

Antibakteriální účinnost esenciálních olejů získaných z rostlin *Eucalyptus* a *Mentha*

Vladěna Žajdlíková

Bakalářská práce
2013



Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně
Fakulta technologická

Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně
Fakulta technologická
Ústav technologie tuků, tenzidů a kosmetiky
akademický rok: 2012/2013

ZADÁNÍ BAKALÁŘSKÉ PRÁCE

(PROJEKTU, UMĚLECKÉHO DÍLA, UMĚLECKÉHO VÝKONU)

Jméno a příjmení: **Vladěna ŽAJDLÍKOVÁ**
Osobní číslo: **T10768**
Studijní program: **B2901 Chemie a technologie potravin**
Studijní obor: **Technologie výroby tuků, kosmetiky a detergentů**
Forma studia: **prezenční**

Téma práce: **Antibakteriální účinnost esenciálních olejů získaných z rostlin rodu Eucalyptus a Mentha**

Zásady pro vypracování:

I. Teoretická část

1. V teoretické části vypracujte literární rešerši na zadané téma.
2. Věnujte se chemické struktuře esenciálních olejů, jejich vlastnostem a využití.
3. Dále se zaměřte na antimikrobiální účinky esenciálních olejů, zejména pak olejů získaných z rostlin rodu Eucalyptus a Mentha.

II. Praktická část

1. V praktické části sledujte antibakteriální účinky esenciálních olejů získaných z různých druhů rostlin rodu Eucalyptus a Mentha.
2. Testování provedte difúzní diskovou metodou.
3. Získané výsledky vzájemně porovnejte a zhodnoťte, zda se antibakteriální účinnost esenciálních olejů získaných z jednoho rodu rostliny liší v závislosti na konkrétním druhu.

Rozsah bakalářské práce:

Rozsah příloh:

Forma zpracování bakalářské práce: **tištěná/elektronická**

Seznam odborné literatury:

1. BASER, K. H. C., BUCHBAUER, G. Handbook of Essential Oils: Science, Technology, and Applications. 1 st ed. Boca Raton: CRC Press, 2010. 975 p. ISBN 978-1-4200-6315-8.
2. BERGER, R. G. Flavours and Fragrances: Chemistry, Bioprocessing and Sustainability. 1 st ed. Heidelberg: Springer, 2007. 648 p. ISBN 978-3-540-49338-9.
3. BAKKALI, F., AVERBECK, S., IDAOMAR, M. Biological effects of essential oils - A review. Food and Chemical Toxicology. 2008, 46, p. 446-475.
4. LANG, G., BUCHBAUER, G. A review on recent research results (2008-2010) on essential oils as antimicrobials and antifungals. A review. Flavour and Fragrance Journal. 2012, 27, p. 13-39.
5. ELAISSI, A., SALEM, N. A. B., MABROUK, S., SALEM, Y., SALAH, K. B. H., AOUNI, M., FARHAT, F., CHEMLI, R., HARZALLAH-SKHIRI, F., KHOUJA, M. L. Chemical composition of 8 eucalyptus species' essential oils and the evaluation of their antibacterial, antifungal and antiviral activities. BMC Complementary & Alternative Medicine. 2012, 12, p. 1-15.

Vedoucí bakalářské práce:

RNDr. Iva Hauerlandová, Ph.D.

Ústav technologie tuků, tenzidů a kosmetiky

Datum zadání bakalářské práce:

18. února 2013

Termín odevzdání bakalářské práce:

24. května 2013

Ve Zlíně dne 18. února 2013


doc. Ing. Roman Čermák, Ph.D.
děkan




doc. Ing. Rahula Janiš, CSc.
ředitel ústavu

Příjmení a jméno: ŽAJDLÍKOVÁ VLADĚNA

Obor: TVT KD

PROHLÁŠENÍ

Prohlašuji, že

- beru na vědomí, že odevzdáním diplomové/bakalářské práce souhlasím se zveřejněním své práce podle zákona č. 111/1998 Sb. o vysokých školách a o změně a doplnění dalších zákonů (zákon o vysokých školách), ve znění pozdějších právních předpisů, bez ohledu na výsledek obhajoby ¹⁾;
- beru na vědomí, že diplomová/bakalářská práce bude uložena v elektronické podobě v univerzitním informačním systému dostupná k nahlédnutí, že jeden výtisk diplomové/bakalářské práce bude uložen na příslušném ústavu Fakulty technologické UTB ve Zlíně a jeden výtisk bude uložen u vedoucího práce;
- byl/a jsem seznámen/a s tím, že na moji diplomovou/bakalářskou práci se plně vztahuje zákon č. 121/2000 Sb. o právu autorském, o právech souvisejících s právem autorským a o změně některých zákonů (autorský zákon) ve znění pozdějších právních předpisů, zejm. § 35 odst. 3 ²⁾;
- beru na vědomí, že podle § 60 ³⁾ odst. 1 autorského zákona má UTB ve Zlíně právo na uzavření licenční smlouvy o užití školního díla v rozsahu § 12 odst. 4 autorského zákona;
- beru na vědomí, že podle § 60 ³⁾ odst. 2 a 3 mohu užít své dílo – diplomovou/bakalářskou práci nebo poskytnout licenci k jejímu využití jen s předchozím písemným souhlasem Univerzity Tomáše Bati ve Zlíně, která je oprávněna v takovém případě ode mne požadovat přiměřený příspěvek na úhradu nákladů, které byly Univerzitou Tomáše Bati ve Zlíně na vytvoření díla vynaloženy (až do jejich skutečné výše);
- beru na vědomí, že pokud bylo k vypracování diplomové/bakalářské práce využito softwaru poskytnutého Univerzitou Tomáše Bati ve Zlíně nebo jinými subjekty pouze ke studijním a výzkumným účelům (tedy pouze k nekomerčnímu využití), nelze výsledky diplomové/bakalářské práce využít ke komerčním účelům;
- beru na vědomí, že pokud je výstupem diplomové/bakalářské práce jakýkoliv softwarový produkt, považují se za součást práce rovněž i zdrojové kódy, popř. soubory, ze kterých se projekt skládá. Neodevzdání této součásti může být důvodem k neobhájení práce.

Ve Zlíně 23. 5. 2013

Žajdlíková Vladěna

¹⁾ zákon č. 111/1998 Sb. o vysokých školách a o změně a doplnění dalších zákonů (zákon o vysokých školách), ve znění pozdějších právních předpisů, § 47 Zveřejňování závěrečných prací:

(1) Vysoká škola nevydělečně zveřejňuje disertační, diplomové, bakalářské a rigorózní práce, u kterých proběhla obhajoba, včetně posudků oponentů a výsledku obhajoby prostřednictvím databáze kvalifikačních prací, kterou spravuje. Způsob zveřejnění stanoví vnitřní předpis vysoké školy.

(2) *Disertační, diplomové, bakalářské a rigorózní práce odevzdané uchazečem k obhajobě musí být též nejméně pět pracovních dnů před konáním obhajoby zveřejněny k nahlížení veřejnosti v místě určeném vnitřním předpisem vysoké školy nebo není-li tak určeno, v místě pracoviště vysoké školy, kde se má konat obhajoba práce. Každý si může ze zveřejněné práce pořizovat na své náklady výpisy, opisy nebo rozmnoženiny.*

(3) *Platí, že odevzdáním práce autor souhlasí se zveřejněním své práce podle tohoto zákona, bez ohledu na výsledek obhajoby.*

²⁾ *zákon č. 121/2000 Sb. o právu autorském, o právech souvisejících s právem autorským a o změně některých zákonů (autorský zákon) ve znění pozdějších právních předpisů, § 35 odst. 3:*

(3) *Do práva autorského také nezasahuje škola nebo školské či vzdělávací zařízení, užíje-li nikoli za účelem přímého nebo nepřímého hospodářského nebo obchodního prospěchu k výuce nebo k vlastní potřebě dílo vytvořené žákem nebo studentem ke splnění školních nebo studijních povinností vyplývajících z jeho právního vztahu ke škole nebo školskému či vzdělávacího zařízení (školní dílo).*

³⁾ *zákon č. 121/2000 Sb. o právu autorském, o právech souvisejících s právem autorským a o změně některých zákonů (autorský zákon) ve znění pozdějších právních předpisů, § 60 Školní dílo:*

(1) *Škola nebo školské či vzdělávací zařízení mají za obvyklých podmínek právo na uzavření licenční smlouvy o užití školního díla (§ 35 odst. 3). Odpírá-li autor takového díla udělit svolení bez vážného důvodu, mohou se tyto osoby domáhat nahrazení chybějícího projevu jeho vůle u soudu. Ustanovení § 35 odst. 3 zůstává nedotčeno.*

(2) *Není-li sjednáno jinak, může autor školního díla své dílo užit či poskytnout jinému licenci, není-li to v rozporu s oprávněnými zájmy školy nebo školského či vzdělávacího zařízení.*

(3) *Škola nebo školské či vzdělávací zařízení jsou oprávněny požadovat, aby jim autor školního díla z výdělku jím dosaženého v souvislosti s užitím díla či poskytnutím licence podle odstavce 2 přiměřeně přispěl na úhradu nákladů, které na vytvoření díla vynaložily, a to podle okolností až do jejich skutečné výše; přitom se přihlédne k výši výdělku dosaženého školou nebo školským či vzdělávacím zařízením z užití školního díla podle odstavce 1.*

ABSTRAKT

Tato bakalářská práce se zabývá antibakteriálním účinkem esenciálních olejů na mikroorganismy. V teoretické části je popisováno obecné složení esenciálních olejů, jejich získávání a jednotlivé metody izolace těchto látek. Také je zde uvedeno využití těchto olejů. Dále jsou charakterizovány vlastnosti, které jednotlivé esenciální oleje mají.

Praktická část je zaměřena na testování antibakteriální aktivity esenciálních olejů na deseti vybraných mikroorganismech. Z esenciálních olejů byly vybrány čtyři druhy mátových a čtyři druhy eukalyptových olejů. Bylo zjišťováno, zda se antibakteriální účinky olejů získaných ze stejných rodů rostlin liší v závislosti na konkrétním druhu rostliny, ze které byl esenciální olej získán. Test byl prováděn pomocí difuzní diskové metody.

Klíčová slova: esenciální olej, mikroorganismy, antibakteriální účinek, difuzní disková metoda

ABSTRACT

This bachelor thesis deals with antibacterial effect of essential oils on microorganisms. The theoretical part focuses on general composition of essential oils and methods for their isolation from plants. Essential oils uses and benefits are mentioned as well. Further, the individual properties of essential oils are characterized.

The practical part is focused on evaluation of antibacterial activity of essential oils against ten chosen microorganisms. Four types of peppermint oil and four types of eucalyptus oil were chosen for this purpose. These oils were observed afterwards in order to find out, if their effects on microorganisms, is dependent on the particular plant species of which the essential oil had been isolated. The test was performed by means of the disk diffusion method.

Keywords: essential oils, microorganism, antibacterial effect, disk diffusion method

Touto cestou bych chtěla ráda poděkovat všem, kteří svými radami přispěli k vypracování této bakalářské práce. Velký dík patří RNDr. Ivě Hauerlandové, Ph.D., která mi pomohla při zpracování tématu, za vedení mé práce a také za pomoc při zpracování praktické části bakalářské práce. Poděkování patří také laborantkám za jejich užitečné rady, rodině a blízkým.

Prohlašuji, že odevzdaná verze bakalářské/diplomové práce a verze elektronická nahraná do IS/STAG jsou totožné.

OBSAH

ÚVOD.....	10
I TEORETICKÁ ČÁST.....	11
1 ESENCIÁLNÍ OLEJE	12
1.1 SLOŽENÍ ESENCIÁLNÍCH OLEJŮ	13
1.1.1 Terpenoidní uhlovodíky	13
1.1.2 Neterpenoidní uhlovodíky.....	13
1.1.3 C ₁₃ norterpenoidní uhlovodíky.....	14
1.1.4 Fenylpropanoidy	14
1.1.5 Estery.....	14
1.1.6 Laktony	14
1.1.7 Ftalidy	15
1.1.8 Složky esenciálních olejů obsahující dusík.....	15
1.1.9 Složky esenciálních olejů obsahující síru	15
1.1.10 Isothiokyanáty	15
1.2 ZPŮSOB ZÍSKÁVÁNÍ ESENCIÁLNÍCH OLEJŮ	15
1.2.1 Lisování.....	16
1.2.2 Vodní a parní destilace.....	16
1.2.3 Extrakce rozpouštědly	17
1.3 VYUŽITÍ ESENCIÁLNÍCH OLEJŮ	17
1.4 BIOLOGICKÉ VLASTNOSTI ESENCIÁLNÍCH OLEJŮ	18
1.4.1 Antimikrobiální účinek	19
1.4.2 Antivirový účinek.....	21
1.4.3 Antioxidační vlastnosti.....	22
1.4.4 Protirakovinové účinky	23
1.4.5 Analgetické účinky.....	24
1.4.6 Vliv esenciálních olejů na trávicí trakt.....	24
1.4.7 Antinociceptivní účinek	25
1.4.8 Semiochemická aktivita	25
1.4.9 Protizánětlivá aktivita.....	25
1.4.10 Další účinky	26
2 SROVNÁNÍ VLASTNOSTÍ EUKALYPTOVÝCH A MÁTOVÝCH OLEJŮ.....	27
2.1 ESENCIÁLNÍ OLEJE ZÍSKANÉ Z ROSTLIN RODU <i>MENTHA</i>	27
2.2 ESENCIÁLNÍ OLEJE RODU <i>EUCALYPTUS</i>	29
II PRAKTICKÁ ČÁST	32
3 MATERIÁLY A PŘÍSTROJE.....	33
3.1 POUŽITÉ MATERIÁLY A CHEMIKÁLIE	33
3.2 POUŽITÉ MIKROORGANIZMY A KULTIVAČNÍ PŮDY.....	33
3.3 POUŽITÉ PŘÍSTROJE, ZAŘÍZENÍ A POMŮCKY	34
3.4 DEKONTAMINACE POUŽITÉHO MATERIÁLU	35
3.5 METODIKA	35
4 VÝSLEDKY A DISKUZE.....	37

4.1	MĚŘENÍ VELIKOSTI INHIBIČNÍ ZÓNY	37
4.1.1	<i>Staphylococcus aureus</i>	37
4.1.2	<i>Bacillus subtilis</i>	39
4.1.3	<i>Bacillus cereus</i>	41
4.1.4	<i>Micrococcus luteus</i>	42
4.1.5	<i>Escherichia coli</i>	43
4.1.6	<i>Proteus vulgaris</i>	44
4.1.7	<i>Pseudomonas fluorescens</i>	46
4.1.8	<i>Salmonella Enteritidis</i>	47
4.1.9	<i>Serratia marcescens</i>	48
4.1.10	<i>Enterobacter aerogenes</i>	49
4.1.11	Srovnání účinku jednotlivých druhů esenciálních olejů	50
ZÁVĚR		53
SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY.....		55
SEZNAM POUŽITÝCH SYMBOLŮ A ZKRATEK.....		58
SEZNAM OBRÁZKŮ		59
SEZNAM TABULEK.....		60

ÚVOD

Esenciální oleje jsou směsi těkavých látek, které jsou získávány z rostlin nebo z živočišných organismů. Tyto oleje jsou složité směsi látek, které se skládají z mnoha komponent. Mezi základní složky esenciálních olejů patří terpenoidní a neterpenoidní uhlovodíky, fenylpropanoidy, laktony a mnoho dalších. Nejčastějším způsobem izolace těchto látek je destilace, a to destilace suchá, vodní nebo parní. Některé esenciální oleje lze získat i pomocí lisování nebo extrakce rozpouštědly. Látky získané extrakcí nejsou ale podle některých zdrojů považovány za esenciální oleje.

Vzhledem k vlastnostem, kterými se oleje vyznačují, mají široké spektrum použití. Využívají se převážně v potravinářském, kosmetickém, farmaceutickém průmyslu, dále v zemědělství a také v aromaterapii. Biologické vlastnosti esenciálních olejů jsou rozmanité a četné, díky čemuž jsou oleje předmětem intenzivního studia a výzkumu. Díky schopnosti potlačit růst nežádoucích mikroorganismů, mají esenciální oleje značný potenciál pro využití v potravinářství i v kosmetice, kde by mohly sloužit jako přírodní konzervační látky. Mimo antibakteriální aktivity byly u esenciálních olejů prokázány další biologické účinky jako účinek antivirový, antioxidační, či analgetický. Také mají pozitivní vliv na zažívání a podle některých studií mají i protirakovinné účinky.

V této bakalářské práci je věnována pozornost esenciálním olejům získaných z různých druhů rostlin rodu *Mentha* a *Eucalyptus*. Cílem je zjistit, zda mají všechny esenciální oleje získané z rostlin jednoho rodu stejné antibakteriální vlastnosti nebo zda se jejich účinky na mikroorganismy liší. Antibakteriální aktivita bude sledována pomocí difuzní diskové metody. Pro testy bylo vybráno osm esenciálních olejů a pro sledování jejich vlivu na růst a množení bakterií bylo zvoleno deset mikroorganismů.

I. TEORETICKÁ ČÁST

1 ESENCIÁLNÍ OLEJE

Esenciální oleje (EO), které bývají také označovány jako esence, těkavé oleje, éterické oleje nebo etherolea, jsou složité směsi těkavých látek, které jsou produkovány živými organismy. Nejčastěji jsou získávány z rostlinného materiálu, a to jak z celé rostliny nebo jen z některých částí – z listů, kůry, kořenů, květů a plodů. Mezi nejznámější čeledě rostlin, které produkují esenciální oleje, patří například *Apiaceae*, *Asteraceae*, *Cupressaceae*, *Hypericaceae*, *Lamiaceae*, *Lauraceae*, *Myrtaceae*, *Pinaceae*, *Piperaceae*, *Rutaceae*, *Santalaceae*, *Zingiberaceae* and *Zygophyllaceae*. V rostlinách se esenciální oleje vyskytují v olejových buňkách, sekrečních kanálcích a dutinách nebo žláznatých trichomech. V některých případech jsou vázány na sacharidy ve formě glykosidů. Kromě vyšších rostlin, obsahují esence i nižší rostliny – mechy, játrovky, řasy, houby a plísňe. Některé esenciální oleje jsou také produkovány živočichy nebo mikroorganismy. [1]

Esence mohou být získávány jak destilací, a to suchou, parní nebo vodní, tak i lisováním případně extrakcí rozpouštědly. K získání pár kapek esenciálního oleje je někdy potřeba až kilogram rostlinného materiálu. [1]

Výskyt a funkce EO v přírodě nejsou ještě zcela objasněny, ale existují důkazy, které tvrdí, že mohou mít význam pro ochranu rostliny, její množení, případně pro jakousi formu komunikace mezi rostlinami. Těkavé esence slouží jako ochranné látky proti býložravcům, lákají hmyz na opylování a chrání rostlinu proti škůdcům. Složky esenciálních olejů jsou většinou produktem sekundárního metabolismu. [2]

Rostliny obsahující esenciální oleje jsou často označovány jako aromatické rostliny a díky svým vlastnostem jsou v současné době intenzivně studovány. Předpokládá se, že budou mít velký význam v lékařství a v celé řadě dalších odvětví. Lákavou možností je využití esenciálních olejů a jejich složek jako přírodních konzervačních látek pro potravinářský i kosmetický průmysl. [3]

Esenciální oleje se používají jako chuťové a vonné látky, jsou součástí potravin, parfémů, kosmetiky, toaletních potřeb a jiných chemikálií, také jsou využívány ve farmaceutickém průmyslu a v aromaterapii. Používají se jak v koncentrovaných, tak ve zředěných formách. [1]

Vzhledem k jejich kapalnému skupenství při pokojové teplotě se tyto směsi těkavých látek označují jako esenciální oleje. Nesmí však být zaměňovány s mastnými oleji, které se běžně skládají ze směsi lipidů, které nemusí být nutně těkavé. Esenciální oleje a běžné mastné oleje se od sebe liší chemickým složením i fyzikálními vlastnostmi. Při nanesení na

filtrační papír se esenciální oleje odpaří kompletně celé, ale mastné oleje zanechávají na papíře trvalý film, který se neodpaří ani při záhřevu. [1]

Esenciální oleje se jsou složeny ze sloučenin terpenoidního a neterpenoidního charakteru. O složkách esenciálního oleje lze obecně říci, že se jedná o uhlovodíky nebo jejich kyslíkaté deriváty. Některé EO také mohou obsahovat deriváty dusíku a síry. Složky mohou existovat ve formě alkoholů, kyselin, esterů, aldehydů, ketonů, aminů, sulfidů a dalších. Monoterpeny, seskviterpeny a některé diterpeny tvoří základ mnoha esenciálních olejů. [1]

1.1 Složení esenciálních olejů

Esenciální oleje jsou složité směsi látek, které se skládají z mnoha komponent. Mezi ty nejdůležitější patří terpenoidní uhlovodíky, neterpenoidní uhlovodíky, C₁₃ nortepenoidní uhlovodíky, fenylypropanoidy, estery, laktony, ftalidy, isothiokyanáty, a také složky esenciálních olejů obsahující dusík a síru. [1]

1.1.1 Terpenoidní uhlovodíky

Terpeny lze rozdělit do strukturálně a funkčně odlišných tříd. Jsou tvořeny několika pětiuhlíkatými základními jednotkami. Tyto jednotky jsou označovány jako izoprenové jednotky. Proto se terpenoidní uhlovodíky někdy označují jako izoprenoidy. Jsou tvořeny v rostlinách, v tělech živočichů a mohou být produkovány i mikroorganismy. Jsou důležitou složkou esenciálních vonných olejů. Je známo více než 30000 druhů terpenů. [1, 3]

Terpeny, které se skládají ze dvou izoprenových jednotek, se nazývají monoterpeny, terpeny se třemi izoprenovými jednotkami jsou seskviterpeny a terpeny se čtyřmi izoprenovými jednotkami se označují jako diterpeny. Těžší terpeny, jako jsou diterpeny, jsou typickou součástí esenciálních olejů. Terpeny obsahující kyslík bývají označovány jako terpenoidy. [1, 4]

1.1.2 Neterpenoidní uhlovodíky

Mezi neterpenoidní uhlovodíky esenciálních olejů patří alkoholy s krátkým řetězcem či aldehydy, které jsou produktem metabolické přeměny a degradace fosfolipidů a mastných kyselin. [1]

1.1.3 C₁₃ norterpenoidní uhlovodíky

Jedná se o velkou skupinu C₁₃ sloučenin, které vznikají jako produkty degradace karotenoidů nebo se jedná o katabolity kyseliny abscisové. Takové sloučeniny se nacházejí v ovoci, čaji a esenciálních olejích. [1]

1.1.4 Fenylypropanoidy

Fenylypropanoidy jsou sloučeniny, které jsou tvořeny benzenovým jádrem, na který je navázán tři až šesti uhlíkatý řetězec. Mezi důležité fenylypropanoidy patří eugenol, vanilin, deriváty kyseliny skořicové a další. [1, 4]

1.1.5 Estery

Estery, které můžeme najít v esenciálních olejích, jsou estery alkoholu a kyseliny benzoové a monoterpenové a nenasycené karboxylové kyseliny. Methyl salicylát, který je hlavní složkou gaultheriové silice, je odvozen od kyseliny benzoové. Dalšími důležitými estery jsou například linalyl acetát, benzyl benzoát a benzyl isobutyrylát. [1]

1.1.6 Laktony

Jedná se o cyklické estery odvozené od kyseliny mléčné. Nachází se v mnoha těkavých látkách rostlinného původu a v mnoha esenciálních olejích. Ve struktuře obsahují heterocyklický kyslík, který je součástí pěti nebo více četných kruhů, které mohou být nasyčené i nenasycené. Sloučeniny s pětičetným kruhem se nazývají γ -laktony a sloučeniny obsahující šestičetný kruh se označují δ -laktony. Někteří zástupci γ -laktonů, jako jsou γ -valerolakton a γ -dekalakton, mají broskvovou chuť. Zástupce šestičetných δ -laktonů δ -dekalakton se nachází v ovoci, sýrech, mléčných výrobcích se smetanovo-kokosovým a broskvovým aroma. Makrocyklické laktony jako ambretolid, které se nazývají pižmo, se nachází v různých esenciálních olejích, např. v ambitovém oleji a angelikovém oleji. Kumarin je jeden z přirozeně se vyskytujících laktonů, nachází se v seně a v tonka bobech. Je to jedna z nejvíce používaných vonných látek s typickou kořenitou vůní. Dihydrokumarin je také přítomen v různých esenciálních olejích, kterým dodává charakteristickou sladkou bylinnou vůni. [1]

1.1.7 Ftalidy

Ftalidy jsou laktony 2-hydroxymethyl benzoové kyseliny. Někdy jsou označovány jako deriváty benzofuranu. Ftalidy jsou součástí olejů přítomných v celeru či libečku. Butylftalidy jsou zodpovědné za aroma listů, kořenů, hlíz a semen celeru. [1]

1.1.8 Složky esenciálních olejů obsahující dusík

Methyl antranalat je složkou esenciálních olejů vyskytujících se ve sladkém pomeranči, citronu, mandarince, bergamotu, v jasmínu a v ylang-ylang oleji. Methyl N-methyl antranalat je hlavní složkou oleje mandarinky a je i součástí EO hořkého pomeranče. Indol a 3-methyl-indol jsou cyklické iminy, které mají nepříjemný zápach. [1]

1.1.9 Složky esenciálních olejů obsahující síru

Mezi sirné sloučeniny obsažené v esenciálních olejích patří některé sulfidy, jako je dimethyl sulfid, dimethyl disulfid a diallyl disulfid, jsou to těkavé složky oleje v česneku, cibuli, pórků a šalotce. 4-merkaptobutanon je charakteristická složka oleje černého rybízu, má nepříjemný zápach, ale ve správném ředění má ovocnou, květinovo-zelenou vůni. Mátový sulfid je obsažen v esenciálních olejích z máty, pepře, ylang-ylang, narcisu, pelargonie a heřmánku. [1, 4]

1.1.10 Isothiokyanáty

Isothiokyanáty jsou sírové a dusíkaté fyto-sloučeniny, které mají obecný vzorec R-NSC. Isothiokyanáty se vyskytují přirozeně ve formě glukosinolátů v největší míře v brukvovité zelenině. Jsou zodpovědné za typickou chuť této zeleniny. Nachází se v hořčici, brokolici, květáku, kapustě, kedlubnách, růžičkové kapustě, zelí, ředkvičkách, tuřínu a v řeřiše. Glukosinoláty jsou prekurzory isothiokyanátu společně s dalšími metabolity. [1]

1.2 Způsob získávání esenciálních olejů

Existují tři způsoby, kterými se získávají esenciální oleje z přírodního materiálu. Pravděpodobně nejstarší způsob získávání esenciálních olejů je lisování, kterým se esenciální oleje získávají výlučně z citrusových plodů. Druhou metodou je vodní a parní destilace. Nejméně využívanou cestou pro získání olejů je suchá destilace, která se používá jen zřídka. [2]

Výnosy esenciálních olejů se značně liší. Největší výnosy esenciálních olejů jsou z pryskyřičných rostlin – elemiová pryskyřice, kopajnový balzám, Peruánský balzám, které mohou dosáhnout výnosnosti 30 - 70 %. Výnosy z pupenů hřebíčku a muškátového oříšku jsou mezi 15 % až 17 % esenciálního oleje. Výnosy esenciálních olejů z kardamonu jsou 8 %, z pačuli 3,5 %, z fenyklu, badyánu a kmínu mezi 1 % až 9 %. Mnohem méně oleje lze získat z jalovce, kde na 1 kg esenciálního oleje je potřeba až 75 kg bobulí. Ze 100 kg plátků růží se získá pouze 1 kg oleje a dokonce na pouhé 1 kg oleje je potřeba 1000 kg hořkých pomerančových květů. [2]

Existuje řada agronomických faktorů, které se musí vzít v úvahu při získávání esenciálních olejů. Mezi důležité faktory patří klimatické podmínky, půdní typ, vliv sucha a vodní stres, působení hmyzu a mikroorganismů na rostlinu a pěstitelské postupy. Mezi další důležité faktory, které je potřeba znát patří to, která část rostliny bude použita, lokalizace olejových buněk v rostlině, doba sklizně, způsob sklizně, skladování a příprava rostlinného materiálu před vlastním získáváním esenciálního oleje. [2]

1.2.1 Lisování

Jedná se o metodu, která se provádí za studena, to znamená, že nedochází k zahřívání a esenciální oleje jsou získávány při pokojové teplotě. Tímto způsobem se získávají oleje výhradně z citrusových plodů, příkladem může být pomeranč, citron, grapefruit, mandarinka a mnoho dalších. V dřívějších dobách lidé tyto oleje lisovali ručně, bylo to ale velmi náročné a výtěžnost oleje byla nízká. Teprve až ve 20. století byly vynalezeny stroje s dostatečnou výtěžností. [1]

Největší část esenciálních olejů je uložena v olejových buňkách v kůře citrusů. Principem všech lisovacích zařízení je rozrušení olejových buněk, uvolnění oleje, který je převeden do vody. Poté je olej od vody oddělen. Oleje jsou následně čištěny a chlazeny. Při lisování se musí dát pozor na velikost ovoce, protože jakmile by bylo ovoce na dané zařízení příliš velké, mohlo by dojít k uvolnění hořkých látek, které by snižovaly kvalitu oleje, a kdyby bylo ovoce zase příliš malé, byla by nízká výtěžnost. [1]

1.2.2 Vodní a parní destilace

Vodní či parní destilace je bezpochyby nejčastěji používanou metodou pro získávání esenciálních olejů z rostlin. Takto jsou vyráběny oleje o velmi vysoké kvalitě. Existuje řada destilačních zařízení, které se od sebe liší svou konstrukcí, ale vždy mají společný princip. Principem každé destilace je vypařování kapaliny při určité teplotě, následné ochlazení a

zkondenzování vzniklých par. U vodní destilace hraje voda či pára roli nosiče oleje, který se snažíme získat. Jedním ze způsobů provedení vodní destilace je, že biomasu ponoříme do vroucí vody, rostlinný materiál tuto vodu v procesu varu pohltí a olej obsažený v olejových buňkách rostliny projde přes buněčnou stěnu do vody na základě osmózy. Takto získaná směs vody s olejem je následně odpařena a olej je unášen proudem páry v destilačním zařízení. Jakmile dojde pára do kondenzační části destilačního zařízení je zchlazena v chladiči a páry zkondenzují. Následně dojde k oddělení vody od oleje. Princip parní destilace je obdobný s tím rozdílem, že nedojde k ponoření biomasy do vody, ale k rostlinnému materiálu je přiváděna pára. Při každé destilaci se musí destilační proces přizpůsobit povaze rostliny. Aby byl vytvořen kvalitní olej, musí se přizpůsobit i doba destilace. U některých rostlin, jejichž složky esenciálních olejů mají vysoký bod varu, musí dojít ke snížení tlaku v destilačním zařízení, aby bylo možno požadované látky z rostliny vydestilovat. V některých případech může dojít k opakované destilaci jedné suroviny, aby byla zajištěna dostatečně vysoká výtěžnost. Také se musí dávat pozor, aby nedošlo ke spálení rostlinného materiálu. Destilační kotle musí být pravidelně čištěny. [2]

1.2.3 Extrakce rozpouštědly

Esenciální oleje z rostlin můžeme získávat kromě výše zmíněné destilace a lisování také pomocí extrakce rozpouštědly. Je pochopitelné, že aroma oleje získaného různými metodami bude různé. Důvodem je, že destilace vede pouze těkavé aromatické složky oleje, zatímco při získávání olejů extrakcí dochází k vyextrahování těkavých složek společně s několika netěkavými látkami. Tento rozdíl je velmi patrný například u získávání esenciálních olejů různými metodami ze zázvoru. Dá se očekávat, že charakteristická vůně esenciálních olejů je závislá i na druhu rozpouštědla, který je při extrakci použit. Například vůně oleje získaného ze stejné rostliny je mírně odlišná při použití hexanu, superkritického CO₂ či acetonu jako extrakčního činidla. [1]

Avšak podle některých zdrojů nejsou výtažky z aromatických rostlin a živočišného materiálu získané touto metodou považovány za esenciální oleje. [1]

1.3 Využití esenciálních olejů

Esenciální oleje jsou využívány již od středověku kvůli svým baktericidním, virucidním, fungicidním, antiparazitálním, insekticidním a léčivým účinkům. V současné době je zná-

mo přibližně 3000 esenciálních olejů, z nichž asi 300 lze považovat za komerčně významné. Využívají se ve farmaceutickém, hygienickém, kosmetickém, zemědělském a potravinářském průmyslu. [4]

Vzhledem k baktericidním a fungicidním vlastnostem EO se oleje využívají právě pro farmaceutické a potravinářské účely. Jsou stále více a více využívány k výrobě syntetických chemických produktů pro ochranu ekologické rovnováhy. Také se používají k výrobě zdravotnických prostředků využívaných při operacích díky svým antiseptickým účinkům, používají se k prevenci infekcí a také na inhalační účely. [4, 5]

Díky své vůni jsou mnohé esenciální oleje používány při výrobě parfémů společně s lipofilními rozpouštědly, ve kterých jsou tyto oleje rozpustné. Esenciální oleje nebo jejich složky se používají také k výrobě krémů, make-upů, hygienických výrobků, uplatnění mají i ve stomatologii. Například d-limonen, geranyl acetát a d-karvon jsou používány pro výrobu parfémů, mýdel a krémů. Uplatňují se i jako aromatické látky do zmrzlin, nápojů a to jak do alkoholických, tak i do nealkoholických a mnoha dalších potravin. Význam mají také jako parfémové složky výrobků pro úklid domácnosti. [2, 4]

Esenciální oleje se v neposlední řadě používají také při masážích ve formě směsí s rostlinnými oleji nebo také v lázních. Ale mezi jejich nejčastější a velmi specifickou oblast využití patří aromaterapie. [4]

1.4 Biologické vlastnosti esenciálních olejů

Esenciální oleje mohou být syntetizovány všemi rostlinnými orgány, tj. pupeny, květy, listy, stonky, větvičkami, semeny, plody, obsaženy jsou i ve dřevě a kůře. Není nic neobvyklého, že různé části jedné rostliny mohou obsahovat esenciální oleje, které mají odlišné chemické složení. Dokonce i výška rostlin může hrát roli. Například esenciální olej získaný z pryskyřice kmene stromu *Pinus pinaster* (borovice přímořská) ve výšce 2 m bude obsahovat především pineny a významné množství kar-3-enů, zatímco olej získaný z pryskyřice stromu vysokého 4 m bude obsahovat jen velmi málo nebo žádné kar-3-eny. Důvodem různého chemického složení esenciálních olejů stejné rostliny o jiné výšce může být ochrana před býložravci, kteří okousávají kůru těchto stromů během zimních měsíců. [2]

Většina esenciálních olejů obsahuje sloučeniny, které mají antimikrobiální účinky, působí proti virům, bakteriím a plísním. Některé esenciální oleje mohou působit nejen jako „odpu-

zovače“ hmyzu, ale mohou i předcházet rozmnožování hmyzích škůdců. V mnoha případech bylo prokázáno, že rostliny přitahují hmyz, který jim zase pomáhá při opylování rozptýlením pylu a semen. Někdy jsou esenciální oleje považovány za jednoduché metabolické odpadní produkty. Jedním z takových případů mohou být olejové buňky eukalyptu, které jsou ve zralých listech uloženy hluboko ve vnitřní struktuře listu. V některých případech mohou esenciální oleje působit také jako inhibitory klíčení a tím zamezují růstu jiných rostlin, čímž snižují jejich konkurenci. [2]

1.4.1 Antimikrobiální účinek

U řady esenciálních olejů je známa jejich antimikrobiální aktivita. Za působení na mikroorganismy jsou zodpovědné přítomné aktivní složky, především izoprenoidy, a to zejména monoterpeny, seskviterpeny, od nich odvozené alkoholy, další uhlovodíky a fenoly. Antimikrobiální účinek je dán lipofilním charakterem uhlovodíkového skeletu a hydrofilním charakterem funkčních skupin. Jednotlivé složky EO lze z hlediska jejich antimikrobiálního působení seřadit od neúčinnějších po nejméně účinné takto: fenoly > aldehydy > ketony > alkoholy > estery > uhlovodíky. [1]

Antimikrobiální aktivita esenciálních olejů závisí na jejich chemickém složení. Většina olejů se skládá ze dvou nebo tří hlavních složek v poměrně vysokých koncentracích ve srovnání s ostatními složkami přítomnými pouze ve stopovém množství. Některé esenciální oleje, které obsahují fenolické struktury, jako jsou karvakrol a thymol, jsou vysoce účinné proti širokému spektru mikroorganismů. Byl potvrzen význam hydroxylové skupiny, relativní pozice hydroxylové skupiny na fenolovém kruhu však nemá tak velký vliv na stupeň antibakteriálního účinku. Nicméně bylo určeno, že karvakrol je proti mikroorganismům účinnější než thymol. Bylo prokázáno, že přítomnost aromatického kruhu má také vliv na antimikrobiální aktivitu esenciálních olejů. U složek obsahujících pouze aromatický kruh s navázanými substituovanými alkyly jako je p-cymen, byla prokázána nižší aktivita. Lepší antimikrobiální aktivitu vykazují aromatické kruhy, na které jsou navázány aldehydové skupiny s konjugovanou dvojnou vazbou a dlouhými uhlovodíkovými řetězci. [1, 6]

Silné antimikrobiální a antimykotické účinky karvakrolu byly pozorovány na gram pozitivních bakteriích. Thymol má potenciální antimikrobiální a antimykotické účinky proti rostlinným, živočišným a lidským patogenním houbám. [1]

Bylo dokázáno, že esenciální oleje mají různý účinek na bakterie gramnegativní a grampozitivní. Esenciální oleje bohaté na 1,8-cineol jsou účinnější na grampozitivní bakterie, kvasinky a různé druhy fytopatogenních hub, než na bakterie gramnegativní. Také monoterpeny, jako je například sabinen, terpinen či limonen mají antimikrobiální účinky silné až střední proti grampozitivním bakteriím a proti patogenním plísním, ale proti gramnegativním bakteriím mají účinky obecně slabší. [1, 7]

Okysličené monoterpeny, jako je mentol a alifatické alkoholy, vykazují mírnou až silnou aktivitu vůči některým bakteriím. Poloha alkoholové funkční skupiny ovlivňuje molekulové vlastnosti komponent, jako je třeba schopnost tvořit vodíkové vazby, což ovlivňuje i působení monoterpenů na bakteriální buňky. Bylo například zjištěno, že terpinen-4-ol je aktivní proti *Pseudomonas aeruginosa*, zatímco α -terpinenol na tuto bakterii nepůsobí. [1]

Účinek proti bakteriím může také ovlivnit přítomnost síry. V esenciálních olejích z česneku a cibule jsou přítomny sulfidy, které ovlivňují antibakteriální působení těchto olejů. Sulfidy s jedním atomem síry nejsou aktivní proti bakteriím, sulfidy se třemi až čtyřmi atomy síry mají na růst bakterií značné inhibiční účinky. [1]

Obvykle platí, že za antibakteriální aktivitu jednotlivých esenciálních olejů jsou zodpovědné jejich hlavní složky, nicméně existuje řada studií, které dokazují, že esenciální oleje jako celek mají účinky silnější než kombinace hlavních izolovaných komponent. Z čehož vyplývá skutečnost, že i méně významné složky jsou důležité pro účinnost tím, že vytváří synergický efekt. Příkladem může být kombinace citralu s vanilinem, thymolem, karvakrolem nebo eugenolem, které mají synergický efekt na inhibici růstu kvasinky *Zygosaccharomyces bailii*. Další ukázkou může být synergický efekt mezi karvakrolem a thymolem nebo karvakrolem a cymenem. Synergický účinek složek však nelze zobecnit. U některých olejů byla zjištěna opačná situace, tedy účinek antagonistický, kdy kombinace hlavních složek má nižší antibakteriální účinek, než vykazují jednotlivé složky samostatně. Příkladem, kde je samostatná složka účinnější než když je ve směsi s dalšími látkami může být pulegon. Ten vykazuje vyšší antimikrobiální účinek než esenciální olej obsahující tuto složku. [1, 7]

S ohledem na velké množství různých skupin chemických sloučenin, které jsou v esenciálních olejích obsaženy, nelze antibakteriální vlastnosti přiřazovat pouze jednomu mechanismu. Terpenoidy jsou lipofilní látky, které porušují membránovou celistvost a propustnost.

Únik K^+ iontů je obvykle první známkou poškození, při narušení membrány ale může docházet i k odplavení cytoplazmatických složek. [1]

Terpinen-4-ol inhibuje buněčné dýchání a indukuje botnání membrány, čímž zvyšuje její propustnost. Antibakteriální aktivita esenciálního oleje z oregána byla způsobena narušením integrity membrány, změnou intracelulární hodnoty pH a porušením transportu anorganických iontů. Tento účinek lze u oleje z oregána připisovat účinku karvakrolu, který je jeho významnou složkou. Karvakrol destabilizuje cytoplazmatickou membránu. Působí na transport protonů, čímž narušuje pH gradient na vnitřní a vnější straně cytoplazmatické membrány. Výsledné zničení protonové hnací síly a vyčerpání zásob ATP vede ke smrti buňky. [1]

Ergosterol, hlavní zástupce sterolů v kvasinkových buňkách, hraje důležitou roli ve vlastnostech jejich membrány, jako je tekutost, propustnost a činnost mnoha na membránu vázaných enzymů. V buňkách vystavených působení terpenů byla silně inhibována syntéza ergosterolu díky snížené expresi genů zapojených do biosyntézy tohoto sterolu, díky čemuž byly terpeny pro kvasinkové buňky toxické. [1]

Je pravděpodobné, že bude pro bakterie obtížnější si vytvořit rezistenci k esenciálním olejům, protože jsou složeny z mnoha komponent na rozdíl od běžných antibiotik, které jsou často složeny jen z jediné molekulární jednotky. [5]

Vzhledem k tomu, že mají esenciální oleje díky svému rozmanitému složení antibakteriální účinek proti různým skupinám patogenních organismů a některé z nich jsou obecně považovány za bezpečné, mohou být používány jako přísady do potravin. Mají zde roli přírodního konzervačního prostředku na omezení mikrobiální kontaminace potravin. Proto mají esenciální oleje velkou perspektivu, nicméně je nutné důkladně posoudit jejich účinnost přímo v potravině. [8]

1.4.2 Antivirový účinek

Je pravdou, že viry přestávají být citlivé na účinné látky v antiviroticích, proto se hledají nové způsoby, jak účinně bojovat proti přirozeným virovým infekcím. Mimo jiné se hledají nové možnosti i mezi přírodními produkty. Je prokázáno, že některé esenciální oleje mají inhibiční účinky proti virům. Žádná studie však zatím neobjasnila mechanismus účinku aktivních složek olejů zodpovědných za inhibiční účinek na viriony. Předpokládá se, že tato vlastnost může být způsobena synergismem mezi majoritními a minoritními komponentami olejů, ale zatím nebyl popsán vztah mezi chemickým složením olejů a antivirovou

aktivitou. Esenciální oleje, mezi které patří například eukalyptový olej, vykazují vysokou úroveň antivirové aktivity proti Herpes simplex viru typu 1 (HSV-1) i proti Herpes simplex viru typu 2 (HSV-2), také proti adenovirům a viru průšnic. Kromě toho bylo prokázáno, že začlenění esenciálních olejů do lamelárních lipozomů výrazně zlepšila antivirovou aktivitu proti intracelulární HSV-1. Esenciální oleje aromatických rostlin z Argentiny vykazují virucidní účinek proti HSV-1 i proti některým virům čeledi *Arenaviridae*. Jejich aktivita byla však časově i teplotně omezena. [1, 9]

1.4.3 Antioxidační vlastnosti

V mnoha lidských degenerativních onemocněních hraje velkou roli volný reaktivní kyslík. Kvůli tomu jsou velmi důležité antioxidanty, u kterých byl zjištěn určitý stupeň preventivních a léčebných účinků proti těmto nemocem. Mezi jeden z hlavních forem reaktivního kyslíků patří peroxid vodíku, který způsobuje peroxidaci lipidů a oxidační poškození DNA v buňkách. Vitamíny, fenolické sloučeniny a esenciální oleje jsou přirozeně se vyskytující antioxidanty v přírodě, proto je velká snaha o studium rostlin jako nových zdrojů antioxidantů. [1]

To, že některé druhy esenciálních olejů vykazují právě antioxidační aktivitu, není vůbec překvapivé, protože právě esenciální oleje obsahují ve svém složení fenolické látky, které patří mezi látky působící jako antioxidanty. Je dobře známo, že téměř všechny fenoly mohou fungovat jako antioxidanty v peroxidaci lipidů. Existuje mnoho metod pro hodnocení antioxidační aktivity. Příkladem esenciálního oleje, který vykazuje antioxidační aktivitu, je mátový esenciální olej. Tento olej se používá v potravinářství mimo jiné na prodloužení trvanlivosti hovězího masa během jeho skladování tím, že zamezuje oxidaci lipidů v mase. Dalším příkladem může být esenciální olej získaný z rozmarýnu, který se na celém světě pěstuje už odedávna pro své antibakteriální a antioxidační účinky. [1, 3, 10]

Bylo provedeno mnoho studií pro nalezení konkrétní složky esenciálního oleje, která je zodpovědná za antioxidační aktivitu. Ta závisí především na chemickém složení daného oleje. Například γ -terpinen, terpinolen a sabinen mají silnou antioxidační aktivitu, ale třeba limonen nebo α -pinen mají antioxidační aktivitu nízkou. Také eugenol působí jako antioxidant, bylo prokázáno, že ničí volné radikály a je dokonce ještě účinnější než terpinolen. Také esenciální oleje obsahující thymol a karvakrol vykazují při vyšších koncentracích antioxidační aktivitu. Vysoký potenciál fenolických složek ničit volné radikály může být

vysvětlen jejich schopností darovat radikálům ze svých fenolových hydroxylových skupin atom vodíku, čímž radikály ztrácejí svoji reaktivitu. [1]

V mnoha případech nemůže být antioxidační aktivita přičítána hlavním sloučeninám esenciálních olejů, ale významnou roli hrají minoritní sloučeniny. Například esenciální oleje obsahující 34 % 1,8-cineolu a 19 % terpinen-4-olu vykazovaly silnější antioxidační aktivitu než ty s obsahem 97 % methyleugenolu nebo 64,3 % 1,8-cineolu. Relativní účinek antioxidantů závisí na jejich antioxidačních vlastnostech, na koncentraci, na testovacím systému, na emulzním systému, na oxidačním čase a na zkušební metodě, která byla použita. [1]

1.4.4 Protirakovinové účinky

Vznik tumoru je vícestupňový proces ovlivněný řadou faktorů. Mezi ty nejdůležitější patří kouření, průmyslové emise, benzinové výpary, infekce a záněty, výživa a dietní karcinogeny. [1]

Esenciální oleje jsou velmi slibné směsi látek, u kterých byl potvrzen inhibiční účinek proti rakovinovým buňkám. Zvláště od roku 1990 byly od pacientů z celého světa potvrzeny příznivé účinky esenciálních olejů, jejich hlavních složek či jejich metabolitů proti rakovině. Látky zodpovědné za tuto vlastnost olejů jsou monoterpeny. Jednou z nejvýznamnějších látek je d-limonen, který je obsažen nejen v oleji z kůry sladkého pomeranče, ale také v ostatních citrusových plodech. Ještě účinnější složkou obsaženou v některých esenciálních olejích je perilyl alkohol, což je nejvýznamnější metabolit monoterpenových uhlovodíků. Perilyl alkohol je účinná látka působící jako inhibitor farnesyl transferázy. Tato látka byla testována na myších a bylo zjištěno o 22 % nižší výskyt nádorů a o 58 % menší četnost nádorů. U křečků s rakovinou pankreatu snížil o 50 % rychlost růstu nádoru a v 16 % došlo dokonce k úplné regresi rakoviny. Proto se předpokládá, že perilyl alkohol může být účinné cytostatikum i pro léčbu rakoviny pankreatu u lidí. Další látky, které vykazují inhibiční účinek proti nádorům, jsou geraniol, farnesol, nerolidol, citronelol a v neposlední řadě také mentol a mnoho dalších. Též bylo zjištěno, že u zvířat, které měly ve stravě obsaženy tyto účinné látky, bylo sníženo procento výskytu nádorů a současně byla zvýšena doba přežití s nádorem. Několik experimentálních a populačních studií ukázalo, že izoprenoidy ve stravě hrají důležitou roli ve schopnosti zabránit vzniku rakoviny. Proto je velmi důležité, aby byla strava bohatá na ovoce a zeleninu, které monoterpeny obsahují, a tím snižují riziko vzniku rakoviny tlustého střeva, prsní žlázy, jater, slinivky břišní a plic. [1, 2]

1.4.5 Analgetické účinky

Některé z velkého množství esenciálních olejů vykazují analgetické účinky. Za tuto vlastnost jsou zodpovědné monoterpeny, které jsou v esenciálních olejích obsaženy až z 90 %. Mezi nejdůležitější oleje, které mají tyto vlastnosti, patří esenciální olej z máty, levandule, eukalyptu, šalvěje a cedru. U jednotlivých olejů se také liší způsob účinku. Mátové esenciální oleje vyvolávají analgetický účinek prostřednictvím buněk reagujících na chlad. Mentol jako lokálně dráždivá látka může také způsobit analgezií tím, že snižuje citlivost kožních vláken. Ještě silnější analgetické vlastnosti než máta má levandule. Esenciální oleje mají analgetické účinky jak na centrální, tak i na periferní nervovou soustavu. Jedná se o možný způsob léčby bolestivých svalů. [1, 11]

1.4.6 Vliv esenciálních olejů na trávicí trakt

Jedním z nejdůležitějších použití aromatických rostlin v lidové medicíně je na zažívací potíže. Mnoho studií ukázalo, že esenciální oleje jsou schopné regulovat proces trávení před tím, než se dostane jídlo do žaludku. Esenciální oleje z levandule a zázvoru stejně jako parfémy a silné pachy ovlivňují gastrointestinální funkce aktivací bloudivého nervu a žaludeční sekrece. Čichové stimulace vyvolané vůní levandulového oleje a její hlavní složkou linalolem aktivují žaludeční nervy, zatímco vůně grapefruitového oleje a jeho hlavní složka limonen mají přesně opačný účinek. Aromatické rostliny jsou požívány ve formě odvaru nebo čaje. Esenciální oleje v těchto rostlinách působí na trávicí činnost tím, že působí jako spasmolytika (uvolňují křeče hladkého svalstva), choleretika (zvyšují vylučování žluči z jater a uvolňování žluči ze žlučníku), karminativa (zmírňují plynatost) a působí hepatoprotektivně (nepřímo chrání funkčnost jater). Jedním z principů těchto účinků je, že dochází k inhibici muskarinových receptorů v trávicím traktu, což vede k relaxaci hladkého svalstva. Tento tlumivý účinek na hladké svalstvo trávicího traktu zabezpečuje, aby se prodloužila doba, kterou stráví trávenina ve dvanáctníku, a tím mohlo dojít k lepšímu nadržování. Vyloučení plynů z žaludku a střev snižuje nadýmání, proto je možno esenciální oleje využít proti nadýmavosti. Příznivý vliv esenciálních olejů na játra je založen na anti-oxidačním působení EO, které tak chrání játra proti volným radikálům. Studie prokázaly, že ochranný účinek může být způsoben inhibicí peroxidace lipidů. V neposlední řadě působí oleje v trávicím traktu proti průjmům a mají zde ochrannou funkci. Nejvíce účinné se zdají být fenolické monoterpeny, například thymol, následují alkoholy, například terpineol, a kyslíkaté monoterpeny, například 1,8-cineol. [1]

1.4.7 Antinociceptivní účinek

Antinociceptivní systém spadá do centrálního nervového systému. Tato funkce esenciálních olejů snižuje předávání impulzů z receptorů bolesti a tím zmírňují její vnímání. Předpokládá se, že tak zvané nociceptory jsou nervová zakončení, která jsou zodpovědná za vznik a přenos signálu o bolesti. Antinociceptivní vlastnosti esenciálních olejů byly testovány v pokusech na zvířatech. V íránské medicíně jsou výtažky z esenciálních olejů využívány jako léky proti žaludečním bolestem, proti bolestem svalů a kloubů. Jednou ze složek olejů, která je zodpovědná za tyto účinky je linalol. [2]

1.4.8 Semiochemická aktivita

Listy, květy, kůra i zralé plody jsou důležité pro obživu lidstva, a slouží současně jako hostitel pro býložravý hmyz, který se zde hromadí kvůli tomu, že je lákán těkavými fytochemikáliemi. Na základě chování těchto modifikovaných chemikálií, jsou tyto látky využívány v ochraně proti škůdcům. Semiochemikálie jsou molekuly, které přenáší signál z jednoho organismu na druhý, zatímco feromony jsou látky vylučované jednotlivcem, který vyvolává specifickou reakci v jiném jedinci stejného druhu. [1]

Semiochemikálií existuje široká škála a pomocí plynové chromatografie je možné tyto látky identifikovat. Mohou sloužit jako alternativní strategie pro kontrolu hospodářsky důležitého hmyzu. Semiochemikálie jsou používány v komerčních produktech, které slouží k lapání hmyzu. Pasti lákající hmyz pomocí ipsenolu anebo ipdienolu společně s těkavým etanolem a α -pinenem jsou mnohem účinnější v lákání samčího i samičího hmyzu než lapáče obsahující pouze těkavé látky lákající hmyz. [1]

1.4.9 Protizánětlivá aktivita

V těle probíhají procesy, na které tělo reaguje tvorbou zánětů. Některé esenciální oleje mají inhibiční účinek proti mediátorům těchto zánětů. Testy prokazující inhibici při tvorbě zánětů byly prováděny na zvířatech. Nejčastěji používaná zvířata jsou myši, potkani a krysy. Jedním z esenciálních olejů, které mají tyto účinky, patří olej z cedrového dřeva. Tři druhy esenciálních olejů z rostlin rodu *Eucalyptus*, *Eucalyptus globulus*, *Eucalyptus citriodora* a *Eucalyptus tereticornis* jsou používány brazilskými domorodci jako léčivý přípravek pro léčbu zánětlivých onemocnění. [2]

1.4.10 Další účinky

Další možností využití esenciálních olejů je léčba Alzheimerovy choroby, což bylo prokázáno v pilotní studii, která se zabývala vlivem EO na pacienty s tímto onemocněním. K léčbě této nemoci byl použit esenciální olej ze španělské šalvěže. [1]

Kromě toho, esenciální oleje ovlivňují náladu, koncentraci a spánek. Jiné studie prokázaly, že se řada esenciálních olejů podílí na posílení imunitního systému. [1]

Bylo zjištěno, že esenciální oleje ovlivňují chování, bolest a úzkost. Mají také příznivý vliv na zmírnění příznaků *acne vulgaris*. Proto je velký zájem o doplňkové a alternativní léky obsahující esenciální oleje. [1]

2 SROVNÁNÍ VLASTNOSTÍ EUKALYPTOVÝCH A MÁTOVÝCH OLEJŮ

V praktické části bakalářské práce jsem se zabývala srovnáním antibakteriálních účinků jednotlivých druhů esenciálních olejů z rostlin rodu *Mentha* a *Eucalyptus*. Proto se v následující části práce budu blíže zabývat pouze charakteristikou těchto dvou rostlinných rodů a vlastnostmi esenciálních olejů, které lze z eukalyptu a máty získat.

2.1 Esenciální oleje získané z rostlin rodu *Mentha*

Nejnámější rostlina z rodu *Mentha* je *Mentha piperin* (Máta peprná). Jedná se o evropskou silně aromatickou rostlinu, která dorůstá do výšky zhruba 30 – 100 cm. Má podzemní oddenky a postranní nadzemní výběžky. Její lodyha je přímá, čtyřhranná, rozvětvená s chloupky a je nafialovělé barvy. Stará lodyha po 2 – 3 letech dřevnatí a odumírá. Máta má řapíkaté listy, jsou vejčité kopinaté nebo podlouhle eliptické, mají zelenou až červeno-zelenou barvu. Na listech se nachází výrazné žilky. Na spodní straně listů jsou velké ochlupené buňky, které slouží jako rezervoár mátopeprné silice. Květy jsou bledě nachové barvy, jsou 8 mm dlouhé, nahloučené v konečné válcovité klasy. Máta kvete v období od června do září, ale netvoří plody. Historie použití máty sahá do dávné minulosti, části máty se našly již ve starých egyptských hrobech. Máta pro svůj růst potřebuje slunné či mírně zastíněné místo chráněné před studenými větry. Půda musí být bohatá na živiny a humus. Poloha pro mátu je také velmi důležitá, roste do nadmořské výšky 500 m nad mořem, výše položená místa mají negativní vliv na obsah mátových silic, vzrůst a zdravotní stav rostliny. [12, 13]

Máta je rostlina, ze které se získává esenciální olej. Složení esenciálních olejů extrahovaných z rostlin máty byly rozsáhle studovány. Mezi hlavní složky esenciálního oleje získaného z máty patří mentol (33,28%), menton (22,03%), a mentyl acetát (6,40%). [3]

Mátový esenciální olej je pro své analgetické a protikřečové účinky využíván v potravinářském, farmaceutickém a kosmetickém průmyslu. Působí proti nadýmání, tonizuje trávicí proces a usnadňuje vykašlávání. [6, 14]

Listy máty peprné mají širokou škálu kulinářského využití v zemích Středomoří. Jsou používány při přípravě jídla ke zlepšení chuťových a vzhledových vlastností pokrmu. Extrakty získané z různých druhů máty se dnes využívají při výrobě široké škály potravinářských

výrobků, jako jsou cukrovinky či žvýkačky. Oleje z máty jsou součástí některých aromatických vod a lihů a součástí nosní masti. [3, 12]

Použití k léčbě

Máta je také používána v lidové medicíně. K léčbě ucpaných nosních a čelních dutin a k usnadnění dýchání se po dobu deseti minut inhaluje roztok horké vody se dvěma kapkami esenciálního oleje. Proti bolestem svalů a při revmatismu je účinné podstoupit horkou koupel s kapkami oleje z máty, který zmírňuje bolesti a ztuhlost svalů. Pro silnější účinek je dobré po koupeli na postižená místa nanést mast nebo masážní krém, čímž se ještě více zmírní bolesti. Nadzemní části *Mentha spicata* (máta kadeřavá) se tradičně používají pro své antiseptické vlastnosti k léčbě infekčních onemocnění. Směs esenciálního oleje s olejem slunečnicovým je vhodné vetřít do břišních partií při plynatosti a křečích žaludku nebo použít jako obklad hlavy při horečce. Esenciální oleje z máty se přidávají i do léčebné kosmetiky, například do ústních vod a zubních past. Esenciální olej se nesmí nanášet na precitlivělou a poškozenou pokožku a na pokožku náchylnou k alergiím. Také jej nesmí užívat děti do pěti let. [3, 12, 14]

Analgetické účinky:

Mentol je přirozeně se vyskytující sloučenina rostlinného původu, která dává rostlinám rodu *Mentha* typickou mentolovou vůni a chuť. Mentol je přítomen v esenciálních olejích z různých druhů máty. Podle US Food and Drug Administration je mentol povolen jako lokální analgetikum. [1]

Mentol je cyklický terpenický alkohol se třemi asymetrickými atomy uhlíku, a proto se vyskytuje v různých formách optických izomerů: (+) - mentol, a (-) - mentol, (+) - neomentol a (-) - neomentol, (+) - isomentol a (-) - isomentol, (+) - neoisomentol a (-) - neoisomentol. Mezi nejčastěji se vyskytující optické izomery mentolu v přírodě patří (-) - mentol. Liší se i analgetický účinek mezi jednotlivými izomery. Například u izomeru (-) - mentol byla zjištěna tato vlastnost, ale u izomeru (+) - mentol analgetický účinek potvrzen nebyl. Pro mentol je typické, že způsobuje brnění a pocit chladu z důvodu stimulace receptorů chladu. Mentol je i schopen blokovat napětí uzavřením kanálů pro Ca^{2+} ionty v lidských buňkách neuroblastomu. [1]

Antibakteriální vlastnosti

Mátové esenciální oleje mají v neposlední řadě také antibakteriální účinek. Účinnost je rozdílná podle druhu mikroorganismu a podle druhu a čistoty esenciálního oleje. Některé

testy prokázaly, že gramnegativní bakterie jsou citlivější než bakterie grampozitivní. Jiné testy ale prokázaly účinek opačný. Některé studie dokonce uvádí antibakteriální účinek mátového oleje na multirezistentní kmeny gramnegativních bakterií. V literatuře lze najít mnoho studií zaměřených na antibakteriální účinky mátového oleje, ale výsledky jsou těžce srovnatelné, protože použité metodiky a bakteriální kmeny se liší v rámci jednotlivých studií. Jak již bylo řečeno, mezi hlavní složky mátového esenciálního oleje patří mentol, u kterého byla prokázána antibakteriální aktivita. [6, 7]

Další účinky

Esenciální oleje z máty vykazují silný fungicidní a insekticidní účinek. Tyto oleje mohou být používány jako konzervační látka při skladování cizrny proti napadení cizrny houbami a hmyzem. [15]

Široká paleta esenciálních olejů, mezi které patří i mátový olej, funguje jako ochrana proti škůdcům. Alkoholické a fenolické složky těchto olejů mají toxický účinek proti nakladným vajíčkám komárů. Těkavé složky některých základních olejů mají repelentní účinek proti mouše domácí a švábům. Je popsáno, že přirozeně se vyskytující esenciální oleje a jejich složky vykazují také pozoruhodnou toxicitu proti některým parazitickým červům. [16]

2.2 Esenciální oleje rodu *Eucalyptus*

Esenciální oleje patřící do této skupiny pochází z rostlin blahovičnicku, který je u nás také nazýván jako eukalyptus (*Eucalyptus*). Jedná se o rostlinný rod, který obsahuje více než 300 druhů rostlin. Jsou to tropické stromové rostliny nebo keře, které mohou dorůst až do výšky 100 m. Původně tento strom pochází z Australského vnitrozemí. V Evropě se začal pěstovat až v 19. století. Eukalypty rostou především v horských oblastech. Jsou schopné růst i v mírném podnebném pásu, kde neklesá teplota pod -5 °C. Optimální podmínky pro ně jsou dobře rozpustná půda a přímé slunce. Vodu jsou schopné odebírat i jiným rostlinám, protože jsou zvyklé přežívat i v drsných suchých podmínkách. [14]

Druh eukalyptu *Eucalyptus globulus* má světlou kůru a aromatické dřevo. Listy jsou štiplavé chuti, z vrchní strany mají obvykle tmavší barvu než ze strany spodní, na které jsou tělíčka, která jsou naplněna esenciálním olejem. Eukalypty kvetou bílými květy, které se po dozrání přetváří na kulaté bobule. [14, 17]

Eukalyptový esenciální olej byl ve větším množství získáván až od 19. století. Má analgetické, antineuralgické, protirevmatické, antispazmatické, antivirové a baktericidní účinky a mnohé další. Usnadňuje vykašlávání hlenů z dýchacích cest. Je hlavním lékem australských domorodců, kteří ho využívají v léčbě nejrůznějších chorob od nachlazení, infekcí, kožních problémů až po horečnatá onemocnění. Je používán při léčbě astmatu i revmatismu. Je široce používán ve farmakologickém průmyslu na výrobu léků proti nachlazení a kašli, k výrobě mastí pro uvolnění svalů. Je zjevné, že je využíván při vnitřním i při zevním použití, ale někteří pacienti nesnáší přímý kontakt s tímto olejem. Je možné nálev z tohoto oleje i inhalovat. [14, 17, 18, 19]

Použití k léčbě:

Na řezné rány, odřeniny a jiná zranění lze použít odvar z čerstvých listů, který poškozená místa vyčistí a dezinfikuje. Při nachlazení se dají dvě kapky esenciálního oleje do nádoby s horkou vodou a deset minut se inhalují výpary. K uvolnění horních cest dýchacích lze cucat bonbony či pastilky s obsahem tohoto oleje. Na zmírnění kašle se smíchají dvě kapky esenciálního oleje s čajovou lžičkou slunečnicového oleje a tato směs se vtírá dvakrát denně do hrudníku. Pro zmírnění bolestí svalů, ztuhlost a ke zvýšení pohyblivosti je také možno tuto směs vtírat na postižená místa. Nálev z listů nebo zředěného oleje lze nanášet na místa po kousnutí hmyzem a na kožní plísňové infekce. Ale odvar z čerstvých listů ani z esenciálního oleje by se neměl aplikovat na příliš citlivou pokožku, aby nedošlo k podráždění. [14, 18]

Hlavními složkami esenciálního oleje z rostlin eukalyptu jsou α -terpinen, 1,8-cineol a karvakrol. Ale složení jednotlivých druhů eukalyptových esenciálních olejů se liší, například hlavní složkou z oleje získaného z rostliny *Eucalyptus citriodora* je citronelal. Jiné zdroje uvádí, že hlavní součástí eukalyptového esenciálního oleje je eukalyptol. [8, 20, 21]

Antibakteriální účinek

Esenciální oleje z rostlin eukalyptu mají bezpochyby antibakteriální účinek. Ve studii Aneliho a kol. bylo testováno osm druhů eukalyptových olejů proti několika druhům bakterií. Testované oleje měly největší antibakteriální účinek na grampozitivní bakterii *Staphylococcus aureus*. Statistická analýza antibakteriálních aktivit však neprokázala významný rozdíl mezi jednotlivými druhy olejů. Kromě toho jiní výzkumníci uvádějí, že citlivost *S. aureus* je dána vrstvou buněčné stěny. Nicméně aktivita těchto olejů proti bakteriím je obecně nižší než u antibiotik. [9]

Analgetický účinek:

Také esenciální oleje z rostlin eukalyptu mají analgetické účinky. Esenciální oleje z *Eucalyptus citriodora* (eukalypt citronovonný), *Eucalyptus globulus* (eukalypt kulatoplodý) a oleje z *Eucalyptus tereticornis* vyvolávají analgetický účinek u myši krys. Hlavními složkami, které jsou zodpovědné za tento účinek, jsou v esenciálním oleji z *Eucalyptu citriodora* citronelal a v olejích *Eucalyptus globulus* a *Eucalyptus tereticornis* to je 1,8-cineol, který tvoří 60 – 90 % oleje. [1]

Cytotoxický účinek

Podle studie Elaissi a kol. [9] se cytotoxicita eukalyptových esenciálních olejů značně liší v rámci konkrétních druhů olejů. Autoři nicméně nezaznamenali jasnou korelaci mezi odlišným chemickým složením testovaných olejů a výsledkem cytotoxického efektu, proto doporučili provedení další studie. Nejnižší cytotoxicita byla však zaznamenána u olejů, které mají vysoký obsah 1,8-cineolu. Naopak vysoký cytotoxický účinek byl pozorován u olejů, které se vyznačují vyšším množstvím monoterpenu α -pinenu a menším množstvím 1,8-cineolu. [9]

Další účinky

Významné množství molekul aldehydu v oleji z *Eucalyptus citriodora* zodpovídá za antioxidační aktivitu, která se významně podílí na protizánětlivém účinku tohoto oleje. Mimo jiné má olej také antipyretické vlastnosti. [5]

Mnoho studií prokázalo antimykotický účinek rostlinných extraktů a esenciálních olejů z eukalyptu proti dermatofytům a inhibiční účinek esenciálních olejů proti fytopatogenním houbám. Několik studií uvádí antivirovou aktivitu těchto olejů proti adenovirům, příušnicím a herpes simplex virům. [9]

II. PRAKTICKÁ ČÁST

3 MATERIÁLY A PŘÍSTROJE

3.1 Použité materiály a chemikálie

Esenciální oleje

Pro porovnání antibakteriálních účinků esenciálních olejů z rostlin rodu *Mentha* a *Eucalyptus* byly použity následující esenciální oleje:

- *Mentha piperita* (máta peprná) USA, (Nobilis Tilia s.r.o., Česká Lípa)
- BIO *Mentha piperita* (máta peprná) Indie, (Nobilis Tilia s.r.o., Česká Lípa)
- *Mentha spicata* (máta kadeřavá) Japonsko, (Nobilis Tilia s.r.o., Česká Lípa)
- *Mentha arvensis* (máta luční) Nepál, (Nobilis Tilia s.r.o., Česká Lípa)
- *Eucalyptus citriodora* (eukalyptus citronovonný) Čína, (Nobilis Tilia s.r.o., Česká Lípa)
- *Eucalyptus globulus* (eukalyptus kulatoplodý) Čína, (Nobilis Tilia s.r.o., Česká Lípa)
- *Eucalyptus polybractea* Austrálie, (Nobilis Tilia s.r.o., Česká Lípa)
- BIO *Eucalyptus radiata* Austrálie, (Nobilis Tilia s.r.o., Česká Lípa)

Rozpouštědlo

- Ethanol absolutní bezvodý p.a. (Ing. Petr Lukeš, Uherský Brod)
- Denaturovaný etanol

3.2 Použité mikroorganismy a kultivační půdy

Pro porovnání, zda mají všechny oleje z jednoho rodu rostliny stejný antibakteriální účinek, byly použity tyto mikroorganismy, které byly získány z České sbírky mikroorganismů (Czech Collection of Microorganisms, CCM):

- *Micrococcus luteus* CCM 732
- *Staphylococcus aureus* subsp. *aureus* CCM 3953
- *Bacillus cereus* CCM 2010
- *Bacillus subtilis* subsp. *spizizenii* CCM 4062
- *Pseudomonas fluorescens* CCM 1969
- *Proteus vulgaris* CCM 1956

- *Enterobacter aerogenes* CCM 2531
- *Serratia marcescens* subsp. *marcescens* CCM 303
- *Salmonella enterica* subsp. *enterica* ser. Enteritidis CCM 4420
- *Escherichia coli* CCM 3954

K uchování mikroorganismů byl použit masopeptonový agar. K testování antibakteriálního účinku esenciálních olejů pomocí diskové metody byl použit Mueller Hinton agar. K přípravě inokula byl použit masopeptonový bujón. Mikroorganismy byly uchovávány v ledničce při teplotě 4 ± 2 °C.

Masopeptonový bujón

- | | |
|-------------------------------|---------|
| • NaCl (Lach:Ner) | 5 g |
| • Pepton (HiMedia) | 5 g |
| • BE = beef extrakt (HiMedia) | 3 g |
| • destilovaná voda | 1000 ml |

Jednotlivé složky byly naváženy, rozpuštěny v destilované vodě a sterilizovány v autoklávu 20 min při 132 °C.

Masopeptonový agar

Složení masopeptonového agaru je shodné se složením masopeptonového bujónu, pouze je do směsi přidáván agar v koncentraci 15 g/l.

Mueller Hinton agar (HiMedia)

Na digitálních vahách bylo naváženo 15,2 g směsi a doplněno destilovanou vodou do 400 ml. Následovala sterilizace v autoklávu 20 min při 132 °C. Poté byl agar rozlit do sterilních Petriho misek.

3.3 Použité přístroje, zařízení a pomůcky

- Digitální váhy
- Vortex, (Heidolph REAX top), Německo

- Biohazard box EUROFLOW (Clean air), Holandsko
- Autokláv Variokláv H+P, Německo
- Biologický termostat BT 120, Česká republika
- Automatické mikropipety Biohit
- Laboratorní sklo (Petriho misky, hokejky, zkumavky, kádinky)
- Laboratorní plasty (špičky pro automatické mikropipety, očkovací kličky)
- Disky z filtračního papíru o průměru cca 0,5 cm
- Ostatní běžné laboratorní pomůcky a vybavení

3.4 Dekontaminace použitého materiálu

Veškerý materiál, jako je laboratorní sklo, kultivační média apod., který byl při praktické části bakalářské práce použit, byl dekontaminován v autoklávu při teplotě 132 °C a době působení 20 minut.

3.5 Metodika

V praktické části bakalářské práce byla pro stanovení účinku esenciálních olejů na mikroorganismy použita difuzní disková metoda.

Nejprve byly připraveny inokula mikroorganismů. Byl přichystán masopeptonový bujón, který byl rozpipetována po 4 ml do zkumavek. Zkumavky s médiem byly sterilizovány v autoklávu. Po jejich vychladnutí byly do bujónu zaočkovány mikroorganismy pomocí očkovací kličky. Zkumavky byly uloženy do termostatu na dobu 24 hodin při teplotě 30°C.

Dále byly připraveny plotny s Mueller Hinton agarem, na které bylo očkováno inokulum mikroorganismů. Na každou plotnu bylo pipetováno 100 µl na vortexu pečlivě rozmíchaného inokula a pomocí sterilní hokejky byla suspenze rozhojekována po celé ploše misky.

Po mírném zaschnutí bujónu mohly být na povrch agaru pokládány disky. Disky byly připraveny z filtračního papíru a následně vysterilizovány v autoklávu. Na jednu misku bylo aplikováno 6 disků, z toho 5 bylo určeno pro různě koncentrované roztoky esenciálních olejů a šestý sloužil jako kontrolní disk. Roztoky esenciálních olejů byly připravovány v ethanolu. Každý z osmi testovaných olejů byl připraven do pěti různých koncentrací dle následující tabulky. Celkové množství připraveného oleje bylo 100 µl.

Tab. 1. Množství EO a ethanolu pro různé ředění EO

	Esenciální olej [μ l]	Ethanol [μ l]
Koncentrovaný EO	100	0
1. ředění EO	50	50
2. ředění EO	25	75
3. ředění EO	12,5	87,5
4. ředění EO	6,25	93,75

Na jednu misku byl použit jeden esenciální olej o všech jeho pěti koncentracích. Na každý disk bylo napipetováno 2,5 μ l roztoku esenciálního oleje. A na šestý kontrolní disk bylo napipetováno 2,5 μ l destilované vody. Testování bylo prováděno dvojmo vedle sebe, tedy výsledný počet misek pro osm esenciálních olejů a deset mikroorganismů byl 160. Misky, na které byly naočkovány mikroorganizmy *Bacillus cereus*, *Bacillus subtilis* a *Pseudomonas fluorescens* byly kultivovány 24 hodin při teplotě 30 °C. Zbylé misky s mikroorganizmy *Micrococcus luteus*, *Staphylococcus aureus*, *Proteus vulgaris*, *Enterobacter aerogenes*, *Serratia marcescens*, *Salmonella Enteritidis* a *Escherichia coli* byly kultivovány 24 hodin při teplotě 37 °C.

Po uplynutí stanovené doby byla změřena velikost inhibičních zón kolem disků. Vznik inhibiční zóny značil antimikrobiální účinek esenciálního oleje proti danému mikroorganismu.

4 VÝSLEDKY A DISKUZE

Antibakteriální účinnost esenciálních olejů na mikroorganismy byla zjištěna pomocí vzniklé inhibiční zóny kolem disku. Pokud esenciální olej na daný mikroorganismus nepůsobí inhibičně, nedojde ke vzniku inhibiční zóny a nárůst bakteriální kultury kolem disku je souvislý. Pokud esenciální olej brání růstu mikroorganismů, vytvoří se kolem disku inhibiční zóna, jejíž velikost je úměrná míře antimikrobní aktivity.

4.1 Měření velikosti inhibiční zóny

Při testování antibakteriálního účinku esenciálních olejů na deseti vybraných mikroorganismech byly použity čtyři druhy eukalyptových a čtyři druhy mátových esenciálních olejů, u kterých bylo zkoumáno, zda mají stejný účinek na bakterie nebo či se jejich antimikrobiální vlastnosti liší.

Po 24 hodinové inkubaci misek s mikroorganismy a na discích nanesenými esenciálními oleji byla změřena inhibiční zóna kolem disku. Disk měl průměr 0,55 cm a inhibiční zóny byly měřeny jako průměr kruhové zóny včetně těchto disků.

Měření bylo prováděno ve dvou opakování a výsledná velikost inhibiční zóny byla uváděna jako průměr ze dvou naměřených hodnot.

Jak bylo při experimentu zjištěno, neplatilo, že se snižující se koncentrací esenciálního oleje se snižoval také účinek oleje na bakterie. Možným důvodem mohla být viskozita některých olejů, která neumožnila dostatečnou difúzi oleje agarom, což ovlivňuje velikost vzniklé inhibiční zóny. Vzhledem k tomuto zjištění bylo zamýšleno viskozitu jednotlivých olejů změřit. Esenciální oleje byly dodány v lahvičkách o objemu 5 ml, což nebylo dostačující pro provedení viskozimetrie v laboratořích Ústavu tuků, tenzidů a kosmetiky.

Veškeré naměřené výsledky velikostí inhibičních zón byly vyneseny do grafů, které názorně ukazují účinnost jednotlivých olejů a dané mikroorganismy.

4.1.1 *Staphylococcus aureus*

Jako první byl testován grampozitivní mikroorganismus *Staphylococcus aureus*. Největší antibakteriální účinek na tento mikroorganismus, měly esenciální oleje z *Mentha piperita* a *Eucalyptus citriodora*, jak je vidět na Obr. 1. Inhibiční zóny, které byly utvořeny kolem disku, měly průměr 1,25 cm. V obou případech se jednalo o stoprocentní (neředěné) esen-

ciální oleje. Jediným esenciálním olejem, který na *Staphylococcus aureus* neměl inhibiční účinek, byl olej z *Eucalyptus radiata* v biokvalitě. Olej z *Mentha arvensis* měl výrazné inhibiční účinky na *S. aureus*. Největší inhibiční zóna byla vytvořena u koncentrovaného esenciálního oleje, měla průměr 1 cm. U prvního ředění byla vytvořena zóna o průměru 0,85 cm, u druhého ředění měla zóna průměr 0,75 cm a u třetího ředění byla zaznamenána zóna o velikosti 0,6 cm. Inhibiční zóna u čtvrtého ředění esenciálního oleje byla větší než u ředění třetího a měla průměr 0,7 cm.

Esenciální olej z *Mantha spicata* byl na *S. aureus* účinný také ve všech koncentracích. Koncentrovaný olej vytvořil kolem disku inhibiční zónu o průměru 0,85 cm. U prvního ředění oleje byla zóna 0,75 cm a u druhého ředění měla zóna velikost 0,7 cm. U třetího a čtvrtého ředění došlo ke vzniku stejně velké zóny o průměru 0,6 cm.

Mátový olej z *Mentha piperita* byl účinný pouze ve třech koncentracích. Stoprocentní olej vytvořil zónu kolem disku o velikosti 1,25 cm. U vyšších ředění byly inhibiční zóny menší, pro první ředění 0,95 cm a pro druhé ředění 0,6 cm.

Esenciální olej z *Mentha piperita* v biokvalitě prokázal antibakteriální účinnost proti této bakterii vznikem inhibiční zóny o velikosti 1 cm v koncentrované formě. Menší inhibiční účinek a tedy i menší zóny byly detekovány u prvního ředění (0,75 cm) i u ředění následujících (0,7 cm u druhého ředění a 0,6 cm u třetího a čtvrtého ředění).

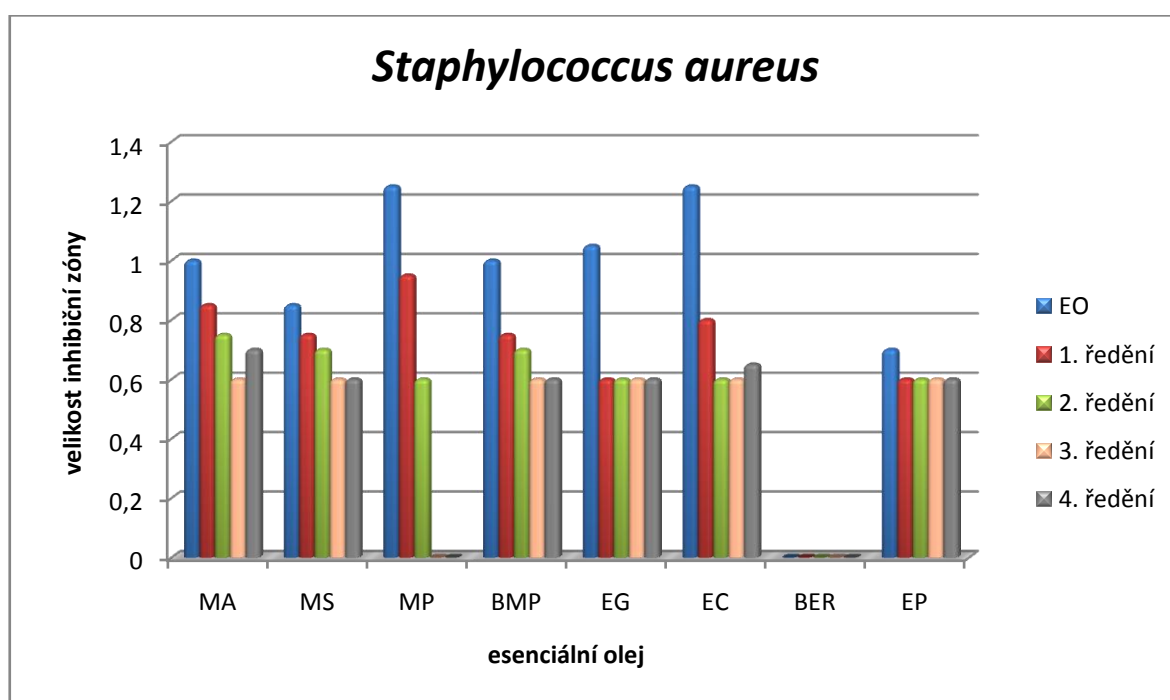
U oleje z *Eucalyptus globulus* byl výrazněji účinný pouze koncentrovaný olej, který kolem disku vytvořil zónu o průměru 1,05 cm, zbylá ředění vytvořila zóny pouze o velikosti 0,6 cm.

Esenciální olej získaný z *Eucalyptu citriodora* měl inhibiční zóny u koncentrovaného oleje 1,25 cm, u prvního ředění 0,8 cm, u druhého a třetího ředění tento olej vytvořil inhibiční zónu o velikosti 0,6 cm. U čtvrtého ředění byla zaznamenána větší inhibiční zóna než u ředění druhého a třetího a to o velikosti 0,65 cm. Tento rozdíl ve velikosti zón však je velmi malý a zanedbatelný.

U esenciálního oleje z *Eucalyptus polybractea* byla prokázána inhibiční aktivita vůči *S. aureus*, ale ve srovnání s ostatními testovanými oleji byl tento účinek nižší. Vzniklá zóna koncentrovaného oleje měla velikost 0,7 cm a u ostatních ředění měla velikost 0,6 cm.

Antibakteriální aktivita mátových a eukalyptových esenciálních olejů na *Staphylococcus aureus* byla prokázána mnohými autory. Na tuto bakterii působí inhibičně jak mátové, tak i eukalyptové esenciální oleje. Názory jednotlivých autorů se liší pouze v míře účinku, což

je ale do značné míry způsobeno rozdíly v metodice testů a použitím různých kmenů *S. aureus*. Většina studií se však shoduje na tom, že mezi různými druhy eukalyptových esenciálních olejů, není výrazný rozdíl v aktivitě proti *S. aureus*. [3, 7, 9, 20] V této práci nebyly zaznamenány významné rozdíly v působení oleje z *Eucalyptus globulus*, *Eucalyptus citriodora* a *Eucalyptus polybractea*. Jako zcela neúčinný se však jevil esenciální olej z *Eucalyptus radiata* v biokvalitě, což naznačuje, že původ oleje a podmínky zpracování mohou mít podstatný vliv na antibakteriální aktivitu eukalyptových olejů.



Obr. 1. Antibakteriální aktivita EO na *Staphylococcus aureus*

Legenda: (MA – *Mentha arvensis*, MS – *Mentha spicata*, MP – *Mentha piperita*, BMP – BIO *Mentha piperita*, EG – *Eucalyptus globulus*, EC – *Eucalyptus citriodora*, BER – BIO *Eucalyptus radiata*, EP – *Eucalyptus polybractea*)

4.1.2 *Bacillus subtilis*

Bakterie *Bacillus subtilis* je grampozitivní bakterie, která má tyčinkový tvar buňky a je poměrně citlivá na působení esenciálních olejů, převážně ve vyšších koncentracích.

Antibakteriální účinek esenciálního oleje z *Mentha arvensis* v koncentrované formě byl prokázán vznikem 2,05 cm zóny kolem disku, u prvního ředění byla vytvořena zóna o velikosti 1,05 cm, ostatní ředění měla inhibiční zóny menší.

Olej získaný z *Mentha spicata* neměl příliš velký účinek na bakterii *Bacillus subtilis*, protože kolem disků byly vytvořeny poměrně malé inhibiční zóny nepřesahující 0,8 cm.

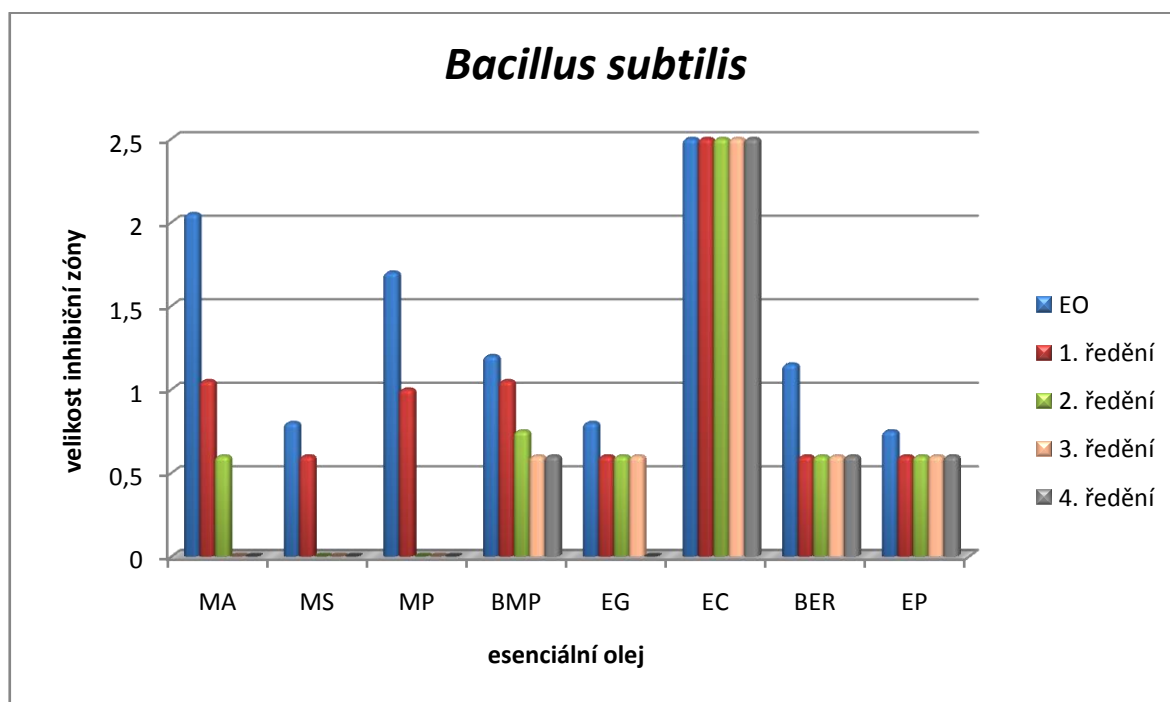
Olej z *Mentha piperita* měl podobné vlastnosti jako předcházející olej, jeho účinek byl prokázán také jen u dvou ředění s nejvyšší koncentrací. U neředěného oleje byla zóna 1,7 cm a u prvního ředění byla velikost zóny 1 cm.

Naproti tomu esenciální olej *Mentha piperita* v biokvalitě vytvořil kolem disků zóny u všech koncentrací oleje. Podobně jako u *Staphylococcus aureus* i zde byly zaznamenány významné rozdíly mezi esenciálním olejem ve standardní kvalitě a olejem v biokvalitě. Na rozdíl od výsledků pro *S. aureus* však byl olej v biokvalitě proti *B. subtilis* účinnější.

Esenciální olej z *Eucalyptus globulus* vytvořil inhibiční zóny kolem čtyř disků. U nejkonzentrovanejšího oleje byla naměřena zóna 0,8 cm a u zbylých třech nižších koncentrací byly zóny 0,6 cm. U nejméně koncentrovaného oleje zóna pozorována nebyla.

Jak lze vidět na Obr. 2. nejvyšší antibakteriální účinek esenciálního olej měl na *Bacillus subtilis* olej z *Eucalyptus citriodora*, byl tak velký, že na celé Petriho misce nebyl pozorován žádný nárůst kultury.

U olejů získaných z BIO *Eucalyptus radiata* a *Eucalyptus polybractea* byly naměřeny zóny u všech disků s esenciálním olejem, u prvního až čtvrtého ředění měly zóny shodnou velikost 0,6 cm u obou olejů. Antibakteriální aktivita byla větší u oleje v biokvalitě, protože kolem disku s tímto koncentrovaným olejem byla zóna 1,15 cm a u EO z *Eucalyptus polybractea* měla zóna velikost jen 0,75 cm.



Obr. 2. Antibakteriální aktivita EO na *Bacillus subtilis*

Legenda: (MA – *Mentha arvensis*, MS – *Mentha spicata*, MP – *Mentha piperita*, BMP – BIO *Mentha piperita*, EG – *Eucalyptus globulus*, EC – *Eucalyptus citriodora*, BER – BIO *Eucalyptus radiata*, EP – *Eucalyptus polybractea*)

4.1.3 *Bacillus cereus*

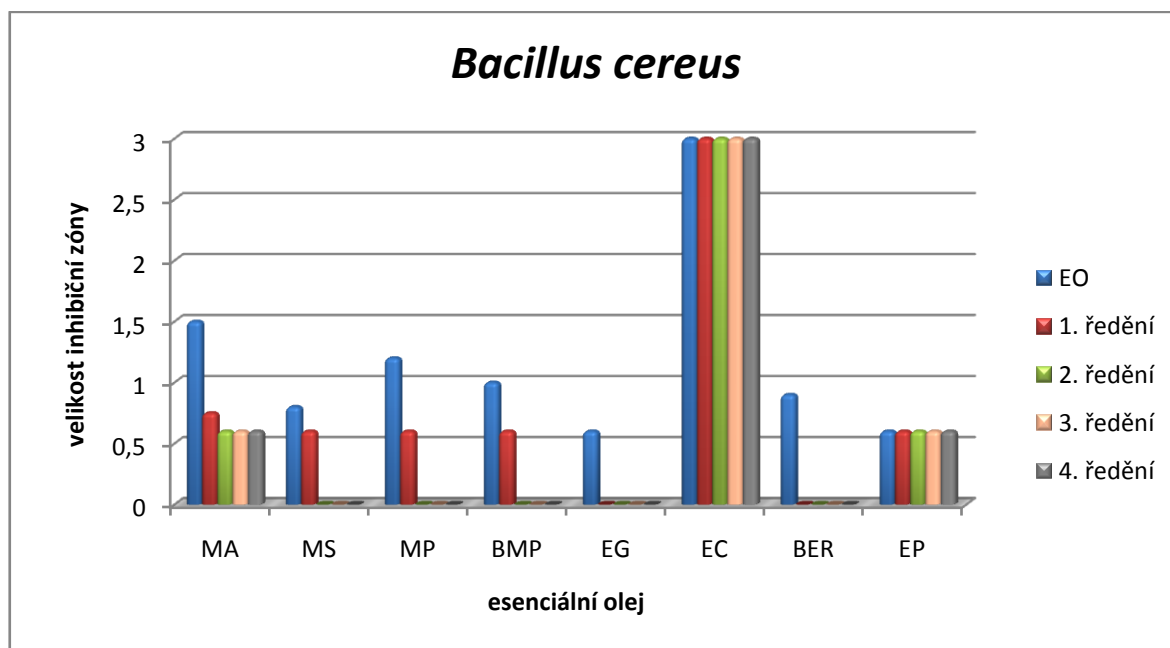
Bacillus cereus je také grampozitivní tyčinka, která je oproti *Bacillus subtilis* odolnější vůči testovaným esenciálním olejům, jejich citlivost k EO můžeme vzájemně porovnat na Obr. 2. a 3.

Esenciální olej získaný z *Mentha arvensis* je proti bakterii účinný ve všech koncentracích. U koncentrované formy oleje byla kolem disku naměřena poměrně velká zóna o průměru 1,5 cm. Olej z *Mentha spicata* měl antibakteriální účinek pouze ve dvou nejkonzentrovanejších ředěních oleje. U stoprocentního oleje byla vytvořena zóna 0,8 cm a kolem disku s prvním ředěním oleje byla zóna 0,6 cm. Olej z *Mentha piperita* byl také účinný pouze jen ve dvou koncentracích. Větší ze dvou inhibičních zón měla průměr 1,2 cm a patřila koncentrovanému oleji. Menší 0,6 cm zóna byla utvořena u prvního ředění oleje.

Esenciální olej z *Eucalyptus globulus* působil inhibičně na *B. cereus* pouze v koncentrované formě. I tento neředěný olej však způsobil pouze vznik inhibiční zóny o malém průměru.

U esenciálního oleje získaného z *Eucalyptus citriodora* nebyl zaznamenán na Petriho misce žádný nárůst bakterií *Bacillus cereus* stejně jako v případě stejného oleje u bakterie *Bacillus subtilis*. Esenciální olej z rostliny *Eucalyptus radiata* v biokvalitě působil na bakterie jen v koncentrované formě, kde vytvořil kolem disku zónu o velikosti 0,95 cm.

Eukalyptový esenciální olej z *Eucalyptus polybractea* měl ve všech koncentracích stejný účinek, velikost zón byla 0,6 cm. Výše uvedené výsledky naznačují značnou citlivost bakterie *Bacillus cereus* k esenciálním olejům získaným z rostlin rodu *Eucalyptus*. Ke stejným závěrům dospěli ve své studii například i Chaibi a kol. [22], i tato studie zaznamenala inhibiční účinky eukalyptového oleje na *B. cereus*.



Obr. 3. Antibakteriální aktivita EO na *Bacillus cereus*

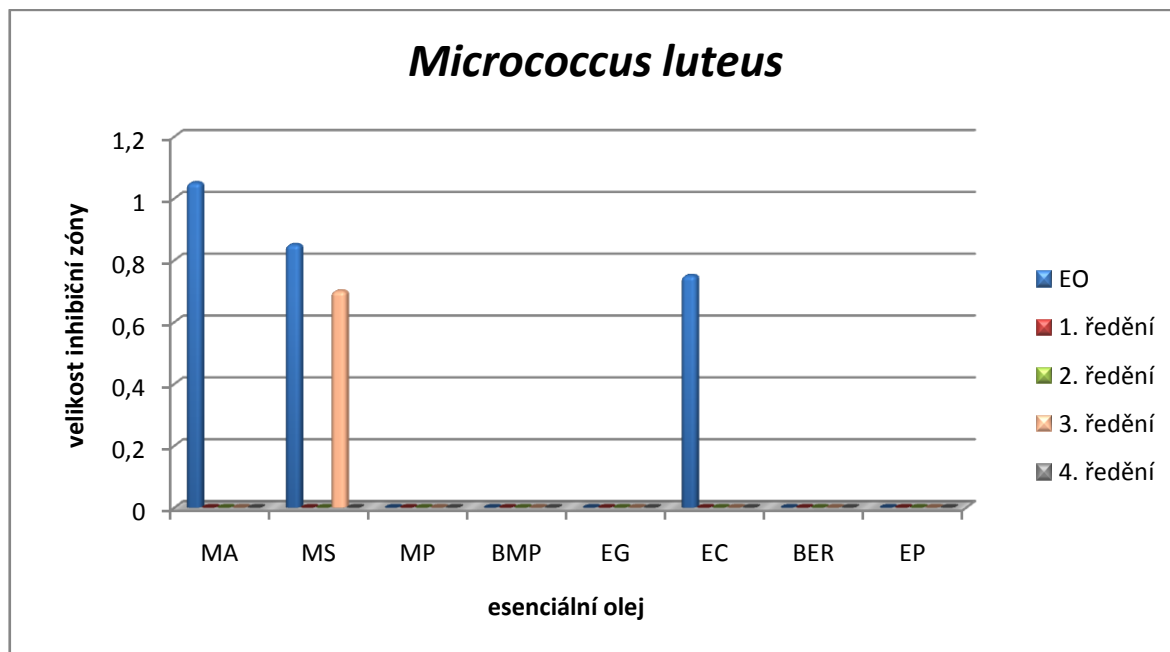
Legenda: (MA – *Mentha arvensis*, MS – *Mentha spicata*, MP – *Mentha piperita*, BMP – BIO *Mentha piperita*, EG – *Eucalyptus globulus*, EC – *Eucalyptus citriodora*, BER – BIO *Eucalyptus radiata*, EP – *Eucalyptus polybractea*)

4.1.4 *Micrococcus luteus*

V případě grampozitivní bakterie *Micrococcus luteus* nebyla antibakteriální účinnost esenciálních olejů použitých v experimentu téměř prokázána. Zóny byly pozorovány pouze u třech olejů. Tato skutečnost je vyobrazena na Obr. 4.

Prvním a zároveň nejúčinnějším esenciálním olejem na tuto bakterii byl olej z rostliny *Mentha arvensis* s inhibiční zónou o velikosti 1,05 cm.

Ve dvou různých koncentracích byl pozorován účinek esenciálního oleje z *Mentha spicata*. Inhibiční zóna o průměru 0,85 cm byla pozorována u koncentrovaného oleje. Esenciální olej z *Eucalyptus citriodora* měl antibakteriální účinek pouze v koncentrované formě, při ředění oleje nebyl zaznamenán vznik inhibičních zón.



Obr. 4. Antibakteriální aktivita EO na *Micrococcus luteus*

Legenda: (MA – *Mentha arvensis*, MS – *Mentha spicata*, MP – *Mentha piperita*, BMP – BIO *Mentha piperita*, EG – *Eucalyptus globulus*, EC – *Eucalyptus citriodora*, BER – BIO *Eucalyptus radiata*, EP – *Eucalyptus polybractea*)

4.1.5 *Escherichia coli*

U gramnegativní bakterie *Escherichia coli* bylo prokázáno, že je citlivá vůči osmi esenciálním olejům, které byly při experimentu testovány a tedy tyto oleje mají antibakteriální účinek vůči *E. coli*.

Jak jde vidět na Obr. 5, největší účinek proti *E. coli* měl esenciální olej z *Mentha arvensis*, který v koncentrované formě vytvořil inhibiční zónu o průměru 1,5 cm. Olej z *Mentha spicata* byl účinný ve všech koncentracích, u stoprocentního oleje byla vytvořena zóna o velikosti 0,9 cm.

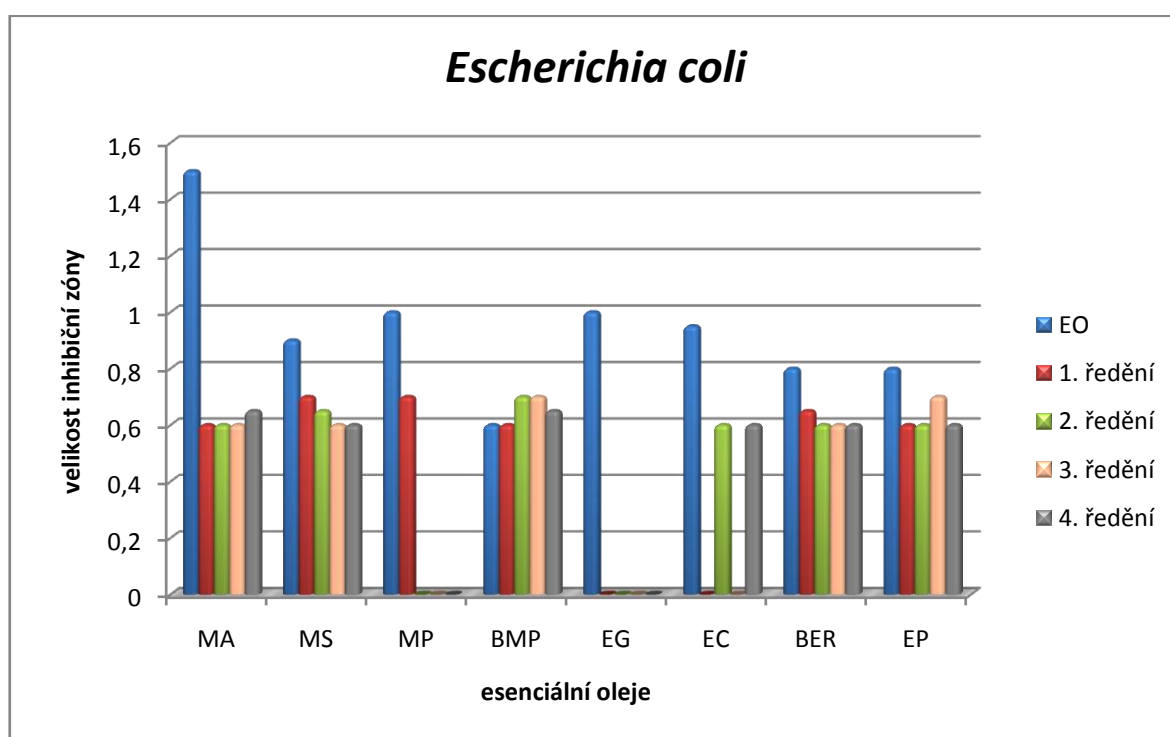
Pokud jde o oleje z *Mentha piperita*, na *E. coli* měl olej ve standardní kvalitě inhibiční účinek pouze v koncentrované formě a nejnižším ředění. Mátový olej v biokvalitě měl výraznější inhibiční účinky na *E. coli* a vznik zón byl sledován ve všech ředění tohoto oleje.

V dostupné literatuře lze najít řadu zdrojů, které potvrzují inhibiční účinek mátových olejů vůči tomuto mikroorganismu. Pro *E. coli* tedy byla prokázána významná antibakteriální aktivita esenciálních olejů z máty. Práce se také shodují v míře inhibičního účinku [7].

Esenciální olej z *Eucalyptus globulus* byl účinný pouze v koncentrované formě, kde kolem disku vznikla zóna o velikosti 1 cm. V nižších koncentracích olej účinný nebyl. U esenci-

álního oleje získaného z *Eucalyptus citriodora* byla prokázána antibakteriální aktivita zejména u koncentrovaného oleje, u kterého došlo k vytvoření zóny o průměru 0,95 cm.

Esenciální olej z BIO *Eucalyptus radiata* byl účinný v koncentrované formě se zónou 0,8 cm, u zbývajících ředění byly zóny zanedbatelné. Esenciální olej z *Eucalyptus polybractea* měl stejnou účinnost v prvním, druhém a čtvrtém ředění, kde kolem disků vznikly zóny 0,6 cm. Skutečnost, že eukalyptové EO jsou účinné proti *E. coli*, byla prokázána také v literatuře, platí, že *E. coli* je méně citlivá vůči těmto olejům než *S. aureus*. Toto zjištění je v souladu s obecně vyšší odolností gramnegativních bakterií k antimikrobním látkám ve srovnání s bakteriemi grampozitivními. [20]



Obr. 5. Antibakteriální aktivita EO na *Escherichia coli*

Legenda: (MA – *Mentha arvensis*, MS – *Mentha spicata*, MP – *Mentha piperita*, BMP – BIO *Mentha piperita*, EG – *Eucalyptus globulus*, EC – *Eucalyptus citriodora*, BER – BIO *Eucalyptus radiata*, EP – *Eucalyptus polybractea*)

4.1.6 *Proteus vulgaris*

Proteus vulgaris je gramnegativní bakterie. U všech testovaných esenciálních olejů byla prokázána antibakteriální aktivita vůči této bakterii.

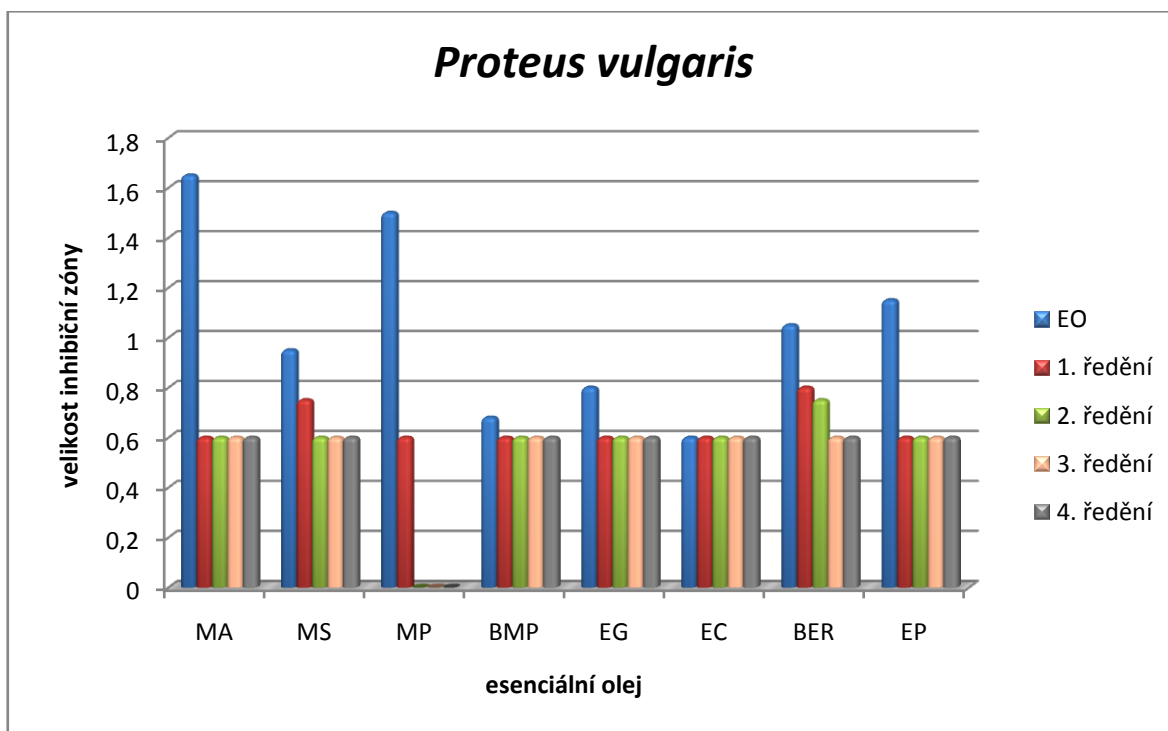
V případě esenciálního oleje z *Mentha arvensis* byla výraznější aktivita prokázána u koncentrovaného oleje, kde byla velikost inhibiční zóny naměřena 1,65 cm. V ostatních kon-

centracích byly zóny velké 0,6 cm. U dalšího oleje, z *Mentha spicata*, byla naměřena zóna 0,95 cm v případě neředěného oleje.

Olej získaný z *Mentha piperita*, tak jako u většiny ostatních testovaných bakterií, byl účinný pouze ve dvou nejvyšších koncentracích. U koncentrovaného oleje byla zóna 1,5 cm, další ředění vykazovala pouze slabý antimikrobiální účinek nebo nebyla zjištěna žádná inhibiční zóna (Obr. 6). Ve srovnání s olejem z *Mentha piperita* v biokvalitě byl standardní olej účinnější v koncentrované formě. U esenciálního oleje v biokvalitě však byly zóny detekovány ve všech ředěních, přestože vzhledem k jejich velikosti nelze tento olej považovat za účinné antimikrobikum.

U eukalyptového esenciálního oleje z rostliny *Eucalyptus globulus* byla největší inhibiční zóna naměřena u koncentrovaného oleje, zbývající čtyři ředění nezpůsobily vznik výrazných inhibičních zón. U esenciálního oleje z *Eucalyptus citriodora* byly zaznamenány zóny u všech koncentrací, všech pět zón mělo průměr 0,6 cm.

Z eukalyptových olejů způsobil největší inhibici *Proteus vulgaris* olej z BIO *Eucalyptus radiata*. Větší inhibiční zóny a tedy i lepší antibakteriální účinnost však vykazovaly oleje mátové.



Obr. 6. Antibakteriální aktivita EO na *Proteus vulgaris*

Legenda: (MA – *Mentha arvensis*, MS – *Mentha spicata*, MP – *Mentha piperita*, BMP – BIO *Mentha piperita*, EG – *Eucalyptus globulus*, EC – *Eucalyptus citriodora*, BER – BIO *Eucalyptus radiata*, EP – *Eucalyptus polybractea*)

4.1.7 *Pseudomonas fluorescens*

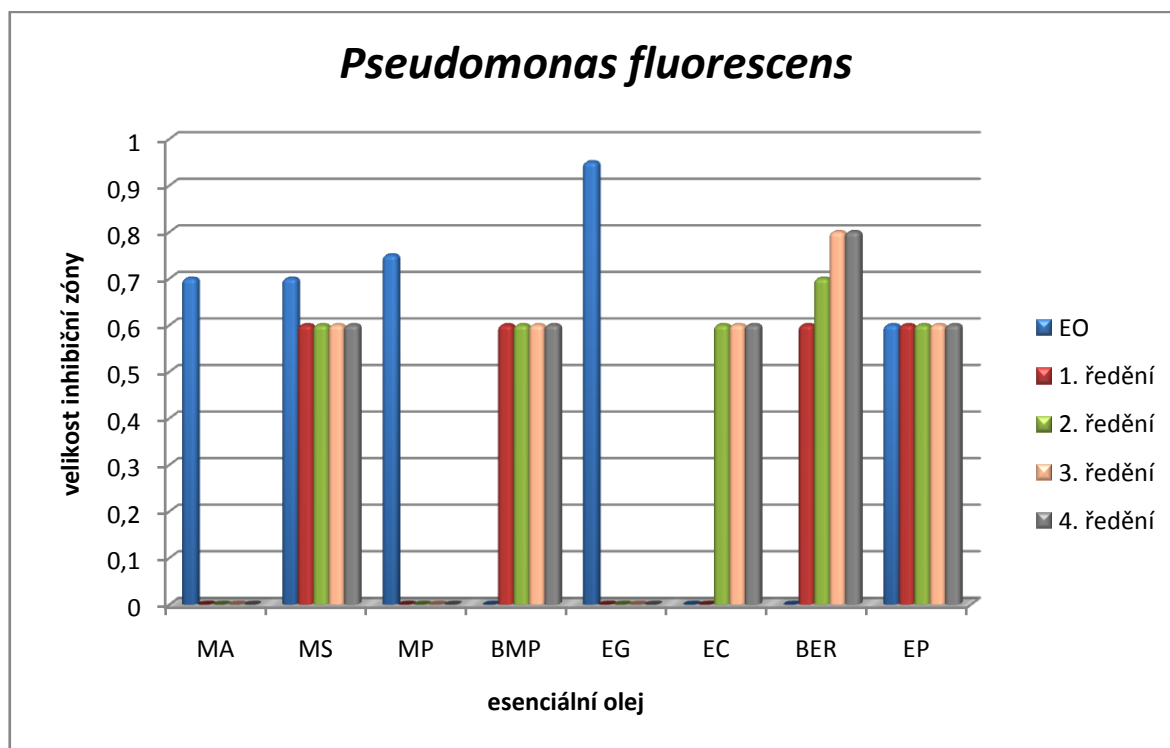
Pseudomonas fluorescens je gramnegativní bakterie, která je různě citlivá na jednotlivé druhy testovaných esenciálních olejů. Citlivost *P. fluorescens* na esenciální oleje je možno vidět na Obr. 7.

Při zkoušení antibakteriálních vlastností esenciálního oleje z *Mentha arvensis*, byla tato aktivita prokázána pouze u koncentrovaného oleje, kde byla kolem disku vytvořena zóna o velikosti 0,7 cm. Stejný účinek měly také oleje z *Mentha piperita* a *Eucalyptus globulus*, pouze s tím rozdílem, že u mátového oleje byla naměřena zóna o průměru 0,75 cm a u oleje *Eucalyptus globulus* byla pozorována inhibiční zóna o něco větší, měřila 0,95 cm.

Opačný účinek, kdy koncentrované formy olejů účinné nebyly, a inhibiční aktivita byla pozorována u méně koncentrovaných olejů, byl zpozorován u oleje z *Mentha piperita* v biokvalitě, *Eucalyptus citriodora* a *Bioeucalyptus radiata*. Tento trend je patrný zejména u EO z BIO *Eucalyptus radiata*. Se snižující se koncentrací oleje v ethanolu narůstal inhibiční účinek. Tento jev lze patrně připisovat vyšší viskozitě těchto olejů, která brání difúzi antimikrobních látek do agarů. Větší inhibiční zóny jsou detekovány až při naředění oleje, čímž se schopnost antibakteriálně působících složek oleje difundovat agarem zvýší.

Jediné dva esenciální oleje, které byly účinné ve všech testovaných koncentracích na bakterii *Pseudomonas fluorescens*, byly oleje z rostlin *Mentha spicata* a *Eucalyptus polybractea*. Inhibiční zóny však byly pouze mírné.

U bakterií rodu *Pseudomonas* byla prokázána určitá účinnost eukalyptových esenciálních olejů, převážně oleje z *Eucalyptus globulus*. Tyto bakterie společně s bakterií *S. aureus* jsou zodpovědné za mnohá infekční onemocnění a navíc jsou odolné vůči různým antibiotikům. Zde tedy eukalyptové oleje představují alternativu k běžně používaným antimikrobním látkám. [3, 9]



Obr. 7. Antibakteriální aktivita EO na *Pseudomonas fluorescens*

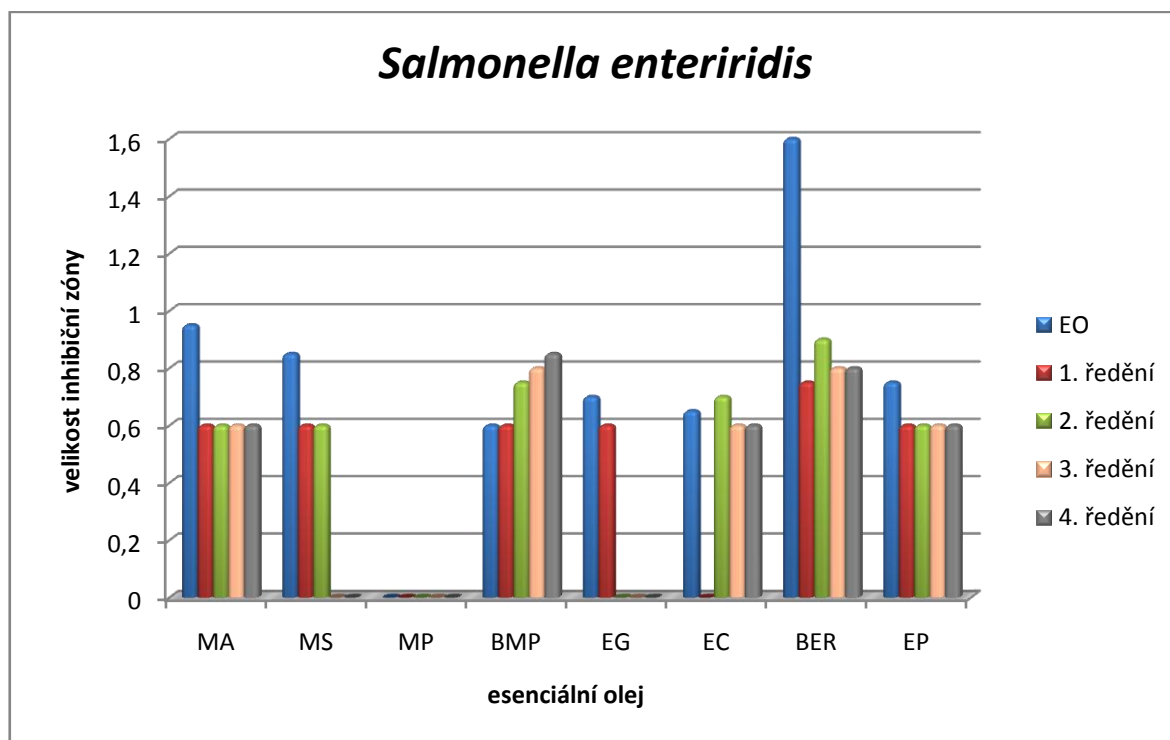
Legenda: (MA – *Mentha arvensis*, MS – *Mentha spicata*, MP – *Mentha piperita*, BMP – BIO *Mentha piperita*, EG – *Eucalyptus globulus*, EC – *Eucalyptus citriodora*, BER – BIO *Eucalyptus radiata*, EP – *Eucalyptus polybractea*)

4.1.8 *Salmonella Enteritidis*

Nejúčinnějším olejem, který je schopen potlačit růst *Salmonella Enteritidis*, je olej získaný z *Eucalyptus radiata* v biokvalitě. Po kultivaci byla změřena inhibiční zóna o velikosti 1,6 cm a lze tedy v případě tohoto oleje hovořit o silném antibakteriálním působení na salmonely.

Ostatní testované oleje měly inhibiční účinek mírnějšího charakteru s velikostí inhibičních zón v rozmezí 0,6 - 0,8 cm.

Za zmínku však stojí srovnání dvou olejů získaných ze stejného druhu *Mentha piperita*, které se liší pouze podmínkami pěstování a způsobem zpracování rostlinného materiálu. Zatímco mátový olej ve standardní kvalitě neměl žádný inhibiční vliv na *Salmonella Enteritidis*, olej v biokvalitě bránil růstu a množení salmonel. Tyto účinky byly pozorovány zejména při vyšším ředění díky značné viskozitě oleje. Olej z máty v biokvalitě byl tedy jediným z testovaných esenciálních olejů, který na tuto bakterii neměl antibakteriální účinek v žádné z použitých koncentrací.



Obr. 8. Antibakteriální aktivita EO na *Salmonella Enteritidis*

Legenda: (MA – *Mentha arvensis*, MS – *Mentha spicata*, MP – *Mentha piperita*, BMP – BIO *Mentha piperita*, EG – *Eucalyptus globulus*, EC – *Eucalyptus citriodora*, BER – BIO *Eucalyptus radiata*, EP – *Eucalyptus polybractea*)

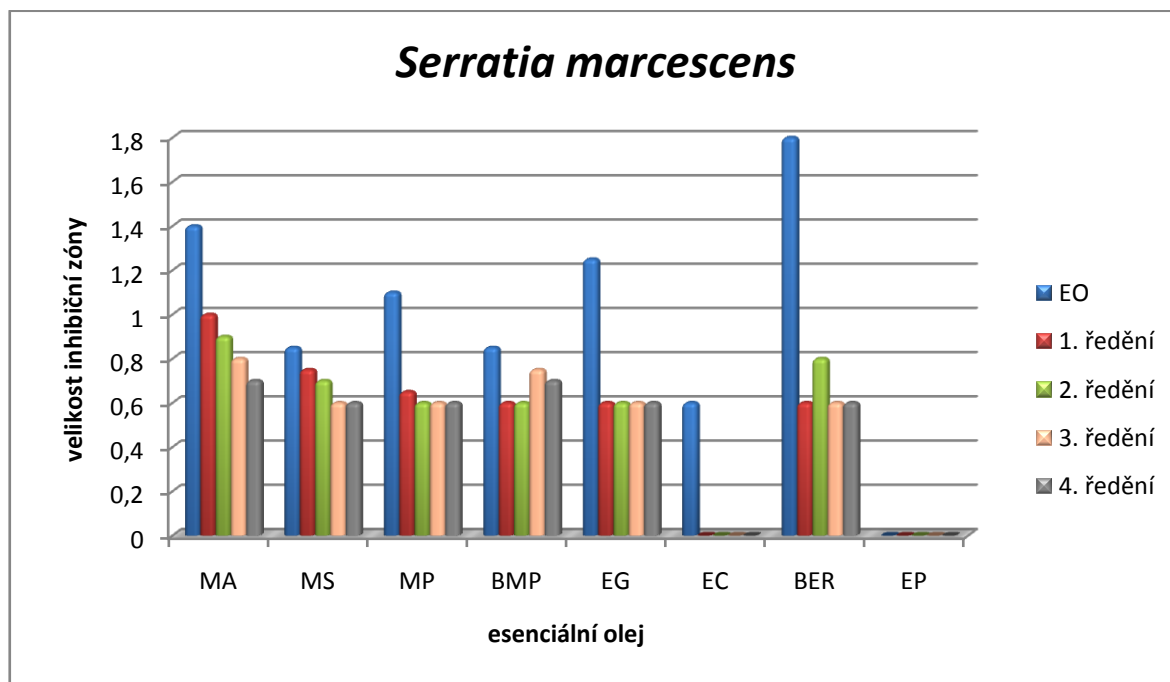
4.1.9 *Serratia marcescens*

Při testování esenciálních olejů na antibakteriální aktivitu vůči gramnegativní bakterii *Serratia marcescens* bylo prokázáno, že tato bakterie je vůči sedmi z osmi testovaných olejů citlivá a oleje na ni mají inhibiční účinek (Obr. 9). Jediný olej, u kterého tato vlastnost prokázána nebyla, je esenciální olej z *Eucalyptus polybractea*. Velmi malá účinnost byla zjištěna i u oleje z eukalyptu druhu *Eucalyptus citriodora*, kde pouze aplikace neředěného oleje vedla k vytvoření inhibiční zóny kolem disku, na který byl tento olej napipetován. Zóna měla pouze průměr 0,6 cm. U ostatních šesti olejů byla prokázána antibakteriální aktivita ve všech použitých koncentracích.

U esenciálního oleje z *Mentha arvensis* byl s klesající koncentrací oleje také snižován průměr jednotlivých inhibičních zón, které vznikly kolem disků. U koncentrovaného oleje byla zóna velká 1,4 cm, 1 cm velkou zónu bylo možno pozorovat u prvního ředění oleje, u druhého měla 0,9 cm, a třetího 0,8 cm a u čtvrtého ředění byla zóna velká 0,7 cm.

Esenciální olej z BIO *Mentha piperita* vytvořil největší inhibiční zónu kolem disku s koncentrovaným oleje, která měla 0,85 cm. V případě esenciálního oleje z *Eucalyptus globulus*

vytvořily všechny ředění stejně velké zóny a to o velikosti 0,6 cm. Pouze koncentrovaný olej měl zónu téměř dvakrát větší, měřila 1,25 cm. Bezpochyby největší antibakteriální účinek měl esenciální olej z *Eucalyptus radiata* v biokvalitě, inhibiční zóna kolem disku u koncentrovaného oleje byla 1,8 cm.



Obr. 9. Antibakteriální aktivita EO na *Serratia marcescens*

Legenda: (MA – *Mentha arvensis*, MS – *Mentha spicata*, MP – *Mentha piperita*, BMP – BIO *Mentha piperita*, EG – *Eucalyptus globulus*, EC – *Eucalyptus citriodora*, BER – BIO *Eucalyptus radiata*, EP – *Eucalyptus polybractea*)

4.1.10 *Enterobacter aerogenes*

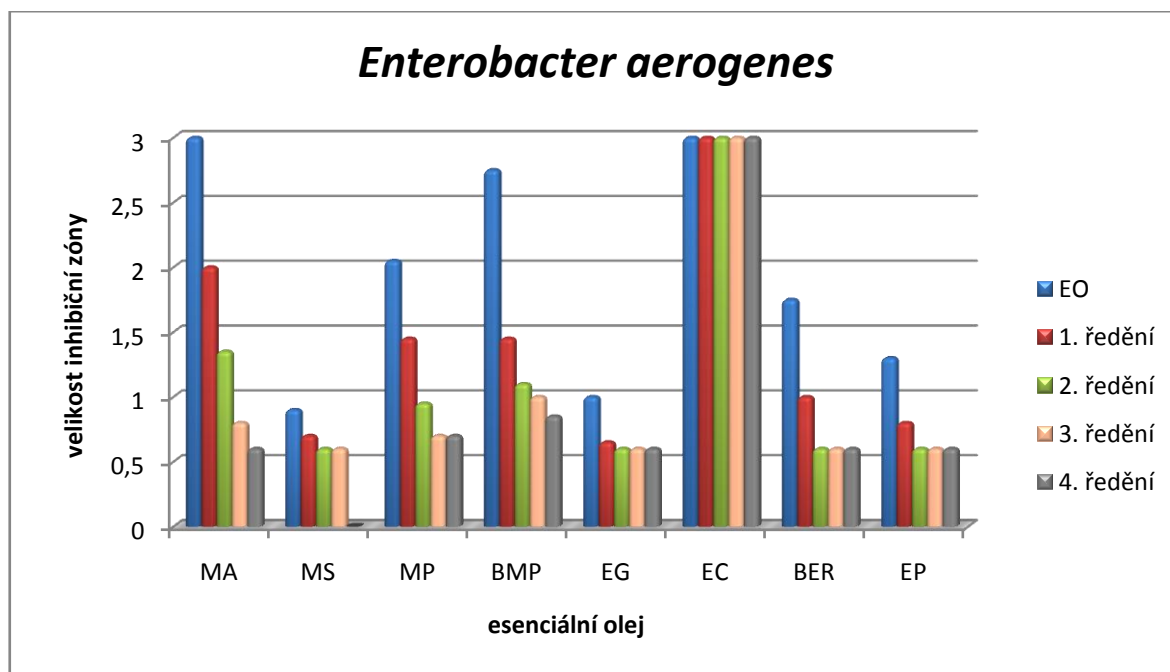
Enterobacter aerogenes je gramnegativní bakterie, která byla citlivá vůči esenciálním olejům, které byly při testování antibakteriálního účinku použity. Z Obr. 10 vyplývá, že nejvíce účinný byl olej z *Mentha arvensis*, který v koncentrované podobě vytvořil zónu o velikosti 3 cm. První ředění oleje vytvořilo zónu 2 cm, druhé ředění 1,35 cm, třetí 0,8 cm a čtvrté 0,6 cm.

Druhým nejúčinnějším olejem byl olej z *Mentha piperita* v biokvalitě. Zóna o průměru 2,75 cm byla utvořena kolem disku s koncentrovaným olejem. Velikost zón prokazuje silný antibakteriální účinek tohoto oleje na *Enterobacter aerogenes*. Ve srovnání esenciálního oleje z *Mentha piperita* ve standardní kvalitě a v biokvalitě měl bio esenciální olej větší antibakteriální aktivitu. U standardního oleje byl průměr zóny 2,05 cm, u prvního ředění 1,45 cm, což je stejná velikost jako u inhibiční zóny zaznamenané pro první ředění oleje v

biokvalitě. Nejmenší účinnost na *Enterobacter aerogenes* měl z mátových olejů esenciální olej z *Mentha spicata*.

Z eukalyptových olejů měl největší účinek olej z *Eucalyptus citriodora*, zóny byly natolik velké, že v Petriho miskách nebylo možné změřit průměry inhibičních zón, které se vytvořily kolem disků. Esenciální olej z *Eucalyptus globulus* měl v koncentrované formě inhibiční zónu 1 cm.

Esenciální oleje z *Eucalyptus radiata* v biokvalitě a *Eucalyptus polybractea* vytvořily inhibiční zóny u druhého, třetího a čtvrtého ředění stejné velikosti 0,6 cm. Při porovnání koncentrovaných forem olejů měl větší účinnost olej z *Eucalyptus radiata* v biokvalitě (zóna o průměru 1,75 cm), v případě oleje z *Eucalyptus polybractea* měla zóna 1,3 cm. Větší antibakteriální aktivita oleje v biokvalitě byla zaznamenána také u prvního ředění.



Obr. 10. Antibakteriální aktivita EO na *Enterobacter aerogenes*

Legenda: (MA – *Mentha arvensis*, MS – *Mentha spicata*, MP – *Mentha piperita*, BMP – BIO *Mentha piperita*, EG – *Eucalyptus globulus*, EC – *Eucalyptus citriodora*, BER – BIO *Eucalyptus radiata*, EP – *Eucalyptus polybractea*)

4.1.11 Srovnání účinku jednotlivých druhů esenciálních olejů

Z výsledků uvedených v předchozím textu vyplývá, že i když jsou esenciální oleje získávány z rostlin stejného rodu, jejich antibakteriální aktivita se liší. Ani u jednoho z použitých mikroorganismů a čtyř použitých mátových olejů nebyla pozorována shodná

inhibiční aktivita těchto olejů. Obdobně lze popsat i antibakteriální účinky eukalyptových olejů, které jsou závislé na konkrétním druhu rostliny, nikoliv pouze na rodovém zařazení.

Při srovnání vlivu všech esenciálních olejů na testované mikroorganismy, lze konstatovat, že nejvyšší antibakteriální aktivita byla zjištěna u oleje získaného z *Eucalyptus citriodora*. Tento olej působil inhibičně především na grampozitivní bakterie rodu *Bacillus*, tedy na bakterie *Bacillus subtilis* a *Bacillus cereus*. Účinnost oleje byla tak vysoká, že došlo k překrytí jednotlivých inhibičních zón a na celém povrchu agaru kultury nerostly. Pravděpodobně na bakterie působily i těkavé složky tohoto esenciálního oleje, které při odpařování zabíjely všechny bakteriální buňky. Stejný esenciální olej měl také silnou aktivitu na gramnegativní bakterii *Enterobacter aerogenes*. Nárůst kultury na Petriho misce byl pozorován, ale v tak velkém rozsahu, že nebylo možno velikost inhibičních zón změřit, jelikož se jednotlivé zóny vzájemně překrývaly. Základem antibakteriálního působení eukalyptových olejů je především 1,8-cineol, na jehož obsahu v konkrétním oleji by pak závisela aktivita oleje vůči mikroorganismům. Literatura uvádí účinnost eukalyptových olejů především u grampozitivních bakterií [9], v této práci byl však prokázán vliv i na bakterie s buněčnou stěnou gramnegativního typu.

Z průměru velikostí inhibičních zón naměřených kolem disků vyplývá, že nejúčinnějším mátovým olejem byl olej z *Mentha arvensis*, naopak nejméně účinný byl esenciální olej z *Mentha piperita*. Na antibakteriální aktivitě mátových olejů se podle dostupné literatury podílí především některé složky, například mentol [6, 7].

V případě eukalyptových esenciálních olejů byla nejvyšší inhibiční aktivita zaznamenána u oleje z *Eucalyptus citriodora* a nejmenší aktivitu měl olej z *Eucalyptus polybractea*.

Celkově lze říci, že z osmi testovaných esenciálních olejů má nejvyšší antibakteriální účinky olej z rostliny *Eucalyptus citriodora* a nejméně aktivní byl olej z *Mentha piperita* v bi-okvalitě.

I když se jednotlivé inhibiční účinky testovaných olejů výrazně liší, testem bylo prokázáno, že všechny oleje mají schopnost inhibovat růst mikroorganismů, avšak spektrum účinku a míra této inhibice závisí na konkrétním oleji. Esenciální oleje jsou směsí velkého počtu látek, z nichž některé zodpovídají za antimikrobiální účinek oleje. Složení olejů je ale značně variabilní, závisí na druhu rostliny, klimatických podmínkách, metodě izolace a mnoha dalších faktorech. Tyto faktory pak také mají vliv na obsah antimikrobiálních složek v oleji a jeho schopnost eliminovat mikroorganismy. [23, 24]

Z těchto důvodů je velmi obtížné předvídat chování esenciálních olejů vůči mikroorganismům a je proto třeba provést test účinnosti konkrétního oleje na konkrétní mikroorganismy. Pokud se v takovém testu prokáže dostatečná antibakteriální aktivita oleje, je možné uvažovat o možném využití této vlastnosti oleje a jeho potenciální aplikaci.

ZÁVĚR

Cílem mé bakalářské práce bylo zjistit, zda mají esenciální oleje antibakteriální aktivitu. Tato vlastnost byla sledována u osmi olejů, konkrétně u čtyřech olejů eukalyptových a čtyřech mátových. Hlavním úkolem v rámci bakalářské práce bylo stanovit, zda oleje ze stejného rodu rostliny budou mít účinky totožné nebo jestli se jejich aktivita bude lišit. Antibakteriální testy byly prováděny pomocí difuzní diskové metody na deseti mikroorganismech, které představují možné kontaminanty potravin nebo kosmetiky. Čtyři bakterie byly grampozitivní a zbylých šest bakterií bylo gramnegativních.

Antibakteriální aktivita byla u esenciálních olejů prokázána vytvořením inhibiční zóny kolem disků. Velikost těchto zón poukazovala na míru účinku olejů na daný mikroorganismus.

Antibakteriální vlastnosti byly zaznamenány u všech testovaných olejů. Ze získaných výsledků bylo zjištěno, že citlivější bakterie vůči olejům jsou bakterie gramnegativní. Nejvíce citlivou bakterií se ukázala bakterie *Enterobacter aerogenes*, která je gramnegativní. Naopak nejvíce odolnou bakterií byla grampozitivní bakterie *Micrococcus luteus*. Při porovnání antibakteriálních aktivit u jednotlivých esenciálních olejů vyšel z naměřených výsledků jako nejúčinnější olej z *Eucalyptus citriodora* a nejmenší antibakteriální aktivitou se vyznačuje olej z *Mentha piperita*.

Ve srovnání eukalyptových a mátových esenciálních olejů byly obecně účinnější oleje eukalyptové. Bylo dokázáno, že inhibiční účinek jednotlivých druhů olejů z různých rostlin rodu *Eucalyptus*, je různý v rámci jednoho druhu mikroorganismu. Stejný výsledek se projevil také u olejů mátových, kde olej z různých druhů rodu *Mentha* měl různou antibakteriální aktivitu.

Účinnost oleje vůči bakteriím je také ovlivněna ředěním esenciálních olejů. Oleje vzhledem ke své polaritě byly ředěny pomocí ethanolu, protože ve vodě jsou nerozpustné. Nelze říci, že vyšší koncentrace oleje má vždy vyšší antibakteriální aktivitu. Pouze u některých olejů platilo, že čím koncentrovanější byl olej, tím větší inhibiční zóna se vytvořila kolem disku. V některých případech byl účinek opačný, tzn., že se snižující se koncentrací oleje (a tedy větším zředěním) se zvyšovala jeho schopnost potlačit růst bakterií. Jedním z možných vysvětlení tohoto jevu by mohla být viskozita jednotlivých olejů, protože příliš viskózní olej nebyl schopen dostatečně difundovat z disku do agaru, což při použití difuzní diskové metody může ovlivnit velikost vytvořené inhibiční zóny.

Na základě výsledků získaných v experimentální části práce lze konstatovat, že některé esenciální oleje, které zde byly použity, by bylo možno využít pro potlačení nežádoucího růstu bakterií v kosmetických prostředcích nebo potravinách.

SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY

- [1] BERGER, R.G.. *Flavours and Fragrances: Chemistry, Bioprocessing and Sustainability*. Berlin: Springer. 2007. ISBN 978-3-540-49338-9.
- [2] BASER, Kemal Hüsnü Can. *Handbook of essential oils: science, technology, and applications*. Boca Raton: CRC Press/Taylor. 2010. ISBN 978-1-4200-6315-8.
- [3] DJENANE, D., AİDER, M., YANGÜELA, J., IDIR, L., GÓMEZ, D., RONCALÉS, P. Antioxidant and antibakterial effects of *Lavandula* and *Mentha* Essentials oils in minced BEF inoculated wit *E. coli* O 157:H7 and *S. aureus* during storage at abuse refrigeration temperature. *Meat Science*. 2012. r. 92, č. 4, s. 667-674.
- [4] BAKKALI, F., AVERBECK, S., AVERBECK, D., IDAOMAR, M. Biological effects of Essentials oils – A review. *Food and Chemistry Toxicology*. 2008. r. 46, č. 2, s. 446-475.
- [5] SOLÓRZANO-SANTOS, F., MARINDA-NOVALES, M. G. Essential oil from aromatic herbs as antimicrobial agents. *Current Opinion in Biotechnology*. 2012. r. 23, č. 2, s. 136-141.
- [6] AIT-OUAZZOU, A., LORÁN, S., ARAKRAK, A., LAGLAOUI, A., ROTA, C., HERRERA, A., PAGÁN, R., CONCHELLO, P. Evaluation of the chemical composition and antimicrobial aktivty of *Mentha pulegium*, *Juniperus phoenicea*, and *Cyperus Lotus* Essentials oils from Morocco. *Food Research International*. 2012. r. 45, č. 1, s. 313-319.
- [7] RODRIGUES, L., DUARTE, A., FIGUEUREDO, A. C., BRITO, L., TEIXEIRA, G., MOLDÃO, M., MONTEIRO, A. Chemical composition and antibacterial aktivty of the Essentials oils from the medicinbal plant *Mentha cervina* L. grown in Portugal. *Medicinal chemismy research*. 2012. r. 21, č. 11, s. 3485-3490.
- [8] RAZZAGHI-ABYANEH, M., SHAMS-GHAHFAROKHI, M., REZAAE, M. B., JAIMAND, K., ALINEZHAD, S., SABERI, R., YOSHINARI, T. Chemical composition and antiaflatoxicogenic aktivty of *Carum carvi* L., *Thymus vulgarit* and *Citrus aurantifolia* essentials oils. *Food Control*. 2009. r. 20, č. 11 s. 1018-1024.
- [9] ELAISSI, A., ROUIS, Z., BEN SALEM, N. A., MABROUK, S., BEN SALEM, Y., SALAH, K. B. H., AOUNI, M., FARHAT, F., CHEMLI, R., HARZALLAH-SKHIRI, F., KHOUJA, M. L. Chemical composition of 8 eucalyptus species Es-

- sentials oils and the evaluation of their antibacterial, antifungal and antiviral activities. *BMC Complementary and Alternative Medicine*. 2012. r. 12, č. 1.
- [10] OJEDA-SANA, A. M., van BAREN, C. M., ELECHOSA, M. A., JUÁREZ, M. A., MORENO, S. New insights into antibacterial and antioxidant activities of rosemary Essential oils and their main components. *Food Control*. 2013. r. 31, č. 1, s. 189-195.
- [11] GUIMARAES, A. G., QUINTANS, J. S. S., QUINTANS, L. J. Monoterpenes with Analgesic Activity – A Systematic Review. *Phytotherapy research*. 2013. r. 27, č. 1, s. 1-15.
- [12] NEUBAUER, Štěpán, Karel KLIMEŠ, Ludmila ČERNÁ. *Léčivé rostliny I: Pěstování léčivých rostlin na malých plochách*. 1. Vydání. Praha: Svépomoc, 1984. ISBN 38-013-84.
- [13] BRABENEC, Miroslav. *Pěstování léčivých rostlin na malých plochách*. Praha: Svépomoc, 1981. ISBN 98-001-83.
- [14] HARDING, Jennie. *Byliny: Obrazový průvodce bylinami a rostlinnými léčivy*. 1. české vydání. Praha: Svojtka, 2009. ISBN 978-80-256-0050-4.
- [15] KUMAR, A., SHUKLA, R., SINGH, P., SINGH, A. K., DUBEY, N. K. Use of essential oil from *Mentha arvensis* L. to control storage moulds and insects in stored chickpea. *Journal of the Science of Food and Agriculture*. 2009. r. 89, č. 15, s. 2643-2649.
- [16] SINGH, G., UPADHYAY, R. K. Essential oils – A potent source of natural pesticides. *Journal of scientific & industrial research*. 1993. r. 52, v. 10, s. 676-683.
- [17] HENSEL, Wolfgang. *Léčivé rostliny: Nový průvodce přírodou*. 1. vydání. Praha: Svojtka, 2009. 320 s. ISBN 978-80-242-2043-7.
- [18] CHEVALLIER, Andrew. *Rostliny léčí: Velký ilustrovaný průvodce*. 1. vydání. Praha: Slovart, 2008. ISBN 978-80-7391-053-2.
- [19] FARMER-KNOWLES, Helen. *Zahradní léčitel: Přírodní léčiva z květin, bylin a stromů*. 1. vydání. Praha: Volvox Globator, 1999. ISBN 80-7207-262-5.
- [20] DJENANE, D., YANGÜELA, J., AMROUCHE, T., BOUBRIT, S., BOUSSAD, N., RONCALÉS, P. Chemical composition and antimicrobial effects of essential oils of *Eucalyptus globulus*, *Myrtus communis* and *Satureja hortensis* against

- Escherichia coli* O157:H7 and *Staphylococcus aureus* in minced beef. *Food Science and Technology International*. 2011. r. 17, č. 6, s. 505-515.
- [21] KOLASSA, N. Menthol differs from other terpenic essential oil constituents. *Regulatory Toxicology and Pharmacology*. 2013. r. 65, č. 1, s. 115-118.
- [22] CHAIBI, A., ABABOUC, L. H., BELASRI, K., BOUCETTA, S., BUSTA, F. F. Inhibition of germination and vegetative growth of *Bacillus cereus* T and *Clostridium botulinum* 62A spores by essential oils. *Food mikrobiology*. 1997. r. 14, č. 2, s. 161-174.
- [23] DEANS, S. G., RITCHIE, G. Antibacterial properties of plant essential oils. *International Journal of Food Microbiology* 5. 1987. 165-180.
- [24] KNOBLOCH, K., WEIGAND, H., WEIS, N., SCHWARM, H.-M., VIGENSCHOW, H. Action of terpenoids on energy metabolism. *Bronke, E. J., Progress in Essential Oil Research: 16th International Symposium on Essential Oils*. De Gruyter, Berlin. s. 429-445.

SEZNAM POUŽITÝCH SYMBOLŮ A ZKRATEK

EO	Esenciální olej
MA	<i>Mentha arvensis</i>
MS	<i>Mentha spicata</i>
MP	<i>Mentha piperita</i>
BMP	BIO <i>Mentha piperita</i>
EG	<i>Eucalyptus globulus</i>
EC	<i>Eucalyptus citriodora</i>
BER	BIO <i>Eucalyptus radiata</i>
EP	<i>Eucalyptus polybractea</i>

SEZNAM OBRÁZKŮ

<i>Obr. 1. Antibakteriální aktivita EO na Staphylococcus aureus</i>	39
<i>Obr. 2. Antibakteriální aktivita EO na Bacillus subtilis</i>	40
<i>Obr. 3. Antibakteriální aktivita EO na Bacillus cereus</i>	42
<i>Obr. 4. Antibakteriální aktivita EO na Micrococcus luteus</i>	43
<i>Obr. 5. Antibakteriální aktivita EO na Escherichia coli</i>	44
<i>Obr. 6. Antibakteriální aktivita EO na Proteus vulgaris</i>	45
<i>Obr. 7. Antibakteriální aktivita EO na Pseudomonas fluorescens</i>	47
<i>Obr. 8. Antibakteriální aktivita EO na Salmonella Enteritidis</i>	48
<i>Obr. 9. Antibakteriální aktivita EO na Serratia marcescens</i>	49
<i>Obr. 10. Antibakteriální aktivita EO na Enterobacter aerogenes</i>	50

SEZNAM TABULEK

Tab. 1. Množství EO a ethanolu pro různé ředění EO 36