

Naslov: Antibiotične značilnosti čilija

Raziskovalno vprašanje:

1. Ali sveži ekstrakt iz plodov rastline rodu *Capsicum* inhibira rast bakterije *Escherichia coli* pri temperaturi 37 °c za 24 ur in ali imajo različne vrste čilijev različen inhibitoren vpliv na rast bakterije?
2. Ali obstaja pozitivna korelacija med količino kapsaicina glede na Scovillovo lestvico in inhibicijo rasti bakterije?
3. Ali je cona inhibicije pri uporabljenih antibiotikih večja kot pri ekstraktu plodov čilijev?

Področje raziskave: Biologija

Avtorja: Jon Korenjak, Klemen Miklavčič

Mentor: Vanda Kukec, prof.

Datum: marec 2017

Povzetek

Čili je začimba, pridobljena iz plodov istoimenske tropske rastline iz rodu paprik. Plodovi so različnih barv, ponavadi dolgi od 2 do 3 centimetre. Čiliji, ki izvirajo iz rodu *Capsicum*, vsebujejo alkaloid kapsaicin, ki v čilijih nastaja kot sekundarni metabolit in ima zaščitno vlogo (Čili, 2017). Z raziskovalno nalogo sva želela odgovoriti na naslednje raziskovalno vprašanje:

1. Ali sveži ekstrakt iz plodov rastline rodu *Capsicum* inhibira rast bakterije *Escherichia coli* pri temperaturi 37 °c za 24 ur in ali imajo različne vrste čilijev različen inhibitoryen vpliv na rast bakterije?
2. Ali obstaja pozitivna korelacija med količino kapsaicina glede na Scovillovo lestvico in inhibicijo rasti bakterije?
3. Ali je cona inhibicije pri uporabljenih antibiotikih večja kot pri ekstraktu plodov čilijev?

Ugotavljala se je cona inhibicije rasti *E. coli* z uporabo sterilnih diskov namočenih v sveži ekstrakt plodov čilijev in z uporabo antibiotičnih diskov.

Devet izmed desetih sort čilija je hipotezo o antibiotičnem učinku čilija na rast *E. coli* podprlo. Rezultati raziskovalne naloge ne podpirajo hipoteze o pozitivni korelaciji med količino kapsaicina in inhibicijo rasti bakterije. Kljub temu, da so ekstrakti plodov inhibirali rast bakterije *E. coli*, so bili manj učinkoviti od antibiotikov, kar podpira hipotezo, da bo cona inhibicije večja pri uporabi antibiotikov kot pri uporabi svežih ekstraktov plodov čilijev.

Kazalo vsebine

Povzetek	1
Kazalo vsebine	2
Kazalo slik	3
Kazalo tabel	3
Kazalo grafov	4
1 Uvod.....	5
1.1 Teoretično ozadje	5
1.1.1 Splošno o čiliju	5
1.1.2 Scovillova lestvica pekočnosti.....	6
1.1.3 Kapsaicin.....	7
1.1.4 <i>Escherichia coli</i>	7
1.1.5 Človekova uporaba čilija	8
1.1.6 Antibiotični učinki čilija.....	8
2 Raziskovalni del	9
2.1 Raziskovalno vprašanje	9
2.2 Hipoteza	9
2.3 Spremenljivke	9
2.4 Material	10
2.4.1 Plodovi čilija	10
2.4.2 Antibiotiki.....	11
2.4.3 Zaščitna oprema	11
2.4.4 Laboratorijska oprema in kemikalije	12
2.5 Postopek.....	13
2.5.1 Varnost pri delu	13
2.5.2 Priprava agarjevih plošč.....	13
2.5.3 Nanos bakterije <i>Escherichia coli</i>	13
2.5.4 Nanos antibiotičnih diskov na agar v petrijevkah.....	14
2.5.5 Priprava ekstraktov čilijevih plodov	14

2.5.6 Nanašanje ekstraktov čilija na petrijevke.....	16
2.5.7 Cone inhibicije v petrijevkah z antibiotičnimi diski	17
2.5.8 Cona inhibicije v petrijevkah s sterilnimi diski, namočenimi v ekstraktih čilija	19
2.6 Analiza podatkov	23
2.6.1 Hipoteza 1.....	23
2.6.2 Hipoteza 2.....	23
2.6.3 Hipoteza 3.....	23
3 Zaključek.....	24
4 Viri in literatura Literatura	25

Kazalo slik

Slika 1: Kemijska formula kapsaicina (Capsaicin, 2007)	7
Slika 2: Mikrocentrifugirka (Google slike, 2012)	14
Slika 3: Čiliji uporabljeni pri izdelavi ekstraktov (vir: avtorja raziskovalne naloge, 2017)	15
Slika 4: Inhibicijske cone okoli antibiotikov (vir: avtorja raziskovalne naloge, 2017).....	21
Slika 5: Inhibicijska cona okoli antibiotika Imipenema (IPM) (vir: avtorja raziskovalne naloge, 2017)	22
Slika 6: Inhibicijska cona okoli ekstrakta iz čilija Trinidad škorpijon (vir: avtorja raziskovalne naloge, 2017)	22

Kazalo tabel

Tabela 1: Pekočnost posameznih sort čilija v SHU (Scoville scale, 2017)	6
Tabela 2: Prikazane so cone inhibicije v mm okoli antibiotikov. Za vsak antibiotik je bilo opravljenih 5 ponovitev. Zadnji stolpec prikazuje povprečno velikost inhibicijske cone pri vsakem antibiotiku	17
Tabela 3: Prikazuje cone inhibicije v mm okoli diskov, namočenih v ekstrakte čilija in kontrolne skupine. Za vsak ekstrakt je bilo opravljenih 5 ponovitev. Zadnji stolpec prikazuje povprečno velikost inhibicijske cone pri vsakem ekstraktu in pri kontrolni skupini.	19

Kazalo grafov

Graf 1: Povprečna velikost inhibicijske cone pri uporabi antibiotikov AM, AMC, CIP, CTX in CXM s standardno napako (vir podatkov: Tabela 2).....	18
Graf 2: Povprečna velikost inhibicijske cone pri uporabi antibiotikov FM, IPM, PIP in SXT s standardno napako (vir podatkov: Tabela 2)	18
Graf 3: Povprečna velikost inhibicijske cone pri uporabi ekstraktov iz plodov Antilles Habanero, As čili, Bhut jolokia, Carolina Ripper in Fatalija s standardno napako (vir podatkov: Tabela 3).....	20
Graf 4: Povprečna velikost inhibicijske cone pri uporabi ekstraktov iz plodov Habanero savina, Jalapenjo, Cayenne in Trinidad škorpigon s standardno napako (vir podatkov: Tabela 3).....	20
Graf 5: Prikazuje povprečno velikost inhibicijske cone pri ekstraktih vseh vrst čilija in povprečno velikost inhibicijske cone pri uporabi vseh antibiotikov s standardno napako (vir podatkov: Tabela 2 in Tabela 3).....	21

1 Uvod

Namen raziskovalne naloge je bilo preveriti antibiotičen učinek čilija. Raziskava je potekala tako, da sva preučevala inhibitoren vpliv različnih vrst čilija in inhibitoren vpliv različnih antibiotikov na rast *E. coli* ter ju primerjala med seboj. Raziskovalne naloge sva se lotila z namenom preveriti trditve različne literature o antibiotičnih učinkih čilijev. O pozitivnih učinkih čilija je bilo napisanih že veliko člankov. Kapsaicin (sekundarni metabolit, ki nastaja v čiliju) je bil prepoznan kot sredstvo, ki spodbuja zdravo delovanje ožilja (McCarty, DiNicolantonio, & O'Keefe, 2015) in kot antioksidant. (Chen, in drugi, 2015).

1.1 Teoretično ozadje

1.1.1 Splošno o čiliju

Čili je rastlina, ki vsebuje kapsaicin, ki v čilijih nastaja kot sekundarni metabolit in ima zaščitno vlogo. To je aktivna komponenta vseh rastlin, ki pripadajo rodu *Capsicum*. Trenutno poznamo 34 vrst rastlin iz rodu *Capsicum*. Čili spada v družino *Solanaceae* in je sorodstveno blizu krompirju, paradižniku, jajčevcu, tobaku in petuniji. Čilijev plod, ki ga po domače imenujemo kar čili, ima oster in pekoč okus. Plodovi so različnih barv, ponavadi dolgi od 2 do 3 centimetre. Barva ploda je odvisna od sorte in sicer je lahko rdeča, rumena, oranžna ali zelena. Neobdelan čilijev plod, naj bi imel pri 100 gramih 20 kcal energetske vrednosti. Kemične analize plodov rastlin iz rodu *Capsicum*, so pokazale, da plodovi vsebujejo relativno visoke koncentracije različnih pomembnih hranilnih snovi. Bogat je tudi ogljikovih hidratih, ki jih ima na 100 gramov 4,64 gramov, torej 4,64 %. Vsebuje tudi vitamine, kot so vitamin C (katerega naj bi bilo do šestkrat več kot v pomarančah in celo do osemkrat več kot v limoni), B1, B2, B3, B6, B9, A, E in K. Poleg tega v plodovih najdemo tudi številne minerale: kalcij (Ca), železo (Fe), magnezij (Mg), fosfor (P), cink (Z), kalij (K) in natrij (Na). Poleg kapsaicina je v plodovih še sorodnik kapsakutin ter karotenoidna barvila: kapsantin, kapsorubin, karoten ter lutein. Srečamo tudi salicilno in acetilsalicilno kislino, ki varujeta pred boleznimi srca in ožilja ter zmanjšujejo tveganje za Alzheimerjevo demenco. Med bioflavonoidi je zelo

veliko rutina, pa tudi citrina, hesperidina, flavonov in flavonolov, ki jih skupaj imenujemo tudi kapilarni permeabilnostni (prepustni) vitamin ali na kratko - vitamin P; ta širi žile in tako poskrbi za boljšo prepustnost žil in kapilar, za okrepitev sten kapilar in s tem znižuje krvni tlak ter zmanjša tveganje srčne kapi. (Čili, 2017)

1.1.2 Scovillova lestvica pekočnosti

Pekočnost čilijev je merjena z enoto SHU (Scoville Heat Unit) in je prikazana na lestvici pekočnosti ki jo imenujemo Scoville Heat Scale ali Scovillova lestvica pekočnosti, imenovana po kemiku Wilburu Scovillu. Enote SHU variirajo od 0 (paprika oziroma *Capsicum annuum*) pa vse do več milijonov (na primer čili iz rodu *Capsicum* tako imenovani Carolina Reaper). Čisti kapsaicin na primer vsebuje približno 16 milijonov SHU. (Scoville scale, 2017)

Tabela 1: Pekočnost posameznih sort čilija v SHU (Scoville scale, 2017)

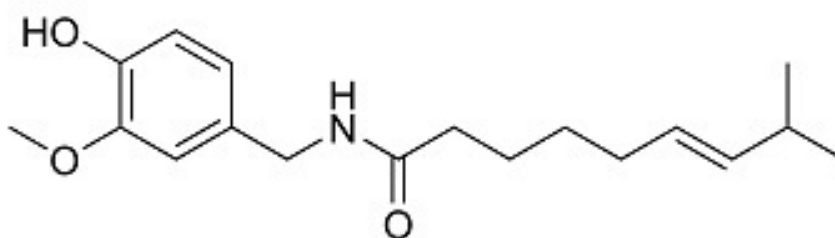
Sorta čilija	SHU (Scoville Heat Units)
Carolina Ripper (vrsta: <i>Capsicum chinense</i>)	1569383-2200000
Bhut jolokia (vrsta: hibrid med <i>Capsicum chinense</i> in <i>Capsicum frutescens</i>)	800000-1001304
Trinidad škorpiljon (vrsta: <i>Capsicum chinense</i>)	800000-1000000
Habanero savina (vrsta: <i>Capsicum chinense</i>)	200000-577000
Antilles habanero (vrsta: <i>Capsicum chinense</i>)	300000-475000
Fatalija (vrsta: <i>Capsicum chinense</i>)	125000-325000

Cayenne (vrsta: <i>Capsicum annum</i>)	30000 – 50000
As čili (vrsta: <i>Capsicum annum</i>)	20000-40000
Jalapeno (vrsta: <i>Capsicum annum</i>)	1000-20000

1.1.3 Kapsaicin

Ob zaužitju čilija, le ta povzroči senzacijo vročine in/ali bolečine v ustih, žrelu sesalcev, v večjih koncentracijah celo opekline. Ta občutek lahko nevtraliziramo s konzumacijo hrane, ki vsebuje kasein, kot so mleko, sir ali jogurt- torej mlečnih produktov.

Pekočnost, pikantnost oziroma ostrina čilija je odvisna od količine kapsaicina oziroma analogov kapsaicina v plodu. Kapsaicin je tipičen predstavnik kapsaicinoidov, ki jih najdemo na steni rastlin iz rodu *Capsicum*. Največ kapsaicina je v semenih oziroma okoli semen. Čisti kapsaicin se pojavlja kot beli kristalni prašek. Kemijsko ime za kapsaicin je Vanillylamide 8-metil-6-nonenoic kislina (Capsaicin - useful properties , indications for use, 2016).



Slika 1: Kemijska formula kapsaicina (Capsaicin, 2007)

1.1.4 Escherichia coli

Escherichia coli je vrsta bakterij iz rodu ešerihij. Je komenzalna bakterija, ki se običajno nahaja debelem črevesju toplokrvnih organizmov, na primer sesalcev in je sestavni del črevesne flore sesalcev. Čeprav je debelo črevesje za bakterijo *E. coli* idealno bivališče,

lahko preživi nekaj časa tudi v prostem okolju, na primer v vodi, zraku, mesu, mleku itd. Sama bakterija za ljudi ni škodljiva, je celo koristna, saj njeni koristni sevi v debelem črevesju pomagajo pri sintezi vitamina K2. K2 shranjuje kalcij (ki je potreben za rast in čvrstost kosti) v kosteh in ga ne nalaga v arterije in s tem ščiti pred različnimi boleznimi srca. Poleg koristnih sevov *E. coli* obstajajo tudi škodljivi sevi te bakterije. Te so na primer t.i. enterohemoragična (EHEC) O157:H7 ali (STEC -shiga toxin producing- *E. coli* O157:H7), ki lahko povzroči neprijetne zdravstvene težave. Za okužbe z *E. coli* so dovzetne predvsem manj odporne osebe, v primeru okužbe sečil so pa bolj dovzetne ženske. (*Escherichia coli*, 2016)

1.1.5 Človekova uporaba čilija

Človekova uporaba čilija sega do prazgodovinskih časov. Ohranjeni čilijevi plodovi so v dokaz, da so Južnoameriške civilizacije gojile, jedle in na splošno uporabljale čili že okoli leta 2500 pred našim štetjem.

Uporaba plodov v kulinariki je zelo razširjena. Kuharji po svetu dodajajo čili v mesne in zelenjavne jedi, sir ter različne omake itd. (Čili, 2017)

Dandanes čiljev ne uživamo le s hrano, pogosto so uporabljeni tudi v farmaciji, kozmetiki, kot okrasna rastlina, kot barvilo in kot glavna sestavina obrambnih sredstev kot so npr. razpršilo (angl. Pepper spray). Podatki iz leta 2013 kažejo, da je na vodilnem mestu po proizvodnji čilija na svetu Kitajska, ki letno proizvede kar 15,8 milijonov ton. Na drugem mestu, daleč za Kitajsko je Mehika, ki proizvede približno sedemkrat manj svežega čilija kot Kitajska (2,3 milijonov ton na leto). (Chili pepper, 2017)

1.1.6 Antibiotični učinki čilija

O pozitivnih in antibiotičnih učinkih čilija je bilo napisanih že veliko člankov. Kapsaicin in dihidrokapsaicin (snovi, prisotne v plodovih čilija) imata inhibitoren vpliv na *Bacillus cereus*, *Bacillus subtilis*, *Clostridium sporogenes*, *Clostridium tetani*, in *Streptococcus pyogenes* (Cichewicz & Thorpe, 1996). Kapsaicin je bil prepoznan kot sredstvo, ki spodbuja zdravo delovanje ožilja (McCarty, DiNicolantonio, & O'Keefe, 2015), kot

antioksidant. (Chen, in drugi, 2015) in kot učinkovito sredstvo proti okužbi na eritromicin odpornih streptokokov skupine A (Marini, Magi, Mingoia, Pugnali, & Facinelli, 2015).

2 Raziskovalni del

2.1 Raziskovalno vprašanje

1. Ali sveži ekstrakt iz plodov rastline rodu *Capsicum* inhibira rast bakterije *Escherichia coli* (pri temperaturi 37°C za 24 ur) in ali imajo različne vrste čilijev različni inhibični vpliv na rast bakterije?
2. Ali obstaja pozitivna korelacija med količino kapsaicina glede na Scovillovo lestvico in inhibicijo rasti bakterije?
3. Ali je cona inhibicije pri uporabljenih antibiotikih večja kot pri ekstraktu plodov čilijev?

2.2 Hipoteza

Hipoteza 1: Ekstrakt plodov rastline iz rodu *Capsicum* bo inhibiral rast bakterije *E. coli*.

Hipoteza 2: Med količino kapsaicina glede na Scovillovo lestvico in inhibicijo rasti bakterije obstaja pozitivna korelacija. Sveži ekstrakt čilija Carolina Ripper (vrsta: *Capsicum chinense*), ki ima glede na Scovillovo lestvico največjo količino kapsaicina, bo najbolj inhibiral rast bakterije *E. coli*, sveži ekstrakt čilija Jalapenjo (vrsta: *Capsicum annuum*), ki ima glede na Scovillovo lestvico najmanj kapsaicina, bo pa rast bakterije najmanj inhibiral.

Hipoteza 3: Cona inhibicije bo večja pri uporabi antibiotikov kot pri uporabi ekstraktov plodov čilijev.

2.3 Spremenljivke

1. Neodvisne spremenljivke:
 - a. vrsta antibiotika
 - b. vrsta čilija

2. Odvisne spremenljivke:

- a. cona inhibicije (pri uporabi antibiotikov in svežih ekstraktov čilijev)

3. Kontrolirane spremenljivke:

- a. enak inkubacijski čas petrijev
- b. enaka temperatura v inkubatorju
- c. isti proizvajalec vseh sort čilija in isti izvor rasti čilijev
- d. svežina vseh plodov
- e. hranjenje vseh plodov na enaki temperaturi v hladilniku do uporabe
- f. enaka količina agarja
- g. enak postopek priprave agarja
- h. enaka količina čilija
- i. enaka količina fiziološke raztopine pri pripravi agarjevih plošč s kulturo *E. coli*
- j. sterilnost delovnega okolja
- k. postopek pridobivanja svežih ekstraktov čilijev

2.4 Material

2.4.1 Plodovi čilija

Čiliji so iz družinske kmetije Planjava (družina Šušteršič, Planjava 1, Šenčur) in so bili za namen raziskave podarjeni.

- Habanero savina (vrsta: *Capsicum chinense*)
- Bhut jolokia (vrsta: hibrid med *Capsicum chinense* in *Capsicum frutescens*)
- Fatalija (vrsta: *Capsicum chinense*)
- As čili (vrsta: *Capsicum annuum*)
- Antilles habanero (vrsta: *Capsicum chinense*)
- Cayenne (vrsta: *Capsicum annuum*)
- Trinidad škorpion (vrsta: *Capsicum chinense*)

- Jalapeno (vrsta: *Capsicum annuum*)
- Carolina Ripper (vrsta: *Capsicum chinense*)

2.4.2 Antibiotiki

Antibiotiki so bili pridobljeni na Zavodu za zdravstveno varstvo Kranj (Oddelek za mikrobiologijo) v obliki diskov prepojenih z antibiotiki, ki naj bi inhibitorno vplivali na *E. coli*.

Oznake, pripisane ob imenu antibiotika so uradne okrajšave za imenovane antibiotike. (vir: <http://www.faskkuwait.com/divisions/clinical-clinical/64-antibiotic-sensitivity-discs->)

- *Ampicillin* (oznaka: AM)
- *Amoxicillin-clavulanate* (oznaka: AMC)
- *Ciprofloxacin* (oznaka: CIP)
- *Cefotaxime* (oznaka: CTX)
- *Cefuroxime* (oznaka: CXM)
- *Framycetin* (oznaka: FM)
- *Imipenem* (oznaka: IPM)
- *Piperacillin* (oznaka: PIP)
- *Sulphamethoxazole/trimethoprim* (oznaka: SXT)

2.4.3 Zaščitna oprema

- zaščitna očala
- zaščitna maska (za enkratno uporabo)
- zaščitne rokavice (za enkratno uporabo)

2.4.4 Laboratorijska oprema in kemikalije

- Sabouraud Dextrose agar (proizvajalec: Biolife)
- bakterija *Escherichia coli* (kupljeno pri: Health & Hygiene, Project Pack by Philip Harris; sev K-12)
- sterilni diski (proizvajalec: Biolife, premer: 6mm)
- avtoklav za pripravo hranilnega agarja
- petrijevke premera 100mm
- epruvete
- merilni valji
- mikrocentrifugirke
- pipete
- steklena palčka za mešanje
- filtrirni papir
- vodoodporen flomaster
- aluminijasta folija
- nož
- strgalo
- stekleni lij
- cepilna zanka
- pincete
- alkoholni gorilnik
- inkubator (proizvajalec: Binder)
- razkužilo
- prenosni računalnik
- fiziološka raztopina (0,9 % raztopina natrijevega klorida- NaCl)

2.5 Postopek

2.5.1 Varnost pri delu

Pri rezanju plodov čilijev in pri nanosu kulture *E. coli* so bila uporabljena zaščitna očala in rokavice. Delo z bakterijami je potekalo pri sterilnih pogojih. Po končanem raziskovalnem delu so se vsi vzorci z bakterijo odstranili v skladu s predpisi o delu z nevarnimi odpadki.

2.5.2 Priprava agarjevih plošč

Agarjeve plošče so bile pripravljene tako, da se je dalo 65g Sabouraud Dextrose Agarja v 1000mL destilirane vode. Mešanico se je zavrelo in steriliziralo z uporabo avtoklava pri 121°C za 15 minut. Mešanica se je nato raztopila v vodi (100°C) in kasneje shladila na 45-50°C in prenesla v sterilne petrijevke (vir postopka: navodila priložena v embalaži)

2.5.3 Nanos bakterije *Escherichia coli*

Nanos bakterije *E. coli* je potekal tako, da se je najprej s pomočjo cepilne zanke bakterijo *E. coli* preneslo iz originalne embalaže v mikrocentrifugirko, ki je vsebovala 1 mL (+/-0,05 mL) fiziološke raztopine. Mikrocentrifugirka je bila najprej pokrita s plastičnim pokrovčkom, nato se je pretresla in vsebina se je razlila po petrijevki z agarjem. S krožnimi gibi se je petrijevko vrtelo, da se je vsebina kivete enakomerno razporedila po agarju. Petrijevke so bile 20 minut (+/- 5 minut) puščene na pultu v laboratoriju pri sobni temperaturi, da se je vsebina kivete posušila. Postopek se je ponovil 30-krat.



Slika 2: Mikrocentrifugirka (Google slike, 2012)

2.5.4 Nanos antibiotičnih diskov na agar v petrijevkah

Petrijevke z agarjem in kulturo bakterij so bile že predhodno razdeljene na 4 dele in označene z oznakami za antibiotike. Na vsak del je bil nanešen antibiotični disk. Za vsako vrsto antibiotika je bilo opravljenih 5 ponovitev.

2.5.5 Priprava ekstraktov čilijevih plodov

Za pripravo ekstraktov čilija je bilo uporabljenih devet različnih sort čilija: Antilles Habanero, As čili, Bhut Jolokia, Carolina Reaper, Fatalija, Habanero Savina, Jalapeno, Cayenne in Trinidad Scorpion. Iz vsake so bili vzeti trije čiliji in z uporabo strgala naribani. Naribani čiliji so bil filtrirani preko filtrnega papirja in ekstrakti so bili dani v označene čaše. Vsaka čaša je bila prekrita z alu-folijo. Nato je bilo v vsako izmed čaš nanešeno pet sterilnih diskov za dve minuti (+/- 5 sekund).



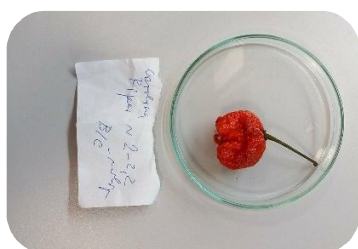
•Antilles habanero (vrsta: *Capsicum chinense*)



•As čili (vrsta: *Capsicum annuum*)



•Bhut jolokia (vrsta: hibrid med *Capsicum chinense* in *Capsicum frutescens*)



•Carolina Ripper (vrsta: *Capsicum chinense*)



•Fatalija (vrsta: *Capsicum chinense*)



•Habanero savina (vrsta: *Capsicum chinense*)



•Jalapeno (vrsta: *Capsicum annuum*)



•Cayenne (vrsta: *Capsicum annuum*)



•Trinidad škorpiljon (vrsta: *Capsicum chinense*)

Slika 3: Čiliji uporabljeni pri izdelavi ekstraktov (vir: avtorja raziskovalne naloge, 2017)

2.5.6 Nanašanje ekstraktov čilija na petrijevke

Za nanašanje ekstraktov čilija na petrijevke, ki so vsebovale agar ter kulturo bakterije, so bile petrijevke ponovno razdeljene na 4 dele. Na vsak del je bil nanešen sterilni disk, ki je bil prej 2 minuti namočen v ekstraktu čilija. V ekstrakt vsake vrste čilija se je namočilo 5 sterilnih diskov. V vsako petrijevko je bil dodan sterilni disk, ki je bil 2 minuti namočen v fiziološki raztopini. Ta disk je služil kot kontrolna skupina.

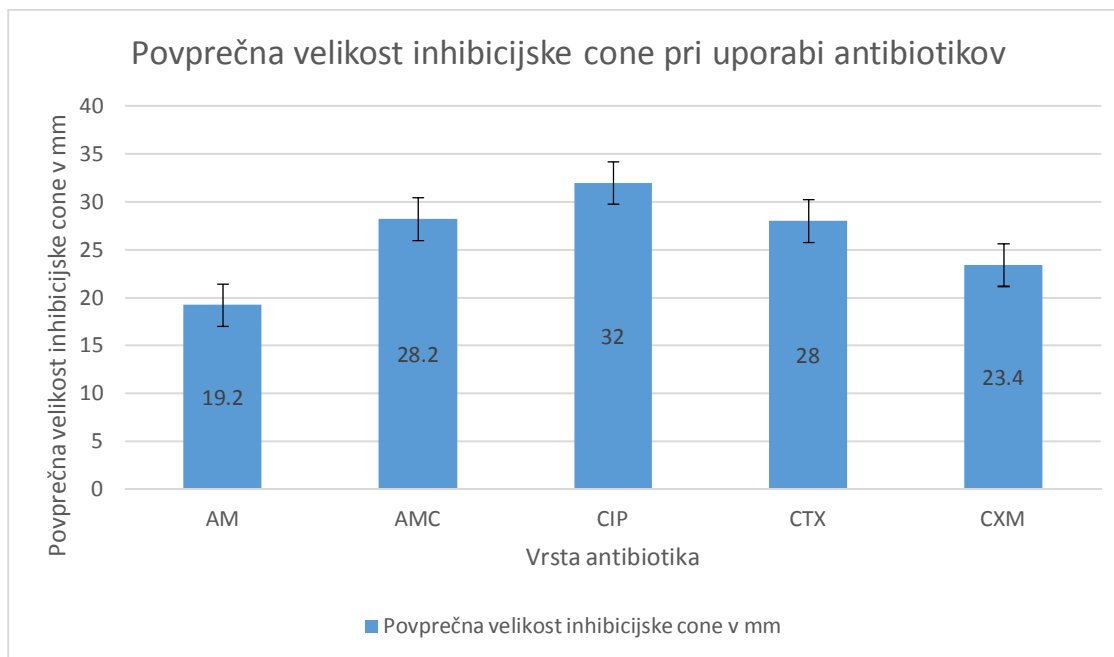
Petrijevke so bile za 24 ur postavljene v inkubator (37°C), kjer so bili ustrezni pogoji (glede na navodila priložena pri Health & Hygiene, Project Pack by Philip Harris) za razmnoževanje bakterije *E. coli*. Učinki antibiotikov v obliki diskov in ekstraktov čilija na razmnoževanje bakterije *E. coli* so bili med seboj primerjani tako, da so bile izmerjene cone inhibicije okoli posameznih diskov. Z uporabo milimetrskega ravnila je bila izmerjena cona inhibicije tako, da je bil izmerjen najmanjši polmer območja okoli diska, kjer se bakterija *E. coli* ni razmnožila.

2.5.7 Cone inhibicije v petrijevkah z antibiotičnimi diski

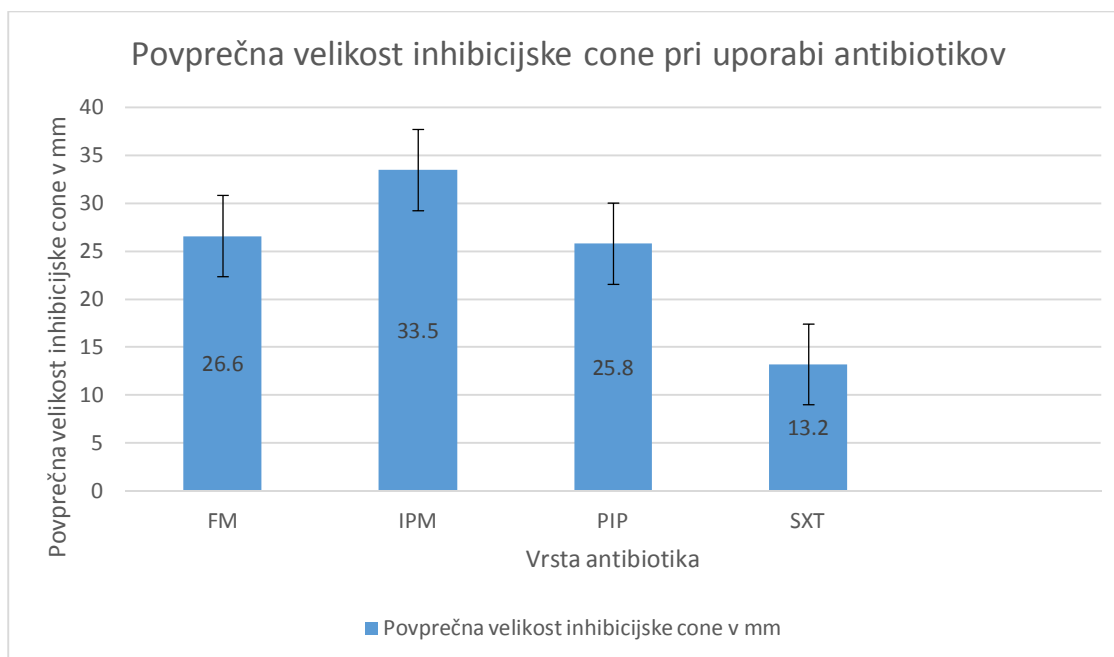
Opomba: simbol “/” označuje ponesrečeno izvedbo meritve zaradi premika antibiotika v obliki diska.

Tabela 2: Prikazane so cone inhibicije v mm okoli antibiotikov. Za vsak antibiotik je bilo opravljenih 5 ponovitev. Zadnji stolpec prikazuje povprečno velikost inhibicijske cone pri vsakem antibiotiku.

	Ponovit ev št. 1 (mm) (±1mm)	Ponovite v št. 2 (mm) (±1mm)	Ponovite v št. 3 (mm) (±1mm)	Ponovite v št. 4 (mm) (±1mm)	Ponovite v št. 5 (mm) (±1mm)	Povprečn a vrednost (mm) (±1mm)
Ampicillin (AM)	13,0	26,0	12,0	27,0	18,0	19,2
Amoxicillin-clavulanate (AMC)	29,0	29,0	26,0	25,0	32,0	28,2
Ciprofloxacin (CIP)	33,0	28,0	/	35,0	/	32,0
Cefotaxime (CTX)	32,0	31,0	36,0	32,0	9,0	28,0
Cefuroxime (CXM)	23,0	25,0	20,0	25,0	24,0	23,4
ǰFramycetin (FM)	28,0	27,0	24,0	26,0	28,0	26,6
Imipenem (IPM)	36,0	/	30,0	40,0	28,0	33,5
Piperacillin (PIP)	25,0	29,0	22,0	26,0	27,0	25,8
Sulphamethoxazole/trimetho prim (SXT)	23,0	5,0	15,0	15,0	8,0	13,2



Graf 1: Povprečna velikost inhibicijske cone pri uporabi antibiotikov AM, AMC, CIP, CTX in CXM s standardno napako (vir podatkov: Tabela 2)

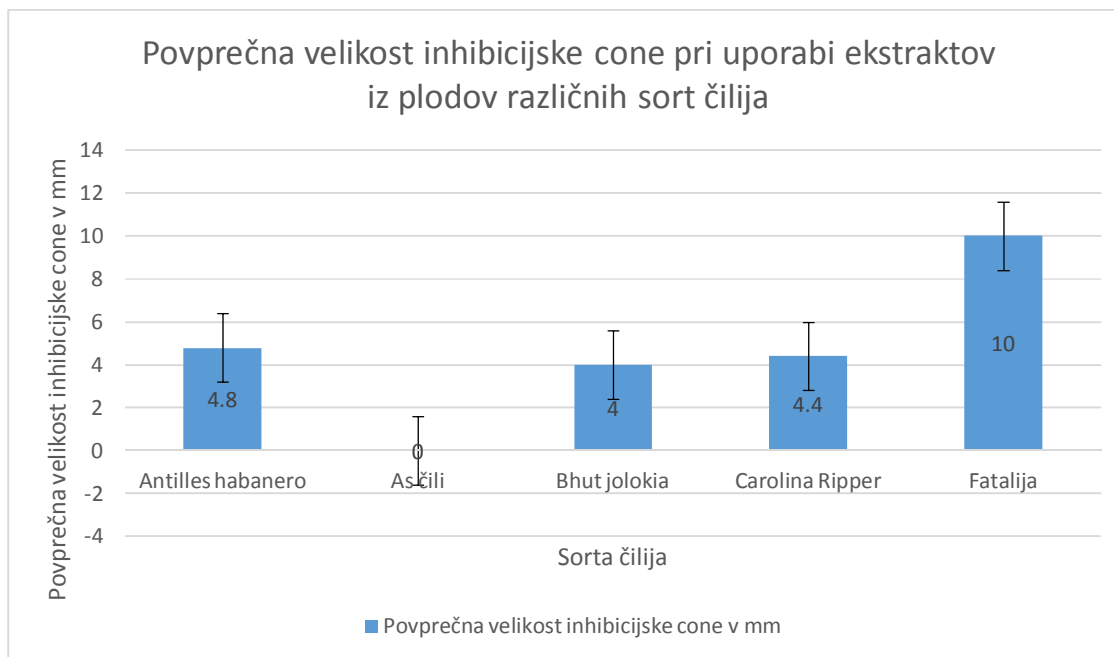


Graf 2: Povprečna velikost inhibicijske cone pri uporabi antibiotikov FM, IPM, PIP in SXT s standardno napako (vir podatkov: Tabela 2)

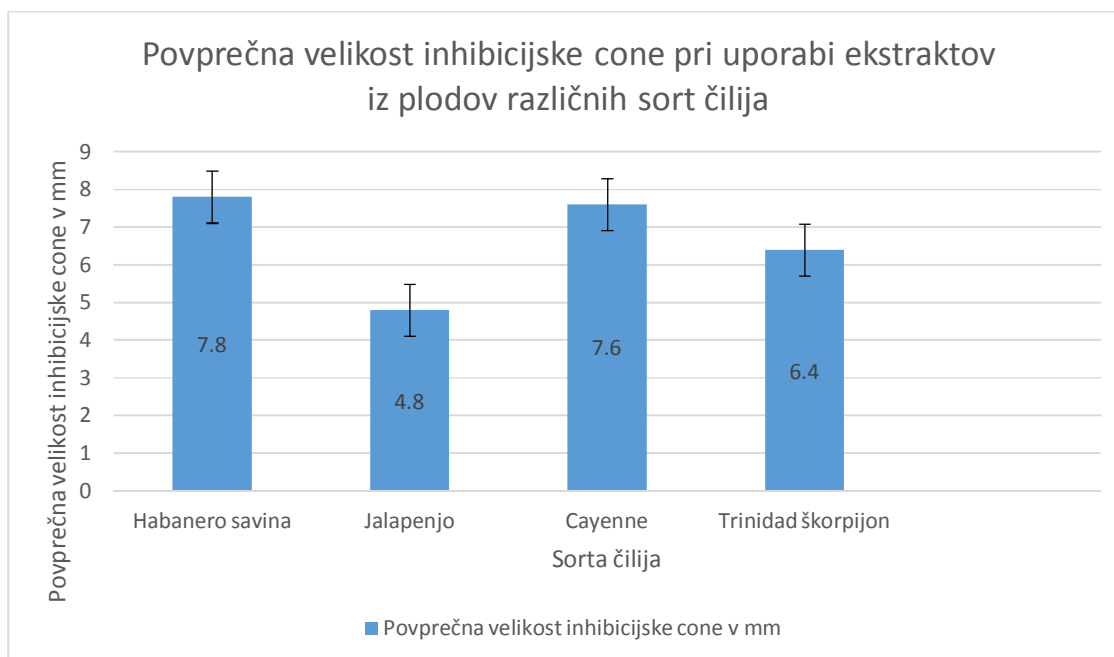
2.5.8 Cona inhibicije v petrijevkah s sterilnimi diski, namočenimi v ekstraktih čilija

Tabela 3: Prikazuje cone inhibicije v mm okoli diskov, namočenih v ekstrakte čilija in kontrolne skupine. Za vsak ekstrakt je bilo opravljenih 5 ponovitev. Zadnji stolpec prikazuje povprečno velikost inhibicijske cone pri vsakem ekstraktu in pri kontrolni skupini.

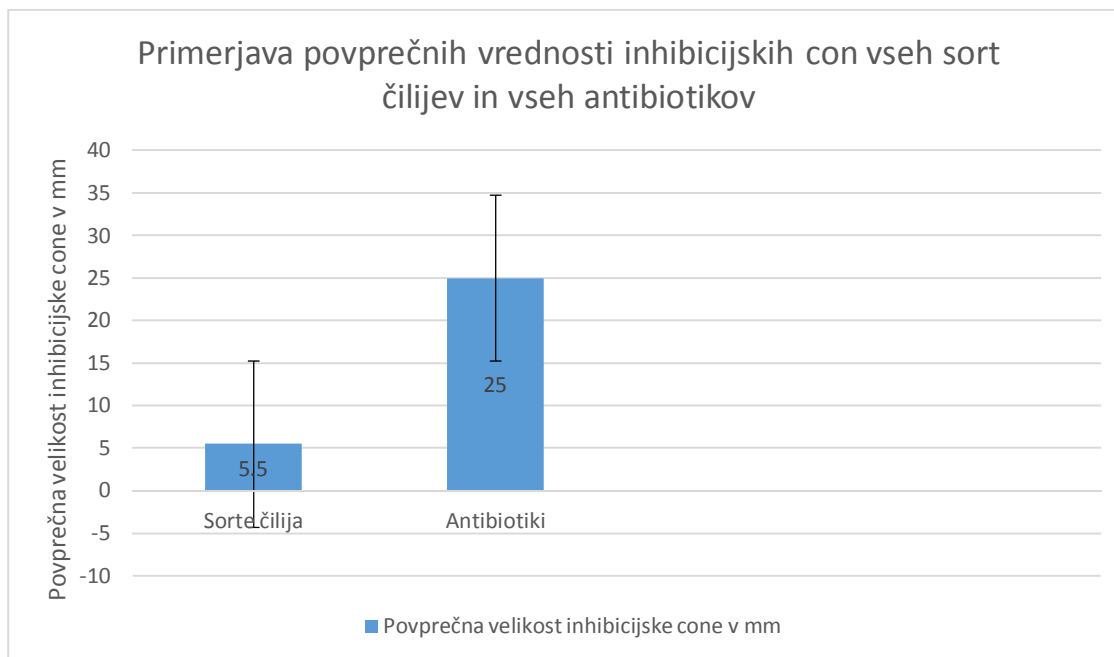
	Ponovitev št. 1 (mm) (±1mm)	Ponovitev št. 2 (mm) (±1mm)	Ponovitev št. 3 (mm) (±1mm)	Ponovitev št. 4 (mm) (±1mm)	Ponovitev št. 5 (mm) (±1mm)	Povprečna velikost (mm) (±1mm)
Antilles habanero	0,0	12,0	0,0	12,0	0,0	4,8
As čili	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
Bhut jolokia	0,0	6,0	0,0	6,0	8,0	4,0
Carolina Ripper	9,0	7,0	0,0	0,0	6,0	4,4
Fatalija	15,0	12,0	7,0	6,0	10,0	10,0
Habanero savina	7,0	16,0	7,0	9,0	0,0	7,8
Jalapeno	0,0	0,0	12,0	6,0	6,0	4,8
Cayenne	10,0	10,0	10,0	0,0	8,0	7,6
Trinidad škorpion	7,0	0,0	14,0	11,0	0,0	6,4
Kontrolna skupina	10,0	0,0	0,0	0,0	14,0	4,8



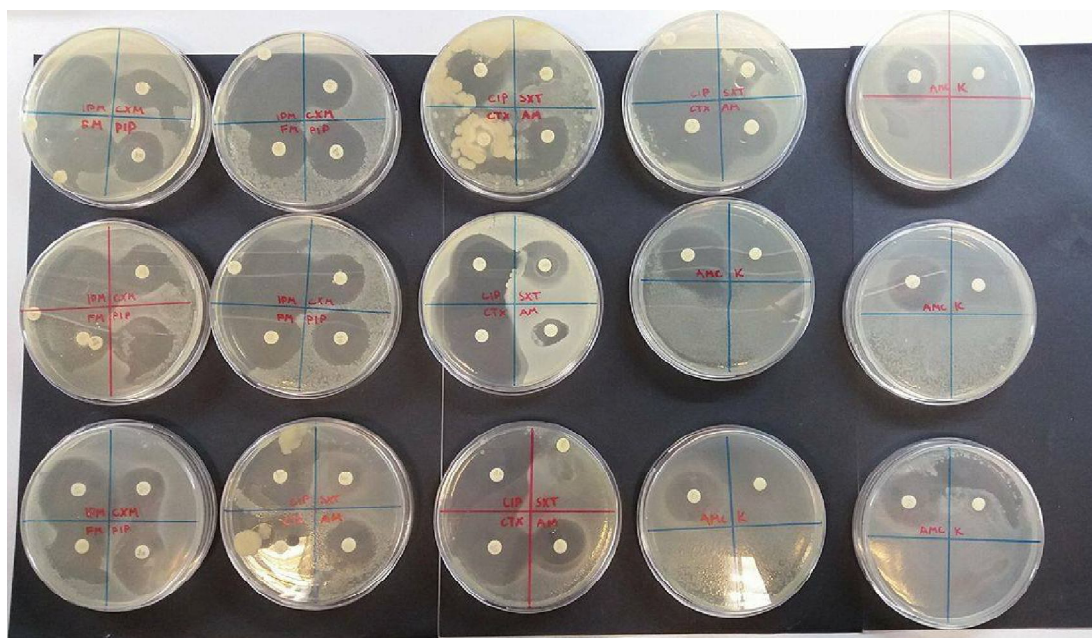
Graf 3: Povprečna velikost inhibicijske cone pri uporabi ekstraktov iz plodov Antilles Habanero, As čili, Bhut jolokia, Carolina Ripper in Fatalija s standardno napako (vir podatkov: Tabela 3)



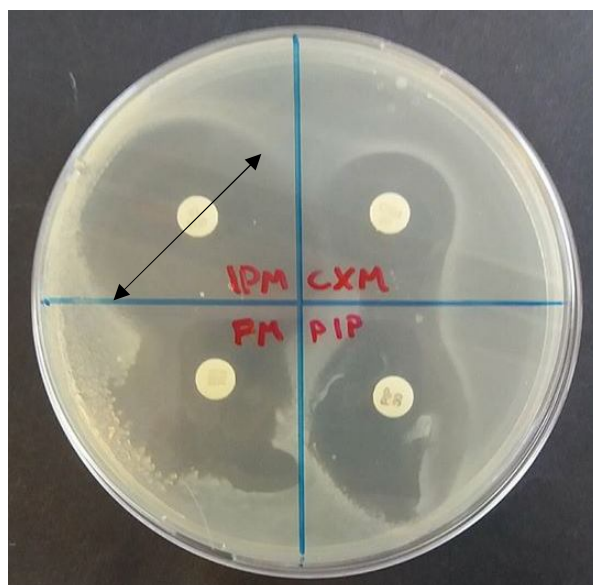
Graf 4: Povprečna velikost inhibicijske cone pri uporabi ekstraktov iz plodov Habanero savina, Jalapenjo, Cayenne in Trinidad škorpiljon s standardno napako (vir podatkov: Tabela 3)



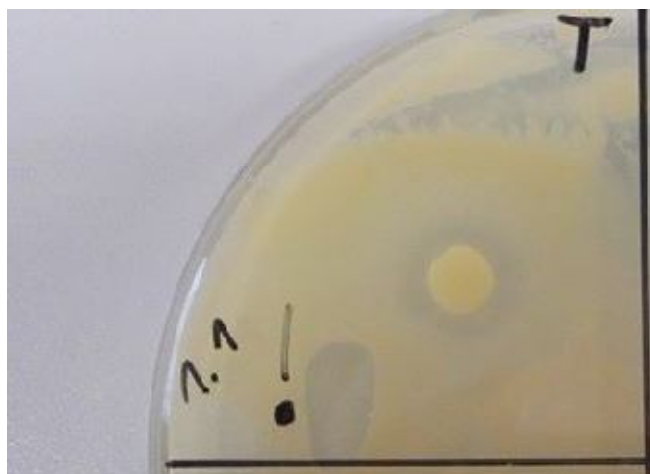
Graf 5: Prikazuje povprečno velikost inhibicijske cone pri ekstraktih vseh vrst čilija in povprečno velikost inhibicijske cone pri uporabi vseh antibiotikov s standardno napako (vir podatkov: Tabela 2 in Tabela 3)



Slika 4: Inhibicijske cone okoli antibiotikov (vir: avtorja raziskovalne naloge, 2017)



Slika 5: Inhibicijska cona okoli antibiotika Imipenema (IPM) (vir: avtorja raziskovalne naloge, 2017)



Slika 6: Inhibicijska cona okoli ekstrakta iz čilija Trinidad škorpjon (vir: avtorja raziskovalne naloge, 2017)

2.6 Analiza podatkov

2.6.1 Hipoteza 1

Postavljena hipoteza je bila, da bo ekstrakt plodov rastline iz rodu *Capsicum* inhibiral rast bakterije *E. coli*. Rezultati pokažejo, da čili ima antibiotične lastnosti in hipotezo delno podprejo. Vpliv na razmnoževanje bakterije *E. coli* se je razlikoval od sorte do sorte. Rezultati hipoteze 1 ne podpirajo v celoti; kot kaže tabela 2 je osem sort čilijev imelo antibiotični vpliv na rast *E. coli*, le v enem primeru (As čili) ni bilo inhibicijske cone in torej ni bilo inhibicije rasti bakterije.

2.6.2 Hipoteza 2

Postavljena hipoteza, da med količino kapsaicina glede na Scovillovo lestvico in inhibicijo rasti bakterije obstaja pozitivna korelacija, ni bila podprta. Rezultati kažejo, da količina kapsaicinov v sorti in vpliv sorte na razmnoževanje bakterije *E. coli* nista povezani in hipoteze ne podpirajo. Če bi bila med količino kapsaicinov v sorti in vplivom sorte na razmnoževanje bakterije *E. coli* pozitivna korelacija, potem bi morala povprečna velikost inhibicijske cone biti največja pri ekstraktu iz čilija Carolina Ripper (vrsta: *Capsicum chinense*). Če bi bila korelacija negativna, potem bi morala biti povprečna velikost inhibicijske cone največja pri ekstraktu iz čilija Jalapeno (vrsta: *Capsicum annum*). Ob primerjavi povprečnih velikosti inhibicijskih con in količinami kapsaicinov glede na Scovillovo lestvico (Tabela 3) v posameznih sortah ni korelacije.

2.6.3 Hipoteza 3

Postavljena hipoteza, da bo cona inhibicije večja pri uporabi antibiotikov kot pri uporabi ekstraktov plodov čilija, je bila podprta. Iz primerjave povprečnih vrednosti inhibicijskih con ekstraktov čilija in antibiotikov (Tabela 1 in Tabela 2) je razvidno, da so antibiotiki bolj učinkoviti pri zaviranju razmnoževanja bakterije *E. coli*. Rezultati podpirajo to hipotezo. Največja povprečna inhibicijska cona pri antibiotiku je za 23,5mm oziroma 70,1% večja od največje povprečne inhibicijske cone pri ekstraktu čilija.

3 Zaključek

Rezultati raziskovalne naloge, glede na antibiotično učinkovitost čilijev, hipotezo delno podpirajo. Le ekstrakt iz čilija As čili ni pokazal nobenih antibiotičnih lastnosti. Kljub temu, da ekstrakti zavirajo razmnoževanje bakterije *E. coli*, so manj učinkoviti kot antibiotiki. Pri uporabi antibiotikov je bila največja izmerjena cona inhibicije med vsemi pri antibiotiku Imipenemu (40,0mm), največja povprečna inhibicijska cona je bila pa pri antibiotiku Imipenemu (33,5mm). Pri uporabi ekstraktov plodov različnih sort čilija je bila največja cona inhibicije pri ekstraktu iz sorte Fatalija (15,0mm), največja povprečna inhibicijska cona pa pri ekstraktu iz sorte Fatalija (10mm).

Po drugi strani pa rezultati ne podprejo hipoteze, da med količino kapsaicina glede na Scovillovo lestvico in inhibicijo rasti bakterije obstaja korelacija.

Da bi dosegli večjo zanesljivost podatkov bi morali izmeriti točno vsebnost kapsaicinov z uporabo tekočinske kromatografije visoke ločljivosti. Vsebnost kapsaicinov bi bila lahko izmerjena tudi s spektrofotometrom, ki omogoča meritve na valovni dolžini 280nm. S temi podatki bi bilo lažje podpreti ali ne podpreti soodvisnost med količino kapsaicinov v sorti in vplivom sorte na razmnoževanje bakterije *E. coli*. Ker dostop do takega spektrofotometra ni bil mogoč, je bila količina kapsaicinov določena glede na Scovillovo lestvico. Ta način pridobitve količine vsebnosti kapsaicinov ni zanesljiv, ker različni viri navajajo nekoliko različno količino kapsaicinov. To vpliva tudi na zanesljivost pridobljenih podatkov.

Eksperiment je potekal pod nadzorovanimi pogoji v laboratoriju na Gimnaziji Kranj.

4 Viri in literatura Literatura

- Capsaicin - useful properties , indications for use.* (2. oktober 2016). Pridobljeno iz WildHealth: <http://wildhealthh.com/en/pages/1348551>
- (19. marec 2012). Pridobljeno iz Google slike: http://www.mclatra.rs/images/stories/galerija/labplastika/Micro%20tubes_resize.jpg
- Capsaicin.* (27. oktober 2007). Pridobljeno 2017 iz Wikipedia: <https://en.wikipedia.org/wiki/Capsaicin#/media/File:Kapsaicyna.svg>
- Chen, K.-S., Chen, P.-N., Hsieh, Y.-S., Lin, C.-Y., Lee, Y.-H., & Chu, S.-C. (17. januar 2015). *Capsaicin protects endothelial cells and macrophage against oxidized low-density lipoprotein-induced injury by direct antioxidant action.* Pridobljeno iz ScienceDirect: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0009279715000137>
- Chili pepper.* (21. februar 2017). Pridobljeno iz Wikipedia: https://en.wikipedia.org/wiki/Chili_pepper
- Cichewicz, R., & Thorpe, P. (jun 1996). *The antimicrobial properties of chile peppers (Capsicum species) and their uses in Mayan medicine.* Pridobljeno iz NCBI: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8735449>
- Čili.* (11. januar 2017). Pridobljeno 2017 iz Wikipedija: <https://sl.wikipedia.org/wiki/%C4%8Cili>
- Erjavec, M. S., & Bertok, D. Ž. (2016). neznano. *Življenje in tehnika*, 52-53.
- Escherichia coli.* (16. januar 2016). Pridobljeno iz Wikipedija: https://sl.wikipedia.org/wiki/Escherichia_coli
- Faks.* (neznano. neznano neznano). Pridobljeno iz <http://www.faskkuwait.com/divisions/clinical-clinical/64-antibiotic-sensitivity-discs->
- Marini, E., Magi, G., Mingoia, M., Pugnaroni, A., & Facinelli, B. (13. november 2015). *Antimicrobial and Anti-Virulence Activity of Capsaicin Against Erythromycin-Resistant, Cell-Invasive Group A Streptococci.* Pridobljeno iz NCBI: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4643145/>
- McCarty, M. F., DiNicolantonio, J. J., & O'Keefe, J. H. (17. junij 2015). *Capsaicin may have important potential for promoting vascular and metabolic health.* Pridobljeno iz Ncbi: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4477151/#>

Scoville scale. (23. februar 2017). Pridobljeno iz Wikipedia:
https://en.wikipedia.org/wiki/Scoville_scale