

**Česká zemědělská univerzita v Praze**

**Fakulta agrobiologie, potravinových a přírodních zdrojů**

**Katedra kvality zemědělských produktů**



**Antimikrobiální aktivita silic z vybraných druhů rostlin  
čeledi *Apiaceae***

**Diplomová práce**

**Autor práce: Bc. Vladimír Kvítek**

**Obor studia: Kvalita a zpracování zemědělských produktů**

**Vedoucí práce: Ing. Pavel Nový, Ph.D.**

© 2017 ČZU v Praze

### **Čestné prohlášení**

Prohlašuji, že svou diplomovou práci "Antimikrobiální aktivita silic z vybraných druhů rostlin čeledi *Apiaceae*" jsem vypracoval samostatně pod vedením vedoucího diplomové práce a s použitím odborné literatury a dalších informačních zdrojů, které jsou citovány v práci a uvedeny v seznamu literatury na konci práce. Jako autor uvedené diplomové práce dále prohlašuji, že jsem v souvislosti s jejím vytvořením neporušil autorská práva třetích osob.

V Praze dne 13.4.2017

---

## **Poděkování**

Rád bych touto cestou poděkoval Ing. Pavlu Novému, Ph.D. za cenné rady, věcné připomínky a pomoc při vypracování diplomové práce.

# Antimikrobiální aktivita silic z vybraných druhů rostlin čeledi *Apiaceae*

## Souhrn

Zvyšující se rezistence patogenních mikroorganismů vede k hledání nových účinných látek. V poslední době se pozornost upírá k antimikrobiálním látkám přírodního původu, které mohou nabízet alternativu k běžně používaným antibiotikům nebo potravinářským aditivům. Cílem této práce bylo vybrat vhodné druhy siličnatých rostlin, které jsou dosud vůbec nebo nedostatečně otestované. Z nich poté vydestilovat silice, otestovat jejich antimikrobiální aktivitu a analyzovat jejich chemické složení. Na základě využití v lidovém léčitelství byly vybírány rostliny čeledi *Apiaceae*, u kterých se dá předpokládat antimikrobiální účinek. Vybrané byly rostliny *Anthriscus cerefolium* L. Hoffm., *Anthriscus sylvestris* L. Hoffm., *Astrantia major* L., *Pastinaca sativa* L., *Pimpinella saxifraga* L., *Sanicula europaea* L. K porovnání byla přidána již prozkoumaná silice *Origanum vulgare* a antibiotika. Následně byly lokalizovány, sesbírány, nasušeny a vydestilovány pomocí hydrodestilace. Výtěžnost silic se pohybovala v rozmezí 0,09 % až 0,23 %.

Silice byly otestovány proti bakteriím *Enterococcus faecalis*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* a kvasince *Candida albicans*. K testování bylo využito mikrodiluční metody. Koncentrace silic při testování se pohybovala od 1024  $\mu\text{g/ml}$  do 2  $\mu\text{g/ml}$ . Hodnocena byla minimální inhibiční koncentrace (MIC 50 a 80). Částečná inhibice byla pozorována u všech silic, ale MIC 50 a 80 bylo dosaženo pouze u silic *P. sativa*, *A. major* a *P. saxifraga* proti *C. albicans* (512 – 1024  $\mu\text{g/ml}$ ). Růst *S. aureus* byl mírně inhibován silicí *P. saxifraga* (MIC<sub>50</sub> 1024  $\mu\text{g/ml}$ ). Bakterie *E. faecalis*, *E. coli* a *P. aeruginosa* nebyly dostatečně inhibovány žádnou silicí. Hlavní látkou v silici *A. sylvestris* byl  $\beta$ -Pinene (18,32 %), *A. major* obsahovala převážně Duraldehyde (62,05 %), *P. saxifraga* obsahovala Butanoic acid, 2-methyl-, 4-methoxy-2-(3-methyloxiranyl) phenyl ester (60,76 %), hlavní látkou v *S. europaea* byl Spathulenol (34,31 %).

**Klíčová slova:** silice, antimikrobiální, miříkovité, *Apiaceae*

# Antimikrobiální aktivita silic z vybraných druhů rostlin čeledi *Apiaceae*

## Summary

The increasing resistance of pathogenic microorganisms leads to search for new effective substances. Recently, the attention is directed to antimicrobial substances of natural origin, that may offer an alternative to the commonly used antibiotics or food additives. The aim of this work was to choose the appropriate essential oil bearing plants, which have been tested insufficiently or which haven't been tested at all yet, and then to examine their antimicrobial activity and chemical composition. Based on the usage in folk medicine, plants of the *Apiaceae* family were selected, which can be supposed to possess an antimicrobial effect. The plants selected were *Anthriscus cerefolium* L. Hoffm., *A. sylvestris* L. Hoffm., *Astrantia major* L., *Pastinaca sativa* L., *Pimpinella saxifraga* L., and *Sanicula europaea* L. For comparison, the well known and thoroughly studied essential oil of *Origanum vulgare* was added together with control antibiotics. The plants were then located, identified, collected, dried and distilled by hydrodistillation, yielding from 0,09 % to 0,23 % of essential oil.

Essential oils were tested against the bacteria *Enterococcus faecalis*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* and yeast *Candida albicans* using the microdilution method. The concentration of the essential oils tested ranged from 1024 µg/ml to 2 µg/ml. The minimal inhibitory concentration (MIC 50 and 80) was evaluated. Partial inhibition was observed with all essential oils, however, the MIC 50 and 80 was achieved only with the essential oils of *P. sativa*, *A. major* and *P. saxifraga* against *C. albicans* (512 – 1024 µg/ml). The growth of *S. aureus* was slightly limited by essential oil of *P. saxifraga* (MIC50 1024 µg/ml). Bacteria *E. faecalis*, *E. coli* and *P. aeruginosa* were not sufficiently inhibited by any essential oil. The main substance in essential oil of *A. sylvestris* was β-Pinene (18,32 %), *A. major* contained predominantly Duraldehyde (62,05 %), *P. saxifraga* contained Butanoic acid, 2-methyl-, 4-methoxy-2-(3-methyloxiranyl) phenyl ester (60,76 %), main substance in *S. europaea* was Spathulenol (34,31 %).

**Keywords:** essential oil, antimicrobial, *Apiaceae*

# Obsah

<b>1 Úvod.....</b>	<b>1</b>
<b>2 Cíl práce a hypotéza.....</b>	<b>2</b>
<b>3 Přehled literatury .....</b>	<b>3</b>
3.1 Využití rostlin.....	3
3.2 Účinky silic .....	4
3.3 Antimikrobiální účinky .....	5
3.4 Antimikrobiální účinky čeledi Apiaceae.....	6
3.4.1 Heracleum verticillatum .....	6
3.4.2 Coriandrum sativum .....	7
3.4.3 Foeniculum vulgare .....	7
3.5 Získávání silic .....	8
3.6 Plynová chromatografie .....	9
3.7 Vybrané mikroorganismy.....	10
3.7.1 Enterococcus faecalis.....	10
3.7.2 Escherichia coli.....	11
3.7.3 Pseudomonas aeruginosa .....	11
3.7.4 Staphylococcus aureus .....	12
3.7.5 Candida albicans .....	13
3.8 Vybrané rostliny.....	14
3.8.1 Anthriscus cerefolium L. Hoffm.....	14
3.8.2 Anthriscus sylvestris L. Hoffm.....	15
3.8.3 Astrantia major L. ....	16
3.8.4 Pastinaca sativa L.....	17
3.8.5 Pimpinella saxifraga L. ....	18
3.8.6 Sanicula europaea L.....	19
<b>4 Materiál a metody .....</b>	<b>20</b>
4.1 Rostlinný materiál .....	20
4.1.1 Anthriscus cerefolium L. Hoffm.....	20
4.1.2 Anthriscus sylvestris L. Hoffm.....	20
4.1.3 Astrantia major L. ....	20
4.1.4 Pastinaca sativa L.....	20
4.1.5 Pimpinella saxifraga L. ....	21
4.1.6 Sanicula europaea L.....	21
4.2 Přístroje a pomůcky.....	21

4.3	Extrakce silic .....	22
4.4	Mikroorganismy .....	22
4.5	Média.....	22
4.6	Antimikrobiální aktivita .....	23
4.6.1	Zásobní roztoky .....	23
4.6.2	Testování.....	23
4.7	Chemické složení .....	25
<b>5</b>	<b>Výsledky .....</b>	<b>26</b>
5.1	Extrakce silic .....	26
5.2	Antimikrobiální aktivita .....	27
5.3	Chemické složení .....	31
<b>6</b>	<b>Diskuze .....</b>	<b>33</b>
<b>7</b>	<b>Závěr.....</b>	<b>37</b>
<b>8</b>	<b>Seznam literatury .....</b>	<b>38</b>

# 1 Úvod

Mikroorganismy jsou pro člověka nezbytné, jelikož tvoří jeho přirozenou mikrobiotu, ale některé mikroorganismy jsou pro člověka patogenní. Tyto patogenní mikroorganismy se mohou běžně vyskytovat v lidském prostředí nebo potravinách. Při hledání látek působících proti těmto organismům se výzkum v dnešní době obrací zpět k přírodě. Nalezení přírodních látek s antibiotickými účinky tak nabízí alternativu k běžně využívaným léčivům.

Silice neboli esenciální oleje jsou lidmi využívány již tisíciletí. Informace o jejich účincích byly předávány nejprve ústně z generace na generaci. První písemné zmínky na papyru jsou z období starověkého Egypta. Později ve středověku vznikají herbáře a lékárny, jejichž oblibu využívá církve a výroba různých mastí a tinktur se přesouvá do klášterů. Silice byly a jsou využívány pro své baktericidní, virucidní, fungicidní, antiparazitické, insekticidní, lékařské a kosmetické účinky. Každá silice je tvořena rozmanitou směsí látek, a proto se jejich účinek dá nejlépe posoudit jejich otestováním. Na složení a obsah látek v silici má vliv podnebí, půda, stav rostliny a použitá část rostliny. Nejčastěji používanými silicemi jsou oregánová, mátová, tymiánová, levandulová a silice citrusů. Ovšem je využívána i řada méně známých silic a rostlin, ať už v lidovém léčitelství či u domorodých národů.

U řady rostlin, které jsou používány v tradičním léčitelství nebyly dosud ověřeny jejich účinky a složení. To nabízí možnost objevení dosud neznámých vlastností silic těchto rostlin a jejich účinných látek. Objevováním nových účinných látek právě z těchto méně známých druhů, využívaných často domorodými národy, se zabývá obor etnobotanika. I v České republice je zažité využívání léčivých rostlin již po generace.



## 2 Cíl práce a hypotéza

Cílem práce je vybrat vhodné druhy siličnatých rostlin (dosud vůbec nebo nedostatečně testovaných), z nich vydestilovat silice a otestovat jejich antimikrobiální aktivitu a zanalyzovat jejich chemické složení.

**Hypotéza:** Na základě využití rostlin čeledi *Apiaceae* v lidovém léčitelství lze předpokládat antimikrobiální aktivitu jejich silic.

## 3 Přehled literatury

### 3.1 Využití rostlin

Rostliny sloužily lidem jako materiál pro přístřeší, oblečení, jídlo, koření a v medicíně (Gurib-Fakim, 2006). Při hledání léčiv se lidé první řadě obraceli na přírodní zdroje. V prvopočátcích byly rostliny vyhledávány instinktivně jako je tomu i u zvířat (Halberstein, 2005). Jelikož nebyla možnost zjistit příčinu onemocnění nebo určit, která rostlina tuto nemoc vyléčí, všechny poznatky byly získávány zkoušením a poté předáváním těchto zkušeností (Gurib-Fakim, 2006).

Tisíciletí jsou rostliny využívány jako základ léčitelských postupů ájurvedy, unani, africké, jihoamerické nebo čínské tradiční medicíny (Gurib-Fakim, 2006). Starověcí Egypťané už před 6000 lety využívali účinků přírodních látek (Solomou et al., 2016). Původ západní medicíny lze vystopovat až do Řecka, kde Hippokrates poprvé zformuloval své názory na onemocnění (Sykiotis et al., 2006). Hippokrates tvrdil, že nemoci mají přírodní původ, a tak je lze vyléčit použitím rostlinných přípravků. K léčení využíval svých poznatků a znalostí Římanů, jejichž spisy také ovlivnily vývoj západní medicíny (Solomou et al., 2016). V těchto dávno používaných rostlinách byly nalezeny některé účinné látky, které jsou využívány v léčivech dodnes (Gurib-Fakim, 2006). V 90. letech 20. století byla pozornost farmaceutických firem zaměřena především na vysokovýkonné screeningové metody. Tato strategie ovšem nepřinesla očekávané výsledky při hledání nových léčivých látek. V roce 2007 bylo schváleno 17 léčivých látek, což v porovnání s rokem 1996 kdy bylo schváleno 53 látek naznačuje významný klesající trend. Navíc kvůli obvyklé dlouhé prodlevě mezi objevením a uvedením na trh, byla většina látek z 90. let objevena již v 80. letech 20. století (Hughes, 2008). Pozornost se tedy upřela zpět k výzkumu přírodních látek. Výsledkem je několik slibných výzkumů kapsaicinu, kurkuminu a dalších látek (Ji et Zhang, 2008), (Corson et Crews, 2007).

Látky obsažené v rostlinách dosahují neuvěřitelné chemické diverzity, čehož se dnes snaží využít mnoho laboratoří. Potenciál takto objevit novou účinnou látku pro využití v medicíně je obrovský (Khan, 2014). Při hledání nových léků pro využití v medicíně se chemici obrací k etnobotanice, jakožto zdroji možných nových sloučenin (Gurib-Fakim, 2006). Proces vývoje nových rostlinných přípravků začíná etnofarmakology, botanisty a ekology, kteří jako první sesbírají a identifikují zajímavé rostliny (Mukherjee et Wahile, 2006). Etnofarmakologie se snaží zachránit a zdokumentovat rostliny tradičně využívané lidmi předtím, než dojde k jejich

nenávratné ztrátě. Tyto rostliny jsou prozkoumány, identifikovány, je zjištěno jejich využití v tradiční medicíně a jsou provedeny fytochemické a farmakologické studie (Cordell et Colvard, 2005), (Patwardhan, 2005). Díky výborným výsledkům těchto výzkumů v posledních letech se mnoho takto objevených látek dostává až do fáze klinického výzkumu (Khan, 2014). Vyhledka nových nebo účinnějších léků je lákavá, velkou výzvou je identifikovat ty látky, které působí proti lidským nemocem.

Komplexní evoluční historie těchto látek ovšem znamená, že mohou mít sekundární efekt a jejich účinnost je zpravidla ovlivněna interakcemi s dalšími látkami (Keith et al., 2005). Z toho vyplývají jejich nepředvídatelné synergické nebo antagonické účinky. Jak již bylo zmíněno výše je mnoho historických zmínek o kombinaci různých přírodních léčiv, což může nabídnout důležitá vodítka při vývoji a výzkumu nových léčiv (Schmidt et al., 2007), (Verpoorte et al., 2009). Tato vodítka o synergickém efektu mohou vést k nalezení kombinací látek, které jsou účinné vůči komplexnějším nemocem. Například látky účinné proti rakovině jsou dostupné a používané již mnoho let ve své čisté formě, a tak by výzkum synergických efektů mohl vést k lepšímu účinku (Ji et al., 2009). Velké množství lidí, převážně v rozvojových zemích, stále dává přednost tradičním metodám založených na léčivých rostlinách (Gurib-Fakim, 2006).

### 3.2 Účinky silic

Od pradávna se silice využívaly pro své baktericidní, virucidní, fungicidní, antiparazitické, insekticidní, lékařské a kosmetické účinky (Bakkali et al., 2008). V dnešní době jsou využívány hlavně ve farmacii, kosmetice a potravinářství (Kalemba et Kunicka, 2003). V potravinářství a zemědělství má hodnocení aromatických sloučenin také důležitou roli. Pro zemědělství je důležité změřit složení silic a jejich obsah, z něhož vyvozují parametry kvality šlechtění a pěstování aromatických rostlin. V potravinářství se kontroluje materiál při příjmu, v průběhu zpracování a konečný produkt. Toho se využívá v produkci koření, silic a potravin (Richter et Schellenberg, 2007). Dále se silice dají využít pro své insekticidní účinky pro uchování plodin a zásob potravin (Bakkali et al., 2008)

Silice rostliny *Nigella sativa* mají při testování na myších významné účinky v počátečních i pozdějších fázích rakoviny tlustého střeva. Zároveň nejsou zaznamenány žádné nežádoucí změny v játrech, ledvinách a dalších orgánech. Parametry krve, moči a tělesné váhy také nejsou

ovlivněny (Salim et Fukushima, 2003). U dalších siličnatých látek geraniolu a 5-fluorouracilu se projevuje jejich synergický účinek při redukci velikosti tumoru tlustého střeva u myší. Kombinace obou látek sníží velikost tumoru dvojnásobně oproti použití pouze geraniolu (Carnesecchi et al., 2004). Silice rostlin *Ocimum basilicum* a *Psidium guajava* prokázaly antirakovinný účinek vůči buněčným liniím in vitro (Manosroi et al., 2006). Velkou výhodou silic je jejich nízké riziko dlouhodobé genotoxicity a antimutagenní aktivita, která je spojována s jejich antirakovinným účinkem. Dále se ukazuje, že silice nebo látky v nich obsažené, jsou účinné při redukci lokálních tumorů díky jejich nekrotickému a apoptickému účinku i vůči rakovinným buňkám (Bakkali et al., 2008).

### 3.3 Antimikrobiální účinky

Metody využívané k posouzení účinku silic vůči mikroorganismům jsou založeny na použití agaru nebo bujónu (Perricone et al., 2015). Uváděné účinné množství silice, aby bylo dosaženo inhibice, se v různých zdrojích liší. Například u silice *Rosmarinus officinalis* se výsledky antimikrobiální aktivity vůči *Staphylococcus aureus* pohybují mezi 20 µg/ml až 50 000 µg/ml. To může být dáno přirozenou variabilitou ve složení silice, mikroorganismu, metodou testování nebo historií vzorku. Složení silice také závisí na použité části rostliny, době sklizně, způsobu pěstování, uskladnění, místě růstu a klimatu. Dále se rozdíly projevují i ve způsobu podání silice, kdy borovicová a jalovcová silice inhibují grampozitivní bakterie, ale pouze v plynné fázi. Různou aktivitu, v závislosti na způsobu podání, vykazuje i silice citronely, ta inhibuje různé houbové mikroorganismy, ale také pouze v plynné fázi (Başer et Buchbauer, 2010).

Fenolické látky se zdají být neaktivnější součástí silic, působící na membrány mikroorganismů, zejména pak na grampozitivní bakterie. (Burt, 2004). Gramnegativní bakterie jsou celkově více odolné vůči silicím. Vnější membrána gramnegativních bakterií obsahuje hydrofilní lipopolysacharidy, které působí jako bariéra. Tím bakterie získávají vyšší odolnost vůči hydrofobním antimikrobiálním látkám. Kvůli genetické variabilitě je těžké předpovědět působení silice vůči mikroorganismům (Pandey et al., 2017).

Terpenoidy jsou jedním z dalších sekundárních produktů metabolismu. Poskytují rostlině odolnost vůči patogenům. Monoterpenoidy jsou přirozeně antimikrobiální, narušují fyziologické a biochemické procesy mikroorganismů (Burt, 2004). Některé silice dokáží zvýšit propustnost membrán, rozpustit se v membráně a způsobit její bobtnání a snížení funkčnosti (Dorman et Deans, 2000). Lipofilní vlastnosti silic umožňují pronikat skrz buněčné stěny

houbových mikroorganismů a ovlivnit buněčné stěny, čímž změní morfologii buňky (Cox et al., 2000).

Se zvyšujícími se obavami veřejnosti ohledně používání antibiotik v chovu zemědělských zvířat a antibiotickou rezistencí bakterií, se Evropská unie rozhodla v roce 2006 zakázat používání antibiotik a růstových látek jako aditiv v zemědělství (Castanon, 2007). Antimikrobiální vlastnosti silic a aktivní látky v nich obsažené, mohou nabízet alternativu baktericidních a fungicidních konvenčně využívaných látek (Burt, 2004). Rostlinné látky jako carvone, menthol, eugenol a další jsou známé svým působením vůči hmyzu, bakteriálním a houbovým patogenům (Pandey et al., 2017). Je známo několik silic nebo jejich složek, které mají antibakteriální účinky in vitro, avšak v potravinách jsou jejich účinky nižší, a tudíž je potřeba vyšší koncentrace (Burt, 2004). Použití silic pro potlačení mikroorganismů v potravinách vyžaduje posouzení mnoha aspektů, jako je efekt na organoleptické vlastnosti potravin, rozsah aktivity silic vůči mikroorganismům a ovlivnění silic složkami potravy. Složky potravin se ukázaly jako důležitý aspekt při pokusu se silicemi *Origanum vulgare* a *Thymus vulgaris*, kdy tyto silice vykazují vyšší antimikrobiální aktivitu vůči *Listeria monocytogenes* při zvýšeném obsahu proteinů a slabé kyselosti potravy. Naopak při obsahu škrobu nebo oleje nad 5 % dojde ke snížení účinnosti silice (Gutierrez et al., 2008).

### **3.4 Antimikrobiální účinky čeledi *Apiaceae***

#### **3.4.1 *Heracleum verticillatum***

Při měření antibakteriální aktivity *Heracleum verticillatum* a *Heracleum ternatum* neboli bolševníku, byla použita silice kořene, listu a semen. Silice získaná z kořenů *Heracleum verticillatum* vykazuje vyšší antibakteriální aktivitu v porovnání s listy a semeny. Kořen má vůči *Staphylococcus aureus* a *Pseudomonas aeruginosa* vyšší inhibiční aktivitu než antibiotikum ampicilin. Proti bakterii *Salmonella typhimurium* vykazuje lepší účinky než ampicilin i streptomycin. Hlavní složkou silice je *n*-oktanol (50,3 %). Testování samotného *n*-oktanolu má stejné výsledky, což naznačuje, že právě *n*-oktanol je účinnou složkou. Silice *Heracleum ternatum*, kde dominoval oktyl acetát, vykazuje nižší antibakteriální aktivitu. Proti houbám vykazuje opět nejvyšší aktivitu kořen *Heracleum verticillatum* (Ušjak et al., 2016).

### 3.4.2 *Coriandrum sativum*

Silice *Coriandrum sativum* je účinná proti grampozitivním i gramnegativním bakteriím při použití metod diskové difuze, agaru i bujónu. Silicí koriandru je inhibován široký rozsah bakterií jako například *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* a několik kmenů *Pseudomonas* (Silva et Domingues, 2015). Antimikrobiální aktivita se pohybuje mezi 2,5 µg/ml a 300 µg/ml. Zvýšení koncentrace má za následek razantní zvýšení inhibičních účinků. To dává možnost využití silice jako alternativu pro použití v potravinářství (Rezaei et al., 2015).

Některé studie naznačují vyšší aktivitu vůči grampozitivním bakteriím. Silice se ukazuje účinná i vůči methicillin rezistentnímu *Staphylococcus aureus* 0,4 % (Delaquis, 2001). Jiné studie naopak naznačují vysokou aktivitu silice vůči gramnegativním bakteriím, kdy se minimální inhibiční koncentrace pohybuje mezi 0,03 % a 0,06 % (Rattanachaikunsopon et Phumkhachorn, 2014). Účinek silice proti houbovým organismům je znám u kvasinek a vláknitých hub. Pro kvasinky *Candida* spp. se inhibiční koncentrace pohybuje mezi 0,0008 % a 0,4 % (Silva et Domingues, 2015).

### 3.4.3 *Foeniculum vulgare*

Výtěžnost silice ze semen *Foeniculum vulgare* se pohybuje mezi 2,4 % a 6,4 %. Hlavní složkou je trans-anetol, který je hlavní látkou způsobující antimikrobiální vlastnosti silice. Při testování *Escherichia coli* je nejvyšší inhibice dosaženo v rozmezí 31,25 µg/ml až 62,5 µg/ml (Salami et al., 2016a). Silice ze semen vykazuje vyšší inhibiční aktivitu než silice získaná z listů. V antimikrobiální aktivitě vzorků z různých zemí se projevují rozdíly. Efekt na *Escherichia coli* a *Staphylococcus aureus* byl stejný jako má antibiotikum amikacin (Salami et al., 2016b)

Nejlepší čas pro sběr semen je v době plné vyzrálosti, kdy stoupá obsah anetolu přes 80 %. Další látkou, kterou fenykl obsahuje je fenchon, jedná se o monoterpen využívaný v potravinách a parfémtech. Obsah fenchonu se pohybuje v rozmezí 12 % až 25 %. V lidovém léčitelství se využívá jako antispazmolytikum. Také se ukazuje, že orální podávání silice v koncentraci 2 % snižuje menstruační bolesti a vyrovná tak účinky běžně podávaných léků (Başer et Buchbauer, 2010).

### 3.5 Získávání silic

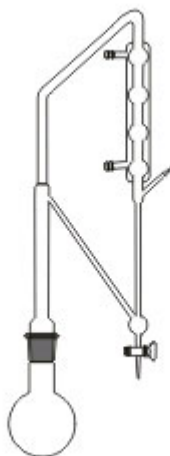
Silice jsou těkavé, komplexní sloučeniny charakteristické aromatickou vůní. Silice mohou být produkovány pupeny, květy, listy, stonky, větvičkami, semeny, plody, kořeny, dřevem nebo kůrou (Bakkali et al., 2008). Přítomnost silic v rostlinách slouží jako důležitá obranná strategie rostlin proti býložravcům, hmyzu, bakteriím, virům a hubám. Tyto látky také slouží k interakci mezi rostlinami a přilákání opylovačů (Batish et al., 2008).

Nejčastěji se silice získávají parní destilací nebo hydrodestilací, což jsou metody objevené již ve středověku (Richter et Schellenberg, 2007). Chemické sloučeniny v silici musí být těkavé, protože jsou získávány právě procesem destilace. K tomu, aby byl bod varu dostatečně nízký pro destilaci za normálního atmosférického tlaku, musí být molekulová hmotnost nižší než 300 Daltonů. Sloučeniny také obvykle bývají hydrofobní (Başer et Buchbauer, 2010). Pro stanovení obsahu silice a následně jejího složení se nejčastěji používá výše uváděná hydrodestilace (Richter et Schellenberg, 2007). Při použití hydrodestilace se rostlinný materiál rozmělní a ponoří do vody, která se přivede k varu. Samotné zařízení se skládá ze spodní baňky, do které je vložen rostlinný materiál a voda. Baňka je spojena s kondenzátorem, ve kterém je zachytávána silice. Součástí je i třísměrný ventil, který umožňuje vodě znovu kolovat v systému, nebo kterým se oddělí silice od vodní fáze (Başer et Buchbauer, 2010). Ale diskutuje se o vhodnosti této metody pro následnou analýzu složení, z důvodu vystavení silice teple, vodní páře a pH. Další nevýhodou je časová náročnost metody hlavně v případě většího množství vzorků (Richter et Schellenberg, 2007).

Při parní destilaci je pára přiváděna potrubím z bojleru do kolony, kde proudí skrz perforované dno, na kterém je rostlinný materiál. Vysokotlaká parní destilace je často využívána v Evropě a Americe, kde se využívá vysokého tlaku a vyšší teploty ke zkrácení doby destilace. Tato destilace se nejčastěji používá při produkci silic ve větším množství, jako například peppermint, spearmint a levandin (Başer et Buchbauer, 2010).

Silice citrusů se získávají pomocí lisování za studena, kdy je slupka citrusu mechanicky stlačena, až dojde k uvolnění silice (Başer et Buchbauer, 2010). V parfumerii se k získávání silic využívají lipofilní rozpouštědla. Dalšími dnes využívanými metodami je extrakce tekutým oxidem uhličitým nebo mikrovlnami (Bakkali et al., 2008).

Výběrem metody extrakce se mění množství zastoupených látek, ale také stereochemické typy molekul. Metoda se tedy volí podle účelu použití získané silice. Na složení získané silice má vliv také klima, složení půdy, věk, vegetativní stav a rostlinný orgán použitý k extrakci (Bakkali et al., 2008).



Obrázek č. 1: Destilační kolona typu Clevenger

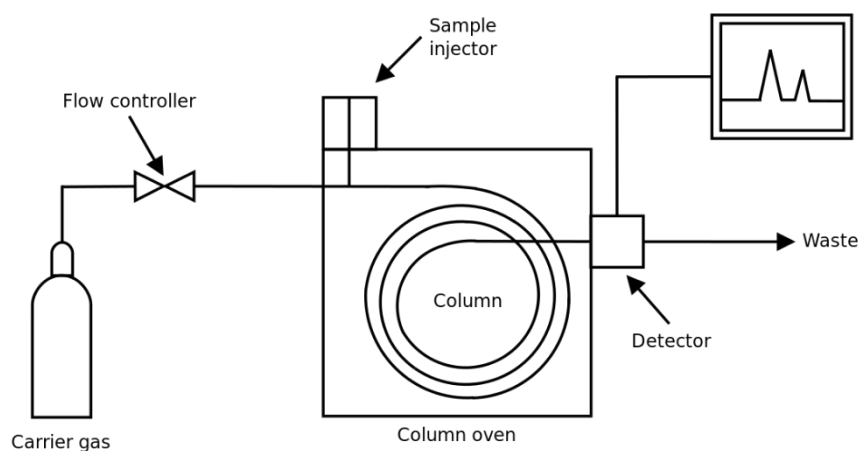
### 3.6 Plynová chromatografie

Pro analýzu plynovou chromatografií je nutné, aby látky byly tepelně stálé a měli relativní molekulovou hmotnost menší než 1000 Daltonů. Pokud má látka nevyhovující vlastnosti je možné její převedení na analyzovatelné deriváty. Metoda není použitelná v případě makromolekul, organických a anorganických solí (Klouda, 2003). Silice jsou většinou směsí 20 až 60 látek, ale obvykle bývají charakteristické 2 až 3 látkami, které tvoří 20 % až 70 % samotné silice. Ostatní látky bývají zastoupeny ve stopových množstvích. Složky silic patří do skupin terpenů, terpenoidů, aromatických a alifatických sloučenin. Všechny složky jsou typické nízkou molekulovou hmotností (Bakkali et al., 2008).

Při analýze je vzorek dávkován do proudu nosného plynu, který je v plynové chromatografii mobilní fází. Zdrojem nosného plynu je tlaková láhev obsahující vodík, dusík, argon nebo helium. Plyn je vybrán podle jeho schopnosti unášet vzorek, ale zároveň být vůči vzorku inertní. Regulační systém zajistí kontrolu a stálost toku plynu. Dávkovač vzorku zajistí nástřik vzorku do proudu nosného plynu a jeho odpaření. Nástřik lze provést dvěma způsoby, a to s děličem toku nebo bez děliče toku. V případě, že je využito děliče toku dojde k nástřiku koncentrovaného vzorku o objemu 0,1  $\mu$ l až 2  $\mu$ l, kdy se pomocí děliče do kolony dostane pouze jeho zlomek. Druhý způsob nástřiku bez děliče toku je využívám pro nástřik vzorků, které jsou



méně koncentrované a bývají v objemu 0,5 µl až 5 µl. Vzorek je přeměněn na plyn a je unášen kolonou, kde dojde k separaci látek na základě jejich schopnosti vázat se na stacionární fázi. Důležitou částí zařízení je termostat, díky kterému je zajištěna dostatečná teplota pro udržení vzorku v plynném stavu. V případě, že vzorek obsahuje široké spektrum látek s různými teplotami varu, je možné termostat nastavit, aby upravoval teplotu pro analýzu. Termostat běžně pracuje s teplotami v rozmezí 50 °C až 300 °C. Na konci kolony se nachází detektor, ze signálu detektoru se na základě času a intenzity vyhodnotí druh a kvantitativní zastoupení látek. Vyhodnocovací zařízení zpracuje signál z detektoru a zakreslí jej jako chromatografickou křivku (Klouda, 2003).



Obrázek č. 2: Schéma plynové chromatografie

## 3.7 Vybrané mikroorganismy

### 3.7.1 *Enterococcus faecalis*

*Enterococcus faecalis* je grampozitivní, nesporulující, fakultativně anaerobní kok (Van Tyne et al., 2013). Normálně se vyskytuje ve střevní mikrobiotě zvířat a lidí (Peel et al., 2012). *E. faecalis* je oportunistický patogen, nebezpečný převážně pro jedince s oslabeným imunitním systémem (Daniel et al., 2017). Je jednou z hlavních příčin infekcí v nemocničních zařízeních. *E. faecalis* je známý pro svou schopnost získávat antibiotickou rezistenci (Van Tyne et al., 2013). Často je proto rezistentní vůči několika typům antibiotik. *E. faecalis* je schopný přenášet svou antibiotickou rezistenci na jiné bakterie (McBride et al., 2007). V posledních několika desetiletích je častou příčinou infekcí pooperačních ran nebo močových cest (Wang et al., 2017). Rezistence na antibiotika, jako Tetracyclin, také často pochází z farmářských zvířat. Rezistentní *E. faecalis* se dnes může nalézat i ve vodních zdrojích, protože lidská populace, zvířata a životní prostředí jsou propojené (Daniel et al., 2017).

Schopnost způsobovat tolik infekcí je také díky vysoké odolnosti mikroorganismu. Dokáže přežít v nemocničním prostředí a obranné mechanismy napadeného organismu. Další jeho výhodou je získávání různých znaků jiných organismů pomocí horizontálního transferu. Předpokládá se, že takto získal exotoxin cytolysin, povrchové proteiny, hydrolasy a další. Výměna genetické informace probíhá také pomocí plazmidů (McBride et al., 2007). Exotoxin dokáže narušovat jak bakteriální, tak eukaryotické buňky (Van Tyne et al., 2013).

### **3.7.2 *Escherichia coli***

*Escherichia coli* je gramnegativní, fakultativně anaerobní tyčinka ze skupiny Enterobakterií. Byla pojmenována po německém vědci Theodoru Escherichovi (Gomes et al., 2016). *E. coli* se normálně vyskytuje ve střevní mikrobiotě zvířat i lidí. Ačkoliv nejsou všechny kmeny *E. coli* nebezpečné, některé dokáží způsobovat nemoci lidí, savců a ptáků (Bélanger et al., 2011).

Patogenní *E. coli* se rozděluje na dvě kategorie. První jsou kmeny, které způsobují střevní patologie. Rozděluje se dále na typy enteropatogenní, enterohemoragické nebo tvořící enterotoxiny. Rezervoárem těchto kmenů jsou často zvířata na farmách. Druhým typem jsou kmeny způsobující extraintestinální patologie (Bélanger et al., 2011). Tento typ je příčinou infekcí, včetně močových infekcí, meningitid a otrav krve (Kaper et al., 2004). *E. coli* nejčastěji způsobuje průjemová onemocnění a je častou příčinou úmrtí dětí a novorozenců v rozvojových zemích (Gomes et al., 2016). Je jí přisuzována i vysoká úmrtnost brojlerových kuřat (Bélanger et al., 2011). *Escherichia coli* je nejspíše nejlépe prozkoumanou bakterií, často využívanou ve výzkumech. Také je bakterií, u které se zvyšuje antibiotická rezistence (Russo et Johnson, 2003).

### **3.7.3 *Pseudomonas aeruginosa***

*Pseudomonas aeruginosa* je gramnegativní, aerobní tyčinka, která je všudypřítomná v životním prostředí (Jo et al., 2014). *P. aeruginosa* je za určitých podmínek schopna žít i anaerobně v prostředí s nitráty nebo L-argininem (Wu et al., 2005). Je to oportunistický patogen, způsobující řadu akutních i chronických infekcí u pacientů se sníženou imunitou. Je také hlavní příčinou úmrtí pacientů s cystickou fibrózou (Moradali et al., 2017). Pro pacienty v nemocničních zařízeních je nebezpečná zejména díky rezistenci vůči široké škále antibiotik (Kalluf et al., 2017). Dále způsobuje některé oční infekce, které vedou až k slepotě pacienta (Murugan et al., 2017). Je také zodpovědná za zvýšenou mortalitu pacientů s nemocemi plic a popáleninami. Způsobuje také infekce močových cest (Turnpenny et al., 2017).

*P. aeruginosa* je schopná přizpůsobovat svůj metabolismus, měnit své lokální prostředí a díky tomu uzpůsobit svou rezistenci vůči imunitnímu systému a léčbě antibiotiky. Bakterie je také schopna komunikovat s okolními koloniemi a měnit tak pohyblivost, biofilm a hustotu populace (Turnpenny et al., 2017).

#### **3.7.4 *Staphylococcus aureus***

*Staphylococcus aureus* je grampozitivní, fakulativně anaerobní kok. Dosahuje rozměrů v průměru 1  $\mu\text{m}$  (Forsythe, 2010). Koky se seskupují do hloučků tak, že vytváří útvary podobné hroznům (Schindler, 2010). *S. aureus* je fakultativně anaerobní, ale je schopný růst i v aerobních podmínkách (Forsythe, 2010). Součástí jeho metabolismu je i produkce karotenoidů, jehož produktem je zlaté zbarvení kolonií (Ray et Bhunia, 2014). Vyskytuje se ve vzduchu, prachu, odpadních vodách, vodě, průmyslu, potravinách, na lidech i zvířatech (Forsythe, 2010). Neprodukuje spory, ale může způsobit kontaminace potravin během přípravy a zpracování. Optimální pro růst *S. aureus* je teplota 37 °C, ale může růst už v rozmezí mezi 7 °C a 48.5 °C. Růst probíhá v pH od 4.2 do 9.3 s optimem pH mezi 7 a 7,5. *S. aureus* dokáže přežít velmi vysoké koncentrace NaCl a to až 15 %. Dále mu nevadí ani suché prostředí jako lidská kůže, povrchy předmětů nebo oblečení (Kadariya et al., 2014).

Nebezpečí jeho výskytu je v tom, že produkuje toxiny nazývané enterotoxiny, které jsou termostabilní (Forsythe, 2010). *S. aureus* se nejčastěji vyskytuje v jídlech s vyšším obsahem proteinů jako mléko, mléčné produkty, maso a masné produkty, saláty, pekařské výrobky a sendviče (Hennekinne et al., 2012). Intoxikace se projeví 1 až 8 hodin po požití kontaminované potravy a symptomy zahrnují slinění, žaludeční nevolnost, zvracení, břišní křeče a průjem. V některých případech se vyskytují bolesti hlavy, svalové křeče nebo změny krevního tlaku. Průběh může být velmi rychlý a akutní, ale je ovlivněn množstvím požitě kontaminované potravy, množstvím toxinu v potravě a zdravotním stavem jedince (Forsythe, 2010).

*S. aureus* trvale kolonizuje až 20 % lidské populace, avšak jeho přítomnost je pokládána za normální mikroorganismus lidské kůže, nosu a krku (Foster et al., 2013). *Staphylococcus aureus* způsobuje celou řadu infekcí. Jedná se hlavně o infekce ran, abscesy, otravy krve, zápal plic a artritidy (Shahdordizadeh et al., 2017).

Jak se ukazuje, *Staphylococcus aureus* má zvlášť dobré předpoklady si vytvořit obranné mechanismy proti účinkům antibiotik (Bud, 2007). Je velice úspěšným lidským patogenem s globálním rozšířením. Od prvního rozpoznání v 60. letech 20. století se brzy na lékařských pracovištích objevily jeho methicillin rezistentní kmeny neboli MRSA (Jenney et al., 2014). Hlavním důvodem zvýšeného množství úmrtí na lékařských pracovištích jsou právě methicillin rezistentní kmeny (Edited by W. Michael Scheld et al., 2008). V posledních letech však byly pozorovány případy nákazy lidí bez kontaktu s nemocničním prostředím (Jenney et al., 2014). *Staphylococcus aureus* je druhým nejčastějším onemocněním vyžadujícím lékařské ošetření v rozvojových zemích. Brzká identifikace pacientů s MRSA a zároveň prevence šíření jsou nejdůležitějšími opatřeními (Pourakbari et al., 2017). I přes vývoj nových antibiotik se však problém bakteriální rezistence nepodařilo zcela vyřešit. Bakterie časem získávají rezistenci i k novým typům antibiotik (Bud, 2007).

### **3.7.5 *Candida albicans***

Kvasinku *Candida albicans* lze nalézt jako obvyklý lidský střevní mikroorganismus (Noble et al., 2016). Zároveň je i nejčastějším houbovým patogenem u lidí (Zida et al., 2017). *C. albicans* může překonat střevní bariéru a vstoupit tak do krevního řečiště. Schopnost zabránit vstupu do krve je dána imunitní odpovědí hostitelského organismu, a to jak imunitou vrozenou, tak získanou (Tong et Tang, 2017).

Infekce jsou často způsobeny zdravotnickým vybavením, jako jsou katetry a injekce, které naruší přirozenou bariéru těla a umožní vstup *C. albicans* do krevního řečiště (Richardson et Moyes, 2015). *C. albicans* je právě proto nejčastěji nalezený houbový patogen u nemocničních pacientů. U těchto pacientů způsobuje sepse a septické šoky, které zvyšují úmrtnost (Tong et Tang, 2017). Může způsobit život ohrožující infekce, zvláště u pacientů s nízkou imunitou nebo užívajících imunosupresiva (Pongrácz et al., 2015). Infekce *C. albicans* často doprovází další bakteriální infekce (Tong et Tang, 2017). Kvůli vyvinutí rezistence na obvykle používaná antimykotika, je dnes potřeba najít nová účinná léčiva (Zida et al., 2017).

## 3.8 Vybrané rostliny

### 3.8.1 *Anthriscus cerefolium* L. Hoffm.

Rostlina je původem z Evropy a Asie, ale rozšířila se i do Severní Ameriky. Využití nachází hlavně v kuchyni jako koření. *Anthriscus cerefolium* L. Hoffm. je také známý pod názvem kerblík třebule, je to 0,5 metru vysoká, málo rozvětvená jednoletá rostlina s dutou lodyhou (El Gendy et al., 2015). Vyznačuje se světle zelenými, jemnými, dvakrát trojně zpeřenými listy (Janča et Zentrlich, 1995b). Listy jsou nejprve světle zelené, poté však mění barvu do červeno-oranžové (El Gendy et al., 2015). Okolíky jsou přisedlé, s 2 až 5 okolíčky, které tvoří drobné bílé květy. Plody vyrůstají na krátkých stopkách, jsou čárkovitě podlouhlé, délky 7 až 10 mm. Po rozemnutí rostlina voní po anýzu (Janča et Zentrlich, 1995b).

Kerblík je obvykle rostlina pěstovaná, občas zplaňující. Při sběru v lese je nutné dávat si pozor na záměnu s bolehlavem, který také patří do čeledi miříkovitých. Sbírá se především nať, někdy i semena. Nať se uplatňuje jako kuchyňská zelenina (Janča et Zentrlich, 1995b).

V lidovém léčení se nať používá při zánětech močového měchýře. Kromě urologických problémů se kerblík využívá při bolestech žaludku, bronchitidě, při kožních problémech a u otoků lymfatických uzlin. Nejčastěji se z nati připravuje odvar, nálev nebo extrakt. Další využívanou částí jsou semena rostliny, která se drtí na prášek podávaný po jídle (Janča et Zentrlich, 1995b).



Obrázek č. 3: *Anthriscus cerefolium*

### 3.8.2 *Anthriscus sylvestris* L. Hoffm.

*Anthriscus sylvestris* je divoce rostoucí rostlina, kterou lze nejčastěji nalézt v remízkách, na okrajích silnic, v lesích, zanedbaných pastvinách a sečných lukách (Olaru et al., 2015). Původem je rostlina z Evropy, západní Asie, severozápadní Afriky a středomořských oblastí. Rostlina dorůstá 60 až 170 centimetrů. Kvetे od poloviny jara až do léta. Květenstvím jsou okolíky s drobnými bílými květy (Yong et al., 2009). Rostlina je schopna se adaptovat na různá prostředí, a tak ji lze nalézt i v subtropických oblastech. Tyto adaptace však změni životní cyklus a dochází ke změnám v růstu a vývoji rostlinných orgánů (Li et Sheng, 2008). Rostlina obsahuje deoxypodophyllotoxin, který vykazuje antirakovinné, antiproliferační, antivirové, protizánětlivé a insekticidní účinky (Olaru et al., 2015).

Tradičně se užívá při bolestech hlavy jako tonikum (Olaru et al., 2015). Nadzemní část rostliny je využívána při léčbě ledvinových kamenů (Allen et Hatfield, 2004). Kořenová část je v Asii využívána jako antipyretikum, analgetikum, diuretikum a k léčbě kašle (Olaru et al., 2015). V Indii se používá k léčení revmatismu a zánětlivých onemocnění (Gairola et al., 2014). Sušený kořen je tradičně používán v Koreji a Číně při léčbě nejrůznějších onemocnění (Hendrawati et al., 2011).



Obrázek č. 4: *Anthriscus sylvestris*

### 3.8.3 *Astrantia major* L.

*Astrantia major* L. neboli jarmanka vyšší je 0,5 metru vysoká, vytrvalá rostlina s chudě větvenou a málo olistěnou lodyhou. Jarmanka roste ve vlhkých částech stinných lesů. Přízemní listy jsou dlouze řapíkaté, obvykle pětídílné a pilovitě zubaté. Dalším poznávacím znakem jsou drobné bílé květy ve vrcholových okolících. Jarmanka kvete v červenci až srpnu. Plodem jsou 5 mm dlouhé nažky. V minulosti býval hlavním zájmem sběru oddenek sbíraný na podzim. S ohledem na jeho mírnou toxicitu, vyvolávající občas nevolnost, se začala užívat nať (Janča et Zentrich, 1995b).

V lidovém léčitelství se jarmanka užívá jako močopudný prostředek, pro zlepšení trávení a zvýšení tvorby žaludečních šťáv. Dále se používá jako prostředek proti ledvinovým kamenům, zevně jako antialergikum, při alergické rýmě a k léčbě ekzémů. Z jarmanky se připravují nálevy, odvary, prášek, balzám nebo se přidává do čajových směsí. Dalším uváděným produktem je podávání jarmanky v tzv. medové břečce. Přípravky z jarmanky se nedoporučuje podávat dlouhodobě ani těhotným ženám (Janča et Zentrich, 1995b).



Obrázek č. 5: květ *Astrantia major*

### 3.8.4 *Pastinaca sativa* L.

V Čechách také známý jako pastinák setý je trvalka s bílým, vřetenovitým kořenem (Janča et Zentrich, 1995a). Jeho původ je v Evropě a Asii, kde je využíván v kulinářství, často také jako jídlo pro novorozence nebo krmivo hospodářských zvířat (Castro et al., 2012). První důkazy o dávném pěstování jsou 4000 let stará semena pastináku, která byla nalezena ve Švédsku. O pěstování ve zbytku Evropy jsou zmínky ze 14. století. Pastinák se rozšířil i do dalších částí světa, nejspíše jako pěstovaná rostlina. Kořen je bohatý na sacharidy, a proto byl kultivován a konzumován v mnoha částech světa. Komerčně je dnes pastinák kultivován v Severní Americe, Evropě a Oceánii (Jogesh et al., 2015). Pastinák se běžně pěstuje i u nás, dříve občas zplaňoval na lukách, pastvinách a březích vod. V současnosti je zplanění pastináku neobyčejně vysoké. Rostlina dorůstá až 1 metru, lodyha je ostře hranatá s krátkými a roztroušenými chlupy. Listy pastináku jsou úzké, na bázi klínovité a v dolní polovině peřenoklané. Květenství jsou okolíčky s 10 až 20 menšími žlutě kvetoucími okolíčky, které rozkvétají v červenci. Plodem jsou dvounažky s křídélky po stranách. Některé kultivary pastináku žijí jako dvouleté rostliny (Janča et Zentrich, 1995a).

Lidově se pastináku také říká „starý petržel“. Kořen se používá v lidovém léčitelství k léčení různým močových potíží a močových kamenů. Dále se využívá k uklidnění zažívání, protikřečově, močopudně, při zánětech v hrdle a ke zlepšení chuti k jídlu. Z kořene vykopaného v květnu až červnu se vyrábí nálevy, tinktury, pastinákové víno, odvary, pastinákový likér a šťáva. Dlouhodobé podávání výrobků však není vhodné vzhledem k tomu, že pastinák dráždí ledviny a při podávání v létě může na slunci vnímavým osobám způsobit fotodermatózu (Janča et Zentrich, 1995a).



Obrázek č. 6: *Pastinaca sativa*



### 3.8.5 *Pimpinella saxifraga* L.

*Pimpinella saxifraga* je také známá pod názvem bedrník obecný (Janča et Zentrich, 1994). Rostlina je rozšířena v Evropě a Asii (Kisiel et al., 1998). Bedrník se reprodukuje výlučně generativní způsobem. Zřídka se vyskytuje jako dominantní druh v porostu (Niinemets, 2005). Rostlina přizpůsobená na slunné otevřené plochy, často ji lze nalézt na málo obhospodařovaných travních porostech. Kvůli hnojení a intenzivnímu obhospodařování půdy však bedrník a další rostliny mizí. Nedávné nálezy ale ukazují, že se bedrníku daří u krajů silnic, kde prospívá (Auestad et al., 2010).

Bedrník je trvalka s lysou, někdy i mírně pýřitou lodyhou. Lodyha je oblá s jemným rýhováním, větvená, nahoře bezlistá. Dolní listy jsou přisedlé, vejčité a zubaté. Oddenek je vřetenovitý. Rostlina dorůstá 0,5 metru. Květenstvím jsou okolíky s 6 až 25 okolíčky a bílými květy. Předmětem sběru je kořen, někdy i listy, které se používají jako koření (Janča et Zentrich, 1994).

Kořeny rostliny byly využívány v léčitelství při léčbě kašle a plicních onemocněních (Kisiel et al., 1998). Z kořene se také připravují tinktury, nálev, balzámy nebo prášek. Bedrníku je přisuzována schopnost zmenšovat ledvinové kameny, detoxikovat, léčit dýchací cesty, zvyšovat imunitu a při zevním použití urychlovat hojení. Kombinací s dalšími rostlinami se z bedrníku připravují směsi na léčbu otoků, vykašlávání a nachlazení. Při předávkování může dojít k precitlivosti na světlo (Janča et Zentrich, 1994).



Obrázek č. 7: list *Pimpinella saxifraga*

### 3.8.6 *Sanicula europaea* L.

*Sanicula europaea*, také známá pod názvem žindava evropská, je trvalka dorůstající až 0,5 metru (Janča et Zentrlich, 1997). Rostlina se vyskytuje v Evropě, částech Afriky a Asie (Gustafsson et Ehrlen, 2003). Žindava má krátký plazivý, hnědý oddenek a jednoduchou, málo větvenou lodyhu (Janča et Zentrlich, 1997). Rostlina je stále zelená se silnými a kožnatými listy (Gustafsson et Ehrlen, 2003). Listy jsou přizemní, řapíkaté s okrouhlou, dlanitou pětídílnou čepelí, která je na okrajích pilovitá. Květy žindavy jsou drobné, bílé a seskupené do kulovitých strboulů, kde vytváří vidlanovitý vrcholík (Janča et Zentrlich, 1997). Kvěst začíná ve věku 8 až 16 let, její semena mají háčky, které slouží k uchycení např. na zvířecí srst (Gustafsson et Ehrlen, 2003). Rostlina kvete od května do června a jejím plodem jsou kulovité nažky. Žindavu je možné nalézt ve stinných lesích, především v bučinách (Janča et Zentrlich, 1997). Rostlina má také schopnost se rozmnožovat vegetativně pomocí oddenku (Gustafsson et Ehrlen, 2003).

V léčitelství je předmětem sběru hlavně kvetoucí nať, z které se připravují kloktadla, masti, prášek, nálevy a tinktury. V některých zemích se sbírá i kořen žindavy. Mast má mít protialergické účinky a také pomáhat při atopickém ekzému. Dále se používá proti vyrážkám, vředům a zahnísným ranám. Kloktadlo a tinktury působí proti bolestem v krku a při zánětech ústní sliznice a dásní. Vnitřní užití je vhodné při zánětech dýchacích cest a při poruchách trávení, k čemuž se nejčastěji užívá prášku z žindavy. Dalším výrobkem z žindavy je „zelená mast“, která se připravuje přimícháním pryskyřice, včelího vosku a měsíčkové masti. Mast se používá při léčbě kožních a cévních problémů a revma. Žindava nalezne uplatnění i při léčbě starých a špatně se hojících ran. Žindava není toxická, ale je pokládána za ostřeji působící, a proto není vhodná pro děti a oslabené jedince (Janča et Zentrlich, 1997).



Obrázek č. 8: *Sanicula europaea*

## 4 Materiál a metody

### 4.1 Rostlinný materiál

Výběr rostlin proběhl vyhledáním zmínky o obsahu silic v Herbářích léčivých rostlin (Janča et Zentrich, 1994, 1995a, 1995b, 1997). Ze seznamu rostlin obsahujících silice byly vybrány rostliny rostoucí na území České republiky. Dále byly vyřazeny ty rostliny, které již jsou dostatečně prozkoumány z hlediska jejich biologické aktivity a složení. K tomu bylo použito vyhledávání ve vědecké databázi Web of Science. Vybrané rostliny poté byly lokalizovány a sesbírány. Sběr rostlin probíhal v oblasti středních Čech v měsících červen až srpen. Rostliny byly sesbírány v době jejich květu, za slunného počasí v odpoledních hodinách.

#### 4.1.1 *Anthriscus cerefolium* L. Hoffm

Semena *Anthriscus cerefolium* byla zakoupena od firmy NOHEL GARDEN a z nich pak vypěstovány rostliny v lokaci 50 ° 06 ' 07.9 " severní šířky a 14 ° 03 ' 05.8 " východní délky. K testování byla použita celá zelená nadzemní část rostliny. Sušení proběhlo ve stínu, nasušená rostlina poté byla uložena v papírovém obalu na suché místo. K následné destilaci bylo použito 102,3 g sušeného materiálu.

#### 4.1.2 *Anthriscus sylvestris* L. Hoffm.

Rostliny byly sesbírány v době květu na souřadnicích 50 ° 06 ' 01.3 " severní šířky a 14 ° 02 ' 54.5 " východní délky. Sušení probíhalo ve stínu, poté byla rostlina uložena do papírového obalu na suché místo. K destilaci bylo použito 80,7 g zelené nadzemní části rostliny.

#### 4.1.3 *Astrantia major* L.

Na souřadnicích 50 ° 05 ' 37.6 " severní šířky a 14 ° 02 ' 52.3 " východní délky byla nasbírána kvetoucí nadzemní část rostliny, ta byla sušena ve stínu a poté uložena do papírového obalu. K destilaci bylo použito 117,23 g sušeného rostlinného materiálu.

#### 4.1.4 *Pastinaca sativa* L.

K destilaci byly nasbírány kořeny *Pastinaca sativa* v době květu rostliny na souřadnicích 50 ° 05 ' 56.5 " severní šířky a 14 ° 03 ' 06.7 " východní délky. Kořeny byly omyty, rozpůleny a sušeny ve stínu mimo přímé slunce, potom byly uloženy do papírového obalu na suché místo. K následné destilaci bylo použito 88,9 g sušených kořenů.

#### **4.1.5 *Pimpinella saxifraga* L.**

Kořenová část rostliny byla sesbírána na souřadnicích 50 ° 05 ' 57.6 " severní šířky a 14 ° 03 ' 04.9 " východní délky. Kořeny byly také omyty, rozpůleny a nasušeny mimo přímé slunce. Sušený materiál byl uskladněn v papírovém obalu na suchém místě. K následné destilaci bylo použito 132,4 g sušených kořenů.

#### **4.1.6 *Sanicula europaea* L.**

Na souřadnicích 50 ° 05 ' 51.9 " severní šířky a 14 ° 04 ' 15.3 " východní délky byla nasbírána celá nadzemní kvetoucí část rostliny. Rostliny byly nasušeny ve stínu, poté uloženy na suché místo v papírovém obalu. K následné destilaci bylo použito 125,87 g nasušené kvetoucí nadzemní části rostliny.

### **4.2 Přístroje a pomůcky**

Přístroj Multiscan Ascent od firmy CHEMOS CZ pro měření růstu mikroorganismů, pH metr, analytické váhy, běžné váhy, autokláv, inkubátor, flow-box, ultrazvuková lázeň, vibrační míchadlo, plynový kahan, topné hnízdo, optický denzimetr pro měření McFarlandovy stupnice (Biosan DEN-1B), Agilent GC 7890B s detektorem MS Q-TOF (Agilent, Santa Clara, FL, USA), nepolární kolona HP-5MS (30 m x 250  $\mu$ m x 0.25  $\mu$ m) od Agilent (Santa Clara, FL, USA), Agilent GC 7890A s detektorem FID (Agilent, Santa Clara, FL, USA), Multiscan Ascent Microplate Reader (Thermo Fisher Scientific, Waltham, USA).

Kádinky, odměrné válce, skleněné vialky, magnetické míchadlo, plastová korýtka, injekční stříkačky, plastové zkumavky s uzávěrem, zkumavky Eppendorf, stojánky na zkumavky, laboratorní lžičky, automatické pipety o objemech 10, 20, 100, 200, 1000  $\mu$ l a pipetovací špičky o odpovídajícím objemu, injekční stříkačky, inokulační destičky s hroty, mikrotitrační destičky s 96 jamkami s víčkem, Petriho misky, klávovací pytle, gumové rukavice.

Destilovaná voda, Tween 80 (Sigma-Aldrich), ethanol 96 %, ethanol 70 %, 35 % HCl, NaCl, KCl, Tris Base, MTT (3-(4,5-Dimethylthiazol-2-yl)-2,5-Diphenyltetrazolium Bromide), *Silice *Origanum vulgare** (Biomedica).

### 4.3 Extrakce silic

Suchý rostlinný materiál byl pokaždé najemno rozdrčen, nasypán do destilační baňky a poté byla přidána destilovaná voda. Následně proběhla destilace vodní parou za použití topného hnízda a destilační kolony typu clevenger po dobu 3 hodin. Silice byla uložena ve skleněné vialce při 4 °C. Po extrakci byla opakovaně změřena hmotnost 10 µl silice a z údajů byla prostým aritmetickým průměrem spočtena hustota silic. Výsledná hustota silic byla použita pro výpočet množství silice potřebného při antimikrobiálních testech.

### 4.4 Mikroorganismy

Pro testování byly použity kmeny American type culture collection (ATCC)

Grampozitivní bakterie *Enterococcus faecalis* ATCC 29212

*Staphylococcus aureus* ATCC 29213

Gramnegativní bakterie *Escherichia coli* ATCC 25922

*Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853

Kvasinka *Candida albicans* ATCC 10231

### 4.5 Média

Tris-buffered saline na přípravu 1 litru: 8 g NaCl, 0,2 g KCl, 6,1 g Tris Base (Sigma-Aldrich). Následně upravit na pH 7,6 pomocí 35 % kyseliny chlorovodíkové, poté autoklárovat při 121 °C po dobu 15 minut, a nakonec uložit při 4 °C.

Pro *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus* bujón Mueller-Hinton broth od firmy OXOID – příprava: 21 g na 1 litr tris-buffered saline a poté autoklárováno při 121 °C po dobu 15 minut, následně uložit při 4 °C.

Pro *Enterococcus faecalis* bujón Mueller-Hinton broth od firmy OXOID – příprava: 21 g na 1 litr tris-buffered saline, obohacen o 1 % glukózy a poté autoklárováno při 121 °C po dobu 15 minut, následně uložit při 4 °C.

Pro *Candida albicans* bujón Sabouraud dextrose liquid medium od firmy OXIOD - 30 g na 1 litr tris-buffered saline, a poté autoklárováno při 121 °C po dobu 15 minut, následně uložit při 4 °C.

## 4.6 Antimikrobiální aktivita

Antimikrobiální aktivita silic byla měřena pomocí mikrodiluční metody (CLSI, 2012). Všechny vzorky byly testovány po třech opakováních ve třech nezávislých testech.

### 4.6.1 Zásobní roztoky

Pro každý mikroorganismus bylo vytvořeno zásobní inokulum používané pro další pokusy. Toto inokulum bylo tvořeno médiem a příslušným mikroorganismem a inkubováno 24 h při 37 +/- 0,2 °C v případě bakterií, a při 25 +/- 0,2 °C po dobu 24 h pro *Candida albicans*. Následně byla tato zásobní inokula uložena při 4 °C.

Zásobní roztok silic byl připraven výpočtem z hustoty silice tak, aby počáteční koncentrace silice v 1. jamce odpovídala 1024 µl/ml. Potřebné množství silice bylo rozpuštěno v roztoku 96 % ethanolu a Tweenu smíchaného v poměru 2:1 tak, aby v konečném experimentu bylo maximálně 1,5 % tohoto rozpouštědla se silicí. Zásobní roztok byl zvortexován, umístěn na 5 minut v ultrazvukové lázni, znovu zvortexován a uskladněn při 4 °C. K porovnání antimikrobiálních účinků byla ještě přidána silice *Origanum vulgare* známá svými antimikrobiálními účinky. Silice *O. vulgare* byla připravena stejným postupem.

### 4.6.2 Testování

Před každým testem bylo z několika kapek ze zásobního inokula a příslušného bujónu připraveno nové inokulum pro testování. Inkubace nového inokula probíhala 24 h při 35 +/- 2 °C v případě bakterií a při 25 +/- 0,2 °C po dobu 24 h pro kvasinku.

Pro každý test bylo připraveno kontrolní antibiotikum. Jako kontrolní antibiotikum pro testování *Enterococcus faecalis* a *Staphylococcus aureus* byl zvolen Oxacillin (Sigma-Aldrich). Oxacillin dosahoval čistoty 86,3 %, jako rozpouštědlo byla použita destilovaná voda. Pro testování kvasinky *Candida albicans* byl jako kontrolní antibiotikum použit Tioconazole (Sigma-Aldrich) o 97 % čistotě, rozpuštěný v 96 % ethanolu. Pro bakterie *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* byl použit Tetracycline (Sigma-Aldrich) o čistotě 88 %, rozpuštěný v 96 % ethanolu. Množství je přepočítáno tak, aby počáteční koncentrace v 1. jamce destičky pro antibiotikum Oxacillin a Tioconazole byla 16 µl/ml, pro antibiotikum Tetracycline bylo zvoleno 64 µl/ml. Kvůli přesnosti vah bylo odměřeno 100x vyšší množství antibiotik

a rozpuštěno v příslušném rozpouštědle. Následně bylo odebráno 10 µl roztoku antibiotika, přidáno 990 µl příslušného bujónu a zvortexováno.

Před každým testem bylo ze zásobního roztoku silice odpipetováno potřebné množství silice v rozpouštědle a přidán vypočítaný objem bujónu. Tato směs byla ještě znovu zvortexována. Do 1. jamky destičky pro mikrodiluční test bylo vždy přeneseno 200 µl roztoku antibiotika nebo silice v bujónu. Do 2. až 12. jamky bylo napipetováno 100 µl příslušného bujónu. Následně je z 1. jamky přeneseno 100 µl do 2. jamky a promícháno. Z 2. jamky je znovu přeneseno 100 µl do 3. jamky a znovu promícháno. Tento postup se opakuje až do 10. jamky. Z 10. jamky je 100 µl odebráno a vyhozeno. Jamka č. 11 slouží pro kontrolu růstu a jamka č. 12 pro kontrolu čistoty bujónu.

Pro zaočkování destičky se do 15 ml zkumavky přidá příslušný bujón, změří denzita a přidá takové množství inokula, aby se hodnota zvýšila o 0,5 McFarland zákalového standardu (Biosan DEN-1B), což by mělo odpovídat  $1 - 2 \times 10^8$  KTJ/ml. Takto upravené inokulum bylo přelito do Petriho misky. Pomocí inokulátoru s jehlami je ponořením do Petriho misky dvakrát přeneseno inokulum do kultivačního média v jamkách 1 až 11 mikrotitrační destičky. Tím je dosaženo přibližně  $4 \times 10^5$  KTJ/ml v každé jamce destičky při objemu 100 µl. Inokulátor je po každém přenesení namočen v misce s ethanolem a sterilizován v plamenu kahanu. Zaočkové destičky jsou překryty označeným víčkem a uloženy do termostatu při teplotě  $37 \pm 0,2$  °C po dobu 24 h v případě bakterií a v případě kvasinky  $25 \pm 0,2$  °C po dobu 48 h. Růst testovaného mikroorganismu se projeví jako zákal na dně jamky.

Při smíchání silice *Origanum vulgare* s bujónem bylo pozorováno vytvoření bílého zákalu. Zákal zůstal v jamkách mikrodiluční destičky, a proto byl přidán slepý test pro silici *Origanum vulgare*. Test spočíval ve vytvoření ředící řady, jako u předchozích silic, vytvořené pouze silicí a bujónem, kontrolou růstu a kontrolou čistoty bujónu. Koncentrace v 1. jamce byla 1024 µg/ml silice *Origanum vulgare*. Kvůli zákalu tvořenému silicí byl růst mikroorganismů zkontrolován použitím MTT, který je živými mikroorganismy přeměněn na fialový formazan.

Růst mikroorganismů je hodnocen změřením zákalu vzorků pomocí přístroje Multiscan Ascent Microplate Reader (Thermo Fisher Scientific, Waltham, USA) v módu stepping při 405 nm. Výsledky 3 opakování každého ze 3 testů byly zprůměrovány, pak byla od každé hodnoty odečtena kontrola čistoty. Hodnota pro určitou koncentraci byla vydělena

hodnotou kontroly růstu a poté vynásobena 100, tím byl získán procentuální nárůst oproti kontrole růstu. Minimální inhibiční koncentrace (MIC 80) byla vyjádřena jako modus minimální koncentrace testované látky ( $\mu\text{g/ml}$ ), která inhibovala  $\geq 80$  % buněk. Minimální inhibiční koncentrace (MIC 50) byla vyjádřena jako modus minimální koncentrace testované látky ( $\mu\text{g/ml}$ ), která inhibovala  $\geq 50$  % buněk.

Tabulka č. 1: Ředící řady experimentu v  $\mu\text{g/ml}$

Testovaná látka	Jamka											
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
Silice	1024	512	256	128	64	32	16	8	4	2	Kontrola růstu	Kontrola čistoty
Tetracycline	64	32	16	8	4	2	1	0,5	0,25	0,125	Kontrola růstu	Kontrola čistoty
Oxacillin nebo Tioconazole	16	8	4	2	1	0,5	0,25	0,125	0,0625	0,03125	Kontrola růstu	Kontrola čistoty

#### 4.7 Chemické složení

Chemické složení jednotlivých silic bylo měřeno pomocí plynové chromatografie. Silice byla analyzována na přístroji Agilent GC 7890B s detektorem MS Q-TOF (Agilent, Santa Clara, FL, USA), přístroj byl vybaven nepolární kolonou HP-5MS (30 m x 250  $\mu\text{m}$  x 0.25  $\mu\text{m}$ ) od Agilent (Santa Clara, FL, USA). Silice byla rozpuštěna v n-hexanu pro GC v poměru 1:1000. 1  $\mu\text{l}$  vzorku byl použit k nástřiku do injektoru o teplotě 250  $^{\circ}\text{C}$  s poměrem dělení 12:1. Jako nosný plyn bylo použito helium o rychlosti proudění 1 ml/min. Teplotní program je nastaven na počátečních 60  $^{\circ}\text{C}$  držených konstantně 3 minuty, poté se teplota zvyšuje po 3  $^{\circ}\text{C}$  až na 231  $^{\circ}\text{C}$ , kde je teplota držena 10 minut. Celkový čas analýzy je 70 minut. Ionizační energie je nastavena na 70 eV a data byla získána v módu celkového skenování. Identifikace je založena na porovnání hmotnostního spektra a retenčních časů s National Institute of Standards and Technology Library (NIST, USA) a literaturou. Zastoupení individuálních sloučenin je vyjádřeno jako relativní procentuální podíl dle ploch píku.



## 5 Výsledky

### 5.1 Extrakce silic

Hydrodestilací bylo získáno 140  $\mu\text{l}$  nažloutlé silice *Anthriscus cerefolium*, což odpovídá výtěžnosti 0,14 %. Z rostliny *Anthriscus sylvestris* bylo s výtěžností 0,19 % získáno 150  $\mu\text{l}$  žluté silice. Z kvetoucí nadzemní části *Astrantia major* s výtěžností 0,18 % bylo získáno 210  $\mu\text{l}$  žlutozelené silice. Z kořenů *Pastinaca sativa* bylo vydestilováno 200  $\mu\text{l}$  světle žluté silice, což odpovídá výtěžnosti 0,23 %. Z kořenů rostliny *Pimpinella saxifraga* bylo s výtěžností 0,12 % získáno 160  $\mu\text{l}$  silice modré barvy. Výtěžnost kvetoucí nadzemní části rostliny *Sanicula europaea* byla 0,09 %, tím bylo získáno 110  $\mu\text{l}$  žluté až zelené silice. Výtěžnost silic shrnuje následující tabulka č. 2.

Tabulka č. 2: Výtěžnost silic z rostlinného materiálu

<i>Anthriscus cerefolium</i>	0,14 %
<i>Anthriscus sylvestris</i>	0,19 %
<i>Astrantia major</i>	0,18 %
<i>Pastinaca sativa</i>	0,23 %
<i>Pimpinella saxifraga</i>	0,12 %
<i>Sanicula europaea</i>	0,09 %

Po extrakci silic byla vypočítána hustota silic viz tabulka č. 3.

Tabulka č. 3: Hustota silic

<i>Anthriscus cerefolium</i>	943,8 $\mu\text{g}/\mu\text{l}$
<i>Anthriscus sylvestris</i>	884,2 $\mu\text{g}/\mu\text{l}$
<i>Astrantia major</i>	963,8 $\mu\text{g}/\mu\text{l}$
<i>Pastinaca sativa</i>	1051,8 $\mu\text{g}/\mu\text{l}$
<i>Pimpinella saxifraga</i>	928,2 $\mu\text{g}/\mu\text{l}$
<i>Sanicula europaea</i>	921,4 $\mu\text{g}/\mu\text{l}$

## 5.2 Antimikrobiální aktivita

Minimální inhibiční koncentrace (MIC 80 a MIC 50) byla vyjádřena jako modus ze 3 opakování ve 3 nezávislých testech. Neaktivnější byla již známá silice *Origanum vulgare*. Z vybraných rostlin poté *Pimpinella saxifraga*, která inhibovala růst *S. aureus* (MIC 50 při 1024 µg/ml) a *C. albicans* (MIC 50 při 512µg/ml a MIC 80 při 1024 µg/ml). Další aktivní silicí byla silice *Pastinaca sativa*, která inhibovala *C. albicans* (MIC 50 při 512µg/ml a MIC 80 při 1024 µg/ml). *Astrantia major* inhibovala *C. albicans* (MIC 50 při 512µg/ml a MIC 80 při 1024 µg/ml). Účinnost antibiotik (MIC) vůči kmenům ATCC odpovídala udávaným koncentracím dle (CLSI, 2013).

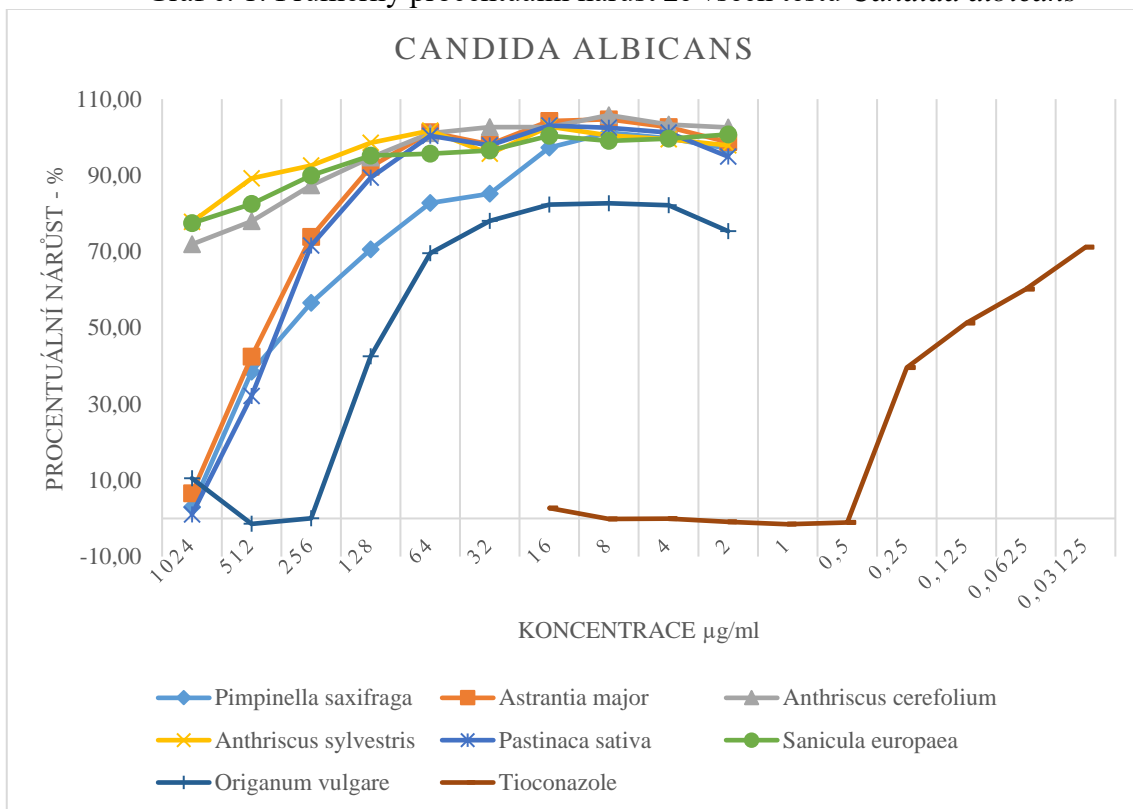
Tab. č. 4: Modus minimální inhibiční koncentrace (MIC 80 a MIC 50)

		<i>E. faecalis</i>	<i>E. coli</i>	<i>P. aeruginosa</i>	<i>S. aureus</i>	<i>C. albicans</i>
<i>Anthriscus cerefolium</i>	MIC 80	-	-	-	-	-
	MIC 50	-	-	-	-	-
<i>Anthriscus sylvestris</i>	MIC 80	-	-	-	-	-
	MIC 50	-	-	-	-	-
<i>Astrantia major</i>	MIC 80	-	-	-	-	1024
	MIC 50	-	-	-	-	512
<i>Pastinaca sativa</i>	MIC 80	-	-	-	-	1024
	MIC 50	-	-	-	-	512
<i>Pimpinella saxifraga</i>	MIC 80	-	-	-	-	1024
	MIC 50	-	-	-	1024	512
<i>Sanicula europaea</i>	MIC 80	-	-	-	-	-
	MIC 50	-	-	-	-	-
<i>Origanum vulgare</i>	MIC 80	-	512	-	-	256
	MIC 50	-	256	512	512	128
Antibiotikum	MIC 80	8	0,125	1	0,5	0,5
	MIC 50	4	0,0625	0,5 - 1	0,03125	0,125

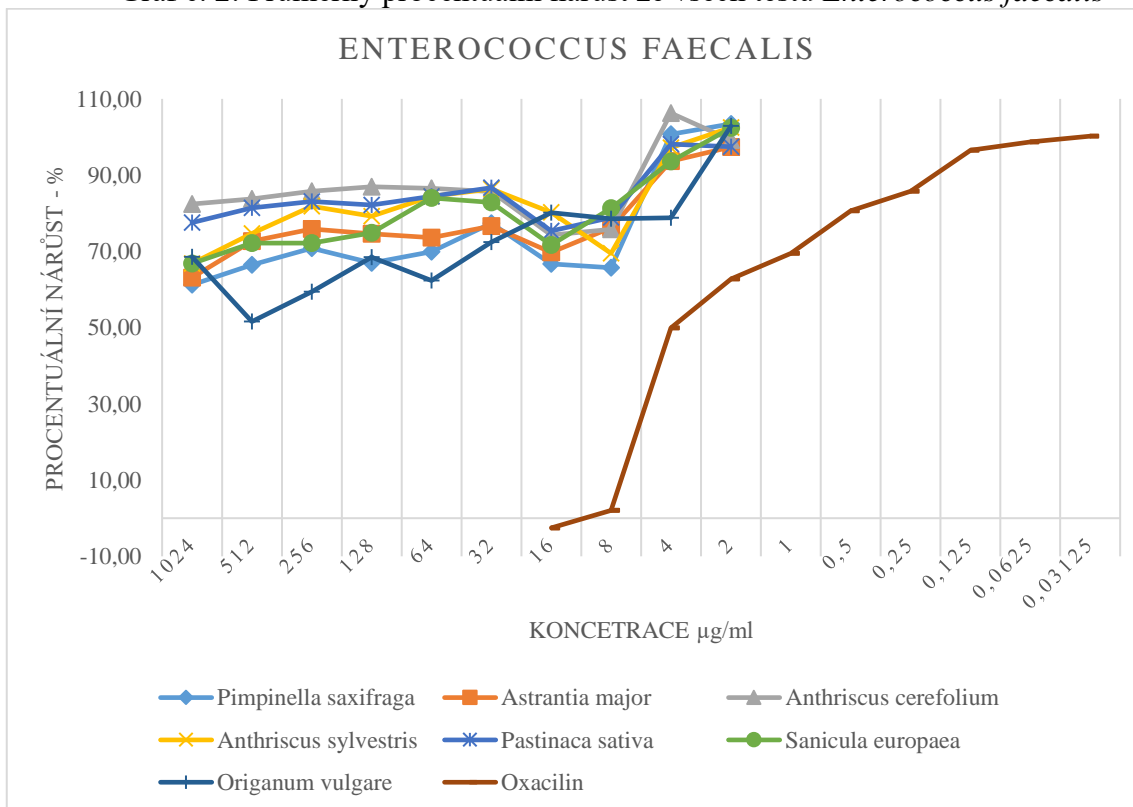
Hodnoty jsou uvedeny v µg/ml. Pokud není vyplněna hodnota, MIC nebylo dosaženo ani při 1024 µg/ml. Antibiotikum pro *E. coli* a *P. aeruginosa* byl Tetracycline, *E. faecalis* a *S. aureus* antibiotikum Oxacilin, *C. albicans* antibiotikum Tioconazole.

Přestože minimální inhibiční koncentrace MIC 50 a MIC 80 (Tab č. 4) bylo dosaženo pouze u některých silic (při 128 µg/ml až 1024 µg/ml), částečná inhibice mikroorganismů probíhala i v nižších koncentracích, což je patrné v následujících grafech č. 1 až č. 5. Kvůli reakci silice s bujónem a vytvoření zákalu, který zvedl hodnotu změřené absorbance byly tyto jamky otestovány pomocí MTT, které s živými buňkami reaguje změnou barvy. Jamky se zvýšenou hodnotou po testu pomocí MTT vyšly jako mikrobiálně inhibované.

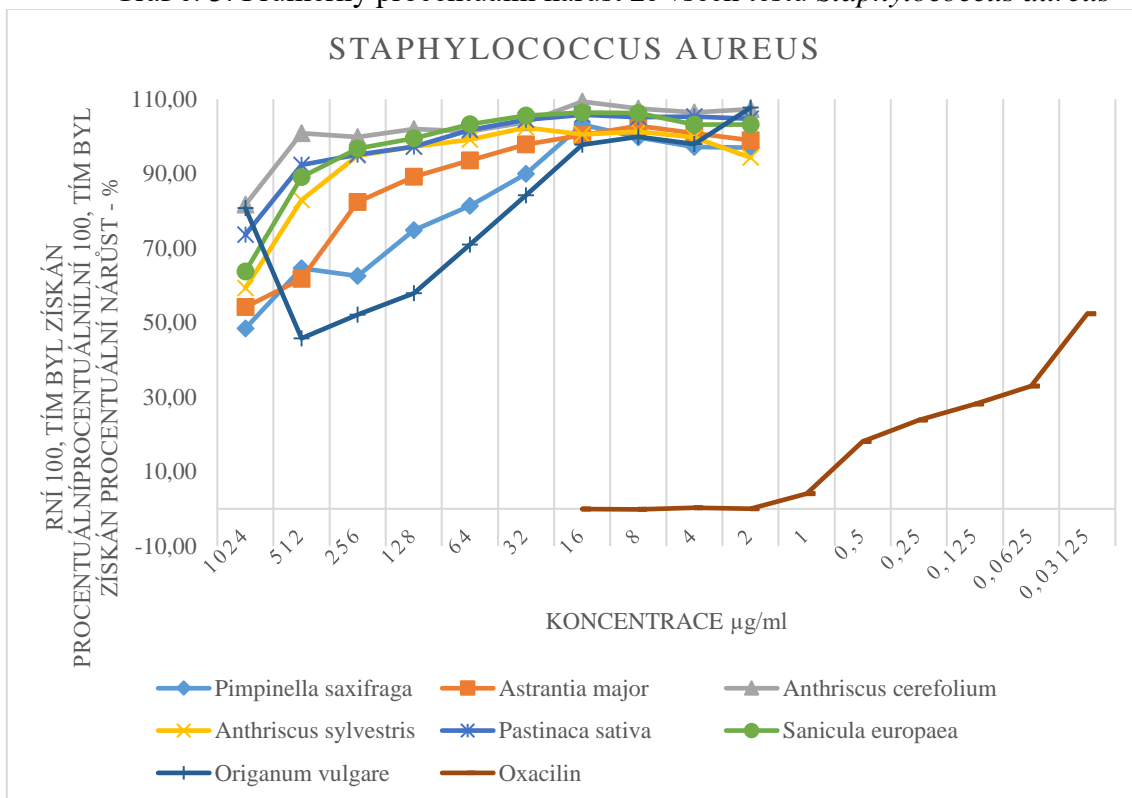
Graf č. 1: Průměrný procentuální nárůst ze všech testů *Candida albicans*



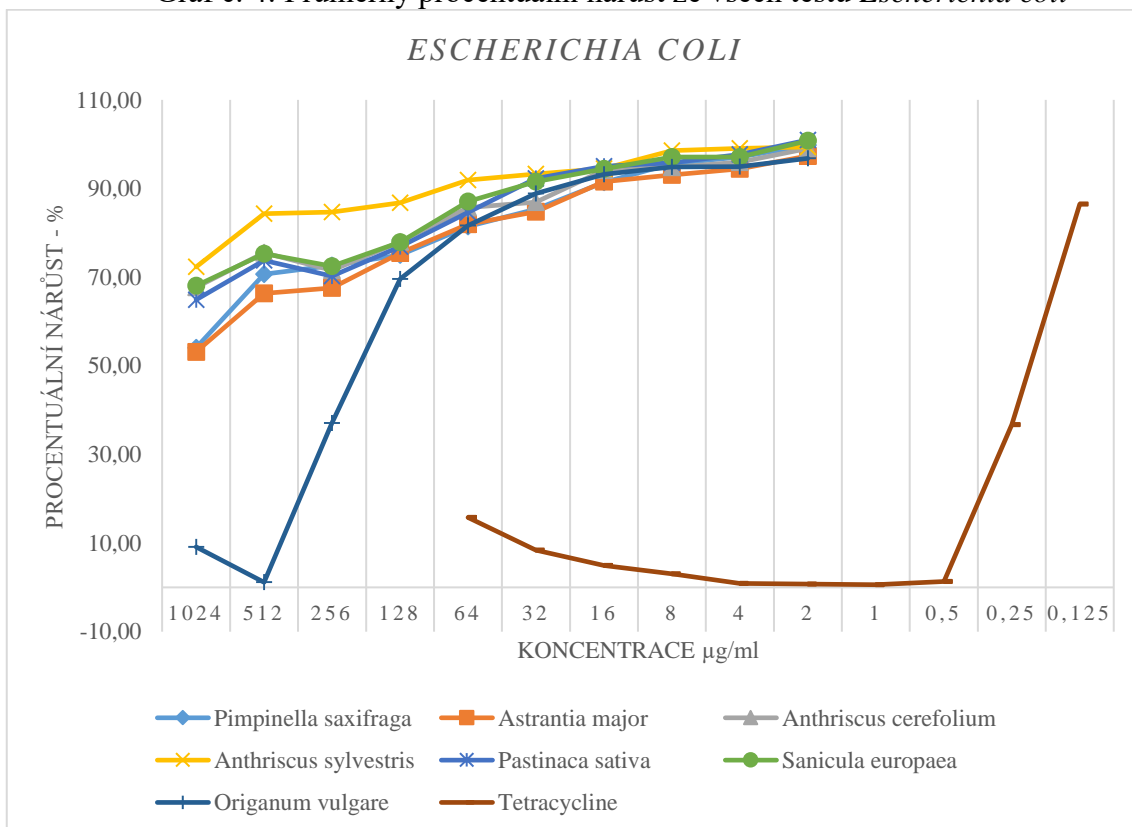
Graf č. 2: Průměrný procentuální nárůst ze všech testů *Enterococcus faecalis*



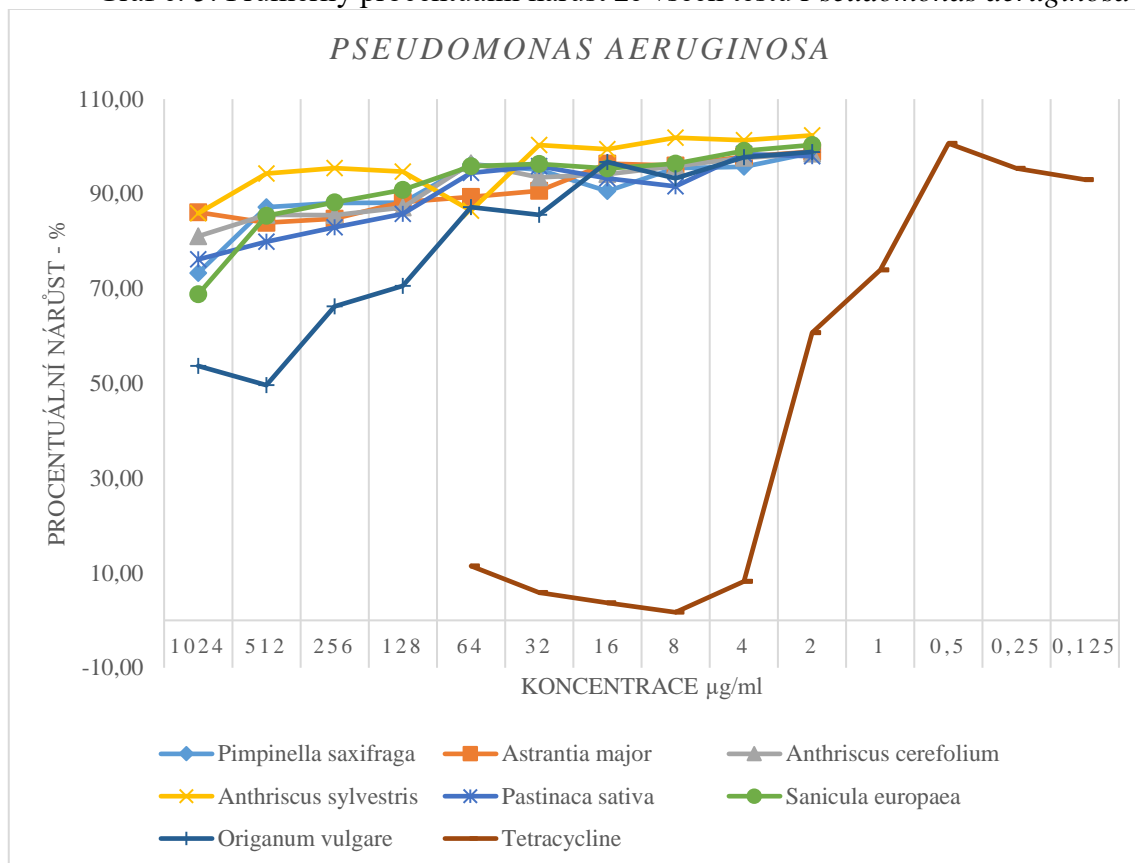
Graf č. 3: Průměrný procentuální nárůst ze všech testů *Staphylococcus aureus*



Graf č. 4: Průměrný procentuální nárůst ze všech testů *Escherichia coli*

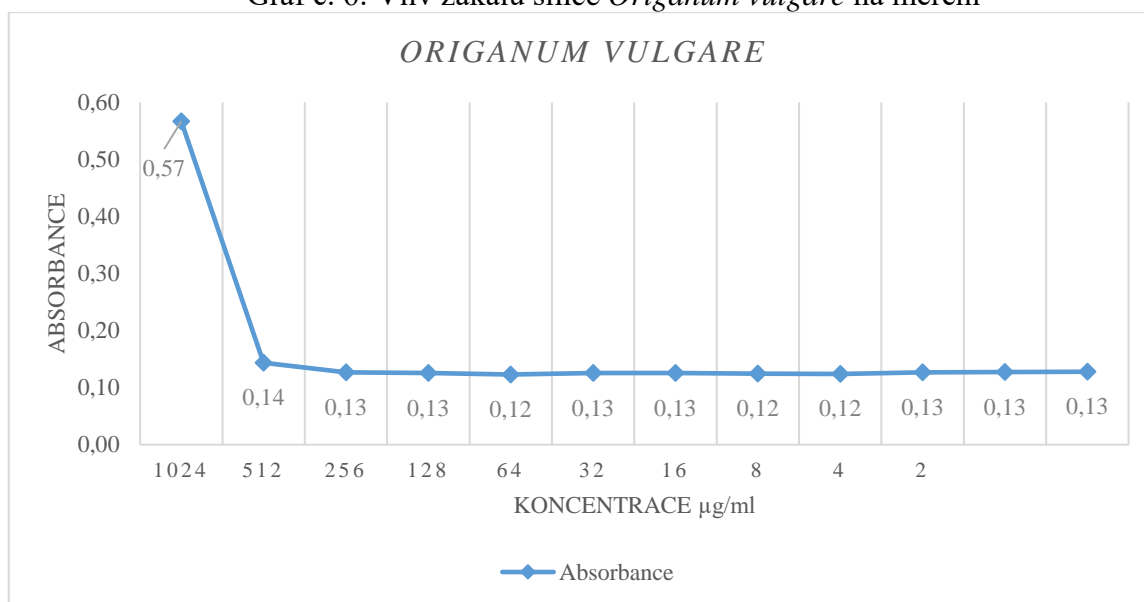


Graf č. 5: Průměrný procentuální nárůst ze všech testů *Pseudomonas aeruginosa*



Vzhledem k tvorbě zákalu při smíchání silice *Origanum vulgare* a bujónu bylo provedeno měření samotné silice s bujónem a vliv na změřenou absorbanci.

Graf č. 6: Vliv zákalu silice *Origanum vulgare* na měření



### 5.3 Chemické složení

Hlavní složkou silice *Anthriscus cerefolium* je methyleugenol (77,47 %) a estragole (10,16 %). Celková výtěžnost silice z nadzemní části rostliny byla 0,14 %.

Z kvetoucí nadzemní části *Anthriscus sylvestris* byla s výtěžností 0,19 % získána silice, která obsahuje hlavní látky  $\beta$ -pinene (18,32 %), fenchene (12,81 %) a p-cymene (8,02 %).

S výtěžností 0,18 % byla z kvetoucí nadzemní části rostliny *Astrantia major* získána silice obsahující hlavně duraldehyde (62,05 %) a  $\beta$ -farnesene (7,12 %).

Z kořenové části *Pastinaca sativa* byla s výtěžností 0,23 % získána silice obsahující převážně myristicine (74,7 %), terpinolene (14,03 %) a p-cymen-8-ol (4,91 %).

Hlavní složkou silice z kořenové části *Pimpinella saxifraga* je butanoic acid, 2-methyl-, 4-methoxy-2-(3-methyloxiranyl)phenyl ester (60,76 %), germacrone (5,45 %) a isospathulenol (5,34 %). Silice byla z kořenové části získána s výtěžností 0,12 %.

Silice z nadzemní kvetoucí části *Sanicula europaea* obsahovala hlavně spathulenol (34,31 %),  $\beta$ -selinene (11,78 %) a  $\beta$ -caryophyllene (7,41 %). Silice byla získána s výtěžností 0,09 %.

Kontrolní silice *Origanum vulgare* obsahovala hlavně carvacrol (67,14 %), p-cymene (10,32 %) a thymol (5,14 %).

Celkový přehled složení silic viz. tabulka č. 5.

Tabulka č. 5: Chemické složení silic

Identifikovaná látka	RI	% zastoupení						
		<i>A. cer.</i>	<i>A. syl.</i>	<i>A. major</i>	<i>P. sativa</i>	<i>P. saxi.</i>	<i>S. europ.</i>	<i>O. vulgare</i>
Fenchene	972		12,81					
Sabinene	975		3,68					
$\beta$ -Pinene	990		18,32		4,44			
p-Cymene	1027		8,02					10,32
Pseudolimonene	1028		5,82					
Terpinolene	1086				14,03			
p-Cymen-8-ol	1184				4,91			
Estragole	1196	10,16						
Thymol	1296							5,14
Carvacrol	1305							67,14
Mesitaldehyde	1315			4,07				
Duraldehyde	1361			62,05				
<sup>a</sup> 2-Allyl-1,4-dimethoxybenzene	1395	3,44						
Methyleugenol	1407	77,47						
$\beta$ -Caryophyllene	1420						7,41	
<sup>a</sup> $\beta$ -Farnesene	1460			7,12				
$\gamma$ -Muuroleone	1478						3,23	
D-Germacrene	1481			3,55				
$\beta$ -Selinene	1487						11,78	
$\beta$ -Bisabolene	1510						3,15	
Myristicine	1523				74,7	3,18		
$\delta$ -Cadinene	1525						4	
Spathulenol	1578		3,1	3,58			34,31	
Caryophyllene oxide	1583		4,11					
Humulene epoxide II	1609						4,04	
Isospathulenol	1630					5,34		
Germacrone	1695					5,45		
<sup>a</sup> Cylobutanecarboxylic acid, 2,6-dimethylnon-1-en-3-yn-5-yl ester	1709			4,93				
Butanoic acid, 2-methyl-, 4-methoxy-2-(3-methyloxiranyl)phenyl ester	1903					60,76		
<sup>a</sup> Phytol, acetate	2110	3,49						
<b>Celkem</b>		<b>94,56</b>	<b>55,86</b>	<b>85,3</b>	<b>98,08</b>	<b>74,73</b>	<b>67,92</b>	<b>82,6</b>

RI - Kovat's index HP-5MS. V tabulce jsou uvedeny látky přesahující 3 % zastoupení. <sup>a</sup> Předběžná identifikace.

## 6 Diskuze

Výtěžnost silic se pohybovala od 0,09 % po 0,23 %. Pro čerstvě nasbírané rostliny z Egypta je udávaná výtěžnost silice *Anthriscus cerefolium* 0,3 % (El Gendy et al., 2015). Výtěžnost silice ze sušené nadzemní části rostliny v této práci byla 0,14 %, což může způsobovat sušení a delší prodleva mezi sběrem a hydrodestilací. V další literatuře je udávaná výtěžnost silice z kořenů *Pimpinella saxifraga* 0,17 % (Tabanca et al., 2006). Při extrakci silice *P. saxifraga* v této práci byla výtěžnost 0,12 %, to zhruba odpovídá udávané výtěžnosti. Extrakcí *Anthriscus sylvestris* v této práci bylo získáno 0,19 %. Jiná literatura uvádí zisk silice s čerstvých listů 0,1 % (Bos et al., 2002). Rozdíl hodnot by opět mohl být ovlivněn přípravou a dobou mezi sběrem a destilací.

Koncentrace antibiotik, kdy dochází k inhibici, odpovídá rozmezí udávanému dle (CLSI, 2013). Lehce zvýšené hodnoty měření antibiotik pro *E. coli* a *P. aeruginosa* by mohly být dány chybou měření nebo zákalem. Avšak i tyto hodnoty stále odpovídají MIC 80 a při kontrole pomocí MTT nebyl zaznamenán růst mikroorganismů.

Zajímavý je účinek silic *Pimpinella saxifraga*, *Pastinaca sativa* a *Astrantia major*, které v koncentraci 1024 µg/ml téměř zcela inhibovaly růst kvasinky *C. albicans*. Koncentrace 1024 µg/ml měla podobný inhibiční účinek jako 0,5 µg/ml antibiotika Tioconazole. Při zkoumání stability silic v potravinách během jejich zpracování, bylo zjištěno, že cinnamaldehyd se při teplotě 60 °C rozkládá na benzaldehyd. Avšak při kombinaci s eugenolem nebo skořicovou silicí byl cinnamaldehyd stabilní i po 30 minutách při 200 °C (Friedman et al., 2000). To by mohlo dát prostor k využití silic, které byly testovány a působily proti *C. albicans*. Tyto silice by mohly působit i proti jiným kvasinkám v potravinách a vhodnou kombinací umožnit i tepelné ošetření potravin.

Měření minimální inhibiční koncentrace, která inhibovala o 50 % a o 80 % růst mikroorganismů (MIC 80 a MIC 50) ukazuje na antifungální aktivitu silic *Pimpinella saxifraga*, *Pastinaca sativa*, *Astrantia major* a srovnávací silice *Origanum vulgare*. Antifungální aktivita vůči *C. albicans* dává prostor pro testování dalších druhů kvasinek a plísní. I ostatní silice vykazovaly jistou míru inhibice testovaných mikroorganismů, ačkoliv nedosahovaly hodnot potřebných pro MIC 80 nebo MIC 50, z grafů č. 1 až č. 5 je vidět, že silice inhibovaly růst mikroorganismů až o několik desítek procent. To by potvrdilo hypotézu, že tyto rostliny používané v léčitelství mají určité antimikrobiální vlastnosti. Inhibice o několik desítek procent



dává možnost dále zkoumat tyto silice v jejich kombinacích, a zjistit tak jejich synergické účinky, které by mohly být významné.

Mezi organismy stejného druhu existují rozdíly v působení silic. V experimentu s eugenolem a třemi kmeny *Escherichia coli* bylo zjištěno, že jeden kmen byl inhibován již v koncentracích 550 µg/mL, kdežto zbylé dva tolerovaly koncentrace 8000 µg/ml. Přestože ani jeden z těchto kmenů neměl možnost vyvinout si rezistenci vůči eugenolu, je evidentní, že přirozená variabilita a odolnost vůči silicím v rámci jednoho druhu existuje (Başer et Buchbauer, 2010). Proto by otestování silic vybraných v této práci vůči dalším kmenům mikroorganismům mohlo přinést zajímavé výsledky.

Hlavní nalezenou látkou v silici *Anthriscus cerefolium* je methyleugenol (77,47 %) dále pak estragole (10,16 %) a 2-allyl-1,4-dimethoxybenzene (3,44 %). Jiné měření udává jako hlavní látku obsaženou v silici methyleugenol (37,3 % až 62,03 %), estragole (14,74 % až 26,43%), 2-allyl-1,4-dimethoxybenzen (4,94 % až 9,48 %) a zingiberene (2,44 % až 4,48 %). Měřena byla nadzemní část rostliny z Egypta (El Gendy et al., 2015). Hlavní identifikované látky ze stejných částí rostliny se tedy shodují. Mírná inhibice *E. faecalis*, *E. coli*, *P. aeruginosa* a *C. albicans* je nejspíše způsobena obsahem methyleugenolu. *S. aureus* nebyl inhibován, proto by se dalo usuzovat, že není ovlivněn přítomností methyleugenolu. Toto tvrzení podporuje i studie, při které methyleugenol ve vyšší koncentraci v silici inhiboval *P. aeruginosa* (Joshi, 2013).

V silici *Anthriscus sylvestris* byly nalezeny hlavní látky β-pinene (18,32 %), fenchene (12,81 %) a p-cymene (8,02 %). Jiné studie identifikovaly β-phellandrene (39 % – 45 %), β-myrcene (17 %), sabinen (6,2 %), Z-β-ocimen (5,4 %) (Bos et al., 2002). Rozdíly budou pravděpodobně způsobeny různými chemotypy rostliny.

V silici *Astrantia major* byl nalezen převážně duraldehyde (62,05 %), β-farnesene (7,12 %) a mesitaldehyde (4,07 %). Při porovnání silice ze semen z divoké přírody a z pěstované rostliny, byly zjištěny rozdíly. Divoce rostoucí rostlina ze Srbska obsahovala jako hlavní složky zingiberen (47,9 %), β-bisabolen (9,7 %) a β-sesquiphellandren (7,9 %). Druhá rostlina, která byla získána z botanické zahrady v Polsku, obsahovala jako hlavní složky kyselinu olejovou (38,6 %), nonakosan (15,4 %) a kyselinu linolovou (5,1 %) (Radulović et al., 2012). Velké rozdíly mezi složením rostlin ze Srbska a Polska jsou nejspíše způsobeny několika

chemotypy *A. major*. Rozdíl ve složení bude také způsoben extrakcí silic z rozdílných částí rostliny. V této práci byla použita kvetoucí nadzemní část rostliny, na rozdíl od semen použitých v druhé práci. Inhibici *C. albicans* pravděpodobně způsobuje obsah duraldehydu, který tvoří většinu silice.

V silici *Pastinaca sativa* jsou hlavními látkami myristicin (74,7 %) a terpinolene (14,03 %). Při starším měření silice, z čerstvých kořenů nasbíraných v Německu, byly jako hlavní složky identifikovány terpinolene a myristicin dohromady 80 % až 88 % (Kubeczka et Stahl, 1975). Hlavní látky změřené v této práci se tedy shodují. Jiné měření nadzemní části rostliny zjistilo zcela jiné látky a to  $\beta$ -ocimen (10,8%) a lavandulol acetate (5,2 %), hexyl butanoate (10,4 %) a  $\beta$ -farnesen (6,1 %) (Kapetanos et al., 2008). Shoda nalezených látek v silici, ze sušených i čerstvých kořenů, by mohla ukazovat na stabilitu silice i při delším skladování a při sušení. Rozdíl s poslední studií je nejspíše dán analýzou jiné části rostliny. Vysoký obsah myristicinu nejspíše způsobuje inhibici mikroorganismů, převážně pak kvasinky *C. albicans*.

V silici *Pimpinella saxifraga* tvořila většinu látka butanoic acid, 2-methyl-, 4-methoxy-2-(3-methyloxiranyl)phenyl ester (60,76 %), dále pak germacron (5,45%) a isospathulenol (5,34 %). Jiná práce identifikuje jako hlavní látku silice získané z kořenů epoxypseudoisoeugenyl 2-methylbutyrate (66,6 %) (Tabanca et al., 2006). Další měření našlo v silici z nadzemní části rostliny *Pimpinella anisactis* Rech.f. vyšší množství dekanalu (34,5 %) a dekanolu (14,1 %). A dále pak v silici *P. saxifraga* hlavní látky *trans*- $\alpha$ -bergamoten (20,1 %),  $\beta$ -sesquiphellandren (10,8 %) a  $\beta$ -bisabolen (10,1 %) (Masoudi et al., 2009). V příbuzné rostlině *Pimpinella serbica* se vyskytuje vysoké množství apiolu (76,8 %) a  $\beta$ -caryophyllenu (10,3 %) (Kapetanos et al., 2008). Složení silic rodu *Pimpinella* se velice liší, i mezi silicemi *P. saxifraga* jsou značné rozdíly, což by naznačovalo několik různých chemotypů nebo vliv vegetačního období, ve kterém je rostlina sbírána. Inhibiční vlastnosti silice nejspíše způsobuje vysoký obsah butanoic acid, 2-methyl-, 4-methoxy-2-(3-methyloxiranyl)phenyl ester, kdy silice dokázala prakticky zcela inhibovat *C. albicans*. Látka by mohla mít podobné vlastnosti i vůči dalším kvasinkám a houbovým mikroorganismům. Aktivitu projevovала silice i vůči *S. aureus*, kde bylo dosaženo MIC50. V dalších případech *P. saxifraga* mírně inhibovala i ostatní mikroorganismy. Testování synergických účinků butanoic acid, 2-methyl-, 4-methoxy-2-(3-methyloxiranyl)phenyl ester by mohlo přinést zajímavé výsledky.

Jako hlavní látky v rostlině *Sanicula europaea* byly identifikovány spathulenol (34,3 %),  $\beta$ -selinene (11,78 %) a  $\beta$ -caryophyllene (7,41 %). Další studie měřila silice získané hydrodestilací listů *S. europaea* z oblasti Srbska a Černé Hory. Obě silice obsahovaly seskviterpenové uhlovodíky (59,5 – 63,8 %),  $\beta$ -selinene (40,4 – 44,2 %), caryophyllene oxid (17,9 – 19,2 %) a  $\alpha$ -selinen (3,7 – 4,0 %) (Pavlović et al., 2006). Látky nalezené v této práci jako spathulenol,  $\beta$ -selinene a  $\beta$ -caryophyllene se právě mezi seskviterpeny řadí. Složení silice se v obsahu hlavních látek zhruba shoduje. Slabý antimikrobiální účinek nejspíše způsobuje obsah spathulenolu. Toto tvrzení podporuje i měření samotného spathulenolu, který vykazoval antimikrobiální aktivitu (Rahman et al., 2016).

V této práci byla k porovnání také změřena inhibiční aktivita silice *Origanum vulgare*, která vykazuje nejširší záběr antimikrobiální aktivity a v porovnání s ostatními testovanými silicemi i nižší koncentrace pro dosažení MIC. Pro *Escherichia coli* bylo změřeno MIC 80 při 512  $\mu\text{g/ml}$  a MIC 50 při 256  $\mu\text{g/ml}$ . *Pseudomonas aeruginosa* MIC 50 při 512  $\mu\text{g/ml}$  a *Staphylococcus aureus* MIC 50 při 512  $\mu\text{g/ml}$ . Udávaná MIC silice *Origanum vulgare* pro *Escherichia coli* je 100  $\mu\text{g/ml}$ , *Enterococcus faecalis* 100  $\mu\text{g/ml}$ , *Staphylococcus aureus* 100  $\mu\text{g/ml}$  a *Pseudomonas aeruginosa* >100  $\mu\text{g/ml}$  (De Martino et al., 2009). Zatímco další testování naměřilo MIC pro *Escherichia coli* 219,9  $\mu\text{g/ml}$  a 236,1  $\mu\text{g/ml}$  (Fournomiti et al., 2015). Hlavními látkami nalezenými v silici *Origanum vulgare* byly carvacrol (67,14 %), p-cymene (10,32 %) a thymol (5,14 %). Vzhledem k vysokému obsahu carvacrolu bude právě carvacrol nejspíše účinnou látkou proti mikroorganismům. Antimikrobiální účinek carvacrolu podporují i další studie, které zároveň ukazují i synergické účinky při kombinaci s thymolem a eugenolem (Moon et Rhee, 2016), (Miladi et al., 2017).

U silice *Origanum vulgare*, kde byl pozorován zákal po smíchání s bujónem bylo provedeno zvláštní testování. Po vytvoření ředící řady a jejím změřením bylo přidáno MTT (3-(4,5-Dimethylthiazol-2-yl)-2,5-Diphenyltetrazolium Bromide). Protože nedošlo k přeměně MTT na formazan a změně zbarvení můžeme usuzovat, že bujón nebyl kontaminován a nedošlo k růstu mikroorganismů. Vyšší hodnoty měření proto pravděpodobně skutečně způsobuje reakce silice a bujónu. Proto byly pro kontrolu pomocí MTT zkontrolovány i další testy, kde byly získány vyšší hodnoty měření v první jamce než v následujících ředěních, ve kterých zároveň nedošlo k růstu mikroorganismů. Právě tyto reakce mezi silicemi a médii by mohly zkreslovat výsledky, a proto je jim potřeba větší věnovat pozornost.

## 7 Závěr

V této práci byla hodnocena antimikrobiální aktivita vybraných silic rostlin z čeledi *Apiaceae* vůči grampozitivním bakteriím *Enterococcus faecalis* a *Staphylococcus aureus*, gramnegativním bakteriím *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* a kvasince *Candida albicans*. Vybrané byly rostliny *Anthriscus cerefolium*, *Anthriscus sylvestris*, *Astrantia major*, *Pastinaca sativa*, *Pimpinella saxifraga* a *Sanicula europaea*.

Ukázalo se, že silice rostlin čeledi *Apiaceae* inhibovaly mikroorganismy od několika procent až po více než 90 %. Nejaktivnější byly silice *Pimpinella saxifraga*, *Pastinaca sativa*, *Astrantia major* proti *C. albicans*. Jako potenciální možnost dalšího zkoumání se tedy nabízí testování antifungální aktivity, případně synergických účinků silic. Dále by zajímavé výsledky mohly přinést kombinace pouze účinných látek, které byly v těchto silicích nalezeny. Rostliny čeledi *Apiaceae*, využívané v lidovém léčitelství, tedy vykazují antimikrobiální aktivitu, což potvrzuje hypotézu. Podle dostupných informací je to vůbec poprvé, kdy byla vůči uvedeným mikroorganismům zkoumána antimikrobiální aktivita vybraných silic. Výjimku tvoří *A. sylvestris*, kde již byla zkoumána aktivita frakcí silice. V této práci bylo také, podle dostupných informací, poprvé zkoumáno složení nadzemní části rostliny *Astrantia major*.

## 8 Seznam literatury

- Allen, D., Hatfield, G. 2004. Medicinal plants in folk tradition: an ethnobotany of Britain. Timber Press. Portland, [OR]. ISBN: 978-088-1926-385.
- Auestad, I., Rydgren, K., Jongejans, E., Kroon, H. 2010. Pimpinella saxifraga is maintained in road verges by mosaic management. *Biological Conservation*. 143 (4). 899-907. DOI: 10.1016/j.biocon.2009.12.037. ISSN: 00063207. Dostupné také z: <<http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S000632070900545X>>
- Bakkali, F., Averbeck, S., Averbeck, D., Idaomar, M. 2008. Biological effects of essential oils – A review. *Food and Chemical Toxicology*. 46 (2). 446-475. DOI: 10.1016/j.fct.2007.09.106. ISSN: 02786915. Dostupné také z: <<http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0278691507004541>>
- Başer, K. (ed.), Buchbauer, G. (ed.). 2010. Handbook of essential oils: science, technology, and applications. CRC Press/Taylor & Francis. Boca Raton. 975 s. ISBN: 9781420063158.
- Batish, D., Singh, H., Kohli, R., Kaur, S. 2008. Eucalyptus essential oil as a natural pesticide. *Forest Ecology and Management*. 256 (12). 2166-2174. DOI: 10.1016/j.foreco.2008.08.008. ISSN: 03781127. Dostupné také z: <<http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0378112708006166>>
- Bélanger, L., Garenaux, A., Harel, J., Boulianne, M., Nadeau, E., Dozois, C. 2011. Escherichia coli from animal reservoirs as a potential source of human extraintestinal pathogenic E. coli. *FEMS Immunology*. 62 (1). 1-10. DOI: 10.1111/j.1574-695X.2011.00797.x. ISSN: 0928-8244. Dostupné také z: <<https://academic.oup.com/femspd/article-lookup/doi/10.1111/j.1574-695X.2011.00797.x>>
- Bos, R., Koulman, A., Woerdenbag, H., Quax, W., Pras, N. 2002. Volatile components from *Anthriscus sylvestris* (L.) Hoffm. *Journal of Chromatography A*. 966 (1-2). 233-238. DOI: 10.1016/S0021-9673(02)00704-5. ISSN: 00219673. Dostupné také z: <<http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0021967302007045>>
- Bud, R. 2007. Penicillin: triumph and tragedy. Oxford University Press. Oxford. ISBN: 978-0-19-925406-4.
- Burt, S. 2004. Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods—a review. *International Journal of Food Microbiology*. 94 (3). 223-253. DOI: 10.1016/j.ijfoodmicro.2004.03.022. ISSN: 01681605. Dostupné také z: <<http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0168160504001680>>
- Carnesecchi, S., Bras-Gonçalves, R., Bradaia, A., Zeisel, M., Gossé, F., Poupon, M., Raul, F. 2004. Geraniol, a component of plant essential oils, modulates DNA synthesis and potentiates 5-fluorouracil efficacy on human colon tumor xenografts. *Cancer Letters*. 215 (1). 53-59. DOI: 10.1016/j.canlet.2004.06.019. ISSN: 03043835. Dostupné také z: <<http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0304383504004665>>
- Castanon, J. 2007. History of the Use of Antibiotic as Growth Promoters in European Poultry Feeds. *Poultry Science*. 86 (11). 2466-2471. DOI: 10.3382/ps.2007-00249. ISSN: 0032-5791. Dostupné také z: <<https://academic.oup.com/ps/article-lookup/doi/10.3382/ps.2007-00249>>
- Castro, A., Bergenstahl, B., Tornberg, E. 2012. Parsnip (*Pastinaca sativa* L.): Dietary fibre composition and physicochemical characterization of its homogenized suspensions. *Food Research International*. 48 (2). 598-608. DOI: 10.1016/j.foodres.2012.05.023. ISSN: 09639969. Dostupné také z: <<http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S096399691200186X>>

- CLSI, . 2012. Methods for Dilution Antimicrobial Susceptibility Tests for Bacteria That Grow Aerobically; Approved Standard – Ninth Edition. CLSI document M07-A9. Wayne. Wayne, PA: Clinical and Laboratory institute. ISBN: 1-56238-988-2.
- CLSI, . 2013. Performance Standards for antimicrobial Susceptibility Testing: Twenty-Third Informational Supplement. CLSI document M100-S23. Clinical and Laboratory Standards Institute. ISBN: 1-56238-898-3.
- Cordell, G., Colvard, M. 2005. Some thoughts on the future of ethnopharmacology. *Journal of Ethnopharmacology*. 100 (1-2). 5-14. DOI: 10.1016/j.jep.2005.05.027. ISSN: 03788741. Dostupné také z: <<http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0378874105003430>>
- Corson, T., Crews, C. 2007. Molecular Understanding and Modern Application of Traditional Medicines: Triumphs and Trials. *Cell*. 130 (5). 769-774. DOI: 10.1016/j.cell.2007.08.021. ISSN: 00928674. Dostupné také z: <<http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0092867407010847>>
- Cox, S., Mann, C., Markham, J., Bell, H., Gustafson, J., Warmington, J., Wyllie, S. 2000. The mode of antimicrobial action of the essential oil of *Melaleuca alternifolia* (tea tree oil). *Journal of Applied Microbiology*. 88 (1). 170-175. DOI: 10.1046/j.1365-2672.2000.00943.x. ISSN: 13645072. Dostupné také z: <<http://doi.wiley.com/10.1046/j.1365-2672.2000.00943.x>>
- Daniel, D., Lee, S., Gan, H., Dykes, G., Rahman, S. 2017. Genetic diversity of *Enterococcus faecalis* isolated from environmental, animal and clinical sources in Malaysia. *Journal of Infection and Public Health*. . - . DOI: 10.1016/j.jiph.2017.02.006. ISSN: 18760341. Dostupné také z: <<http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1876034117300631>>
- De Martino, L., De Feo, V., Formisano, C., Mignola, E., Senatore, F. 2009. Chemical Composition and Antimicrobial Activity of the Essential Oils from Three Chemotypes of *Origanum vulgare* L. ssp. *hirtum* (Link) Ietswaart Growing Wild in Campania (Southern Italy). *Molecules*. 14 (8). 2735-2746. DOI: 10.3390/molecules14082735. ISSN: 1420-3049. Dostupné také z: <<http://www.mdpi.com/1420-3049/14/8/2735/>>
- Delaquis, P. 2001. Antimicrobial activity of individual and mixed fractions of dill, cilantro, coriander and eucalyptus essential oils. *International Journal of Food Microbiology*. 74 (1-2). 101-109. DOI: 10.1016/S0168-1605(01)00734-6. ISSN: 01681605. Dostupné také z: <<http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0168160501007346>>
- Dorman, H., Deans, S. 2000. Antimicrobial agents from plants: antibacterial activity of plant volatile oils. *Journal of Applied Microbiology*. 88 (2). 308-316. DOI: 10.1046/j.1365-2672.2000.00969.x. ISSN: 1364-5072. Dostupné také z: <<http://doi.wiley.com/10.1046/j.1365-2672.2000.00969.x>>
- edited by W. Michael Scheld, ., Scott M. Hammer, ., James M. Hughes, . 2008. Emerging infections. Asm. Washington, D.C. ISBN: 978-155-5815-592.
- El Gendy, A., El Gohary, A., Omer, E., Hendawy, S., Hussein, M., Petrova, V., Stancheva, I. 2015. Effect of nitrogen and potassium fertilizer on herbage and oil yield of chervil plant (*Anthriscus cerefolium* L.). *Industrial Crops and Products*. 69. 167-174. DOI: 10.1016/j.indcrop.2015.02.023. ISSN: 09266690. Dostupné také z: <<http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0926669015001181>>
- Forsythe, S. 2010. *The Microbiology of Safe Food*. 2. Wiley-Blackwell. 496 s. ISBN: 978-1-4051-4005-8.

- Foster, T., Geoghegan, J., Ganesh, V., Höök, M. 2013. Adhesion, invasion and evasion: the many functions of the surface proteins of *Staphylococcus aureus*. *Nature Reviews Microbiology*. 12 (1). 49-62. DOI: 10.1038/nrmicro3161. ISSN: 1740-1526. Dostupné také z: <<http://www.nature.com/doi/finder/10.1038/nrmicro3161>>
- Fournomiti, M., Kimbaris, A., Mantzourani, I., Plessas, S., Theodoridou, I., Papaemmanouil, V., Kapsiotis, I., Panopoulou, M., Stavropoulou, E., Bezirtzoglou, E., Alexopoulos, A. 2015. Antimicrobial activity of essential oils of cultivated oregano (*Origanum vulgare*), sage (*Salvia officinalis*), and thyme (*Thymus vulgaris*) against clinical isolates of *Escherichia coli*, *Klebsiella oxytoca*, and *Klebsiella pneumoniae*. *Microbial Ecology in Health*. 26 (0). -. DOI: 10.3402/mehd.v26.23289. ISSN: 1651-2235. Dostupné také z: <<http://www.microbecolhealthdis.net/index.php/mehd/article/view/23289>>
- Friedman, M., Kozukue, N., Harden, L. 2000. Cinnamaldehyde Content in Foods Determined by Gas Chromatography–Mass Spectrometry †. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 48 (11). 5702-5709. DOI: 10.1021/jf000585g. ISSN: 0021-8561. Dostupné také z: <<http://pubs.acs.org/doi/abs/10.1021/jf000585g>>
- Gairola, S., Sharma, J., Bedi, Y. 2014. A cross-cultural analysis of Jammu, Kashmir and Ladakh (India) medicinal plant use. *Journal of Ethnopharmacology*. 155 (2). 925-986. DOI: 10.1016/j.jep.2014.06.029. ISSN: 03788741. Dostupné také z: <<http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0378874114004772>>
- Gomes, T., Elias, W., Scaletsky, I., Guth, B., Rodrigues, J., Piazza, R., Ferreira, L., Martinez, M. 2016. Diarrheagenic *Escherichia coli*. *Brazilian Journal of Microbiology*. 47. 3-30. DOI: 10.1016/j.bjm.2016.10.015. ISSN: 15178382. Dostupné také z: <<http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1517838216310917>>
- Gurib-Fakim, A. 2006. Medicinal plants: Traditions of yesterday and drugs of tomorrow. *Molecular Aspects of Medicine*. 27 (1). 1-93. DOI: 10.1016/j.mam.2005.07.008. ISSN: 00982997. Dostupné také z: <<http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0098299705000348>>
- Gustafsson, C., Ehrlen, J. 2003. Effects of intraspecific and interspecific density on the demography of a perennial herb, *Sanicula europaea*. *Oikos*. 100 (2). 317-324. DOI: 10.1034/j.1600-0706.2003.11493.x. ISSN: 0030-1299. Dostupné také z: <<http://doi.wiley.com/10.1034/j.1600-0706.2003.11493.x>>
- Gutierrez, J., Barry-Ryan, C., Bourke, P. 2008. The antimicrobial efficacy of plant essential oil combinations and interactions with food ingredients. *International Journal of Food Microbiology*. 124 (1). 91-97. DOI: 10.1016/j.ijfoodmicro.2008.02.028. ISSN: 01681605. Dostupné také z: <<http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0168160508001177>>
- Halberstein, R. 2005. Medicinal Plants: Historical and Cross-Cultural Usage Patterns. *Annals of Epidemiology*. 15 (9). 686-699. DOI: 10.1016/j.annepidem.2005.02.004. ISSN: 10472797. Dostupné také z: <<http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1047279705000578>>
- Hendrawati, O., Woerdenbag, H., Hille, J., Quax, W., Kayser, O. 2011. Seasonal Variations in the Deoxypodophyllotoxin Content and Yield of *Anthriscus sylvestris* L. (Hoffm.) Grown in the Field and under Controlled Conditions. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 59 (15). 8132-8139. DOI: 10.1021/jf200177q. ISSN: 0021-8561. Dostupné také z: <<http://pubs.acs.org/doi/abs/10.1021/jf200177q>>

- Hennekinne, J., De Buyser, M., Dragacci, S. 2012. Staphylococcus aureus and its food poisoning toxins: characterization and outbreak investigation. *FEMS Microbiology Reviews*. 36 (4). 815-836. DOI: 10.1111/j.1574-6976.2011.00311.x. ISSN: 1574-6976. Dostupné také z: <<https://academic.oup.com/femsre/article-lookup/doi/10.1111/j.1574-6976.2011.00311.x>>
- Hughes, B. 2008. 2007 FDA drug approvals: a year of flux. *Nature Reviews Drug Discovery*. 7 (2). 107-109. DOI: 10.1038/nrd2514. ISSN: 1474-1776. Dostupné také z: <<http://www.nature.com/doifinder/10.1038/nrd2514>>
- Janča, J., Zentrich, J. 1994. *Herbář léčivých rostlin. ilustroval Magdalena MARTÍNKOVÁ. Eminent. Praha. 288 s. ISBN: 8085876027.*
- Janča, J., Zentrich, J. 1995a. *Herbář léčivých rostlin. 1. vyd. Eminent. Praha. ISBN: 80-858-7614-0.*
- Janča, J., Zentrich, J. 1995b. *Herbář léčivých rostlin. ilustroval Magdalena MARTÍNKOVÁ. Eminent. Praha. 287 s. ISBN: 8085876043.*
- Janča, J., Zentrich, J. 1997. *Herbář léčivých rostlin. 1. vyd. Eminent. Praha. ISBN: 80-858-7632-9.*
- Jenney, A., Holt, D., Ritika, R., Southwell, P., Pravin, S., Buadromo, E., Carapetis, J., Tong, S., Steer, A. 2014. The clinical and molecular epidemiology of Staphylococcus aureus infections in Fiji. *BMC Infectious Diseases*. 14 (1). -. DOI: 10.1186/1471-2334-14-160. ISSN: 1471-2334. Dostupné také z: <<http://bmcinfectedis.biomedcentral.com/articles/10.1186/1471-2334-14-160>>
- Ji, H., Li, X., Zhang, H. 2009. Natural products and drug discovery. Can thousands of years of ancient medical knowledge lead us to new and powerful drug combinations in the fight against cancer and dementia?. *EMBO reports*. 10 (3). 194-200. DOI: 10.1038/embor.2009.12. ISSN: 1469-221x. Dostupné také z: <<http://embor.embopress.org/cgi/doi/10.1038/embor.2009.12>>
- Ji, H., Zhang, H. 2008. Multipotent natural agents to combat Alzheimer's disease. Functional spectrum and structural features. *Acta Pharmacologica Sinica*. 29 (2). 143-151. DOI: 10.1111/j.1745-7254.2008.00752.x. ISSN: 1671-4083. Dostupné také z: <<http://www.nature.com/doifinder/10.1111/j.1745-7254.2008.00752.x>>
- Jogesh, T., Peery, R., Downie, S., Berenbaum, M. 2015. Patterns of Genetic Diversity in the Globally Invasive Species Wild Parsnip (*Pastinaca sativa*). *Invasive Plant Science and Management*. 8 (04). 415-429. DOI: 10.1614/IPSM-D-15-00024.1. ISSN: 1939-7291. Dostupné také z: <[https://www.cambridge.org/core/product/identifier/S1939729100004648/type/journal\\_article](https://www.cambridge.org/core/product/identifier/S1939729100004648/type/journal_article)>
- Jo, J., Price-Whelan, A., Dietrich, L. 2014. An Aerobic Exercise: Defining the Roles of Pseudomonas aeruginosa Terminal Oxidases. *Journal of Bacteriology*. 196 (24). 4203-4205. DOI: 10.1128/JB.02336-14. ISSN: 0021-9193. Dostupné také z: <<http://jb.asm.org/cgi/doi/10.1128/JB.02336-14>>
- Joshi, R. 2013. Chemical composition, In vitro antimicrobial and antioxidant activities of the essential oils of *Ocimum gratissimum*, *O. sanctum* and their major constituents. *Indian Journal of Pharmaceutical Sciences*. 75 (4). 457-. DOI: 10.4103/0250-474X.119834. ISSN: 0250-474x. Dostupné také z: <<http://www.ijpsonline.com/text.asp?2013/75/4/457/119834>>
- Kadariya, J., Smith, T., Thapaliya, D. 2014. Staphylococcus aureus and Staphylococcal Food-Borne Disease: An Ongoing Challenge in Public Health. *BioMed Research International*. 2014. 1-9. DOI: 10.1155/2014/827965. ISSN: 2314-6133. Dostupné také z: <<http://www.hindawi.com/journals/bmri/2014/827965/>>



- Kalembe, D., Kunicka, A. 2003. Antibacterial and Antifungal Properties of Essential Oils. *Current Medicinal Chemistry*. 10 (10). 813-829. DOI: 10.2174/0929867033457719. ISSN: 09298673. Dostupné také z: <<http://www.eurekaselect.com/openurl/content.php?genre=article>>
- Kalluf, K., Arend, L., Wuicik, T., Pilonetto, M., Tuon, F. 2017. Molecular epidemiology of SPM-1-producing *Pseudomonas aeruginosa* by rep-PCR in hospitals in Parana, Brazil. *Infection, Genetics and Evolution*. 49. 130-133. DOI: 10.1016/j.meegid.2016.11.025. ISSN: 15671348. Dostupné také z: <<http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1567134816305147>>
- Kaper, J., Nataro, J., Mobley, H. 2004. Pathogenic *Escherichia coli*. *Nature Reviews Microbiology*. 2 (2). 123-140. DOI: 10.1038/nrmicro818. ISSN: 1740-1526. Dostupné také z: <<http://www.nature.com/doifinder/10.1038/nrmicro818>>
- Kapetanios, C., Karioti, A., Bojović, S., Marin, P., Veljić, M., Skaltsa, H. 2008. Chemical and Principal-Component Analyses of the Essential Oils of Apioideae Taxa (Apiaceae) from Central Balkan. *Chemistry*. 5 (1). 101-119. DOI: 10.1002/cbdv.200890000. ISSN: 16121872. Dostupné také z: <<http://doi.wiley.com/10.1002/cbdv.200890000>>
- Keith, C., Borisy, A., Stockwell, B. 2005. Innovation: Multicomponent therapeutics for networked systems. *Nature Reviews Drug Discovery*. 4 (1). 71-78. DOI: 10.1038/nrd1609. ISSN: 1474-1776. Dostupné také z: <<http://www.nature.com/doifinder/10.1038/nrd1609>>
- Khan, H. 2014. Medicinal Plants in Light of History. *Journal of Evidence-Based Complementary*. 19 (3). 216-219. DOI: 10.1177/2156587214533346. ISSN: 2156-5872. Dostupné také z: <<http://journals.sagepub.com/doi/10.1177/2156587214533346>>
- Kisiel, W., Janeczko, Z., Zgud-Walaszek, M. 1998. A germacadiene glycoside from roots of *Pimpinella saxifraga*. *Phytochemistry*. 49 (7). 2031-2033. DOI: 10.1016/S0031-9422(98)00399-9. ISSN: 00319422. Dostupné také z: <<http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0031942298003999>>
- Klouda, P. 2003. *Moderní analytické metody*. 2., upr. a dopl. vyd. Pavel Klouda. Ostrava. ISBN: 80-863-6907-2.
- Kubeczka, K., Stahl, E. 1975. ÜBER ÄTHERISCHE ÖLE DER APIACEAE (UMBELLIFERAE). *Planta Medica*. 27 (03). 235-241. DOI: 10.1055/s-0028-1097792. ISSN: 0032-0943. Dostupné také z: <<http://www.thieme-connect.de/DOI/DOI?10.1055/s-0028-1097792>>
- Li, W., Sheng, H. 2008. Spatial distribution patterns and environmental interpretation of *Anthriscus sylvestris* clonal buds. *Frontiers of Forestry in China*. 3 (4). 449-455. DOI: 10.1007/s11461-008-0073-0. ISSN: 1673-3517. Dostupné také z: <<http://link.springer.com/10.1007/s11461-008-0073-0>>
- Manosroi, J., Dhumtanom, P., Manosroi, A. 2006. Anti-proliferative activity of essential oil extracted from Thai medicinal plants on KB and P388 cell lines. *Cancer Letters*. 235 (1). 114-120. DOI: 10.1016/j.canlet.2005.04.021. ISSN: 03043835. Dostupné také z: <<http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0304383505003952>>
- Masoudi, S., Rustaiyan, A., Mazloomifar, H. 2009. Composition of the Essential Oils of *Pimpinella anisactis* Rech.f. and *Pimpinella saxifraga* L. from Iran. *Journal of Essential Oil Research*. 21 (2). 146-148. DOI: 10.1080/10412905.2009.9700135. ISSN: 1041-2905. Dostupné také z: <<http://www.tandfonline.com/doi/abs/10.1080/10412905.2009.9700135>>

- McBride, S., Fischetti, V., LeBlanc, D., Moellering, R., Gilmore, M., Cowen, L. 2007. Genetic Diversity among *Enterococcus faecalis*. PLoS ONE. 2 (7). 582-. DOI: 10.1371/journal.pone.0000582. ISSN: 1932-6203. Dostupné také z: <<http://dx.plos.org/10.1371/journal.pone.0000582>>
- Miladi, H., Zmantar, T., Kouidhi, B., Chaabouni, Y., Mahdouani, K., Bakhrouf, A., Chaieb, K. 2017. Use of carvacrol, thymol, and eugenol for biofilm eradication and resistance modifying susceptibility of *Salmonella enterica* serovar Typhimurium strains to nalidixic acid. Microbial Pathogenesis. 104. 56-63. DOI: 10.1016/j.micpath.2017.01.012. ISSN: 08824010. Dostupné také z: <<http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0882401016308373>>
- Moon, H., Rhee, M. 2016. Synergism between carvacrol or thymol increases the antimicrobial efficacy of soy sauce with no sensory impact. International Journal of Food Microbiology. 217. 35-41. DOI: 10.1016/j.ijfoodmicro.2015.10.009. ISSN: 01681605. Dostupné také z: <<http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0168160515301422>>
- Moradali, M., Ghods, S., Rehm, B. 2017. *Pseudomonas aeruginosa* Lifestyle: A Paradigm for Adaptation, Survival, and Persistence. Frontiers in Cellular and Infection Microbiology. 7. -. DOI: 10.3389/fcimb.2017.00039. ISSN: 2235-2988. Dostupné také z: <<http://journal.frontiersin.org/article/10.3389/fcimb.2017.00039/full>>
- Mukherjee, P., Wahile, A. 2006. Integrated approaches towards drug development from Ayurveda and other Indian system of medicines. Journal of Ethnopharmacology. 103 (1). 25-35. DOI: 10.1016/j.jep.2005.09.024. ISSN: 03788741. Dostupné také z: <<http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0378874105006525>>
- Murugan, N., Malathi, J., Umashankar, V., Madhavan, H. 2017. Virulence genome analysis of *Pseudomonas aeruginosa* VRFP10 recovered from patient with scleritis. Genomics Data. 12. 1-3. DOI: 10.1016/j.gdata.2017.02.007. ISSN: 22135960. Dostupné také z: <<http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S2213596017300016>>
- Niinemets, U. 2005. Key Plant Structural and Allocation Traits Depend on Relative Age in the Perennial Herb *Pimpinella saxifraga*. Annals of Botany. 96 (2). 323-330. DOI: 10.1093/aob/mci180. ISSN: 0305-7364. Dostupné také z: <<https://academic.oup.com/aob/article-lookup/doi/10.1093/aob/mci180>>
- Noble, S., Gianetti, B., Witchley, J. 2016. *Candida albicans* cell-type switching and functional plasticity in the mammalian host. Nature Reviews Microbiology. 15 (2). 96-108. DOI: 10.1038/nrmicro.2016.157. ISSN: 1740-1526. Dostupné také z: <<http://www.nature.com/doi/10.1038/nrmicro.2016.157>>
- Oлару, O., Nițulescu, G., Orțan, A., Dinu-Pîrvu, C. 2015. Ethnomedicinal, Phytochemical and Pharmacological Profile of *Anthriscus sylvestris* as an Alternative Source for Anticancer Lignans. Molecules. 20 (8). 15003-15022. DOI: 10.3390/molecules200815003. ISSN: 1420-3049. Dostupné také z: <<http://www.mdpi.com/1420-3049/20/8/15003/>>
- Pandey, A., Kumar, P., Singh, P., Tripathi, N., Bajpai, V. 2017. Essential Oils: Sources of Antimicrobials and Food Preservatives. Frontiers in Microbiology. 7. -. DOI: 10.3389/fmicb.2016.02161. ISSN: 1664-302x. Dostupné také z: <<http://journal.frontiersin.org/article/10.3389/fmicb.2016.02161/full>>
- Patwardhan, B. 2005. Ethnopharmacology and drug discovery. Journal of Ethnopharmacology. 100 (1-2). 50-52. DOI: 10.1016/j.jep.2005.06.006. ISSN: 03788741. Dostupné také z: <<http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0378874105003624>>

- Pavlović, M., Kovačević, N., Tzakou, O., Couladis, M. 2006. Essential oil composition of *Sanicula europaea* L. *Flavour and Fragrance Journal*. 21 (4). 687-689. DOI: 10.1002/ffj.1672. ISSN: 0882-5734. Dostupné také z: <<http://doi.wiley.com/10.1002/ffj.1672>>
- Peel, T., Cheng, A., Spelman, T., Huysmans, M., Spelman, D. 2012. Differing risk factors for vancomycin-resistant and vancomycin-sensitive enterococcal bacteraemia. *Clinical Microbiology and Infection*. 18 (4). 388-394. DOI: 10.1111/j.1469-0691.2011.03591.x. ISSN: 1198743x. Dostupné také z: <<http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1198743X14614531>>
- Perricone, M., Arace, E., Corbo, M., Sinigaglia, M., Bevilacqua, A. 2015. Bioactivity of essential oils: a review on their interaction with food components. *Frontiers in Microbiology*. 6. -. DOI: 10.3389/fmicb.2015.00076. ISSN: 1664-302x. Dostupné také z: <<http://journal.frontiersin.org/Article/10.3389/fmicb.2015.00076/abstract>>
- Pongrácz, J., Juhász, E., Iván, M., Kristóf, K. 2015. Significance of yeasts in bloodstream infection: Epidemiology and predisposing factors of *Candidaemia* in adult patients at a university hospital (2010–2014). *Acta Microbiologica et Immunologica Hungarica*. 62 (3). 317-329. DOI: 10.1556/030.62.2015.3.9. ISSN: 1217-8950. Dostupné také z: <<http://www.akademiai.com/doi/abs/10.1556/030.62.2015.3.9>>
- Pourakbari, B., Khodabandeh, M., Mahmoudi, S., Sabouni, F., Aziz-Ahari, A., Bahador, A., Keshavarz Valian, S., Hosseinpour Sadeghi, R., Mamishi, S. 2017. Molecular epidemiology of *Staphylococcus aureus* nasal colonization among patients and their parents /guardian in an Iranian referral hospital. *Microbial Pathogenesis*. 107. 75-80. DOI: 10.1016/j.micpath.2017.03.023. ISSN: 08824010. Dostupné také z: <<http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0882401016308737>>
- Radulović, N., Mladenović, M., Đorđević, N. 2012. Chemotypification of *Astrantia major* L. (Apiaceae): Essential-Oil and Lignan Profiles of Fruits. *Chemistry*. 9 (7). 1320-1337. DOI: 10.1002/cbdv.201100430. ISSN: 16121872. Dostupné také z: <<http://doi.wiley.com/10.1002/cbdv.201100430>>
- Rahman, A., Sultana Shanta, Z., Rashid, M., Parvin, T., Afrin, S., Khodeza Khatun, M., Sattar, M. 2016. In vitro antibacterial properties of essential oil and organic extracts of *Premna integrifolia* Linn. *Arabian Journal of Chemistry*. 9. 475-479. DOI: 10.1016/j.arabjc.2011.06.003. ISSN: 18785352. Dostupné také z: <<http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1878535211001559>>
- Rattanachaikunsopon, P., Phumkhachorn, P. 2014. Potential of Coriander ( *Coriandrum sativum* ) Oil as a Natural Antimicrobial Compound in Controlling *Campylobacter jejuni* in Raw Meat. *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry*. 74 (1). 31-35. DOI: 10.1271/bbb.90409. ISSN: 0916-8451. Dostupné také z: <<http://www.tandfonline.com/doi/full/10.1271/bbb.90409>>
- Ray, B., Bhunia, A. 2014. *Fundamental food microbiology*. Fifth edition. CRC Press. Boca Raton. 663 s. ISBN: 978-1-4665-6443-5.
- Rezaei, M., Karimi, F., Shariatifar, N., Mohammadpourfard, I., Malekabad, E. 2015. Antimicrobial Activity of *Coriandrum sativum* Leaves and Seeds Essential Oil towards the Food-borne Pathogens. *West Indian Medical Journal*. 65 (1). 8-12. DOI: 10.7727/wimj.2014.162. ISSN: 00433144. Dostupné také z: <<https://www.mona.uwi.edu/fms/wimj/article/2201>>
- Richardson, J., Moyes, D. 2015. Adaptive immune responses to *Candida albicans* infection. *Virulence*. 6 (4). 327-337. DOI: 10.1080/21505594.2015.1004977. ISSN: 2150-5594. Dostupné také z: <<http://www.tandfonline.com/doi/full/10.1080/21505594.2015.1004977>>

- Richter, J., Schellenberg, I. 2007. Comparison of different extraction methods for the determination of essential oils and related compounds from aromatic plants and optimization of solid-phase microextraction/gas chromatography. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*. 387 (6). 2207-2217. DOI: 10.1007/s00216-006-1045-6. ISSN: 1618-2642. Dostupné také z: <<http://link.springer.com/10.1007/s00216-006-1045-6>>
- Russo, T., Johnson, J. 2003. Medical and economic impact of extraintestinal infections due to *Escherichia coli*: focus on an increasingly important endemic problem. *Microbes and Infection*. 5 (5). 449-456. DOI: 10.1016/S1286-4579(03)00049-2. ISSN: 12864579. Dostupné také z: <<http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1286457903000492>>
- Salami, M., Rahimmalek, M., Ehtemam, M. 2016b. Inhibitory effect of different fennel (*Foeniculum vulgare*) samples and their phenolic compounds on formation of advanced glycation products and comparison of antimicrobial and antioxidant activities. *Food Chemistry*. 213. 196-205. DOI: 10.1016/j.foodchem.2016.06.070. ISSN: 03088146. Dostupné také z: <<http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0308814616309633>>
- Salami, M., Rahimmalek, M., Ehtemam, M., Szumny, A., Fabian, S., Matkowski, A. 2016a. Essential oil Composition, Antimicrobial Activity and Anatomical Characteristics of *Foeniculum vulgare* Mill. Fruits from Different Regions of Iran. *Journal of Essential Oil Bearing Plants*. 19 (7). 1614-1626. DOI: 10.1080/0972060X.2015.1117951. ISSN: 0972-060x.
- Salim, E., Fukushima, S. 2003. Chemopreventive Potential of Volatile Oil From Black Cumin (*Nigella sativa* L.) Seeds Against Rat Colon Carcinogenesis. *Nutrition and Cancer*. 45 (2). 195-202. DOI: 10.1207/S15327914NC4502\_09. ISSN: 0163-5581. Dostupné také z: <[http://www.tandfonline.com/doi/abs/10.1207/S15327914NC4502\\_09](http://www.tandfonline.com/doi/abs/10.1207/S15327914NC4502_09)>
- Shahdordizadeh, M., Taghdisi, S., Ansari, N., Alebooye Langroodi, F., Abnous, K., Ramezani, M. 2017. Aptamer based biosensors for detection of *Staphylococcus aureus*. *Sensors and Actuators B: Chemical*. 241. 619-635. DOI: 10.1016/j.snb.2016.10.088. ISSN: 09254005. Dostupné také z: <<http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0925400516317154>>
- Schindler, J. 2010. *Mikrobiologie: pro studenty zdravotnických oborů*. 1. vyd. Grada. Praha. Sestra (Grada). ISBN: 978-80-247-3170-4.
- Schmidt, B., Ribnicky, D., Lipsky, P., Raskin, I. 2007. Revisiting the ancient concept of botanical therapeutics. *Nature Chemical Biology*. 3 (7). 360-366. DOI: 10.1038/nchembio0707-360. ISSN: 1552-4450. Dostupné také z: <<http://www.nature.com/doi/abs/10.1038/nchembio0707-360>>
- Silva, F., Domingues, F. 2015. Antimicrobial Activity of Coriander Oil and Its Effectiveness as Food Preservative. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*. . 00-00. DOI: 10.1080/10408398.2013.847818. ISSN: 1040-8398. Dostupné také z: <<http://www.tandfonline.com/doi/full/10.1080/10408398.2013.847818>>
- Solomou, A., Martinos, K., Skoufogianni, E., Danalatos, N. 2016. Medicinal and Aromatic Plants Diversity in Greece and Their Future Prospects: A Review. *Agricultural Science*. 4 (1). 9-20. DOI: 10.12735/as.v4i1p09. ISSN: 22914471. Dostupné také z: <[http://www.todayscience.org/asarticle?paper\\_id=447100046](http://www.todayscience.org/asarticle?paper_id=447100046)>
- Sykiotis, G., Kallioliass, G., Papavassiliou, A. 2006. Hippocrates and Genomic Medicine. *Archives of Medical Research*. 37 (1). 181-183. DOI: 10.1016/j.arcmed.2005.05.007. ISSN: 01884409. Dostupné také z: <<http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0188440905002274>>

- Tabanca, N., Demirci, B., Ozek, T., Kirimer, N., Baser, K., Bedir, E., Khan, I., Wedge, D. 2006. Gas chromatographic–mass spectrometric analysis of essential oils from *Pimpinella* species gathered from Central and Northern Turkey. *Journal of Chromatography A*. 1117 (2). 194-205. DOI: 10.1016/j.chroma.2006.03.075. ISSN: 00219673. Dostupné také z: <<http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0021967306006583>>
- Tong, Y., Tang, J. 2017. *Candida albicans* infection and intestinal immunity. *Microbiological Research*. 198. 27-35. DOI: 10.1016/j.micres.2017.02.002. ISSN: 09445013. Dostupné také z: <<http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0944501316307017>>
- Turnpenny, P., Padfield, A., Barton, P., Teague, J., Rahme, L., Pucci, M., Zahler, R., Rubio, A. 2017. Bioanalysis of *Pseudomonas aeruginosa* alkyl quinolone signalling molecules in infected mouse tissue using LC–MS/MS; and its application to a pharmacodynamic evaluation of MvfR inhibition. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*. 139. 44-53. DOI: 10.1016/j.jpba.2017.02.034. ISSN: 07317085. Dostupné také z: <<http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0731708516314819>>
- Ušjak, L., Petrović, S., Drobac, M., Soković, M., Stanojković, T., Ćirić, A., Grozdanić, N., Niketić, M. 2016. Chemical Composition, Antimicrobial and Cytotoxic Activity of *Heracleum verticillatum* Pančić and *H. ternatum* Velen. (Apiaceae) Essential Oils. *Chemistry*. 13 (4). 466-476. DOI: 10.1002/cbdv.201500151. ISSN: 16121872. Dostupné také z: <<http://doi.wiley.com/10.1002/cbdv.201500151>>
- Van Tyne, D., Martin, M., Gilmore, M. 2013. Structure, Function, and Biology of the *Enterococcus faecalis* Cytolysin. *Toxins*. 5 (5). 895-911. DOI: 10.3390/toxins5050895. ISSN: 2072-6651. Dostupné také z: <<http://www.mdpi.com/2072-6651/5/5/895/>>
- Verpoorte, R., Crommelin, D., Danhof, M., Gilissen, L., Schuitmaker, H., van der Greef, J., Witkamp, R. 2009. Commentary: “A systems view on the future of medicine. *Journal of Ethnopharmacology*. 121 (3). 479-481. DOI: 10.1016/j.jep.2008.11.005. ISSN: 03788741. Dostupné také z: <<http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0378874108006351>>
- Wang, Y., Li, H., Wang, Y., Zhang, L., Xu, J., Ye, C. 2017. Loop-Mediated Isothermal Amplification Label-Based Gold Nanoparticles Lateral Flow Biosensor for Detection of *Enterococcus faecalis* and *Staphylococcus aureus*. *Frontiers in Microbiology*. 8. -. DOI: 10.3389/fmicb.2017.00192. ISSN: 1664-302x. Dostupné také z: <<http://journal.frontiersin.org/article/10.3389/fmicb.2017.00192/full>>
- Wu, M., Guina, T., Brittnacher, M., Nguyen, H., Eng, J., Miller, S. 2005. The *Pseudomonas aeruginosa* Proteome during Anaerobic Growth. *Journal of Bacteriology*. 187 (23). 8185-8190. DOI: 10.1128/JB.187.23.8185-8190.2005. ISSN: 0021-9193. Dostupné také z: <<http://jb.asm.org/cgi/doi/10.1128/JB.187.23.8185-8190.2005>>
- Yong, Y., Shin, S., Lee, Y., Lim, Y. 2009. Antitumor activity of deoxypodophyllotoxin isolated from *Anthriscus sylvestris*: Induction of G2/M cell cycle arrest and caspase-dependent apoptosis. *Bioorganic*. 19 (15). 4367-4371. DOI: 10.1016/j.bmcl.2009.05.093. ISSN: 0960894x. Dostupné také z: <<http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0960894X09007860>>
- Zida, A., Bamba, S., Yacouba, A., Ouedraogo-Traore, R., Guiguemdé, R. 2017. Anti-*Candida albicans* natural products, sources of new antifungal drugs: A review. *Journal de Mycologie Médicale / Journal of Medical Mycology*. 27 (1). 1-19. DOI: 10.1016/j.mycmed.2016.10.002. ISSN: 11565233. Dostupné také z: <<http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1156523316302220>>

## Seznam obrázků

- Obrázek č. 1: Destilační kolona typu Clevenger  
<<http://www.chemscience.com/PicturesCategory/226.jpg>>
- Obrázek č. 2: Schéma plynové chromatografie  
<[https://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/thumb/c/c6/Gas\\_chromatograph-vector.svg/1134px-Gas\\_chromatograph-vector.svg.png](https://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/thumb/c/c6/Gas_chromatograph-vector.svg/1134px-Gas_chromatograph-vector.svg.png)>
- Obrázek č. 3: *Anthriscus cerefolium*  
<<https://garden.rcplondon.ac.uk/photos/specimens/Anthriscus%20cerefolium/Anthriscus%20cerefolium%20RCP5-2014%20088.JPG>>
- Obrázek č. 4: *Anthriscus sylvestris*, Zdroj: Vladimír Kvítek, 2016
- Obrázek č. 5: květ *Astrantia major*, Zdroj: Vladimír Kvítek, 2016
- Obrázek č. 6: *Pastinaca sativa*, Zdroj: Vladimír Kvítek, 2016
- Obrázek č. 7: list *Pimpinella saxifraga*, Zdroj: Vladimír Kvítek, 2016
- Obrázek č. 8: *Sanicula europaea*, Zdroj: Vladimír Kvítek, 2016

## Seznam tabulek

- Tabulka č. 1: Ředící řady experimentu v µg/ml
- Tabulka č. 2: Výtěžnost silic z rostlinného materiálu
- Tabulka č. 3: Hustota silic
- Tabulka č. 4: Minimální inhibiční koncentrace (MIC 80 a MIC 50)
- Tabulka č. 5: Chemické složení silic

## Seznam grafů

- Graf č. 1: Průměrný procentuální nárůst ze všech testů *Candida albicans*
- Graf č. 2: Průměrný procentuální nárůst ze všech testů *Enterococcus faecalis*
- Graf č. 3: Průměrný procentuální nárůst ze všech testů *Staphylococcus aureus*
- Graf č. 4: Průměrný procentuální nárůst ze všech testů *Escherichia coli*
- Graf č. 5: Průměrný procentuální nárůst ze všech testů *Pseudomonas aeruginosa*
- Graf č. 6: Vliv zákalu silice *Origanum vulgare* na měření