

UNIVERZITA PARDUBICE
FAKULTA CHEMICKO-TECHNOLOGICKÁ

DIPLOMOVÁ PRÁCE

UNIVERZITA PARDUBICE
Fakulta chemicko-technologická
Katedra analytické chemie

Analýza hydrosolů vznikajících při destilaci silic z levandule

Diplomová práce

Autor: Bc. Vlasta Boháčová

Vedoucí diplomové práce: Ing. Tomáš Bajer, Ph.D.

2018

UNIVERSITY OF PARDUBICE
Faculty of Chemical Technology
Department of Analytical Chemistry

**Analysis of hydrosols formed after distillation of essential oils from
lavender**

Diploma thesis

Author: Bc. Vlasta Boháčová

Supervisor: Ing. Tomáš Bajer, Ph.D.

2018

Univerzita Pardubice
Fakulta chemicko-technologická
Akademický rok: 2017/2018

ZADÁNÍ DIPLOMOVÉ PRÁCE

(PROJEKTU, UMĚLECKÉHO DÍLA, UMĚLECKÉHO VÝKONU)

Jméno a příjmení: **Bc. Vlasta Boháčová**
Osobní číslo: **C16537**
Studijní program: **N1407 Chemie**
Studijní obor: **Analytická chemie**
Název tématu: **Analýza hydrosolů vznikajících při destilaci silic z levandule**
Zadávající katedra: **Katedra analytické chemie**

Z á s a d y p r o v y p r a c o v á n í :

1. Provedte literární rešerši zabývající se hydrodestilací a parní destilací silic z rostlin. Zaměřte se na analýzu a využití hydrosolů, které vznikají jako vedlejší produkty destilace silic.
2. V experimentální části proveďte analýzu chemického složení hydrosolů po hydrodestilaci a parní destilaci silic z levandule. Využijte vhodné extrakční postupy, např. extrakci tuhou fází, a výsledky porovnejte.

Rozsah grafických prací:

Rozsah pracovní zprávy:

Forma zpracování diplomové práce: **tištěná**

Seznam odborné literatury:

Podle pokynů vedoucího práce.

Vedoucí diplomové práce:

Ing. Tomáš Bajer, Ph.D.

Katedra analytické chemie

Konzultant diplomové práce:

doc. Ing. Petra Bajerová, Ph.D.

Katedra analytické chemie

Datum zadání diplomové práce: **20. února 2018**

Termín odevzdání diplomové práce: **11. května 2018**



prof. Ing. Petr Kalenda, CSc.
děkan

L.S.



prof. Ing. Karel Ventura, CSc.
vedoucí katedry

V Pardubicích dne 20. února 2018

Prohlašuji:

Tuto práci jsem vypracovala samostatně. Veškeré literární prameny a informace, které jsem v práci využila, jsou uvedeny v seznamu použité literatury.

Byla jsem seznámena s tím, že se na moji práci vztahují práva a povinnosti vyplývající ze zákona č. 121/2000 Sb., autorský zákon, zejména se skutečností, že Univerzita Pardubice má právo na uzavření licenční smlouvy o užití této práce jako školního díla podle § 60 odst.1 autorského zákona, a s tím, že pokud dojde k užití této práce mnou nebo bude poskytnuta licence o užití jinému subjektu, je Univerzita Pardubice oprávněna ode mne požadovat přiměřený příspěvek na úhradu nákladů, které na vytvoření díla vynaložila, a to podle okolností až do jejich skutečné výše.

Beru na vědomí, že v souladu s § 47b zákona č. 111/1998 Sb., o vysokých školách a o změně a doplnění dalších zákonů (zákon o vysokých školách), ve znění pozdějších předpisů, a směrnicí Univerzity Pardubice č. 9/2012, bude práce zveřejněna v Univerzitní knihovně a prostřednictvím Digitální knihovny Univerzity Pardubice.

V Pardubicích dne 11.5. 2018

Bc. Vlasta Boháčová

Poděkování

Tímto bych chtěla poděkovat vedoucímu diplomové práce Ing. Tomáši Bajerovi, Ph.D. za trpělivost, ochotu a rady při psaní této diplomové práce a mé rodině za podporu v dosavadním studiu.

ANOTACE

Diplomová práce se zabývá vznikem hydrosolů při destilaci silic z rostlin. Zejména pak se zaměřením na hydrosoly z levandule získané parní destilací a hydrodestlicí. Věnuje se studiu jejich složení s využitím vhodných extrakčních postupů a identifikaci pomocí GC-FID a GC-MS.

KLÍČOVÁ SLOVA

levandule, hydrosoly, destilace, extrakce, plynová chromatografie

TITLE

Analysis of hydrosols formed after distillation of essential oils from lavender

ANNOTATION

The work deals with the formation of hydrosols after distillation of essential oils. Especially with focus on lavender hydrosols after steam distillation and hydrodistillation. It investigates its composition with the use of appropriate extraction procedures and identification by GC-FID and GC-MS.

KEYWORDS

lavender, hydrosols, distillation, solid phase extraction, gas chromatography

Obsah

0	Úvod.....	12
1	Teoretická část.....	13
1.1	Levandule.....	13
1.2	Esenciální oleje.....	12
1.2.1	Výroba esenciálních olejů.....	13
1.2.2	Aromaterapie.....	17
1.3	Hydrosoly.....	18
1.3.1	Levandulový hydrosol.....	18
1.4	Extrakce.....	19
1.4.1	Extrakce tuhou fází.....	19
1.4.2	Mikroextrakce tuhou fází.....	22
1.4.3	Extrakce kapalina-kapalina.....	24
1.5	Separace látek.....	25
1.5.1	Plynová chromatografie.....	25
1.5.2	Dávkovací zařízení.....	26
1.5.3	Termostat.....	26
1.5.4	Chromatografické kolony.....	26
1.5.5	Detektory.....	27
1.6	Hmotnostní spektrometrie.....	28
2	Experimentální část.....	29
2.1	Vzorky.....	29
2.2	Chemikálie a materiál.....	29
2.3	Instrumentace.....	29
2.3.1	Příprava vzorku a destilace.....	29
2.3.2	Extrakce kapalina-kapalina.....	30
2.3.3	Extrakce tuhou fází.....	30
2.3.4	Mikroextrakce tuhou fází.....	31
2.3.5	Chromatografická analýza.....	31
3	Výsledky a diskuze.....	33
3.1	Optimalizace extrakčních metod.....	33
3.1.1	Extrakce kapalina-kapalina.....	33
3.1.2	Extrakce tuhou fází.....	34

3.1.3	Mikroextrakce tuhou fází	37
3.1.4	Shrnutí optimalizovaných podmínek	39
3.2	Analýza vzorků.....	40
3.2.1	Analýza pomocí extrakce kapalina-kapalina	40
3.2.2	Analýza pomocí SPE	41
3.2.3	Analýza pomocí SPME.....	44
3.2.4	Porovnání extrakčních metod.....	46
3.2.5	Porovnání s literárními zdroji.....	48
4	Závěr	50
5	Seznam použité literatury	52

SEZNAM ILUSTRACÍ A TABULEK

Obrázek 1 Svazek levandule	12
Obrázek 2 Keřík levandule.....	12
Obrázek 3 Hydrodestilace; vzorek se nachází spolu s vodou v destilační baňce.....	15
Obrázek 4 Parní destilace	16
Obrázek 5 Postup SPE; A - kondicionace sorbentu, B - nanesení vzorku, C - promytí, D - eluce vzorku	21
Obrázek 6 Vlákno k mikroextrakci tuhou fází	22
Obrázek 7 Způsoby provedení SPME; A - headspace SPME, B - přímá SPME.....	22
Obrázek 8 Schéma plynového chromatografu; A - tlaková láhev s nosným plynem, B – regulace tlaku a průtoku, C – dávkovací zařízení, D - termostat, E - chromatografická kolona, F - detektor, G – počítač	26
Obrázek 9 Sušený květ levandule v baňce k parní destilaci.....	30
Obrázek 10 Graf optimalizace extrakce kapalina-kapalina	34
Obrázek 11 Kolonka se sorbentem Separon SGX C18 a injekční stříkačkou	34
Obrázek 12 Graf porovnání elučních rozpouštědel.....	35
Obrázek 13 Graf optimalizace extrakce tuhou fází.....	36
Obrázek 14 Graf porovnání elučních kroků	37
Obrázek 15 Graf porovnání šedého a červeného vlákna	38
Obrázek 16 Graf optimalizace mikroextrakce tuhou fází.....	39
Obrázek 17 Chromatogram L-L SD; 1 - oktan, 2 - eukalyptol, 3 – <i>cis</i> -linalooloxid, 4 – <i>trans</i> -linalooloxid.....	58
Obrázek 18 Chromatogram L-L HD; 1 – oktan, 2 – eukalyptol, 3 – <i>cis</i> -linalooloxid, 4 – linalool, 5 – α -terpineol	58
Obrázek 19 Chromatogram SPE SD; 1 – eukalyptol, 2 – <i>cis</i> -linalooloxid, 3 – <i>trans</i> -linalooloxid	59
Obrázek 20 Chromatogram SPE HD; 1 – eukalyptol, 2 – <i>cis</i> -linalooloxid, 3 – <i>trans</i> -linalooloxid.....	59
Obrázek 21 Chromatogram SPME SD; 1 - eukalyptol, 2 - linalool, 3 - geranylacetát, 4 – α -bisabolol	60
Obrázek 22 Chromatogram SPME HD; 1 – eukalyptol, 2 – linalool, 3 – geranylacetát, 4 – α -bisabolol	60
Tabulka 1 Výroba esenciálních olejů z různých zdrojů s využitím různých metod.....	13
Tabulka 2 Druhy sorbentů pro SPE	20
Tabulka 3 Druhy SPME fází	23
Tabulka 4 Shrnutí optimalizovaných podmínek	39
Tabulka 5 Seznam identifikovaných sloučenin v extraktu L-L v hydrosolu z parní destilace	40
Tabulka 6 Seznam identifikovaných sloučenin v extraktu L-L hydrosolu z hydrodestilace	41
Tabulka 7 Seznam identifikovaných sloučenin v extraktu SPE hydrosolu z parní destilace	42
Tabulka 8 Seznam identifikovaných sloučenin v extraktu SPE hydrosolu z hydrodestilace	43
Tabulka 9 Seznam identifikovaných sloučenin v extraktu SPME hydrosolu z parní destilace	44
Tabulka 10 Seznam identifikovaných sloučenin v extraktu SPME hydrosolu z hydrodestilace	45
Tabulka 11 Průměrné počty píků a počty identifikovaných sloučenin	47
Tabulka 12 Souhrnné porovnání extrakcí	47
Tabulka 13 Souhrn pěti sloučenin s nejvyšším relativním zastoupením.....	48

SEZNAM ZKRATEK

DI-SPME	přímá SPME
GC-MS	plynová chromatografie s hmotnostní detekcí
GC-FID	plynová chromatografie s plamenově-ionozačním detektorem
HD	hydrodestilace
HS-SPME	headspace SPME
L-L	extrakce kapalina-kapalina
SD	parní destilace
SPE	extrakce tuhou fází
SPME	mikroextrakce tuhou fází

0 Úvod

Hydrosoly, či hydroláty nebo také květinové vody, vznikají jako vedlejší produkt při parní destilaci či hydrodestilaci silic z různých částí rostlin. Jedná se o vodné roztoky těkavých látek, složením podobným příslušným esenciálním olejům. Dané látky se však v hydrosolích vyskytují v jiném poměru, případně úplně chybí. Získávají tím však své specifické vlastnosti. Na rozdíl od esenciálních olejů jsou již ředěné a při jejich použití není třeba je nadále upravovat. Hydrosoly nachází široké uplatnění v kosmetickém průmyslu díky svému blahodárnému účinku na pleť. Stejně jako esenciální oleje, i hydrosoly mají svou specifickou vůni, díky které mohou být využívány v aromaterapii. Dále lze hydrosoly využít i v gastronomii k dochucení pokrmů a nápojů jako například v arabských zemích, kde s vynalezením parní destilace nacházejí své využití již po staletí.

Levnadule je polokeř svým výskytem typický pro podnebí Středozevního moře. Díky obsahu biologicky aktivních těkavých látek patří mezi tradiční léčivé rostliny využívané k získání esenciálního oleje a hydrosolu. Levandulový hydrosol má příznivý vliv na pleť, kterou uklidňuje a hydratuje a dále díky své vůni zmírňuje i psychickou únavu a stres.

Tato diplomová práce se zabývá studiem hydrosolů z levandule získaných parní destilací a hydrodestilací. Jejím cílem je porovnání složení levandulových hydrosolů získaných těmito druhy destilace. Využívá při tom extrakčních technik v podobě extrakce tuhou fází, mikroextrakce tuhou fází a extrakce z kapaliny do kapaliny. K identifikaci sloučenin je použita plynová chromatografie v kombinaci s hmotnostní spektrometrií, relativní zastoupení jednotlivých identifikovaných sloučenin je provedeno s využitím plamenově-ionozačního detektoru.

1 Teoretická část

1.1 Levandule

Levandule je polokeř dosahující výšky 40 – 60 cm. Ze zdřevnatělé spodní části vystupují vzpřímené zelené stonky nesoucí úzké vstřícně vyrůstající listy šedozelené barvy. Listy jsou po okrajích podhrnuté a pokryty ochlupením, které je chrání před silným slunečním svitem, větrem a nadměrnou ztrátou vody. Květ levandule je tvořen lichoklasem modrofialové až fialové barvy [14]. Přirozeným místem výskytu levandule jsou teplá stanoviště Středozevního moře a jižní Evropy. Celkem bylo klasifikováno zhruba 28 druhů levandule s více jak 200 odrůdami. Rod levandule patří do čeledi *Lamiaceae*, tedy hluchavkovitých. Čtyřmi hlavními rody jsou *Lavandula angustifolia*, *Lavandula latifolia*, *Lavandula stoechas* a *Lavandula x intermedia*, neboli lavandin, který je sterilním hybridem *Lavandula angustifolia* a *Lavandula latifolia* [1,4].

Levandule je pěstována celosvětově v řadě zemí. Mezi největší producenty patří Bulharsko, Francie, Spojené království, Čína a Španělsko. Dále mezi významné producenty patří i Maroko, Itálie, Maďarsko, Chorvatsko, Rusko, Rumunsko, Ukrajina a Turecko. Populární se levandule stala i ve Spojených státech u malých obchodníků a farmářů jako součást agroturismu, zábavních farem nebo podnikání v aromaterapii [5,6,22].

Levandule může být rozmnožována generativně, prostřednictvím semen nebo vegetativně, řezy měkkých i tvrdých zdřevnatělých částí. Prořezávání levandulových keřů stimuluje růst a kvetení rostliny. Období květu trvá od července do srpna. Sklizeň by měla probíhat během suchých a slunečných dní. Květy by měly být sbírány před otevřením a sušeny ve svazcích na stíněných a dobře větraných místech [14].

Název levandule pochází z latinského slova *lavo*, *lavare*, které znamená mýt, či čistit. Levandule byla pro své léčebné účinky využívána už ve starověku. Staří Římané si levanduli přidávali do koupelí a ve středověku byla jednou z nejvíce ceněných rostlin k získání esenciálního oleje pro výrobu parfémů a mýdel [14].

Destilací částí rostliny se získává levandulový nebo lavandinový olej, jako vedlejší produkt vzniká levandulový/lavandinový hydrosol.



Obrázek 1 Svazek levandule



Obrázek 2 Keřík levandule

1.2 Esenciální oleje

Použití esenciálních olejů jako léčebného prostředku je velmi staré. V Bibli jsou esenciální oleje považovány za léčivé látky pro ducha, tělo i mysl. Starověký řecký lékař Hippokrates nazýval aromatické rostliny „otcem léků“ a esenciální oleje z těchto rostlin byly využívány jako konzervační látky potravy, ochucovadla a léčivé prostředky [3]. Ve starověkém Egyptě byly esenciální oleje používány k prevenci nemocí, stejně tak jako jejich léčbě. Brzy poté začali esenciální oleje po vzoru starověkých Egyptanů používat i Řekové a Římané. Ti je využívali ve formě aromaterapie při koupelích, do kterých přidávali esenciální oleje jasmínu, levandule nebo ylang-ylang k podpoře duševní relaxace. Poprvé byl termín „esenciální olej“ použit v 16. století. Tento termín použil Paracelsus von Hohenheim ve své knize „Quinta essential“, kde tak pojmenoval účinnou složku léku [8].

Léčivé rostliny mají schopnost syntetizovat širokou škálu chemických látek, ať už pro jejich vlastní využití jako součást přirozeného růstu, nebo jako reakci na nepříznivé a ohrožující podmínky prostředí [1]. Množství a složení těchto tzv. fytochemikálií, stejně tak jako stav dané rostliny, tedy odpovídá přírodním podmínkám a prostředí, ve kterých se rostlina nachází [12].

Esenciální oleje jsou známy jako druhotné metabolity rostlin a nacházejí využití zejména v aromaterapii, kosmetice [9], farmakologii, agrochemii a výživě [11]. Představují směs těkavých látek, které jsou charakteristické svou silnou vůní a příchutí. Majoritní složky esenciálních olejů mohou být přítomny až v destítkách procent obsahu. V současné době je

známo okolo 3000 esenciálních olejů, z nichž zhruba 300 je komerčně dostupných. Tyto sloučeniny jsou syntetizovány v různých částech rostlin, jako jsou pupeny, květy, listy, stonky a větvičky, semena, kořeny, dřevo a kůra a skladovány jsou v sekrečních buňkách, dutinách, kanálcích a kožních a žláznatých trichomech [13].

1.2.1 Výroba esenciálních olejů

Esenciální oleje mohou být získávány z různých částí rostlin různými způsoby (Tabulka 1). Volba dané metody výroby závisí na materiálu, z něhož je esenciální olej získáván. Samotný stav rostliny je jedním z faktorů, který ovlivňuje výslednou kvalitu esenciálního oleje. Nevhodný extrakční proces může vést ke zničení nebo pozměnění chemického složení esenciálního oleje a tím i ovlivnění jeho bioaktivity [15].

Tabulka 1 Výroba esenciálních olejů z různých zdrojů s využitím různých metod; [15]

Extrakce rozpouštědlem	
Rozpouštědlo (petrolether, aceton, hexan, ethylacetát...)	šalvěj (<i>Salvia officinalis</i>), drmek obecný (<i>Vitexagnuscastus L.</i>), citrón (<i>Citrus x limon</i>)
Superkritický CO ₂	rozmarýn (<i>Rosmarinus officinalis</i>), fenykl (<i>Foeniculum vulgare</i>), anýz (<i>Pimpinella anisum</i>), kmínová semínka (<i>Cuminum cyminum</i>), majoránka (<i>Majorana hortensis Moench</i>), thyme (<i>Thymus vulgarit L.</i>), hřebíček (<i>Eugenia caryophyllata</i>), heřmánek (<i>Matricaria chamomilla</i>), oregano (<i>Origanum vulgare L.</i>), koriandr (<i>Coriandrum sativum L.</i>)
Nadkritická voda	majoránka (<i>Origanum majorana</i>), oliva (<i>Olea europea</i>), semínka koriandru (<i>Coriandrum sativum L.</i>)
Destilace	
Parní destilace	levandule (<i>Lavandula species</i>), pelargonie (<i>Pelargonium sp.</i>), tymián (<i>Thymus kotschyanus</i>), ožanka (<i>Teucrium orientale</i>), rozmarýn (<i>Rosmarinus officinalis</i>),

	eukalyptus (<i>Eucalyptus citriodora</i>), bazalka (<i>Ocimum basilice L.</i>), hřebíček (<i>Eugenia caryophyllata</i>), pomeranč (<i>Citrus sinensis</i>)
Hydrodestilace	citron (<i>Citrus x limon</i>), yzop (<i>Hyssopus officinalis L.</i>), šalvěj (<i>Salvia officinalis L.</i>), hřebíček (<i>Eugenia caryophyllata</i>), kmín (<i>Carum carvi</i>), tyminán (<i>Thymus vulgarit L.</i>), bazalka (<i>Ocimum basilice L.</i>), máta (<i>Mentha crispa L.</i>)
Hydrodifuze	pomeranč (<i>Citrus sinensis</i>), rozmarýnové lístky (<i>Rosmarinus officinalis</i>)
Mikrovlnná extrakce bez rozpouštědla	oregano (<i>Origanum vulgare L.</i>), kmín (<i>Carum carvi</i>), kardamon (<i>Elletaria cardamomum L.</i>), bazalka (<i>Ocimum basilicum L.</i>), máta (<i>Mentha crispa L.</i>), tymián (<i>Thymus vulgaris L.</i>), řešetlák mořský (<i>Hippophae rhamnoides L.</i>)
Lisování	citrusové plody
Kombinované metody – rozpouštědlo + pára	kmín (<i>Cuminum cyminum</i>), tabák (<i>Nicotiana tabacum</i>)

1.2.1.1 Hydrodestilace

Hydrodestilace patří mezi standardní metody získávání esenciálních olejů. Je využívána k destilaci ve vodě nerozpustných rostlinných produktů s vysokým bodem varu. Během hydrodestilace je rostlinný materiál, ze kterého je esenciální olej získáván, kompletně ponořen do vody, která je následně přivedena k varu. Páry vody společně se složkami esenciálního oleje stoupají k chladiči, kde následně kondenzují a jsou vedeny do separátoru, kde se odděluje esenciální olej od hydrosolu. Voda zároveň slouží jako ochrana esenciálního oleje před přehřátím a je nutné ji průběžně doplňovat [15].



Obrázek 3 Hydrodestilace; vzorek se nachází spolu s vodou v destilační baňce

1.2.1.2 Parní destilace

Parní destilace patří mezi nejčastěji používanou metodu izolace esenciálního oleje z rostlinného materiálu [15]. Byla vyvinuta na Středním Východě Araby ve středověku [3,8]. Poměr esenciálních olejů získávaných parní destilací dosahuje až 93% oproti 7% zbývajících metod. Při parní destilaci je rostlinný materiál od vroucí vody oddělen. Nachází se ve vlastní baňce nad baňkou destilační, ze které stoupá vodní pára skrze rostlinný materiál. Na baňku s rostlinným materiálem je napojen chladič, kde vodní pára společně se složkami esenciálního oleje kondenzují a jsou odvedeny do separátoru fází [15].



Obrázek 4 Parní destilace

1.2.1.3 Levandulový esenciální olej

Levandule obsahuje 2 – 3% esenciálního oleje, který se získává parní destilací či hydrodestilací. Levandulový esenciální olej je nažloutlé barvy a má intenzivní květinovo-bylinnou vůni, zcela charakteristickou pro levanduli, s jemným náznakem ovoce a dřeva. Kvalitativní i kvantitativní složení esenciálního oleje závisí na genotypu rostliny, místě růstu, klimatických podmínkách, rozmnožování a morfologických charakteristikách [14].

Levandulový esenciální olej patří mezi nejoblíbenější a je možné ho získat z řady druhů levandule. Nejvyužívanějším druhem pro obchodní účely je *Lavandula angustifolia*, esenciální olej tohoto druhu je také nejvíce ceněný [6,9]. Kromě antibakteriálních a antifugálních účinků působí též adstringentně a protizánětlivě. Dále urychluje hojení ran, redukuje tvorbu jizev [10], působí proti křečím, sedativně a neuroprotektivně [1].

Účinnými látkami je směs mono- a seskviterpenoidních alkoholů, esterů, oxidů a ketonů. Největší zastoupení mají terpenoidy linalool a linalylacetát [1]. Dalšími složkami o

střední koncentraci jsou lavandulylacetát, terpinen-4-ol a lavandulol. V malé míře se v levandulovém esenciálním oleji nachází i kafr a eukalyptol [9].

Během několika posledních let přesáhla produkce levandulového esenciálního oleje v Bulharsku produkci ve Francii a Bulharsko se tak stalo jeho největším producentem s různými odrůdami levandule rostoucí na více jak 6000 ha půdy. Hlavním druhem levandule pěstovaným ve Francii je lavandin, který zde poskytuje 90% světové produkce lavandinového esenciálního oleje. Hlavním producentem druhu *Lavandula latifolia* a esenciálního oleje z něj je Španělsko [22].

I přesto, že odrůdy lavandinu poskytují více esenciálního oleje než odrůdy levandule, levandulové esenciální oleje jsou více ceněné a s vyšší kvalitou kvůli vyššímu obsahu linalylacetátu oproti lavandinovému esenciálnímu oleji. Lavandin i levandule obsahují stejné složky, rozdílem jsou však jejich různé poměry. Kritériem pro určení kvality esenciálního oleje je množství kafru, linaloolu a linalylacetátu. Baydar a spol. uvádí, že dle European Pharmacopia, levandulový esenciální olej obsahuje 20-45% linaloolu, 25-46% linalylacetátu a méně jak 1,2% kafru, zatímco lavandinový esenciální olej obsahuje 12-18% kafru [21].

1.2.2 Aromaterapie

V dnešní době jsou esenciální oleje využívány v alternativní medicíně, čínské medicíně, aromaterapii, masážích, a dále i v kosmetickém a potravinářském průmyslu [3]. Aromaterapie, která je odvětvím fytotherapie, získává na významu jako doplňková terapie klasické medicíny. Využívá esenciální oleje k léčbě nemocí prostřednictvím inhalace jejich těkavých látek, včetně masáží [2]. V přímé aplikaci na kůži by však esenciální oleje měly být používány ředěné, například smísením s rostlinnými oleji [3,10]. Inhalace těkavých látek esenciálních olejů hraje významnou roli v řízení centrální nervové soustavy [8]. Tyto látky mají schopnost ovlivňovat náladu i zdravotní stav jedince prostřednictvím psychologických a fyziologických účinků [2].

Aromaterapie je rychle působící metodou, neinvazivní a s minimálními vedlejšími účinky. Přesný způsob účinků aromaterapie však zůstává nepříliš jasný. Podstatou aromaterapie je vdechování těkavých látek, jejichž molekuly dráždí čichové receptory. Depolarizace primárního čichového neuronu vede k tvorbě akčního potenciálu, který se šíří podél čichového nervového axonu do čichového bulbu. Z čichového bulbu vstupují axony mitrálních buněk do čichového traktu, který se rozděluje na mediální a laterální čichová stria. Laterální čichová stria vyčnívá do amygdaly, která je klíčovou strukturou limbického systému zapojeného v chování a emocích [20,23].

Levandulový esenciální olej má široké využití a jen několik zjištěných citlivostí. Je znám pro své sedativní a relaxační účinky. Přesný mechanismus, kterým vůně levandule působí anxiolyticky (snižuje bdělost) je nejasný. Dvě hlavní složky levandulového oleje, linalool a linalylacetát, mají schopnost stimulovat parasympatický nervový systém. Linalylacetát má narkotické účinky, zatímco linalool účinky sedativní. Anxiolytická účinnost levandulové aromaterapie byla hodnocena v mnoha klinických podmínkách. Bylo prokázáno snížení úzkosti u pacientů na koronární jednotce intenzivní péče, zubní ordinace, před otevřenou operací srdce, všeobecnými chirurgickými zákroky, při periferní žilní kanylaci a dalších [20].

1.3 Hydrosoly

Hydrosoly, či hydroláty, známé též jako bylinné či květinové vody, získané z různých částí dané rostliny, vznikají jako vedlejší produkt při destilačním zpracování rostlin za účelem získání esenciálního oleje [17]. Skládají se z kapaliny pocházející z rostliny a kapaliny používané při destilaci. Mají podobnou vůni jako příslušné esenciální oleje, jejich intenzita však závisí na stupni zředění, tedy množství použité vody při parní destilaci či hydrodestilaci [14]. Hydrosoly obsahují kapičky olejů a dalších rostlinných metabolitů, které obvykle v esenciálních olejích chybí, získávají tím tak specifickou biologickou aktivitu. Jakožto vodné roztoky mohou být na rozdíl od koncentrovaných esenciálních olejů používány bez dalšího ředění [16].

1.3.1 Levandulový hydrosol

Prusinowska a kol. uvádí, že levandulový hydrosol obsahuje 24,83 – 97,23 mg/100 ml organických těkavých látek. V největším množství se v něm nachází linalool (39%), α -terpineol (15%) a kumarin (7%). Na rozdíl od levandulového esenciálního oleje, v levandulovém hydrosolu chybí linalylacetát [14]. Díky svému zředění může být levandulový hydrosol aplikován přímo na jakýkoliv typ pleti, zejména však na pleť nečistou a mastnou. Má chladivý a hydratační efekt podobný použití oleje a zmírňuje i psychickou únavu a stres. Hydrosol z *Lavandula angustifolia* lze použít též jako přísadu do vody či pokrmů k revitalizaci a relaxaci organismu [16].

1.4 Extrakce

Extrakce je dělicí metoda, při které dochází k distribuci analyzované látky mezi dvě fáze, buď tuhou a kapalnou, či tuhou a plynnou nebo mezi dvě fáze kapalné nemísitelné [25].

Rozdělení extrakcí [24]:

a) Zúčastněné fáze

- kapalina-plyn
- kapalina-kapalina
- tuhá fáze-kapalina

b) Počet kroků

- jednokroková
- vícekroková
- kontinuální

c) Charakter extrahovaných látek

- organické látky
- kovové chaláty
- iontové asociáty

Dále budou popsány metody, které byly použity v této práci.

1.4.1 Extrakce tuhou fází

SPE, neboli extrakce tuhou fází, je extrakční metoda, při které je vzorek prosáván skrz tuhou fází, tvořenou částicemi sorbentu, na kterých jsou selektivně zachycovány molekuly analytu. K extrakci molekul analytu dochází promytím vhodným elučním rozpouštědlem. Extrakční sorbenty jsou dostupné v různých provedeních, uložené v kolonce s fritou v podobě injekční stříkačky ze skla či polypropylenu, v discích či špičkách pipet. Extrakce tuhou fází je jednoduchá, rychlá, flexibilní a citlivá metoda [19].

Fáze používané pro SPE [24]:

a) Normální fáze – polární

- silikagel, oxid hlinitý, florisil, polárně modifikovaný silikagel

b) Reverzní fáze – nepolární

- nepolárně modifikovaný silikagel (C4, C8, C18, CH, PH, CN)

c) Iontově-výměnné fáze

- anex – silikagel s chemicky vázaným kladně nabitým modifikátorem
- katex – silikagel s chemicky vázaným záporně nabitým modifikátorem

Sorbenty mají různé fyzikálně-chemické vlastnosti, jako jsou typ matrice a modifikace, měrný povrch, velikost částic a pórů. Volba vhodného sorbentu je velmi podstatná, závislá především na vlastnostech analytu a matrici vzorku. Obvykle se měrný povrch sorbentů pohybuje od 250 do 600 m³/g, velikost pórů do 7 nm a velikost částic od 40 do 60 μm.

Dalšími faktory, které ovlivňují extrakci, jsou pH, eluční rozpouštědlo, jeho iontová síla a podmínky extrakce. V závislosti na polaritě analytu, sorbentu a použitém elučním činidle, dochází k lepší či horší eluci extrahovaných látek [31,33].

Tabulka 2 Druhy sorbentů pro SPE

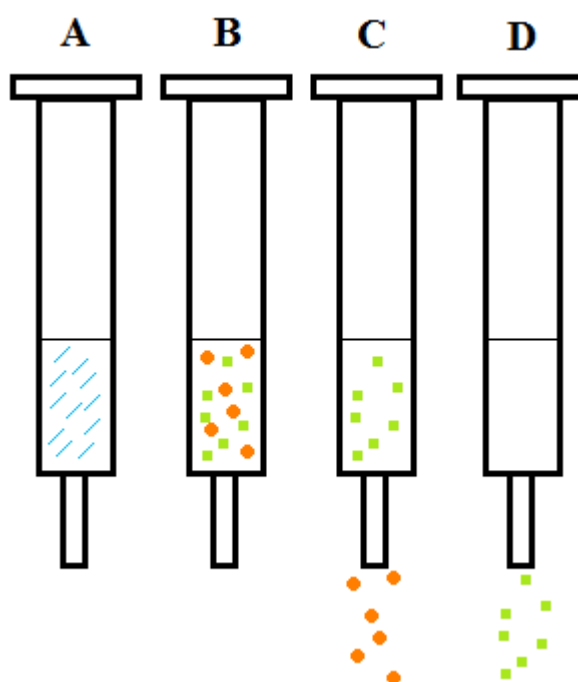
Nepolární sorbenty	
Sorbent	Navázaná fáze
C18	Oktadecyl
MF C18	Oktadecyl
C8	Oktyl
C2	Ethyl
CH	Cyklohexyl
PH	Fenyl
Polární sorbenty	
Silikagel	
Diol-2,3-dihydroxypropoxypropyl	
Iontově-výměnné sorbenty	
SAX	Trimethylaminopropyl
CBA	Karboxypropyl
SCX	Benzefulfonová kyselina
PRS	Propylsulfonová kyselina

Extrakční postup [31]:

Poustup extrakce tuhou fází lze rozdělit do čtyř základních kroků:

- **kondicionace sorbentu** – dochází k aktivaci sorbentu a odstranění vzduchu, obvyklá rozpouštědla pro kondicionaci sorbentu jsou methanol a isopropanol
- **nanesení vzorku**
- **promytí** – odstranění interferentů
- **eluce vzorku** – vymtí vzorku ze sorbentu

Prosávání kolony vzorkem a rozpouštědly může probíhat za sníženého tlaku, přetlaku či odstředěním.



Obrázek 5 Postup SPE; A - kondicionace sorbentu, B - nanesení vzorku, C - promytí, D - eluce vzorku

Charakteristické znaky SPE

Malé objemy vzorků. Extrahované látky lze eluovat i malým množstvím organických rozpouštědel. Jedná se o rychlou, přesnou a reprodukovatelnou metodu. Lze zpracovávat i více vzorků současně (12, 24, 96). K takovému účelu slouží například přístroj Visiprep (Supelco) s prosáváním pod tlakem. Metoda SPE slouží k izolaci, zakoncentrování a přečištění vzorku.

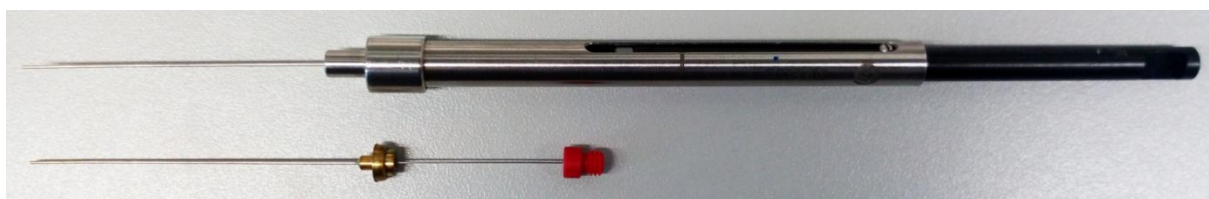
Požadavky na SPE

Analyt musí být schopný sorpce na zvolený SPE sorbent. Je nutno stanovit čas pro interakci analyt-sorbent. Sorbent a eluční činidlo musí být schopné selektivně odstranit

interferující látky od analytu. Analyt musí být bez problému desorbovatelný z SPE sorbentu. Hmotnost sorbovaného analytu by měla být maximálně 5% hmotnosti sorbentu.

1.4.2 Mikroextrakce tuhou fází

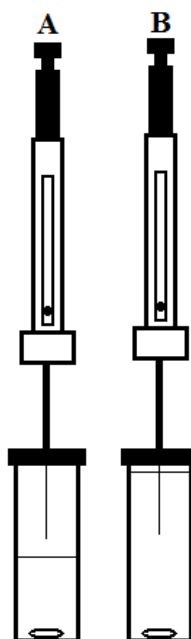
SPME, neboli mikroextrakce tuhou fází, je extrakční metoda, při které extrahované látky přechází z kapalné, či plynné fáze do fáze tuhé. Tato metoda omezuje použití toxických organických rozpouštědel, zkracuje dobu extrakce, je rychlá a vysoce selektivní. Extrahované látky jsou zachycovány na tuhém sorbentu polymerního charakteru, kterým je pokryto křemenné vlákno, uložené v kovové jehle [29,30].



Obrázek 6 Vlákno k mikroextrakci tuhou fází

Způsoby provedení SPME

Metodu SPME je možné provádět dvěma způsoby. Prvním způsobem je přímá SPME (DI-SPME), kdy je vlákno se sorbentem přímo ponořeno do roztoku vzorku. Druhým způsobem je headspace SPME (HS-SPME), kdy dochází k sorpci analytů na vlákno z plynné fáze prostoru nad vzorkem [28].



Obrázek 7 Způsoby provedení SPME; A - headspace SPME, B - přímá SPME

Druhy SPME fází

SPME vlákna lze podle charakteru stacionární fáze a způsobu sorpce rozdělit na absorpční vlákna a adsorpční vlákna. Absorpční vlákna mají obecně větší extrakční kapacitu, neboť zde nedochází ke kompetici analytů o sorpční místa. Jedná se o čisté homogenní polymery, a to buď kapalné (např.: polydimethylsiloxan) nebo tuhé (např.: polyakrylát). U adsorpčních vláken jsou porézní částice rozptýleny v polymeru. Porézními částicemi mohou být např.: divinylbenzen (DVB) nebo Carboxen (CAR, částice na bázi grafitizovaného uhlíku). Adsorpční vlákna jsou méně mechanicky odolná, ale mají větší selektivitu [32].

Tabulka 3 Druhy SPME fází

Druh fáze	Tloušťka fáze (μm)	Analyty	Určení
Polydimethylsiloxan (PDMS)	100	Těkavé	GC/HPLC
	30	Středně těkavé	GC/HPLC
	7	Středně těkavé	GC/HPLC
Polyakrylát (PA)	85	Středně těkavé Polární	GC/HPLC
Carbowax/divinylbenzen (CWDVB)	65	Polární	GC
Polydimethylsiloxan/Carboxen (CW/TPR)	75	Těkavé Stopová množství	GC
Carbowax/Templated Resin (PDMS/DVB)	50	PAL	HPLC
Polydimethylsiloxan/divinylbenzen (PDMS/DVB)	65	Těkavé polární,	GC
	60	obecné použití	HPLC
Polydimethylsiloxan/ Carboxen/divinylbenzen (PDMS/CX/DVB)	30/50	Obecné použití	GC

Faktory ovlivňující SPME

Proces mikroextrakce tuhými fázemi může být ovlivněn různými faktory:

- **Druh sorbentu:** nepolární vlákna by měla být používána pro extrakci nepolárních analytů a polární vlákna analytů polárních, citlivost extrakce ovlivňuje i tloušťka sorbentu, kdy silnější vrstva stacionární fáze je schopna extrahovat více analytu, než vrstva tenká, vlákno se silnější vrstvou sorbentu se proto používá pro těkavé látky, zatímco tenká vrstva pro látky výše vroucí
- **Doba extrakce:** čas, po který jsou analyty extrahovány, se většinou volí tak, aby bylo dosaženo co možná největšího zkoncentrování látek, tzn. do doby ustavení rovnováhy
- **Teplota extrakce:** zahříváním vzorku se zkracuje čas potřebný k extrakci, při headspace provedení se zvyšuje koncentrace analytů v plynné fázi, což umožňuje rychlejší a účinnější extrakci, teplotu extrakce je vždy nutné optimalizovat, neboť profil extrahovaných látek se s různými teplotami extrakce mění, může docházet k současné sorpci i desorpci za dané teploty, optimalizace by měla probíhat v závislosti na požadovaném výsledném parametru, tedy je-li cílem pouze jedna sloučenina nebo jejich co nejvyšší počet, popř.: počet či plocha píků v chromatogramu
- **Míchání vzorku:** míchání vzorku zlepšuje a zkracuje čas potřebný k extrakci, je však žádoucí, aby bylo rovnoměrné, míchání vzorku je vhodné zejména pro extrakci látek s vyšší molekulovou hmotností [28].

Spojení SPME s GC a HPLC

Desorpce analytů může probíhat jak tepelně do plynné fáze v případě plynového chromatografu, tak i rozpouštědlem v kombinaci s kapalinovou chromatografií. U tepelné desorpce je vlákno v nástavci vsunuto do injekčního prostoru plynového chromatografu. V případě kapalinové chromatografie se využívá adaptér, který mobilní fázi umožňuje kontakt s vláknem. Desorpce může probíhat jako dynamická, kdy je analyt eluován proudem mobilní fáze, nebo statická, během které je vlákno ponořeno do mobilní fáze po určitý časový úsek. Adaptér se skládá z desorpční cely a šesticestného ventilu. Po desorpci jsou analyty odnášeny mobilní fází na chromatografickou kolonu [27].

1.4.3 Extrakce kapalina-kapalina

Vytřepávání neboli extrakce z kapaliny do kapaliny, probíhá v děličce, kde se nachází kapalný vzorek obsahující analyzované látky a rozpouštědlo se vzorkem nemísitelné, do kterého jsou analyzované látky extrahovány. Je založena na selektivním přechodu složek analyzované soustavy mezi dvěma vzájemně nemísitelnými fázemi, vyplývajícím z jejich

nestejně rozpustnosti v těchto fázích. Extrahovaná látka je méně rozpustná v původním rozpouštědle, než v rozpouštědle do něhož je extrahována. Nejčastější extrakce jsou z vodného roztoku do organického rozpouštědla.

K úplné extrakci po jednom vytřepání však nedochází a je vhodné postup několikrát opakovat. Látky, jež mají přejít přes fázové rozhraní vodné a organické fáze, musí být elektroneutrální [25,26].

Nevýhody extrakce L-L:

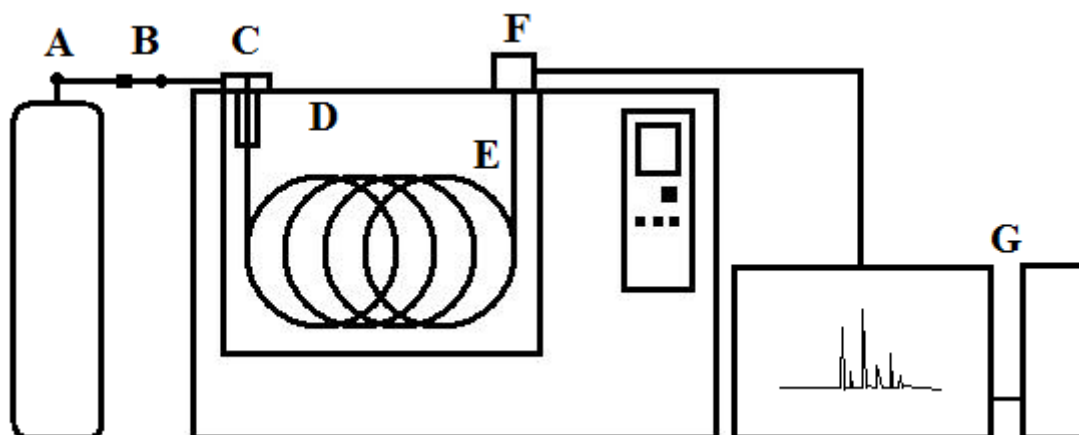
- časově náročné
- nákladné
- velká spotřeba organických rozpouštědel
- nutné zakoncentrování vzorku před analýzou
- může docházet k tvorbě emulzí
- nízký a často nereprodukovatelných výtěžek
- nedostatečné odstranění interferujících látek

1.5 Separace látek

K separaci směsí se používají chromatografické metody, např.: kapalinová chromatografie, plynová chromatografie či tenkovrstvá chromatografie. Pro analýzu směsí těkavých látek, jaké jsou přítomny např.: v esenciálních olejích či hydrosolech, se s výhodou používá plynová chromatografie, proto bude dále rozvedena jen tato technika.

1.5.1 Plynová chromatografie

Plynová chromatografie patří mezi separační analytické metody. V průběhu separace dochází k rozdělování analytu mezi dvě heterogenní fáze – stacionární a mobilní. Mobilní fází, tzv. nosným plynem, je inertní plyn, který unáší analyzované látky kolonou. Stacionární fází je kapalina zakotvená na inertním nosiči, nebo povrchově aktivní absorbent. Jednotlivé složky analyzované směsi látek interagují se stacionární fází a dochází tak k jejich separaci [25,26].



Obrázek 8 Schéma plynového chromatografu; A - tlaková láhev s nosným plynom, B – regulace tlaku a průtoku, C – dávkovací zařízení, D - termostat, E - chromatografická kolona, F - detektor, G – počítač

1.5.2 Dávkovací zařízení

Dávkovací zařízení slouží k dávkování vzorku do kolony a je vyhříváno. Vzorek může být plynný, kapalný nebo pevný. Dávkování musí být rychlé a reprodukovatelné. Je potřeba zajistit, aby vzorek vnikl do kolony co nejrychleji, nezměnily se teplotné a tlakové podmínky v koloně a aby v průběhu dávkování nedocházelo ke změně složení vzorku. Dávkování probíhá prostřednictvím injekčních mikrostříkaček [25,26].

1.5.3 Termostat

Termostaty slouží k zajištění reprodukovatelnosti měření elučních charakteristik. Úlohou termostatů je regulace teploty v okolí chromatografické kolony. Jedná se o vyhřívání prostor, ve kterém se kolona nachází. V současné době se používají zejména teplovzdušné termostaty [25,26].

1.5.4 Chromatografické kolony

Dle způsobu konstrukce lze rozlišit kolony náplňové a kolony kapilární. Materiálem kolon jsou trubice vyrobené např.: ze skla, nerezové oceli, polyethylenu a teflonu. Náplňové kolony jsou plněny chromatografickou náplní a pohybují se v délce od 30 do 400 cm. Vnitřní průměr kolon je pak od 2 do 4 mm. Kolony kapilární dosahují délky od 30 do 100 m s vnitřním průměrem od 0,1 až 0,3 mm.

Kapilární kolony je možno rozdělit do tří skupin:

- 1) **WCOT** – kolony se zakotvenou kapalnou fází na vnitřních stěnách kolony, tloušťka kapalného filmu se pohybuje v rozmezí od 0,01 μm až 5 μm , vnitřní průměr kolony je od 50 μm do 1 mm
- 2) **SCOT** – kapalná fáze je zachycena na nosiči, který je uchycen na vnitřní stěně kolony, tloušťka vrstvy náplně je od 1 až 5 μm
- 3) **PLOT** – kolony s adsorbentem, který je zachycený na vnitřní stěně kolony, tloušťka vrstvy absorbentu se pohybuje v rozmezí od 0,01 μm do 10 μm [25,26].

1.5.5 Detektory

Detektory slouží k detekci analytů, které jsou společně s nosným plynem unášeny kolonou. Požadovanými vlastnostmi detektorů jsou rychlá odezva, velká citlivost a stabilita nulového signálu. Dle způsobu detekce analytů lze dělit detektory na detektory destrukční a nedestrukční. V destrukčních detektorech dochází k ireverzibilní změně stanovované látky. Nedestrukčním detektorem prochází analyt beze změny [25,26].

1.5.5.1 FID

FID, neboli plamenově ionizační detektor, je nejpoužívanějším detektorem v plynové chromatografii. Molekuly analytu se mísí s vodíkem a vstupují do trysky hořáčku. Ionizované částice, vzniklé v plameni, vstupují do prostoru mezi dvě elektrody, snižují jeho odpor a dochází tak k průchodu proudu. Plamenový ionizační detektor, je vysoce citlivým detektorem, vhodným pro stopovou analýzu [25,26].

1.5.5.2 Tepelně vodivostní

Způsob detekce probíhá na základě odvodu tepla z rozžhaveného odporového vlákna. Nosný plyn vytékající z kolony rozžhavené vlákno chladí a se změnou teploty dochází i ke změně elektrického odporu vlákna. Odporové vlákno je součástí Wheatstonova můstku, ve kterém se změnou odporu dochází k porušení rovnováhy. To je možno kompenzovat měnitelným odporem nebo zaznamenat měřícím zařízením [25,26].

1.5.5.3 Detektor elektronového záhytu

Princip detekce probíhá na základě zachycování elektronů elektronegativními atomy, funkčními skupinami a molekulami. V elektrickém poli se při zachycení elektronů změni přenos náboje a začne docházet k rekombinaci iontů. To má za následek snížení ionizačního

proudu. K ionizaci nosného plynu dochází prostřednictvím radioaktivního zářiče β (^3H , ^{63}Ni). Z nosného plynu vznikají kationty a pomalé elektrony, které zprostředkovávají průchod elektrického proudu. Pokud se v nosném plynu nachází i analyty, dojde k jeho snížení [25,26].

1.6 Hmotnostní spektrometrie

V hmotnostní spektrometrii se měří hmotnosti molekul a jejich fragmentů vzniklých po ionizaci vzorků. Ionizované fragmenty mohou být nabitě kladně či záporně, v závislosti na použité ionizační technice. Mohou však vznikat i fragmenty bez náboje. Jednotlivé molekulové i fragmentové ionty jsou separovány na základě rozdílné hmotnosti m připadající na náboj z , tedy dle efektivních hmotností m/z . Nabité fragmenty jsou po separaci detekovány a je zaznamenáno hmotnostní spektrum jako závislost četnosti daných iontů na hodnotách m/z . Mezi základní části hmotnostního spektrometru patří iontový zdroj, kde dochází k ionizaci molekul vzorku, hmotnostní analyzátor, který slouží k separaci iontů v plynném skupenství dle jejich m/z a detektor pro detekci a registraci separovaných iontů [39].

2 Experimentální část

2.1 Vzorky

K přípravě hydrosolů parní destilací a hydrodestilací byl použit sušený květ levandule od firmy Mediate s.r.o.; Levandule řez, šarže: 250715/9, expirace 09.2018, země původu Chorvatsko.

2.2 Chemikálie a materiál

- Ethanol, *n*-Hexan a Methanol od firmy Sigma-Aldrich (Praha, Česká republika)
- Destilovaná voda byla purifikována použitím systému MilliQ® Water Purification Systém (Millipore SAS, Molsheim, Francie)
- Směs standardů *n*-alkanů (C8-C40) byla zakoupena od Restek (Bellefonte, PA, USA) v koncentracích 500 µg·ml⁻¹ rozpuštěných v sirouhlíku/dichlormethanu (3/1, V/V)
- Helium a vodík od firmy Linde Gas a.s.
- Chromatografická kolona SLB-5MS od firmy Sigma-Aldrich (Praha, Česká republika), délka kolony: 30 m, vnitřní průměr: 0,25 mm, tloušťka filmu 0,25 µm
- Chromatografická kolona ZB-5HT Inferno od firmy Phenomenex (Torrance, Kalifornie, USA), délka kolony: 30 m, vnitřní průměr: 0,25 mm, tloušťka filmu 0,25 µm
- SPME vlákno polydimethylsiloxan (100 µm PDMS) od firmy Sigma-Aldrich (Praha, Česká republika)
- kolony se sorbentem Separon SGX C18 (modifikovaný oktadecylsilikagel, 60 µm, 0,5 g) od firmy Tessek s.r.o. (Praha, Česká republika)

2.3 Instrumentace

- Plynových chromatograf GC-2010 s plamenově-ionizačním detektorem od firmy Shimadzu (Kyoto, Japonsko)
- Plynový chromatograf GCMS-QP2010 Plus s hmotnostní detekcí od firmy Shimadzu (Kyoto, Japonsko)

2.3.1 Příprava vzorku a destilace

Do baňky na rostlinný materiál byl po maximum napěchován sušený květ levandule. Hmotnost sušeného květu levandule činila 63 g. K destilaci byla použita 2 l destilační baňka,

do které bylo předloženo zhruba 1,2 l destilované vody. Nad destilační baňku byla umístěna baňka s květem levandule a bylo spuštěno zahřívání v topném hnízdě. Pára vznikající zahříváním vody prochází skrz rostlinný materiál. V případě hydrodestilace bylo navážených 63 g sušeného levandulového květu umístěno přímo do destilované vody v destilační baňce. V průběhu obou destilací byla destilovaná voda doplňována. Při destilacích těkavých složek z rostlinných materiálů jsou složky ze vzorku uvolňovány vlivem tepla vroucí vody. Tento proces je znám jako hydrodifuze. Roztok těkavých složek prochází za vyšších teplot membránami k povrchu rostlinného materiálu. Koncentrace těkavých složek v prostoru headspace je dána tlakem páry těchto jednotlivých složek. Po průchodu buněčnou membránou jsou těkavé složky odpařeny a vodní párou vedeny do chladiče. Destilace hydrosolů získávaných paní destilací a hydrodestilací probíhala tak dlouho, dokud nebyly získány v množstvích 1,5 l.



Obrázek 9 Sušený květ levandule v baňce k parní destilaci

2.3.2 Extrakce kapalina-kapalina

K extrakci kapalina-kapalina byla použita 100 ml dělička. Do děličky bylo napipetováno 50 ml levandulového hydrosolu a 5 ml hexanu. Extrakční směs byla třepána po dobu 10 minut. Extrakce probíhala ve dvou krocích dvakrát 5 ml hexanu, poté byly extrakty smíchány. Každý vzorek byl extrahován třikrát.

2.3.3 Extrakce tuhou fází

K extrakci tuhou fází byly použity kolonky se sorbentem Separon SGX C18 (modifikovaný oktadecylsilikagel, 60 μm , 0,5 g). Každá použitá kolonka byla aktivována promytím 5 ml methanolu a 10 ml destilované vody. Prosávané množství levandulových hydrosolů bylo 100 ml. Eluce extrahovaných látek probíhala pomocí 4 ml. Každý vzorek byl takto upraven třikrát.

2.3.4 Mikroextrakce tuhou fází

K mikroextrakci tuhou fází bylo použito vlákno 100 μm PDMS od firmy Supelco. Extrakce probíhala za laboratorní teploty po dobu 20 minut v 8 ml vialce, do které bylo nepipetováno 5 ml hydrosolu. Vlákno bylo do roztoku ponořené. Roztok byl v průběhu extrakce míchán míchadélkem na magnetickém míchadle. Každý vzorek byl extrahován dvakrát.

2.3.5 Chromatografická analýza

K separaci extraktů levandulových hydrosolů a stanovení relativního zastoupení jednotlivých složek byl použit plynový chromatograf s plamenově-ionizačním detektorem, pro identifikaci sloučenin plynový chromatograf s hmotnostní detekcí. Při GC-FID analýzách byla k separaci použita kolona SLB-5MS, teplotní program byl následující: 40°C 3 min \rightarrow 2°C/min \rightarrow 250°C. Teplota prostoru nástřiku byla 40°C, teplota plamenově-ionizačního detektoru byla nastavena na 270°C, dávkovaný objem extraktů byl 1 μl , desorpce z vlákna trvala 15 s. Celkový čas separace byl nastaven na 108 minut. Nosným plynem bylo helium s lineární rychlostí 30 ml/min. Průtok vodíku byl 40 ml/min a vzduchu 400 ml/min. Vyhodnocení naměřených dat proběhlo v programu GC Solution.

Při GC-MS analýzách byla k separaci použita kolona ZB-5HT Inferno, teplotní program byl stejný jako při GC-FID analýzách. Při hmotnostní detekci byla teplota interafce i iontového zdroje 200°C. V případě měření kapalných vzorků byly ionizace a sběr dat spuštěny v páté minutě analýzy. Pro ionizaci molekul separovaných látek byla použita elektronová ionizace, hodnota ionizační energie byla 70 eV. Byly snímány ionty v rozmezí m/z od 33 do 500 v režimu Scan. Vyhodnocení naměřených dat proběhlo v programu GCMS Solution.

Identifikace proběhla na základě srovnání hmotnostních spekter jednotlivých píků v chromatogramu s hmotnostními spektry čistých sloučenin v knihovnách NIST 11 (NIST, Gaithersburg, MD, USA) a FFNSC2 (Shimadzu, Kyoto, Japonsko). Verifikace byla provedena na základě porovnání retenčních indexů jednotlivých píků vypočtených dle vztahu van den Doola a retenčních indexů jednotlivých sloučenin uvedených v literatuře. Reteční idenxy jednotlivých píků v chromatogramu byly vypočteny s použitím retenčních časů řady standardů *n*-alkanů, a to jak pro GC-MS, tak pro GC-FID analýzy. K jednotlivým

identifikovaným sloučeninám z GC-MS analýz byly na základě shody retenčních indexů přiřazeny hodnoty obsahu v relativních procentech získaných z analýz GC-FID.

3 Výsledky a diskuze

3.1 Optimalizace extrakčních metod

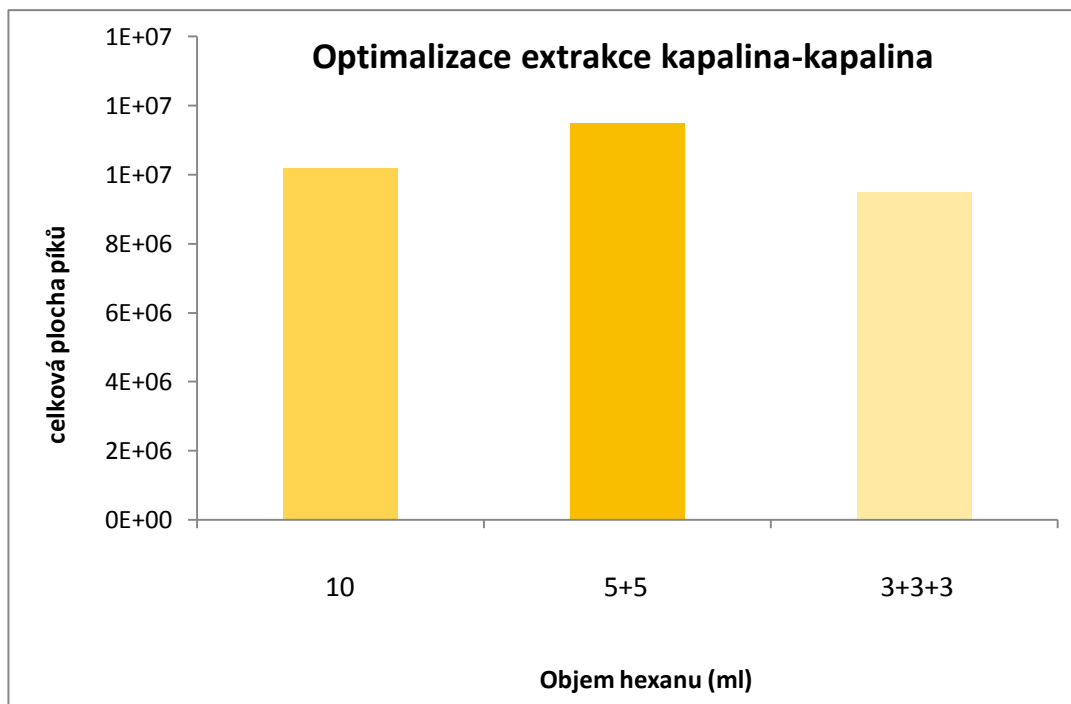
Podmínky použitých extrakčních postupů byly před analýzami optimalizovány. U extrakce kapalina-kapalina byl sledovaným parametrem objem extrakčního činidla a počet kroků, neboť u více krokové extrakce byla předpokládána vyšší účinnost. Sledovaným parametrem extrakce tuhou fází byl objem hydrosolu prosávaného přes kolonku a objem elučního činidla a u mikroextrakce tuhou fází typ sorbentu/vlákna a čas potřebný k extrakci.

3.1.1 Extrakce kapalina-kapalina

K extrakci kapalina-kapalina byla použita 100 ml dělička, do které bylo napipetováno 50 ml levandulového hydrosolu. Objem hydrosolu byl uzpůsoben velikosti vybrané děličky. K 50 ml hydrosolu bylo napipetováno zvolené množství extrakčního činidla. Extrakčním činidlem byl hexan, který je s vodným roztokem těkavých složek z levandule nemísitelný a má nízký retenční čas vhodný k analýze na GC-FID a GC-MS, neboť nedochází k překrytí píků analyzovaných látek píkem hexanu.

3.1.1.1 Počet extrakčních kroků

Pro jednokrokovou extrakci bylo zvoleno 10 ml hexanu, pro dvoukrokovou extrakci dvakrát 5 ml hexanu a třikrokovou třikrát 3 ml hexanu. Extrakční směs byla během každé extrakce třepána po dobu deseti minut. Každý vzorek byl daným postupem extrahován třikrát. Vyhodnocením celkových ploch píků v chromatogramech byl zjištěn optimální objem extrakčního činidla dvakrát 5 ml hexanu. Porovnání výsledků ze všech tří extrakčních postupů je na obrázku 10.



Obrázek 10 Graf optimalizace extrakce kapalina-kapalina

3.1.2 Extrakce tuhou fází

Sorbent kolonky byl aktivován promytím 5 ml methanolu a 10 ml destilované vody. Veškeré extrakce byly provedeny ručně s pomocí injekční stříkačky z důvodu vysoké těkavosti látek, pro které by prosávání za sníženého tlaku nebylo vhodné.

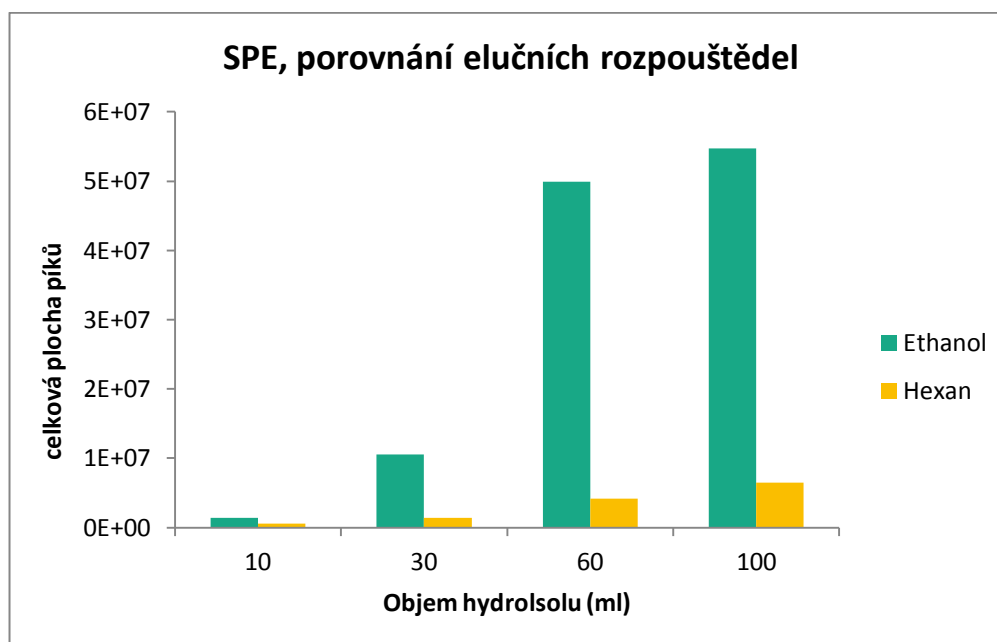


Obrázek 11 Kolonka se sorbentem Separon SGX C18 a injekční stříkačkou

3.1.2.1 Volba elučního rozpouštědla

Při volbě elučního rozpouštědla bylo zvoleno jedno rozpouštědlo polární a druhé nepolární. Z polárních rozpouštědel byl vybrán ethanol, z nepolárních rozpouštědel hexan. Obě rozpouštědla mají na použitých kolonách s použitým teplotním programem nízké retenční časy a jsou tedy vhodná k analýze na GC-FID a GC-MS, neboť nepřekrývají píky analyzovaných látek. Porovnáním celkových ploch píků získaných separací po extrakci tuhou

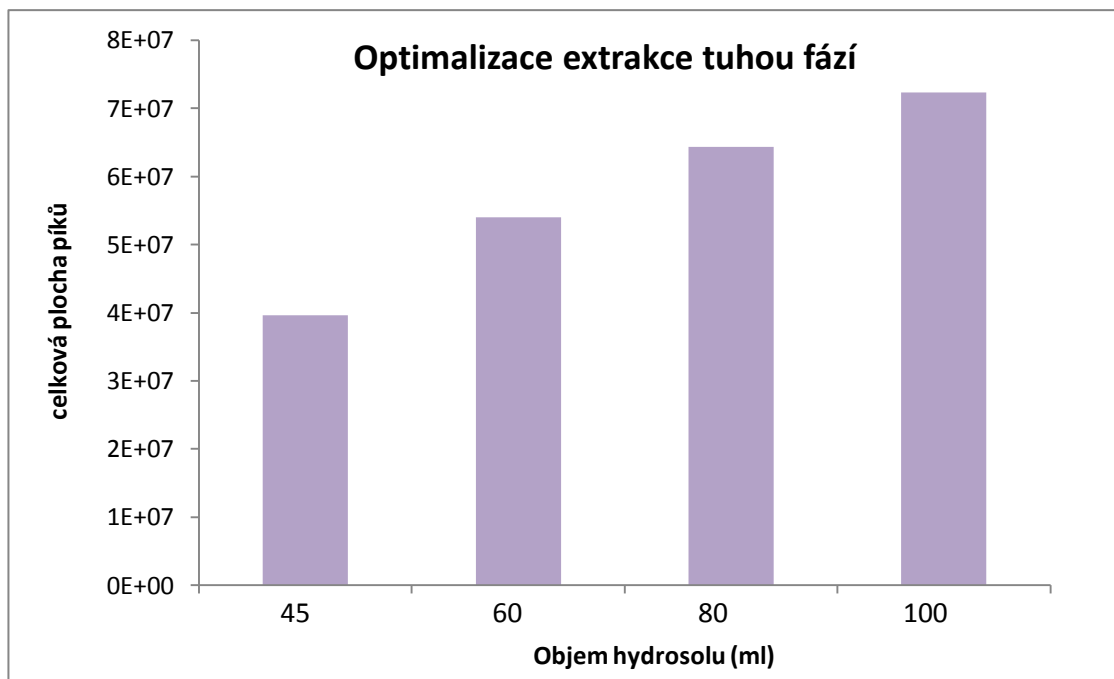
fází s danými elučními rozpouštědly bylo zjištěno, že vhodnějším elučním rozpouštědlem je ethanol. Porovnání eluční síly obou rozpouštědel je na obrázku 12.



Obrázek 12 Graf porovnání elučních rozpouštědel

3.1.2.2 Objem vzorku

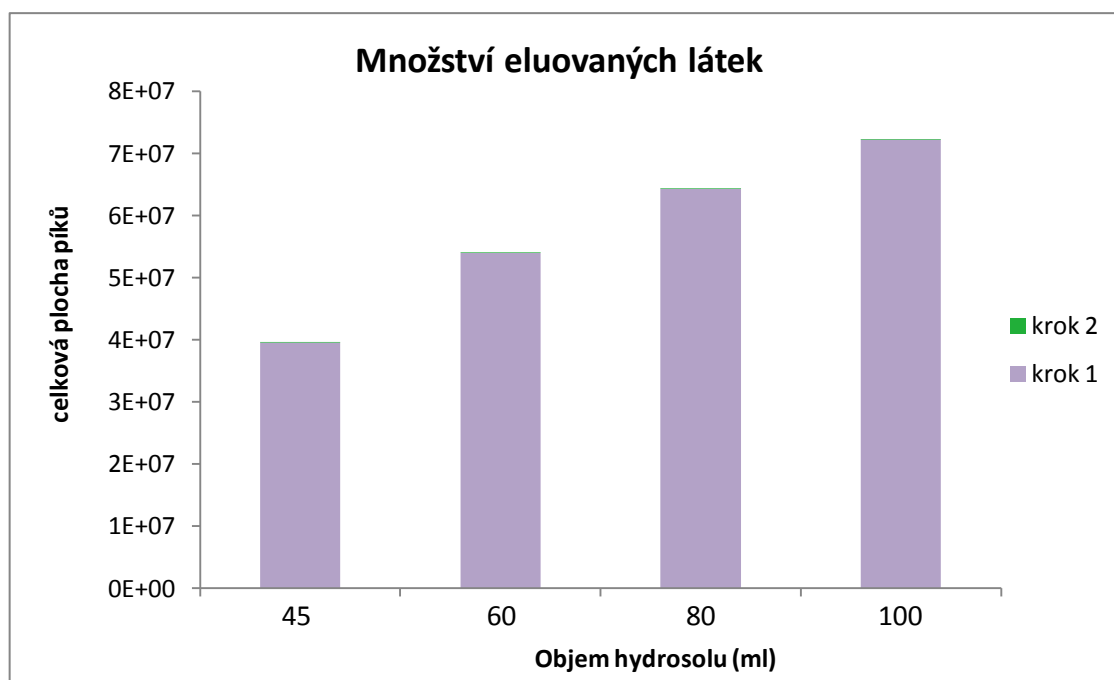
Byly zvoleny objemy 45, 60, 80 a 100 ml hydrosolu, které byly následně přes danou kolonku postupně prosávány. Eluce byla provedena 2 ml ethanolu. Pro každý jednotlivý objem byla použita nová kolonka, aby každá extrakce probíhala na čistém sorbentu. Pro každý objem byla extrakce provedena třikrát. Vyhodnocením celkových ploch píkú v chromatogramech bylo zjištěno, že optimální prosávaný objem vzorku z testovaného rozsahu je 100 ml. Z důvodu časové úspory a již dostatečného zakoncentrvoání extraktu vyšší objemy nebyly nadále testovány. Výsledky jsou graficky zobrazeny na obrázku 13.



Obrázek 13 Graf optimalizace extrakce tuhou fází

3.1.2.3 Objem elučního rozpouštědla

Extrahované těkavé složky byly z kolonky eluovány celkem 4 ml ethanolu. Eluce probíhala ve dvou krocích po 2 ml, neboť veškeré eluce probíhaly s pomocí injekční stříkačky do 2 ml odměrné baňky. Porovnání množství látek eluovaných v prvním a druhém elučním kroku je znázorněno na obrázku 14. Z grafu je patrné, že množství látek eluované v druhém extrakčním kroku je nízké v porovnání s prvním elučním krokem a je zanedbatelné. Nicméně vzhledem k tomu, že extrakt bylo stejně nutno před chromatografickou analýzou ředit, byly oba eluční kroky smíchány do výsledného extraktu.



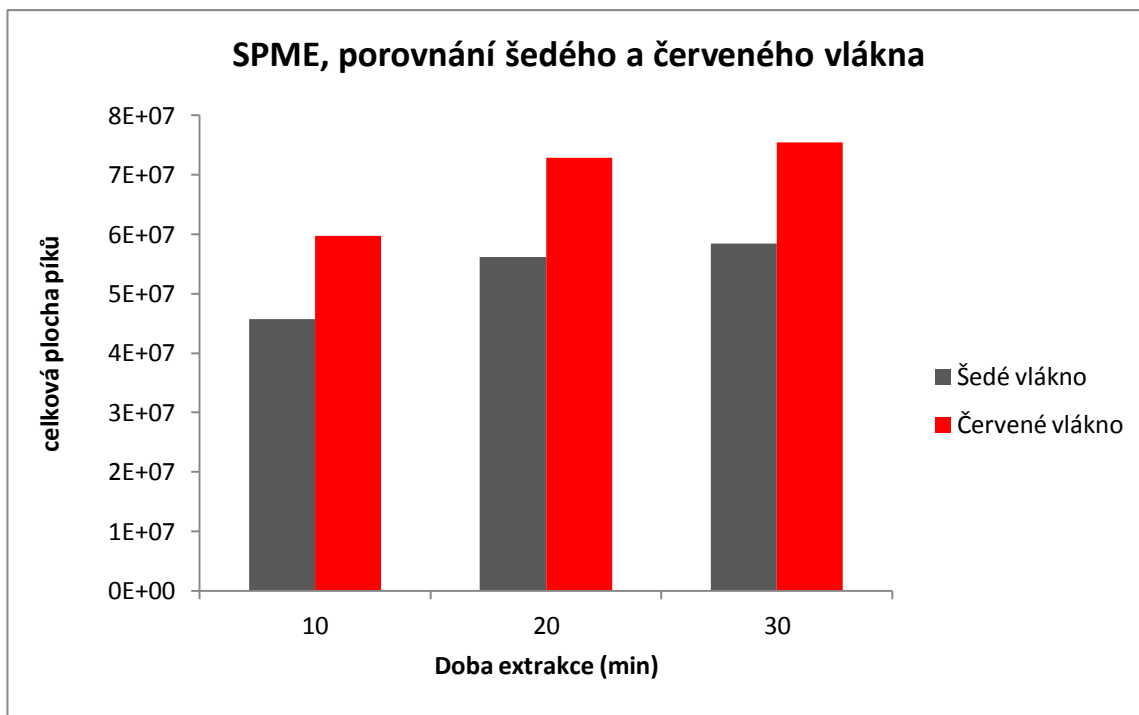
Obrázek 14 Graf porovnání elučních kroků

3.1.3 Mikroextrakce tuhou fází

K mikroextrakci tuhou fází byla použita vlákna červené (100 μm PDMS) a šedé (50/30 μm DVB/CAR/PDMS, StableFlex) barvy, neboť jsou dle výrobce vhodné k extrakci těkavých látek. Obě vlákna byla před použitím tepelně kondicionována dle návodu, šedé vlákno při 270°C po dobu 30 minut, červené při 250°C po dobu 30 minut.

3.1.3.1 Volba vlákna k mikroextrakci tuhou fází

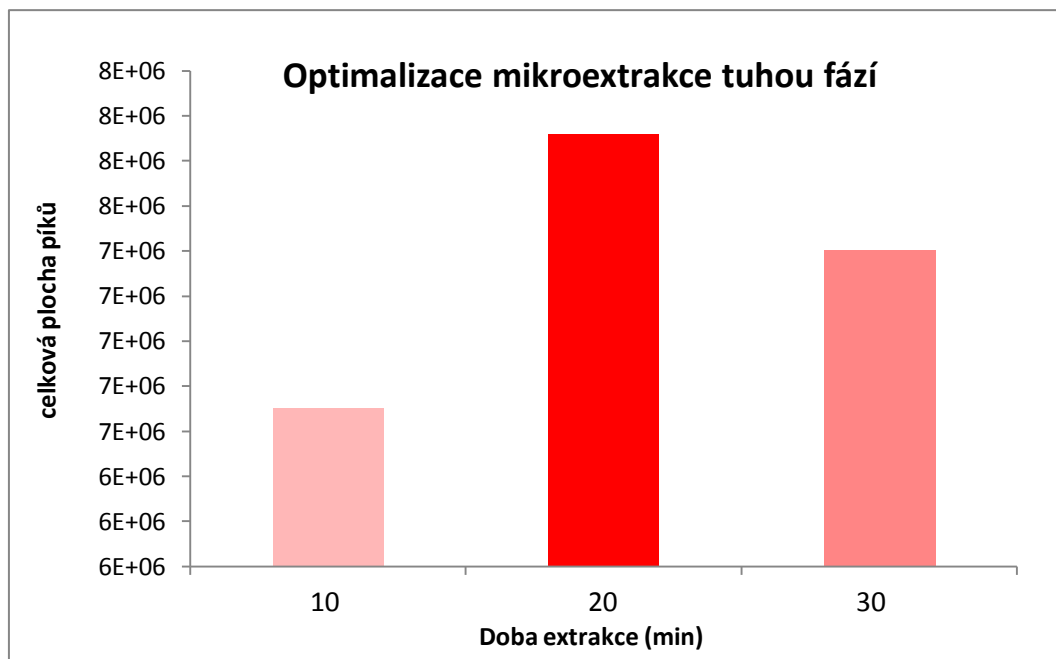
Testování vláken probíhalo v módu přímé SPME po dobu 10, 20 a 30 minut. Desorpce probíhala v nástřikovém bloku při teplotě 40°C po dobu 15 sekund. Porovnáním celkových ploch píků v chromatogramech získaných po mikroextrakci tuhou fází s vláknem šedé a červené barvy bylo zjištěno, že vhodnějším vláknem k mikroextrakci tuhou fází je vlákno červené barvy.



Obrázek 15 Graf porovnání šedého a červeného vlákna

3.1.3.2 Extrakční čas

Byly zvoleny časové úseky 10, 20 a 30 minut. Pro každý extrakční čas byly provedeny dvě extrakce. Extrakce probíhaly za laboratorní teploty. Mezi každou extrakcí bylo vlákno tepelně čištěno po dobu 10 minut při 220°C a pro každou extrakci bylo použito 5 ml levandulového hydrosolu. Extrakce probíhaly v uzavřené 8 ml vialce a roztok byl míchán míchadélkem na magnetickém míchadle. Vyhodnocením celkových ploch píků získaných chromatogramů bylo zjištěno, že optimální časový úsek k extrakci je 20 minut. Výsledky jsou graficky zobrazeny na obrázku 16.



Obrázek 16 Graf optimalizace mikroextrakce tuhou fází

3.1.4 Shrnutí optimalizovaných podmínek

Sledovanými parametry optimalizací extrakcí byly objem extrakčního rozpouštědla a počet kroků extrakce u LLE, eluční činidlo, objem hydrosolu a elučního činidla u SPE, druh vlákna a doba potřebná k extrakci u SPME. Tabulka č. 4 uvádí zjištěné optimální parametry extrakcí.

Tabulka 4 Shrnutí optimalizovaných podmínek

LLE	Počet kroků extrakce	Objem extrakčního rozpouštědla
	2	dvakrát 5 ml hexanu
SPE	Eluční činidlo/Objem	Objem hydrosolu
	Ethanol/4 ml	100 ml
SPME	Druh vlákna	Doba extrakce
	100 µm PDMS, červené	20 minut

3.2 Analýza vzorků

Vzorky hydrosolů byly hodnoceny podle chemického složení (tzn. podle identifikovaných sloučenin) a podle počtu píků v jednotlivých chromatogramech (tzn. podle potenciálního počtu sloučenin přítomných v jednotlivých extraktech).

3.2.1 Analýza pomocí extrakce kapalina-kapalina

Tabulka č. 5 uvádí seznam identifikovaných sloučenin levandulového hydrosolu získaného parní destilací. Z celkového počtu 45 píků v chromatogramu bylo identifikováno 29 sloučenin. Majoritními složkami hydrosolu jsou s průměrným relativním zastoupením linalool 41,03%, eukalyptol 25,73%, *cis*-linalooloxid 8,40%, *trans*-linalooloxid 5,53% a hotrienol 2,75%.

Tabulka 5 Seznam identifikovaných sloučenin v extraktu L-L v hydrosolu z parní destilace

Extrakce kapalina-kapalina / Parní destilace					
Identifikované látky	Retenční index	CAS číslo	Vzorek 1	Vzorek 2	Relativní zastoupení (průměr, %)
oktan	801	111 - 65 - 9	1,59	1,65	1,62
1-ethylbutylhydroperoxid	956	24254 - 56 - 6	0,14	0,13	0,14
1-methylpentylhydroperoxid	981	24254 - 55 - 5	0,17	0,17	0,17
1-okten-3-ol	985	3391 - 86 - 4	0,98	0,97	0,98
3-oktanon	989	106 - 68 - 3	0,09	0,09	0,09
3-oktanol	999	589 - 98 - 0	0,16	0,15	0,15
eukalyptol	1030	470 - 82 - 6	25,76	25,70	25,73
<i>cis</i> -linalooloxid	1069	5989 - 33 - 3	8,33	8,48	8,40
<i>trans</i> -linalooloxid	1085	34995 - 77 - 2	5,46	5,59	5,53
linalool	1100	78 - 70 - 6	41,03	41,04	41,03
hotrienol	1103	29957 - 43 - 5	2,73	2,77	2,75
kafr	1137	76 - 22 - 2	0,15	0,15	0,15
neroloxid	1158	1786 - 08 - 9	0,08	0,09	0,09
linalooloxid- <i>cis</i> -pyranoid	1169	507 - 70 - 0	0,59	0,60	0,60
terpinen-4-ol	1178	7299 - 42 - 5	1,50	1,52	1,51
krypton	1183	14009 - 71 - 3	0,08	0,09	0,09
<i>p</i> -cymen-8-ol	1185	562 - 74 - 3	0,81	0,84	0,83
α -terpineol	1193	500 - 02 - 7	1,93	1,97	1,95
verbenon	1208	1197 - 01 - 9	0,15	0,14	0,14
kuminaldehyd	1240	98 - 55 - 5	0,13	0,12	0,12
geraniol	1252	80 - 57 - 9	0,36	0,36	0,36
felandral	1275	122 - 03 - 2	0,15	0,15	0,15
<i>p</i> -cymen-7-ol	1290	106 - 24 - 1	0,27	0,28	0,28
3-oxo- <i>para</i> -menth-1-en-7-al	1332	21391 - 98 - 0	0,23	0,24	0,24
eugenol	1350	536 - 60 - 7	0,48	0,47	0,48
geranylacetát	1431	160152 - 34 - 1	0,09	0,08	0,08
kumarin	1487	97 - 53 - 0	0,67	0,69	0,68
α -bisaboloxid B	1652	105 - 87 - 3	0,15	0,18	0,17
α -bisabolol	1684	91 - 64 - 5	0,50	0,42	0,46

Tabulka č. 6 uvádí seznam sloučenin identifikovaných v hydrosolu získaného hydrodestilací. Z celkového počtu 59 píků v chromatogramu, bylo identifikováno 36 sloučenin. S hlavním relativním zastoupením se zde nachází linalool s průměrnou relativní hodnotou 46,57%, eukalyptol 23,32%, *cis*-linalooloxid 5,94%, *trans*-linalooloxid 3,99% a *n*-hexylbutanoát 3,86%. Relativní zastoupení 1,10% má oktan a zbývající složky se nachází v relativním množství pod 1%.

Tabulka 6 Seznam identifikovaných sloučenin v extraktu L-L hydrosolu z hydrodestilace

Extrakce kapalina-kapalina / Hydrodestilace					
Identifikované látky	Retenční index	CAS číslo	Vzorek 1	Vzorek 2	Relativní zastoupení (průměr, %)
oktan	801	111 - 65 - 9	1,11	1,09	1,10
1-hexanol	872	111 - 27 - 3	0,07	0,07	0,07
1-ethylbutylhydroperoxid	956	24254 - 56 - 6	0,11	0,11	0,11
1-okten-3-ol	981	3391 - 86 - 4	0,15	0,14	0,15
3-oktanon	989	106 - 68 - 3	0,09	0,09	0,09
3-oktanol	999	589 - 98 - 0	0,14	0,14	0,14
eukalyptol	1030	470 - 82 - 6	23,33	23,31	23,32
<i>cis</i> -linalooloxid	1069	5989 - 33 - 3	5,91	5,97	5,94
<i>trans</i> -linalooloxid	1085	34995 - 77 - 2	3,96	4,02	3,99
linalool	1100	78 - 70 - 6	46,56	46,59	46,57
hotrienol	1103	29957 - 43 - 5	3,52	3,49	3,51
l-pinokarveol	1137	547 - 61 - 5	0,11	0,11	0,11
kafr	1139	76 - 22 - 2	0,22	0,21	0,21
sabinol	1144	471 - 16 - 9	0,52	0,52	0,52
verbenol	1148	1845 - 30 - 3	0,18	0,18	0,18
neroloxid	1157	1786 - 08 - 9	0,06	0,06	0,06
δ-terpineol	1169	7299 - 42 - 5	0,49	0,51	0,50
linalooloxid- <i>cis</i> -pyranoid	1170	14009 - 71 - 3	0,37	0,37	0,37
terpinen-4-ol	1174	562 - 74 - 3	0,21	0,22	0,21
krypton	1183	500 - 02 - 7	0,06	0,07	0,06
<i>p</i> -cymen-8-ol	1185	1197 - 01 - 9	0,67	0,67	0,67
<i>n</i> -hexylbutanoát	1193	2639 - 63 - 6	3,86	3,86	3,86
verbenon	1208	80 - 57 - 9	0,12	0,12	0,12
<i>trans</i> -karveol	1218	1197 - 01 - 9	0,08	0,07	0,07
nerol	1225	106 - 25 - 2	0,47	0,47	0,47
kuminaldehyd	1240	122 - 03 - 2	0,12	0,11	0,11
karvon	1242	99 - 49 - 0	0,09	0,09	0,09
felandral	1275	21391 - 98 - 0	0,09	0,09	0,09
<i>p</i> -cymen-7-ol	1289	536 - 60 - 7	0,07	0,07	0,07
perilla alkohol	1290	536 - 59 - 4	0,22	0,22	0,22
3-oxo- <i>para</i> -menth-1-en-7-al	1335	160152 - 34 - 1	0,10	0,10	0,10
eugenol	1358	97 - 53 - 0	0,08	0,09	0,08
geranylacetát	1377	105 - 87 - 3	0,14	0,14	0,14
kumarin	1432	91 - 64 - 5	0,12	0,11	0,11
karyofylen	1579	1139 - 30 - 6	0,08	0,08	0,08
α-bisaboloxid B	1652	26184 - 88 - 3	0,13	0,14	0,13

3.2.2 Analýza pomocí SPE

Tabulka č. 7 uvádí seznam sloučenin identifikovaných v hydrosolu z parní destilace. Z celkového počtu píků 161 bylo identifikováno 50 sloučenin. V největším relativním

zastoupení se zde nachází linalool s průměrnou hodnotou 37,65%, eukalyptol 22,98%, *cis*-linalooloxid 7,46% a *trans*-linalooloxid 4,68%.

Tabulka 7 Seznam identifikovaných sloučenin v extraktu SPE hydrosolu z parní destilace

Extrakce SPE / Parní destilace					
Identifikované látky	Retenční index	CAS číslo	Vzorek 1	Vzorek 2	Relativní zastoupení (průměr, %)
1-okten-3-ol	981	3391 - 86 - 4	0,15	0,15	0,15
3-oktanon	989	106 - 68 - 3	0,12	0,12	0,12
3-oktanol	999	589 - 98 - 0	0,13	0,13	0,13
<i>o</i> -cymen	1022	527 - 84 - 4	0,02	0,02	0,02
eukalyptol	1030	470 - 82 - 6	22,28	23,69	22,98
levandulový lakton	1040	1073 - 11 - 6	0,03	0,03	0,03
γ -terpinen	1057	99 - 85 - 4	0,02	0,02	0,02
<i>cis</i> -linalooloxid	1070	5989 - 33 - 3	7,92	7,00	7,46
<i>trans</i> -linalooloxid	1086	34995 - 77 - 2	5,03	4,33	4,68
linalool	1102	78 - 70 - 6	36,89	38,41	37,65
hotrienol	1104	29957 - 43 - 5	2,64	2,72	2,68
kosmen	1129	460 - 01 - 5	0,04	0,04	0,04
<i>trans</i> -pinokarveol	1137	5947 - 36 - 4	0,15	0,15	0,15
bornanon	1139	464 - 49 - 3	0,20	0,20	0,20
neroloxid	1156	1786 - 08 - 9	0,03	0,03	0,03
borneol	1163	507 - 70 - 0	0,04	0,04	0,04
linalooloxid- <i>cis</i> -pyranoid	1169	14009 - 71 - 3	0,81	0,74	0,77
terpinen-4-ol	1174	562 - 74 - 3	0,39	0,37	0,38
krypton	1183	500 - 02 - 7	0,10	0,33	0,22
<i>p</i> -cymen-8-ol	1185	1197 - 01 - 9	0,85	0,86	0,85
α -terpineol	1190	98 - 55 - 5	2,39	2,38	2,38
2,6-dimethyl-3,7-oktadien-2,6-diol	1192	13741 - 21 - 4	0,05	0,05	0,05
<i>p</i> -mentha-1,5-dien-7-ol	1194	19876 - 45 - 0	1,90	1,90	1,90
3-hexenylbutanoát	1199	16491 - 36 - 4	0,03	0,02	0,02
verbenon	1206	80 - 57 - 9	0,19	0,20	0,20
karveol	1219	1197 - 07 - 5	0,17	0,20	0,18
2-hydroxycineol	1223	18679 - 48 - 6	0,05	0,05	0,05
γ -terpineol	1231	586 - 81 - 2	0,19	0,19	0,19
kuminaldehyd	1240	122 - 03 - 2	0,11	0,16	0,13
karvon	1242	99 - 49 - 0	0,11	0,11	0,11
<i>cis</i> - <i>p</i> -mentha-1(7),8-dien-2-ol	1251	22626 - 43 - 3	0,51	0,48	0,49
geraniol	1258	106 - 24 - 1	0,05	0,03	0,04
felandral	1251	21391 - 98 - 0	0,27	0,23	0,25
2,6-dimethyl-1,7-oktadien-3,6-diol	1258	51276 - 33 - 6	0,17	0,17	0,17
α -terpinen-7-al	1251	1197 - 15 - 5	0,04	0,04	0,04
<i>cymen</i> -7-ol	1258	536 - 60 - 7	0,09	0,09	0,09
perilla alkohol	1251	536 - 59 - 4	0,45	0,44	0,45
4-vinylguaiakol	1313	7786 - 61 - 0	0,06	0,06	0,06
4-hydroxykrypton	1318	39725 - 34 - 3	0,04	0,04	0,04
limonen-1,2-diol	1325	1946 - 00 - 5	0,02	0,03	0,02
<i>p</i> -mentha-1,4-dien-7-ol	1329	22539 - 72 - 6	0,12	0,13	0,12
3-oxo- <i>p</i> -menth-1-en-7-al	1333	160152 - 34 - 1	0,71	0,70	0,70
eugenol	1358	97 - 53 - 0	0,11	0,13	0,12
nerylacetát	1363	141 - 12 - 8	0,03	0,04	0,03
<i>cis</i> -karveolacetát	1367	1205 - 42 - 1	0,21	0,29	0,25
geranylacetát	1385	105 - 87 - 3	0,03	0,04	0,03
α -bisabololoxid B	1654	26184 - 88 - 3	0,03	0,04	0,04
alloaromandendernepoxid	1659	85760 - 81 - 2	0,04	0,04	0,04
hernianin	1719	23178 - 88 - 3	0,16	0,16	0,16
oplopanon	1731	531 - 59 - 9	0,06	0,07	0,06

Tabulka č. 8 uvádí seznam sloučenin identifikovaných v hydrosolu z hydrodestilace. Celkem bylo identifikováno 50 sloučenin z celkového počtu 141 piků. V největším relativním zastoupení se zde nachází linalool s průměrnou hodnotou 44,82%, eukalyptol 21,87%, *cis*-linalooloxid 6,01% a *trans*-linalool oxid 3,96%.

Tabulka 8 Seznam identifikovaných sloučenin v extraktu SPE hydrosolu z hydrodestilace

Extrakce SPE / Hydrodestilace					
Identifikované látky	Retenční index	CAS číslo	Vzorek 1	Vzorek 2	Relativní zastoupení (průměr, %)
1-okten-3-ol	981	3391 - 86 - 4	0,14	0,13	0,14
3-oktanon	985	106 - 68 - 3	0,86	0,80	0,83
<i>trans</i> -anhydrolinalool	989	54750 - 70 - 8	0,10	0,15	0,13
3-oktanol	997	589 - 98 - 0	0,02	0,02	0,02
<i>cis</i> -dehydrolinalooloxid	1004	527 - 84 - 4	0,06	0,06	0,06
eukalyptol	1030	470 - 82 - 6	22,77	20,97	21,87
levandulový lakton	1040	1073 - 11 - 6	0,02	0,02	0,02
<i>cis</i> -linalooloxid	1070	5989 - 33 - 3	4,78	7,24	6,01
<i>trans</i> -linalooloxid	1086	34995 - 77 - 2	2,90	5,01	3,96
linalool	1102	78 - 70 - 6	46,58	43,05	44,82
hotrienol	1104	29957 - 43 - 5	3,86	3,63	3,75
1-okten-3-ylacetát	1109	460 - 01 - 5	0,05	0,04	0,05
<i>p-cis</i> -menth-2-en-1-ol	1122	5947 - 36 - 4	0,03	0,02	0,03
<i>trans</i> -pinokarveol	1137	464 - 49 - 3	0,12	0,08	0,10
bornanon	1139	1786 - 08 - 9	0,20	0,20	0,20
verbenol	1142	507 - 70 - 0	0,05	0,05	0,05
neroloxid	1156	14009 - 71 - 3	0,02	0,02	0,02
pinokarvon	1160	562 - 74 - 3	0,06	0,05	0,06
borneol	1162	500 - 02 - 7	0,04	0,3	0,04
δ-terpineol	1164	1197 - 01 - 9	0,02	0,02	0,02
linalooloxid- <i>cis</i> -pyranoid	1169	98 - 55 - 5	0,59	0,61	0,60
terpinen-4-ol	1174	13741 - 21 - 4	0,22	0,24	0,23
krypton	1183	19876 - 45 - 0	0,05	0,05	0,05
<i>m</i> -cymen-8-ol	1185	16491 - 36 - 4	0,75	0,78	0,77
α-terpineol	1189	80 - 57 - 9	0,27	0,29	0,28
hexylbutyrát	1192	1197 - 07 - 5	0,07	0,08	0,08
3-hexenylbutanoát	1199	18679 - 48 - 6	0,03	0,04	0,04
verbenon	1206	586 - 81 - 2	0,15	0,15	0,15
<i>trans</i> -karveol	1218	122 - 03 - 2	0,11	0,14	0,13
nerol	1225	99 - 49 - 0	0,62	0,58	0,60
4-isopropylfenol	1230	99 - 89 - 8	0,02	0,03	0,03
kuminaldehyd	1235	122 - 03 - 2	0,02	0,02	0,02
karvon	1242	99 - 49 - 0	0,08	0,07	0,08
geraniol	1251	106 - 24 - 1	1,29	1,11	1,20
2,6-dimethyl-1,7-oktadien-3,6-diol	1258	51276 - 33 - 6	0,02	0,02	0,02
felandral	1270	21391 - 98 - 0	0,04	0,04	0,04
α-terpinen-7-al	1280	1197 - 15 - 5	0,02	0,02	0,02
bornylacetát	1284	92618 - 89 - 8	0,05	0,04	0,05
<i>p</i> -cymen-7-ol	1289	536 - 60 - 7	0,12	0,11	0,12
perilla alkohol	1290	536 - 59 - 4	0,32	0,28	0,30
karvakrol	1302	499 - 75 - 2	0,04	0,03	0,04
4-vinylguaiakol	1311	7786 - 61 - 0	0,03	0,03	0,03
<i>p</i> -mentha-1,4-dien-7-ol	1329	22539 - 72 - 6	0,07	0,06	0,07
3-oxo- <i>p</i> -menth-1-en-7-al	1332	160152 - 34 - 1	0,14	0,11	0,13
<i>trans</i> -piperitolacetát	1350	78774 - 34 - 2	1,14	1,12	1,13
eugenol	1358	97 - 53 - 0	0,09	0,09	0,09
geranylacetát	1380	105 - 87 - 3	0,02	0,02	0,02
kumarin	1431	91 - 64 - 5	0,28	0,28	0,28

α -bisaboloxid B	1658	26184 - 88 - 3	0,03	0,04	0,04
epi- α -bisabolol	1683	23178 - 88 - 3	0,29	0,29	0,29

3.2.3 Analýza pomocí SPME

Tabulka č. 9 uvádí seznam sloučenin v hydrosolu z parní destilace. Z celkového počtu 73 píků bylo identifikováno 45 sloučenin. Nejvyšší relativní zastoupení má linalool s průměrnou hodnotou 31,83%. Druhou nejvíce zastoupenou sloučeninou je epi- α -bisabolol s průměrnou hodnotou 4,69%. V hodnotě nad 1% v relativním zastoupení se ještě nachází 1-okten-3-ol a to v průměru 1,98%. Zbývající sloučeniny mají relativní zastoupení pod 1%.

Tabulka 9 Seznam identifikovaných sloučenin v extraktu SPME hydrosolu z parní destilace

Extrakce SPME / Parní destilace					
Identifikované látky	Retenční index	CAS číslo	Vzorek 1	Vzorek 2	Relativní zastoupení (průměr, %)
2,7-dimethylozepin	939	1487 - 99 - 6	0,06	0,06	0,06
dehydrosabinen	950	36262 - 09 - 6	0,03	0,03	0,03
1-okten-3-ol	985	3391 - 86 - 4	2,05	1,90	1,98
<i>trans</i> -anhydrolinalool	996	54750 - 70 - 8	0,09	0,09	0,09
<i>cis</i> -dehydrolinalooloxid	1004	54750 - 69 - 5	0,23	0,23	0,23
<i>p</i> -cymen	1022	99 - 87 - 6	0,21	0,21	0,21
eukalyptol	1027	470 - 82 - 6	0,06	0,06	0,06
<i>trans</i> - β -ocimen	1036	3779 - 61 - 1	0,14	0,13	0,14
γ -terpinen	1056	99 - 85 - 4	0,18	0,19	0,19
<i>cis</i> -linalooloxid	1069	5989 - 33 - 3	0,64	0,64	0,64
<i>trans</i> -linalooloxid	1085	34995 - 77 - 2	0,38	0,39	0,39
linalool	1101	78 - 70 - 6	31,91	31,74	31,83
hotrienol	1105	29957 - 43 - 5	0,10	0,11	0,11
kosmen	1120	460 - 01 - 5	0,11	0,12	0,12
α -kamfolenal	1125	4501 - 58 - 0	0,04	0,04	0,04
3-oktylacetát	1129	4864 - 61 - 3	0,27	0,29	0,28
<i>trans</i> -pinokarveol	1138	5947 - 36 - 4	0,17	0,02	0,10
kafr	1144	76 - 22 - 2	0,48	0,46	0,47
hexylisobutyrát	1151	2349 - 07 - 7	0,84	0,82	0,83
neroloxid	1154	1786 - 08 - 9	0,03	0,03	0,03
pinokarvon	1160	30460 - 92 - 5	0,15	0,14	0,14
δ -terpineol	1169	7299 - 42 - 5	0,12	0,12	0,12
terpinen-4-ol	1174	562 - 74 - 3	0,03	0,03	0,03
krypton	1185	500 - 02 - 7	0,32	0,31	0,31
α -terpineol	1191	98 - 55 - 5	0,48	0,55	0,52
<i>n</i> -hexylbutanoát	1193	2639 - 63 - 6	0,89	0,88	0,89
verbenon	1208	80 - 57 - 9	0,06	0,05	0,06
nerol	1230	106 - 25 - 2	0,03	0,03	0,03
kuminaldehyd	1240	122 - 03 - 2	0,48	0,46	0,47
hexylisovalerát	1242	10032 - 13 - 0	0,19	0,20	0,19
piperiton	1251	89 - 81 - 6	0,43	0,41	0,42
felandral	1275	21391 - 98 - 0	0,91	0,91	0,91
α -terpinen-7-al	1284	1197 - 15 - 5	0,28	0,29	0,29
<i>p</i> -cymen-7-ol	1290	536 - 60 - 7	0,12	0,12	0,12
hexyltiglát	1335	16930 - 96 - 4	0,09	0,09	0,09
eugenol	1358	97 - 53 - 0	0,49	0,56	0,52
nerylacetát	1366	141 - 12 - 8	0,04	0,04	0,04
geranylacetát	1383	105 - 87 - 3	0,06	0,07	0,06
kumarin	1431	91 - 64 - 5	0,19	0,17	0,18
spathulenol	1574	72203 - 24 - 8	0,06	0,07	0,07

β -atlantol	1611	38142 - 56 - 2	0,04	0,04	0,04
alloaromandendernepoxid	1645	85760 - 81 - 2	0,04	0,04	0,04
α -bisaboloxid B	1652	26184 - 88 - 3	0,56	0,59	0,58
epi- α -bisabolol	1684	23178 - 88 - 3	4,25	5,14	4,69
cyklokolorenon	1750	489 - 45 - 2	0,04	0,05	0,04

Tabulka. č. 10 uvádí seznam sloučenin identifikovaných v hydrosolu získaném hydrodestilací. Z celkového počtu 79 píků bylo identifikováno 47 sloučenin. V největším relativním zastoupení se zde nachází linalool s průměrnou hodnotou 36,78%, dále epi- α -bisabolol 2,62%, 3-oktanon 1,88%, n-hexylbutanoát 1,58%, hotrienol 1,22% a piperiton 1,11%. Zbývající sloučeniny se nachází v množství pod 1%.

Tabulka 10 Seznam identifikovaných sloučenin v extraktu SPME hydrosolu z hydrodestilace

Extrakce SPME / Hydrodestilace					
Identifikované látky	Retenční index	CAS číslo	Vzorek 1	Vzorek 2	Relativní zastoupení (průměr, %)
2,7-dimethyloxepin	939	1487 - 99 - 6	0,07	0,07	0,07
dehydrosabinen	950	36262 - 09 - 6	0,02	0,02	0,02
3-oktanon	985	3391 - 86 - 4	1,90	1,87	1,88
<i>trans</i> -anhydrolinalool	996	54750 - 70 - 8	0,09	0,09	0,09
butylbutanoát	999	109 - 21 - 7	0,10	0,10	0,10
<i>cis</i> -dehydrolinalooloxid	1004	54750 - 69 - 5	0,22	0,21	0,21
hexylacetát	1015	142 - 92 - 7	0,08	0,06	0,07
<i>p</i> -cymen	1022	99 - 87 - 6	0,09	0,07	0,08
eukalyptol	1027	470 - 82 - 6	0,07	0,05	0,06
<i>trans</i> -beta-ocimen	1036	3779 - 61 - 1	0,16	0,14	0,15
butyl-2-methylbutyrát	1046	15706 - 73 - 7	0,19	0,16	0,17
γ -terpinen	1056	99 - 85 - 4	0,14	0,12	0,13
<i>cis</i> -linalooloxid	1069	5989 - 33 - 3	0,42	0,43	0,43
<i>trans</i> -linalooloxid	1085	34995 - 77 - 2	0,26	0,27	0,26
linalool	1101	78 - 70 - 6	36,71	36,84	36,78
hotrienol	1105	29957 - 43 - 5	1,21	1,22	1,22
hexylpropanoát	1108	2445 - 76 - 3	0,33	0,34	0,34
α -kamfolenal	1125	4501 - 58 - 0	0,04	0,04	0,04
3-oktylacetát	1129	4864 - 61 - 3	0,06	0,06	0,06
<i>trans</i> -pinokarveol	1138	5947 - 36 - 4	0,03	0,03	0,03
kafr	1144	76 - 22 - 2	0,13	0,14	0,14
hexylisobutyřát	1151	2349 - 07 - 7	0,61	0,62	0,62
neroloxid	1154	1786 - 08 - 9	0,02	0,03	0,03
pinokarvon	1160	30460 - 92 - 5	0,13	0,13	0,13
isoborneol	1164	10385 - 78 - 1	0,02	0,02	0,02
δ -terpineol	1169	7299 - 42 - 5	0,16	0,16	0,16
terpinen-4-ol	1174	562 - 74 - 3	0,02	0,02	0,02
krypton	1185	500 - 02 - 7	0,26	0,28	0,27
α -terpineol	1191	98 - 55 - 5	0,69	0,76	0,72
n-hexylbutanoát	1193	2639 - 63 - 6	1,58	1,59	1,58
piperiton	1208	80 - 57 - 9	1,10	1,12	1,11
α -terpinen-7-al	1230	106 - 25 - 2	0,02	0,01	0,01
bornylacetát	1240	122 - 03 - 2	0,29	0,30	0,29
<i>p</i> -cymen-7-ol	1242	10032 - 13 - 0	0,08	0,08	0,08
karvakrol	1251	89 - 81 - 6	0,03	0,03	0,03
hexyltiglát	1275	21391 - 98 - 0	0,16	0,18	0,17
α -terpinylacetát	1284	1197 - 15 - 5	0,44	0,45	0,44
eugenol	1290	536 - 60 - 7	0,86	0,90	0,88
nerylacetát	1335	16930 - 96 - 4	0,03	0,03	0,03

geranylacetát	1358	97 - 53 - 0	0,05	0,05	0,05
lavandulol-s-methylbutyrát	1366	141 - 12 - 8	0,05	0,05	0,05
spathulenol	1383	105 - 87 - 3	0,06	0,05	0,05
β -atlantol	1431	91 - 64 - 5	0,03	0,03	0,03
alloaromandendernepoxid	1574	72203 - 24 - 8	0,03	0,03	0,03
α -bisaboloxid B	1611	38142 - 56 - 2	0,42	0,43	0,42
epi- α -bisabolol	1645	85760 - 81 - 2	2,69	2,54	2,62
cyklokolorenol	1652	26184 - 88 - 3	0,02	0,02	0,02

3.2.4 Porovnání extrakčních metod

Porovnání všech tří typů extrakcí bylo provedeno na základě počtu píků v chromatogramech. Počty píků uvádí tabulka č. 11. A také na základě relativního obsahu majoritních sloučenin, které uvádí tabulka č. 13. Průměrný počet píků v chromatogramech hydrosolu z parní destilace po extrakci kapalina-kapalina byl 53, z toho bylo identifikováno 29 sloučenin. V hydrosolu z hydrodestilace se v chromatogramech průměrně nacházelo 55 píků, z toho 36 sloučenin bylo identifikováno. V případě extrakce SPE byl průměrný počet píků v chromatogramech po separaci látek hydrosolu z parní destilace 152, z toho bylo 50 sloučenin identifikováno. V případě hydrosolu z hydrodestilace bylo po separaci v chromatogramech průměrně 120, z toho 50 sloučenin identifikováno. Průměrný počet píků v chromatogramech hydrosolu parní destilace s využitím extrakce SPME byl 111, z toho bylo 45 sloučenin identifikováno. Pro hydrosol z hydrodestilace bylo v chromatogramech po separaci průměrně nalezeno 125 píků, z toho 47 sloučenin bylo identifikováno.

V případě extrakce kapalina-kapalina a SPME bylo větší množství látek nalezeno v hydrosolu z hydrodestilace. Pochází-li všechny extrahované látky primárně ze vzorku je však diskutabilní, neboť kvůli přímému a relativně dlouhému styku vzorku s vroucí vodou může docházet k jejich degradaci a hydrolýze. Změny sloučenin ve své studii uvádí i Andersen a kol. [38]. Jedná se o biosyntetizované seskviterpeny. Jako příklad uvádí germakreny, u nichž v důsledky vysoké teploty, kyselého prostředí a reaktivních materiálů dochází ke změnám struktury. Další studie provedená Périno-Issartierem a kol. [37] uvádí degradaci linalylacetátu na linalool v lavandinových esenciálních olejích získaných parní destilací a hydrodestilací a také následnou možnou transformaci linaloolu na další monoterpeny a monoterpenoidy. Během parní destilace není vzorek v přímém kontaktu s vroucí vodou, tudíž v případě esenciálního oleje z parní destilace nepodlehne linalylacetát degradaci v takovém rozsahu jako v případě hydrodestilace, kdy vzorek v přímém kontaktu s vodou byl. Relativní zastoupení linalylacetátu tak bylo nižší v případě esenciálního oleje z hydrodestilace.

Hlavní složkou obou hydrosolů v největším zastoupení byl linalool, přirozeně se vyskytující v mnoha rostlinách (koriandr, bazalka, anýz, kumquat) [34,35,36]. Druhou nejvíce

zastoupenou sloučeninou byl eukalyptol, dále pak *cis*-linalooloxid, *trans*-linalooloxid a hotrienol.

Nejvhodnější extrakční technikou, co do počtu extrahovaných látek se jeví SPE v kombinaci s hydrosolem z parní destilace. SPE je metoda, rychlá, přesná a reprodukovatelná. Lze zpracovávat i velké množství vzorků najednou. Na rozdíl od SPME, která slouží čistě k extrakci analytů, se kterými nelze jakkoliv jinak manipulovat, SPE nachází též průmyslové využití. Tabulka č. 12 poskytuje souhrnné porovnání extrakcí.

Tabulka 11 Průměrné počty píků a počty identifikovaných sloučenin

	Parní destilace			Hydrodestilace		
	L-L	SPE	SPME	L-L	SPE	SPME
Průměrné počty píků v chromatogramech	53	152	111	55	120	125
Počet identifikovaných sloučenin	29	50	45	36	50	47

Tabulka 12 Souhrnné porovnání extrakcí

	L-L	SPE	SPME
Celkový objem extraktů	10 ml / vzorek	4 ml	5 ml
Časová náročnost	10 minut / vzorek	5-10 minut / vzorek	20 minut
Celkový objem rozpouštědel	10 ml / vzorek	9 ml	-

Tabulka č. 13 uvádí souhrn pěti sloučenin s nejvyšším relativním zastoupením v jednotlivých extraktech hydrosolů z parní destilace a hydrodestilace. Sloučeninou s nejvyšším zastoupením ve všech extraktech byl linalool. Druhou sloučeninou s nejvyšším zastoupením byl eukalyptol, až na extrakt získaný pomocí SPME. V případě extraktu SPME bylo jeho relativní zastoupení méně než 0,1% v obou zkoumaných hydrosolech. Dalšími sloučeninami s významným relativním zastoupením byly *cis*-linalooloxid a *trans*-linalooloxid, opět až na výjimku SPME extraktu, kde bylo jejich relativní zastoupení menší než 1%.

Tabulka 13 Souhrn pěti sloučenin s nejvyšším relativním zastoupením

	L-L		SPE		SPME	
	Relativní zastoupení (%)					
Parní destilace	linalool	41,03	linalool	37,65	linalool	31,83
	eukalyptol	25,73	eukalyptol	22,98	epi- α -bisabolol	4,69
	<i>cis</i> -linalooloxid	8,40	<i>cis</i> -linalooloxid	7,46	1-okten-3-ol	1,98
	<i>trans</i> -linalooloxid	5,53	<i>trans</i> -linalooloxid	4,68	felandral	0,91
	hotrienol	2,75	α -terpineol	2,68	n-hexylbutanoát	0,89
Hydrodestilace	linalool	46,57	linalool	44,82	linalool	36,78
	eukalyptol	23,32	eukalyptol	21,87	epi- α -bisabolol	2,62
	<i>cis</i> -linalooloxid	5,94	<i>cis</i> -linalooloxid	6,01	3-oktanon	1,88
	<i>trans</i> -linalooloxid	3,99	<i>trans</i> -linalooloxid	3,96	n-hexylbutanoát	1,58
	n-hexylbutanoát	3,86	geraniol	1,20	eugenol	0,88

3.2.5 Porovnání s literárními zdroji

V následujících odstavcích bude pojednáno o porovnání hydrosolů, které byly předmětem studie této diplomové práce. Jedná se o hydrosoly z parní destilace (hydrosol SD) a hydrodestilace (hydrosol HD).

Prusinowska a kol. [7]. provedli studii levandulového hydrosolu získaného hydrodestilací. K přípravě hydrosolu bylo použito 60 g sušeného levandulového květu ponořeného do 1200 ml destilované vody v 2 l destilační baňce. Destilace trvala 4 hodiny. Byly připraveny dva druhy hydrosolů, 400 ml (HV 400) a 3200 ml (HV 3200).

K extrakci těkavých látek hydrosolu byla použita extrakce kapalina-kapalina. K 200 ml hydrosolu bylo přidáno 10 g NaCl a extrahováno v pěti krocích 40 ml pentanu. Poté byl extrakt zakoncentrován na 2 ml, byl přidán 1 ml 10% vnitřního standardu C14 a doplněno pentanem na 5 ml.

Extrakce a analýza bohužel neprobíhaly ze přesně stejných podmínek, nicméně Prusinowska a kol. uvádí, že bylo identifikováno 38 sloučenin. V hydrosolu z hydrodestilace v mé studii bylo identifikováno 36 sloučenin. V největším relativním zastoupení se v obou zkoumaných hydrosolech u Prusinowské a kol. nacházel linalool a to 39,2% v HV 400 a 29% v HV 3200, což se shoduje s hydrosolem HD připraveným hydrodestilací po extrakci kapalina-kapalina, nicméně v tomto hydrosolu bylo stanoveno relativní zastoupení v průměru 41%. Další sloučeninou s významným zastoupením byl α -terpineol v relativním zastoupení 7,1% v HV 400 a 12,7% v HV 3200. V případě hydrosolu HD činilo relativní zastoupení α -terpineolu v průměru 2%. Identifikován byl též *cis*-linalooloxid v relativním zastoupení 10,1% v HV 400 a 17,2% v HV 3200 a *trans*-linalooloxid 8,2% v HV 400 a 1,9% v HV 3200. V případě hydrosolu HD bylo relativní zastoupení *cis*-linalooloxidu v průměru 8,4% a

trans-linalooloxidu 5,5%. Poslední jmenovanou sloučeninou s významným zastoupením v hydrosolu HD je eukalyptol. Jeho relativní průměrné zastoupení bylo 25,7%, zatímco Prusinowska a kol. eukalyptol mezi identifikovanými sloučeninami ani neuvádí.

Analýza levandulového hydrosolu byla provedena též Anne Plotto a Donaldem Robertsem [18]. Ve své studii zkoumali složení hydrosolů, esenciálních olejů a olejů ředěných vodou z devíti různých vzorků levandule, včetně lavandinu, v závislosti na druhu rostliny a místě původu. Zde je uvedeno porovnání složení hydrosolu SD získaného parní destilací po extrakci SPME se vzorkem č. 3, kterým je též hydrosol získaný parní destilací s SPME extrakcí. Vzorkem č. 3 byl hydrosol z *Lavandula angustifolia* pěstované v Yakima Valley ve Washingtonu. Druh části levandule, ze které hydrosol pocházel, množství vzorku a průběh parní destilace však autoři neuvádí, neboť byl hydrosol zakoupen již připravený od výrobců.

K extrakci bylo použito SPME vlákno PDMS 100 μm , což je vlákno shodné s vláknem použitým k extrakci v mé studii. Extrakční čas a množství vzorku jsou však odlišná od mých. Autoři článku k extrakci použili 100 ml levandulového hydrosolu, přeneseného do 125 ml Erlenmeyerovy baňky. Vlákno bylo do hydrosolu ponořeno v šesti různých časových intervalech a to po dobu 30 sekund, 1, 2, 3, 4 a 5 minut. Teplota vzorku byla 22-23°C a vlákno ve vzorku jemně vířilo.

Sloučeninou s největším relativním zastoupením byl opět linalool 47,9%, v případě hydrosolu z lavandinu jeho relativní zastoupení činilo až 68,49%. Průměrná hodnota linaloolu v hydrosolu SD činila 31,8%, což také odpovídá největšímu relativnímu zastoupení z identifikovaných sloučenin. Druhou nejvýše zastoupenou sloučeninou v hydrosolu SD byl *epi- α* -bisabolol s průměrnými 4,7%, ve studii Plotto a Robertse však mezi identifikovanými sloučeninami uveden nebyl. Obdobná relativní zastoupení v porovnávaných hydrosolech se však nacházela v případě *cis*- a *trans*-linalooloxidu a to pod 1%. Druhou nejvíce zastoupenou sloučeninou v hydrosolu Plotto a Robertse byl eukalyptol, jehož relativní zastoupení v levandulovém hydrosolou činilo 6,38%, v lavandinovém hydrosolu pak 1,57%. V případě hydrosolu SD byla průměrná hodnota relativního zastoupení 0,06%.

4 Závěr

Cílem této diplomové práce bylo provést literární rešerši na téma parní destilace a hydrodestilace silic z rostlin se zaměřením zejména na levanduli. V teoretické části byla popsána levandule, esenciální oleje včetně jejich výroby a odpadní produkt destilací, prostřednictvím kterých se esenciální oleje získávají, tedy hydrosoly. Jak esenciální oleje, tak hydrosoly obsahují těkavé látky, které vznikají jako druhotné metabolity rostlin. Z chemického hlediska se jedná o monotepreny, seskviterpeny, jejich oxidované formy, alkoholy, aldehydy a ketony, estery, ethery a peroxidy. Jmenovaným zástupcem může být linalool, který patří mezi terpenové alkoholy a měl vůbec nejvyšší relativní zastoupení, jak v hydrosolu z parní destilace, tak z hydrodestilace a to v případě použití všech tří druhů extrakcí (L-L, SPE, SPME). Relativní zastoupení činilo od 31 do 46%. Dále se v daných hydrosolech v poměrně velkém zastoupení nacházel eukalyptol. Eukalyptol patří mezi cyklické ethery a jeho relativní zastoupení činilo 22 až 25%. Pouze v případě extrakce SPME bylo jeho relativní zastoupení nižší než 0,1%. Dalšími významnými složkami obou hydrosolů byly *cis*-linalooloxid a *trans*-linalooloxid, které jsou oxidovanou formou linaloolu. *Cis*-linalooloxid se v obou hydrosolech nacházel v relativním množství od 5 do 8%, *trans*-linalooloxid od 3 do 5%. Pouze v případě SPME bylo jeho relativní zastoupení nižší než 1%. K tomu mohlo opět docházet v důsledku délky extrakčního času.

Dále byla popsána metoda plynové chromatografie, neboť nepřehledné množství látek, které se v rostlinách vyskytují, jsou látky těkavé, pro něž je separace pomocí plynové chromatografie vhodná.

Těkavé látky hydrosolů byly extrahovány vhodnými extrakčními technikami. Z extrakčních technik byly vybrány dvě na pevné fázi a to SPE a SPME a extrakce kapalina-kapalina, která patří mezi základní a nejstarší druhy extrakce. Před samotnými analýzami byly extrakce optimalizovány. Identifikace těkavých látek proběhly na plynovém chromatografu s hmotnostní detekcí. Potvrzení identity identifikovaných látek proběhlo prostřednictvím srovnání retenčních indexů vypočtených po separaci na GC-MS s retenčními indexy v literatuře. Prostřednictvím dat z GC-FID byly vypočteny relativní zastoupení identifikovaných sloučenin. V hydrosolu z parní destilace bylo v extraktech získaných pomocí extrakce kapalina-kapalina identifikováno 29, prostřednictvím SPE 50 sloučenin a SPME 45 sloučenin. V hydrosolu z hydrodestilace bylo pomocí extrakce kapalina-kapalina identifikováno 36 sloučenin, pomocí SPE 50 sloučenin a prostřednictvím SPME 47 sloučenin.

Chromatogramy s největším počtem píků poskytla analýza extraktů získaných pomocí SPE z hydrosolu z parní destilace.

Při porovnání dat z analýz s literárními zdroji byly zjištěny rozdíly v relativních zastoupeních jednotlivých složek. Skutečností je ovšem to, že ani vzorky, jejich původ a druhy, způsoby destilace, extrakce a separace nebyly provedeny za přesně stejných podmínek. Daná porovnání měla sloužit jen pro ukázkou výsledků jiných studií levandulových hydrosolů.

5 Seznam použité literatury

1. EL ALAOUI, Chaymae, Jean CHEMIN, Taoufiq FECHTALI, Philippe LORY. Modulation of T-type Ca²⁺ channels by Lavender and Rosemary extracts. PLoS ONE 12 (10): e0186864
2. LEGGIO, Antonella, Vanessa LEOTTA, Emilia Lucia BELSITO, Maria Luisa DI GIOLA, Emanuela ROMIO, Ilaria SANTORO, Domenico TAVERNA, Giovanni SIDONA, Angelo LIGUORI. Aromatherapy: Composition of the Gaseous Phase at Equilibrium with Liquid Bergamot Essential Oil. Chemistry Central Journal, 2017, 11:111
3. AYAZ, Muhammad, Abdul SADIQ, Muhammad JUNAID, Farhat ULLAH, Fazal SUBHAN, Jawad AHMED. Neuroprotective and Anti-Aging Potentials of Essential Oils from Aromatic and Medicinal Plants. Frontiers in Aging Neuroscience, 2017, 2, 188
4. KAMALI, Hossein, Noushin AMINIMOGHADAMFAROUJ, Ebrahim GOLMAKANI, Alireza NEMATOLLAHI. The optimization of essential oils supercritical CO₂ extraction from *Lavandula hybrida* through static-dynamic steps procedure and semi-continuous technique using response surface method. Pharmacognosy Research, 2015, 7(1): 57-65
5. ZHELJAZKOV, Valtcho D., Charles L. CANTRELL, Tess ASTATKIE, Ekaterina JELIAZKOVA. Distillation Time Effect on Lavender Essential Oil Yield and Composition. Journal of Oleo Science, 2013, 62, 4, 195-199
6. SINGH, Sukhjinder, Virendera SINGH, G.D. KIRAN BABU, V.K. KAUL, P.S. AHUJA. Economics of lavender (*Lavandula officinalis* L.) in Himachal Pradesh. Journal of Non-Timber Forest Products, 2007, 14(2): 97-100
7. PRUSINOWSKA, Renata, Krzysztof ŚMIGIELSKI, Alina KUNICKA-STYCZYŃSKA. Hydrolates From Lavender (*Lavandula angustifolia*) – Chemical composition, antimicrobial and antioxidant properties. PhD Interdisciplinary Journal

8. SHAABAN, Hamdy A.E., Ahmed H. EL-GHORAB, Takayuki SHIBAMOTO. Bioactivity of essential oils and their volatile aroma components: Review. *The Journal of Essential Oil Research*, 2012, 24, 2, 203-212
9. HOSSAIN, Sabrina, Honghoi HEO, B.C.J. DE SILVA, S.H.M.P. WIMALASENA, H.N.K.S. PATHIRANA, Gang-Joon HEO. Antibacterial activity of essential oil from lavender (*Lavandula angustifolia*) against pet turtle-borne pathogenic bacteria. *Labratory Animal Research*, 2017, 33(3), 195-201
10. SIENKIEWICZ, Monika, Anna GŁOWACKA, Edward KOWALCZYK, Anna WIKTOROWSKA-OWCZAREK, Marta JÓŹWIAK-BĘBENISTA, Monika ŁYSAKOWSKA. The Biological Activities of Cinnamon, Geranium and Lavender Essential Oils. *Molecules*, 2014, 19, 20929-20940
11. LÓPEZ, Victor, Birgitte NIELSEN, Maite SOLAS, Maria J. RAMÍREZ, Anna K. JÄGER. Exploring Pharmacological Mechanisms of Lavender (*Lavandula angustifolia*) Essential Oil on Central Nervous System Targets. *Frontiers in Pharmacology*, 2017, 8:280
12. URBIZU-GONZÁLEZ, Ana Lucía, Octelina CASTILLO-RUIZ, Guillermo Cristian GUADALUPE MARTÍNEZ-ÁVILA, Jorge Ariel TORRES-CASTILLO. Natural variability of essential oil and antioxidants in the medicinal plant *Turnera diffusa*. *Asian Pacific Journal of Tropical Medicine*, 2017; 10(2): 121-125
13. LUÍS, Ângelo, Ana Paula DUARTE, Luísa PEREIRA, Fernanda DOMINGUES. Chemical Profiling and Evaluation of Antioxidant and Anti-Microbial Properties of Selected Commercial Essential Oils: A Comparative Study. *Medicines*, 2017, 4, 36
14. PRUSINOWSKA, Renata, Krzysztof B. ŚMIGIELSKI. Composition, biological properties and therapeutic effects of lavender (*Lavandula angustifolia* L.) A review. *Herba Polonica*, 2014, 60, 2

15. TONGNUANCHAN, Phakawat, Soottawat BENJAKUL. Essential Oils: Extraction, Bioactivities, and Their Uses for Food Preservation. *Journal of Food Science*, 2014, 79, 7
16. KUNICKA-STYCZYŃSKA, A., K. ŚMIGIELSKI, R. PRUSINOWSKA, K. RAJKOWSKA, B. KUŚMIDER, M. SIKORA. Preservative activity of lavender hydrosols in moisturizing body gels. *Letters in Applied Microbiology*, 2014, 60, 27-32
17. MARUYAMA, Naho, Shigeru TANSHO-NAGAKAWA, Chizuru MIYAZAKI, Kazuyuki SHIMOMURA, Yasuo ONO, Shigeru ABE. Inhibition of Neutrophil Adhesion and Antimicrobial Activity by Diluted Hydrosol Prepared from *Rosa damascena*. *Biological and Pharmaceutical Bulletin*, 2017, 40, 2, 161-168
18. PLOTTO, Anne, Donald ROBERTS. Aroma Quality of Lavender Water: a Comparative Study. *Perfumer&Flavorist*, 2001, 26
19. LOMBARDI, Christie. Solid Phase Extraction. *Chemistry in New Zealand*, 2015
20. WOTMAN, Michael, BA; Joshua LEVINGER, MD; Lillian LEUNG, PAC; Aron KALLUSH, BA; Elizabeth MAUER, MS; Ashutosh KACKER, MD. The Efficacy of Lavender Aromatherapy in Reducing Preoperative Anxiety in Ambulatory Surgery Patients Undergoing Procedures in General Otolaryngology. *Laryngoscope Investigative Otolaryngology* 2: 2017, doi: 10.1002/lio2.121
21. BAYDAR, Hasan, Süleyman KINECI. Scent Composition of Essential Oil, Concrete, Absolute and Hydrosol from Lavandin (*Lavandula x intermedia* Emeric ex Loisel.). *Journal of Essential Oil-Bearing Plants*, 2009, 12(2), 131-136
22. STANEV, S., T. ZAGORCHEVA, I. ATANASSOV. Lavender cultivation in Bulgaria - 21th century developments, breeding challenges and opportunities. *Bulgarian Journal of Agricultural Science*, 2016, 22(4), 584-590
23. OTA, Miho, Noriko SATO, Daichi SONE, Jun OGURA, Hiroshi KUNUGI. (-)-Linalool influence on the cerebral blood flow in healthy male volunteers revealed by

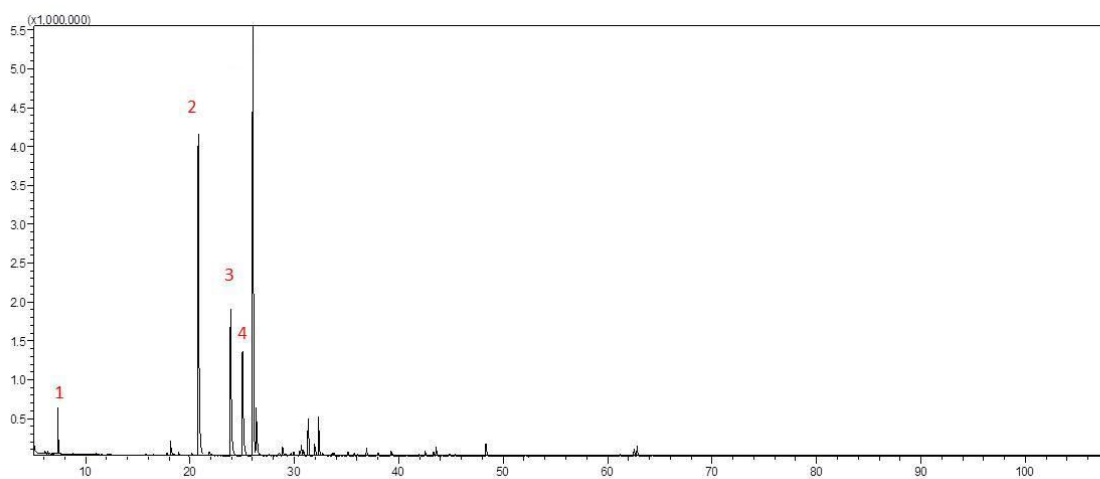
three-dimensional pseudo-continuous arterial spin labeling. *Indian Journal of Psychiatry*, 2017, 59(2): 225-227

24. RNDr. Ivana Borkovcová, Ph.D., Mgr. Romana Kostrouhová, Ph.D., Studijní materiál EXTRAKČNÍ METODY, 2013, [cit. 2018-04-29] Dostupné z: <http://www.vfu.cz/inovace-bc-a-navmgr/pub-files/realizovane-klicove-aktivity/zs-2013-2014/h3cp1/index/h3cp1---extrakcni-metody---studijni-material-zs-13-14.pdf>
25. CHURÁČEK, Jaroslav. Analytická separace látek. 1. Vydání Praha: SNTL, 1990, 384 s., ISBN 80-03-00569-8
26. MIKEŠ, Otakar. Laboratorní chromatografické metody. Praha: SNTL, 1980, 674 s., Číslo spisu 391, DT 543.544
27. SPME/HPLC Interface, Product Specification, Supelco. [cit. 2018-04-29] Dostupné z: https://www.sigmaaldrich.com/content/dam/sigmaaldrich/docs/Supelco/Product_Information_Sheet/4760.pdf
28. Extrakční techniky. Mendelu. [cit. 2018-04-29] Dostupné z: https://is.mendelu.cz/eknihovna/opory/zobraz_cast.pl?cast=52968
29. TESAŘOVÁ, Simona, Michaela CHARVÁTOVÁ, Milada VÁVROVÁ. Využití metody mikroextrakce tuhou fází pro stanovení bisfenolů ve vodách. *Chemické Listy*, 2015, 109, 539-542
30. MLEJOVÁ, Veronika, Petra PAVLÍKOVÁ, Petr DOBIÁŠ, Martin ADAM, Karel VENTURA. Aplikace mikroextrakce tuhou fází pro analýzu bylinných silic. *Chemické Listy*, 2010, 104, 166-171
31. VŠCHT PRAHA, FCHI. Extrakce na pevné fázi (SPE). [cit. 2018-04-29] Dostupné z: <http://fchi-oppa.vscht.cz/uploads/AK02-Separace/SPE.pdf>

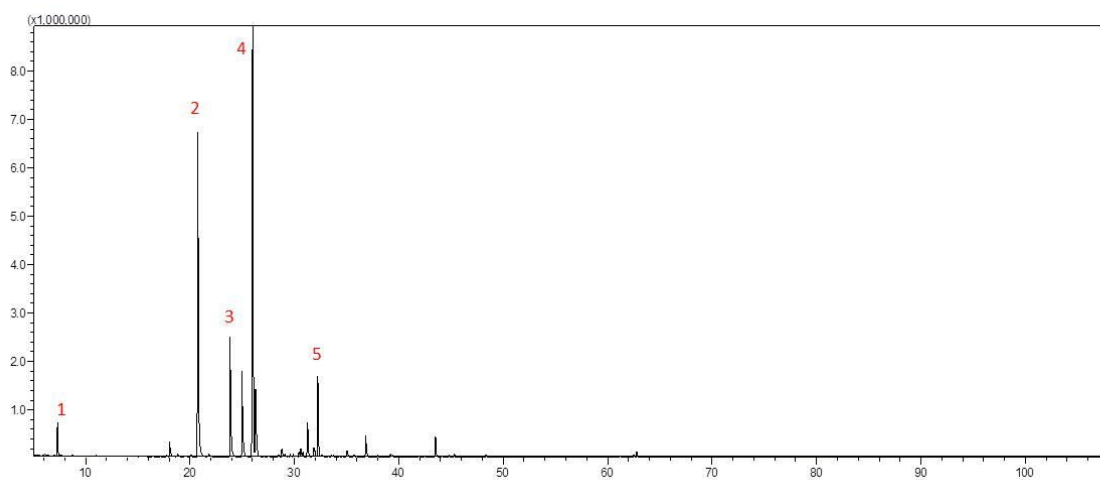
32. VŠCHT PRAHA, Kateřina Riddellová. Mikroextrakce tuhou fází (SPME). [cit. 2018-04-29] Dostupné z: https://web.vscht.cz/~poustkaj/ISM%20Cz-10%20SPME_1008%20rev%20022015.pdf
33. VŠCHT PRAHA, Kateřina Riddellová. Extrakce tuhou fází (SPE). [cit. 2018-04-29] Dostupné z: https://web.vscht.cz/~poustkaj/ISM%20Cz-6%20LSC_SPE_2012.pdf
34. BAG, Anwesa, Rabi Ranjan CHATTOPADHYAY. Evaluation of Synergistic Antibacterial and Antioxidant Efficacy of Essential Oils of Spices and Herbs in Combination. PLoS ONE, 2015, 10(7): e0131321.
35. JIANG, Yifan, Jiayan YE, Shuai LI, Ülo NIINEMETS. Regulation of Floral Terpenoid Emission and Biosynthesis in Sweet Basil (*Ocimum basilicum*). Journal of Plant Growth Regulation, 2016, 35(4): 921-935
36. FITSIOU, Eleni, Gregoria MITROPOULOU, Katerina SPYRIDOPOULOU, Angeliki TIPTIRI-KOURPETI, Manolis VAMVAKIAS, Haido BARDOUKI, Mihalis I. PANAYIOTIDIS, Alex GALANIS, Yiannis KOURKOUTAS, Katerina CHLICHLIA, Aglaia PAPPA. Phytochemical Profile and Evaluation of the Biological Activities of Essential Oils Derived from the Greek Aromatic Plant Species *Ocimum basilicum*, *Mentha spicata*, *Pimpinella anisum* and *Fortunella margarita*. Molecules, 2016, 21, 1069
37. PÉRINO-ISSARTIER, Sandrine, Christian GINIES, Giancarlo CRAVOTTO, Farid CHEMAT. A comparison of essential oils obtained from lavandin via different extraction processes: Ultrasound, microwave, turbohydrodistillation, steam and hydrodistillation. Journal of Chromatography A, 2013, 1305, 41-47
38. ANDERSEN, Trine Bundgaard, Federico COZZI, Henrik Toft SIMONSEN. Optimization of Biochemical Screening Methods for Volatile and Unstable Sesquiterpenoids Using HS-SPME-GC-MS. Chromatography, 2015, 2, 277-292

39. JANDERA, Pavel. Atomová a molekulová spektroskopie se zaměřením na stopovou analýzu kontaminantů. Univerzita Pardubice, Fakulta chemicko-technologická, 2011, ISBN 978-80-7395-392-8

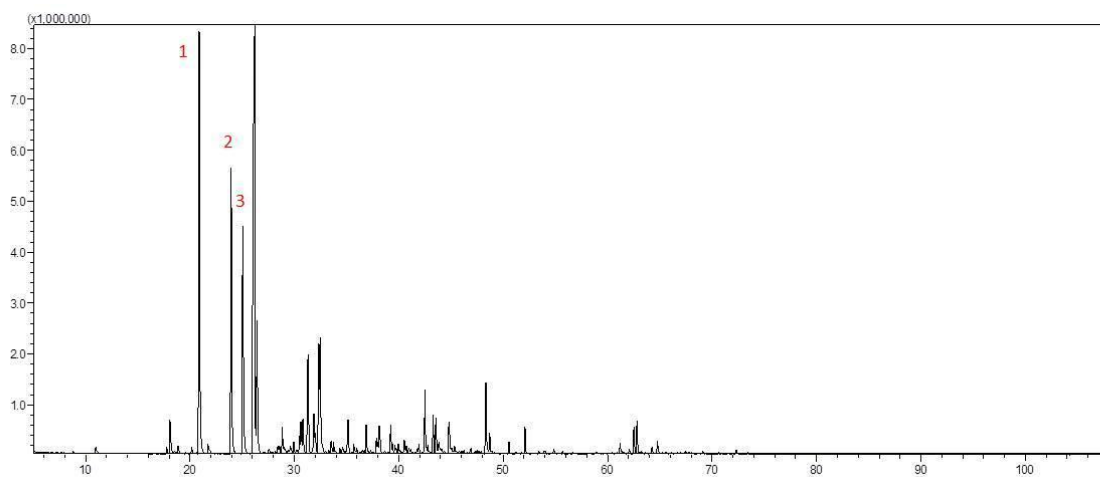
PŘÍLOHY



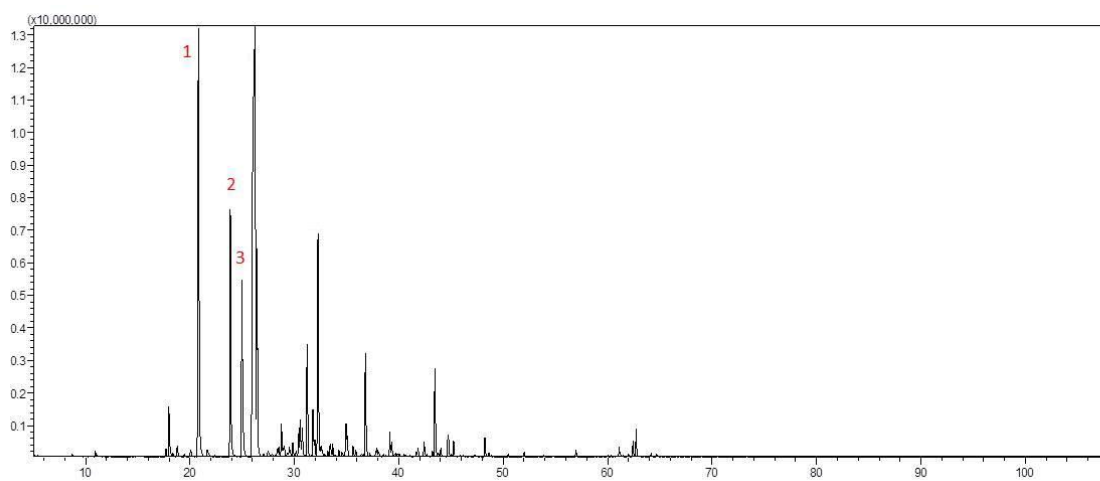
Obrázek 17 Chromatogram L-L SD; 1 - oktan, 2 - eukalyptol, 3 – *cis*-linalooloxid, 4 – *trans*-linalooloxid



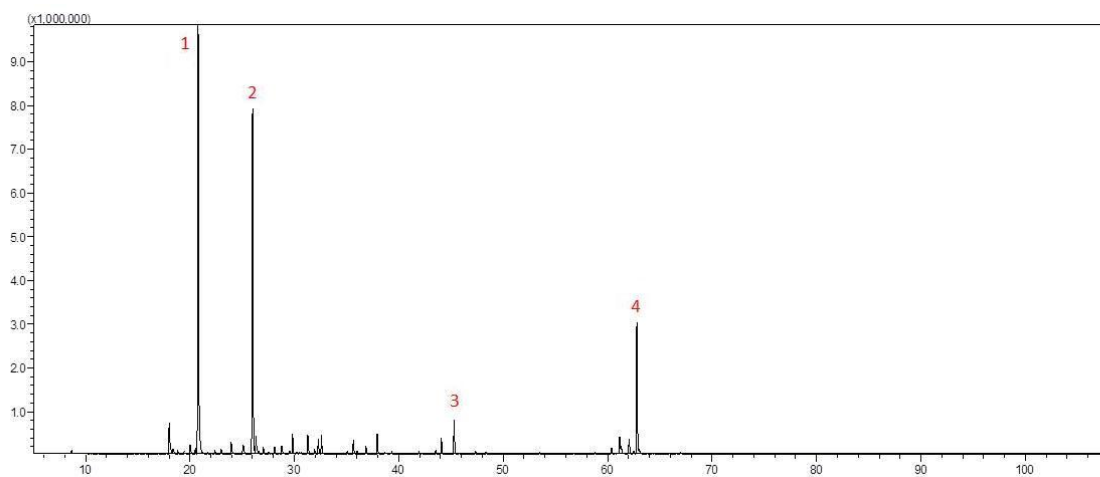
Obrázek 18 Chromatogram L-L HD; 1 – oktan, 2 – eukalyptol, 3 – *cis*-linalooloxid, 4 – linalool, 5 – α -terpineol



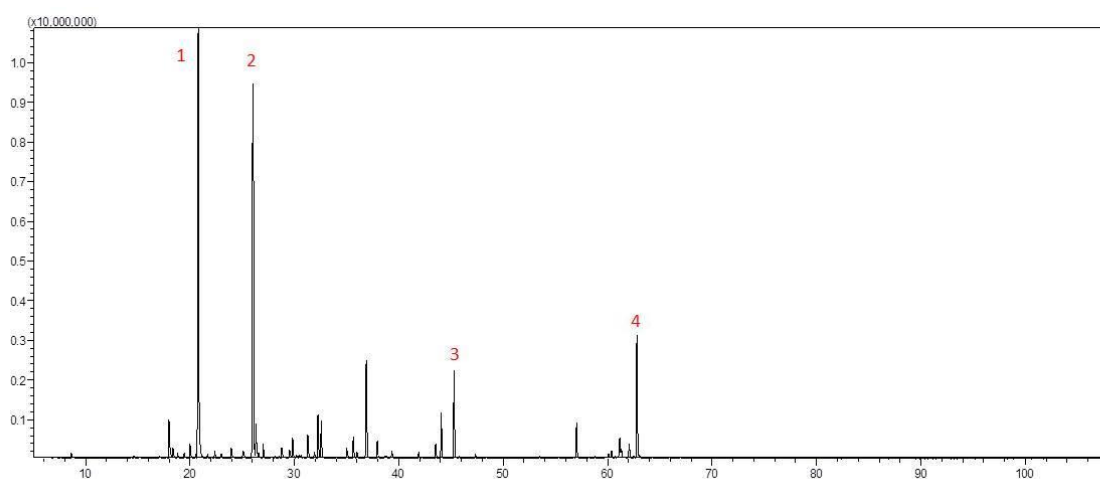
Obrázek 19 Chromatogram SPE SD; 1 – eukalyptol, 2 – *cis*-linalooloxid, 3 – *trans*-linalooloxid



Obrázek 20 Chromatogram SPE HD; 1 – eukalyptol, 2 – *cis*-linalooloxid, 3 – *trans*-linalooloxid



Obrázek 21 Chromatogram SPME SD; 1 - eukalyptol, 2 - linalool, 3 - geranylacetát, 4 – α-bisabolol



Obrázek 22 Chromatogram SPME HD; 1 – eukalyptol, 2 – linalool, 3 – geranylacetát, 4 – α-bisabolol