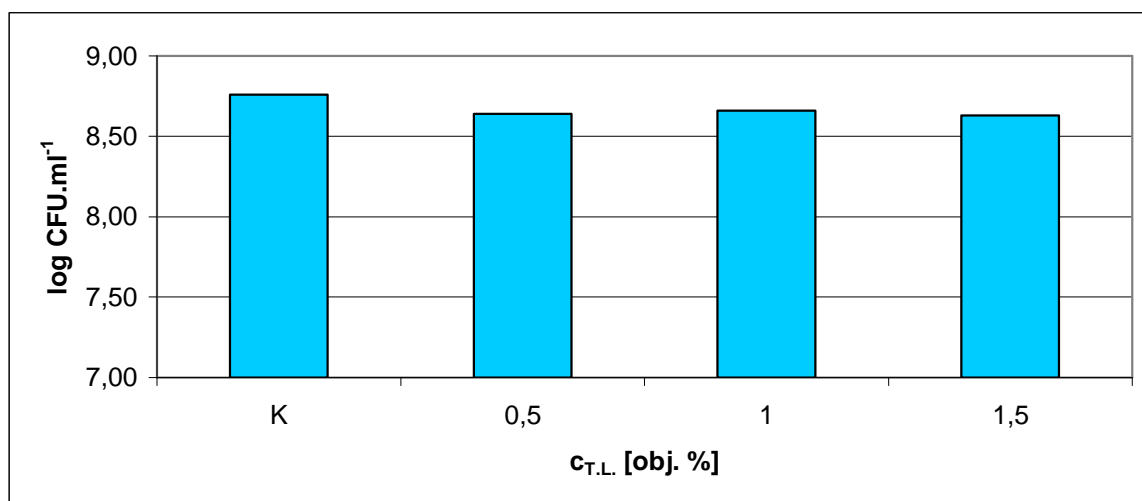
Výběry	Výběry			
	K	0,5 %	1 %	1,5 %
K				
0,5 %	S			
1 %	S	S		
1,5 %	S	S	S	

Na hladině významnosti 5 % neexistují statisticky významné rozdíly mezi kontrolním vzorkem a jednotlivými koncentracemi extraktu *Tecome lapacho*. Zkoušené koncentrace nesnížily počet kolonií bakteriálního kmene *Escherichia coli* ani o celý řád.

Vyhodnocení vlastního experimentu - část C:

Tab.17 : Vyhodnocení počtu buněk *Escherichia coli* na MPA č. 1 - část C

c _{T.L.} [obj. %]	K	0,5	1	1,5
CFU.ml ⁻¹	5,78.10 ⁸	4,37.10 ⁸	4,53.10 ⁸	4,22.10 ⁸
log CFU.ml ⁻¹	8,76	8,64	8,66	8,63

Obr. 14: Závislost log CFU.ml⁻¹ *Escherichia coli* na koncentraci *Tecome lapacho* - část C

Statistické vyhodnocení:

Tab. 18: Antibakteriální účinek *Tecome lapacho* na *Escherichia coli* –

Kruskal-Wallisův test

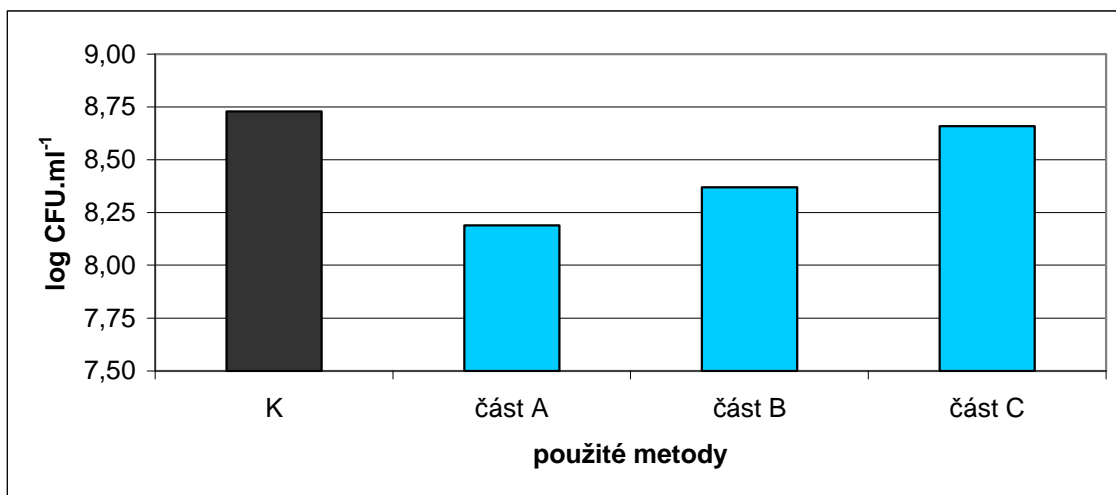
Výběry	Výběry			
	K	0,5 %	1 %	1,5 %
K				
0,5 %	S			
1 %	S	S		
1,5 %	S	S	S	

Na hladině významnosti 5 % neexistují statisticky významné rozdíly mezi kontrolním vzorkem a příslušnými koncentracemi.

Zhodnocení efektivnosti jednotlivých metod

Pro testování antibakteriálního účinku rostliny *Tecome lapacho* byly zvoleny 3 metody, označené jako část A, část B, část C.

Jako srovnávací koncentrace extraktu pro všechny 3 metody byla zvolena koncentrace 1 obj. %. Tato koncentrace byla nejvyšší společnou zkoušenou koncentrací u všech metod.



Obr. 15: Grafické zhodnocení efektivnosti použitých metod – pro koncentraci 1 obj. %

Ze zkoušených metod pro koncentraci 1 obj. % extraktu *Tecome lapacho* byla neúčinnější metoda, označená jako část A, dále část B a nejméně účinná na bakteriální kmen *Escherichia coli* byla metoda označená jako část C.

11.5 Výsledky měření antibakteriálního účinku extraktu *Tecome lapacho* na *Shigella flexneri* „metodou v bujónu“

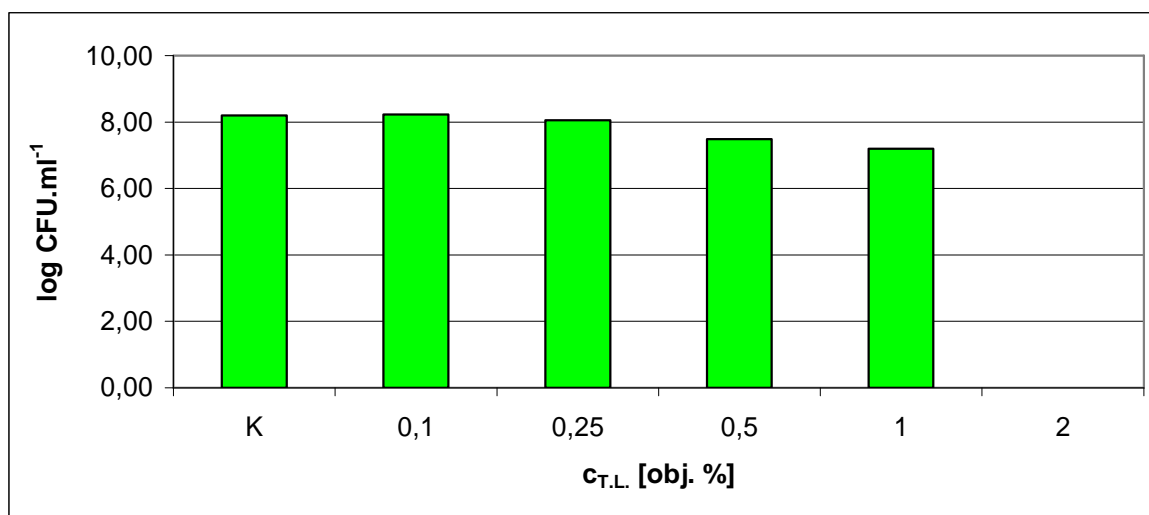
Vyhodnocení pilotního pokusu

Bakteriální kmen *Shigella flexnerii* byl ethanolovým extraktem *Tecome lapacho* potlačen a antibakteriální vlastnosti extraktu, tak byly prokázány. Na základě výsledků byly zvoleny pro další testování účinku ethanolového extraktu následující koncentrace: 0,1; 0,25; 0,5; 1,0 a 2,0 obj. %.

Vyhodnocení vlastního experimentu - část A:

Tab. 19: Vyhodnocení počtu buněk *Shigella flexneri* na MPA č. 1 - část A

c _{T.L.} [obj. %]	K	0,1	0,25	0,5	1	2
CFU.ml ⁻¹	1,58.10 ⁸	1,70.10 ⁸	1,14.10 ⁸	3,05.10 ⁷	1,53.10 ⁷	0
log CFU.ml ⁻¹	8,20	8,23	8,06	7,48	7,19	-

Obr. 16: Závislost log CFU.ml⁻¹ *Shigella flexneri* na koncentraci *Tecome lapacho* - část A

Statistické vyhodnocení:

Tab. 20: Antibakteriální účinek *Tecome lapacho* na *Shigella flexneri*–

Kruskal-Wallisův test

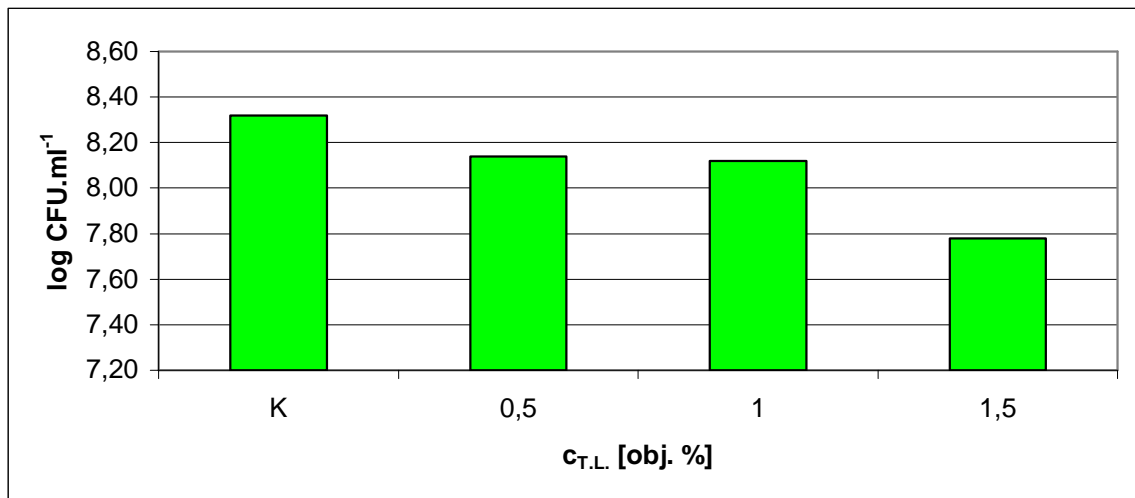
Výběry	Výběry					
	K	0,1 %	0,25 %	0,5 %	1 %	2 %
K						
0,1 %	S					
0,25 %	S	S				
0,5 %	S	S	S			
1 %	S	R	S	S		
2 %	R	R	S	S	S	

Na hladině významnosti 5 % existuje statisticky významný rozdíl mezi kontrolním vzorkem a 2 obj. % extraktu *Tecome lapacho*. Při této koncentraci byl růst bakterie *Shigella flexneri* zcela potlačen.

Vyhodnocení vlastního experimentu - část B:

Tab.21 : Vyhodnocení počtu buněk *Shigella flexneri* na MPA č. 1 - část B

$c_{T.L.}$ [obj. %]	K	0,5	1	1,5
CFU.ml ⁻¹	$2,07 \cdot 10^8$	$1,37 \cdot 10^8$	$1,31 \cdot 10^8$	$6,05 \cdot 10^7$
log CFU.ml ⁻¹	8,32	8,14	8,12	7,78



Obr. 17: Závislost log CFU.ml⁻¹ *Shigella flexneri* na koncentraci *Tecome lapacho* - část B

Statistické vyhodnocení:

Tab. 22: Antibakteriální účinek *Tecome lapacho* na *Shigella flexneri* –

Kruskal-Wallisův test

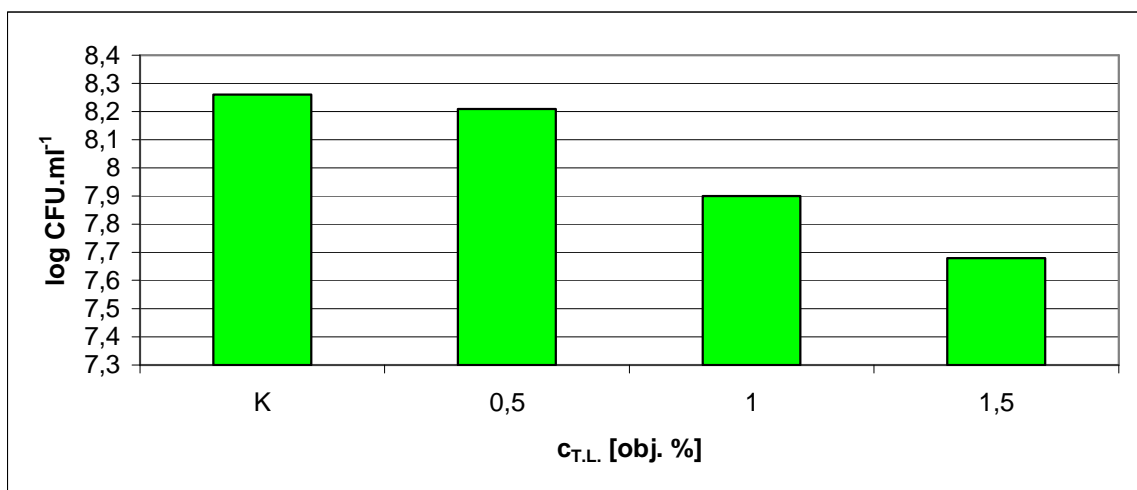
Výběry	Výběry			
	K	0,5 %	1 %	1,5 %
K				
0,5 %	S			
1 %	S	S		
1,5 %	R	S	S	

Na hladině významnosti 5 % existuje statisticky významný rozdíl mezi kontrolním vzorkem a 1,5 obj. % extraktu *Tecome lapacho*.

Vyhodnocení vlastního experimentu - část C:

Tab.23 : Vyhodnocení počtu buněk *Shigella flexneri* na MPA č. 1 - část C

c _{T.L.} [obj. %]	K	0,5	1	1,5
CFU.ml ⁻¹	1,80.10 ⁸	1,62.10 ⁸	8,00.10 ⁷	4,80.10 ⁷
log CFU.ml ⁻¹	8,26	8,21	7,90	7,68



Obr. 18: Závislost log CFU.ml⁻¹ *Shigella flexneri* na koncentraci *Tecome lapacho* - část C

Statistické vyhodnocení:

Tab. 24: Antibakteriální účinek *Tecome lapacho* na *Shigella flexneri* –

Kruskal-Wallisův test

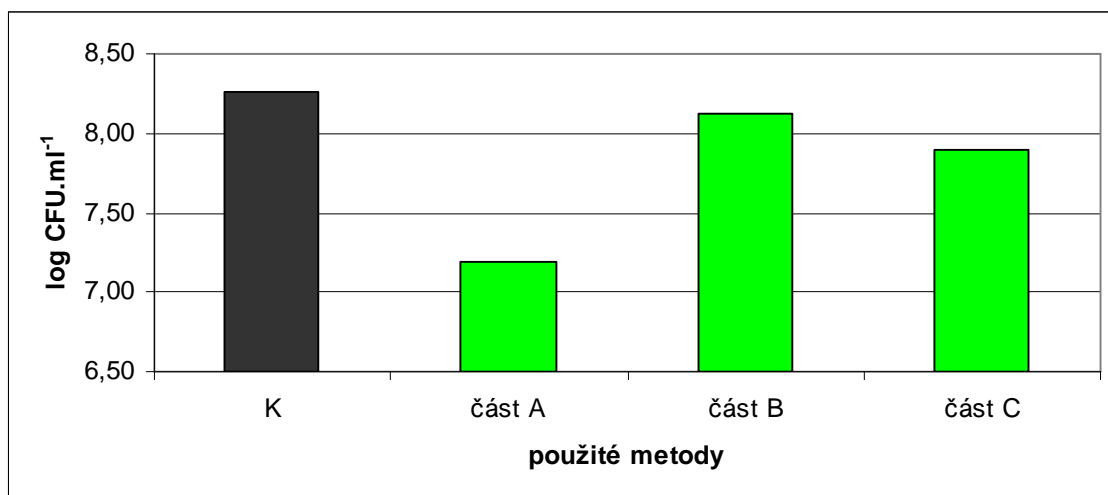
Výběry	Výběry			
	K	0,5 %	1 %	1,5 %
K				
0,5 %	S			
1 %	S	S		
1,5 %	R	S	S	

Na hladině významnosti 5 % byl zjištěn statisticky významný rozdíl, a to mezi kontrolním vzorkem a 1,5 obj. % extraktu *Tecome lapacho*.

Zhodnocení efektivity jednotlivých metod

Pro testování antibakteriálního účinku rostliny *Tecome lapacho* byly zvoleny 3 metody, označené jako část A, část B, část C.

Jako srovnávací koncentrace extraktu pro všechny 3 metody byla zvolena koncentrace 1 obj. %. Tato koncentrace byla nejvyšší společnou zkoušenou koncentrací u všech metod.



Obr. 19: Grafické zhodnocení efektivity použitých metod – pro koncentraci 1 obj. %

K největšímu poklesu hodnot oproti kontrolnímu vzorku došlo při použití metody, označené jako část A, dále v experimentální části C a k nejmenšímu poklesu hodnot pro koncentraci 1 obj. % došlo při použití metody, označené jako část B.

11.6 Výsledky měření antibakteriálního účinku extraktu *Tecome lapacho* na *Staphylococcus aureus* „metodou v bujónu“

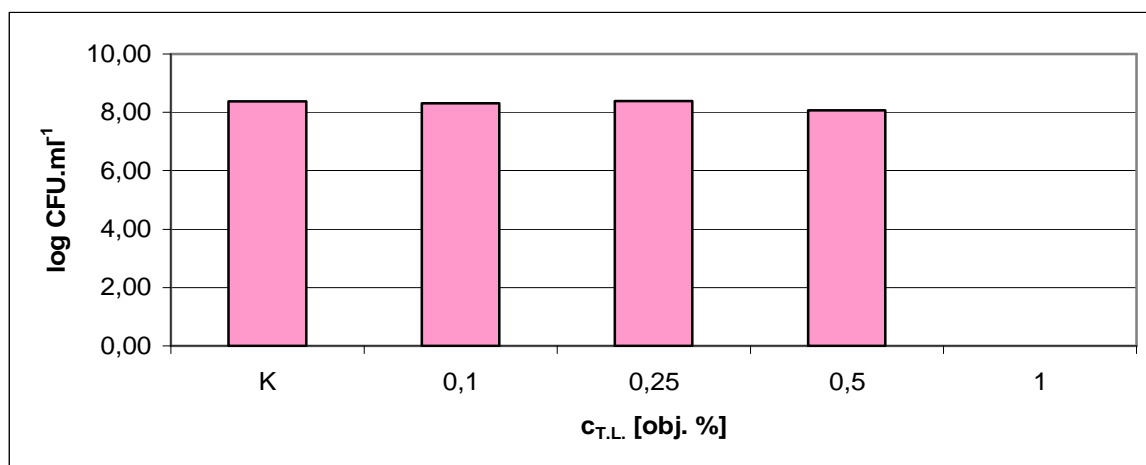
Vyhodnocení pilotního pokusu

Citlivost bakteriálního kmene *Staphylococcus aureus* k ethanolovému extraktu *Tecome lapacho* byla prokázána. Na základě výsledků byly zvoleny pro další testování účinku ethanolového extraktu následující koncentrace: 0,1; 0,25; 0,5; a 1,0 obj. %.

Vyhodnocení vlastního experimentu - část A:

 Tab. 25: Vyhodnocení počtu buněk *Staphylococcus aureus* na MPA č. 1 - část A

$c_{T.L.}$ [obj. %]	K	0,1	0,25	0,5	1
CFU.ml ⁻¹	$2,42 \cdot 10^8$	$2,03 \cdot 10^8$	$2,45 \cdot 10^8$	$1,15 \cdot 10^8$	0
log CFU.ml ⁻¹	8,38	8,31	8,39	8,06	-


 Obr. 20: Závislost log CFU.ml⁻¹ *Staphylococcus aureus* na koncentraci *Tecome lapacho* - část A

Statistické vyhodnocení:

 Tab. 26: Antibakteriální účinek *Tecome lapacho* na *Staphylococcus aureus* - Kruskal-Wallisův test

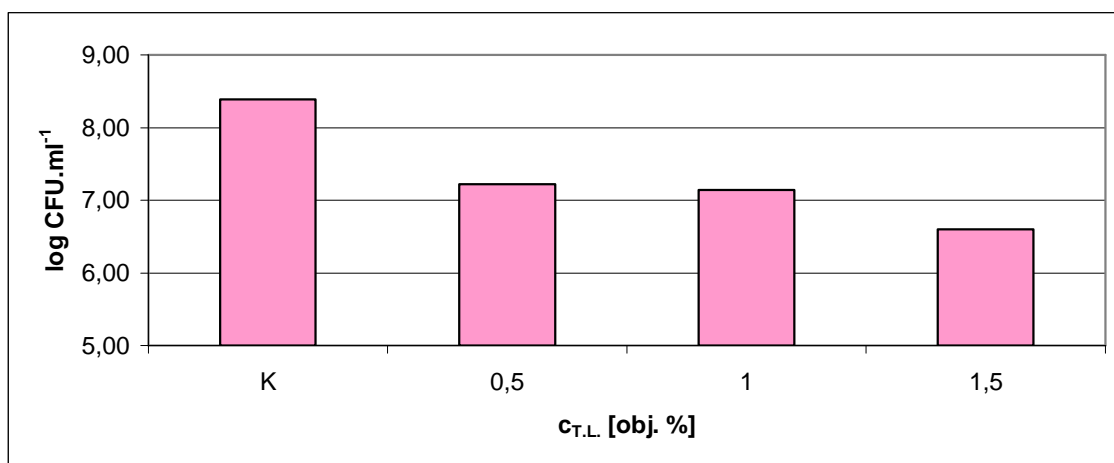
Výběry	Výběry				
	K	0,1 %	0,25 %	0,5 %	1 %
K					
0,1 %	S				
0,25 %	S	S			
0,5 %	S	S	S		
1 %	R	S	R	S	

Na hladině významnosti existuje statisticky významný rozdíl mezi kontrolním vzorkem a 1 obj. % extraktu *Tecome lapacho*. Tato koncentrace znamenala úplné potlačení růstu bakteriálního kmene *Staphylococcus aureus*.

Vyhodnocení vlastního experimentu - část B:

Tab. 27 : Vyhodnocení počtu buněk *Staphylococcus aureus* na MPA č. 1 - část B

c _{T.L.} [obj. %]	K	0,5	1	1,5
CFU.ml ⁻¹	2,45.10 ⁸	1,65.10 ⁷	1,38.10 ⁷	4,00.10 ⁶
log CFU.ml ⁻¹	8,39	7,22	7,14	6,60



Obr. 21: Závislost log CFU.ml⁻¹ *Staphylococcus aureus* na koncentraci *Tecome lapacho* - část B

Statistické vyhodnocení:

Tab. 28: Antibakteriální účinek *Tecome lapacho* na *Staphylococcus aureus* -
Kruskal-Wallisův test

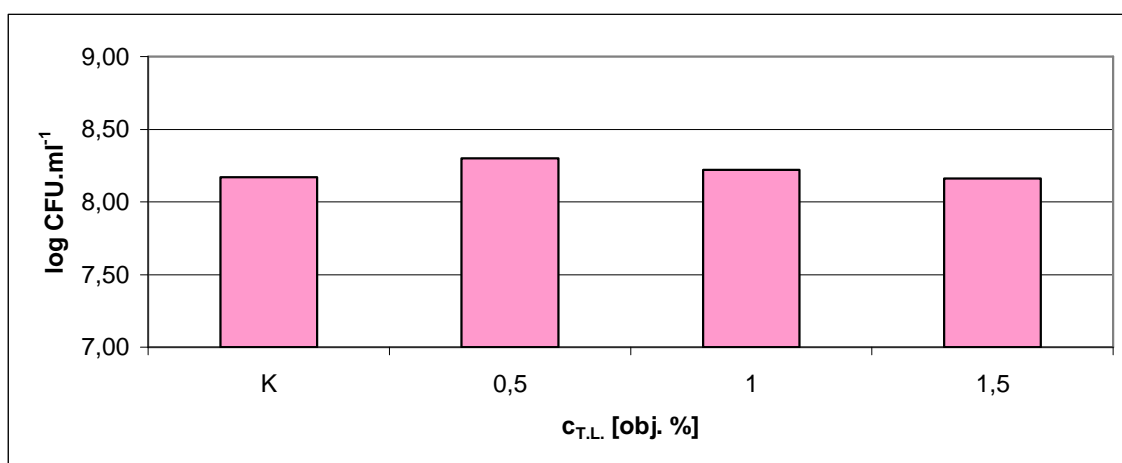
Výběry	Výběry			
	K	0,5 %	1 %	1,5 %
K				
0,5 %	S			
1 %	S	S		
1,5 %	R	S	S	

Mezi srovnávanými soubory existuje statisticky významný rozdíl, a to mezi kontrolním vzorkem a 1,5 obj. % extraktu *Tecome lapacho*.

Vyhodnocení vlastního experimentu - část C:

Tab. 29 : Vyhodnocení počtu buněk *Staphylococcus aureus* na MPA č. 1 - část C

c _{T.L.} [obj. %]	K	0,5	1	1,5
CFU.ml ⁻¹	1,48.10 ⁸	2,00.10 ⁸	1,67.10 ⁸	1,47.10 ⁸
log CFU.ml ⁻¹	8,17	8,30	8,22	8,16



Obr. 22: Závislost log CFU.ml⁻¹ *Staphylococcus aureus* na koncentraci *Tecome lapacho* -
část C

Statistické vyhodnocení:

Tab. 30: Antibakteriální účinek *Tecome lapacho* na *Staphylococcus aureus* -
Kruskal-Wallisův test

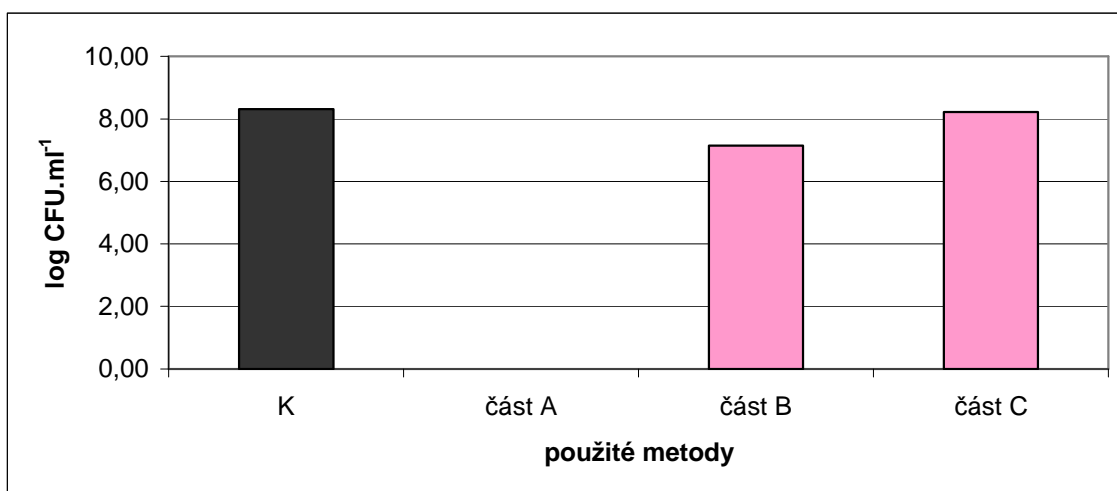
Výběry	Výběry			
	K	0,5 %	1 %	1,5 %
K				
0,5 %	S			
1 %	S	S		
1,5 %	S	S	S	

Na hladině významnosti 5 % neexistují statisticky významné rozdíly mezi srovnávanými soubory. Ani zkoušená koncentrace 1,5 obj. % extraktu *Tecome lapacho* neznamenal pokles hodnot o celý řád.

Zhodnocení efektivity jednotlivých metod

Pro testování antibakteriálního účinku rostliny *Tecome lapacho* byly zvoleny 3 metody, označené jako část A, část B, část C.

Jako srovnávací koncentrace extraktu pro všechny 3 metody byla zvolena koncentrace 1 obj. %. Tato koncentrace byla nejvyšší společnou zkoušenou koncentrací u všech metod.



Obr. 23: Grafické zhodnocení efektivity použitých metod – pro koncentraci 1 obj. %

V experimentální části A došlo k úplnému potlačení bakteriálního kmene *Staphylococcus aureus*, tzn., že metoda za použití 40% ethanolového extraktu byla nejúčinnější. Méně účinná byla experimentální část B a nejméně účinná byla metoda označena jako část C.

11.7 Shrnutí účinku extraktu *Tecome lapacho* na vybrané druhy bakterií

Tab. 31: Srovnání antibakteriálního účinku na testované kmeny bakterií

Bakterie	G ⁺ , G ⁻	Koncentrace, při které nastala celková inhibice růstu bakteriálního kmene [obj. %]		
		Část A	Část B	Část C
<i>Bacillus cereus</i>	G ⁺	1	1,5	-
<i>Escherichia coli</i>	G ⁻	3	-	-
<i>Shigella flexneri</i>	G ⁻	2	-	-
<i>Staphylococcus aureus</i>	G ⁺	1	-	-

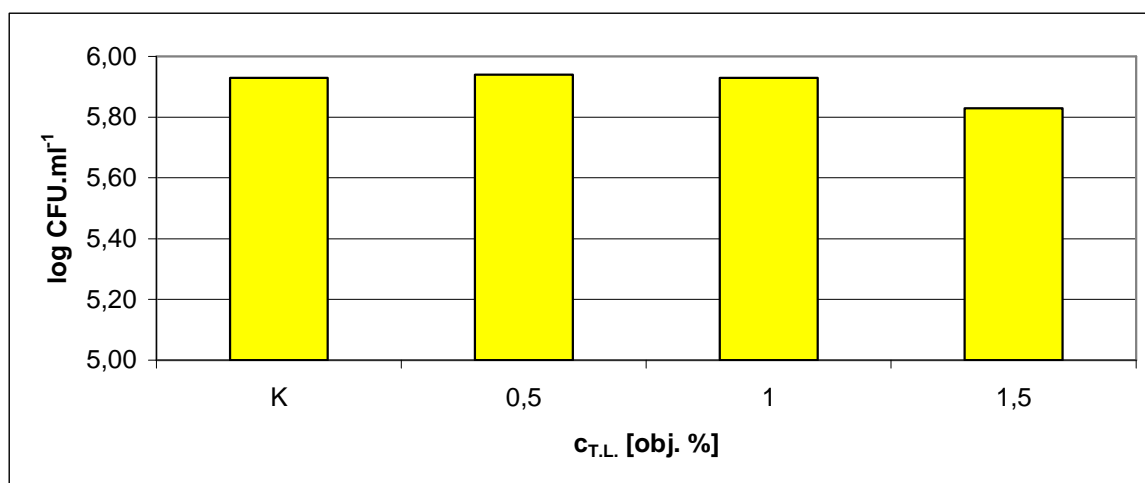
Jako nejúčinnější metoda byla zvolena metoda označená jako část A, tedy použití 40% ethanolového extraktu *Tecome lapacho*. Touto metodou bylo dosaženo celkové inhibice daného bakteriálního kmene, přičemž Gram-pozitivní bakterie (*Bacillus cereus*, *Staphylococcus aureus*) vykázaly větší citlivost k extraktu než Gram-negativní bakterie (*Escherichia coli*, *Shigella flexneri*). Z toho plyne, že k potlačení růstu kolonií stačila nižší koncentrace extraktu. Metodou označenou jako část B, tedy při použití 40% ethanolového extraktu, ze kterého byl následně ethanol odpařen a extrakt byl doplněn destilovanou vodou, došlo k úplné inhibici pouze u bakteriálního kmene *Bacillus cereus*. V experimentální části C, tzn. při použití vodného výluhu nedošlo k úplné inhibici u žádného z testovaných bakteriálních kmenů.

11.8 Výsledky měření antimykotického účinku extraktu *Tecome lapacho* na *Candida albicans* „metodou roztěrem na půdu“

Vyhodnocení vlastního experimentu - část A:

Tab. 32 Vyhodnocení počtu buněk *Candida albicans* na Sabouraud dextrose agaru - část A

c _{T.L.} [obj. %]	K	0,5	1	1,5
CFU.ml ⁻¹	8,60.10 ⁵	8,63.10 ⁵	8,53.10 ⁵	6,75.10 ⁵
log CFU.ml ⁻¹	5,93	5,94	5,93	5,83



Obr. 24: Závislost log CFU.ml⁻¹ *Candida albicans* na koncentraci *Tecome lapacho* - část A

Statistické vyhodnocení:

Tab. 33: Antimykotický účinek *Tecome lapacho* na *Candida albicans*-

Kruskal-Wallisův test

Výběry	Výběry			
	K	0,5 %	1 %	1,5 %
K				
0,5 %	S			
1 %	S	S		
1,5 %	S	S	S	

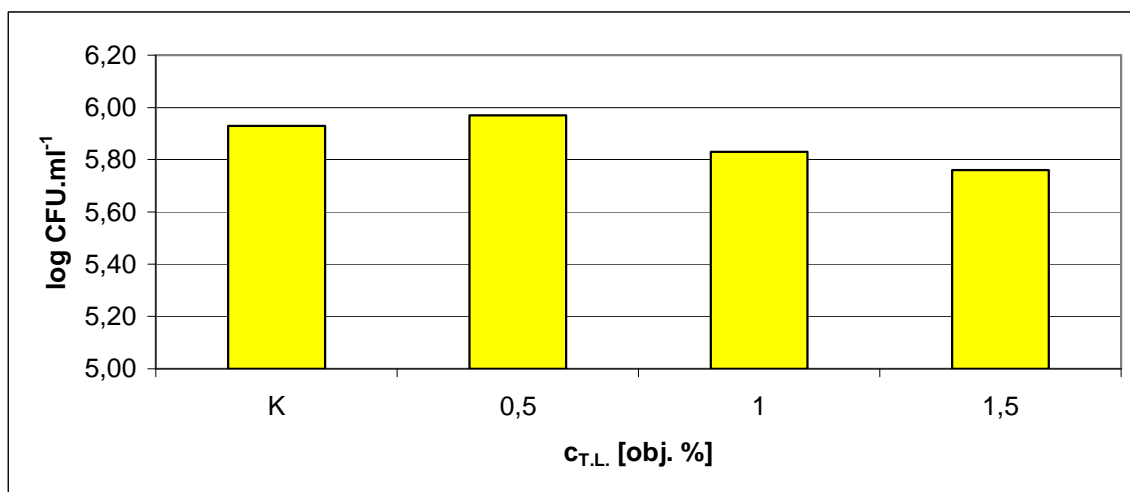
Na hladině významnosti 5 % nebyly zjištěny statisticky významné rozdíly mezi kontrolním vzorkem a jednotlivými koncentracemi extraktu.

Ačkoliv po aplikaci extraktu *Tecome lapacho* nedošlo ke snížení počtu kolonií, zmenšil se průměr kolonií – viz. fotografická dokumentace antimykotického účinku extraktu *Tecome lapacho* na kvasinku *Candida albicans* (Příloha P V).

Vyhodnocení vlastního experimentu - část B:

Tab. 34: Vyhodnocení počtu buněk *Candida albicans* na Sabouraud dextrose agaru - část B

c _{T.L.} [obj. %]	K	0,5	1	1,5
CFU.ml ⁻¹	8,60.10 ⁵	9,35.10 ⁵	6,75.10 ⁵	5,73.10 ⁵
log CFU.ml ⁻¹	5,93	5,97	5,83	5,76



Obr. 25: Závislost log CFU.ml⁻¹ *Candida albicans* na koncentraci *Tecome lapacho* - část B

Statistické vyhodnocení:

Tab. 35: Antimykotický účinek *Tecome lapacho* na *Candida albicans*-
Kruskal-Wallisův test

Výběry	Výběry			
	K	0,5 %	1 %	1,5 %
K				
0,5 %	S			
1 %	S	S		
1,5 %	S	S	S	

Nahledině významnosti 5 % neexistují statisticky významné rozdíly mezi kontrolním vzorkem a příslušnými koncentracemi extraktu. Ani koncentrace 1,5 obj. % extraktu *Tecome lapacho* neznamenal pokles hodnot o celý řád.

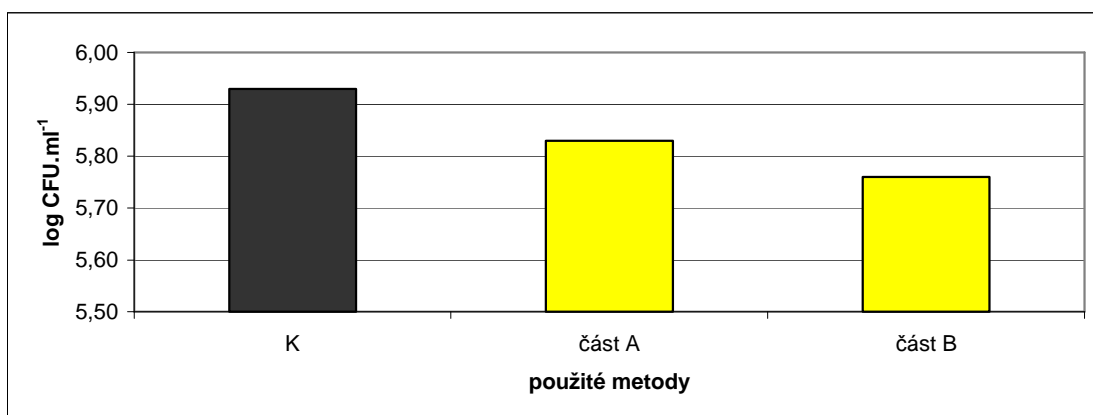
Zhodnocení efektivity jednotlivých metod

Pro testování antibakteriálního účinku rostliny *Tecome lapacho* byly zvoleny 2 metody, označené jako část A, část B:

Část A – použití 40% ethanolového extraktu;

Část B – použití vodného výluhu.

Jako srovnávací koncentrace extraktu pro obě metody byla zvolena koncentrace 1,5 obj. %. Tato koncentrace byla nejvyšší společnou zkoušenou koncentrací u obou metod.



Obr. 26: Grafické zhodnocení efektivity použitých metod – pro koncentraci 1,5 obj. %

Ani jedna z testovaných metod nevedla k výraznému snížení počtu kolonií kvasinky *Candida albicans*, avšak jako přijatelnější metoda byla metoda s použitím vodného výluhu, tedy metoda označená jako část B. Ale ani při této metodě nedošlo ke snížení počtu kolonií o celý řád. Antimykotický účinek extraktu *Tecoma lapacho* tedy nebyl prokázán.

ZÁVĚR

Čaj lapacho je přírodní produkt z kůry rostliny *Tecome lapacho*. Kůra obsahuje řadu významných bioaktivních látek, které příznivě působí na lidský organismus a tím pozitivně ovlivňují lidské zdraví. Do dnešní doby byly v lapachu objeveny tyto účinné látky: flavonoidy, naftochinony (lapachol, lapachon), saponiny, xylodion, vitaminy, minerální látky a stopové prvky. Čajový odvar z lapacha vykazuje antibakteriální, antivirové, antimykotické, antiparazitické, antitoxické a protizánětlivé účinky. Vědecké výzkumy potvrzují, že *Tecome lapacho* snižuje množení bakterií typu *Bacillus*, *Brucella*, *Escherichia*, *Shigella*, *Staphylococcus* a *Streptococcus*. Dále působí proti kvasince *Candida albicans*. Výsledky zkoušek antiparazitických vlastností proti rodům *Plasmodium*, *Trypanosoma* a *Schistosoma* byly klinicky uznány. Jednotlivé komponenty čaje lapacha vykazují také antivirové vlastnosti, a to proti virům *Herpes simplex* typu I a II, *Influenza*, *Polia virus* a *Vesicular stomatitis virus*.

Cílem diplomové práce bylo otestovat různě připravené extrakty *Tecome lapacho* na vybrané druhy prokaryotických a eukaryotických organismů. Z bakterií byly zvoleny tyto bakteriální kmeny: *Bacillus cereus*, *Escherichia coli*, *Shigella flexneri* a *Staphylococcus aureus*. Pro testování antimykotických vlastností lapacha byla zvolena kvasinka *Candida albicans*.

Jako nejvhodnější extrakční činidlo byl zvolen 40% ethanolový extrakt a vodný výluh. Dále byl připraven 40% ethanolový extrakt, ze kterého byl po 14 dnech ethanol odpařen na vakuové rotační odparce a doplněn destilovanou vodou.

Pro testování antibakteriálního účinku byly zvoleny dvě základní metody. Disková difúzní metoda a metoda nazvaná jako metoda v bujónu.

Disková difúzní metoda nebyla však příliš průkazná. Výsledky prokázaly citlivost pouze bakteriálního kmene *Shigella flexneri* k extraktu *Tecome lapacho*. Tato bakterie vykazovala citlivost k ethanolovému extraktu i k vodnému výluhu. U ostatních bakteriálních kmenů nebyla diskovou difúzní metodou prokázána citlivost k extraktu *Tecome lapacho*. Důvodem mohly být nevyhovující laboratorní podmínky.

Jako vhodnější metoda pro testování antibakteriálních vlastností *Tecome lapacho* byla zvolena metoda v bujónu, která byla rozdělena na tři části. V části A vlastního experimentu byl použit 40% ethanolový extrakt, v části B 40% ethanolový extrakt s následným

odpařením ethanolu a doplněním destilovanou vodou a v části C vodný výluh. Všemi těmito metodami bylo dosaženo statisticky významného snížení počtu kolonií bakteriálního kmene *Bacillus cereus*. Statistické vyhodnocení bylo provedeno Kruskal-Wallisovým testem. V experimentální části A při použití 1 obj. % extraktu a v části B při použití 1,5 obj. % extraktu *Tecome lapacho* bylo dosaženo úplného potlačení růstu kolonií této bakterie.

Jako nejvhodnější metoda pro snížení počtu kolonií bakteriálního kmene *Escherichia coli* byla zvolena část A, tedy použití 40% ethanolového extraktu. Při koncentraci 2 obj. % došlo ke statisticky významnému snížení počtu kolonií a při koncentraci 3 obj. % extraktu byl růst bakterie zcela zastaven. Experiment B ani experiment C neprokázaly statisticky významné rozdíly mezi kontrolním vzorkem a testovanými koncentracemi extraktu.

V experimentální části A došlo při koncentraci 2 obj. % k úplné inhibici růstu bakteriálního kmene *Shigella flexneri*. V experimentální části B a části C došlo ke statisticky významnému snížení počtu kolonií této bakterie, nikoliv však k úplné inhibici.

Bakteriální kmen *Staphylococcus aureus* byl za použití 40% ethanolového extraktu zcela potlačen, a to při koncentraci 1 obj. %. Experimentální část B prokázala statisticky významné snížení počtu kolonií při použití 1,5 obj. %. V části C nebyly prokázány statisticky významné rozdíly, tzn. nedošlo ke snížení počtu kolonií ani o řád.

Jako nejúčinnější metoda byla celkově zvolena metoda označená jako část A, tedy použití 40% ethanolového extraktu *Tecome lapacho*. Zároveň Gram-pozitivní bakterie (*Bacillus cereus*, *Staphylococcus aureus*) vykazaly větší citlivost k extraktu než Gram-negativní bakterie (*Escherichia coli*, *Shigella flexneri*). Lze konstatovat, že k potlačení růstu kolonií stačila nižší koncentrace extraktu. Metodou označenou jako část B došlo k úplné inhibici růstu pouze u bakteriálního kmene *Bacillus cereus*. K významnému statistickému snížení počtu kolonií došlo také u bakteriálních kmenů *Shigella flexneri* a *Staphylococcus aureus*. V experimentu C nedošlo k úplné inhibici u žádného z testovaných bakteriálních kmenů. K významnému statistickému snížení kolonií však došlo u bakteriálních kmenů *Bacillus cereus* a *Shigella flexneri*. Tedy v experimentální části B a části C nebyl pozorován rozdíl mezi výsledky u Gram-pozitivních a Gram-negativních bakterií.

Antimykotické vlastnosti *Tecome lapacho* byly testovány na kvasince *Candida albicans*. Výsledky však nebyly průkazné a v žádné části pokusu nedošlo ke statisticky významnému snížení počtu kolonií. Avšak za použití 40% ethanolového extraktu se zmenšil průměr kolonií.

Antibakteriální účinky rostliny *Tecome lapacho* na vybrané druhy bakterií byly prokázány. Dále by bylo vhodné zabývat se potencionálním obohacováním potravin buď samotnou kůrou rostliny *Tecome lapacho*, např. ve formě koření nebo vhodnou formou výtažku z lapacha.

SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY

- [1] LUBECK, W. *Léčíme se čajem lapacho*. Praha: Nakladatelství Ivo Železný, 2002. 99 s. ISBN 80-237-3655-8.
- [2] PODRUH, P. *Lapacho*. [online]. [cit. 2008-02-04, 13:20 SEČ]. Dostupné z: <<http://www.e-cajovna.net/lapacho>>.
- [3] KEMPE, Ch. *Síla čaje*. Praha: Cesty, 2001. 48 s. ISBN 80 – 7181 – 560 – 8.
- [4] OXALIS. *Lapacho*. Salvo, prodejna zdravé výživy, 18. 2. 2006.
- [5] MANDŽUKOVÁ, J. *Léčivá síla vitaminů, minerálů a dalších látek*. Benešov: Start, 2005. 267 s. ISBN 80-86231-36-4.
- [6] HORVÁTHOVÁ, K; OVESNÁ, Z; TÓTHOVÁ, D; VACHÁLKOVÁ, A. *Protective effect of flavonoids determined by SCGE. Vitamins 2004*. Pardubice: Univerzita Pardubice, 2004. 292 s. ISBN 80-7194-644-3.
- [7] VELÍŠEK, J. *Chemie potravin 3*. Tábor: Osis, 1999. 342 s. ISBN 80-902391-5-3.
- [8] HOZA, I; KRAMÁŘOVÁ, D; BUDÍNSKÝ, P. *Potravinářská biochemie II*. Zlín: Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně, 2006. 104 s. ISBN 80 – 7318 – 395 – 1.
- [9] FELSER, C. *Die Flavonoide in Alchemilla-Arten: Strukturaufklärung, Analytik und Chemosystematik*. Nurnberg: Erlangen, 1995. 190 s.
- [10] *Lapacho*. [online]. [cit. 2008-03-17, 11:16 SEČ]. Dostupné z: <http://www.biology.estranky.cz/clanky/lecive-rostliny_-byliny/lapacho>.
- [11] TYLER, V; FOSTER, S. *Tyler's Honest Herbal: A Sensible Guide to the Use of Herbs and Related*. Haworth Press, 1999. 442 s. ISBN 0789007053.
- [12] *Tawari negro a tawari amerillo* [online]. [cit. 2006-03-03, 16:12 SEČ]. Dostupné z: <www.oerverde.cz/oerverde/cz/cz_produkty.html>.
- [13] GUPTA, D. *β -lapachone, a novel plant product, overcomes drug resistance in human multiple myeloma cells*. *Experimental Hematology*, 2002. 711-720 s. ISSN 0301-472.

- [14] PARK, H. *Susceptibility of cancer cells to β -lapachone is enhanced by ionizing radiation*. International journal of radiation oncology, biology, physics, 2005. 212-219 s. ISSN 0360-3016.
- [15] VELÍŠEK, J. *Chemie potravin 2*. Tábor: OSSIS, 1999. 328 s. ISBN 80-902391-4-5.
- [16] FOŘT, P. *Zdraví a potravní doplňky*. Praha: Ikar, 2005. 400 s. ISBN 80-249-0612-0.
- [17] DAVÍDEK, J; JANÍČEK, G; POKORNÝ, J. *Chemie potravin*. Praha: SNTL, 1983. 632 s. ISBN 04 – 815 – 83.
- [18] NOVÁK, V; BUŇKA, F. *Základy ekonomiky výživy*. Zlín: Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně, 2005. 119 s. ISBN 80 – 7318 – 262 – 9.
- [19] COOPER, J. *Biogeochemical cycles of elements*. České Budějovice: University of South Bohemia, 2006. 97 s. ISBN 80-7040-806-5.
- [20] *Lapacho – čaj* [online]. [cit. 2006-03-17, 20:09 SEČ]. Dostupné z: <<http://diochi.prirodnileciva.cz/lapacho--caj+dp37521/>>.
- [21] KAŠPÁRKOVÁ, E. *Účinek kyseliny kaprylové na vybrané kmeny bakterií*. Zlín: Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně, 2006. 97 s.
- [22] JULÁK, J. *Úvod do lékařské bakteriologie*. Praha: Karolinum, 2006. 404 s. ISBN 80-246-1270-4.
- [23] ČECHOVÁ, L. *Základy obecné mikrobiologie*. Zlín: Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně, 2006. 142 s. ISBN 80-7318-487-7.
- [24] FIALA, J. *Biologie I*. Boskovice: Albert, 2006. 66 s. ISBN 80-7326-095-6.
- [25] KOLÁŘ, M; BENEŠ, J; DLOUHÝ, P. *Rezistentní grampozitivní bakterie*. Zlín: Agentura B/P/P, 2005. 55 s. ISBN 80-239-4889-X.
- [26] PARK, B. *Antibacterial activity of *Tabebuia impetiginosa* Martius ex DC (*Tahebo*) against *Helicobacter pylori**. J. of Ethnopharmacology, 2006. 255-62 s.
- [27] PEREIRA, E. *Tabebuia avellanadae naphthoquinones: activity against methicillin-resistant staphylococcal strains, cytotoxic activity and in vivo dermal irritability analysis*. Ann Clin Microbiol Antimicrob. 2006. 5 s.

- [28] MLEJNKOVÁ, H. *Výskyt fyziologických skupin bakterií v říční vodě a sedimentu*. Praha: Výzkumný ústav vodohospodářský T.G. Masaryka, 2000. 88 s. ISBN 80-85900-33-5.
- [29] HRUBÝ S; TUREK, B. *Mikrobiologická problematika ve výživě*. Vyškov, 1996. 145 s. ISBN 80-7013-232-2.
- [30] BLAIS, B; SHAW, S. *Bacillus cereus* [online]. [cit. 2008-04-21, 18:19 SEČ]. Dostupné z: <http://www.magma.ca/~scimat/b_cereus.htm>.
- [31] VEGER, J; BAUDIŠOVÁ, D. *Bakterie z čeledi Enterobacteriaceae ve vodním prostředí*. Praha: Výzkumný ústav vodohospodářský T.G. Masaryka, 1996. 100 s. ISBN 80-85900-11-4.
- [32] *Escherichia coli* [online]. [cit. 2008-04-21, 18:35 SEČ]. Dostupné z: <<http://www.kimicontrol.com/edu-e.html>>.
- [33] SCHLEMMEROVÁ, L; ŠPELINA, V. *Metodické doporučení SZÚ č. 2/1999/CZŽP k mikrobiologickému zkoušení potravin a pokrmů – Kultivační metoda průkazu bakterií rodu Shigella*. Praha: Státní zdravotní ústav, 1999. 42 s. ISSN 0862-5956.
- [34] *Shigella flexneri*. [online]. [cit. 2008-04-21, 19:15 SEČ]. Dostupné z: <http://www.genomenetwork.org/resources/sequenced_genomes/genome_guide_p3.shtml>.
- [35] GROSSMANN, M. *Mikrobiologie v hygieně*. Vyškov: VVŠ PV, 1999. 175 s. ISBN 80-7231-037-2.
- [36] BEDNÁŘ, M. *Lékařská mikrobiologie: bakteriologie, virologie, parazitologie*. Praha: Marvil, 1996. 558 s.
- [37] CARR, J; HAGEMAN, J. *Staphylococcus aureus Bacteria* [online]. [cit. 2008-04-21, 19:02 SEČ]. Dostupné z: <http://www.biology4kids.com/extras/dtop_micro/7821.html>.
- [38] MALÍŘ, F; OSTRÝ, V. *Vláknité mikromycety (plísně), mykotoxiny a zdraví člověka*. Brno: Národní centrum ošetrovatelství a nelékařských zdravotnických oborů, 2003. 349 s. ISBN 80-7013-395-3.

- [39] FASSATIOVÁ, O. *Plísně a vláknité houby v technické mikrobiologii*. Praha: SNTL, 1979. 240 s.
- [40] HEIDEKLAND, C. *Nebezpečné plísně kolem nás*. Olomouc: Fontána, 1997. 240 s. ISBN 80 – 901989 – 5 – 3.
- [41] GUSTAFSONOVÁ, H; O'SHEAOVÁ M. *Candida*. Praha: Pragma, 1997. 216 s. ISBN 80 – 7205 – 474 – 0.
- [42] RIEFER, M. *Obraz léku Candida albicans*. Praha: Elfa, 2002. 102 s. ISBN 80-86439-00-3.
- [43] KOCKOVÁ-KRATOCHVÍLOVÁ, A. *Taxonómia kvasiniek a kvasinkovitých mikroorganizmov*. Bratislava: Alfa, 1990. 704 s. ISBN 80-05-00644-6.
- [44] TAYLOR, B. *The Opportunistic Pathogen Candida albicans Role in nosocomial Infection and Analysis of Virulence Mechanisms*. Friedrich-Alexander-Universität Erlangen-Nürnberg, 2004. 102 s.
- [45] ŠILHÁNKOVÁ, L. *Mikrobiologie pro potravináře a biotechnology*. Praha: Academia, 2002. 363 s. ISBN 80- 200-1024-6.
- [46] *Candida albicans* [online]. [cit. 2008-04-21, 20:07 SEČ]. Dostupné z: <<http://www.chuv.ch/imul/euresfun>>.
- [47] KOŘÍNKOVÁ, K. *Obecná parazitologie – význam a biologie parazitů*. Ústí nad Labem: Univerzita J.E. Purkyně v Ústí nad Labem, 2006. 91 s. ISBN 80-7044-798-2.
- [48] HORÁK, P; SCHOLZ, T. *Biologie helmintů*. Praha: Karolinum, 1998. 139 s. ISBN 80-7184-782-8.
- [49] *Lapacho* [online]. [cit. 2008-03-17, 11:43 SEČ]. Dostupné z: <<http://www.001shop.cz/Lapacho>>.
- [50] *Tawari negro* [online]. [cit. 2007-12-11, 16:54 SEČ]. Dostupné z: <http://www.oroverde.cz/index_cz.php?page=bylina_detail.php&row_id=21>.
- [51] RYŠAVÝ, B. *Základy parazitologie*. Praha: Státní pedagogické nakladatelství, 1989. 216 s. ISBN 80-04-20864-9.

- [52] ROSYPAL, S. a kol. *Nový přehled biologie*. Praha: Scientia, 2003. 824 s. ISBN 80 – 7183 – 268 – 5.
- [53] ZICHA, J. *Herpes genitalis*. Praha: Maxdorf, 2000. 11 s. ISBN 80-85912-46-5.
- [54] ŽEMLA, J; ČIAMPOR, F; LABUDA, M. *Špeciálna virológia*. Bratislava: SAP, 1998, 228 s. ISBN 80-88908-04-3.
- [55] BERAN, J; HAVLÍK, J. *Chřipka - průvodce ošetřujícího lékaře*. Praha: Maxdorf, 2005. 99 s. ISBN 80-7345-080-1.
- [56] CHLÍBEK, R. *Chřipka a možnosti její prevence II - sborník přednášek*. Praha: Vesmír, 2001. 15 s. ISBN 80-85977-37-0.
- [57] *Bioinformační čaje*. Praha: Diochi, informační brožura.

SEZNAM POUŽITÝCH SYMBOLŮ A ZKRATEK

NCI National Cancer Institute

TDP Thiamindifosfát

TTP Thiamintrifosfát

WHO World Health Organization

HSV *Herpes simplex virus*

SEZNAM OBRÁZKŮ

Obr. 1: <i>Tecome lapacho</i>	12
Obr. 2: Kůra stromu <i>Tecome lapacho</i>	13
Obr. 3: <i>Bacillus cereus</i>	27
Obr. 4: <i>Escherichia coli</i>	29
Obr. 5: <i>Shigella flexneri</i>	30
Obr. 6: <i>Staphylococcus aureus</i>	32
Obr. 7: <i>Candida albicans</i>	35
Obr. 8: Závislost log CFU.ml ⁻¹ <i>Bacillus cereus</i> na koncentraci <i>Tecome lapacho</i> část A.....	67
Obr. 9: Závislost log CFU.ml ⁻¹ <i>Bacillus cereus</i> na koncentraci <i>Tecome lapacho</i> -část B.....	68
Obr. 10: Závislost log CFU.ml ⁻¹ <i>Bacillus cereus</i> na koncentraci <i>Tecome lapacho</i> -část C.....	69
Obr. 11: Grafické zhodnocení efektivnosti použitých metod–pro koncentraci 1 obj. %.....	70
Obr.12: Závislost log CFU.ml ⁻¹ <i>Escherichia coli</i> na koncentraci <i>Tecome lapacho</i> část A.....	71
Obr.13: Závislost log CFU.ml ⁻¹ <i>Escherichia coli</i> na koncentraci <i>Tecome lapacho</i> část B.....	73
Obr.14: Závislost log CFU.ml ⁻¹ <i>Escherichia coli</i> na koncentraci <i>Tecome lapacho</i> část C.....	74
Obr. 15: Grafické zhodnocení efektivnosti použitých metod–pro koncentraci 1 obj. %.....	75
Obr.16: Závislost log CFU.ml ⁻¹ <i>Shigella flexneri</i> na koncentraci <i>Tecome lapacho</i> -část A.....	76
Obr.17: Závislost log CFU.ml ⁻¹ <i>Shigella flexneri</i> na koncentraci <i>Tecome lapacho</i> -část B.....	77
Obr.18: Závislost log CFU.ml ⁻¹ <i>Shigella flexneri</i> na koncentraci <i>Tecome lapacho</i> -část C.....	78
Obr.19: Grafické zhodnocení efektivnosti použitých metod – pro koncentraci 1 obj. %.....	79
Obr.20: Závislost log CFU.ml ⁻¹ <i>Staphylococcus aureus</i> na koncentraci <i>Tecome lapacho</i> část A.....	80

Obr.21: Závislost log CFU.ml ⁻¹ <i>Staphylococcus aureus</i> na koncentraci <i>Tecome lapacho</i> část B.....	81
Obr.22: Závislost log CFU.ml ⁻¹ <i>Staphylococcus aureus</i> na koncentraci <i>Tecome lapacho</i> část C.....	82
Obr. 23: Grafické zhodnocení efektivity použitých metod–pro koncentraci 1 obj. %.....	83
Obr.24: Závislost log CFU.ml ⁻¹ <i>Candida albicans</i> na koncentraci <i>Tecome lapacho</i> částA.....	85
Obr. 25: Závislost log CFU.ml ⁻¹ <i>Candida albicans</i> na koncentraci <i>Tecome lapacho</i> část B.....	86
Obr.26: Grafické zhodnocení efektivity použitých metod–pro koncentraci 1,5 obj. %.....	87

SEZNAM TABULEK

Tab. 1: Obsah minerálií a stopových prvků v kůře lapacha.....	23
Tab. 2: Složení masopeptonového agaru č.1 na 1000 ml destilované vody.....	43
Tab. 3: Složení masopeptonového agaru č.2 na 1000 ml destilované vody.....	43
Tab. 4: Složení Sabouraud dextrose agaru na 1000 ml destilované vody.....	44
Tab. 5: Složení masopeptonového bujónu na 1000 ml destilované vody.....	44
Tab. 6: Změřený průměr zón inhibice okolo každého disku u vybraných druhů bakterií v [mm].....	65
Tab. 7: Vyhodnocení počtu buněk <i>Bacillus cereus</i> na MPA č. 1 - část A.....	66
Tab.8: Antibakteriální účinek <i>Tecome lapacho</i> na <i>Bacillus cereus</i> Kruskal-Wallisův test.....	67
Tab.9 : Vyhodnocení počtu buněk <i>Bacillus cereus</i> na MPA č. 1 - část B.....	68
Tab. 10: Antibakteriální účinek <i>Tecome lapacho</i> na <i>Bacillus cereus</i> – Kruskal-Wallisův test.....	68
Tab.11 : Vyhodnocení počtu buněk <i>Bacillus cereus</i> na MPA č. 1 - část C.....	69
Tab.12: Antibakteriální účinek <i>Tecome lapacho</i> na <i>Bacillus cereus</i> – Kruskal-Wallisův test.....	69
Tab. 13: Vyhodnocení počtu buněk <i>Escherichia coli</i> na MPA č. 1 - část A.....	71
Tab. 14: Antibakteriální účinek <i>Tecome lapacho</i> na <i>Escherichia coli</i> – Kruskal-Wallisův test.....	72
Tab. 15 : Vyhodnocení počtu buněk <i>Escherichia coli</i> na MPA č. 1 - část B.....	72
Tab. 16: Antibakteriální účinek <i>Tecome lapacho</i> na <i>Escherichia coli</i> – Kruskal-Wallisův test.....	73
Tab. 17 : Vyhodnocení počtu buněk <i>Escherichia coli</i> na MPA č. 1 - část C.....	74
Tab. 18: Antibakteriální účinek <i>Tecome lapacho</i> na <i>Escherichia coli</i> – Kruskal-Wallisův test.....	74
Tab. 19: Vyhodnocení počtu buněk <i>Shigella flexneri</i> na MPA č. 1 - část A.....	76

Tab. 20: Antibakteriální účinek <i>Tecome lapacho</i> na <i>Shigella flexneri</i> – Kruskal-Wallisův test.....	76
Tab. 21: Vyhodnocení počtu buněk <i>Shigella flexneri</i> na MPA č. 1 - část B.....	77
Tab. 22: Antibakteriální účinek <i>Tecome lapacho</i> na <i>Shigella flexneri</i> – Kruskal-Wallisův test.....	77
Tab.23 : Vyhodnocení počtu buněk <i>Shigella flexneri</i> na MPA č. 1 - část C.....	78
Tab. 24: Antibakteriální účinek <i>Tecome lapacho</i> na <i>Shigella flexneri</i> – Kruskal-Wallisův test.....	78
Tab. 25: Vyhodnocení počtu buněk <i>Staphylococcus aureus</i> na MPA č. 1 - část A.....	80
Tab. 26: Antibakteriální účinek <i>Tecome lapacho</i> na <i>Staphylococcus aureus</i> Kruskal-Wallisův test.....	80
Tab. 27 : Vyhodnocení počtu buněk <i>Staphylococcus aureus</i> na MPA č. 1 - část B.....	81
Tab. 28: Antibakteriální účinek <i>Tecome lapacho</i> na <i>Staphylococcus aureus</i> Kruskal-Wallisův test.....	82
Tab. 29 : Vyhodnocení počtu buněk <i>Staphylococcus aureus</i> na MPA č. 1 - část C.....	82
Tab. 30: Antibakteriální účinek <i>Tecome lapacho</i> na <i>Staphylococcus aureus</i> Kruskal-Wallisův test.....	83
Tab. 31: Srovnání antibakteriálního účinku na testované kmeny bakterií.....	84
Tab. 32: Vyhodnocení počtu buněk <i>Candida albicans</i> na Sabouraud dextrose agaru část A.....	85
Tab. 33: Antimykotický účinek <i>Tecome lapacho</i> na <i>Candida albicans</i> -Kruskal-Wallisův test.....	85
Tab. 34: Vyhodnocení počtu buněk <i>Candida albicans</i> na Sabouraud dextrose agaru část B.....	86
Tab. 35: Antimykotický účinek <i>Tecome lapacho</i> na <i>Candida albicans</i> -Kruskal-Wallisův test.....	87

SEZNAM PŘÍLOH

P I: Vitaminy

P II: Obsah vybraných látek

P III: Fotografická dokumentace přípravy extraktu *Tecome lapacho*

P IV: Fotografická dokumentace antibakteriálního účinku *Tecome lapacho* na vybrané druhy bakterií

P V: Fotografická dokumentace antimykotického účinku *Tecome lapacho* na kvasinku *Candida albicans*

PŘÍLOHA P I: VITAMINY

Nejběžnější hledisko třídění vitaminů je podle společných fyzikálních vlastností, rozpustnosti ve vodě (v polárním prostředí) a v tucích (v nepolárním prostředí). [15]

Tab. 1: Dělení vitaminů [8]

Vitaminy rozpustné ve vodě	Vitaminy rozpustné v tucích
Vitamin B ₁ (thiamin)	Vitamin A (retinol) a jeho provitaminy (karotenoidy)
Vitamin B ₂ (riboflavin)	Vitaminy D (kalciferoly)
Vitamin B ₃ (kyselina nikotinová a její amid)	Vitaminy E (tokoferoly a tokotrienoly)
Vitamin B ₅ (kyselina pantothenová)	Vitaminy K (fylochinony, farnochinony)
Vitamin B ₆ (pyridoxin)	Vitamin F (esenciální mastné kyseliny)
Vitamin B ₉ (kyselina listová)	
Vitamin B ₁₂ (kyanokobalamin)	
Kyselina lipoová	
Biotin (dříve nazýván vitamin H)	
Vitamin C (kyselina L-askorbová a kyselina L-dehydroaskorbová)	

PŘÍLOHA P II: OBSAH VYBRANÝCH LÁTEK

Následující chemický rozbor látek byl proveden z prášku lapachové kůry

Tab. 2: Obsah vybraných látek [1]

Účinná látka	Množství [$\mu\text{g}\cdot\text{mg}^{-1}$]	Účinná látka	Množství [$\mu\text{g}\cdot\text{mg}^{-1}$]
vitamin B ₁	Stopové	tuky	494,000
vitamin A	Stopové	bílkoviny	1,850
vitamin C	7,080	sacharidy	2,610
nestravitelné balast- ní látky	0,151	stravitelná rostlinná vláknina	152,000

PŘÍLOHA P III: FOTOGRAFICKÁ DOKUMENTACE PŘÍPRAVY EXTRAKTU *TECOME LAPACHO*

Acetonový extrakt *Tecome lapacho* po 14 dnech
koncentrace 5 g.l⁻¹



denní světlo, 20°C



tma, 20°C



termostat, 37°C

koncentrace 10 g.l⁻¹



denní světlo, 20°C



tma, 20°C



termostat, 37°C

**Hexanový extrakt *Tecome lapacho* po 14 dnech
koncentrace 5 g.l⁻¹**



denní světlo, 20°C



tma, 20°C



termostat, 37°C

koncentrace 10 g.l⁻¹



denní světlo, 20°C



tma, 20°C



termostat, 37°C

**Ethanolový extrakt *Tecome lapacho* po 14 dnech – 40% ethanol
koncentrace 5 g.l⁻¹**



denní světlo, 20°C



tma, 20°C



termostat, 37°C



chladnička, 4°C

koncentrace 10 g.l⁻¹



denní světlo, 20°C



tma, 20°C



termostat, 37°C

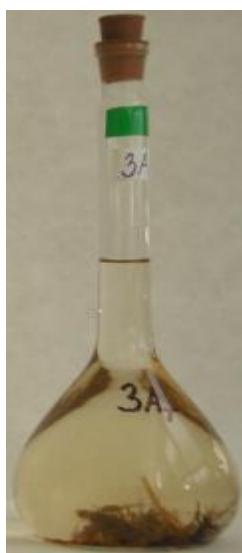


chladnička, 4°C

Ethanolový extrakt *Tecome lapacho* po 14 dnech – 100% ethanol

koncentrace 5 g.l⁻¹

koncentrace 10 g.l⁻¹



denní světlo, 20°C

tma, 20°C

denní světlo, 20°C

tma, 20°C

Vodný extrakt *Tecome lapacho* po 14 dnech

koncentrace 5 g.l⁻¹

koncentrace 10 g.l⁻¹



denní světlo, 20°C

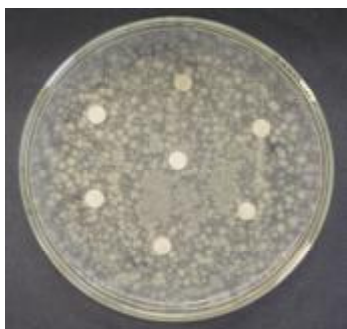
tma, 20°C

denní světlo, 20°C

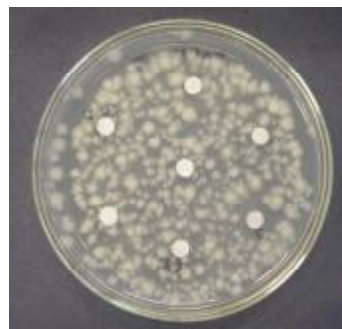
tma, 20°C

**PŘÍLOHA P IV: FOTOGRAFICKÁ DOKUMENTACE
ANTIBAKTERIÁLNÍHO ÚČINKU *TECOME LAPACHO*
NA VYBRANÉ DRUHY BAKTERIÍ**

***Bacillus cereus* - Disková difúzní metoda**



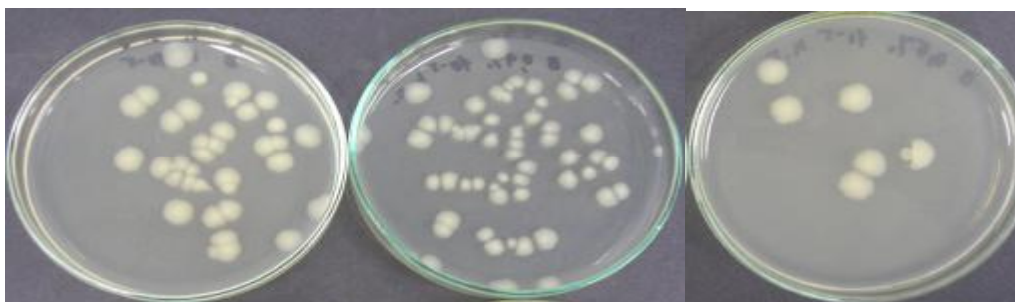
disky - 40% ethanolový
extrakt, uprostřed - kontrola



disky – vodný výluh,
uprostřed - kontrola

***Bacillus cereus* - Metoda v bujónu – vlastní experiment**

Část A:



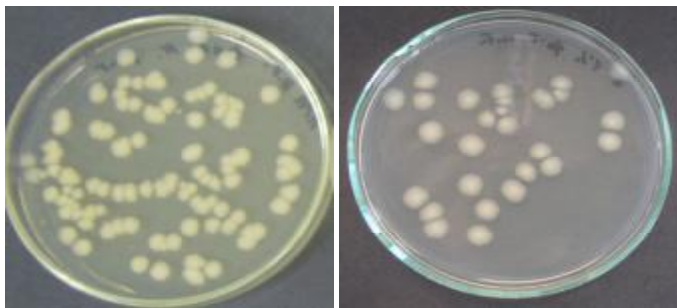
kontrola, ředění 10^{-5} vzorek 0,1 % lapacha, 10^{-5} vzorek 0,5 % lapacha, 10^{-5}

Část B:



kontrola, ředění 10^{-5} vzorek 0,5 % lapacha, 10^{-5} vzorek 1 % lapacha, 10^{-5}

Část C:



kontrola, ředění 10^{-5}

vzorek 1 % lapacha, 10^{-5}

Escherichia coli - Disková difúzní metoda



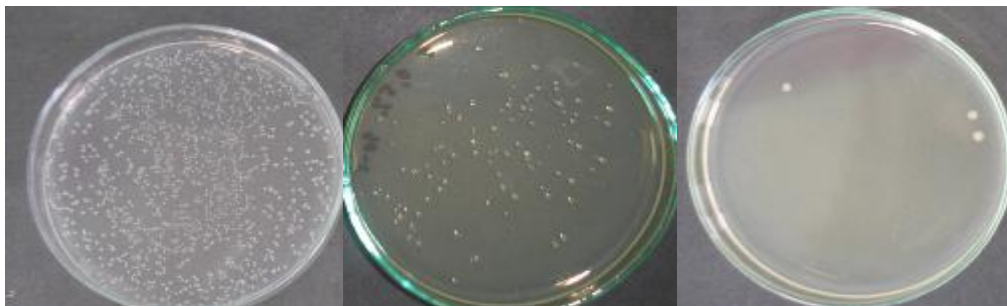
disky - 40% ethanolový
extrakt, uprostřed - kontrola



disky – vodný výluh,
uprostřed - kontrola

Escherichia coli - Metoda v bujónu – vlastní experiment

Část A:

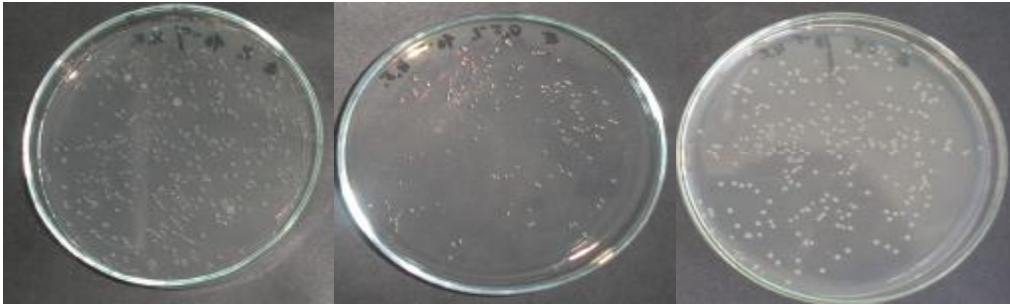


kontrola, ředění 10^{-5}

vzorek 0,5 % lapacha, 10^{-5}

vzorek 2 % lapacha, 10^{-5}

Část B:

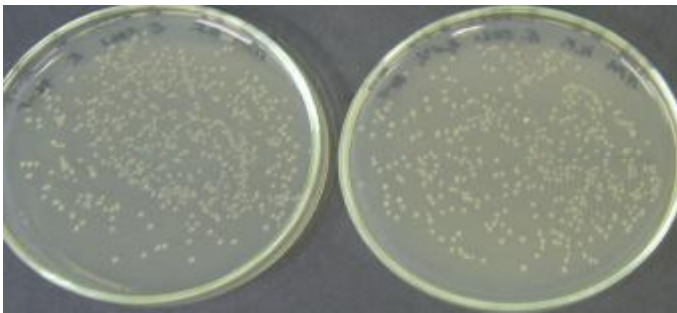


kontrola, ředění 10^{-5}

vzorek 0,5 % lapacha, 10^{-5}

vzorek 1 % lapacha, 10^{-5}

Část C:



kontrola, ředění 10^{-5}

vzorek 0,5 % lapacha, 10^{-5}

Shigella flexneri - Disková difúzní metoda



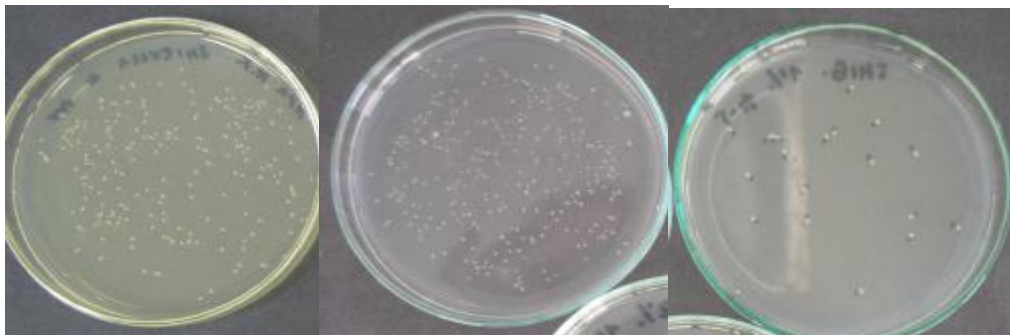
disky - 40% ethanolový
extrakt, uprostřed - kontrola



disky - vodný výluh,
uprostřed - kontrola

***Shigella flexneri* - Metoda v bujónu – vlastní experiment**

Část A:



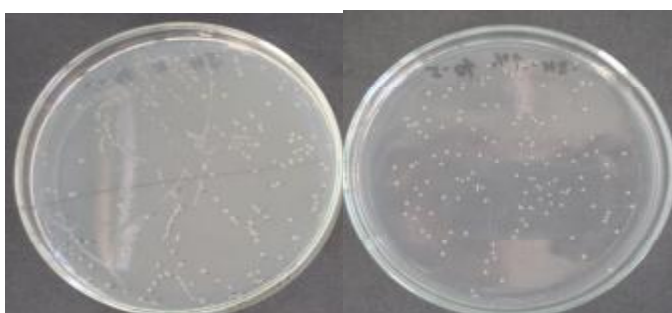
kontrola, ředění 10⁻⁵ vzorek 0,1 % lapacha, 10⁻⁵ vzorek 1 % lapacha, 10⁻⁵

Část B:



kontrola, ředění 10⁻⁵ vzorek 1 % lapacha, 10⁻⁵ vzorek 1,5 % lapacha, 10⁻⁵

Část C:

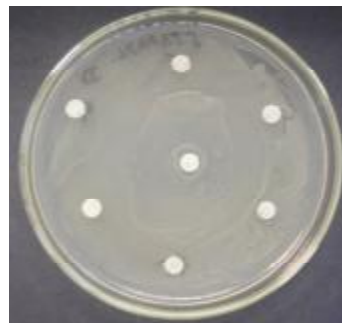


kontrola, ředění 10⁻⁵ vzorek 1 % lapacha, 10⁻⁵

Staphylococcus aureus - Disková difúzní metoda



disky - 40% ethanolový
extrakt, uprostřed - kontrola



disky – vodný výluh,
uprostřed - kontrola

Staphylococcus aureus - Metoda v bujónu – vlastní experiment

Část A:



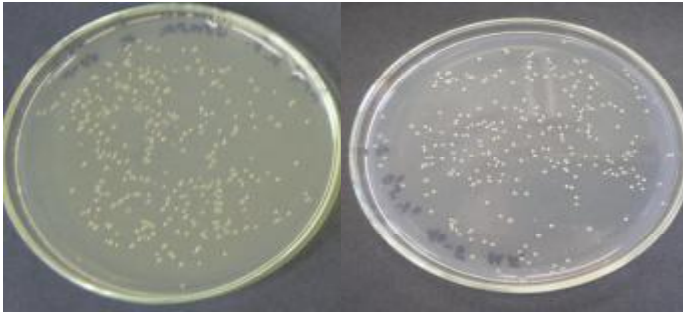
kontrola, ředění 10^{-5} vzorek 0,1 % lapacha, 10^{-5} vzorek 0,5 % lapacha, 10^{-5}

Část B:



kontrola, ředění 10^{-5} vzorek 0,5 % lapacha, 10^{-5} vzorek 1,5 % lapacha, 10^{-5}

Část C:



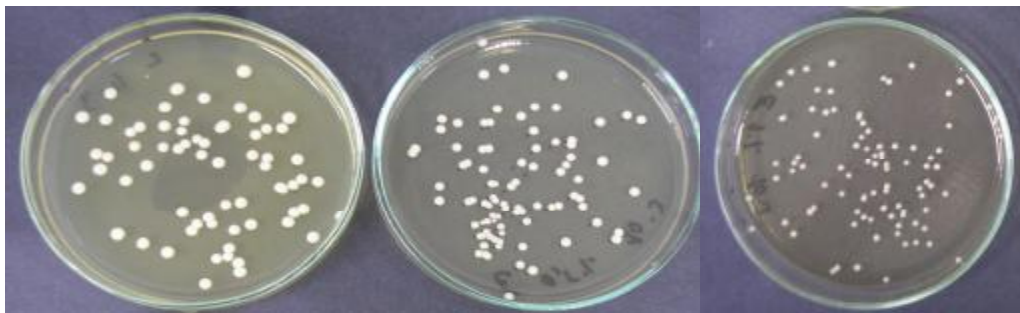
kontrola, ředění 10^{-5}

vzorek 0,5 % lapacha, 10^{-5}

PŘÍLOHA P V: FOTOGRAFICKÁ DOKUMENTACE
ANTIMYKOTICKÉHO ÚČINKU *TECOME LAPACHO* NA KVASINKU
CANDIDA ALBICANS

Candida albicans - Metoda roztěrem na půdu – vlastní experiment

Část A:

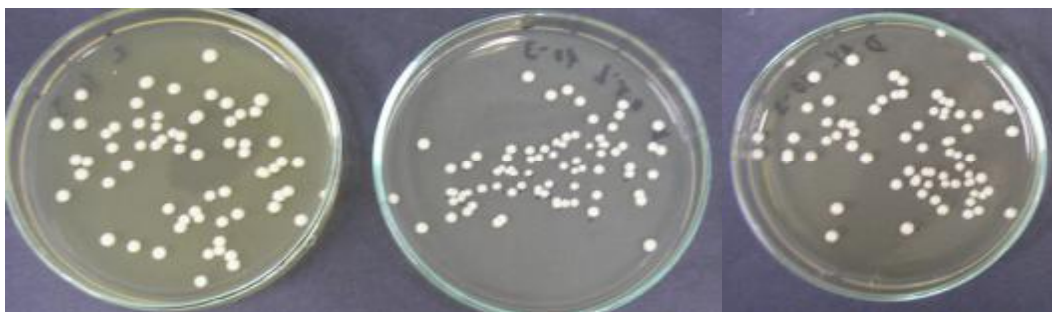


kontrola, ředění 10^{-3}

vzorek 0,5 % lapacha, 10^{-3}

vzorek 1 % lapacha, 10^{-3}

Část B:



kontrola, ředění 10^{-3}

vzorek 0,5 % lapacha, 10^{-3}

vzorek 1 % lapacha, 10^{-3}