

UNIVERZITA PARDUBICE

FAKULTA CHEMICKO-TECHNOLOGICKÁ

DIPLOMOVÁ PRÁCE

2021

Anežka Chovancová

Univerzita Pardubice  
Fakulta chemicko-technologická

Chemická transformace těkavých sloučenin obsažených v levanduli  
Diplomová práce

2021

Anežka Chovancová

Univerzita Pardubice  
Fakulta chemicko-technologická  
Akademický rok: 2020/2021

## ZADÁNÍ DIPLOMOVÉ PRÁCE (projektu, uměleckého díla, uměleckého výkonu)

Jméno a příjmení: **Bc. Anežka Chovancová**  
Osobní číslo: **C19482**  
Studijní program: **N2901 Chemie a technologie potravin**  
Studijní obor: **Hodnocení a analýza potravin**  
Téma práce: **Chemická transformace těkavých sloučenin obsažených  
v levanduli**  
Zadávatel katedra: **Katedra analytické chemie**

### Zásady pro vypracování

1. Proveďte literární rešerši zaměřenou na esenciální oleje, jejich složení a vlastnosti. Porovnejte chemické složení levandulových olejů získaných hydrodestilací a parní destilací.
2. V experimentální části studujte chemickou transformaci vybraných složek levandulového oleje s pomocí simulace tepelných podmínek během hydrodestilace.
3. Dosažené výsledky kriticky zhodnoťte.

Rozsah pracovní zprávy:  
Rozsah grafických prací:  
Forma zpracování diplomové práce: **tištěná**

Seznam doporučené 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: **5. února 2021**  
Termín odevzdání diplomové práce: **7. května 2021**

L.S.

---

**prof. Ing. Petr Kalenda, CSc.**  
děkan

---

**prof. Ing. Karel Ventura, CSc.**  
vedoucí katedry

V Pardubicích dne 20. února 2021

Prohlašuji:

Práci s názvem Chemická transformace těkavých sloučenin obsažených v levanduli 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., o právu autorském, o právech souvisejících s právem autorským a o změně některých zákonů (autorský zákon), ve znění pozdějších předpisů, 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. 7/2019 Pravidla pro odevzdávání, zveřejňování a formální úpravu závěrečných prací, ve znění pozdějších dodatků, bude práce zveřejněna prostřednictvím Digitální knihovny Univerzity Pardubice.

V Pardubicích dne 18. 7. 2021

Anežka Chovancová

## **PODĚKOVÁNÍ**

Tímto bych chtěla poděkovat vedoucímu diplomové práce panu Ing. Tomáši Bajerovi, Ph.D. za vedení, konzultace a pomoc při psaní této diplomové práce.

## **ANOTACE**

Tato diplomová práce se zabývá změnou složení levandulového esenciálního oleje v průběhu izolace hydrodestilací. Standardy silic nejvýznamnějších komponent levandulových esenciálních olejů byly vystaveny podmínkám simulujících hydrodestilační proces a byla sledována jejich transformace. Vzorke byly analyzovány pomocí plynové chromatografie s hmotnostní detekcí. Na základě výsledků a poznatků z literárních zdrojů byly následně navrženy možné mechanismy pozorovaných transformací.

## **KLÍČOVÁ SLOVA**

levandule, hydrodestilace, esenciální olej, transformace

## **TITLE**

Chemical transformation of volatile compounds contained in lavender

## **ANNOTATION**

The subject of the diploma thesis is transformation of volatile compounds lavender essential oils during hydrodistillation. The experimental part is focused on the chemical transformation of typical volatile compounds lavender essential oils. The samples were analysed by GC-MS. Based on the results and literature sources were proposed mechanisms of transformations.

## **KEYWORDS**

Lavender, hydrodistillation, essential oil, transformation

# OBSAH

PODĚKOVÁNÍ .....	6
ANOTACE .....	7
KLÍČOVÁ SLOVA .....	7
TITLE .....	7
ANNOTATION .....	7
KEYWORDS .....	7
OBSAH .....	8
SEZNAM ILUSTRACÍ A TABULEK .....	10
SEZNAM ZKRATEK A ZNAČEK .....	12
ÚVOD .....	14
1. TEORETICKÁ ČÁST .....	15
1.1 Levandule .....	15
2.1 Esenciální oleje .....	16
2.1.1 Složení levandulových EO .....	17
2.1.2 Zdravotní účinky levandulových EO .....	21
3.1 Výroba EO .....	22
3.1.1 Macerace .....	22
3.1.2 Lisování za studena .....	22
3.1.3 Enfleráž .....	23
3.1.4 Hydrodestilace .....	23
3.1.4.1 Chemické přeměny linalylacetátu .....	24
3.1.5 Destilace pomocí vodní páry .....	29
3.1.6 Extrakce rozpouštědlem .....	29
3.1.7 Superkritická fluidní extrakce (SFE) .....	30
3.1.8 Mikrovlnná extrakce bez rozpouštědla .....	30
3.2 Předúprava a analýza EO .....	31
3.2.1. Extrakce tuhou fází .....	31
3.2.1.1 Mikroextrakce tuhou fází .....	32
3.2.2 Analýza EO .....	33
3.2.2.1 Plynová chromatografie .....	34
2. EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST .....	39
2.1 Vzorek a jeho úprava k analýze .....	39
2.2 Použité chemikálie .....	39
2.3. Použité přístroje a pomůcky .....	39



2.4 Příprava vzorku k analýze.....	40
2.4.1 Experimenty s využitím extrakce kapalina-kapalina .....	40
2.4.2 Podmínky analýzy GC-MS .....	40
2.4.3 Vyhodnocení dat z chromatogramů .....	40
2.4.4 Optimalizace extrakce kapalina-kapalina .....	41
2.5 Výsledky a diskuse .....	43
2.5.1 Analýza pomocí extrakce kapalina-kapalina .....	43
2.5.1.1 Transformace linalylacetátu.....	43
2.5.1.2 Transformace linaloolu .....	48
2.5.1.3 Transformace $\beta$ -myrcenu .....	49
2.5.1.4 Transformace $\alpha$ -terpineolu.....	50
2.5.1.5 Transformace nerylacetátu.....	50
2.5.1.6 Transformace geranylacetátu .....	51
2.5.1.7 Souhrn transformací silic pomocí extrakce kapalina-kapalina.....	51
2.5.2 Porovnání s dostupnými zdroji .....	61
ZÁVĚR .....	63
POUŽITÁ LITERATURA .....	64
PŘÍLOHA – Chromatogramy .....	71

## SEZNAM ILUSTRACÍ A TABULEK

Obrázek 1: Botanický vzhled <i>Lavandula latifolia</i> , <i>Lavandula angustifolia</i> a <i>Lavandula intermedia</i> [6].....	16
Obrázek 2: Přehled majoritních sloučenin levandulových EO [10] .....	18
Obrázek 3: Chemická struktura isoprenu [13] .....	19
Obrázek 4: Sono-Clevengerova aparatura [31] .....	24
Obrázek 5: Produkty vzniklé hydrolyzou linalylacetátu I. [29].....	25
Obrázek 6: Produkty vzniklé hydrolyzou linalylacetátu II. [29] .....	26
Obrázek 7: Tepelná degradace linalylacetátu [29] .....	27
Obrázek 8: Přeměny linalylacetátu a linaloolu během hydrodestilace [28] .....	28
Obrázek 9: Základní součásti chromatografu [49] .....	34
Obrázek 10: Schéma plamenově ionizačního detektoru [49] .....	37
Obrázek 11: Transformace linalylacetátu v závislosti na čase ohřevu (hydrolyza při 100°C).43	
Obrázek 12: Transformace linalylacetátu: extrakce kapalina-kapalina, bez zahřátí [% rel./t].47	
Obrázek 13: Hydrolyza linalylacetátu. 1: linalylacetát, 2: linalool, 3: kyselina octová .....	51
Obrázek 14: Transformace geranylacetátu a nerylacetátu na linalool. 1: geranylacetát, 2: nerylacetát, 3: linalool.....	52
Obrázek 15: Kyselinou katalyzovaná konverze linaloolu. 1: linalool, 2: $\alpha$ -terpineol .....	53
Obrázek 16: Vznik $\alpha$ -terpineolu z linalylacetátu. 1: linalylacetát, 2: kation $\alpha$ -terpinylu, 3: $\alpha$ -terpineol .....	53
Obrázek 17: Souhrn kyselinou katalyzované dehydratace linaloolu. 1: linalool, 2: $\beta$ -myrcen, 3: trans- $\beta$ -ocimen, 4: cis- $\beta$ -ocimen .....	54
Obrázek 18: Kyselinou katalyzovaná dehydratace linaloolu. 1: linalool, 2: $\beta$ -myrcen.....	54
Obrázek 19: Termooxidační rozklad linalylacetátu. 1: linalylacetát 2: $\beta$ -myrcen, 3: trans- $\beta$ -ocimen, 4: cis- $\beta$ -ocimen.....	54
Obrázek 20: Vznik limonenu a terpinolenu cyklizací $\beta$ -myrcenu, cis- a trans- $\beta$ -ocimenu. 1: $\beta$ -myrcen, 2: limonen, 3: terpinolen, 4: cis- $\beta$ -ocimen, 5: trans- $\beta$ -ocimen.....	55
Obrázek 21: Kyselinou katalyzovaná dehydratace $\alpha$ -terpineolu. 1: $\alpha$ -terpineol, 2: limonen ...	55
Obrázek 22: Vznik terpinolenu a limonenu z linalylacetátu. 1: linalylacetát, 2: $\alpha$ -terpinylový kationt, 3: terpinen-4-yllový kationt, 4: limonen, 5: terpinolen.....	56
Obrázek 23: Sigmatropní přesmyk linalylacetátu. 1: linalylacetát, 2: geranylacetát, 3: nerylacetát.....	56
Obrázek 24: Kyselinou katalyzovaná konverze linaloolu. 1: linalool, 2: geraniol, 3: nerol ....	57

Obrázek 25: Vznik geraniolu a nerolu tepelnou degradací linalylacetátu. 1: linalylacetát, 2: geraniol, 3: nerol .....	57
Obrázek 26: Transformace $\beta$ -myrcenu na pseudolimonen. 1: $\beta$ -myrcen, 2: pseudolimonen ...	58
Obrázek 27: Transformace geranylacetátu na citronellylacetát. 1: geranylacetát, 2: citronellylacetát.....	58
Obrázek 28: Izomerace terpineolů. 1: $\alpha$ -terpineol, 2: $\gamma$ -terpineol, 3: $\beta$ -terpineol, 4: $\delta$ -terpineol, 5: terpinen-4-ol .....	59
Obrázek 29: Souhrnný diagram transformací levandulových silic.....	60
Obrázek 30: Vliv extrakční metody na složení levandulového EO (sloupce v grafu jsou řazeny dle pořadí metod v legendě) [56] .....	62
Tabulka 1: Složení levandulových a lavandinových olejů podle autoritativních zdrojů (v % esenciálního oleje) [4].....	21
Tabulka 2: Sorbenty používané při SPE [42] .....	32
Tabulka 3: Stacionární fáze SPME vláken [46].....	33
Tabulka 4: Vlastnosti a charakteristiky typických kolon pro GC [48].....	35
Tabulka 5: Detektory v GC [48] .....	36
Tabulka 6: Optimalizace přípravy zásobních roztoků .....	41
Tabulka 7: Optimalizace doby záhřevu .....	41
Tabulka 8: Transformace linalylacetátu, extrakce kapalina-kapalina (hydrolyza za laboratorní teploty).....	44
Tabulka 9: Transformace linalylacetátu, extrakce kapalina-kapalina (20 min 100 °C) .....	48
Tabulka 10: Transformace linaloolu, extrakce kapalina-kapalina, bez okyselení (20 min 100 °C).....	49
Tabulka 11: Transformace linaloolu, extrakce kapalina-kapalina (20 min 100 °C).....	49
Tabulka 12: Transformace myrcenu, extrakce kapalina-kapalina (20 min 100 °C).....	49
Tabulka 13: Transformace $\alpha$ -terpineolu, extrakce kapalina-kapalina (20 min 100 °C) .....	50
Tabulka 14: Transformace nerylacetátu, extrakce kapalina-kapalina (20 min 100 °C) .....	50
Tabulka 15: Transformace geranylacetátu, extrakce kapalina-kapalina (20 min 100 °C).....	51
Tabulka 16: Srovnání vzniklých silic z linalylacetátu a linaloolu .....	52

## SEZNAM ZKRATEK A ZNAČEK

CD	konvekční sušení
CPD-VMD	konvekčně vakuové mikrovlnné sušení
DMAPP	dimethylalylidifosfát
ECD	detektor elektronového záchytu
EO	esenciální olej
EP	European Pharmacopoeia
FAB	ionizace ostřelováním urychlenými atomy
FID	plamenově ionizační detektor
FPP	farnesyldifosfát
FSOT	fused-silica open tubular column
FTIR	infračervený detektor s Fourierovou transformací
GC-MS	plynová chromatografie s hmotnostním spektrometrem
GC-MS-MS	tandemová hmotnostní spektrometrie
GGPP	geranylgeranyldifosfát
GPP	geranyldifosfát
HPLC	vysokoúčinná kapalinová chromatografie
HS-SMPE	headspace SPME
IPP	isopentenyldifosfát
ISO	International Organization for Standardization
LPP	lavandulyldifosfát
MADD	smíšená úzkostně depresivní porucha
MALDI	laserová desorpce a ionizace za účasti matrice
MS	hmotnostní detektor
NPD	dusíko-fosforový detektor
NPP	nerilyldifosfát
SBSE	sorpční extrakce na michadélku
SCOT	support-coated open tubular column
SFE	superkritická fluidní extrakce
SIM	sledování vybraného iontu

SPE	extrakce tuhou fází
SPME	mikroextrakce tuhou fází
SWE	extrakce subkritickou vodou
TCD	tepelně vodivostní detektor
TFME	mikroextrakce na tenkém filmu
TIC	celkový iontový chromatogram
VMD	mikrovlnné sušení
WCOT	wall-coated open tubular column
WHO	World Health Organization

## ÚVOD

Esenciální oleje z levandulí jsou jedny z nejpobulárnějších a nejuniverzálnějších. Cenné jsou pro své sensorické, ale také léčivé vlastnosti. Nejvýznamnějšími a nejprodukovanějšími druhy pro jejich výrobu jsou *Lavandula angustifolia*, *Lavandula intermedia* a *Lavandula latifolia*. Složení těchto esenciálních olejů je takřka stejné, nicméně poměr daných látek se u jednotlivých druhů liší. Některé složky jsou ceněny pro sensorické vlastnosti, využívají se tedy spíše pro vonný průmysl, jiné mají prokazatelné zdravotní účinky, používají se tedy hojně ve farmaceutickém průmyslu jako příměsi do léčiv, kosmetiky atd.

Na konečný obsah látek v esenciálním oleji má vliv mnoho faktorů, které složení ovlivňují již od pěstování, sklizně, zpracování, uchovávání až po samotný průběh získávání. Většina esenciálních olejů je v současné době získávána parní destilací, důvodem je šetrnost pro zachování původních látek. V této oblasti stále dochází ke zlepšování a modernizaci destilačních procesů. Ty mají za úkol eliminovat transformační děje, které vedou ke snižování kvality daného esenciálního oleje. Nejrozsáhlejší přeměny jsou dány v důsledku hydrolýzy a tepelné degradace.

Tato diplomová práce se věnuje transformaci levandulových silic v průběhu hydrodestilace, kdy je extrahovaný materiál v přímém kontaktu s vodou. Na základě výsledků analýz jsou navrženy konkrétní mechanismy pozorovaných transformací.

# 1. TEORETICKÁ ČÁST

## 1.1 Levandule

Levandule je rostlinný rod patřící do nejpočetnější podčeledi *Nepetoideae* z čeledi *Lamiaceae* (hluchavkovité). Taxonomicky se dělí na 3 podrody *Lavandula*, *Fabricia* a *Sabaudia*. Existuje okolo 40 druhů levandulí, jejichž vzájemným křížením vznikají i další varianty. Druhy levandulí se od sebe navzájem liší jak vzhledem, tak obsahem esenciálních olejů a dalších složek. Obvykle jsou to keře a polokeře nebo víceleté, opakovaně kvetoucí vytrvalé byliny dorůstající výšky 20 až 60 cm [1]. Barva květu je fialově-růžová, popřípadě bílá. Jedná se o rostliny dobře snášející sucho, ideálním prostředím pro růst jsou hlinitopísčité nebo štěrkovité půdy s nízkým zavodněním vystaveny přímému slunečnímu svitu. Nejlépe roste v půdách o pH 6-8. Řadí se mezi udržitelné plodiny, protože jejich pěstování není závislé na použití pesticidů či hnojiv [2].

Levandule pocházejí ze středomoří, v místech chudých, skalnatých půd pobřeží mírného podnebí. Dnes jsou pěstované takřka po celém světě. Jednotlivé druhy levandulí snášejí rozličné podmínky podnebí pro pěstování [2]. Mezi nejodolnější patří *Lavandula angustifolia*, která bývá běžně označována také jako levandule lékařská, anglická, úzkolistá či pravá. Je odolná vůči mrazu a ve svých původních místech výskytu roste až v nadmořských výškách do 1300 m. V mírnějších podmínkách v oblastech s nižší nadmořskou výškou a teplotami nad bodem mrazu roste *Lavandula latifolia*, označována také jako levandule širokolistá. Oproti *Lavandula angustifolia* však obsahuje méně kvalitní esenciální oleje. Hybridem těchto dvou druhů levandulí je *Lavandula intermedia* neboli lavandin. Ta obsahuje vysoké množství vonných esenciálních olejů, více než *Lavandula angustifolia* [3][4]. Z komerčního hlediska jsou *Lavandula angustifolia* a *Lavandula intermedia* nejpěstovanějšími druhy na světě pro produkci esenciálních olejů, ale také ostatní části průmyslu jako farmaceutický, kosmetický, květinářský, potravinářský či turistický ruch [5]. Morfologická rozdílnost zmíněných druhů levandulí je znázorněna na (Obrázek 1).

K největším producentům v Evropě patří Bulharsko, Francie, Velká Británie, Španělsko, jinde ve světě pak Čína, Maroko, Turecko či Spojené Státy. Některé druhy lze použít jako okrasné rostliny. Komerčně se levandule pěstují zejména pro výrobu levandulového esenciálního oleje hojně využívaného v lékařství, kosmetice, aromaterapii nebo potravinářství [3].



Obrázek 1: Botanický vzhled *Lavandula latifolia*, *Lavandula angustifolia* a *Lavandula intermedia* [6]

## 2.1 Esenciální oleje

Esenciální oleje, dále jen EO, označovány také jako silice nebo éterické oleje, obsahují esenci, tedy charakteristickou vůni rostliny, ze které pochází. Jsou to koncentrované hydrofobní kapaliny obsahující těkavé chemické sloučeniny z rostlin. Běžně lze také označit jako rostlinné sekundární metabolity tvořeny směsí těkavých organických látek. Jejich složení, kvalitu a množství lze měnit výběrem rostlinných orgánů k extrakci, věkem rostliny, složením půdy, změnou klimatu či stádiem rostlinného cyklu. Rozdílné chemické vlastnosti jsou dány počtem a typem molekul a jejich stereochemickou strukturou [7].

Určit období, kdy došlo k první výrobě EO je poměrně obtížné. Starověké písemnosti hovoří o léčivých vodách, které byly získány destilací, avšak nepopisují dostatečně přesně postup jejich výroby. První dokument popisující destilační proces se datuje do 9. století, kdy Arabové přinesli EO do Evropy. Samotný pojem „esenciální olej“ je znám až od 16. století. Od této doby se EO začaly komerčně používat v průmyslu, k terapeutickým účelům a kosmetickém odvětví. Další rozmach a rozšíření jejich využití proběhl na konci 19. století [8].

Od počátku 20. století jsou levandule pěstovány pro výrobu EO. Světová produkce levandulového EO (*Lavandula angustifolia*) se pohybuje okolo 200 tun ročně. Největšími producenty jsou Bulharsko, Velká Británie a Francie. Světová produkce lavandinového EO (*Lavandula intermedia*) je přibližně 1200 tun ročně a téměř 90 % pochází z Francie [9].

Používají se jako přísada do potravinářských výrobků a nápojů např. octy, pečivo, cukrovinky. Zejména kvůli vůni jsou složkou kosmetických přípravků a průmyslových výrobků. Dražší EO se používají hlavně ve vonném průmyslu. Vysoká cena některých EO napříč zmíněnými



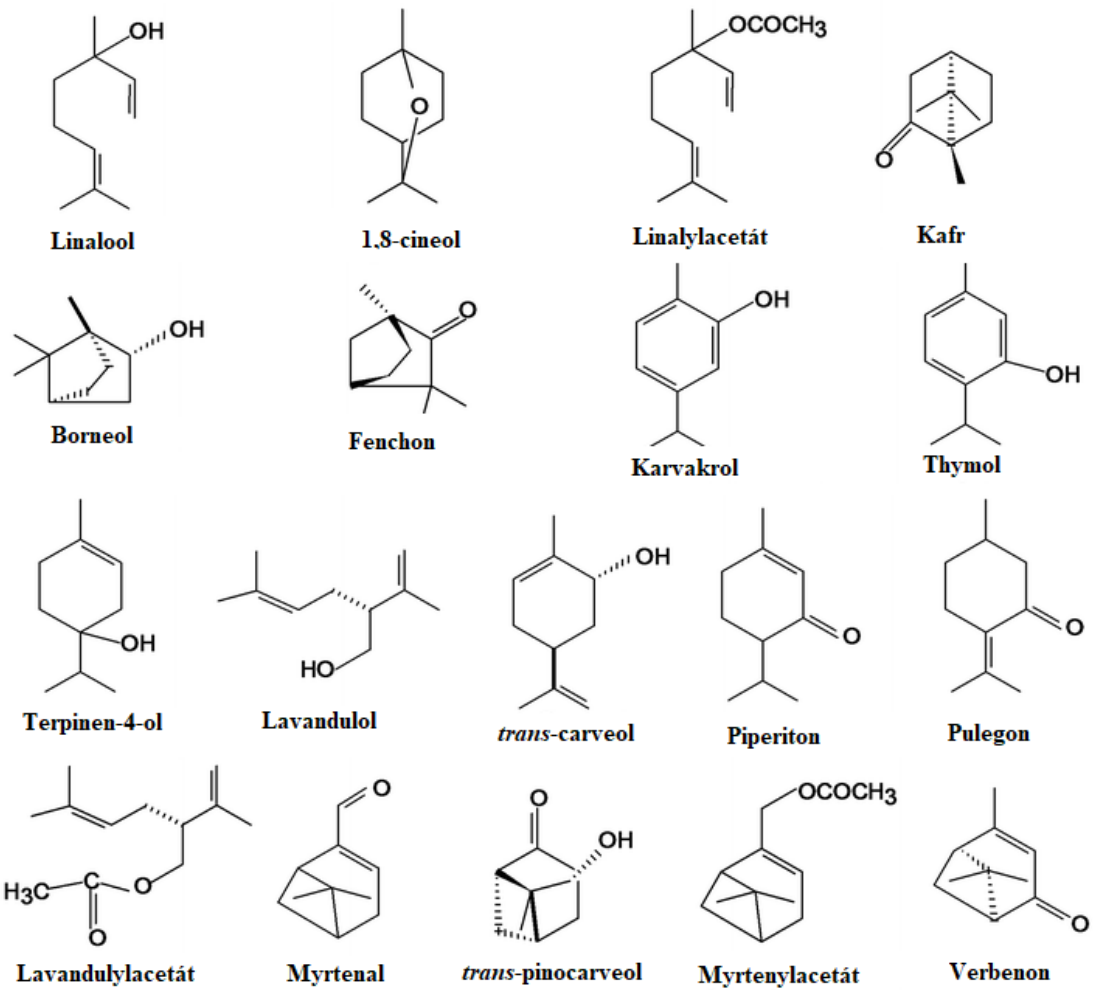
odvětvími bohužel vede ke zvýšenému riziku jejich falšování za levnější varianty. Základní kategorie falšování jsou:

- mísení EO z různých druhů levandulí,
- přídavek EO z jiných rostlin podobných levandulím,
- přídavek čištěných nebo syntetických látek za účelem získat produkt o podobných senzorických vlastnostech jako pravý levandulový EO,
- falzifikace netěkavými rozpouštědly např. glykoly, benzylbenzoát, benzylsalicylát, triethyl citrát nebo rostlinné oleje [4].

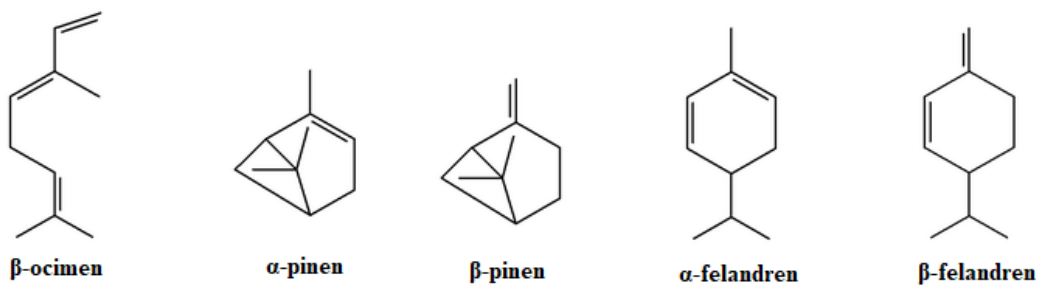
### 2.1.1 Složení levandulových EO

Chemické složení levandulových EO zahrnuje více než 200 sloučenin. Většina obsahu (90-95 %) je tvořena těkavými sloučeninami, zejména přítomností okysličených monoterpenů (terpenoidů) jako linalool, linalylacetát, 1,8-cineol, kafr a strukturně nepravidelných monoterpenoidů např. lavandulol a lavandulyl acetát. V menší míře se vyskytují monoterpeny  $\alpha$ ,  $\beta$ -pinen a  $\beta$ -ocimen spolu se seskviterpeny jako  $\beta$ -farnesen,  $\beta$ -karyofylen a seskviterpenoidy, např. karyofylenoxid. Při průběhu získávání EO může dojít i k extrakci netěkavých sloučenin jako flavonoidy, včetně antokyanů, fenolických sloučenin, taninů, kumarinů, fytosterolů, mastných kyselin a minerálních sloučenin. Ty tvoří 1–10 % EO [10]. Je nutno zmínit, že mnoho identifikovaných sloučenin v levandulových EO pochází z degradačních reakcí probíhajících během jejich získávání, například při procesu hydrodestilace, aniž by byly přirozenými složkami rostliny [3]. Přehled chemických sloučenin levandulových EO zobrazen na (Obrázek 2).

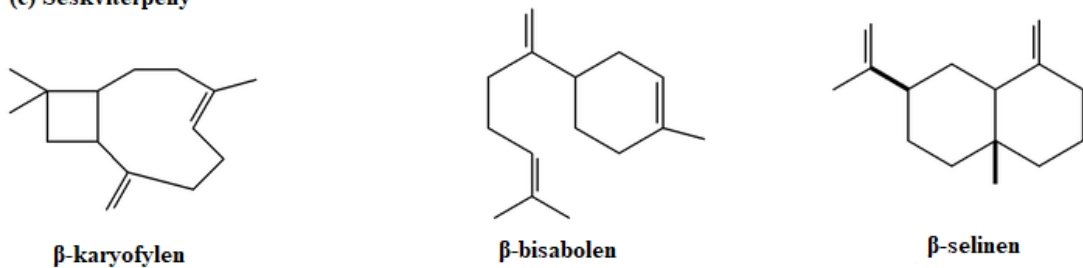
(a) Monoterpenoidy



(b) Monoterpeny



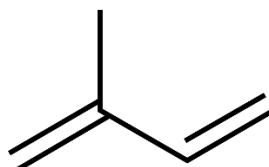
(c) Seskviterpeny



Obrázek 2: Přehled majoritních sloučenin levandulových EO [10]

Ztráty cenných složek a změna barvy vznikají také v průběhu konzervace. Nejběžnější metodou pro rostliny bohaté na EO je sušení. Tradiční metoda je sušení slunečním zářením. V současné době je nejrozšířenější konvekční sušení (CD), kdy se používá proudění horkého vzduchu. K dalším patří lyofilizace, sušení infračerveným zářením, vakuové mikrovlnné sušení (VMD), sprejové sušení či kombinace konvekčního sušení s vakuově mikrovlnným sušením (CPD-VMFD), nicméně jejich využití je rozšířené spíše v oblasti výzkumu než průmyslu. Optimální teplota pro sušení rostlin je mezi 50–60 °C [11].

Základní chemickou sloučeninou v EO je uhlovodík isopren (Obrázek 3). Jedná se o nenasycený uhlovodík 2-methyl-1,3-dien odvozený od 1,3-butadienu. Je to bezbarvá, těkává kapalina hořlavé povahy. Slouží jako stavební jednotka pro tvorbu isoprenoidů, které se dělí na terpeny a steroidy [12].



Obrázek 3: Chemická struktura isoprenu [13]

Terpeny a terpenoidy (oxidované terpeny) se odvozují kondenzací dvou prekurzorů, jimiž jsou isopentenyldifosfát (IPP) a dimethylalyldifosfát (DMAPP). Ty pocházejí z acetylkoenzymu A prostřednictvím mevalonátové dráhy v cytosolu nebo 2C-methyl-D-erytritol-4-fosfátové dráhy v plastidech. Na začátku kondenzační reakce se nejprve tvoří geranyldifosfát (GPP), farnesyldifosfát (FPP), neryldifosfát (NPP), lavandulyldifosfát (LPP) a geranylgeranyldifosfát (GGPP) [14]. Ty lze terpenovými syntázami modifikovat za vzniku monoterpenů (C<sub>10</sub>), seskviterpenů (C<sub>15</sub>), diterpenů (C<sub>20</sub>), triterpenů (C<sub>30</sub>), tetraterpenů neboli karotenoidů (C<sub>40</sub>) a polyterpenů (> C<sub>40</sub>) [15][16]. Plastidiální GPP a NPP slouží jako prekurzory pro pravidelné monoterpeny, LPP je substrátem pro nepravidelné monoterpeny, FPP je využíván pro tvorbu seskviterpenů a triterpenů v cytosolu, zatímco GGPP je prekurzorem pro diterpeny a tetraterpeny v plastidech. Tyto vzniklé sloučeniny jsou prekurzory dalších terpenoidů [14].

### Monoterpenoidy

Největší zastoupení ve složení mají monoterpenoidy. U druhů *Lavandula angustifolia*, *Lavandula latifolia* a *Lavandula intermedia* mohou přesahovat až 90 %. Nejběžnějšími jsou alkoholy (linalool, terpinen-4-ol,  $\alpha$ -terpineol, borneol, lavandulol), estery (linalylacetát,

lavandulylacetát, geranylacetát, geranylpropionát), ketony (kafr, fenchon, thujon) a oxidy (1,8-cineol). Mají významné farmakologické a sensorické vlastnosti, které jsou odpovědné za typickou levandulovou vůni. Vyšší obsah monoterpenoidů podporuje aktivita plastidových hydroxyláz a dehydrogenáz, které se podílejí na přeměně terpenových uhlovodíků [10].

Na obsah monoterpenoidů má vliv také počasí. Dešťové srážky a následný pokles teploty snižují obsah linaloolu, ale obsah linalylacetátu se nemění. Vliv má i ontogeneze rostliny. Obsah monoterpenoidů a monoterpenů se zvyšuje s květenstvím [10].

### **Monoterpeny**

Jsou řazeny mezi minoritní složky levandulových EO. Jejich největší koncentrace bývá ještě v nezralých květech a listech. Nejvyšší hladina se nachází u druhu *Lavandula dentata* (4,7-20 %), u některých vzorků ojediněle až přes 40 %. U druhů *Lavandula angustifolia* činí jejich obsah (1,5-32,7 %) u *Lavandula intermedia* (1,1-17,17 %). Největší zastoupení mají monoterpeny acyklické ( $\beta$ -myrcen, *cis*- a *trans*-ocimen), monocyklické (D-limonen) a s bicyklickými strukturami ( $\alpha$ -,  $\beta$ -pinen, kamfen).  $\alpha$ -,  $\beta$ -pinen, limonen a 3-karen převažují jako pravotočivé enantiomery. Kamfen se primárně vyskytuje jako levotočivý enantiomer [17]. Monoterpenové uhlovodíky příliš nepřispívají k sensorickým vlastnostem. Mají tendenci oxidovat. Některé vzniklé oxidační produkty pozměňují zápach a zhoršují tak kvalitu. V potravinářství a vonném průmyslu se proto některé monoterpeny, jako například limonen, záměrně odstraňují [18].

### **Seskviterpeny**

Také patří mezi minoritní složky, což je způsobeno slabou aktivitou mevalonátové dráhy, která je hlavní cestou při jejich biosyntéze. Významně přispívají k aroma a vůni rostlin. Produkují se v sekrečních buňkách a jsou uloženy v dutinách žlaznatých trichomů, které jsou přítomny na površích listů a květů [19]. Nejvíce jsou zastoupeny u druhu *Lavandula canariensis* (až 40 %) a *Lavandula angustifolia* (1,2-38,40 %). Hlavními seskviterpeny jsou  $\beta$ -karyofylen,  $\beta$ -farnesen, bisabolen, germakren D,  $\alpha$ -muurolol,  $\alpha$ -bisabolol,  $\alpha$ -cadinol, karyofylen oxid a viridiflorol [10].

Ačkoliv EO z levandulí mají v podstatě totožné chemické složení, poměr jednotlivých sloučenin u jednotlivých druhů je odlišný. Běžná kritéria pro určení původu a stanovení kvality EO jsou hladiny kafru, linaloolu a linalylacetátu [20]. Přehled o procentuálním zastoupení jednotlivých látek podle norem ISO (International Organization for Standardization), EP (European Pharmacopoeia) a WHO (World Health Organization) je uveden v (Tabulka 1).

Tabulka 1: Složení levandulových a lavandinových olejů podle autoritativních zdrojů (v % esenciálního oleje) [4]

Komponenty	Anglická levandule ( <i>Lavandula angustifolia</i> )			Lavandin Abrial	Lavandin Grosso	Levandule širokolistá ( <i>Lavandula latifolia</i> )
	ISO <sup>a</sup>	EP	WHO	ISO	ISO	ISO
limonen	0-0,1	≤ 1,0	< 1,0	0,5-1,5	0,5-1,5	0,5-3
1,8-cineol	0-3,0	≤ 2,5	< 2,5	6,0-11,0	4,0-7,0	16,0-39,0
β-felandren	0-1,0	-	-	-	-	-
cis-β-ocimen	0-10,0	-	-	b	b	-
trans-β-ocimen	0-6,0	-	-	b	b	-
3-oktanon	0-5,0	0,1-5,0	< 2,5	-	-	-
kafr	0,1-5,0	≤ 1,2	≤ 1,2	7,0-11,0	6,0-8,0	8-16
linalool	20,0-45,0	20,0-45,0	20-40	26,0-38,0	24,0-35,0	34,0-50,0
linalylacetát	25,0-47,0	25,0-47,0	25-46	20,0-29,0	28,0-38,0	≤ 1,6
lavandulol	0-3,0	≥ 0,1	-	0,4-1,2	0,2-0,8	-
terpinen-4-ol	0-0,8	0,1-8,0	1,2-6,0	0,3-1,0	1,5-5,0	-
lavandulylacetát	0-8,0	≥ 0,2	> 1,0	1,0-2,0	1,5-3,0	-
α-terpineol	0-2,0	≤ 2,0	< 2,0	-	-	0,2-2,0

<sup>a</sup> ISO normy mají konkrétní specifikace pro esenciální oleje z divoké anglické levandule z Francie a esenciální oleje z rostlin pěstovaných rostlinnými řízků ve Francii (odrůda Maillet), Austrálii, Bulharsku, Rusku a dalších zemích. Tabulka 1 uvádí nejširší možné rozpětí.

<sup>b</sup> Limity pro β-ocimen jsou 1,0-7,0 % pro Lavandin Abrial a 0,5-1,5 pro Lavandin Grosso. Bez rozdílu mezi cis- a trans-isomery.

### 2.1.2 Zdravotní účinky levandulových EO

Skutečný obraz o zdravotních účincích je závislý na konkrétním druhu levandule a jejím chemickém profilu. V lékařství se aplikují na zmírnění kožních onemocnění, inhalují pro zlepšení spánku nebo úlevu od úzkostí. Uspokojivé výsledky prokázala studie perorálního přípravku při onemocnění MADD (smíšená úzkostně depresivní porucha). Užívání zmírnilo depresivní nálady a úzkosti [21].

Při aromaterapii účinky způsobuje limbický systém, zejména amygdala a hipokampus. Dochází ke zvýšení účinku kyseliny gama-aminomáselné v amygdale. Linalool inhibuje uvolňování

acetylcholinu a tím mění funkci iontového kanálku na nervosvalové ploténce. Linalool a linalylacetát se rychle vstřebávají kůží. Linalool působí jako sedativum a linalylacetát má narkotické účinky. Aromaterapie slouží i v léčbě chronické bolesti. Dobré analgetické účinky mají levandulové EO s vyšším obsahem 1,8-cineolu, například *Lavandula latifolia* [22].

Pomáhají při léčbě dermatitid, ekzémů a lupénky. Prokázána je také aktivita proti bakteriím (*Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*), kvasinkám a vláknitým houbám (*Candida sp.*, *Aspergillus niger*, *Penicillium expansum*), kdy inhibují jejich růst při koncentracích v rozmezí 0,4 - 4,5 µg/ml [23].

### **3.1 Výroba EO**

Extrakční metody lze rozdělit na klasické (konvenční) a inovativní metody. K izolaci EO z levandulí se obvykle využívají extrakční metody hydrodestilace a destilace vodní parou. Lze použít také metody extrakce rozpouštědlem nebo zelené extrakční metody jako mikrovlnná extrakce, extrakce superkritickou tekutinou, ultrazvuková extrakce, extrakce tuhou fází. Využitelné jsou také různé kombinované systémy například mikrovlnná asistovaná hydrodestilace, mikrovlnná parní destilace, mikrovlnná gravitační hydrodifúze a koaxiální mikrovlnná asistovaná hydrodestilace [10].

Při volbě metody se bere ohled na její výhody či nevýhody zejména v otázkách průmyslového využití, odlišné selektivity produktů, úspory energie a času či nízkého ekologického dopadu. Důležité je brát také v úvahu podmínky, při kterých metody získávání EO probíhají. Vodné prostředí, pH, prodloužená extrakce či vysoké teploty mohou ovlivnit jejich složení, způsobit ztrátu těkavých složek, tepelnou či hydrolytickou degradaci nenasycených sloučenin a esterů, zanechat zbytky rozpouštědla, způsobit ztrátu farmakologických složek, změnit barvu nebo vůni/zápach [10].

#### **3.1.1 Macerace**

V tomto procesu se rostlinný materiál umístí do uzavřené nádoby s rozpouštědlem a nechá se stát při pokojové teplotě alespoň po dobu 3 dnů. Během celé doby macerace je nutné směs pravidelně promíchávat. Kapalina obsahující esenciální oleje se poté oddělí dekantací nebo filtrací [24].

#### **3.1.2 Lisování za studena**

Tímto způsobem se v dnešní době získávají pouze citrusové oleje. Průběh zahrnuje lisování kůry, po kterém dochází k sekání a opět k následnému lisování. Výsledkem je získání vodnaté

směsi, která obsahuje jak EO, tak vodnou fázi. Životnost takto získaných EO je bohužel krátká, ve srovnání s použitím jiných metod [8].

### 3.1.3 Enfleráž

Patří mezi tradiční metody. Provádí se navrstvením tuku přes rostlinný materiál. Ten absorbuje EO. K oddělení a extrakci EO od tuku se používá alkohol. Na konci procesu se alkohol odpaří, tím se získá čistý EO [8].

### 3.1.4 Hydrodestilace

Tato metoda je jedna z nejjednodušších a nejstarších při získávání EO. Je vhodná pro rostlinný materiál obsahující hydrofobní složky o vyšším bodu varu. Zařízení zahrnuje tepelný zdroj, nádobu, kondenzátor, a dekantér. Rostlinný materiál se ponoří přímo do vody a přivede se k varu. Princip je založen na azeotropické destilaci. Během procesu zahřívání tvoří voda a esenciální složky heterogenní směs, jejíž bod varu je nižší než 100 °C, ačkoli bod varu složek EO je vyšší. Voda je s většinou terpenových látek nemísitelná a po kondenzaci je dekantálně oddělená od EO. Díky vodnému prostředí nedochází k přehřátí a extrakce probíhá pod teplotou 100 °C [25]. Mezi nevýhody patří:

- není možná úplná extrakce,
- proces je neekonomický (náročnější instrumentace, prostor, znalost a zkušenosti obsluhy),
- dlouhá doba extrakce v rozmezí 3-6 hodin, pomalejší než destilace vodní parou,
- složky oleje, jako jsou estery, jsou náchylné k hydrolýze. Tu usnadňuje hodnota pH, která se v průběhu destilace snižuje.,
- acyklické uhlovodíky a aldehydy podléhají polymeraci,
- oxidované složky, jako například fenolické sloučeniny, mají sklon se ve vodě rozpouštět [26].

Levandulové EO získané hydrodestilací se vyznačují vyšším obsahem alkoholů, monoterpenů a mají kratší dobu skladovatelnosti než EO získané například parní destilací. Jejich vůně je typicky květinová s dřevitým podtónem. Hydrodestilace způsobuje degradaci termolabilních sloučenin a hydrolýzu při pH 5,5 – 6,5. Tyto jevy se vyskytují současně a navzájem se ovlivňují [27]. Obecně lze říci, že čím vyšší je obsah vody v aparatuře, tím rozsáhlejší je degradace a následná tvorba produktů. Hydrodestilace vyžaduje ponoření rostlinného materiálu do vody, proto v porovnání s ostatními metodami dochází k nejrozsáhlejší přeměně [28] [29].

K hydrolyze dochází uvolňováním  $H^+$  iontů z vody, reakce je katalyzována karboxylesterázami nebo esterázami. Z esteru vzniká odpovídající alkohol a kyselina [27].

Při hydrodestilaci a destilaci pomocí vodní páry vznikají také vedlejší produkty jako hydrosoly neboli hydroláty. Zatímco EO obsahují složky rostlin rozpustné v tucích, hydrosoly obsahují rostlinné látky rozpustné ve vodě. Hlavními složkami levandulových hydrosolů jsou linalool,  $\alpha$ -terpineol, borneol a geraniol. Z ekonomického hlediska je jejich použití výhodné zejména v kosmetickém a potravinářském průmyslu. V kosmetických přípravcích mají chladící, hydratační, tonizující účinky a vykazují revitalizační a relaxační vlastnosti. Nevýhodou oproti EO je zejména jejich snížená antimikrobiální aktivita [30].

### **Sono-Clevengerova extrakce**

Clevengerova aparatura je jedna z nejpoužívanějších pro hydrodestilaci. Její modifikace Sono-Clevengerova aparatura (Obrázek 4) byla navržena ke zlepšení účinnosti metody. Využívá ultrazvukovou technologii. Vlivem ultrazvuku dochází k sonikaci, to vede k rychlému a úplnému získání analytů z matrice. Aparatura sestává s Clevengerova přístroje s použitím dvouhrdelné varné baňky, kdy na jedno z hrdel je navíc připojena ultrazvuková sonda. Tak se dodávané ultrazvukové vlny dostávají přímo do matrice [31].



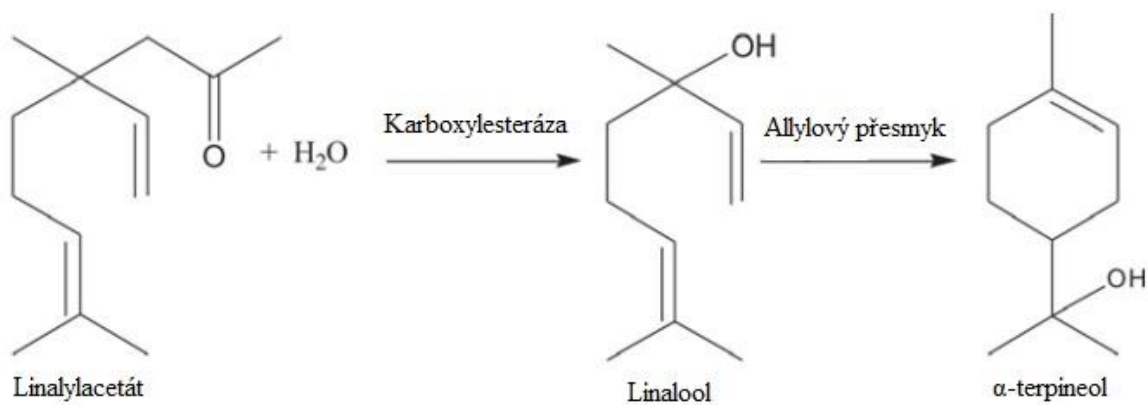
Obrázek 4: Sono-Clevengerova aparatura [31]

#### **3.1.4.1 Chemické přeměny linalylacetátu**

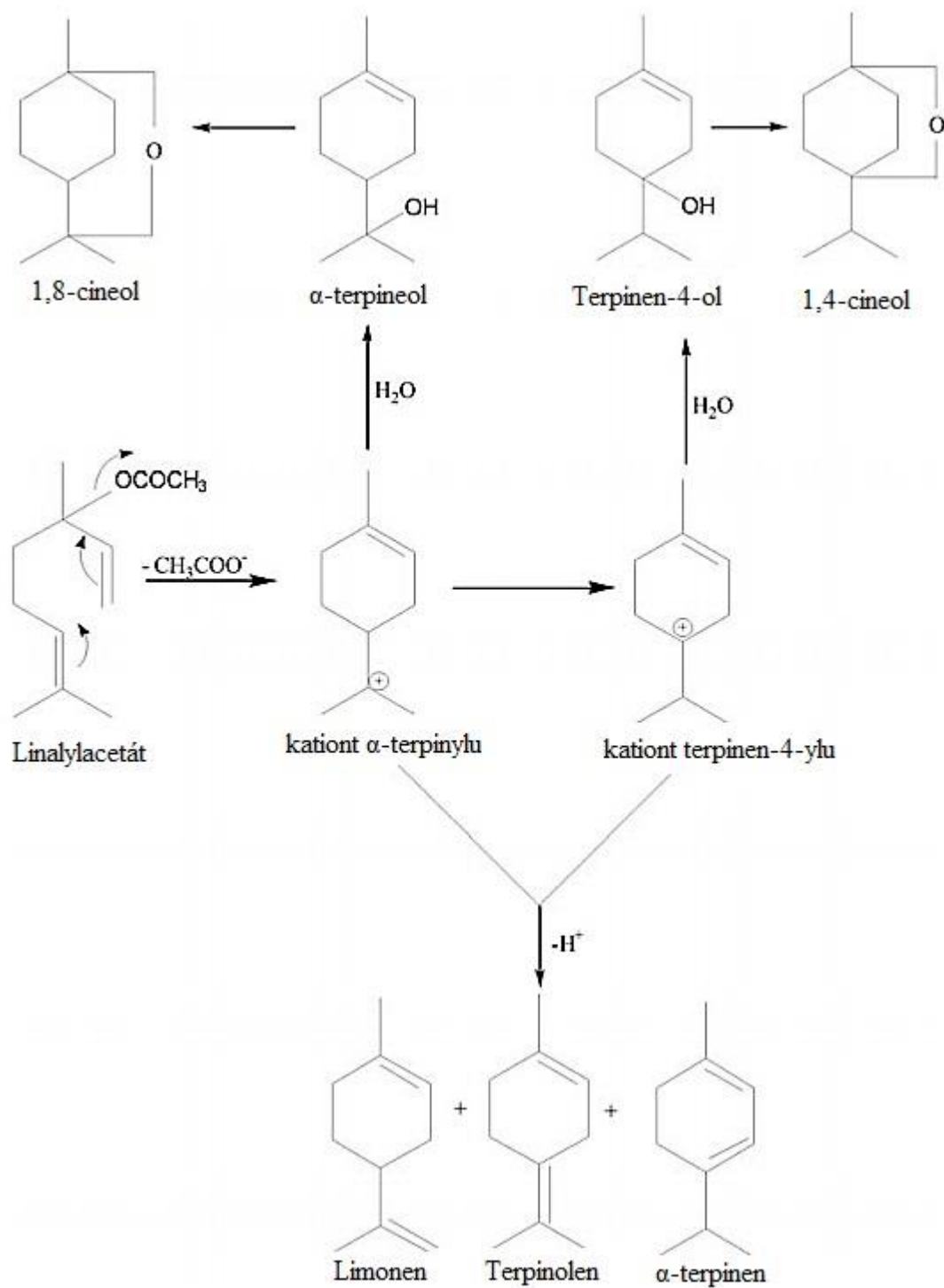
K nejpodstatnějším přeměnám dochází u linalylacetátu, proto je jeho přeměnám věnována v následujícím textu pozornost. Z hlediska terpenů se tvoří buď okysličené nebo neokysličené monoterpeny. Okysličené monoterpeny jako například 1,8-cineol,  $\alpha$ -terpineol se tvoří hydratací



$\alpha$ -terpinylového kationtu a terpinen-4-ylového kationtu. Neokysličené monoterpeny, například terpinolen, limonen,  $\alpha$ -terpinen, jsou tvořeny ze stejných kationtů, ale eliminací protonu. Podobné reakční mechanismy vykazuje také linalool [29]. Produkty, které vznikají hydrolyzou linalylacetátu jsou znázorněny na (Obrázek 5 a Obrázek 6).



Obrázek 5: Produkty vzniklé hydrolyzou linalylacetátu I. [29]

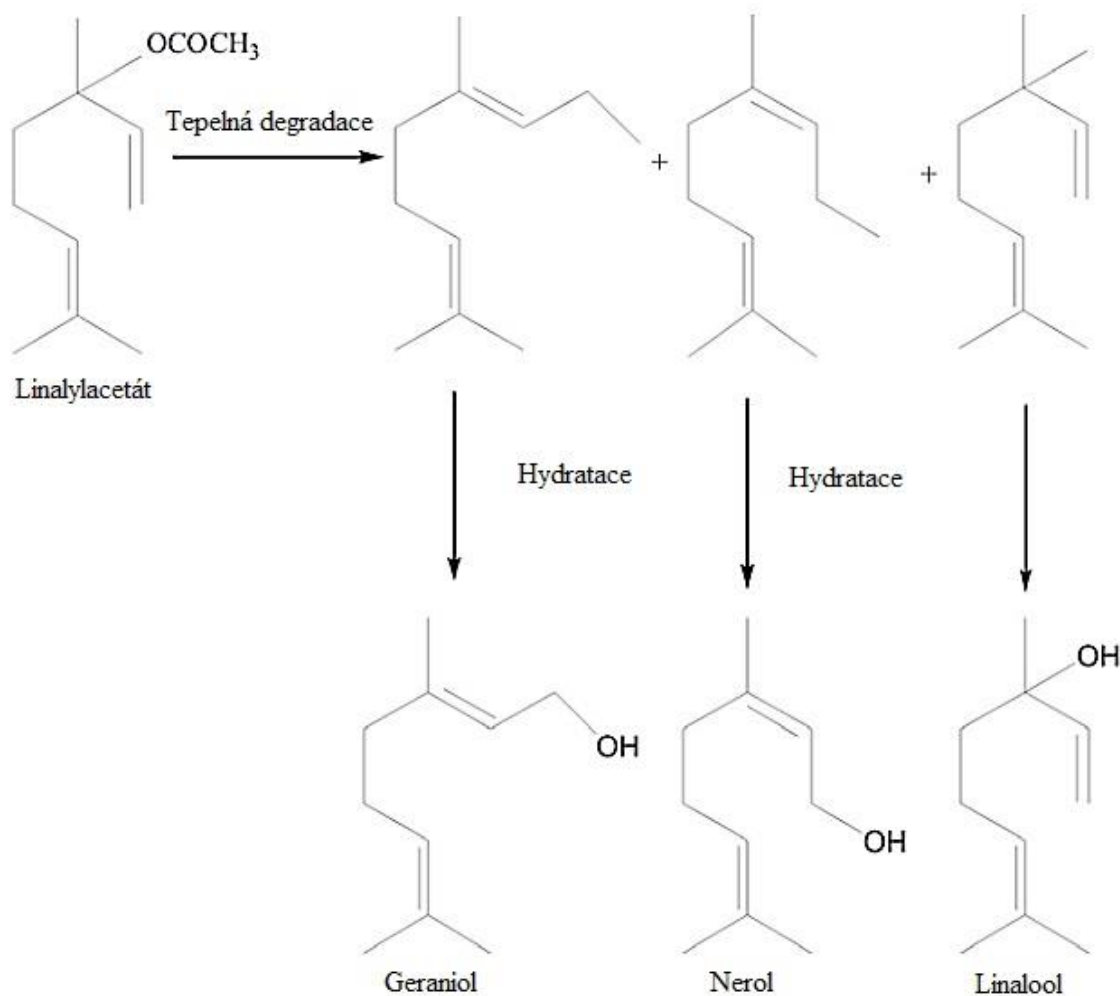


Obrázek 6: Produkty vzniklé hydrolýzou linalylacetátu II. [29]

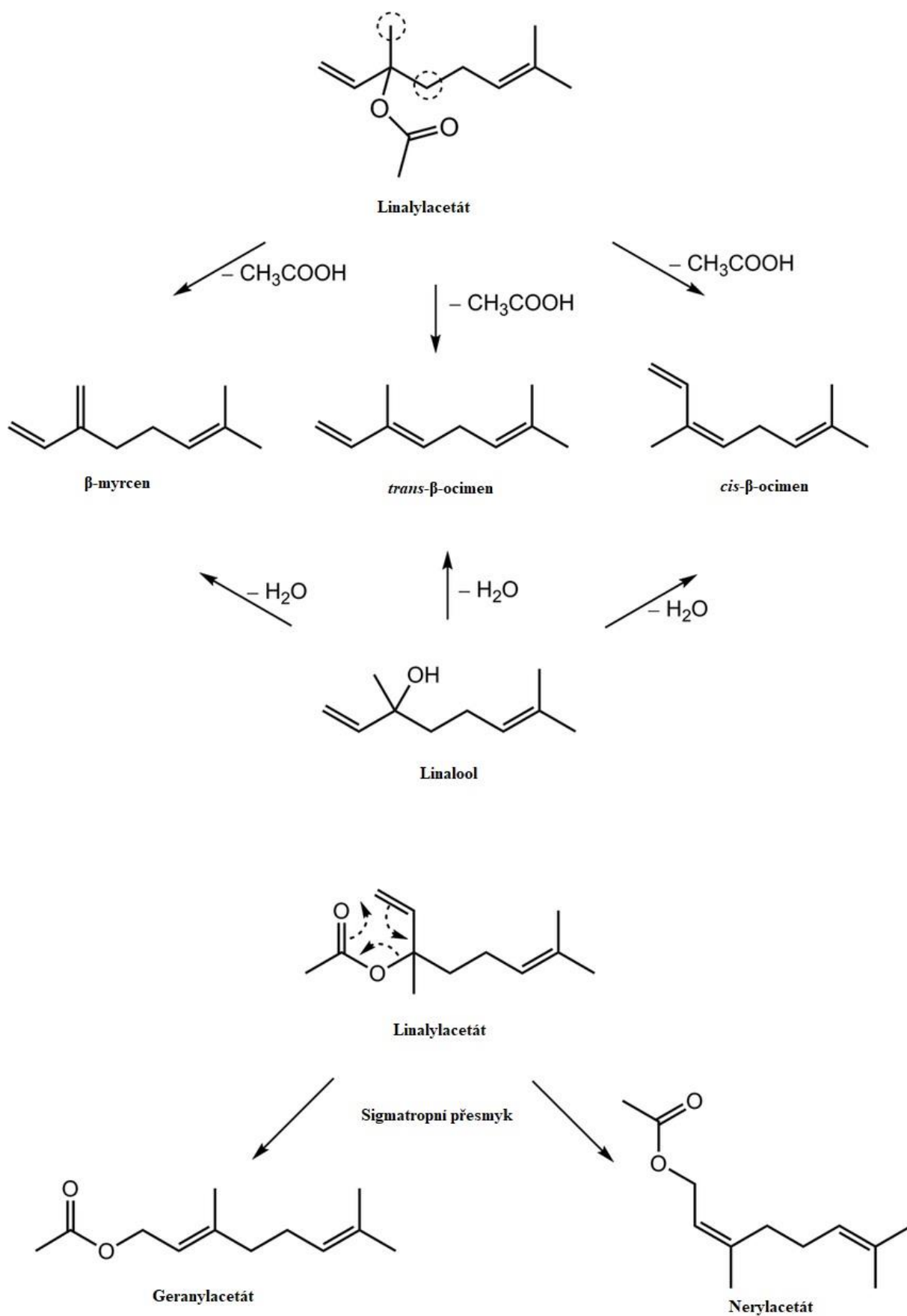
Linalylacetát degraduje, což vede zejména k vyššímu obsahu linaloolu, který tvoří nejpodstatnější část jeho přeměny. Tepelnou degradací linalylacetátu vznikají geraniol, nerol a linalool [29]. Nekatalyzovanou pericyklickou reakcí označovanou jako sigmatropní přesmyk může docházet k tvorbě geranylacetátu a nerylacetátu. Eliminací vznikají monoterpeny myrcen, *cis*-ocimen a *trans*-ocimen, tyto sloučeniny vznikají zároveň také dehydratací linaloolu

[28]. Průběh přeměny linalylacetátu v důsledku tepelné degradace a následných reakcí jsou znázorněny na (Obrázek 7 a Obrázek 8).

Různé izomery terpineolu mění vůně do tónů pelargonie nebo čajovníku. Při izolaci za použití destilačních technik se ve vyšší koncentraci vyskytují karyofylen a deriváty cadinenu, což přispívá k dřevité vůni. Tyto EO jsou posléze cenné pro vonný průmysl a aromaterapii [27].



Obrázek 7: Tepelná degradace linalylacetátu [29]



Obrázek 8: Přeměny linalylacetátu a linaloolu během hydrodestilace [28]

### **3.1.5 Destilace pomocí vodní páry**

Jedná se o nejpoužívanější metodu. Tímto způsobem se získává téměř 93 % EO. Princip je obdobný jako metoda hydrodestilace s tím rozdílem, že nedochází ke kontaktu extrahované části rostliny s vodou [28]. Rostlinný materiál se zahřívá pomocí dodávané páry, která se vytváří samostatně ve vyvíječi par. Množství a teplotu páry je možné regulovat. Teplota ohřevu rostlinného materiálu nepřesahuje 100 °C. Pára způsobuje narušení pórů rostlinného materiálu, tím se začne uvolňovat EO. Pára se poté kondenzuje a oddělí se od oleje. Tato technika je šetrnější k zachování původního složení rostlinného EO [26].

#### **Parní hydrodestilace**

Extrakce je prováděna v destilační aparatuře. Extrahovaný materiál je děrovanou přepážkou oddělen od vodní části, kde je vyvíjena vodní pára. Vodní pára proudí rostlinným materiálem směrem zdola nahoru [25].

#### **Parní destilace**

Má stejné výhody a principy jako parní hydrodestilace. Ke tvorbě par dochází mimo destilační aparaturu. Pára může být nasycená nebo přehřátá a zavádí se do spodní části extraktoru v podmínkách mírně nad hodnotou atmosférického tlaku [32].

#### **Parní hydrodifúze**

Jedná se o zvláštní případ destilace, kdy pára proudí z generátoru destilační nádobou směrem shora dolů. Metoda se aplikuje pouze pro sušené části rostlin. Provádí se za sníženého tlaku nebo vakua a teplota páry může klesnout pod 100 °C. Inovativní verze této klasické metody je mikrovlnná parní difúze, jejíž výhodou je zejména zkrácení doby extrakce [33].

### **3.1.6 Extrakce rozpouštědlem**

K extrakci rozpouštědlem se používají běžná rozpouštědla jako aceton, petrolether, hexan, methanol či ethanol. Rostlinný materiál se smísí s rozpouštědlem, směs se mírně zahřeje a následně dojde k filtraci a odpaření rozpouštědla. Tímto se získá koncentrát obsahující vosky, vonné látky a EO. Koncentrát se mísí s čistým alkoholem a poté se destiluje při nízké teplotě. Po odpaření alkoholu se získá samotný EO. Ve srovnání s jinými metodami je tato více časově a finančně náročná [34].

Takto získané esenciální oleje nejsou vhodné pro potravinářský a farmaceutický průmysl, neboť obsahují znečišťující zbytky. Této nevýhodě je možné se vyhnout volbou kombinované metody, tedy použití organického rozpouštědla o nižším bodu varu a parní destilace [35].

Extrakce rozpouštědlem může zvyšovat hladinu kumarinu, přibližně o 20 %. Levandulový EO má poté sladké, květinovo-dřevité aroma [27].

### 3.1.7 Superkritická fluidní extrakce (SFE)

Jedná se o alternativní metodu, která řeší nedostatky extrakce rozpouštědly nebo hydrodestilace. Hlavními problémy těchto metod jsou dlouhá doba přípravy, velké množství organických rozpouštědel, ztráty těkavých sloučenin, nízká účinnost, degradace nenasycených sloučenin a zbytky toxických látek v extraktu. Superkritický stav závisí na kritické teplotě a kritickém tlaku určených pro konkrétní kapalinu a plyn. V tomto stavu vykazují vlastnosti mezi plynem a kapalinou [13].

Superkritická fluidní extrakce *Lavandula angustifolia* produkuje EO obsahující vyšší hladiny monoterpenesterů a seskviterpenoidů než hydrodestilace, čímž zvyšuje jeho kvalitu. Zlepšuje výnosnost seskviterpenů (oxokadinol, kyselina hexadekanová a  $\beta$ -selinen) a monoterpenoidů (*cis* a *trans*-linalool oxid, epoxy-linalool, borneol, terpinen-4-ol a verbenon) [36].

Nejčastěji používanou superkritickou tekutinou je oxid uhličitý. Kritického stavu dosahuje za tlaku 7,4 MPa a teploty 31,2 °C, CO<sub>2</sub> je nevýbušný, netoxický, cenově dostupný a snadno odstranitelný z extraktu. Má také nízké povrchové napětí a viskozitu a je vhodný k extrakci lipofilních látek. Za podmínek vysokého tlaku se přemění na kapalinu, kterou lze použít jako velmi inertní médium k extrakci EO. V konečném produktu nezůstává žádný zbytek rozpouštědla, protože kapalný CO<sub>2</sub> se za normálního atmosférického tlaku a teploty vrací zpět do plynného stavu. Hlavní nevýhodou je, že postrádá polaritu potřebnou k extrakci polárních látek. Tento problém se dá řešit přidávkem modifikátoru, např. methanolu. [37].

Jako velice slibné chemické médium se považuje superkritická voda. Jedná se o vodu, která překračuje teplotu 374 °C a tlak 22,1 MPa. Při těchto podmínkách voda mění své vlastnosti a přechází do superkritického stavu. Vlastností vody o zvýšené teplotě lze využít i při podkritických teplotách, tzv. extrakce subkritickou vodou (SWE). Teplota je mezi 100–374 °C a tlak mezi 1–6 MPa. Voda je polární rozpouštědlo. S rostoucí teplotou se ale mění struktura, narušují se vodíkové můstky a voda ztrácí polaritu. Je tedy schopna rozpouštět i nepolární organické látky. Hlavní výhody jsou nulová toxicita a nízké provozní náklady [38].

### 3.1.8 Mikrovlnná extrakce bez rozpouštědla

Jedná se o rychlou extrakci EO z aromatických bylin. Metoda zahrnuje kombinaci mikrovlnného ohřevu a suché destilace prováděné za atmosférického tlaku bez použití rozpouštědla nebo vody. Izolace a koncentrace je provedena v jednom stupni. Nespornou

výhodou je zejména krátká doba extrakce, 30 minut mikrovlnné extrakce odpovídá tří hodinové hydrodestilaci. Vykazuje i lepší výnosy, menší dopad na životní prostředí a značně eliminuje ztrátu a přeměnu látek v získaném EO, ten má i mnohem větší čistotu [34].

## **3.2 Předúprava a analýza EO**

### **3.2.1. Extrakce tuhou fází**

Extrakce tuhou fází (SPE) je jednou z variant předúpravy vzorků a nahrazuje extrakci kapalina-kapalina v biologických, potravinářských a environmentálních analýzách. Nejčastěji se používá pro extrakci středně těkavých a netěkavých látek, k jejichž zakoncentrování a odstranění nežádoucích látek. Mezi její stěžejní výhody patří nízká spotřeba rozpouštědla, nízké náklady, zkrácení doby zpracování a automatizace procesu [39].

V případě EO se SPE využívá pro předseparaci a frakcionaci před analýzou na plynovém chromatografu nebo po extrakci SWE. EO lze rozdělit do dvou skupin. První a největší skupinou jsou EO, které obsahují velkou a složitou směs sloučenin (uhlovodíky, estery, alkoholy, karbonyly atd.). Druhá skupina se skládá z jedné hlavní složky, která mnohdy tvoří více než 90 % a několika dalších minoritních sloučenin. Právě u druhé skupiny může být obtížné stanovit a kvantifikovat některé z vedlejších složek, ačkoli mohou být stěžejní pro kvalitu a vlastnosti daného EO. Pomocí SPE lze vytvořit tři frakce. První obsahuje veškeré nasycené i nenasycené uhlovodíky, druhá frakce karbonylové sloučeniny, ethery, estery a terciární alkoholy, třetí frakce obsahuje primární alkoholy, kyseliny a dioly [40].

Principem SPE je extrakce z kapaliny na tuhou fází proléváním kapalného vzorku kolonkou naplněnou pevným adsorbentem. Analyt musí mít větší afinitu k pevné fázi, tudíž se na ni zachycuje a zároveň zakoncentrovává. Po extrakci veškerého analytu na pevnou fází následuje promytí vhodným elučním činidlem o malém objemu, které uvolní a vymyje analyt z adsorbentu. Takto získaný analyt se stanoví vhodnou analytickou metodou jako plynová nebo kapalinová chromatografie, elektroforéza či spektrofotometrie. Mechanismy sorbentů jsou založeny na různých interakcích, např. Van der Waalovy síly, vodíkové vazby, dipól-dipól nebo iontové výměně [39].

Sorbenty pro SPE se dělí do několika typů. SPE sorbent založen na normální fázi je tvořen polární stacionární fází, která interaguje s polární funkční skupinou analytu. Naopak obrácená fáze SPE je založena na nepolární stacionární fázi a polární nebo středně polární mobilní fázi. Obecně se obrácená fáze používá pro roztoky, kde jsou hlavní interakční silou Van der Waalovy síly. Iontově výměnná SPE, obsahuje buď kladně nabitý anex, sloužící k výměně

aniontů nebo záporně nabitý katex, sloužící k výměně kationtů [41]. Příkladem sorbentů jsou  $\text{SiO}_2$  vázaný nepolárními řetězci jako jsou oktadecyl (C18), oktyl (C8), cyklohexylové skupiny nebo polárními řetězci jako hydroxyl, kyano a diol skupiny. Používají se také polymerní pryskyřice, florasil a  $\text{AlO}_3$  [39]. Přehled sorbentů používaných v SPE je uveden v (Tabulka 2).

Tabulka 2: Sorbenty používané při SPE [42]

<b>Nepolární sorbent</b> (umožňuje retenci látek z vodných roztoků)	oktadecyl, oktyl, ethyl, cyklohexyl, fenylyl, kyanopropyl
<b>Polární sorbent</b> (umožňuje retenci látek z nevodných roztoků)	silikagel, aminopropyl, 2,3-dihydroxypropoxypropyl, kyanopropyl
<b>Iontově výměnný sorbent</b>	aminopropyl, trimethylaminopropyl, karboxypropyl, benzensulfonová kyselina, propylsulfonová kyselina

Extrakční sorbenty se využívají v několika provedeních. Například jako disky o průměru cca 47 mm, disky v kazetách, kolonky s fritou umístěné v injekční stříkačce, ve špičkách pipet nebo v jamkách [41].

### 3.2.1.1 Mikroextrakce tuhou fází

Princip mikroextrakce tuhou fází (SPME) je založen na rozdělení analytů mezi vzorek a vlákno. Vlákno je potaženo stacionární fází, kterou může být kapalina, polymer, pevný sorbent či jejich kombinace. Možné jsou dva nejpoužívanější způsoby extrakce. Jedním z nich je přímá extrakce DI-SPME, kdy se vlákno ponoří přímo do plynného či kapalného vzorku. V případě kapalného vzorku je pro zkrácení doby extrakce nutné míchání. Druhým způsobem je HS-SPME neboli headspace SPME. Analyt se extrahuje z prostoru nad vzorkem v uzavřené nádobě. Výhodou je ochrana vlákna před interferujícími látkami z matrice vzorku a úprava pH. HS-SPME se používá pro extrakci těkavých látek, je tedy vhodná pro extrakci a zakoncentrování složek EO. Extrahované sloučeniny na vláknech jsou desorbovány a následně vstříkovány do chromatografu. V případě plynové chromatografie se analyt uvolňuje tepelnou desorpcí, při použití kapalinové chromatografie se rozpouští v elučním rozpouštědle [43]. Další možností je membránou chráněná extrakce. Ta se obvykle využívá pro vzorky, které obsahují interferující sloučeniny, např. proteiny, huminové kyseliny či tuky. Membrána je selektivní a propouští pouze žádaný analyt. Vysokomolekulární látky, které by narušovaly analýzu se neextrahují. Tento typ extrakce je bohužel ve srovnání s výše uvedenými pomalý [44]. Všechny postupy extrakce



vyžadují optimalizaci parametrů, hlavními aspekty jsou citlivost a doba extrakce. Optimalizační parametry zahrnují podmínky míchání, dobu extrakce, zvolenou techniku extrakce, teplotu, objem vzorku, charakteristiky vlákna a pH [43].

SPME se provádí nejčastěji ve dvou provedeních. Nejvyužívanější je metoda založená na použití vlákna. Přehled stacionárních fází SPME vláken je uveden v (Tabulka 3). In-tube SPME vznikla ve snaze ulehčit přípravu vzorku pro HPLC analýzu. Sloučeniny jsou extrahovány na vnitřní povrch trubice a poté se přímo desorbují mobilní fází do kolony HPLC [45]. S vývojem extrakce HS-SPME se používá chlazené vlákno. Tento způsob se používá zejména pro matrice s vysokou viskozitou a těkavé látky s nízkým rozdělovacím koeficientem. Mezi inovativní způsoby se řadí i nevláknové techniky SPME, mezi něž patří například sorpční extrakce na michadélku (SBSE) a mikroextrakce na tenkém filmu (TFME) [43].

Tabulka 3: Stacionární fáze SPME vláken [46]

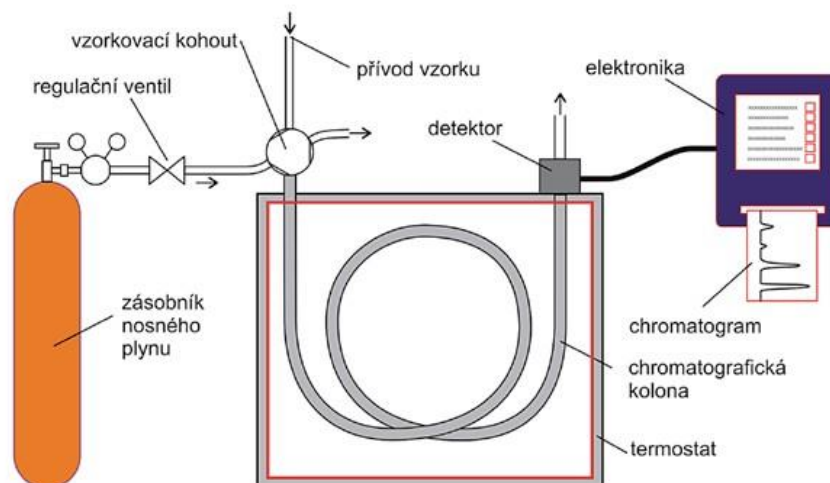
Druh fáze	Analyty
polydimethylsiloxan	těkavé, středně těkavé
polyakrylát	středně těkavé, polární
carbowax/divinylbenzen	polární
polydimethylsiloxan/carboxen	těkavé, stopová množství
carbowax/templated resin	povrchově aktivní látky (tenzidy)
polydimethylsiloxan/divinylbenzen	těkavé polární (obecné použití)
polydimethylsiloxan/carboxen/divinylbenzen	obecné použití

### 3.2.2 Analýza EO

V praxi je analýza důležitá pro kontrolu kvality, celkové hodnocení a v neposlední řadě odhalení možné falzifikace EO. Fyzikálně-chemické vlastnosti se určují standardizovanými metodami měření esterového, kyselého nebo karbonylového indexu, hustoty, indexu lomu, optické rotace, bodu tuhnutí, bodu varu či kvantifikace přítomného ethanolu a vlhkosti. Tyto metody však mnohdy nestačí a je nutné použití citlivějších analytických metod jako plynová chromatografie, kapalinová chromatografie, vysoce účinná tenkovrstvá chromatografie a spektroskopické techniky (vibrační techniky a nukleárně magnetická rezonance). Nejpodstatnější je použití plynové chromatografie, proto se právě jí bude kapitola analýzy levandulových EO věnovat [47].

### 3.2.2.1 Plynová chromatografie

V plynové chromatografii jsou složky analytu separovány na základě distribuce mezi plynou mobilní a kapalnou či pevnou stacionární fází. Odpařený vzorek se dávkuje na čelo chromatografické kolony. Eluce probíhá pomocí toku inertní plynné mobilní fáze. Rozlišují se dva typy plynové chromatografie, a to rozdělovací plynová chromatografie (GLC) a adsorpční plynová chromatografie (GSC). V případě rozdělovací plynové chromatografie se analyt dělí mezi mobilní plynou fází a kapalnou stacionární fází, která je imobilizována na povrch pevné náplně nebo stěnách kapiláry. V případě adsorpční plynové chromatografie jsou analyty zadržovány na pevné stacionární fází. Její použití má značné omezení kvůli silnému zadržování polárních a aktivních molekul a výraznému chvostování elučních píků, které je způsobeno nelinearitou adsorpčního procesu. Blokové schéma typického plynového chromatografu ukazuje (Obrázek 9) [48].



Obrázek 9: Základní součásti chromatografu [49]

#### Nosný plyn

Mobilní plynná fáze musí být inertní. Své inertní chování si musí udržet i při vyšších teplotách. Nejčastěji se používá helium, argon, dusík a vodík, volba závisí na použitém detektoru. Plyn je umístěn v tlakové lahvi a ke kontrole průtoku jsou nutné tlakoměry a průtokoměry [49]. Vstupní tlak se pohybuje od 70 až 350 kPa nad hodnotou tlaku v laboratoři. Průtok je v případě náplňových kolon 25–150 ml/min a pro kapilární kolony 1–25 ml/min [48].

#### Dávkování vzorku

Vzorek je dávkován stříkačkou skrz silikonovou membránu nebo septum do vyhřívaného injektoru, který je umístěn na čele kolony. Teplota injektoru se udržuje na teplotě zhruba o 50 °C vyšší, než je teplota varu nejméně těkavé analytické složky vzorku.

U náplňových kolon je dávkovaný objem 0,1 – 20  $\mu$ l. Kapilární kolony vyžadují dávkování mnohonásobně menší. Pro tyto účely slouží dělič vzorku, který na kolonu dávkuje pouze malou část nástřiku, zbytek je odveden do odpadu. Běžný je již také zcela automatický proces dávkování pomocí autosampleru [48][50].

### Typy kolon

Rozlišují se dva základní typy kolon, náplňové kolony a kapilární kolony. V současnosti se používají zejména kapilární kolony umožňující rychlejší analýzu. Délka kolony se pohybuje od 2 až do 60 m. Jsou vyrobeny z nerezové oceli, skla, taveného křemene nebo polytetrafluoretylenu. Kolona je umístěna v termostatu. Její optimální teplota se pohybuje okolo teploty varu analyzovaných složek. Pokud mají analyty široké rozmezí teplot varu, používá se teplotní program [48]. Teplota kolony se tak v průběhu separace mění, a to buď průběžně, nebo skokově. Pro zvýšení těkavosti, zvýšení citlivosti a účinnosti separace se analyt převádí na vhodnější deriváty. Nejčastější typy derivatizace je silylace, acylace, alkylace nebo esterifikace [51]. Přehled kolon pro plynovou chromatografii je uveden v (Tabulka 4).

Tabulka 4: Vlastnosti a charakteristiky typických kolon pro GC [48]

Typ kolony	FSOT <sup>a</sup>	WCOT <sup>b</sup>	SCOT <sup>c</sup>	náplňová
délka/m	10-100	10-100	10-100	1-6
vnitřní průměr/mm	0,1-0,5	0,25-0,75	0,5	2-4
účinnost, počet pater na 1 m	2000-4000	1000-4000	600-1200	500-1000
množství vzorku/ng	10-75	10-1000	10-1000	10-10 <sup>6</sup>
relativní tlak	nízký	nízký	nízký	vysoký
relativní rychlost	vysoká	vysoká	vysoká	nízká
pružnost	ano	ne	ne	ne
chemická inertnost	nejlepší	—————▶		nejhorší
<sup>a</sup> fused-silica open tubular column, kapilární kolona z taveného křemene <sup>b</sup> wall-coated open tubular column, kapilární kolona s pokrytými vnitřními stěnami <sup>c</sup> support-coated open tubular column, kapilární kolona s inertním nosičem				

### Detektory

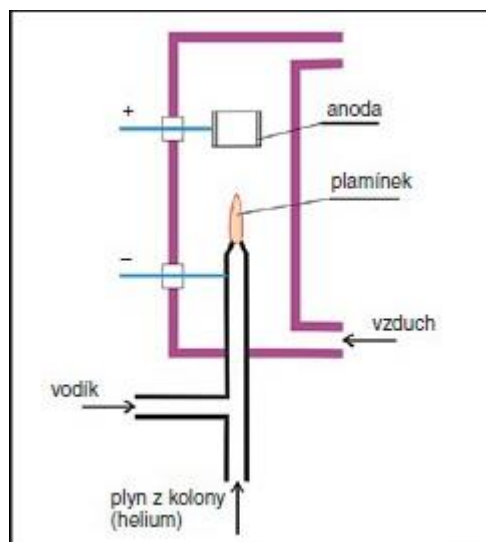
Ideální vlastnosti detektoru jsou velká stabilita a reprodukovatelnost, lineární odezva na analyt v rozsahu několika koncentračních řádů, schopnost pracovat ve velkém rozpětí teplot, krátká doba odezvy bez závislosti na průtoku, nedestruktivní charakter pro vzorek, vysoká mez

detekce a spolehlivost. Přehled nejběžnějších je uveden v (Tabulka 5). V případě detekce jednotlivých složek EO je vhodný plamenově ionizační detektor a hmotnostní detektor [48].

Tabulka 5: Detektory v GC [48]

Typ detektoru	Detegované analyty	Typická mez detekce
plamenově ionizační detektor (FID)	uhlovodíky	1 pg/s
tepelně vodivostní detektor (TCD)	univerzální detektor	500 pg/ml
detektor elektronového záchytu (ECD)	halogenované látky	5 fg/s
hmotnostní detektor (MS)	libovolné	0,25-100 pg/s
dušíko-fosforový detektor (NPD)	látky obsahující N a P	0,1 pg/s (P) a 1 pg/s (N)
detektor elektrolytické vodivosti	látky obsahující halogeny, S nebo N	0,5 pg/s (Cl), 2 pg/s (S), 4 pg/s (N)
fotoionizační detektor	látky ionizovatelné UV-zářením	2 pg/s (C)
infračervený detektor s Fourierovou transformací (FTIR)	organické látky	0,2-40 ng/s

Princip plamenově ionizačního detektoru je založen na vedení eluentu z kolony do plamene, který vzniká spalováním vodíku ve vzduchu. Dochází k pyrolýze za vzniku iontů a elektronů. Nad plamenem se nachází sběrná elektroda. Mezi elektrodou a vrcholem hořáku je vloženo napětí 300 až 400 V. Ionty a elektrony vzniklé pyrolýzou vedou elektrický proud mezi hořákem a sběrnou elektrodou. Tento proud se následně měří za pomoci ampérmetru. Detektor není citlivý na nespalitelné plyny jako vodní pára, CO<sub>2</sub>, SO<sub>2</sub> a NO<sub>x</sub>. Hlavní nevýhodou tohoto detektoru je destrukce vzorku [52]. Schéma plamenově ionizačního detektoru znázorněno na (Obrázek 10).



Obrázek 10: Schéma plamenově ionizačního detektoru [49]

Hmotnostně spektrometrický detektor patří v plynové chromatografii k nejuniverzálnějším. Měří poměr hmotnosti a náboje ( $m/z$ ) iontů vznikajících ionizací. Pro spojení GC-MS se dnes používají výhradně kapilární kolony [53].

K ionizaci dochází nejčastěji elektronovou a chemickou ionizací. Volba ionizační techniky závisí na vlastnostech analytu, charakterem vzorku a cílem analýzy. U tvrdých ionizačních technik, např. elektronová ionizace, dochází k rozsáhle fragmentaci a vznikají ionty s velkou vnitřní energií, což je vhodné pro identifikaci látek porovnáváním spekter. Mohou však chybět molekulární ionty, to znemožňuje určit molekulovou hmotnost. Ionizace probíhá v plynném stavu za vakua. Elektrony předávají energii molekule, tím dojde k odtržení elektronu z molekuly vzorku a vznikne ion. U měkkých ionizačních metod, např. chemická ionizace, je situace opačná. Nižší obsah vnitřní energie je příčinou menší fragmentace. Je tedy možno určit molekulovou hmotnost, ale nikoli strukturu sloučeniny. Ionizace probíhá reakcí plynného analytu s kationradikály pomocného plynu jako methan nebo amoniak. Ve způsobech ionizace dochází ke značnému rozvoji. Další ionizační techniky jsou ionizace elektrosprejem, laserová desorpce a ionizace za účasti matrice (MALDI) nebo ionizace ostřelováním urychlenými atomy (FAB). Stále však platí, že žádnou z ionizačních technik nelze pokládat za univerzální [48].

Nejběžnějšími hmotnostními analyzátoři jsou kvadrupól a iontová past. Účinnějším spojením pro identifikaci složek komplikovaných směsí je tandemová hmotnostní spektrometrie (GC-MS/MS) nebo hmotnostní spektrometrie s Fourierovou transformací [53].

Ke zpracování dat je nezbytné použití počítačového datového systému. Data mohou být analyzována několika způsoby. Celkový iontový chromatogram (TIC) připomíná běžný

chromatogram. Pro analýzu jsou sečteny četnosti všech iontů v daném spektru a vyneseny jako funkce času. Jinou možností je zobrazení spektra zaznamenaného v určitém okamžiku separace za účelem identifikace látek, které v daný čas eluují. Sledování vybraného iontu (SIM) sleduje pouze jednu hodnotu  $m/z$  v průběhu celého chromatografického experimentu [48].

## 2. EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST

V experimentální části diplomové práce byla pozorována transformace levandulových silic při podmínkách simulujících proces hydrodestilace. Na základě výsledků analýz byly navrženy procesy přeměny a výsledky byly porovnány s daty z dostupných zdrojů.

### 2.1 Vzorek a jeho úprava k analýze

Pro diplomovou práci byly použity silice od firmy Sigma Aldrich, které se běžně vyskytují v levandulových EO ve významnějším zastoupení. Jejich transformace má tedy význam pro senzoričké a kvalitativní vlastnosti.

- Linalylacetát  $\geq 97\%$
- Linalool 97%
- Myrcen  $\geq 95\%$
- $\alpha$ -terpineol  $\geq 96\%$
- Nerylacetát  $\geq 98\%$
- Geranylacetát  $\geq 97\%$

### 2.2 Použité chemikálie

- destilovaná voda
- *n*-hexan CHROMASOLV™ od firmy Sigma Aldrich (Praha, Česká republika)
- ethanol 96% od firmy Lach-Ner s.r.o. (Neratovice, Česká republika)
- kyselina octová 99% od firmy Lach-Ner s.r.o. (Neratovice, Česká republika)
- standardy *n*-alkanů C8-C40 od firmy Restek (Bellefonte, PA, USA)

### 2.3. Použité přístroje a pomůcky

- laboratorní nádobí (kádinky, odměrné válce, odměrné baňky, stříčky, pipety, mikropipety, vialky na vzorky)
- třepačka Vibramax 100, bez nástavce od firmy Heidolph Instruments (Schwabach, Německo)
- plynový chromatograf GC-2010 s hmotnostím detektorem GCMS-QP2010 Plus od firmy Shimadzu (Kyoto, Japonsko)
- chromatografická kolona SLB-5ms od firmy Supelco (Bellefonte, PA, USA)
- autosampler Combi PAL od firmy CTC Analytics GmbH (Zwingen, Švýcarsko)

## 2.4 Příprava vzorku k analýze

Z dostupných silic byly připraveny do vialek zásobní roztoky o koncentraci 100 mg/ml. Jako rozpouštědlo byl zvolen ethanol.

### 2.4.1 Experimenty s využitím extrakce kapalina-kapalina

Ze zásobních roztoků standardů silic bylo pipetováno množství 20  $\mu\text{l}$  do 10 ml destilované vody. Kromě vzorků linalylacetátu a jednoho vzorku linaloolu byl přidán 1 ml roztoku kyseliny octové o koncentraci 0,1 % V/V. Takto připravené vzorky byly buď ponechány po různý čas při laboratorní teplotě nebo byly zahřáty při 100°C po dobu 20 min. Po zahřátí byl vzorek ihned ochlazen na teplotu laboratoře. Následně byly do vzorku přidány 2 ml hexanu a směs byla třepána na třepačce po dobu 10 min při 800 rpm. Fáze hexanu byla odpipetována do vialek pro analýzu GC-MS.

### 2.4.2 Podmínky analýzy GC-MS

Analýza byla provedena na plynovém chromatografu s hmotnostní detekcí. K separaci byla zvolena kolona SLB-5ms. Délka kolony 30 m, vnitřní průměr 0,25 mm, tloušťka vrstvy filmu 0,25  $\mu\text{m}$ . Nosným plynem bylo hélium 4.6 od firmy Linde Gas a.s. (Praha, Česká republika), lineární rychlost průtoku činila 30 cm/s. Byl dávkován 1  $\mu\text{l}$  vzorku. Teplota nástřiku byla 200 °C. Celková doba analýzy byla 43 min. Teplotní program byl nastaven následovně:

- začátek separace 40 °C po dobu 3 min,
- vzestup teploty rychlostí 3 °C/min do konečné teploty 100 °C,
- vzestup teploty rychlostí 10 °C/min až do konečné teploty 250 °C, která byla udržována po dobu 10 min.

Záznam signálu byl měřen 6,5 minut po nadávkování vzorku (solvent cut time), z důvodu omezení přístupu rozpouštědla do detektoru. Teplota iontového zdroje a teplota převodníku do MS činila 200 °C. Ionizace proběhla elektronovou ionizací s hodnotou ionizační energie 70 eV. V režimu scan byla zaznamenávána odezva iontů v rozmezí  $m/z$  od 40 do 450.

### 2.4.3 Vyhodnocení dat z chromatogramů

Metodou GC-MS byly za výše popsaných podmínek změřeny jak vzorky, tak směs *n*-alkanů. Retenční časy homologické řady alkanů byly použity k identifikaci jednotlivých sloučenin. K vyhodnocení naměřených dat byl použit program GCMS Solution 4.20. Identifikace probíhala srovnáním naměřených hmotnostních spekter se spektry v knihovně FFNSC2



(Shimadzu, Kyoto, Japonsko) a NIST 11 (NIST, Gaithersburg, MD, USA) a dále porovnáním vypočítaných retenčních indexů s publikovanými.

#### 2.4.4 Optimalizace extrakce kapalina-kapalina

Zásobní roztok silice byl pipetován do 10 ml destilované vody simulující prostředí hydrodestilace a jejího vlivu na změny původní silice. Následně byl vzorek třepán na třepačce po dobu 10 min do 2 ml hexanu. Experimentálně byly připraveny tři koncentrace zásobních roztoků linalylacetátu viz (Tabulka 6). Na základě výsledků byla zvolena koncentrace zásobního roztoku 100 mg/ml a jeho následná pipetáž 20  $\mu$ l do 10 ml destilované vody. Při těchto podmínkách nevznikala nebo pouze zanedbatelně vznikala suspenze způsobená smícháním odpovídajícího množství hexanu, ethanolu a destilované vody.

Tabulka 6: Optimalizace přípravy zásobních roztoků

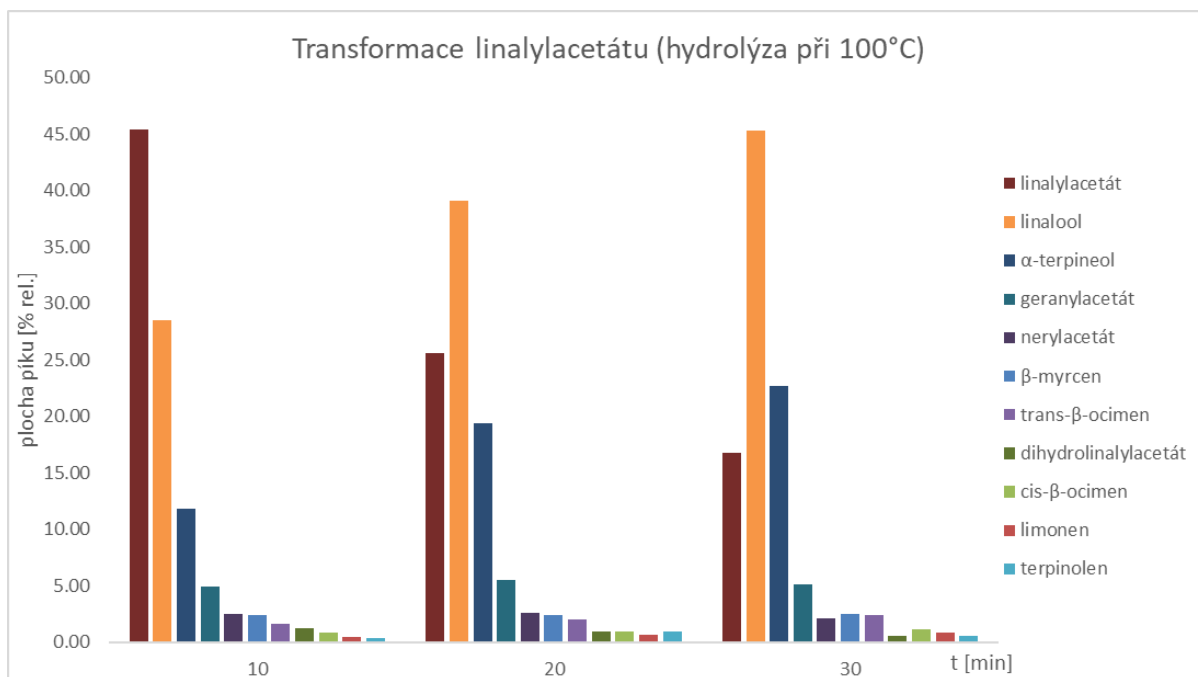
Koncentrace zásobního roztoku [mg/ml]	Pipetované množství do 10 ml destilované vody [ $\mu$ l]	Výsledek
1	2000	(3 fáze)
10	200	(3 fáze)
100	20	(2 fáze)

Experimentálně byla také vyzkoušena potřebná a dostatečná doba pro zahřívání zásobního roztoku v 10 ml destilované vody. Zvolenou silicí byl linalylacetát. Zahřívání při 100°C probíhalo po dobu 10, 20 a 30 min. Na základě výsledků byl zvolen čas zahřívání 20 min jako dostačující pro pozorování transformace dané silice. Vzniklé produkty transformace jsou uvedeny v (Tabulka 7). Grafické znázornění transformace linalylacetátu je znázorněno na (Obrázek 11) Tato doba zahřívání byla následně použita také u ostatních silic.

Tabulka 7: Optimalizace doby záhřevu

Transformace linalylacetátu: extrakce kapalina-kapalina (100 °C, 10 min)			
Identifikované látky	Retenční index	CAS číslo	Relativní zastoupení [%]
$\beta$ -myrcen	990	123-35-3	2,36
limonen	1029	138-86-3	0,42
<i>cis</i> - $\beta$ -ocimen	1036	3338-55-4	0,85
<i>trans</i> - $\beta$ -ocimen	1047	3779-61-1	1,64
terpinolen	1086	586-62-9	0,36
linalool	1101	78-70-6	28,50

$\alpha$ -terpineol	1198	98-55-5	11,86
linalylacetát	1254	115-95-7	45,35
dihydrolinalylacetát	1272	108597-90-6	1,21
nerylacetát	1362	141-12-8	2,51
geranylacetát	1381	105-87-3	4,94
<b>Transformace linalylacetátu: extrakce kapalina-kapalina (100 °C, 20 min)</b>			
Identifikované látky	Retenční index	CAS číslo	Relativní zastoupení [%]
$\beta$ -myrcen	990	123-35-3	2,41
limonen	1029	138-86-3	0,62
<i>cis</i> - $\beta$ -ocimen	1036	3338-55-4	0,91
<i>trans</i> - $\beta$ -ocimen	1047	3779-61-1	1,97
terpinolen	1086	586-62-9	0,93
linalool	1101	78-70-6	39,09
$\alpha$ -terpineol	1198	98-55-5	19,36
linalylacetát	1254	115-95-7	25,63
dihydrolinalylacetát	1272	108597-90-6	0,94
nerylacetát	1362	141-12-8	2,59
geranylacetát	1381	105-87-3	5,55
<b>Transformace linalylacetátu: extrakce kapalina-kapalina (100 °C, 30 min)</b>			
Identifikované látky	Retenční index	CAS číslo	Relativní zastoupení [%]
$\beta$ -myrcen	990	123-35-3	2,50
limonen	1029	138-86-3	0,84
<i>cis</i> - $\beta$ -ocimen	1036	3338-55-4	1,10
<i>trans</i> - $\beta$ -ocimen	1047	3779-61-1	2,37
terpinolen	1086	586-62-9	0,61
linalool	1101	78-70-6	45,31
$\alpha$ -terpineol	1198	98-55-5	22,71
linalylacetát	1254	115-95-7	16,79
dihydrolinalylacetát	1272	108597-90-6	0,58
nerylacetát	1362	141-12-8	2,07
geranylacetát	1381	105-87-3	5,12



Obrázek 11: Transformace linalylacetátu v závislosti na čase ohřevu (hydrolyza při 100°C)

## 2.5 Výsledky a diskuse

V této části diplomové práce jsou zaznamenány výsledky analýz silic, které se vyskytují v levandulových EO. Analyzovány byly pomocí GC-MS. Látky jsou uvedeny v tabulkách, ty obsahují vždy název identifikované látky, skupinu, do které daná látka patří, retenční index, CAS číslo a procentuální zastoupení dané látky vzhledem ke všem identifikovaným látkám. Uvedeny jsou pouze látky, které se podařilo identifikovat za pomoci knihovny spekter a porovnáním retenčních indexů, které se nelišily více než o 10 jednotek.

### 2.5.1 Analýza pomocí extrakce kapalina-kapalina

#### 2.5.1.1 Transformace linalylacetátu

Transformace linalylacetátu v prostředí destilované vody byla sledována jak za pokojové teploty, tak po zahřátí 20 min při 100°C. Při pokojové teplotě byly analýzy prováděny do půl hodiny a poté po 24, 48, 72 a 96 hodinách. Výsledky transformace jsou uvedeny přehledně v (Tabulka 8). Průběh transformace v závislosti na čase zobrazen na (Obrázek 12).

U analýzy, která byla provedena do půl hodiny bylo identifikováno celkem 9 sloučenin. Původní látka linalylacetát byl zastoupen v (95,05 %). I po tak krátké době vznikly v důsledku hydrolyzy další sloučeniny. Nad 1 % byly identifikovány sloučeniny linalool (1,37 %), dihydrolinalylacetát (1,17 %) a α-terpineol (1 %).

Po 24 hodinách bylo také identifikováno 9 sloučenin. Původní látka linalylacetát byl zastoupen v (84,41 %). Nad 1 % byly identifikovány sloučeniny linalool (6,76 %), linaloolacetát (1,24 %),  $\alpha$ -terpineol (4,75 %) a geranylacetát (1,32 %).

Po 48 hodinách bylo taktéž identifikováno 9 sloučenin. Původní látka linalylacetát byl zastoupen v (70,09 %). Podíl linaloolu byl (13,66 %),  $\alpha$ -terpineolu (9,34 %), geranylacetátu (3,44 %) a nerylacetátu (1,74 %).

Po 72 hodinách bylo identifikováno 11 sloučenin. Největší zastoupení měl linalool (30,97 %). Původní látka linalylacetát již činil pouze (30,84 %). Další významné zastoupení měly látky  $\alpha$ -terpineol (18,66 %),  $\beta$ -myrcen (4,44 %), *trans*- $\beta$ -ocimen (3,48 %) a geranylacetát (2,58 %).

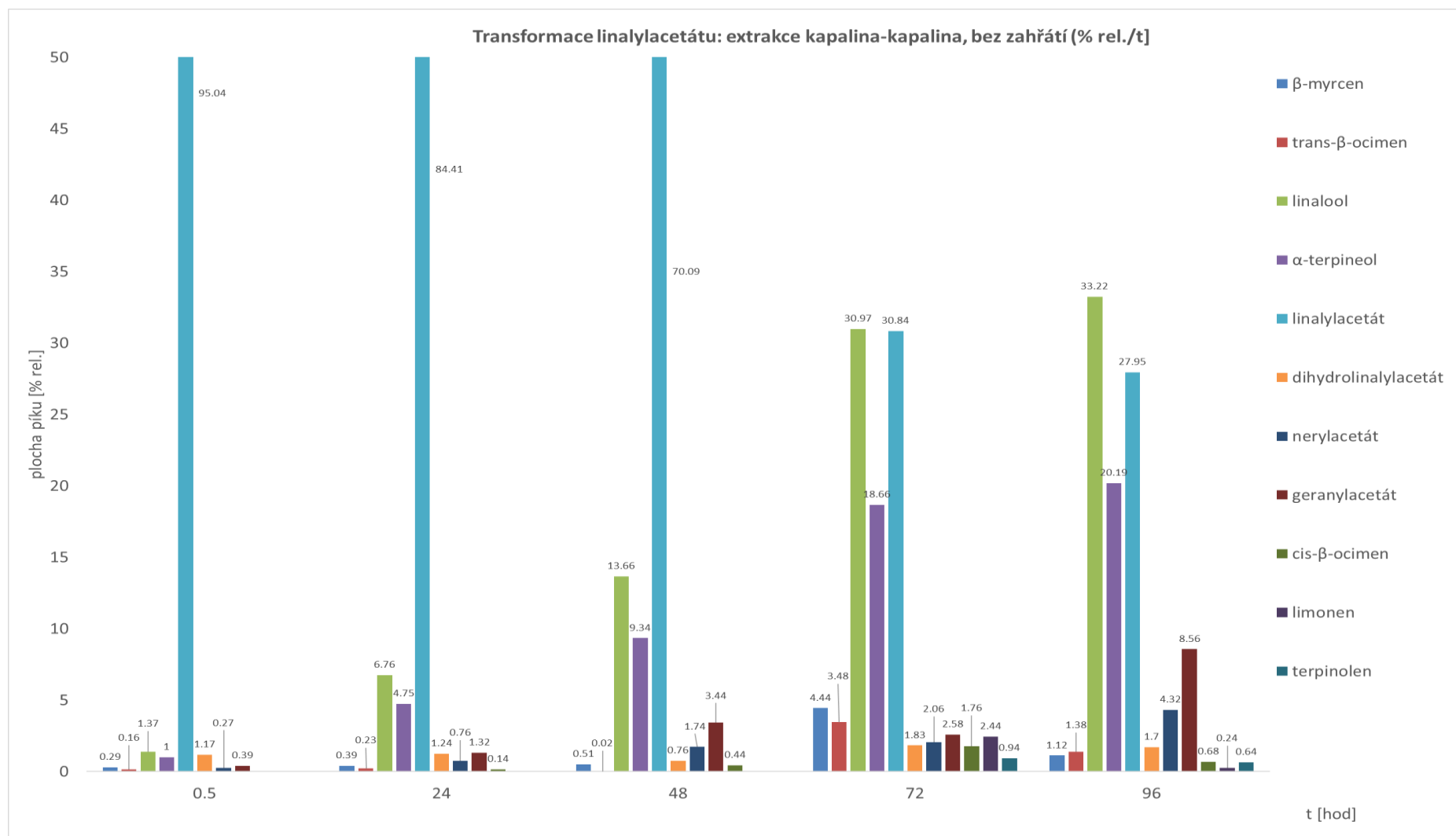
Po 96 hodinách bylo identifikováno také 11 sloučenin. Nadále se významně zvyšoval podíl linaloolu (33,22 %),  $\alpha$ -terpineolu (20,19 %), nerylacetátu (4,32 %), geranylacetátu (8,56 %). Podíl linalylacetátu činil (27,95 %).

Tabulka 8: Transformace linalylacetátu, extrakce kapalina-kapalina (hydrolyza za laboratorní teploty)

<b>Transformace linalylacetátu: extrakce kapalina-kapalina, bez zahřátí (0 hod)</b>				
Skupina látek	Identifikované látky	Retenční index	CAS číslo	Relativní zastoupení [%]
monoterpeny	$\beta$ -myrcen	988	123-35-3	0,29
	<i>trans</i> - $\beta$ -ocimen	1046	3779-61-1	0,16
monoterpenoidy	linalool	1099	78-70-6	1,38
	$\alpha$ -terpineol	1197	98-55-5	1,00
	linalylacetát	1254	115-95-7	95,34
	dihydrolinalylacetát	1271	108597-90-6	1,17
	nerylacetát	1360	141-12-8	0,27
	geranylacetát	1379	105-87-3	0,39
<b>Transformace linalylacetátu: extrakce kapalina-kapalina, bez zahřátí (24 hod)</b>				
Skupina látek	Identifikované látky	Retenční index	CAS číslo	Relativní zastoupení [%]
monoterpeny	$\beta$ -myrcen	989	123-35-3	0,39
	<i>cis</i> - $\beta$ -ocimen	1035	3338-55-4	0,14
	<i>trans</i> - $\beta$ -ocimen	1046	3779-61-1	0,23
monoterpenoidy	linalool	1099	78-70-6	6,76

	$\alpha$ -terpineol	1197	98-55-5	4,75
	linalylacetát	1253	115-95-7	84,41
	dihydrolinalylacetát	1271	108597-90-6	1,24
	nerylacetát	1360	141-12-8	0,76
	geranylacetát	1379	105-87-3	1,32
<b>Transformace linalylacetátu: extrakce kapalina-kapalina, bez zahřátí (48 hod)</b>				
Skupina látek	Identifikované látky	Retenční index	CAS číslo	Relativní zastoupení [%]
monoterpeny	$\beta$ -myrcen	989	123-35-3	0,51
	<i>cis</i> - $\beta$ -ocimen	1036	3338-55-4	0,44
	<i>trans</i> - $\beta$ -ocimen	1046	3779-61-1	0,02
monoterpenoidy	linalool	1099	78-70-6	13,66
	$\alpha$ -terpineol	1197	98-55-5	9,34
	linalylacetát	1252	115-95-7	70,09
	dihydrolinalylacetát	1271	108597-90-6	0,76
	nerylacetát	1360	141-12-8	1,74
	geranylacetát	1378	105-87-3	3,44
<b>Transformace linalylacetátu: extrakce kapalina-kapalina, bez zahřátí (72 hod)</b>				
Skupina látek	Identifikované látky	Retenční index	CAS číslo	Relativní zastoupení [%]
monoterpeny	$\beta$ -myrcen	990	123-35-3	4,44
	limonen	1029	138-86-3	2,44
	<i>cis</i> - $\beta$ -ocimen	1036	3338-55-4	1,76
	<i>trans</i> - $\beta$ -ocimen	1047	3779-61-1	3,48
	terpinolen	1086	586-62-9	0,94
monoterpenoidy	linalool	1101	78-70-6	30,97
	$\alpha$ -terpineol	1198	98-55-5	18,66
	linalylacetát	1254	115-95-7	30,84
	dihydrolinalylacetát	1272	108597-90-6	1,83
	nerylacetát	1362	141-12-8	2,06
	geranylacetát	1381	105-87-3	2,58
<b>Transformace linalylacetátu: extrakce kapalina-kapalina, bez zahřátí (96 hod)</b>				

Skupina látek	Identifikované látky	Retenční index	CAS číslo	Relativní zastoupení [%]
monoterpeny	$\beta$ -myrcen	988	123-35-3	1,12
	limonen	1027	138-86-3	0,24
	<i>cis</i> - $\beta$ -ocimen	1034	3338-55-4	0,68
	<i>trans</i> - $\beta$ -ocimen	1045	3779-61-1	1,38
	terpinolen	1084	586-62-9	0,64
monoterpenoidy	linalool	1098	78-70-6	33,22
	$\alpha$ -terpineol	1196	98-55-5	20,19
	linalylacetát	1252	115-95-7	27,95
	dihydrolinalylacetát	1270	108597-90-6	1,70
	nerylacetát	1358	141-12-8	4,32
	geranylacetát	1377	105-87-3	8,56



Obrázek 12: Transformace linalylacetátu: extrakce kapalina-kapalina, bez zahřátí [% rel./t]

Analýza linalylacetátu po zahřátí na 20 min při 100 °C přinesla stejné produkty transformace jako analýzy při laboratorní teplotě, proces přeměny se však významně urychlil. Kromě hydrolýzy se na transformaci podílela také tepelná degradace. Výsledky analýzy jsou uvedeny v (Tabulka 9).

Bylo identifikováno 11 sloučenin. Největší zastoupení měl linalool (37,02 %). Podíl původní látky linalylacetátu byl (29,68 %). Významný podíl měly látky  $\alpha$ -terpineol (18,23 %), geranylacetát (5,47 %), nerylacetát (2,62 %) a  $\beta$ -myrcen (2,21 %).

Tabulka 9: Transformace linalylacetátu, extrakce kapalina-kapalina (20 min 100 °C)

<b>Transformace linalylacetátu: extrakce kapalina-kapalina (20 min 100 °C)</b>				
Skupina látek	Identifikované látky	Retenční index	CAS číslo	Relativní zastoupení [%]
monoterpeny	$\beta$ -myrcen	989	123-35-3	2,21
	limonen	1028	138-86-3	0,69
	<i>cis</i> - $\beta$ -ocimen	1035	3338-55-4	1,07
	<i>trans</i> - $\beta$ -ocimen	1046	3779-61-1	1,70
	terpinolen	1085	586-62-9	0,50
monoterpenoidy	linalool	1099	78-70-6	37,02
	$\alpha$ -terpineol	1197	98-55-5	18,23
	linalylacetát	1253	115-95-7	29,68
	dihydrolinalylacetát	1271	108597-90-6	0,81
	nerylacetát	1360	141-12-8	2,62
	geranylacetát	1379	105-87-3	5,47

### 2.5.1.2 Transformace linaloolu

Transformace linaloolu byla sledována při dvou podmínkách. Jeden vzorek silice byl v prostředí 10 ml destilované vody, druhý v 10 ml destilované vody s přidavkem 1 ml roztoku kyseliny octové o koncentraci 1ml/l, dále jen okyselená destilovaná voda. Přídavek kyseliny octové měl simulovat hydrolýzu linalylacetátu, při které vzniká kyselina octová.

V případě neokyseleného prostředí byl identifikován pouze jeden produkt a to dihydrolinalool (0,77 %). V prostředí okyselené destilované vody došlo k rozsáhlejší transformaci. Bylo identifikováno 11 sloučenin. Původní silice linaloolu byla zastoupena v (87,86 %). Významný byl vznik  $\alpha$ -terpineolu (14,27 %). Nad 1 % byly identifikovány látky geraniol (3,46 %)



a dihydrolinalool (1,08 %). Přehled identifikovaných sloučenin z obou analýz je v (Tabulka 10 a Tabulka 11).

Tabulka 10: Transformace linaloolu, extrakce kapalina-kapalina, bez okyselení (20 min 100 °C)

<b>Transformace linaloolu: extrakce kapalina-kapalina, bez okyselení (20 min 100 °C)</b>				
Skupina látek	Identifikované látky	Retenční index	CAS číslo	Relativní zastoupení [%]
monoterpenoidy	linalool	1099	78-70-6	99,23
	dihydrolinalool	1140	18479-51-1	0,77

Tabulka 11: Transformace linaloolu, extrakce kapalina-kapalina (20 min 100 °C)

<b>Transformace linaloolu: extrakce kapalina-kapalina (20 min 100 °C)</b>				
Skupina látek	Identifikované látky	Retenční index	CAS číslo	Relativní zastoupení [%]
monoterpenoidy	linalool-3,7-oxide	969	7392-19-0	0,25
monoterpeny	$\beta$ -myrcen	989	123-35-3	0,19
	limonen	1028	138-86-3	0,25
	<i>cis</i> - $\beta$ -ocimen	1035	3338-55-4	0,23
	<i>trans</i> - $\beta$ -ocimen	1046	3779-61-1	0,42
	terpinolen	1085	586-62-9	0,33
monoterpenoidy	linalool	1099	78-70-6	78,86
	dihydrolinalool	1142	18479-51-1	1,08
	<i>a</i> -terpineol	1197	98-55-5	14,27
	nerol	1229	106-25-2	0,66
	geraniol	1255	106-24-1	3,46

### 2.5.1.3 Transformace $\beta$ -myrcenu

Transformace  $\beta$ -myrcenu probíhala v prostředí 10 ml okyselené destilované vody. Kromě původní silice  $\beta$ -myrcenu, jehož zastoupení bylo (92,03 %), vznikl pouze jeden produkt a to pseudolimonen (7,97 %). Přehled výsledků analýzy je uveden v (Tabulka 12)

Tabulka 12: Transformace myrcenu, extrakce kapalina-kapalina (20 min 100 °C)

<b>Transformace <math>\beta</math>-myrcenu: extrakce kapalina-kapalina (20 min 100 °C)</b>				
Skupina látek	Identifikované látky	Retenční index	CAS číslo	Relativní zastoupení [%]
monoterpeny	$\beta$ -myrcen	989	123-35-3	92,03
	pseudolimonen	1002	499-97-8	7,97

#### 2.5.1.4 Transformace $\alpha$ -terpineolu

Transformace  $\alpha$ -terpineolu probíhala v prostředí 10 ml okyselené destilované vody. Bylo identifikováno 8 sloučenin. Zastoupení původní silice  $\alpha$ -terpineolu bylo (83,99 %). Významný byl vznik izomerů  $\alpha$ -terpineolu a to  $\gamma$ -terpineol (12,19 %) a  $\delta$ -terpineolu (1,7 %). Přehled výsledků analýzy je uveden v (Tabulka 13).

Tabulka 13: Transformace  $\alpha$ -terpineolu, extrakce kapalina-kapalina (20 min 100 °C)

<b>Transformace <math>\alpha</math>-terpineolu: extrakce kapalina-kapalina (20 min 100 °C)</b>				
Skupina látek	Identifikované látky	Retenční index	CAS číslo	Relativní zastoupení [%]
monoterpeny	limonen	1028	138-86-3	0,27
	terpinolen	1085	586-62-9	0,68
monoterpenoidy	terpin-3-en-1-ol	1144	586-82-3	0,47
	$\delta$ -terpineol	1158	7299-42-5	1,07
	$\beta$ -terpineol	1175	7299-40-3	0,73
	terpinen-4-ol	1185	562-74-3	0,60
	$\alpha$ -terpineol	1198	98-55-5	83,99
	$\gamma$ -terpineol	1201	586-81-2	12,19

#### 2.5.1.5 Transformace nerylacetátu

Transformace nerylacetátu probíhala v prostředí 10 ml okyselené destilované vody. Bylo identifikováno 6 sloučenin. Zastoupení původní silice nerylacetátu činilo (90,74 %). Přeměnou vznikl  $\alpha$ -terpineol (6,56 %) a linalool (2,16 %). Ostatní produkty byly zastoupeny pod hranicí 0,4 %. Přehled výsledků analýzy uveden v (Tabulka 14).

Tabulka 14: Transformace nerylacetátu, extrakce kapalina-kapalina (20 min 100 °C)

<b>Transformace nerylacetátu: extrakce kapalina-kapalina (20 min 100 °C)</b>				
Skupina látek	Identifikované látky	Retenční index	CAS číslo	Relativní zastoupení [%]
monoterpeny	limonen	1029	138-86-3	0,02
	terpinolen	1085	586-62-9	0,34
monoterpenoidy	linalool	1100	78-70-6	2,16
	$\alpha$ -terpineol	1198	98-55-5	6,56
	nerylacetát	1360	141-12-8	90,74
	geranylacetát	1379	105-87-3	0,18

### 2.5.1.6 Transformace geranylacetátu

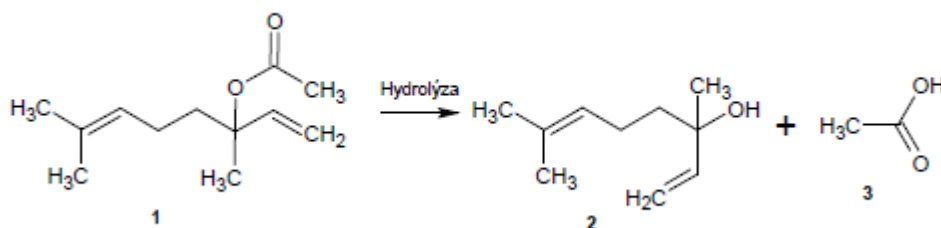
Transformace geranylacetátu probíhala v prostředí 10 ml okyselené destilované vody. Celkem bylo identifikováno 5 sloučenin. Zastoupení původní silice geranylacetátu bylo (92,31 %). Přeměnou vznikl linalool (6,3 %). Ostatní zastoupení vzniklých látek bylo pod 0,7 %. Přehled výsledků analýzy uveden v (Tabulka 15).

Tabulka 15: Transformace geranylacetátu, extrakce kapalina-kapalina (20 min 100 °C)

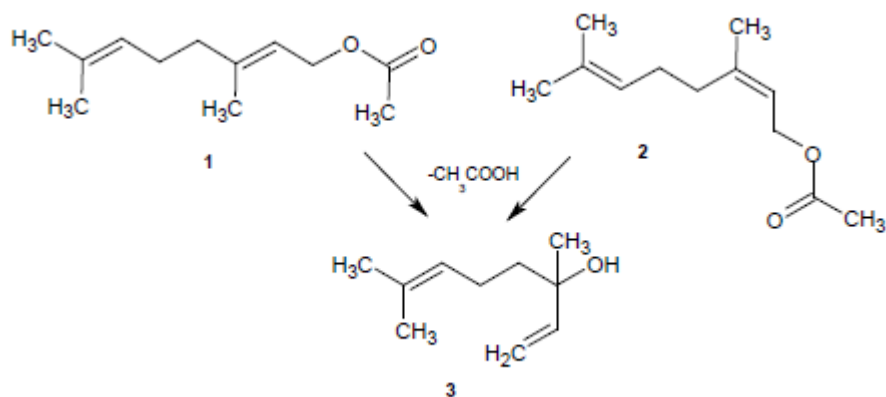
<b>Transformace geranylacetátu: extrakce kapalina-kapalina (20 min 100 °C)</b>				
Skupina látek	Identifikované látky	Retenční index	CAS číslo	Relativní zastoupení [%]
monoterpenoidy	linalool	1100	78-70-6	6,30
	$\alpha$ -terpineol	1198	98-55-5	0,63
	citronellyacetát	1351	150-84-5	0,12
	nerylacetát	1360	141-12-8	0,64
	geranylacetát	1379	105-87-3	92,31

### 2.5.1.7 Souhrn transformací silic pomocí extrakce kapalina-kapalina

Bylo zjištěno, že nejrozsáhlejší transformace probíhají u silic linalylacetátu a linaloolu. Největší ztráta byla pozorována u linalylacetátu. Při simulaci podmínek hydrodestilace po dobu 20 min při 100°C bylo jeho procentuální zastoupení pouze (29,68 %). Naopak zastoupení vzniklého linaloolu bylo (37,02 %). Při hydrolyze linalylacetátu dochází k tvorbě linaloolu a kyseliny octové (Obrázek 13). Linalool může také vznikat z geranylacetátu a nerylacetátu (Obrázek 14). Při následném sledování transformace linaloolu bylo zjištěno, že právě vzniklá kyselina octová je příčinou jeho přeměny. V přítomnosti linaloolu s destilovanou vodou vznikal pouze jeden produkt a to dihydrolinalool, po okyselení bylo identifikováno již 11 sloučenin.



Obrázek 13: Hydrolyza linalylacetátu. 1: linalylacetát, 2: linalool, 3: kyselina octová



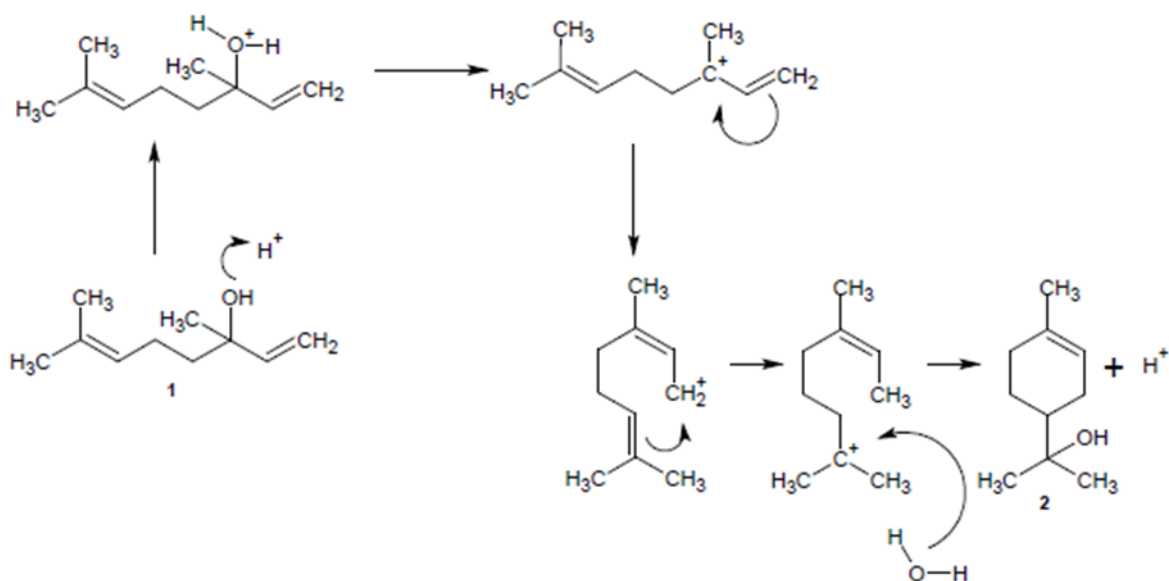
Obrázek 14: Transformace geranylacetátu a nerylacetátu na linalool. 1: geranylacetát, 2: nerylacetát, 3: linalool

Při srovnání vzniklých silic z linalylacetátu a linaloolu bylo zjištěno, že linalool vzniklý z linalylacetátu a jeho následná transformace má významný vliv na zjištěné zastoupení silic. Přehled totožně vzniklých silic z linalylacetátu a linaloolu uveden v (Tabulka 16). Tyto produkty nevznikly pouze přímou reakcí z linalylacetátu, ale také druhotnou přeměnou vzniklého linaloolu.

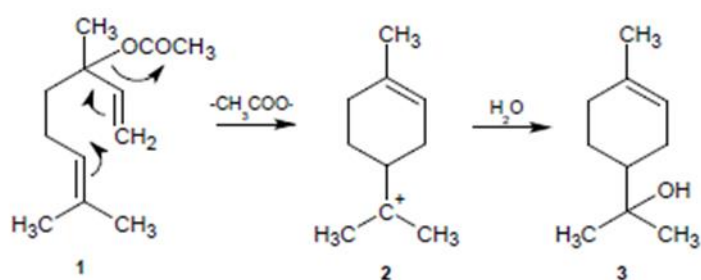
Tabulka 16: Srovnání vzniklých silic z linalylacetátu a linaloolu

Původní silice	linalylacetát	linalool
Totožné látky	$\beta$ -myrcen	$\beta$ -myrcen
	limonen	limonen
	<i>cis</i> - $\beta$ -ocimen	<i>cis</i> - $\beta$ -ocimen
	<i>trans</i> - $\beta$ -ocimen	<i>trans</i> - $\beta$ -ocimen
	terpinolen	terpinolen
	$\alpha$ -terpineol	$\alpha$ -terpineol
Další látky	dihydrolinalylacetát	dihydrolinalool
	nerylacetát	nerol
	geranylacetát	geraniol
	linalool	linalool-3,7-oxid

U obou transformací je poměrně velké zastoupení  $\alpha$ -terpineolu, z linalylacetátu 18,23 % a z linaloolu 14,27 %. Pravděpodobná cesta vzniku  $\alpha$ -terpineolu je kyselinou katalyzovaná konverze linaloolu (Obrázek 15). Přeměnu zmiňuje také **E. Haleva-Toledo a spol.** [54]. Možný vznik je také přes hydrataci  $\alpha$ -terpinylového kationtu, který vzniká v průběhu hydrolyzy linalylacetátu (Obrázek 16). Reakci popisuje také **G. D. Kiran Babu a Bikram Singh** [29].

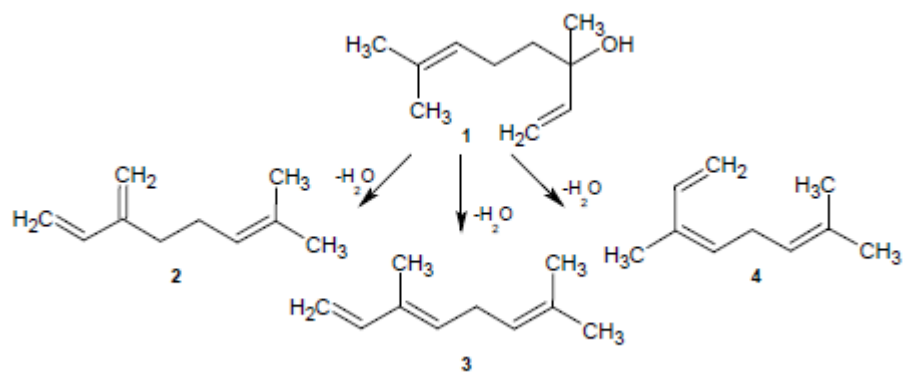


Obrázek 15: Kyselinou katalyzovaná konverze linaloolu. 1: linalool, 2:  $\alpha$ -terpineol

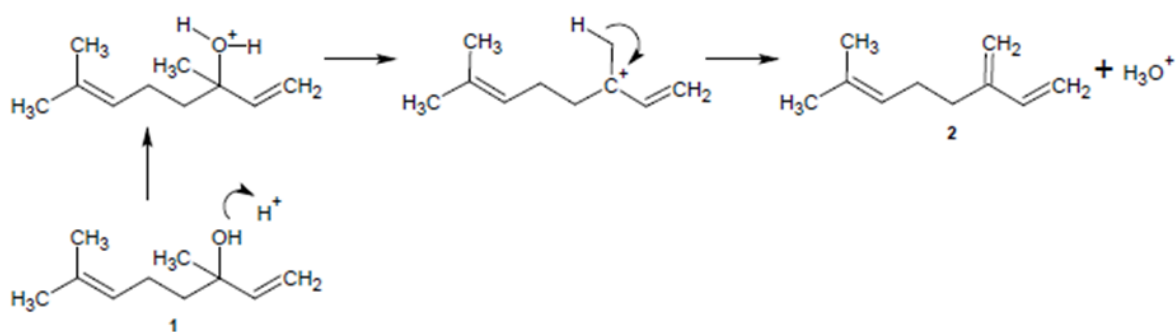


Obrázek 16: Vznik  $\alpha$ -terpineolu z linalylacetátu. 1: linalylacetát, 2: kation  $\alpha$ -terpinyly, 3:  $\alpha$ -terpineol

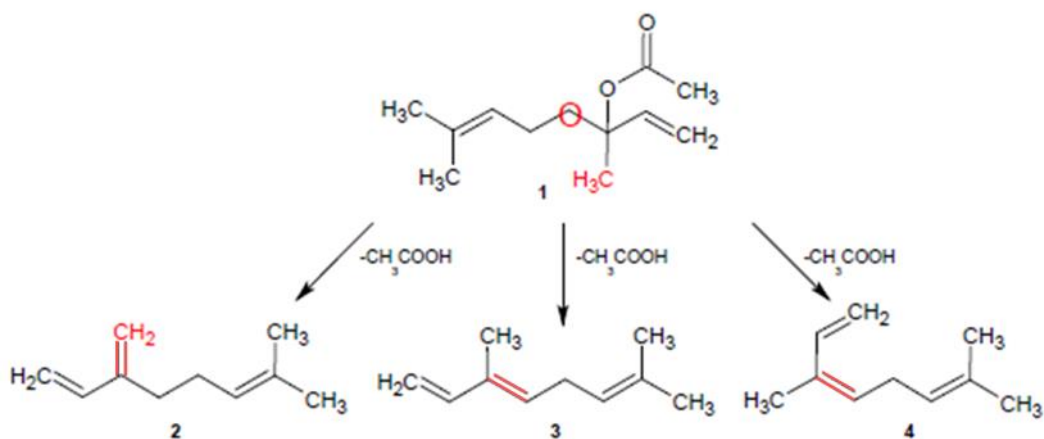
Sloučeniny  $\beta$ -myrcen, *trans*- $\beta$ -ocimen a *cis*- $\beta$ -ocimen vznikají kyselinou katalyzovanou dehydratací linaloolu v důsledku tepelné degradace (Obrázek 17, Obrázek 18). Svůj podíl na přeměně mohou mít i kyselinou katalyzované izomerace těchto silic. Tyto sloučeniny mohou vznikat i termooxidačním rozkladem samotného linalylacetátu. Odštěpením kyseliny octové, vzniká dvojná vazba. Pokud dojde k odštěpení vodíku z  $\text{CH}_3$  skupiny vzniká  $\beta$ -myrcen, pokud z  $\text{CH}_2$  skupiny vznikají izomery *cis* a *trans*- $\beta$ -ocimen (Obrázek 19). Tyto přeměny popisuje také **E. Jakab a spol.** [28].



Obrázek 17: Souhrn kyselinou katalyzované dehydratace linaloolu. 1: linalool, 2:  $\beta$ -myrcen, 3: *trans*- $\beta$ -ocimen, 4: *cis*- $\beta$ -ocimen



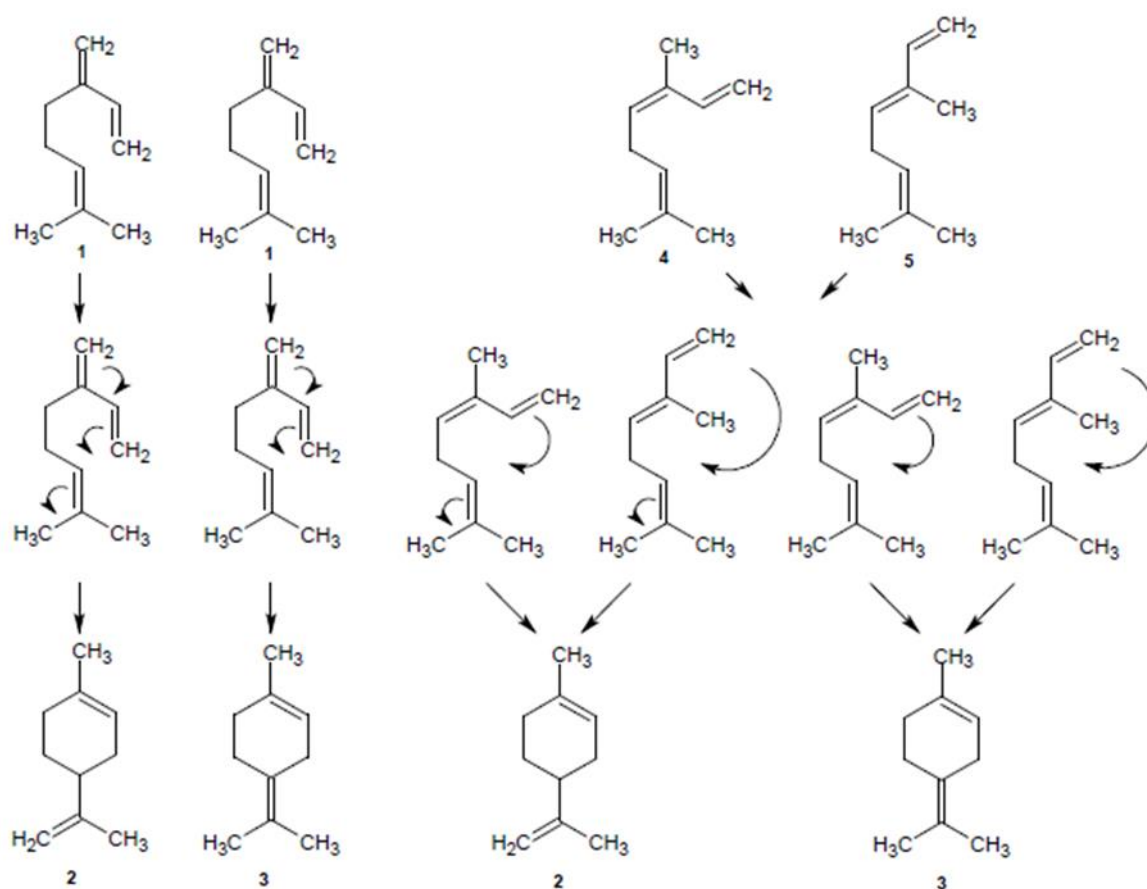
Obrázek 18: Kyselinou katalyzovaná dehydratace linaloolu. 1: linalool, 2:  $\beta$ -myrcen



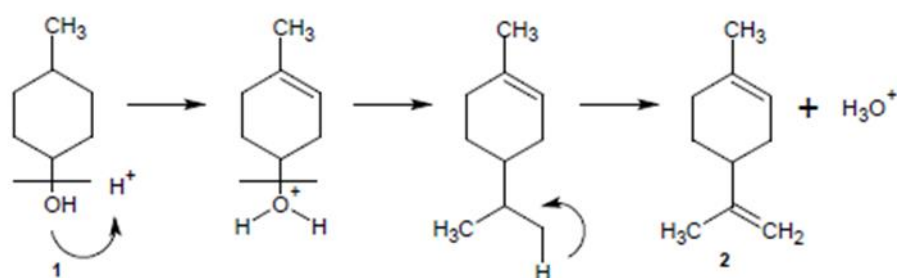
Obrázek 19: Termooxidací rozklad linalylacetátu. 1: linalylacetát 2:  $\beta$ -myrcen, 3: *trans*- $\beta$ -ocimen, 4: *cis*- $\beta$ -ocimen

Vznik limonenu a terpinolenu může být popsán několika mechanismy. Jednou z možností je cyklizace látek vzniklých dehydratací linaloolu, tedy  $\beta$ -myrcenu, *cis*- $\beta$ -ocimenu a *trans*- $\beta$ -ocimenu (Obrázek 20). Tuto přeměnu zmiňuje i **Hui-Ting Chang a spol.** [55]. Jiným mechanismem pro vznik limonenu může být kyselinou katalyzovaná dehydratace přítomného  $\alpha$ -terpineolu (Obrázek 21). Přeměnu popisuje také **E. Haleva-Toledo a spol.** [54]. Vznik je možný také eliminací protonu z  $\alpha$ -terpinylového kationtu a terpinen-4-yllového kationtu

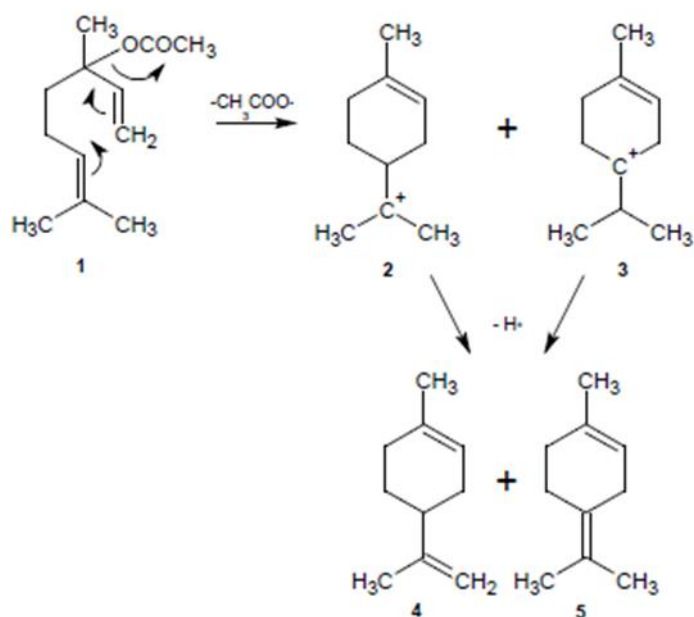
(Obrázek 22). Tento možný mechanismus přeměny zmiňuje **G. D. Kiran Babu a Bikram Singh** [29].



Obrázek 20: Vznik limonenu a terpinolenu cyklizací  $\beta$ -myrcenu, cis- a trans- $\beta$ -ocimenu. 1:  $\beta$ -myrcen, 2: limonen, 3: terpinolen, 4: cis- $\beta$ -ocimenu, 5: trans- $\beta$ -ocimenu

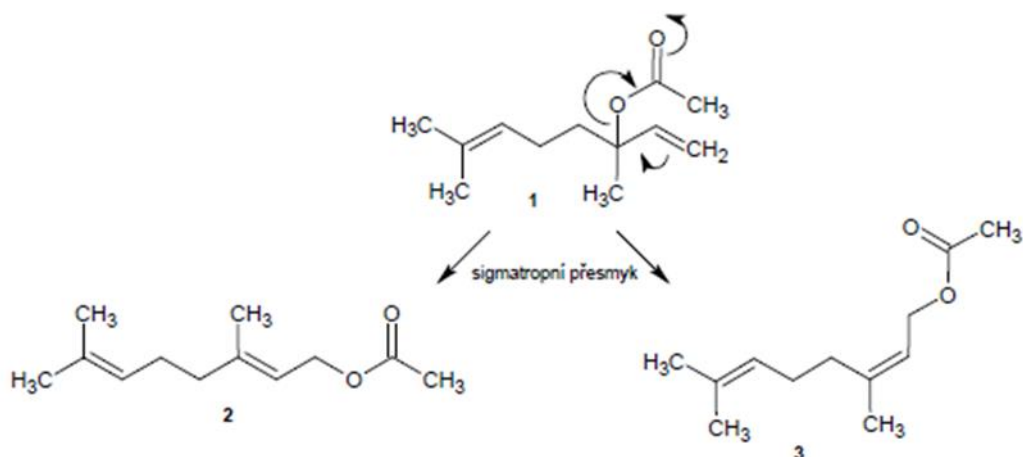


Obrázek 21: Kyselinou katalyzovaná dehydratace  $\alpha$ -terpineolu. 1:  $\alpha$ -terpineol, 2: limonen



Obrázek 22: Vznik terpinolenu a limonenu z linalylacetátu. 1: linalylacetát, 2:  $\alpha$ -terpinylový kationt, 3: terpinen-4-ylový kationt, 4: limonen, 5: terpinolen

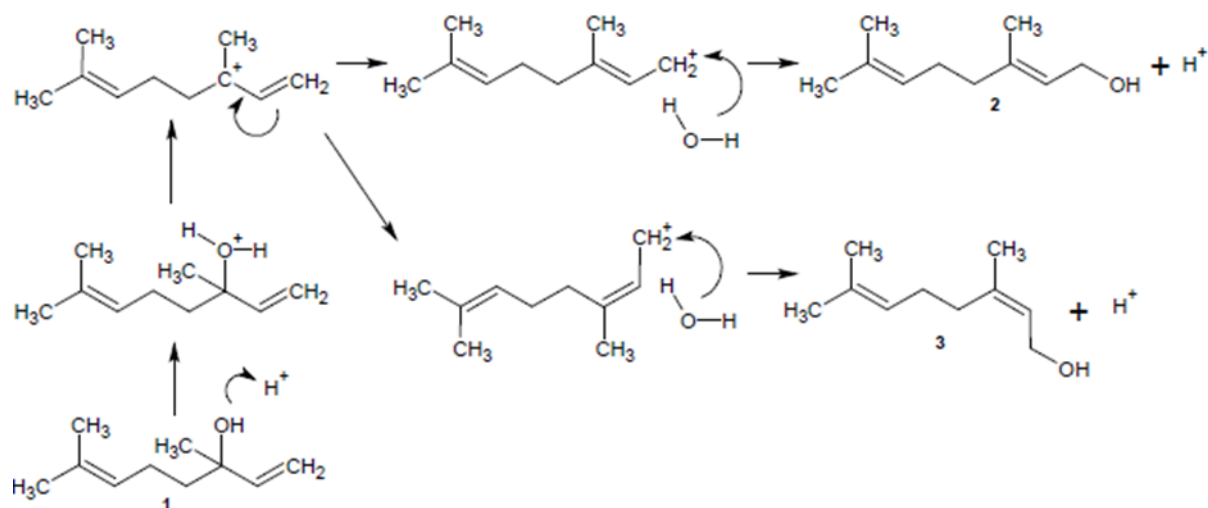
Geranylacetát a nerylacetát vznikají sigmatropním přesmykem linalylacetátu. Tímto přesmykem dochází současně k posunu  $\pi$  systému a  $\sigma$  vazby v allylové pozici. Nová dvojná vazba se tvoří na chirálním atomu uhlíku. Mohou se tak tvořit jak *cis*-, tak *trans*- izomery (Obrázek 23). Sigmatropní přemýk linalylacetátu popisuje i **E. Jakab a spol.** [28].



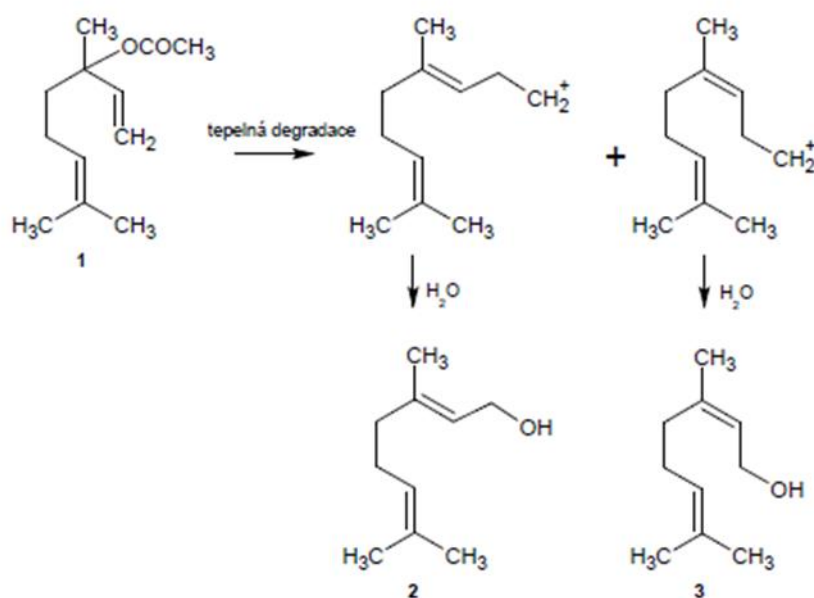
Obrázek 23: Sigmatropní přesmyk linalylacetátu. 1: linalylacetát, 2: geranylacetát, 3: nerylacetát

Vznik geraniolu a nerolu při transformaci linaloolu je dán kyselinou katalyzovanou konverzí (Obrázek 24). Další možnou cestou je hydratace geranylového a nerylového karbokationtu, které vznikají při tepelné degradaci linalylacetátu (Obrázek 25). Přeměny zmiňuje také **G. D. Kiran Babu a Bikram Singh** [29].



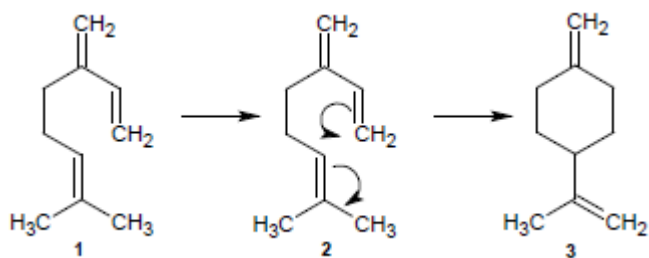


Obrázek 24: Kyselinou katalyzovaná konverze linaloolu. 1: linalool, 2: geraniol, 3: nerol



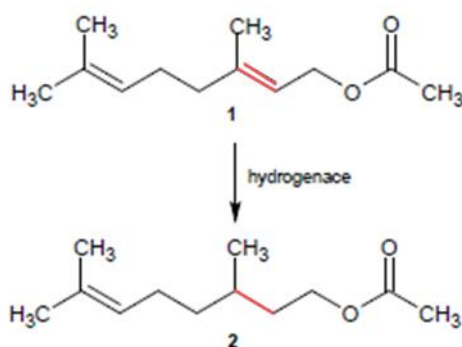
Obrázek 25: Vznik geraniolu a nerolu tepelnou degradací linalylacetátu. 1: linalylacetát, 2: geraniol, 3: nerol

Přeměnou  $\beta$ -myrcenu vznikl pouze jeden produkt a to pseudolimonen, mechanismus je pravděpodobně zapříčiněn cyklizací  $\beta$ -myrcenu podobně jako při vzniku limonenu z produktů dehydratace linaloolu (Obrázek 26).



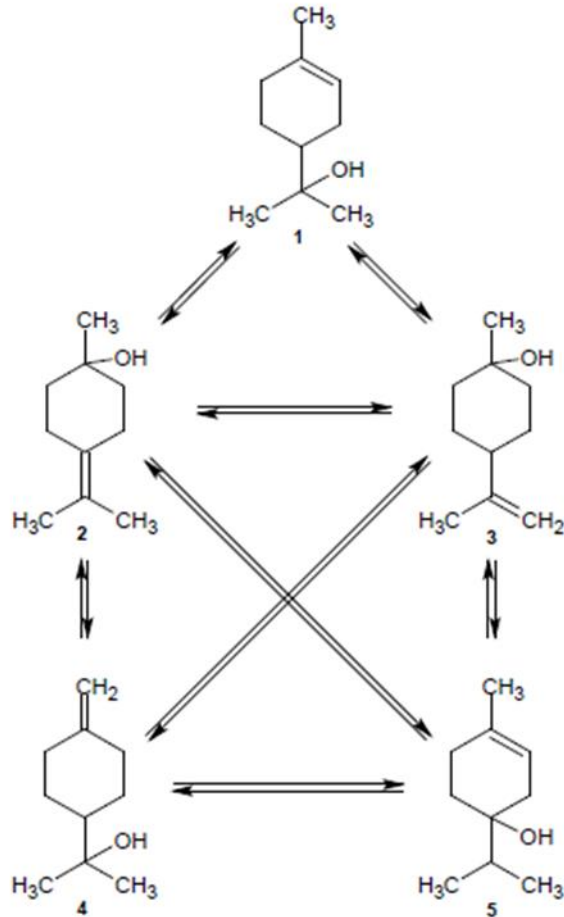
Obrázek 26: Transformace  $\beta$ -myrcenu na pseudolimonen. 1:  $\beta$ -myrcen, 2: pseudolimonen

Citronellylacetát vzniká pravděpodobně hydrogenací dvojné vazby geranylacetátu (Obrázek 27).



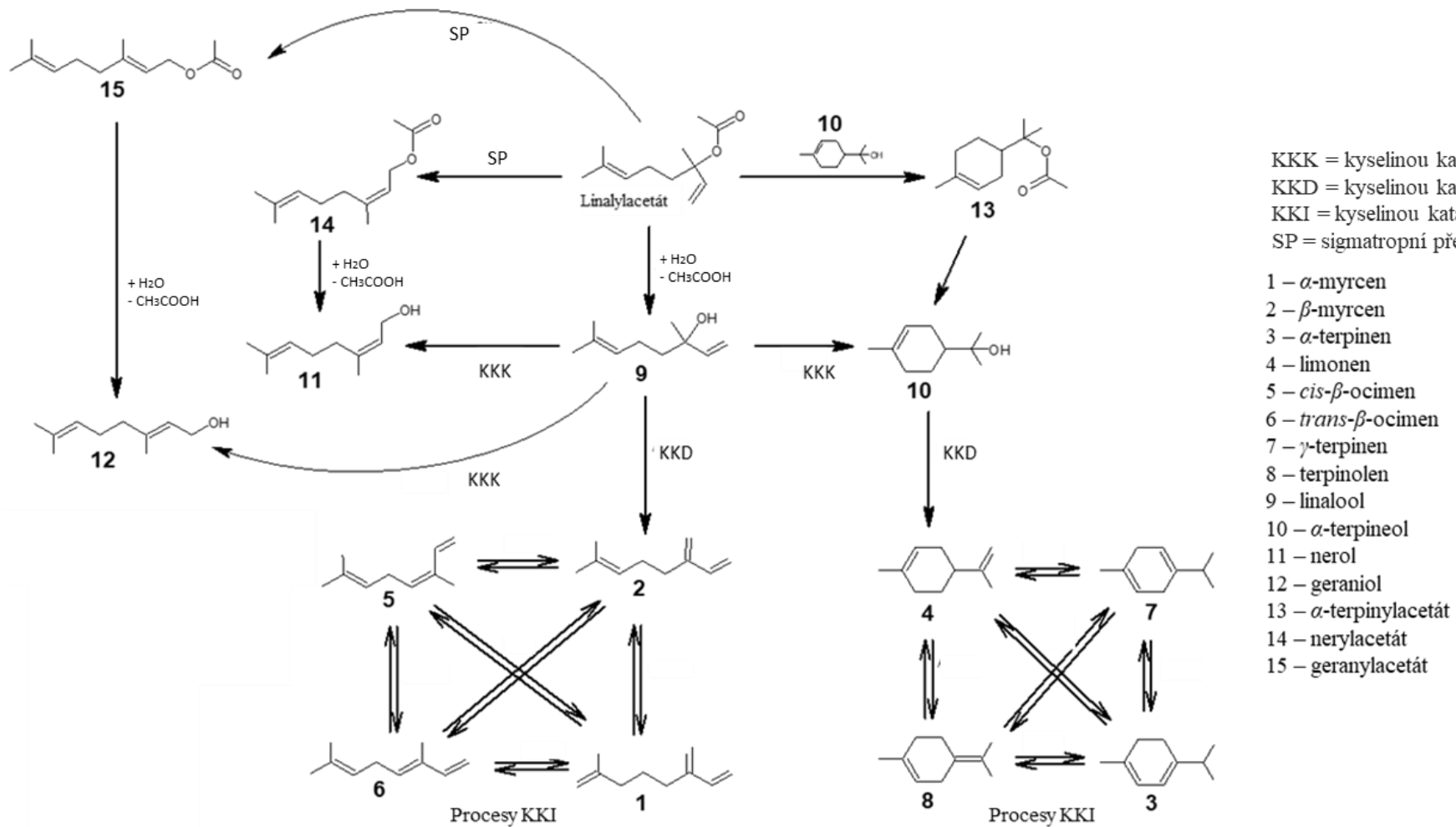
Obrázek 27: Transformace geranylacetátu na citronellylacetát. 1: geranylacetát, 2: citronellylacetát

Při transformaci  $\alpha$ -terpineolu vznikaly zejména jeho izomery  $\gamma$ -terpineol,  $\delta$ -terpineol,  $\beta$ -terpineol a terpinen-4-ol (Obrázek 28).



Obrázek 28: Izomerace terpineolů. 1:  $\alpha$ -terpineol, 2:  $\gamma$ -terpineol, 3:  $\beta$ -terpineol, 4:  $\delta$ -terpineol, 5: terpinen-4-ol

Celkový proces transformací jednotlivých silic je navržen na diagramu na (Obrázek 29). Jsou zde uvedeny podstatné mechanismy transformací levandulových silic při procesu hydrodestilace.



Obrázek 29: Souhrnný diagram transformací levandulových silic

## 2.5.2 Porovnání s dostupnými zdroji

V následující kapitole jsou porovnány výsledky, návrhy a závěry, které byly diskutovány v této diplomové práci s informacemi z jiných literárních zdrojů.

**G. D. Kiran Babu a Bikram Singh** [29] provedli studii, ve které porovnali složení levandulového EO při použití různých technik hydrodestilace a parní destilace. Na základě výsledků analýz a pozorování odlišností ve složení EO prezentovali mechanismy dějů, které mohou být jejich příčinou. V případě hydrodestilace byla použita Clevengerova aparatura, do které byly vloženy 2 kg květu druhu *Lavandula angustifolia* a 4 litry vody. Destilace probíhala 3 hodiny. Získaný EO byl měřen a sušen bezvodým Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, následně filtrován a analyzován na plynovém chromatografu s plamenově-ionizačním detektorem a GC-MS.

EO izolovaný hydrodestilací byl bohatší na linalool (39,74 %),  $\alpha$ -terpineol (8,01 %), geraniol (2,89 %), geranylacetát (2,16 %) a nerylacetát (1,25 %). K největší ztrátě při hydrodestilaci došlo u esterů. Celkový obsah esterů při hydrodestilaci byl (35,52 %), při destilaci vodní parou byl tento obsah až (50,44 %). Jedním z nejcennějších esterů je linalylacetát. V případě hydrodestilace byl jeho obsah pouze (30,01 %), při destilaci za použití vodní páry (47,10 %). Naopak nejvyšší obsah nerylacetátu a geranylacetátu byl zjištěn při hydrodestilaci, což může být dáno transformací linalylacetátu na nerylacetát a geranylacetát za kyselých podmínek.

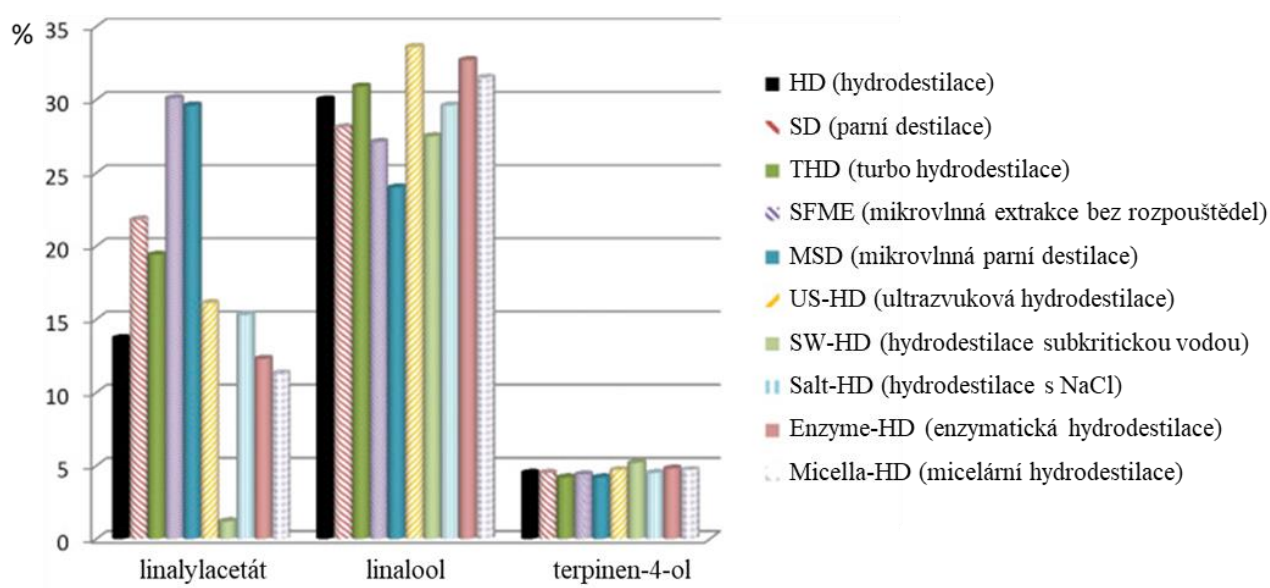
Celkový obsah alkoholů byl nejvyšší v EO produkovaném hydrodestilací (52,32 %), pomocí destilace vodní párou tvořil pouze (31,88 %). Největší zastoupení tvořil linalool, hydrodestilací (39,74 %), u destilací pomocí vodní páry (26,06 %). Na základě těchto výsledků lze předpokládat, že při hydrodestilaci, tedy přímém kontaktu rostlinného materiálu s vodou, dochází k rozsáhlejší hydrolyze esterů než při destilaci vodní parou.

V práci jsou diskutovány také další možné přeměny silic v průběhu jejich získávání. Eliminací skupin CH<sub>3</sub>COOH nebo CH<sub>3</sub>COO<sup>-</sup> z linalylacetátu a OH nebo O<sup>-</sup> z linaloolu, přesmyky a dalšími reakcemi vznikají látky jako  $\beta$ -myrcen,  $\alpha$ -terpinolen,  $\alpha$ -terpineol, terpinen-4-ol,  $\alpha$ -terpinen, *cis*- a *trans*- $\beta$ -ocimen, limonen, geraniol či nerol.

**A. Filly a spol.** [56] zkoumali vliv extrakčních metod používajících vodu na vlastnosti levandulového EO. Celkem bylo provedeno 10 rozličných extrakčních metod. Kvalita byla hodnocena pomocí složení EO, zejména podle obsahu linalylacetátu, linaloolu a terpinen-4-olu. Pro hydrodestilaci byla použita Clevengerova aparatura, do které bylo vloženo 250 g květu druhu *Lavandula hybridia* a 3 litry vody. Destilace probíhala 2 hodiny. Izolovaný EO byl

zvážen a sušen bezvodým Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>. Před analýzou byl vzorek skladován při 4°C. Analýza proběhla na plynovém chromatografu s plamenově-ionizačním detektorem a GC-MS.

Bylo identifikováno 47 hlavních sloučenin. Jejich jednotlivé zastoupení v EO se však lišilo a bylo závislé na zvoleném způsobu extrakce. Výsledky analýz ukazují, že při hydrodestilaci bylo procento vzniklého linalylacetátu menší než při mikrovlnné a parní destilaci, naopak procento linaloolu bylo vyšší. Obecně se potvrdilo, že extrakce, při kterých dochází ke kontaktu vody s extrahovaným materiálem, vykazují větší míru degradace přítomných sloučenin. Zmíněná je možná transformace linaloolu na terpinen-4-ol. Vliv použité extrakční metody na složení levandulového EO znázorňuje (Obrázek 30).



Obrázek 30: Vliv extrakční metody na složení levandulového EO (sloupce v grafu jsou řazeny dle pořadí metod v legendě) [56]

## ZÁVĚR

Při sledování složení levandulových EO je podstatné znát druh původní rostliny. Zastoupení silic je u rozličných druhů různé. Stejnou pozornost je nutné věnovat také při transformaci jednotlivých silic během procesu jejich získávání. Původní obsah silice v rostlině a její následná transformace mají význam z hlediska senzorickeho a farmaceutického.

Z hlediska kvalitativního je u levandulových EO jednou z nejpodstatnějších složek linalylacetát. Je ceněn nejen pro své senzoricke vlastnosti, ale také zdravotní účinky. Ve farmacii je součástí mastí na hojení modřin, má sedativní účinky, působí jako hojící látka nebo zabraňuje šíření infekce. Výsledky analýz ukázaly, že metoda hydrodestilace není pro zachování linalylacetátu příliš vhodná. Při přímém kontaktu extrahovaného materiálu s vodou dochází k rozsáhlým transformacím, které byly v této práci experimentálně potvrzeny. Na přeměnách se podílí zejména hydrolýza a degradace vlivem tepla. Majoritní produkty přeměny jsou linalool,  $\alpha$ -terpineol, monoterpeny  $\beta$ -myrcen, *cis*- $\beta$ -ocimen, *trans*- $\beta$ -ocimen a estery geranylacetát a nerylacetát. K celkovému profilu zastoupení jednotlivých silic přispívá i následná transformace těchto produktů. Obecně lze říci, že esenciální oleje získané hydrodestilací jsou bohatší na obsah alkoholů. Pro zachování původního složení a vyšší kvality je tak vhodnější získávat EO pomocí šetrnějších metod, jako je např. destilace vodní parou.

## POUŽITÁ LITERATURA

- [1] LIS-BALCHIN, Maria. *Lavender: The Genus Lavandula* [online]. CRC Press, 2003 [cit. 2020-11-12]. ISBN 9780203216521. Dostupné z: doi:10.1201/9780203216521
- [2] L. ADAM, Katherine. Lavender Production, Products, Markets, and Entertainment Farms. *A Publication of ATTRA* [online]. 2006 [cit. 2020-11-12]. Dostupné z: <https://naturalingredient.org/wp/wp-content/uploads/lavender.pdf>
- [3] LESAGE-MEESSEN, Laurence, Marine BOU, Jean-Claude SIGOILLOT, Craig B. FAULDS a Anne LOMASCOLO. Essential oils and distilled straws of lavender and lavandin: a review of current use and potential application in white biotechnology. *Applied Microbiology and Biotechnology* [online]. 2015, **99**(8), 3375-3385 [cit. 2020-11-12]. ISSN 0175-7598. Dostupné z: doi:10.1007/s00253-015-6511-7
- [4] BEJAR, E. Adulteration of English Lavender (*Lavandula angustifolia*) essential oil. Botanical Adulterants Prevention Bulletin. Austin, TX: ABC-AHP-NCNPR Botanical Adulterants Prevention Program; 2020, Dostupné z: [https://www.researchgate.net/publication/342763962\\_Adulteration\\_of\\_English\\_Lavender\\_Lavandula\\_angustifolia\\_essential\\_oil](https://www.researchgate.net/publication/342763962_Adulteration_of_English_Lavender_Lavandula_angustifolia_essential_oil)
- [5] GIRAY, Fatma Handan. An Analysis of World Lavender Oil Markets and Lessons for Turkey. *Journal of Essential Oil Bearing Plants* [online]. 2018, **21**(6), 1612-1623 [cit. 2020-11-20]. ISSN 0972-060X. Dostupné z: doi:10.1080/0972060X.2019.1574612
- [6] *Les 3 lavandes Comment les reconnaître?* [online]. In: [cit. 2020-11-20]. Dostupné z: <https://www.lavande-aop.fr/lavande/3-lavandes>
- [7] PANDEY, Abhay K., Pradeep KUMAR, Pooja SINGH, Nijendra N. TRIPATHI a Vivek K. BAJPAI. Essential Oils: Sources of Antimicrobials and Food Preservatives. *Frontiers in Microbiology* [online]. 2017, 7 [cit. 2021-11-24]. ISSN 1664-302X. Dostupné z: doi:10.3389/fmicb.2016.02161
- [8] HANIF, Muhammad Asif, et al. Essential Oils. *Essential Oil Research: Trends in Biosynthesis, Analytics, Industrial Applications and Biotechnological Production*, 2019, 1: 1-17.
- [9] KARAPANDZOVA, Marija, et al. The influence of duration of the distillation of fresh and dried flowers on the essential oil composition of lavandin cultivated in Republic of Macedonia. *Maced Pharm. Bull*, 2012, 58: 31-38, ISSN 1409-8695. Dostupné z: [http://bulletin.mfd.org.mk/volumes/Volume%2058/Volume\\_58.pdf#page=31](http://bulletin.mfd.org.mk/volumes/Volume%2058/Volume_58.pdf#page=31)



- [10] APROTOSOAIE, Ana Clara, Elvira GILLE, Adriana TRIFAN, Vlad Simon LUCA a Anca MIRON. Essential oils of Lavandula genus: a systematic review of their chemistry. *Phytochemistry Reviews* [online]. 2017, **16**(4), 761-799, ISSN 1568-7767. Dostupné z: doi:10.1007/s11101-017-9517-1
- [11] ŁYCZKO, Jacek, Klaudiusz JAŁOSZYŃSKI, Mariusz SURMA, Klaudia MASZTALERZ a Antoni SZUMNY. HS-SPME Analysis of True Lavender (*Lavandula angustifolia* Mill.) Leaves Treated by Various Drying Methods. *Molecules* [online]. 2019, **24**(4) [cit. 2021-02-05]. ISSN 1420-3049. Dostupné z: doi:10.3390/molecules24040764
- [12] HILLIER, Stephen G a Richard LATHE. Terpenes, hormones and life: isoprene rule revisited. *Journal of Endocrinology* [online]. 2019, **242**(2), R9-R22, ISSN 0022-0795. Dostupné z: doi:10.1530/JOE-19-0084
- [13] AZIZ, Zarith Asyikin Abdul, Akil AHMAD, Siti Hamidah Mohd SETAPAR, et al. Essential Oils: Extraction Techniques, Pharmaceutical And Therapeutic Potential - A Review. *Current Drug Metabolism* [online]. 2018, **19**(13), 1100-1110 [cit. 2021-7-5]. ISSN 13892002. Dostupné z: doi:10.2174/1389200219666180723144850
- [14] ADAL, Ayelign M. a Soheil S. MAHMOUD. Short-chain isoprenyl diphosphate synthases of lavender (*Lavandula*). *Plant Molecular Biology* [online]. 2020, **102**(4-5), 517-535 [cit. 2021-7-5]. ISSN 0167-4412. Dostupné z: doi:10.1007/s11103-020-00962-8
- [15] CLOMBURG, James M., Shuai QIAN, Zaigao TAN, Seokjung CHEONG a Ramon GONZALEZ. The isoprenoid alcohol pathway, a synthetic route for isoprenoid biosynthesis. *Proceedings of the National Academy of Sciences* [online]. 2019, **116**(26), 12810-12815 [cit. 2021-7-5]. ISSN 0027-8424. Dostupné z: doi:10.1073/pnas.1821004116
- [16] TETALI, Sarada D. Terpenes and isoprenoids: a wealth of compounds for global use. *Planta* [online]. 2019, **249**(1), 1-8 [cit. 2021-7-5]. ISSN 0032-0935. Dostupné z: doi:10.1007/s00425-018-3056-x
- [17] CARRASCO, Alejandro, Vanessa ORTIZ-RUIZ, Ramiro MARTINEZ-GUTIERREZ, Virginia TOMAS a Jose TUDELA. *Lavandula stoechas* essential oil from Spain: Aromatic profile determined by gas chromatography–mass spectrometry, antioxidant and lipoxygenase inhibitory bioactivities. *Industrial Crops and Products* [online]. 2015, **73**, 16-27 [cit. 2021-7-5]. ISSN 09266690. Dostupné z: doi:10.1016/j.indcrop.2015.03.088

- [18] GIRAY, E. Sultan, Saliha KIRICI, D. Alpaslan KAYA, Murat TÜRK, Özgür SÖNMEZ a Memet İNAN. Comparing the effect of sub-critical water extraction with conventional extraction methods on the chemical composition of *Lavandula stoechas*. *Talanta* [online]. 2008, **74**(4), 930-935 [cit. 2021-7-5]. ISSN 00399140. Dostupné z: doi:10.1016/j.talanta.2007.07.040
- [19] LANE, Alexander, Astrid BOECKLEMANN, Grant N. WORONUK, Lukman SARKER a Soheil S. MAHMOUD. A genomics resource for investigating regulation of essential oil production in *Lavandula angustifolia*. *Planta* [online]. 2010, **231**(4), 835-845 [cit. 2021-7-5]. ISSN 0032-0935. Dostupné z: doi:10.1007/s00425-009-1090-4
- [20] BAYDAR, Hasan a 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* [online]. 2009, **12**(2), 131-136 [cit. 2021-7-5]. ISSN 0972-060X. Dostupné z: doi:10.1080/0972060X.2009.10643702
- [21] KASPER, Siegfried, Hans-Peter VOLZ, Angelika DIENEL a Sandra SCHLÄFKE. Efficacy of Silexan in mixed anxiety–depression – A randomized, placebo-controlled trial. *European Neuropsychopharmacology* [online]. 2016, **26**(2), 331-340 [cit. 2021-7-5]. ISSN 0924977X. Dostupné z: doi:10.1016/j.euroneuro.2015.12.002
- [22] CAVANAGH, H. M. A. a J. M. WILKINSON. Biological activities of Lavender essential oil. *Phytotherapy Research* [online]. 2002, **16**(4), 301-308 [cit. 2021-7-5]. ISSN 0951-418X. Dostupné z: doi:10.1002/ptr.1103
- [23] SMIGIELSKI, K., R. PRUSINOWSKA, A. STOBIECKA, A. KUNICKA-STYCZYŃSKA a R. GRUSKA. Biological Properties and Chemical Composition of Essential Oils from Flowers and Aerial Parts of Lavender (*Lavandula angustifolia*). *Journal of Essential Oil Bearing Plants* [online]. 2018, **21**(5), 1303-1314 [cit. 2021-7-5]. ISSN 0972-060X. Dostupné z: doi:10.1080/0972060X.2018.1503068
- [24] HANDA, S. S. An overview of extraction techniques for medicinal and aromatic plants. *Extraction technologies for medicinal and aromatic plants*, 2008, 1. Dostupné z: <http://www.filedump.net/dumped/extractiontechnologiesformedicinalandaromaticplants1348238050.pdf#page=25>
- [25] ASBAHANI, A. El, K. MILADI, W. BADRI, et al. Essential oils: From extraction to encapsulation. *International Journal of Pharmaceutics* [online]. 2015, **483**(1-2), 220-243 [cit. 2021-7-5]. ISSN 03785173. Dostupné z: doi:10.1016/j.ijpharm.2014.12.069

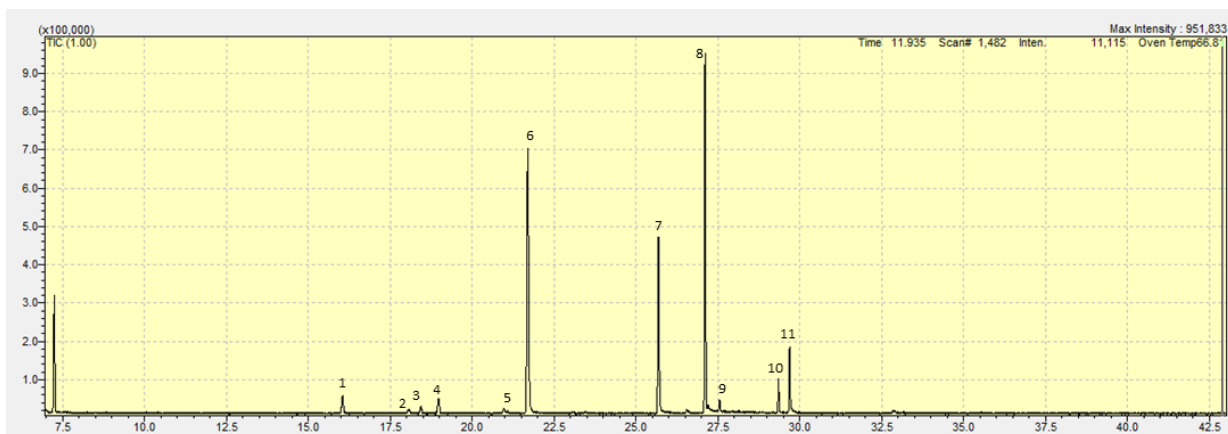
- [26] TALATI, Ali. *EXTRACTION METHODS OF NATURAL ESSENTIAL OILS* [online]. Shiraz University of Medical Sciences, 2017 [cit. 2020-12-28]. Dostupné z: doi:10.13140/RG.2.2.18744.34564
- [27] BABU, G. D. Kiran, Vipin THAKUR a Bikram SINGH. Variability in the Composition of *Lavandula angustifolia* Extracts due to Extraction Methods. *Journal of Herbs, Spices & Medicinal Plants* [online]. 2016, **22**(2), 173-182 [cit. 2021-7-5]. ISSN 1049-6475. Dostupné z: doi:10.1080/10496475.2015.1136979
- [28] JAKAB, E., M. BLAZSÓ, E. BARTA-RAJNAI, et al. Thermo-oxidative decomposition of lime, bergamot and cardamom essential oils. *Journal of Analytical and Applied Pyrolysis* [online]. 2018, **134**, 552-561 [cit. 2021-7-5]. ISSN 01652370. Dostupné z: doi:10.1016/j.jaap.2018.08.003
- [29] BABU, GD Kiran; SINGH, BIKRAM. Characteristics variation of lavender oil produced by different hydrodistillation techniques. *Comprehensive bioactive natural products: Quality control & standardization*, 2010, 8.6: 122-136.
- [30] KUNICKA-STYCZYŃSKA, A., K. ŚMIGIELSKI, R. PRUSINOWSKA, K. RAJKOWSKA, B. KUŚMIDER a M. SIKORA. Preservative activity of lavender hydrosols in moisturizing body gels. *Letters in Applied Microbiology* [online]. 2015, **60**(1), 27-32 [cit. 2021-7-5]. ISSN 02668254. Dostupné z: doi:10.1111/lam.12346
- [31] PINGRET, Daniella, Anne-Sylvie FABIANO-TIXIER a Farid CHEMAT. An Improved Ultrasound Clevenger for Extraction of Essential Oils. *Food Analytical Methods* [online]. 2014, **7**(1), 9-12 [cit. 2021-7-5]. ISSN 1936-9751. Dostupné z: doi:10.1007/s12161-013-9581-0
- [32] MASANGO, Phineas. Cleaner production of essential oils by steam distillation. *Journal of Cleaner Production* [online]. 2005, **13**(8), 833-839 [cit. 2021-7-5]. ISSN 09596526. Dostupné z: doi:10.1016/j.jclepro.2004.02.039
- [33] VIAN, Maryline Abert, Xavier FERNANDEZ, Franco VISINONI a Farid CHEMAT. Microwave hydrodiffusion and gravity, a new technique for extraction of essential oils. *Journal of Chromatography A* [online]. 2008, **1190**(1-2), 14-17 [cit. 2021-7-5]. ISSN 00219673. Dostupné z: doi:10.1016/j.chroma.2008.02.086
- [34] TONGNUANCHAN, Phakawat a Soottawat BENJAKUL. Essential Oils: Extraction, Bioactivities, and Their Uses for Food Preservation. *Journal of Food Science* [online]. 2014, **79**(7), R1231-R1249 [cit. 2021-7-5]. ISSN 00221147. Dostupné z: doi:10.1111/1750-3841.12492

- [35] LI, X.-M., S.-L. TIAN, Z.-C. PANG, J.-Y. SHI, Z.-S. FENG a Y.-M. ZHANG. Extraction of Cuminum cyminum essential oil by combination technology of organic solvent with low boiling point and steam distillation. *Food Chemistry* [online]. 2009, **115**(3), 1114-1119 [cit. 2021-7-5]. ISSN 03088146. Dostupné z: doi:10.1016/j.foodchem.2008.12.091
- [36] JULIO, Luis F., Luis MARTÍN, Rubén MUÑOZ, Ana M. MAINAR, José S. URIETA, Jesus SANZ, Jesús BURILLO a Azucena GONZÁLEZ-COLOMA. Comparative chemistry and insect antifeedant effects of conventional (Clevenger and Soxhlet) and supercritical extracts (CO<sub>2</sub>) of two *Lavandula luisieri* populations. *Industrial Crops and Products* [online]. 2014, **58**, 25-30 [cit. 2021-7-5]. ISSN 09266690. Dostupné z: doi:10.1016/j.indcrop.2014.03.021
- [37] YOUSEFI, Mohammad, Mehdi RAHIMI-NASRABADI, Seied Mahdi POURMORTAZAVI, Marcin WYSOKOWSKI, Teofil JESIONOWSKI, Hermann EHRLICH a Somayeh MIRSADEGHI. Supercritical fluid extraction of essential oils. *TrAC Trends in Analytical Chemistry* [online]. 2019, **118**, 182-193 [cit. 2021-7-5]. ISSN 01659936. Dostupné z: doi:10.1016/j.trac.2019.05.038
- [38] ZYCHOVÁ, Markéta, Růžičková MARIANA, Macák JAN a Janda VÁCLAV. VLASTNOSTI A POUŽITÍ SUPERKRITICKÉ VODY. *Chem. Listy* [online]. 2013, **107**, 126-135. Dostupné z: [http://www.chemicke-listy.cz/docs/full/2013\\_02\\_126-135.pdf](http://www.chemicke-listy.cz/docs/full/2013_02_126-135.pdf)
- [39] ÖTLES, Semih a Canan KARTAL. Solid-Phase Extraction (SPE): Principles and Applications in Food Samples. *Acta Scientiarum Polonorum Technologia Alimentaria* [online]. 2015, **15**(1), 5-15 [cit. 2021-7-5]. ISSN 16440730. Dostupné z: doi:10.17306/J.AFS.2016.1.1
- [40] MAJEWSKA, M., et al. Solid phase extraction in food analysis. *Zeszyty Naukowe. Chemia Spożywcza i Biotechnologia/Politechnika Łódzka*, 2008, **72**, 5-13. Dostupné z: [cybra.p.lodz.pl/Content/2781/5\\_15.pdf](http://cybra.p.lodz.pl/Content/2781/5_15.pdf)
- [41] ŻWIR-FERENC, Agata; BIZIUK, Marek. Solid Phase Extraction Technique--Trends, Opportunities and Applications. *Polish Journal of Environmental Studies*, 2006, **15**(5), 677-690. Dostupné z: <https://www.researchgate.net/publication/279597851>
- [42] VYSOKÁ ŠKOLA CHEMICKO-TECHNOLOGICKÁ V PRAZE. *Extrakce vzorku tuhou fází: izolace a separační metody* [online]. In: 2018 [cit. 2021-02-03]. Dostupné z: [https://web.vscht.cz/~poustkaj/ISM%20PIGA%20Cz-12%20Extrakce%20vzorku%20tuhou%20fází%20\(LSC\\_SPE\\_MSPD\\_QuEChERS\)\\_VH2018.pdf](https://web.vscht.cz/~poustkaj/ISM%20PIGA%20Cz-12%20Extrakce%20vzorku%20tuhou%20fází%20(LSC_SPE_MSPD_QuEChERS)_VH2018.pdf)

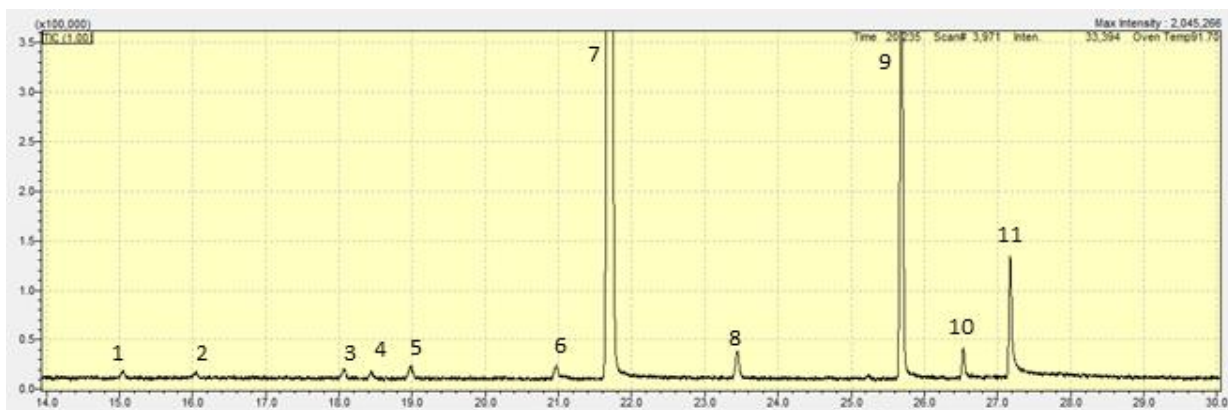
- [43] MERKLE, Sybille, Kim KLEEBERG a Jan FRITSCHÉ. Recent Developments and Applications of Solid Phase Microextraction (SPME) in Food and Environmental Analysis—A Review. *Chromatography* [online]. 2015, **2**(3), 293-381 [cit. 2021-7-5]. ISSN 2227-9075. Dostupné z: doi:10.3390/chromatography2030293
- [44] BASHEER, Chanbasha a Hian Kee LEE. Hollow fiber membrane-protected solid-phase microextraction of triazine herbicides in bovine milk and sewage sludge samples. *Journal of Chromatography A* [online]. 2004, **1047**(2), 189-194 [cit. 2021-7-5]. ISSN 00219673. Dostupné z: doi:10.1016/j.chroma.2004.06.130
- [45] MOTTALEB, M. Abdul; MEZIANI, Mohammed J.; ISLAM, M. Rafiq. Solid-Phase Microextraction and Its Application to Natural Products and Biological Samples. *Encyclopedia of Analytical Chemistry: Applications, Theory and Instrumentation*, 2006, 1-28, Dostupné z: <https://doi.org/10.1002/9780470027318.a9905.pub2>
- [46] POUSTKA, Jan. VYSOKÁ ŠKOLA CHEMICKO-TECHNOLOGICKÁ V PRAZE. *Mikroextrakce tuhoh fází* [online]. In: 2018 [cit. 2021-02-03]. Dostupné z: [https://web.vscht.cz/~poustkaj/ISM%20PIGA%20Cz-2%20SPME\\_SBSE\\_MEPS-JP2018.pdf](https://web.vscht.cz/~poustkaj/ISM%20PIGA%20Cz-2%20SPME_SBSE_MEPS-JP2018.pdf)
- [47] DO, Thi Kieu Tiên, Francis HADJI-MINAGLOU, Sylvain ANTONIOTTI a Xavier FERNANDEZ. Authenticity of essential oils. *TrAC Trends in Analytical Chemistry* [online]. 2015, **66**, 146-157 [cit. 2021-7-5]. ISSN 01659936. Dostupné z: doi:10.1016/j.trac.2014.10.007
- [48] SKOOG, Douglas A., Donald M. WEST, James HOLLER a Stanley R. CROUCH. *Fundamentals of analytical chemistry: Gas Chromatography*. 9th Ed. Belmont, CA: Cengage-Brooks/Cole, 2014. ISBN 978-0-495-55828-6.
- [49] BARTOVSKÝ, Tomáš. Provozní plynové chromatografy. *Automa*, 2017, **4**, 24-29. Dostupné z: [http://automa.cz/Aton/FileRepository/pdf\\_articles/10151.pdf](http://automa.cz/Aton/FileRepository/pdf_articles/10151.pdf)
- [50] KARASEK, Francis W. CLEMENT, R. E.; *Basic gas chromatography-mass spectrometry: principles and techniques*. Amsterdam: Elsevier Science, 2012. ISBN 9780080929064.
- [51] PIANTANIDA, Alejandra Garcia; BARRON, Andrew R. Principles of gas chromatography. *OpenStax CNX*, 2014.
- [52] POOLE, Colin F. Ionization-based detectors for gas chromatography. *Journal of Chromatography A* [online]. 2015, **1421**, 137-153 [cit. 2021-7-5]. ISSN 00219673. Dostupné z: doi:10.1016/j.chroma.2015.02.061

- [53] SPARKMAN, O. David; PENTON, Zelda; KITSON, Fulton G. *Gas chromatography and mass spectrometry: a practical guide*. Academic press, 2011. ISBN: 9780080920153
- [54] HALEVA-TOLEDO, E., M. NAIM, U. ZEHAVI a R.L. ROUSEFF. Formation of  $\alpha$ -terpineol in Citrus Juices, Model and Buffer Solutions. *Journal of Food Science* [online]. 1999, **64**(5), 838-841 [cit. 2021-7-15]. ISSN 0022-1147. Dostupné z: doi:10.1111/j.1365-2621.1999.tb15923.x
- [55] CHANG, Hui-Ting, Chun-Ya LIN, Li-Sheng HSU a Shang-Tzen CHANG. Thermal Degradation of Linalool-Chemotype *Cinnamomum osmophloeum* Leaf Essential Oil and Its Stabilization by Microencapsulation with  $\beta$ -Cyclodextrin. *Molecules* [online]. 2021, **26**(2) [cit. 2021-7-15]. ISSN 1420-3049. Dostupné z: doi:10.3390/molecules26020409
- [56] FILLY, Aurore, Anne Sylvie FABIANO-TIXIER, Céline LOUIS, Xavier FERNANDEZ a Farid CHEMAT. Water as a green solvent combined with different techniques for extraction of essential oil from lavender flowers. *Comptes Rendus Chimie* [online]. 2016, **19**(6), 707-717 [cit. 2021-7-5]. ISSN 16310748. Dostupné z: doi:10.1016/j.crci.2016.01.018

## PŘÍLOHA – Chromatogramy



Chromatogram analýzy linalylacetátu: extrakce kapalina-kapalina, zahřátí (20 min, 100 °C).  
1:  $\beta$ -myrcen, 2: limonen, 3: *cis*- $\beta$ -ocimen, 4: *trans*- $\beta$ -ocimen, 5: terpinolen, 6: linalool, 7:  $\alpha$ -terpineol, 8: linalylacetát, 9: dihydrolinalylacetát, 10: nerylacetát, 11: geranylacetát



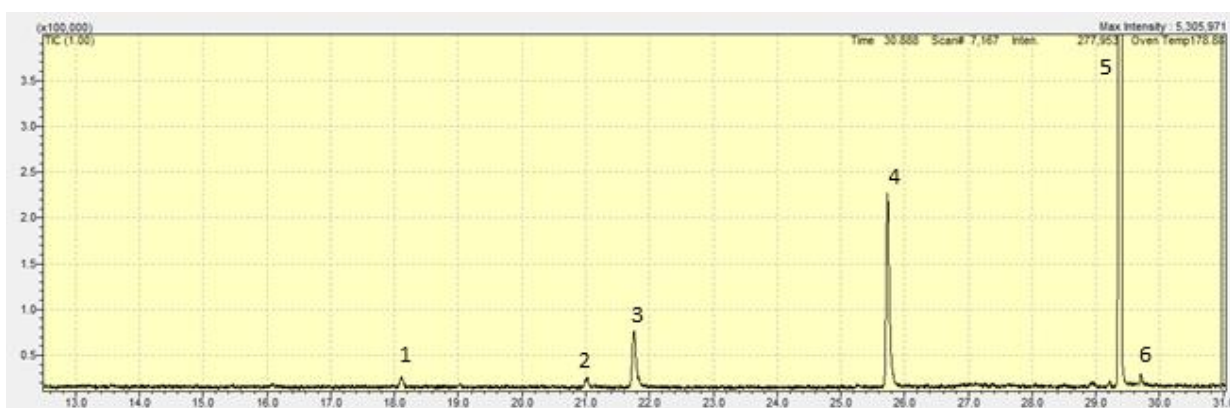
Chromatogram analýzy linaloolu: extrakce kapalina-kapalina, zahřátí (20 min, 100 °C).  
1: linalool-3,7-oxid, 2:  $\beta$ -myrcen, 3: limonen, 4: *cis*- $\beta$ -ocimen, 5: *trans*- $\beta$ -ocimen, 6: terpinolen, 7: linalool, 8: dihydrolinalool, 9:  $\alpha$ -terpineol, 10: nerol, 11: geraniol



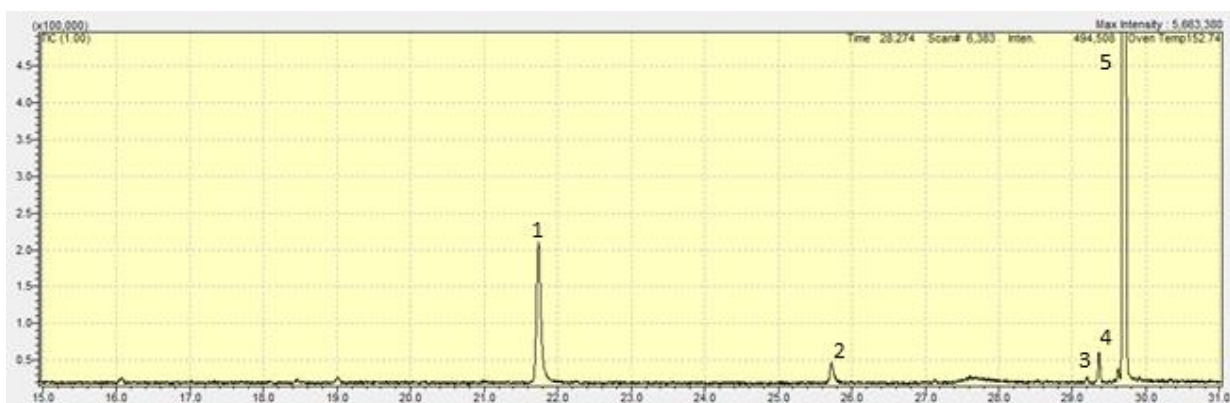
Chromatogram analýzy  $\beta$ -myrcenu: extrakce kapalina-kapalina, zahřátí (20 min, 100 °C).  
1:  $\beta$ -myrcen, 2: pseudolimonen



Chromatogram analýzy  $\alpha$ -terpineolu: extrakce kapalina-kapalina, zahřátí (20 min, 100 °C).  
 1: limonen, 2: terpinolen, 3: terpin-3-en-1-ol, 4:  $\delta$ -terpineol, 5:  $\beta$ -terpineol, 6: terpinen-4-ol,  
 7:  $\alpha$ -terpineol, 8:  $\gamma$ -terpineol



Chromatogram analýzy nerylacetátu: extrakce kapalina-kapalina, zahřátí (20 min, 100 °C).  
 1: limonen, 2: terpinolen, 3: linalool, 4:  $\alpha$ -terpineol, 5: nerylacetát, 6: geranylacetát



Chromatogram analýzy geranylacetátu: extrakce kapalina-kapalina, zahřátí (20 min, 100 °C).  
 1: linalool, 2:  $\alpha$ -terpineol, 3: citronellylacetát, 4: nerylacetát, 5: geranylacetát