

UNIVERZITA PARDUBICE

FAKULTA CHEMICKO-TECHNOLOGICKÁ

BAKALÁŘSKÁ PRÁCE

2024

Sára Vavřinčíková

Univerzita Pardubice

Fakulta chemicko-technologická

Biologické vlastnosti hřebíčku

Bakalářská práce

2024

Sára Vavřinčíková

Univerzita Pardubice
Fakulta chemicko-technologická
Akademický rok: 2023/2024

ZADÁNÍ BAKALÁŘSKÉ PRÁCE

(projektu, uměleckého díla, uměleckého výkonu)

Jméno a příjmení: **Sára Vavřínčíková**
Osobní číslo: **C23410**
Studijní program: **B0531A130024 Hodnocení a analýza potravin**
Téma práce: **Biologické vlastnosti hřebíčku**
Zadávací katedra: **Katedra analytické chemie**

Zásady pro vypracování

- Charakterizujte botanické zařazení koření hřebíčku (*Syzygium sp.*). Definujte jeho složení s důrazem na obsah látek s potencionálním účinkem na zdraví člověka. Uveďte přehled zdravotních účinků hřebíčku.
- Zpracujte text o dalším možném využití v zemědělství, potravinářství nebo farmacii. K vypracování použijte převážně zahraniční odborná periodika, popř. monografie.
- Na základě získaných poznatků formulujte v závěru svá doporučení pro veřejnost.

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

Seznam doporučené literatury:

Podle pokynů vedoucího práce.

Vedoucí bakalářské práce: **doc. Ing. Libor Červenka, Ph.D.**
Katedra analytické chemie

Datum zadání bakalářské práce: **7. února 2024**
Termín odevzdání bakalářské práce: **1. července 2024**

L.S.

prof. Ing. Petr Němec, Ph.D.
děkan

doc. Ing. Petr Česla, Ph.D.
vedoucí katedry

V Pardubicích dne 20. února 2024

Prohlašuji:

Práci s názvem Biologické vlastnosti hřebíčku 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

Sára Vavřínčíková v. r.

PODĚKOVÁNÍ

Mé poděkování patří panu doc. Ing. Liboru Červenkovi, Ph.D. za poskytnuté rady a prospěšné připomínky, které mi pomohly při psaní bakalářské práce. Dále bych chtěla poděkovat své rodině a přátelům za podporu a trpělivost během celého mého studia.

ANOTACE

Bakalářská práce byla zaměřena na biologické účinky hřebíčku a eugenolu, které mají velký význam jako potencionálního konzervantu potravin a zdroje antioxidantů. Úvod pojednává o obecných vlastnostech a složení hřebíčku. Následně se práce věnuje metodám technického zpracování, zejména získávání esenciálního oleje a jeho zapouzdření. Závěr je věnován využití hřebíčku v různých průmyslových odvětvích.

KLÍČOVÁ SLOVA

hřebíček, esenciální olej, biologicky aktivní látky, biologické účinky, antioxidant, extrakce

TITLE

Biological Properties of Clove

ANNOTATION

The bachelor's thesis was focused on the biological effects of clove and eugenol, which are significant as potential food preservatives and sources of antioxidants. The introduction discusses the general attributes and composition of clove. The thesis then addresses the technical processing methods, particularly the extraction and encapsulation of essential oil. The conclusion is dedicated to the application of clove in various industrial sectors.

KEYWORDS

Clove, essential oil, biologically-active substances, biological effects, antioxidant, extraction

OBSAH

ÚVOD.....	13
1. CHARAKTERISTIKA.....	14
1.1 TAXONOMIE A ZAŘAZENÍ.....	14
1.2 BOTANICKÝ POPIS.....	14
1.3 HISTORIE PĚSTOVÁNÍ.....	16
1.4 VÝSKYT.....	16
2. SLOŽENÍ.....	17
2.1 NUTRIČNÍ FAKTA.....	17
2.2 BIOAKTIVNÍ LÁTKY.....	17
2.2.1 EUGENOL.....	18
2.2.2 EUGENYLACETÁT.....	19
2.2.3 β -KARYOFYLEN.....	20
2.2.4 α -HUMULEN.....	21
3. BIOLOGICKÁ AKTIVITA.....	23
3.1 ANTIMIKROBIÁLNÍ AKTIVITA.....	24
3.2 ANTIVIROVÁ AKTIVITA.....	25
3.2.1 ÚČINKY PROTI VIRU DENGUE (DENV).....	25
3.2.2 ÚČINKY PROTI VIRU COVID-19.....	25
3.3 ANTIDIABETICKÉ ÚČINKY.....	26
3.4 PROTINÁDOROVÉ ÚČINKY.....	26
3.5 ANALGETICKÉ A ANESTETICKÉ ÚČINKY.....	27
3.6 ANTIOXIDAČNÍ AKTIVITA.....	28
3.7 PROTIZÁNĚTLIVÉ ÚČINKY.....	29
3.8 JINÉ ÚČINKY.....	30
3.9 TOXICITA A FARMAKOKINETIKA <i>SYZYGIUM AROMATICUM</i>	32
3.9.1 TOXICITA.....	32

3.9.2 FARMAKOKINETIKA.....	33
4. TECHNOLOGICKÉ ZPRACOVÁNÍ.....	34
4.1 EXTRAKČNÍ METODY ZÍSKÁVÁNÍ ESENCIÁLNÍHO OLEJE	36
4.1.1 DESTILACE VODNÍ PAROU	36
4.1.2 HYDRODESTILACE.....	37
4.1.3 EXTRAKCE ROZPOUŠTĚDLEM.....	38
4.1.3.1 SOXHLETOVA EXTRAKCE	39
4.1.3.2 MACERACE	40
4.1.4 MIKROVLNNÁ EXTRAKCE.....	41
4.1.5 SUPERKRITICKÁ FLUIDNÍ EXTRAKCE	42
4.1.6 ULTRAZVUKOVÁ EXTRAKCE	43
4.1.7 EXTRAKCE S POMOCÍ OHMICKÉHO OHŘEVU	44
4.2 ZAPOUZDŘENÍ ESENCIÁLNÍHO OLEJE.....	45
4.3 ANALYTICKÉ METODY PRO STANOVENÍ SLOŽENÍ EO	46
4.3.1 PLYNOVÁ CHROMATOGRFIE S HMOTNOSTNÍ SPEKTROMETRIÍ	46
4.3.2 PLYNOVÁ CHROMATOGRFIE S PLAMENOVÝM IONIZAČNÍM DETEKTOREM.....	47
5. POUŽITÍ SYZYGIIUM AROMATICUM	48
5.1 FORMY ZPRACOVÁNÍ.....	48
5.2 VYUŽITÍ HŘEBÍČKU V PRŮMYSLU	48
5.2.1 FARMACEUTICKÝ PRŮMYSL	49
5.2.2 KOSMETICKÉ VÝROBKY	49
5.2.3 POTRAVINÁŘSTVÍ.....	50
5.2.4 ZEMĚDĚLSTVÍ.....	50
5.2.5 TABÁKOVÉ VÝROBKY	51
ZÁVĚR.....	52
POUŽITÁ LITERATURA	53

SEZNAM OBRÁZKŮ

Obrázek 1: Strom <i>Syzygium aromaticum</i> [7]	15
Obrázek 2: Listy hřebíčku [7]	15
Obrázek 3: Květy a pupeny hřebíčku [7]	15
Obrázek 4: Sušená poupata hřebíčku [7]	15
Obrázek 5: Umístění hlavních produkčních oblastí hřebíčku na světě (červeně) a odhad jejich produkce v celém světě v období 2012/2018 [12]	16
Obrázek 6: Strukturní vzorec eugenolu [20]	18
Obrázek 7: Chemická struktura eugenylacetátu [27]	20
Obrázek 8: Trans-karyofylen, jeho izomery a oxidační produkt [30]	20
Obrázek 9: Strukturní vzorec α -humulenu [28]	22
Obrázek 10: Biologická aktivita <i>Syzygium aromaticum</i> [37]	23
Obrázek 11: Fluorescenční mikrofotografie živých (kontrola) a mrtvých buněk <i>Staphylococcus aureus</i> [27]	24
Obrázek 12: Buňky rakoviny štítné žlázy (HTH-7) bez ošetření (vlevo) a po ošetření mikroemulzí z hřebíčkových pupenů (vpravo) [42]	27
Obrázek 13: Hřebíčkový olej v zubním analgetiku [43]	27
Obrázek 14: Ruční čištění a třídění hřebíčků [12]	34
Obrázek 15: Sušení hřebíčků v Indonésii [10]	35
Obrázek 16: Přehled kroků zahrnutých v procesu destilace vodní párou [63]	37
Obrázek 17: Clevengerova aparatura pro hydrodestilaci [64]	38
Obrázek 18: Schéma konvenčního Soxhletova extraktoru [68]	39
Obrázek 19: Automatický Soxhletův extraktor [69]	40
Obrázek 20: Schéma mikrovlnné extrakce [71]	42
Obrázek 21: Schéma extrakce pomocí superkritického CO ₂ [73]	43
Obrázek 22: Ohmický hydrodestilační systém [28]	45
Obrázek 23: Zapouzdření-lipozomy naplněné eugenolem a potažené chitosanem [82]	46
Obrázek 24: Bandrek, tradiční nápoj původem z Indonésie [10]	48
Obrázek 25: Chanel s vůní hřebíčku [43]	49
Obrázek 26: Zubní pasta Kan Plu s obsahem hřebíčkového oleje [43]	49
Obrázek 27: Fríský hřebíčkový sýr [10]	50
Obrázek 28: Výroba kretek na tradičním válcovacím stroji [10]	51

SEZNAM TABULEK

Tabulka 1: Taxonomické zařazení <i>Syzygium aromaticum</i> [4].....	14
Tabulka 2: Nutriční hodnoty pupenu <i>Syzygium aromaticum</i> [16]	17
Tabulka 3: Porovnání složení silic z pupenů, stonků a listů [19]	18
Tabulka 4: Účinnost testovaných domácích přírodních repelentů proti komárům <i>Aedes aegypti</i> vyjádřená celkovým počtem kousnutí a procentuální účinnosti [47]	31
Tabulka 5: Hodnoty LD ₅₀ eugenolu u laboratorních zvířat [46].....	33

SEZNAM GRAFŮ

Graf 1: Závislost procenta inhibice ABTS radikálu (diamoniová sůl 2,2' azino-bis (3-ethylbenzothiazolin-6-sulfonové kyseliny) na koncentraci esenciálního oleje a eugenolu [45]	29
---	----

SEZNAM ZKRATEK

ABTS	diamoniová sůl 2,2' azino-bis (3-ethylbenzothiazolin-6-sulfonové kyseliny)
BCP	β -karyofylen
BCPO	β -karyofylenoxid
CB	kanabinoidy
CB ₁ a CB ₂	kanabinoidní receptory
CC	kolonová chromatografie
CNS	centrální nervový systém
COVID-19	onemocnění vyvolané koronavirem
COX-2	enzym cyklooxygenáza-2 zodpovědný za tvorbu zánětlivých látek
CYP3A	nejrozšířenější forma všech cytochromů P450
DENV	vir dengue
DNA	deoxyribonukleová kyselina
DPPH	2,2-difenyl-1-pikrylhydrazyl
((E)-BCP)	<i>trans</i> -karyofylen
EC ₅₀	koncentrace látky, při které je dosaženo 50 % její maximální účinnosti
EFSA	Evropský úřad pro bezpečnost potravin
EO	esenciální olej
FAO/WHO	Společný výbor odborníků
FDA	Úřad pro kontrolu potravin a léčiv
GC–FID	plynová chromatografie s plamenovým ionizačním detektorem
GC–MS	plynová chromatografie s hmotnostní spektrometrií
GRAS	obecně uznávaný jako bezpečný
HD	hydrodestilace
HIV-1	typ viru, který způsobuje nemoc AIDS
HPLC	vysokoúčinná kapalinová chromatografie
HSV	herpes vir
HTh-7	lidské buňky rakoviny štítné žlázy
<i>in vitro</i>	experimenty prováděné mimo živý organismus
<i>in vivo</i>	experimenty prováděné uvnitř živého organismu

JECFA	pro potravinářská aditiva
LC ₅₀	koncentrace látky ve vzduchu a vodě, která způsobí smrt 50 % organismů
LD ₅₀	střední letální dávka, která způsobí smrt 50% testované populace
MAE	extrakce mikrovlnami
OAHD	extrakce ohmickým ohřevem
pCB	fytoKANABINOIDY
SARS-CoV-2	virus, nový kmen koronaviru
SD	destilace vodní párou
SFE	extrakce superkritickou fluidní tekutinou
TLC	chromatografie na tenké vrstvě
TNF α	faktor nádorové nekrózy α
UAE	extrakce ultrazvukem
WHO	Světová zdravotnická organizace
(Z)- β -karyofylen	iso-karyofylen

ÚVOD

Značná část světové populace využívá rostlinné extrakty a bioaktivní látky jako součást konvenční léčby. To vede k rostoucímu zájmu o léčivé rostliny jako potenciální zdroje fytochemikálií pro vývoj nových funkčních potravin a léků.

Syzygium aromaticum, známý jako hřebíček, je aromatická rostlina z čeledi *Myrtaceae*. Tento stálezelený tropický strom pochází z východní Indonésie, dále se rozšířil do tropických a subtropických zemí Asie, Afriky a také do Brazílie.

Hřebíček se tradičně používá jako koření, pro konzervaci potravin a léčebné účely. Kromě koření se z hřebíčku získávají pryskyřice a především silice. Tyto oleje se extrahují ze stonků, listů a hlavně z hřebíčkových pupenů, které jsou nejvíce využívány.

Hřebíčkový esenciální olej upoutal pozornost díky svému obsahu různých bioaktivních sloučenin jako jsou fenolické látky (eugenol a eugenylacetát), terpeny (β -karyofylen a α -humulen) a uhlovodíky. Nejvíce zastoupenou sloučeninou v hřebíčku je eugenol. Každý esenciální olej může vykazovat rozdíly v chemickém složení a biologické aktivitě v důsledku různých faktorů, jako jsou agroekologické podmínky, genetické faktory, klima a techniky pěstování.

K získání esenciálního oleje bylo použito několik extrakčních metod, ačkoli použití každé techniky může mít za následek odlišné chemické složení v konečném produktu. Degradace hřebíčkového esenciálního oleje, způsobená různými faktory, může ovlivnit jeho kvalitu a účinnost. Pro řešení tohoto problému je zapouzdření považováno za slibnou variantu. Tato technika by mohla prodloužit trvanlivost esenciálního oleje, zlepšit jeho fyzikálně-chemickou stabilitu a umožnit jeho použití v různých oblastech.

Cílem mé předložené bakalářské práce bylo zaměřit se na biologické účinky *Syzygium aromaticum* a eugenolu. Dále jsem se věnovala technologickým procesům zpracování hřebíčku a širokému využití hřebíčkového oleje v kosmetickém, zdravotnickém, potravinářském a farmaceutickém průmyslu.

1. CHARAKTERISTIKA

1.1 TAXONOMIE A ZAŘAZENÍ

Syzygium aromaticum, neboli hřebíček, je rostlina z čeledi *Myrtaceae* používána po staletí jako koření, při konzervaci potravin a má farmakologické vlastnosti [1].

Syzygium bylo považováno za část *Eugenia* a bylo i často zaměňováno. Výzkum Rudolfa Schmida (1972) [2] přesvědčil většinu botaniků, že tyto dva rody jsou nezávislé linie, což dokázal analýzou anatomických dat. Molekulární studie potvrdily jeho výzkum [3].

Hřebíček je známý pod více názvy jako *Myrtus Caryophyllus*, *Jambosa Caryophyllus*, *Caryophyllus aromaticus*, *Eugenia caryophyllus* a *Caryophyllus silvestris*. Název hřebíčku je odvozen z francouzského slova „clou“ a „clove“, což v překladu znamená „hřebík“ [4]. Taxonomické zařazení je uvedeno v tabulce 1.

Tabulka 1: Taxonomické zařazení *Syzygium aromaticum* [4]

Říše	<i>Plantae</i>
Podříše	<i>Tracheobionta</i>
Nadoddělení	<i>Spermatophyta</i>
Oddělení	<i>Magnoliophyta</i>
Třída	<i>Magnoliopsida</i>
Podtřída	<i>Rosidae</i>
Řád	<i>Myrtales</i>
Čeleď	<i>Myrtaceae</i>
Rod	<i>Syzygium</i>
Druh	<i>aromaticum</i>

1.2 BOTANICKÝ POPIS

Syzygium aromaticum je stálezelený tropický strom, který dorůstá výšky až 20 m. Koruna tohoto stromů bývá pyramidálního nebo válcového tvaru v závislosti na odrůdě (Obr.1). Strom může žít až 100 let, ale existují záznamy o stromech starších 350 let. U dospělých rostlin může průměr kmene dosáhnout 50 cm. Listy stromu jsou velmi aromatické, jednoduché, protilehlé, špičaté, oválné a kopinaté (Obr. 2). Nové listy jsou růžové, v dospělosti pak mění barvu na tmavě leskle zelenou. Květy rostou na koncových větvích, jsou uspořádány v květenstvích a jejich počet se pohybuje od 15 do 50 v závislosti na odrůdě a kulturních zvyklostech

(Obr. 3). Květina je hermafrodit s masitým květním lůžkem, které převyšují kališní lístky. Květní poupě je zpočátku zelené a zraje do syté růžové barvy. Když pupeny dosáhnou plné velikosti, sklízí se ještě neotevřená. Ve fázi sklizně jsou tyčinky stále uvnitř a pokryté okvětními lístky, které tvoří hlavu sušeného hřebíčku. Květy mají čtyři okvětní lístky, žluté růže a několik pestíků. Z květů raší plody, malé a podlouhlé tmavě červené bobule. Produkce pupenů začíná čtyři roky po výsadbě. Sklizené pupeny se oddělují od stonků ručně, nebo mlátičkou. Po oddělení se poupata suší na kořeni, jak ho známe z obchodu (Obr. 4) [5, 6].



Obrázek 1: Strom *Syzygium aromaticum* [7] Obrázek 2: Listy hřebíčku [7]



Obrázek 3: Květy a pupeny hřebíčku [7]



Obrázek 4: Sušená poupata hřebíčku [7]

1.3 HISTORIE PĚSTOVÁNÍ

Syzygium aromaticum pochází z oblasti sopečných ostrovů Severní Moluky (dříve známé jako ostrovy koření), nacházející se ve východní části Indonésie. Toto koření se rozšířilo do tropických a subtropických oblastí Afriky i do Asie. V Číně a Indii je hřebíček znám již více než 2000 let. Číňané žvýkali hřebíček jako ochranu proti bolení zubů i pro získání vonného dechu [5, 8, 9].

Arabští obchodníci rozšířili hřebíček do Evropy ve 4. století našeho letopočtu. V 8. století získal hřebíček v Evropě značnou popularitu pro své léčivé vlastnosti a rovněž v kuchyni, díky schopnosti uchovávat potraviny a maskovat zápach špatně skladovatelných potravin [8].

V 18. století přivezl hřebíček z Indonésie na Mauricius Francouz Poivre a na Zanzibar arabský obchodník. Dále byl rozšířen na Madagaskar, Srí Lanku, Indii, Malajsii a do částí středomořské oblasti, jako je Turecko [5].

1.4 VÝSKYT

Hřebíček se pěstuje ve vysokých nadmořských výškách asi 200 m, na půdě bohaté na organickou hmotu s optimálním pH 5,5 až 6,5. Vhodné podmínky prostředí jsou optimální srážky kolem 500 až 3500 mm za rok, teplota 22 až 32 °C a vlhkost 60 až 80 % [10, 11].

Podle WHO (Světová zdravotnická organizace) patří Indonésie k největším producentům na světě. Celková produkce v Indonésii v roce 2008 byla 70 535 t sušeného hřebíčku. V Indonésii se používá hlavně pro výrobu cigaret kretek. Mezi další světové producenty patří Madagaskar, Zanzibar, Srí Lanka, Malajsie, Čína a Brazílie (Obr. 5) [5].



Obrázek 5: Umístění hlavních produkčních oblastí hřebíčku na světě (červeně) a odhad jejich produkce v celém světě v období 2012/2018 [12]

2. SLOŽENÍ

Hřebíček není jen koření, dalšími produkty jsou pryskyřice a nejvíce se využívají jeho silice. Silice neboli esenciální olej se získává z pupenů hřebíčku, které se využívají nejvíce, dále ze stonků a listů. Každý hřebíčkový olej se může lišit chemickým složením, chutí a barvou. Hřebíčkové silice jsou ovlivněné povahou půdy, klimatem, technikami pěstování a genetikou [5, 13, 14].

2.1 NUTRIČNÍ FAKTA

Hřebíček je pestrý na množství minerálních látek, jako je hořčík, mangan, draslík, železo a selen. Navíc je dobrým zdrojem β -karotenu vitamínu B1, vitamínu B6, vitamínu C, vitamínu K, riboflavinu a vitamínu A. Obsahuje i další živiny, jako jsou bílkoviny, sacharidy, tuky, vláknina, voda a popel. Nutriční hodnoty pupenu *Syzygium aromaticum* jsou znázorněny v tabulce 2. [15, 16].

Tabulka 2: Nutriční hodnoty pupenu Syzygium aromaticum [16]

Látka	Obsah [%]
Hrubá vláknina	27,91
Hrubý tuk	27,00
Vlhkost	25,93
Hrubá bílkovina	7,53
Sacharidy	6,41
Popel	5,22

2.2 BIOAKTIVNÍ LÁTKY

Syzygium aromaticum má široké spektrum biologické aktivity. Fytochemické složky hřebíčku obsahují různé třídy a skupiny chemických sloučenin, jako například monoterpeny, seskviterpeny, fenolové a uhlovodíkové sloučeniny. Hřebíčkový olej má tři hlavní účinné fytochemikálie, kterými jsou především eugenol (70 až 85 %), eugenylacetát (15 %) a β -karyofylen (5 až 12 %) [17].

Další důležitou sloučeninou v hřebíčkové silici je α -humulen s koncentrací až 2,1 %. Mezi fenolové kyseliny obsažené v hřebíčku patří kyselina gallová, kyselina kávová, ferulová, elagová a salicylová. Kyselina gallová je sloučenina nacházející se ve vyšší koncentraci

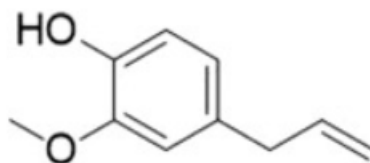
(783,50 mg/100 g). Deriváty kyseliny gallové, hydrolyzovatelné třísloviny, se vyskytují ve vyšších koncentracích (2375,8 mg/100 g). V nižších koncentracích jsou přítomny flavonoidy, jako jsou kempferol a kvercetin s jeho deriváty. Dalšími těkavými sloučeninami v nižších koncentracích jsou β -pinen, limonen, farnesol, benzaldehyd, 2-heptanon a ethylhexanoát [18]. V tabulce 3 je uvedeno porovnání složení silic z pupenů, stonků a listů.

Tabulka 3: Porovnání složení silic z pupenů, stonků a listů [19]

	Eugenol	β -karyofylen	Eugenylacetát	α -humulen
Pupeny	72,08–82,36 %	2,76–8,64 %	8,6–21,3 %	0,34–1,04 %
Listy	75,04–83,58 %	11,65–19,53 %	0–1,45 %	1,38–2,17 %
Stonky	87,52–96,65 %	1,66–9,7 %	0,07–2,53 %	0,22–1,31 %

2.2.1 EUGENOL

Eugenol, chemicky 4-allyl-2-methoxyfenol, je hlavní sloučeninou hřebíčkového oleje a jeho sumární vzorec je $C_{10}H_{12}O_2$. Strukturální vzorec eugenolu je znázorněn na Obr. 6. Je to těkavý bioaktivní přirozeně se vyskytující fenolický monoterpenoid, který patří do třídy přírodních produktů fenylypropanoidů. Může být bezbarvý až světle žlutý, má silně aromatickou štiplavou vůni a kořenitou chuť. Bodu varu dosahuje ve 254 až 255 °C při 760 torrech a 93 až 95 °C při 10 torrech. Teplota tání této sloučeniny je 9,2 až 9,1 °C a index lomu odpovídá hodnotě 1,540 až 1,542 při 20 °C [20].



Obrázek 6: Strukturální vzorec eugenolu [20]

Eugenol je částečně rozpustný ve vodě a snadno rozpustný v organickém rozpouštědle. Eugenol má nízkou chemickou stabilitu, je citlivý na oxidaci a různé chemické interakce. Po perorálním podání je rychle absorbován a metabolizován v játrech. Zapouzdření eugenolu může zabránit předčasné absorpci, zlepšit jeho rozpustnost ve vodě a zvýšit jeho aktivitu. Inkluzní komplexy eugenolu mohou zlepšit tepelnou stabilitu a umožnit pomalé uvolňování eugenolu. Lze ho izolovat z oleje z pupenů, stonků a listů hřebíčků. Častou metodou izolace eugenolu je

přidání NaOH v koncentraci 4 až 7 %, vyšší výtěžek (74,5 %) s vysokou čistotou (98 %) se však získá při 4 % NaOH s použitím promývacího roztoku hexanu [5, 21].

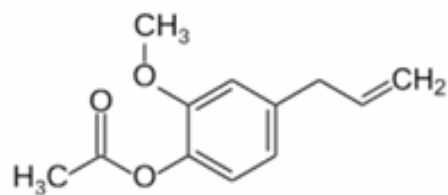
Tento proces vede ke vzniku alkalické soli eugenolu. Nefenolické látky silice nebo extraktu se dále odstraňují parní destilací nebo extrakcí rozpouštědlem. Zbylý zásaditý roztok se okyselí při nízké teplotě a uvolní se volný eugenol. Ze zbytkové směsi se volný eugenol izoluje různými technikami, jako jsou frakční destilace, CC (kolonová chromatografie), TLC (chromatografie na tenké vrstvě) a HPLC (vysokoučinná kapalinová chromatografie). Zajímavostí je, že hřebíček byl první rostlinou, ze které byl původně eugenol extrahován [20].

Od 19. století je eugenol využíván jako ochucovadlo v potravinách a farmaceutických výrobcích. Má bohaté farmakologické vlastnosti, například antifungální, protirakovinné, antibakteriální a antioxidantní. Nachází se v zubních pastách a je tupý prostředek na přecitlivělý dentin, kazy nebo obnaženou dřev. Bývá široce využíván při výrobě parfémů, kosmetiky a aromat a běžně se používá jako antiseptikum a analgetikum. Eugenol také zvyšuje účinnost antibiotik, jako jsou vankomycin, penicilin a erythromycin, což snižuje jejich potřebnou dávku a pomáhá omezit odolnost patogenů vůči antibiotikům [21, 22, 23].

Navzdory mnoha pozitivním vlastnostem může mít eugenol také různé vedlejší účinky. Především jestliže je užíván v nadměrném množství, než je doporučené dávkování, způsobuje nevolnost, závrať, křeče, rychlý srdeční tep, podráždění a alergie, například alergickou kontaktní dermatitidu nebo alergickou kontaktní gingivitidu a syndrom pálení v ústech. Obecně byl ale eugenol dle WHO uznán jako GRAS (obecně uznávaný jako bezpečný). Identifikační číslo GRAS eugenolu je 2467 [20, 21, 24].

2.2.2 EUGENYLACETÁT

Eugenylacetát (Obr. 7), vyskytující se v esenciálním oleji z hřebíčku, je aromatický ester z chemické skupiny benzendiolů. Evropský úřad pro bezpečnost potravin (EFSA) vyhodnotil použití eugenylacetátu v potravinách za bezpečné [25], stejně jako Společný výbor odborníků FAO/WHO pro potravinářská aditiva (JECFA). Maximální koncentrace v potravinách jsou 2,83 ppm pro nealkoholické nápoje a 25 ppm pro masné výrobky [26].

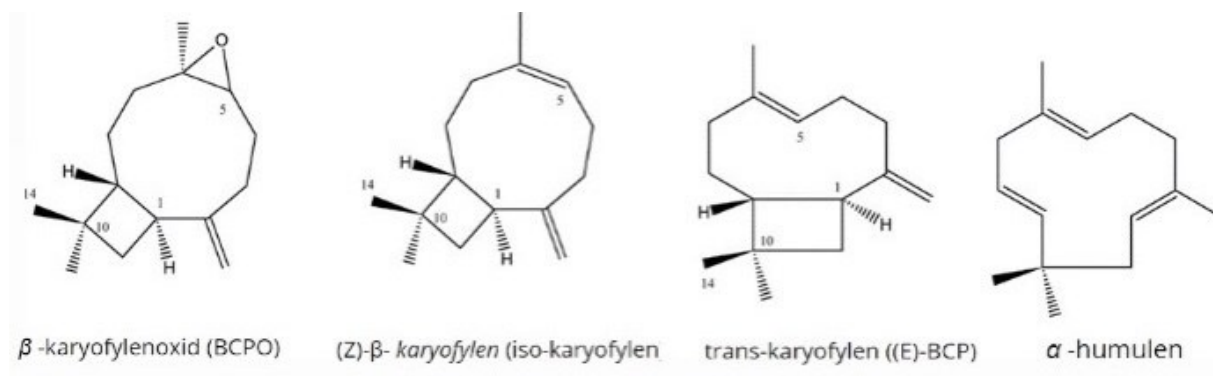


Obrázek 7: Chemická struktura eugenylacetátu [27]

Eugenylacetát má široké spektrum biologických aktivit, včetně antibakteriálních, protirakovinných, antimutagenních, antioxidačních a antivirulenčních účinků. Navíc inhibuje dekalifikaci zubů, poskytuje ochranu srdce, jater a čočky diabetických potkanů. Při aplikaci látky v koncentraci $200 \mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$ inhiboval růst *Fusarium moniliforme*, *Harpophora oryzae* a *Rhizoctonia solani* o 94,5 %, 92,1 % a 100 %. Jako silný antioxidant vykázal 90,30 % vychytávání DPPH (2,2-difenyl-1-pikrylhydrazyl) radikálů při $35 \mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$. Prokázala se i jeho toxicita pro roztoče svrabové, což naznačuje jeho potenciál jako larvicid a možnou toxicitu i pro jiné organismy. Derivát eugenolu eugenylacetát způsoboval poškození na buňkách druhů *Candida* a tím prokázal svou antifungální aktivitu. Díky těmto vlastnostem je žádaný v potravinářském a kosmetickém průmyslu [26, 28, 29].

2.2.3 β -KARYOFYLEN

β -karyofylen (BCP) je rostlinná, bicyklická a seskviterpenová sloučenina. V přírodě se nachází hlavně jako *trans*-karyofylen ((E)-BCP) spolu ve směsi s malými množstvími jeho izomerů, (Z)- β -karyofylen (iso-karyofylen) a α -humulen (α -karyofylen), stejně jako jeho oxidační derivát β -karyofylenoxid (BCPO) (Obr. 8) [30].



Obrázek 8: *Trans*-karyofylen, jeho izomery a oxidační produkt [30]

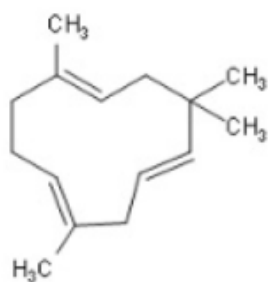
BCP má silný dřevěný zápach a používá se jako kosmetická a potravinářská přísada. BCP je schválen jako dochucovadlo Úřadem pro kontrolu potravin a léčiv (FDA) a EFSA s identifikačním číslem FL: 01.007 [31]. Zkoumala se toxicita BCP u krys a zjistilo se, že orální letální dávka (LD_{50}) pro tuto sloučeninu byla vyšší než $5000 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$. Má nízkou rozpustnost ve vodě, což může být překonáno pomocí lipozomálních léčivých systémů pro zvýšení jejich účinnosti. BCP se běžně vyskytuje v esenciálních olejích mnoha rostlin, jako jsou bazalka, skořice, černý pepř, hřebíček, konopí, levandule, oregano a rozmarýn. Jeho biologické účinky zahrnují protizánětlivé, antikarcinogenní, antimikrobiální, antioxidační a analgetické vlastnosti. BCP má antiproliferativní účinky na různé rakovinné buňky. Navíc zvyšuje účinnost klasických protirakovinných léků, jako je paclitaxel nebo doxorubicin [30].

BCP patří do třídy kanabinoidů (CB), konkrétně fytokanabinoidů (pCB). Přírodní a syntetické kanabinoidy mají schopnost aktivovat kanabinoidní receptory (CB_1 a CB_2). Neuroprotektivní účinky BCP jsou spojeny s antioxidačními a protizánětlivými mechanismy, které jsou zprostředkovány selektivní aktivací receptorů CB_2 . BCP není ligandem receptorů CB_1 , což znamená, že nemá žádné psychoaktivní účinky spojené s aktivací CB_1 a naznačuje jeho potenciální použití v medicíně [30, 32].

CB_1 a CB_2 jsou receptorové typy, které mají odlišné struktury, ligandy, buněčné distribuce a topologie. CB_1 jsou převážně lokalizovány v centrálním nervovém systému (CNS), zatímco CB_2 se nacházejí hlavně v periferních tkáních a imunitních buňkách. I když jsou CB_2 primárně spojovány s periferními tkáněmi, studie ukázaly, že jsou přítomny a funkční i v mozku a neuronech [30].

2.2.4 α -HUMULEN

α -humulen, neboli humulon, 3,7,10-humulatrien a α -karyofylen, je seskviterpen, jehož strukturní vzorec je uveden na Obr. 9. Nachází se v různých rostlinách, včetně *Syzygium aromaticum* L. (hřebíček), *Senecio brasiliensis*, *Humulus lupulus* L. (chmel) a *Salvia officinalis* L. (šalvěj) [28, 33].



Obrázek 9: Strukturní vzorec α -humulenu [28]

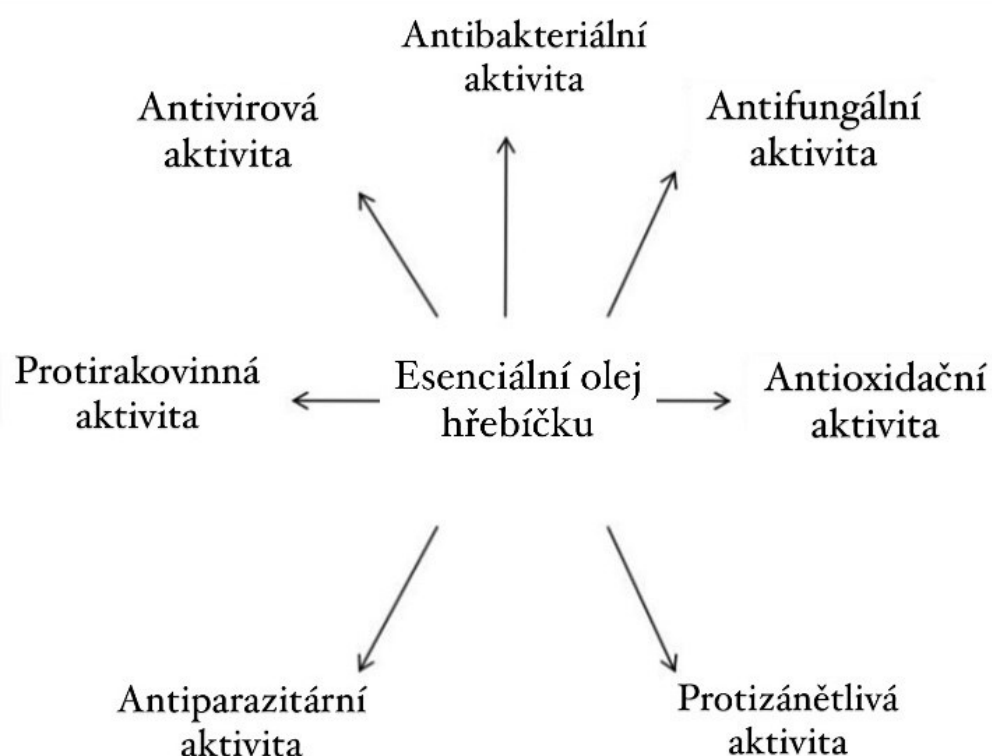
Tato sloučenina prokázala protizánětlivou a protinádorovou aktivitu u několika typů rakoviny, včetně plic, tlustého střeva, prostaty a prsu. Studie naznačují, že má α -humulen také antiproliferativní účinky a může modulovat mitochondriální funkci v buňkách rakoviny tlustého střeva. Navíc se zdá, že zlepšuje účinnost cytostatických léků a dalších protirakovinných strategií. α -Humulen inhibuje aktivitu enzymu CYP3A, což má vliv na metabolismus léků. Experimenty na zvířatech naznačují, že α -humulen má srovnatelné protizánětlivé účinky jako dexamethason. Tato sloučenina omezuje tvorbu TNF α a produkci prostaglandinu E2, což jsou známé zánětlivé mediátory [28].

α -Humulen je jednou z hlavních chemických složek éterického oleje z listů rostliny *Syzygium*. Tento olej byl zkoumán pro svůj potenciál v boji proti larvám tří vektorů komárů, konkrétně *Anopheles subpictus* (vektor malárie), *Aedes albopictus* (vektor dengue) a *Culex tritaeniorhynchus* (vektor japonské encefalitidy). Studie prokázala, že α -humulen má vysokou toxicitu vůči larvám všech tří komárů s LC₅₀ hodnotami (letální koncentrace) 6,19 $\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$ u *Anopheles subpictus*, 6,86 $\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$ u *Aedes albopictus* a 7,39 $\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$ u *Culex tritaeniorhynchus*. α -Humulen vykazuje larvicidní aktivitu proti několika druhům komárů a brouků, což ukazuje jeho potenciál jako přírodní insekticid [34].

3. BIOLOGICKÁ AKTIVITA

Extrakty z hřebíčku jsou často využívány pro své synergické účinky, kdy různé látky v extraktu mohou společně poskytovat širší terapeutické spektrum, než by mohl poskytnout pouze izolovaný eugenol. Zjištění ze studií o biologických účincích extraktu z hřebíčku naznačují jeho význam jako potenciálního konzervantu potravin a zdroje antioxidantů. Jeho silná antioxidační a antimikrobiální aktivita překračuje mnoho jiných druhů ovoce, zeleniny a koření, což vyžaduje zvýšenou pozornost. Tyto biologické účinky naznačují možnost vývoje léčiv pro lidi a zvířata, což potvrzuje jeho dlouhodobé využití [18, 35].

Hřebíček je známý pro svou biologickou účinnost a odolnost proti růstu *Helicobacter pylori*, který je původcem žaludečních onemocnění a vředů. Dále podporuje trávicí systém, odpuzuje hmyz a má protizánětlivé, antitrombotické, antidiabetické a anestetické vlastnosti. Hřebíček také působí podobně jako inzulin a pomáhá regulovat energetický metabolismus [36]. Na Obr. 10 jsou znázorněny nejdůležitější biologické aktivity *Syzygium aromaticum*.



Obrázek 10: Biologická aktivita *Syzygium aromaticum* [37]

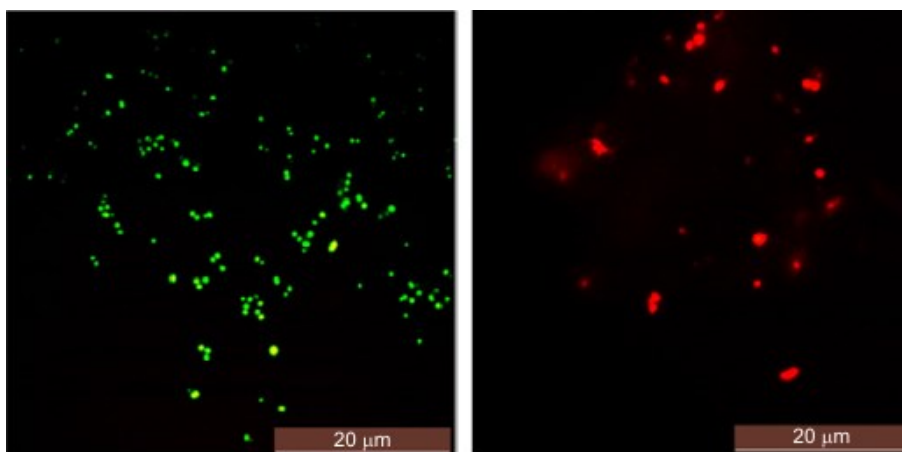
3.1 ANTIMIKROBIÁLNÍ AKTIVITA

Extrakty z hřebíčku obsahují různé druhy sekundárních metabolitů, jako jsou flavonoidy, hydroxybenzoové kyseliny, eugenol, eugenol acetát, kyselina gallová a jiné. Tyto látky obsahují antimikrobiální aktivitu a jsou bezpečné pro použití v potravinářství a lékařství [36].

Studie testovala antimikrobiální účinky různých rostlinných koření. Byla prokázána antimikrobiální aktivita hřebíčku proti několika kmenům bakterií, plísní a kvasinek. Zjistili, že pouze 3% vodní extrakt z hřebíčku projevil kompletní baktericidní účinky proti testovaným patogenům *Escherichia coli* (*E. coli*), *Staphylococcus aureus* a *Bacillus cereus*. Inhibiční účinek se dokonce projevil i u 1% hřebíčkového extraktu [18].

Hřebíček dále zabraňuje růstu různých patogenních mikroorganismů, jako jsou *Listeria monocytogenes*, *Streptococcus agalactiae* a *Penicillium digitatum*, které mohou způsobit potravinová onemocnění a otravy [36].

Hřebíčkový esenciální olej má schopnost zabraňovat růstu gramnegativních bakterií (*Salmonella*, *Klebsiella pneumoniae*, *Erwinia carotovora*, *Agrobacterium*, *Pseudomonas aeruginosa* a již zmíněná *Escherichia coli*), také zmíněných grampozitivních bakterií (*Staphylococcus aureus*, *Streptococcus* a *Listeria monocytogenes*), dále *Asperflavugillus* (*A. A. parasiticus* a *A. ochraceus*), *C. albicans* a kvasinek. Ukázalo se, že má větší účinnost proti grampozitivním bakteriím, což je pravděpodobně způsobeno jejich specifickou buněčnou strukturou, která je citlivější na antimikrobiální látky [28]. Důkaz o antimikrobiální aktivitě je uveden na Obr. 11. Mikrosnímek živých neošetřených buněk je zelený, mikrosnímek mrtvých buněk po ošetření 10% nanoemulzí eugenolu po dobu 150 minut je červený [27].



Obrázek 11: Fluorescenční mikrofotografie živých (kontrola) a mrtvých buněk *Staphylococcus aureus* [27]

Hřebíčkový olej je znám svou schopností vykazovat vysokou míru antifungální aktivity vůči různým druhům hub: *Mucor sp.*, *Microsporium gypseum*, *Fusarium moniliforme*, *Trichophyllum rubrum*, *Aspergillus sp.*, a *Fusarium oxysporum*. Analytické testy ukázaly, že hlavní látkou zodpovědnou za tuto aktivitu byl eugenol, který způsobuje rozklad spor a micel [18, 38].

3.2 ANTIVIROVÁ AKTIVITA

Hřebíčkový olej prokázal svou antivirovou účinnost proti virům jako Ebola, chřipka A, herpes simplex typu 1 a 2. Nedávné studie naznačují, že deriváty eugenolu mohou být účinné i proti západonilskému viru a flavivirům, jako je Zika a dalším flavivirům, které způsobují například horečku dengue a žlutou zimnici. Eugenol byl také zkoumán jako potenciální inhibitor počáteční fáze infekce HIV-1 (virus způsobující AIDS), což naznačuje jeho potenciální účinnost v boji proti tomuto viru. Olej z hřebíčku je rovněž účinný proti kočičímu kaliciviru, což umožňuje jeho použití při mytí ovoce a zeleniny a dekontaminaci povrchů. Také zvyšuje odolnost rostlin rajčat vůči viru žluté kadeřavosti rajčat [28].

3.2.1 ÚČINKY PROTI VIRU DENGUE (DENV)

Eugeniin, který se nachází v hřebíčku a rostlině *Geum japonicum*, má antivirové účinky proti herpes virům (HSV) a DENV. Blokuje tvorbu virové DNA (deoxyribonukleová kyselina) u herpes virů a také účinně potlačuje proteázu viru dengue, což je zásadní pro jeho reprodukci. Studie naznačují, že eugeniin by mohl být slibnou možností pro léčbu infekcí způsobených virem dengue [15].

3.2.2 ÚČINKY PROTI VIRU COVID-19

Hřebíček je známý pro své léčebné účinky při respiračních obtížích a má schopnost bojovat proti různým typům virů. Má také protizánětlivé, imunostimulační a antitrombotické vlastnosti, což ho činí užitečným při boji proti onemocnění COVID-19. Spolu s *Eucalyptus globulus*, *Cymbopogon citratus*, *Zingiber officinale* a dalšími rostlinami, jako jsou skořice, zázvor, česnek, černý pepř, neem a bazalka, se používá k prevenci a léčbě onemocnění spojeného s virem SARS-CoV-2. Studie prokázaly účinek a prevenci léčby COVID-19 v časných stádiích onemocnění, který se prováděl v zemích s nízkými dopady pandemie, což je Indie a Maroko, kde bylo využito mnoho koření a bylin z domácí produkce. Zajímavé je, že 93 % této populace věřila, že tato koření a byliny mohou pomoci s virovou infekcí a posílením imunity.

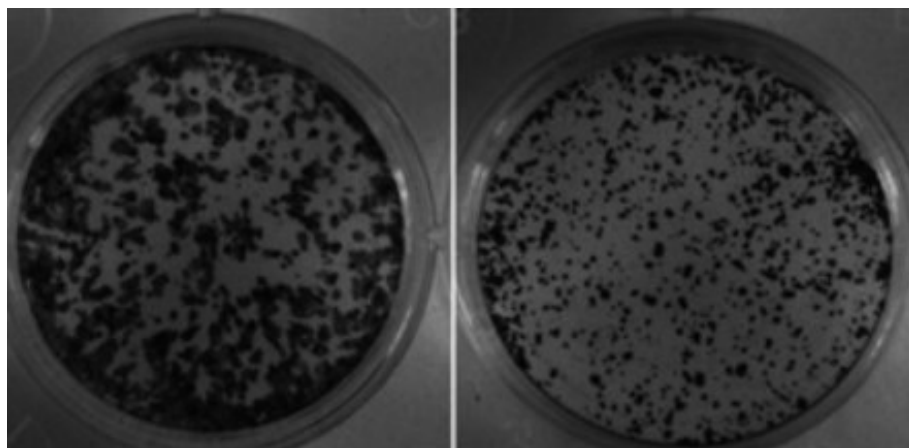
Molekulární studie naznačují, že látky z hřebíčku mohou fungovat jako inhibitory viru SARS-CoV-2 [15].

3.3 ANTIDIABETICKÉ ÚČINKY

Diabetes je celosvětový problém. Studie naznačují, že eugenol má potenciál léčit metabolické poruchy, což by mohlo být užitečné při léčbě diabetu. Přítomnost inhibitorů α -glykosidázy, jako je eugenol, omezuje uvolňování monosacharidů z dietních sacharidů, což zpomaluje absorpci glukózy do krevního oběhu a brání rychlému zvýšení hladiny glukózy v krvi po jídle. Účinky na hyperglykemická zvířata nejsou úplně jasné, což vedlo k provedení metaanalýzy. Závěry naznačují, že léčba těmito látkami může snížit hladiny glukózy, zlepšit lipidový profil a snížit poškození orgánů u zvířat s hyperglykemií. Analýzy ukazují, že čistota a dávkování látek mohou ovlivnit účinnost léčby [39, 40].

3.4 PROTINÁDOROVÉ ÚČINKY

U rakovinných buněčných linií bylo prokázáno, že esenciální olej z hřebíčku vykazuje cytotoxické nebo antimutagenní účinky. Například květní pupeny hřebíčku prokázaly silné cytotoxické účinky na buňky rakoviny tlustého střeva, adenokarcinomu prsu a hepatokarcinomu. Extrakty z hřebíčku ukázaly cytotoxické účinky i na rakovinu děložního čípku a rakovinu jícnu. Některé výzkumy naznačují, že tyto látky mohou snížit vedlejší účinky chemoterapie, jako je nevolnost, zvracení, ztráta chuti k jídlu a hmotnosti. Jejich protirakovinná účinnost je spojena hlavně s antioxidační a protizánětlivou aktivitou, která ovlivňuje buněčnou proliferaci, angiogenezi a metastázy. Tyto vlastnosti ukazují, že hřebíčkový extrakt může být potenciálně použit v léčbě rakoviny. Dále bylo zjištěno, že hřebíček má antimutagenní účinky a inhibuje proces karcinogeneze u modelu rakoviny kůže u myši [28, 41]. Na Obr. 12 je znázorněn důkaz výrazného poklesu proliferace lidských buněk rakoviny štítné žlázy HTh-7. Je zde patrný výrazný pokles počtu rakovinových buněk (pravý obrázek) po aplikaci mikroemulzí z oleje hřebíčkového pupenu ve srovnání s kontrolním neošetřeným vzorkem (levý obrázek) [42].



Obrázek 12: Buňky rakoviny štítné žlázy (HTh-7) bez ošetření (vlevo) a po ošetření mikroemulzí z hřebíčkových pupenů (vpravo) [42]

3.5 ANALGETICKÉ A ANESTETICKÉ ÚČINKY

Hlášení použití hřebíčku jako analgetika se objevilo už od 13. století při svalových křečích, bolestech kloubů a hlavně zubů (Obr. 13). Hřebíčkový olej a eugenol, hlavní sloučenina odpovědná za tuto aktivitu. Jsou pokládány za bezpečná, účinná a cenově dostupná léčiva proti bolesti. Bolesti hlavy, kloubů a zubů a potíže s ústní hygienou se často léčí využitím aromaterapie a esenciálního oleje z hřebíčku. Studie naznačují, že analgetický účinek hřebíčkového oleje souvisí s opioidním a cholinergním systémem. Dále potvrdily analgetické účinky oleje z hřebíčku u ryb, což naznačuje jeho vhodnost pro minimalizaci bolestivých podnětů a zajištění pohodlí zvířat [18, 28].



Obrázek 13: Hřebíčkový olej v zubním analgetiku [43]

V nízkých dávkách (50–500 $\mu\text{L}\cdot\text{L}^{-1}$) je jako anestetikum uznáván hřebíčkový olej u různých živočichů bez vedlejších účinků. Hřebíčkový olej má rychlejší nástup anestezie, krátké zotavení a nízkou mortalitu, aniž by ovlivňoval reakci na podněty. Maximální účinek anestezie závisí na koncentraci a době expozice. Nedávné výzkumy ukazují, že aplikace eugenolu snižuje citlivost rohovky u potkanů a účinně anestetizuje ryby, což ovlivňuje jejich pohyb a reakci na podněty [28].

3.6 ANTIOXIDAČNÍ AKTIVITA

Jednou z nejdůležitějších příčin poškození potravin je oxidace, která má za následek žluknutí. V ovoci, zelenině, kuchyňských bylinách a koření se přirozeně vyskytují antioxidanty, které zachycují škodlivé volné radikály. To vypovídá o ochranném účinku proti oxidaci, dále zlepšují nutriční hodnotu a zabraňují kažení potravin. Požívání antioxidantů také zabraňuje nitrobuněčné oxidaci, což podporuje zdraví a předchází vzniku degenerativních onemocnění [44].

Bylo prokázáno, že sloučeniny hřebíčkového esenciálního oleje, jako je eugenol, eugenyl acetát, β -karyofylen a α -humulen mají silnou antioxidační aktivitu. Výzkum potvrdil, že silná antioxidační účinnost vodného extraktu *Syzygium aromaticum* může být důsledkem jeho schopnosti poskytovat vodík, zachycovat peroxid vodíku, volné radikály a chelatovat superoxydy a kovy [6, 28].

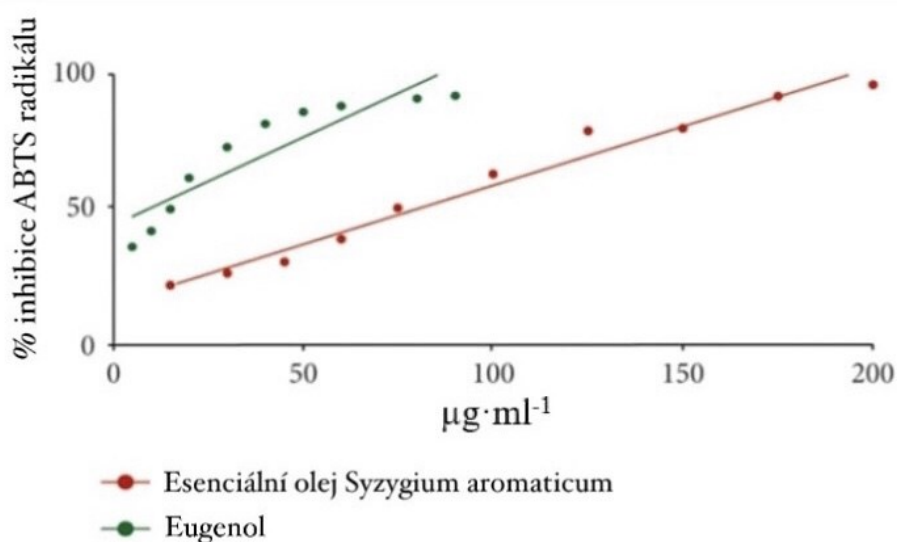
Onemocnění jako rakovina, arterioskleróza, Alzheimerova a Parkinsonova choroba souvisejí s přítomností reaktivní formy kyslíku. Antioxidační aktivitu zajišťuje hydroxylová skupina v eugenolu [28].

Bohatým zdrojem přírodních antioxidantů jsou rostlinné fenoly, vyskytující se ve všech částech rostliny, včetně plodů, listů a semen. Fenolové sloučeniny neutralizují volné radikály, čímž blokují oxidační proces. Hřebíčkový esenciální olej chrání před biochemickými změnami a poškozeními ledvin, jater a mozku způsobenými reaktivní formou kyslíku [28, 41].

Antioxidační látky, jako jsou extrakty z hřebíčku mají klíčovou roli v léčbě paměťových deficitů způsobených oxidačním stresem. Konkrétně oxidační stres se podílí na více než sto lidských onemocnění. Výzkum provedený v mozkových tkáních myši ukázal, že použití hřebíčkového oleje snížilo oxidační stres [6, 44].

Bylo zjištěno, že hřebíčkový esenciální olej a eugenol mají schopnost působit jako antioxidanty, což znamená, že dokážou neutralizovat škodlivé volné radikály. Tato schopnost se mění v závislosti na jejich koncentraci (Graf. 1). Zde je patrné, jak se mění účinnost

hřebíčkového esenciálního oleje a eugenolu při neutralizaci volných radikálů v závislosti na jeho koncentraci. Konkrétně popisuje vztah mezi koncentrací těchto látek a procentem inhibice radikálu ABTS (jak moc jsou schopny neutralizovat radikály). Hodnota poloviční účinné koncentrace EC_{50} představuje koncentraci látky, při které je dosaženo 50 % inhibice radikálu ABTS. Nižší hodnota EC_{50} znamená vyšší účinnost látky jako antioxidantu. Pro hřebíčkový esenciální olej je EC_{50} $78,98 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ a pro eugenol je EC_{50} $12,66 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$. To znamená, že eugenol je účinnější antioxidant než hřebíčkový esenciální olej, protože nižší koncentrace eugenolu je potřebná k dosažení stejné úrovně inhibice radikálů [45].



Graf 1: Závislost procenta inhibice ABTS radikálu (diamoniová sůl 2,2' azino-bis (3-ethylbenzothiazolin-6-sulfonové kyseliny) na koncentraci esenciálního oleje a eugenolu [45]

3.7 PROTIZÁNĚTLIVÉ ÚČINKY

Studie propojila antioxidační a protizánětlivé účinky eugenolu, potvrzující jeho biochemický profil. Bylo zjištěno, že podání eugenolu krysám snížilo známky zánětu, poškození lipidů a proteinů. To naznačuje, že eugenol působí jako protizánětlivé i antioxidační činidlo. Zánět je přirozenou obrannou reakcí těla proti různým škodlivým faktorům, jako jsou mikroorganismy nebo poškozené buňky, s cílem odstranit škodlivé podněty z těla a podpořit hojení. Avšak tato reakce musí být řádně regulována a trvat pouze krátkou dobu, jinak může vést k poruchám imunity [46].

Hřebíčkový esenciální olej, běžně využívaný v aromaterapii pro snížení zánětlivých potíží, jako jsou artritida a revmatismus prokázal protizánětlivé vlastnosti v testech na zvířecích modelech při podávání dávek 0,05 a 0,20 mL·kg⁻¹ [15].

Předběžné ošetření eugenolem snížilo zánět plic vyvolaný lipopolysacharidem. Tento objev naznačuje, že eugenol má potenciál chránit před poškozením způsobeným oxidačním stresem a může být účinným protizánětlivým lékem, například při diabetes mellitus, hypertenzi nebo při kardiovaskulárních a neurodegenerativních onemocněních [28, 46].

Studie ukázaly, že aplikace hřebíčkového oleje snížila zánět o 20 až 60 % po 3 hodinách a podporovala hojení ran u potkanů. Mechanismus účinku eugenolu spočívá v tom, že zabraňuje tělu v tvorbě COX-2, což je enzym cyklooxygenáza-2, který je zodpovědný za tvorbu zánětlivých látek. Tyto výsledky ukazují, že hřebíčkový esenciální olej má potenciál jako protizánětlivý prostředek a podporuje proces hojení ran [28].

3.8 JINÉ ÚČINKY

V širokém rozsahu se hřebíčkový olej používá jako antiseptikum při onemocněních dutiny ústní, k léčbě bolestí zubů, astmatu, alergických poruch, akné a jizev. Hřebíčkový esenciální olej byl úspěšně testován na svou insekticidní schopnost odpuzovat a zabíjet různé druhy škůdců, včetně blech, mšic, mravenců, stejně jako komárů a švábů. Hřebíčkový esenciální olej má antiprotozoální účinky, které zabraňují šíření prvoků a je i účinné silné anthelmintikum proti parazitickým červům. Prokázaly se také akaricidní účinky, zkoumané na roztočích *Dermatophagoides pteronyssinus* a *Dermatophagoides farina* [6, 28]. Důkaz insekticidního účinku je uveden v tabulce 4.

Tabulka 4: Účinnost testovaných domácích přírodních repelentů proti komárům *Aedes aegypti* vyjádřená celkovým počtem kousnutí a procentuální účinnosti [47]

Repelent	Repelentní účinnost [%]			
	10 min		30 min	
	Počet kousnutí [TA/NC]	Účinnost [%]	Počet kousnutí [TA/NC]	Účinnost [%]
<i>Syzygium aromaticum</i> (hřebíček) +ALPA TM	71/263	73,1 ± 18,6	122/240	46,5 ± 24,4
<i>Juglans regia</i> (ořešák) LL+ALPA TM	127/249	49,0 ± 19,2	198/301	34,3 ± 17,0
<i>Rosmarinus officinalis</i> (rozmarýn) LL+AV	232/234	≤ 10	ND	ND
<i>Artemisium absinthium</i> (pelyněk) LL+AV	184/202	≤ 10	ND	ND

Vysvětlivky: ALPATM –alkoholová bylinná mast, LL–výluh z listů, AV–jablečný ocet, TA–ošetřená paže, NC–neošetřená paže (negativní kontrola), ND–negativní repelentní účinek

Díky molekulární podstatě antitrombotických účinků hřebíčku se ukázalo, že eugenol funguje jako inhibitor krevních destiček, což brání tvorbě krevních sraženin [15].

Hřebíčkový olej rovněž zmírňuje svalové křeče, zvracení a nevolnost a snižuje horečku a epileptické záchvaty. Chrání sliznici žaludku a střev před poškozením, podporuje vykašlávání a uvolňování hlenu z dýchacích cest a má léčivý účinek proti trofické poruše. Ve starověké medicíně byl hřebíček využíván při trávicích obtížích a nadýmání [6, 48].

Extrakty ze *Syzygium aromaticum* snížily hladiny inzulínu, leptinu a jaterních lipidů v séru u myši s vysokým obsahem tuků, což naznačuje možnost použití jako přírodní doplněk proti obezitě a schopnost snižovat shromažďování lipidů v játrech [6].

Mezi další farmakologické účinky hřebíčkového esenciálního oleje patří afrodiziakální, hypnotické, antimutagenní, antistresové, antidepresivní, neuroprotektivní a má potenciál i jako přírodní stimulant [6, 28].

3.9 TOXICITA A FARMAKOKINETIKA *SYZYGIUM AROMATICUM*

Eugenol, přestože je uznáván za bezpečnou potravinářskou přísadu, schválenou FDA, vyvolává obavy z toxicity vzhledem k jeho široké škále aplikací a rozsáhlému užívání hřebíčkového oleje [6, 49].

3.9.1 TOXICITA

Hřebíčkový esenciální olej je považován za bezpečný v nižších koncentracích, než je $1500 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$. WHO stanovila denní přijatelné množství hřebíčku na $2,5 \text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ hmotnosti člověka. Tato toxická dávka byla zkoumána na dvou druzích akvarijských ryb, *Danio rerio* a *Poecilia reticulata*. Po 96 hodinách vykazovala LD_{50} u *Danio rerio* ($18,2 \pm 5,52$) $\text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ a u *Poecilia reticulata* ($21,7 \pm 0,8$) $\text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ [28].

Studie ukázala, že konzumace 5-10 ml hřebíčkového oleje u dvouletého chlapce způsobilo vážné zdravotní komplikace, včetně kómatu a selhání jaterních funkcí. Experimenty na potkanech ukázaly, že intravenózní infuze eugenolu způsobila respirační potíže a poškození plic [49].

Zkoumaly se cytotoxické účinky oleje a eugenolu *in vitro* na lidské buňky a fibroblasty a označili je za bezpečné. Jiné studie zase naznačily spermatocidní účinky *in vitro* u šesti mužských partnerů neplodných párů. Po podání hřebíčkového oleje byly pozorovány také akutní vedlejší účinky, včetně hepatotoxicity a alergická kontaktní dermatitida u morčat způsobenou eugenolem [6].

Ve stomatologii byla zjištěna toxicita eugenolu při dávkách mezi 0,06 a 5,1 μM , s ještě vyšší toxicitou při intervalových dávkách 320 až 818 μM v ústní dutině. Navíc eugenol vykazoval schopnost aktivovat genotoxické účinky při všech testovaných dávkách 0,62, 1,24 a 2,48 $\text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ tím, že způsoboval poškození DNA u myších. Všeobecně je eugenol málo toxický pro savce, americká agentura pro ochranu životního prostředí zařadila eugenol do kategorie 3. Hodnota LD_{50} při perorálním podání u hlodavců je vyšší než $1930 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$, což je znázorněno v tabulce 5 [46].

Tabulka 5: Hodnoty LD₅₀ eugenolu u laboratorních zvířat [46]

Druh	Dávka (LD₅₀ / LC₅₀)
Krysa	LD ₅₀ orálně: 1190–2680 mg·kg ⁻¹
Myši	LD ₅₀ orálně: 3000 mg·kg ⁻¹
Myši	LD ₅₀ intraperitoneálně: 500–630 mg·kg ⁻¹
Morče	LD ₅₀ orálně: 2130 mg·kg ⁻¹

Pro lepší pochopení toho, jak hřebíček ovlivňuje lidské zdraví, jsou však potřebné další studie provedené jak *in vitro* (mimo živý organismus), tak *in vivo* (uvnitř živého organismu). Toxicita hřebíčku a jeho esenciálních olejů se může projevat různorodě v závislosti na použití a hlavně dávce [50].

3.9.2 FARMAKOKINETIKA

Farmakokinetika je obor, který se zabývá studiem absorpce, distribuce, biotransformací a eliminace léčiv u člověka a zvířat [51].

Zkoumání metabolismu eugenolu probíhalo na zdravých dobrovolnících, jak mužích, tak ženách. Při perorálním podání se eugenol rychle vstřebává, plazmy dosahuje s průměrným poločasem 14,0 hodin a krve 18,3 hodin. Je předpokládán obvyklý účinek, který je spojen se zlepšením neuropatické bolesti po opakovaném denním podávání [6, 18].

V játrech se eugenol mění na jiné látky, jako je kyselina glukuronová nebo sulfátový konjugát. Většina eugenolu a jeho metabolitů je vylučována močí, kde se přeměňují na jiné sloučeniny, především na fenolové konjugáty. Pouze velmi malé množství eugenolu je vyloučeno v nezměněné formě močí [6].

4. TECHNOLOGICKÉ ZPRACOVÁNÍ

SKLIZEŇ A TŘÍDĚNÍ

Správný výběr zdroje léčivých rostlin a vhodná doba sklizně jsou klíčové pro dosažení maximálního obsahu požadovaných fytochemikálií. Různé části rostlin mají různé optimální časy pro sběr, který se provádí ručně. Například kořeny a oddenky se sbírají na konci vegetačního období, kůra na jaře, listy a byliny během kvetení, květy v plné květnatosti nebo krátce po otevření a plody a semena po dosažení zralosti. Kvalitní hřebíček má sladkou vůni při stisknutí mezi palcem a ukazováčkem. Kvalita hřebíčku je stále určována ručně, což často vede k chybám při jeho třídění (Obr. 14). Třídění se provádí dvakrát, takzvané mokré třídění a po vysušení suché třídění [8, 52, 53, 54].



Obrázek 14: Ruční čištění a třídění hřebíčků [12]

PROCES SUŠENÍ

Sušení je důležitou metodou pro konzervaci potravin a plodin, která prodlužuje jejich trvanlivost tím, že minimalizuje degradaci způsobenou mikroorganismy a enzymy. Existuje mnoho metod sušení, z nichž každá má své výhody a nevýhody. Metody sušení se dělí na přirozené, kde se využívá slunce a vzduch, a umělé zahrnující použití mechanických a elektrických zařízení. Přirozené sušení slunečním zářením je populární, ale má svá omezení, jako jsou velké plochy a náchylnost k znečištění. Sušení hřebíčku na slunci trvá obvykle 5 až 7 dní v suchém období. Nevýhodou tohoto způsobu sušení je, že za nepříznivých podmínek hrozí riziko plísní, pokud jsou pupeny ponechány ve vlhkém prostředí příliš dlouho. Umělé

sušení, včetně pecí, využívá různé zdroje energie, jako je elektřina nebo solární energie, a poskytuje jednotnější výsledky [55].

Nejčastější používané techniky pro sušení koření a bylinek jsou sušení na slunci (Obr. 15), sušení horkým vzduchem, lyofilizace (sušení mrazem) a mikrovlnné sušení. Koření a bylinky jsou citlivé na teplo, a proto je důležité použít jemné sušení, aby nedošlo k poškození jejich přírodních vlastností. Podmínky sušení, jako je teplota, čas a prostředí, mají klíčový vliv na výslednou kvalitu [55, 56].



Obrázek 15: Sušení hřebíčků v Indonésii [10]

BALENÍ, SKLADOVÁNÍ A MLETÍ

Sušené pupeny hřebíčku jsou často baleny do pytloviny a skladovány v suché a dobře větrané místnosti, aby nedocházelo k významným změnám. Celý hřebíček se skladuje po mnoho měsíců na chladném, tmavém místě v uzavřených nádobách. Dochází ke ztrátám oleje z pupenu hřebíčku kvůli odpařování. Rychlost tohoto procesu závisí především na obsahu vlhkosti v produktech, teplotě a relativní vlhkosti během skladování. Práškový hřebíček nebo mletý by měl být skladován v chladničce ve vzduchotěsných nádobách a použit co nejdříve, neboť může rychle ztratit svou chuť. Mletý hřebíček se často vyrábí mletím suchých pupenů hřebíčku pomocí ručního mlýnku. Hřebíček je k dispozici v různých jemnostech, přičemž hrubě mletá verze se často využívá při destilaci a extrakci, zatímco jemněji mletý hřebíček je ideální pro přímé použití v potravinách [8, 10].

4.1 EXTRAČNÍ METODY ZÍSKÁVÁNÍ ESENCIÁLNÍHO OLEJE

Sloučeniny koření, zejména esenciální oleje a bioaktivní látky, vyžadují různé extrakční mechanismy pro optimalizaci jejich využití. Správná volba a aplikace extrakčního mechanismu je nezbytná pro minimalizaci degradace těchto látek, ochranu před mikrobiální a chemickou kontaminací a prodloužení jejich skladovatelnosti. Za účelem získání esenciálního oleje z pupenů, listů a stonků hřebíčku existuje několik konvenčních metod a pokročilých metod extrakce [5, 56].

A) TRADIČNÍ/KONVENČNÍ METODY

Pro získání esenciálního oleje (EO) z hřebíčku existuje několik konvenčních metod. Konvenční extrakční metody využívají pro získání EO destilaci. Při této metodě je rostlinný materiál zahříván a pára nebo voda je vsřikována, aby procházela materiálem a unášela s sebou těkavé látky a vodu. EO, které není mísitelný s vodou, se proto snadno odděluje pomocí dekantace [28].

Tyto konvenční metody zahrnují hydrodestilaci, destilaci vodní párou nebo extrakční techniky rozpouštědlem (Soxhletovy extrakce a macerace). Nicméně tyto postupy mají své nevýhody, jako je vysoká spotřeba organických rozpouštědel a energie, dlouhé extrakční procesy, nízké výtěžky a potenciální riziko degradace některých složek. Navíc mohou organická rozpouštědla způsobit kontaminaci, což je problém z hlediska zdraví a životního prostředí [35, 58].

Nejčastěji používané metody jsou hydrodestilace (HD) a destilace vodní párou (SD). Důležité je poznamenat, že tyto konvenční metody extrakce mají omezené možnosti nastavení parametrů, které ovlivňují selektivitu procesu a konečnou koncentraci esenciálních olejů [28].

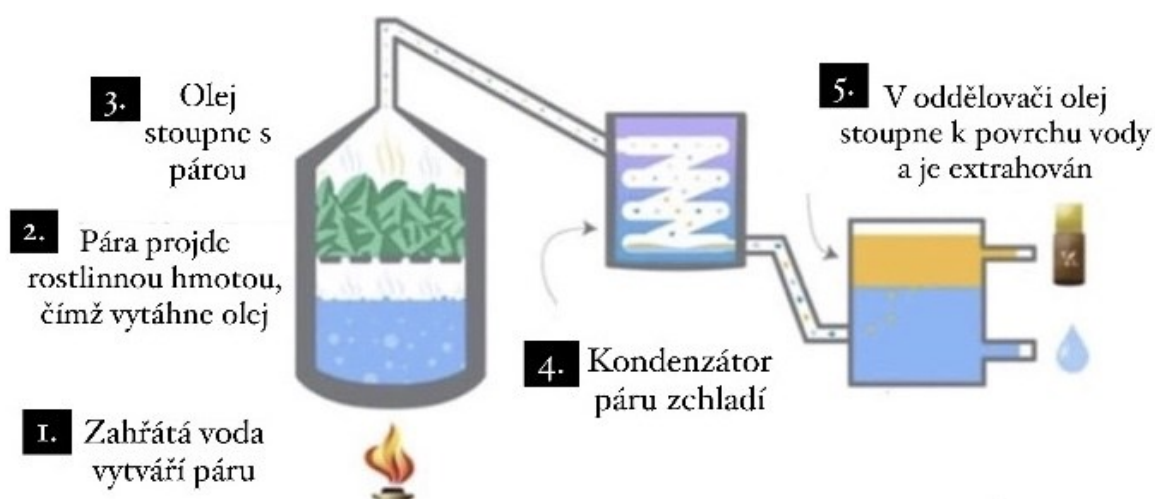
4.1.1 DESTILACE VODNÍ PAROU

Parní destilace je konvenční extrakční technika, kdy se jako extrakční činidlo používá přehřátá pára s vysokým bodem varu kolem 100 °C. Na rozdíl od hydrodestilace je u parní destilace rostlinný materiál umístěn nad zdrojem páry a prochází jím pára, aniž by se vroucí voda mísila s rostlinným materiálem [59, 60].

Pro parní destilaci se používá destilační přístroj obsahující baňku s kulatým dnem, baňku na biomasu, topný plášť, chladič, teploměr a sběrnou nádobu. Rostlinný materiál hřebíčku v práškové formě se vloží do baňky na biomasu, která je dále umístěna na vršek baňky s kulatým dnem. Pomocí topného pláště se voda přivádí k varu a vytváří se pára, která působí na

rostlinným materiálem v baňce na biomasu. Esenciální olej a vodní páry prochází chladičem, kde se kondenzují na kapky kapaliny. Vrstvy esenciálního oleje a vody jsou oddělovány ve sběrné nádobě na základě rozdílné hustoty a vrstva esenciálního oleje je pak shromážděna ve skleněné lahvičce. Tento extrakční postup se opakuje pětkrát a celý proces parní destilace trvá asi 3 hodiny. K dehydrataci esenciálního oleje se může použít bezvodý síran sodný a dehydratovaný esenciální olej nakonec prochází mikrofiltrem [61]. Schéma destilace vodní párou je na Obr. 16.

Využití tohoto tradičního postupu má značnou nevýhodu, kterou je především riziko ztráty teplotně citlivých sloučenin, a dále dva významné nedostatky, kterými jsou nemožnost automatizace a dlouhá doba potřebná k extrakci [62].



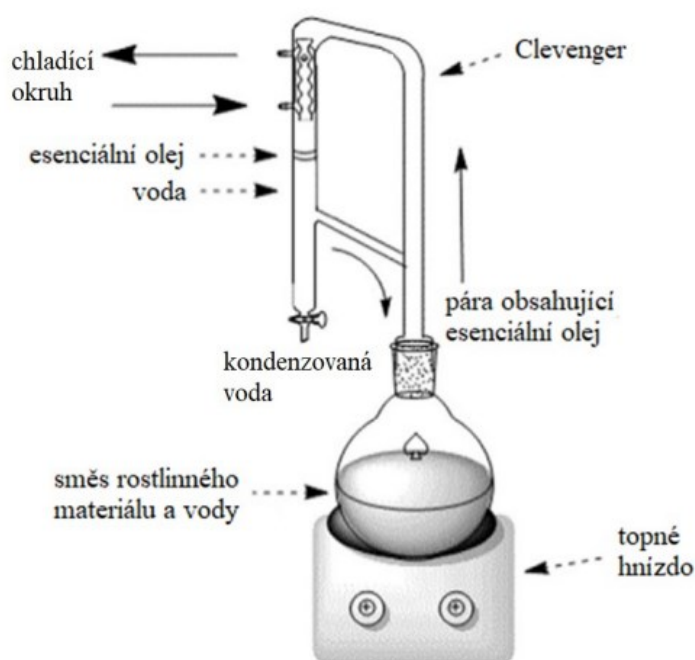
Obrázek 16: Přehled kroků zahrnutých v procesu destilace vodní párou [63]

4.1.2 HYDRODESTILACE

Hydrodestilace je účinná konvenční technika získávání esenciálních olejů z hřebíčku, která používá vodu jako extrakční rozpouštědlo. Proces HD se provádí nejčastěji na přístroji typu Clevenger, který obsahuje topný plášť, baňku s kulatým dnem, Dean Starkův separátor, chladič a dělicí nálevku. Sušený prášek hřebíčku se namáčí ve vodě a poté se umístí do odměrné baňky. Dále se tato baňka se směsí vody a rostlinného materiálu umístí do externího topného média a nechá vařit. Těkavé sloučeniny přítomné v rostlinném materiálu se odpařují spolu s vodním i párami a dále kondenzují. Po kondenzaci směsi do kapalné formy byla tato směs nalita do dělicí nálevky, která oddělila vrstvu oleje od vrstvy vody [59, 61]. Clevengerova aparatura je znázorněna na Obr. 17.

Pro další testy se extrahovaný esenciální olej vysušil pomocí bezvodého síranu sodného, a poté se skladoval v temně uzavřené lahvičce při 4 °C [64].

Tato technika nevyžaduje použití organických rozpouštědel, což ji činí jako výhodnou možnost z hlediska ekonomiky, zejména pokud jsou klíčové náklady na extrakci. Nevýhodou však je možná hydrolýza některých složek, které jsou předmětem zájmu, v důsledku dlouhodobého kontaktu s vroucí vodou [28, 65].



Obrázek 17: Clevengerova aparatura pro hydrodestilaci [64]

4.1.3 EXTRAKCE ROZPOUŠTĚDLEM

Extrakce pevných vzorků pomocí rozpouštědla, která je obvykle nazývána jako extrakce pevná látka-kapalina, ale přesněji by se měla označovat jako vyluhování, patří mezi nejstarší metody předúpravy pevných vzorků. Bioaktivní sloučeniny z hřebíčku lze získat pomocí dvou tradičních metod extrakce rozpouštědlem jako je Soxhletova extrakce a macerace [35, 66].

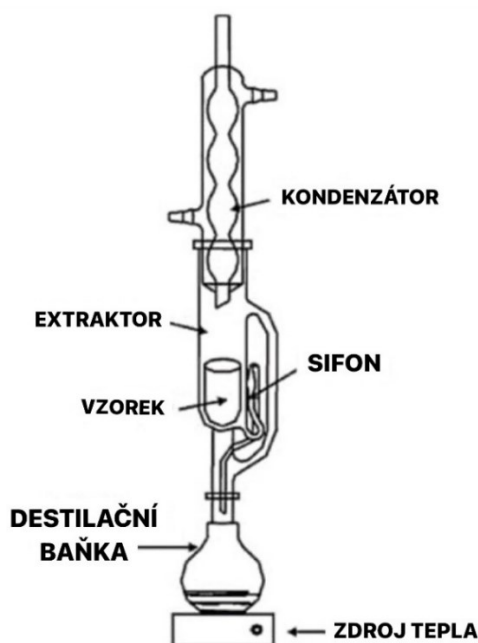
Extrakce rozpouštědlem je běžným postupem pro získání esenciálních olejů z rostlin, včetně eugenolu, a používají se různé typy rozpouštědel, jako je ether, n-hexan, ethanol, ropa a methanol. Tato metoda má svá omezení, jako je změna chuti potravin a zanechání rozpustných zbytků, nicméně umožňuje získání esenciálních olejů a eugenolu [41].

4.1.3.1 SOXHLETOVA EXTRAKCE

Soxhletova extrakce je dlouhodobě nejpoužívanější technikou v oblasti louhování. Tato technika, známá také jako kontinuální extrakce za tepla, se provádí pomocí Soxhletova extraktoru vyrobeného ze skla (Obr. 18), který obsahuje baňku s kulatým dnem, extrakční komoru, sifonovou trubku a chladič [66, 67].

Umožňuje efektivní extrakci různých bioaktivních sloučenin z rostlinných materiálů, jako je hřebíček, pomocí vhodného rozpouštědla, jako je ethanol nebo methanol. Po úplné extrakci se roztok koncentruje a získává se koncentrovaný surový extrakt, který lze využít v potravinářském, farmaceutickém a kosmetickém průmyslu [35].

V této metodě se vysušený vzorek mletého hřebíčku umístí do porézního sáčku (náprstku) z čisté látky nebo silného filtračního papíru. Náprstek je těsně uzavřen a umístěn do extrakční komory Soxhletova přístroje, který je propojen se zásobníkem rozpouštědla a kondenzátorem. Poté se extrakční rozpouštědlo nalije do spodní baňky, zahřívá do bodu varu, odpařuje se, kondenzuje se v chladiči a stéká dolů do extrakční komory, kde extrahuje rozemletý hřebíček. Jakmile hladina rozpouštědla v extrakční komoře dosáhne horní části sifonu, rozpouštědlo a extrahovaný rostlinný materiál se vracejí zpět do baňky. Tímto způsobem se bioaktivní sloučeniny hřebíčku rozpouštějí v rozpouštědle, které pak opětovně kape zpět do zásobníku rozpouštědla, kde se znovu zahřívá a cyklus pokračuje. Tento opakující se proces probíhá, dokud není extrahováno požadované množství bioaktivních sloučenin [35, 67].



Obrázek 18: Schéma konvenčního Soxhletova extraktoru [68]

Soxhletova extrakce, ačkoli je časově náročná, přináší i určité výhody. Například vzorek se opakovaně dostává do kontaktu s čerstvými částmi rozpouštědla, což napomáhá k potlačení přenosové rovnováhy. Také se v systému udržuje relativně vysoké teploty díky aplikovanému teplu na destilační baňku. Metoda je to jednoduchá, umožňuje extrahovat větší množství vzorků a získává se vysokých výtěžků bioaktivních sloučenin z hřebíčku. Kromě toho po extrakci není potřeba žádné filtrace [35, 66]. Automatický Soxhletův extraktor pro více vzorků je na Obr. 19.

Hlavní nevýhody Soxhletovy extrakce oproti jiným metodám pro zpracování pevných vzorků spočívají v dlouhé době potřebné k extrakci a velkému množství odpadu, který představuje další environmentální problémy. Při této metodě se spotřebuje velké množství rozpouštědla, což může být nákladné. Velké množství použitého extrakčního činidla vyžaduje po extrakci krok odpařování a koncentrace. Vzorky jsou extrahovány při teplotě varu rozpouštědla po delší dobu, což může vést k rozkladu cílových látek citlivých na teplo. Navíc běžné zařízení pro Soxhletovu extrakci nedokáže poskytnout míchání, což by urychlilo proces [66, 68].



Obrázek 19: Automatický Soxhletův extraktor [69]

4.1.3.2 MACERACE

Macerace je jednoduchá metoda extrakce, při které se hrubě rozdrcený léčivý materiál, jako jsou listy, kůra nebo kořeny, umístí do nádoby a ponoří se do rozpouštědla, jako je voda nebo alkohol. Nádoba se uzavře a udržuje se po dobu minimálně tří dnů. Doba extrakce se může lišit v závislosti na použitém rozpouštědle a požadovaném výtěžku, pohybuje se obvykle od

několika hodin do několika dnů. Obsah se pravidelně míchá nebo protřepává, aby se zajistila kompletní extrakce. Rozpouštědlo rozpouští bioaktivní sloučeniny z hřebíčku a vzniklý roztok se filtruje, aby se odstranily pevné částice. Odpařením v peci nebo na vodní lázni se odstraní rozpouštědlo a získá se hustější, koncentrovanější a nerafinovaný extrakt [35, 67].

Macerace je přímá, nákladově efektivní a jednoduchá technika, která nevyžaduje složité vybavení. Může ale být méně efektivní než pokročilé extrakční metody a hlavně zdlouhavá. Z tohoto důvodu se tyto metody nejlépe hodí pro extrakci v menším měřítku nebo pro tradiční použití v medicíně [35].

B) POKROČILÉ/INOVATIVNÍ METODY

Byly vyvinuty nové pokročilé techniky, které přinášejí ekologické výhody, jako je snížení spotřeby energie, omezení použití rozpouštědel a minimalizace odpadních produktů. Pokročilé metody také používají bezpečnější rozpouštědla, zkracují dobu extrakce a poskytují vyšší výtěžky než tradiční metody. Díky těmto výhodám se tyto techniky extrakce stávají ideální volbou pro výrobu přírodních produktů s vysokou přidanou hodnotou pro potravinářský, farmaceutický a kosmetický průmysl [35, 56].

V nedávné době byly nejvíce využívány tyto pokročilé extrakční techniky jako jsou extrakce superkritickou tekutinou (SFE), extrakce mikrovlnami (MAE), extrakce ultrazvukem (UAE) a extrakce ohmickým ohřevem (OAHD). SFE je považována za jednu z nejlepších možností, protože využívá CO₂ jako rozpouštědlo, což je neškodné a ekologické [58, 70].

Výzkum se zaměřuje na nalezení optimálních procesních parametrů a porovnání výsledků s konvenčními metodami, aby se zlepšila účinnost a ekologická udržitelnost extrakce esenciálního oleje. Použití moderních technik přináší nové možnosti pro ekologicky šetrnou těžbu rostlinných olejů [57].

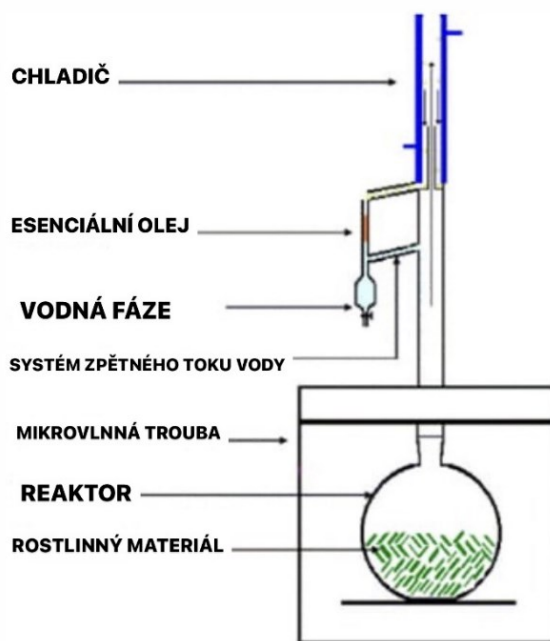
4.1.4 MIKROVLNNÁ EXTRAKCE

MAE je pokročilá technika extrakce, která si získala pozornost díky své účinnosti, rychlosti a schopnosti minimalizovat spotřebu rozpouštědla. Při MAE se k ohřevu rozpouštědla a k extrakci sloučenin z rostlinného materiálu využívá mikrovlnné záření (Obr. 20). Tato metoda se používá nejčastěji pro extrakci bioaktivních látek, jako je například eugenol, acetyl eugenol a karyofylen z hřebíčku [35].

MAE může být použita jak pro extrakci v kapalně fázi, kdy je rozpouštědlo kapalina, tak pro extrakci v plynné fázi, kdy je extrakční médium plyn. Při extrakci v kapalně fázi se využívá principu absorpce mikrovlnné energie, která závisí na chemické povaze extrahované látky [62].

Tyto elektromagnetické vlny pronikají rostlinným materiálem a jsou absorbovány molekulami vody nebo jinými polárními molekulami, což vede k přeměně elektromagnetické energie na tepelnou. Tím se zvyšuje teplota materiálu a vytváří se tlak, což způsobuje prasknutí buněk a uvolnění těkavých složek do okolního média [59].

Při extrakci hřebíčku mohou být účinnost a kvalita MAE ovlivněny několika faktory, jako je typ použitého rozpouštědla, výkon a frekvence mikrovlnného záření, doba extrakce a velikost částic rostlinného materiálu. Porovnání MAE s tradiční hydrodestilací ukázalo, že MAE nabízí vynikající kvalitu oleje, zkracuje dobu extrakce, snižuje spotřebu energie a snižuje emise CO₂ do životního prostředí [35, 59].



Obrázek 20: Schéma mikrovlnné extrakce [71]

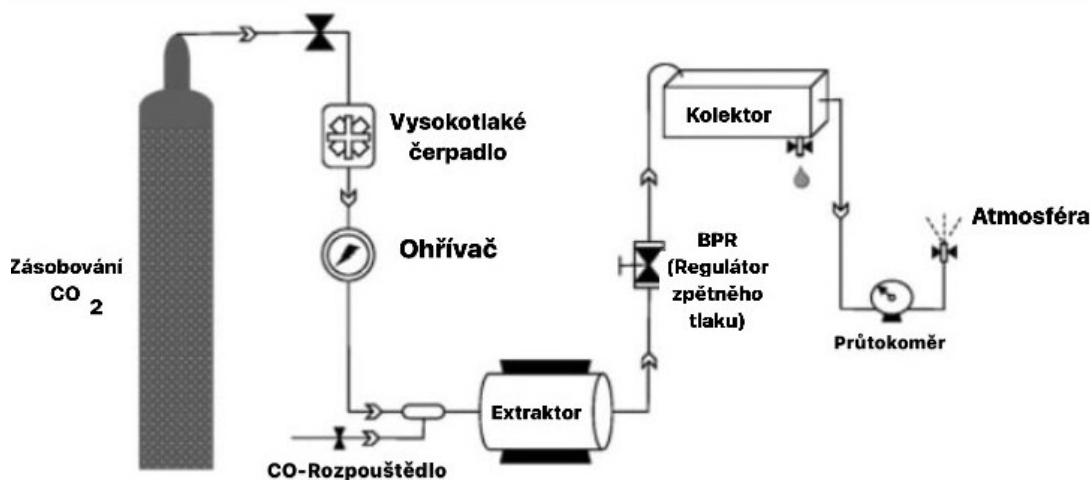
4.1.5 SUPERKRITICKÁ FLUIDNÍ EXTRAKCE

Extrakce pomocí superkritického CO₂ je moderní metoda získávání bioaktivních sloučenin z rostlinných materiálů, včetně hřebíčku, která se stává stále populárnější. SFE je založená na využití tekutin při nadkritických podmínkách teploty a tlaku, což zvyšuje jejich schopnost rozpouštět látky. Tyto tekutiny mají vlastnosti podobné plynům i kapalinám, což umožňuje

efektivní extrakci aromatických sloučenin. Nejčastěji se jako superkritické rozpouštědlo používá CO_2 kvůli svým vlastnostem, jako je nízká toxicita a chemická inertnost. Při této metodě se využívá změna tlaku k úplnému získání produktu a rozpouštědla [35, 59, 62].

Extrakce esenciálního oleje z pupenů hřebíčku metodou SFE probíhá například pomocí speciálního zařízení nazvaného Speed SFE (Obr. 21). Tento přístroj využívá tekutý CO_2 , který je přiváděn do extrakčního zařízení pod vysokým tlakem. Kapalný CO_2 je na požadovaný tlak tlakován vysokotlakým čerpadlem. Extrakční kolona, do které se umístí mletá surovina a skleněné kuličky, je zahřívána v peci a udržována na konstantní teplotě termočlánkem. Proces zahrnuje průchod superkritického CO_2 skrz hřebíčkovou matici, kde se rozpouští a nese cílové sloučeniny. Superkritický CO_2 s rozpuštěnými látkami prochází vyhříváním ventilem a následně expanduje na okolní tlak. Ve sběrné nádobce pak dochází k vysrážení extraktu při okolním tlaku a teplotě [35, 72].

SFE má oproti tradičním metodám extrakce několik výhod, včetně lepší účinnosti, kratší doby extrakce a selektivity pro cílové sloučeniny. Má také potenciál minimalizovat riziko degradace a změny extrahovaných látek díky krátkým dobám extrakce. SFE je tedy významnou a perspektivní technikou pro získávání esenciálních olejů s vysokou čistotou a kvalitou. Výzkum ukázal, že nastavení parametrů jako tlak, teplota, průtok a doba extrakce může ovlivnit výtěžek a kvalitu extraktu [35, 62].



Obrázek 21: Schéma extrakce pomocí superkritického CO_2 [73]

4.1.6 ULTRAZVUKOVÁ EXTRAKCE

UAE je moderní a ekologicky šetrná metoda získávání bioaktivních sloučenin z rostlinných materiálů, která využívá ultrazvukové vlny k zesílení extrakce. Pro hřebíček je tato metoda

účinným způsobem získání vysokých výtěžků bioaktivních sloučenin. Tento proces využívá zvukovou energii s extrémně vysokou frekvencí nad 20 kHz k narušení buněk rostlin a zvýšení povrchové plochy pro pronikání rozpouštědla, čímž se uvolňují sekundární metabolity [35, 67].

Při UAE je rostlinný materiál nejprve usušen, rozemlet na jemný prášek a důkladně prosíván. Poté je smíchán s vhodným extrakčním rozpouštědlem a umístěn do ultrazvukového extraktoru, kde je vystaven vysokofrekvenčním ultrazvukovým vlnám. Tyto vlny vyvolávají jev kavitace, což jsou malé bubliny v kapalině. Když tyto bubliny implodují, dochází k mechanickému působení na pevné látky, což způsobuje jejich rozpad nebo prasknutí. Rozpad bublin vede k vytvoření vysokých teplot a tlaků, čímž se zvyšuje přenos hmoty a extrakce se urychluje [35, 59, 67].

UAE nabízí několik výhod, jako je kratší doba extrakce, nižší spotřeba rozpouštědla a vyšší výtěžky. Kromě toho použití ultrazvukových vln zlepšuje funkční vlastnosti extrahovaných sloučenin. Zvýšení výtěžku se přičítá zvýšené rozpustnosti aktivních sloučenin v rozpouštědle, zvýšené difúzi rozpouštědla do rostlinné matrice a zvýšenému uvolňování sloučenin z rostlinného materiálu. Na druhé straně vysokofrekvenční ultrazvukové vlny mohou vyvolat kavitaci, což může vést k uvolnění bioaktivních sloučenin, ale nadměrná kavitace může také degradovat sloučeniny, což snižuje výtěžek [35].

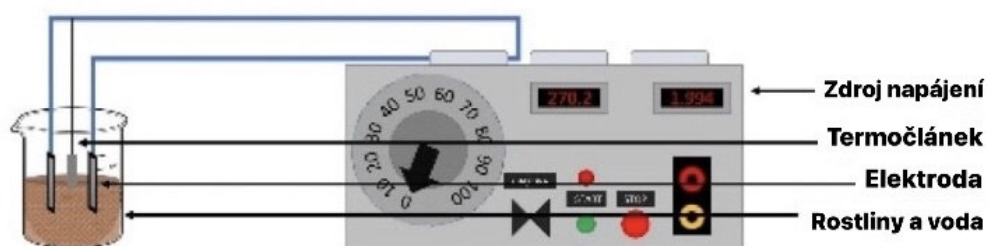
4.1.7 EXTRAKCE S POMOCÍ OHMICKÉHO OHŘEVU

Ohmický ohřev je technologie, která se v potravinářském průmyslu využívá již od dvacátého století. Tento typ ohřevu je efektivní, s vysokým koeficientem výkonu, což znamená účinnou přeměnu energie. Pokročilá technika ohmické extrakce využívá elektrický proud k produkci tepelné energie pro získávání esenciálních olejů. Ohmův zákon je důležitý v ohmickém ohřevu a stanoví, že napětí na vodiči je přímo úměrné elektrickému proudu, který jím prochází. Nedávným trendem je využití ohmického ohřevu v destilačních procesech, kdy je kombinován s hydrodestilací. Tato inovativní technika stále získává na pozornosti a její význam roste [74, 75].

OAHD je novým ekologickým postupem k extrakci esenciálních olejů. OAHD funguje podle zásad tradičního destilačního procesu, ale na rozdíl od systému HD se neomezuje pouze na přenos tepla prostřednictvím vedení a konvekce. Tepelná energie se přenáší do potravin vedením, prouděním a sáláním při konvenčních ohřevových metodách. Ohmický ohřev funguje tím, že elektrický proud, který prochází potravinou, produkuje teplo díky elektrickému odporu potravin. V procesu OAHD se tedy teplo vytváří přímo uvnitř potravin průchodem střídavého

elektrického proudu, což závisí na elektrické vodivosti potraviny. Přičemž dochází k rozkladu buněk, což umožňuje rychlejší uvolňování esenciálního oleje a tím pádem zkrácení doby zpracování. Různé faktory, jako je síla elektrického pole a elektrická vodivost potravin, mohou ovlivnit výkon odporového topného systému. Například obsah kyselin, solí nebo vody v potravinách může ovlivnit jejich elektrickou vodivost, což má vliv na průběh procesu OAHD [76, 77]. Ohmický hydrodestilační systém je znázorněn na Obr. 22.

Využití metody OAHD nese různé výhody jako je kratší doba extrakce, nižší spotřeba energie a vyšší výtěžnost. Existuje také obava, že při použití OAHD, zejména ve vysokém výkonu, může intenzivní elektřina negativně ovlivnit kvalitu extrahovaného oleje [76, 78].



Obrázek 22: Ohmický hydrodestilační systém [28]

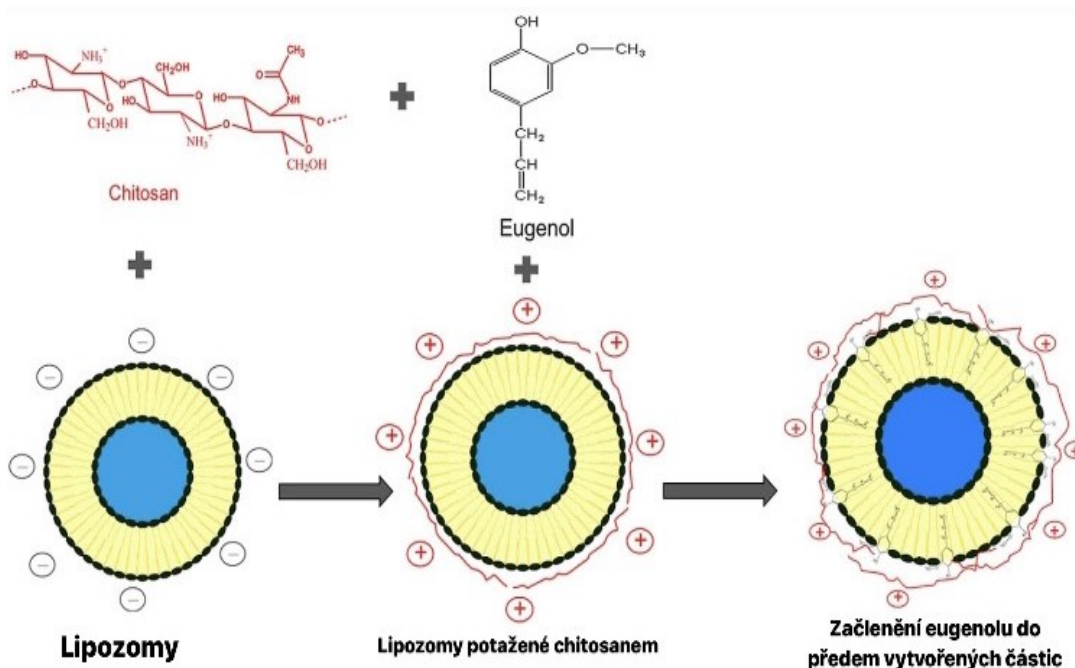
4.2 ZAPOUZDŘENÍ ESENCIÁLNÍHO OLEJE

Aby bylo možné využít EO v potravinářství, je třeba řešit jeho nestabilitu, omezení toxicity a silné aroma. Jeho stabilita a účinnost mohou být ovlivněny různými faktory prostředí, jako je klima a způsob skladování. Jedním z možných řešení je zapouzdření tohoto oleje, což usnadňuje jeho použití [79, 80].

K zapouzdření hřebíčkového oleje lze použít metody jako mikroenkapsulace, nanoenkapsulace nebo lipozomy. Tyto metody umožňují udržet olej stabilní a mohou zlepšit jejich funkční aktivity. Materiálem pro enkapsulaci může být například alginát sodný nebo chitosan, které se používají kvůli svým vlastnostem jako stěny kapsle [81]. Lipozomy naplněné eugenolem a potažené chitosanem jsou znázorněny na Obr. 23.

Tento proces pomáhá udržet hodnotné bioaktivní látky, snižuje negativní účinky, zajišťuje řízené uvolňování zapouzdřeného materiálu, chrání před okolním prostředím nebo maskuje štiplavý zápach. Konkrétní enkapsulační techniky, jako je sprejové sušení nebo lyofilizace, jsou často používány k tomu, aby se dosáhlo optimálního zachování těchto olejů. Bylo objeveno

a popsáno mnoho metod zapouzdření, které využívají různé nosiče. Tyto metody mohou vést ke konečným výsledkům jako jsou micely, emulze, komplexy, lipozomy nebo kapsle [41, 80].



Obrázek 23: Zapouzdření-lipozomy naplněné eugenolem a potažené chitosanem [82]

4.3 ANALYTICKÉ METODY PRO STANOVENÍ SLOŽENÍ EO

Pro kvantifikaci a charakterizaci EO se často využívají přesné analytické metody, jako jsou například plynová chromatografie s plamenovým ionizačním detektorem (GC–FID) a plynová chromatografie s hmotnostní spektrometrií (GC–MS) [83].

4.3.1 PLYNOVÁ CHROMATOGRRAFIE S HMOTNOSTNÍ SPEKTROMETRIÍ

GC–MS je nejběžnější technikou pro identifikaci a kvantifikaci neznámých složek v EO. Esenciální oleje hřebíčku jsou analyzovány pomocí GC–MS přístroje (ISQ ThermoScientific, Austin, Texas, USA) vybaveného speciální kapilární kolonou a detektorem. Jako nosný plyn se používá helium s průtokem $1,2 \text{ ml} \cdot \text{min}^{-1}$. Teplota pece GC–MS je udržována na $40 \text{ }^\circ\text{C}$ po dobu 5 minut a poté naprogramována na $260 \text{ }^\circ\text{C}$ s rychlostí ohřevu $2 \text{ }^\circ\text{C} \cdot \text{min}^{-1}$. Vzorek EO se připraví, naředí v poměru 1:100 v hexanu a je vstřikován do přístroje, při konstantní teplotě $250 \text{ }^\circ\text{C}$ pomocí injektoru s poměrem dělení 1:20, kde je jeho složení analyzováno. Pořizují se záznamy spekter, kdy jsou elektrony dopadány na vzorek s ionizační energií 70 eV . Identifikace složek probíhá porovnáním s lineárními retenční indexy získanými současnou injekcí vzorků

a hodnotami uvedených v literatuře či hmotnostních spekter knihoven. Pro stanovení retenčních indexů detekovaných sloučenin se provádí standardy n-alkanů. Kvantifikace jednotlivých složek se provádí na základě velikosti jejich píků v porovnání s celkovou velikostí píků ve vzorku. Nicméně, i když je GC–MS velmi citlivá a přesná metoda, je drahá a časově náročná, což může omezovat její použití v rozsáhlejší měřítku [61, 83].

4.3.2 PLYNOVÁ CHROMATOGRAFIE S PLAMENOVÝM IONIZAČNÍM DETEKTOREM

V extrahovaném esenciálním oleji bývá přítomnost eugenolu určena pomocí metody, kde je využita plynová chromatografie Trace 1110 (Thermo Fisher Scientific India Pvt. Ltd.) s plamenovým ionizačním detektorem. Pro oddělení látek se používá kapilární kolona a jako nosný plyn se u GC–FID používá dusík s průtokem $1,2 \text{ ml} \cdot \text{min}^{-1}$. Další provozní podmínky zahrnují objem nástřiku $1 \mu\text{l}$ vzorku, poměr dělení 1:25, teplotu nástřiku $220 \text{ }^\circ\text{C}$ a teplotu detekce $270 \text{ }^\circ\text{C}$. Počáteční teplota pece je udržována na $110 \text{ }^\circ\text{C}$, poté se zvýší na $220 \text{ }^\circ\text{C}$ s rychlostí ohřevu $15 \text{ }^\circ\text{C} \cdot \text{min}^{-1}$ a je udržována na této úrovni po dobu 2 minut. n-Hexan slouží jako rozpouštědlo s poměrem ředění 1:6. Konečná identifikace složek pak probíhá na základě retenčního času standardních sloučenin [84].

5. POUŽITÍ SYZYGIUM AROMATICUM

5.1 FORMY ZPRACOVÁNÍ

Hřebíček je zpracován ve třech hlavních formách: celý, mletý a jako olej. I když mají všechny tři formy podobné vlastnosti, jejich účinnost se liší. Nejvíce účinný je olej, který je nejlepší používat zředěný s jiným olejem, jako je třeba mandlový olej. Celý hřebíček má střední účinnost, protože jsou v něm oleje stále obsaženy. Mletý hřebíček má nejmenší účinnost, protože většina oleje již byla uvolněna [8].

Tyto hlavní formy se používají k různým jiným formám, u hřebíčku jsou nejčastější infuze, odvary, tinktury, tekuté extrakty, čaje, šťávy, sirupy, oleje, masti a prášky [85]. Na Obr. 24 je tradiční horký nápoj z Indonésie Bandrek.

Rostliny a jejich extrakty se mohou lišit použitým rozpouštědlem, teplotou a dobou extrakce. Jsou extrahovány například alkoholem, octem, horkou vodou, dlouhodobým vařením (odvary) nebo studenou macerací rostlin [86].



Obrázek 24: Bandrek, tradiční nápoj původem z Indonésie [10]

5.2 VYUŽITÍ HŘEBÍČKU V PRŮMYSLU

Hřebíček má dlouhou historii používání v tradiční medicíně a kulinářství. Byl hojně využíván k výrobě esenciálního oleje, který se používal k ochucení potravin, léčení v tradiční medicíně a výrobě parfémů. I když se v západním světě běžně používá jako koření, využití má i jako lék na různé zdravotní potíže [15].

5.2.1 FARMACEUTICKÝ PRŮMYSL

Syzygium aromaticum je jednou z významných bylin v tradiční medicíně, která má rozmanité biologické účinky. V lékařství je využívána pro své antibakteriální, antiseptické, antibiotické a další vlastnosti. Prokázala se účinná například při léčbě astmatu a různých alergických poruch. S ohledem na široké spektrum lékařských účinků, které nabízí, je stále mnoho prostoru pro další výzkum a objevy [17].

5.2.2 KOSMETICKÉ VÝROBKY

Pro své biologické účinky se hřebíčkový olej tradičně používá v různých dentálních přípravcích, zubních pastách, osvěžovačích dechu, ústních vodách, mýdlech a kosmetických prostředcích. Při pátrání po novém bělicím prostředku se zjistilo, že extrakt z hřebíčku rozpuštěný v methanolu dokáže potlačit tvorbu melaninu v buňkách melanomu B16 [87]. Hřebíček se nachází také v parfémeh (Obr. 25) a zubní pastě (Obr. 26).



Obrázek 25: Chanel s vůní hřebíčku [43]



Obrázek 26: Zubní pasta Kan Plu s obsahem hřebíčkového oleje [43]

Pro své typické aroma má hřebíček schopnost účinně odpuzovat komáry a je považován za středně odolný repelent. Také se osvědčil jako účinný insekticid při likvidaci švábů [88].

5.2.3 POTRAVINÁŘSTVÍ

Mletý i celý hřebíček má velké využití v potravinářství ke zvýraznění chuti masa a rýžových pokrmů a jsou běžnou součástí kari a masaly. I hřebíčkový olej je hojně využíván k ochucení různých potravin, včetně masa, uzenin, pečiva, sladkostí, omáček, nakládané zeleniny a dalších. Hřebíček je jedním z koření, které lze využít i jako konzervační látku v různých potravinách, především při zpracování masa, s cílem nahradit chemické konzervační látky vzhledem k jeho antioxidačním a antimikrobiálním vlastnostem [6, 17]. Příkladem využití hřebíčku v potravinách je Fríský sýr na Obr. 27.



Obrázek 27: Fríský hřebíčkový sýr [10]

Hřebíčkový esenciální olej se používá také jako přírodní barvivo a je prospěšný v aktivním balení. Byly vyvinuty nové ekologické obalové materiály z přírodních látek, které mají prodloužit životnost potravin a chránit je před škodlivými mikroorganismy. Přidání esenciálních olejů do těchto obalů má za úkol nejen změnit vlastnosti obalového materiálu, ale také chránit potraviny před bakteriemi [28, 41].

5.2.4 ZEMĚDĚLSTVÍ

Zvířata chovaná pro hospodářské účely významně přispívají k emisím metanu a amoniaku, které vznikají během mikrobiální fermentace v jejich bachech. Tento proces má za následek ztrátu energie a bílkovin a negativně ovlivňuje efektivitu využití krmiva a životní prostředí. Rostlinné extrakty, včetně oleje z pupenů hřebíčkového stromu a extraktů z hřebíčku, byly zkoumány jako možné přísady do krmiv s cílem omezit tvorbu metanu během fermentace v bacheru [89].

Hřebíček je často používán v krmivech pro drůbež ke zvýšení efektivity přeměny krmiva a snížení nákladů. Také může fungovat jako stimulant růstu a zlepšit přírůstek tělesné hmotnosti u zvířat [90].

5.2.5 TABÁKOVÉ VÝROBKY

V Evropě a Asii je rozšířené užívání hřebíčkového oleje v cigaretách, v Indonésii známých jako kretek (Obr. 28). Na Západě v kavárnách je často přidáván do jointů s marihuanou [17].



Obrázek 28: Výroba kretek na tradičním válcovacím stroji [10]

ZÁVĚR

Hřebíček, známý také jako *Syzygium aromaticum*, a jeho hlavní bioaktivní složka eugenol, vykazují významnou biologickou aktivitu, která podporuje jejich potenciál v různých aplikacích v potravinářství, medicíně a dalších oborech. Výzkumy potvrzují, že hřebíček disponuje silnými antioxidačními a antimikrobiálními vlastnostmi, které převyšují mnoho jiných rostlinných zdrojů, a to z něj činí cenný přírodní konzervant a zdroj zdraví prospěšných látek.

Antimikrobiální aktivita hřebíčku je podpořena přítomností sekundárních metabolitů jako jsou flavonoidy, eugenol a kyselina gallová. Tyto látky prokázaly účinnost proti širokému spektru bakterií, plísní a kvasinek, včetně patogenů jako *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* a *Bacillus cereus*. Hřebíček rovněž inhibuje růst gramnegativních bakterií jako *Salmonella* a *Pseudomonas aeruginosa*, a také různých plísní.

Výzkumy rovněž odhalily antivirové účinky hřebíčkového oleje, který je účinný proti virům jako Ebola, chřipka A a herpes simplex. Významným objevem je také potenciál eugenolu v boji proti viru dengue a SARS-CoV-2, což otevírá možnosti pro vývoj nových antivirových. Antidiabetické účinky eugenolu jsou spojeny s jeho schopností regulovat metabolismus glukózy a inhibovat enzymy podílející se na jejím trávení.

Protizánětlivé vlastnosti hřebíčku byly prokázány snížením produkce zánětlivých mediátorů, což je důležité pro léčbu chronických zánětlivých onemocnění, jako je artritida či revmatismus. Jeho anestetické a analgetické účinky jsou důležité při léčbě bolesti zubů a kloubů.

Významnou roli hraje hřebíček také v boji proti rakovině, kdy jeho esenciální olej prokazuje cytotoxické účinky na různé rakovinné buňky. Díky své antioxidační aktivitě hřebíček chrání buňky před oxidačním stresem a zabraňuje vzniku degenerativních onemocnění jako jsou Alzheimerova a Parkinsonova choroba.

Ačkoli je hřebíček hojně využíván jako koření, široká veřejnost nezná jeho zdravotní přínosy. Větší povědomí by mohlo vést k širšímu využití hřebíčku nejen v kuchyni, ale i v přírodní medicíně. Biologické účinky naznačují možnost vývoje nových léčiv pro lidi a zvířata, proto je důležité zvýšit informovanost prostřednictvím vzdělávacích kampaní a zdravotnických doporučení.

Zjištění ze studií ukazuje, že hřebíčkový esenciální olej je bezpečný v určitých dávkách, jak stanovuje WHO, ale vyšší konzumace může vést k zdravotním komplikacím. Pro lepší porozumění účinků hřebíčku na lidské zdraví jsou nezbytné další studie, provedené jak *in vitro*, tak *in vivo*.

POUŽITÁ LITERATURA

- [1] RAMADAN, M. Chapter 1 - Introduction to clove: chemistry, functionality, and techno-applications. *Clove (Syzygium aromaticum)*. 2022, 1-8. ISBN 978-0-323-85177-0. DOI: <https://doi.org/10.1016/B978-0-323-85177-0.00003-3>.
- [2] SCHMID, R. *Floral anatomy of Eugenia sensu lato (Myrtaceae)*. Dissertations & Theses. Michigan: University of Michigan, 1971. Dostupné z: <https://www.proquest.com/openview/a5cb4156d1733f3f6ac1d50207866b45/1?pq-origsite=gscholar&cbl=18750&diss=y>
- [3] RANGHOO-SANMUKHIYA, V.; CHELLAN, Y.; GOVINDEN – SOULANGE, J.; LAMBRECHTS, I.; STAPELBERG, J.; CRAMPTON, B a LALL, N. Biochemical and phylogenetic analysis of *Eugenia* and *Syzygium* species from Mauritius. *Journal of Applied Research on Medicinal and Aromatic Plants*. 2019, **12**, 21-29. ISSN 2214-7861. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jarmap.2018.10.004>.
- [4] KHAN, S. Origin, taxonomy, and benefits of *Syzygium aromaticum*. *Authorea Preprints*. 2022, 1-15. Dostupné z: https://d197for5662m48.cloudfront.net/documents/publicationstatus/91836/preprint_pdf/3e6d567e3b3682b5686624437285730b.pdf
- [5] NURDJANNAH, N. a BERMAWIE, N. 11 - Cloves. *Handbook of herbs and spices*. 2012, **1**(2), 197-215. ISBN 9780857090393. DOI: <https://doi.org/10.1533/9780857095671.197>.
- [6] EL-SABER BATIHA, G.; ALKAZMI, L.; WASEF, L.; BESHBIHY, A.; NADWA, E. a RASHWAN, E. *Syzygium aromaticum L. (Myrtaceae)*: Traditional uses, bioactive chemical constituents, pharmacological and toxicological activities. *Biomolecules*. 2020, **10**(2), p. 202. ISSN 2218-273X. DOI: <https://doi.org/10.3390/biom10020202>.
- [7] SHARADA, R. a LALITHA, B. Lavanga (*Syzygium aromaticum linn.*) - a spicy boon. *Ayurpub*. 2017, **2**(4), 575-581. ISSN 2456-0170. Dostupné z: <https://ayurpub.com/wp-content/uploads/2016/08/575-581.pdf>
- [8] BHOWMIK, D.; KUMAR, K. P. S.; YADAV, A.; SRIVASTAVA, S.; PASWAN, S. a DUTTA, S. A. Recent trends in Indian traditional herbs *Syzygium aromaticum* and its health benefits. *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*. 2012, **1**(1), 13-22. ISSN 2278- 4136. Dostupné z:

<https://www.phytojournal.com/archives?year=2012&vol=1&issue=1&ArticleId=3&si=false>

- [9] MICHALEC, Z. *Člověk a rostliny*. 1. Praha: Práce, 1977. ISBN 24-110-77.
- [10] CHAROONRATANA, T. Chapter 2 - Composition of clove (*Syzygium aromaticum*) buds. *Clove (Syzygium aromaticum)*. 2022, 11-35. ISBN: 978-0-323-85177-0. DOI: <https://doi.org/10.1016/B978-0-323-85177-0.00004-5>.
- [11] AYUSHI, M.; KHAN, U.; DANISH, S.; MOHAMMAD a PARVEEN, U. A review on biological and therapeutic uses of *Syzygium aromaticum* Linn. (Clove): Based on phyto-chemistry and pharmacological evidences. *International Journal of Botany Studies*. 2020, **5**(4), 33-39. ISSN 2455541X. Dostupné z: <https://www.botanyjournals.com/assets/archives/2020/vol5issue4/5-3-115-340.pdf>
- [12] DANTHU, P.; SIMANJUNTAK, R.; FAWBUSH, F.; LEONG POCK TSY, J. M. a RAZAFIMAMONJISON, G. The clove tree and its products (clove bud, clove oil, eugenol): prosperous today but what of tomorrow's restrictions? *Fruits*. 2020, **75**(5), 224-242. ISSN 0248-242. DOI: <https://doi.org/10.17660/th2020/75.5.5>.
- [13] KAUR, K. a KAUSHAL, S. Phytochemistry and pharmacological aspects of *Syzygium aromaticum*: A review. *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*. 2019, **8**(1), 398-406. ISSN 2278-4136. Dostupné z: https://www.phytojournal.com/archives/2019/vol8issue1/PartG/7-6-164-236.pdf?fbclid=IwAR3IOoXMshM42HTu8q_frS5pVqySegW2zeuRIcZRVL_KAg3BTSFkjk-Wpc
- [14] LIÑÁN-ATERO, R.; AGHABABAEI, F.; GARCÍA, S.R.; HASIRI, Z.; ZIOGKAS, D. et al. Clove essential oil: chemical profile, biological activities, encapsulation strategies, and food applications. *Antioxidants*. 2024, **13**(4), 488. DOI: <https://doi.org/10.3390/antiox13040488>.
- [15] VICIDOMINI, C.; ROVIELLO, V. a ROVIELLO, G. N. Molecular basis of the therapeutical potential of clove (*Syzygium aromaticum* L.) and clues to its anti-COVID-19 utility. *Molecules*. 2021, **26** (7), 1880. DOI: <https://doi.org/10.3390/molecules26071880>.
- [16] ABDULAMEED, H.; OJOMU, O. a FAJINMI, I. Comparative study on proximate analysis of *Syzygium aromaticum* bud and *Hunteria umbellata* seed in management of diabetes mellitus. *International Journal of Chemistry Studies*. 2022, **6**(1), 26-28. ISSN 2581-348X. Dostupné z: <https://www.chemistryjournal.in/assets/archives/2022/vol6issue1/6-1-17-127.pdf>

- [17] MITTAL, M.; GUPTA, N.; PARASHAR, P.; MEHRA, V. a KHATRI, M. Phytochemical evaluation and pharmacological activity of *Syzygium aromaticum*: a comprehensive review. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*. 2014, **6**(8), 67-72. ISSN 0975-1491. Dostupné z: https://journals.innovareacademics.in/index.php/ijpps/article/view/2055/pdf_8
- [18] CORTÉS-ROJAS, D.; FERNANDES DE SOUZA, C. a OLIVEIRA, W. Clove (*Syzygium aromaticum*): a precious spice. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*. 2014, **4**(2), 90-96. ISSN 2221-1691. DOI: [https://doi.org/10.1016/S2221-1691\(14\)60215-X](https://doi.org/10.1016/S2221-1691(14)60215-X).
- [19] KAUR, D. a CHANDRUL, K. *Syzygium aromaticum* L. (Clove): A vital herbal drug used in periodontal disease. *Indian Journal of Pharmaceutical and Biological Research (IJPBR)*. 2017, **5**(2), 45-51. ISSN 2320-9267. Dostupné z: <http://www.ijpbr.in/index.php/IJPBR/article/view/672/566>
- [20] SHARMA, A.; BHARDWAJ, G.; SOHAL, H. a GOHAIN, A. Chapter 9 - Eugenol. *Nutraceuticals and Health Care*. 2022, 177-198. ISBN: 978-0-323-89779-2. DOI: <https://doi.org/10.1016/B978-0-323-89779-2.00007-7>.
- [21] ULANOWSKA, M. a OLAS, B. Biological properties and prospects for the application of Eugenol—A Review. *International Journal of Molecular Sciences*. 2021, **22** (7), 3671. DOI: <https://doi.org/10.3390/ijms22073671>
- [22] YUWONO, M.; SISWANDONO; HAFID, A.; POERNOMO, A.; AGIL, M.; INDRAYANTO, G. a EBEL, S. Eugenol. *Analytical Profiles of Drug Substances and Excipients*. 2002, **29**, 149-177. ISSN 1075-6280. DOI: [https://doi.org/10.1016/S1075-6280\(02\)29006-0](https://doi.org/10.1016/S1075-6280(02)29006-0).
- [23] FROHLICH, P.; SANTOS, K.; PALÚ, F.; CARDOZO-FILHO, L.; DA SILVA, C. a DA SILVA, E. Evaluation of the effects of temperature and pressure on the extraction of eugenol from clove (*Syzygium aromaticum*) leaves using supercritical CO₂. *The Journal of Supercritical Fluids*. 2019, **143**, 313-320. ISSN 0896-8446. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.supflu.2018.09.009>.
- [24] National Center for Biotechnology Information. "PubChem Compound Summary for CID 3314, Eugenol" *PubChem*, <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Eugenol>. Accessed 23 June, 2024.
- [25] EUROPEAN FOOD SAFETY AUTHORITY (EFSA). Flavouring Group Evaluation 60 (FGE.60): Consideration of eugenol and related hydroxyallylbenzene derivatives evaluated by JECFA (65th meeting) structurally related to ring-

- substituted phenolic substances evaluated by EFSA in FGE.22 (2006). *EFSA Journal*. 2009, 7 (2), 965. DOI: <https://doi.org/10.2903/j.efsa.2009.965>.
- [26] LAROQUE, D.; LOSS, R.; SILVA, M.; PEREIRA, G.; VALERIO, A. et al. Synthesis of eugenyl acetate in solvent-free acetylation: process optimization and kinetic evaluation. *Journal of Chemical Engineering & Process Technology*. 2015, 6 (4), 1-9. ISSN: 2157-7048. DOI: <https://doi.org/10.4172/2157-7048.1000247>.
- [27] MANN, B.; ATHIRA B, R.; KUMAR A, R. a SHARMA, R. Chapter 7 - Chemistry and functionality of clove oil nanoemulsions. *Clove (Syzygium aromaticum) Chemistry, Functionality and Applications*. 2022, 81-101. ISBN: 978-0-323-85177-0. DOI: <https://doi.org/10.1016/B978-0-323-85177-0.00012-4>.
- [28] HARO-GONZÁLEZ, J.N.; CASTILLO-HERRERA, G.A.; MARTÍNEZ-VELÁZQUEZ, M. a ESPINOSA-ANDREWS, H. Clove essential oil (*Syzygium aromaticum* L. *Myrtaceae*): extraction, chemical composition, food applications, and essential bioactivity for human health. *Molecules*. 2021, 26 (21), 6387. DOI: <https://doi.org/10.3390/molecules26216387>.
- [29] MUSTHAFA, K.S.; HMOTEH, J.; THAMJARUNGWONG, B. a VORAVUTHIKUNCHAI, S.P. Antifungal potential of eugenyl acetate against clinical isolates of *Candida* species. *Microbial Pathogenesis*. 2016, 99, 19-29. ISSN 0882-4010. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.micpath.2016.07.012>.
- [30] FIDYT, K.; FIEDOROWICZ, A.; STRZAŁA, L. a SZUMNY, A. β -caryophyllene and β -caryophyllene oxide—natural compounds of anticancer and analgesic properties. *Cancer Medicine*. 2016, 5 (10), 3007-3017. DOI: <https://doi.org/10.1002/cam4.816>.
- [31] EFSA PANEL ON FOOD CONTACT MATERIALS, ENZYMES, FLAVOURINGS AND PROCESSING AIDS (CEF). Scientific opinion on flavouring group evaluation 78, revision 2 (FGE.78Rev2): consideration of aliphatic and alicyclic and aromatic hydrocarbons evaluated by JECFA (63rd meeting) structurally related to aliphatic hydrocarbons evaluated by EFSA in FGE.25Rev3. *EFSA Journal*. 2015, 13 (4), 4067. DOI: <https://doi.org/10.2903/j.efsa.2015.4067>.
- [32] SANTOS, N.A.G.; SISTI, F.M.; FERNANDES, L.S.; FERREIRA, R.S.; DE FREITAS, O. et al. The cannabinoid beta-caryophyllene (BCP) induces neuritogenesis in PC12 cells by a cannabinoid-receptor-independent mechanism. *Chemico-Biological Interactions*. 2017, 261, 86-95. ISSN 0009-2797. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.cbi.2016.11.015>.

- [33] National Center for Biotechnology Information. "PubChem Compound Summary for CID 5281520, Humulene" *PubChem*, <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Humulene>. Accessed 9 June, 2024.
- [34] GOVINDARAJAN, M. a BENELLI, G. A-Humulene and β -elemene from *Syzygium zeylanicum* (*Myrtaceae*) essential oil: highly effective and eco-friendly larvicides against *Anopheles subpictus*, *Aedes albopictus*, and *Culex tritaeniorhynchus* (Diptera: Culicidae). *Parasitology Research*. 2016, **115**, 2771–2778. DOI: <https://doi.org/10.1007/s00436-016-5025-2>.
- [35] AZIZ, A. H. A.; RIZKIYAH, D. N.; QOMARIYAH, L.; IRIANTO, I.; CHE YUNUS, M. A. et al. Unlocking the full potential of clove (*Syzygium aromaticum*) spice: An overview of extraction techniques, bioactivity, and future opportunities in the food and beverage industry. *Processes*. 2023, **11** (8), 2453. DOI: <https://doi.org/10.3390/pr11082453>.
- [36] TOMAS, A.; MAROYI, A.; CHEIKHYOUSSEF, N.; HUSSEIN, A. A. a CHEIKHYOUSSEF, A. Chapter 37 - Health-promoting activities of clove (*Syzygium aromaticum*) extracts. *Clove (Syzygium aromaticum): Chemistry, Functionality and Applications*. 2022, 619-637. ISBN: 978-0-323-85177-0. DOI: <https://doi.org/10.1016/B978-0-323-85177-0.00018-5>.
- [37] RAJA, M.R.C; SRINIVASAN, V.; SELVARAJ, S. a MAHAPATRA, S.K. Versatile and synergistic potential of eugenol: A Review. *Pharmaceutica Analytica Acta*. 2015, **6** (5), 1-6. ISSN 2153-2435. DOI: <https://doi.org/10.4172/2153-2435.1000367>.
- [38] RANA, I. S.; RANA, A. S. a RAJAK, R. Ch. Evaluation of antifungal activity in essential oil of the *Syzygium aromaticum* (*L.*) by extraction, purification and analysis of its main component eugenol. *Brazilian Journal of Microbiology*. 2011, **42** (4), 1269-1277. ISSN 1517-8382. DOI: <https://doi.org/10.1590/S1517-83822011000400004>.
- [39] NISAR, M. F.; KHADIM, M.; RAFIQ, M.; CHEN, J.; YANG, Y. et al. Pharmacological properties and health benefits of eugenol: A comprehensive review. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*. 2021, **2021** (1), 1-14. DOI: <https://doi.org/10.1155/2021/2497354>.
- [40] CARVALHO, R. P. R.; ALMEIDA LIMA, G. D. a MACHADO-NEVES, M. Effect of eugenol treatment in hyperglycemic murine models: A meta-analysis. *Pharmacological Research*. 2021, **165**, 105315. ISSN 1043-6618. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.phrs.2020.105315>.

- [41] PANDEY, V. K.; SRIVASTAVA, S.; ASHISH; DASH, K. K.; SINGH, R. et al. Bioactive properties of clove (*Syzygium aromaticum*) essential oil nanoemulsion: A comprehensive review. *Heliyon*. 2024, **10** (1), e22437. ISSN 2405-8440. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2023.e22437>.
- [42] NIRMALA, M. J.; DURAI, L.; GOPAKUMAR, V. a NAGARAJAN, R. Anticancer and antibacterial effects of a clove bud essential oil-based nanoscale emulsion system. *International Journal of Nanomedicine*. 2019, **14**, 6439-6450. DOI: <https://doi.org/10.2147/IJN.S211047>.
- [43] CHAROONRATANA, T. Chapter 9 - Clove (*Syzygium aromaticum*) volatiles. *Clove (Syzygium aromaticum) Chemistry, Functionality and Applications*. 2022, 117-174. ISBN: 978-0-323-85177-0. DOI: <https://doi.org/10.1016/B978-0-323-85177-0.00022-7>.
- [44] POLJSAK, B.; KOVAČ, V. a MILISAV, I. Antioxidants, food processing and health. *Antioxidants*. 2021, **10** (3), 433. DOI: <https://doi.org/10.3390/antiox10030433>.
- [45] TELES, A. M.; SILVA-SILVA, J. V.; FERNANDES, J. M. P.; ABREU-SILVA, A. L.; SILVA CALABRESE, K. et al. GC-MS characterization of antibacterial, antioxidant, and antitrypanosomal activity of *Syzygium aromaticum* essential oil and eugenol. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*. 2021, **2021** (1), 12. DOI: <https://doi.org/10.1155/2021/6663255>.
- [46] ZARI, A. T.; ZARI, T. A. a HAKEEM, K. R. Anticancer properties of eugenol: A review. *Molecules*. 2021, **26** (23), 7407. DOI: <https://doi.org/10.3390/molecules26237407>.
- [47] KULMA, M.; ALLEN, K. C.; KOLESKA, D.; BUBOVÁ, T.; ŠEVČÍK, V. et al. Laboratory evaluation of repellency of traditional Czech homemade repellents against *Aedes aegypti*. *Epidemiologie, mikrobiologie, imunologie: časopis Společnosti pro epidemiologii a mikrobiologii České lékařské společnosti J.E. Purkyně*. 2018, **67** (3), s. 129-133. Dostupné z: <https://www.prolekare.cz/casopisy/epidemiologie/2018-3-26/laboratorni-hodnoceni-ucinnosti-tradicnich-ceskych-domacich-repelentu-proti-aedes-aegypti-106824/download?hl=cs>.
- [48] GARG, A. K.; PANWAR, N. a SINGH, Ch. Evaluation of analgesic activity of *Syzygium aromaticum* W.S.R. to painful tooth. *World Journal of Pharmaceutical Research*. 2018, **7** (4), 827-834. DOI: <https://doi.org/10.20959/wjpr20185-11212>.

- [49] MOHAMMADI NEJAD, S.; ÖZGÜNEŞ, H. a BAŞARAN, N. Pharmacological and toxicological properties of eugenol. *Turkish Journal of Pharmaceutical Sciences* 2017, **14** (2), 201–206. DOI: <https://doi.org/10.4274/tjps.62207>.
- [50] ÖZBEK, Z. A a ERGÖNÜL, P. G. Chapter 17 - Clove (*Syzygium aromaticum*) and eugenol toxicity. *Clove (Syzygium aromaticum) Chemistry, Functionality and Applications*. 2022, 267–314. ISBN: 978-032385177-0, 978-032388551-5. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/B978-0-323-85177-0.00029-X>.
- [51] URSO, R.; BLARDI, P. a GIORGI, G. A short introduction to pharmacokinetics. *European Review for Medical and Pharmacological Sciences*. 2002, **6**, 33-44. Dostupné z: <https://www.europeanreview.org/wp/wp-content/uploads/6.pdf>.
- [52] ALAMGIR, A. N. M. Herbal drugs: Their collection, preservation, and preparation; evaluation, quality control, and standardization of herbal drugs. *Therapeutic Use of Medicinal Plants and Their Extracts: Volume 1*. 2017, **73**, 453–495. DOI: https://doi.org/10.1007/978-3-319-63862-1_10.
- [53] CHALIK, F. A. a AL MAKI, W. F. Classification of dried clove flower quality using convolutional neural network. *International Conference on Data Science, Artificial Intelligence, and Business Analytics (DATABIA)*. 2021, 40-45. Dostupné z: <https://doi.org/10.1109/DATABIA53375.2021.9650199>.
- [54] NAZIELLA, N.; TAURINA, W. a ANDRIE, M. Characterization of the manufacturing process simplicia *Syzygium aromaticum* as raw material for wound healing drug preparations. *Journal Syifa Sciences and Clinical Research (JSSCR)*. 2022, **4** (2), 354-362. ISSN 2656-9612. DOI: <https://doi.org/10.37311/jsscr.v4i2.14184>.
- [55] DEWANTI, B. S. D.; ISMAIL, A. F.; YULIAN, E. a ADESTA, T. Alternative drying methods to improve the quality of dried cloves. *Test Engineering and Management. TEST*. 2020, **83**, 6928-6939. ISSN: 0193-4120. Dostupné z: <https://www.testmagzine.biz/index.php/testmagzine/article/view/8614/6517>.
- [56] IDOWU, S.; ADEKOYA, A. E.; IGIEHON, O. O. a IDOWU, A. T. Clove (*Syzygium aromaticum*) spices: a review on their bioactivities, current use, and potential application in dairy products. *Journal of Food Measurement and Characterization*. 2021, **15**, 3419–3435. DOI: <https://doi.org/10.1007/s11694-021-00915-9>.

- [57] KAPADIYA, S. M.; PARIKH, J. a DESAI, M. A. A greener approach towards isolating clove oil from buds of *Syzygium aromaticum* using microwave radiation. *Industrial Crops and Products*. 2018, **112**, 626-632. ISSN 0926-6690. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2017.12.060>.
- [58] YANG, Y.; WEI, M. a HONG, S. Ultrasound-assisted extraction and quantitation of oils from *Syzygium aromaticum* flower bud (clove) with supercritical carbon dioxide. *Journal of Chromatography A*. 2014, **1323**, 18-27. ISSN: 0021-9673. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2013.10.098>.
- [59] JADHAV, J. J.; JADEJA, G. C. a DESAI, M. A. Chapter 28 - Effect of extraction techniques on the yield, composition, and quality of clove (*Syzygium aromaticum*) essential oil. *Clove (Syzygium aromaticum) Chemistry, Functionality and Applications*. 2022, 485-500. ISBN: 978-0-323-85177-0. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/B978-0-323-85177-0.00027-6>.
- [60] MASANGO, P. Cleaner production of essential oils by steam distillation. *Journal of Cleaner Production*. 2005, **13** (5), 833-839. ISSN: 0959-6526. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2004.02.039>.
- [61] AYUB, M. A.; GOKSEN, G.; FATIMA, A.; ZUBAIR, M.; ABID, M. A. et al. Comparison of conventional extraction techniques with superheated steam distillation on chemical characterization and biological activities of *Syzygium aromaticum L.* essential oil. *Separations*. 2023, **10** (1), 27. DOI: <https://doi.org/10.3390/separations10010027>.
- [62] CASTRO, M. D. L.; CARMONA, M. M. J. a PÉREZ, V. F. Towards more rational techniques for the isolation of valuable essential oils from plants. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*. 1999, **18** (11), 708-716. ISSN: 0165-9936. DOI: [https://doi.org/10.1016/S0165-9936\(99\)00177-6](https://doi.org/10.1016/S0165-9936(99)00177-6).
- [63] ŠTĚPÁNOVÁ, L. *Odkud pocházejí*. Online. In: Studio dešťové kapky. 2020. Dostupné z: <https://www.destova-kapka.cz/odkud-pochazeji/>.
- [64] SAMADI, M.; ABIDIN, Z. Z.; YUNUS, R.; BIAK, D. R. A.; YOSHIDA, H. et al. Assessing the kinetic model of hydro-distillation and chemical composition of *Aquilaria malaccensis* leaves essential oil. *Chinese Journal of Chemical Engineering*. 2017, **25** (2), 216-222. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.cjche.2016.09.006>.
- [65] FAGBEMI, K. O.; AINA, D. A. a OLAJUYIGBE, O. O. Soxhlet extraction versus hydrodistillation using the cleverger apparatus: A comparative study on the

- extraction of a volatile compound from tamarindus indica seeds. *The Scientific World Journal*. 2021, **2021** (1), 8. DOI: <https://doi.org/10.1155/2021/5961586>.
- [66] CASTRO, M. D. L. a GARCÍA-AYUSO, L. E. Soxhlet extraction of solid materials: an outdated technique with a promising innovative future. *Analytica Chimica Acta*. 1998, **369** (1-2), 1-10. DOI: [https://doi.org/10.1016/S0003-2670\(98\)00233-5](https://doi.org/10.1016/S0003-2670(98)00233-5).
- [67] HAQUE, M. a ABUBAKAR, A. R. Preparation of medicinal plants basic extraction and fractionation procedures for experimental purposes. *Journal of Pharmacy And Bioallied Sciences*. 2020, **12** (1), 1-10.
DOI: https://doi.org/10.4103/jpbs.JPBS_175_19.
- [68] CASTRO, M. D. L. a PRIEGO-CAPOTE, F. Soxhlet extraction: Past and present panacea. *Journal of Chromatography A*. 2010, **1217** (16), 2383-2389.
DOI: <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2009.11.027>.
- [69] ANTITECK LIFE SCIENCES LIMITED. *Soxhletiv ekstraktor*. Online. In: AntiTeck Life Sciences. Dostupné z: <https://antiteck.com/cs/Soxhlet%C5%AFv-extraktor-2/>.
- [70] JAFARI, R.; ZANDI, M. a GANJLOO, A. Effect of ultrasound and microwave pretreatments on extraction of anise (*Pimpinella anisum L.*) seed essential oil by ohmic-assisted hydrodistillation. *Journal of Applied Research on Medicinal and Aromatic Plants*. 2022, **31**, 100418.
DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jarmap.2022.100418>.
- [71] LUCCHESI, M. E.; CHEMAT, F. a SMADJA, J. Solvent-free microwave extraction of essential oil from aromatic herbs: comparison with conventional hydro-distillation. *Journal of Chromatography A*. 2004, **1043** (2), 323-327.
DOI: <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2004.05.083>.
- [72] WENQIANG, G.; SHUFEN, L.; RUIXIANG, Y.; SHAOKUN, T. a CAN, Q. Comparison of essential oils of clove buds extracted with supercritical carbon dioxide and other three traditional extraction methods. *Food Chemistry*. 2007, **101** (4), 1558-1564. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2006.04.009>.
- [73] AHANGARI, H.; KING, J. W.; EHSANI, A. a YOUSEFI, M. Supercritical fluid extraction of seed oils – A short review of current trends. *Trends in Food Science & Technology*. 2021, **111**, 249-260. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2021.02.066>.
- [74] GAVAHIAN, M. a FARAHNKY, A. Ohmic-assisted hydrodistillation technology: A review. *Trends in Food Science & Technology*. 2018, **72**, 153-161.
DOI: <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2017.12.014>.

- [75] GAVAHIAN, M.; SASTRY, S.; FARHOOSH, R. a FARAHNAKY, A. Chapter Six – Ohmic heating as a promising technique for extraction of herbal essential oils: Understanding mechanisms, recent findings, and associated challenges. *Advances in Food and Nutrition Research*. 2020, **91**, 227-273.
DOI: <https://doi.org/10.1016/bs.afnr.2019.09.001>.
- [76] TUNÇ, M. T. a KOCA, İ. Ohmic heating assisted hydrodistillation of clove essential oil. *Industrial Crops and Products*. 2019, **141**, 111763.
DOI: <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2019.111763>.
- [77] KARAMI, P.; ZANDI, M. a GANJLOO, A. Evaluation of key parameters during ohmic-assisted hydro-distillation of essential oil from aerial part of yarrow (*Achillea millefolium L.*). *Journal of Applied Research on Medicinal and Aromatic Plants*. 2022, **31**, 100425. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jarmap.2022.100425>.
- [78] GAVAHIAN, M.; FARHOOSH, R.; JAVIDNIA, K.; SHAHIDI, F. a FARAHNAKY, A. Effect of applied voltage and frequency on extraction parameters and extracted essential oils from *Mentha piperita* by ohmic assisted hydrodistillation. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*. 2015, **29**, 161-169. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ifset.2015.02.003>.
- [79] RADÜNZ, M.; TRINDADE, M. L. M.; CAMARGO, T. M.; RADÜNZ, A. L.; BORGES, C. D. et al. Antimicrobial and antioxidant activity of unencapsulated and encapsulated clove (*Syzygium aromaticum, L.*) essential oil. *Food Chemistry*. 2019, **276**, 180-186. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2018.09.173>.
- [80] ÖZDIKICIERLER, O. a ERGÖNÜL, P. G. Chapter 30 - Encapsulation of clove (*Syzygium aromaticum*) essential oil. *Clove (Syzygium aromaticum) Chemistry, Functionality and Applications*. 2022, 517-530. ISBN: 978-0-323-85177-0.
DOI: <https://doi.org/10.1016/B978-0-323-85177-0.00028-8>.
- [81] PURWANTI, N.; ZEHN, A. S.; PUSFITASARI, E. D.; KHALID, N.; FEBRIANTO, E. Y. et al. Emulsion stability of clove oil in chitosan and sodium alginate matrix. *International Journal of Food Properties*. 2018, **21** (1), 566-581.
DOI: <https://doi.org/10.1080/10942912.2018.1454946>.
- [82] SEBAALY, C.; HAYDAR, S. a GREIGE-GERGES, H. Eugenol encapsulation into conventional liposomes and chitosan-coated liposomes: A comparative study. *Journal of Drug Delivery Science and Technology*. 2022, **67**, 102942.
DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jddst.2021.102942>.

- [83] RODRÍGUEZ, J. D. W.; PEYRON, S.; RIGOU, P. a CHALIER, P. Rapid quantification of clove (*Syzygium aromaticum*) and spearmint (*Mentha spicata*) essential oils encapsulated in a complex organic matrix using an ATR-FTIR spectroscopic method. *Plos one*. 2018, **13** (11), 1-17.
DOI: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0207401>.
- [84] JADHAV, J. J.; JADEJA, G. C. a DESAI, M. A. Ultrasound-assisted hydrodistillation for extraction of essential oil from clove buds – A step towards process improvement and sustainable outcome. *Chemical Engineering and Processing - Process Intensification*. 2023, **189**, 109404.
DOI: <https://doi.org/10.1016/j.cep.2023.109404>.
- [85] PATEL, U. D.; SHAH, F. C. a JAIN, N. K. Hepatoprotective effect of methanolic extract of *Syzygium aromaticum* against hydralazine induced toxicity: An In vitro study. *The Pharma Innovation Journal*. 2019, **8** (6), 537-541. Dostupné z: <https://www.thepharmajournal.com/archives/2019/vol8issue6/PartJ/8-6-25-316.pdf>.
- [86] KUMADOH, D. a OFORI-KWAKYE, K. Dosage forms of herbal medicinal products and their stability considerations – an overview. *Journal of Critical Reviews*. 2017, **4** (4), 1-8. DOI: <https://doi.org/10.22159/jcr.2017v4i4.16077>.
- [87] ARUNG, E. T.; MATSUBARA, E.; KUSUMA, I. W.; SUKATON, E.; SHIMIZU, K. et al. Inhibitory components from the buds of clove (*Syzygium aromaticum*) on melanin formation in B16 melanoma cells. *Fitoterapia*. 2011, **82** (2), 198-202.
DOI: <https://doi.org/10.1016/j.fitote.2010.09.008>.
- [88] SHEIKH, Z.; AMANI, A.; BASSERI, H. R.; KAZEMI, S. H. M.; SEDAGHAT, M. M. et al. Repellent efficacy of *Eucalyptus globulus* and *Syzygium aromaticum* essential oils against malaria vector, *Anopheles stephensi* (Diptera: Culicidae). *Iran J Public Health*. 2021, **50** (8), 1668–1677.
DOI: <https://doi.org/10.18502/ijph.v50i8.6813>.
- [89] SAEED, M.; KHAN, M. S.; ALAGAWANY, M.; FARAG, M. R.; ALQAISI, O. et al. Clove (*Syzygium aromaticum*) and its phytochemicals in ruminant feed: an updated review. *Rendiconti Lincei. Scienze Fisiche e Naturali*. 2021, **32**, 273–285.
DOI: <https://doi.org/10.1007/s12210-021-00985-3>.
- [90] MANDEY, J. S. Chapter 15 - Clove (*Syzygium aromaticum*) in poultry feed. *Clove (Syzygium aromaticum) Chemistry, Functionality and Applications*. 2022, 235-255. ISBN: 978-0-323-85177-0. DOI: <https://doi.org/10.1016/B978-0-323-85177-0.00015-X>.