

UNIVERZITA PALACKÉHO V OLMOUCI

Přirodovědecká fakulta

BAKALÁŘSKÁ PRÁCE

Olomouc 2012

Jakub Přichystal

UNIVERZITA PALACKÉHO V OLMOUCI

Přirodovědecká fakulta

Katedra analytické chemie

ANALÝZA MARKERŮ PRO CHARAKTERIZACI LEVANDULE A

LEVANDULOVÉHO OLEJE

BAKALÁŘSKÁ PRÁCE

Autor práce:

Jakub Přichystal

Studijní obor:

Chemie – Fyzika se zaměřením na učitelství

Vedoucí bakalářské práce:

Doc. RNDr. Petr Barták, Ph.D

Olomouc 2012

Prohlašuji, že jsem tuto práci vypracoval samostatně pod vedením pana Doc. RNDr. Petra Bartáka, PhD. a veškeré literární prameny a informace, které jsem v práci využil, jsou uvedeny v seznamu použité literatury.

V Olomouci dne

.....
Vlastnoruční podpis

Děkuji Doc. RNDr. Petru Bartákovi, PhD. za odborné rady a připomínky při tvorbě bakalářské práce, za vysvětlení nezbytných aspektů experimentální části a čas, který mi ochotně věnoval.

Abstrakt

Levandule (*Lavandula angustifolia*) je hojně používanou rostlinou ať už v parfumerii či lidové medicíně a to již od nejstarších civilizací. Na základě literární rešerše byly vybrány markery pro charakterizaci levandule a jejího oleje. Za markery byla vybrána skupina šesti látek: α -pinen, d-limonen, eukalyptol, linalool, kafr a linalyl acetát. Všechny markery byly ve třech zkoumaných vzorcích rostliny obsaženy. K určení jejich přítomnosti v rostlině bylo využito plynové chromatografie s hmotnostní spektrometrií za použití dvou extrakčních metod – mikroextrakce tuhou fází z headspace prostoru a extrakce do methanolu. Z vybrané skupiny se tři látky (d-limonen, eukalyptol, linalyl acetát) projeví jako vhodné pro charakterizaci oleje, jelikož při obou metodách byly snadno detekovatelné a došlo k jejich dostatečnému odseparování. U druhé trojice došlo v methanolicém extraktu k nedokonalému odseparování a jejich obsah byl stanovován pomocí jejich charakteristických iontů z hmotnostního spektra. Pro stanovení přesnějších parametrů u jednotlivých markerů je nezbytný další výzkum.

Součástí práce je literární rešerše, která se zabývá účinky levandule na organismus člověka, živočichy a jejich tkáně i mikroorganismy. Obsahuje výčet skupin látek obsažených v rostlině včetně popisu majoritních složek jejího esenciálního oleje. V rešerši je zahrnut i botanický popis levandule včetně zařazení v systému rostlin, historie použití levandule v tradiční medicíně a parfumerii. Samostatná kapitola je pak věnována destilaci esenciálního oleje.

Abstract

In this bachelor thesis was selected a group of six compounds as markers for characterization of lavender (*Lavandula angustifolia*) and lavender essential oil. The choice was based on research in scientific publications and reports in journals available in online databases. The selected compounds were α -pinene, d-limonene, 1,8-cineole, linalool, camphor and linalyl acetate. All markers were detected by gas chromatography and mass spectroscopy using two extraction methods – solid-phase microextraction from headspace area and methanol extraction. Three compounds (d-limonene, 1,8-cineole, linalyl acetate) were completely separated and easy detectable using both extraction methods. Other three ones were not separated from methanol extract. Detection of these compounds was carried out using their specific ions from mass-spectrum. A further research for each of markers is demanded.

This thesis includes the literature retrieval focused on the biological actions of lavender and lavender essential oil on human body, animals, animal tissues and microorganisms. A part of the research was dedicated to describe the main groups of compounds in lavender and to more detailed description of the main constituents of lavender essential oil. It covers even the botanic characterization and classification of lavender, the history of usage in the traditional medicine and the perfumery. An individual chapter deals with the process of distillation of the essential oil.

OBSAH

OBSAH.....	7
1. ÚVOD.....	10
2. TEORETICKÁ ČÁST.....	11
2.1 LEVANDULE Z POHLEDU BIOLOGIE.....	11
2.1.1 Zařazení levandule v systému rostlin.....	11
2.1.2 Taxonomie rodu Lavandula.....	11
2.1.3 Obecný popis rodu Lavandula.....	12
2.1.4 Botanický popis druhu Lavandula angustifolia.....	13
2.2 LEVANDULE V HISTORII.....	14
2.2.1 Použití v tradiční medicíně.....	14
2.2.2 Pověry a esoterické použití.....	16
2.2.3 Shrnutí.....	17
2.3 POUŽITÍ LEVANDULE V PARFUMERII.....	17
2.3.1 Historické použití.....	17
2.3.1.1 Destilační pokoje.....	18
2.3.1.2 Anglická levandulová voda a parfémy.....	18
2.3.1.3 Viktoriánský rozmach levandule v parfumerii.....	18
2.3.1.4 Kolínská voda.....	18
2.3.2 Současnost.....	19
2.4 LEVANDULOVÝ ESENCIÁLNÍ OLEJ.....	19
2.4.1 Produkce oleje.....	20
2.4.2 Destilace levandulového oleje.....	20
2.4.2.1 Sběr rostlin.....	21
2.4.2.2 Destilace.....	22
2.4.3 Teorie destilace vodní parou.....	24
2.4.3.1 Vlastnosti výparů.....	24
2.4.3.2 Přenos tepla.....	25
2.4.3.3 Dodávání páry k bylině.....	25
2.4.4 Destilační vybavení.....	26
2.4.4.1 Destilační zařízení pro komerční rozsah produkce.....	26
2.4.4.2 Destilační zařízení pro nízkoobjemovou produkci a potřeby testování... 28	
2.4.4.3 Chladič (kondenzátor).....	30

2.4.4.4 Sběrné zařízení a separátor	30
2.4.5. Shrnutí destilace esenciálního oleje.....	31
2.5 FYTOCHEMIE LEVANDULE	32
2.5.1 Terpenické látky	32
2.5.1.1 Esenciální olej.....	32
2.5.1.2 Triterpeny	33
2.5.2 Flavonoidy.....	34
2.5.3 Hydroxyskořicové kyseliny a kumariny.....	34
2.6 POPIS SLOUČENIN S NEJVĚTŠÍM ZASTOUPENÍM V LEVANDULOVÉM OLEJI	35
2.6.1. α -pinen.....	35
2.6.2 β -pinen.....	35
2.6.3 Kamfen	36
2.6.4 Okten-3-ol.....	36
2.6.5 Myrcen.....	36
2.6.6 3-oktanol.....	37
2.6.7 P-cymen.....	37
2.6.8 D-Limonen	38
2.6.9 1,8-cineol (eukalyptol)	39
2.6.10 (Z)/(E)- β -ocimen	39
2.6.11 Cis-linalool oxid	40
2.6.12 Linalool	40
2.6.13 Kafr.....	41
2.6.14 Borneol	41
2.6.15 Terpinen-4-ol.....	42
2.6.16 α -terpineol	43
2.6.17 Linalyl acetát	43
2.6.18 Lavandulyl acetát	43
2.6.19 Neryl acetát.....	44
2.6.20 Geranyl acetát.....	44
2.6.21 β -karyofylen	44
2.6.22 α -bisabolol (levomenol)	45
2.7 BIOLOGICKÁ AKTIVITA LEVANDULE A LEVANDULOVÉHO ESENCIÁLNÍHO OLEJE	45
2.7.1 Neurologické účinky	45
2.7.2 Účinky při aromaterapii.....	46

2.7.2.1 Psychické působení.....	46
2.7.2.2 Působení na bolest	48
2.7.3 Dermatologické účinky	49
2.7.4 Účinky na jiné tělesné systémy	50
2.7.5 Antimikrobiální účinky	52
2.7.6 Pesticidní účinky	56
2.7.7 Toxické účinky	57
2.7.8 Souhrn	58
2.8 METODY IZOLACE OLEJE ČI JEHO SLOŽEK PRO POTŘEBY ANALYTICKÉHO TESTOVÁNÍ	59
2.8.1 Hydrodestilace.....	59
2.8.2 Mikroextrakce.....	60
2.8.3 Alkoholový extrakt.....	61
2.8.4 Fluidní extrakce oleje nadkritickým oxidem uhličitým.....	61
2.8.5 Izolace oleje s využitím mikrovlnné energie.....	62
3. EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST	63
3.1 POMŮCKY A PŘÍSTROJE	63
3.2 POSTUP MĚŘENÍ.....	63
3.3 VÝSLEDKY	64
3.3.1 Analýza levandule	64
3.3.1.1 Vzorek č. 1.....	65
3.3.1.2 Vzorek č. 2.....	69
3.3.1.3 Vzorek č. 3.....	72
3.3.2 Vyhodnocení vybraných markerů	75
3.4 DISKUZE.....	77
4. ZÁVĚR	78
5. LITERATURA	79

1. ÚVOD

Levandule (*Lavandula angustifolia*) je rostlinou známou již od starověku. Spolu s dalšími zástupci rodu *Lavandula* je používána v tradiční medicíně do dnešních dob a velké obliby nalezla v aromaterapii. Vědecké zkoumání se na její účinky a medicínské využití. Zásadní překážkou v porovnatelnosti a reprodukovatelnosti výsledků mnoha vědeckých prací je nedostatečná charakteristika rostlinného materiálu a zejména esenciálního oleje. Celá řada autorů se dovolává nalezení standardní metody pro izolaci oleje a jeho popis. Tato potřeba se stala inspirací pro vytvoření této bakalářské práce.

Cílem bakalářské práce bude nalézt markery pro charakterizaci rostliny *Lavandula angustifolia*. Za markery bude vybrána skupina látek, jejichž výběr se bude řídit výsledky literární rešerše z dostupné časopisecké literatury a dalších vědecky relevantních zdrojů. Vhodnost vybraných markerů bude ověřena jejich přítomností v rostlině analýzou obsahových látek levandule pomocí GC-MS využitím alespoň dvou extrakčních metod. Experimentální výsledky budou diskutovány a na jejich základě bude vyhodnocena použitelnost vybraných markerů k charakterizaci levandule.

2. TEORETICKÁ ČÁST

2.1 LEVANDULE Z POHLEDU BIOLOGIE

2.1.1 Zařazení levandule v systému rostlin [1,2,3]:

Regnum: Vegetabilia (Rostliny)

Subregnum: Cormobionta (Vyšší rostliny)

Divisio: Magnoliophyta (Krytosemenné)

Classis: Magnoliopsida (Dvouděložné)

Ordo: Lamiales (Hluchavkotvaré)

Familia: Lamiaceae (Hluchavkovité)

Genus: *Lavandula* (Levandule)

Species: *Lavandula angustifolia*

2.1.2 Taxonomie rodu *Lavandula* [4]

V rámci rodu *Lavandula* se rozlišuje 32 různých druhů levandule. Zástupci tohoto rodu se přirozeně vyskytují v oblasti od Kanárských ostrovů, Kapverd a Madeiry přes Středomoří a severní Afriku až po jihovýchodní Asii, Arabský poloostrov a tropickou severovýchodní Afriku. V dnešní době je tento rod rozšířen po celém světě na obou polokoulích, zejména díky jeho využití jako dekoračního prvku v zahradách, ale také převážně kvůli získávání esenciálního oleje.

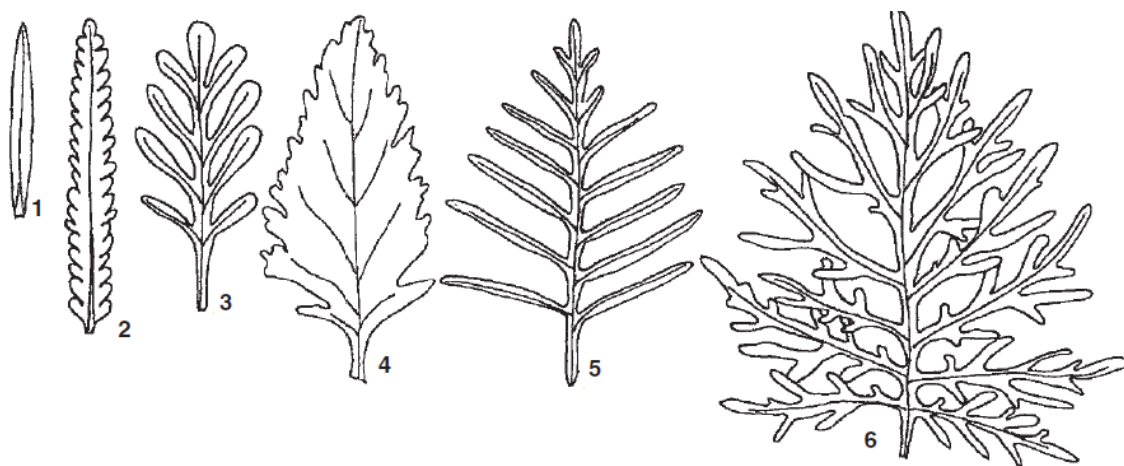
Z důvodu pestrosti rodu *Lavandula* je velmi obtížné vystihnout obecně platné popisné charakteristiky, jelikož jednotlivé druhy se od sebe do značné míry odlišují (tvar listů a jejich množství, tvar a velikost květenství apod.). Přesto se všechny druhy levandule v několika znacích shodují.

Všechny druhy levandule spojuje typické květenství, které vyrůstá na dlouhém stonku, tyčinky zakřivené dolů vycházející z typických trubkovitých květů a trvalé olistění.

Mnoho druhů je vysoce aromatických z důvodu produkce esenciálního oleje po téměř celé délce rostliny. Běžně se jedná o trvalé dřevnaté keříky dorůstající do výšky maximálně 1 m, ale může jít i o dužnaté jednoleté rostliny. Listy mají buď úplně či částečně členité a u některých arabských druhů dokonce zcela chybí. Květenství je složené, vytvořené z vrcholíku vijanů nebo přeslenů. Vijany jsou uspořádány naproti sobě nebo do spirály. Vrcholíky jsou buď jednokvěté bez přeslenů, nebo i vícekvěté s přesleny o 3 až 9 květech. Přesleny se mezi jednotlivými druhy mohou lišit velikostí, tvarem a uspořádáním. Listeny

jsou většinou malé a rostou v místě větvení každého květu a přeslenu v květenství. U některých druhů (*L. stoechas*, *L. dentata*) jsou listy na vrcholcích zvětšené a zbarvené. Kalich i koruna jsou dvojpyské. Kalichy bývají různě uspořádané, tvarované, dělené, zbarvené a nesou mnoho znaků, na jejichž základě se rozlišují jednotlivé druhy. Koruna je dlouhá trubcovitá s pěti laloky, jejichž velikost, barva, tvar a značení se u různých druhů odlišuje.

Obr. 1: Tvary listů vybraných druhů levanduli. (1 – *L. angustifolia*, 2 – *L. dentata*, 3 – *L. pinnata*, 4 – *L. rotundifolia*, 5 – *L. buchii*, 6 – *L. bipinnata*)



2.1.3 Obecný popis rodu *Lavandula*

- Trvalé dřevité keříky nebo několikaleté byliny
- Často aromatické, různě chloupkovité či lysé
- Listy proměnlivého tvaru, celokrajné nebo členité, řapíkaté nebo přisedlé
- Květenství vyčnívající šišťice obvykle se zřetelnou stopkou, jednoduché nebo větvené, vrcholík, mnohokvěté přeslenu (3 – 9) s malými listy nebo jednokvěté
- Kalich pravidelný nebo dvojpyský, horní se třemi laloky a dolní se dvěma, zadní lalok bývá větší nebo přeměněný v přívěsek, osmi-, třinácti- či patnácticípý.
- Koruna je trubcovitá, větší nebo nejvýše trojnásobně delší než kalich, nevýrazně nebo zřetelně dvojpyská, horní pysk dvojlaločný, dolní trojlaločný, s proměnlivou velikostí laloků
- Tyčinky jsou čtyři, obvykle dvojmocné (dvě tyčinky delší než druhé dvě), přední pár delší, vybaveny nitkou
- Blizna je jedna, dvojlaločná nebo kulovitá

- Nektarium se nachází naproti semeníku
- Tvrdky nabývají různých tvarů, barev a velikostí, s malou rýhou, většinou slizovité

2.1.4 Botanický popis druhu *Lavandula angustifolia* [4]

Lavandula angustifolia (Levandule lékařská) se řadí do čeledi *Lamiaceae* (*hluchavkovité*). Jedná se o stálezelenou vytrvalou keříkovitou bylinu dorůstající do výšky 30 – 60 cm [5]. Lodyhy ve spodní části rostliny dřevnatí, ve vyšší části se velmi bohatě, trsnatě větví. Listy jsou úzké, celokrajné, přisedlé, vstřícné, dosahující délky 2 – 5 cm. V mládí jsou listy šedé a plstnaté, postupně zelenají. Květy se objevují v letním období od června do září, jsou drobné, uspořádány do chudých lichopřeslenů. Květenství vyrůstá na stonku dlouhém obvykle 10 – 25 cm. Květy jsou ve spodní straně přeslenu od sebe více vzdáleny a postupně jsou k sobě více natěsnány do koncového klasu, který dorůstá délky 4 – 5 (někdy až 8) cm. Kalich je složen s třinácti cípů s malým kruhovým přívěskem. Koruna květů je výrazně oboustranně symetrická, dosahuje takřka dvojnásobku délky kalicha. Její zbarvení se pohybuje v odstínech modré až nafialovělé, bílé, zřídka narůžovělé barvě. Je dvojpyská – horní pysk je dvojlaločný, dolní trojlaločný. Tyčinky jsou krátké a ukryté v korunní trubce. Plodem je tvrdka. Kvete v období od poloviny června až do července.

Rostlina pochází z horských oblastí (obvykle nad 1500 m) jižní Evropy, ale vyskytuje se běžně v oblasti od Kanárských ostrovů po celé oblasti Středomoří. Její horský původ zaručuje i jejím kultivarům odolnost. Hojně je však vysazována celosvětově v zahradách, kde jí vyhovuje teplé, slunné stanoviště, více vápenatá a spíše písčité půda. Vzdálenosti mezi jednotlivými rostlinami by měly být 45 – 90 cm. S výhodou se vysazují do skupinek po třech kusech.

Obr. 2: *Lavandula angustifolia*.



2.2 LEVANDULE V HISTORII

2.2.1 Použití v tradiční medicíně [4, 6]

Rodové jméno „*Lavandula*“ pochází z latinského slova „*lavare*“, které znamená „mýt se“. Původ jména přímo poukazuje na základní použití levandule jako přísady do vody, jež se používala ke koupelím. Takto levanduli využívali zejména staří Římané.

Egyptané levandulovou vůni používali jako parfém. Levandule měla svou roli i v procesu mumifikace, kdy Egyptané namáčeli látku do asfaltu a levandulového oleje. Do takto ošetřené látky zabalili mumii, kterou následně nechali vyschnout na slunci.

Řekové se učili od Egyptanů zejména v oblasti využití aromatických vlastností levandule a jejího využití v podobě parfému. Ve svých spisech se o levanduli zmiňuje i filosof Theophrastus (371 – 287 př. n. l.).

Římané používali levanduli k léčení ran, zejména častý byl tento jev u léčení zranění vojáků. O účincích levandule se dovídáme u Dioscorida (40 – 90 n. l.), vojenského řeckého lékaře ve službách císaře Nera v římských legiích. Ve svém pětisvazkovém díle *De Materia Medica* uvádí, že levandule je účinná na uklidnění, tišení bolesti, proti plynatosti a na omývání ran. Používá levanduli ve víně i octu [7].

Plinius Starší (23 – 79 n. l.) ve své encyklopedii *Historia Naturalis* přisuzuje levanduli účinky proti bolestem hlavy, ulevení od menstruačních obtíží, žaludečním nevolnostem, bolestem ledvin, vodnatosti a na hmyzí bodnutí. Je velmi náročné v jeho díle nalézt přesné informace, jelikož se dopustil mnoha chyb při přepisu četných knih jiných autorů a na různých místech označuje jednu rostlinu více názvy.

Galén (129 – 199 n. l.), římský lékař, zahrnul levanduli na seznam protijedů, zejména proti hadímu uštknutí, která byla podávána ve víně, kdy pomáhala i proti bolestem břicha a vodnatelnosti.

Perský lékař Avicenna (Ibn Sina, 980 – 1037) píše o levanduli ve svém díle *Canon Medicinæ*. Uvádí několik receptů s použitím esenciálního oleje destilovaného z rostliny.

Ve středověku se o rozvoj používání levandule starali zejména řádoví bratři a sestry za zdmi kláštera. Největší vliv měly v této oblasti Benediktýnské řády. Drtivá většina děl vychází čistě z Avicennovy tvorby. Nejvíce se levanduli věnuje abatyše Hildegarda von Bingen ve svém díle *Physica*. Zde charakterizuje levanduli jako horkou a suchou. Podávána ve víně či medu a vodě zmírňuje bolest v játrech a na plících. Jinde v textu se uvádí, že její aroma zabíjí vši a zahání všechny zlé entity [8].

V 16. století, současně s rozvojem destilace, se využití levandule rozšiřuje více na parfumerii. Získává velkou oblibu a začíná se pěstovat v okolí Vídně i v Británii, kde si ji oblíbí zejména královna Alžběta I. Levandule se stává nedílnou součástí životního stylu vyžadujícího větší hygienu. Postupně levandule proniká i do farmaceutického využití.

John Gerard (1545 – 1612), anglický bylinář známý pro svoji rozsáhlou a bohatě ilustrovanou knihu o bylinách, hovoří o levanduli jako o horké a suché na třetím stupni. Doporučuje její použití při migrénách, kdy radí natřít čelo olejem. Dále hovoří o vhodnosti jejího použití při srdečních obtížích, mdlobách, závratích a obtížném dýchání.

Renesanční italský lékař Pietro Andrea Mattioli vytvořil *Herbář* neboli *Bylinář*. Původně se jednalo o komentovaný spis *De Materia Medica*, který nabyl takového rozsahu,

že se stal samostatným dílem. Zde Mattioli popisuje levanduli ze stránky botanické tak i léčitelské. Levanduli považuje za vhodnou proti závratím, padoucnici, křečím, nadýmání, žloutence a na zlepšení funkce jater a sleziny, připisuje jí i diuretický účinek. Příkládá i několik receptů na přípravu vína, octa a dalších přípravků z levandule s jejich použitím. Považuje levanduli za velmi vhodnou proti mrtvici a pálení žáhy. Zevně pomáhá proti migrénám, bolestem zubů. Čichání k levanduli by podle něj mělo zlepšovat zrak [9].

Nicholas Culpeper (1616 – 1654) anglický botanik a astronom prohlásil, že levandule je rostlinou astrologické planety Merkur a je užitečná na zahnání chmur a bolestí hlavy. Povzbuzuje mozek, ulevuje od závratí a mdlob. Posiluje žaludek a uvolňuje břišní křeče. U žen podporuje menstruační cykly a napomáhá po porodu nebo i k vypuzení mrtvého plodu z dělohy. Levandulové květy ve víně působí blahodárně na bolest zubů, plynatost a koliky při potírání zasaženého místa. Varuje, aby se mladí lidé zdrželi užívání levandulového oleje s odůvodněním, že levandulový olej obsahuje příliš horkosti pro jejich mladou a už tak dostatečně horkou krev, stejné varování platilo pro lidi radostné a šťastné.

Ve viktoriánské době se stala levandule jednou z nejoblíbenějších vůní spolu s růží a fialkami. Eau de Cologne (kolínská voda) byla založena na levandulovém oleji. Recept z roku 1964 obsahuje 1,2 kg levandulového oleje spolu s dalšími oleji (hřebíček, bergamot, citron, rozmarýna) v 90% alkoholu na výrobu 100 l kolínské vody.

2.2.2 Pověry a esoterické použití

Tradiční použití a pověry odrážejí v některých svých aspektech dlouhodobou zkušenost člověka s danou rostlinou a u levandule tomu není jinak. S touto oblastí lidského poznání se však pojí problematika věrohodností uváděných informací a většina účinků je spíše výsledkem placebo efektu nebo přesvědčení o účinnosti, než se skutečným biologickým působením látek obsažených v rostlinných extraktech. Přesto pro úplnost bude následovat stručný nástin těchto bájných účinků a sil levandule. Bude tak umožněna konfrontace těchto mystických působení s vědecky ověřenými fakty, jimiž se práce zabývá.

Lavandula angustifolia má „jangovou“ polaritu a přísluší planetě Merkur [10]. Náš český mág Josef Veselý ji přiřazuje na základě planetárních analogií k astrologickému slunci [11].

Její účinky mají být: analgetické, antidepressivní, antikonvulzivní (proti epileptickým záchvatům), antiseptické, proti křečím a nadýmání, diuretické, žlučopudné, snižující tlak, sedativní, působící na slezinu, potopudné, celkově posilující, vypuzující hlísty, zlepšující

proudění krve a podporující menstruaci, všeobecně čistící, zacelující rány a zabraňující tvorbě jizev, posilující srdce a nervy.

A je vhodná pro léčbu: abscesů, akné, vypadávání vlasů, astmatu, hnisavých výtoků, očních zánětů, bronchitidy, nežitů (záněty chlupového váčku) a karbunklů (shluk takových zánětů), koliky, křečí, zánětu močového měchýře, ekzémů, depresí, průjmu, epilepsie, záškrtu, trávicích obtíží, bolestí uší, mdlob, plynatosti, kapavky, nepříjemného dechu, bolesti hlavy, hypertenze, chřipky, nespavosti, hysterie, laryngitidy, migrény, bušení srdce, nauzey, chronické únavy, odstranění vši, lupénky, revmatismu, žlučových kamenů, svrabu, zánětu lymfatických uzlin, úpalu, bolestí v krku, tuberkulózy, břišního tyfu, bércových vředů, zvracení, černého kašle a na rány.

Levandule pomáhá vyrovnávat mysl a emoce [12] a její působení pokrývá široké spektrum emočních stavů přes hyperaktivitu, hysterii, panické hrůzy, strachy, rychlé změny nálad, nedostatek pochopení, agrese, workoholismus, přepracování, paranoií, posedlosti apod.

2.2.3 Shrnutí

Levandulový olej má, jak je tradováno, antibakteriální, antifungicidní, sedativní účinek, působí relaxačně na hladké svalstvo, proti nadýmání a je účinný na popálení a hmyzí bodnutí.

V současnosti se přírodní olej používá v aromaterapii, jako přídavek do kosmetických produktů pro svoji jedinečnou vůni i jako antimikrobiální prostředek.

2.3 POUŽITÍ LEVANDULE V PARFUMERII [4]

V parfumerii se využívají jak levandulový esenciální olej připravený destilací, tak i alkoholový výluh v absolutním alkoholu. Používané druhy jsou *Lavandula angustifolia* a *Lavandula hybrida*. Podle druhu rostliny se rozlišuje mezi levandulovým resp. levandinovým olejem či alkoholovým výluhem.

2.3.1 Historické použití

Již za doby starověkého Říma se stala levandulová vůně jistým puncem čistoty. Římané přidávali levandulové lístky do vody v lázních a také přes ně nechávali proudit páru, kterou vpouštěli do místnosti.

2.3.1.1 Destilační pokoje

V průběhu 16. století byla velmi rozšířená levandulová voda. Destilace probíhala ve speciálních místnostech, které si budovaly zámožné rodiny přímo ve vlastním domě nebo na venkovských sídlech. Sledování průběhu destilace a čichání uvolňované vůně se stávalo běžnou činností pro trávení volného času nebo zábavy pro hosty. Do vody se často přidával i alkohol a destilovaly se i mnohé jiné aromatické byliny. Mnohokrát se z destilátů staly spíše alkoholické nápoje nežli parfémy.

Hojně se vůni využívalo v medicíně. Běžné bylo použití jako osvěžovače vzduchu v domácnostech, kdy se i několikrát týdně prováděla fumigace levandulí či směsí různých aromatických bylin, aby se odehnaly nemoci.

2.3.1.2 Anglická levandulová voda a parfémy

Levandulové vody zažily v Británii obrození zásluhou pánů Atkinsona, Yardleyho a Carona, kteří vytvořili velmi populární pánský parfém, ačkoliv byl původně určen ženám. Atkinsonův parfém „English Lavender“ z roku 1910 byl první toaletní vodou pro muže. O tři roky později ho následoval parfém od Yardleyho „Old English Lavender“, jenž se stal nedílnou součástí pánských obleků. Caronsův parfém spatřil světlo světa v roce 1934 pod označením „Pour un Homme“.

2.3.1.3 Viktoriánský rozmach levandule v parfumerii

Největší popularity dosáhly levandulové parfémy ve Viktoriánské době (pol. 19. století – počátek 20. století). Nejvíce preferovány byly čisté parfémy, jejichž cena však byla, tak jako v předchozí době příliš vysoká a mohla si je dovolit pouze nejbohatší společenská vrstva, se v tomto období stávají dostupné všem díky využití levnějších složek parfémových směsí a parfémy levandulového typu jsou nabízeny za mnohem nižší cenu. Levandule byla součástí pracích prostředků, mýdel i jiných kosmetických produktů. Vůně se spojovala obecně s čistotou, „vypraným prádlem“ a svěžestí.

2.3.1.4 Kolínská voda

Vznikla na konci devatenáctého století a stala se velmi rychle populární. Například Napoleon Bonaparte, Ludvík XV. a Madame Pompadour. Skládá se z olejů více bylin, mezi

nejznámější patří bergamot, citrón, nerol, hřebíček, rozmarýna a levandule. Klasická kolínská je svěží a vyrovnaná směs citrusových olejů se středním tónem z levandule. Jiné receptury zahrnují širší spektrum citrusových olejů i použitých bylinných výtažků.

2.3.2 Současnost

Levandule byla jako první zahrnuta do pánských parfémů a dosud se používá jako hlava mnoha pánských toaletních vod k dosažení svěží vůně celé směsi. Levandule není výhradně záležitostí pánských parfémů, ale je obsažena i v dámských parfémeh.

2.4 LEVANDULOVÝ ESENCIÁLNÍ OLEJ [4]

Mezinárodní organizace pro standardizaci (ISO) definuje esenciální olej z francouzské levandule jako: „Olej získaný destilací vodní parou z čerstvě nasbíraných levandulových květů rostliny *Lavandula angustifolia* vypěstované nebo kultivované na území Francie.“ (ISO 3515). Požadavky na složení jsou shrnuty v tabulce (Tab. 1). Dále musí být splněna hodnota optické otáčivosti v rozmezí od -11° do -7° .

Tab. 1: Požadavky na procentuální složení levandulového esenciálního oleje dle normy ISO 3515:1987

Složka	Min.	Max.
trans- β -ocimen	2	6
cis- β -ocimen	4	10
oktan-3-on	–	2
eukalyptol	–	1,5
limonen	–	0,5
kafr	–	0,5
linalool	25	38
linalyl acetát	25	45
terpinen-4-ol	2	6
lavandulol	0,3	–
lavandulyl acetát	2	–
α -terpineol	–	1

Esenciální olej z čerstvě natrhaných květů a vrcholků levandule se získává pomocí destilace vodní parou. Pravý (přírodní) levandulový olej je takřka bezbarvý a má sladkou, květinovou, bylinnou a osvěžující vůni s příjemným balzámovým nádechem. Nejvyšší tóny jsou svěže-ovocné a velmi proměnlivé. Olej má celkově málo vytrvalou vůni.

2.4.1 Produkce oleje

Pro účely produkce oleje se *Lavandula angustifolia*, jakožto hlavní producent esenciálního oleje, pěstuje ze semen. Výsev probíhá na jaře nebo na podzim (s ohledem na podmínky zimního období v dané oblasti). Běžné je pěstování ve školkách. Další možností je sázení řízků. Zdravá mateřská rostlina se seřízne u země. Seřezané větvičky mohou být skladovány i několik měsíců. Na jaře jsou připraveny 10 – 15 cm dlouhé řízky s jednou či dvěma větvičkami. Taktéž se pěstují ve školkách po dobu jednoho roku. Následně jsou pěstovány v řádcích vzdálených od sebe 1,5 m a vzdálenost mezi sousedními rostlinami je 0,4 m. Takto osázené pole má kapacitu přibližně 10 000 rostlin na 1 ha [13].

Sběr probíhal tradičně ručně seřezáváním květů srpem. Dnes je již tato technika nahrazena mechanickým sběrem. Ruční sběr dosahoval výsledku průměrně 500 kg sklizené levandule za den, kdežto mechanizace posunula hranici produkce dále k 7500 kg za den. Výnos levandulového oleje se pohybuje okolo 40 kg/ha.

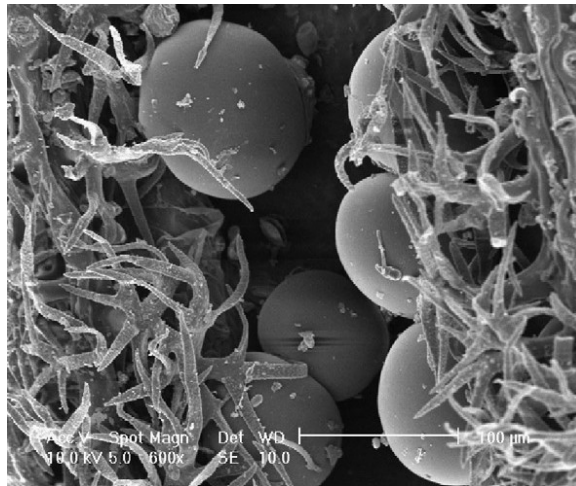
Hlavními producenty levandulového oleje jsou v současnosti Francie, Bulharsko, Čína a Španělsko. Původně byla produkce zejména ve Francii v horských oblastech (600 – 1500 m). Získání přesných dat o produkci oleje je velmi obtížné až nemožné. Ve vyprodukovaném množství je spolu s čistým vydestilovaným esenciálním olejem zahrnuto i různé následné ředění a míšení, v neposlední řadě i syntetická produkce. V roce 1984 dosahovala světová produkce oleje 200 tun (Bulharsko vyprodukovalo 100 – 129 t, Francie – 55 t, SSSR – 35 t, Austrálie – 5 t). Dovoz levandulového oleje v USA se pohybuje kolem 300 až 550 t ročně a vývoz činí 52 až 120 t ročně [14]. Z uvedených dat je zřejmá nemožnost porovnání, jelikož je velmi nepravděpodobné, aby produkce v USA dosáhla několika násobku celosvětové produkce i s odstupem 25 let. Data hovořící o importu a exportu oleje v USA zahrnují nejspíše i produkci syntetického oleje.

..

2.4.2 Destilace levandulového oleje

Esenciální olej se v levanduli nachází v malých kulovitých žlázkách mezi žebírky v květních kalichách. Stopy nezralého oleje mohou být obsaženy i v jiných částech rostliny. Pro použití oleje v parfumerii je velmi důležité, aby byl olej ze zralých květů (má požadované složení). V případě, že jsou květy rostliny zralé, neovlivní stopy nezralého oleje z ostatních rostlinných částí kvalitu oleje. Pokud ale květy zralé nejsou, tak mohou přispět k „zelenému“ nádechu oleje.

Obr. 3: Olejové žlázy levandule: olejové žlázy na kalichu zralé levandule (skenovací elektronová mikroskopie, [15]):



Olej z rostliny může být extrahován z květů pomocí destilace vodní parou. Takto získané destiláty se správně označují jako esence a odtud esenciální oleje. Podle charakteru destilace se jedná o oleje povrchové. Veškerý olej vyloučený na povrch rostliny je na něm absorbován díky chloupkovitému charakteru kalichů, který oleji poskytuje absorpční plochu. Proces destilace oleje z vnitřních či na olej méně bohatých částí rostliny se od destilace vodní parou odlišuje.

2.4.2.1 Sběr rostlin

Za normálního letního počasí je levandule připravena na sběr v okamžiku, když je okolo poloviny kvítků na průměrném klásku zvadlých. Květy sbírané dříve obsahují více tekutiny a potřebují nejprve na slunci ovdnout, aby tak dosáhly plného potenciálu ve výnosu a kvalitě oleje, který je možné z daného kultivaru jednoduchým destilačním procesem získat. S květenstvím by měla být sbírána i část bezlistého stonku, jehož délka by se měla pohybovat

kolem 6 až 10 cm. Stonky totiž napomáhají rovnoměrnému rozložení páry během destilace v celém objemu rostlinné náplně.

Tradičně se ke sběru používaly srpy a seseknuté květy se nechávaly ležet na rostlině, aby na ní ovadly. Sbírány byly ve chvíli, když dostatečně zvadly. Nanosily se do palírny, kde se ručně naskládaly do destilační nádoby.

Moderní sběrné stroje skládají seřezané květy do speciálních nádob na přívěsech, které zároveň slouží jako destilační nádoby. Sekundární sběr a přenášení květů do palírny se stalo zbytečným, a jelikož strojový sběr naruší při sběru mnoho žlázek s olejem, byl by i prodělečný, neboť olej vystavený otevřenému prostoru by na teplém vzduchu velmi rychle vyprchal. Je tedy zřejmé, že rostliny musí být plně zralé a připravené na mechanický sběr ještě před jeho zahájením, poněvadž nemají možnost tzv. „dojít“ na slunci. V případě dostatečně velkých sběrných zásobníků, a pokud je palírna schopna držet krok s postupem sběru, je možné začít se sběrem později, ale zároveň destilaci dokončit dříve, než v případě tradičního postupu. Nezbytná je při tom dobře synchronizovaná mechanizace procesu.

2.4.2.2 Destilace

V minulosti měly nejúčinnější destilační nádoby válcovitý tvar s mřížkou umístěnou přibližně 15 cm nad uzavřeným dnem, na němž ležely byliny. Takto byla vytvořena komora vyrovnávající tlak přiváděné páry, která tak mohla rovnoměrně vstupovat do náplně a zároveň přívod páry mohl být veden z vedlejšího bojleru. Některé moderní systémy zachovaly princip válcovité nádoby a sítě, ale ve vylepšené podobě (viz obr. 4). Jiní se inspirovali americkým průmyslovým zpracováním máty, kde se využívají velké obdélníkové nádrže s řadami parovodních trysek na dně.

Výška prostoru nad sítí či uzavřeným dnem, tedy výška vrstvy květů a stonků, by měla být nejméně 130 cm. Pára musí stoupat přes povrch bylin, aby došlo k vyloučení ekonomicky výnosného množství oleje. Měně zřejmá, ale o to důležitější, je nutnost dostatečné výšky náplně k zamezení tvorby velmi tenké olejové vrstvy na vodných částicích. Tyto částice opouštějí destilační komoru a jsou zlikvidovány spolu s olejem.

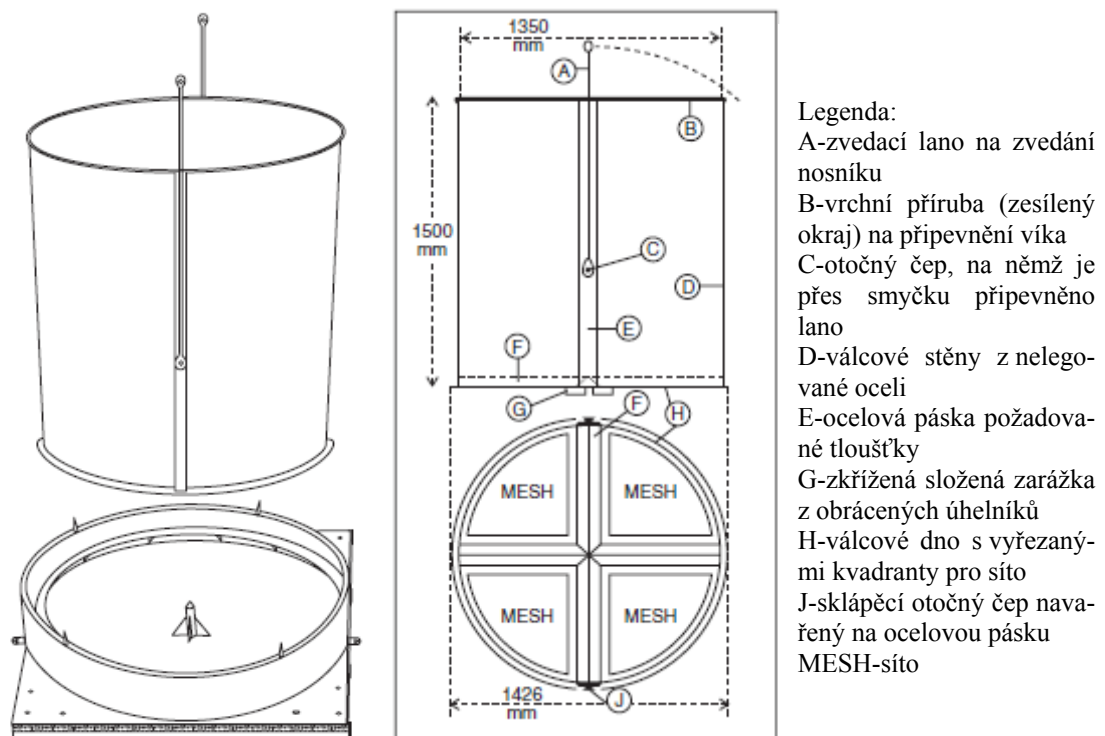
Průměr nádoby závisí na velikosti bojleru. Plocha, kterou zásobuje párou tryska, produkující přibližně 3 kg páry za minutu, by měla mít přibližně 1 m².

Pokud je to prakticky realizovatelné, tak by měly být byliny šetrně stlačeny na hustotu okolo 275 kg/m³. Nezbytné je dbát na to, aby rostliny byly dostatečně natěsnány na stěnu destilační nádoby.

Destilační nádobu nahoře uzavírá parotěsné víko, které je často vybaveno i odpouštěcím ventilem. Proud páry je po uzavření nádoby vpouštěn dnem nádrže tak, aby pára prostupovala náplní vzhůru. Směrem ode dna pára kondenzuje na povrchu bylin a předává jim své teplo. Postupně ve vrstvách narůstá teplota až k bodu varu. Když odpovídající teploty dosáhne i nejvyšší vrstva v kontejneru, proudící pára způsobí vypařování oleje vyloučeného na povrchu rostlinného materiálu. Postupující pára je směsí výparů oleje a vody. Tato směs je z horní části destilační nádoby vedena do kondenzátoru. Zde jsou páry převedeny zpět do kapalné fáze. Olej a voda jsou vzájemně nemísitelné kapaliny a jsou od sebe odděleny na základě odlišných hustot.

Klíčové tedy je, že pára způsobuje vypaření oleje a že je nezbytné zajistit, aby olej z rostlin unikal jenom během destilace v nádrži. Destilátoři si musí být vždy vědomi všech faktorů podporujících i bránících vypařování oleje.

Obr. 4: Nákresy moderních cylindrického destilačního systému [4]



2.4.3 Teorie destilace vodní parou

2.4.3.1 Vlastnosti výparů

Všechny výpary jsou energeticky bohatší než kapaliny, z nichž pocházejí. Je tedy nutné kapalině dodat energii, aby došlo k jejímu vypaření a to v podobě tepla. Množství tepla potřebné na vypaření hmotnostní jednotky kapaliny, aniž by došlo ke změně teploty výparů nad kapalinou, se nazývá měrné výparné teplo a je charakteristické pro každou jednotlivou komponentu oleje. Při kondenzaci výparů zpět do kapalné fáze, musí být toto kvantum energie odebráno.

Každá kapalina neustále uvolňuje ze svého povrchu pohybující se molekuly výparů. Při uzavření výparného prostoru, naráží molekuly výparů na stěny a vytvářejí tak tlak působící na nádobu, který roste spolu s teplotou soustavy. Tenze par za určité teploty je další charakteristickou veličinou. Při zahřívání kapaliny bude její teplota stoupat do bodu, kdy se tlak páry nad kapalinou vyrovná okolnímu tlaku – nastává var kapaliny a daná teplota je bodem varu kapaliny. Směs dvou nemísících se kapalin vře, když teplota dosáhne bodu, kdy součet parciálních tlaků jednotlivých výparů je rovna okolnímu tlaku.

Destilace levandulového oleje se provádí za atmosférického tlaku, který je přibližně roven tlaku u hladiny moře a ten je ekvivalentní tlaku vyvolanému sloupcem rtuti vysokým 760 mm. Můžeme tedy psát, že je roven 760 mmHg nebo 1 atm. Při teplotě 99,6°C se linalyl acetát, typický složka oleje, projevuje tlakem par 12 mmHg a vodní páry tlakem 748 mmHg. Tato směs tedy působí tlakem 760 mmHg a bude vřít pod teplotou varu vody za normálního tlaku. Linalyl acetát sám o sobě vře při 220°C s tendencí se zároveň i rozkládat. V přítomnosti páry může být linalyl acetát i další složky esenciálního oleje vypařen za daleko nižších teplot než je teplota varu vody.

Extrahování esenciálních olejů z rostlin destilací vodní parou se zakládá na kontaktu oleje a vody při teplotě blízké bodu varu vody. Tehdy malý přídavek parciálního tlaku výparů oleje vede k vyrovnání sumy parciálních tlaků směsi s okolním tlakem. Olej a voda se následně musí odpařit z rostlinného materiálu bez ohledu na množství tepla, jaké může být dodáváno.

Tato destilační metoda se zdá být jednoduchou technikou, dokud se neodhalí, že ovlivňující faktory jsou dosti komplexní. O rozdílu mezi účinnou a špatnou technikou rozhoduje především správné pochopení způsobu, jakým je teplo využito na vypaření oleje.

2.4.3.2 Přenos tepla

Na začátku procesu, při prvním kontaktu páry se žlázkami obsahujícími olej, dojde k jejich roztržení a olej na povrchu rostliny vytvoří skvrny. Po obvodu přibližně kruhové skvrny se nachází rozhraní olej-voda, kde je olej v kontaktu s parou, která na povrchu byliny zkondenzovala.

Uvnitř horké destilační komory umožňuje rozdělení teplot v každém takovém mikrosystému předat kondenzační teplo páry oleji na jeho vypaření. Jelikož jsou voda a olej nemísitelné kapaliny, nemůže pára kondenzovat přímo na olejových skvrnách z protržených žlázek, ale zkapaňuje v těsném kontaktu s olejem ve vodní plošce a vytvoření rozhraní olej-voda po celém obvodu skvrny. Olej se může vypařit pouze z tohoto rozhraní. Pokud by se pára nemohla dostat do velkého okruhu, vznikl by tak jen zlomek vodních plošek, a tím by došlo k vydestilování jen malého množství oleje.

Pokud má povrch bylin absorpční vlastnosti, jako je tomu u levandule, jejíž povrch je chloupkovitý, budou olej a voda v kontaktu i vlivem kapilárních sil. Výrazně tak zvětšují oblast, kam se pára může dostat, ale zajišťují, že se neustále bude velké množství páry dostávat k oleji a předávat mu teplo. Poloměr skvrny se rychle smršťuje s tím, jak je olej odpařován z obvodu. Čas, potřebný pro daný objem páry na redukci obvodu skvrny na nulu, se označuje jako extrakční čas oleje.

Je nezbytné, aby na povrchu bylo vysráženo dostatečné množství vody, jak se během destilace odpařují olejové skvrny. Kdyby jí byl nedostatek, došlo by k omezení kontaktního rozhraní olej-voda a podíl oleje v destilátu by předčasně poklesl. Na druhou stranu musíme ale zajistit, aby v páře nebylo příliš vlhkosti, jejíž nadměrné množství by způsobilo přehlcení absorpční kapacity povrchu levandule.

2.4.3.3 Dodávání páry k bylině

Pára z běžných komerčních bojlerů obsahuje okolo 97% suché nasycené páry a pouze okolo 3% kapalné vody ve formě oblaku. Částičky oblaku mohou ulpět na bylinách a napomoci je tak uchovávat vlhké. Pokud je pára generována v kotli pod destilační nádobou, je tato daleko více vlhčí a na byliny může převést více vody.

Pára, generována pod velkým tlakem ve vedlejším bojleru, jež se nechá expandovat do destilační nádoby s přibližně atmosférickým tlakem, bude předávat přebytečné teplo po expanzi na vypaření vlhkosti běžně přítomné na rostlinném povrchu. Z relativně suché páry ulpí na rostlinách pouze minimální či žádné množství vody. Pokud je zařízení dobře

izolováno a dochází jen k zanedbatelným tepelným ztrátám, může pára přijmout určité množství přebytečné vlhkosti z rostlinného povrchu, jejíž množství se bude již výrazně lišit při tlaku páry vyšším než 300 *kPa*.

Na začátku sezóny obsahuje levandule velké množství šťávy. Voda z praskajících buněk se během počátečního zahřívání připojí k vysrážené páře na povrchu bylin. Takto se více zahltí absorpční kapacita povrchu rostlin, což zároveň eliminuje rozhraní, kde se olej a voda stýkají. Oblast, v níž částičky páry mohou vhodně kondenzovat, je tak každou nadbytečnou vlhkostí pro ně dále zneprístupněna. Destilace se tím zpomalí a je neefektivní. Přebytek kapaliny se může z přemokřeného povrchu bylin uvolňovat a vytvořit tak zpětný tok, kterým se strhává olej na dno destilační nádoby. Reflux se odhalí až po ukončení destilace přítomností zakalené kapaliny na dně nádoby. Její výskyt je samozřejmě nežádoucím jevem.

Pokud je obsah vlhkosti v levanduli přirozeným jevem a není tedy ovlivnitelný dobou sběru, doporučuje se využít k produkci páry vedlejšího bojleru, kdy je pára do nádoby vháněna pod tlakem 700 *kPa*. Takto stlačená pára je schopna vstřebat vlhkost až o 1,5% své hmotnosti. S postupem sezóny se ale obsah šťávy v levanduli obecně snižuje, proto se může postupně i tlak páry snížit.

V pozdní sezoně je levandule sušší a daleko více vlhkosti absorbuje. Vysrážená vlhkost má tendenci se z povrchu vstřebat do rostliny, čímž dochází ke ztrátě rozhraní olej-voda. Jediným řešením je vyšší obsah vlhkosti v páře. V tomto stadiu je pára s vysokým podílem vlhkosti nezbytná. Požadovaná pára může být generována nízkotlakým výparníkem nebo z ohřívачe uloženého pod destilační nádobou. V druhém případě je nutné připojit mezi kotel a dno destilační nádoby bariéru, aby nedocházelo k zamokření spodní vrstvy rostlin od vystřikující vody. U obou provedení je však nezbytné dbát na to, aby pára nebyla příliš vlhká, což by vedlo k vytvoření nežádoucího refluxu.

2.4.4 Destilační vybavení

2.4.4.1 Destilační zařízení pro komerční rozsah produkce

Dva nákresy (obr. 5, obr. 6) zachycují schémata destilačních zařízení, která dokážou vydestilovat okolo 1,5 tuny pravého levandulového oleje za sezónu na každý krychlový metr jejich náplňové kapacity. Pro levanduli je vhodná velikost těchto zařízení 2 m^3 .

Moderní válcovitá destilační zařízení využívají technické řešení, kdy pouze základna pro destilační nádobu musí být upevněna a víko se zabudovaným kondenzátorem může být

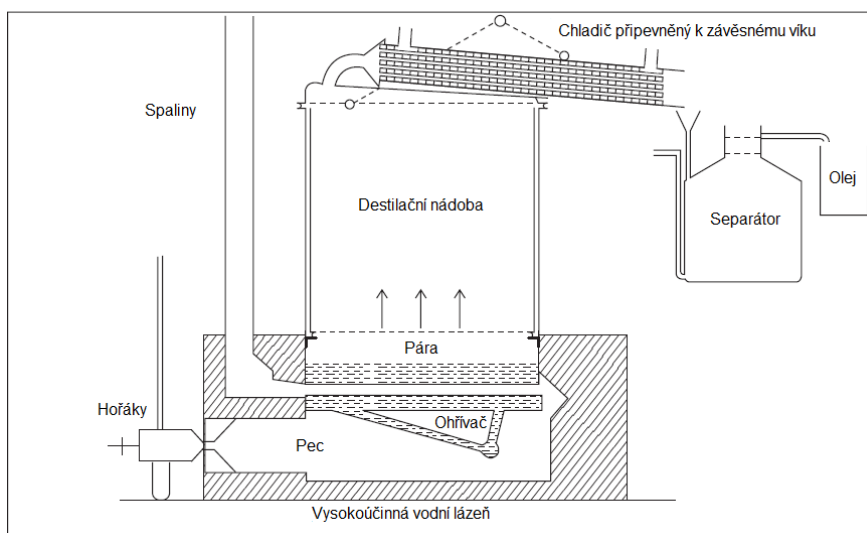
zavěšeno na jeřábním systému nebo kladce nad základnou. Přemístitelná destilační nádoba má proděravěné dno, na němž je po celém obvodu těsnicí příruba, která vlastní vahou náplně v nádobě, zafixuje nádobu v základně. Pro manipulaci pomocí zvedacího zařízení je vybavena na stěnách otočnými čepy, které umožňují obrátit celou nádobu při vyprazdňování. Nádoby mohou kyvadlově putovat mezi polem a palírnou.

Americké destilační přívěsy jsou schopny pojmout najednou několik tun květů a mohou se nezávisle pohybovat na vlastních kolech. Musí se pouze přemístit pod víko v palírně, kde mohou být připojeny i k parnímu generátoru. Některé přívěsy mají víko pevně uchycené a připojuje se pouze kondenzátor. Běžně bývají vybaveny i hydraulickým zařízením na vyklápění zásobníku při vyprazdňování.

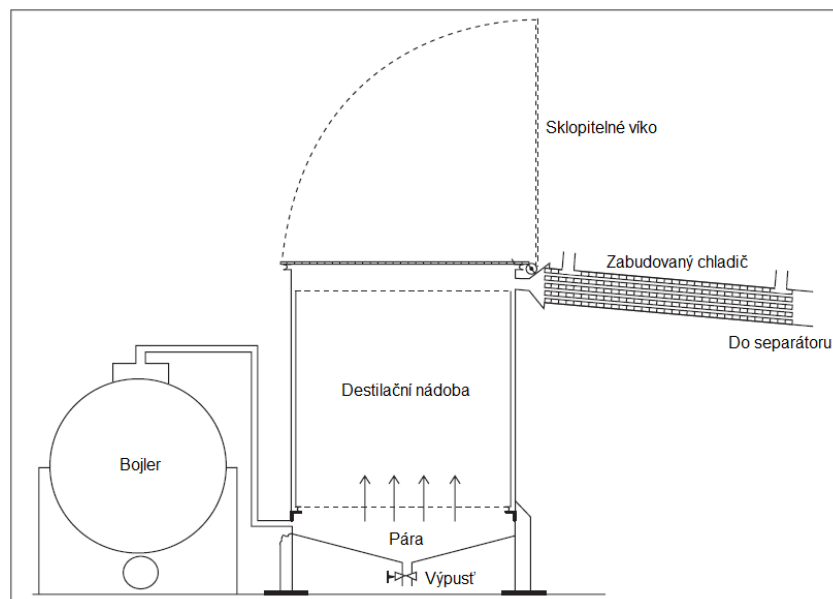
Tyto moderní systémy, zejména cylindrické, mají výhodu v rychlosti prováděných úkonů a to běžně s výkonem všech procesů v rámci jednoho stanoviště. Není nutné žádné mezipřekladiště či mezikrok. Volba mezi těmito dvěma systémy závisí zejména na typu terénu. Velké přívěsové přepravníky mohou mít problémy se stabilitou v prudkých svazích, kde jsou řádky levandule vedeny po vrstevnicích.

Obr. 5: Schéma běžného destilačního zařízení s vodní lázní [4].

Vodní trubky, s jedním ramenem dlouhým a druhým krátkým, jsou nezbytné k produkci dostatečného množství páry, které by při ohřevu rovného dna nádoby nikdy nebylo dosaženo.



Obr. 6: Schéma běžného destilačního zařízení s přívodem páry z vedlejšího bojleru [4].



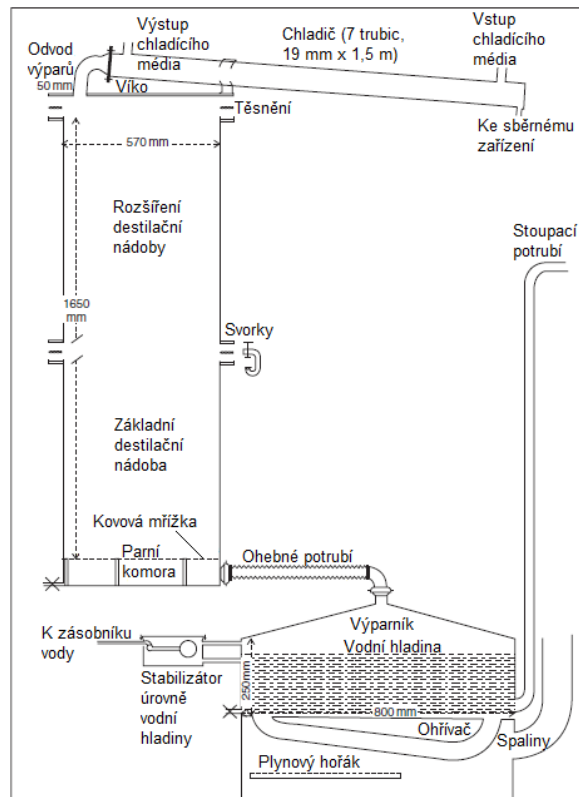
2.4.4.2 Destilační zařízení pro nízkoobjemovou produkci a potřeby testování

Vyhovující destilační nádoby mohou být vytvořeny z 200 l plechových sudů či bubnů. Pokud k sobě v přírubách sedí, mohou být s těsněním připevněny na sobě (obr. 7). Destilační nádoba je tak rozšířena a pojme větší objem náplně. Plně dostačují maloproducentům, kteří se zaměřují na produkci omezeného množství oleje pro místní prodej. Tyto kolony jsou schopny pojmout okolo 120 kg levandule.

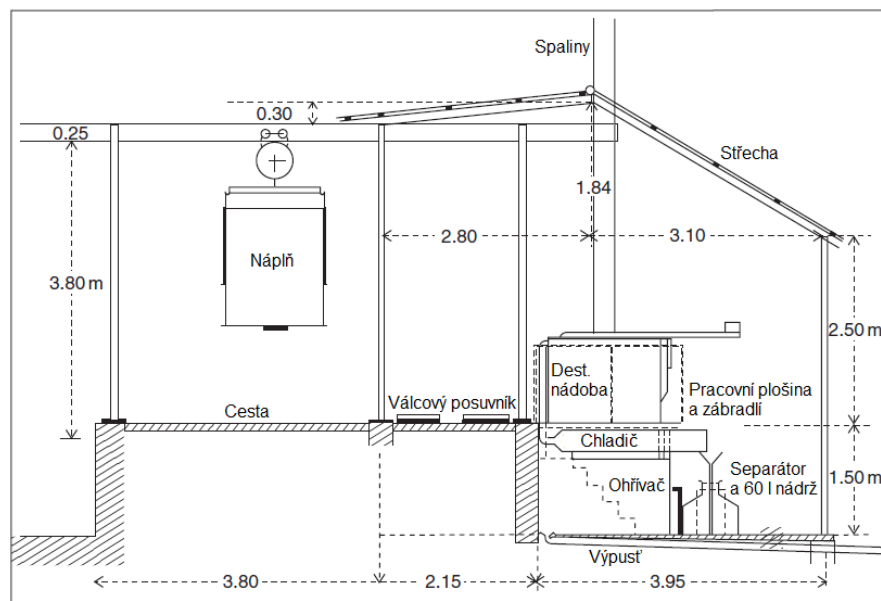
Horní buben může být upraven tak, že se dá použít i samostatně, což je v praxi běžné. Pokud budou bubny vybaveny i zdvižnými body, dá se s výhodou využít stropní kolejnice s kladkou pro lepší manipulaci s kontejnery.

Pro destilační komoru těchto proporcí postačuje jednoduchý výparník, jak je zachyceno na obr. 7. Produkuje páru vhodné vlhkosti na zpracování levandule. Ohřev vody zajišťuje plynový hořák (LPG). Nezbytná je tepelná izolace jak samotné destilační nádoby, tak i kotle. Nutné je zajistit i bezpečnost pro pracovníky u všech potrubí vedoucích horkou vodu a páru.

Obr. 7: Schéma destilačního zařízení pro malovýrobu a potřeby testování se zdrojem nízkotlaké páry vytvořeného ze dvou 200 l sudů na produkci 45 l destilátu za hodinu za atmosférického tlaku [4].



Obr. 8: Vertikální průřez uspořádáním palírny pro maloproducenty oleje s popisem základních částí [4].



2.4.4.3 Chladič (kondenzátor)

Vydestilovaný olej putuje z destilační nádoby do více-trubicového chladiče, kde je proud výparů rozdělen do několika souprůdých trubek z nerezové oceli, kolem kterých proudí chladicí kapalina (studená voda). Při použití starých jednotrubicových chladičů s omezeným výstupem docházelo k nadměrnému zvyšování tlaku v destilačním zařízení s moderním vhnáním páry.

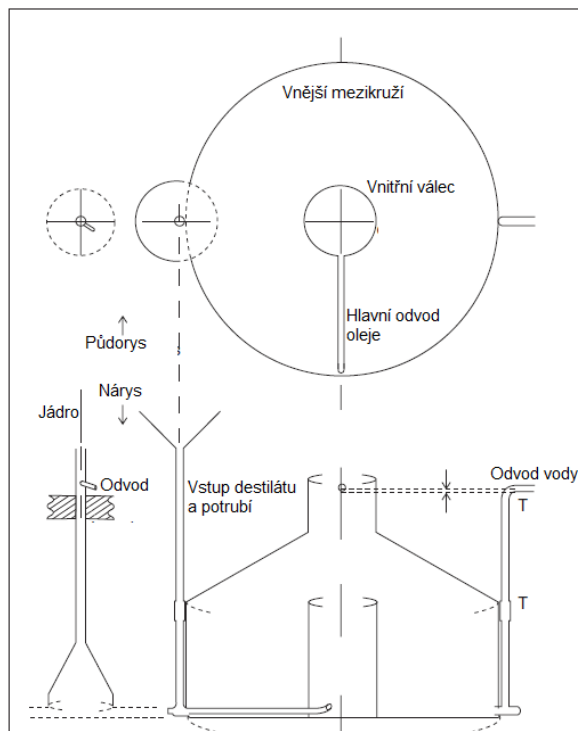
Jednotka zachycená na obr. 7 je kompletně sestavená včetně jednoduchého více-trubicového chladiče. Od dražších průmyslových chladičů se liší v tom, že není rozebratelný pro potřeby čištění vnitřních stěn trubek, kde se usazuje kal a vodní kámen z chladicí kapaliny. Nánosy a nečistoty mohou být z takových chladičů vymyty pomocí čistící sody. Konstrukce je i tak plně dostačující pro profesionální zpracovatele a jejich pořizovací cena je přijatelná.

Průmyslové chladiče jsou navrženy tak, aby se daly rozebrat a vymýt. Vysrážený vodní kámen na vnitřní straně trubek výrazně ovlivňuje tepelnou vodivost a tedy i snižuje chladicí schopnost kondenzátoru.

2.4.4.4 Sběrné zařízení a separátor

Zachycený olej na výstupu z chladiče plave na povrchu vody. Vhodně upravené sběrné zařízení umožňuje odebírat olej kontinuálně, zatímco voda odtéká na dně. Toho je dosaženo, pokud destilát přivádíme do separátoru tvořeného nádobou s vnitřním válcem a dvojicí vývodů (obr. 9). Vývody na dně jsou pro odtok vody a horními odchází olej. Destilát je přiváděn potrubím do středového válce. Dělení probíhá na základě odlišné hustoty obou tekutin. Viskóznější olej s nižší hustotou se tlačí nahoru směrem k hladině, zatímco hustější voda padá ke dnu nádoby. Během separace je nutné regulovat množství přitékající kapaliny, aby olejové kapky nebyly silným proudem strženy spolu s vodou do špatného vývodu a předešlo se tak zbytečným ztrátám.

Obr. 9: Schéma sběrného zařízení a separátoru pro oleje s nižší hustotou než voda. Kondenzát musí vtékat do trychtýře tak, aby vytvořil vír a nevtáhl tak vzduch do příváděcího potrubí. Potrubí označené písmenem „T“ musí být ponecháno s ohybem, aby mohlo dojít k ustavení hladiny kapaliny. Trubice nad hlavním odvodem oleje pokračuje ještě 3 cm nad odvod, kde končí [4].



2.4.5. Shrnutí destilace esenciálního oleje

Pro optimální zisk oleje je nezbytné při destilaci vodní párou předejít nejenom vzniku zpětného toku, ale zajistit zejména účinný přenos tepla z páry na vypařování oleje. Toho se dosahuje udržením vlhkého povrchu bylinné náplně v destilační nádobě po celou dobu destilačního procesu. Je tedy nezbytné sledovat množství vlhkosti v páře a obsah rostlinných šťáv v bylinách, které ovlivňují absorpční vlastnosti jejich povrchu.

Při použití jednoduchého destilačního zařízení, kde není technicky možné ovlivnit množství vlhkosti v páře, se doporučuje sbírat levanduli v době její zralosti. V levanduli je již méně rostlinných šťáv a její povrch má větší absorpční potenciál.

Sofistikovanější generátory páry využívané v komerčním měřítku produkce oleje, jsou schopny produkovat páru jak velmi suchou, vyhovující začátku sklizně, tak i velmi vlhkou, přijatelnou pro pozdní sběr.

Pokud jsou levandulové květy kvalitní a destilační nádoba je přinejmenším 1,3 m vysoká, potom by hmotnostní poměr vody a oleje v destilátu měl být 20:1. Pokud je tento poměr překročen, znamená to, že použitá pára byla příliš vlhká. Pokud se v destilační nádobě během destilace nenahromadila žádná kalná voda, použitá pára byla pravděpodobně příliš suchá. Optimum pro maximální zisk oleje se nachází někde mezi těmito dvěma extrémy, kdy je destilace nejvíce účinná a dochází k nejmenším ztrátám esenciálního oleje.

2.5 FYTOCHEMIE LEVANDULE [4]

2.5.1 Terpenické látky

2.5.1.1 Esenciální olej

Všechny druhy levandule jsou vysoce aromatické rostliny, které produkují esenciální oleje proměnlivého složení. Průmyslově nejvýznamnější zástupci jsou *L. angustifolia*, *L. latifolia* a *L. hybrida*, jejichž oleje se využívají v parfumerii a kosmetickém průmyslu. Jednotlivé oleje se od sebe odlišují zejména v poměru složek. Odlišnost je pozorovatelná druh od druhu, ale i v rámci jednoho druhu podle místa pěstování a nemalou roli zastává i doba sběru rostliny. Oleje z výše uvedených druhů mají nejvíce zastoupeny látky uvedené v tab. 2.

Tab. 2: Hlavní obsahové složky esenciálních olejů z *L. angustifolia*, *L. latifolia* a *L. hybrida*. Tučně zvýrazněná procentuální zastoupení prvních čtyř nejvíce obsažených látek. [4]

	<i>L. angustifolia</i>	<i>L. latifolia</i>	<i>L. hybrida</i>
linalyl acetát	12 – 54	0 – 1,5	19 – 26
linalool	10 – 50	26 – 44	20 – 23
cis-ocimen	1,0 – 17	0 – 0,3	1,0 – 3,0
lavandulol a lavandulol acetát	0,1 – 14	0,2 – 1,5	0,5 – 0,8
eukalyptol	2,1 – 3,0	25 – 36	10
kafr	0 – 0,2	5,3 – 14,3	12
pineny	0,02 – 0,3	1,6 – 3,6	0,6 – 0,9
borneol	1,0 – 4,0	0,8 – 4,9	2,9 – 3,7

Pozn. U oleje z *L. angustifolia* je u některých bulharských vzorků mezi hlavními obsahovými složkami více zastoupen eukalyptol [16], u ruských vzorků zase borneol [17].

Tab. 3: Rozdíly v procentuálním složení esenciálního oleje *L. angustifolii* podle země původu [4].

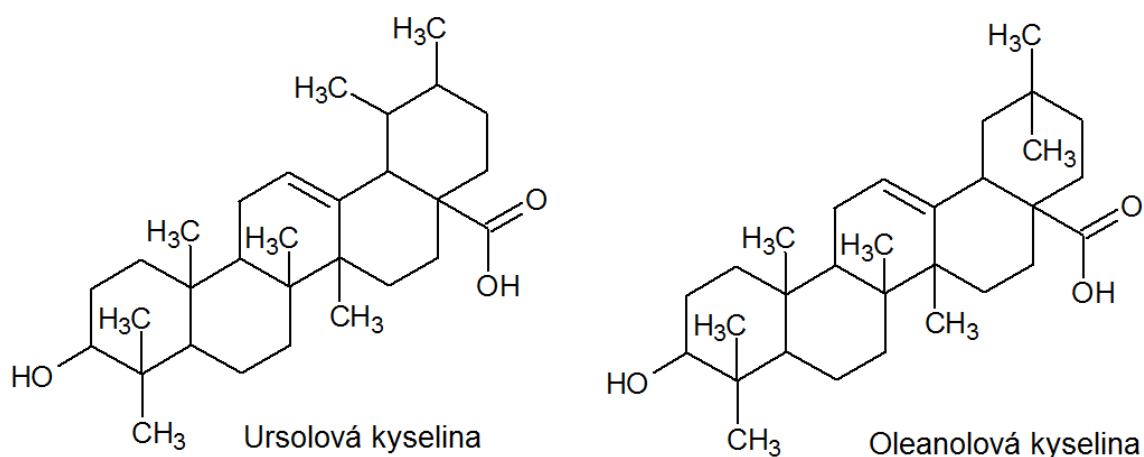
Země	Linalyl acetát	Linalool	Ocimeny	Lavandulol a lav. acetát	Ostatní
Bulharsko	35 - 38	30 - 34	6,8 - 7,7	nedetekováno	eukalyptol 2 - 3
Francie	27 - 54	18 - 50	1,2 - 17	0,3 - 13	kafr 1 - 4
Itálie	12 - 45	30 - 50	nedetekováno	0,1 - 1,8	terpineol 1 - 8
Rusko	31	10 - 37	5	14	borneol 1,4 - 5
Španělsko	29	31	3,5	7	terpineol 3

Z uvedených tabulek je zřejmý obsah monoterpenů. Spolu s nimi jsou v oleji obsaženy i seskviterpeny, ale v mnohem menší míře. Mezi nejvýznamnější patří farnesoly, humuleny, karyofyleny a bisabololy.

2.5.1.2 Triterpeny

V sušených listech byla detekována ursolová kyselina s procentuálním zastoupením 0,7% [18]. Další obsažené triterpeny byly oleanolová kyselina, betulin, kyselina betulinová, amyryl, pomolová kyselina. Ačkoliv jsou tyto látky biologicky i farmakologicky významné [19], nebudou v rámci této práce detailněji zpracované, jelikož nejsou obsaženy v esenciálním oleji anebo jen ve stopovém množství.

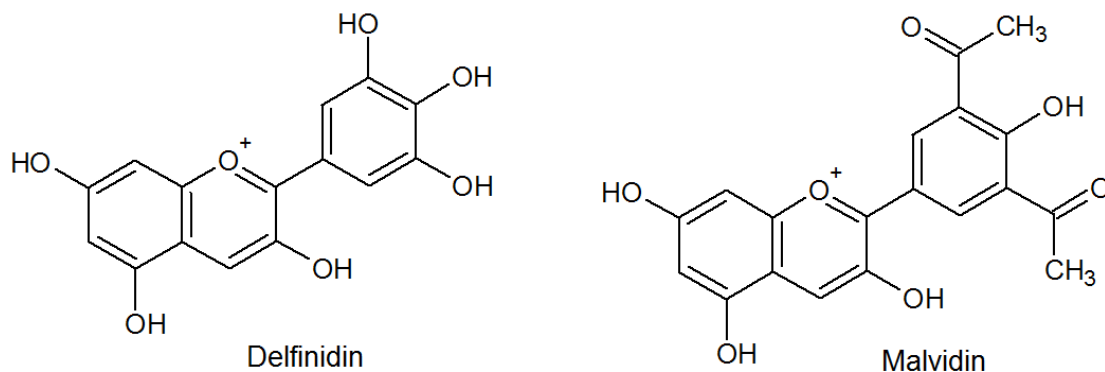
Obr. 10: Strukturální vzorce kyseliny ursolové a oleanolové [4].



2.5.2 Flavonoidy

Jedná se o rostlinné pigmenty zodpovědné za zbarvení květů, ale nacházejí se i v listech. Většinou absorbují blízké UV záření, které vnímá zejména hmyz a je tak veden k nektaru a rozmnožovacím orgánům rostliny. Hlavní obsažené pigmenty jsou delphinidin a malvidin, oba pigmenty způsobují fialové zbarvení květů.

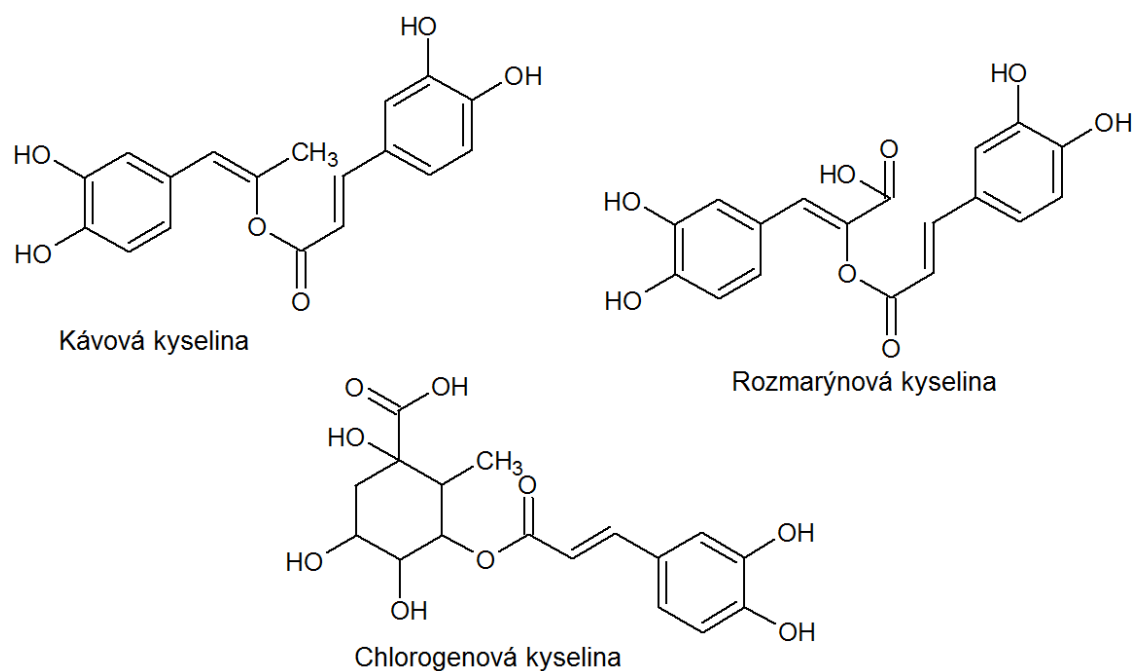
Obr. 11: Strukturální vzorce delphinidinu a malvidinu [4].



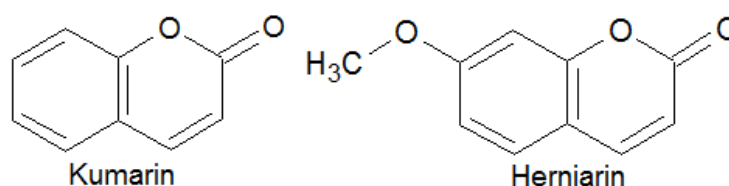
2.5.3 Hydroxyskořicové kyseliny a kumariny

Mezi obsažené deriváty hydroxyskořicové kyseliny patří kyselina rozmarýnová, kávová, chlorogenová. Z kumarinů je obsažen samotný kumarin a herniarin.

Obr. 12: Strukturální vzorce kyseliny kávové, rozmarýnové a chlorogenové [4].



Obr. 13: Strukturní vzorce kumarinu a herniarinu [4].

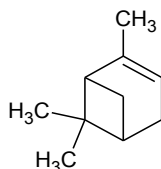


2.6 POPIS SLOUČENIN S NEJVĚTŠÍM ZASTOUPENÍM V LEVANDULOVÉM

OLEJI [20, 21]

2.6.1. α -pinen

2,6,6-trimethyl-bicyklo[3.1.1]-hept-2-en, $C_{10}H_{16}$, MW =136,24; [80-56-8], bod varu: 155°C



Výskyt: důležitá složka mnoha esenciálních olejů, zejména terpentýnu, který se získává z pryskyřic borovic, dále se vyskytuje v olejích rostlin z čeledi cypřišovitých (*Cupressaceae*), myrtovitých (*Myrtaceae*) a hluchavkovitých (*Lamiaceae*). Obsažen je i v oleji z kůry citrusových plodů.

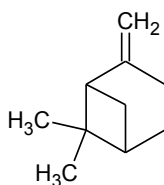
Vlastnosti: bicyklický monotерpen, kapalina podléhající mnoha reakcím, jejichž produkty se používají v parfumařském průmyslu, pyrolýza poskytuje směs ocimenu a alloocimenu

Použití: Používá se na zlepšení zápachu průmyslových produktů, běžněji je však výchozí látkou mnoha syntéz (borneol, kafr), parfumerie, výroby syntetického borovicového oleje a insekticidů [22].

Účinky: lokálně dráždivá látka, může vyvolat na kůži vyrážku, delirium, ataxii (ztráta koordinace pohybů) a je nefrotoxický [23]. U zvířat vede ke křečím a excitaci. Působí hepatotoxicky. U kůže myši nevykazuje promoční aktivitu [24].

2.6.2 β -pinen

2,6-dimethyl-6-methylen-bicyklo[3.1.1]-heptan; $C_{10}H_{16}$, MW =136,24; [127-91-3]

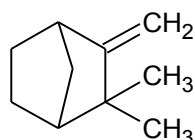


Vlastnosti: podléhá obdobným reakcím jako α -pinen, bicyklický monotерpen

Použití: v průmyslu, v produktech pro domácnost, nejvíce se spotřebuje na průmyslovou výrobu myrcenu.

2.6.3 Kamfen

2,2-dimethyl-3-methylenborboran, $C_{10}H_{16}$, MW = 136,23; [5794-03-6] bod tání: 50°C, bod varu 159°C:



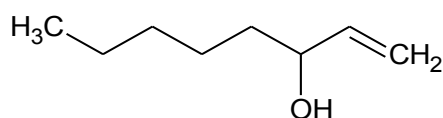
Vlastnosti: bezbarvá až nažloutlá, drobná krystalická látka kafrového zápachu, má sklon k sublimaci, stabilní na vzduchu i světle, za zvýšené teploty a přítomnosti kyslíku podléhá autooxidační reakci, průmyslově se nyní získává z α -pinenu

Použití: v průmyslových výrobcích na zlepšení zápachu, meziprodukt výroby kafru

Účinky: symptomy otravy jsou neklid, vzrušenost a křeče, dráždivě působí na centrální nervovou soustavu, při inhalaci je u zvířat asi 30x méně účinný než kafr [24].

2.6.4 Okten-3-ol

$CH_3(CH_2)_4CH(OH)CH=CH_2$, $C_9H_{18}O$; MW=128,21 [3391-86-4]

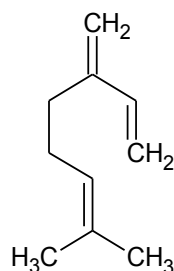


Vlastnosti: kapalina s houbovým, zemitě-lesním zápachem, připravitelný Grignardovou reakcí vinylmagnezium bromidu s hexanalem.

Použití: v parfumerii v levandulových a houbovitých aromatech.

2.6.5 Myrcen

2-methyl-6-methylen-2,7-oktadien, $C_{10}H_{18}$, MW = 136,23; [123-35-3]



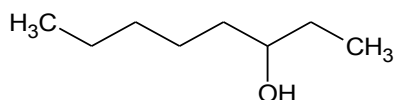
Vlastnosti: acyklický monoterpén, bezbarvá kapalina příjemného zápachu, jedná se o velmi reaktivní látku, za pokojové teploty pomalu polymeruje – skladování v chladných prostorách

za nepřístupu vzduchu. V přírodě se nachází v mnoha organismech, ale jeho destilace je ekonomicky nevýhodná a průmyslově se získává pyrolýzou β -pinenu. Spolu s limonenem vykazuje hepatoprotektivní vlastnosti [26].

Použití: v průmyslu slouží jako výchozí látka pro řadu syntéz (geraniol, nerol, linalool).

2.6.6 3-oktanol

$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_4(\text{OH})\text{CH}_2\text{CH}_3$; $\text{C}_8\text{H}_{18}\text{O}$; MW = 130,23 [589-98-0]

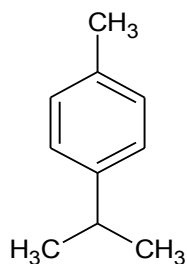


Vlastnosti: bezbarvá kapalina houbovitě-zemitého zápachu, objevuje se v houbách

Použití: obdobné jako u okten-3-olu

2.6.7 P-cymen

4-(isopropyl)-1-methylbenzen; $\text{C}_{10}\text{H}_{14}$, MW = 134,21; [99-87.6] bod varu: 180°C



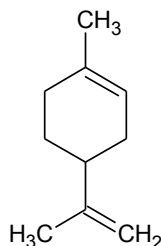
Vlastnosti: bezbarvá kapalina s charakteristickým zápachem aromatických uhlovodíků, průmyslově se získává Friedel-Craftsovou alkylací isopropenu na toluen.

Použití: v mýdlech na zlepšení jejich vůně a na zamaskování zápachu průmyslových produktů, v pižmových parfémeh, slouží jako rozpouštědlo barviv a laků, v prostředcích proti virům, bakteriím a plísním.

Účinky: narkotické účinky (obdobné xylenu), jeho tenze ale nestačí na vytvoření akutní otravy z inhalace. Nemá vliv na krvetvorbu. Na kůži působí dráždivě a vstřebává se lépe než toluen [24].

2.6.8 D-Limonen

1,8-p-menthadien, C₁₀H₁₆; MW = 136,24; [138-86-3], bod varu: 178°C



Výskyt: hlavní složka olejů z kůry citrusových plodů. Zastoupen je i v oleji z citrusových květů, kmínu (*Carum carvi*) a kopru (*Anethum graveolens*). Produkce se pohybuje kolem 50 000 tun ročně, což se odráží v nízké ceně (1 – 2 USD/kg).

Vlastnosti: monocyklický monoterpen, kapalina citronové vůně, jde o velmi reaktivní sloučeninu podléhající oxidaci, která poskytuje několik produktů.

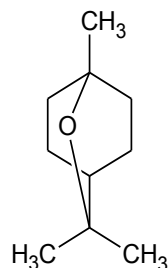
Použití: v domácích prostředcích (čisticích) a jako složka v uměle připravených esenciálních olejích, ve výzkumech zastává místo reprezentačního monoterpenu [27].

Účinky: sedativní, expektorační [27], vykazuje hepatoprotektivní vlastnosti v pomerančovém [28] a fenyklovém [26] esenciálním oleji. Dále chemopreventivní účinnost v preklinických modelech rakovinových buněk [29,30,31,145]. Protinádorová účinnost u rakoviny slinivky a prsu [32] a v klinické aplikaci rozpouští žlučové kameny [33]. Kandidát na chemoprevenci proti rakovině kůže [34]. *In vitro* prokázal protinádorové působení u myši, kdy jim byl aplikován podkožně. Prodloužil dobu, než došlo k rozvinutí tumoru, ale jeho vytvoření nezabránil [35]. Prokázal antiangiogenní (proti vytvoření cév) a proapoptické působení na lidských rakovinových buňkách žaludku implantovaných myším, redukoval růst a tvorbu metastáz [36,37]. Limonen (1 – 2%) přidaný do granulí redukoval chemicky vyvolané karcinomy jater u krys [38]. Přežití myši s lymfomem se zvýšilo po aplikaci limonenu, který vyvolal i imunitní odpověď [39]. Limonen se v těle metabolizuje na perilyl alkohol [40], který vykazuje silné protirakovinné působení [41,42]. V uvedených zdrojích byl zkoumán vliv limonenu či jeho metabolitu na rakovinu prsu, tlustého střeva, jater a plic.

Toxicita: Čistý limonen může být dráždivý k pokožce [22] a vyvolat alergická onemocnění [24]. Limonen se oxiduje na směs produktů (karvon, cis- a trans-limonen oxid a další), které jsou potenciálními silnými kontaktními alergeny a 2% kožních pacientů projevilo pozitivní reakci na limonen při alergologickém testu [43].

2.6.9 1,8-cineol (eukalyptol)

1,8-epoxy-p-menthan, C₁₀H₁₈O; MW = 154,25; [470-82-6]



Vlastnosti: cyklický epoxidový monoterpen, bezbarvá kapalina s charakteristickým zápachem lehce připomínající kafr, eukalyptol se připravuje výlučně frakční destilací esenciálních olejů

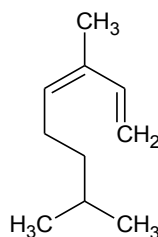
Použití: parfumerie a díky svěží vůni v produktech určených pro ústní hygienu

Účinky: expektorační, antiseptické a antihelminthické (protihlístové) [27]. Morfologické změny nastaly po léčbě lidských leukemických buněk HL-60 eukalyptolem. Došlo k fragmentaci DNA a následovala apoptóza [44].

Toxicita: u citlivějších osob vyvolává alergie, dlouhodobě může způsobit poruchy centrálního nervstva. Otrava se projevuje pocitem dušení, nauzeou, zvracením, deliriem a křečemi až šokem. Při požití 1 g eukalyptového oleje (70% eukalyptolu) došlo k závratím, nejistotě v pohybech, dýchacím obtížím, mióze (zúžení zornice) a později až k upadnutí do kómatu. Následovalo úplné zotavení. Za smrtelnou je považována dávka 3 – 30 ml. Příznaky se mohou projevit až s dvouhodinovým zpožděním [25].

2.6.10 (Z)/(E)-β-ocimen

(Z,E)-2,6-dimethyl-2,5,7-oktatrien; C₁₀H₁₆, MW = 136,23 [673-84-7]

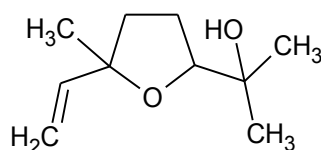


Vlastnosti: bezbarvá kapalina příjemné vůně, snadno oxidující látka – uchovávat bez přístupu vzduchu, zvýšená teplota jej přesmykuje na alloocimene.

Použití: složka parfémů

2.6.11 Cis-linalool oxid

2-methyl-2-vinyl-5-(α -hydroxyisopropyl)tetrahydrofuran, C₁₀H₁₈O₂, MW = 170,25; [5989-33-3]

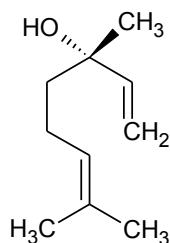


Vlastnosti: kapalina zemitě-květinového zápachu s lehkým bergamotovým nádechem, byl identifikován v přírodních esenciálních olejích a ovocných arómatech

Použití: v parfumerii (levandulové nádechy) a na rozpouštění esenciálních olejů

2.6.12 Linalool

3,7-dimethyl-1,6-oktadien-3-ol, C₁₀H₁₈O; MW = 154,25 [78-70-6]



Výskyt: hlavní složka koriandrového oleje (*Coriandrum sativum*), v menší míře v levandulovém oleji z květů, v oleji z bergamotu (*Citrus aurantium bergamia*) a z pomerančových květů (*Citrus aurantium*).

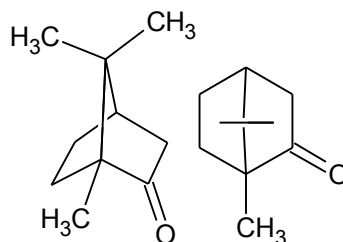
Vlastnosti: alicyklický monoterpenový alkohol, bezbarvá kapalina svěží květinové vůně. Vyskytuje se ve dvou enantiomerních formách. Společně se svými estery je produkován ve velké míře. V esenciálních olejích se částečně nachází i v podobě svých oxidů, které jsou taktéž významné v parfumerii.

Využití: Linalool se využívá zejména v parfumerii v ovocných a květinových parfémeh. Díky relativně vysoké těkavosti se používá v hlavě parfému. Kvůli stabilitě v alkalickém prostředí se aplikuje do mýdel. Nejvíce vyprodukovaného linaloolu se spotřebuje na výrobu vitamínu E.

Účinky: antiseptické, sedativní a fungistické [23]. Dráždí nervovou soustavu, působí proti křečím a snižuje spontánní motorickou aktivitu i po stimulaci kofeinem či amfetaminy. Ve vyšších dávkách však narušuje koordinaci pohybů a prodlužuje narkotický účinek hexobartitalu, ethanolu a chloralhydrátu. V toxických dávkách působil narkoticky [45].

2.6.13 Kafr

1,7,7-trimethylbicyklo[2.2.1]heptan-2-on; $C_{10}H_{16}O$, MW = 152,24; [21368-68-3]



Výskyt: zejména v kastrovníku (*Cinnamomum camphora*), dále v řimbabě (*Tanacetum perthenium*) a rostlinách rodu pelyňku (*Artemisia*) a levandule (*Lavandula*).

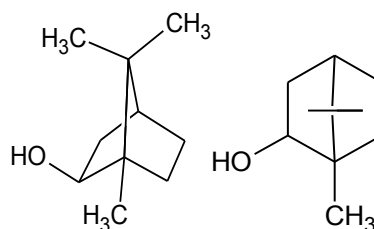
Vlastnosti: v přírodě se vyskytuje více ve své (+)-formě, získává se frakční destilací kafrového oleje, pevná látka pronikavého lehce mentolového zápachu

Použití: parfumerie, ve farmaceutickém a kosmetickém průmyslu jako konzervátor [46], významnější je jeho použití jako plastifikátoru

Účinky: dráždí pokožku, zpočátku působí chladivě, má slabé anestetické působení a snižuje pocit svědění [27]. Vstřebává se rychle kůží, inhalačně i v gastrointestinálním traktu. Na kůži a při inhalaci působí chladivě, při požití nevelké dávky dodává pocit horka v žaludku. Větší dávky působí emeticky (zvracení). Po vstřebání stimuluje centrální nervovou soustavu, způsobuje závratě, vzrušenost až křeče. Po velkých dávkách dochází k mydriáze (rozšíření zornic), šilhání, křečím okohybných svalů až poruše zraku. Zvyšuje krevní tlak a srdeční činnost. Obličej je překrven a může se objevit skarlatiformní exantém. V pozdějším průběhu otravy jsou dominantní projevy deprese centrální nervové soustavy, ale vzácně může dojít k útlumu od počátku otravy. Průměrná smrtící dávka se pohybuje kolem 2 g [24].

2.6.14 Borneol

1,7,7-trimethyl-bicyklo[2.2.1]-heptan-2-ol; $C_{10}H_{18}O$, MW = 154,25; [507-70-0]



Výskyt: přírodně se vyskytuje ve formě svého (+)-izomeru, nachází se hlavně v rostlině *Dryobalanops aromatica* (Pětikřídlec kafrový), dále je přítomen v levanduli, rozmarýně (*Rosemarinus officinalis*) a muškátovém oříšku (*Myristica fragrans*) [27].

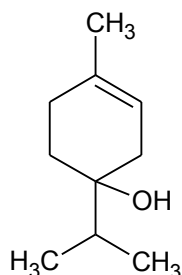
Vlastnosti: bicyklický monoterpenový alkohol, bezbarvá krystalická látka, zápachem je podobný kafru s mírně ostrým zemitě-pepřovým nádechem. Kyselinou dusičnou či chromovou se oxiduje na kafr.

Použití: rozpouští se v esenciálních olejích, v nichž se přírodně nalézají.

Účinky: má toxické účinky na centrální nervovou soustavu u savců [27]. Po kvantitativní stránce toxický jako kafr s tím rozdílem, že centrální nervovou soustavu tlumí, ale nedráždí.

2.6.15 Terpinen-4-ol

4-methyl-1-(1-methylethyl)-3-cyklohexen-1-ol; $C_{10}H_{18}O$, MW = 154,26; [562-74-3]



Výskyt: hlavní složka esenciálního tea tree a majoránkového oleje

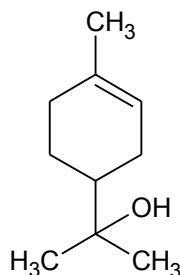
Vlastnosti: monocyklický monoterpenový alkohol, bezbarvá kapalina s kořeněnou vůní připomínající muškátový oříšek se zemitě-šerškovým nádechem.

Použití: v umělých pelargoniových a pepřových olejích, v parfumerii na vytvoření bylinného či levandulového aroma.

Účinky: je schopen vyvolat kaspásou řízenou apoptózu u lidských kožních nádorových buněk M14 WT a M14 WT resistantních k adriamycinu [47]. Účinek je podle předpokladů způsoben interakcí látky s plasmatickou membránou a následnou reorganizací membránových lipidů. Při nitrožilní aplikaci snížil krevní tlak u DOCA-myši s vysokým tlakem (DOCA – deoxykortikosteron acetátu) [48]. Předpokládá se jeho působení proti zlatému stafylokokovi rezistentnímu k meticilínu a dalším mikroorganismům rezistentním na léčiva [49]. Může potlačovat projevy alergie [50]. Tento účinek je způsoben potlačením uvolňování histaminu [51] a produkce cytokinů.

2.6.16 α -terpineol

$C_{10}H_{18}O$, MW = 154,25; [98-55-5]

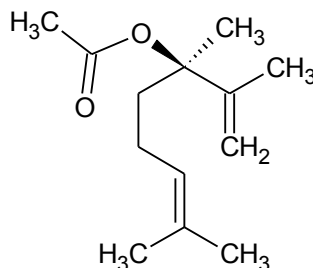


Vlastnosti: bezbarvá krystalická látka šeríkového zápachu, stabilní sloučenina, přírodně se vyskytuje v mnoha olejích, ale frakční destilací se získají pouze minimální množství, proto se připravuje synteticky hydratací α -pinenu.

Použití: průmyslově se používá zejména vodný roztok α -terpineolu se značným množstvím γ -terpineolu, který má výraznější vůni, v mýdlech a kosmetice

2.6.17 Linalyl acetát

$C_{12}H_{20}O_2$, MW = 196,29; [115-95-7]



Vlastnosti: ester, v levandulovém oleji se nachází ve formě svého (-)-izomeru, jedná se o bezbarvou kapalinu se zřetelnou levandulově-bergamotovou vůní.

Použití: ve velké míře se používá v parfumerii, je vynikajícím materiálem pro bergamotové, šeríkové, levandulové, v malých množstvích pro citrusové vůně, díky dostatečné stabilitě v alkalickém prostředí se přidává do mýdel a detergentů.

Účinky: protisrážlivé působení, potlačuje agregaci krevních destiček vyvolanou ADP, arachidonovou kyselinou a kolagenem [52].

2.6.18 Lavandulyl acetát

$C_{12}H_{20}O_2$, MW=196,29; [25905-14-0]

Vlastnosti: ester, kapalina svěží bylinné růžové vůně. Objevuje se v (-)-formě v levandulovém oleji v koncentraci přibližně 1%.

Použití: parfumerie – levandulové vůně

2.6.19 Neryl acetát

$C_{12}H_{20}O_2$; MW = 196,29 [141-12-8]

Vlastnosti: ester, cis-izomer geranyl acetátu, bezbarvá kapalina sladce květinové vůně

Použití: v parfumerii pro květové kompozice (květ pomeranče, jasmín)

2.6.20 Geranyl acetát

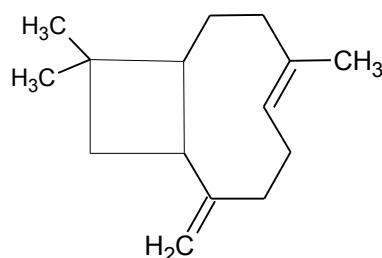
$C_{12}H_{20}O_2$; MW = 196,29 [105-87-3]

Vlastnosti: ester, kapalina s ovocně-růžovou vůní připomínající hrušky a částečně levanduli.

Použití: běžně v parfumerii pro vytvoření květinových a ovocných odstínů ale i citrusových a levandulových nádechů. V malém množství se přidává do ovocných arómat na překrytí.

2.6.21 β -karyofylen

6,10,10-trimethyl-2-methylenbicyclo[7.2.0]-5-undeken, $C_{15}H_{24}$, MW = 204,36; [87-44-5]



Výskyt: v mnoha esenciálních olejích např. hřebíčkový (*Syzygium aromaticum*) [27].

Vlastnosti: bicyklický seskviterpen, bezbarvá olejovitá kapalina s vůní podobnou hřebíčku, nejlépe se získává z hřebíčkového oleje.

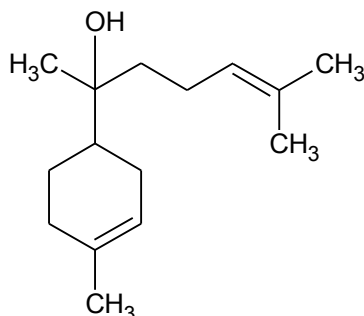
Použití: používá se jako parfém či vonná látka (např. ve žvýkačkách), dále jako ustalovač a k syntéze dalších látek.

Účinky: působí lokálně anesteticky u krys s podobným profilem působení jako prokain [53].

Cytoprotektivní efekt u žaludečních buněk krys [54].

2.6.22 α -bisabolol (levomenol)

2-methyl-6-(4-methyl-3-cyklohexenyl)-6-hepten-2-ol, C₁₅H₂₆O, MW = 222,37;[515-69-5]



Výskyt: hlavní obsahová složka heřmánkového (*Matricaria chamomilla*) esenciálního oleje, poprvé izolován roku 1951 [55].

Vlastnosti: monocyklický seskviterpenový alkohol, bezbarvá kapalina lehké květinové vůně. Silný lipofilní charakter, nerozpustná ve vodě, dobře v ethanolu. Nevykazuje toxicitu na zvířecích tkáních ani nesnižuje životaschopnost běžných astroglálních buněk [56].

Použití: zejména v kosmetickém průmyslu (krémy po holení, tělové a na ruce, deodoranty, balzámy na rty, opalovací a krémy po opalování) a v menší míře ve farmaceutickém průmyslu.

Účinky: spasmolytické, protizánětlivé, analgetické, antibiotické a protirakovinné. Induktor buněčné smrti ve vysoce zhoubných buňkách gliomu (mozkového nádoru). [56]. Dokázal prodloužit kvalitu života pacientů s mozkovým nádorem [57]. Účinný proti gram-pozitivním bakteriím, houbám a *Candida albicans* [58]. Jen slabě účinný proti zlatému stafylokokovi, *Bacillus cereus* a *Escherichia coli* [59].

2.7 BIOLOGICKÁ AKTIVITA LEVANDULE A LEVANDULOVÉHO ESENCIÁLNÍHO OLEJE [60]

Složky, které mají největší podíl na účincích levandulového oleje, jsou zejména jeho hlavní složky. Jak již bylo uvedeno výše, hlavními složkami levandulového oleje jsou linalool, linalyl acetát, eukalyptol (1,8-cineol), β -ocimen, terpinen-4-ol a kafr, β -felandren a karyofylen.

2.7.1 Neurologické účinky

Terapeuticky aktivní je aromaterapie a to díky působení levandulové vůně při její inhalaci na lidskou psychiku. Efekty dostavující se po aplikaci velmi pravděpodobně působí přes limbický systém, zejména amygdalu a hipokampus. Přesný buněčný mechanismus není

znám, ačkoli jeden autor předpokládá, že levandule působí podobně jako benzodiazepiny a zesiluje působení GABA-kyseliny v amygdale [61]. Jiní autoři zjistili, že linalool inhibuje uvolňování acetylcholinu a mění fungování iontových kanálů v neuromuskulární ploténce [62]. Linalool i linalyl acetát se velmi rychle vstřebávají do kůže při vnější aplikaci během masáže. Maximální plazmatické hladiny dosahují po přibližně 19 minutách [63]. Obě látky jsou schopny vyvolat utlumení centrální nervové soustavy. Linalyl acetát má přitom narkotické a linalool sedativní účinky. Zklidňující účinky těchto dvou látek jsou velmi pravděpodobně základem tradičního použití levandulových polštářků k navození spánku.

Vysoký obsah kafru v levanduli (zejména druh *lav. stoechas*) může ve velkých množstvích vést ke křečím [64].

Celá řada studií se zabývala působením levandule či její hlavní složky linaloolu na aktivitu mozku nebo na skupinu specifických receptorů [65,66,67]. Význam těchto studií je však limitován, protože byly provedeny na laboratorních hlodavcích a nezohledňovaly běžné dávky a možnosti expozice levandulovému oleji v lidském měřítku.

2.7.2 Účinky při aromaterapii

2.7.2.1 Psychické působení

Levandulový olej je v dnešní době používán hlavně v aromaterapii nebo při masáží. Použití levandule tímto způsobem může být prospěšné. V roce 1993 vyzkoušela General Hospital v irském Tullamoru směs esenciálních olejů (bazalka, jalovec, levandule a majoránka) ke zlepšení spánku u starších pacientů, snížení narušování spánku a z toho vyplývající celkové zlepšení stavu a nálady. Uvedená směs olejů byla odpařována spolu s pětiminutovou masáží rukou či bez ní po dobu dvou týdnů. Zřetelně se zvýšil počet pacientů, kteří uváděli zlepšení spánku a jeho snížené narušování. [68]. Zmírnění úzkosti u pacientů na jednotce intenzivní péče bylo prověřeno minimálně jednou aplikací aromaterapie (1% *lav. angustifolia*). Interval mezi jednotlivými aplikacemi činil 24 hodin a během této doby byla prováděna psychologická, fyzická a behaviorální měření. Ve výsledku nebyly zaznamenány žádné významnější změny ve fyzickém stavu (srdeční tep a rytmus, krevní tlak, pravidelnost dechu) ani behaviorálních odezvách (například v motorice, výrazu obličeje, či v Glasgowské stupnici bezvědomí u pacientů v kómatu) mezi jednotlivými subjekty léčenými aromaterapií, masáží či odpočinkem. Výrazné zlepšení proběhlo u skupiny léčené aromaterapií v míře úzkosti a to během prvního sezení. Během dalších sezení již nebyl statisticky zaznamenán žádný výraznější posun, což podle autorů vypovídá spíše o zvýšené

účinnosti druhých terapií, nežli o ztrátě efektivnosti aromaterapie. [69]. Studie vedená u pacientů dlouhodobě hospitalizovaných na neurologii ukázala taktéž zlepšení nálady a redukci psychické úzkosti, které následovalo po aromaterapii (esenciální oleje z tea tree, rozmarýny a levandule). Studie předpokládají, že levandulová aromaterapie může zlepšit prožitky pacientů v intenzivní péči bez vedlejších škodlivých fyzických či behaviorálních projevů [70].

Několik autorů zaznamenalo spojení mezi levandulovou vůní a kladnými emočními stavy. Levandulový olej je hodnocen jako příjemný a souvisí se změnami v autonomní (vegetativní) nervové soustavě [71]. Dále během zkoumání vlivu olejových lamp a levandulového oleje na pracující a návštěvníky jednotek s rozšířenou péčí, hodnotilo 88% respondentů, že levandulový olej má pozitivní efekt a pravděpodobně by levandule byla vhodná na neutralizaci nepříjemných zápachů, které se v nemocnicích běžně vyskytují [72]. K zajímavým výsledkům dospěli Millot a Brand [73], když zjistili, že levandulová vůně ovlivňuje hladinu hlasu, kterou zvyšuje. Ke zvýšení došlo u obou pohlaví, ale u žen byl efekt výraznější. Změny hladiny hlasu souvisí se změnami na úrovni pozitivních emocí (např. radost, pocity štěstí).

Subjekty po 3 minutové aromaterapii 10% levandulovým olejem byly znatelně více uvolněny, měly lepší náladu, jejich úzkost byla redukována a na EEG (elektroencefalogram) měly zvýšenou alfa-aktivitu (uvolněnost, zvýšená ospalost) [74]. Ke stejnému výsledku, že inhalace levandule vytváří typické křivky v EEG charakteristické pro jedince „cítící se pohodlně“, došla i jiná výzkumná skupina [75]. K zajímavému závěru došel výše citovaný článek [74], kde bylo zjištěno, že levandulová aromaterapie zvyšuje rychlost a přesnost matematických výpočtů, což by teoreticky mohlo být původem historického názoru, že levandule zvyšuje inteligenci. Potvrzení pro tuto domněnku pochází ze studie, v níž jednotlivé subjekty skládaly několik testů v různých místnostech, které byly ovoněné levandulovým olejem tak slabě, že žádný ze subjektů nemohl poznat místnost ošetřenou či neošetřenou olejem. Subjekty v místnostech s levandulovým olejem dosáhly v testech lepších výsledků nežli subjekty v místnostech ošetřených jasmínovým olejem či bez jakékoliv aplikace esenciálního oleje [76]. V Austrálii v Novém Jižním Walesu byla provedena studie u pacientů s demencí. Pacientům byla poskytována 10ti až 15ti minutová masáž rukou směsí tří olejů včetně levandulového. U pacientů došlo ke zlepšení ve všech zkoumaných oblastech – celkové zlepšení nálady, zvýšení pozornosti, snížená agrese a úzkost, zkvalitnění spánku [77]. Naopak při stejné proceduře nedošlo ke zvýšení pozornosti u jedinců s poruchou učení

[78]. Výsledek této studie je však diskutabilní, jelikož zkoumanou skupinu tvořilo pouze osm subjektů a úplně chyběla kontrolní skupina.

Z uvedených dat vyplývá, že použití levandulového oleje samostatně či ve směsi olejů, má pozitivní výsledky v mnoha oblastech. Dalším kladným aspektem je jeho bezpečnost, účinnost a snadná aplikace u pacientů při vědomí či v kómatu. U místností provoněných levandulovým olejem je více pravděpodobné, že budou hodnoceny jako přívětivé, což může být přínosné ve zdravotnictví. Jediným problémem při interpretaci a opakovatelnosti těchto výsledků je absence podrobnějších informací o složení použitých směsí olejů, druhu levandulového oleje či aplikovaných objemech. Působení masáže není obvykle oddělené od působení samotné vůně oleje a zkoumané skupiny jsou obecně malé. Nicméně použití levandulového oleje spolu s masáží má znatelný přínos pro pacienty, návštěvníky a pracovníky v mnoha zdravotnických zařízeních.

2.7.2.2 Působení na bolest

Aromaterapie by mohla být účinná při léčbě chronické či nepoddajné bolesti, zejména při použití olejů bohatých na eukalyptol (např. levandule), které mohou mít docela dobré analgetické účinky [79]. Hovoří o několika studiích demonstrujících schopnost aromaterapie, s použitím masáže či bez ní, redukovat vnímavost bolesti a tím i potřebu běžných analgetik u dospělých i dětí. Autorem citované studie jsou velmi malého rozsahu, nekontrolované a postrádající běžnou vědeckou důslednost spojenou s klinickými studiemi. Proto je vhodné považovat tyto výsledky za neoficiální a případové. Obdobná situace je v případě jiné studie, jež hovoří o působení masáže s levandulovým olejem na snížení vnímání bolesti, zlepšené hodnocení kvality spánku a celkové nálady u pacientů s chronickou revmatoidní artritidou [80]. Vyhodnocení bylo prováděno na základě vlastních prožitků a hodnocení samotných pacientů. Avšak na druhou stranu bylo zjištěno *in vitro* i *in vivo*, že levandulový olej a stejně tak i linalyl acetát a linalool, působí lokálně anesteticky [81]. Autoři se domnívají, že mechanismem účinku je blokáda sodíkových nebo vápníkových kanálů.

Levandule spolu s dalšími oleji pomáhá s redukcí vedlejších účinků (bolesti, ztráta vlasů, úzkost) spojených s rakovinou, tak i s její léčbou chemoterapií [82]. Obdobný pozitivní vliv má použití levandule u pacientů v paliativní péči (hospici) [83].

Chybějící podrobnosti z jednotlivých záznamů vedou k nemožnosti porovnání mezi jednotlivými výsledky, zejména v možné odlišnosti skupin. Velmi pravděpodobně se od sebe lišily i použité levandulové oleje, proto je nezbytné, aby v následujících výzkumech byly

zahrnutý i výsledky analýzy použitého oleje včetně zahrnutí například profilu oleje za použití GC/MS a procentuálního zastoupení hlavních složek oleje.

2.7.3 Dermatologické účinky

Levandulový olej má celou historii v používání k léčbě ran. Byl zaznamenán mimořádný účinek levandule v urychlení léčby ran a zmírnění tvorby jizev, k čemuž ale chybí dostatečné vědecké podklady. Levandulový olej zřejmě pomáhá zmírňovat projevy různých kožních onemocnění jako je psoriáza (lupénka), dermatitida (zánět kůže, vyrážka) a ekzém. Povrchová aplikace levandulového oleje je považována za inhibitor některých částí alergické dráhy [84].

Tak jako u jakéhokoliv esenciálního oleje tak i u levandulového, je nutné se zabývat kožní snášenlivostí a alergickými reakcemi spojenými s používáním oleje. V hojně citované práci Tisseranda a Balacse [64] týkající se úrovně zdravotní nezávadnosti levandulového oleje se ukázalo, že *Lavandula angustifolia* a *latifolia* nezpůsobují kožní alergie, ale jen velmi jemně pokožku dráždí a že *Lavandula angustifolia* nezpůsobuje fotosenzibilitu. Pro uvedené skutečnosti bohužel autoři neodkazují na důkazy podporující jejich výroky. Některé studie odhalily, že vznik kontaktní alergie je méně častý při aplikaci levandulového oleje než u jiných komerčně dostupných esenciálních olejů (např. tea tree): [85], naproti tomu jiné hovoří o dermatitidě jako běžném důsledku aplikace levandule [86]. Jedna japonská studie vedená po dobu 9ti let určila, že se přibližně u 14 % subjektů objevila kontaktní dermatitida po aplikaci levandulového oleje [87]. Autoři také poukazují na zvýšení počtu výskytu kontaktní dermatitidy spojené se zvýšeným používáním sušených levandulových produktů během posledních let jejich studie. Toto období koreluje s celosvětovým růstem užívání esenciálních olejů a lze tedy předpokládat, že kontaktní dermatitida a jiné alergické reakce se staly dominantními v přímém důsledku se zvýšeným používáním produktů. Existují záznamy o vzniku kontaktní dermatitidy po použití levandulových polštářků [88] a reakcí způsobených zkříženou citlivostí i na ostatní zástupce čeledi *Labiatae* [89].

Dětský atopický ekzém způsobený podrážděním pokožky je stresující jak pro rodiče, tak zejména pro dítě samotné. Levandule a další esenciální oleje byly testovány jako alternativa k běžným farmaceutikům (např. kortikosteroidům), které mají omezenou použitelnost. Anderson et al. [90] zkoumal míru přínosu esenciálních olejů, včetně levandulového, v léčbě ekzému užitím masáže s olejem či přidáním oleje (6 kapek směsi tří olejů v poměru 1:1:1) do koupele. Terapie trvala po dobu osmi týdnů a probíhala s malým

vzorkem dětí (16 subjektů). Zřetelné zlepšení v míře dráždivosti a nočního vyrušování u subjektů s masáží bez i s použitím esenciálního oleje. Žádný znatelný rozdíl nebyl nalezen u masáže a masáže s aromaterapií, což autor komentuje náročností oddělení účinků masáže od těch zapříčiněných aromaterapií. Zlepšení fyzických symptomů, důvěry a sebeúcty nastalo u 14ti z 15ti jedinců s mírnou až těžkou psoriázou (lupénka) po léčbě esenciálními oleji [91]. Ostatní členové rodiny měli prospěch z terapie buď inhalací vůně oleje či z asistence při aplikacích. Výsledek se může zdát výrazný, ale je nezbytné poznamenat, že se nejedná o klinickou studii a není uvedena přesná povaha léčby ani objektivní hodnocení závažnosti onemocnění před a po terapii.

Spolu s oleji z rozmarýny, cedrového dřeva a tymiánu je levandule považována za podpůrnou látku pro růst vlasů u lidí s alopecií (neinfekční onemocnění doprovázené vypadáváním vlasů a chlupů). Tímto efektem se zabýval Hay et al [92] použitím randomizované, dvojitě slepé kontrolní studie. 86 pacientů s alopecií obdrželo směs olejů z rozmarýny (*Rosmarinus officinalis* 114 mg), cedrového dřeva (*Cedrus atlantica* 94 mg), tymiánu (*Thyme vulgaris* 108 mg) a levandule (*Lavandula angustifolia* 108 mg), která jim byla aplikována na pokožku hlavy každý večer a růst vlasů byl zaznamenán v intervalech 3 a 7 měsíců. U 44 % (19 ze 43) jedinců došlo ke zlepšení v porovnání s 15 % (6 ze 41) v kontrolní skupině.

2.7.4 Účinky na jiné tělesné systémy

Mimo účinků na centrální nervovou soustavu byly u levandule v testech na zvířecích tkáních prokázány antispasmolytické (protikřečové) účinky a to na střevním a děložním hladkém svalstvu. Autoři předpokládají, že tyto relaxační účinky přispívají k relaxačnímu efektu u lidí [93]. Při hlubším zkoumání mechanismu účinku se došlo k závěru, že účinky nejsou zprostředkovány adrenergními ani acetylcholinovými receptory ani přes vápníkové či draslíkové kanály [93]. Spíš se předpokládá působení levandule skrze zvýšení obsahu nitrobuněčného cAMP. Stále však není známo, jestli je tento proces spojen s receptorovou aktivitou či nikoliv. Stejně tak dosud není zřejmé, zdali výsledný relaxační efekt u lidí je výsledkem působení na centrální nervový systém (skrze čichový a limbický systém) nebo je zprostředkován periferně. Působení na hladké svalstvo, a tedy na vasodilataci, mohou být taktéž odpovědné za levandulí způsobené snížení tlaku, jež může být připsáno linaloolu obsaženému v jejím oleji [64]. Inhalace složek esenciálního oleje (0,1 – 0,2 mg/m³ vzduchu)

vedlo ke snížení množství cholesterolu v aortě a aterosklerotického plátu [94], nevedlo však ke snížení hladiny cholesterolu v krvi.

Pro levandulový olej se našlo několik uplatnění v porodnictví, kde může být přidáván do koupele na ulevění bolesti a odstranění nepohodlí po porodu. V rozsáhlé klinické studii se ukázalo, že matky, pravidelně užívající levandulový olej, hlásily nižší úroveň nepohodlí 3 až 5 dní postnatálně [95,96]. Levandulový olej je současně používán v mnoha porodnicích pro svoje všeobecně zklidňující účinky. V minulosti se levandulový olej natíral na malou oblast zad během porodu, aby uvolnil svalové napětí nebo na břicho k podpoře vyloučení placenty. K těmto dvěma použitím však chybí jakýkoliv vědecký podklad. Nicméně inhalace levandulového oleje působí především proti úzkosti a uvolňuje, z čehož těžší zejména rodička.

Předpokládalo se, že aroma některých esenciálních olejů (např. rozmarýna, levandule) mohou působit jako ergogenní (výkon podporující) prostředky během sportovního tréninku. Welker et al. [97] tuto domněnku ověřoval. Sledoval spotřebu kyslíku, srdeční tep, změny v respiračním výměnném koeficientu (poměr vydaného CO₂ a přijatého O₂) a vnímanou námahu u skupiny 5 subjektů podstupujících submaximální (o něco nižší než je maximální testová zátěž pro danou věkovou skupinu) cvičení (chůze na běžeckém páse). Subjekty inhalovaly vůni před a následně v průběhu cvičení každé 3 minuty. Při porovnávání výsledku nebyly nalezeny žádné významné rozdíly u sledovaných parametrů mezi levandulovým olejem a jinými oleji (bazalka, rozmarýna, máta) nebo placebem. Autor předpokládá, že tyto vůně nemají žádný pozitivní dopad na fyzický výkon při submaximálním cvičení. Avšak tato práce nezahrnuje další parametry (např. maximální délku podstoupeného cvičení) nebo jakýkoli psychologický prospěch, který mohl zvýšit a nepřímo zlepšit výkon. Navíc výsledky ukazují, že během cvičení subjekty hodnotily námahu na úrovni 8 – 9 na desetistupňové škále, kde 10 odpovídalo minimální námaze. Subjekty podstupovaly jen minimální zátěž. Studie fyzické odpovědi na cvičení (hand-grip, zatínání pěsti) odhalila, že při inhalaci příjemných vůní (volba vůně podle individuálních preferencí subjektů z levandule, citrónu, růže a dalších) během cvičení vedla k významnému poklesu diastolického krevního tlaku [98]. Žádné jiné parametry (např. systolický tlak, dechová frekvence, tep v prstech) nebyly ovlivněny. Bohužel nebyly vyvinuty snahy odlišit efekty jednotlivých olejů. Jiná skupina taktéž selhala při hledání efektu levandulové aromaterapie na kardiovaskulární charakteristiky (krevní tlak, srdeční frekvence, pulzní tlak) během regenerace po středně náročném cvičení [99]. Autoři však nemohli dosáhnout statisticky významných hodnot, jelikož testování prováděli na malé skupině respondentů (10 subjektů), nemusí se tedy

zaručeně jednat o absenci účinků. Problém malých skupin byl zaznamenán všemi autory a je přetrvávající bariérou v určení existence pozitivních dopadů levandulového či jiného oleje na cvičení či regeneraci po cvičení.

2.7.5 Antimikrobiální účinky

Výzkumy prokázaly účinnost levandule proti celé řadě bakterií a hub. Levandule je použitelná v boji proti bakteriím rezistentním vůči antibiotikům. In vitro byl levandulový olej účinný už v koncentracích pod 1% proti *Staphylococcus aureus*, který byl rezistentní vůči methacillinu, a *Enterococcus faecalis*, s rezistencí na vancomycin [100].

Samotný olej i jeho výpary prokázaly jistou fungicidní aktivitu. Olej v koncentraci 1 a 10 % potlačil klíčení konidií a růst klíčkových trubiček plísně šedé (*Botrytis cinerea*) [101]. Nicméně produkce konidií u *Penicillium digitatum* nebyla levandulí nijak ovlivněna až do koncentrací 1000 $\mu\text{g/ml}$. [102]. *Lavandula angustifolia* projevuje silnější inhibiční účinek na růst klíčkových trubiček než na růst hyf. Jeden článek se zabýval růstem čtyř druhů vláknitých hub, jejichž růst byl potlačen více kontaktem s olejem v plynné fázi než s jeho roztokem. [103]. Příčinou je přímá vazba plynného oleje na vzdušné/reprodukční mycelium (podhoubí), které tvoří reprodukční orgán schopný vylučovat spory. Vazba vzniká i při kontaktu s roztokem, ale pouze ve velmi malé míře. Po přezkoumání aktivity dvou hlavních složek oleje se došlo k závěru, že linalyl acetát je schopen potlačovat tvorbu spor, zatímco linalool tuto schopnost postrádá, ale je efektivní jako inhibitor klíčení a růstu houby.

Levandulové výpary prokázaly inhibiční schopnost mycelárního růstu u kropidláku zakouřeného (*Aspergillus fumigatus*). Účinek se projevoval jenom po dobu, kdy byl vzorek vystaven výparům a nezbytná dávka (63 $\mu\text{g/ml}$ vzduchu) byla srovnatelná s tea tree olejem, ale vyšší než u lemon grass, skořice a tymiánu [104]. Potlačení apikálního růstu kontaktem s výpary bylo připsáno přímému uložení esenciálního oleje na houbovém podhoubí spolu s nepřímým účinkem absorpce přes agarové médium. Obdobně inhiboval levandulový olej v dávce 10 – 20 $\mu\text{g/ml}$ vzduchu klíčivost a prodlužování hyf u trichofytonu kožního (*Trichophyton mentagrophytes*) a trichofytonu červeného (*Trichophyton rubrum*) [105]. Stanovisko autorů je, že antibakteriální ošetření výpary má nad ošetřením roztokem ty výhody, jako je nižší spotřeba esenciálního oleje a také potenciální inhibiční působení na tvorbu spor. Důležitým faktorem růstové inhibice při ošetření výpary je koncentrace výparů a doba trvání ošetření. Největší účinnosti bylo dosaženo při aplikaci výparů v raných stádiích vývoje při maximální koncentraci výparů a udržování vysoké koncentrace výparů po delší

časové úseky se ukázalo jako nepotřebné. Efektivní koncentrace výparů linaloolu proti trichofytonu kožnímu byla stanovena na 0,7 $\mu\text{g/ml}$ vzduchu [105].

V současnosti jsou celosvětově vedeny výzkumy na izolaci a identifikaci chemických složek obsažených v levandulovém oleji. Výzkumy by měly odhalit zejména možnosti synergického účinku směsí s různými poměry složek. Bylo prokázáno, že ne vždy souvisí antimikrobiální účinky s obsahem majoritních složek a že zatím víme jen velmi málo o vzájemném synergickém účinku jednotlivých složek esenciálního oleje. Například studie zaměřené na vztah antimikrobiální aktivity a chemického složení levandule nenalezly žádné spojení mezi obsahem linaloolu či linalyl acetátu a antibakteriální či fungicidní aktivitou [106]. Ve skutečnosti však byla mezi použitými oleji značná odlišnost ve složení. Například levandule bulharského původu (51,9 % linalool, 9,5 % linalyl acetát) byla účinná proti 23 z 25 bakterií, zatímco levandule francouzského původu (29,1 % linalool, 43,2 % linalyl acetát) byla účinná pouze proti 13ti bakteriím. Oba tyto oleje měly rozdílnou aktivitu proti houbám – kropidláku černému (*Aspergillus niger*) a srpovničce stéblové (*Fusarium culmorum*). Zajímavé je, že vzorky extrahované z bulharské levandule dvěma různými metodami, tj. destilací vodní parou a superkritickou extrakcí oxidem uhličitým, měly stejnou antibakteriální aktivitu, ale odlišnou fungicidní účinnost. Předpokládá se, že tato odlišnost, způsobená vyextrahováním rozdílných látek jednotlivými metodami, tkví v odpovídající aktivitě jiných složek levandulového oleje. Linalool jako hlavní složka, je schopný inhibovat 17 z 18 bakterií (Gram-negativní a Gram-pozitivní) a 10 z 12 hub (vláknité a nevláknité) proti nimž byl testován [107].

Levandule, tea tree a citron, resp. jejich esenciální oleje, byly podrobeny testu účinnosti proti dvěma houbám (*Candida* sp., *Aspergillus niger*) a dvěma bakteriím (*Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*). V hodnotách MIC (minimální inhibiční koncentrace) se oleje mezi sebou výrazně nelišily. V antifungálních účincích ležela levandule mezi citronem a tea tree, jenž měl aktivitu nejnižší. U bakterií byla levandule z těchto tří olejů nejméně účinná a citrón měl nejvyšší účinnost [108].

V rozsáhlé studii, věnující se působení esenciálních olejů proti 25ti bakteriálním rodům pro 50 různých esenciálních olejů, se autoři věnovali i levanduli [109]. Levandule byla nejúčinnější proti *Enterococcus faecalis*, naproti tomu u *Klebsiella pneumoniae* vedla její aplikace ke zvýšení růstu. V rámci své studie se autoři věnovali i působení některých hojných složek esenciálních olejů. Výsledky pro levandulový olej a její složky je uveden v tab. 5.

Tab. 5: Antibakteriální aktivita levandulového oleje a jeho 4 složek proti 25-ti rodům bakterií, uvedené hodnoty vystihují průměr inhibiční zóny, uvedena v *mm*, hodnoty jsou průměrem tří měření [109].

Organismus	Lev. olej	Limonen	Linalool	α -Pinen	β -Pinen
<i>Acinetobacter calcoacetica</i>	10,0	4,0	9,3	4,0	11,2
<i>Aeromonas hydrophila</i>	8,0	4,0	11,5	4,0	7,1
<i>Alcaligenes faecalis</i>	4,0	4,0	12,1	4,0	7,8
<i>Bacillus subtilis</i>	12,5	4,0	14,0	4,0	4,0
<i>Beneckea natriegens</i>	4,0	4,0	11,4	4,0	6,5
<i>Brevibacterium linens</i>	8,5	4,0	12,5	4,0	4,0
<i>Brocothrix thermosphacta</i>	5,5	4,0	8,1	4,0	5,9
<i>Citrobacter freundii</i>	8,5	7,8	27,5	6,0	5,9
<i>Clostridium sporogenes</i>	4,0	10,3	20,3	5,7	7,5
<i>Enterobacter aerogenes</i>	7,5	7,1	9,7	4,0	4,0
<i>Enterococcus faecalis</i>	14,0	4,0	16,7	9,2	7,8
<i>Erwinia carotovora</i>	6,0	7,4	12,3	8,7	4,0
<i>Escherichia coli</i>	7,5	11,2	13,8	8,9	7,8
<i>Flavobacterium suaveolens</i>	4,0	10,6	15,7	6,5	8,4
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	*	7,0	12,6	8,1	7,9
<i>Lactobacillus plantarum</i>	7,5	4,0	25,3	4,0	4,0
<i>Leuconostoc cremoris</i>	4,0	4,0	4,0	4,0	4,0
<i>Micrococcus luteus</i>	9,5	4,0	13,4	7,6	6,3
<i>Moraxella</i> sp.	9,0	7,9	10,3	6,2	4,8
<i>Proteus vulgaris</i>	9,0	7,4	12,2	7,5	6,6
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	4,0	4,0	4,0	4,0	6,5
<i>Salmonella pullorum</i>	7,0	11,2	7,5	7,9	6,0
<i>Serratia marcescens</i>	7,5	6,5	8,8	4,0	5,4
<i>Staphylococcus aureus</i>	8,0	4,0	9,0	8,3	7,4
<i>Yersinia enterocolitica</i>	9,0	7,1	9,5	6,6	5,8

* podporuje růst

Účinek levandulového oleje proti bakteriálnímu rodu *Bacillus* byl zkoumán spolu s cibulovým olejem. Ačkoliv byl baktericidní účinek levandule slabší oproti cibuli, tak se spektrum bakterií, na něž levandule působí, projevilo jako širší, dokonce zahrnovalo i některé členy druhu *Salmonella* [110, 109].

Novější studie se zabývala působením levandulového oleje proti bakteriím způsobujícím respirační onemocnění. Do studie bylo zahrnuto celkem 12 různých esenciálních olejů. Účinek byl studován proti *Streptococcus pyogenes*, *Streptococcus agalactiae*, *Streptococcus pneumoniae*, *Klebsiella pneumoniae*, *Haemophilus influenzae*, *Staphylococcus aureus* a *Stenotrophomonas maltophilia*. Ze zkoumaných olejů byla levandule vyhodnocena jako čtvrtá nejúčinnější. V rámci studie se autoři podrobněji zabývali pouze třemi nejúčinnějšími oleji, tj. skořicovým, tymiánovým a hřebíčkovým. Na rozdíl od některých olejů byla levandule účinná proti všem studovaným druhům bakterií [111]. Tato práce předkládá místo pro další zkoumání.

Vyšetřování antimikrobiální aktivity in vitro s sebou nese často několik problémů. Při zjišťování těchto účinků u levandule či jiných esenciálních olejů se jednotlivé články mezi sebou liší hlavně velkou škálou použitých metod. Většina zahrnuje diskovou či jamkovou difúzní metodu na agaru a diluční bujónovou metodu. Tyto metody byly dostatečně vyvinuté, aby vyhovovaly měření antibakteriální aktivity, a jsou běžně používané v testech antibakteriální citlivosti. Je nezbytné poznamenat, že látky běžně používané v uvedených testech jsou obecně hydrofilní, proto musí testy být přizpůsobeny této vlastnosti. Esenciální oleje jsou však těkavé, nerozpustné ve vodě, viskózní a jejich složení je komplexní. Výše zmíněné jednoduché testy jsou z těchto důvodů pro esenciální oleje nevhodné. Rozdíly v provedení zahrnují faktory jako je množství očkovací látky, použité médium, tmely (těsnění), povrchově aktivní látky (tenzidy) a rozpouštědla (Tween, dimethylsulfoxid a ethanol). Například pokud se zamezilo vypařování esenciálního oleje během inkubace, byla minimální inhibiční koncentrace (MIC) proti testovaným houbám (*Aspergillus fumigatus*, *Candida albicans* and *Trichophyton mentagrophytes*) redukována více než 2 – 8 krát oproti testům s volným přístupem vzduchu, přidání Tween 80 (polyoxyethylensorbitanmonooleát E-433) způsobilo růst MIC (proti *Aspergillus fumigatus*) 2 – 4 krát [105]. Je zřejmé, že pro potřeby hodnocení aktivity esenciálních olejů je nezbytné nalézt standardní, robustní a reprodukovatelnou metodu, neboť současně používané metody postrádají zejména standardizaci, což takřka znemožňuje přímé srovnání mezi výsledky z různých publikací.

Další komplikací u srovnávání výsledků je v chybějících detailech o původu levandule, jejíž olej byl zkoumán a také o metodách jeho izolace. Existuje totiž dosti pestrá

škála antimikrobiálních účinků různých kultivarů levandule, z nichž některé mají vynikající antimikrobiální účinky a jiné vykazují nulovou antimikrobiální i antifungální aktivitu. Z toho vyplývá závislost antimikrobiálního působení levandule na růstových podmínkách (podloží, klima, apod.) a použité destilační technice [60].

Ačkoliv jsou antimikrobiální účinky známy, zůstává otázka ohledně klinického využití levandulového oleje. In vitro aktivita je srovnatelná s aktivitou tea tree oleje. Minimální inhibiční koncentrace je pro *Lavandula angustifolia* uváděna jako 0,16 % proti *Haemophilus influenzae*, 0,32 % proti *Streptococcus pyogenes* a *aureus* a v hodnotách nad 0,32 % proti *Escheria coli* [112]. Tyto hodnoty poukazují, že ačkoliv nemusí být levandule terapeuticky účinná proti hlubokým infekcím, tak by mohla být užitečná jako profylaktický a lokální prostředek při povrchových infekcích.

Dalším důležitým faktorem, který musí být vzat v úvahu u klinických testů, jsou efekty jako imunostimulace, protizánětlivé a další farmakologické efekty levandulového oleje, jenž se podílí na zotavení z infekce. Ačkoli je levandule antimikrobiálně aktivní in vitro, neexistují dosud publikované výsledky z in vivo studií a klinické testy prováděné na lidech jsou limitované a neprůkazné. Například jeden výzkum zkoumal potenciál esenciálních olejů působit preventivně proti infekcím u pacientů s bronchitidou [113]. Preventivní dávka činila 20 kapek směsi olejů (máta, hřebíček, tymián, skořice a levandule) byla podávána 3x denně po dobu 5 měsíců. Celkový počet infekcí a jejich charakter u léčené skupiny nebyl ovlivněn, naopak frekvence recidiv byla výrazně snížena.

2.7.6 Pesticidní účinky

Zdokumentován je účinek linaloolu a samotného levandulového oleje proti svrabu, například proti „ušnímu svrabu“ u králíků, který je způsoben prašivkou králíčí (*Psoroptes cuniculi*). Účinek byl při přímém styku látky s roztočem, ale i při inhalaci těkavých látek [114]. Rozdrcený list a květ levandule může být použit k odpuzování roztočů, pilouse černého (*Calabdra granaria*), který se živí obilnými zrny, mšic a molu šatního [114,115,116]. Ukazuje se také, že levandule má potenciální účinek proti psoroptóze u ovcí, způsobené prašivkou ovčí (*Psoroptes ovis*) [117].

Účinnost levandulového esenciálního oleje byla prověřována i proti klíštěti (*Rhipicephalus annulatus* – klíště žijící v Asii, Americe a severní Africe, přenáší prvoka způsobujícího texaskou horečku u skotu [118]). K měření byl použit roztok oleje o různých koncentracích (0 – 8%) v 60% ethanolu. K usmrcení všech klíšťat v Petriho misce byla

potřeba minimální koncentrace 6% oleje, která taktéž eliminovala množství nakladených vajíček na nulu [119].

Velkým problémem pro včelaře je roztoč *Varroa Destructor* (kleštík včelí), který je schopen systematicky zlikvidovat celé včelstvo a je podezřelý z přenášení virových onemocnění obdobným způsobem jako klíště obecné u člověka. V dnešní době se z látek obsažených v esenciálních olejích využívá thymol (esenciální olej *Thymus vulgaris*) [120]. Levandulový esenciální olej prokázal ze čtyř zkoumaných olejů největší specifitu účinku na roztoče s jen minimálním účinkem na včelu (*Apis mellifera*). Letální koncentrace pro roztoče dosahovala 9% oleje v 96% ethanolu a pro včelu byla tato koncentrace stanovena nad 20% [121].

Levandulový olej spolu s dalšími oleji (eukalyptus, citrón, rozmarýna) byl ve směsi použit proti dětské vši (*Pediculus humanus capitis*), která se však ukázala nevhodná pro in vitro testování a pro tyto potřeby byla použita veš šatní (*Pediculus humanus*). Oleje a některé jejich složky (α -pinen, kamfen a terpineol) byly velmi účinné. Testy in vivo byly provedeny u 12ti dětí, kdy byla aplikována 5% směs olejů v krému a účinnost byla taktéž vysoká [122].

Spolu s tea tree a citrónovým esenciálním olejem byl zkoumán in vitro účinek levandule proti prachovému roztoči (*Dermatophagoides pteronyssinus*), který je častým původcem astmatu zejména u dětí. Po přímém kontaktu roztoče s olejem na filtračním papíru došlo po 30 min k znehybnění a po 2 hod. k usmrcení. Účinnost levandule ležela mezi tea tree oleje a citrónovým, jehož účinek byl nejnižší [123].

Testy byly prováděny i proti dalším druhům parazitů, kteří se však vyskytují mimo střední Evropu, a proto zde nebudou více diskutovány (např *Diaphorina citri* Kuwayama – asijský parazit na citrusích) [124].

2.7.7 Toxické účinky

Z toxikologického hlediska je nejrizikovější vytvoření kontaktní dermatitidy u citlivějších osob [125]. Výskyt dermatitid byl zaznamenán u kadeřnic pracujících se šampóny a dalšími kosmetickými produkty obsahujícími mimo jiné i levandulový esenciální olej. Projevy alergie se u nich vyskytovaly na rukou a reagovaly silněji právě na produkty s levandulovým olejem i na olej samotný [126]. Náplast'ové alergologické testy ukázaly řadu alergických reakcí spojených s fotosenzibilizací a rovněž byl zaznamenán výskyt pigmentace [126,127]. Dermatitidy se vyskytovaly i při inhalaci esenciálního oleje [128] a na obličejí po používání levandulových polštářků [88].

Toxikologický profil studovaný pracovní skupinou BIBRA [129] byl pro levanduli vyhodnocen, že způsobuje žádné či jen slabé podráždění při aplikaci na lidskou či zvířecí pokožku, ale způsobuje u lidí její zcitlivění, fotosenzibilizaci a pigmentaci. Hlavním účinkem po perorální, parenterální či inhalační aplikaci u hlodavců byla sedace.

Pro podezření na cytotoxicitu byl levandulový olej podroben in vitro testům spolu s linalolem a linalyl acetátem, jako jeho hlavními složkami. Testy byly provedeny na fibroblastech a endotelových buňkách, protože jsou považovány za důležité v iniciaci zánětlivé reakce, tak jako všechny epidermální keratinocyty. Použité buněčné kultury byly fibroblasty 153BR, HNDF a endotelové buňky HMEC-1. Levandulový olej spolu s linalolem vykazovaly velmi podobné výsledky, kdežto linalyl acetát byl vůči fibroblastům daleko více toxický, více než olej samotný. Autoři předpokládají, že v oleji je obsažena komponenta, která působí proti cytotoxickému působení linalyl acetátu [130].

Při studiu genotoxicity u lidských lymfocytů se došlo k závěru, že linalool ji nevykazuje, kdežto linalyl acetát ano. Linalool, jakožto metabolit linalyl acetátu, přichází metabolickými změnami o genotoxické účinky mateřské molekuly [131].

2.7.8 Souhrn

Účinky v oblasti aromaterapie jsou spíše psychologického efektu s psychosomatickým dopadem na tělesné systémy. Více než skutečný účinek látek se při této alternativní léčbě projeví změny spojené s očekáváním jednotlivých subjektů. Ve valné většině prací zaměřených na aromaterapii chybí složení oleje, které je velmi proměnlivé. Za jisté působení se dá považovat pouze relaxační efekt a účinek proti úzkostem, tedy vyvolání pocitu příjemné nálady.

Levandulový olej se řadí mezi středně silné antimikrobiální prostředky. Je schopná inhibovat růst nebo rozmnožování některých druhů plísní. Proti některým bakteriím je baktericidní nebo bakteriostatická. Za antimikrobiálním působením levandule stojí zejména její hlavní složky – linalool a linalyl acetát.

Působení proti roztočům prokázalo její pesticidní účinky a zvláště slibné výsledky byly pozorovány při působení proti roztoči *Varroa*, kdy levandulový olej působil selektivně na roztoče a neměl vliv na včelu medonosnou. V této oblasti je však nezbytný další výzkum. Další testování by bylo vhodné i proti prachovému roztoči a dětské vši s nalezením optimálního množství oleje a možnosti komerčního využití.

Z toxikologického hlediska je při aplikaci kosmetických produktů obsahujících levandulový olej potřeba sledovat kožní reakce u citlivých osob, jelikož je možná tvorba dermatitid, pigmentace a vznik fotosenzibility.

2.8 METODY IZOLACE OLEJE ČI JEHO SLOŽEK PRO POTŘEBY ANALYTICKÉHO TESTOVÁNÍ

Výše popsaná destilace vodní parou je využitelná zejména pro zpracování velkých množství rostlinného materiálu, jak je tomu v komerční produkci. Pro destilaci menších množství oleje může posloužit destilační aparatura vytvořená ze sudu, jak je uvedeno na obr. 7. Přesto je tato aparatura vytvořená pro příliš velké množství rostlin, než s jakým se běžně pracuje v rámci analýzy.

Pro potřeby analytického testování byly vyvinuty různé metody analýzy složek oleje včetně metod pro izolaci oleje přímo z rostlinného materiálu. Do analytické laboratoře je většinou dodána bylina buď čerstvě nasbíraná, nebo častěji usušená na suchém vzduchu. Jelikož jsou olejové žláзки lehce poškoditelné, musí se zajistit, aby při sběru a sušení nedošlo k jejich nadměrnému poškození a ztrátě oleje pro analýzu. Těkavé složky oleje můžeme zachytit na porézním uhlíkovém vlákne extrakcí tuhou fází. Olej můžeme extrahovat i do alkoholů (methanol, ethanol) či jiných organických rozpouštědel a samotnou maceraci urychlit použitím ultrazvuku. Velmi hojnou metodou extrakce je vodní destilace a nadkritická fluidní extrakce oxidem uhličitým. Do metod izolace oleje byly zahrnuty i modernější technologie, jako například využití mikrovlnné energie.

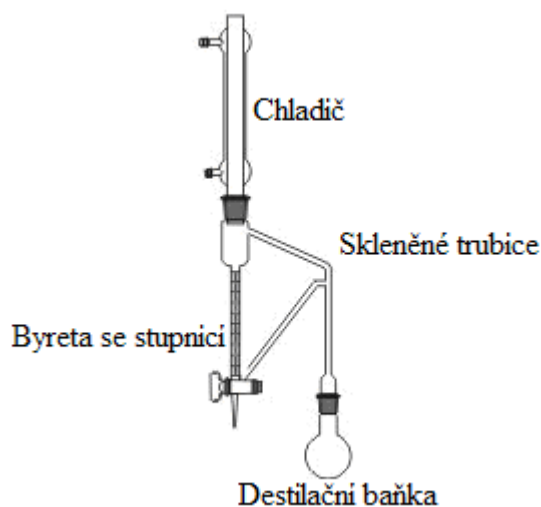
Samotná analýza složek oleje probíhá nejčastěji pomocí plynové chromatografie s připojeným hmotnostním spektrometrem. Dále se využívá kapalinové chromatografie nebo různých modifikací plynové chromatografie.

2.8.1 Hydrodestilace

Pro laboratorní účely jsou komerčně vyráběné skleněné destilační aparatury pro destilaci oleje z malých množství rostlinného materiálu. Hojně využívanou je Clevengerova aparatura (obr. 14). Destilační proces probíhá po dobu 2 až 3 hodin bez ohledu na množství materiálu, jež se pohybuje od 50 do 250 g. Získaný olej po odseparování od vody se suší bezvodým síranem sodným (0,5 g). Do analýzy se uchovává v tmavých vzduchotěsných nádobách při teplotách 5 – 8 °C. [132,133,121,134,135].

Obr. 14: Clevengerova aparatura pro hydrodestilaci.

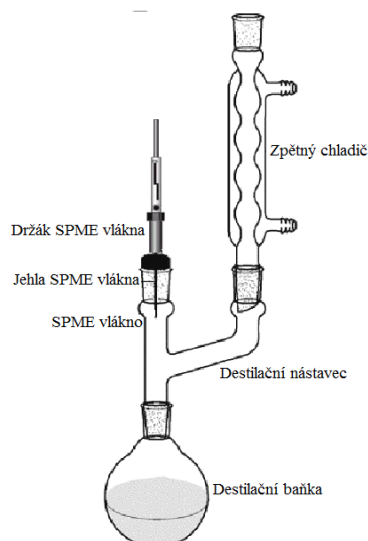
(zdroj: <http://www.glasscolabware.com/laboratory-glassware/products.php?p=eea247>)



2.8.2 Mikroextrakce

Skupina zahrnuje dvě hojně používané metody – mikroextrakci tuhou fází (SPME) a mikroextrakci jednou kapkou. Obě metody při této aplikaci extrahují složky z plynného prostoru nad rostlinným materiálem nebo esenciálním olejem (tzv. headspace). Mikroextrakci tuhou fází lze provádět bez spojení s hydrodestilací, čímž se extrahují těkavé složky uvolňované z materiálu na dně nádoby. Při spojení s hydrodestilací (obr. 15) se zachytí i méně těkavé složky oleje. Rozpouštědlo používané při metodě jedné kapky může být *n*-hexadekan, *p*-xylen. Výhodami obou metod je menší množství potřebného rostlinného materiálu (půl gramu až několik desítek gramů). Doba extrakce je srovnatelná s dobou průběhu hydrodestilace. [133,136,137,138].

Obr. 15: Nákres aparatury pro mikroextrakci na tuhou fázi ve spojení s hydrodestilací [137].

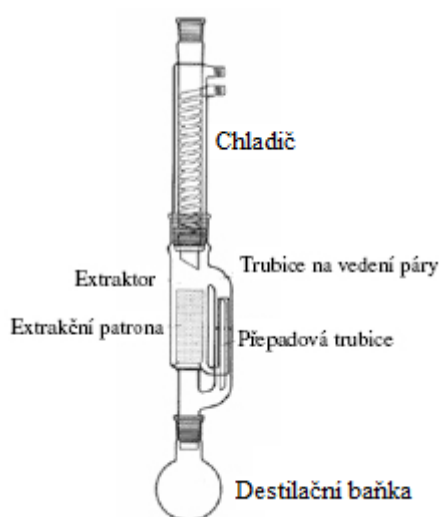


2.8.3 Alkoholový extrakt

Složky z rostlinného materiálu jsou extrahovány do methanolu (MeOH) nebo ethanolu, jež bývají často spolu ve směsi s vodou v různých poměrech. Používá se rozdrcený rostlinný materiál, který je možno extrahovat v Soxhletově extraktoru (Obr. 16) nebo v uzavíratelné nádobě v ultrazvukové lázni. Obě metody mohou pracovat se stejným množstvím rostlinného materiálu (cca 2 g). Soxhletova extrakce je časově více náročná (několik hodin až dny), kdežto ultrazvuková extrakce probíhá přibližně půl hodiny až hodinu. Získaný extrakt se následně filtruje či centrifuguje, separuje a koncentruje. Rozdíl je i ve spotřebě rozpouštědla, jehož se spotřebuje mnohonásobně více při Soxhletově extrakci [132,138].

Obr. 16: Nákres Soxhletova extraktoru

(zdroj: <http://www.ped.muni.cz/wchem/sm/hc/labtech/pages/soxhlet.html>):



2.8.4 Fluidní extrakce oleje nadkritickým oxidem uhličitým

Oxid uhličitý se stal nejvíce používaným extrakčním plynem, díky nízké hodnotě kritických veličin ($T_k = 31,1^\circ\text{C}$ a $p_k = 7,38 \text{ MPa}$), tak schopnosti rozpouštět širokou škálu polárních i nepolárních sloučenin. Pro použití této metody je potřeba speciální aparatury (obr. 17), které jsou již komerčně dostupné, a je možnost spojení fluidní extrakce s plynovou chromatografií či jinou vhodnou analytickou metodou. Hlavními výhodami je ovlivnitelnost extrakčních vlastností a selektivity extrakce pro určité látky pouze ovlivněním teploty a tlaku, nízká cena extrakčního média a jeho zdravotní nezávadnost. Pro zvýšení polarity

média je možný přídavek např. methanolu jako modifikátoru. Doba extrakce je přibližně půl hodiny. Množství vzorku se pohybuje v řádu několika gramů [132,139,138,140].

2.8.5 Izolace oleje s využitím mikrovlnné energie

Zahrnutí mikrovlnné energie vede k výraznému zkrácení extrakční doby destilačních metod (hydrodestilace, vakuová destilace, destilace vodní parou) na několik minut až půl hodiny. Mikrovlnná energie umožňuje efektivnější zahřívání a jeho lepší ovládání, rychlejší počáteční ohřev a přeměny energie a redukci extrakčních kroků. Metody založené na mikrovlnné energii jsou neustále ve vývoji, zejména v oblasti optimalizace a komerční produkce extrakčních aparatur. Hlavním přínosem mikrovlnné technologie je ve výrazném snížení časové náročnosti izolace oleje z rostlinného materiálu, který je v případě využití tradičních postupů několikahodinovým procesem [15,138,140].

3. EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST

3.1 POMŮCKY A PŘÍSTROJE

V rámci praktické části byly použity tyto přístroje a pomůcky:

- plynový chromatograf Agilent 6890, Agilent Technologies, USA
- hmotnostní spektrometr Agilent 5973N, Agilent Technologies, USA
- křemenná kapilární kolona HP-5ms (30 m x 0,25 mm x 0,25 μ m),
- MSD ChemStation E.01.00
- knihovna spekter NIST08
- vlákno pro SPME extrakci (85 μ m CarboxenTM/PDMS StableFlexTM, SULPECO, USA)
- nosný plyn – He 5.0. Siad, Itálie
- centrifuga Eppendorf 5702, USA
- analytické váhy Mettler toledo, NewClassic MS205S, Švýcarsko
- ultrazvuková lázeň, Merci, ČR
- automatické mikropipety
- laboratorní sklo, plastové špičky, krimpovací vialky (1,8 ml)

3.2 POSTUP MĚŘENÍ

Měření bylo provedeno u tří vzorků levandule (*lavandula angustifolia*) vlastního sběru ze tří míst České republiky. Vzorek č. 1 ze Starého Města pod Sněžníkem (okres Jeseník), vzorek č. 2 z Velkých Opatovic (okres Blansko) a vzorek č. 3 z Olomouce (okres Olomouc). Navážka jednoho gramu vzorku byla rozdrcena, vložena do vialky a uzavřena gumovým víčkem. Po provedení mikroextrakce na tuhou fázi se k rostlinnému materiálu přidaly 4 ml methanolu a vialky se vložily do ultrazvukové lázně, kde extrakce probíhala 30 min. Odebrané 2 ml methanolového roztoku byly přeneseny do ependorfeč a centrifugovány. Supernatant byl následně převeden do krimpovací vialky a s pomocí krimpovacích kleští zavíčkovan.

Všechna měření byla provedena na plynovém chromatografu Agilent 6890 s hmotnostním detektorem Agilent 5973 (Agilent Technologies, Palo Alto, USA). Při analýze kapalných vzorků byl dávkován 1 μ l vzorku metodou pulzního dávkování (140 kPa, 24 s) bez děliče toku. Teplota nástřiku byla nastavena na 280°C. Jako nosný plyn bylo použito helium s průtokem 0,9 ml/min. Separace byla provedena na kapilární koloně HP-5ms o délce

30 m, vnitřním průměru 0,25 mm a s tloušťkou filmu 0,25 μm s teplotním programem 50°C - 2 min - 10°C/min - 300°C - 15 min. Hmotnostní spektrometr využíval pozitivní ionizaci elektronem (70 eV). Hmotnostní spektra byla snímána v rozsahu 29 – 520 m/z. Sorpce na SPME vlákne probíhala 1 hodinu při laboratorní teplotě, desorpce byla provedena v nástřikovém prostoru plynového chromatografu při teplotě 250°C a analyty byly separovány s teplotním programem 50°C - 2 min - 5°C/min - 300°C - 5 min.

3.3 VÝSLEDKY

3.3.1 Analýza levandule

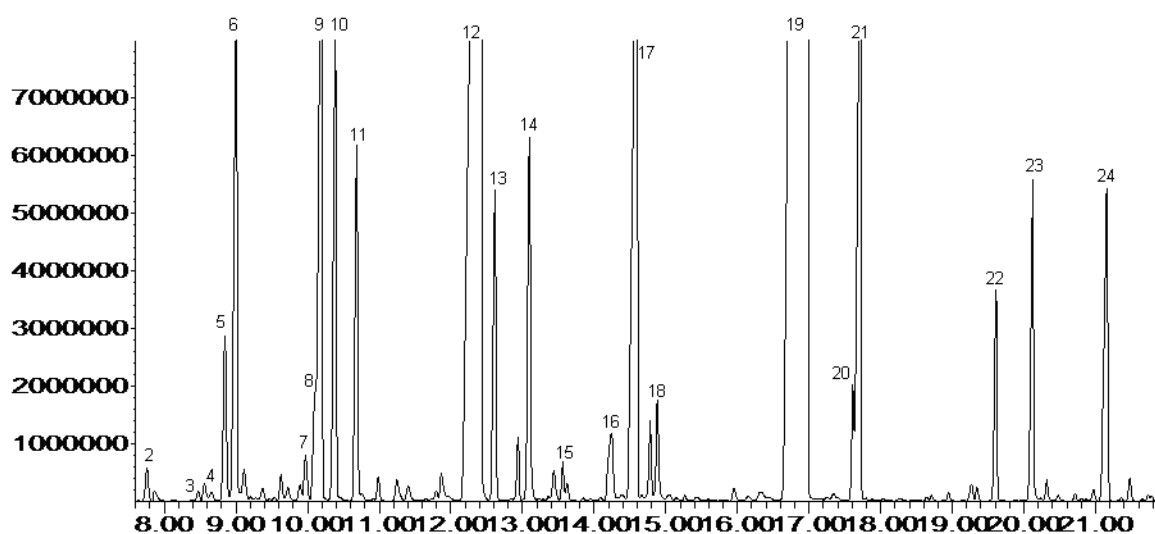
Navážky vzorků byly 1,17 g (vzorek č. 1) a 1,13 g (vzorek č. 2 a 3). Po vložení jednotlivých vzorků do vialek a uzavření gumovým víčkem, byl do vialky vloženo SPME vlákno. Extrakce probíhala 60 min. Vlákno bylo poté vytaženo z vialky a vloženo do plynového chromatografu Agilent 6890 v místě k tomu určeném. Po desorpci látek z vlákna byl postup opakován u všech vzorků. Výsledné chromatogramy získané touto extrakční metodou zachycují obr. 17a, 18a, 19a pro vzorek č. 1, resp. 2 a 3. Tabulky 6a, 7a, 8a obsahují seznam detekovaných látek s jejich pořadovým číslem, jak byly eluovány v příslušném chromatogramu, a příslušným retenčním časem.

Po ukončení SPME extrakce byly ke vzorkům přidány 4 ml methanolu. Uzavřené vialky byly následně vloženy do ultrazvukové lázně, v níž extrakce probíhala po dobu 30 min. Odebrané 2 ml extraktu byly v jednotlivých ependorfkách centrifugovány po dobu 15 min. Supernatant z každého extraktu byl přenesen do příslušné krimpovací vialky a uzavřen víčkem. Analýza probíhala na plynovém chromatografu Agilent 6890. Získané chromatogramy jsou uvedeny na obr. 17b, 18b, 19b pro vzorek č. 1, resp. 2 a 3. Tabulky 6b, 7b, 8b obsahují seznam detekovaných látek s jejich pořadovým číslem, jak byly eluovány v příslušném chromatogramu, a příslušným retenčním časem.

3.3.1.1 Vzorek č. 1

Obr. 17a: Chromatogram získaný analýzou SPME vzorku č. 1:

Abundance



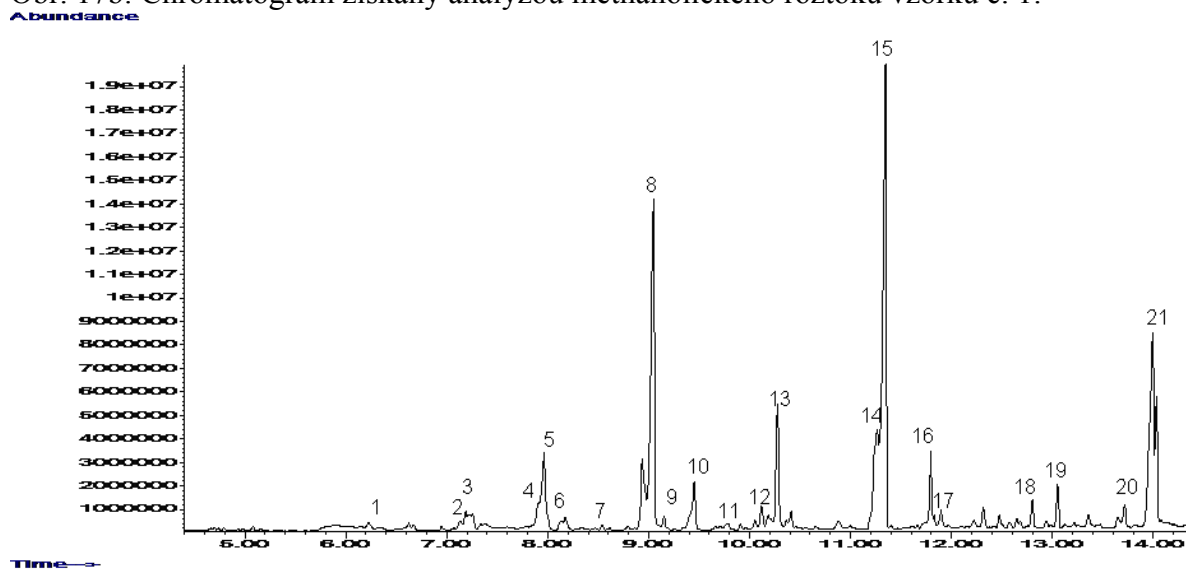
Time →

Tab. 6a: Chemické složení vzorku č. 1 získané analýzou SPME.

P.č.	Látka	Retenční čas [min]
1	α -pinen	7,339
2	kamfen	7,767
3	β -felandren	8,470
4	β -pinen	8,560
5	3-oktenon	8,847
6	β -myrcen	8,999
7	o-ocymen	9,989
8	d-limonen	10,101
9	eukalyptol	10,186
10	E-ocimen	10,388
11	Z-ocimen	10,678
12	linalool	12,425
13	okten-3-yl acetát	12,616
14	alloocimen	13,106
15	kafr	13,561

16	borneol	14,259
17	α -terpineol	14,597
18	hexyl butyrát	14,884
19	linalyl 2-aminobenzoát	16,928
20	bornyl acetát	17,612
21	lavandulyl acetát	17,713
22	Z-linalyl acetát	16,609
23	E-linalyl acetát	20,121
24	karyofylen	21,156

Obr. 17b: Chromatogram získaný analýzou methanolického roztoku vzorku č. 1:



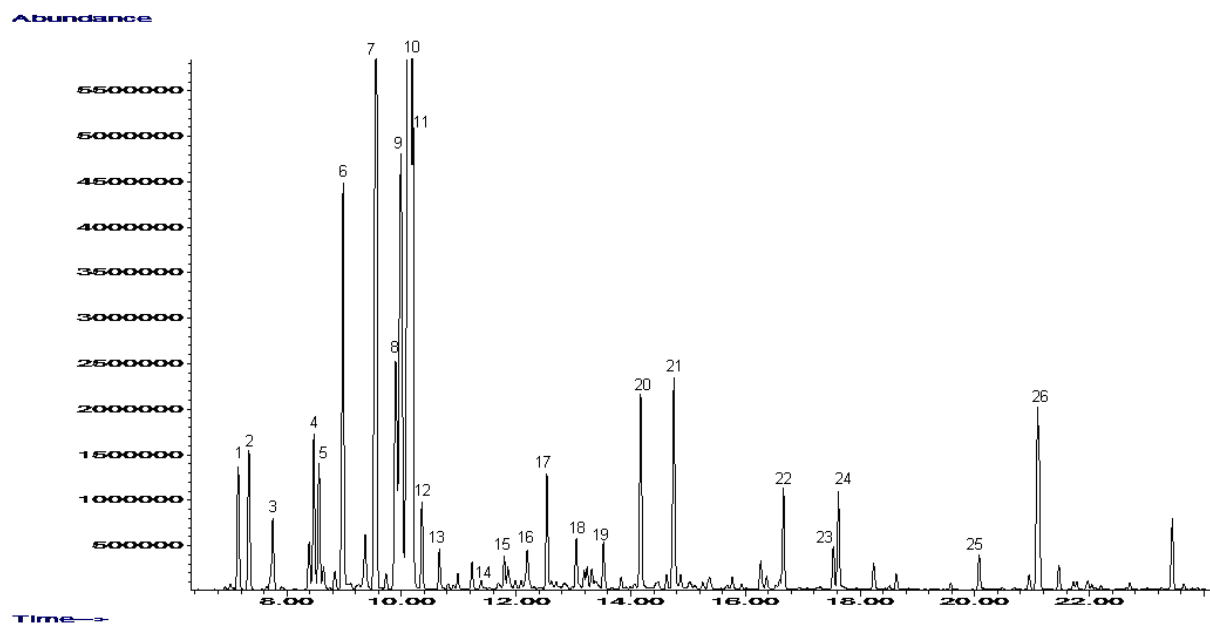
Tab. 6b: Chemické složení vzorku č. 1 získané analýzou methanolického roztoku.

P. č.	Látka	Retenční čas [min]
1	α -pinen	6,348
2	3-oktanon	7,181
3	β -myrcen	7,260
4	d-limonen	7,851
5	eukalyptol	7,963
6	ocimen	8,177
7	cis- β -terpineol	8,543
8	linalool	9,049
9	okten-3-yl acetát	9,150
10	alloocimen	9,454
11	kafr	9,797
12	borneol	10,118
13	terpinen-4-ol	10,275
14	linalyl acetát	11,260
15	linalyl 2-aminobenzoát	11,339
16	lavandulyl acetát	11,794
17	bornyl acetát	11,828

18	Z-geranyl acetát	12,801
19	E-geranyl acetát	13,049
20	karyofylén	13,719
21	kumarin	13,994

3.3.1.2 Vzorek č. 2

Obr. 18a: Chromatogram získaný analýzou SPME vzorku č. 2:

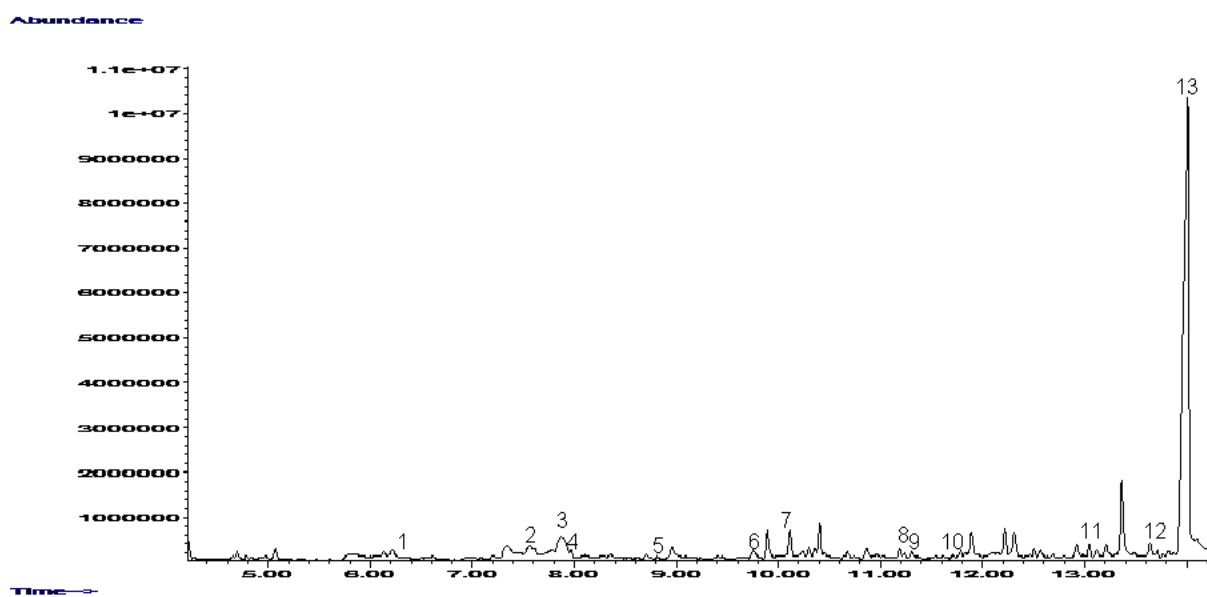


Tab. 7a: Chemické složení vzorku č. 2 získané analýzou SPME.

P. č.	Látka	Retenční čas [min]
1	α -felandren	7,165
2	α -pinen	7,336
3	kamfen	7,756
4	β -felandren	8,470
5	β -pinen	8,560
6	β -myrcen	8,999
7	3-karen	9,556
8	o-cymen	9,899
9	p-cymen	9,988
10	d-limonen	10,175
11	eukalyptol	10,197
12	E-ocimen	10,360
13	Z-ocimen	10,664
14	terpineol	11,232
15	4-karen	11,795
16	linalool	12,194

17	okten-3-yl acetát	12,555
18	alloocimen	13,050
19	kafr	13,522
20	borneol	14,175
21	4-methylcyklohex-2-en-1-on	14,771
22	linalyl 2-aminobenzoát	16,667
23	bornyl acetát	17,539
24	lavandulyl acetát	17,624
25	linalyl acetát	20,076
26	karyofylen	21,129

Obr. 18b: Chromatogram získaný analýzou methanolického roztoku vzorku č. 2:

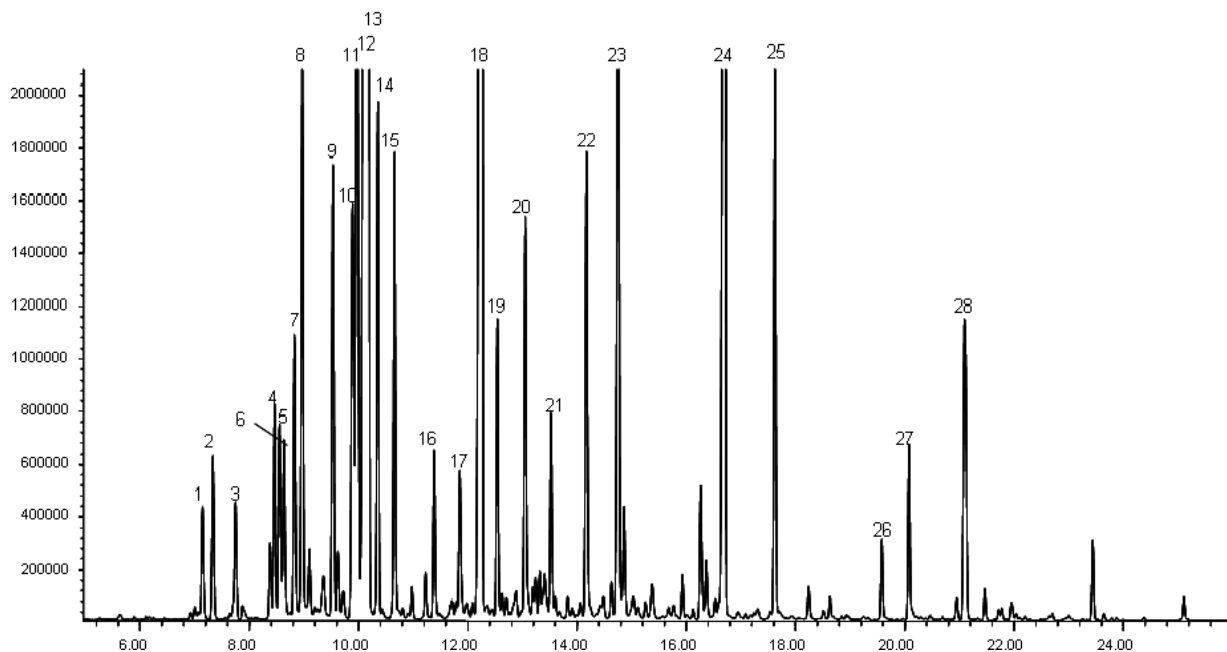


Tab. 7b: Chemické složení vzorku č. 2 získané analýzou methanolického roztoku.

P. č.	Látka	Retenční čas [min]
1	α -pinen	6,339
2	3-karen	7,558
3	d-limonen	7,839
4	eukalyptol	7,963
5	linalool	8,959
6	kafr	9,752
7	borneol	10,112
8	linalyl acetát	11,299
9	linalyl 2-aminobenzoát	11,305
10	lavandulyl acetát	11,789
11	E-geranyl acetát	13,043
12	karyofylén	13,713
13	kumarin	14,011

3.3.1.3 Vzorek č. 3

Obr. 19a: Chromatogram získaný analýzou SPME vzorku č. 3.

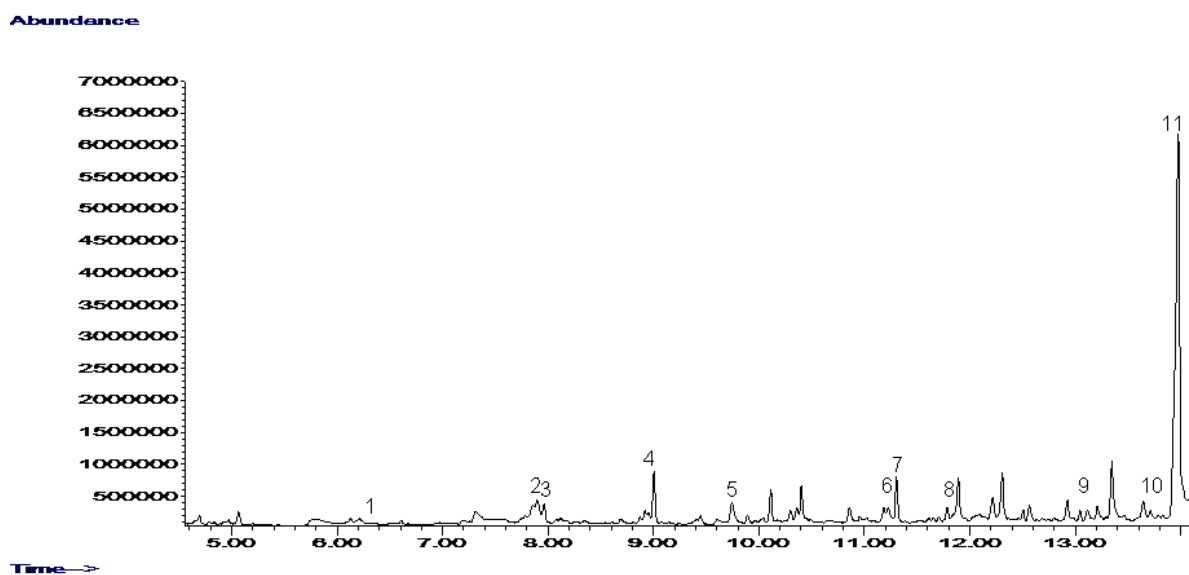


Tab. 8a: Chemické složení vzorku č. 3 získané analýzou SPME.

P. č.	Látka	Retenční čas [min]
1	α -felandren	7,142
2	α -pinen	7,334
3	kamfen	7,750
4	β -felandren	8,465
5	β -pinen	8,555
6	okten-3-ol	8,633
7	3-oktanon	8,825
8	β -myrcen	8,965
9	3-karen	9,533
10	o-cymen	9,888
11	p-cymen	9,972
12	d-limonen	10,124
13	eukalyptol	10,180
14	E-ocimen	10,355
15	Z-ocimen	10,659

16	trans-linalool oxid	11,384
17	cis-linalool oxid	11,351
18	linalool	12,262
19	okten-3-yl acetát	12,538
20	alloocimen	13,050
21	kafr	13,522
22	borneol	14,169
23	4-methyl cyklohex-2-en-1-on	14,754
24	linalyl 2-aminobenzoát	16,712
25	lavandulyl acetát	17,024
26	Z-linalyl acetát	19,581
27	E-linalyl acetát	20,077
28	karyofylen	21,117

Obr. 19b: Chromatogram získaný analýzou methanolického roztoku vzorku č. 3.



Tab. 8b: Chemické složení vzorku č. 3 získané analýzou methanolického roztoku.

P. č.	Látka	Retenční čas [min]
1	α -pinen	6,326
2	d-limonen	7,856
3	eukalyptol	7,963
4	linalool	9,004
5	kafr	9,747
6	linalyl 2-aminobenzoát	11,226
7	linalyl acetát	11,305
8	lavandulyl acetát	11,789
9	E-geranyl acetát	13,049
10	karyofylén	13,713
11	kumarin	13,977

3.3.2 Vyhodnocení vybraných markerů

Na základě literární rešerše byla za markery vybrána skupina šesti látek. Jejichž přítomnost v oleji byla ověřena analýzou. Tuto skupinu tvoří tyto látky:

- α -pinen
- d-limonen
- eukalyptol
- linalool
- kafr
- linalyl acetát.

Tab. 9 a 10 zachycují plochy píků příslušných markerů z SPME a methanolického extraktu. U vzorků č. 2 a 3 došlo v methanolickém extraktu k nedostatečnému odseparování látek. Proto pro neodseparované markery byla plocha píku určena pomocí charakteristických iontů zastoupených v jejich hmotnostním spektru. Pro α -pinen a linalool se jednalo o iont 93, pro kafr jím byl iont 152. Hodnoty ploch pro charakteristické ionty zachycuje pro SPME tab. 11a, resp. 11b pro methanolický extrakt.

Tab. 9: Plochy píků odpovídající jednotlivým markerům z SPME, hodnoty jsou uváděny v řádu 10^6 .

Marker	Vz. č. 1	Vz. č. 2	Vz. č. 3
α -pinen	6,02	37,78	15,36
d-limonen	36,44	551,68	296,00
eukalyptol	337,73	94,76	137,74
linalool	1834,13	10,20	305,09
kafr	14,68	11,41	16,55
linalyl acetát	227,66	9,97	21,06

Tab. 10: Plochy píkù odpovídající jednotlivým markerům z methanolového extraktu, hodnoty jsou uváděny v řádu 10^6 .

Marker	Vz. č. 1	Vz. č. 2	Vz. č. 3
α -pinen	1,17	-	0,15
d-limonen	2,21	1,87	4,35
eukalyptol	21,00	2,02	4,61
linalool	326,06	-	10,19
kafr	2,00	-	-
linalyl acetát	123,81	0,62	105,79

Tab. 11a: Plochy píkù odpovídající charakteristickým iontům jednotlivých markerů z SPME, hodnoty jsou uváděny v řádu 10^6 .

Marker	Vz. č. 1	Vz. č. 2	Vz. č. 3
α -pinen [93]	1,71	8,83	3,70
linalool [93]	202,37	0,69	33,13
kafr [152]	0,78	0,62	0,90

Tab. 11b: Plochy píkù odpovídající charakteristickým iontům jednotlivých markerů z methanolového extraktu, hodnoty jsou uváděny v řádu 10^6 .

Marker	Vz. č. 1	Vz. č. 2	Vz. č. 3
α -pinen [93]	0,47	0,24	0,07
linalool [93]	33,30	0,02	0,04
kafr [152]	0,09	0,01	0,02

3.4 DISKUZE

Z uvedených dat je zřejmé, že by látky d-limonen, eukalyptol a linalyl acetát mohly být vhodnými markery kvality levandule, které by bylo možné analyzovat i např. plamenovým ionizačním detektorem. Tyto látky byly snadno detekovatelné při obou metodách. Pinen, linalool a kafr by bylo možné použít jedině v případě možnosti extrahovat jejich charakteristické ionty, což v případě použití plamenového ionizačního detektoru nelze. Pro získání přesnějších parametrů pro jednotlivé markery je nezbytný hlubší výzkum a větší množství jednak vzorků rostlin tak zejména větší množství měření. Na výsledky by pak byly aplikovány statistické metody, jež by vedly k získání patřičných závěrů.

Tab. 12: Poměry vybraných markerů v jednotlivých vzorcích pro obě metody.

Marker	Vzorek č. 1		Vzorek č. 2		Vzorek č. 3	
	SPME	MeOH	SPME	MeOH	SPME	MeOH
α -pinen	1	1	3	-	1,1	1
d-limonen	6	2	55	3	19	29
eukalyptol	56	18	10	3,3	9	32
linalool	304	279	1,02	-	20	70
kafr	2	1,7	1,2	-	1	-
linalyl acetát	37	106	1	1	1,4	726

Ze získaných dat je zřejmá odlišnost v jednotlivých vzorcích v poměrech zastoupených látek (tab. 12). Nejvýrazněji se liší vzorek č. 2. Tato skutečnost by mohla poukazovat na možnost, že se jedná o jiný kultivar rostliny *Lavandula angustifolia*. Další důvod pro odlišnosti může být rozdílné složení navážek, kdy se v jednotlivých vzorcích lišily poměry květů a jiných částí rostliny. Nezanedbatelná bude pravděpodobně i „zralost“ rostliny popřípadě i důsledek odlišných klimatických podmínek, v nichž levandule rostly. Tyto faktory by bylo vhodné zohlednit v dalším výzkumu. V rámci budoucího studia markerů pro charakteristiku levandule by mohly být mezi markery zahrnuty i další látky, např. β -myrcen, borneol, karyofylen či některý z přítomných esterů.

Vliv na volbu markerů bude mít i použitá metoda extrakce. Data v této práci poukazují, že lepších výsledků se pro vybrané těkavé látky dosahovalo při použití SPME. Při extrakci alkoholem dochází k vyplavení i dalších látek, ty mohou překrýt píky markerů.

4. ZÁVĚR

Ze skupiny šesti vybraných markerů se tři projevíly jako vhodné kandidáti pro charakterizaci levandule. Tato trojice zahrnuje d-limonen, eukalyptol a linalyl acetát. Jejich separace byla dostatečná při obou použitých extrakčních metodách a s jejich detekcí nebyly žádné problémy. U druhé trojice látek – α -pinenu, linaloolu a kafru, byla situace komplikovanější. U methanolického roztoku došlo k nedokonalému odseparování těchto látek a jejich detekce musela být provedena s využitím jejich charakteristických iontů z hmotnostního spektra. V případě prvních dvou látek se jednalo o iont 93 a u kafru iont 152. Tato trojice látek se zdá být méně vhodnou, jelikož by nemusely být látky detekovatelné např. plamenovými ionizačními detektory. Pro celou skupinu šesti látek je však nezbytný další výzkum, který by blíže specifikoval parametry pro tyto látky (kvantita, procentuální zastoupení, vzájemné poměry, apod.) i faktory ovlivňující jejich přítomnost v rostlině. Popřípadě by do dalšího výzkumu mohly být zahrnuty i další obsahové látky.

Teoretická část, věnující se levanduli z více oblastí lidského poznání, přináší mnoho faktů vycházejících z různých klinických testů či vědeckých studií. S nalezením vhodných markerů pro charakterizaci levandule včetně jejich parametrů by bylo možné dosáhnout většího přínosu mnoha vědeckých prací, jelikož dostatečná charakterizace testovaných rostlin v celé řadě prací úplně chybí. Dále je možné využít předložených faktů k výzkumům zaměřeným více do oblasti biologických účinků levandule a jejího esenciálního oleje nebo jako teoretického podkladu pro tyto výzkumy.

5. LITERATURA

- [1] Hendrych R. 1977. *Systém a evoluce vyšších rostlin*. SPN. Praha.
- [2] Hejný S., Slavík B., et al. 1997. *Květena České republiky 1*. Akademie věd ČR. Praha. 2. vydání. ISBN 80-200-0643-5.
- [3] Slavík B., Štěpánková J., et al. 2009. *Květena České republiky 7*. Akademie věd ČR. Praha. Vyd. 1. ISBN 80-200-1161-7
- [4] Lis-Balchin M., et al. 2002. *Lavender, The genus Lavandula*. Taylor & Francis, London a New York.
- [5] Polívka F. 1912. *Klíč k úplné květeně zemí koruny české*. R. PROMBERGER. Olomouc.
- [6] Tisserand R., Jünemann M. 1994. *The Magic and Power of Lavender*. Lotus Light Publications, Wilmot USA. ISBN: 0-941524-88-4.
- [7] Discorides. 2000. *De materia Medica*. IBIDIS Press. Johannesburg. South Afrika. ISBN 0-620-23435-0
- [8] Bingen von H., Throop P. 1998. *Hildegard von Bingen's Physica: The Complete English Translation Of Her Classic Work On Health And Healing*. Healing Art Press. ISBN 978-1-59477-775-2.
- [9] Matthioli P.O. 2005. *Herbář neboli Bylinář*. Svazek 1. Levné knihy KMa. Praha. ISBN 80-7309-095-3.
- [10] Tisserand R. 1985. *The Art of Aromatherapy*, Revised edition. C.W. Daniel Co. Ltd, Saffron Walden.
- [11] Veselý Josef. 2001. *Magie*. Nakladatelství Vodnář. Praha. ISBN: 80-86226-30-1.
- [12] Westwood C. 1991. *Aromatherapy. A Guide for Home Use*. Amberwood Publishing Ltd. Dorset.
- [13] Weiss, E.A. 1997. *Essential Oil Crops*. CAB International, Abington.
- [14] Peter K.V. 2009. *Handbook of herbs and species Volume 2*. Woodhead Publishing. Cambridge, England. ISBN: 1-85573-721-3.
- [15] Farhat A., Ginies Ch., Romdhane M., Chemat F. 2009. Eco-friendly and cleaner process for isolation of essential oil using microwave energy. Experimental and theoretical study. *Journal of Chromatography A* **1216**: 5077-5085.
- [16] Ognyanov I. 1984. Bulgarian lavender oil and Bulgarian lavandin oil. *Perfumery and Flavors* **8**: 29-41.

- [17] Karetnikova A.I., Kustova S.D., Fedulova I., Karpova T.I. 1969. Composition of the alcohol part of lavender oil. *Maslo-Zhir. Prom.* **35**: 23-25
- [18] Le Men J., Pourrat H. 1953. Distribution of ursolic acid among the Labiatae. *Ann. Pharm. Fr.* **11**: 190-192.
- [19] Džubák P., Šarek J., Cwiertka K., Hejdúch M., Vydra D. 2004. Biologické účinky triterpenoidů: Protizánětlivé, antimikrobiální, hepatoprotektivní, analgetické a další farmakologické aktivity. *Klinická farmakologie a farmacie* **18**: 96-101.
- [20] Fahlbusch, K.-G. 2003. Flavors and Fragrances. *Ullmann's Encyclopedia of Industrial Chemistry*
- [21] Eggersdorfer, M. 2000. Terpenes. *Ullmann's Encyclopedia of Industrial Chemistry*
- [22] Budavari S, 1996. *The Merck Index*, 12th edition, Whitehouse station, NJ: Merck.
- [23] Harborne JB, Baxter H., 1993. *Phytochemical Dictionary: A Handbook of Bioactive Compounds from Plants*. London; Washington, DC: Taylor & Francis.
- [24] Marhold J. 1986. *Přehled průmyslové toxikologie – organické látky*, Svazek 1. Avicenum. Praha.
- [25] Marhold J. 1986. *Přehled průmyslové toxikologie – organické látky*, Svazek 2. Avicenum. Praha.
- [26] Ozbek H., Ugras S., Dulger H. et al. 2003. Hepatoprotective effect of Feoniculum vulgare essential oil. *Fitoterapia* **74**: 317-319.
- [27] Hoffmann D. et al, 2003. *Medicinal Herbalism: The Science and Practise of Herbal Medicine*, Rochester, Vermont. Healing Art Press, ISBN-978-089281749-8
- [28] Bodake H., Panicker K., Kailaje V., Rao V. 2002. Chemopreventive effect of orange oil on the development of hepatic preneoplastic lesions induced by N-nitrosodiethylamine in rats: an ultrastructural study. *Indian Journal of Experimental Biology* **40**: 245-251.
- [29] Guyton K., Kenslor T. 2002. Prevention of liver cancer. *Current Oncology Reports* **4**: 464-470.
- [30] Jiri R., Parija T., Das B. 1999. d-Limonene chemoprevention of c-myc. *Oncology Reports* **6**: 1123-1127.
- [31] Crowell PL, Gould MN. 1994. Chemoprevention and therapy of cancer by d-limonene. *Critical Review in Oncogenesis* **5**: 1-22

- [32] Crowell PL, Siar Ayoubi A, Burke YD, 1996. Antitumorigenic effects of limonene and perillyl alcohol against pancreatic and breast cancer. *Advances in Experimental Medicine and Biology* **401**: 131-136
- [33] Igimi H, Tamura R, Toraiishi K, et al. 1991. Medical dissolution of gallstones. Clinical experience of d-limonene as a simple, safe, and effective solvent. *Digestive Diseases and Sciences* **36**: 200-208.
- [34] Stratton S., Dorr R., Alberts D. 2000. The state-of-the-art in chemoprevention of skin cancer. *European Journal of Cancer* **36**: 1292-1297.
- [35] Homburger F., Treger A., Boger E. 1971. Inhibition of murine subcutaneous and intravenous benzo(a)pyrene carcinogenesis by sweet orange oils and D-limonene. *Oncology* **25**: 1-10.
- [36] Guang L., Feng B., Zhan L., Yu Z. 2003. D-limonene induces apoptosis of gastric cancer cells. *Zhonghua Zhong Liu Za Zhi (Chinese Journal of Oncology)* **25**: 325-327.
- [37] Guang L., Li-Bin Z., Bing-An F., Ming-Yang Q., Li-Hua Y., Ji-Hong X. 2004. Inhibition of growth and metastasis of human gastric cancer implanted in nude mice by D-limonene. *World Journal of Gastroenterology* **10**: 2140-2144.
- [38] Kaji I., Tatsuta M., Iishi H, Baba M., Inoue A., Kasugai H. 2001. Inhibition by d-limonene of experimental hepatocarcinogenesis in Sprague-Dawley rats does not involve p21(ras) plasma membrane association. *International Journal of Cancer* **93**: 441-444.
- [39] Del Toro-Arreola S., Flores-Torales E., Torres-Lozano C et al. 2005. Effect of D-limonene on immune response in BALB/c mice with lymphoma. *International Immunopharmacology* **5**: 829-838.
- [40] Zhang Z., Chen H., Chan K.K., Budd T., Ganapathi R. 1999. Gas chromatographic-mass spectrometric analysis of perillyl alcohol and metabolites in plasma. *Journal of Chromatography B: Biomedical Sciences and Applications* **728**: 85-95.
- [41] Lantry L.E., Zhang Z., Gao F., Crist K.A., Wang Y., Kelloff G.J., Lubber R.A. You M. 1997. Chemopreventive effect of perillyl alcohol on 4-(methylnitrosamino)-1-(3-pyridyl)-1-butanone induced tumorigenesis (C3H/HeJ X A/J)F1 mouse lung. *Journal of Cellular Biochemistry* **27**: 20-25.

- [42] Reddy B. S., Wang C.X., Samaha H., Lubber R., Steele V.E., Kelloff G.J., Rao C.V. 1997. Chemoprevention of colon carcinogenesis by dietary perillyl alcohol. *Cancer Research* **57**: 420-425.
- [43] Karlberg A.T., Dooms-Goossens A. 1997. Contact allergy to oxidised D-limonene among dermatitis patients. *Contact Dermatitis* **36**: 201-206.
- [44] Moteki H., Hibasami H., Yamada Y., Katsuzaki H., Imai K., Komiya T. 2002. Specific induction of apoptosis by 1,8-cineole in two human leukemia cell lines, but not in human stomach cancer cell line. *Oncology Reports* **9**: 757-760.
- [45] Atanassova-Shopova S., Roussinov K. S., Boycheva I. 1973. On certain central neurotopic effects of lavender essential oil. II. Communication: Studies on the effect of linalool and of terpineol. *Izv. Inst. Fiziol. Bulg. Akad. Nauk.* **15**: 149-156.
- [46] Goodman LS, Gilman A. 1985. *The Pharmacological Basis of Therapeutics*, 7th edition, New York: Macmillan.
- [47] Calcabrini A., Stringaro A., Toccaceli L et al. 2004. Terpinen-4-ol, the main component of *Melaleuca alternifolia* (tea tree) oil inhibits the in vitro growth of human melanoma cells. *Journal of Investigative Dermatology* **122**: 349-360.
- [48] Lahlou S. Leal-Cardoso J., Duarte G. 2003. Antihypertensive effects of the essential oil of *Alpinia zerumbet* and its main constituent, terpinen-4-ol, in DOCA-salt hypertensive conscious rats. *Fundamental & Clinical Pharmacology* **17**: 323-330.
- [49] May J., Chan C., King A., Williams L., French G. 2000. Time-kill studies of tea tree oils on clinical isolates. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy* **45**: 639-643.
- [50] Hart P., Brand C., Carson C., Riley T., Prager R., Finlay-Jones J. 2000. Terpinen-4-ol the main component of the essential oil of *Melaleuca alternifolia* (tea tree oil), suppresses inflammatory mediator production by activated human monocytes. *Inflammation Research* **49**: 619-626.
- [51] Brand C., Townley S., Finlay-Jones J. Hart P. 2002. Tea tree oil reduces histamine-induced oedema in murine ears. *Inflammation Research* **51**: 283-289.
- [52] Ballabeni V., Tognolinia M., Chiavarinia M., et al. 2004. Novel antiplatelet and antithrombotic activities of essential oil from *Lavandula hybrida* Reverchon 'grosso'. *Phytomedicine* **11**: 596-601.
- [53] Ghelardini C., Galeotti N. 2001. Local Anaesthetic activity of β -caryophyllene. *Il Farmaco* **56**: 387-389.

- [54] Tambe Y., Tsujiuchi H., Honda G., Ikeshivo Y., Tanaka S. 1996. Gastric cytoprotection of the non-steroidal anti-inflammatory sesquiterpene β -caryophyllene. *Planta Medica* **62**: 469-470.
- [55] Kamatou G. P. P., Viljoen A. M. 2010. A review of the application and pharmacological properties of α -bisabolol and α -bisabolol-rich oils. *Journal of the American Oil Chemists' Society* **87**: 1-7.
- [56] Cavalieri E., Mariotto S., Fabrizi C et al. 2004. α -Bisabolol, a nontoxic natural compound strongly induces apoptosis in glioma cells. *Biochemical and Biophysical Research Communications* **318**: 589-594.
- [57] Tan P., Zhong W., Cai W. 2000. Clinical study on treatment of 40 cases of malignant brain tumor by elemene emulsion injection. *Zhongguo Zhong Xi Yi Jie He Za Zhi* (Chinese Journal of Integrated Traditional and Western Medicine) **20**: 645-648.
- [58] Duke J.A., Bogenschutz-Godwin M.J., DuCellier J., Duke P.-A.K. 2002. *Handbook of medicinal herbs*, 2nd edition. CRC Press, Boca Raton.
- [59] Van Zyl R.L., Seatholo S.T., Van Vuuren S.F., Viljoen A.M. 2006. The biological activities of 20 nature identical essential oil constituents. *Journal of Essential Oil Research* **18**: 129-133.
- [60] Cavanagh H.M.A., Wilkinson J.M. 2002. Biological Activities of Lavander Essential Oil. *Phytotherapy Research* **16**: 301-308
- [61] Tisserand R. 1988. Lavander beats benzodiazepines. *International Journal of Aromatherapy* **1**: 1-2
- [62] Re L, Barocci S, Sonnino S et al, 2000, Linalool modifies the nicotinic receptor-ion channel kinetics at the mouse neuromuscular junction. *Pharmacological Research* **42**: 177-182
- [63] Jager W, Buchbauer G, Jirovetz L, Fritzer M. 1992. Percutaneous absorption of lavender oil from a massage oil. *Journal of the Society of Cosmetic Chemists* **43**: 49-54
- [64] Tisserand R, Balacs T, 1999, Essential oil safety. *A Guide for Health Care Professionals*. Harcourt: Glasgow.
- [65] Elisabetsky E., Marschner J., Souza DO. 1995. Effect of linalool on glutamatergic system in rat cerebral cortex. *Neurochemical Research* **20**: 461-465.
- [66] Elisabetsky E., Brem LT., Souza DO. 1999. Anticonvulsant properties of linalool in glutamate-related seizure models. *Phytomedicine* **6**: 107-113.

- [67] Hamada K., Mimaki T., Sashida Y. 1994. Anticonvulsive effect of inhaling lavender oil vapour. *Biological and Pharmaceutical Bulletin* **17**: 358-360.
- [68] Graham C. 1995. Complementary therapies: In the scent of a good night's sleep. *Nursing Standard* **9**: 21.
- [69] Dunn C, Sleep J, Collett D. 1995. Sensing an improvement: an experimental study to evaluate the use of aromatherapy, massage and periods of rest in an intensive care unit. *Journal of Advanced Nursing* **21**: 34-40
- [70] Walsh E, Wilson C, 1999. Complementary therapies in long-stay neurology in-patients settings. *Nursing Standard* **13**: 32-35
- [71] Alaoui-Ismaili O, Vernet-Maury E, Dittmar A, Delthomme G, Chanel J. 1997. Odor hedonics: connection with emotional response estimated by autonomic parameters. *Chemical Senses* **22**: 237-248
- [72] Tysoe P. 2000. The effect on staff of essential oil burners in extended care settings. *International Journal of Nursing Practice* **6**: 110-112.
- [73] Millot J-L., Brand G. 2001. Effect of pleasant and unpleasant ambient odours on human voice pitch. *Neuroscience Letters* **29**: 61-63.
- [74] Diego MA, Jones NA, Field T. et al. 1998. Aromatherapy positively affects mood, EG patterns or alertness and math computations. *International Journal of Neuroscience* **96**: 217-224.
- [75] Masago R., Matsuda T., Kikuchi Y., Miszabi Y., Iwanaga K., Harada H., Ketsuura T. 2000. Effects of inhalation of essential oils on EEG activity and sensory evaluation. *Journal of Physiological Anthropology and Applied Human Science* **19**: 35-42.
- [76] Degel J, Koster EP, 1999. Odors: Implicit memory and performance effects. *Chemical Senses* **24**: 317-325
- [77] Kilstoff K, Chenoweth L. 1998. New approaches to health and well-being for dementia day-care clients, family carers and day-care staff. *International Journal of Nursing Practise* **4**: 70-83.
- [78] Lindsay WR, Pitcaithly D, Geelen N, Buntin L, Broxhome S, Ashby M. 1997. A comparison of the effects of four therapy procedures on concentration and responsiveness in people with profound learning disabilities. *Journal of Intellectual Disability Research* **41**: 201-207
- [79] Buckle J. 1999. Use of aromatherapy as a complementary treatment for chronic pain. *Alternative Therapies In Health And Medicine* **5**: 42-51

- [80] Brownfield A. 1998. Aromatherapy in arthritis: a study. *Nursing Standard* **13**: 34-35
- [81] Ghelardini C, Galeotti N, Salvatore G, Mazzanti G. 1999. Local anaesthetic activity of the essential oil of *Lavandula angustifolia*. *Planta Medica* **65**: 700-703
- [82] Nelson NJ. 1997. Scents or nonsense: Aromatherapy's benefits still subject to debate. *Journal of The National Cancer Institute* **89**: 1334-1336.
- [83] Kite Sm, Maher EJ, Anderson K et al. 1998. Development of an aromatherapy services at a Cancer Centre. *Palliative Medicine* **12**: 171-180.
- [84] Kim HM., Cho SH. 1999. Lavender oil inhibits immediate-type allergic reaction in mice and rats. *Journal of Pharmacy and Pharmacology* **51**: 221-226.
- [85] Thomson KF, Wilkinson SM. 1998. Positive patch tests to plant extracts in patients with cosmetic dermatitis. *British Journal of Dermatology* **139**: 90.
- [86] Clinical. 2000. Natural cosmetics may cause dermatitis, say dermatologists. *Pharmacological Journal* **264**: 503.
- [87] Sugiura M, Hayakawa R, Kato Y, Sugiura K, Hashimoto R. 2000. Results of patch testing with lavender oil in Japan. *Contact Dermatitis* **43**: 157-160
- [88] Coulson IH, Khan AS. 1999. Facial 'pillow' dermatitis due to lavender oil allergy. *Contact Dermatitis* **41**: 111
- [89] Benito M, Jorro G, Morales C, Peláez A, Fernández A. 1996. Labiatae allergy: systemic reactions due to ingestion of oregano and thyme. *Annals of Allergy, Asthma & Immunology* **76**: 416-418
- [90] Anderson C, Lis-Balchin M, Kirk-Smith M. 2000. Evaluation of massage with essential oils on childhood atopic eczema. *Phytotherapy Research* **14**: 452-456
- [91] Walsh D. 1996. Using aromatherapy in the management of psoriasis. *Nursing Standard* **11**: 53-56
- [92] Hay IC, Jamieson M, Ormerod AD. 1998. Randomized trial of aromatherapy. Successful treatment for alopecia areata. *Archives of Dermatology* **134**: 1349-1352
- [93] Lis-Balchin M., Hart S. 1999. Studies on the mode of action of the essential oil of lavender (*Lavandula angustifolia* P. Miller). *Phytotherapy Research* **13**: 530-542.
- [94] Nikolaevskij V., Kononova N., Pertsovskij A., Shinkarchuk I. 1990. Effect of essential oils on the course of experimental atherosclerosis. *Patol. Fiziol. Eksp. Ter.* **5**: 52-53.

- [95] Dale A, Cornwell S. 1994. The role of lavender oil in relieving perineal discomfort following childbirth: a blind randomized clinical trial. *Journal of Advanced Nursing* **19**: 89-96
- [96] Cornwell S, Dale A. 1995. Lavender oil and perineal repair. *Modern Midwife* **5**: 31-33
- [97] Welker A, Quinn K, Otto RM, Wygand J. 1998. The effects of aroma treatment on submaximal exercise. *Medicine & Science in Sports & Exercise* **30**: 278.
- [98] Nagai M, Wada M, Usui N, Tanaka A, Hasebe Y. 2000. Pleasant odors attenuate the blood pressure increase during rhythmic handgrip in humans. *Neuroscience Letters* **289**: 227-229.
- [99] Romine IJ, Bush AM, Geist CR. 1999. Lavender aromatherapy in recovery from exercise. *Perceptual & Motor Skills* **88**: 756-758
- [100] Nelson RRS, 1997. In vitro activities of five plant essential oils against methacillin-resistant *Staphylococcus aureus* and vancomycin-resistant *Enterococcus faecium*. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy* **40**: 305-306.
- [101] Antonov A, Steward A, Walter M. 1997, Inhibition of conidium germination and mycelial growth of *Botrytis cinerea* by natural products. *Proceedings of the 1997 New Zealand Plant Physiology Society Conference*
- [102] Daferera DJ, Ziogas BN, Polissiou MG, 2000, GC-MS analysis of essential oils from some Greek aromatic plants and their fungitoxicity on *Penicillium digitatum*. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **48**: 2576-2581
- [103] Inouye S, Watanabe M, Nishiyama Y, Takkeo K, Akao M, Yamaguchi H. 1998. Antisporulating and respiration-inhibitory effects of essential oils on filamentous fungi. *Mycoses* **41**: 403-410.
- [104] Inouye S, Tsuruoka T, Watanabe M et al. 2000. Inhibitory effect of essential oils on apical growth of *Aspergillus fumigatus*. *Mycoses* **42**: 17-23
- [105] Inouye S, Tsuruoka T, Uchida K, Yamaguchi H, 2001. Effect of sealing and Tween 80 on the antifungal susceptibility testing of essential oils. *Microbiology and Immunology* **45**: 201-208.
- [106] Lis-Balchin M, Deans SG, Eaglesham E. 1998. Relationship between bioactivity and chemical composition of commercial essential oils. *Flavour and Fragrance Journal* **13**: 98-104.
- [107] Pattnaik S, Subramanyam VR, Bapaji M, Kole CR, 1997 Antibacterial and antifungal activity of aromatic constituents of essential oils. *Microbios* **89**: 39-46.

- [108] Kunicka-Styczyńska A., Sikora M., Kalemba D. 2009. Antimicrobial activity of lavender, tea tree and lemon oils in cosmetic preservative systems. *Journal of Applied Microbiology* **107**: 1903-1911.
- [109] Deans S.G., Ritchie G. 1987. Antibacterial properties of plant essential oils. *International Journal of Food Microbiology* **5**: 165-180.
- [110] Jeanfils J., Burlion N., Andrien F. 1991. Antimicrobial activities of essential oils from different plant species. *Landbouwtijdschrift-Revue de l'Agriculture* **44**: 1013-1019.
- [111] Fabio A., Cermelli C., Fabio G., Nicoletti P., Quaglio P. 2007. Screening of the antibacterial effects of a variety of essential oils on microorganisms responsible for respiratory infections. *Phytotherapy Research* **21**: 374-377
- [112] Inouye S, Yamaguchi H, Takizawa T. 2001. Screening of the antibacterial effects of a variety of essential oils on respiratory tract pathogens, using modified dilution assay method. *Journal of Infection and Chemotherapy* **7**: 251-254.
- [113] Ferley JP, Poutignet N, Zmiron D, Azzoparrdi Y, Balducci F. 1998. Prophylactic aromatherapy for supervening infection in patients with chronic bronchitis. Statistical evaluation conducted in clinics against a placebo. *Phytotherapy Research* **3**: 97-100
- [114] Perrucci S. 1995. Acaricidal activity of some essential oils and their constituents against *Tyrophagus longior*, a mite of stored food, *Journal of Food Protection* **58**: 560-563
- [115] Ignatowicz S. 1997. Powdered herbs of the mint family (Lamiaceae) as insect repellants for protection of stored wheat grain. *Polskie Pismo Entomologiczne* **66**: 135-150.
- [116] Hori M. 1998. Repellency of rosemary oil against *Myzus persicae* in a laboratory and in greenhouse. *Journal of Chemical Ecology* **24**: 1425-1432
- [117] O'Brien DJ. 1999. Treatment of psoroptic mange with reference to epidemiology and history. *Veterinary Parasitology* **83**: 177-185.
- [118] Piše R. 2011. Molekulární diagnostika baberií. *Diplomová práce*. Masarykova Univerzita. Přírodovědecké fakulta. Brno.
- [119] Khodadad Pirali-Kheirabadi, Jaime A. Teixeira da Silva. 2010. Lavandula angustifolia essential oil as a novel and promising natural candidate for tick (Rhipicephalus (Boophilus) annulatus) control. *Experimental Parasitology* **126**: 184-186

- [120] Pohl F. et al. 2008. Varroáza. *Vydavatelství Víkend*. ISBN 978-80-86891-90-3.
- [121] Damiani N. et al. 2009. Acaricidal and insecticidal activity of essential oils on *Varroa destructor* (Acari: Varroidae) and *Apis mellifera* (Hymenoptera: Apidae). *Parasitology Research*: **106**: 145-152.
- [122] Weston S.E., Burgess I., Williamson E.M. 1997. Evaluation of essential oils and some of their component terpenoids as pediculicides for treatment of human lice. *Journal of Pharmacy and Pharmacology* **49** Suppl. 4, 120.
- [123] Priestly, C.M., Burgess I, Williamson E.M. 1998. Effects of essential oils on house dust mites. *Journal of Pharmacy and Pharmacology* **50**, Suppl. 193.
- [124] Mann RS, Tiwari S, et al. 2010. Repellency and toxicity of plant-based essential oils and their constituents against *Diaphorina citri* Kuwayama (Hemiptera: Psyllidae). *Journal of Applied Entomology* **136**: 87-96
- [125] Rudzki E., Grzywa Z., Bruo W.S. 1976. Sensitivity to 35 essential oils. *Contact Dermatitis* **2**: 196-200.
- [126] Brandao F.M. 1986. Occupational allergy to lavender. *Contact Dermatitis* **15**: 249-250.
- [127] Nakayama H., Harada R., Toda M. 1976. Pigmented cosmetic dermatitis. *International Journal of Dermatology* **15**: 673-675.
- [128] Schaller M., Korting H.C. 1995. Allergic airborne contact dermatitis from essential oils used in aromatherapy. *Clinical and Experimental Dermatology* **20**: 143-145.
- [129] BIBRA working group. 1994. Lavender oil: BIBRA toxicity profile of lavender oil. *Government Reports Announcements & Index (GRA&I)* **19**, 1996.
- [130] Prashar A., Locke I.C., Evans C.S. 2004. Cytotoxicity of lavender oil and its major components to human skin cells. *Cell Proliferation* **37**: 221-229
- [131] Sotto A. di, Mazzanti G., Carbone F., Hrelia P., Maffei F. 2010. Genotoxicity of lavender oil, linalyl acetate and linalool on human lymphocytes in vitro. *Environmental and Molecular Mutagenesis* **52**: 69-71.
- [132] Porto C. Da, Decorti D., Kikic I. 2009. Flavour compounds of *Lavandula angustifolia* L. to use in food manufacturing: Comparison of three different extraction methods. *Food Chemistry* **112**: 1072-1078.
- [133] Fakhari A.R., Salehi P., Heydari R., et al. 2005. Hydrodistillation-headspace solvent microextraction, a new method for analysis of the essential oil components of *Lavandula angustifolia* Mill. *Journal of Chromatography A* **1098**: 14-18.

- [134] Viuda-Martos M., Mohamady M.A., et al. 2011, In vitro antioxidant and antibacterial activities of essential oils obtained from Egyptian aromatic plants. *Food control* **22**: 1715-1722.
- [135] Verma R.S., Rahman L.U, et al. 2010. Essential oil composition of *Lavandula angustifolia* Mill. Cultivated in the mids hills of Uttarakhand, India. *Journal of the Serbian Chemical Society* **75**: 343-348.
- [136] Mlejová V., Adam M., Dobiáš P., Pavlíková P., Ventura K. 2009. Aplikace vybraných mikroextrakčních technik při stanovení rostlinných silic. *Chemické listy* **103**: 189-192.
- [137] Mlejová V., Pavlíková P., Dobiáš P., Adam M., Ventura K. 2010. Aplikace mikroextrakce tuhou fází pro analýzu bylinných silic. *Chemické Listy* **104**: 166-171.
- [138] Hohnová B. 2010. Studium přírodních látek obsažených ve vybraných bylinách a méně obvyklých druzích drobného ovoce. *Disertační práce*. VÚT v Brně, Brno.
- [139] Pallado P., Tassinato G., D'Alpaos M., Traldi P. 1997. Gas chromatography/mass spectrometry in aroma chemistry: a comparison of essential oils and flavours extracted by classical and supercritical techniques. *Rapid Communications in Mass Spectrometry* **11**: 1335-1341.
- [140] Klejdus B. 2004. Separace a identifikace flavonů v rostlinném materiálu. *Habilitační práce*. UP Olomouc. Olomouc.
- [141] Brancová P. 2008. Syntéza derivátů kyseliny kávové a jejich toxicita. *Diplomová práce*. Masarykova Univerzita. Přírodovědecká fakulta. Brno.
- [142] Edris A.E. 2007. Pharmaceutical and therapeutic potentials of essential oils and their individual volatile constituents: A Review. *Phytotherapy Research* **21**: 308-323.
- [143] Malínský J., Lichnovský V., Machalíková Z. 2002. *Přehled histologie člověka v obrazech I. Díl*. Univerzita Palackého. Olomouc.
- [144] Shellie, R. 2002. Characterisation of lavender essential oils by using gas chromatography-mass spectrometry with correlation of linear retention indices and comparison with comprehensive two-dimensional gas chromatography, *Journal of Chromatography* **970**: 225-234
- [145] Parija T., Das B. 2003. Involvement of YY1 and its correlation with c-myc in NDEA induced hepatocarcinogenesis, its prevention by d-limonene. *Molecular Biology Reports* **30**:41-46.