

# STŘEDOŠKOLSKÁ ODBORNÁ ČINNOST

Obor: 6. Zdravotnictví

Vzájemné porovnání GC-MS rozborů silic tří odrůd levandule  
(*Lavandula angustifolia* Mill.) a jejich antiproliferačních účinků

Tomáš Heger

Olomoucký kraj

Olomouc 2015

# STŘEDOŠKOLSKÁ ODBORNÁ ČINNOST

Obor: 6. Zdravotnictví

Vzájemné porovnání GC-MS rozborů silic tří odrůd levandule (*Lavandula angustifolia* Mill.) a jejich antiproliferačních účinků

Mutual comparison of GC-MS analysis of the essential oils from three varieties of lavender (*Lavandula angustifolia* Mill.) and their antiproliferative effects

Autor: Tomáš Heger  
Škola: Slovanské gymnázium Olomouc  
třída Jiřího z Poděbrad 13  
771 11 Olomouc  
Kraj: Olomoucký  
Konzultant: Mgr. Lucie Rárová, Ph.D.

Olomouc 2015

## **Prohlášení**

Prohlašuji, že jsem svou práci SOČ vypracoval samostatně a použil jsem pouze podklady (literaturu, články, studie, prezentace, studentské práce atd.) uvedené v seznamu vloženém v práci SOČ.

Prohlašuji, že tištěná verze a elektronická verze soutěžní práce SOČ jsou shodné.

Nemám závažný důvod proti zpřístupnění této práce v souladu se zákonem č. 121/2000 Sb., o právu autorském, o právech souvisejících s právem autorským a o změně některých zákonů (autorský zákon) v platném znění.

V Olomouci dne ..... podpis: .....

## **Poděkování**

Práce se uskutečnila díky obrovské pomoci pracoviště Oddělení genetických zdrojů zelenin, léčivých rostlin a speciálních plodin, které spadá pod veřejnou výzkumnou instituci Výzkumného ústavu rostlinné výroby (VÚRV). Na tomto místě bych rád poděkoval Ing. Karlu Duškovi, CSc., pod jehož záštitou probíhala práce zde. Za pomoc s praktickou částí zpracování drogy zase vděčím Ing. Eleně Duškové a Vlastě Schubertové, která mi pomáhala provádět hydrodestilace, a RNDr. Přemyslu Indrákovi, CSc., který mě instruoval ohledně práce na GC-MS analyzátoru a pomohl mi vyhodnotit výsledky. Během další práce v Laboratoři růstových regulátorů vděčným především Mgr. Lucii Rárové, Ph.D. za zaučení do práce s buněčnými kulturami, cenné diskuze a připomínky a za celkový dohled nad průběhem mé práce včetně nezbytné instruktáže pracovních postupů. Děkuji také laborantce Olze Hustákové, která připravovala buněčné kultury pro mé testy. Velké díky patří také mojí rodině a přátelům za neméně důležitou mentální podporu.

## Abstrakt

Tato práce se zabývá vzájemným porovnáním silic získaných ze tří odrůd (*bílá*, *krajová* a *beta*) levandule úzkolisté (*Lavandula angustifolia* Mill.) z hlediska jejich chemického složení a antiproliferačních účinků na vybrané buněčné nádorové linie. Celá praktická část proběhla v Centru regionu Haná pro biotechnologický a zemědělský výzkum, které sídlí v Olomouci v městské čtvrti Holice na Šlechtitelů 27.

První část praktické práce se uskutečnila ve spolupráci s pracovištěm Oddělení genetických zdrojů zelenin, léčivých rostlin a speciálních plodin, kde byla sklizena kvetoucí nať levandule během července 2014 a následně provedeny hydrodestilace za účelem získání levandulové silice, která byla podrobena analýze pomocí plynového chromatografu spřaženého s hmotnostním spektrometrem. Údaje pořízené analýzou byly přehledně zpracovány a výsledky pro jednotlivé vzorky i odrůdy porovnány mezi sebou.

Druhá fáze praktické části byla zaměřená na testování antiproliferačních účinků silic na vybraných nádorových buněčných liniích a normálních lidských buňkách a proběhla ve spolupráci s Laboratoří růstových regulátorů. Každá ze tří odrůd levandule byla zastoupena jedním směsným vzorkem a byla opakovaně testována na cytotoxicitu na následujících buněčných liniích: HeLa (buňky nádoru děložního hrdla), CCRF-CEM (buňky akutní lymfoblastické leukemie), MCF7 (buňky prsního adenokarcinomu) a lidské fibroblasty BJ, které sloužily jako nenádorová kontrola. Nádorové linie byly kultivovány s levandulovou silicí v různých koncentracích po dobu 24 hodin nebo 72 hodin za standardních kultivačních podmínek, a poté byla měřena životaschopnost buněk pomocí fluorescenčního barviva calcein AM. V důsledku zkreslení výsledků blíže neznámou interakcí fluorescenčního barviva a levandulové silice byl proveden alternativní kolorimetrický MTT test cytotoxicity za účelem optimalizace výsledků. V tomto případě byly buňky s roztoky silic kultivovány 72 hodin.

## Klíčová slova

Levandule úzkolistá (*Lavandula angustifolia* Mill.), silice, antiproliferační aktivita, fibroblasty BJ, HeLa, MCF7, CCRF-CEM

## **Abstract**

This thesis deals with mutual comparison of essential oils obtained from three varieties (*bílá*, *krajová* and *beta*) of narrow-leaved lavender (*Lavandula angustifolia* Mill.) in terms of their chemical composition and antiproliferative effects in selected cancer cell lines. All the practical part took place in the Centre of the Region Haná for Biotechnological and Agricultural Research, which is located in Olomouc-Holice on Šlechtitelů 27.

The first part of the practical work was carried out in collaboration with the Department of Genetic Resources for Vegetables, Medicinal and Special Plants, where flowering tops of lavender were harvested in July 2014. Then hydrodistillations were performed to obtain the essential oils, which were analyzed by gas chromatography coupled with mass spectrometry. Data received from analysis were arranged and processed to compare results for samples and varieties.

The second phase of the practical part, focused on testing of the antiproliferative activities of essential oils in selected cancer cell lines and normal human cells, was performed in cooperation with the Laboratory of Growth Regulators. Each of the three lavender's varieties were mixed and repeatedly tested for cytotoxicity in the following cancer cell lines: HeLa (cervical cancer cells), CCRF-CEM (acute lymphoblastic leukemia cells), MCF7 (breast adenocarcinoma cells) and human fibroblasts BJ as a nonmalignant control. Cancer cell lines were cultured with various concentrations of lavender essential oil solution for 24 hours or 72 hours under standard cultivation conditions. Then the viability of the cells was measured by fluorescent Calcein AM assay. Due to distortion of the results by an unknown interaction between fluorescent probe and lavender essential oil, alternative colorimetric MTT cytotoxicity assay was performed for the purpose of optimizing results. In this case, cells with essential oils solutions were cultured for 72 hours.

## **Keywords**

Narrow-leaved lavender (*Lavandula angustifolia* Mill.), essential oil, antiproliferative activity, fibroblasts BJ, HeLa, MCF7, CCRF-CEM

# Obsah

ÚVOD.....	1
1 TEORETICKÁ ČÁST .....	2
1.1 Levandule úzkolistá – botanický popis.....	2
1.2 Ostatní druhy rodu <i>Lavandula</i> , hybridní druhy a kultivary <i>L. angustifolia</i> .....	3
1.3 Pěstování druhu <i>L. angustifolia</i> Mill. ....	6
1.4 Levandule jako droga .....	7
1.5.1 Použití v lidové tradici .....	7
1.5.2 Levandulová silice .....	10
1.5.3 Poznatky současné medicíny.....	11
1.5 Biosyntéza komponent levandulové silice .....	23
2 POPIS POUŽITÝCH METOD A PŘÍSTROJOVÉ TECHNIKY .....	32
2.1 Zpracování drogy.....	32
2.2 Extrakční techniky .....	32
2.3 Plynový chromatograf sprážený s hmotnostním spektrometrem .....	35
2.4 Testy cytotoxicity <i>in vitro</i> .....	38
2.4.1 Buněčné linie.....	40
2.4.2 Příprava kultivačního média.....	44
2.4.3 Kultivace buněčných linií.....	45
2.4.4 Pasážování a počítání buněk.....	47
2.4.5 Esej s calceinem AM.....	48
2.4.6 MTT test .....	50
3 PRAKTICKÁ ČÁST .....	52
3.1 Materiály a metody.....	52
3.1.1 Rostlinný materiál .....	53
3.1.2 Hydrodestilace .....	53
3.1.3 GC-MS analýza.....	54
3.1.4 Antiproliferační účinky .....	57
4 DISKUSE .....	63
5 ZÁVĚR .....	65
6 SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY A OSTATNÍ ZDROJE INFORMACÍ.....	66
7 PŘÍLOHY.....	73

## ÚVOD

---

Levandule úzkolistá (*Lavandula angustifolia* Mill.) z čeledi hluchavkovitých (*Lamiaceae*) se používá v lidové tradici již po mnoho staletí k léčení nemocí těla a nerovnováhy psychiky, a proto se také současná věda se zájmem obrací na tuto lidovou moudrost a snaží se jí porozumět.

Teoretická část práce se zabývá botanickým popisem rodu *Lavandula* a druhu *L. angustifolia*. Zde se též věnuji mnohým poznatkům o biologické aktivitě extraktů *L. angustifolia*. Uváděná fakta mají původ v analýze vybraných studií a jsou reprodukováním jejich významných závěrů. Na tomto místě se zabývám biosyntézou terpenů, přičemž jsou zmiňovány dvě hlavní biosyntetické dráhy, a to mevalonátová a MEP dráha. Popisuji také principy a další podrobnosti metod použitých během praktického výzkumu.

V praktické části se zabývám třemi odrůdami *L. angustifolia* (*bílá*, *krajová* a *beta*) a popisuji zastoupení jednotlivých složek silice získané hydrodestilací květů dané odrůdy. Chemický rozbor obsahových látek byl proveden pomocí analytické metody plynové chromatografie a hmotnostní spektrometrie, přičemž výsledky byly zpracovány do tabulek a grafů, které jsou všechny dostupné v příloze této práce. Vzájemně porovnávám chemotypy jednotlivých odrůd na základě sedmnácti sledovaných komponent silice tvořících v případě parametrů provedené analýzy více než 90 % celkového zastoupení obsahových látek.

V další fázi praktické části se věnuji antiproliferační aktivitě silic na nádorových buňkách (CCRF-CEM, MCF7 a HeLa) a lidských fibroblastech. Testy probíhaly *in vitro* na buněčných kulturách a sledovaným parametrem byla míra cytotoxicity hodnocená nejprve fluorimetrickou esejí s calceinem AM, poté kolorimetrickým testem redukce tetrazoliové soli MTT na formazan. Výstupem je srovnání dosažení poloviny maximální inhibiční koncentrace růstu buněk (IC<sub>50</sub>), které nastalo za použití jednotlivých silic dle odrůdy. V závěru diskutuji účinnost inhibice buněčné proliferace na základě změřených hodnot IC<sub>50</sub>. Výsledky získané na stejných typech nádorových linií a taktéž zastoupení komponent silice porovnávám s podobnou iránskou studií cytotoxicity levandulových extraktů a další citovanou literaturou [71,74].



# 1 TEORETICKÁ ČÁST

## 1.1 Levandule úzkolistá – botanický popis

Levandule úzkolistá (*Lavandula angustifolia* Mill.) je vytrvalý polokeř z čeledi hluchavkovitých (*Lamiaceae*). V závislosti na odrůdě může dorůst do velikosti zhruba 60 cm, ale některé gigantické kultivary mohou mít vzrůst i okolo jednoho metru. Ze stonku, který z nadzemních částí jako jediný přežívá zimu, bohatě vybíhají čtyřhranné větve, které dřevnatí druhým rokem. Na větve vstřícně přímo přisedají čárkovitě až podlouhle kopinaté listy, které jsou stálezelené a celokrajné s okrajem podvinutým. Barvu mají šedozelenou, délku 2–6 cm a šířku 4–6 mm. Mladé lístky jsou pokryté jemnými šedými chloupky, které jim dávají stříbřitý charakter, později však olysávají a vyniká jejich zelená barva. Drobné květy jsou uspořádány do lichopřeslenů (jednoduché vrcholičnaté květenství hluchavkovitých) nahloučených na konci větví na stopce do bohatých přerušovaných klasů. Pod květem se nachází kosočtverečné až obvejčité listeny, 3–4 mm dlouhé se zbarvením do hnědofialova a s dobře patrnou žilnatinou. Květy jsou na krátkých stopkách, každý z nich obsahuje dvoumocné tyčinky s vejčitými prašníky, svrchní semeník je tvořen čtyřmi volnými plodolisty. Souměrný květ je tvořen kalichem a korunou. Kalich trubkovitého tvaru je opět v závislosti na odrůdě šedozelený (u bíle kvetoucích odrůd) až modrošedý (u odrůd s květy do fialova), nahoře rozšířený, dlouhý 4,5–7 mm, pětičetný. Koruna se skládá z horního pysku tvořeného dvěma laloky a spodního trojlaločného pysku, nabývá různých barev s odstíny mezi bílou a fialovou, existují též kultivary kvetoucí čistě růžově (*L. angustifolia* 'Rosea', 'Loddon Pink' nebo 'Melissa Lilac') nebo čistě bíle (*L. angustifolia* 'Arctic Snow' nebo 'Nana Alba'). Délka koruny dosahuje 8–12 mm. Levandule kvete od června do srpna. Plodem je malá lesklá tmavě hnědá tvrdka.

Říše	Rostliny ( <i>Plantae</i> )
Podříše	Vyšší rostliny ( <i>Cormobionta</i> )
Oddělení	Krytosemenné ( <i>Magnoliophyta</i> )
Třída	Vyšší dvouděložné ( <i>Rosopsida</i> )
Řád	Hluchavkotvaré ( <i>Lamiales</i> )
Čeleď	Hluchavkovité ( <i>Lamiaceae</i> )
Rod	Levandule ( <i>Lavandula</i> )
Druh	Úzkolistá ( <i>angustifolia</i> )

Tabulka A Taxonomická klasifikace levandule úzkolisté

## 1.2 Ostatní druhy rodu *Lavandula*, hybridní druhy a kultivary *L. angustifolia*

Rod *Lavandula* zahrnuje 39 známých druhů, které uvádím dle jejich taxonomické klasifikace v tabulce níže. Pro snadnější orientaci je vyznačen druh levandule úzkolistá, kterým se v této práci zabývám. Hybridní druhy a poddruhy v tabulce neuvádím. Taxonomická tabulka byla sestavena na základě klasifikace rodu *Lavandula*, kterou v roce 2004 provedli autoři Tim Upson a Susyn Andrews. Nejznámější jsou druhy *L. angustifolia*, známá jako anglická levandule, *L. stoechas*, která bývá označována za španělskou levanduli, a *L. dentata*, které se říká francouzská levandule. Uvedené označení konkrétního druhu podle země je pouze lidovou záležitostí, a může se proto stát, že se pod stejnou lidovou přezdívku vyskytnou i jiné druhy. Názvy podle zemí se však vztahují na nejpoužívanější způsob lidového označení daných druhů. Například pojem francouzská levandule může zahrnovat různé zástupce včetně *L. stoechas*, zatímco anglickou levanduli bývá nazýván zpravidla druh *L. angustifolia*, přestože její původ není v Anglii.

Asi nejznámějším hybridem je tzv. lavandin. Jedná se o sterilního křížence mezi druhy *L. angustifolia* a *L. latifolia*. Tento kříženec bývá též označován jako *Lavandula x intermedia* nebo uváděn pod jiným latinským názvem, *L. hybrida*. Dosahuje většího vzrůstu a kvete dříve než *L. angustifolia*, má vysokou výtěžnost silice a přes zimní období jeví více atraktivní vzhled. Také květy bývají větší a více nahloučené při vrcholku stopek. Pro tyto výhody se stal lavandin nejčastěji pěstovanou levandulí vůbec. Silice z něj vyrobená je levnější, a proto i častěji průmyslově používaná, např. v parfumerii, kosmetice nebo potravinářství. Typickými kultivary jsou 'Abrialii' a 'Grosso', který se často využívá právě pro výrobu silice. Dalšími kultivary jsou také 'Provence', 'Hidcote Giant', 'Seal', 'Fred Boutin', 'Dutch Mill' nebo bíle kvetoucí 'White Spike' [1,2]. Mezi známé kultivary druhu *L. stoechas* patří např. 'Dark Eyes', 'Silver Frost' nebo 'Otto Quast' [2]. Pro lavandin je charakteristický vysoký obsah kafru oproti *L. angustifolia* a to asi kolem 7 %, což dává jeho květům silnou a pronikavou vůni, která však způsobuje potlačení jemnějších tónů dalších složek aroma a pro některé lidi může být příliš agresivní. Značný obsah kafru však přináší i pozitivní léčebné účinky [3].

Druh *L. angustifolia* má dva poddruhy (*subspecies*), *L. angustifolia* subsp. *angustifolia* a *L. angustifolia* subsp. *pyranaica* [4]. V této práci se zabývám odrůdami *bílá*, *krajová* a *beta*, které můžete vidět níže na fotografiích.

Rod ( <i>genus</i> )	Podrod ( <i>subgenus</i> )	Sekce ( <i>sectio</i> )	Druh ( <i>species</i> )	
<i>Lavandula</i>	<i>Lavandula</i>	<i>Lavandula</i>	<i>L. angustifolia</i> Mill.	
			<i>L. latifolia</i> Medik	
			<i>L. lanata</i> Boiss.	
		<i>Dentatae</i>	<i>L. dentata</i> L.	
			<i>Stoechas</i>	<i>L. stoechas</i> L.
				<i>L. pedunculata</i> Mill.(Cav.)
		<i>L. viridis</i> L'Her.		
		<i>Fabricia</i>	<i>Pterostoechas</i>	<i>L. multifida</i> L.
				<i>L. canariensis</i> Mill.
	<i>L. minutolii</i> Bolle			
	<i>L. bramwellii</i> Upson & S. Andrews			
	<i>L. pinnata</i> L.			
	<i>L. buchii</i> Webb & Berthel.			
	<i>L. rotundifolia</i> Benth.			
	<i>L. maroccana</i> Murb.			
	<i>L. tenuisecta</i> Coss. ex Ball			
	<i>L. rejdalii</i> Upson & Jury			
	<i>L. mairei</i> Humbert			
	<i>L. coronopifolia</i> Poir.			
	<i>L. saharica</i> Upson & Jury			
	<i>L. antineae</i> Maire			
	<i>L. pubescens</i> Decne.			
	<i>L. citriodora</i> A.G. Mill.			
	<i>Subnudae</i>			<i>L. subnuda</i> Benth.
				<i>L. macra</i> Baker
				<i>L. dhofarensis</i> A.G. Mill.
				<i>L. samhanensis</i> Upson & S. Andrews sp. nov.
				<i>L. setifera</i> T. Anderson
				<i>L. qishnensis</i> Upson & S. Andrews sp. nov.
				<i>L. nimmoi</i> Benth.
				<i>L. galgalloensis</i> A.G. Mill.
				<i>L. aristibracteata</i> A.G. Mill.
<i>L. somaliensis</i> Chaytor				
<i>Chaetostachys</i>	<i>L. bipinnata</i> (Roth) Kuntze			
	<i>L. gibsonii</i> J. Graham			
<i>Hasikenses</i>	<i>L. hasikensis</i> A.G. Mill.			
	<i>L. sublepidota</i> Rech. f.			
<i>Sabaudia</i>	<i>Sabaudia</i>	<i>L. atriplicifolia</i> Benth.		
		<i>L. erythraeae</i> (Chiov.) Cufod.		

Tabulka B  
Druhy rodu  
*Lavandula*  
[24]

### 1.3 Pěstování druhu *L. angustifolia* Mill.

Levandule úzkolistá má svůj původ v západním Středozeří, především v Pyrenejích a jiných horách severního Španělska. Díky lidem se pak rozšířila po celém Středozeří a vznikly také oblasti s historickou tradicí pěstování levandule, mimo její Španělskou domovinu se jedná hlavně o francouzskou Provence, Portugalsko, Itálii, Chorvatsko, Řecko, Alžírsko a další země.

Nejvhodnější pro pěstování jsou vápenaté odlehčené půdy s písčitou nebo štěrkovitou až kamenitou složkou. Ideální jsou pro ni vysluněná stanoviště, prospívá totiž při vyšších teplotách. Obecně se však jedná o polokeř odolný vůči mrazu a podle stupnice teplotní tolerance rostlin vydané americkým USDA spadá levandule do zóny odolnosti 5 charakteristické teplotním rozmezím  $-23$  až  $-29$  °C. Některým odrudám případně jiným druhům by však takto nízké teploty zapříčinily uhynutí. Nemělo by docházet k zadržování vody nebo přemokření půdy, neboť levandule nemá ráda nadbytek vláhy, naopak sucho snáší dobře. Správné pH, při kterém bude rostlina prosperovat, je neutrální nebo lépe zásadité, avšak toleruje i kyselý substrát.

Pro generativní rozmnožování *L. angustifolia* se doporučuje předpěstovat rostliny ze semen v pařeništi do velikosti zhruba 10 cm, a poté je přesadit do záhonu nebo květináče. Vždy je však třeba dbát na to, aby měla rostlina dostatek místa pro růst do šířky a aby zálivka byla skromná. V případě venkovního pěstování rostlin v květináči či jiných nádobách je nutné chránit kořenový bal při hlubších mrazech, již kolem teploty  $-10$  °C je zapotřebí nádobu zakopat nebo pečlivě obalit tkaninou, slámou případně dostatečně zakrýt jiným způsobem. Je také žádoucí každoroční prostříhání po ukončení kvetení, čímž získá rostlina do další sezóny pevnější tvar, její větve se zahustí a květenství zbohatne. Sestříhnutí levandule je vhodné provést na začátku podzimu a měly by být odstraněny nanejvýš pouze mladé části rostliny vyrostlé v daném roce, neboť zásah do dřevnatého kmene je pro rostlinu vysilující a ve většině případů by ani nepřinesl požadovaný estetický efekt a prosperitu rostliny [5].

Dalšími možnostmi rozmnožení rostliny jsou řízkování a dělení rozrostlých trsů, kterými si rostlina zachová původní genotyp, neboť se jedná o množení vegetativní [6]. Zcela specifickým způsobem vegetativního rozmnožování, který nabízí mnohé výhody, jsou tzv. meristémové kultury, které se pěstují *in vitro* na sterilním živném médiu. Podrobnou metodiku zakládání meristémových kultur druhu *L. angustifolia* vypracovalo olomoucké pracoviště Genetické zdroje zelenin a speciálních plodin, které sídlí ve Vědeckotechnickém parku [7].

## 1.4 Levandule jako droga

Díky obsahu rozličných účinných látek je levandule stále aktivně využívanou rostlinou. Jejimi léčivými vlastnostmi se zabývali lidoví léčitelé, bylinkáři, šamani nebo ranhojiči minulých populací a dnes v tradici výzkumu pozitivních, ale i rizikových účinků biologicky aktivních látek levandule pokračuje několik vědeckých týmů z různých zemí, ve kterých je často levandule součástí *materia medica* národní lidové medicíny. V této části se budu věnovat analýze používání levandule (především *L. angustifolia*) v lidové medicíně a následně její biologické aktivitě z hlediska moderního biomedicínského pojetí.

### 1.5.1 Použití v lidové tradici

Levandule má tradici používání v lidové medicíně táhnoucí se napříč staletími přes dva tisíce let. Lidi zcela jistě přitahovala hlavně vůně silic obsažených v jejím květu, která je patrná v okolí rostliny, a také vznešenou fialovou barvou květu samotného. Název „*Lavandula*“ má původ v latinském slovese *lavare*, což znamená „mýt“ nebo „umývat se“. Důvodem pro takové označení může být fakt, že levandule byla v antickém Římě přidávána do koupelí a sloužila ke kosmetickým účelům.

Levandule nachází v lidové medicíně mnohé uplatnění. Je využívána především jako uklidňující prostředek a při problémech nervového původu. Lze ji podávat při nespavosti, bolestech hlavy až migrénách, hysterii, nervové slabosti a návalech krve. Příznivě působí na játra a žlučník, zvyšuje produkci žluči, má karminativní účinky. Desinfekčně a protizánětlivě působí vdechování silice na dýchací ústrojí, a urychluje tak léčení chřipek, bronchitid a astmatu. Stejně účinku je možné využít v dutině ústní

kloktáním silného odvaru, případně tinktury. Levandulové výtažky můžeme využít i zevně při aplikaci na postižená místa. Za tímto účelem je dobré použít přiměřené množství levandulového oleje, kterým se potírají popáleniny, odřeniny, revmatická místa, zanícené a infikované oblasti. Relaxačně působí očišťující koupele s levandulovým odvarem nebo přímo do horké vody nakapanou silicí [8]. Arabská tradiční medicína využívá levanduli k léčbě bolestí břicha a ledvinových problému. Čínská tradiční medicína používá levanduli v recepturách přípravků proti neplodnosti, infekcím, úzkostným stavům a horečnatým onemocněním. Dále je možné uplatnit levanduli při léčbě varikózních vředů, syndromu karpálního tunelu nebo nechutenství.

*Nálev.* Velice častým způsobem užívání levandule je pití nálevu z květů, případně z květů a natě. Připravuje se zalitím přibližně dvou čajových lžiček drogy na šálek vroucí vody, luhuje se patnáct minut a po následném scezení je nálev připraven k pití. Obecně je doporučováno pít levandulový nálev třikrát denně. Levandulový květ nachází také uplatnění v čajových směsích dle konkrétní zdravotní indikace, jež mohou vyhovovat více lidem, pro které je nálev pouze z levandule příliš silný.

*Mast.* Levandulové výtažky je možné přidávat do mastí jako přírodní konzervační prostředek nebo pro podporu hojení ran. Mast se připravuje vyluhováním účinných látek drogy (nejlépe čerstvé, případně sušené) v rozpuštěném zahřátém sádle. Bylina se nechá vždy zatuhnout a poté se sádlo znovu rozpustí, to celé se opakuje celkem třikrát a při každém zahřátí se přidá nová droga. Dbá se na to, aby se sádlo nepřepálilo, pouze se zahřívá. Dalším druhem je mast vegetariánská, jejíž základem je rostlinný olej. Bylina se nechá macerovat v oleji po dobu 6–8 týdnů, poté se scedí a do zahřátého oleje se přilévá za stálého míchání rozpuštěný vosk, dokud se mast přiměřeně nezahustí. Pokud máme k dispozici rostlinnou silici, je obzvláště vhodná mast z lanolinu. Vytvoříme ji smícháním 50 g bezvodého lanolinu rozpuštěného ve vodní lázni, 30 ml mandlového oleje a levandulové silice. Pro požadovaný efekt na svalstvo je doporučováno používat lanolinovou mast během fyzické aktivity [9].

*Tinktura.* Drogu je možné aplikovat v podobě alkoholového výtažku nazývaného tinktura. Jedná se o klasickou metodu zpracování léčivých rostlin, která je mezi bylinkáři velmi oblíbená. Levandulový květ se ponechá macerovat v alespoň 40% alkoholu po dobu 4–6 týdnů v poměru jeden díl květu na tři díly alkoholu. Poté se scedí a užívá po kapkách dle závažnosti zdravotní komplikace 15–30 kapek třikrát denně. Místo tinktury z květů je možné použít její obdobu v podobě rozpuštěné levandulové silice v alkoholu.

*Aromaterapie.* Tento způsob podání se týká inhalace vonných par odvaru levandulového květu a levandulové silice. Dochází při něm k přechodu účinných látek rozptýlených ve vzduchu do krve prostřednictvím dýchací soustavy. Napařování je nutné provádět nad nádobou s odvarem pod plátěnou tkaninou, jež bude zadržovat unikající páry, které tak můžeme vdechovat ve větší míře, a také teplo, které pomůže roztáhnout cévy obličeje. Pro odpařování silice jsou nejvhodnější difuzéry případně rozprašovače. Účinky levandulové aromaterapie ovlivňují převážně psychiku, nervové potíže, dýchací cesty a působí proti hypertenzi a desinfikují okolní prostředí [10].

*Levandulový olej.* Typicky pro vnější, ale i vnitřní, užití levandule je vhodné vyrobit levandulový olej. Vytvoříme hustou avšak stále tekutou směs rostlinného oleje (doporučován olivový) s čerstvými nebo sušenými květy levandule a ponecháme ji na zatemněném místě 6–8 týdnů louhovat. Poté směs přecedíme a květy nasáklé olejem mírně zahřejeme a opatrně vymačkáme zbylý olej, který až zchladne na pokojovou teplotu, přidáme k oleji scezenému [8]. Druhým způsobem přípravy levandulového oleje je rozpuštění silice ve vhodném nosném rostlinném oleji. Koncentrace silice a nosný olej se volí dle požadovaného zdravotního účinku [11].

*Vonné pytlíčky.* Používají se k odpuzování nežádoucího hmyzu, provonění šatníku nebo se pokládají v blízkosti hlavy pro snazší usínání, kdy je možno kombinovat větší množství uklidňujících bylin ve směsi [8].

*Silice.* Urychluje hojení spálenin, opařenin a řezných ran kůže a mírní jeho průběh. Omezuje vznik jizev. Pomáhá zotavit se z poúrazového psychického šoku, ulevuje při psychickém vypjetí. Působí antibioticky, antisepticky, antidepresivně a tonizačně. Nachází uplatnění v kosmetice na mastnou, zanícenou, aknézní, vysušenou i zavodněnou pleť [9].



### 1.5.2 Levandulová silice

Silice, starším označením esenciální oleje, jsou koncentrované extrakty hydrofobních olejovitých látek, které jsou těkavé a vyznačují se optickou aktivitou a vysokým indexem lomu. Mohou obsahovat prakticky všechny základní typy organických sloučenin, jako jsou uhlovodíky (hlavně terpeny), alkoholy, karboxylové kyseliny a jejich estery, dále také aldehydy, ketony a ethery.

Silice produkují rostliny v sekrečních buňkách a ukládají je ve speciálních siličných útvarech, kterými jsou žláznaté trichomy (např. u čeledi *Laminaceae*), siličné buňky (např. u čeledi *Zingibereceae* a *Piperaceae*) nebo siličné kanálky (např. u čeledi *Apiaceae*) [8]. Levandulová silice je získávána především z květů, které jsou oproti jiným orgánům mnohem hustěji pokryty žláznatými trichomy. Zřídka se provádí extrakce z listů, případně i se stonkovou částí, přesto existují studie zabývající se složením a biologickou aktivitou těchto silic. Z hlediska klasického využití je však důležitější silice z květů, neboť ta obsahuje žádoucí těkavé vonné látky. Pokud v této práci nebude uvedeno jinak, levandulovou silicí se myslí právě silice obdržená z květních částí rostliny. Levandule (*Lavandula* spp.) mají dva druhy žláznatých trichomů, které se skládají z bazálních a stopkových buněk epidermálního původu vytvářejících stopku trichomu a ze žláznaté hlavy, která vybíhá z na stopku navazujícího disku tvořeného samotnými sekrečními buňkami. Na tvorbě složek silice se podílí většina organel sekrečních buněk, především plastidy, endoplazmatické retikulum a vakuoly. Sekrece probíhá exocytózou a následně se vyprodukovaná silice hromadí mezi buněčnou stěnou a kutikulou, čímž tento subkutikulární prostor postupně nabývá na objemu. Oba typy žláznatých trichomů mají kulovitý vrchol a liší se hlavně počtem sekrečních buněk vzniklých až třemi děleními iniciační protodermální buňky trichomu. První typ (angl. peltate trichome) má větší a štítovitou hlavu, až osm sekrečních buněk v disku a produkuje většinu levandulové silice, zatímco u druhého typu (angl. capitate trichome) se zde nachází pouze jedna až dvě sekreční buňky. Dalším rozdílem je různý histochemický charakter obou typů trichomů [12].

Složení levandulové silice závisí především na druhu levandule, ze které byla získána, tedy na genetické výbavě rostliny. Lidé již klasifikovali průměrná složení silic nejběžnějších odrůd, avšak konkrétní poměry komponent také velmi závisí na podnebí, kde rostliny rostou, a na počasí dané sezóny. Vliv teploty na zastoupení jednotlivých

složek rostlinných silic je obecně známý. Levandulová silice obecně obsahuje především tyto složky: linalyl acetát, linalool, 1,8-cineol (eukalyptol),  $\beta$ -ocimen, terpinen-4-ol a kafr [13]. Linalyl acetát a linalool jsou charakteristické hlavní složky silice *L. angustifolia*, která je také chudá na kafr [13,14].

### 1.5.3 Poznatky současné medicíny

Široké spektrum fytochemikálií přítomných v rostlinných extraktech se vyznačuje rozmanitou biologickou aktivitou a ani dnes plně neznáme složení rostlinných výtažků ani jejich kompletní působení na lidský organismus. Zde je znát opravdu hluboký potenciál pro budoucí výzkum, neboť se nabízí mnoho neprobádaných oblastí. Vše je navíc složitější o faktor jedinečnosti každé rostliny a tedy i odlišnosti chemického složení mezi jedinci. Při snahách o výběr a izolaci jedné konkrétní fytochemikálie zodpovědné za hlavní účinky daného výtažku pozorují vědci často během testů nižší aktivitu látky samotné, než vykazuje společně s ostatními komponenty extraktu. Jednotlivé složky mohou působit společně silnějším efektem, než kdyby byly izolovány a testovány zvlášť – tento jev je označován jako synergické působení. Projev synergie je například znatelný v nižší nežádoucí toxicitě extraktu a vyššímu žádoucímu efektu nebo biologické aktivitě přítomné pouze díky obsahu všech jednotlivých složek, která se vytratí po jejich separaci. Naopak jindy může být směs látek mnohem toxicitější než jednotlivé látky zvlášť. Neznamená to však, že by nebylo možné najít menší množství chemických složek zodpovědných za hlavní účinek nebo získat jednu či více látek a s úspěchem je využívat zvlášť – to samozřejmě většinou možné je, ale je vhodné na tomto místě poukázat na rozdílnosti v působení složek extraktu jako celku.

Současná moderní medicína se zabývá biologickou aktivitou levandulových extraktů v návaznosti na lidovou tradici a často potvrzuje staletými vypořádané účinky, nicméně sama dochází k novým poznatkům a zásadním závěrům. Především je možné díky moderním přístupům zjistit mechanismus působení a bezpečnost výtažků do podrobných detailů. Prováděné studie se zaměřují na testování jak *in vitro*, tak *in vivo* na zvířecích modelech nebo na lidech s různou zdravotní kondicí podle potřeby studie. Dalším kritériem může být forma testovaného extraktu nebo konkrétní druh levandule. Nejčastěji používaný je druh levandule úzkolistá (*L. angustifolia* Mill.) zpracovaná jako silice. Byla sledována aktivita *in vivo* při podání *per os* i při injekčním vpravení účinné látky do krevního řečiště nebo přímo do tkáně. Existují i farmakokinetické studie, kterých

však není mnoho a obecně je na tomto poli ještě mnoho neznámého. Jsou například známy některé z metabolitů hlavních obsahových látek silice. Některá zjištění mají i praktický výstup například ve formě uvedení nových výrobků na trh nebo zavedení nových léčebných procedur.

Zde uvádím přehled vytvořený především za pomoci internetového registru PubMed, který je výsledkem aktivity Národního centra pro biotechnologické informace (NCBI), což je součást Národní lékařské knihovny (NLM) nacházející se v kampusu Národního zdravotního institutu (NIH) v USA [15]. Prostřednictvím stručného shrnutí výsledků níže citovaných studií a jejich systematického rozdělení dle zaměření se snažím alespoň částečně zmapovat současný stupeň poznání biologické aktivity levandulových výtažků.

#### ***1.5.2.1 Studie biologické aktivity***

Vědecké studie potvrzují následující účinky levandulové silice (*L. angustifolia*): navození spánku, anxiolytikum, zlepšení nálady, proti stresu, indukce apoptózy nádorových buněk, inhibice tumorigeneze, antioxidant, antimutagenní vliv, antiflogistikum, analgetikum, proti ateroskleróze, expektorans, spasmolytikum, cholagogum, ochrana proti ischemickému poškození tkáně, snížení krevní srážlivosti, hypoglykemický a neuroprotektivní účinek, antibakteriální, fungicidní a insekticidní působení [13,14]

##### **1.5.2.1.1 Účinky proti mikroorganismům**

Rezistentní druhy bakterií se v současnosti podílejí asi na 700 000 lidských úmrtích ročně, a pokud nebudou přijata jistá opatření, tak podle teoretických odhadů do roku 2050 převyší jejich počet současnou úmrtnost v důsledku rakoviny [16]. Samotný sir Alexander Fleming během jedné ze svých přednášek konstatoval, že pokud při *in vitro* vystavení bakterií penicilinu není jeho koncentrace pro kulturu zcela letální, mohou nabýt přeživší bakterie vůči antibiotiku rezistenci, což v případě procesu s analogickým průběhem v lidském organismu může mít fatální následky pro lidskou populaci. Jak se nyní ukazuje, počet rezistentních kmenů bakterií opravdu rok od roku roste. Někteří výzkumníci dokonce tvrdí, že současné zdravotnictví spěje do tzv. post-antibiotické éry, kdy se mnoho bakteriálních onemocnění stane neléčitelnými. Takový stav by mimo dopady na lidské zdraví zapříčinil také celosvětově výrazný ekonomický propad [17,18].

Pro bakterie je mnohem jednodušší vyvinout si mechanismy rezistence vůči jedné konkrétní látce, zatímco proti celé přírodní paletě látek s různou strukturou a zacílením na rozličné subcelulární struktury je mnohem složitější vytvořit si způsoby vlastní ochrany. Právě proto se jeví výzkum biologicky aktivních látek rostlin jako nadějná oblast.

Velice známý je účinek levandulové silice vůči *Candida albicans*. Tento houbovitý organismus se přirozeně vyskytuje v lidském těle a v ideálním případě se jedná o jeho komensální jednobuněčnou kvasinkovou formu. V jistých případech, např. pokud je imunitní systém hostitele oslabený, přechází nepatogenní forma změnou exprese svých genů na jiný fenotyp, který můžeme označit za hyfy – vláknité mnohobuněčné výběžky. Vlákniťatá forma je však velice agresivní ve své progresi a tudíž i patogenní pro člověka, který při přebujení *C. albicans* trpí tzv. kandidózou. Ve studii publikované v časopise *Medical Mycology* byla levandulová silice (*L. angustifolia*) a její hlavní složky linalool a linalyl acetát testovány na 50 klinických izolátech z orofaryngeální a vaginální oblasti a jednomu kmeni ATCC 3153. Průměrné minimální inhibiční koncentrace (MIC) a minimální fungicidní koncentrace (MFC) levandulové silice dosáhly u vaginálních kmenů 0,69 % / 1,1 % (MIC / MFC, % obj.) a u izolátů orofaryngeální oblasti 1,04 % / 1,8 %. Při srovnání aktivity silice, linaloolu a linalyl acetátu bylo zjištěno, že nejefektivnější je linalool (MIC vaginální kmeny 0,09 %, orofaryngeální kmeny 0,29 % a MFC vaginální kmeny 0,1 %, orofaryngeální kmeny 0,3 %) a nejméně efektivní linalyl acetát. Koncentrace silice o 2 % zahubila 100 % buněk kmene ATCC 3153 do 15 minut, stejného výsledku dosáhl linalool v 4krát nižší koncentraci již za 30 sekund. Tvorba hyfálních vláken kmenem od ATCC byla inhibována jak silicí (MIC 0,09 %), tak i jejími hlavními složkami zvláště (MIC linalool 0,11 %, MIC linalyl acetát 0,08 %) již při nízkých koncentracích, kdy dochází také k inhibici hyfální elongace. Z těchto pozorování je patrné, že levandulová silice vykazuje fungistatické i fungicidní působení vůči kmenům *C. albicans*, dále jsou již v nízkých koncentracích silice a její hlavní složky efektivní vůči změně fenotypu *C. albicans* na patogenní formu, a proto mohou nejspíše chránit tkáň hostitele vůči progresi této kvasinky a šíření její infekce v těle [19].

Skupina vědců ze Slovenska se zabývala antibakteriálními a radikály neutralizujícími účinky 15 druhů silic. Pro výzkum si zvolili bakterie rodu *Clostridium* a jejich citlivost vůči účinné látce byla zjišťována diskovým difuzním testem. Antioxidační účinky byly stanoveny redukční reakcí se stabilním radikálem 2,2-difenyl-

1-pikrylhydrazylem (DPPH). Aktivita silic vůči vybraným zástupcům klostridií byla velmi vysoká. Antioxidační aktivita byla zjišťována pro roztoky silic o různých koncentracích a lišila se mezi jednotlivými vzorky. Levandule úzkolistá (*L. angustifolia* Mill.) po půl hodině reakce inhibovala radikály na 90,22 % a s dobromyslí obecnou (*Origanum vulgare*) a saturejkou horskou (*Satureia montana*) patřila mezi tři v tomto ohledu nejúčinnější rostliny [20].

V jiné studii byl za použití multirezistentního bakteriálního druhu *Escherichia coli* J53 R1 testován účinek levandulové silice (*L. angustifolia* Mill.) samostatně a v kombinaci s antibiotikem piperacillinem. Výsledky naznačují, že silice má potenciál zvrátit rezistenci bakterie vůči antibiotiku. Předpokládanými mechanismy působení jsou změna propustnosti vnější membrány bakterie a inhibice bakteriálního quorum sensing [21].

Zvýšení antibakteriálních účinků silic lze dosáhnout jejich emulgací, za tímto účelem mohou být využity například rhamnolipidy, které působí jako biosurfaktanty [22,23].

Výzkumy nasvědčují možnosti použití extraktů z levandule jako konzervantu v kosmetice [24].

#### 1.5.2.1.2 Antikancerogenní účinky

V rámci jedné studie byly izolovány maligně transformované lymfocyty pacientů se III. a IV. stupněm Hodgkinova lymfomu a studován protirakovinný účinek vodných extraktů. Sledovalo se antiproliferační působení na lymfocyty a další dvě buněčné linie. Levandule inhibovala proliferaci buněk lymfomu i vybraných buněčných linií. Efektivní koncentrace levandule, která snižovala životaschopnost lymfocytů, se rovnala polovině terapeutické dávky a byla zaznamenána při 100 µg/ml, což se nacházelo pod hranicí poloviny letální koncentrace (LC50). Hlavním mechanismem působení vodného extraktu na buňky Hodgkinova lymfomu byla apoptóza [25].

Většina studií zabývajících se apoptózou potvrzuje efekt indukce apoptotických drah u rakovinných buněk. Proti vzniku nádoru působí levandulová silice také svojí antioxidační a protizánětlivou aktivitou. V tomto ohledu poměrně rozsáhlá studie zkoumající hexanové, ethanolové a vodné extrakty bylin tradiční indické medicíny

(*Soymida fembrifuga*, *Tinospora cordifolia*, *Lavandula bipinnata*, *Helicteres isora*) prokázala významné cytotoxické působení ethanolového extraktu druhu *L. bipinnata* na linii renálního karcinomu PN-15 a také mírnou aktivitu na linie HeLa,-B75 a HL-60, kontrola tvořená jaterními buňkami nebyla cytotoxicitou ovlivněna. Dále byla zjištěna selektivní inhibice COX-2 oproti COX-1 u všech rostlin, přičemž *L. bipinnata* ze všech zkoumaných ethanolových extraktů dosáhla nejvyšší hodnoty inhibice COX-2. Látky inhibující z obou cyklooxygenáz selektivně COX-2 jsou obecně považovány za bezpečnější antiflogistika [73].

Srovnání cytotoxického působení silice a hexanového, ethanolového a vodného extraktu *L. angustifolia* na nádorové linie HeLa a MCF7 a lidské fibroblasty jako kontrolu poskytuje studie, kterou zmiňuji v diskuzi, proto se jí na tomto místě více nebudu věnovat [71].

V následující studii byla kolorimetrickým testem XTT stanovena hodnota poloviny maximální inhibiční koncentrace (IC<sub>50</sub>) levandulových extraktů pro linie HeLa a Vero. Druh *L. spica* dosáhl IC<sub>50</sub>  $98.99 \pm 1.28$   $\mu\text{g/ml}$  u linie HeLa a  $26.3 \pm 0.64$   $\mu\text{g/ml}$  u linie Vero, kříženec *Lavandula x intermedia* IC<sub>50</sub>  $182 \pm 1.5$   $\mu\text{g/ml}$  u linie HeLa a  $31.5 \pm 0.14$   $\mu\text{g/ml}$  u linie Vero [74].

Cytotoxicita stanovená esejí MTT a apoptotické působení ethanolového extraktu na linii MCF7 byly prokázány také u druhu *L. denata*, kde zjištěná hodnota IC<sub>50</sub> dosáhla 39  $\mu\text{g/ml}$  [75].

#### 1.5.2.1.3 Působení na nervový systém

Alternativní medicína a lidová tradice využívají levanduli obecně jako uklidňující prostředek. Tento již dlouhou dobu prakticky osvědčený účinek inicioval provádění biomedicínských studií se zaměřením na afinitu levandulových extraktů k nervovému systému. Bylo realizováno několik různých druhů studií a výzkumů působení účinných látek levandule na receptory neuronů, elektrickou aktivitu mozku, neuroprotektivní účinky nebo třeba také na metabolismus nervových buněk.

Zajímavé poznatky přinesla proteomická studie zveřejněná v *The Iranian Journal of Pharmaceutical Research* v lednu roku 2015, která se zabývala působením levandulového extraktu na aktivitu vybraných proteinů zapojených nějakým způsobem do patologie Alzheimerovy nemoci. Tyto proteiny jsou považované za vhodné cíle léčby tohoto polyetiologického onemocnění, pro které vědecká medicína doposud nenachází dostatečně účinnou komplexní léčbu. Vědci si zvolili potkany Wistar jako laboratorní model a rozdělili je na tři skupiny po deseti jedincích: jednu kontrolní, druhou s beta-amyloidem (A $\beta$ ) injektovaným do hippocampu a třetí taktéž s injektovaným A $\beta$  a navíc léčenou levandulovým vodným extraktem (*L. angustifolia* Mill.) v dávce 200 mg/kg tělesné hmotnosti po dobu 20 dnů. Extrakt byl potkanům podáván jednou denně injekcí peritoneálně, tzn. do břišní dutiny, čímž byla zvýšena biodostupnost. Zkoumali množství A $\beta$  a expresi neuroprotektivních proteinů u léčených jedinců a pomocí výsledků měření a speciálního chemického softwaru stanovili předpokládané interakce mezi proteiny. Histopatologickým rozbohem hippocampu byla zjištěna snížená produkce A $\beta$  a zvýšená exprese ochranných proteinů v návaznosti na podávání extraktu. Ochranu neuronů zapříčiňuje několik faktorů, které poskytují účinné látky extraktu: protizánětlivé působení (i), antiapoptotické působení (ii), antioxidační aktivita (iii), omezení množství A $\beta$  (iv), posílení neurotrofních faktorů (v) a již dříve zjištěný antiglutamatergní účinek (vi) a blokování vápníkových kanálů (vii). Podle zkoumaných proteinových interakcí může dál během léčby levandulovým extraktem docházet i k rozvoji a diferenciaci neuronů, ke správnému organizování cytoskeletu a k podpoření neurogeneze. V závěru proto íránští autoři zmiňují, že použití extraktu levandule lékařské má pozitivní účinky na průběh nejenom Alzheimerovy choroby, ale i jiných neurodegenerativních onemocnění, v důsledku jeho pozitivního působení na úrovni proteinové exprese a interakcí proteinů [26].

Psychiatrická klinika nemocnice Hajar v Íránském městě Šahr-e Kord provedla na svých 80 pacientech, kteří trpěli většinou středně těžkou depresí, studii zaměřenou na účinky odvaru z levandule (*L. angustifolia* Mill.) na jejich psychický stav. Pacienti byli náhodně rozděleni do dvou skupin: jedna se léčila standardním způsobem, užívala tedy dvakrát denně 20 mg účinné látky citalopramum (SSRI – selektivní inhibitor vychytávání serotoninu), a druhá skupina podstoupila experimentální léčbu, která kombinovala užívání léčiva s podáním dvou šálků oslazeného odvaru z levandule po dobu osmi týdnů. Odvar byl připraven přidáním 5 g výhonků levandule do vroucí vody. Žádný výrazný

rozdíl ohledně vedlejších účinků léčby nebyl mezi skupinami pozorován. Standardně léčená skupina vykazovala v polovině průběhu a na konci studie významně vyšší Hamiltonovo skóre deprese. Podrobnosti, zda levandule působí synergickým způsobem nebo jiným aditivním efektem k citalopramu, nebyly zjištěny. Je známé, že biologicky aktivní látky obsažené v levanduli zasahují na úrovni neurotransmise do patofyziologie depresivních stavů. Užívání výtažků z levandule může být tedy efektivní komplementární terapií ke konvenční léčbě, zvláště na počátku zahájení užívání antidepresiv, jejichž účinek se dostavuje s jistou nežádoucí časovou prodlevou, může levandule zlepšit terapeutický účinek a přispět tak k celkové spokojenosti pacientů [27].

Neuroprotektivní účinky potvrdila také studie zaměřená na působení levandule během mozkové mrtvice. Potkanům byla navozena fokální cerebrální ischemie metodou okluze střední mozkové arterie po dobu jedné hodiny. Na počátku ischemie byla potkanům intraperitoneálně injektována levandulové silice v množství 100, 200 nebo 400 mg/kg tělesné hmotnosti. Vědci poté sledovali biomarkery rozsahu infarktu, otoku mozku, oxidativního stresu a funkčních výsledků, dále zkoumali změny v expresi vaskulárního endoteliálního růstového faktoru (VEGF) a proteinů Bax a Bcl-2. Neurotoxické účinky hypoxie jsou zprostředkované mimo jiné výrazně zvýšeným tokem vápenatých iontů přes glutamátergní receptory, což působí excitotoxicky, a tvorbou reaktivních kyslíkových radikálů a peroxynitritů, které jsou zase induktory apoptotické dráhy. Během hypoxie dochází ke zvýšené transkripci VEGF a tím je masivně podporována angiogeneze, zvyšuje se kapilární hustota, ale zároveň je narušena integrita cévní stěny a roste její permeabilita [28]. U skupiny potkanů, kterým bylo podáno 200 a 400 mg/kg silice, byl zaznamenán významný pokles otoku mozku, snížený rozsah infarktu a lepší funkční stav po ischemii. Levandulová silice snížila oxidační stres a zvýšila množství antioxidantních enzymů superoxiddismutázy a glutathion peroxidázy a celkovou antioxidantní kapacitu. Došlo ke zvýšení exprese VEGF, ale tato studie neprokázala antiapoptotický účinek snížením poměru proteinů Bax/Bcl-2 v mozku potkanů. Mechanismus neuroprotektivního účinku silice je spojený s endogenní antioxidantní ochranou, inhibicí oxidativního stresu a zvýšenou expresí VEGF, potlačení apoptózy nebylo prokázáno, nicméně výše zmíněná Íránská proteomická studie z počátku letošního roku naopak omezení apoptózy prokázala [29].



Méně slavné se naopak ukázaly být výsledky následujícího experimentu. V randomizované placebem kontrolované cross-over a jednostranně zaslepené studii na dobře definovaném vzorku 64 pacientů s demencí vykazujících tělesně neklidné chování a přebývajících v domech s pečovatelskou službou. Ve studii byla použita levandulová silice (*L. angustifolia* Mill.) s prokázanou neurofyziologickou aktivitou, aplikace byla uskutečněna s 1ml množstvím oleje o 30% koncentraci silice vmasírováním na předloktí pacientů. V závěru studie stojí, že levandulová silice neměla žádný prokazatelný vliv na chování pacientů, kteří byli celou dobu sledováni půl hodiny před aplikací olejové směsi se silicí a následně jednu hodinu poté. V experimentální skupině byla sice oproti placebu zaznamenána nižší míra neklidného chování blízká se statistické významnosti, tato informace byla nicméně znehodnocena tím, že stejné nižší hodnoty skupiny s levandulí byly změřeny i před aplikací silice. Vědci, kteří studii koordinovali, přičítají tento fakt dílu náhody [30].

#### 1.5.2.1.4 Další účinky a jiné poznatky

Byl pozorován také kardioprotektivní účinek levandulového olej při infarktu myokardu. Studie byla provedena na potkanech rozdělených do šesti skupin po šesti jedincích a každé skupině byl injektován následující roztok: skupině 1 pouze roztok soli, skupině 2 roztok soli s levandulovou silicí (*L. angustifolia* Mill.) intraperitoneálně, skupině 3 byl vyvolán stav podobný infarktu myokardu pomocí roztoku isoproterenolu podaného třikrát ve třech dnech po 24hodinových intervalech, skupině 4-6 byl navozen stav infarktu myokardu a současně intraperitoneálně podáno 5, 10 a poslední skupině 20 mg/kg tělesné hmotnosti silice rozpuštěné v solném roztoku dvakrát v 24hodinovém intervalu. Příznivé účinky silice na myokard pozitivně korelují s jejím množstvím v podané dávce. Léčené skupině se významně upravil záznam elektrokardiogramu, což indikuje pozitivní efekt účinných látek na buněčné membrány. Dále byl změřen menší poměr váhy srdce vzhledem k tělu, zjištěna menší hypertrofie srdce a působení proti otoku. Byl pozorován výrazný kardioprotektivní účinek u léčené skupiny, který byl určen výrazně nižším množstvím nekrotizovaných buněk. Zjištěné působení může být spojené s protizánětlivým a antioxidačním působením složek silice, která byla získána hydrodestilací nadzemních částí kvetoucí rostliny. Studie prokázala pozitivní efekt silice na arteriální krevní tlak, zvýšení kontraktilní síly myokardu a zároveň snížení konečného diastolického tlaku v levé komoře – dosažení těchto hemodynamických parametrů je v léčbě infarktu myokardu zcela zásadní vzhledem k charakteru poškození tkáně a funkcí

srdce, které se v jeho důsledku dostaví. Byla také *in vivo* potvrzena snížená lipidová peroxidace a to dokonce o 50-60 %. Vědci zaznamenali významný pokles zánětlivých markerů přičítaný především obsahu linaloolu a linalyl acetátu. Silice zachovává myokard v dobrém stavu díky snížení poškození kardiomyocytů a zpevnění jejich membrán, jak ukázal histopatologický rozbor. Nové poznatky mohou posloužit jako teoretický základ pro možnost prevence a léčby infarktu myokardu u lidí [31].

V lidové tradici se levandule doporučuje jako repelent, který hubí hmyz a zároveň je vhodný pro zdraví člověka. Toto lidové moudro potvrzuje studie zabývající se ovicidním a ovipozici omezujícím účinkem. Ovicidní účinek znamená toxicitu pro vajíčka škůdců a ovipozice je kladení vajíček. Oba efekty byly zkoumány u několika druhů rostlinných silic a jako hmyzí model byly zvoleny gravidní samičky mouchy domácí (*Musca domestica*). Jako pozitivní kontrola při studii posloužil roztok cypermethrinu o hmotnostní koncentraci 10%, který kompletně zamezil kladení a zahubil všechna vajíčka. Silice byly testovány jako roztoky o třech koncentracích: 1,0 %, 5,0 % a 10 %. Nejvyšší koncentrace rostlinných extraktů vykazovaly také nejvyšší procento tzv. efektivní repelence (ER), která udává v procentech zamezení nakladení vajíček. Úplného zastavení kladení vajíček a tedy i 100% ER se dosáhlo v případě použití 10% roztoku silice badyáníku pravého (*Illicium verum*). Na stupni účinnosti následoval zázvor (*Zingiber cassumunar*), máta peprná (*Mentha piperita*), levandule úzkolistá (*L. angustifolia*) a další, přičemž u levandule nabyla hodnota efektivní repelence 88,14 % [32].

Široký repertoár biologické aktivity levandulových extraktů doplňuje také hepatoprotektivní a nefroprotektivní působení. Tyto účinky byly popsány během malathionem indukovaného oxidativního stresu u mladých potkaních samečků. Malathion je insekticidní látka patřící do skupiny organofosfátů. Jeho expozice vyvolala u potkanů úbytek hmotnosti tělesného přírůstku, nefrotoxicitu, hepatotoxicitu a značnou dysregulaci metabolických a hemodynamických parametrů spojenou s oxidativním stresem. Při současném podání (10, 30 nebo 50 mg/kg tělesné hmotnosti) levandulové silice (v tomto případě *L. stoechas* L.) *per os* došlo ke zlepšení zmíněných parametrů poškození těla malathionem. V tomto případě tedy silice působila nefroprotektivně a hepatoprotektivně, k pozitivním účinkům přispěly možná také její antioxidační vlastnosti [76].

Experimentální klinická studie se zabývala účinky aromaterapie s levandulovou silicí na příznaky primární dysmenoree a její vliv na množství menstruačního krvácení. Primární dysmenorea jsou bolesti, křeče a celkové potíže spojené s průběhem menstruace, přičemž charakteristické i individuální příznaky nastupují již při první menstruaci, tzv. menarche. Vědci pozorovali skupinu 48 dívek-studentek inhalující levandulovou silici rozpuštěnou v sezamovém oleji (2:1) a stejně početnou placebo skupinu pouze se sezamovým olejem. Po jedné hodině od nástupu příznaků dysmenoree si dívky nakapaly do dlaní tři kapky olejové směsi, rozetřely je a ve vzdálenosti 7-10 cm od nosu vdechovaly aroma po dobu 5 minut. Takto navíc činily jednou za šest hodin během prvních tří dnů menstruace. Terapie probíhala během dvou po sobě následujících menstruačních cyklů. Pomocí aromaterapie se silice dostane do plic a krve člověka v důsledku vdechování výparů, přičemž dochází ke stimulaci buněk čichových receptorů, které předávají signál do emočního centra mozku – tzv. limbického systému, kterým jsou čichové stimuly zpracovány a mimo jiné jeho struktury slouží i k podpoře dlouhodobé paměti. U skupiny s levandulovou silicí studie potvrdila a znovu prokázala významné snížení závažnosti příznaků primární dysmenoree. Dále nebyl statisticky významně prokázán vliv na krevní srážlivost a nebyla nalezena spojitost se snížením menstruačního krvácení během prvních tří dnů. Jedná se o jednoduchý, účinný a finančně nenákladný způsob zmírnění potíží spojených s menstruačním cyklem, obvykle bezpečný a bez nežádoucích účinků [33].

Byly potvrzeny i analgetické účinky levandulové silice. Právě tím se také zabývala studie na pediatrických pacientech ve věku 6-12 let, kteří byli rozděleni na dvě skupiny, každá po 24 dětech. Všichni pacienti podstoupili tonzilektomii, tzn. chirurgický zákrok, při kterém jsou odebrány krční mandle, a poté jim byl podáván paracetamol *per os* v dávce 10-15 mg/kg tělesné hmotnosti každých šest hodin podle individuální potřeby pacientů ulevit od bolesti. Experimentální skupina navíc inhalovala výpary levandulové silice. Po dobu tří dnů od operace lékaři zaznamenávali u každého pacienta schéma užívání paracetamolu, míru bolesti a četnost nočního buzení v důsledku pocíťování bolesti a nakonec srovnali výsledky aromaterapeutické a kontrolní skupinu podle jednotlivých dnů. Dospěli k závěru, že během všech tří pooperačních dnů inhalace levandulové silice významně snížila nutné dávky paracetamolu, ale neměla významný vliv na intenzitu bolesti a frekvenci nočního buzení. Využitím aromaterapie můžeme tedy v tomto případě snížit potřebu analgetik, což přispěje i k omezení jejich nežádoucích účinků [34].

Jedním z často sledovaných parametrů různých látek je jejich mutagenní potenciál. Za tímto účelem se využívá jednoduchá a nenákladná zkouška bakteriálních reverzních mutací (bacterial reverse mutation assay), kterou poprvé použil na počátku 70. let 20. století Bruce Nathan Ames na druhu *Salmonella typhimurium*. Dnes se v testech reverzních mutací využívá kromě specifických kmenů *S. typhimurium* také *Escherichia coli*. Používané bakteriální kmeny mají známý genom a v něm mutované geny nutné k syntéze aminokyselin (zpravidla histidin nebo tryptofan), takže se tyto aminokyseliny musí do kultivačního média dodávat. Během přítomnosti esenciální aminokyseliny v médiu působí na bakterie zkoumaná látka a poté, co dojde k vyčerpání esenciální aminokyseliny, přežijí dále pouze jedinci, kteří podstoupili reverzní mutaci v genu nutném pro syntézu oné aminokyseliny tak, že je gen opět funkční a bakterie se obejdou bez jejího externího zdroje. Testování probíhá paralelně s kontrolou a mutagenita zkoumané látky se vyhodnocuje na základě počtu životaschopných kolonií, tedy schopnosti indukovat reverzní mutaci. Studie publikovaná v časopisu Food and Chemical Toxicology zkoumala levandulovou silici (*L. angustifolia*) právě tímto testem. Nebyl zjištěn žádný mutagenní účinek samostatné silice, naopak se prokázalo silné antimutagenní působení v případě, že byl k bakteriálnímu kmenu *S. typhimurium* TA98 přidán přímý mutagen 2-nitrofluoren. Antimutagenní aktivita byla závislá na aplikované dávce a při maximální koncentraci 0,80 mg došlo ke snížení množství revertantních kolonií o 66,4 %. V případě vystavení kmene TA98 přímému mutagenu 1-nitropyrenu a 0,80mg dávce silice byl prokázán mírný antimutagenní účinek [35].

### **1.5.2.2 Přípravky obsahující levandulovou silici**

Lavela Ws 1265<sup>®</sup> (\$35,00; 60 tobolek; 80 mg Silexanu<sup>™</sup> [36])

Lasea<sup>®</sup> (18,58 €; 56 tobolek; 80 mg Silexanu<sup>™</sup> [37])

Calm Aid<sup>®</sup> (\$9,60; 30 tobolek; 80 mg Silexanu<sup>™</sup> [38])

Všechny tři produkty obsahují speciálně zpravovanou levandulovou silici způsobem patentovaným v Německu. Zde byl též německý přípravek Lasea<sup>®</sup> schválen pro léčení neklidu doprovázeného úzkostnými náladami u dospělých a uveden na trh. Tato speciální silice nazývaná Silexan<sup>™</sup> byla získána parní destilací květů levandule úzkolisté (*L. angustifolia* Mill.) bezprostředně po jejich sklizení [39]. Rostliny jsou pěstovány ve francouzské Provence v nadmořské výšce 800 m. Produkt Lasea<sup>®</sup> údajně překračuje standardy stanovené evropským lékopisem. Každá želatinová kapsle obsahuje 80 mg levandulové silice s vysokým obsahem linaloolu a linalyl acetátu. Klinickými studii byly prokázány anxiolytické účinky Silexanu<sup>™</sup> [40,41]. Pomocí pozitronové emisní tomografie bylo v jedné z těchto studií také zjištěno, že účinek silice je zprostředkovan serotoninovými receptory 1A (5-HT<sub>1A</sub>) [40]. Silexan<sup>™</sup> podávaný v denní dávce 80 mg po dobu deseti týdnů dosáhl výsledků srovnatelných s lékem lorazepam ze skupiny benzodiazepinů [42]. Ve srovnání s léky dále dosahuje podobných účinků, jako navozuje SSRI antidepressivum paroxetin [39]. Přípravky mají dále pomáhat při depresích, panických poruchách a umožňovat snáze usnout a uvést nervový systém do rovnováhy. Důležité je, že účinná látka přitom nepůsobí sedativně. Farmakokinetické studie se Silexanem<sup>™</sup> provedené na lidech prokázaly rychlou absorpci a poločas plazmové eliminace linaloolu po jedné dávce (80 mg Silexanu<sup>™</sup>) byl zaznamenán po 4 hodinách. Po čtrnáctidenním užívání 160mg dávky Silexanu<sup>™</sup> jednou denně se poločas plazmové eliminace zvýšil na 9 hodin. Při opakovaném podávání se ustálený stav dostaví asi po 5 dnech [39].

Silexan<sup>™</sup> je velmi bezpečný a jediným nežádoucím účinkem mohou být mírné žaludeční potíže a říhání nebo alergická reakce kůže. Během testu chronické toxicity provedených na zvířatech nebyly prokázány toxické účinky ani při dávce 200krát vyšší, než je dávka Silexanu<sup>™</sup> doporučovaná pro člověka. Prováděné testy vyloučily teratogenitu, mutagenitu, genotoxicitu, zhoršení plodnosti, nežádoucí účinky na kardiovaskulární systém, centrální nervový systém a dýchací funkce.

## 1.5 Biosyntéza komponent levandulové silice

Terpeny jsou látky strukturně složené z izoprenoidních jednotek, avšak mají jiný biochemický původ než klasické izoprenoidy, neboť ve skutečnosti vznikají z izopentenylů a ne z izoprenu. Tato skupina látek zahrnuje chemicky velice různorodé sloučeniny. Terpeny patří mezi sekundární rostlinné metabolity, které ochraňují rostlinu před jejími škůdci nebo bakteriální infekcí a také odpuzují býložravce. Ekologie se týká nejen význam terpenů z hlediska ochrany rostliny před některými vnějšími vlivy, avšak také jejich masivní uvolňování do atmosféry v průběhu rozkladu rostlinných těl, především biomasy stromů. V závislosti na mnoha faktorech jak vnějšího okolí, tak i vnitřního prostředí rostliny (genetický základ, míra asimilace atd.) může koncentrace terpenoidů v ovzduší významně kolísat, protože se vylučují také v průběhu ontogeneze rostliny, čímž se v důsledku stávají významným zdrojem uhlíku v atmosféře, a ovlivňují tak její chemické složení a vytvářejí biogenní aerosoly [43]. Z hlediska fyzikálně-chemických vlastností se jedná o látky těkavé nebo polotěkavé s nižšími body varu a nízkou polaritou a tedy i hydrofobním charakterem. Těkavost se významně snižuje u terpenů s počtem uhlíků vyšším než patnáct, které mají také vysoké body varu. Obvykle se vyznačují charakteristickou vůní a zajímavou biologickou aktivitou, díky čemuž již dávno lidé využívali jejich využití v kosmetice a medicíně.

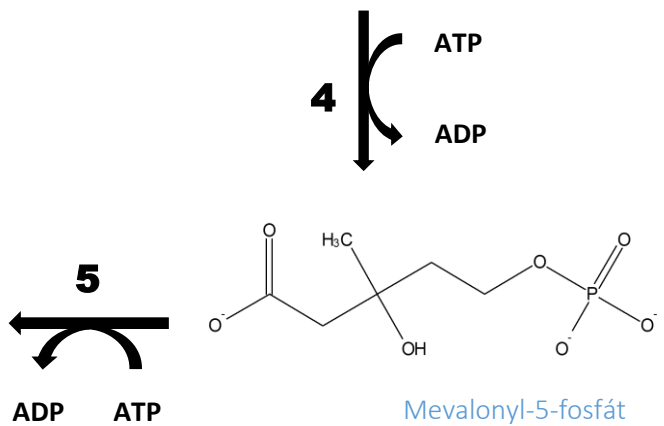
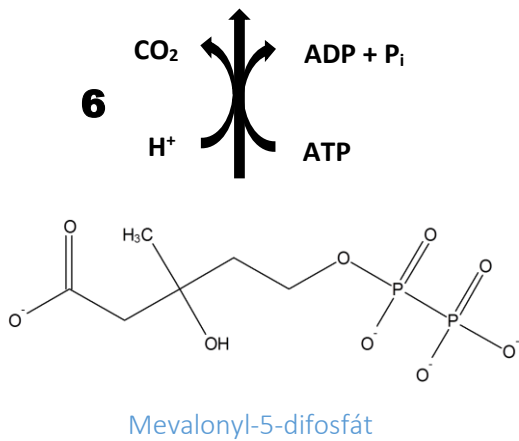
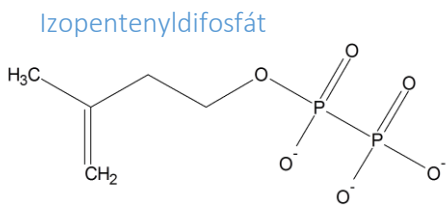
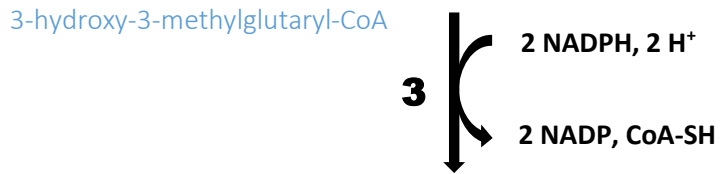
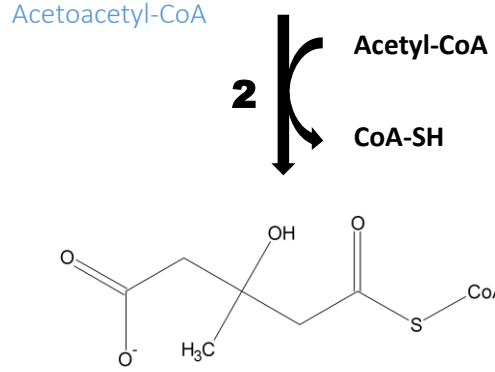
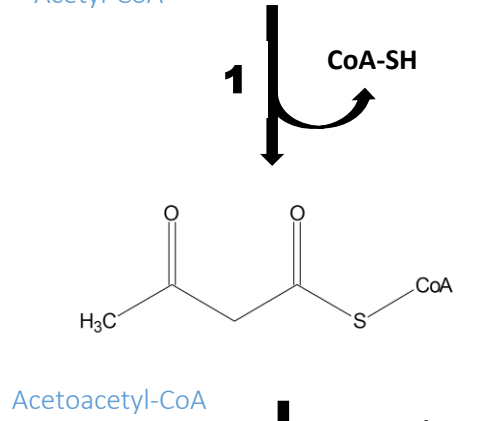
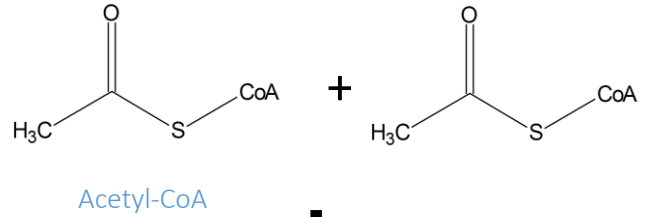
Biosyntéza terpenů zahrnuje základní prekurzory, kterými jsou izopentenylidifosfát (IPP) a dimethylallyldifosfát (DMAPP), vznikající prostřednictvím dráhy kyseliny mevalonové (jinak také MVA nebo HMG-CoA reduktázové, případně acetát/mevalonátové dráhy) v cytoplazmě a na endoplazmatickém retikulu nebo skrze později objevenou nemevalonátovou dráhu, která probíhá v plastidech. Biosyntéza životně důležitých metabolických prekurzorů nemevalonátovou dráhou je mimo rostliny dále využívána především zástupci kmene výtrusovců (např. plasmodia) a také ji využívá většina bakterií. Tato série metabolických pochodů bývá dále označována jako na mevalonátu nezávislá nebo methylethylerythritolfosfátová dráha (2-C-methyl-D-erythritol-4-fosfát = MEP), MEP/DOXP dráha (2-C-methyl-D-erythritol-4-fosfát/1-deoxy-D-xylulóza-5-fosfát) nebo glyceraldehyd-3-fosfát/pyruvátová dráha.

Mevalonátová dráha začíná reakcí dvou acetylkoenzymů A, kterou katalyzuje thioláza (acetyl-CoA C-acetyltransferáza) a vniká při ní acetoacetylkoenzym A (acetoacetyl-CoA). Za působení HMG-CoA syntázy (HMGS) se k acetoacetylkoenzymu A připojí další acetátový zbytek a vznikne tak 3-hydroxy-3-methylglutarylkoenzym A (HMG-CoA), tento proces je mimo jiné využíván v mitochondriích ke tvorbě ketoláték. V cytoplazmě na hladkém endoplazmatickém retikulu je však HMG-CoA následně ve dvou stupních redukován pomocí NADPH enzymem HMG-CoA reduktázou (HMGR) na mevalonát, tedy anion kyseliny mevalonové. HMG-CoA reduktáza je regulačním enzymem mevalonátové dráhy a určuje tedy její rychlost. Může se vyskytovat ve dvou formách, inaktivní fosforylované nebo aktivní defosforylované formě. Následují dvě po sobě jdoucí fosforylace pomocí mevalonát kinázy a fosfomevalonát kinázy. Mevalonyl-5-difosfát je enzymaticky dekarboxylován za spotřeby ATP skrze nestabilní meziproduct 3-fosfo-5-difosfomevalonát za vzniku izopentenylidifosfátu (IPP), který může být pomocí IPP izomerázy převeden na reaktivnější dimethylallyldifosfát (DMAPP) – tyto dva izomery jsou prekurzory, respektive „stavební bloky“, terpenoidních látek. Ligáza zvaná geranyldifosfát syntáza (GPPS) sloučí DMAPP s dalším IPP a vzniká tak geranyldifosfát (GPP) a uvolní se anorganický difosfát (PP<sub>i</sub>). Analogicky probíhá vznik farnesyldifosfátu (FPP) katalyzovaný farnesyldifosfát syntázou (FPPS), která připojí ke GPP další IPP jednotku za uvolnění PP<sub>i</sub>. Může následovat další kondenzace, a to farnesyldifosfátu (FPP) opět s molekulou IPP za působení enzymu geranylgeranyldifosfát syntázy (GGPPS) vytváří geranylgeranyldifosfát (GGPP). Zmíněné difosfátové meziproducty se mohou účastnit kromě biosyntézy terpenů také posttranslačních modifikací proteinů připojením alkylového zbytku – tento typ úprav proteinů je obecně označován jako prenylace, případně izoprenylace [13,44,45,46].

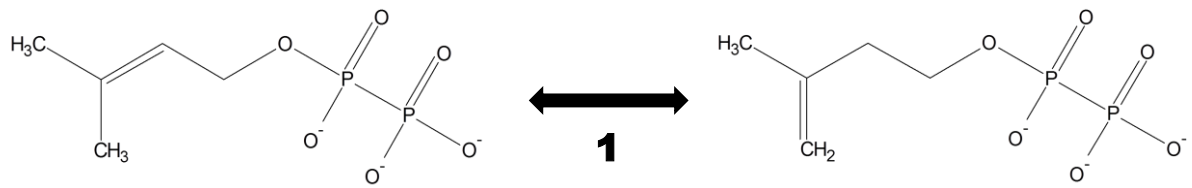
**Schéma 1**  
Průběh mevalonátové dráhy [72]

ČÍSLO	ENZYM + ZKRATKA
1	Acetyl-CoA C-acetyltransferáza (thioláza)
2	HMG-CoA syntáza HMGS
3	HMG-CoA reduktáza HMGR
4	Mevalonát kináza MVK
5	Fosfomevalonát kináza PMVK
6	Difosfomevalonát dekarboxyláza DPMVD

Tabulka C1 Seznam enzymů mevalonátové dráhy

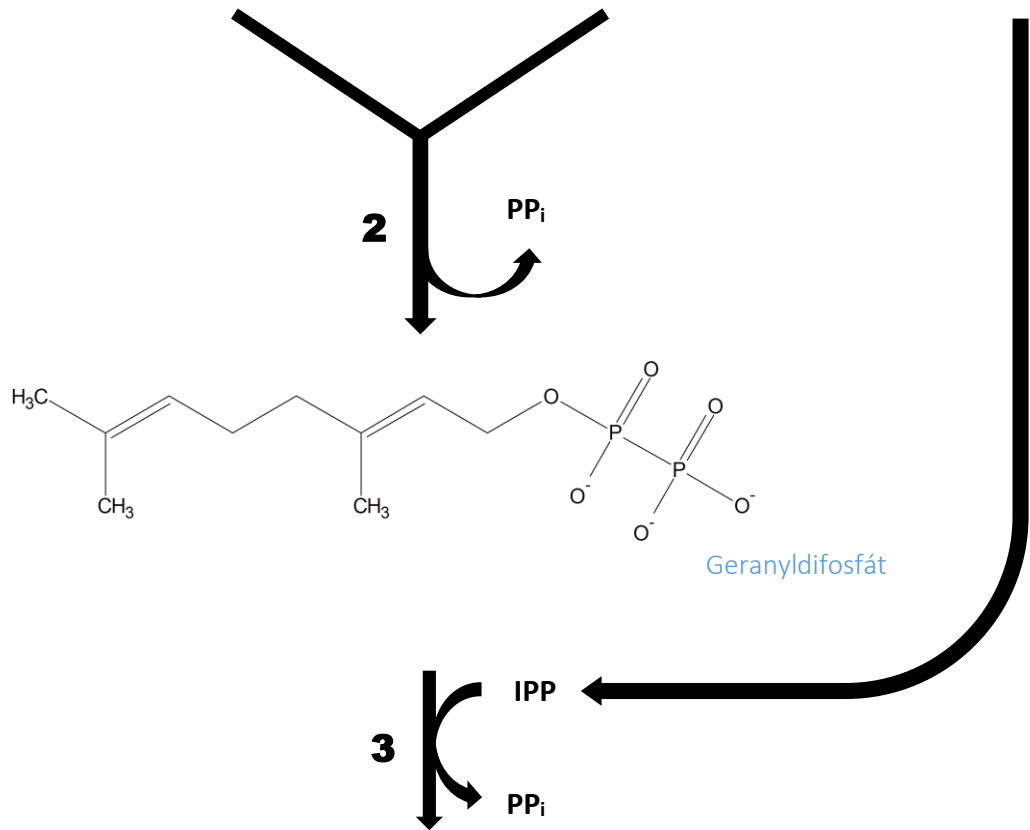




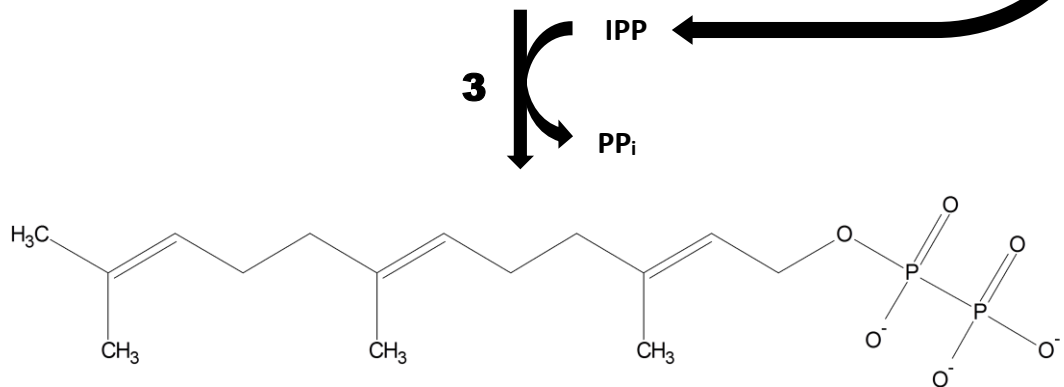


3,3-Dimethylallyldifosfát

Izopentenyldifosfát



Geranyldifosfát



Farnesyldifosfát

ČÍSLO	ENZYM + ZKRATKA
1	Izopentenyldifosfát izomeráza IPPI
2	Geranyldifosfát syntáza GPPS
3	Farnesyldifosfát syntáza FPPS

Tabulka C2 Seznam enzymů  
mevalonátové dráhy

Plastidová dráha vede taktéž ke vzniku izopentenylidifosfátu (IPP) a dimethylallyldifosfátu (DMAPP), které se zapojují do biosyntézy terpenů, probíhá však na jiném místě a s jinými vstupními látkami. MEP dráha začíná reakcí pyruvátu s glycerinaldehyd-3-fosfátem katalyzovanou 1-deoxy-D-xylulóza-5-fosfát syntázou (DXPS), při které vznikne 1-deoxy-D-xylulóza-5-fosfát (DXP). V následujícím kroku je DXP transformována na 2-C-methyl-D-erythritol-4-fosfát (MEP) enzymem DXP reduktoizomerázou, který pro svou funkci vyžaduje kofaktor NADPH a divalentní kationt, nejlépe  $Mn^{2+}$ , ale může se jednat také o  $Mg^{2+}$  nebo  $Co^{2+}$ . Enzym MEP cytidyltransferáza štěpí vazbu v cytidintrifosfátu (CTP) za uvolnění anorganického difosfátu ( $PP_i$ ) a připojení cytidinmonofosfátu (CMP) k fosforylovanému konci MEP, čímž vzniká 4-(cytidin-5'-difosfo)-2-C-methyl-D-erythritol (CDP-ME). CDP-ME je fosforylován, a poté se za uvolnění CMP cyklizuje 2-fosfát a 4-fosfát, tak vzniká 2-C-methyl-D-erythritol-2,4-cyklodifosfát (MECDP), který se za působení 4-hydroxy-3-methylbut-2-en-1-yl difosfát syntázy štěpí na 4-hydroxy-3-methylbut-2-en-1-yl difosfát (HMB-PP). Syntáza HMB-PP vyžaduje ke své reakci kromě zmíněného substrátu MECDP ještě vodu a protein-disulfid, který se po reakci mění na protein-dithiol, proto také tento enzym patří do rodiny oxidoreduktáz. V posledním kroku MEP dráhy se zapojuje železo-sírný protein HMB-PP reduktáza, který dá vzniknout buď IPP nebo DMAPP [45,46].

ČÍSLO	ENZYM + ZKRATKA
1	1-deoxy-D-xylulóza-5-fosfát syntáza DXP syntáza nebo DXS
2	1-deoxy-D-xylulóza-5-fosfát reduktoizomeráza RXP reduktoizomeráza nebo DXR
3	2-C-methyl-D-erythritol-4-fosfát cytidyltransferáza IspD, CDP-ME syntáza, MEP cytidyltransferáza
4	4-(cytidin-5'-difosfo)-2-C-methyl-D-erythritol kináza
5	2-C-methyl-D-erythritol-2,4-cyklodifosfát syntáza MECDP syntáza
6	4-hydroxy-3methylbut-2-en-1-yl difosfát syntáza HMB-PP syntáza
7	4-hydroxy-3-methylbut-2-en-1-yl difosfát reduktáza HMB-PP reduktáza
8	Izopentenylidifosfát izomeráza IPPI

Tabulka D  
Seznam enzymů  
MEP dráhy

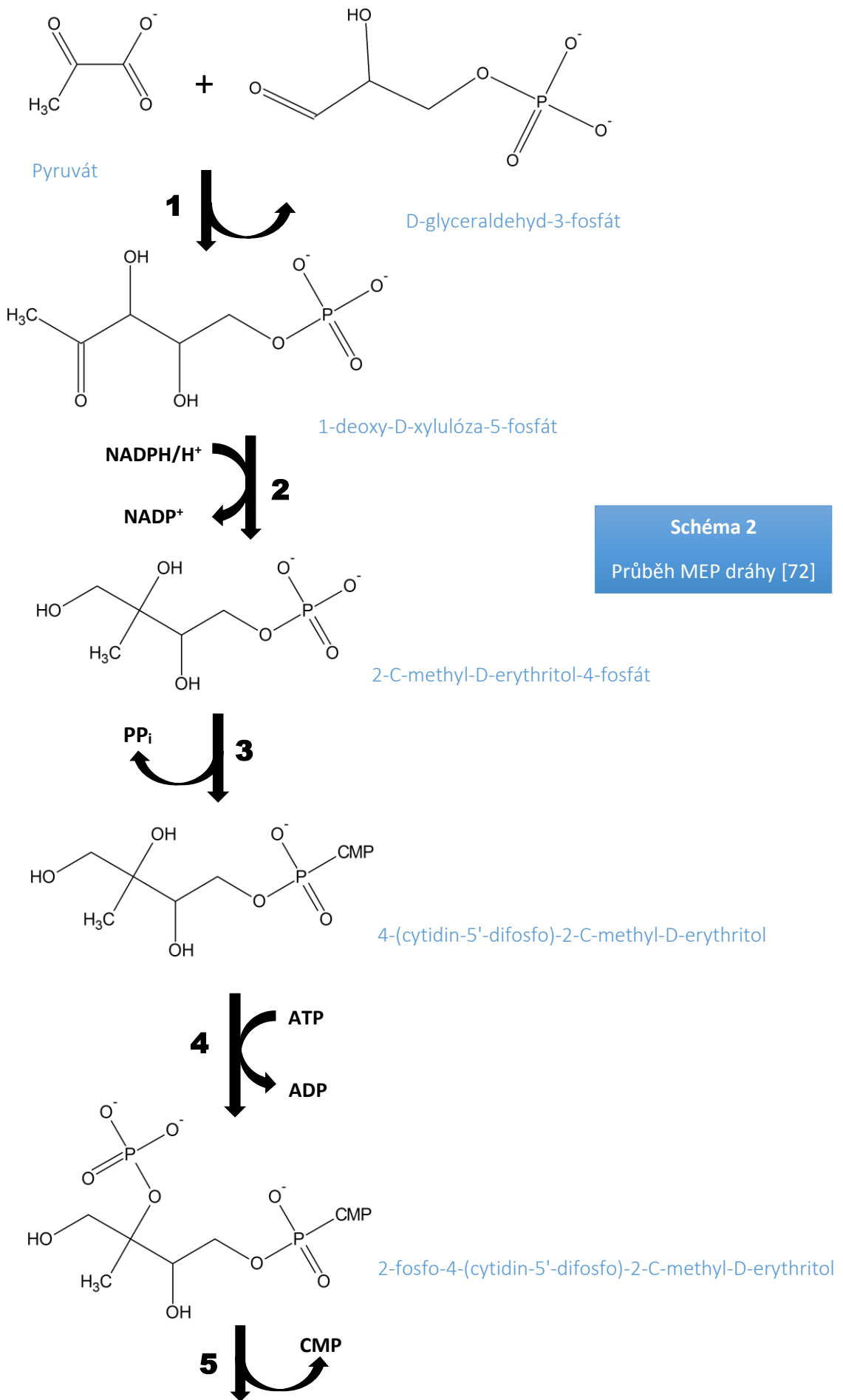
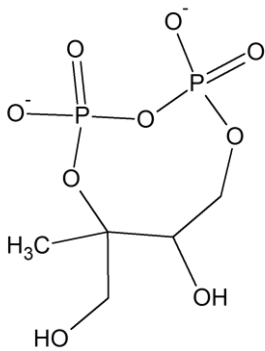


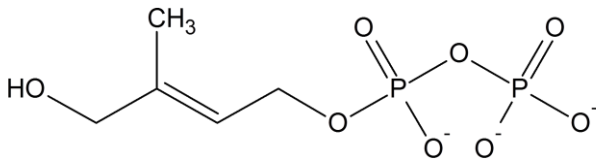
Schéma 2  
Průběh MEP dráhy [72]

**5** ↓ **CMP**



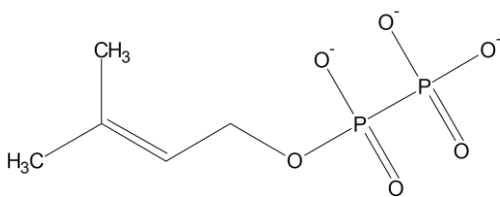
2-C-methyl-D-erythritol-2,4-cyklodifosfát

**6** ↘ **Protein-disulfid, H<sub>2</sub>O**  
↙ **Protein-dithiol**



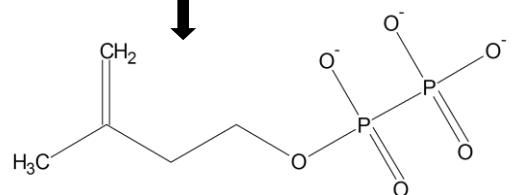
(E)-4-hydroxy-3-methylbut-2-en-1-yl difosfát

**NAD(P)H, H<sup>+</sup>** ↘ **7**  
↙ **NAD(P)<sup>+</sup>, H<sub>2</sub>O**



3,3-Dimethylallyldifosfát

**8** ⇌

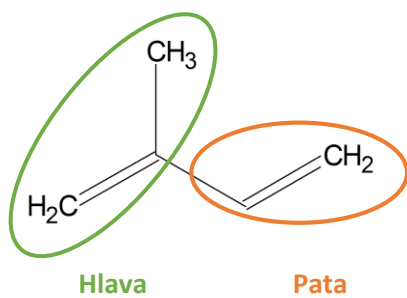


Izopentenyldifosfát

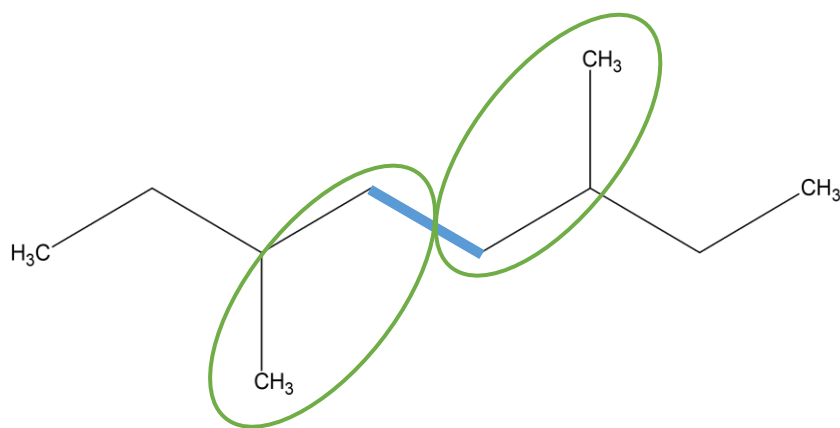
Rostliny tvoří terpeny podle daného druhu v jedné z těchto drah. Odlišně probíhá také skládání izoprenových jednotek u jednotlivých skupin terpenů. V případě cyklických terpenů se uplatňuje cyklická adice a cyklizace řetězce. U acyklických terpenů dochází ke kondenzaci izopentenylových jednotek za sebou, a to třemi možnými způsoby rozlišenými na základě dvou slučovaných částí izopentenylu vytvářejících mezi sebou novou kovalentní vazbu. Izopentenyl je rozlišen na rozvětvenou část zvanou hlava a na druhém konci nerozvětvenou ethylovou část označovanou jako pata. Monoterpeny, seskviterpeny, diterpeny a sesterterpeny se skládají mechanismem hlava-pata, zatímco triterpeny a tetraterpeny mechanismem pata-pata.

Tabulka E Izopentenylidifosfátové prekurzory terpenů

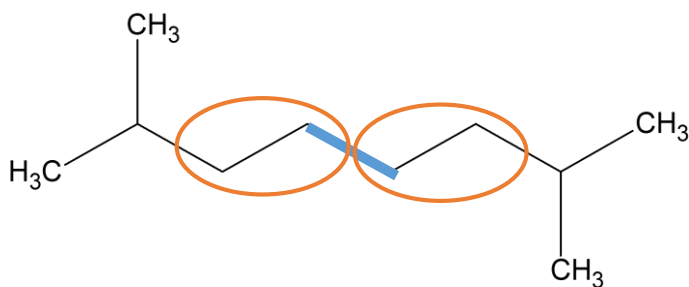
<b>Název výchozí látky</b>	<b>Zkratka</b>	<b>Vznikající terpeny</b>
Geranyldifosfát	GPP (C10)	Monoterpeny (C10)
Farnesyldifosfát	FPP (C15)	Seskviterpeny (C15) Triterpeny (C30)
Geranylgeranyldifosfát	GGPP (C20)	Diterpeny (C20) Tetraterpeny (C40)



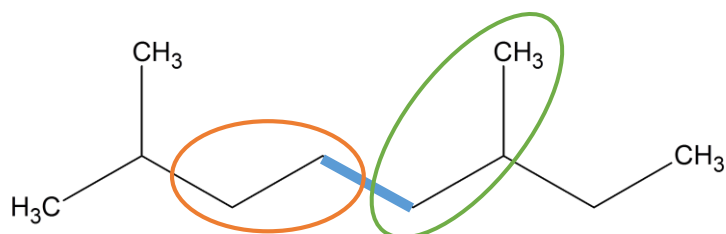
**Schéma 3**  
 Izopren (2-methylbuta-1,3-dien):  
 Hlava označena zeleně, pata označena oranžově [72]



Skládání  
**Hlava-hlava**



Skládání  
**Pata-pata**



Skládání  
**Hlava-pata**

**Schéma 4**      Názorné zobrazení způsobů kondenzace izopentenu:  
 Hlava označena zeleně, pata označena oranžově a nově vznikající vazba vyznačena modrou čárou [72]

## **2 POPIS POUŽITÝCH METOD A PŘÍSTROJOVÉ TECHNIKY**

---

### **2.1 Zpracování drogy**

Drogou je nejčastěji květ (*Flos lavandulae*), který se sbírá před úplným rozvinutím a za slunného počasí, kdy je rostlina suchá. Je však možné využít i celou nať (*Herba lavandulae*), nejlépe kvetoucí [6]. Podle norem Českého lékopisu musí sušený květ, tedy bezvodá droga, obsahovat nejméně 13 ml silice na kg hmotnosti. Uvedenými důkazovými zkouškami totožnosti drogy jsou: makroskopické pozorování květů (i), mikroskopické pozorování zpráškových květů (ii), tenkovrstvá chromatografie (iii) a hodnocení chromatogramů ze zkoušek na čistotu mezi jinými druhy a odrůdami rodu *Lavandula* [47].

Konkrétní obsah složek levandulové silice se liší podle toho, z jaké části byla extrahována a v jakém stádiu vývoje se daná část rostliny nacházela [48].

### **2.2 Extrakční techniky**

Destilace je separační fyzikální metoda využívaná v chemii k oddělení složek směsi kapalných látek za využití rozdílných hodnot bodu varu a těkavosti složek směsi. Kapalná směs se přivádí k varu, přičemž do plynné fáze přejde nejdříve těkavější složka, která je následně v chladiči kondenzována zpět do fáze kapalné. Produkt destilace se nazývá destilát a kapalný zůstatek původní směsi destilační zbytek. Většina těkavých látek přejde z destilované směsi do destilátu a v destilačním zbytku zůstanou látky s teplotou varu vyšší, než byla teplota destilační, a dále látky, které není možné pomocí destilace separovat. Z destilované směsi je možné pomocí konkrétního teplotního režimu selektivně získat pouze určité látky na základě znalosti bodu varu jím příslušejícího. Jestliže postupně oddělujeme jednotlivé složky směsi v několika krocích za stále se zvyšující teploty, nazývá se takový proces frakční destilace a získaná část produktu za dané teploty se označuje jako frakce.

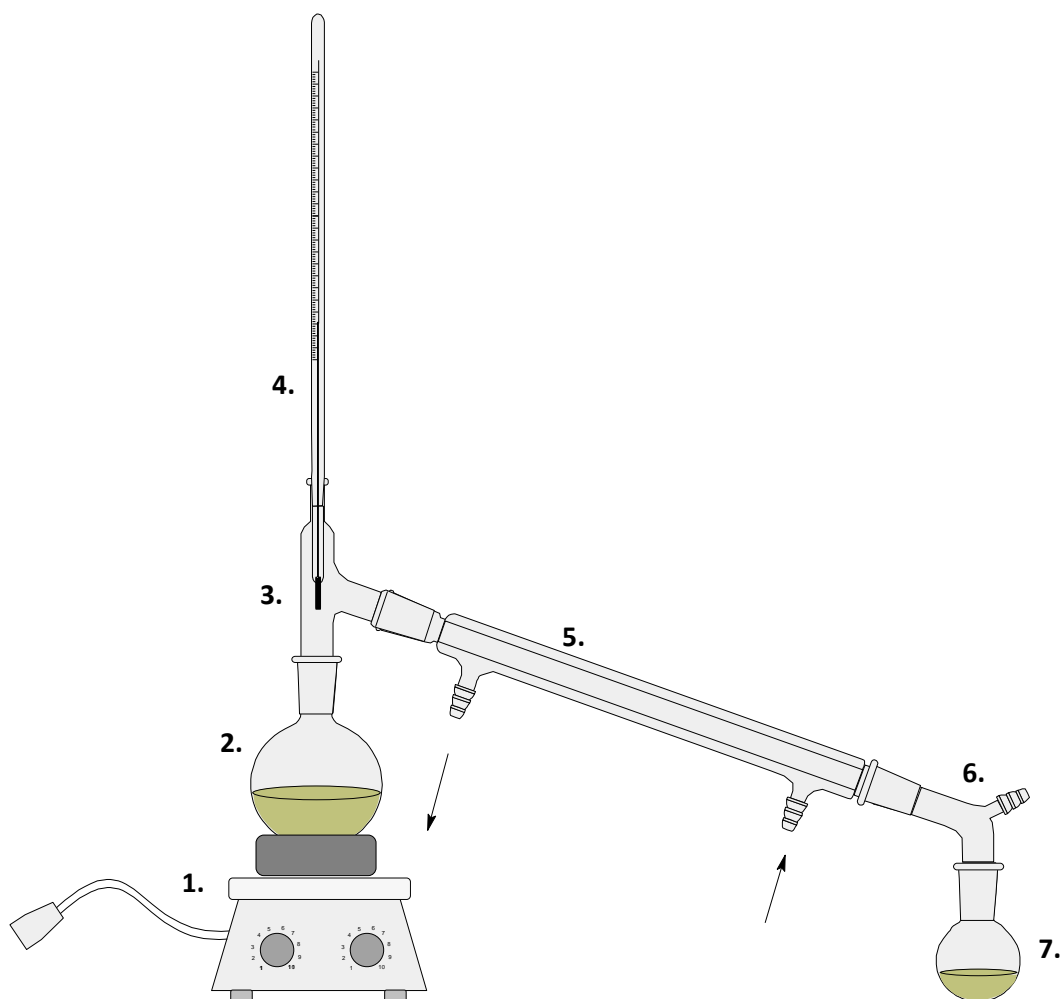
Destilace nachází velké uplatnění v mnoha oblastech lidské činnosti. Jedná se také o vhodnou metodu extrakce těkavých látek rostlinného původu. V této oblasti má nejstarší tradici využívání právě hydrodestilace, která využívá jako extrakční médium vodu a kterou je případně možné rozdělit na tři základní typy: vodní destilace (i), vodní a parní destilace (ii) a přímá parní destilace (iii). Použití této metody je vhodné pouze pro látky s vodou nemísitelné, především tedy rostlinné silice (dříve nazývané esenciální oleje). Během hydrodestilace je rostlinná biomasa vařena ve vodě v nádrži destilačního přístroje a těkavé látky jsou unášeny vodní parou, nebo je vodní pára vyvíjena ve zvláštní oddělené nádobě a následně proháněna biomasou. Následuje kondenzace par a sběr destilátu, který v důsledku rozdílné hustoty plave na hladině destilační vody nebo se udržuje na dně jímadla. Další možností získání obsahových látek z rostlinných pletiv je použití moderní metody superkritické fluidní extrakce, při níž se využívá vlastností vhodného plynu, často  $\text{CO}_2$ , převedeného do svého superkritického stavu. Tekutina v superkritickém stavu (stav nad kritickým tlakem  $P_c$  a kritickou teplotou  $T_c$ ) zaujme vlastnosti na pomezí své kapalně a plynné fáze a stává se tak extrahovadlem s velice výhodnými transportními schopnostmi. Tento způsob extrakce nabízí možnost přímého spojení s analyzačním přístrojem na bázi chromatografie. Superkritická fluidní extrakce oxidem uhličitým je výhodná hned v několika směrech najednou: efektivně probíhá za nižších teplot než hydrodestilace, rozpustnost je možné ovlivnit tlakem nebo teplotou, vysoké extrakční schopnosti, inertnost vůči extrahovaným látkám, absence residuí extrahovadla a relativní nenákladnost provozu [49,50,51].

**Obrázek 1**

Přístroj na stanovení silic v rostlinných drogách využitý za účelem získání levandulové silice a stanovení její výtěžnosti [78]







**Schéma 5** Jednoduché schéma destilační aparatury [72]

- Popis:
1. Topné hnízdo
  2. Kulatá varná baňka s destilovanou směsí
  3. Třícestný zábrusový adaptér
  4. Teploměr
  5. Chladič (vznačen směrem proudění vody)
  6. Podtlakový zábrusový adaptér
  7. Baňka na destilát

V případě této práce byla využita nejčastější extrakční metoda pro získání rostlinných silic a tou je hydrodestilace. Silice byla získána pouze z květů levandule úzkolisté (*L. angustifolia*), jako se získává komerčně dostupná pravá silice, avšak jiné práce se zabývají také silicemi z více nadzemních částí rostliny, než jsou jen květy. Konkrétní průběh a výsledky hydrodestilací jsou popsány v praktické části méj práce.

## 2.3 Plynový chromatograf spřažený s hmotnostním spektrometrem

V laboratorní praxi je dnes běžně používané spojení plynové chromatografie (angl. gas chromatography – GC) s hmotnostní spektrometrií (angl. mass spectrometry – MS), která zvyšuje přesnost výsledků a díky ní je také možné získat informace o struktuře neznámé látky.

Plynová chromatografie je separační metoda analytické chemie, díky níž jsme schopni získat rozbor vzorku, který je možné převést do plynné fáze, aniž by tím byl poškozen. Analýza na plynovém chromatografu je zahájena tzv. nástřikem vzorku, po kterém dochází k jeho zplynění v nástřikové komoře – tzv. injektoru, a směs obsahových látek je poté separována na své složky průchodem skleněnou nebo kovovou kolonou umístěnou v tzv. píce, která plní funkci termostatu a umožní tak stanovit a udržet teplotní režim. Kolony můžeme rozdělit na náplňové, které mívají délku asi 0,6 až 10 metrů, a kapilární s délkou 5 až 150 metrů, případně kolony multikapilární (tzn., že v jedné koloně se nachází velké množství menších kapilár). Náplňová kolona je zevnitř po stěnách pokryta solidním inertním nosičem pro stacionární fázi, kterou tvoří obvykle mikroskopická pevná vrstva (např.: polymerní sorbent, oxid hlinitý, silikagel,...) nebo vrstva kapaliny s vysokým bodem varu. Oproti tomu u kapilárních kolon se stacionární fáze nachází na upravené vnitřní stěně křemenné kapiláry bez nosného podkladu [52,53]. Plynová chromatografie se podle fázového rozhraní dělí na dva typy: v případě kapalné stacionární fáze mluvíme o chromatografii plyn-kapalina se zkratkou GLC (z angl. gas-liquid chromatography) a v případě pevné stacionární fáze zase o chromatografii plyn-pevná látka se zkratkou GSC (z angl. gas-solid chromatography). Během GSC převládá dělení složek vzorku na základě adsorpce, případně metody molekulárních sít. Separace složek při GLC je zaručena rozdělováním, při kterém jsou analyty rozpuštěny v obou fázích. Jako mobilní fáze zde slouží vždy nosný plyn inertního charakteru (např.: H<sub>2</sub>, He, Ne, N<sub>2</sub>, Ar), kterým jsou látky zastoupené ve vzorku unášeny kolonou. Nejčastěji používaným nosným plynem je hélium [54]. Distribuci vzorku mezi stacionární a mobilní fází lze zapsat rovnovážnou konstantou  $K_C$  vyjadřující rovnovážné rozložení molekul analytu mezi obě fáze. Jednotný pohyb mobilní fáze však udržuje celý tento systém mimo rovnováhu úplnou, protože dochází k pohybu analytu, který se však pokaždé snaží rovnováhy dosáhnout, a tím se za dané teploty zachovává charakteristická distribuce analytu mezi oběma fázemi. Tento proces udává také rychlost analytu při průchodu

kolonou, neboť čím více jeho molekul se nachází v mobilní fázi, tím je průchod kolonou rychlejší. Rozdílnou distribucí daných analytů nastává separace složek vzorku během průchodu kolonou. Rozdělení daného analytu mezi mobilní a stacionární fázi za dané teploty je možné vyjádřit tzv. distribuční konstantou  $K_D$ . Hodnotu distribuční konstanty  $K_D$  ovlivní dále nejen charakter molekuly analytu, ale také charakter stacionární fáze. Pro konkrétní analyt může být distribuční konstanta  $K_D$  vyjádřena jako:

$$K_D = \frac{c_s}{c_m} \quad \text{Vztah 1}$$

kde  $c_s$  značí rovnovážnou koncentraci analytu ve stacionární fázi a  $c_m$  jeho rovnovážnou koncentraci ve fázi mobilní. Zadržování analytu ve stacionární fázi se nazývá retence a je úměrné distribuční konstantě.

Na konci kolony je umístěn detektor zaznamenávající signál indukovaný látkou z ní vycházející. V případě spojení plynové chromatografie s hmotnostní spektrometrií přechází složky vzorku rozdělené plynovým chromatografem na základě odlišných distribučních konstant  $K_D$  skrze vyhřívanou spojku přímo do hmotnostního spektrometru, který tvoří onen detektor. GC-MS analyzátoři mívají zpravidla kapilární kolony a nosným plynem je hélium, které se aktivně účastní ionizace v ionizační komoře hmotnostního spektrometru [12]. Vyhříváním spojky, která se nachází již mimo termostat plynového chromatografu, se zamezí kondenzaci analytu ještě před vstupem do hmotnostního spektrometru. Zásadní je pořadí, ve kterém jsou přístroje uspořádány, neboť hmotnostní spektrometrie je metodou destruktivní, a právě proto jí musí být předřazena plynová chromatografie, která vzorek zachovává. Skenování hmotnostních spekter začíná hned po nástřiku vzorku a je ukončeno poté, co skončí teplotní režim plynového chromatografu. Po výstupu analytů z kolony následuje měření jejich hmotnostních spekter, kterému předchází odstranění nosného plynu pomocí vakuového odsávání a dále ionizace obsahových látek, při níž většinou dojde k fragmentaci molekul analytu. Ionty se rozdělí podle poměru svých hmotností a nábojů ( $m/z$ ) a následně jsou zaznamenány detektorem ve formě hmotnostního spektra. Dělení iontů podle  $m/z$  hodnoty probíhá v části přístroje zvané iontová past, která mimo to umožňuje i další způsoby manipulace s ionty. Detekce signálu iontů analytu hmotnostním detektorem je samozřejmě podmíněna také průběžným přechodem molekul analytu z plynového chromatografu do hmotnostního spektrometru, a tím, že je tento přechod díky separaci

složek směsi postupný, si zachovává plynový chromatograf svůj analytický význam a hmotnostní spektra jsou navíc obohacena o chromatografickou informaci. Ionizační vlákno hmotnostního spektrometru je v provozu před a po vstupu rozpouštědla do přístroje. Rozpouštědlo je vzhledem k vzorku v něm obsaženému v podstatném nadbytku, a kdyby došlo k ionizaci molekul rozpouštědla při každé GC-MS analýze, brzy by se velice intenzivním ionizačním proudem vlákno opotřebovalo. Během průchodu rozpouštědla se tedy skenování neprovádí. Z praktického hlediska poskytuje spojení GC-MS výhodu v tom, že ke každému píku chromatogramu přiřadí jeho hmotnostní spektra, tedy podává informaci o struktuře dané látky, které pík náleží. Jednomu chromatografickému píku je obvykle přiřazeno hned několik hmotnostních spekter, neboť jejich sken probíhá velice rychle. Součtem těchto skenů jednoho analytu, respektive součtem všech hmotnostních spekter jeho fragmentů vzniklých ionizací po přechodu daného analytu do hmotnostního spektrometru, dostaneme tzv. chromatogram celkového iontového proudu, který je vyjádřením signálu detektoru v závislosti na čase. Poměry intenzit proudů vyvolaných dopadem jednotlivých fragmentů daného analytu na detektor jsou stálé při konkrétní ionizační technice a charakteristické pro daný analyt. Jednotlivé intenzity se samozřejmě v různých skenech liší, což je dáno rozdílným počtem molekul analytu v průběhu chromatografického píku. Právě součtem všech intenzit proudů v průběhu píku je pořízen celkový iontový proud.

Následným zpracováním pořízených dat počítačem se softwarovým vybavením získáme grafický záznam vyjadřující závislost přicházejícího signálu na čase – tzv. chromatogram, který zobrazuje jednotlivé píky. Z chromatogramu můžeme vyčíst retenční data, pomocí kterých je stanovena molekula analytu, a z plochy píku odvodit zastoupení analytu ve vzorku. Čas  $t_R$ , ve kterém byla daná látka detekována, se nazývá retenční čas a pro analyt je definován jako hodnota času náležející vrcholovému bodu jejího píku v chromatogramu. Je možné jej vypočítat ze vztahu:

$$t_R = \frac{d_R}{s} \quad \text{Vztah 2}$$

kde  $t_R$  [min] je retenční čas,  $d_R$  [cm] retenční vzdálenost a  $s$  [cm/min] rychlost pohybu analytu kolonou.

Retenční objem analytu  $V_R$  nám udává, jaký objem mobilní fáze musí projít kolonou, aby daný analyt doputoval od počátku do konce kolony, kde je poté detekován. Vztah mezi retenčním časem a objemem vyjadřuje následující rovnice:

$$V_R = t_R F_m \quad \text{Vztah 3}$$

kde  $V_R$  [ml] značí retenční objem,  $t_R$  [min] retenční čas a  $F_m$  [ml/min] objemový průtok mobilní fáze [55,56,57].

## 2.4 Testy cytotoxicity *in vitro*

Využití buněčných kultur je velmi rozšířené za účelem výzkumu cytofyziologie a biotechnologických aplikací. Nabízí možnost relativně jednoduchého zjištění biologické aktivity různého charakteru u rozličných druhů látek. Na modelu buněčné kultury je možné sledovat regulaci genové exprese a cytogenetické parametry. Protože se jedná o zjednodušený biologický systém, objevují se zde výhody i nevýhody testování *in vitro* a ním poskytnutých výsledků. Je třeba si uvědomit, že kultivované buňky nerostou za plnohodnotně fyziologických podmínek a ztrácí vliv působení mnoha faktorů, což má za následek změnu chování a morfologie buňky, tedy mění se fenotyp. Směsice různých jedinečných chemických a fyzikálních vlivů je nahrazena umělými podmínkami, které poskytuje člověk jako součást náplně práce s buněčnou kulturou a péčí o ni. Na jednu stranu má člověk buněčnou kulturu pod kontrolou a je schopný definovat kultivační podmínky, na straně druhé se však vytrácí faktory přítomné pouze *in vivo*. V ideálním případě je díky takovým podmínkám schopný jakýkoli jiný pracovník znovu reprodukovat nějaký dřívější pokus provedený na buněčných kulturách např. s úmyslem ověření jeho výsledků, rozšíření poznatků v jistém ohledu nebo provedení modifikace experimentu. Práce s buněčnou kulturou umožňuje zaujmout analytický přístup k dané problematice a její kvantitativní hodnocení. Buňky, se kterými se během pokusu pracuje, mohou být zakoupeny v nějaké z buněčných bank nebo izolovány z biopsií od konkrétních jedinců. Udržování buněčné kultury je však finančně nákladnou záležitostí, vyžaduje speciálně vybavenou laboratoř a kvalifikované pracovníky. Jiný význam buněčných kultur nacházíme v tkáňovém inženýrství. Již v současné době je možné *in vitro* pěstovat některé druhy dvojrozměrných tkání a zdokonalují se různé techniky vytváření buněčných struktur v trojrozměrných tkáňových nosičích (tzv. scaffold).

Existuje mnoho druhů nativních i patologicky pozměněných buněk, se kterými je možnost pracovat ve formě kultury *in vitro*. První kultivované buňky získané z tkáně (zvíře, člověk) nebo pletiva (rostlina) se nazývají primokulturou (též primární kulturou). Buňky se pěstují v simulovaných fyziologických podmínkách v prostředí inkubátoru, který udržuje cca konstantní teplotu 37 °C a je naplněný 5% atmosférou CO<sub>2</sub> s relativní vlhkostí dosahující 100 %. Samotné buňky žijí v prostředí kultivačního média s obsahem živin nezbytných pro jejich metabolismus a s růstovými faktory, zde je pufrčním systémem také zaručeno konstantní pH. Výše popsany stav se obecně nazývá standardní kultivační podmínky.

Buněčné kultury se rozdělují podle charakteru své morfologie a růstu na dvě základní skupiny a to na adherentní a suspenzní buňky. Adherentní buněčné linie vytvářejí v kultuře pomocné látky, které jsou běžně součástí extracelulární matrix, a díky nim se postupně spojují – adherují – v celistvou vrstvu na dně kultivační nádoby, která je běžně silná jednu buňku, neboť při úplném pokrytí dna, které se označuje jako 100% konfluence, dojde mezi buňkami k zastavení růstu kontaktní inhibicí. Buněčnou adhezi zprostředkuje zejména fibronectin, kadheriny a transmembránové proteoglykany, dále pak laminy a kolageny. Oproti tomu pro suspenzní buněčné linie je přirozené vznášení se v suspenzi obsahující patřičné živiny a utvářející ideální prostředí pro jejich růst. Do této kategorie spadají nádory krve, mezi něž patří například leukemie a lymfomy.

Velké množství různých buněčných linií nabízejí v dnešní době buněčné banky (např. ATCC – American Type Culture Collection, ECACC – European Collection of Cell Cultures), které své produkty běžně geneticky a strukturně charakterizují a deklarují jejich kvalitu.

## 2.4.1 Buněčné linie

### 2.4.1.1 *Fibroblasty BJ (ATCC)*

Fibroblasty jsou buňky pojivové tkáně, které se nacházejí mimo jiné rozptýleně v mnoha strukturách lidského těla. Charakteristická je pro ně hojná tvorba mezibuněčné hmoty a ze všech druhů pojivových buněk jsou fibroblasty nejvíce zastoupeným buněčným typem a jsou z nich asi nejméně funkčně diferencované. Účastní se procesu hojení pojivové tkáně a mohou se změnit v jiný typ buňky (např. adipocyt, chondrocyt, osteoblast, buňka hladkého svalstva). Kultivace a následný růst *in vitro* probíhá velice ochotně. Adherentní buněčná kultura BJ je tvořena fibroblasty izolovanými z pokožky novorozence mužského pohlaví. Linie BJ má oproti jiným liniím fibroblastů dlouhou životnost a je negativní na telomerázu, proto ji lze efektivně využít při výzkumu telomerických sekvencí a buněčného stárnutí. ATCC zaručuje, že kultura je schopná proliferovat až do maxima 72 zdvojení populace před počátkem senescence [58,59].

### 2.4.1.2 *Imortalizované buněčné linie a aktivita enzymu telomeráza*

V důsledku mechanismu průběhu replikace DNA dochází k neustálému zkracování koncových částí chromozomů, tzv. telomer, po určitou kritickou délku, kdy se buněčné dělení zastaví a nastává apoptóza, nebo buňka přejde z fáze G1 do fáze G0. Počtu buněčných dělení do jeho zastavení se říká Hayflickův limit a u somatických buněk činí průměrně asi 50 dělení. Zkracování telomer se ukázalo jako forma buněčného stárnutí, tzv. buněčné senescence, která pozitivně koreluje se stárnutím lidského těla jako celku. Replikativní stárnutí s sebou totiž přináší neblahé biochemické změny na buněčné úrovni, které se postupem času projeví v organismu jako celku. Jejím projevem je změna buněčné morfologie a ztráta dělivé schopnosti v důsledku kritické délky telomer.

Asi 90 % rakovinných buněk má aktivní enzym telomerázu, čímž je dána jejich potenciální nesmrtelnost. Tento stav je spojen především se specifickými mutacemi tumor supresorových genů, mezi něž patří zvláště geny pro protein p53 a retinoblastomový protein (pRb), jejichž mutace jsou považovány za minimální předpoklad buněčné imortalizace. U běžných lidských somatických buněk je aktivita telomerázy ve většině případů nedetekovatelná a prodlužování telomer tedy téměř neprobíhá. Tento enzym je však exprimován v zárodečných buňkách, některých

kmenových buňkách a proliferativních částech jistých tkání. Telomeráza umožňuje dosyntetizování tandemových repetitivních sekvencí (v případě obratlovců) 5'-TTAGGG-3' umístěných na konci chromozomů – tzv. telomer. Jedna z funkcí telomer je zaručení kompletního přenosu genetické informace tím, že ochraňují navazující části chromozomů, jinak by mohlo dojít ke zkracování kódujících nebo regulačních sekvencí DNA. Další funkcí je zabránění lepivosti koncových částí chromozomů tak, aby nedocházelo k chromozomálním fúzím. Telomeráza je z hlediska svého fungování RNA-dependentní DNA polymeráza. Hlavní část holoenzymu je složena z proteinové podjednotky zvané telomerázová reverzní transkriptáza – TERT, mající enzymatickou funkci, a ze zabudované RNA podjednotky, která je označovaná jako telomerázová RNA komponenta – TERC popř. TR. Jedná se tedy o ribonukleoprotein. Telomerázová RNA komponenta je dlouhá několik desítek až stovek ribonukleotidů a její krátká sekvence 5'-CUAACCCUAAC-3' slouží jako předloha pro reverzní transkripci v deoxyribonukleotidovou sekvenci telomer. Díky tomu jsou nádorové buňky schopné překonat Hayflickův limit a tím i buněčné stárnutí, tedy neomezeně se dělit. Nádorové buňky se proto od běžných buněk somatických liší mimo jiné také aktivitou telomerázy. Toho je možné využít v léčbě rakoviny prostřednictvím vyřazení telomerázy z činnosti, což způsobí snížení životaschopnosti nádorových buněk a může u nich indukovat apoptózu. Zabránění telomeráze v obnovení telomer lze uskutečnit např. pomocí inhibice aktivního místa enzymu, RNA interference s transkriptem pro TERT podjednotku, degradace TERC podjednotky hammerhead ribozymem nebo opět RNA interferencí, inhibice proteinů asociovaných s telomerázou nebo imunoterapie. Přesto během tohoto způsobu léčby hrozí relativně málo rizik pro normální buňky, neboť délka jejich telomer je většinou kratší než u buněk nádorových a stejně tak i u normálních buněk pozitivních na telomerázu (např. buňky kmenové) je její aktivita nižší než u buněk rakovinných. Měření aktivity telomerázy (konkrétně přítomnosti TERT) ve zkoumaných buňkách může také pomoci rozhodnout, zda prošli maligní transformací či nikoli. Jedná se tedy nejenom o potenciální cíl léčby, do výzkumu kterého je vkládáno mnoho úsilí, ale také o rakovinný marker.



Sekundární struktura telomer je velice zajímavá, neboť jejich sekvence je bohatá na guanin, díky čemuž může vznikat tzv. G-kvartet. Tato struktura bývá někdy také označována jako G-tetráda a jedná se o planární uskupení čtyř guaninových bází, které jsou spojené vodíkovými můstky a vzájemně pootočené o 90°, útvar je ze svého centra stabilizován ionty kovů (Na<sup>+</sup>, K<sup>+</sup>, Mg<sup>2+</sup>). Vzniká, jak již bylo naznačeno, v oblastech RNA nebo DNA bohatých na guanin a cytosin, konkrétně se vyjma telomer nachází např. v genech pro těžké řetězce imunoglobulinů a v promotorových oblastech některých genů. Pokud následuje za sebou několik G-kvartetů, nazývá se tato struktura G-kvadruplex. Délka telomer rakovinných buněk je často výraznější než nacházíme u běžných buněk somatických, proto se i tato vlastnost jeví jako potenciální slabina nádorů. Dokonce byl syntetizován nový organokovový komplex zlata a kofeinu, který se vysoce selektivně váže na G-kvadruplex a je účinný na buňky nádoru vaječníků a nejspíš i jiné typy rakoviny, přičemž vykazuje nižší toxicitu pro buňky zdravé. Principem působení je v tomto případě navýšení stability čtyřřetězcové sekundární struktury G-kvadruplexu, čímž se zamezí schopnosti telomerázy hybridizovat s touto oblastí [60,61].

### ***MCF7 (ATCC)***

MCF7 je akronym pro celý název Michigan Cancer Foundation-7, kde byla tato immortalizovaná linie roku 1973 založena Herbertem Soulem a jeho spolupracovníky. Buňky této linie byly v roce 1970 získány z prsního adenokarcinomu europoidní 69leté ženy – Francis Mallon, jejíž matka i sestra obě zemřely na rakovinu prsu a ona sama podstoupila dvě mastektomie a stejného roku, kdy byly buňky jejího karcinomu odebrány, umírá. V době své diagnózy sloužila jako sestra Catherine Frances v náboženském institutu zvaném Sestry Služebnice Neposkvrněného Srdce Mariina. Po první operaci byla odstraněná tkáň shledána benigní. O pět let později, kdy žena podstoupila druhou mastektomii, byl odhalen maligní adenokarcinom v pleurálním výpotku, žena se následně léčila pomocí radioterapie a hormonální terapie. Právě při této druhé operaci byly odebrány buňky a poté kultivovány v laboratoři [62]. Přesto, že prošly procesem maligní transformace, zachovaly si důležité znaky epitelu prsní tkáně, což je předurčuje jako ideální *in vitro* model rakoviny prsu. Linie MCF7 je vnímavá k estrogenu, konkrétně estradiolu, vykazuje senzitivitu k cytokeratinu a její růst může být inhibován přidáním tumor nekrotizujícího faktoru alfa (TNF- $\alpha$ ). Ve studiích se proto využívají MCF7 jako pozitivní kontrola s estrogenovým receptorem. Během *in vitro* kultivace je linie schopná

vytvářet shluky buněk a epiteliální jednovrstvé struktury. Tento typ rakoviny je možné implantovat potkanům, ale pro udržení a rozvoj nádorové tkáně je nutné podávání látek s estrogenní aktivitou. Působí-li se na buněčnou kulturu antiestrogenními látkami, moduluje se sekrece proteinů vázajících se na inzulinu podobný růstový faktor (IGFBP), což má za následek redukcii buněčné proliferace. Karyotyp dnešních MCF7 obsahuje 69 chromozomů, přičemž mezi linií pocházející z Michigan Cancer Foundation a linií z ATCC jsou genetické rozdílnosti, což nasvědčuje tomu, že MCF7 od ATCC pochází z jiného zdroje [63].

### ***HeLa (ATCC)***

Jedná se o immortalizovanou buněčnou linii lidských epiteliálních buněk izolovanou vědcem Georgem Ottem Geyem 8. února 1951 z nádoru děložního hrdla Henrietty Lacks. George O. Gey úspěšně založil tuto velice progresivní první lidskou buněčnou linii kultivovanou *in vitro* a pojmenoval ji na počest Henrietty Lacks podle počátečních písmen jejího jména. Henrietta zemřela na následky onemocnění 4. 8. téhož roku. HeLa buňky jsou hojně využívány v nejrůznějších oblastech výzkumu a testování. Provádějí se na nich a stále se provádějí testy cytotoxicity vybraných látek, genetické mapování, virologický výzkum, zkoumání rakoviny a vlivu záření atp. V padesátých letech byla americkým virologem a lékařským výzkumníkem Jonase Edwardem Salkem na této linii úspěšně testována první vakcína proti dětské obrně. Mezi další prvenství HeLa buněk se roku 1955 zapsal vznik prvního klonu lidských buněk. I ve srovnání s jinými druhy rakovinných buněk vykazuje HeLa linie abnormální míru proliferace.

### ***CCRF-CEM (ATCC)***

Zkratka odkazuje na suspenzní nádorovou linii akutní lymfoblastické leukemie, kterou tvoří maligně transformované T-lymfoblasty. Tento druh rakoviny krve je velice agresivní a během onemocnění se projevuje velkou mírou progresu. Při testech různých látek s protinádorovou aktivitou vykazují CCRF-CEM buňky často nízkou hodnotu poloviční maximální inhibiční koncentrace, neboť jsou hodně závislé na stabilitě vnějšího prostředí a díky svému suspenznímu charakteru mají větší dostupný povrch, skrze který může účinná látka zapůsobit.

## 2.4.2 Příprava kultivačního média

Pro dlouhodobější kultivaci buněk *in vitro* je nutné použít kultivační médium o správném složení, které buňkám vytváří izotonické prostředí a poskytuje nezbytné živiny. Protože je výroba kultivačního média kvůli jeho obsáhlému chemickému složení poměrně náročná. Výměna média probíhá dvakrát až třikrát týdně, neboť buňky jeho kvalitu znehodnocují svým metabolismem, při kterém dochází ke spotřebování živin a tvorbě zplodin.

V našem případě jsme pro kultivaci buněk použili následující chemikálie pocházející od firmy Sigma-Aldrich: kultivační médium DMEM (D5523), fetální bovinní sérum, L-glutamin, Penicillin-Streptomycin (pen. 10 000 U/ml, strep. 10 mg/ml).

V práškovém médiu DMEM (Dulbecco's Modified Eagle's Medium, Dulbekova modifikace Eaglova média) s nižším obsahem glukózy je obsaženo [59]:

- 6 anorganických solí ( $\text{CaCl}_2$ ,  $\text{Fe}(\text{NO}_3)_3 \cdot 9\text{H}_2\text{O}$ ,  $\text{MgSO}_4$ ,  $\text{KCl}$ ,  $\text{NaCl}$ ,  $\text{NaH}_2\text{PO}_4$ )
- 14 aminokyselin (L-arginin, L-cystein, L-glutamin, glycin, L-histidin, L-izoleucin, L-leucin, L-lysin, L-methionin, L-fenylalanin, L-serin, L-threonin, L-tryptofan, L-valin)
- 8 vitaminů (cholin, kys. listová, myo-inositol, niacin, kys. D-pantothenová, pyridoxal, riboflavin, thiamin)
- D-glukóza ( $1000 \text{ mg/dm}^3$ )
- Pyruvát
- Fenolová červeň ( $15,9 \text{ mg/dm}^3$ )

V zásadě se jedná o obohacení základního Eaglova média (též nazývané minimální esenciální médium) asi na dvakrát více aminokyselin a čtyřikrát více vitaminů, navíc s lepším pufrčním systémem. Médium DMEM se rozpustí v destilované vodě ( $10 \text{ g/dm}^3$ ), přidá se k němu hydrogenuhličitan sodný ( $3,7 \text{ g/dm}^3$ ) a roztok se přefiltruje. Obsažený  $\text{NaHCO}_3$  společně s 5% atmosférou  $\text{CO}_2$  vytváří pufrční systém, který je schopný vyrovnávat výkyvy pH roztoku. Pro vizuální kontrolu slouží také fenolová červeň obsažená v práškovém DMEM, která je schopná indikovat již malé odchylky pH roztoku v oblastech blízkých fyziologickým hodnotám (funkční oblast indikátoru pH 6,4–

8,2 [64]). Ideální rozmezí pH kultivačního roztoku je 7,1–7,4 [65]. Dále je médium obohaceno o L-glutamin ( $2 \text{ mmol/dm}^3$ ) a protektivně působící antibiotika penicilin (100 U/ml) a streptomycin (0,1 mg/ml). Množství L-glutaminu v pořizovaném médiu často není dostačující pro potřeby tkáňových kultur, proto je nutné jeho koncentraci zvýšit. Navíc je tato aminokyselina v připraveném roztoku média málo stabilní, proto se skladované médium L-glutaminem po čase opět obohacuje. Použitím kombinace penicilinu a streptomycinu zamezíme růstu gram pozitivních i gram negativních bakterií, obě antibiotika se liší a doplňují v mechanismu svého baktericidního působení. Jedná se o jakousi minimální ochranu, která však nechrání kulturu před plným spektrem možných infekcí bakteriemi či jinými mikroorganismy. Aplikací antibiotik v netoxické koncentraci kompenzujeme neschopnost dosáhnout 100% sterilního prostředí, na druhé straně se však vystavujeme riziku latentní kontaminace L-formami bakterií.

Takto předpřipravené médium neobsahuje žádné proteiny, lipidy ani růstové faktory. Abychom doplnili tyto chybějící sloučeniny společně s dalšími složkami, jako jsou růstové faktory, stopové prvky, bílkoviny a celkově několik set biologicky významných látek, přidává se k roztoku tohoto média fetální bovinní sérum v 10% výsledné koncentraci. Díky přidání séra získáme značně vyšší výtěžek buněk. Veškeré sterilní roztoky a dočasné zásoby média jsou skladovány při teplotě +2 až +8 °C, zatímco enzymy a antibiotika je nutné uchovávat při teplotě –20 °C [66].

### **2.4.3 Kultivace buněčných linií**

Během růstu buněčné populace *in vitro* lze sledovat míru proliferace a úhynu buněk, přičemž je možné tento proces charakterizovat tzv. růstovou křivkou buněčné kultury, kde osa x znázorňuje čas a osa y počet buněk. Růst buněk od nasazení do kultivační lahve do jejich pasážování probíhá ve třech základních fázích: lag fáze, log fáze a stacionární fáze, mezi kterými můžeme pozorovat pozvolný přechod. Délka jejich trvání závisí na kultivačních podmínkách (např. na dostupnosti živin, dostatku místa pro růst atd.).

*Lag fáze.* Buňky jsou vystavené novému prostředí a tedy i jisté míře stresu po předešlé pasáži nebo ještě razantněji při založení primokultury. Během období disperze se jednotlivé buňky rozmístí v prostoru kultivační lahve. Nastává adaptace na nové kultivační podmínky. Probíhá sedimentace buněk a v případě těch adherentních postupně započiná jejich adheze (tzv. období uchycování). Primokultuře trvá uchycení obecně mnohem déle (24–48 hodin) než ztrypsinizované stabilizované buněčné linii (30 minut). Proces adaptace kultury bývá spojen se změnou buněčné morfologie, nejvýrazněji je to patrné u adherentních buněk. Kultura se nedělí a starší buňky odumírají, proto můžeme zaznamenat lehký pokles buněk. Lag fázi lze označit za jakési období klidu, které může trvat několik hodin až dní [67].

*Log fáze.* Následuje mohutná proliferace buněk, kdy je logaritmus jejich počtu lineární funkcí doby kultivace, proto označení log fáze. Buňky jsou již adaptované na nové prostředí a mají vysokou intenzitu metabolismu. Jejich nárůst probíhá geometrickou řadou a úhyn je minimální. Obecně platí, že stabilizované buněčné linie se do log fáze dostávají dříve než primokultury. Na konci log fáze buňky zpomalí svůj metabolismus a sníží se jejich dělení, živiny v médiu jsou z velké části odčerpané, hromadí se zplodiny metabolismu a na dně kultivační nádoby se v případě adherentních buněk vytváří tzv. monolayer – tedy jednolitá vrstva buněk, která ovlivňuje chování kultury a to hlavně skrze navození úplné kontaktní inhibice. Nedostatek živin však může ukončit log fázi dříve, než dojde k vytvoření monolayeru.

*Stacionární fáze.* Počet buněk vzniklých dělením je velice malý a přibližně rovnovážný s počtem buněk uhynulých. V zásadě existují dva důvody přechodu do stacionární fáze: nedostatek živin, nebo nedostatek místa a možná je také kombinace obou z nich. Kultura samozřejmě zastaví svůj růst, pokud nemá místo, kam by se mohla rozrůstat dál. V tomto případě brzdí růst buněk kontaktní inhibice a tvorba růstových inhibitorů. S tím může být spojený i nedostatek živin v důsledku husté populace buněk. Stacionární fáze však nastane také tehdy, pokud se buňkám nedostávají živiny, ale podmínka dostatku místa pro růst je splněna. Jestliže jsou kultuře živiny dodány, započne opět mitotické dělení a výsledná růstová křivka obsahuje celkovou log fázi přerušenu fází stacionární: log fáze – stacionární fáze – log fáze.

Pokud nastane stacionární fáze a kultura nebude pasážována, převáží úbytek buněk nad jejich přírůstkem, dostaví se fáze poklesu a kultura začne odumírat, neboť živném médiu je již vyčerpáné a buňky nemají podmínky k tomu, aby se mohli dál dělit. Při nedostatku živin buňky přechází na katabolické děje metabolismu, aby zůstaly co nejdéle při životě, avšak tato změna výživy snižuje pH kultivačního média a přispívá tak k otravě buněk. Dělení se zastavuje kvůli kontaktní inhibici růstu, nedostatku živin a nahromadění toxických metabolitů, což také spouští úhyn – tedy za příčinu zkázy buněčné kultury můžeme zjednodušeně označit celkovou nerovnováhu kultivačního prostředí [68].

#### **2.4.4 Pasážování a počítání buněk**

Jakmile se populace buněk v kultuře blíží kritické hranici a živiny jsou z většiny odčerpané, je nutné část buněk odebrat, smístit s novým médiem a přemístit do nové kultivační nádoby, kde mohou buňky opět začít růst, jak je popsáno výše. V případě adherentních buněčných kultur musí dojít před pasážováním k odsátí starého kultivačního roztoku, oplachu buněk roztokem PBS a jejich rozvolnění, které se provádí mechanicky, nebo chemicky pomocí enzymů trypsinu nebo kolagenáz rozkládajících proteiny extracelulární matrix. Zbytek proteáz se odstraní centrifugací a odsátím supernatantu. Suspenzní kultury je třeba centrifugovat, odsát supernatant a poté mohou být umístěny do kultivační nádoby s novým médiem.

K oplachování buněk při výměně média nebo pasážování se používá roztok PBS (phosphate-buffered saline, fyziologický roztok s fosfátový pufrem), který obsahuje ve svém základním složení na 800 ml sterilní destilované vody [69,70]:

- 8,00 g NaCl
- 0,20 g KCl
- 1,44 g Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>
- 0,24 g KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>

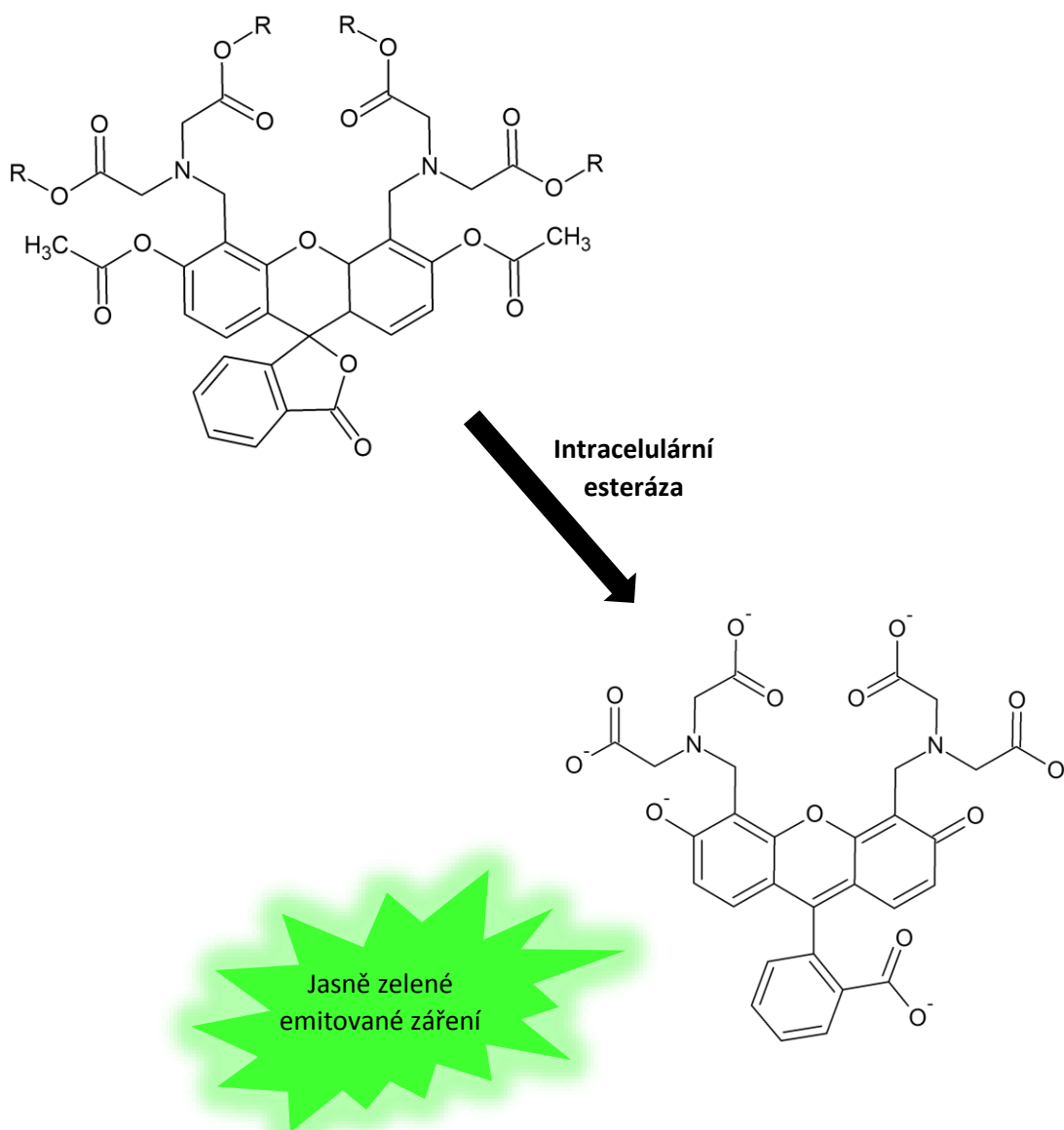
V této práci jsem se zabýval antiproliferační aktivitou levandulové silice na vybraných nádorových buněčných liniích a lidských fibroblastech. Testy probíhaly v 96 jamkové testovací desce a před prováděním každého experimentu bylo nutné zjistit koncentraci buněk v 1 ml kultivačního média, které se sází do jamek testovací desky. Za tímto účelem se využívají počítadla buněk, která mohou být elektronická nebo se může jednat o jednoduchou a přesnou Bürkerovu komůrku. Do zkumavky se přenese 5–10 ml suspenze média s buňkami z připravené kultivační nádoby, následuje centrifugace 5 minut při 1 000 otáčkách, poté se odsaje supernatant a se přidá 5 ml média. Pipetou se nanese 15  $\mu$ l suspenze média s volnými buňkami tak, aby rovnoměrně pokryly přesně definovaná čtvercová počítací pole. Samotné počítání buněk se provádí v inverzním mikroskopu, kdy se zjišťuje počet buněk ve 4 x 4 políčkách s jejich pravou a dolní hranou. Vynásobením zjištěného počtu buněk 10 000 dostaneme jejich počet v 1 ml suspenze.

#### **2.4.5 Esej s calceinem AM**

Tato esej je založena na principu poskytnutí substrátu endogenním esterázám a slouží ke zjištění viability buněk. Hydrofobní derivát calceinu, calcein acetoxymethylester (zkráceně calcein AM), není fluorescenční a bez problému proniká skrze cytoplazmatickou membránu do buněk. Intracelulární esterázová aktivita je typická právě pro živé buňky. Uvnitř živých buněk se za pomoci esteráz z calceinu AM hydrolyticky odštěpí acetoxymethylová skupina a vzniká silně fluorescenční calcein, který nese náboj a má hydrofilní charakter, tudíž je dobře zadržován v buňce. Calcein vykazuje fluorescenci v jasně zelené části viditelného spektra, jeho excitační vlnová délka činí asi 495 nm a emisní vlnová délka asi 515 nm.

Z uvedených skutečností vyplývá, že cytotoxicita, která neovlivní intracelulární esterázovou aktivitu, nebude detekovatelná. Calcein AM je sám o sobě poměrně fotostabilní, vykazuje nízkou toxicitu a neovlivňuje buněčné funkce. Je výhodnější jej využít k analýze adipocytů namísto akridinové oranže, která se poměrně nespecificky se váže na lipidové kapičky. Touto metodou můžeme zjistit procento živých buněk většiny eukaryot mimo kvasinky, avšak tuto esej nelze použít se stejným úmyslem na prokaryotické organismy. Protože použití calceinu AM není závislé na přítomnosti DNA, lze ho využít i ke zviditelnění bezjaderných buněk jako jsou např. erytrocyty nebo

trombocyty. V praxi se značení calceinem často kombinuje s interkalátory ethidium homodimerem-1 (EthD-1), propidium jodidem (PI), 7-aminoaktinomycinem D (7-AAD) nebo ethidium bromidem (EB), které naopak nejsou schopné proniknout cytoplazmatickou membránou. EthD-1, PI, 7-AAD a EB tedy zviditelní pouze buňky s porušenou membránou a to proto, že mohou interkalovat do DNA a aktivovat tím svou fluorescenci. Narušení integrity buněčné membrány je charakteristické právě pro mrtvé buňky. Poté je možné změřit intenzitu fluorescence za pomoci fluorimetru, čímž získáme údaj o zastoupení mrtvých buněk.



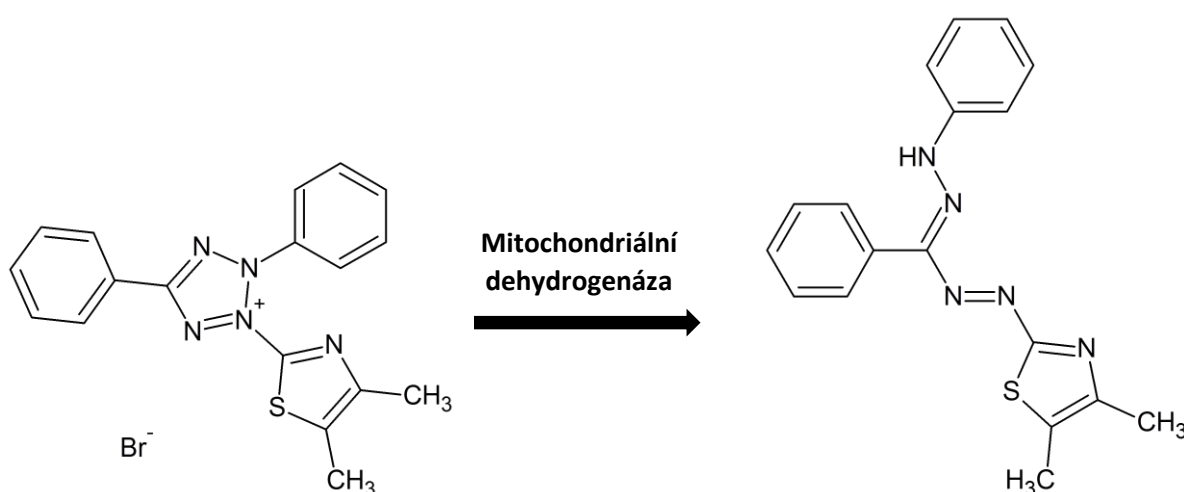
**Schéma 6** Bezbarvý hydrofobní calcein AM vstupuje do živých buněk, kde je konvertován endogenní esterázou na hydrofilní calcein s jasně zelenou fluorescencí [72]



## 2.4.6 MTT test

Jinou možnost, jak kvantitativně zjistit viabilitu buněk, nabízí použití kolorimetrického tetrazoliového testu, který je založen na principu redukce tetrazoliových solí metabolicky aktivními buňkami na nerozpustný formazan. Existuje několik druhů vhodných tetrazoliových solí, které se kromě své chemické struktury vzájemně odlišují např. svým nábojem, prostupností do buněk, způsobem redukce na formazan, jeho absorpčními pásy a případně i rozpustností a tedy i celkovým průběhem testu a jeho citlivostí. Soli jsou označovány třípísmennou zkratkou pro značnou délku svého názvu a mezi ty nejpoužívanější patří MTT, XTT, MTS a WSTs – tzn. ostatní ve vodě rozpustné tetrazoliové soli, např. WST-1, WST-4, WST-8. V této práci byla použita tetrazoliová sůl MTT, proto se blíže zaměřím pouze na její popis.

Test redukce tetrazoliových solí konkrétně s MTT je velice rozšířeným a také levným způsobem zjišťování viability buněk v mnoha světových laboratořích. Žlutě zbarvená a kladně nabitá sůl MTT, systematickým názvem 3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-difenyl-2H-tetrazolium bromid, má schopnost volně pronikat biomembránami. K buňkám je nutné ji přidávat ve fyziologicky vyváženém roztoku fosfátových solí PBS. V neporušených mitochondriích živých buněk pak podstoupí redukci na vnitřní membráně pomocí dehydrogenázy řetězce transportu elektronů, čímž vzniká tmavě fialový a ve vodě nerozpustný formazan, systematicky 1-(4,5-Dimethylthiazol-2-yl)-3,5-difenylformazan, který vytvoří krystaly pod mikroskopem viditelného hvězdicovitého



**Schéma 7** Redukce rozpustného žlutě zbarveného MTT pomocí mitochondriální dehydrogenázy na nerozpustný tmavě fialově zbarvený formazan [72]

tvaru (strukturní vzorce látek zobrazeny ve schématu 7). Tento proces je nevyhnutelně spjatý s usmrčením zbylých přeživších buněk – tedy těch, jejichž počet nás zajímá. Formazan se hromadí uvnitř buněk, ale je také přítomen v blízkosti jejich povrchu a v kultivačním médiu. Po uplynutí doby 4–6 hodin, která je dostatečná pro redukcí MTT všemi živými buňkami, je nutné rozpustit formazan vhodným rozpouštědlem (v našem případě roztokem dodecylsíranu sodného – SDS), aby bylo možné za vhodných podmínek provést spektrofotometrické měření, čímž zjistíme počet buněk, který je přímo úměrný absorpčnímu roztoku dané množstvím vyredukovaného formazanu. Pokud je v kultivačním médiu přítomna fenolová červeň, dochází k ovlivnění absorpčního koeficientu formazanu, a proto bývá běžnou praxí okyselení roztoku s rozpouštědlem, který po přidání do kultivačního média způsobí posun jeho pH k nižším hodnotám, což zbarví fenolovou červeň do žluta. Absorpční maximum vzniklého derivátu formazanu se nachází kolem hodnoty vlnové délky 570 nm, která se pohybuje právě ve žluté oblasti, a v případě, že je odražené záření fenolové červeně s těmito vlnovými délkami do jisté míry shodné, můžeme předpokládat, že nedochází v této oblasti k výraznému pohlcování fotonů a tím pádem ani k ovlivnění absorpce formazanu. Další možností, jak se zbavit vlivu fenolové červeně, je porovnání absorpce mezi jamkami, ve kterých probíhalo testování, a mezi jamkami bez buněk, do kterých se však přesto přidaly roztoky pro MTT test pouze za účelem porovnání hodnot absorpce. Intenzita signálu je tedy obecně dána množstvím přidaného MTT a následnou dobou kultivace, počtem živých buněk a mírou jejich metabolické aktivity (tzn. souvislost s růstovou křivkou, kdy je lineární závislosti mezi množstvím formazanu a počtem buněk dosaženo v log fázi růstu) [77].

## 3 PRAKTICKÁ ČÁST

---

### 3.1 Materiály a metody

V první fázi praktické části na pracovišti Oddělení genetických zdrojů zelenin, léčivých rostlin a speciálních plodin proběhly hydrodestilace a rozborů silice pomocí analytické metody GC-MS. Biologickým materiálem byla levandule úzkolistá (*L. angustifolia* Mill.). Z laboratorní přístrojové techniky byly použity analytické váhy k navažování vzorků, destilační aparatura s topným hnízdem pro provedení hydrodestilace, kterou popisují v teoretické části, dále vialky pro skladování a také nástřik vzorků během GC-MS analýzy. Z chemikálií byl použit hexan a levandulové silice. Plynová chromatografie spřažené s hmotnostním spektrometrem byla vyrobena firmou Agilent Technologies.

Během druhé fáze praktické části v Laboratoři růstových regulátorů byly biologickým materiálem zejména buněčné kultury (BJ, CCRF-CEM, HeLa a MCF-7) a také testované silice od odrůdy *bílá*, *krajová* a *beta*. Rozsah využitého laboratorního materiálu je zde mnohem vyšší. Jednalo se především o laboratorní plast, zejména špičky pipet, zkumavky, eppendorfky, Petriho misky, kultivační nádoby, testovací destičky s 96 jamkami. Z laboratorního skla byly využity skleněné pipety a Bürkerova komůrka. Laboratorní technika a pomůcky zahrnovaly elektronický pipetor, jedno a osmi kanálové pipety pro různé objemy, ultrazvukovou míchačku, analytické váhy, inkubátor pro růst buněčných linií a inverzní mikroskop pro pozorování morfologie buněk. Aktivní práce s buněčnými kulturami probíhala ve sterilním prostředí laminárního boxu. Zde využitě chemikálie pocházely všechny od firmy Sigma-Aldrich a jedná se konkrétně o: bezvodý dimethylsulfoxid (DMSO), kultivační médium DMEM (D5523), fetální bovinní sérum, L-glutamin, směs Penicillin-Streptomycin (pen. 10 000 U/ml, strep. 10 mg/ml), calcein AM. Dále byly použity: pufovaný fyziologický roztok (PBS, NaCl, H<sub>2</sub>O), 96% ethanol a destilovaná sterilní voda. Bezvodý DMSO byl pro svou velice nízkou toxicitu a vhodné fyzikálně-chemické vlastnosti použit jako rozpouštědlo pro zásobní roztoky silic. Metody ke zjištění antiproliferační aktivity silic zahrnovaly světelnou inverzní mikroskopii a fluorimetrii s calceinem AM. K vyhodnocení výsledků byl použitý statistický software vyvinutý pro potřeby Laboratoře růstových regulátorů.

### 3.1.1 Rostlinný materiál

Sklizení kvetoucí natě *L. angustifolia* pro účely této práce proběhlo na polích patřících pracovišti Oddělení genetických zdrojů zelenin, léčivých rostlin a speciálních plodin během července roku 2014. Sklizeň byla prováděna manuálně ve stádiu plného kvetení levandule. Sběr drogy byl komplikován deštivým počasím letních měsíců roku 2014 a musel být prováděn pouze po dostatečném proschnutí rostlin, není proto vyloučeno, že složení silice může být ovlivněno zvýšenou vlhkostí v období kvetení. Nicméně organoleptické vlastnosti drogy nebyly díky vhodnému načasování sběru natě a správnému režimu zpracování negativně ovlivněny. Zaměřili jsme se na tři odrůdy (v záorce evidenční číslo, pod kterým je odrůda zaregistrovaná v evidenčním systému Genové banky Výzkumného ústavu rostlinné výroby v Praze): *beta* (09A5500003/ 2285), *krajová* (09A5500001/2287) a *bílá*. Odrůdy *beta* a *krajová* jsou modře kvetoucí, přičemž název *krajová* vyplývá z dlouholeté regionální tradice pěstování této odrůdy, která bývala nejběžněji pěstovanou levandulí pro její prosperitu v přírodních podmínkách panujících v České republice. Genotyp bíle kvetoucí odrůdy *bílá* nemá oficiální název, neboť jeho šlechtění nebylo dokončeno. Jedná se o výběr ze šlechtitelského materiálu pracoviště, zařazený do botanické kolekce v roce 1981. Šlechtění odrůdy *bílá* prováděl náš významný vědecko-výzkumný pracovník a šlechtitel Ing. Miloš Chládek, CSc., který se na olomouckém pracovišti věnoval mimo jiné právě šlechtění levandulí. Odrůda *beta* byla vyšlechtěna společným úsilím Ing. Karla Duška, CSc. a Ing. Miloše Chládky CSc.

### 3.1.2 Hydrodestilace

Při zpracování drogy na hydrodestilace bylo provedeno stanovení průměrné délky sbírané stopky s květenstvím a po ukončení destilací průměrný výtěžek silice na kilogram květů pro každou odrůdu. Odrůdy mají následující pořadová čísla svých rozborů: *bílá* 3343, *krajová* 3344 a *beta* 3345. Jednotlivými hydrodestilacemi bylo připraveno celkem pět vzorků (A–E) pro každou odrůdu, tedy celkem bylo provedeno patnáct hydrodestilací. Tyto vzorky jsem nazval primární, neboť pro pozdější testování biologické byly vytvořeny tři druhotné vzorky dle odrůd *bílá*, *krajová* a *beta* vzniklé smícháním všech pěti primárních vzorků dané odrůdy. Bylo tak učiněno z důvodů usnadnění zkoumání cytotoxických účinků silic jednotlivých odrůd, takto obdržené vzorky jsem poté označil jako směsné. Hydrodestilace probíhala vařením 20 g květů ve 250 ml vody po dobu tří

hodin od dosažení bodu varu. Pomocí byrety s vyznačenou objemovou stupnicí, která byla součástí destilační aparatury, byl stanoven obsah silice v daném vzorku. U odrůdy *bílá* průměrná délka stopky činila 23,5 cm a výtěžnost silice 45,5 ml/kg. Odrůda *krajová* měla stopku v průměru dlouhou 22,5 cm a výtěžnost silice 37,0 ml/kg. Odrůda *beta* měla stopku nejkratší, průměrně 18,0 cm, a výtěžnost silice z květů nejvyšší, 75,0 ml/kg, což je zhruba dvojnásobná výtěžnost silice odrůdy *krajové*.

Silice získané hydrodestilací byly skladovány v hermeticky uzavřených skleněných vialkách při teplotě 4 °C

Tabulka F Výsledky hydrodestilací a zpracování drogy

<b>ODRŮDA</b>	<b>PRŮMĚRNÁ DÉLKA STOPKY</b>	<b>VÝTĚŽNOST SILICE Z KVĚTŮ</b>
<i>Bílá</i>	23,5 cm	45,5 ml/kg
<i>Krajová</i>	22,5 cm	37,0 ml/kg
<i>Beta</i>	18,0 cm	75,5 ml/kg

### 3.1.3 GC-MS analýza

Primární a směsné vzorky odrůd byly analyzovány metodou plynové chromatografie spřažené s hmotnostní spektrometrií. U každého primárního vzorku byl proveden jeden nástřik, celkem tedy pět analýz pro každou odrůdu. Směsné vzorky byly analyzovány ve třech sadách, každá s dvěma nástřiky (A1–2, B1–2, C1–2). Použitý GC/MSD (Gas Chromatography/Mass Selective Detector) systém a jeho součásti byly vyrobeny firmou Agilent Technologies:

- Plynový chromatograf: 7890A GC
- Přidružený hmotnostní spektrometr: Inertní MSD 5975C s Triple-Axis detektorem a možností spektrální dekonvoluce
- Automatický vzorkovač GC Sampler 80/120
- Kolona: kapilární HP-5ms, 30 m x 0,25 mm x 0,25 µm, (5%-fenyl)-methylpolysiloxan

Zvolené provozní parametry plynového chromatografu byly následující:

- Teplotní gradient kolony: 70 °C po dobu jedné minuty, pak zvyšování teploty 2 °C/min až do 180 °C
- Nosný plyn He s průtokem 1 ml/min
- Splitovací poměr: 1:100
- Objem nastříkované směsi: 1 ml
- Teplota injektoru: 220 °C

Zvolené provozní parametry hmotnostního spektrometru byly následující:

- Teplota MS detektoru: 150 °C
- Teplota ionizátoru: 230 °C
- Standardní rozsah a četnost skenování hmotnostních spekter
- Ionizační energie: 69,9 eV

Zde uvádím pouze výsledky rozborů směsných vzorků, které byly testovány na antiproliferační účinky na buněčných kulturách. Podrobnější a rozsáhlejší přehled detailů GS-MS analýzy je k nahlédnutí v příloze. Zaměřím se zde pouze na vzájemné porovnání odrůd na základě obsahových látek s nejvyšším zastoupením, případně obsahových látek jinak významných.

*Odrůda bílá* (viz graf 10.1.2) obsahovala lehce nadpoloviční zastoupení linaloolu (51,18 %), který je tím pádem jednoznačně vedoucí obsahovou látkou. Mezi další významné komponenty silice patří: terpinen-4-ol (11,96 %), linalyl acetát (6,80 %) a s ním celkem srovnatelný lavandulyl acetát (6,33 %). Lze říct, že o pomyslnou úroveň níž je zastoupen lavandulol (3,57 %) a  $\alpha$ -terpineol (2,39 %) srovnatelně s  $\beta$ -farnesenem (2,24 %).

*Odrůda krajová* (viz graf 10.2.2) má v nejvyšším zastoupení hned tři složky: linalool (26,67 %), lavandulyl acetát (22,78 %) a linalyl acetát (21,22 %). Tyto majoritní komponenty silice jsou zastoupeny ve vzájemně se blížících hodnotách. Pochopitelně značně nižší zastoupení mají potom ostatní složky, ze kterých je vhodné zmínit alespoň  $\alpha$ -terpineol (5,84 %), terpinen-4-ol (3,14 %), geranyl acetát (2,37 %) a trans- $\beta$ -ocimen (2,01 %).

*Odrůda beta* (viz graf 10.3.2) obsahuje nejvíce zastoupený linalyl acetát (26,75 %) a srovnatelně s ním linalool (25,92 %). O obsahový stupeň níže se nachází  $\alpha$ -terpineol (8,04 %), lavandulyl acetát (7,64 %) a o něco méně zastoupený terpinen-4-ol (5,59 %).

Linalool (viz graf 8.6) je hlavní obsahovou látkou všech tří odrůd, přičemž v odrůdě *bílá* je zastoupen v přibližně dvojnásobném množství oproti odrůdám *krajová* a *beta*.

Obsah terpinen-4-olu (viz graf 8.10) je u odrůdy *bílá* přibližně 4x větší než u odrůdy *krajová* a asi 2x větší než u odrůdy *beta*.

Zastoupení  $\alpha$ -terpineolu (viz graf 8.11) je u odrůdy *beta* třetí nejvyšší z obsahových látek, v případě odrůdy *krajová* zaujímá čtvrté místo a u odrůdy *bílá* až místo šesté.

Linalyl acetát (viz graf 8.12) je největší mírou zastoupen u odrůdy *beta*, v menší míře pak u *krajové*. U odrůdy *bílá* představuje i přes svoje nízké zastoupení oproti ostatním silicím třetí nejvíce zastoupenou látkou.

Lavandulyl acetát (viz graf 8.13) je jedna ze tří hlavních obsahových složek odrůdy *krajová*, u *bílé* a *bety* je mezi obsahovými látkami až na čtvrtém místě.

### 3.1.4 Antiproliferační účinky

Antiproliferační účinky pro každou odrůdu byly testovány na třech imortalizovaných nádorových buněčných liniích (CCRF-CEM, HeLa, MCF-7) a jedné kontrolní nenádorové buněčné kultuře, kterou tvořily fibroblasty (BJ). Buňky byly v závislosti na konkrétní sadě testů inkubovány za přítomnosti silice po dobu 24 nebo 72 hodin. Všechny šest zkoumaných koncentrací pro jednotlivé silice bylo sázeno do testovací destičky o 96 jamkách vždy jako triplet. Měření viability buněk na konci testu proběhlo technikou fluorimetrie s calceinem AM (excitační vlnová délka – 495 nm, emisní vlnová délka – 515 nm) a kolorimetrické eseje redukce tetrazoliových solí s použitím MTT (absorbance měřena při vlnové délce 560 nm). Vzorokly byly testovány v koncentrační řadě, která je znázorněná v tabulce G níže – koncentrace je vždy třikrát ředěná vůči té předcházející. Podrobný popis jednotlivých buněčných typů, průběhu inkubace a eseje s calceinem AM a tetrazoliovou solí MTT se nachází v teoretické části práce.

**Tabulka G** Koncentrační řada zkoumané látky (zaokrouhleno na dvě desetinná místa,  $\mu\text{g/ml}$ )

1	2	3	4	5	6
500	166,67	55,56	18,52	6,17	2,06

Každá buněčná kultura byla inkubována jednou po dobu 24 a 72 hodin s levandulovou silicí příslušné odrůdy sázené do jamek v koncentrační řadě (viz výše) v tripletových sadách. Po ukončení inkubační doby buněk se silicemi následovalo vyhodnocení cytotoxicity. Do řady jamek bez buněk, do řady s negativní kontrolou bez zkoumané látky a do řad s buňkami a testovanými silicemi bylo přidáno do každé jamky 100  $\mu\text{l}$  roztoku calceinu AM o koncentraci 1 mg/ml rozpuštěného v roztoku PBS. Calcein AM byl pořízen od firmy Sigma-Aldrich (Calcein AM, 17783 SIGMA). Následně byly buňky inkubovány po dobu jedné hodiny, aby mohla být fluorescenční barva metabolizována, a poté bylo zahájeno měření pomocí fluorimetru Fluoroskan (Labsystems, Finsko). Následující tabulky H a CH obsahují hodnoty poloviny maximální inhibiční koncentrace ( $\text{IC}_{50}$ ) změřené pomocí testu s calceinem AM.



Tabulka H Cytotoxická aktivita (IC50; µg/ml) silic tří odrůd *L. angustifolia bílá*, *krajová* a *beta* změřená po 24 hodinách pomocí kalceinového testu

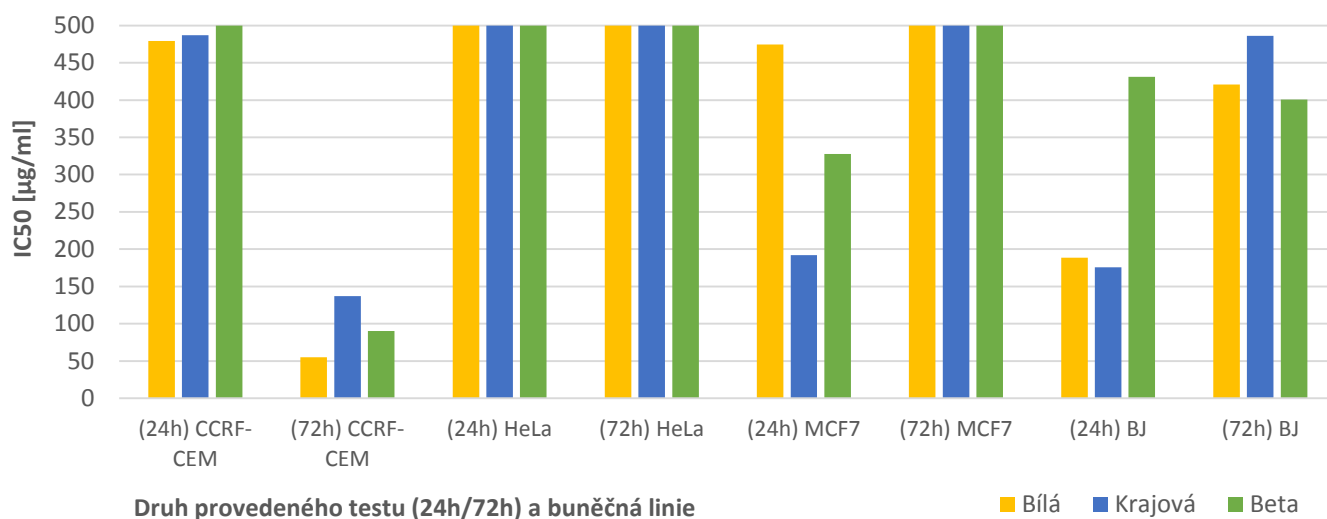
ODRŮDA	CCRF-CEM	HeLa	MCF7	BJ
<i>Bílá</i>	479,1	>500,0	474,5	188,4
<i>Krajová</i>	487,0	>500,0	192,0	175,8
<i>Beta</i>	>500,0	>500,0	327,6	431,2

Tabulka CH Cytotoxická aktivita (IC50; µg/ml) silic tří odrůd *L. angustifolia bílá*, *krajová* a *beta* změřená po 72 hodinách pomocí kalceinového testu

ODRŮDA	CCRF-CEM	HeLa	MCF7	BJ
<i>Bílá</i>	55,0	>500,0	>500,0	420,9
<i>Krajová</i>	137,0	>500,0	>500,0	486,3
<i>Beta</i>	90,2	>500,0	>500,0	400,6

24hodinový test prokázal na linii HeLa cytotoxický účinek všech silic převyšující nejvyšší testovanou koncentraci 500,0 µg/ml. Odrůdy *bílá* a *krajová* byly v 24hodinovém testu nejučinnější na fibroblastech (IC50 [µg/ml]: 188,4 a 175,8) a odrůda *beta* na linii MCF7 (IC50: 327,6 µg/ml). Ve třídním testu hodnota IC50 všech tří odrůd u linií HeLa a MCF7 přesáhla koncentraci 500,0 µg/ml a nejvyšší cytotoxický účinek silic byl změřen na linii CCRF-CEM, kde odrůda *bílá* (IC50: 55,0 µg/ml) a *beta* (IC50: 90,2 µg/ml) dosáhly hodnoty IC50 pod 100 µg/ml. Všechny silice v daných testovaných koncentracích byly jednoznačně neúčinné na linii HeLa. Znepokojující je fakt, že po 24 hodinách je účinek silice na fibroblasty u odrůdy *bílá* asi 2,23krát a odrůdy *krajová* 2,77krát vyšší oproti 72hodinovému testu, což by z hlediska toxikologického pravidla o delší době expozice účinné látky nemělo nastat, ba naopak by se měla projevit vyšší míra toxicity. Výsledky jsou rozporuplné, tudíž ve většině případů nebylo možné utvořit objektivní závěr, a proto bylo nutné provést další kola testování. Hodnoty cytotoxické aktivity se navíc rozcházejí s hodnotami uváděnými v literatuře. Z toho důvodu předpokládám, že silice blíže neznámým způsobem interaguje s lipofilní látkou calcein AM případně s principem průběhu eseje, proto jsem zvolil jinou metodu vyhodnocení buněčné viability, a tou byl zmiňovaný MTT test.

### Grafické srovnání cytotoxické aktivity změřené esejí calcein AM po 24 a 72 hodinách



**Tabulka I** Grafické srovnání cytotoxické aktivity levandulové silice  
změřené esejí calcein AM po 24 a 72 hodinách

Tetrazoliová sůl MTT byla pořízena od firmy Sigla-Aldrich (Thiazolyl Blue Tetrazolium Bromide, M5655 SIGMA). Do každé jamky bylo přidáno 20 µl roztoku PBS s rozpuštěným MTT v koncentraci 2,5 mg/ml po ukončení testování cytotoxicity během 72hodinové inkubační doby za stejných podmínek jako v předchozích testech (viz výše). Buňky s roztokem MTT byly poté po dobu 4–6 hodin, během kterých byl vyredukován formazan, uloženy v inkubátoru a následně bylo přidáno 100 µl 10% roztoku dodecylsírany sodného (SDS). Poté, co došlo k rozpuštění krystalů formazanu, byla stanovena absorbance pomocí multifunkčního readeru Tecan infinite 200Pro (Tecan, Švýcarsko) při vlnové délce 560 nm.

**Tabulka J** Cytotoxická aktivita (IC50; µg/ml) silic tří odrůd *L. angustifolia bílá*, *krajová* a *beta* s použitím lecitinu jako emulgátoru nebo bez něj změřená po 72 hodinách pomocí MTT testu

<b>LECITIN →</b>	-	+	-	+	-	+	+	+
<b>ODRŮDA ↓</b>	<b>CCRF-CEM</b>		<b>HeLa</b>		<b>MCF7</b>		<b>BJ</b>	
<i>Bílá</i>	21,5	47,7	201,7	>500,0	>500,0	297,3	324,7	285,5
<i>Krajová</i>	22,8	23,5	192,0	251,0	240,7	243,5	154,0	153,9
<i>Beta</i>	71,6	41,4	>500,0	>500,0	230,1	276,1	160,7	309,1

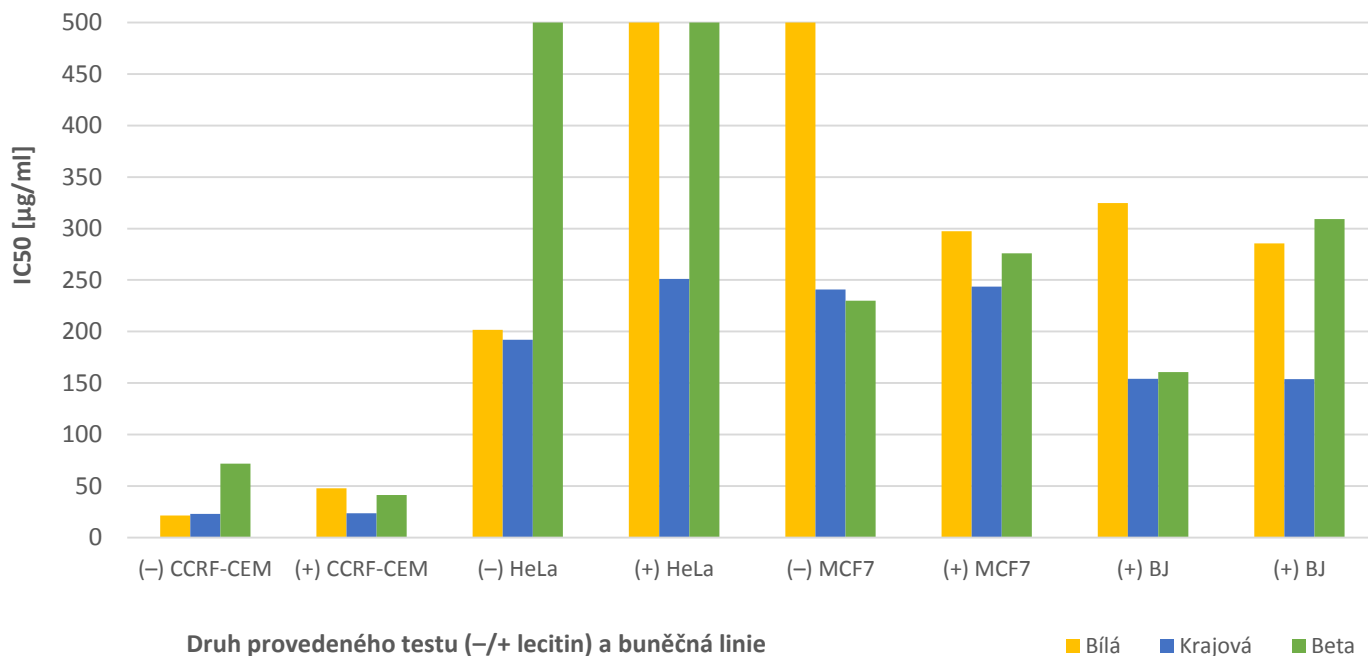
Tabulka J zobrazuje hodnoty IC50 zjištěné pomocí MTT testu provedeného bez emulgátoru lecitinu nebo s ním (- / +). Obecně byla změřena ve většině případů vyšší míra cytotoxicity oproti výsledkům calcein AM eseje. Roztoky silic o stejných koncentracích, jako byly použity dříve, v případě testů s emulgátorem navíc obsahovaly malé množství lecitinu, který byl rozpuštěn v ethanolovém roztoku v koncentraci 100 mg/ml a přidáván k testovaným látkám během jejich ředění v koncentrační řadě těsně před přidáním do jamek. Tabulka K níže ukazuje šest výsledných koncentrací lecitinu sestupně v jednotlivých jamkách během testů antiproliferační aktivity tak, jak je odvozeno z ředění v koncentrační řadě.

**Tabulka K** Koncentrační řada lecitinu v testech antiproliferační aktivity (zaokrouhлено na dvě desetinná místa, µg/ml)

1	2	3	4	5	6
83,33	27,78	9,26	3,09	1,03	0,34

Nejvyšší cytotoxicita byla zaznamenána na linii CCRF-CEM, a to u všech třech odrůd jak v případě testů s emulgací, tak i bez ní. Zde je aktivita silice odrůdy *bílá* a *krajová* bez přidání lecitinu srovnatelná (IC50 [ $\mu\text{g/ml}$ ]: *bílá* – 21,5; *krajová* – 22,8), zatímco cytotoxicita silice odrůdy *beta* je více než 3krát nižší (IC50 71,6  $\mu\text{g/ml}$ ). Avšak po přidání lecitinu dosáhla nejvyšší míry cytotoxicity silice odrůdy *krajová* a v porovnání s ní zde *bílá* vykazovala asi o polovinu nižší toxicitu a u odrůdy *beta* se hodnota IC50 silice dostala asi na 57,8 % hodnoty změřené bez lecitinu. Oproti tomu na linii MCF7 se prokázala vyšší toxicita silice odrůdy *bílá* po přidání lecitinu, takže u této odrůdy nelze vypočítat určitý obecný trend nižší aktivity v přítomnosti lecitinu, přestože u nádorových linií CCRF-CEM a HeLa byla v tomto případě toxicita silice *bílé* více než dvakrát nižší. Na linii HeLa v případě testů bez emulgace byla silice odrůdy *beta* neúčinná (IC50 > 500,0  $\mu\text{g/ml}$ ) a odrůdy *bílá* a *krajová* dosáhly opět podobné míry cytotoxicity (IC50 [ $\mu\text{g/ml}$ ]: *bílá* – 201,7; *krajová* – 192,0), přičemž po přidání lecitinu poklesla u těchto dvou silic aktivita, dokonce u odrůdy *bílá* nebylo možné při dané testované koncentraci určit hodnotu IC50. Z nádorových linií byly silice odrůdy *bílá* a *krajová* v testech bez lecitinu nejméně účinné na MCF7 (IC50 [ $\mu\text{g/ml}$ ]: *bílá* – 297,3; *krajová* – 243,5). Z testů na nádorových buňkách bez využití emulgátoru je dále patrné, že je silice odrůdy *beta* na liniích CCRF-CEM a HeLa nejméně účinná ze všech tří odrůd, ale u linie MCF7 je v cytotoxicitě na druhém místě. Nejméně toxickou silicí pro fibroblasty, které tvořily nenádorovou kontrolu, byla silice odrůdy *bílá* bez lecitinu a pak také *beta* s lecitinem. Více než o polovinu menší hodnoty IC50, než bylo naměřeno v prvních testech s lecitinem u odrůdy *bílá*, dosáhly silice odrůdy *krajová* (154,0  $\mu\text{g/ml}$ ) a *beta* (160,7  $\mu\text{g/ml}$ ). Avšak druhé měření výsledků s lecitinem prokázalo, že pro fibroblasty BJ se výrazně snížila toxicita silice *bety* oproti testům prvním.

## Grafické srovnání cytotoxické aktivity změřené testem MTT po 72 hodinách



**Tabulka L** Grafické srovnání cytotoxické aktivity levandulové silice v testech s emulgátorem (+) lecitinem a bez něj (-) změřené testem MTT po 72 hodinách

Z uvedeného vyplývá, že nemůžeme obecně předpokládat pozitivní, ale ani negativní vliv emulgace lecitinem na navýšení biodostupnosti silic, a tedy i jejich cytotoxického účinku. Jednotlivé změny hodnot IC<sub>50</sub> v závislosti na provedení testu s lecitinem nebo bez něj musely být tedy diskutovány zvlášť, neboť zde nebylo možné najít zjevnou souvislost a daná problematika se jeví jako potenciální cíl dalšího zkoumání.

## 4 DISKUSE

---

Z vědeckých studií vyplývá, že levandulové extrakty na nádorové buňky toxicky působí. Příkladem může být podobně navržená Íránská studie publikovaná v časopise *Nutrition and Cancer* v roce 2014, která prokazuje cytotoxické působení levandule úzkolisté (*L. angustifolia* Mill.) u buněčných linií HeLa a MCF7. Vědci se v této studii zabývali působením čtyř typů levandulových extraktů: vodný, ethanolový a hexanový extrakt a levandulová silice. Jako nenádorovou buněčnou kulturu si autoři studie vybrali pro testy lidské fibroblasty, jako tomu bylo též v případě mé práce. Buňky byly inkubovány s testovanou látkou po dobu 24, 48 nebo 72 hodin a po uplynutí inkubační doby byla měřena viabilita buněk kolorimetrickým testem MTS. Nejméně účinný byl v testech vodný extrakt, jako středně účinná vyšla v porovnání s ostatními typy extraktů silice a ethanolový a hexanový extrakt byly neúčinnější. U lidských fibroblastů byla IC50 ve všech případech neměřitelná, protože přesahovala hodnotu 500 µg/ml, což byla nejvyšší testovaná koncentrace. Pro ethanolový a hexanový extrakt testovaný na linii HeLa byla jako mechanismus cytotoxického působení zjištěna apoptóza.

Je patrné, že studie íránských vědců se v mnoha bodech podobala podmínkám mé práce (druh *L. angustifolia*, buněčné kultury HeLa, MCF7 a lidské fibroblasty, inkubační doba 24 a 72 hodin, testovaná koncentrace 500 µg/ml, vyhodnocení buněčné viability pomocí testu redukce tetrazoliové soli), proto je možné do jisté míry provést srovnání našich výsledků. Jeden z rozdílů silice, kterou jsem použil při své práci, a silice, se kterou pracovali íránské vědci, je část rostliny sbírané jako droga. V této práci jsem použil silici vydestilovanou pouze z květů levandule, zatímco autoři zmíněné studie v testech zkoumali silici získanou hydrodestilací celé nadzemní části rostliny. Je zde proto patrný rozdíl ve složení zkoumaných vzorků, které v případě íránské studie obsahovaly jako hlavní komponenty: eukalyptol (18,8 %), β-felandren (7,7 %), epi-α-kadinol (7,7 %), kafr (6,5 %) a 4-isopropylcyclohex-2-en-1-one (3,7 %). Dále moje práce prokázala měřitelnou hodnotu IC50 pro lidské fibroblasty, avšak citovaná studie zde toxicitu při stejné testované koncentraci neprokázala. V následujícím srovnání použiji své hodnoty změřené testem MTT. Zanedbáme-li méně výraznou možnost jiných vlivů na výsledky testů, je možné vyvodit, že směs obsahových látek silice použité v íránské studii vykazuje nižší cytotoxicitu pro fibroblasty. Dále změřené hodnoty IC50 příslušející

levandulové silici dosáhly v 72hodinovém testu u HeLa buněk výrazně nižší hranice (31,92  $\mu\text{g/ml}$ ) a u MCF7 byla hodnota IC50 asi o 68 % nižší (185,0  $\mu\text{g/ml}$ ). Pokud tedy stručně a celkově shrneme obě práce, dojdeme k závěru, že v íránské studii byla u fibroblastů cytotoxicita silice nižší a na nádorových liniích se prokázala její vyšší účinnost, než tomu bylo v případě mých výsledků [71]. V jiné studii, kterou zmiňuji v teoretické části práce, vědci zkoumali mimo jiné cytotoxicitu levandulového acetonového extraktu z křížence *Lavandula x intermedia* po 72 hodinách inkubace vyhodnocenou pomocí XTT testu a došli k podobné hodnotě IC50 u linie HeLa ( $182 \pm 1.5 \mu\text{g/ml}$ ), jako uvádím zde u odrůdy *bílá* a *krajová* v případě testů MTT bez lecitinu [74].

Tato práce se zabývá botanickým popisem druhu *Lavandula angustifolia* a předkládá částečný přehled o biologické aktivitě levandulové silice, případně jiných typů extraktů, v teoretické části, zatímco praktickým výstupem je stanovení průměrného zastoupení obsahových látek v silicích odrůd *bílá*, *krajová* a *beta* druhu *L. angustifolia* a dále měření antiproliferační aktivity těchto silic na nádorových liniích CCRF-CEM, HeLa a MCF7 a nenádorové kontrole, kterou tvořily lidské fibroblasty BJ. Výsledky testů antiproliferačního působení odrůd na vybrané buněčné kultury nebyly jednoznačné, proto následovaly testy další, ve kterých byl pro vyhodnocení viability buněk použit test MTT. Bylo zjištěno, že esej s calceinem AM pro vyhodnocení buněčné viability nemůže být použita při testech antiproliferačních účinků levandulové silice, neboť dochází k blíže neznámé interakci calceinu AM se silicí. Naopak MTT test je pro vyhodnocení vhodný. V práci jsem se zabýval také vlivem emulgace levandulové silice pomocí lecitinu na ovlivnění cytotoxické aktivity vyhodnocené testem MTT, nebyl však prokázán jednoznačně obecně pozitivní, ale ani obecně negativní účinek na zvýšení účinnosti silice, naopak výsledky musely být hodnoceny na individuální úrovni. Naměřené hodnoty IC50 byly porovnány jednak mezi odrůdami, ale také s citovanou literaturou.

Mám v plánu také v tomto roce 2015 připravit další levandulové silice a opětovně stanovit zastoupení obsahových látek pro ověření, zda se výsledky z roku 2014 a 2015 budou shodovat. Bude tím do jisté míry možné srovnat vliv celkově zvýšené vlhkosti v průběhu sklizně levandulové drogy v létě 2014 (pokud bude v tomto roce léto sušší) a podpořit statistický význam dosavadních výsledků a tím se také pokusit lépe charakterizovat jednotlivé chemotypy odrůd *bílá*, *krajová* a *beta*. Pokud to bude možné, hodlám připravit též práškové extrakty jednotlivých odrůd levandule a srovnat jejich antiproliferační účinky s levandulovou silicí. Tím se objeví další možnost porovnat výsledky práce s literaturou věnující se této problematice, neboť je prokázána vyšší účinnost hexanových nebo ethanolových extraktů oproti silici [71]. Tedy z hlediska potenciální přínosnosti práce se jeví zmiňované extrakty jako lepší cíl pro další výzkum. Naskýtá se také příležitost otestovat antiproliferační aktivitu na jiných nádorových liniích, případně se zabývat jiným druhem biologické aktivity.



## 6 SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY A OSTATNÍ ZDROJE INFORMACÍ

---

### Vědecké studie:

12. KIRCHOFF, Bruce K. The Capitate and Peltate Glandular Trichomes of *Lavandula pinnata* L. (Lamiaceae): Histochemistry, Ultrastructure and Secretion. *Journal of the Torrey Botanical Society*. 2008, č. 135, 155–167. Dostupné z: <http://libres.uncg.edu/ir/uncg/listing.aspx?id=693>

13. WORONUK, G., Z. DEMISSIE, M. RHEAULT a S. MAHMOUD. Biosynthesis and therapeutic properties of *Lavandula* essential oil constituents. *Planta medica*. 2011, roč. 77, č. 1, 7–15. DOI: 10.1055/s-0030-1250136. Dostupné z: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20665367>

19. D'AURIA, F. D., M. TECCA, V. STRIPPOLI, G. SALVATORE, L. BATTINELLI a G. MAZZANTI. Antifungal activity of *Lavandula angustifolia* essential oil against *Candida albicans* yeast and mycelial form. *Medical mycology*. 2005, roč. 43, č. 5, 391–396. Dostupné z: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16178366>

20. KAČÁNIOVÁ, M., N. VUKOVIČ, E. HORSKÁ, I. SALAMON, A. BOBKOVÁ, L. HLEBA, M. FISKELOVÁ, A. VATLÁK, J. PETROVÁ a M. BOBKO. Antibacterial activity against *Clostridium* genus and antiradical activity of the essential oils from different origin. *Journal of Environmental Science and Health, Part B*. 2014, roč. 49, č. 7, 505–512. DOI: 10.1080/03601234.2014.896673. Dostupné z: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24813985>

21. YAP, P. S., T. KRISHNAN, B. C. YIAP, C. P. HU, K.-G. CHAN a S. H. LIM. Membrane disruption and anti-quorum sensing effects of synergistic interaction between *Lavandula angustifolia* (lavender oil) in combination with antibiotic against plasmid-conferred multi-drug-resistant *Escherichia coli*. *Journal of Applied Microbiology*. 2014, roč. 116, č. 5, 1119–1128. DOI: 10.1111/jam.12444. Dostupné z: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24779580>

22. HABA, E., S. BOUHDID, N. TORREGO-SOLANA, A. M. MARQUÉS, M. J. ESPUNY, M. J. GARCÍA-CELMA a A. MANRESA. Rhamnolipids as emulsifying agents for essential oil formulations: Antimicrobial effect against *Candida albicans* and methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *International Journal of Pharmaceutics*. 2014, roč. 476, 1–2, 134–141. DOI: 10.1016/j.ijpharm.2014.09.039. Dostupné z: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25269010>

24. KUNICKA-STYCZYŃSKA, A., K. ŚMIGIELSKI, R. PRUSINOWSKA, K. RAJKOWSKA, B. KUŚMIDER a M. SIKORA. Preservative activity of lavender hydrosols in moisturizing body gels. *Letters in applied microbiology*. 2014, roč. 60, č. 1, 27–32. DOI: 10.1111/lam. Dostupné z: <http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/lam.12346/epdf>

25. DALILAN, Sona, Mostafa REZAEI-TAVIRANI, Mohammad NABIUNI, Saeed HEIDARI-KESHEL, Mona Zamanian AZODI a Hakimeh ZALI. Aqueous Extract of *Lavender Angustifolia* Inhibits Lymphocytes Proliferation of Hodgkin's Lymphoma Patients. *IRANIAN JOURNAL OF CANCER PREVENTION*. 2013, roč. 6, č. 4, 201–208. Dostupné z: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4142939/>

26. ZALI, H., M. ZAMANIAN-AZODI, M. REZAEI TAVIRANI a A. AKBAR-ZADEH BAGHBAN. Protein Drug Targets of *Lavandula angustifolia* on treatment of Rat Alzheimer's Disease. *Iranian Journal of Pharmaceutical Research*. 2015, roč. 14, č. 1, 291–302. Dostupné z: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25561935>
27. NIKFARJAM, Masoud, Neda PARVIN, Naziheh ASSARZADEGAN a Shabnam ASGHARI. The Effects of *Lavandula Angustifolia* Mill Infusion on Depression in Patients Using Citalopram: A comparison Study. *Iranian Red Crescent Medical Journal*. 2013, roč. 15, č. 8, 734–739. DOI: 10.5812/ircmj.4173. Dostupné z: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3918201/>
29. VAKILI, A., S. SHARIFAT, M. M. AKHAVAN a A. R. BANDEGI. Effect of lavender oil (*Lavandula angustifolia*) on cerebral edema and its possible mechanisms in an experimental model of stroke. *Brain research*. 2014, č. 1548, 56–62. DOI: 10.1016/j.brainres.2013.12.019. Dostupné z: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24384140>
30. O'CONNOR, Daniel W., Barbara EPPINGSTALL, John TAFFE a Eva S. VAN DER PLOEG. A randomized, controlled cross-over trial of dermally-applied lavender (*Lavandula angustifolia*) oil as a treatment of agitated behaviour in dementia. *BMC Complementary and Alternative Medicine*. 2013, roč. 13, č. 315. DOI: 10.1186/1472-6882-13-315. Dostupné z: <http://www.biomedcentral.com/1472-6882/13/315#B7>
31. ZIAEE, Mojtaba, Arash KHORRAMI, Maryam EBRAHIMI, Hassan NOURAFKAN, Masoumeh AMIRASLANZADEH, Maryam RAMESHRAD, Mehraveh GARJANI a Alireza GARJANI. Cardioprotective Effects of Essential Oil of *Lavandula angustifolia* on Isoproterenol-induced Acute Myocardial Infarction in Rat. *Iranian Journal of Pharmaceutical Research*. 2015, roč. 14, č. 1, 279–289. Dostupné z: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4277641/>
32. SINTHUSIRI, Jirisuda a Mayura SOONWERA. Oviposition deterrent and ovicidal activities of seven herbal essential oils against female adults of housefly, *Musca domestica* L. *Parasitology research*. 2014, roč. 113, č. 8, 3015–3022. DOI: 10.1007/s00436-014-3964-z. Dostupné z: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24894080>
33. RAISI DEHKORDI, Z., F. S. HOSSEINI BAHARANCHI a R. BEKHRADI. Effect of lavender inhalation on the symptoms of primary dysmenorrhea and the amount of menstrual bleeding: A randomized clinical trial. *Complementary Therapies in Medicine*. 2014, roč. 22, č. 2, 212–219. DOI: 10.1016/j.ctim.2013.12.011. Dostupné z: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24731891>
34. SOLTANI, R., V. HAJHASHEMI, G. ASGHARI, M BAGHERI a M MOLAVI. Evaluation of the effect of aromatherapy with lavender essential oil on post-tonsillectomy pain in pediatric patients: a randomized controlled trial. *International journal of pediatric otorhinolaryngology*. 2013, roč. 77, č. 9, 1579–1581. DOI: 10.1016/j.ijporl.2013.07.014. Dostupné z: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23932834>
35. EVANDRI, M. G., L. BATTINELLI, C. DANIELE, S. MASTRANGELO, P. BOLLE a G. MAZZANTI. The antimutagenic activity of *Lavandula angustifolia* (lavender) essential oil in the bacterial reverse mutation assay. *Food and Chemical Toxicology*. 2005, roč. 43, č. 9, 1381–1387. Dostupné z: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15907354>

40. BALDINGER, P., A. S. HÖFLICH, M. MITTERHAUSER, A. HAHN, C. RAMI-MARK, M. SPIES, W. WADSA, R. LANZENBERGER a S. KASPER. Effects of Silexan on the Serotonin-1A Receptor and Microstructure of the Human Brain: A Randomized, Placebo-Controlled, Double-Blind, Cross-Over Study with Molecular and Structural Neuroimaging. *International Journal of Neuropsychopharmacology*. 2014, roč. 18, č. 4. DOI: 10.1093/ijnp/pyu063. Dostupné z: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25522403>
41. KASPER, S., M. GASTPAR, W. E. MÜLLER, H. P. VOLZ, H. J. MÖLLER, S. SCHLÄFKE a A. DIENEL. Lavender oil preparation Silexan is effective in generalized anxiety disorder — a randomized, double-blind comparison to placebo and paroxetine. *International Journal of Neuropsychopharmacology*. 2014, roč. 17, č. 6, 859–869. DOI: 10.1017/S1461145714000017. Dostupné z: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24456909>
42. KASPER, S., M. GASTPAR, W. E. MÜLLER, H. P. VOLZ, H. J. MÖLLER, A. DIENEL a S. SCHLÄFKE. Efficacy and safety of silexan, a new, orally administered lavender oil preparation, in subthreshold anxiety disorder - evidence from clinical trials. *Wiener Medizinische Wochenschrift*. 2010, roč. 160, 21–22. DOI: 10.1007/s10354-010-0845-7. Dostupné z: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21170695>
48. LAKUSIĆ, B., D. LAKUSIĆ, M. RISTIĆ, M. MARCETIĆ a V. SLAVKOVSKA. Seasonal variations in the composition of the essential oils of *Lavandula angustifolia* (Lamiaceae). *Natural Product Communications*. 2014, roč. 9, č. 6, 859–862. Dostupné z: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25115100>
61. ANDREWS, Lucy G. a Trygve O. TOLLEFSBOL. Methods of Telomerase Inhibition. *Methods in Molecular Biology*. 2007, roč. 405. DOI: 10.1007/978-1-60327-070-0\_1. Dostupné z: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2423206/>
71. TAYARANI-NAJARAN, Z., A. AMIRI, G. KARIMI, S. A. EMAMI, J. ASILI a S. H. MOUSAVI. Comparative studies of cytotoxic and apoptotic properties of different extracts and the essential oil of *Lavandula angustifolia* on malignant and normal cells. *Nutrition and cancer*. 2014, roč. 66, č. 3, 424–434. DOI: 10.1080/01635581.2013.878736.
73. SHAIKH, Rafik, Mahesh PUND, Ashwini DAWANE a Sayyed ILIYAS. Evaluation of Anticancer, Antioxidant, and Possible Anti-inflammatory Properties of Selected Medicinal Plants Used in Indian Traditional Medication. *Journal of Traditional and Complementary Medicine*. 2014, roč. 4, č. 4, 253–257. DOI: 10.4103/2225-4110.128904. Dostupné z: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4220503/>
74. BERRINGTON, Danielle a Namrita LALL. Anticancer Activity of Certain Herbs and Spices on the Cervical Epithelial Carcinoma (HeLa) Cell Line. *Evidence-based Complementary and Alternative Medicine*. 2012, roč. 2012, 65–72. DOI: 10.1155/2012/564927. Dostupné z: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3357546/>
75. ALI, M. A., M. ABUL FARAH, F. M. AL-HEMAID a F. M. ABOU-TARBOUSH. In vitro cytotoxicity screening of wild plant extracts from Saudi Arabia on human breast adenocarcinoma cells. *Genetics and molecular research*. 2014, roč. 13, č. 2, 3981–3990. DOI: 10.4238/2014.May.23.9. Dostupné z: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24938609>
76. SELMI, S., M. JALLOULI, N. GHARBI a L. MARZOUKI. Hepatoprotective and Renoprotective Effects of Lavender (*Lavandula stoechas* L.) Essential Oils Against Malathion-Induced Oxidative Stress in Young Male Mice. *Journal of Medicinal Food*. 2015, roč. 18, č. 4. Dostupné z: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25835641>

## Webové stránky:

1. Types of Lavender. *COTSWOLD LAVENDER: THE FINEST LAVENDER GROWN AND DISTILLED IN THE HEART OF THE COTSWOLDS* [online]. 2011 [cit. 2015-01-22]. Dostupné z: <http://www.cotswoldlavender.co.uk/info/growing-lavender/lavender-varieties/>
2. Lavender Varieties. *Purple Haze Lavender* [online]. [cit. 2015-01-22]. Dostupné z: <http://purplehazelavender.com/lavender/lavender-varieties/>
3. Lavender vs. Lavandin. *Jersey Lavender* [online]. 2010, 2010-11-27 [cit. 2015-01-22]. Dostupné z: <http://blog.jerseylavender.co.uk/?p=260>
4. USDA, ARS, National Genetic Resources Program. *Germplasm Resources Information Network - (GRIN)* [Online Database]. National Germplasm Resources Laboratory, Beltsville, Maryland. [cit. 2015-01-22]. Dostupné z: <http://www.ars-grin.gov/cgi-bin/npgs/html/genus.pl?6567>
5. Growing Lavender. *Purple Haze Lavender* [online]. [cit. 2015-01-22]. Dostupné z: <http://purplehazelavender.com/lavender/growing-lavender/>
6. *Lavandula angustifolia* - levandule lékařská. *Herbář Wendys* [online]. [cit. 2015-01-22]. Dostupné z: <http://botanika.wendys.cz/kytky/K119.php>
14. CHU, Catherine J. a Kathi J. KEMPER. Lavender (*Lavandula* spp.). *Longwood Herbal Task Force*. 2001, 1–32. Dostupné z: <http://longwoodherbal.org/lavender/lavender.pdf>
15. PubMed. *PubMed* [online]. National Center for Biotechnology Information, U.S. National Library of Medicine, Rockville, Bethesda, USA [cit. 2015-01-22]. Dostupné z: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed>
16. Superbugs to kill 'more than cancer' by 2050. *BBC News – Health* [online]. 11. 12. 2014 [cit. 2015-03-21]. Dostupné z: <http://www.bbc.com/news/health-30416844>
17. Analysis: Antibiotic apocalypse. *BBC News – Health* [online]. 11. 3. 2013 [cit. 2015-03-21]. Dostupné z: <http://www.bbc.com/news/health-21702647>
18. Antibiotics resistance 'as big a risk as terrorism' - medical chief. *BBC News – Health* [online]. 11. 3. 2013 [cit. 2015-03-21]. Dostupné z: <http://www.bbc.com/news/health-21737844>
23. PATOČKA, Jiří. Rhamnolipidy – ekologické biosurfaktanty. *Rhamnolipidy – ekologické biosurfaktanty* [online]. 2010 [cit. 2015-01-20]. Dostupné z: <http://www.toxicology.cz/modules.php?name=News&file=article&sid=342>
36. LAVELA WS 1265™. INTEGRATIVE THERAPEUTICS. *Integrative Therapeutics* [online]. © 2015 [cit. 2015-03-21]. Dostupné z: <http://www.integrativepro.com/products/neuroendocrine/lavela-ws-1265>
37. LASEA Weichkapseln, 56 ST. *Medizinfuchs Preisvergleich* [online]. © 2015 [cit. 2015-03-21]. Dostupné z: <http://www.medizinfuchs.de/produktinformation/lasea-weichkapseln-56-st-dr.willmar-schwabe-gmbh-co.-kg-pzn-5489632.html>

38. CalmAid 30 Count. AMAZON.COM, Inc. *Amazon* [online]. © 1996–2015 [cit. 2015-03-21]. Dostupné z: [http://www.amazon.com/Natures-Way-Calm-Aid-softgels/dp/B007RMK3BK/ref=pd\\_sim\\_hpc\\_1?ie=UTF8&refRID=1YXSBZR492V373QH7BMY#legal-disclaimer](http://www.amazon.com/Natures-Way-Calm-Aid-softgels/dp/B007RMK3BK/ref=pd_sim_hpc_1?ie=UTF8&refRID=1YXSBZR492V373QH7BMY#legal-disclaimer)
39. German Medical Science. *Silexan, an orally administered lavender oil preparation for anxiety disorders* [online]. 25. 9. 2014 [cit. 2015-01-22]. Dostupné z: <http://www.egms.de/static/en/meetings/vkklipha2014/14vkklipha23.shtml>
47. *Lavandulae flos: Levandulový květ. Český lékopis 1997* [online]. 2002 [cit. 2015-02-07]. Dostupné z: [http://www.lekopis.cz/Kap\\_6\\_1\\_Lavandulae\\_flos.htm](http://www.lekopis.cz/Kap_6_1_Lavandulae_flos.htm)
49. Aplikace v analytických laboratořích: Superkritická fluidní extrakce (SFE). *Air Products* [online]. [cit. 2015-01-22]. Dostupné z: <http://www.airproducts.cz/industries/Analytical-Laboratories/analytical-lab-applications/product-list/supercritical-fluid-extraction-sfe-analytical-laboratories.aspx?itemId=79CD576362274387B4D933FF565DE2A2>
50. Metoda superkritické extrakce. *FLAVEKO Trade* [online]. 2010 [cit. 2015-01-22]. Dostupné z: <http://www.flavekotrade.cz/metoda-superkriticke-extrakce.htm>
54. SENSUE, Alan. GC carrier gases, do you really have a choice?. *ChromaBLOGraphy* [online]. 2013 [cit. 2015-03-23]. Dostupné z: <http://blog.restek.com/?p=9545>
56. 2.2.46 Chromatografické separační metody. *Český lékopis 1997* [online]. 2002–2003 [cit. 2015-03-23]. Dostupné z: [http://www.lekopis.cz/Kap\\_2\\_2\\_46.htm](http://www.lekopis.cz/Kap_2_2_46.htm)
58. BJ (ATCC® CRL-2522™). ATCC. *ATCC: The Global Bioresource Center* [online]. © 2014 [cit. 2015-02-15]. Dostupné z: <http://www.lgcstandards-atcc.org/Products/All/CRL-2522.aspx#generalinformation>
59. D5523 SIGMA: Dulbecco's Modified Eagle's Medium - low glucose. SIGMA-ALDRICH S.R.O. *Sigma-Aldrich* [online]. © 2015 [cit. 2015-03-21]. Dostupné z: <http://www.sigmaaldrich.com/catalog/product/sigma/d5523?lang=en&region=CZ>
60. PATOČKA, Jiří. Zlato, kofein a G kvartet. *Toxicology* [online]. 2014 [cit. 2015-02-15]. Dostupné z: <http://www.toxicology.cz/modules.php?name=News&file=article&sid=660>
62. Newsletter - BCA Source: Achieving Immortality: the Breasts of Sister Catherine Francis Mallon. *Breast Cancer Action* [online]. 2001 [cit. 2015-01-22]. Dostupné z: <http://archive.bcaction.org/index.php?page=newsletter-66i>
63. *MCF-7 Cells* [online]. [cit. 2015-01-22]. Dostupné z: <http://www.mcf7.com/>
64. Acidobazické indikátory. *E-ChemBook – multimediální učebnice chemie* [online]. © 2015 [cit. 2015-03-21]. Dostupné z: <http://www.e-chembook.eu/cs/acidobazicke-indikatory>
66. Tkáňové kultury. *On-line atlas kmenových buněk a vybraných diferenačních postupů* [online]. © 2012 [cit. 2015-03-21]. Dostupné z: <http://kmenova-bunka.webnode.cz/tkanove-kultury/>

68. 19.4 Růst buněk v buněčné kultuře. *BIOLOGIE v kostce* [online]. 2011 [cit. 2015-03-21]. Dostupné z: <http://biologie-v-kostce.blogspot.cz/2011/05/tkanove-kultury-dalsi-in-vitro-systemy.html>

70. Phosphate-buffered saline (PBS). *Cold Spring Harbor Protocols* [online]. Cold Spring Harbor Laboratory Press, © 2006 [cit. 2015-03-23]. DOI: 10.1101/pdb.rec8247. Dostupné z: <http://cshprotocols.cshlp.org/content/2006/1/pdb.rec8247>

77. RISS, T. L., R. A. MORAVEC, A. L. NILES, H. A. BENINK, T. J. WORZELLA a L. MINOR. Cell Viability Assays: Tetrazolium Reduction Assays. *Assay Guidance Manual*. 2013. NBK144065. Dostupné z: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK144065/>

78. Přístroj na stanovení silic v rostlinných drogách, SIMAX. *VERKON: Společnost pro vaši laboratoř* [online]. 2009–2015 [cit. 2015-04-03]. Dostupné z: <http://www.verkon.cz/pristroj-na-stanoveni-silic-v-rostlinnych-drogach-simax>

### **Knižní zdroje:**

7. BOROVEC, V., K. DUŠEK a D. VONDRÁKOVÁ. *Meristemová kultura levandule lékařské (Lavandula angustifolia)*. Výzkumný a šlechtitelský ústav zelinářský, Olomouc, 1990. ISBN 2650115166.

8. DUGASOVÁ, Aurélie a Dionýz DUGAS. *Babiččiny bylinky: Průvodce našimi léčivými rostlinami*. Praha: OTTOVO NAKLADATELSTVÍ, 2002, s. 113. ISBN 80-7181-696-5.

9. WORWOOD, Valerie Ann. *Voňavá lékárna*. Praha: Marie Noe One Woman Press, 2009, s. 125. ISBN 978-80-86356-47-1.

10. WORWOOD, Valerie Ann. *Voňavá lékárna*. Praha: Marie Noe One Woman Press, 2009, s. 32–33. ISBN 978-80-86356-47-1.

11. WORWOOD, Valerie Ann. *Voňavá lékárna*. Praha: Marie Noe One Woman Press, 2009, s. 27–31. ISBN 978-80-86356-47-1.

65. ČINÁTL, Jaroslav a Miloš NOVÁK. *Tkáňové a buněčné kultury: příprava a pěstování*. Praha: Státní zdravotnické nakladatelství, 1968, s. 29. ISBN 08-035-68.

67. ČINÁTL, Jaroslav a Miloš NOVÁK. *Tkáňové a buněčné kultury: příprava a pěstování*. Praha: Státní zdravotnické nakladatelství, 1968, s. 21. ISBN 08-035-68.

69. ČINÁTL, Jaroslav a Miloš NOVÁK. *Tkáňové a buněčné kultury: příprava a pěstování*. Praha: Státní zdravotnické nakladatelství, 1968, s. 86. ISBN 08-035-68.

### Ostatní (akademické práce, prezentace, programy,...):

28. *Nemoci dýchacího systému* [online prezentace]. Brno: Masarykova univerzita, Lékařská fakulta, 2006 [cit. 2015-01-22]. Dostupné z: [www.med.muni.cz/patfyz/powerpnt/0607/Resp\\_nemPP2006.ppt](http://www.med.muni.cz/patfyz/powerpnt/0607/Resp_nemPP2006.ppt)
43. VEČEŘA, Zbyněk. Isoprenoidy v atmosféře. *Chemické listy*. 2001, č. 95, 157–162. Dostupné z: <http://www.chemicke-listy.cz/docs/full/archiv/2001/03-PDF/157-162.pdf>
44. TARKOWSKI, Petr. Přednáška 2: *Sekundární metabolity 1* [online]. Olomouc: UP PřF, Katedra biochemie, 2004, 50 s. [cit. 2015-03-23]. Dostupné z: [www.fytochem.cz/Services/Downloader.ashx?id=86](http://www.fytochem.cz/Services/Downloader.ashx?id=86)
45. PEČ, Pavel. *Molekulární regulace: Sekundární metabolity a obrana rostlin* [online]. Olomouc: UP PřF, Katedra biochemie, 2004, 70 s. [cit. 2015-03-23]. Dostupné z: [www.fytochem.cz/Services/Downloader.ashx?id=78](http://www.fytochem.cz/Services/Downloader.ashx?id=78)
46. DEWICK, P. M. The biosynthesis of C5-C25 terpenoid compounds. *Natural product reports*. 2002, roč. 19, č. 2, 181–222. Dostupné z: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12013278>
51. LIŠKOVÁ, Marcela. <i>Syntézy za neklasických podmínek - E-Learningový kurs</i> [online]. 2008 [cit. 2015-01-20]. Diplomová práce. Masarykova univerzita, Přírodovědecká fakulta. Vedoucí práce Pavel Pazdera. Dostupné z: [http://is.muni.cz/th/77987/prif\\_m/&gt;](http://is.muni.cz/th/77987/prif_m/&gt;).
52. RIDDELLOVÁ, Kateřina. *Izolační a separační metody: Plynová chromatografie (Kolony)* [online]. Praha: Ústav analytické chemie VŠCHT, 16 s. [cit. 2015-3-21]. Dostupné z: [http://web.vscht.cz/~poustkaj/ISM\\_GC\\_KOLONY\\_1107.pdf](http://web.vscht.cz/~poustkaj/ISM_GC_KOLONY_1107.pdf)
53. SÝKORA, David a Pavel ZACHAŘ. *PLYNOVÁ CHROMATOGRRAFIE* [online]. Praha: Ústav analytické chemie VŠCHT, 2014, 16 s. [cit. 2015-3-21]. Dostupné z: <http://old.vscht.cz/anl/lach2/GC.pdf>
55. LITERÁK, Jaromír. *06. Plynová chromatografie (GC)* [online]. Brno: Ústav chemie MU, 7. 10. 2009, 9 s. [cit. 2015-3-21]. Dostupné z: [http://cheminfo.chemi.muni.cz/chem\\_sekce/predmety/C7300/GC/uvod.pdf](http://cheminfo.chemi.muni.cz/chem_sekce/predmety/C7300/GC/uvod.pdf)
57. RIDDELLOVÁ, Kateřina. *Izolační a separační metody: Plynová chromatografie (Teorie)* [online]. Praha: Ústav analýzy potravin a výživy VŠCHT, 26 s. Dostupné z: [http://web.vscht.cz/~poustkaj/ISM\\_GC\\_TEORIE\\_1007.pdf](http://web.vscht.cz/~poustkaj/ISM_GC_TEORIE_1007.pdf)
72. ACD/ChemSketch verze 12.0 [freeware]. [přístup 17. 1. 2015]. Dostupné z: <http://www.acdlabs.com/resources/freeware/chemsketch/>. Požadavky na systém: Windows 98/ME/NT/2000/XP/Vista/7; 36,0 MB

### Seznam příloh

- |            |  |
|------------|--|
| Příloha 1  | Fotodokumentace práce  |
| Příloha 2  | Tabulky s údaji o zpracování drogy a s výsledky destilací  |
| Příloha 3  | Přehled zastoupení obsahových látek v primárních vzorcích  |
| Příloha 4  | Přehled zastoupení obsahových látek ve směsných vzorcích   |
| Příloha 5  | Vyhodnocení průměrných zastoupení obsahových látek v primárních vzorcích a srovnání mezi odrůdami      |
| Příloha 6  | Grafy srovnání průměrných zastoupení obsahových látek v primárních vzorcích mezi jednotlivými odrůdami |
| Příloha 7  | Vyhodnocení průměrných zastoupení obsahových látek ve směsných vzorcích a srovnání mezi odrůdami       |
| Příloha 8  | Grafy srovnání průměrných zastoupení obsahových látek ve směsných vzorcích mezi jednotlivými odrůdami  |
| Příloha 9  | Průměrná zastoupení obsahových látek v odrůdách dle rozborů primárních vzorků                          |
| Příloha 10 | Průměrná zastoupení obsahových látek v odrůdách dle rozborů směsných vzorků                            |



## **Příloha 1 Fotodokumentace práce**

Foto 1 Odrůda *L. angustifolia*: krajová



Foto 2 Odrůda *L. angustifolia*: krajová

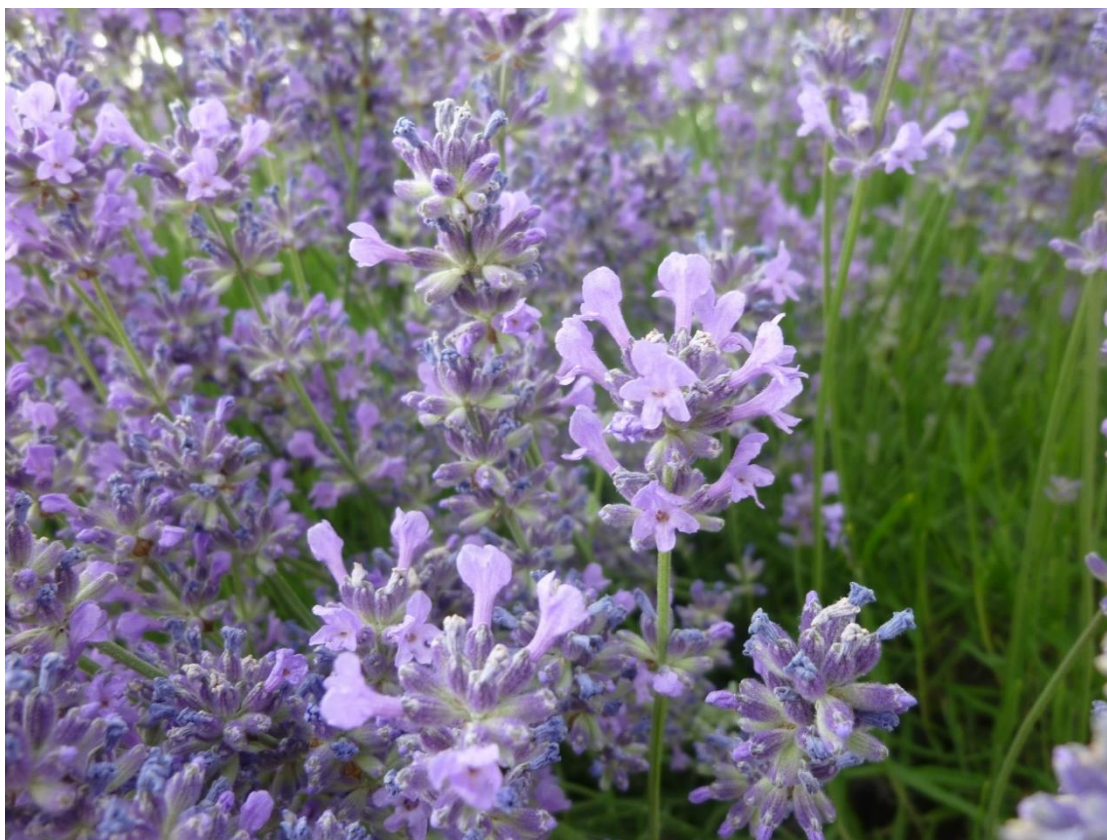


Foto 3 Odrůda *L. angustifolia*: bílá



Foto 4 Odrůda *L. angustifolia*: bílá



Foto 5 Odrůda *L. angustifolia*: bílá a beta



Foto 6 Odrůda *L. angustifolia*: bílá a beta



## **Příloha 2 Tabulky s údaji o zpracování drogy a s výsledky destilací**

Tabulka 2.1 Průměrná délka sbírané kvetoucí natě jednotlivých odrůd

<b>PRŮMĚRNÁ DÉLKA KVETOUČÍ NATĚ</b>			
<b>ČÍSLO MĚŘENÍ</b>	<b>BÍLÁ</b>	<b>KRAJOVÁ</b>	<b>BETA</b>
1	27,0 cm	24,5 cm	14,0 cm
2	20,0 cm	14,0 cm	16,0 cm
3	21,5 cm	22,5 cm	17,5 cm
4	24,0 cm	24,0 cm	18,0 cm
5	26,0 cm	26,5 cm	23,0 cm
6	25,0 cm	20,0 cm	20,0 cm
7	21,5 cm	24,5 cm	22,0 cm
8	24,5 cm	19,5 cm	17,0 cm
9	22,5 cm	25,0 cm	16,0 cm
10	23,0 cm	13,5 cm	21,0 cm
11	25,5 cm	16,0 cm	19,0 cm
12	25,5 cm	21,0 cm	20,0 cm
13	24,0 cm	20,5 cm	15,0 cm
14	24,0 cm	27,0 cm	15,5 cm
15	21,0 cm	19,5 cm	16,0 cm
16	23,0 cm	22,0 cm	17,0 cm
17	19,0 cm	18,0 cm	21,5 cm
18	26,0 cm	24,0 cm	10,5 cm
19	25,0 cm	17,0 cm	24,0 cm
20	22,5 cm	18,0 cm	14,0 cm
21	23,0 cm	24,5 cm	14,5 cm
22	21,0 cm	26,0 cm	12,0 cm
23	23,0 cm	25,0 cm	15,0 cm
24	27,0 cm	27,0 cm	19,5 cm
25	22,0 cm	21,0 cm	17,0 cm
26	23,5 cm	27,0 cm	19,5 cm
27	23,0 cm	21,0 cm	19,5 cm
28	23,5 cm	17,5 cm	17,5 cm
29	18,0 cm	27,5 cm	16,5 cm
30	22,0 cm	23,0 cm	21,5 cm
31	19,0 cm	24,0 cm	17,0 cm
32	27,0 cm	23,5 cm	20,0 cm
33	24,0 cm	27,5 cm	17,0 cm
34	24,0 cm	18,0 cm	19,0 cm
35	27,5 cm	29,0 cm	14,5 cm
36	30,0 cm	21,0 cm	20,0 cm
37	22,5 cm	19,0 cm	17,0 cm
38	23,0 cm	27,0 cm	18,0 cm
39	18,0 cm	23,0 cm	26,0 cm
40	21,5 cm	27,5 cm	19,0 cm
<b>PRŮMĚR</b>	23,5 cm	22,5 cm	18,0 cm

Tabulka 2.2.1 Výsledky destilací pěti vzorků odrůdy *bílá* 3343 a výtěžnost silice

<b>BÍLÁ 3343</b>					
Vzorek	Hmotnost celková	Hmotnost květu	Hmotnost natě	Obsah silice ve 20 g květů	Obsah silice v ml·kg <sup>-1</sup>
3343 A	50 g	20,7 g	29,3 g	0,96 ml	48,0 ml·kg <sup>-1</sup>
3343 B	50 g	24,6 g	25,4 g	0,88 ml	44,0 ml·kg <sup>-1</sup>
3343 C	50 g	24,9 g	25,1 g	0,88 ml	44,0 ml·kg <sup>-1</sup>
3343 D	50 g	23,5 g	26,5 g	0,88 ml	44,0 ml·kg <sup>-1</sup>
3343 E	50 g	22,5 g	27,5 g	0,96 ml	48,0 ml·kg <sup>-1</sup>
<b>PRŮMĚR:</b>	50 g	23,2 g	26,8 g	0,91 ml	45,5 ml·kg <sup>-1</sup>

Tabulka 2.2.2 Výsledky destilací pěti vzorků odrůdy *krajová* 3344 a výtěžnost silice

<b>KRAJOVÁ 3344</b>					
Vzorek	Hmotnost celková	Hmotnost květu	Hmotnost natě	Obsah silice ve 20 g květů	Obsah silice v ml·kg <sup>-1</sup>
3344 A	50 g	20,8 g	29,2 g	0,80 ml	40,0 ml·kg <sup>-1</sup>
3344 B	50 g	22,0 g	28,0 g	0,70 ml	35,0 ml·kg <sup>-1</sup>
3344 C	50 g	24,4 g	25,6 g	0,78 ml	39,0 ml·kg <sup>-1</sup>
3344 D	50 g	22,6 g	27,4 g	0,68 ml	34,0 ml·kg <sup>-1</sup>
3344 E	50 g	21,7 g	28,3 g	0,74 ml	37,0 ml·kg <sup>-1</sup>
<b>PRŮMĚR:</b>	50 g	22,3 g	27,7 g	0,74 ml	37,0 ml·kg <sup>-1</sup>

Tabulka 2.2.3 Výsledky destilací pěti vzorků odrůdy *beta* 3345 a výtěžnost silice

<b>BETA 3345</b>					
Vzorek	Hmotnost celková	Hmotnost květu	Hmotnost natě	Obsah silice ve 20 g květů	Obsah silice v ml·kg <sup>-1</sup>
3345 A	50 g	30,1 g	19,9 g	1,46 ml	73,0 ml·kg <sup>-1</sup>
3345 B	50 g	32,1 g	17,9 g	1,50 ml	75,0 ml·kg <sup>-1</sup>
3345 C	50 g	30,0 g	20,0 g	1,32 ml	66,0 ml·kg <sup>-1</sup>
3345 D	50 g	28,9 g	21,1 g	1,60 ml	80,0 ml·kg <sup>-1</sup>
3345 E	50 g	29,8 g	20,2 g	1,60 ml	80,0 ml·kg <sup>-1</sup>
<b>PRŮMĚR:</b>	50 g	30,2 g	19,8 g	1,50 ml	75,0 ml·kg <sup>-1</sup>

**Příloha 3    Přehled zastoupení obsahových látek v primárních vzorcích**



Tabulka 3.1 Zastoupení obsahových látek v primárním vzorku odrůdy *bílá* 3343A

<b>Bílá 3343A</b>				
Číslo	R <sub>t</sub>	Peak	Látka	Zastoupení
1	6,395	6	β-myrcen	0,44 %
2	8,077	10	D-limonen	0,99 %
3	8,268	11	Eukalyptol	0,28 %
4	8,572	12	Trans-β-ocimen	1,88 %
5	9,157	13	β-ocimene	1,41 %
6	13,118	15	Linalool	53,25 %
7	14,282	16	Okt-1-en-3-yl acetát	0,53 %
8	18,952	17	Endo-borneol	0,58 %
9	19,503	18	Lavandulol	3,73 %
10	20,066	19	Terpinen-4-ol	11,35 %
11	21,377	21	α-terpineol	2,77 %
12	27,335	25	Linalyl acetát	6,38 %
13	30,204	26	Lavandulyl acetát	6,97 %
14	35,532	27	3-Karen	0,55 %
15	36,888	28	Geranyl acetát	1,07 %
16	38,435	30	Karyophylen	1,37 %
17	41,546	31	β-Farnesen	1,60 %

Tabulka 3.2 Zastoupení obsahových látek v primárním vzorku odrůdy *bílá* 3343B

<b>Bílá 3343B</b>				
Číslo	R <sub>t</sub>	Peak	Látka	Zastoupení
1	6,395	5	β-myrcen	0,54 %
2	8,083	6	D-limonen	2,19 %
3	8,274	7	Eukalyptol	0,25 %
4	8,567	8	Trans-β-ocimen	0,67 %
5	9,157	9	β-ocimene	2,02 %
6	13,011	11	Linalool	47,88 %
7	14,283	12	Okt-1-en-3-yl acetát	0,44 %
8	/	/	Endo-borneol	/
9	19,515	13	Lavandulol	3,04%
10	20,049	14	Terpinen-4-ol	15,79 %
11	21,399	16	α-terpineol	2,26 %
12	27,329	19	Linalyl acetát	7,90 %
13	30,204	20	Lavandulyl acetát	7,07 %
14	35,537	21	3-Karen	0,39 %
15	36,899	22	Geranyl acetát	0,87 %
16	38,435	24	Karyophylen	1,41 %
17	41,546	25	β-Farnesen	3,09 %

**Tabulka 3.3** Zastoupení obsahových látek v primárním vzorku odrůdy *bílá* 3343C

<b>Bílá 3343C</b>				
Číslo	R <sub>t</sub>	Peak	Látka	Zastoupení
1	6,395	6	β-myrcen	0,37 %
2	8,077	11	D-limonen	0,76 %
3	8,268	12	Eukalyptol	0,23 %
4	8,572	13	Trans-β-ocimen	1,38 %
5	9,157	14	β-ocimene	0,82 %
6	13,118	16	Linalool	51,69 %
7	14,294	17	Okt-1-en-3-yl acetát	0,43 %
8	18,963	18	Endo-borneol	0,27 %
9	19,509	19	Lavandulol	3,54 %
10	20,072	20	Terpinen-4-ol	12,36 %
11	21,377	22	α-terpineol	2,68 %
12	27,335	26	Linalyl acetát	7,06 %
13	30,204	27	Lavandulyl acetát	6,54 %
14	35,532	28	3-Karen	0,58 %
15	36,888	29	Geranyl acetát	1,16 %
16	38,435	31	Karyophylen	1,97 %
17	41,546	33	β-Farnesen	2,57 %

**Tabulka 3.4** Zastoupení obsahových látek v primárním vzorku odrůdy *bílá* 3343D

<b>Bílá 3343D</b>				
Číslo	R <sub>t</sub>	Peak	Látka	Zastoupení
1	6,395	6	β-myrcen	0,48 %
2	8,077	11	D-limonen	1,03 %
3	8,263	12	Eukalyptol	0,27 %
4	8,567	13	Trans-β-ocimen	1,75 %
5	9,157	14	β-ocimene	1,14 %
6	13,112	16	Linalool	51,15 %
7	14,283	17	Okt-1-en-3-yl acetát	0,43 %
8	18,969	18	Endo-borneol	0,27 %
9	19,503	19	Lavandulol	3,36 %
10	20,066	20	Terpinen-4-ol	11,51 %
11	21,388	22	α-terpineol	2,13 %
12	27,340	26	Linalyl acetát	8,13 %
13	30,204	27	Lavandulyl acetát	6,15 %
14	35,532	28	3-Karen	0,46 %
15	36,893	29	Geranyl acetát	0,90 %
16	38,435	31	Karyophylen	2,22 %
17	41,546	33	β-Farnesen	3,05 %

Tabulka 3.5 Zastoupení obsahových látek v primárním vzorku odrůdy *bílá* 3343E

<b>Bílá 3343E</b>				
Číslo	R <sub>t</sub>	Peak	Látka	Zastoupení
1	6,395	6	β-myrcen	0,53 %
2	8,083	12	D-limonen	1,55 %
3	8,263	13	Eukalyptol	0,26 %
4	8,566	14	Trans-β-ocimene	1,21 %
5	9,157	15	β-ocimene	1,89 %
6	13,129	18	Linalool	50,66 %
7	14,277	19	Okt-1-en-3-yl acetát	0,57 %
8	18,963	20	Endo-borneol	0,43 %
9	19,503	21	Lavandulol	3,57 %
10	20,083	22	Terpinen-4-ol	14,21 %
11	21,377	24	α-terpineol	2,90 %
12	27,335	28	Linalyl acetát	5,69 %
13	30,210	29	Lavandulyl acetát	7,09 %
14	35,526	30	3-Karen	0,58 %
15	36,888	31	Geranyl acetát	1,17 %
16	38,435	33	Karyophylen	0,99 %
17	41,546	34	β-Farnesen	1,61 %

Tabulka 3.6 Zastoupení obsahových látek v primárním vzorku odrůdy *krajová 3344A*

<b>Krajová 3344A</b>				
Číslo	R <sub>t</sub>	Peak	Látka	Zastoupení
1	6,389	4	β-myrcen	0,64 %
2	8,066	8	D-limonen	0,44 %
3	8,246	9	Eukalyptol	0,43 %
4	8,567	10	Trans-β-ocimen	2,02 %
5	9,152	11	β-ocimene	1,17 %
6	13,034	13	Linalool	22,6 %
7	14,254	14	Okt-1-en-3-yl acetát	1,14 %
8	18,913	16	Endo-borneol	1,17 %
9	19,515	17	Lavandulol	1,11 %
10	20,049	18	Terpinen-4-ol	3,03 %
11	21,366	20	α-terpineol	5,49 %
12	27,402	24	Linalyl acetát	24,56 %
13	30,266	26	Lavandulyl acetát	25,28 %
14	35,526	27	3-Karen	1,18 %
15	36,888	28	Geranyl acetát	2,30 %
16	38,435	29	Karyophylen	1,32 %
17	41,540	31	β-Farnesen	0,71 %

Tabulka 3.7 Zastoupení obsahových látek v primárním vzorku odrůdy *krajová 3344B*

<b>Krajová 3344B</b>				
Číslo	R <sub>t</sub>	Peak	Látka	Zastoupení
1	6,395	8	β-myrcen	0,86 %
2	8,066	14	D-limonen	0,55 %
3	8,235	15	Eukalyptol	0,49 %
4	8,572	16	Trans-β-ocimen	2,20 %
5	9,157	17	β-ocimene	1,39 %
6	13,129	20	Linalool	24,26 %
7	14,260	21	Okt-1-en-3-yl acetát	1,16 %
8	18,896	25	Endo-borneol	1,37 %
9	19,503	26	Lavandulol	1,16 %
10	20,049	27	Terpinen-4-ol	2,95 %
11	21,399	30	α-terpineol	6,70 %
12	27,436	35	Linalyl acetát	19,39 %
13	30,328	37	Lavandulyl acetát	24,51 %
14	35,526	38	3-Karen	1,51 %
15	36,893	39	Geranyl acetát	2,85 %
16	38,440	40	Karyophylen	1,05 %
17	41,540	43	β-Farnesen	0,56 %

Tabulka 3.8 Zastoupení obsahových látek v primárním vzorku odrůdy *krajová 3344C*

<b>Krajová 3344C</b>				
Číslo	R <sub>t</sub>	Peak	Látka	Zastoupení
1	6,395	4	β-myrcen	0,76 %
2	8,066	6	D-limonen	0,40 %
3	8,263	7	Eukalyptol	0,66 %
4	8,566	8	Trans-β-ocimen	3,26 %
5	9,157	9	β-ocimene	2,09 %
6	12,960	10	Linalool	29,80 %
7	14,271	11	Okt-1-en-3-yl acetát	0,83 %
8	18,963	12	Endo-borneol	0,73 %
9	19,560	13	Lavandulol	0,62 %
10	20,072	14	Terpinen-4-ol	3,20 %
11	21,382	15	α-terpineol	5,27 %
12	27,340	16	Linalyl acetát	24,36 %
13	30,204	17	Lavandulyl acetát	19,35 %
14	35,532	18	3-Karen	1,03 %
15	36,888	19	Geranyl acetát	2,21 %
16	38,435	20	Karyophylen	1,52 %
17	41,546	22	β-Farnesen	0,34 %

Tabulka 3.9 Zastoupení obsahových látek v primárním vzorku odrůdy *krajová 3344D*

<b>Krajová 3344D</b>				
Číslo	R <sub>t</sub>	Peak	Látka	Zastoupení
1	6,395	3	β-myrcen	0,74 %
2	8,066	5	D-limonen	0,45 %
3	8,263	6	Eukalyptol	0,38 %
4	8,567	7	Trans-β-ocimen	1,85 %
5	9,157	8	β-ocimene	1,21 %
6	12,983	9	Linalool	25,30 %
7	14,260	10	Okt-1-en-3-yl acetát	0,98 %
8	18,935	11	Endo-borneol	1,02 %
9	19,532	12	Lavandulol	1,00 %
10	20,060	13	Terpinen-4-ol	3,15 %
11	21,360	15	α-terpineol	6,86 %
12	27,346	19	Linalyl acetát	17,19 %
13	30,232	20	Lavandulyl acetát	28,51 %
14	35,526	21	3-Karen	1,67 %
15	36,882	22	Geranyl acetát	3,43 %
16	38,429	23	Karyophylen	1,29 %
17	41,540	25	β-Farnesen	0,53 %

Tabulka 3.10 Zastoupení obsahových látek v primárním vzorku odrůdy *krajová 3344E*

<b>Krajová 3344E</b>				
Číslo	R <sub>t</sub>	Peak	Látka	Zastoupení
1	6,400	3	β-myrcen	0,92 %
2	8,071	5	D-limonen	0,55 %
3	8,268	6	Eukalyptol	0,60 %
4	8,572	7	Trans-β-ocimene	2,78 %
5	9,163	8	β-ocimene	1,96 %
6	12,966	9	Linalool	28,94 %
7	14,266	10	Okt-1-en-3-yl acetát	1,01 %
8	18,952	11	Endo-borneol	1,07 %
9	19,554	12	Lavandulol	0,82 %
10	20,072	13	Terpinen-4-ol	3,14 %
11	21,377	14	α-terpineol	5,68 %
12	27,340	15	Linalyl acetát	22,02 %
13	30,204	16	Lavandulyl acetát	23,92 %
14	35,532	17	3-Karen	0,91 %
15	36,893	18	Geranyl acetát	1,92 %
16	38,435	19	Karyophylen	1,11 %
17	/	/	β-Farnesen	/

Tabulka 3.11 Zastoupení obsahových látek v primárním vzorku odrůdy *beta* 3345A

<b>Beta 3345A</b>				
Číslo	R <sub>t</sub>	Peak	Látka	Zastoupení
1	6,384	8	β-myrcen	1,24 %
2	8,049	16	D-limonen	0,48 %
3	8,201	17	Eukalyptol	1,50 %
4	8,555	18	Trans-β-ocimen	1,62 %
5	9,146	19	β-ocimene	2,32 %
6	13,146	24	Linalool	26,01 %
7	14,238	25	Okt-1-en-3-yl acetát	1,58 %
8	18,885	27	Endo-borneol	1,06 %
9	19,543	28	Lavandulol	0,17 %
10	20,061	29	Terpinen-4-ol	5,53 %
11	21,416	32	α-terpineol	8,58 %
12	27,487	36	Linalyl acetát	26,26 %
13	30,238	38	Lavandulyl acetát	7,35 %
14	35,521	39	3-Karen	1,98 %
15	36,905	40	Geranyl acetát	3,79 %
16	38,446	41	Karyophylen	2,51 %
17	41,540	44	β-Farnesen	1,38 %

Tabulka 3.12 Zastoupení obsahových látek v primárním vzorku odrůdy *beta* 3345B

<b>Beta 3345B</b>				
Číslo	R <sub>t</sub>	Peak	Látka	Zastoupení
1	6,395	5	β-myrcen	1,08 %
2	8,066	9	D-limonen	0,42 %
3	8,229	10	Eukalyptol	1,45 %
4	8,567	11	Trans-β-ocimen	1,59 %
5	9,157	12	β-ocimene	2,34 %
6	13,006	15	Linalool	24,90 %
7	14,249	16	Okt-1-en-3-yl acetát	1,44 %
8	18,924	17	Endo-borneol	0,88 %
9	/	/	Lavandulol	/
10	20,049	18	Terpinen-4-ol	5,71 %
11	21,360	19	α-terpineol	7,59 %
12	27,391	21	Linalyl acetát	30,83 %
13	30,204	22	Lavandulyl acetát	8,03 %
14	35,526	23	3-Karen	1,65 %
15	36,882	24	Geranyl acetát	3,41 %
16	38,435	25	Karyophylen	3,18 %
17	41,540	27	β-Farnesen	1,59 %

Tabulka 3.13 Zastoupení obsahových látek v primárním vzorku odrůdy *beta* 3345C

<b>Beta 3345C</b>				
Číslo	R <sub>t</sub>	Peak	Látka	Zastoupení
1	6,395	1	β-myrcen	0,80 %
2	8,066	4	D-limonen	0,36 %
3	8,235	5	Eukalyptol	1,67 %
4	8,572	6	Trans-β-ocimen	1,36 %
5	9,157	7	β-ocimene	1,93 %
6	12,989	9	Linalool	23,81 %
7	14,260	10	Okt-1-en-3-yl acetát	1,32 %
8	18,930	11	Endo-borneol	1,13 %
9	/	/	Lavandulol	/
10	20,049	12	Terpinen-4-ol	5,21 %
11	21,360	13	α-terpineol	7,55 %
12	27,380	15	Linalyl acetát	31,85 %
13	30,204	16	Lavandulyl acetát	8,35 %
14	35,526	17	3-Karen	1,73 %
15	36,888	18	Geranyl acetát	3,56 %
16	38,441	19	Karyophylen	3,58 %
17	41,546	21	β-Farnesen	1,90 %

Tabulka 3.14 Zastoupení obsahových látek v primárním vzorku odrůdy *beta* 3345D

<b>Beta 3345D</b>				
Číslo	R <sub>t</sub>	Peak	Látka	Zastoupení
1	6,395	5	β-myrcen	1,13 %
2	8,066	10	D-limonen	0,44 %
3	8,229	11	Eukalyptol	1,42 %
4	8,566	12	Trans-β-ocimen	1,49 %
5	9,157	13	β-ocimene	2,18 %
6	13,033	16	Linalool	26,19 %
7	14,249	17	Okt-1-en-3-yl acetát	1,43 %
8	18,924	19	Endo-borneol	0,95 %
9	/	/	Lavandulol	/
10	20,043	20	Terpinen-4-ol	5,59 %
11	21,365	21	α-terpineol	8,84 %
12	27,402	24	Linalyl acetát	27,79 %
13	30,210	25	Lavandulyl acetát	8,10 %
14	35,526	26	3-Karen	1,98 %
15	36,893	27	Geranyl acetát	3,99 %
16	38,440	28	Karyophylen	2,65 %
17	41,540	30	β-Farnesen	1,31 %



Tabulka 3.15 Zastoupení obsahových látek v primárním vzorku odrůdy *beta* 3345E

<b>Beta 3345E</b>				
Číslo	R <sub>t</sub>	Peak	Látka	Zastoupení
1	6,395	2	β-myrcen	1,62 %
2	8,066	4	D-limonen	0,56 %
3	8,240	5	Eukalyptol	1,75 %
4	8,567	6	Trans-β-ocimen	1,97 %
5	9,157	7	β-ocimene	2,98 %
6	12,977	9	Linalool	33,47 %
7	14,254	10	Okt-1-en-3-yl acetát	1,57 %
8	18,941	11	Endo-borneol	0,86 %
9	/	/	Lavandulol	/
10	20,049	12	Terpinen-4-ol	6,30 %
11	21,360	13	α-terpineol	10,56 %
12	27,340	15	Linalyl acetát	21,05 %
13	30,198	16	Lavandulyl acetát	7,49 %
14	35,526	17	3-Karen	1,65 %
15	36,888	18	Geranyl acetát	3,45 %
16	38,435	19	Karyophylen	1,75 %
17	41,546	20	β-Farnesen	0,56 %

## **Příloha 4    Přehled zastoupení obsahových látek ve směsných vzorcích**

Tabulka 4.1 Zastoupení obsahových látek ve směsném vzorku odrůdy *bílá* 3343 A1

<b>Bílá 3343 A1</b>				
Číslo	R <sub>t</sub>	Peak	Látka	Zastoupení
1	6,350	7	β-myrcen	0,63 %
2	8,026	12	D-limonen	1,46 %
3	8,156	13	Eukalyptol	0,35 %
4	8,516	14	Trans-β-ocimen	1,27 %
5	9,101	15	β-ocimene	1,18 %
6	13,298	18	Linalool	50,37 %
7	14,215	19	Okt-1-en-3-yl acetát	0,60 %
8	18,834	20	Endo-borneol	0,42 %
9	19,464	21	Lavandulol	3,64 %
10	20,100	22	Terpinen-4-ol	11,93 %
11	21,298	24	α-terpineol	2,41 %
12	27,318	29	Linalyl acetát	7,04 %
13	30,176	30	Lavandulyl acetát	6,39 %
14	35,447	31	3-Karen	0,59 %
15	36,820	32	Geranyl acetát	1,09 %
16	38,378	34	Karyophylen	1,47 %
17	41,490	36	β-Farnesen	2,36 %

Tabulka 4.2 Zastoupení obsahových látek ve směsném vzorku odrůdy *bílá* 3343 A2

<b>Bílá 3343 A2</b>				
Číslo	R <sub>t</sub>	Peak	Látka	Zastoupení
1	6,361	6	β-myrcen	0,66 %
2	8,038	11	D-limonen	1,55 %
3	8,178	12	Eukalyptol	0,37 %
4	8,527	13	Trans-β-ocimen	1,34 %
5	9,112	14	β-ocimene	1,24 %
6	13,146	16	Linalool	52,48 %
7	14,193	17	Okt-1-en-3-yl acetát	0,57 %
8	18,845	18	Endo-borneol	0,40 %
9	19,425	19	Lavandulol	3,45 %
10	20,032	20	Terpinen-4-ol	12,08 %
11	21,281	22	α-terpineol	2,36 %
12	27,284	26	Linalyl acetát	6,55 %
13	30,148	27	Lavandulyl acetát	6,23 %
14	35,453	28	3-Karen	0,46 %
15	36,815	29	Geranyl acetát	0,87 %
16	38,373	31	Karyophylen	1,32 %
17	41,484	33	β-Farnesen	2,03 %

Tabulka 4.3 Zastoupení obsahových látek ve směsném vzorku odrůdy *bílá* 3343 B1

<b>Bílá 3343 B1</b>				
Číslo	R <sub>t</sub>	Peak	Látka	Zastoupení
1	6,361	6	β-myrcen	0,62 %
2	8,038	11	D-limonen	1,47 %
3	8,178	12	Eukalyptol	0,36 %
4	8,527	13	Trans-beta-ocimen	1,26 %
5	9,112	14	β-ocimene	1,17 %
6	13,202	16	Linalool	50,78 %
7	14,209	17	Okt-1-en-3-yl acetát	0,56 %
8	18,845	18	Endo-borneol	0,42 %
9	19,442	19	Lavandulol	3,57 %
10	20,066	20	Terpinen-4-ol	12,01 %
11	21,287	22	α-terpineol	2,42 %
12	27,295	26	Linalyl acetát	6,91 %
13	30,159	27	Lavandulyl acetát	6,52 %
14	35,447	28	3-Karen	0,55 %
15	36,815	29	Geranyl acetát	1,04 %
16	38,379	31	Karyophylen	1,51 %
17	41,490	33	β-Farnesen	2,41 %

Tabulka 4.4 Zastoupení obsahových látek ve směsném vzorku odrůdy *bílá* 3343 B2

<b>Bílá 3343 B2</b>				
Číslo	R <sub>t</sub>	Peak	Látka	Zastoupení
1	6,361	6	β-myrcen	0,67 %
2	8,038	11	D-limonen	1,56 %
3	8,173	12	Eukalyptol	0,38 %
4	8,527	13	Trans-β-ocimen	1,34 %
5	9,112	14	β-ocimene	1,24 %
6	13,225	16	Linalool	51,41 %
7	14,209	17	Okt-1-en-3-yl acetát	0,58 %
8	18,851	18	Endo-borneol	0,43 %
9	19,442	19	Lavandulol	3,58 %
10	20,066	20	Terpinen-4-ol	11,91 %
11	21,293	22	α-terpineol	2,37 %
12	27,301	26	Linalyl acetát	6,73 %
13	30,159	27	Lavandulyl acetát	6,27 %
14	35,453	28	3-Karen	0,52 %
15	36,815	29	Geranyl acetát	0,97 %
16	38,373	31	Karyophylen	1,38 %
17	41,484	33	β-Farnesen	2,17 %

Tabulka 4.5 Zastoupení obsahových látek ve směsném vzorku odrůdy *bílá* 3343 C1

<b>Bílá 3343 C1</b>				
Číslo	R <sub>t</sub>	Peak	Látka	Zastoupení
1	6,361	7	β-myrcen	0,66 %
2	8,038	12	D-limonen	1,51 %
3	8,173	13	Eukalyptol	0,36 %
4	8,527	14	Trans-β-ocimen	1,30 %
5	9,112	15	β-ocimene	1,21 %
6	13,304	18	Linalool	50,32 %
7	14,232	19	Okt-1-en-3-yl acetát	0,59 %
8	18,857	20	Endo-borneol	0,44 %
9	19,481	21	Lavandulol	3,64 %
10	20,117	22	Terpinen-4-ol	11,87 %
11	21,315	24	α-terpineol	2,41 %
12	27,329	28	Linalyl acetát	6,93 %
13	30,182	29	Lavandulyl acetát	6,33 %
14	35,453	30	3-Karen	0,58 %
15	36,826	31	Geranyl acetát	1,08 %
16	38,384	33	Karyophylen	1,46 %
17	41,495	35	β-Farnesen	2,34 %

Tabulka 4.6 Zastoupení obsahových látek ve směsném vzorku odrůdy *bílá* 3343 C2

<b>Bílá 3343 C2</b>				
Číslo	R <sub>t</sub>	Peak	Látka	Zastoupení
1	6,361	6	β-myrcen	0,67 %
2	8,038	11	D-limonen	1,58 %
3	8,178	12	Eukalyptol	0,38 %
4	8,527	13	Trans-β-ocimen	1,35 %
5	9,112	14	β-ocimene	1,25 %
6	13,180	16	Linalool	51,71 %
7	14,204	17	Okt-1-en-3-yl acetát	0,58 %
8	18,851	18	Endo-borneol	0,42 %
9	19,430	19	Lavandulol	3,54 %
10	20,044	20	Terpinen-4-ol	11,96 %
11	21,287	22	α-terpineol	2,36 %
12	27,290	26	Linalyl acetát	6,66 %
13	30,153	27	Lavandulyl acetát	6,24 %
14	35,453	28	3-Karen	0,49 %
15	36,820	29	Geranyl acetát	0,92 %
16	38,373	31	Karyophylen	1,36 %
17	41,484	33	β-Farnesen	2,11 %

Tabulka 4.7 Zastoupení obsahových látek ve směsném vzorku odrůdy *krajová* 3344 A1

<b>Krajová 3344 A1</b>				
Číslo	R <sub>t</sub>	Peak	Látka	Zastoupení
1	6,361	6	β-myrcen	1,01 %
2	8,026	11	D-limonen	0,67 %
3	8,167	12	Eukalyptol	0,67 %
4	8,533	13	Trans-β-ocimen	2,03 %
5	9,112	14	β-ocimene	1,13 %
6	13,107	16	Linalool	26,14 %
7	14,181	17	Okt-1-en-3-yl acetát	1,26 %
8	18,811	19	Endo-borneol	1,24 %
9	19,413	20	Lavandulol	1,19 %
10	19,982	21	Terpinen-4-ol	3,08 %
11	21,326	23	α-terpineol	5,73 %
12	27,414	27	Linalyl acetát	21,06 %
13	30,277	29	Lavandulyl acetát	22,13 %
14	35,459	30	3-Karen	1,32 %
15	36,831	31	Geranyl acetát	2,49 %
16	38,384	32	Karyophylen	1,23 %
17	41,484	34	β-Farnesen	0,65 %

Tabulka 4.8 Zastoupení obsahových látek ve směsném vzorku odrůdy *krajová* 3344 A2

<b>Krajová 3344 A2</b>				
Číslo	R <sub>t</sub>	Peak	Látka	Zastoupení
1	6,361	6	β-myrcen	0,95 %
2	8,026	11	D-limonen	0,63 %
3	8,167	12	Eukalyptol	0,64 %
4	8,527	13	Trans-beta-ocimen	1,95 %
5	9,112	14	β-ocimene	1,08 %
6	13,045	15	Linalool	26,10 %
7	14,170	16	Okt-1-en-3-yl acetát	1,22 %
8	18,811	18	Endo-borneol	1,22 %
9	19,408	19	Lavandulol	1,15 %
10	19,965	20	Terpinen-4-ol	3,11 %
11	21,298	22	α-terpineol	5,81 %
12	27,374	26	Linalyl acetát	21,31 %
13	30,243	28	Lavandulyl acetát	22,68 %
14	35,453	29	3-Karen	1,29 %
15	36,820	30	Geranyl acetát	2,48 %
16	38,373	31	Karyophylen	1,23 %
17	41,478	33	β-Farnesen	0,61 %

Tabulka 4.9 Zastoupení obsahových látek ve směsném vzorku odrůdy *krajová* 3344 B1

<b>Krajová 3344 B1</b>				
Číslo	R <sub>t</sub>	Peak	Látka	Zastoupení
1	6,361	3	β-myrcen	1,00 %
2	8,026	6	D-limonen	0,67 %
3	8,178	7	Eukalyptol	0,70 %
4	8,527	8	Trans-β-ocimen	2,08 %
5	9,112	9	β-ocimene	1,14 %
6	12,949	10	Linalool	27,91 %
7	14,170	11	Okt-1-en-3-yl acetát	1,21 %
8	18,823	12	Endo-borneol	1,17 %
9	19,419	13	Lavandulol	1,00 %
10	19,959	14	Terpinen-4-ol	3,19 %
11	21,270	16	α-terpineol	5,95 %
12	27,301	18	Linalyl acetát	21,30 %
13	30,176	19	Lavandulyl acetát	23,75 %
14	35,453	20	3-Karen	1,05 %
15	36,814	21	Geranyl acetát	2,10 %
16	38,373	22	Karyophylen	1,10 %
17	41,478	24	β-Farnesen	0,41 %

Tabulka 4.10 Zastoupení obsahových látek ve směsném vzorku odrůdy *krajová* 3344 B2

<b>Krajová 3344 B2</b>				
Číslo	R <sub>t</sub>	Peak	Látka	Zastoupení
1	6,361	5	β-myrcen	1,00 %
2	8,026	8	D-limonen	0,67 %
3	8,178	9	Eukalyptol	0,69 %
4	8,527	10	Trans-β-ocimen	2,07 %
5	9,112	11	β-ocimene	1,14 %
6	12,960	12	Linalool	27,80 %
7	14,164	13	Okt-1-en-3-yl acetát	1,22 %
8	18,823	14	Endo-borneol	1,17 %
9	19,419	15	Lavandulol	1,01 %
10	19,959	16	Terpinen-4-ol	3,19 %
11	21,276	18	α-terpineol	5,95 %
12	27,318	20	Linalyl acetát	21,23 %
13	30,187	21	Lavandulyl acetát	23,50 %
14	35,453	22	3-Karen	1,07 %
15	36,820	23	Geranyl acetát	2,13 %
16	38,373	24	Karyophylen	1,11 %
17	41,478	26	β-Farnesen	0,43 %

Tabulka 4.11 Zastoupení obsahových látek ve směsném vzorku odrůdy *krajová 3344 C1*

<b>Krajová 3344 C1</b>				
Číslo	R <sub>t</sub>	Peak	Látka	Zastoupení
1	6,361	6	β-myrcen	0,95 %
2	8,026	11	D-limonen	0,63 %
3	8,167	12	Eukalyptol	0,64 %
4	8,533	13	Trans-β-ocimen	1,93 %
5	9,112	14	β-ocimene	1,08 %
6	13,118	17	Linalool	25,80 %
7	14,193	18	Okt-1-en-3-yl acetát	1,23 %
8	18,817	20	Endo-borneol	1,25 %
9	19,419	21	Lavandulol	1,22 %
10	19,982	22	Terpinen-4-ol	3,10 %
11	21,337	24	α-terpineol	5,76 %
12	27,430	28	Linalyl acetát	21,22 %
13	30,294	30	Lavandulyl acetát	22,20 %
14	35,464	31	3-Karen	1,37 %
15	36,843	32	Geranyl acetát	2,56 %
16	38,390	33	Karyophylen	1,26 %
17	41,490	36	β-Farnesen	0,67 %

Tabulka 4.12 Zastoupení obsahových látek ve směsném vzorku odrůdy *krajová 3344 C2*

<b>Krajová 3344 C2</b>				
Číslo	R <sub>t</sub>	Peak	Látka	Zastoupení
1	6,361	6	β-myrcen	1,00 %
2	8,026	11	D-limonen	0,66 %
3	8,173	12	Eukalyptol	0,67 %
4	8,527	13	Trans-β-ocimen	2,01 %
5	9,112	14	β-ocimene	1,12 %
6	13,039	15	Linalool	26,27 %
7	14,170	16	Okt-1-en-3-yl acetát	1,25 %
8	18,811	18	Endo-borneol	1,23 %
9	19,413	19	Lavandulol	1,16 %
10	19,965	20	Terpinen-4-ol	3,14 %
11	21,298	22	α-terpineol	5,81 %
12	27,368	26	Linalyl acetát	21,20 %
13	30,238	28	Lavandulyl acetát	22,43 %
14	35,459	29	3-Karen	1,27 %
15	36,826	30	Geranyl acetát	2,45 %
16	38,378	31	Karyophylen	1,21 %
17	41,484	33	β-Farnesen	0,59 %



Tabulka 4.13 Zastoupení obsahových látek ve směsném vzorku odrůdy *beta* 3345 A1

<b>Beta 3345 A1</b>				
Číslo	R <sub>t</sub>	Peak	Látka	Zastoupení
1	6,361	2	β-myrcen	1,48 %
2	8,026	5	D-limonen	0,62 %
3	8,167	6	Eukalyptol	1,93 %
4	8,527	7	Trans-β-ocimene	1,66 %
5	9,112	8	β-ocimene	2,22 %
6	12,955	9	Linalool	28,37 %
7	14,170	10	Okt-1-en-3-yl acetát	1,71 %
8	18,828	11	Endo-borneol	1,04 %
9	/	/	Lavandulol	/
10	19,965	12	Terpinen-4-ol	5,85 %
11	21,281	13	α-terpineol	8,49 %
12	27,329	15	Linalyl acetát	27,39 %
13	30,136	16	Lavandulyl acetát	8,01 %
14	35,459	17	3-Karen	1,53 %
15	36,820	18	Geranyl acetát	3,19 %
16	38,379	19	Karyophylen	2,57 %
17	41,484	20	β-Farnesen	1,22 %

Tabulka 4.14 Zastoupení obsahových látek ve směsném vzorku odrůdy *beta* 3345 A2

<b>Beta 3345 A2</b>				
Číslo	R <sub>t</sub>	Peak	Látka	Zastoupení
1	6,361	5	β-myrcen	1,43 %
2	8,026	9	D-limonen	0,60 %
3	8,161	10	Eukalyptol	1,82 %
4	8,527	11	Trans-β-ocimene	1,61 %
5	9,118	12	β-ocimene	2,13 %
6	13,039	15	Linalool	26,48 %
7	14,176	16	Okt-1-en-3-yl acetát	1,69 %
8	18,823	17	Endo-borneol	1,09 %
9	/	/	Lavandulol	/
10	19,982	18	Terpinen-4-ol	5,74 %
11	21,321	20	α-terpineol	8,20 %
12	27,397	23	Linalyl acetát	26,70 %
13	30,165	24	Lavandulyl acetát	7,76 %
14	35,459	25	3-Karen	1,78 %
15	36,831	26	Geranyl acetát	3,56 %
16	38,384	27	Karyophylen	2,68 %
17	41,484	29	β-Farnesen	1,50 %

Tabulka 4.15 Zastoupení obsahových látek ve směsném vzorku odrůdy *beta* 3345 B1

<b>Beta 3345 B1</b>				
Číslo	R <sub>t</sub>	Peak	Látka	Zastoupení
1	6,367	7	β-myrcen	1,40 %
2	8,032	14	D-limonen	0,59 %
3	8,156	15	Eukalyptol	1,72 %
4	8,539	16	Trans-β-ocimen	1,55 %
5	9,124	17	β-ocimene	1,99 %
6	13,214	22	Linalool	25,01 %
7	14,221	23	Okt-1-en-3-yl acetát	1,68 %
8	18,828	25	Endo-borneol	1,13 %
9	19,459	26	Lavandulol	0,20 %
10	20,055	27	Terpinen-4-ol	5,47 %
11	21,428	30	α-terpineol	7,85 %
12	27,509	33	Linalyl acetát	26,38 %
13	30,238	35	Lavandulyl acetát	7,50 %
14	35,481	36	3-Karen	1,99 %
15	36,877	37	Geranyl acetát	3,77 %
16	38,424	38	Karyophylen	2,71 %
17	41,507	41	β-Farnesen	1,69 %

Tabulka 4.16 Zastoupení obsahových látek ve směsném vzorku odrůdy *beta* 3345 B2

<b>Beta 3345 B2</b>				
Číslo	R <sub>t</sub>	Peak	Látka	Zastoupení
1	6,367	6	β-myrcen	1,37 %
2	8,026	12	D-limonen	0,57 %
3	8,156	13	Eukalyptol	1,70 %
4	8,533	14	Trans-β-ocimen	1,53 %
5	9,118	15	β-ocimene	1,99 %
6	13,140	19	Linalool	25,36 %
7	14,198	20	Okt-1-en-3-yl acetát	1,70 %
8	18,823	22	Endo-borneol	1,12 %
9	19,453	23	Lavandulol	0,19 %
10	20,021	24	Terpinen-4-ol	5,53 %
11	21,382	27	α-terpineol	7,96 %
12	27,481	30	Linalyl acetát	26,76 %
13	30,204	31	Lavandulyl acetát	7,57 %
14	35,470	32	3-Karen	1,95 %
15	36,859	33	Geranyl acetát	3,75 %
16	38,407	34	Karyophylen	2,72 %
17	41,495	36	β-Farnesen	1,65 %

Tabulka 4.17 Zastoupení obsahových látek ve směsném vzorku odrůdy *beta* 3345 C1

<b>Beta 3345 C1</b>				
Číslo	R <sub>t</sub>	Peak	Látka	Zastoupení
1	6,367	7	β-myrcen	1,39 %
2	8,032	13	D-limonen	0,59 %
3	8,162	14	Eukalyptol	1,72 %
4	8,538	15	Trans-β-ocimen	1,55 %
5	9,124	16	β-ocimene	2,00 %
6	13,208	21	Linalool	25,14 %
7	14,221	22	Okt-1-en-3-yl acetát	1,72 %
8	18,828	24	Endo-borneol	1,13 %
9	19,458	25	Lavandulol	0,20 %
10	20,049	26	Terpinen-4-ol	5,48 %
11	21,422	29	α-terpineol	7,84 %
12	27,520	32	Linalyl acetát	26,47 %
13	30,232	34	Lavandulyl acetát	7,44 %
14	35,481	35	3-Karen	1,97 %
15	36,871	36	Geranyl acetát	3,73 %
16	38,418	37	Karyophylen	2,68 %
17	41,501	40	β-Farnesen	1,65 %

Tabulka 4.18 Zastoupení obsahových látek ve směsném vzorku odrůdy *beta* 3345 C2

<b>Beta 3345 C2</b>				
Číslo	R <sub>t</sub>	Peak	Látka	Zastoupení
1	6,367	6	β-myrcen	1,33 %
2	8,027	12	D-limonen	0,57 %
3	8,156	13	Eukalyptol	1,69 %
4	8,533	14	Trans-β-ocimen	1,51 %
5	9,124	15	β-ocimene	1,97 %
6	13,146	19	Linalool	25,18 %
7	14,198	20	Okt-1-en-3-yl acetát	1,70 %
8	18,823	22	Endo-borneol	1,12 %
9	19,453	23	Lavandulol	0,19 %
10	20,021	24	Terpinen-4-ol	5,48 %
11	21,383	27	α-terpineol	7,91 %
12	27,476	30	Linalyl acetát	26,81 %
13	30,204	31	Lavandulyl acetát	7,55 %
14	35,470	32	3-Karen	1,98 %
15	36,860	33	Geranyl acetát	3,80 %
16	38,407	34	Karyophylen	2,73 %
17	41,495	37	β-Farnesen	1,67 %

**Příloha 5 Vyhodnocení průměrných zastoupení obsahových látek  
v primárních vzorcích a srovnání mezi odrůdami**

# ***$\beta$ -myrcene***

7-methyl-3-methylene-1,6-octadiene

**Tabulka 5.1.1** Zastoupení  $\beta$ -myrcenu v primárních vzorcích odrůdy *bílá* 3343

<b><math>\beta</math>-myrcen - bílá</b>					
Číslo	Vzorek	R <sub>t</sub>	Peak	Zastoupení	Průměrné zastoupení
1	3343A	6,395	6	0,44 %	0,47 %
2	3343B	6,395	5	0,54 %	
3	3343C	6,395	6	0,37 %	
4	3343D	6,395	6	0,48 %	
5	3343E	6,395	6	0,53 %	

**Tabulka 5.1.2** Zastoupení  $\beta$ -myrcenu v primárních vzorcích odrůdy *krajová* 3344

<b><math>\beta</math>-myrcen - krajová</b>					
Číslo	Vzorek	R <sub>t</sub>	Peak	Zastoupení	Průměrné zastoupení
1	3344A	6,389	4	0,64 %	0,78 %
2	3344B	6,395	8	0,86 %	
3	3344C	6,395	4	0,76 %	
4	3344D	6,395	3	0,74 %	
5	3344E	6,400	3	0,92 %	

**Tabulka 5.1.3** Zastoupení  $\beta$ -myrcenu v primárních vzorcích odrůdy *beta* 3345

<b><math>\beta</math>-myrcen - beta</b>					
Číslo	Vzorek	R <sub>t</sub>	Peak	Zastoupení	Průměrné zastoupení
1	3345A	6,384	8	1,24 %	1,17 %
2	3345B	6,395	5	1,08 %	
3	3345C	6,395	1	0,80 %	
4	3345D	6,395	5	1,13 %	
5	3345E	6,395	2	1,62 %	

**Tabulka 5.1** Průměrná zastoupení  $\beta$ -myrcenu v primárních vzorcích odrůd

<b><math>\beta</math>-myrcen</b>	
ODRŮDA	PRŮMĚRNÉ ZASTOUPENÍ
Bílá	0,47 %
Krajová	0,78 %
Beta	1,17 %

# *D-limonen*

1-methyl-4-prop-1-en-2-ylcyclohexene

Tabulka 5.2.1 Zastoupení D-limonenu v primárních vzorcích odrůdy *bílá* 3343

<b>D-limonen - bílá</b>					
Číslo	Vzorek	R <sub>t</sub>	Peak	Zastoupení	Průměrné zastoupení
1	3343A	8,077	10	0,99 %	1,30 %
2	3343B	8,083	6	2,19 %	
3	3343C	8,077	11	0,76 %	
4	3343D	8,077	11	1,03 %	
5	3343E	8,083	12	1,55 %	

Tabulka 5.2.2 Zastoupení D-limonenu v primárních vzorcích odrůdy *krajová* 3344

<b>D-limonen - krajová</b>					
Číslo	Vzorek	R <sub>t</sub>	Peak	Zastoupení	Průměrné zastoupení
1	3344A	8,066	8	0,44 %	0,48 %
2	3344B	8,066	14	0,55 %	
3	3344C	8,066	6	0,40 %	
4	3344D	8,066	5	0,45 %	
5	3344E	8,071	5	0,55 %	

Tabulka 5.2.3 Zastoupení D-limonenu v primárních vzorcích odrůdy *beta* 3345

<b>D-limonen - beta</b>					
Číslo	Vzorek	R <sub>t</sub>	Peak	Zastoupení	Průměrné zastoupení
1	3345A	8,049	16	0,48 %	0,45 %
2	3345B	8,066	9	0,42 %	
3	3345C	8,066	4	0,36 %	
4	3345D	8,066	10	0,44 %	
5	3345E	8,066	4	0,56 %	

Tabulka 5.2 Průměrná zastoupení D-limonenu v primárních vzorcích odrůd

<b>D-limonen</b>	
ODRŮDA	PRŮMĚRNÉ ZASTOUPENÍ
Bílá	1,30 %
Krajová	0,48 %
Beta	0,45 %

# *Eucalyptol*

2,2,4-trimethyl-3-oxabicyclo[2.2.2]octane

**Tabulka 5.3.1** Zastoupení eukalyptolu v primárních vzorcích odrůdy *bílá* 3343

<b>Eukalyptol - bílá</b>					
Číslo	Vzorek	R <sub>t</sub>	Peak	Zastoupení	Průměrné zastoupení
1	3343A	8,268	11	0,28 %	0,26 %
2	3343B	8,274	7	0,25 %	
3	3343C	8,268	12	0,23 %	
4	3343D	8,263	12	0,27 %	
5	3343E	8,263	13	0,26 %	

**Tabulka 5.3.2** Zastoupení eukalyptolu v primárních vzorcích odrůdy *krajová* 3344

<b>Eukalyptol - krajová</b>					
Číslo	Vzorek	R <sub>t</sub>	Peak	Zastoupení	Průměrné zastoupení
1	3344A	8,246	9	0,43 %	0,51 %
2	3344B	8,235	15	0,49 %	
3	3344C	8,263	7	0,66 %	
4	3344D	8,263	6	0,38 %	
5	3344E	8,268	6	0,60 %	

**Tabulka 5.3.3** Zastoupení eukalyptolu v primárních vzorcích odrůdy *beta* 3345

<b>Eukalyptol - beta</b>					
Číslo	Vzorek	R <sub>t</sub>	Peak	Zastoupení	Průměrné zastoupení
1	3345A	8,201	17	1,50 %	1,56 %
2	3345B	8,229	10	1,45 %	
3	3345C	8,235	5	1,67 %	
4	3345D	8,229	11	1,42 %	
5	3345E	8,240	5	1,75 %	

**Tabulka 5.3** Průměrná zastoupení eukalyptolu v primárních vzorcích odrůd

<b>Eukalyptol</b>	
ODRŮDA	PRŮMĚRNÉ ZASTOUPENÍ
Bílá	0,26 %
Krajová	0,51 %
Beta	1,56 %

# *Trans- $\beta$ -ocimene*

(3E)-3,7-dimethylocta-1,3,6-triene

Tabulka 5.4.1 Zastoupení trans- $\beta$ -ocimenu v primárních vzorcích odrůdy *bílá* 3343

<b>Trans-<math>\beta</math>-ocimen - bílá</b>					
Číslo	Vzorek	R <sub>t</sub>	Peak	Zastoupení	Průměrné zastoupení
1	3343A	8,572	12	1,88 %	1,38 %
2	3343B	8,567	8	0,67 %	
3	3343C	8,572	13	1,38 %	
4	3343D	8,567	13	1,75 %	
5	3343E	8,566	14	1,21 %	

Tabulka 5.4.2 Zastoupení trans- $\beta$ -ocimenu v primárních vzorcích odrůdy *krajová* 3344

<b>Trans-<math>\beta</math>-ocimen - krajová</b>					
Číslo	Vzorek	R <sub>t</sub>	Peak	Zastoupení	Průměrné zastoupení
1	3344A	8,567	10	2,02 %	2,42 %
2	3344B	8,572	16	2,20 %	
3	3344C	8,566	8	3,26 %	
4	3344D	8,567	7	1,85 %	
5	3344E	8,572	7	2,78 %	

Tabulka 5.4.3 Zastoupení trans- $\beta$ -ocimenu v primárních vzorcích odrůdy *beta* 3345

<b>Trans-<math>\beta</math>-ocimen - beta</b>					
Číslo	Vzorek	R <sub>t</sub>	Peak	Zastoupení	Průměrné zastoupení
1	3345A	8,555	18	1,62 %	1,61 %
2	3345B	8,567	11	1,59 %	
3	3345C	8,572	6	1,36 %	
4	3345D	8,566	12	1,49 %	
5	3345E	8,567	6	1,97 %	

Tabulka 5.4 Průměrná zastoupení trans- $\beta$ -ocimenu v primárních vzorcích odrůd

<b>Trans-<math>\beta</math>-ocimen</b>	
ODRŮDA	PRŮMĚRNÉ ZASTOUPENÍ
Bílá	1,38 %
Krajová	2,42 %
Beta	1,61 %



# ***$\beta$ -Ocimene***

3,7-dimethylocta-1,3,6-triene

**Tabulka 5.5.1** Zastoupení  $\beta$ -ocimenu v primárních vzorcích odrůdy *bílá* 3343

<b><math>\beta</math>-ocimene – bílá</b>					
Číslo	Vzorek	R <sub>t</sub>	Peak	Zastoupení	Průměrné zastoupení
1	3343A	9,157	13	1,41 %	1,47 %
2	3343B	9,157	9	2,07 %	
3	3343C	9,157	14	0,82 %	
4	3343D	9,157	14	1,14 %	
5	3343E	9,157	15	1,89 %	

**Tabulka 5.5.2** Zastoupení  $\beta$ -ocimenu v primárních vzorcích odrůdy *krajová* 3344

<b><math>\beta</math>-ocimene – krajová</b>					
Číslo	Vzorek	R <sub>t</sub>	Peak	Zastoupení	Průměrné zastoupení
1	3344A	9,152	11	1,17 %	1,56 %
2	3344B	9,157	17	1,39 %	
3	3344C	9,157	9	2,09 %	
4	3344D	9,157	8	1,21 %	
5	3344E	9,163	8	1,96 %	

**Tabulka 5.5.3** Zastoupení  $\beta$ -ocimenu v primárních vzorcích odrůdy *beta* 3345

<b><math>\beta</math>-ocimene – beta</b>					
Číslo	Vzorek	R <sub>t</sub>	Peak	Zastoupení	Průměrné zastoupení
1	3345A	9,146	19	2,32 %	2,35 %
2	3345B	9,157	12	2,34 %	
3	3345C	9,157	7	1,93 %	
4	3345D	9,157	13	2,18 %	
5	3345E	9,157	7	2,98 %	

**Tabulka 5.5** Průměrná zastoupení  $\beta$ -ocimenu v primárních vzorcích odrůd

<b><math>\beta</math>-ocimene</b>	
ODRŮDA	PRŮMĚRNÉ ZASTOUPENÍ
Bílá	1,47 %
Krajová	1,56 %
Beta	2,35 %

# Linalool

3,7-Dimethylocta-1,6-dien-3-ol

Tabulka 5.6.1 Zastoupení linaloolu v primárních vzorcích odrůdy *bílá* 3343

<b>Linalool – bílá</b>					
Číslo	Vzorek	R <sub>t</sub>	Peak	Zastoupení	Průměrné zastoupení
1	3343A	13,118	15	53,25 %	50,93 %
2	3343B	13,011	11	47,88 %	
3	3343C	13,118	16	51,69 %	
4	3343D	13,112	16	51,15 %	
5	3343E	13,129	18	50,66 %	

Tabulka 5.6.2 Zastoupení linaloolu v primárních vzorcích odrůdy *krajová* 3344

<b>Linalool – krajová</b>					
Číslo	Vzorek	R <sub>t</sub>	Peak	Zastoupení	Průměrné zastoupení
1	3344A	13,034	13	22,26 %	26,11 %
2	3344B	13,129	20	24,26 %	
3	3344C	12,960	10	29,80 %	
4	3344D	12,983	9	25,30 %	
5	3344E	12,966	9	28,94 %	

Tabulka 5.6.3 Zastoupení linaloolu v primárních vzorcích odrůdy *beta* 3345

<b>Linalool – beta</b>					
Číslo	Vzorek	R <sub>t</sub>	Peak	Zastoupení	Průměrné zastoupení
1	3345A	13,146	24	26,01 %	26,88 %
2	3345B	13,006	15	24,90 %	
3	3345C	12,989	9	23,81 %	
4	3345D	13,033	16	26,19 %	
5	3345E	12,977	9	33,47 %	

Tabulka 5.6 Průměrná zastoupení linaloolu v primárních vzorcích odrůd

<b>Linalool</b>	
ODRŮDA	PRŮMĚRNÉ ZASTOUPENÍ
Bílá	50,93 %
Krajová	26,11 %
Beta	26,88 %

# Oct-1-en-3-yl acetate

Oct-1-en-3-yl acetate

Tabulka 5.7.1 Zastoupení okt-1-en-3-yl acetátu v primárních vzorcích odrůdy *bílá* 3343

<b>Okt-1-en-3-yl acetát - bílá</b>					
Číslo	Vzorek	R <sub>t</sub>	Peak	Zastoupení	Průměrné zastoupení
1	3343A	14,282	16	0,53 %	0,48 %
2	3343B	14,283	12	0,44 %	
3	3343C	14,294	17	0,43 %	
4	3343D	14,283	17	0,43 %	
5	3343E	14,277	19	0,57 %	

Tabulka 5.7.2 Zastoupení okt-1-en-3-yl acetátu v primárních vzorcích odrůdy *krajová* 3344

<b>Okt-1-en-3-yl acetát - krajová</b>					
Číslo	Vzorek	R <sub>t</sub>	Peak	Zastoupení	Průměrné zastoupení
1	3344A	14,254	14	1,14 %	1,02 %
2	3344B	14,260	21	1,16 %	
3	3344C	14,271	11	0,83 %	
4	3344D	14,260	10	0,98 %	
5	3344E	14,266	10	1,01 %	

Tabulka 5.7.3 Zastoupení okt-1-en-3-yl acetátu v primárních vzorcích odrůdy *beta* 3345

<b>Okt-1-en-3-yl acetát – beta</b>					
Číslo	Vzorek	R <sub>t</sub>	Peak	Zastoupení	Průměrné zastoupení
1	3345A	14,238	25	1,58 %	1,47 %
2	3345B	14,249	14	1,44 %	
3	3345C	14,260	10	1,32 %	
4	3345D	14,249	17	1,43 %	
5	3345E	14,254	10	1,57 %	

Tabulka 5.7 Průměrná zastoupení okt-1-en-3-yl acetátu v primárních vzorcích

<b>Okt-1-en-3-yl acetát</b>	
ODRŮDA	PRŮMĚRNÉ ZASTOUPENÍ
Bílá	0,48 %
Krajová	1,02 %
Beta	1,47 %

# *Endo-borneol*

(1S-endo)-1,7,7-trimethyl-Bicyclo[2.2.1]heptan-2-ol

Tabulka 5.8.1 Zastoupení endo-borneolu v primárních vzorcích odrůdy *bílá* 3343

<b>Endo-borneol - bílá</b>					
Číslo	Vzorek	R <sub>t</sub>	Peak	Zastoupení	Průměrné zastoupení
1	3343A	18,952	17	0,58 %	0,39 % (ze 4 vzorků) 0,31 % (z 5 vzorků)
2	3343B	nedetekováno			
3	3343C	18,963	18	0,27 %	
4	3343D	18,969	18	0,27 %	
5	3343E	18,963	20	0,43 %	

Tabulka 5.8.2 Zastoupení endo-borneolu v primárních vzorcích odrůdy *krajová* 3344

<b>Endo-borneol - krajová</b>					
Číslo	Vzorek	R <sub>t</sub>	Peak	Zastoupení	Průměrné zastoupení
1	3344A	18,913	16	1,17 %	1,07 %
2	3344B	18,896	25	1,37 %	
3	3344C	18,963	12	0,73 %	
4	3344D	18,935	11	1,02 %	
5	3344E	18,952	11	1,07 %	

Tabulka 5.8.3 Zastoupení endo-borneolu v primárních vzorcích odrůdy *beta* 3345

<b>Endo-borneol - beta</b>					
Číslo	Vzorek	R <sub>t</sub>	Peak	Zastoupení	Průměrné zastoupení
1	3345A	18,885	27	1,06 %	0,98 %
2	3345B	18,924	17	0,88 %	
3	3345C	18,930	11	1,13 %	
4	3345D	18,924	19	0,95 %	
5	3345E	18,941	11	0,86 %	

Tabulka 5.8 Průměrná zastoupení endo-borneolu v primárních vzorcích odrůd

<b>Endo-borneol</b>	
ODRŮDA	PRŮMĚRNÉ ZASTOUPENÍ
Bílá	0,39 % (ze 4 vzorků) 0,31 % (z 5 vzorků)
Krajová	1,07 %
Beta	0,98 %

# Lavandulol

5-methyl-2-(1-methylethenyl)-4-hexen-1-ol

Tabulka 5.9.1 Zastoupení lavandulolu v primárních vzorcích odrůdy *bílá* 3343

Lavandulol – bílá					
Číslo	Vzorek	R <sub>t</sub>	Peak	Zastoupení	Průměrné zastoupení
1	3343A	19,503	18	3,73 %	3,45 %
2	3343B	19,515	13	3,04 %	
3	3343C	19,509	19	3,54 %	
4	3343D	19,503	19	3,36 %	
5	3343E	19,503	21	3,57 %	

Tabulka 5.9.2 Zastoupení lavandulolu v primárních vzorcích odrůdy *krajová* 3344

Lavandulol – krajová					
Číslo	Vzorek	R <sub>t</sub>	Peak	Zastoupení	Průměrné zastoupení
1	3344A	19,515	17	1,11 %	0,94 %
2	3344B	19,503	26	1,16 %	
3	3344C	19,560	13	0,62 %	
4	3344D	19,532	12	1,00 %	
5	3344E	19,554	12	0,82 %	

Tabulka 5.9.3 Zastoupení lavandulolu v primárních vzorcích odrůdy *beta* 3345

Lavandulol – beta					
Číslo	Vzorek	R <sub>t</sub>	Peak	Zastoupení	Průměrné zastoupení
1	3345A	19,543	28	0,17 %	0,03 % (z 5 vzorků) 0,17 % (3345A)
2	3345B		nedetekováno		
3	3345C		nedetekováno		
4	3345D		nedetekováno		
5	3345E		nedetekováno		

Tabulka 5.9 Průměrná zastoupení lavandulolu v primárních vzorcích odrůd

Lavandulol	
ODRŮDA	PRŮMĚRNÉ ZASTOUPENÍ
Bílá	3,45 %
Krajová	0,94 %
Beta	0,03 % (z 5 vzorků) 0,17 % (3345A)

# Terpinen-4-ol

(1S)-4-methyl-1-propan-2-ylcyclohex-3-en-1-ol

Tabulka 5.10.1 Zastoupení terpinen-4-olu v primárních vzorcích odrůdy *bílá* 3343

Terpinen-4-ol – bílá					
Číslo	Vzorek	R <sub>t</sub>	Peak	Zastoupení	Průměrné zastoupení
1	3343A	20,066	19	11,35 %	13,04 %
2	3343B	20,049	14	15,79 %	
3	3343C	20,072	20	12,36 %	
4	3343D	20,066	20	11,51 %	
5	3343E	20,083	22	14,21 %	

Tabulka 5.10.2 Zastoupení terpinen-4-olu v primárních vzorcích odrůdy *krajová* 3344

Terpinen-4-ol – krajová					
Číslo	Vzorek	R <sub>t</sub>	Peak	Zastoupení	Průměrné zastoupení
1	3344A	20,049	18	3,03 %	3,09 %
2	3344B	20,049	27	2,95 %	
3	3344C	20,072	14	3,20 %	
4	3344D	20,060	13	3,15 %	
5	3344E	20,072	13	3,14 %	

Tabulka 5.10.3 Zastoupení terpinen-4-olu v primárních vzorcích odrůdy *beta* 3345

Terpinen-4-ol – beta					
Číslo	Vzorek	R <sub>t</sub>	Peak	Zastoupení	Průměrné zastoupení
1	3345A	20,061	29	5,53 %	5,67 %
2	3345B	20,049	18	5,71 %	
3	3345C	20,049	12	5,21 %	
4	3345D	20,043	20	5,59 %	
5	3345E	20,049	12	6,30 %	

Tabulka 5.10 Průměrná zastoupení terpinen-4-olu v primárních vzorcích

Terpinen-4-ol	
ODRŮDA	PRŮMĚRNÉ ZASTOUPENÍ
Bílá	13,04 %
Krajová	3,09 %
Beta	5,67 %

# ***$\alpha$ -terpineol***

2-(4-methylcyclohex-3-en-1-yl)propan-2-ol

**Tabulka 5.11.1** Zastoupení  $\alpha$ -terpineolu v primárních vzorcích odrůdy *bílá* 3343

<b><math>\alpha</math>-terpineol – bílá</b>					
Číslo	Vzorek	R <sub>t</sub>	Peak	Zastoupení	Průměrné zastoupení
1	3343A	21,377	21	2,77 %	2,55 %
2	3343B	21,399	16	2,26 %	
3	3343C	21,377	22	2,68 %	
4	3343D	21,388	22	2,13 %	
5	3343E	21,377	24	2,90 %	

**Tabulka 5.11.2** Zastoupení  $\alpha$ -terpineolu v primárních vzorcích odrůdy *krajová* 3344

<b><math>\alpha</math>-terpineol – krajová</b>					
Číslo	Vzorek	R <sub>t</sub>	Peak	Zastoupení	Průměrné zastoupení
1	3344A	21,366	20	5,49 %	6,00 %
2	3344B	21,399	30	6,70 %	
3	3344C	21,382	15	5,27 %	
4	3344D	21,360	15	6,86 %	
5	3344E	21,377	14	5,68 %	

**Tabulka 5.11.3** Zastoupení  $\alpha$ -terpineolu v primárních vzorcích odrůdy *beta* 3345

<b><math>\alpha</math>-terpineol – beta</b>					
Číslo	Vzorek	R <sub>t</sub>	Peak	Zastoupení	Průměrné zastoupení
1	3345A	21,416	32	8,58 %	8,62 %
2	3345B	21,360	19	7,59 %	
3	3345C	21,360	13	7,55 %	
4	3345D	21,365	21	8,84 %	
5	3345E	21,360	13	10,56 %	

**Tabulka 5.11** Průměrná zastoupení  $\alpha$ -terpineolu v primárních vzorcích odrůd

<b><math>\alpha</math>-Terpineol</b>	
ODRŮDA	PRŮMĚRNÉ ZASTOUPENÍ
Bílá	2,55 %
Krajová	6,00 %
Beta	8,62 %

# Linalyl acetate

3,7-Dimethylocta-1,6-dien-3-yl acetate

Tabulka 5.12.1 Zastoupení linalyl acetátu v primárních vzorcích odrůdy *bílá* 3343

<b>Linalyl acetát – bílá</b>					
Číslo	Vzorek	R <sub>t</sub>	Peak	Zastoupení	Průměrné zastoupení
1	3343A	27,335	25	6,38 %	7,03 %
2	3343B	27,329	19	7,90 %	
3	3343C	27,335	26	7,06 %	
4	3343D	27,340	26	8,13 %	
5	3343E	27,335	28	5,69 %	

Tabulka 5.12.2 Zastoupení linalyl acetátu v primárních vzorcích odrůdy *krajová* 3344

<b>Linalyl acetát – krajová</b>					
Číslo	Vzorek	R <sub>t</sub>	Peak	Zastoupení	Průměrné zastoupení
1	3344A	27,402	24	24,56 %	21,50 %
2	3344B	27,436	35	19,39 %	
3	3344C	27,340	16	24,36 %	
4	3344D	27,346	19	17,19 %	
5	3344E	27,340	15	22,02 %	

Tabulka 5.12.3 Zastoupení linalyl acetátu v primárních vzorcích odrůdy *beta* 3345

<b>Linalyl acetát – beta</b>					
Číslo	Vzorek	R <sub>t</sub>	Peak	Zastoupení	Průměrné zastoupení
1	3345A	27,487	36	26,26 %	27,56 %
2	3345B	27,391	21	30,83 %	
3	3345C	27,380	15	31,85 %	
4	3345D	27,402	24	27,79 %	
5	3345E	27,340	15	21,05 %	

Tabulka 5.12 Průměrná zastoupení linalyl acetátu v primárních vzorcích odrůd

<b>Linalyl acetát</b>	
ODRŮDA	PRŮMĚRNÉ ZASTOUPENÍ
Bílá	7,03 %
Krajová	21,50 %
Beta	27,56 %



## *Lavandulyl acetate*

(5-methyl-2-prop-1-en-2-ylhex-4-enyl) acetate

Tabulka 5.13.1 Zastoupení lavandulyl acetátu v primárních vzorcích odrůdy *bílá* 3343

<b>Lavandulyl acetát – bílá</b>					
Číslo	Vzorek	R <sub>t</sub>	Peak	Zastoupení	Průměrné zastoupení
1	3343A	30,204	26	6,97 %	6,76 %
2	3343B	30,204	20	7,07 %	
3	3343C	30,204	27	6,54 %	
4	3343D	30,204	27	6,15 %	
5	3343E	30,210	29	7,09 %	

Tabulka 5.13.2 Zastoupení lavandulyl acetátu v primárních vzorcích odrůdy *krajová* 3344

<b>Lavandulyl acetát – krajová</b>					
Číslo	Vzorek	R <sub>t</sub>	Peak	Zastoupení	Průměrné zastoupení
1	3344A	30,266	26	25,28 %	24,31 %
2	3344B	30,328	37	24,51 %	
3	3344C	30,204	17	19,35 %	
4	3344D	30,232	20	28,51 %	
5	3344E	30,204	16	23,92 %	

Tabulka 5.13.3 Zastoupení lavandulyl acetátu v primárních vzorcích odrůdy *beta* 3345

<b>Lavandulyl acetát – beta</b>					
Číslo	Vzorek	R <sub>t</sub>	Peak	Zastoupení	Průměrné zastoupení
1	3345A	30,238	38	7,35 %	7,86 %
2	3345B	30,204	22	8,03 %	
3	3345C	30,204	16	8,35 %	
4	3345D	30,210	25	8,10 %	
5	3345E	30,198	16	7,49 %	

Tabulka 5.13 Průměrná zastoupení lavandulyl acetátu v primárních vzorcích odrůd

<b>Lavandulyl acetát</b>	
ODRŮDA	PRŮMĚRNÉ ZASTOUPENÍ
Bílá	6,76 %
Krajová	24,31 %
Beta	7,96 %

## 3-carene

3,7,7-trimethyl-bicyclo[4.1.0]hept-3-en

Tabulka 5.14.1 Zastoupení 3-karenu v primárních vzorcích odrůdy *bílá* 3343

<b>3-Karen - bílá</b>					
Číslo	Vzorek	R <sub>t</sub>	Peak	Zastoupení	Průměrné zastoupení
1	3343A	35,532	27	0,55 %	0,51 %
2	3343B	35,537	21	0,39 %	
3	3343C	35,532	28	0,58 %	
4	3343D	35,532	28	0,46 %	
5	3343E	35,526	30	0,58 %	

Tabulka 5.14.2 Zastoupení 3-karenu v primárních vzorcích odrůdy *krajová* 3344

<b>3-Karen - krajová</b>					
Číslo	Vzorek	R <sub>t</sub>	Peak	Zastoupení	Průměrné zastoupení
1	3344A	35,526	27	1,18 %	1,26 %
2	3344B	35,526	38	1,51 %	
3	3344C	35,532	18	1,03 %	
4	3344D	35,526	21	1,67 %	
5	3344E	35,532	17	0,91 %	

Tabulka 5.14.3 Zastoupení 3-karenu v primárních vzorcích odrůdy *beta* 3345

<b>3-Karen - beta</b>					
Číslo	Vzorek	R <sub>t</sub>	Peak	Zastoupení	Průměrné zastoupení
1	3345A	35,521	39	1,98 %	1,80 %
2	3345B	35,526	23	1,65 %	
3	3345C	35,526	17	1,73 %	
4	3345D	35,526	26	1,98 %	
5	3345E	35,526	17	1,65 %	

Tabulka 5.14 Průměrná zastoupení 3-karenu v primárních vzorcích odrůd

<b>3-Karen</b>	
ODRŮDA	PRŮMĚRNÉ ZASTOUPENÍ
Bílá	0,51 %
Krajová	1,26 %
Beta	1,80 %

# Geranyl acetate

[(2E)-3,7-dimethylocta-2,6-dienyl] acetate

Tabulka 5.15.1 Zastoupení geranyl acetátu v primárních vzorcích odrůdy *bílá* 3343

Geranyl acetát – bílá					
Číslo	Vzorek	R <sub>t</sub>	Peak	Zastoupení	Průměrné zastoupení
1	3343A	36,888	28	1,07 %	1,03 %
2	3343B	36,899	22	0,87 %	
3	3343C	36,888	29	1,16 %	
4	3343D	36,893	29	0,90 %	
5	3343E	36,888	31	1,17 %	

Tabulka 5.15.2 Zastoupení geranyl acetátu v primárních vzorcích odrůdy *krajová* 3344

Geranyl acetát – krajová					
Číslo	Vzorek	R <sub>t</sub>	Peak	Zastoupení	Průměrné zastoupení
1	3344A	36,888	28	2,30 %	2,54 %
2	3344B	36,893	39	2,85 %	
3	3344C	36,888	19	2,21 %	
4	3344D	36,882	22	3,43 %	
5	3344E	36,893	18	1,92 %	

Tabulka 5.15.3 Zastoupení geranyl acetátu v primárních vzorcích odrůdy *beta* 3345

Geranyl acetát – beta					
Číslo	Vzorek	R <sub>t</sub>	Peak	Zastoupení	Průměrné zastoupení
1	3345A	36,905	40	3,79 %	3,64 %
2	3345B	36,882	24	3,41 %	
3	3345C	36,888	18	3,56 %	
4	3345D	36,893	27	3,99 %	
5	3345E	36,888	18	3,45 %	

Tabulka 5.15 Průměrná zastoupení geranyl acetátu v primárních vzorcích odrůd

Geranyl acetát	
ODRŮDA	PRŮMĚRNÉ ZASTOUPENÍ
Bílá	1,03 %
Krajová	2,54 %
Beta	3,64 %

# *Caryophyllene*

(1R,4E,9S)-4,11,11-trimethyl-8-methylidenebicyclo[7.2.0]undec-4-ene

Tabulka 5.16.1 Zastoupení karyophyleny v primárních vzorcích odrůdy *bílá* 3343

<b>Karyophylen – bílá</b>					
Číslo	Vzorek	R <sub>t</sub>	Peak	Zastoupení	Průměrné zastoupení
1	3343A	38,435	30	1,37 %	1,59 %
2	3343B	38,435	24	1,41 %	
3	3343C	38,435	31	1,97 %	
4	3343D	38,435	31	2,22 %	
5	3343E	38,435	33	0,99 %	

Tabulka 5.16.2 Zastoupení karyophyleny v primárních vzorcích odrůdy *krajová* 3344

<b>Karyophylen – krajová</b>					
Číslo	Vzorek	R <sub>t</sub>	Peak	Zastoupení	Průměrné zastoupení
1	3344A	38,435	29	1,32 %	1,26 %
2	3344B	38,440	40	1,05 %	
3	3344C	38,435	20	1,52 %	
4	3344D	38,429	23	1,29 %	
5	3344E	38,435	19	1,11 %	

Tabulka 5.16.3 Zastoupení karyophyleny v primárních vzorcích odrůdy *beta* 3345

<b>Karyophylen – beta</b>					
Číslo	Vzorek	R <sub>t</sub>	Peak	Zastoupení	Průměrné zastoupení
1	3345A	38,446	41	2,51 %	2,73 %
2	3345B	38,435	25	3,18 %	
3	3345C	38,441	19	3,58 %	
4	3345D	38,440	28	2,65 %	
5	3345E	38,435	19	1,75 %	

Tabulka 5.16 Průměrná zastoupení karyophyleny v primárních vzorcích odrůd

<b>Karyophylen</b>	
ODRŮDA	PRŮMĚRNÉ ZASTOUPENÍ
Bílá	1,59 %
Krajová	1,26 %
Beta	2,73 %

# $\beta$ -Farnesene

(6Z)-7,11-Dimethyl-3-methylene-1,6,10-dodecatriene

Tabulka 5.17.1 Zastoupení  $\beta$ -farnesenu v primárních vzorcích odrůdy *bílá* 3343

<b><math>\beta</math>-farnesen – bílá</b>					
Číslo	Vzorek	R <sub>t</sub>	Peak	Zastoupení	Průměrné zastoupení
1	3343A	41,546	31	1,60 %	2,38 %
2	3343B	41,546	25	3,09 %	
3	3343C	41,546	33	2,57 %	
4	3343D	41,546	33	3,05 %	
5	3343E	41,546	34	1,61 %	

Tabulka 5.17.2 Zastoupení  $\beta$ -farnesenu v primárních vzorcích odrůdy *krajová* 3344

<b><math>\beta</math>-farnesen – krajová</b>					
Číslo	Vzorek	R <sub>t</sub>	Peak	Zastoupení	Průměrné zastoupení
1	3344A	41,540	31	0,71 %	0,43 % (v 5 vzorcích) 0,54 % (ve 4 vzorcích)
2	3344B	41,540	43	0,56 %	
3	3344C	41,546	22	0,34 %	
4	3344D	41,540	25	0,53 %	
5	3344E	nedetekováno			

Tabulka 5.17.3 Zastoupení  $\beta$ -farnesenu v primárních vzorcích odrůdy *beta* 3345

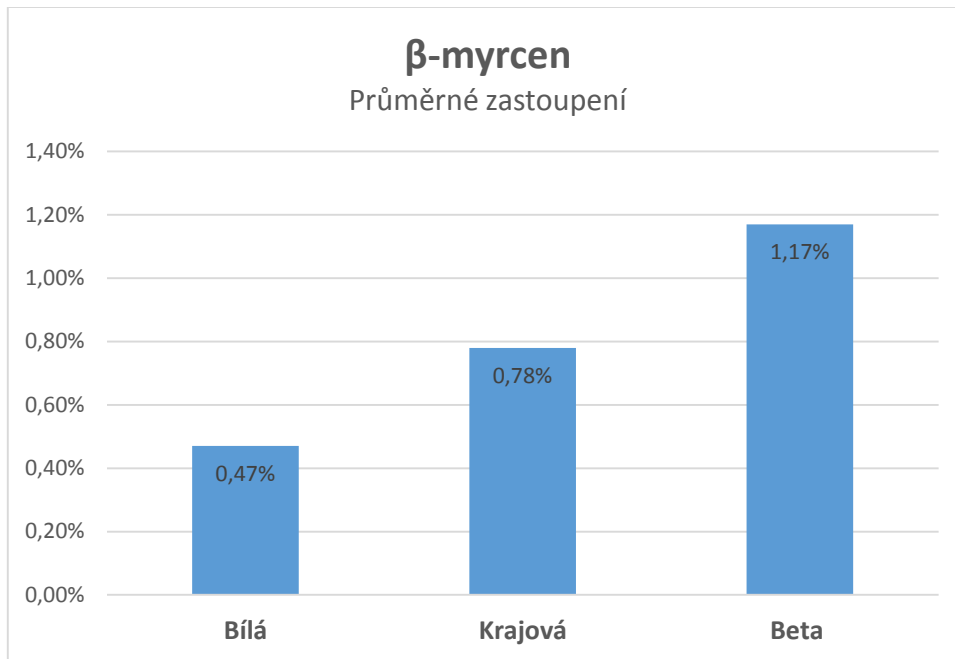
<b><math>\beta</math>-farnesen – beta</b>					
Číslo	Vzorek	R <sub>t</sub>	Peak	Zastoupení	Průměrné zastoupení
1	3345A	41,540	44	1,38 %	1,35 %
2	3345B	41,540	27	1,59 %	
3	3345C	41,546	21	1,90 %	
4	3345D	41,540	30	1,31 %	
5	3345E	41,546	20	0,56 %	

Tabulka 5.17 Průměrná zastoupení  $\beta$ -farnesenu v primárních vzorcích odrůd

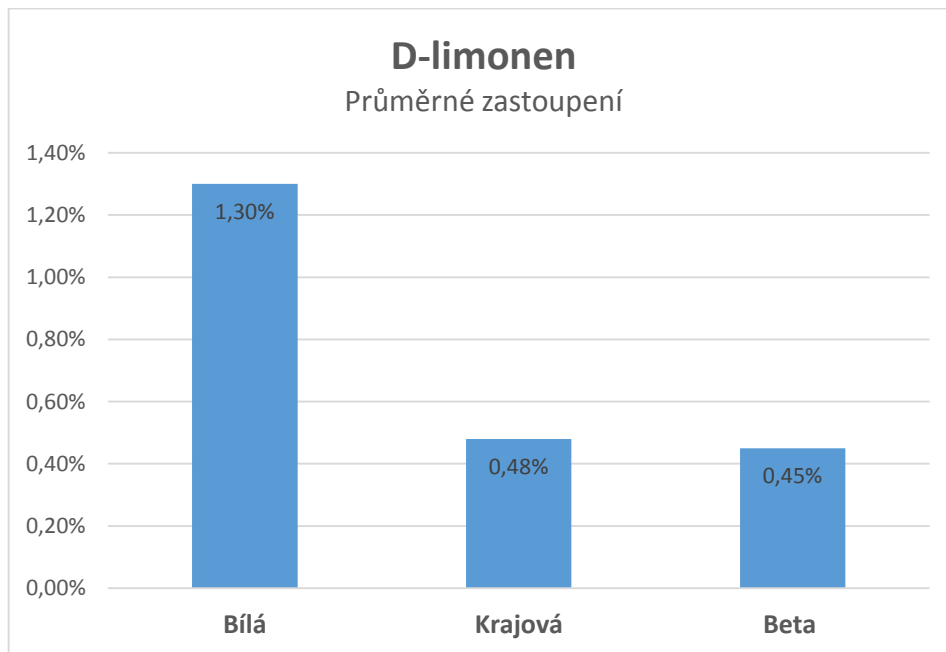
<b><math>\beta</math>-farnesen</b>	
ODRŮDA	PRŮMĚRNÉ ZASTOUPENÍ
Bílá	2,38 %
Krajová	0,43 % (v 5 vzorcích) 0,54 % (ve 4 vzorcích)
Beta	1,35 %

**Příloha 6 Grafy srovnání průměrných zastoupení obsahových látek  
v primárních vzorcích mezi jednotlivými odrůdami**

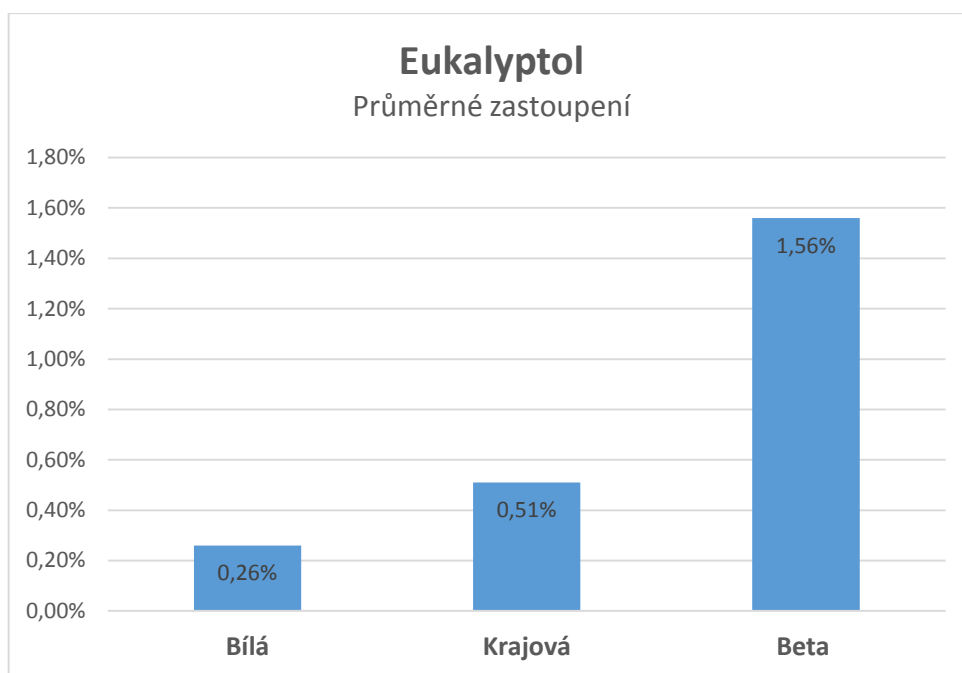
**Graf 6.1** Průměrná zastoupení  $\beta$ -myrcenu v primárních vzorcích odrůd



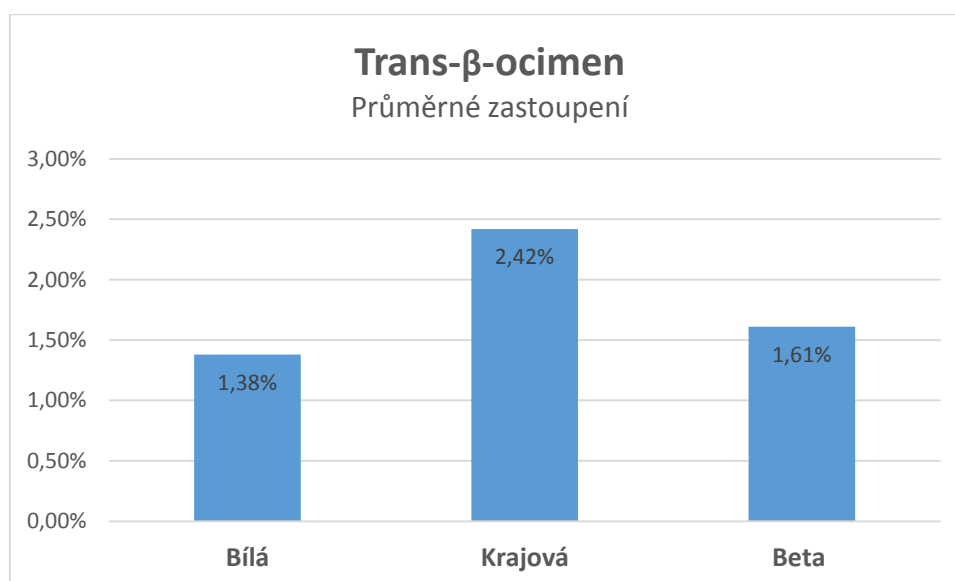
**Tabulka 6.2** Průměrná zastoupení D-limonenu v primárních vzorcích odrůd



**Tabulka 6.3** Průměrná zastoupení eukalyptolu v primárních vzorcích odrůd

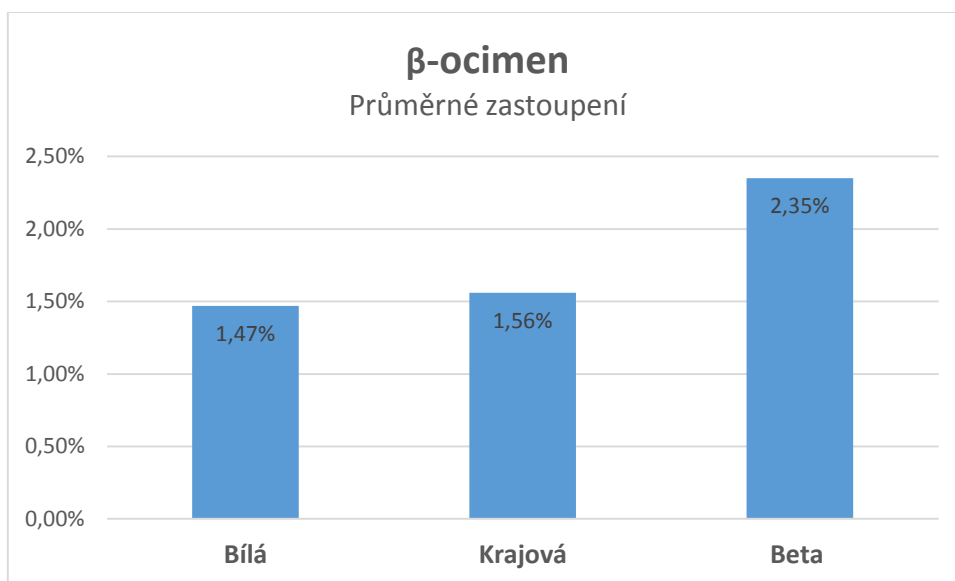


**Tabulka 6.4** Průměrná zastoupení trans- $\beta$ -ocimenu v primárních vzorcích odrůd

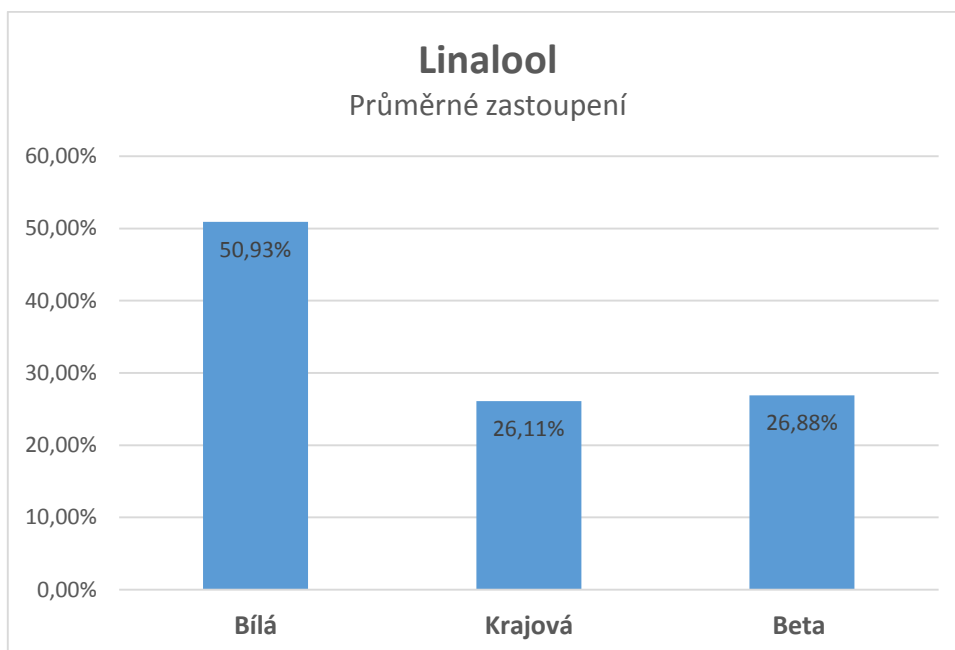




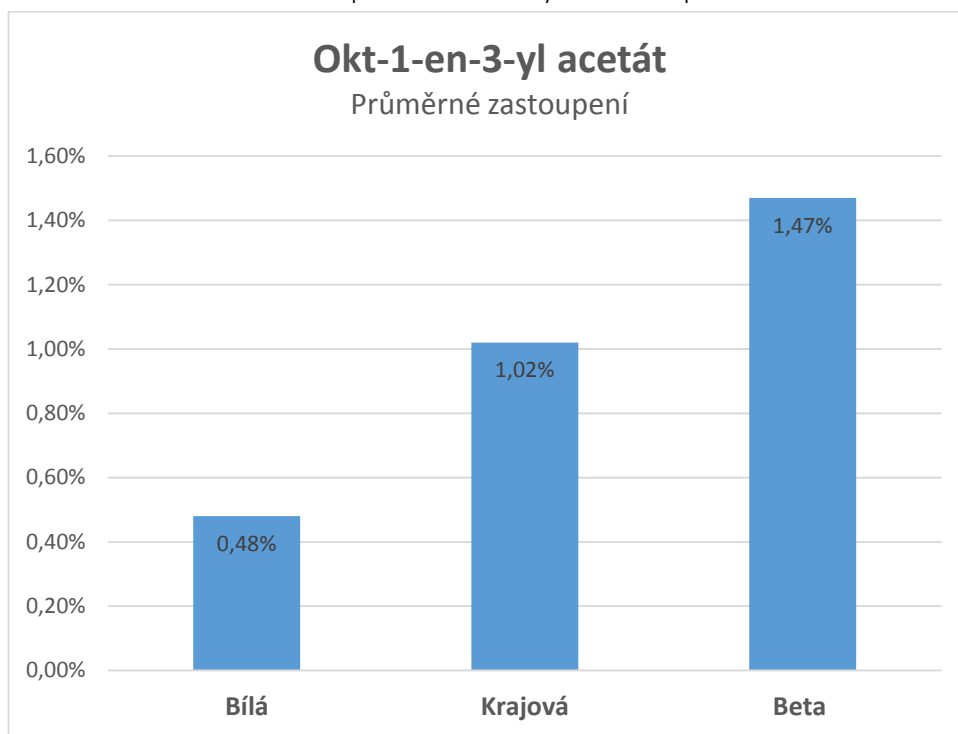
**Tabulka 6.5** Průměrná zastoupení  $\beta$ -ocimenu v primárních vzorcích odrůd



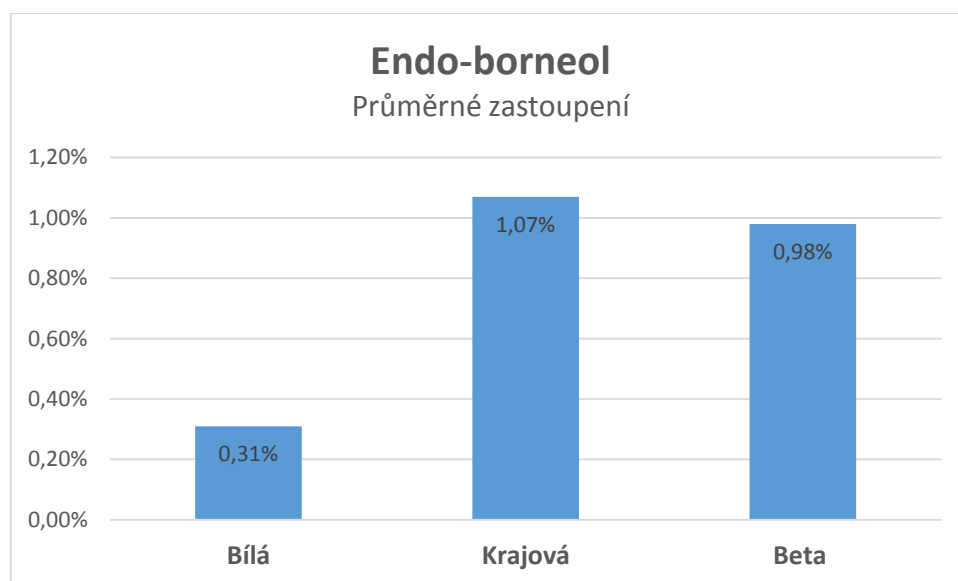
**Tabulka 6.6** Průměrná zastoupení linaloolu v primárních vzorcích odrůd



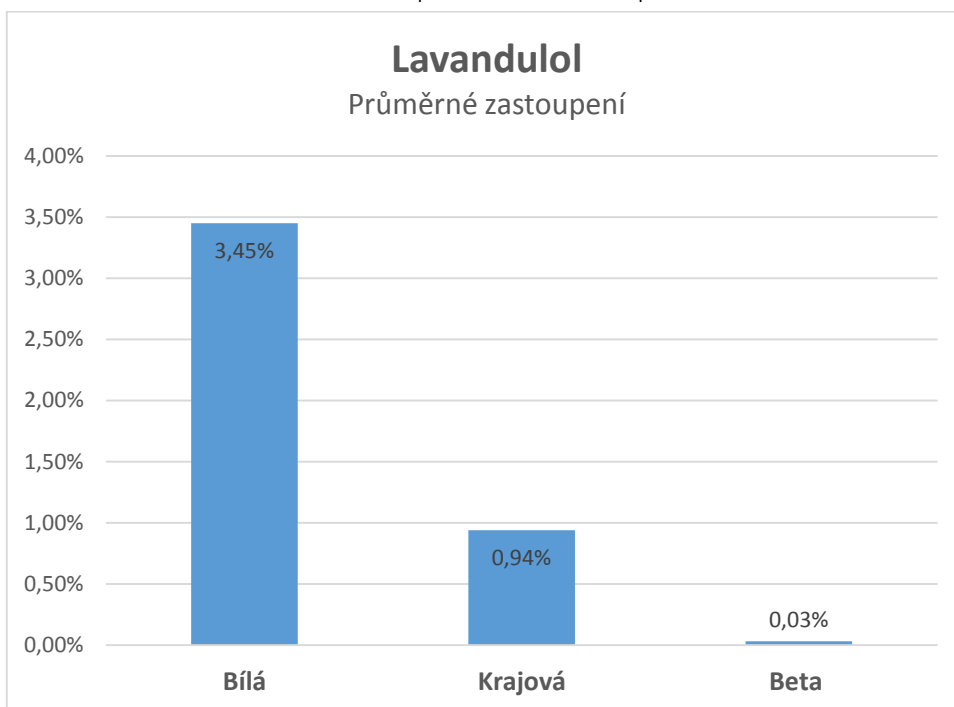
Tabulka 6.7 Průměrná zastoupení okt-1-en-3-yl acetátu v primárních vzorcích odrůd



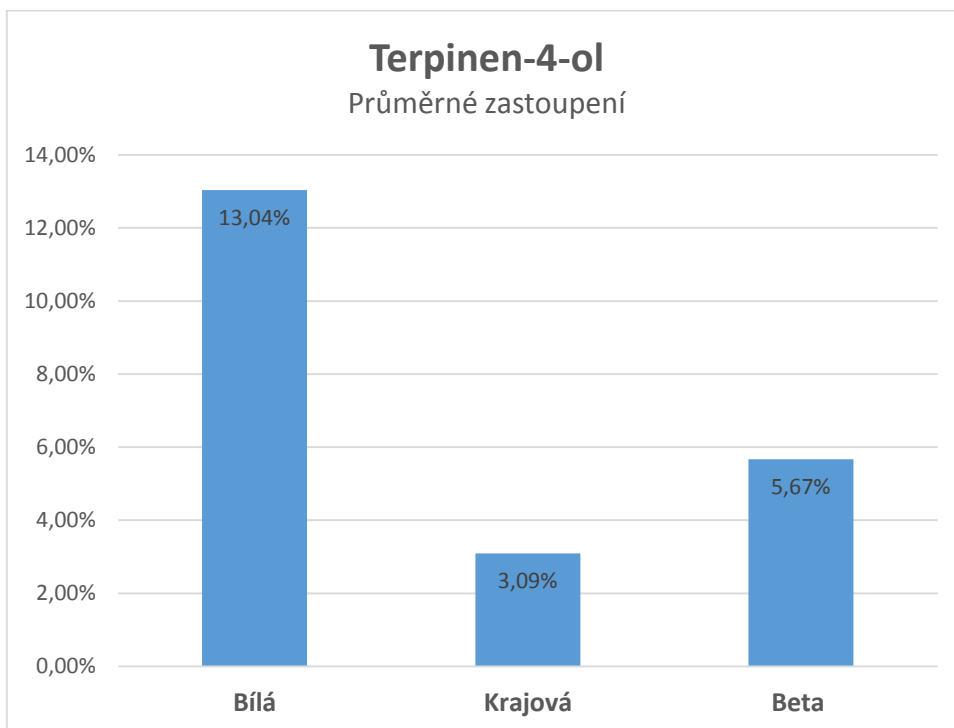
Tabulka 6.8 Průměrná zastoupení endo-borneolu v primárních vzorcích odrůd



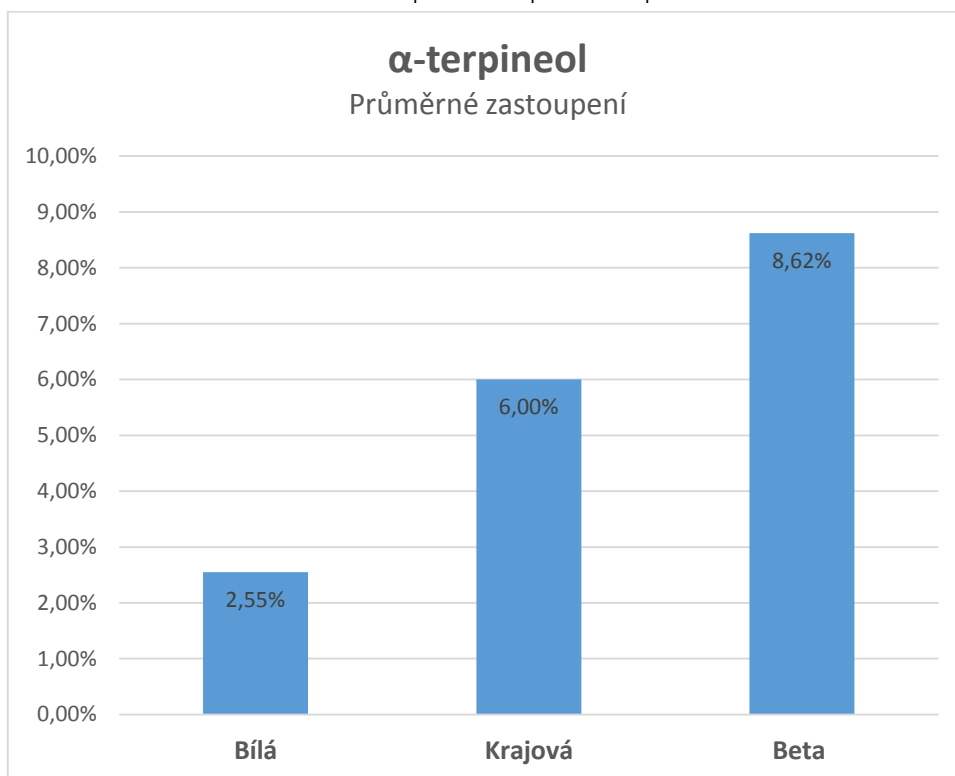
**Tabulka 6.9** Průměrná zastoupení lavandulolu v primárních vzorcích odrůd



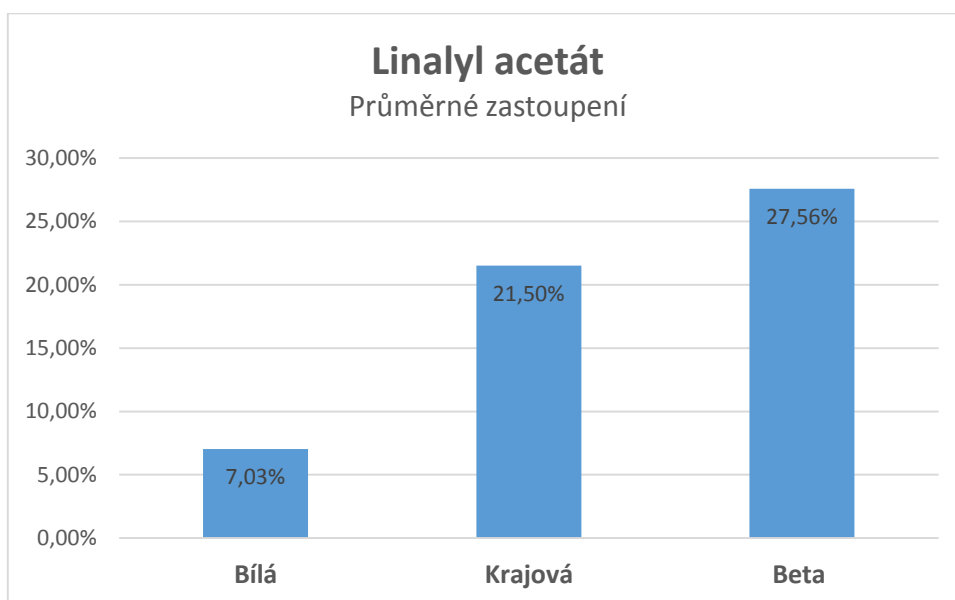
**Tabulka 6.10** Průměrná zastoupení terpinen-4-olu v primárních vzorcích odrůd



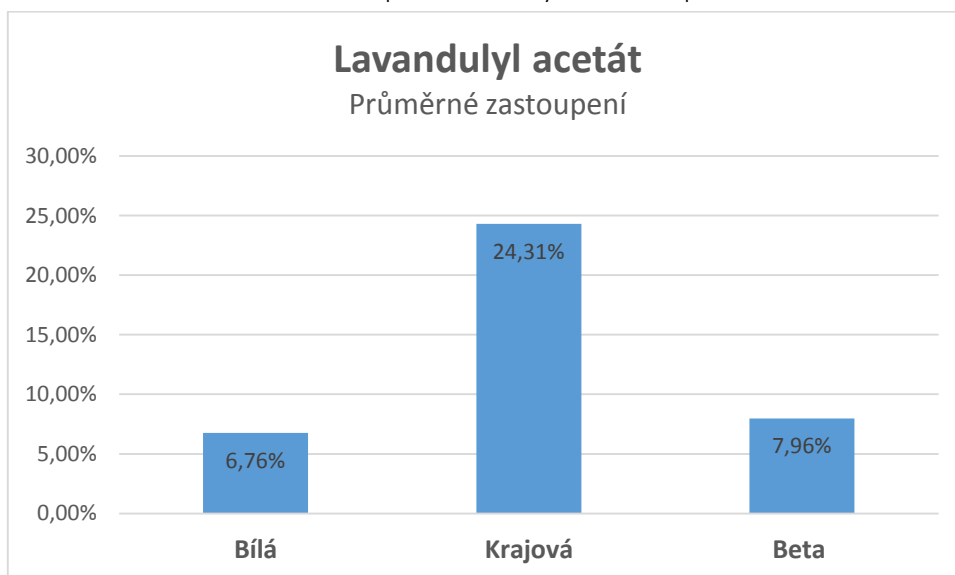
**Tabulka 6.11** Průměrná zastoupení  $\alpha$ -terpineolu v primárních vzorcích odrůd



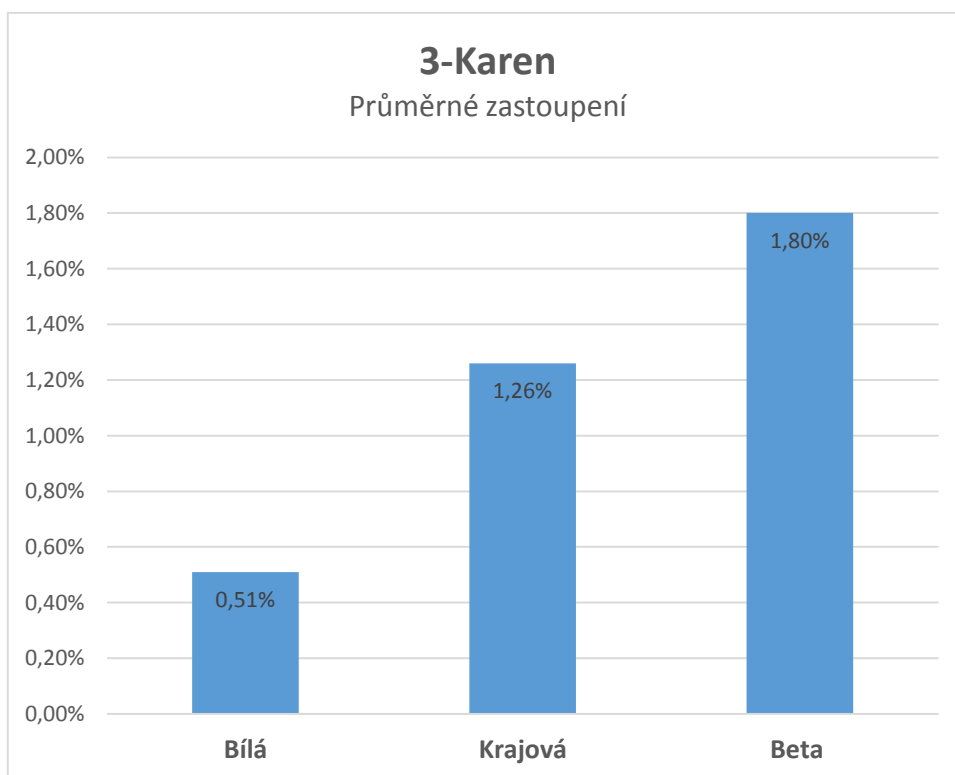
**Tabulka 6.12** Průměrná zastoupení linalyl acetátu v primárních vzorcích odrůd



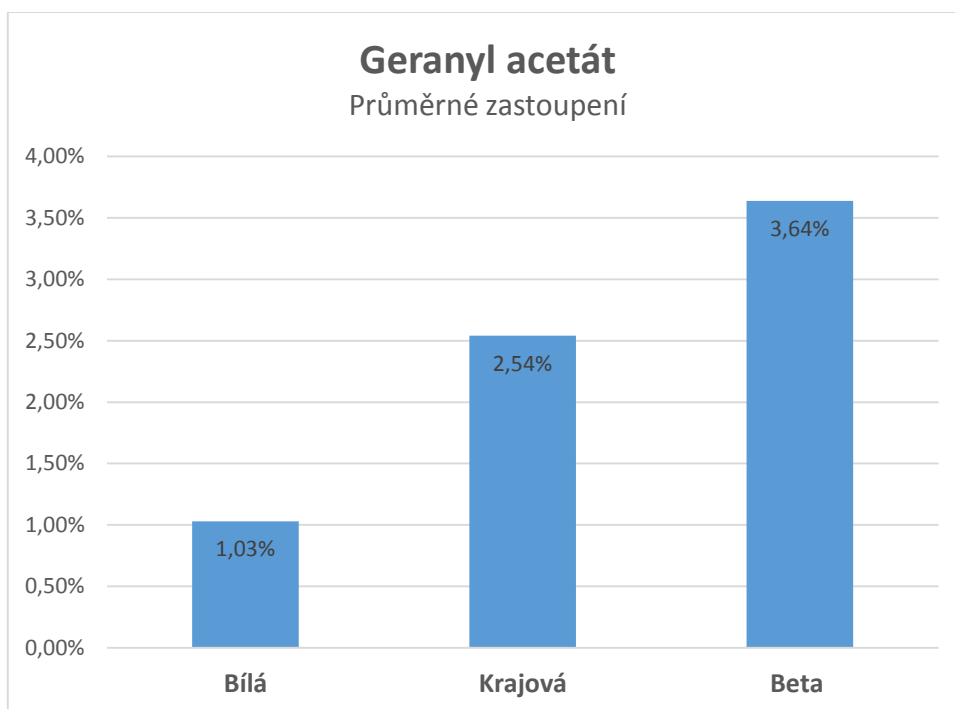
**Tabulka 6.13** Průměrná zastoupení lavandulyl acetátu v primárních vzorcích odrůd



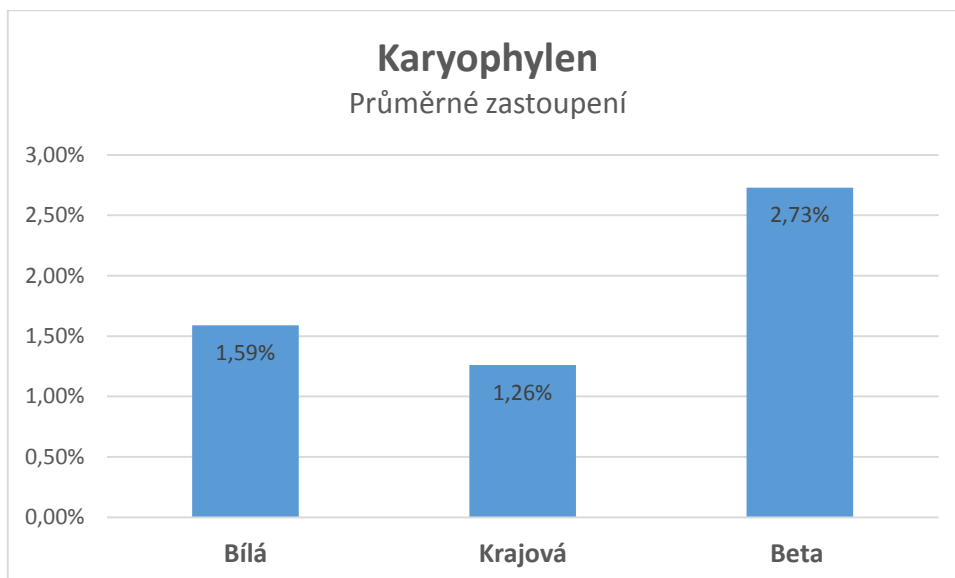
**Tabulka 6.14** Průměrná zastoupení 3-karenu v primárních vzorcích odrůd



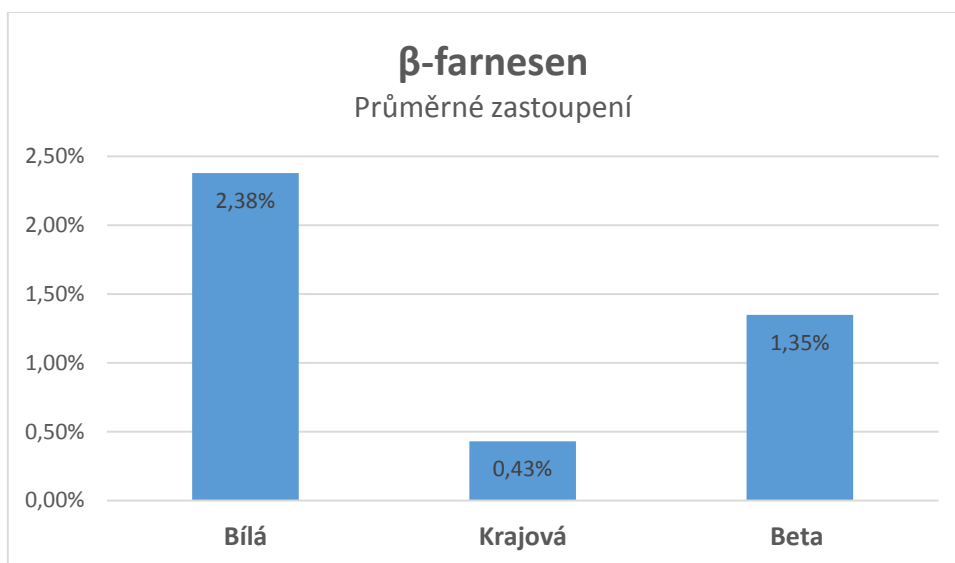
**Tabulka 6.15** Průměrná zastoupení geranyl acetátu v primárních vzorcích odrůd



**Tabulka 6.16** Průměrná zastoupení karyophylenu v primárních vzorcích odrůd



**Tabulka 6.17** Průměrná zastoupení  $\beta$ -farnesenu v primárních vzorcích odrůd



**Příloha 7 Vyhodnocení průměrných zastoupení obsahových látek ve směsných vzorcích a srovnání mezi odrůdami**



# *$\beta$ -myrcene*

7-methyl-3-methylene-1,6-octadiene

Tabulka 7.1.1 Zastoupení  $\beta$ -myrcenu ve směsných vzorcích odrůdy *bílá* 3343

<b><math>\beta</math>-myrcen – bílá</b>					
Číslo	Vzorek	R <sub>t</sub>	Peak	Zastoupení	Průměrné zastoupení
1	3343 A1	6,350	7	0,63 %	0,65 %
2	3343 A2	6,361	6	0,66 %	
3	3343 B1	6,361	6	0,62 %	
4	3343 B2	6,361	6	0,67 %	
5	3343 C1	6,361	7	0,66 %	
6	3343 C2	6,361	6	0,67 %	

Tabulka 7.1.2 Zastoupení  $\beta$ -myrcenu ve směsných vzorcích odrůdy *krajová* 3344

<b><math>\beta</math>-myrcen – krajová</b>					
Číslo	Vzorek	R <sub>t</sub>	Peak	Zastoupení	Průměrné zastoupení
1	3344 A1	6,361	6	1,01 %	0,99 %
2	3344 A2	6,361	6	0,95 %	
3	3344 B1	6,361	3	1,00 %	
4	3344 B2	6,361	5	1,00 %	
5	3344 C1	6,361	6	0,95 %	
6	3344 C2	6,361	6	1,00 %	

Tabulka 7.1.3 Zastoupení  $\beta$ -myrcenu ve směsných vzorcích odrůdy *beta* 3345

<b><math>\beta</math>-myrcen – beta</b>					
Číslo	Vzorek	R <sub>t</sub>	Peak	Zastoupení	Průměrné zastoupení
1	3345 A1	6,361	2	1,48 %	1,40 %
2	3345 A2	6,361	5	1,43 %	
3	3345 B1	6,367	7	1,40 %	
4	3345 B2	6,367	6	1,37 %	
5	3345 C1	6,367	7	1,39 %	
6	3345 C2	6,367	6	1,33 %	

Tabulka 7.1 Průměrná zastoupení  $\beta$ -myrcenu ve směsných vzorcích odrůd

<b><math>\beta</math>-myrcen</b>	
ODRŮDA	PRŮMĚRNÉ ZASTOUPENÍ
Bílá	0,65 %
Krajová	0,99 %
Beta	1,40 %

# D-limonen

1-methyl-4-prop-1-en-2-ylcyclohexene

Tabulka 7.2.1 Zastoupení D-limonenu ve směsných vzorcích odrůdy *bílá* 3343

<b>D-limonen – bílá</b>					
Číslo	Vzorek	R <sub>t</sub>	Peak	Zastoupení	Průměrné zastoupení
1	3343 A1	8,026	12	1,46 %	1,52 %
2	3343 A2	8,038	11	1,55 %	
3	3343 B1	8,038	11	1,47 %	
4	3343 B2	8,038	11	1,56 %	
5	3343 C1	8,038	12	1,51 %	
6	3343 C2	8,038	11	1,58 %	

Tabulka 7.2.2 Zastoupení D-limonenu ve směsných vzorcích odrůdy *krajová* 3344

<b>D-limonen – krajová</b>					
Číslo	Vzorek	R <sub>t</sub>	Peak	Zastoupení	Průměrné zastoupení
1	3344 A1	8,026	11	0,67 %	0,66 %
2	3344 A2	8,026	11	0,63 %	
3	3344 B1	8,026	6	0,67 %	
4	3344 B2	8,026	8	0,67 %	
5	3344 C1	8,026	11	0,63 %	
6	3344 C2	8,026	11	0,66 %	

Tabulka 7.2.3 Zastoupení D-limonenu ve směsných vzorcích odrůdy *beta* 3345

<b>D-limonen – beta</b>					
Číslo	Vzorek	R <sub>t</sub>	Peak	Zastoupení	Průměrné zastoupení
1	3345 A1	8,026	5	0,62 %	0,59 %
2	3345 A2	8,026	9	0,60 %	
3	3345 B1	8,032	14	0,59 %	
4	3345 B2	8,026	12	0,57 %	
5	3345 C1	8,032	13	0,59 %	
6	3345 C2	8,027	12	0,57 %	

Tabulka 7.2 Průměrná zastoupení D-limonenu ve směsných vzorcích odrůd

<b>D-limonen</b>	
ODRŮDA	PRŮMĚRNÉ ZASTOUPENÍ
Bílá	1,52 %
Krajová	0,66 %
Beta	0,59 %

# *Eucalyptol*

2,2,4-trimethyl-3-oxabicyclo[2.2.2]octane

**Tabulka 7.3.1** Zastoupení eukalyptolu ve směsných vzorcích odrůdy *bílá* 3343

<b>Eukalyptol – bílá</b>					
Číslo	Vzorek	R <sub>t</sub>	Peak	Zastoupení	Průměrné zastoupení
1	3343 A1	8,156	13	0,35 %	0,37 %
2	3343 A2	8,178	12	0,37 %	
3	3343 B1	8,178	12	0,36 %	
4	3343 B2	8,173	12	0,38 %	
5	3343 C1	8,173	13	0,36 %	
6	3343 C2	8,178	12	0,38 %	

**Tabulka 7.3.2** Zastoupení eukalyptolu ve směsných vzorcích odrůdy *krajová* 3344

<b>Eukalyptol – krajová</b>					
Číslo	Vzorek	R <sub>t</sub>	Peak	Zastoupení	Průměrné zastoupení
1	3344 A1	8,167	12	0,67 %	0,67 %
2	3344 A2	8,167	12	0,64 %	
3	3344 B1	8,178	7	0,70 %	
4	3344 B2	8,178	9	0,69 %	
5	3344 C1	8,167	12	0,64 %	
6	3344 C2	8,173	12	0,67 %	

**Tabulka 7.3.3** Zastoupení eukalyptolu ve směsných vzorcích odrůdy *beta* 3345

<b>Eukalyptol – beta</b>					
Číslo	Vzorek	R <sub>t</sub>	Peak	Zastoupení	Průměrné zastoupení
1	3345 A1	8,167	6	1,93 %	1,76 %
2	3345 A2	8,161	10	1,82 %	
3	3345 B1	8,156	15	1,72 %	
4	3345 B2	8,156	13	1,70 %	
5	3345 C1	8,162	14	1,72 %	
6	3345 C2	8,156	13	1,69 %	

**Tabulka 7.3** Průměrná zastoupení eukalyptolu ve směsných vzorcích odrůd

<b>Eukalyptol</b>	
ODRŮDA	PRŮMĚRNÉ ZASTOUPENÍ
Bílá	0,37 %
Krajová	0,67 %
Beta	1,76 %

# *Trans- $\beta$ -ocimene*

(3E)-3,7-dimethylocta-1,3,6-triene

Tabulka 7.4.1 Zastoupení trans- $\beta$ -ocimenu ve směsných vzorcích odrůdy *bílá* 3343

<b>Trans-<math>\beta</math>-ocimen – bílá</b>					
Číslo	Vzorek	R <sub>t</sub>	Peak	Zastoupení	Průměrné zastoupení
1	3343 A1	8,516	14	1,27 %	1,31 %
2	3343 A2	8,527	13	1,34 %	
3	3343 B1	8,527	13	1,26 %	
4	3343 B2	8,527	13	1,34 %	
5	3343 C1	8,527	14	1,30 %	
6	3343 C2	8,527	13	1,35 %	

Tabulka 7.4.2 Zastoupení trans- $\beta$ -ocimenu ve směsných vzorcích odrůdy *krajová* 3344

<b>Trans-<math>\beta</math>-ocimen – krajová</b>					
Číslo	Vzorek	R <sub>t</sub>	Peak	Zastoupení	Průměrné zastoupení
1	3344 A1	8,533	13	2,03 %	2,01 %
2	3344 A2	8,527	13	1,95 %	
3	3344 B1	8,527	8	2,08 %	
4	3344 B2	8,527	10	2,07 %	
5	3344 C1	8,533	13	1,93 %	
6	3344 C2	8,527	13	2,01 %	

Tabulka 7.4.3 Zastoupení trans- $\beta$ -ocimenu ve směsných vzorcích odrůdy *beta* 3345

<b>Trans-<math>\beta</math>-ocimen – beta</b>					
Číslo	Vzorek	R <sub>t</sub>	Peak	Zastoupení	Průměrné zastoupení
1	3345 A1	8,527	7	1,66 %	1,57 %
2	3345 A2	8,527	11	1,61 %	
3	3345 B1	8,539	16	1,55 %	
4	3345 B2	8,533	14	1,53 %	
5	3345 C1	8,538	15	1,55 %	
6	3345 C2	8,533	14	1,51 %	

Tabulka 7.4 Průměrná zastoupení trans- $\beta$ -ocimenu ve směsných vzorcích odrůd

<b>Trans-<math>\beta</math>-ocimen</b>	
ODRŮDA	PRŮMĚRNÉ ZASTOUPENÍ
Bílá	1,31 %
Krajová	2,01 %
Beta	1,57 %

# $\beta$ -Ocimene

3,7-dimethylocta-1,3,6-triene

Tabulka 7.5.1 Zastoupení  $\beta$ -ocimenu ve směsných vzorcích odrůdy *bílá* 3343

<b><math>\beta</math>-ocimene – bílá</b>					
Číslo	Vzorek	R <sub>t</sub>	Peak	Zastoupení	Průměrné zastoupení
1	3343 A1	9,101	15	1,18 %	1,22 %
2	3343 A2	9,112	14	1,24 %	
3	3343 B1	9,112	14	1,17 %	
4	3343 B2	9,112	14	1,24 %	
5	3343 C1	9,112	15	1,21 %	
6	3343 C2	9,112	14	1,25 %	

Tabulka 7.5.2 Zastoupení  $\beta$ -ocimenu ve směsných vzorcích odrůdy *krajová* 3344

<b><math>\beta</math>-ocimene – krajová</b>					
Číslo	Vzorek	R <sub>t</sub>	Peak	Zastoupení	Průměrné zastoupení
1	3344 A1	9,112	14	1,13 %	1,12 %
2	3344 A2	9,112	14	1,08 %	
3	3344 B1	9,112	9	1,14 %	
4	3344 B2	9,112	11	1,14 %	
5	3344 C1	9,112	14	1,08 %	
6	3344 C2	9,112	14	1,12 %	

Tabulka 7.5.3 Zastoupení  $\beta$ -ocimenu ve směsných vzorcích odrůdy *beta* 3345

<b><math>\beta</math>-ocimene – beta</b>					
Číslo	Vzorek	R <sub>t</sub>	Peak	Zastoupení	Průměrné zastoupení
1	3345 A1	9,112	8	2,22 %	2,05 %
2	3345 A2	9,118	12	2,13 %	
3	3345 B1	9,124	17	1,99 %	
4	3345 B2	9,118	15	1,99 %	
5	3345 C1	9,124	16	2,00 %	
6	3345 C2	9,124	15	1,97 %	

Tabulka 7.5 Průměrná zastoupení  $\beta$ -ocimenu ve směsných vzorcích odrůd

<b><math>\beta</math>-ocimene</b>	
ODRŮDA	PRŮMĚRNÉ ZASTOUPENÍ
Bílá	1,22 %
Krajová	1,12 %
Beta	2,05 %

# Linalool

3,7-Dimethylocta-1,6-dien-3-ol

Tabulka 7.6.1 Zastoupení linaloolu ve směsných vzorcích odrůdy *bílá* 3343

<b>Linalool – bílá</b>					
Číslo	Vzorek	R <sub>t</sub>	Peak	Zastoupení	Průměrné zastoupení
1	3343 A1	13,298	18	50,37 %	51,18 %
2	3343 A2	13,146	16	52,48 %	
3	3343 B1	13,202	16	50,78 %	
4	3343 B2	13,225	16	51,41 %	
5	3343 C1	13,304	18	50,32 %	
6	3343 C2	13,180	16	51,71 %	

Tabulka 7.6.2 Zastoupení linaloolu ve směsných vzorcích odrůdy *krajová* 3344

<b>Linalool – krajová</b>					
Číslo	Vzorek	R <sub>t</sub>	Peak	Zastoupení	Průměrné zastoupení
1	3344 A1	13,107	16	26,14 %	26,67 %
2	3344 A2	13,045	15	26,10 %	
3	3344 B1	12,949	10	27,91 %	
4	3344 B2	12,960	12	27,80 %	
5	3344 C1	13,118	17	25,80 %	
6	3344 C2	13,039	15	26,27 %	

Tabulka 7.6.3 Zastoupení linaloolu ve směsných vzorcích odrůdy *beta* 3345

<b>Linalool – beta</b>					
Číslo	Vzorek	R <sub>t</sub>	Peak	Zastoupení	Průměrné zastoupení
1	3345 A1	12,955	9	28,37 %	25,92 %
2	3345 A2	13,039	15	26,48 %	
3	3345 B1	13,214	22	25,01 %	
4	3345 B2	13,140	19	25,36 %	
5	3345 C1	13,208	21	25,14 %	
6	3345 C2	13,146	19	25,18 %	

Tabulka 7.6 Průměrná zastoupení linaloolu ve směsných vzorcích odrůd

<b>Linalool</b>	
ODRŮDA	PRŮMĚRNÉ ZASTOUPENÍ
Bílá	51,18 %
Krajová	26,67 %
Beta	25,92 %

# Oct-1-en-3-yl acetate

Oct-1-en-3-yl acetate

Tabulka 7.7.1 Zastoupení okten-1-en-3-yl acetátu ve směsných vzorcích odrůdy *bílá* 3343

<b>Okt-1-en-3-yl acetát – bílá</b>					
Číslo	Vzorek	R <sub>t</sub>	Peak	Zastoupení	Průměrné zastoupení
1	3343 A1	14,215	19	0,60 %	0,58 %
2	3343 A2	14,193	17	0,57 %	
3	3343 B1	14,209	17	0,56 %	
4	3343 B2	14,209	17	0,58 %	
5	3343 C1	14,232	19	0,59 %	
6	3343 C2	14,204	17	0,58 %	

Tabulka 7.7.2 Zastoupení okten-1-en-3-yl acetátu ve směsných vzorcích odrůdy *krajová* 3344

<b>Okt-1-en-3-yl acetát – krajová</b>					
Číslo	Vzorek	R <sub>t</sub>	Peak	Zastoupení	Průměrné zastoupení
1	3344 A1	14,181	17	1,26 %	1,23 %
2	3344 A2	14,170	16	1,22 %	
3	3344 B1	14,170	11	1,21 %	
4	3344 B2	14,164	13	1,22 %	
5	3344 C1	14,193	18	1,23 %	
6	3344 C2	14,170	16	1,25 %	

Tabulka 7.7.3 Zastoupení okten-1-en-3-yl acetátu ve směsných vzorcích odrůdy *beta* 3345

<b>Okt-1-en-3-yl acetát – beta</b>					
Číslo	Vzorek	R <sub>t</sub>	Peak	Zastoupení	Průměrné zastoupení
1	3345 A1	14,170	10	1,71 %	1,70 %
2	3345 A2	14,176	16	1,69 %	
3	3345 B1	14,221	23	1,68 %	
4	3345 B2	14,198	20	1,70 %	
5	3345 C1	14,221	22	1,72 %	
6	3345 C2	14,198	20	1,70 %	

Tabulka 7.7 Průměrná zastoupení okten-1-en-3-yl acetátu ve směsných vzorcích

<b>Okt-1-en-3-yl acetát</b>	
ODRŮDA	PRŮMĚRNÉ ZASTOUPENÍ
Bílá	0,58 %
Krajová	1,23 %
Beta	1,70 %

# *Endo-borneol*

(1S-endo)-1,7,7-trimethyl-Bicyclo[2.2.1]heptan-2-ol

Tabulka 7.8.1 Zastoupení endo-borneolu ve směsných vzorcích odrůdy *bílá* 3343

<b>Endo-borneol – bílá</b>					
Číslo	Vzorek	R <sub>t</sub>	Peak	Zastoupení	Průměrné zastoupení
1	3343 A1	18,834	20	0,42 %	0,42 %
2	3343 A2	18,845	18	0,40 %	
3	3343 B1	18,845	18	0,42 %	
4	3343 B2	18,851	18	0,43 %	
5	3343 C1	18,857	20	0,44 %	
6	3343 C2	18,851	18	0,42 %	

Tabulka 7.8.2 Zastoupení endo-borneolu ve směsných vzorcích odrůdy *krajová* 3344

<b>Endo-borneol – krajová</b>					
Číslo	Vzorek	R <sub>t</sub>	Peak	Zastoupení	Průměrné zastoupení
1	3344 A1	18,811	19	1,24 %	1,21 %
2	3344 A2	18,811	18	1,22 %	
3	3344 B1	18,823	12	1,17 %	
4	3344 B2	18,823	14	1,17 %	
5	3344 C1	18,817	20	1,25 %	
6	3344 C2	18,811	18	1,23 %	

Tabulka 7.8.3 Zastoupení endo-borneolu ve směsných vzorcích odrůdy *beta* 3345

<b>Endo-borneol – beta</b>					
Číslo	Vzorek	R <sub>t</sub>	Peak	Zastoupení	Průměrné zastoupení
1	3345 A1	18,828	11	1,04 %	1,11 %
2	3345 A2	18,823	17	1,09 %	
3	3345 B1	18,828	25	1,13 %	
4	3345 B2	18,823	22	1,12 %	
5	3345 C1	18,828	24	1,13 %	
6	3345 C2	18,823	22	1,12 %	

Tabulka 7.8 Průměrná zastoupení endo-borneolu ve směsných vzorcích odrůd

<b>Endo-borneol</b>	
ODRŮDA	PRŮMĚRNÉ ZASTOUPENÍ
Bílá	0,42 %
Krajová	1,21 %
Beta	1,11 %



# Lavandulol

5-methyl-2-(1-methylethenyl)-4-hexen-1-ol

Tabulka 7.9.1 Zastoupení lavandulolu ve směsných vzorcích odrůdy *bílá* 3343

Lavandulol – bílá					
Číslo	Vzorek	R <sub>t</sub>	Peak	Zastoupení	Průměrné zastoupení
1	3343 A1	19,464	21	3,64 %	3,57 %
2	3343 A2	19,425	19	3,45 %	
3	3343 B1	19,442	19	3,57 %	
4	3343 B2	19,442	19	3,58 %	
5	3343 C1	19,481	21	3,64 %	
6	3343 C2	19,430	19	3,54 %	

Tabulka 7.9.2 Zastoupení lavandulolu ve směsných vzorcích odrůdy *krajová* 3344

Lavandulol – krajová					
Číslo	Vzorek	R <sub>t</sub>	Peak	Zastoupení	Průměrné zastoupení
1	3344 A1	19,413	20	1,19 %	1,12 %
2	3344 A2	19,408	19	1,15 %	
3	3344 B1	19,419	13	1,00 %	
4	3344 B2	19,419	15	1,01 %	
5	3344 C1	19,419	21	1,22 %	
6	3344 C2	19,413	19	1,16 %	

Tabulka 7.9.3 Zastoupení lavandulolu ve směsných vzorcích odrůdy *beta* 3345

Lavandulol – beta					
Číslo	Vzorek	R <sub>t</sub>	Peak	Zastoupení	Průměrné zastoupení
1	3345 A1	/	/	/	0,20 % (ze 4 vzorků) 0,13 % (ze 6 vzorků)
2	3345 A2	/	/	/	
3	3345 B1	19,459	26	0,20 %	
4	3345 B2	19,453	23	0,19 %	
5	3345 C1	19,458	25	0,20 %	
6	3345 C2	19,453	23	0,19 %	

Tabulka 7.9 Průměrná zastoupení lavandulolu ve směsných vzorcích odrůd

Lavandulol	
ODRŮDA	PRŮMĚRNÉ ZASTOUPENÍ
Bílá	3,57 %
Krajová	1,12 %
Beta	0,20 % (ze 4 vzorků) 0,13 % (z 6 vzorků)

# Terpinen-4-ol

(1S)-4-methyl-1-propan-2-ylcyclohex-3-en-1-ol

Tabulka 7.10.1 Zastoupení terpinen-4-olu ve směsných vzorcích odrůdy *bílá* 3343

Terpinen-4-ol – bílá					
Číslo	Vzorek	R <sub>t</sub>	Peak	Zastoupení	Průměrné zastoupení
1	3343 A1	20,100	22	11,93 %	11,96 %
2	3343 A2	20,032	20	12,08 %	
3	3343 B1	20,066	20	12,01 %	
4	3343 B2	20,066	20	11,91 %	
5	3343 C1	20,117	22	11,87 %	
6	3343 C2	20,044	20	11,96 %	

Tabulka 7.10.2 Zastoupení terpinen-4-olu ve směsných vzorcích odrůdy *krajová* 3344

Terpinen-4-ol – krajová					
Číslo	Vzorek	R <sub>t</sub>	Peak	Zastoupení	Průměrné zastoupení
1	3344 A1	19,982	21	3,08 %	3,14 %
2	3344 A2	19,965	20	3,11 %	
3	3344 B1	19,959	14	3,19 %	
4	3344 B2	19,959	16	3,19 %	
5	3344 C1	19,982	22	3,10 %	
6	3344 C2	19,965	20	3,14 %	

Tabulka 7.10.3 Zastoupení terpinen-4-olu ve směsných vzorcích odrůdy *beta* 3345

Terpinen-4-ol – beta					
Číslo	Vzorek	R <sub>t</sub>	Peak	Zastoupení	Průměrné zastoupení
1	3345 A1	19,965	12	5,85 %	5,59 %
2	3345 A2	19,982	18	5,74 %	
3	3345 B1	20,055	27	5,47 %	
4	3345 B2	20,021	24	5,53 %	
5	3345 C1	20,049	26	5,48 %	
6	3345 C2	20,021	24	5,48 %	

Tabulka 7.10 Průměrná zastoupení terpinen-4-olu ve směsných vzorcích odrůd

Terpinen-4-ol	
ODRŮDA	PRŮMĚRNÉ ZASTOUPENÍ
Bílá	11,96 %
Krajová	3,14 %
Beta	5,59 %

# ***$\alpha$ -terpineol***

2-(4-methylcyclohex-3-en-1-yl)propan-2-ol

**Tabulka 7.11.1** Zastoupení  $\alpha$ -terpineolu ve směsných vzorcích odrůdy *bílá* 3343

<b><math>\alpha</math>-terpineol – bílá</b>					
Číslo	Vzorek	R <sub>t</sub>	Peak	Zastoupení	Průměrné zastoupení
1	3343 A1	21,298	24	2,41 %	2,39 %
2	3343 A2	21,281	22	2,36 %	
3	3343 B1	21,287	22	2,42 %	
4	3343 B2	21,293	22	2,37 %	
5	3343 C1	21,315	24	2,41 %	
6	3343 C2	21,287	22	2,36 %	

**Tabulka 7.11.2** Zastoupení  $\alpha$ -terpineolu ve směsných vzorcích odrůdy *krajová* 3344

<b><math>\alpha</math>-terpineol – krajová</b>					
Číslo	Vzorek	R <sub>t</sub>	Peak	Zastoupení	Průměrné zastoupení
1	3344 A1	21,326	23	5,73 %	5,84 %
2	3344 A2	21,298	22	5,81 %	
3	3344 B1	21,270	16	5,95 %	
4	3344 B2	21,276	18	5,95 %	
5	3344 C1	21,337	24	5,76 %	
6	3344 C2	21,298	22	5,81 %	

**Tabulka 7.11.3** Zastoupení  $\alpha$ -terpineolu ve směsných vzorcích odrůdy *beta* 3345

<b><math>\alpha</math>-terpineol – beta</b>					
Číslo	Vzorek	R <sub>t</sub>	Peak	Zastoupení	Průměrné zastoupení
1	3345 A1	21,281	13	8,49 %	8,04 %
2	3345 A2	21,321	20	8,20 %	
3	3345 B1	21,428	30	7,85 %	
4	3345 B2	21,382	27	7,96 %	
5	3345 C1	21,422	29	7,84 %	
6	3345 C2	21,383	27	7,91 %	

**Tabulka 7.11** Průměrná zastoupení  $\alpha$ -terpineolu ve směsných vzorcích odrůd

<b><math>\alpha</math>-terpineol</b>	
ODRŮDA	PRŮMĚRNÉ ZASTOUPENÍ
Bílá	2,39 %
Krajová	5,84 %
Beta	8,04 %

# Linalyl acetate

3,7-Dimethylocta-1,6-dien-3-yl acetate

Tabulka 7.12.1 Zastoupení linalyl acetátu ve směsných vzorcích odrůdy *bílá* 3343

<b>Linalyl acetát – bílá</b>					
Číslo	Vzorek	R <sub>t</sub>	Peak	Zastoupení	Průměrné zastoupení
1	3343 A1	27,318	29	7,04 %	6,80 %
2	3343 A2	27,284	26	6,55 %	
3	3343 B1	27,295	26	6,91 %	
4	3343 B2	27,301	26	6,73 %	
5	3343 C1	27,329	28	6,93 %	
6	3343 C2	27,290	26	6,66 %	

Tabulka 7.12.2 Zastoupení linalyl acetátu ve směsných vzorcích odrůdy *krajová* 3344

<b>Linalyl acetát – krajová</b>					
Číslo	Vzorek	R <sub>t</sub>	Peak	Zastoupení	Průměrné zastoupení
1	3344 A1	27,414	27	21,06 %	21,22 %
2	3344 A2	27,374	26	21,31 %	
3	3344 B1	27,301	18	21,30 %	
4	3344 B2	27,318	20	21,23 %	
5	3344 C1	27,430	28	21,22 %	
6	3344 C2	27,368	26	21,20 %	

Tabulka 7.12.3 Zastoupení linalyl acetátu ve směsných vzorcích odrůdy *beta* 3345

<b>Linalyl acetát – beta</b>					
Číslo	Vzorek	R <sub>t</sub>	Peak	Zastoupení	Průměrné zastoupení
1	3345 A1	27,329	15	27,39 %	26,75 %
2	3345 A2	27,397	23	26,70 %	
3	3345 B1	27,509	33	26,38 %	
4	3345 B2	27,481	30	26,76 %	
5	3345 C1	27,520	32	26,47 %	
6	3345 C2	27,476	30	26,81 %	

Tabulka 7.12 Průměrná zastoupení linalyl acetátu ve směsných vzorcích odrůd

<b>Linalyl acetát</b>	
ODRŮDA	PRŮMĚRNÉ ZASTOUPENÍ
Bílá	6,80 %
Krajová	21,22 %
Beta	26,75 %

# Lavandulyl acetate

(5-methyl-2-prop-1-en-2-ylhex-4-enyl) acetate

Tabulka 7.13.1 Zastoupení lavandulyl acetátu ve směsných vzorcích odrůdy *bílá* 3343

Lavandulyl acetát – bílá					
Číslo	Vzorek	R <sub>t</sub>	Peak	Zastoupení	Průměrné zastoupení
1	3343 A1	30,176	30	6,39 %	6,33 %
2	3343 A2	30,148	27	6,23 %	
3	3343 B1	30,159	27	6,52 %	
4	3343 B2	30,159	27	6,27 %	
5	3343 C1	30,182	29	6,33 %	
6	3343 C2	30,153	27	6,24 %	

Tabulka 7.13.2 Zastoupení lavandulyl acetátu ve směsných vzorcích odrůdy *krajová* 3344

Lavandulyl acetát – krajová					
Číslo	Vzorek	R <sub>t</sub>	Peak	Zastoupení	Průměrné zastoupení
1	3344 A1	30,277	29	22,13 %	22,78 %
2	3344 A2	30,243	28	22,68 %	
3	3344 B1	30,176	19	23,75 %	
4	3344 B2	30,187	21	23,50 %	
5	3344 C1	30,294	30	22,20 %	
6	3344 C2	30,238	28	22,43 %	

Tabulka 7.13.3 Zastoupení lavandulyl acetátu ve směsných vzorcích odrůdy *beta* 3345

Lavandulyl acetát – beta					
Číslo	Vzorek	R <sub>t</sub>	Peak	Zastoupení	Průměrné zastoupení
1	3345 A1	30,136	16	8,01 %	7,64 %
2	3345 A2	30,165	24	7,76 %	
3	3345 B1	30,238	35	7,50 %	
4	3345 B2	30,204	31	7,57 %	
5	3345 C1	30,232	34	7,44 %	
6	3345 C2	30,204	31	7,55 %	

Tabulka 7.13 Průměrná zastoupení lavandulyl acetátu ve směsných vzorcích odrůd

Lavandulyl acetát	
ODRŮDA	PRŮMĚRNÉ ZASTOUPENÍ
Bílá	6,33 %
Krajová	22,78 %
Beta	7,64 %

## 3-Carene

3,7,7-trimethyl-bicyclo[4.1.0]hept-3-en

Tabulka 7.14.1 Zastoupení 3-karenu ve směsných vzorcích odrůdy *bílá* 3343

<b>3-Karen – bílá</b>					
Číslo	Vzorek	R <sub>t</sub>	Peak	Zastoupení	Průměrné zastoupení
1	3343 A1	35,447	31	0,59 %	0,53 %
2	3343 A2	35,453	28	0,46 %	
3	3343 B1	35,447	28	0,55 %	
4	3343 B2	35,453	28	0,52 %	
5	3343 C1	35,453	30	0,58 %	
6	3343 C2	35,453	28	0,49 %	

Tabulka 7.14.2 Zastoupení 3-karenu ve směsných vzorcích odrůdy *krajová* 3344

<b>3-Karen – krajová</b>					
Číslo	Vzorek	R <sub>t</sub>	Peak	Zastoupení	Průměrné zastoupení
1	3344 A1	35,459	30	1,32 %	1,23 %
2	3344 A2	35,453	29	1,29 %	
3	3344 B1	35,453	20	1,05 %	
4	3344 B2	35,453	22	1,07 %	
5	3344 C1	35,464	31	1,37 %	
6	3344 C2	35,459	29	1,27 %	

Tabulka 7.14.3 Zastoupení 3-karenu ve směsných vzorcích odrůdy *beta* 3345

<b>3-Karen – beta</b>					
Číslo	Vzorek	R <sub>t</sub>	Peak	Zastoupení	Průměrné zastoupení
1	3345 A1	35,459	17	1,53 %	1,87 %
2	3345 A2	35,459	25	1,78 %	
3	3345 B1	35,481	36	1,99 %	
4	3345 B2	35,470	32	1,95 %	
5	3345 C1	35,481	35	1,97 %	
6	3345 C2	35,470	32	1,98 %	

Tabulka 7.14 Průměrná zastoupení 3-karenu ve směsných vzorcích odrůd

<b>3-Karen</b>	
ODRŮDA	PRŮMĚRNÉ ZASTOUPENÍ
Bílá	0,53 %
Krajová	1,23 %
Beta	1,87 %

# Geranyl acetate

[(2E)-3,7-dimethylocta-2,6-dienyl] acetate

Tabulka 7.15.1 Zastoupení geranyl acetátu ve směsných vzorcích odrůdy *bílá* 3343

Geranyl acetát – bílá					
Číslo	Vzorek	R <sub>t</sub>	Peak	Zastoupení	Průměrné zastoupení
1	3343 A1	36,820	32	1,09 %	1,00 %
2	3343 A2	36,815	29	0,87 %	
3	3343 B1	36,815	29	1,04 %	
4	3343 B2	36,815	29	0,97 %	
5	3343 C1	36,826	31	1,08 %	
6	3343 C2	36,820	29	0,92 %	

Tabulka 7.15.2 Zastoupení geranyl acetátu ve směsných vzorcích odrůdy *krajová* 3344

Geranyl acetát – krajová					
Číslo	Vzorek	R <sub>t</sub>	Peak	Zastoupení	Průměrné zastoupení
1	3344 A1	36,831	31	2,49 %	2,37 %
2	3344 A2	36,820	30	2,48 %	
3	3344 B1	36,814	21	2,10 %	
4	3344 B2	36,820	23	2,13 %	
5	3344 C1	36,843	32	2,56 %	
6	3344 C2	36,826	30	2,45 %	

Tabulka 7.15.3 Zastoupení geranyl acetátu ve směsných vzorcích odrůdy *beta* 3345

Geranyl acetát – beta					
Číslo	Vzorek	R <sub>t</sub>	Peak	Zastoupení	Průměrné zastoupení
1	3345 A1	35,459	17	1,53 %	1,87 %
2	3345 A2	35,459	25	1,78 %	
3	3345 B1	35,481	36	1,99 %	
4	3345 B2	35,470	32	1,95 %	
5	3345 C1	35,481	35	1,97 %	
6	3345 C2	35,470	32	1,98 %	

Tabulka 7.15 Průměrná zastoupení geranyl acetátu ve směsných vzorcích odrůd

Geranyl acetát	
ODRŮDA	PRŮMĚRNÉ ZASTOUPENÍ
Bílá	1,00 %
Krajová	2,37 %
Beta	1,87 %

# *Caryophyllene*

(1R,4E,9S)-4,11,11-trimethyl-8-methylidenebicyclo[7.2.0]undec-4-ene

**Tabulka 7.16.1** Zastoupení karyophyleny ve směsných vzorcích odrůdy *bílá* 3343

<b>Karyophylen – bílá</b>					
Číslo	Vzorek	R <sub>t</sub>	Peak	Zastoupení	Průměrné zastoupení
1	3343 A1	38,378	34	1,47 %	1,42 %
2	3343 A2	38,373	31	1,32 %	
3	3343 B1	38,379	31	1,51 %	
4	3343 B2	38,373	31	1,38 %	
5	3343 C1	38,384	33	1,46 %	
6	3343 C2	38,373	31	1,36 %	

**Tabulka 7.16.2** Zastoupení karyophyleny ve směsných vzorcích odrůdy *krajová* 3344

<b>Karyophylen – krajová</b>					
Číslo	Vzorek	R <sub>t</sub>	Peak	Zastoupení	Průměrné zastoupení
1	3344 A1	38,384	32	1,23 %	1,19 %
2	3344 A2	38,373	31	1,23 %	
3	3344 B1	38,373	22	1,10 %	
4	3344 B2	38,373	24	1,11 %	
5	3344 C1	38,390	33	1,26 %	
6	3344 C2	38,378	31	1,21 %	

**Tabulka 7.16.3** Zastoupení karyophyleny ve směsných vzorcích odrůdy *beta* 3344

<b>Karyophylen – beta</b>					
Číslo	Vzorek	R <sub>t</sub>	Peak	Zastoupení	Průměrné zastoupení
1	3345 A1	38,379	19	2,57 %	2,68 %
2	3345 A2	38,384	27	2,68 %	
3	3345 B1	38,424	38	2,71 %	
4	3345 B2	38,407	34	2,72 %	
5	3345 C1	38,418	37	2,68 %	
6	3345 C2	38,407	34	2,73 %	

**Tabulka 7.16** Průměrná zastoupení karyophyleny ve směsných vzorcích odrůd

<b>Karyophylen</b>	
ODRŮDA	PRŮMĚRNÉ ZASTOUPENÍ
Bílá	1,42 %
Krajová	1,19 %
Beta	2,68 %



# $\beta$ -Farnesene

(6Z)-7,11-Dimethyl-3-methylene-1,6,10-dodecatriene

Tabulka 7.17.1 Zastoupení  $\beta$ -farnesenu ve směsných vzorcích odrůdy *bílá* 3343

<b><math>\beta</math>-Farnesen – bílá</b>					
Číslo	Vzorek	R <sub>t</sub>	Peak	Zastoupení	Průměrné zastoupení
1	3343 A1	41,490	36	2,36 %	2,24 %
2	3343 A2	41,484	33	2,03 %	
3	3343 B1	41,490	33	2,41 %	
4	3343 B2	41,484	33	2,17 %	
5	3343 C1	41,495	35	2,34 %	
6	3343 C2	41,484	33	2,11 %	

Tabulka 7.17.2 Zastoupení  $\beta$ -farnesenu ve směsných vzorcích odrůdy *krajová* 3344

<b><math>\beta</math>-Farnesen – krajová</b>					
Číslo	Vzorek	R <sub>t</sub>	Peak	Zastoupení	Průměrné zastoupení
1	3344 A1	41,484	34	0,65 %	0,56 %
2	3344 A2	41,478	33	0,61 %	
3	3344 B1	41,478	24	0,41 %	
4	3344 B2	41,478	26	0,43 %	
5	3344 C1	41,490	36	0,67 %	
6	3344 C2	41,484	33	0,59 %	

Tabulka 7.17.3 Zastoupení  $\beta$ -farnesenu ve směsných vzorcích odrůdy *beta* 3345

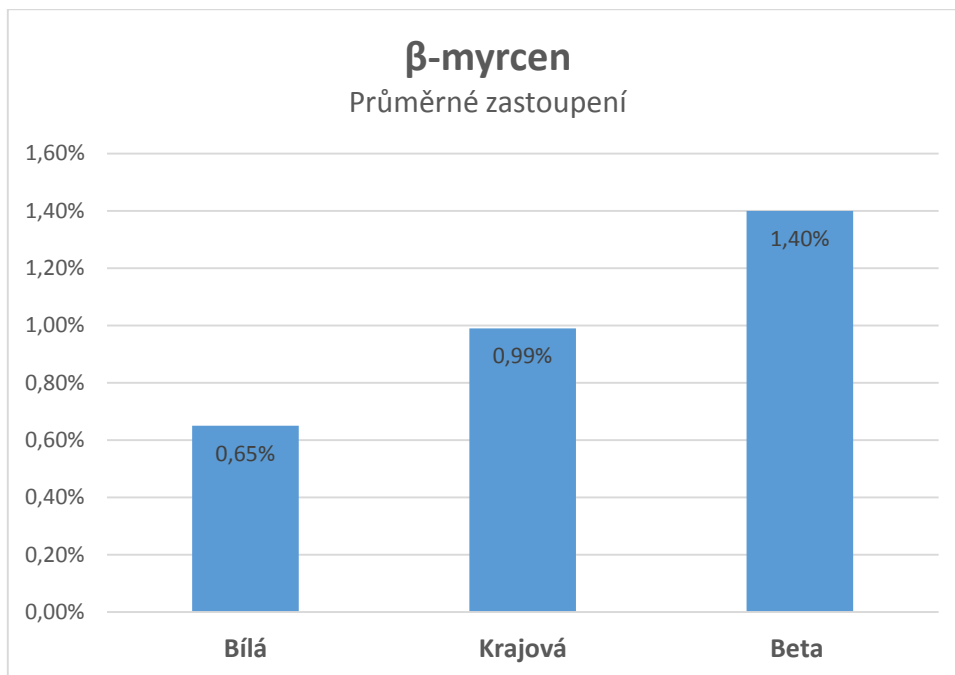
<b><math>\beta</math>-Farnesen – beta</b>					
Číslo	Vzorek	R <sub>t</sub>	Peak	Zastoupení	Průměrné zastoupení
1	3345 A1	41,484	20	1,22 %	1,56 %
2	3345 A2	41,484	29	1,50 %	
3	3345 B1	41,507	41	1,69 %	
4	3345 B2	41,495	36	1,65 %	
5	3345 C1	41,501	40	1,65 %	
6	3345 C2	41,495	37	1,67 %	

Tabulka 7.17 Průměrná zastoupení  $\beta$ -farnesenu ve směsných vzorcích odrůd

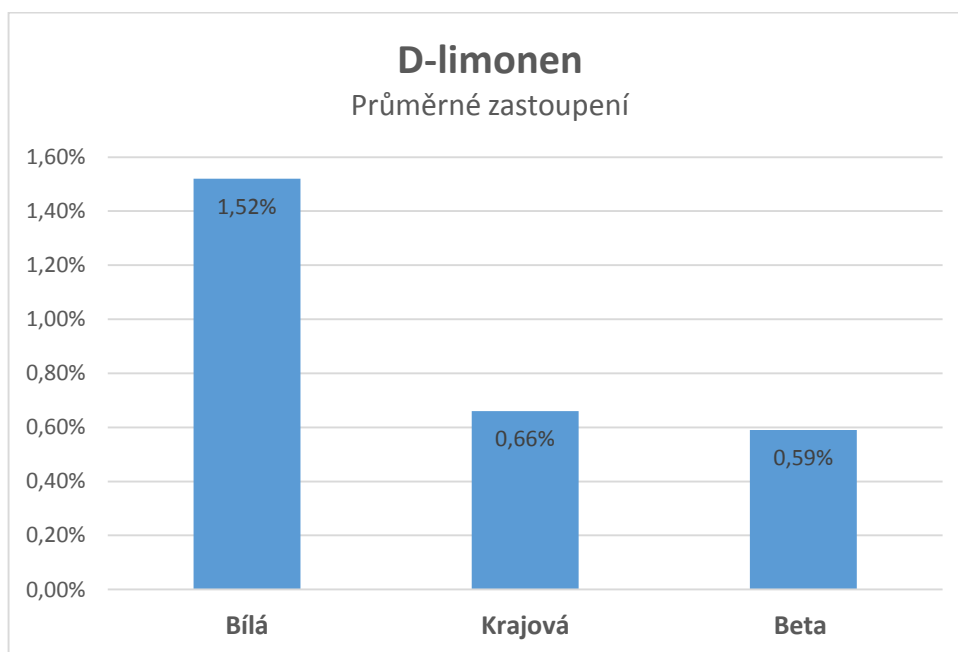
<b><math>\beta</math>-Farnesen</b>	
ODRŮDA	PRŮMĚRNÉ ZASTOUPENÍ
Bílá	2,24 %
Krajová	0,56 %
Beta	1,56 %

**Příloha 8 Grafy srovnání průměrných zastoupení obsahových látek  
ve směsných vzorcích mezi odrůdami**

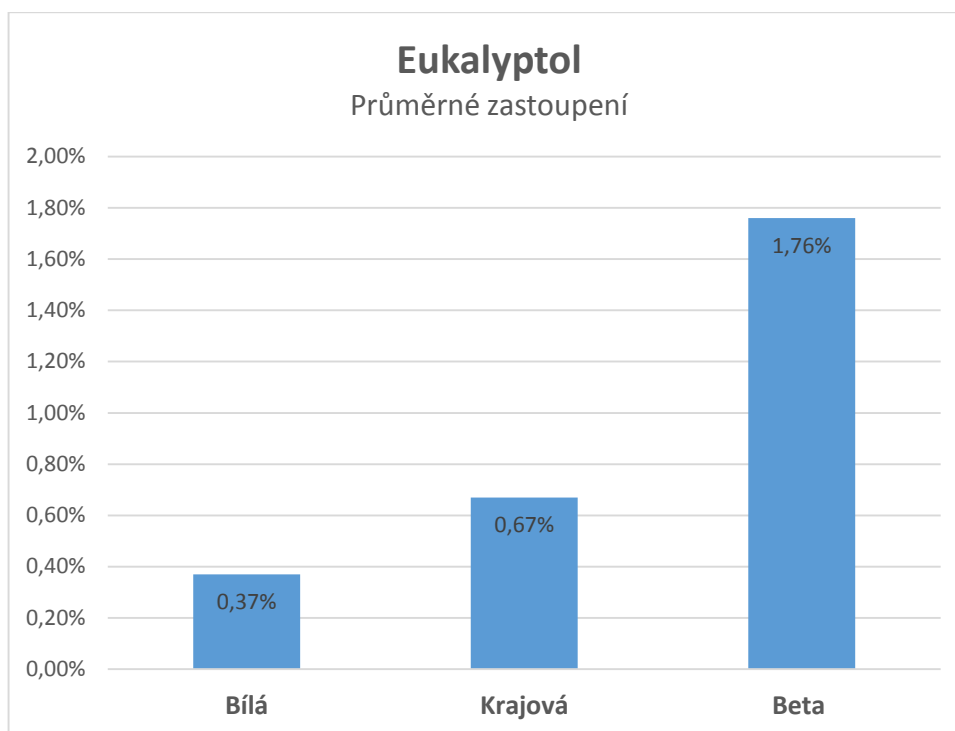
**Graf 8.1** Průměrná zastoupení  $\beta$ -myrcenu ve směsných vzorcích odrůd



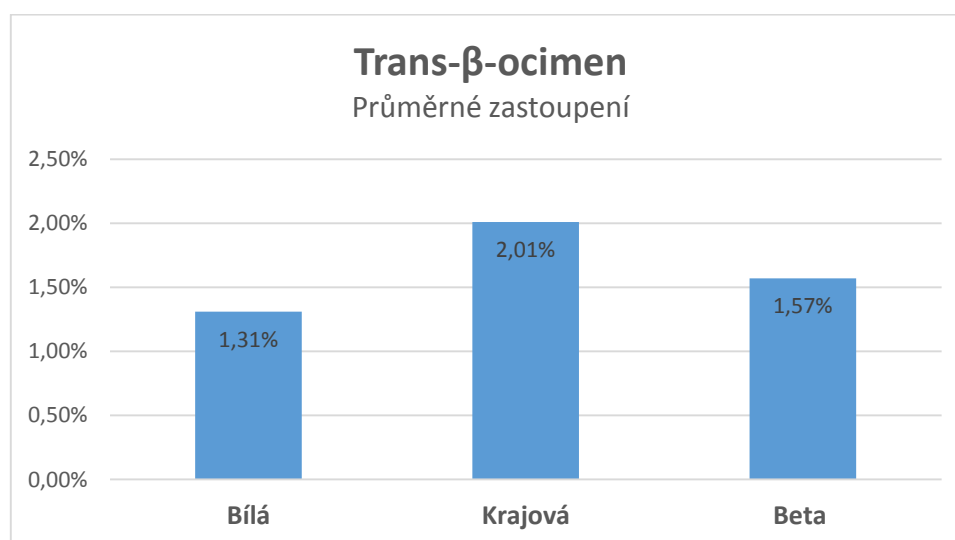
**Graf 8.2** Průměrná zastoupení D-limonenu ve směsných vzorcích odrůd



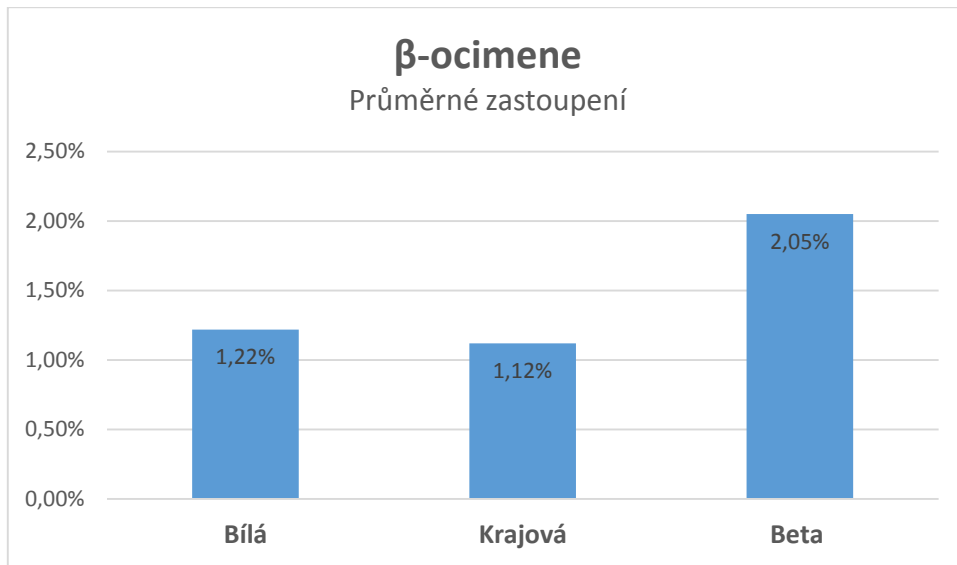
**Graf 8.3** Průměrná zastoupení eukalyptolu ve směsných vzorcích odrůd



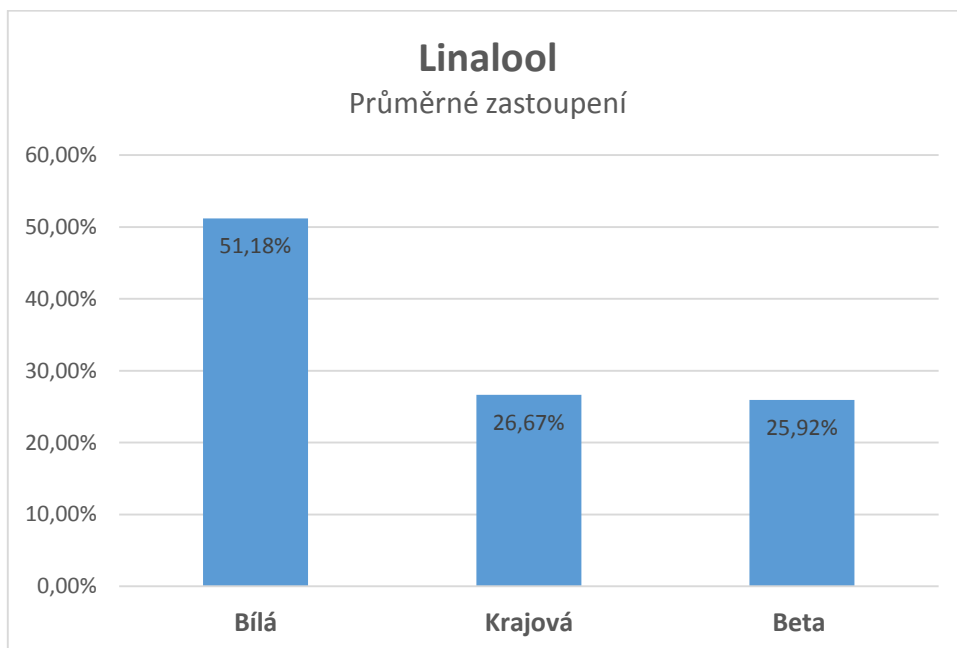
**Graf 8.4** Průměrná zastoupení trans- $\beta$ -ocimenu ve směsných vzorcích odrůd



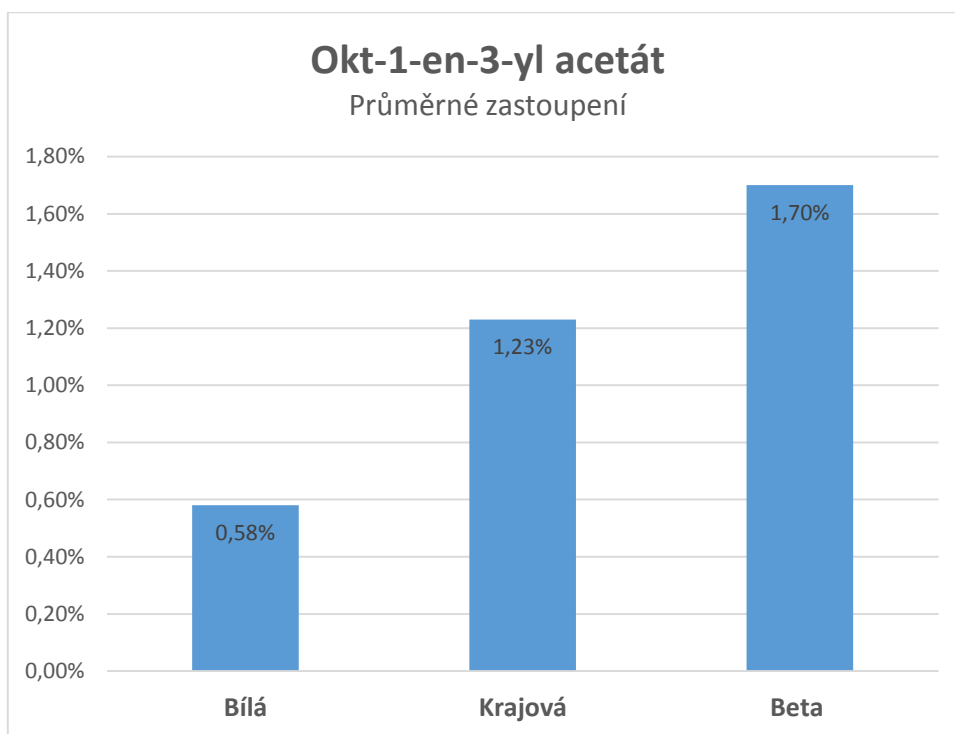
**Graf 8.5** Průměrná zastoupení  $\beta$ -ocimenu ve směsných vzorcích odrůd



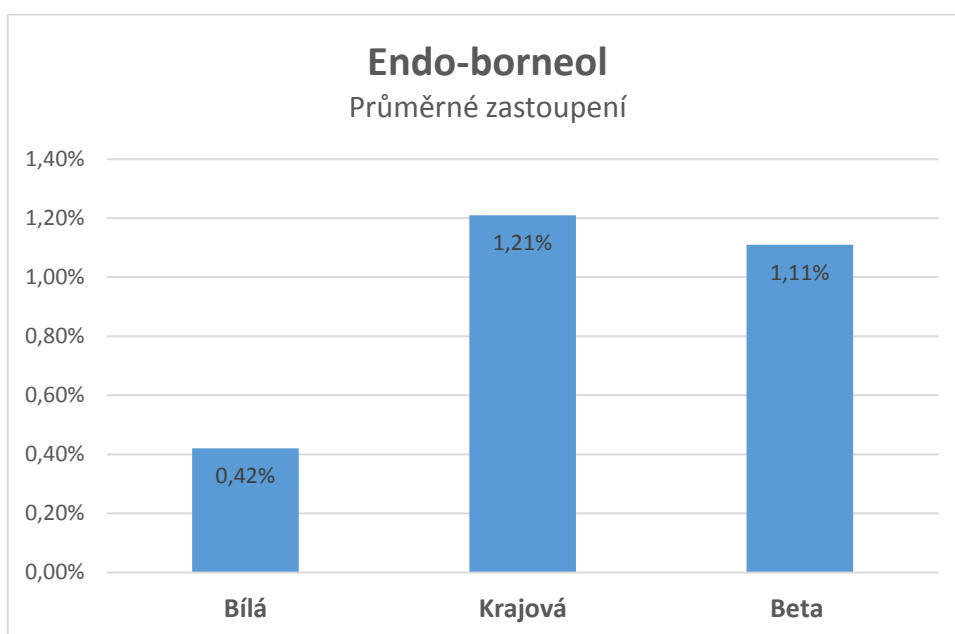
**Graf 8.6** Průměrná zastoupení linaloolu ve směsných vzorcích odrůd



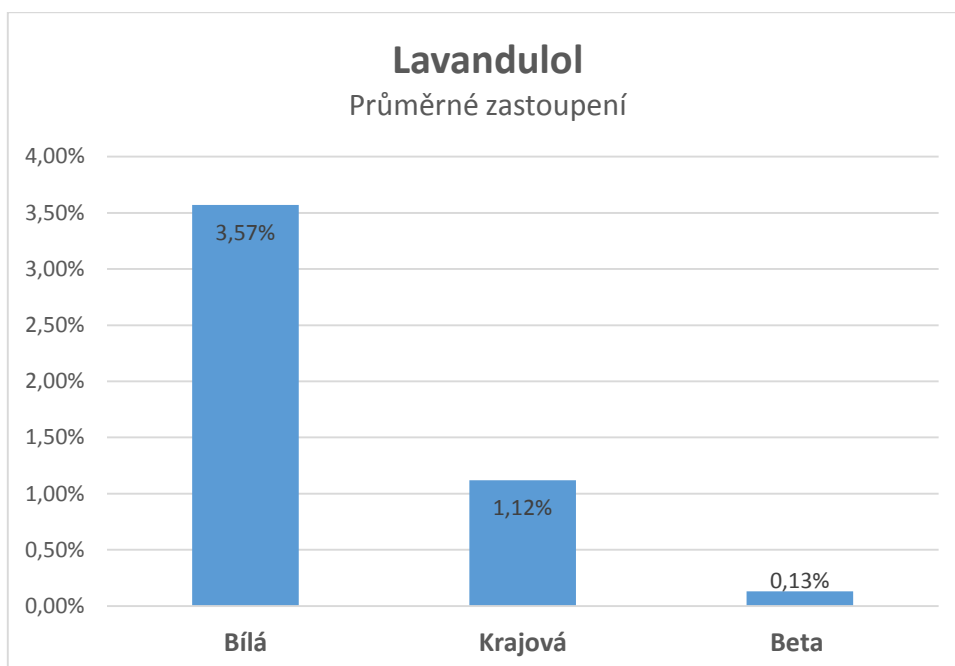
**Graf 8.7** Průměrná zastoupení okt-1-en-3-ylu ve směsných vzorcích odrůd



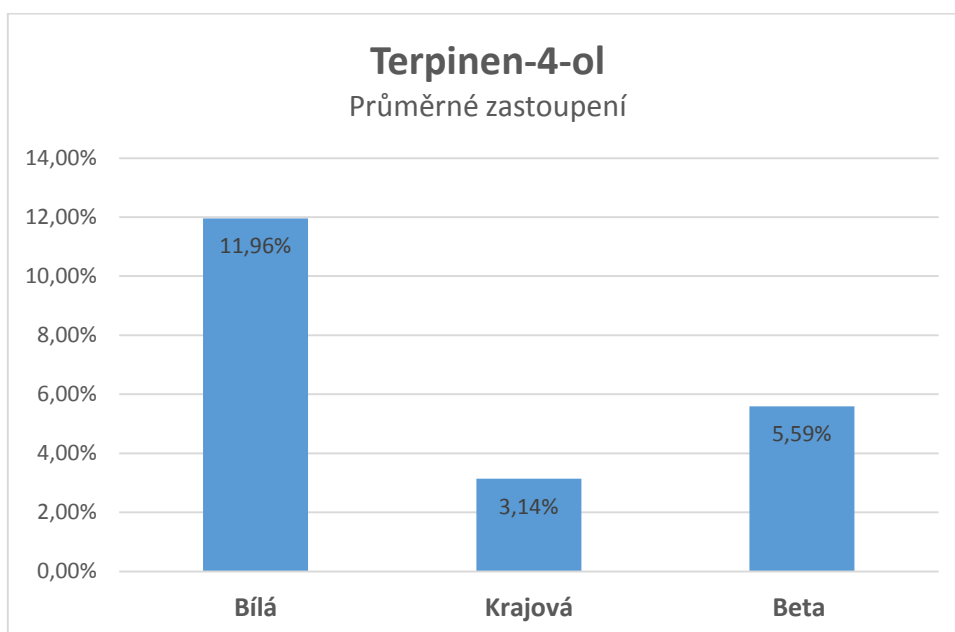
**Graf 8.8** Průměrná zastoupení endo-borneolu ve směsných vzorcích odrůd



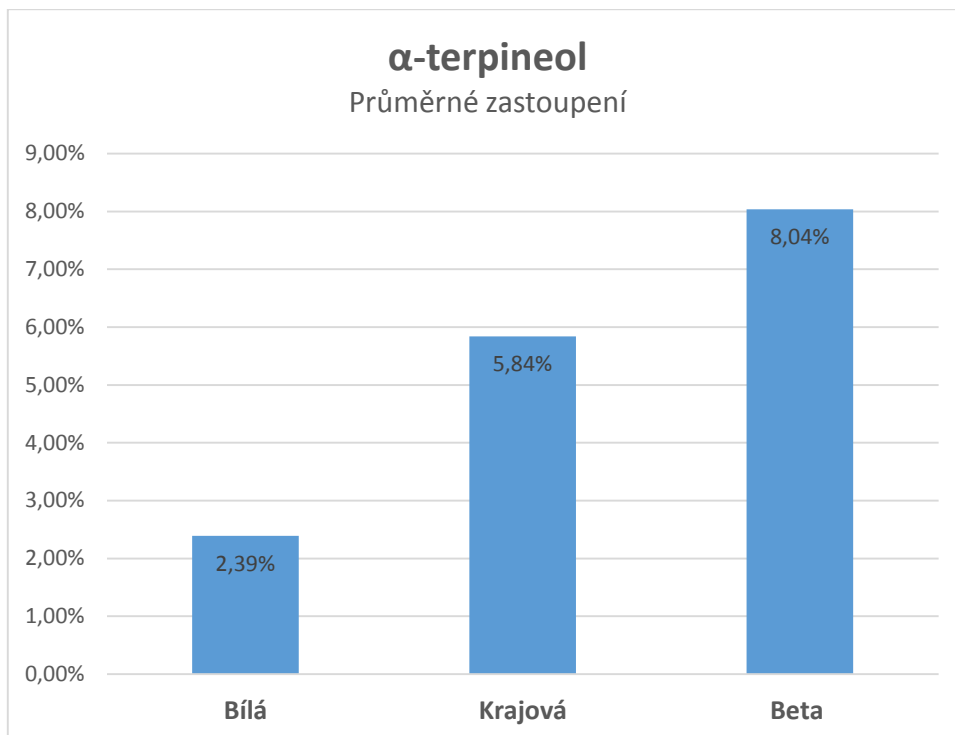
**Graf 8.9** Průměrná zastoupení lavandulolu ve směsných vzorcích odrůd



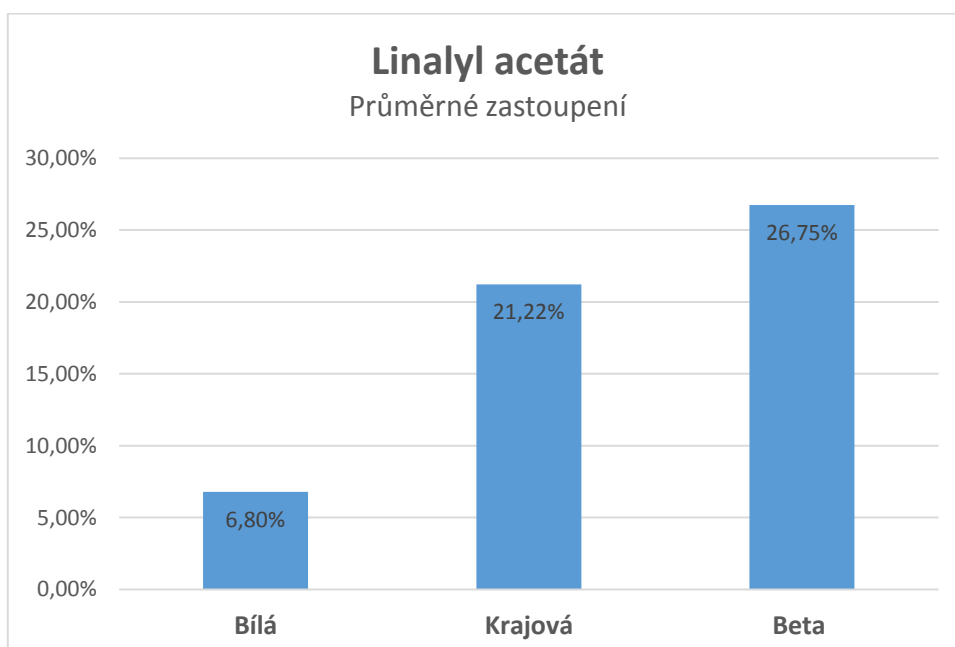
**Graf 8.10** Průměrná zastoupení terpinen-4-olu ve směsných vzorcích odrůd



**Graf 8.11** Průměrná zastoupení  $\alpha$ -terpineolu ve směsných vzorcích odrůd

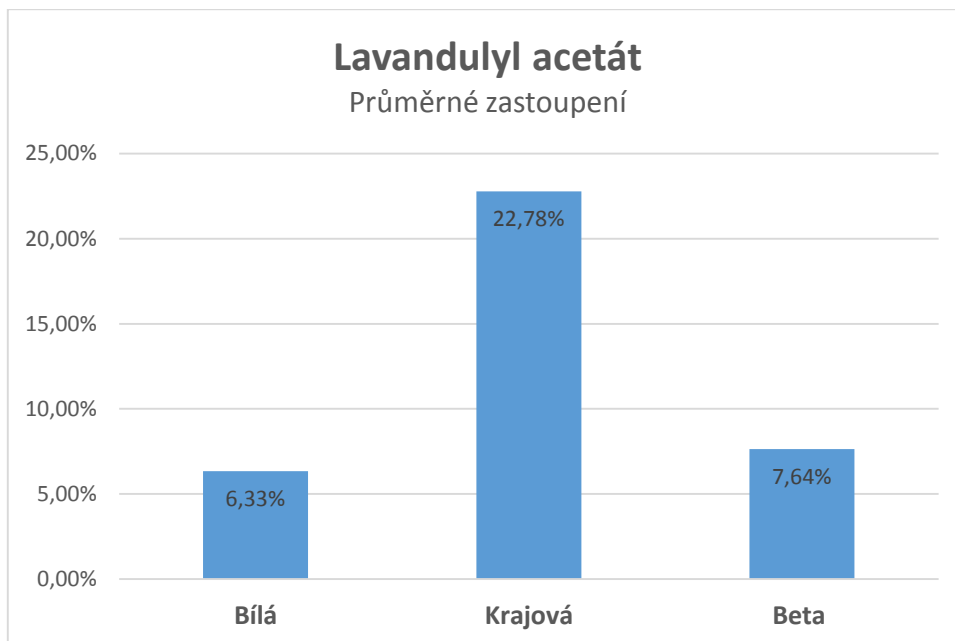


**Graf 8.12** Průměrná zastoupení linalyl acetátu ve směsných vzorcích odrůd

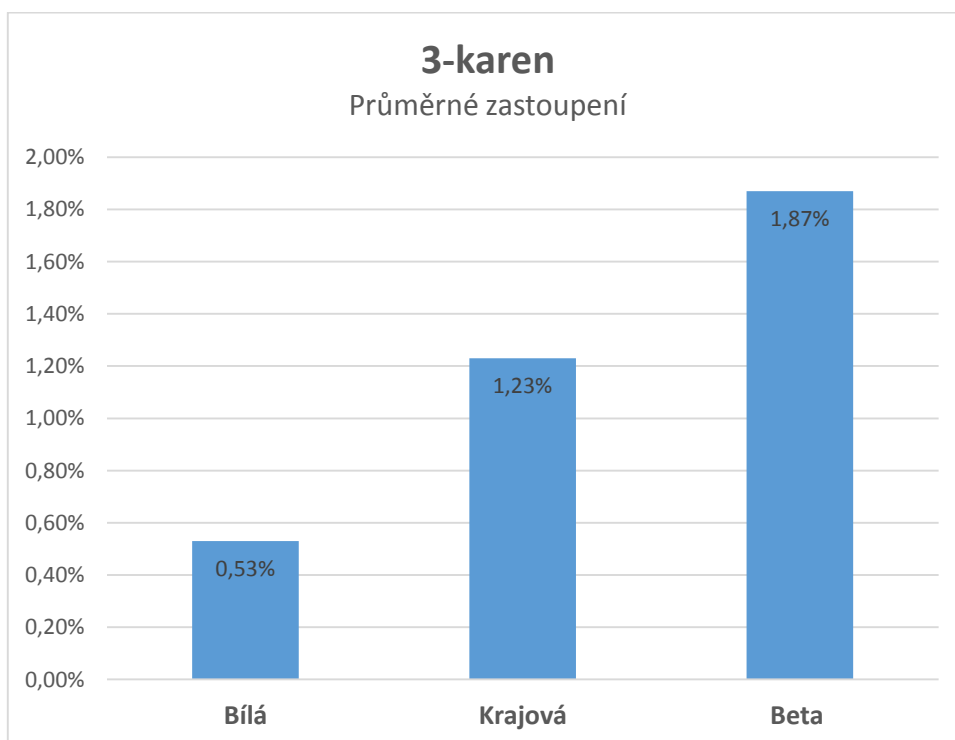




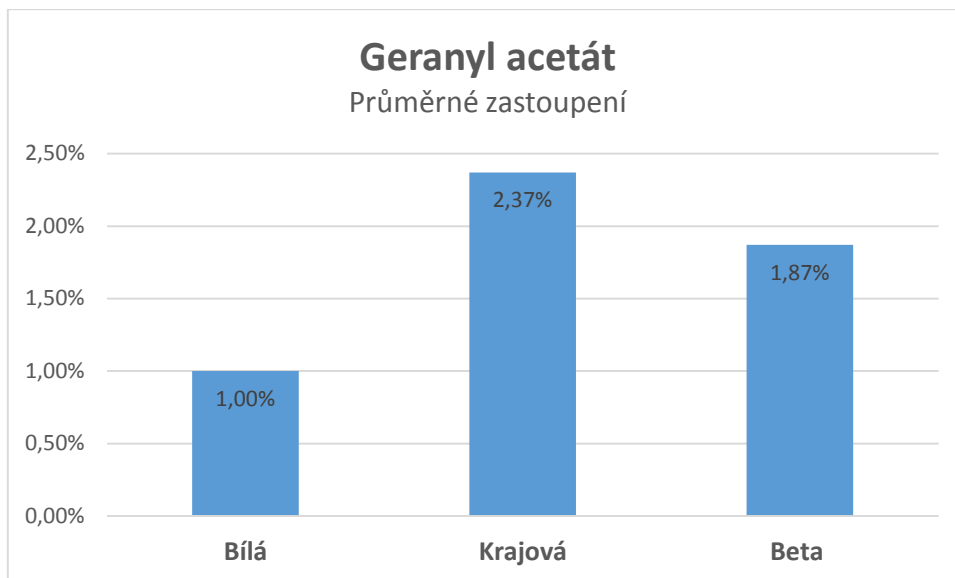
**Graf 8.13** Průměrná zastoupení lavandulyl acetátu ve směsných vzorcích



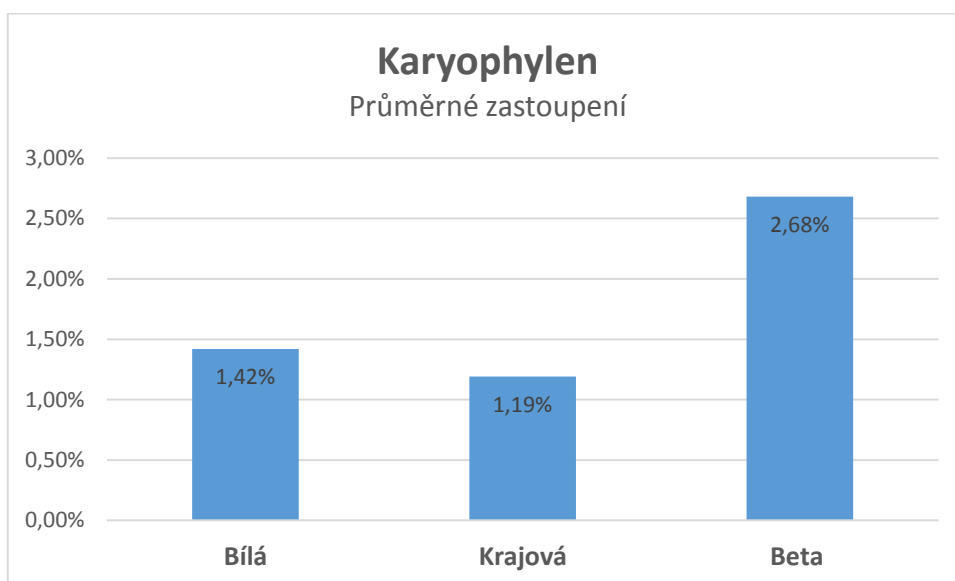
**Graf 8.14** Průměrná zastoupení 3-karenu ve směsných vzorcích odrůd



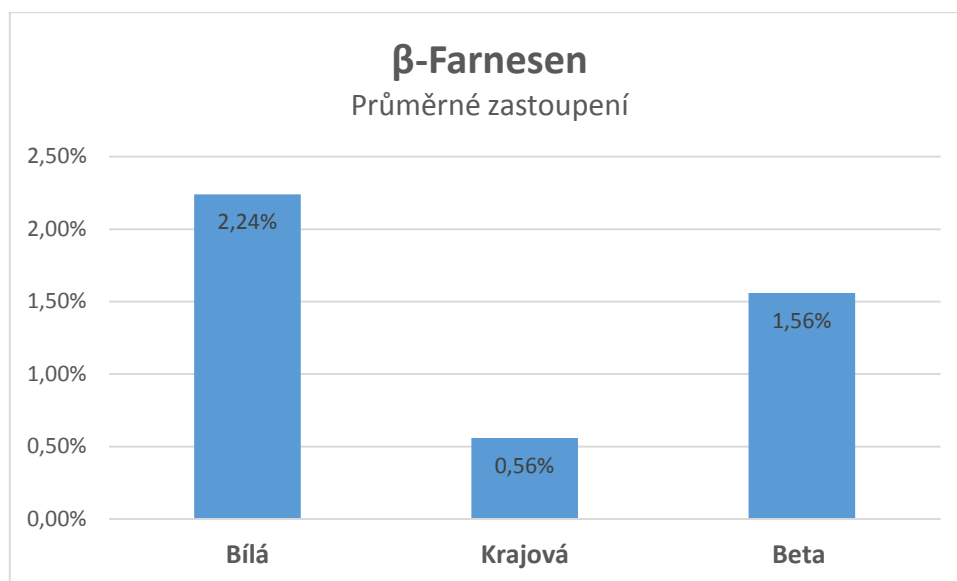
**Graf 8.15** Průměrná zastoupení geranyl acetátu ve směsných vzorcích odrůd



**Graf 8.16** Průměrná zastoupení karyophylenu ve směsných vzorcích odrůd



**Graf 8.17** Průměrná zastoupení  $\beta$ -farnesenu ve směsných vzorcích odrůd

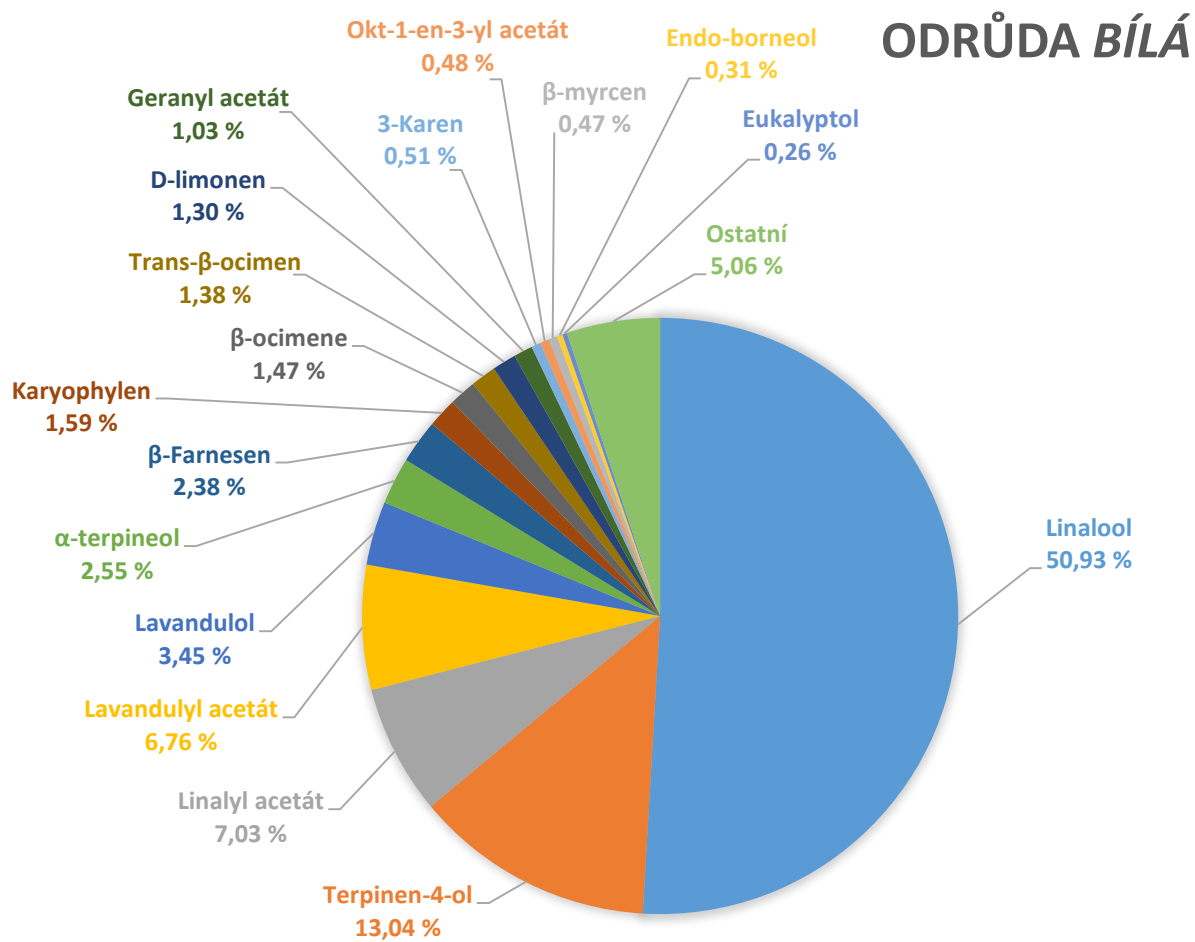


**Příloha 9 Průměrná zastoupení obsahových látek v odrůdách dle rozborů primárních vzorků**

**Tabulka 9.1.1** Průměrná zastoupení obsahových látek v primárních vzorcích odrůdy *bílá* 3343 seřazená sestupně

<b>Odrůda <i>bílá</i></b>		
Pořadí	látka	Průměrné zastoupení
1.	Linalool	50,93 %
2.	Terpinen-4-ol	13,04 %
3.	Linalyl acetát	7,03 %
4.	Lavandulyl acetát	6,76 %
5.	Lavandulol	3,45 %
6.	$\alpha$ -terpineol	2,55 %
7.	$\beta$ -Farnesen	2,38 %
8.	Karyophylen	1,59 %
9.	$\beta$ -ocimene	1,47 %
10.	Trans- $\beta$ -ocimen	1,38 %
11.	D-limonen	1,30 %
12.	Geranyl acetát	1,03 %
13.	3-Karen	0,51 %
14.	Okt-1-en-3-yl acetát	0,48 %
15.	$\beta$ -myrcen	0,47 %
16.	Endo-borneol	0,31 %
17.	Eukalyptol	0,26 %
18.	Ostatní	5,06 %

**Graf 9.1.2** Průměrná zastoupení obsahových látek v primárních vzorcích odrůdy *bílá* 3343 znázorněná ve výsečovém grafu

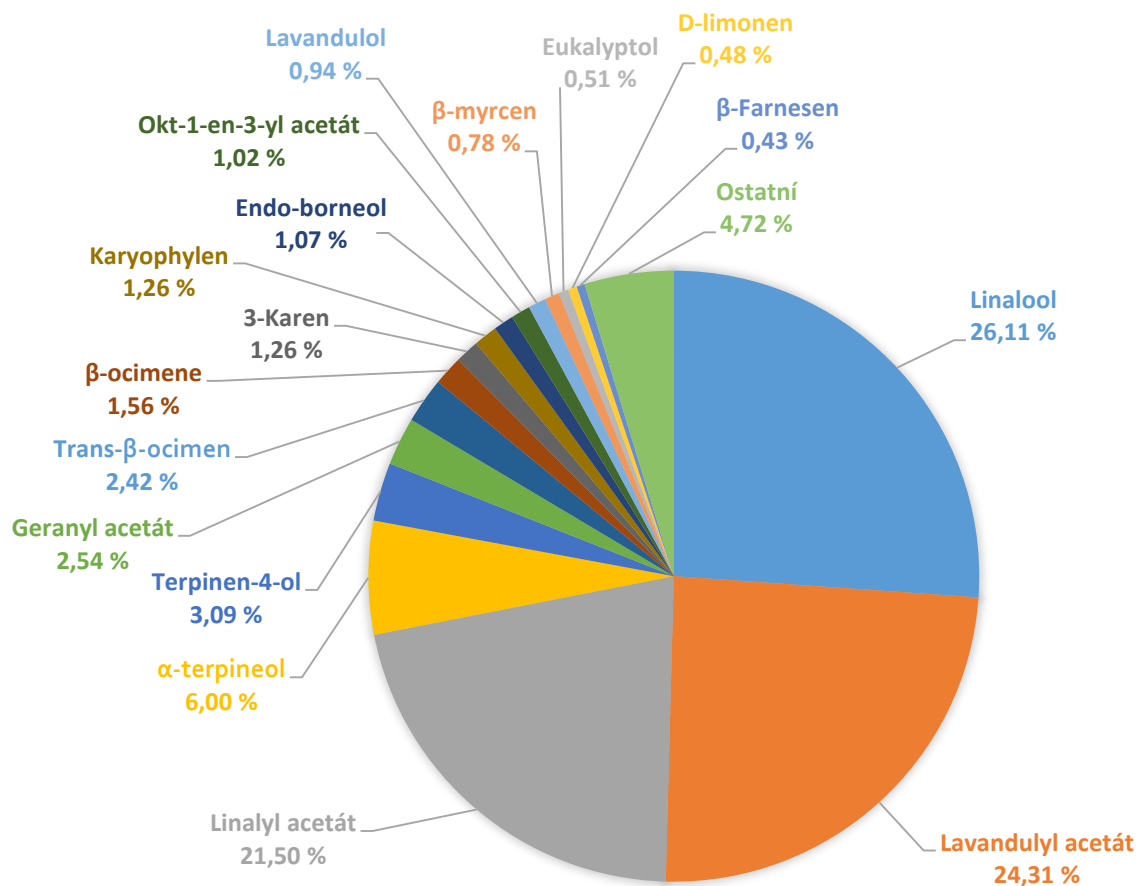


**Tabulka 9.2.1** Průměrná zastoupení obsahových látek v primárních vzorcích odrůdy *krajová* 3344 seřazená sestupně

<b>Odrůda <i>krajová</i></b>		
Pořadí	látka	Průměrné zastoupení
1.	Linalool	26,11%
2.	Lavandulyl acetát	24,31 %
3.	Linalyl acetát	21,50 %
4.	$\alpha$ -terpineol	6,00 %
5.	Terpinen-4-ol	3,09 %
6.	Geranyl acetát	2,54 %
7.	Trans- $\beta$ -ocimen	2,42 %
8.	$\beta$ -ocimene	1,56 %
9.	3-Karen	1,26 %
	Karyophylen	1,26 %
10.	Endo-borneol	1,07 %
11.	Okt-1-en-3-yl acetát	1,02 %
12.	Lavandulol	0,94 %
13.	$\beta$ -myrcen	0,78 %
14.	Eukalyptol	0,51 %
15.	D-limonen	0,48 %
16.	$\beta$ -Farnesen	0,43 %
17.	Ostatní	4,72 %

**Graf 9.2.2** Průměrná zastoupení obsahových látek v primárních vzorcích odrůdy krajová 3344 znázorněná ve výsečovém grafu

## ODRŮDA KRAJOVÁ

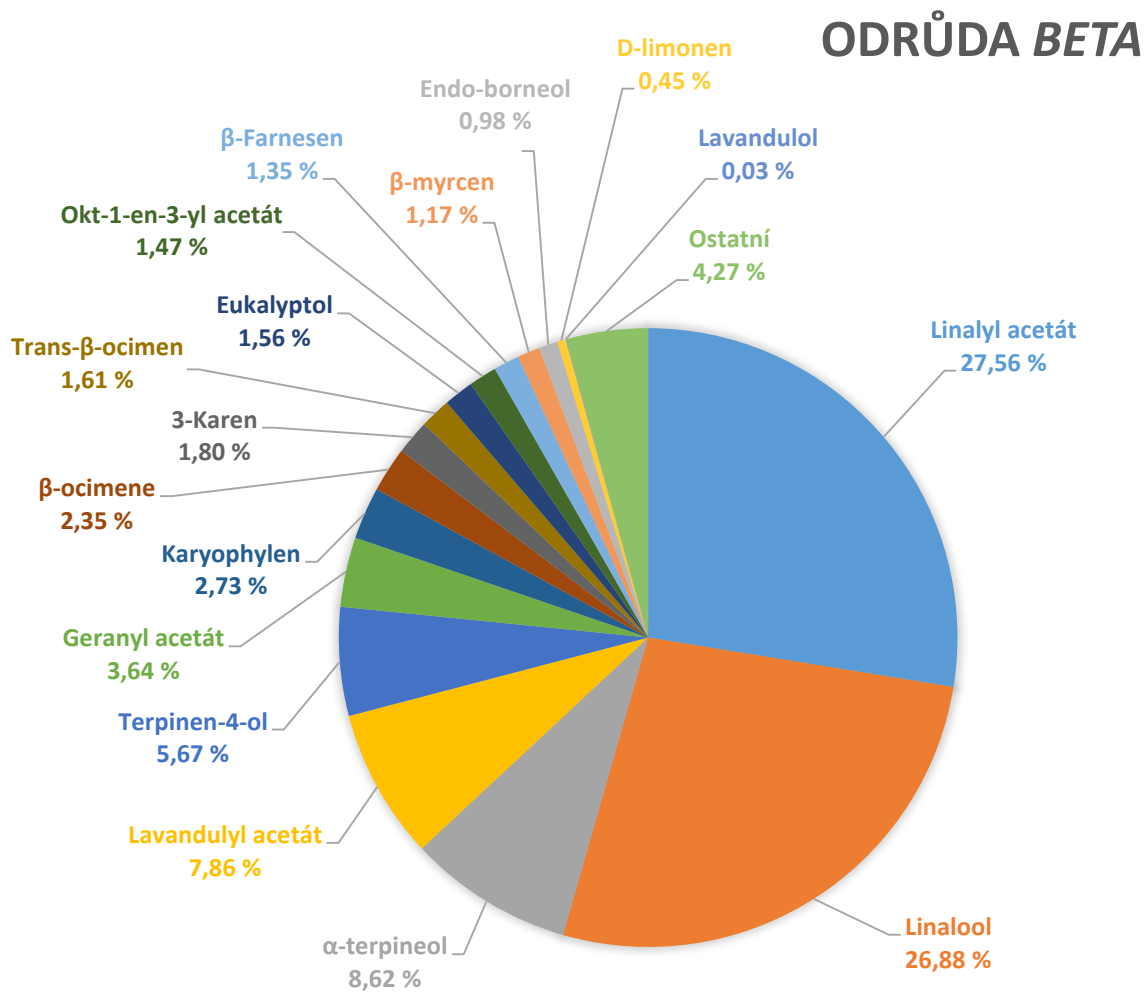




**Tabulka 9.3.1** Průměrná zastoupení obsahových látek v primárních vzorcích odrůdy *beta* 3345 seřazená sestupně

<b>Odrůda <i>beta</i></b>		
Pořadí	látko	Průměrné zastoupení
1.	Linalyl acetát	27,56 %
2.	Linalool	26,88 %
3.	$\alpha$ -terpineol	8,62 %
4.	Lavandulyl acetát	7,86 %
5.	Terpinen-4-ol	5,67 %
6.	Geranyl acetát	3,64 %
7.	Karyophylen	2,73 %
8.	$\beta$ -ocimene	2,35 %
9.	3-Karen	1,80 %
10.	Trans- $\beta$ -ocimen	1,61 %
11.	Eukalyptol	1,56 %
12.	Okt-1-en-3-yl acetát	1,47 %
13.	$\beta$ -Farnesen	1,35 %
14.	$\beta$ -myrcen	1,17 %
15.	Endo-borneol	0,98 %
16.	D-limonen	0,45 %
17.	Lavandulol	0,03 %
18.	Ostatní	4,27 %

**Graf 9.3.2** Průměrná zastoupení obsahových látek v primárních vzorcích odrůdy *beta* 3345 znázorněná ve výsečovém grafu



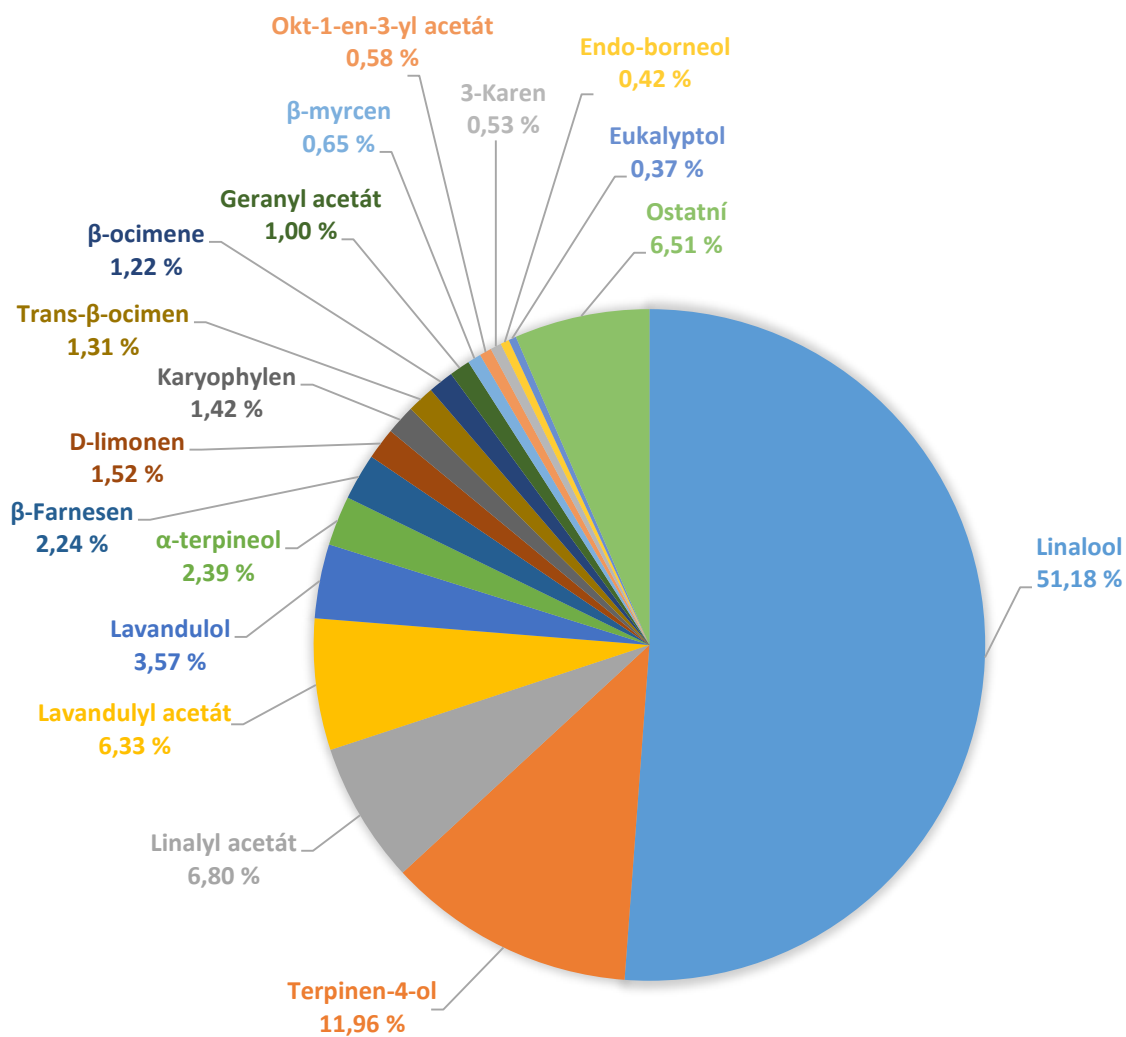
**Příloha 10 Průměrná zastoupení obsahových látek v odrůdách dle  
rozborů směsných vzorků**

**Tabulka 10.1.1** Průměrná zastoupení obsahových látek ve směsných vzorcích odrůdy *bílá* 3343 seřazená sestupně

<b>Odrůda <i>bílá</i></b>		
Pořadí	látko	Průměrné zastoupení
1.	Linalool	51,18 %
2.	Terpinen-4-ol	11,96 %
3.	Linalyl acetát	6,80 %
4.	Lavandulyl acetát	6,33 %
5.	Lavandulol	3,57 %
6.	$\alpha$ -terpineol	2,39 %
7.	$\beta$ -Farnesen	2,24 %
8.	D-limonen	1,52 %
9.	Karyophylen	1,42 %
10.	Trans- $\beta$ -ocimen	1,31 %
11.	$\beta$ -ocimene	1,22 %
12.	Geranyl acetát	1,00 %
13.	$\beta$ -myrcen	0,65 %
14.	Okt-1-en-3-yl acetát	0,58 %
15.	3-Karen	0,53 %
16.	Endo-borneol	0,42 %
17.	Eukalyptol	0,37 %
18.	Ostatní	6,51 %

**Graf 10.1.2** Průměrná zastoupení obsahových látek ve směsných vzorcích odrůdy *bílá* 3343 znázorněná ve výsečovém grafu

## ODRŮDA *BÍLÁ*

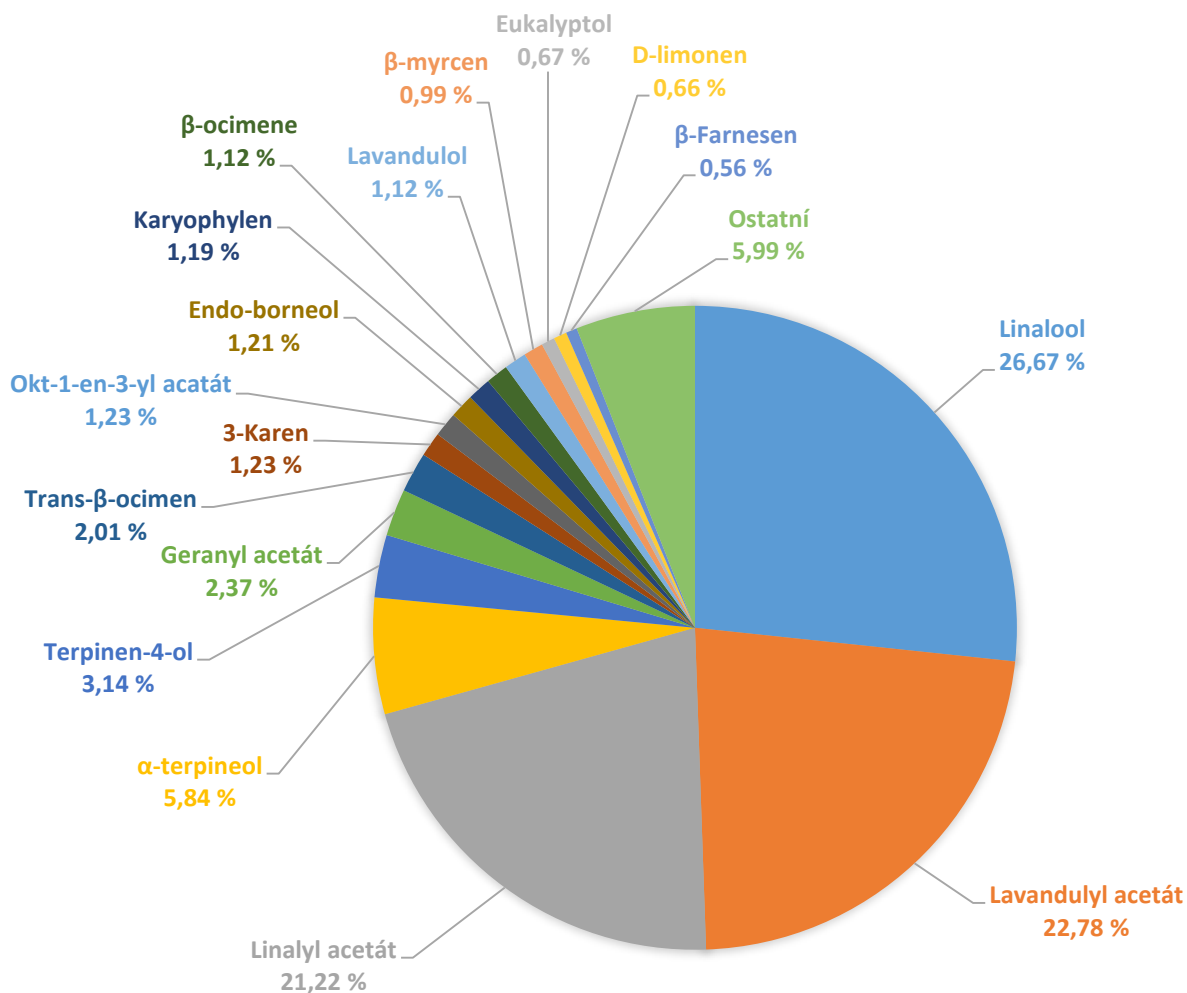


**Tabulka 10.2.1** Průměrná zastoupení obsahových látek ve směsných vzorcích odrůdy *krajová* 3344 seřazená sestupně

<b>Odrůda <i>krajová</i></b>		
Pořadí	látka	Průměrné zastoupení
1.	Linalool	26,67 %
2.	Lavandulyl acetát	22,78 %
3.	Linalyl acetát	21,22 %
4.	$\alpha$ -terpineol	5,84 %
5.	Terpinen-4-ol	3,14 %
6.	Geranyl acetát	2,37 %
7.	Trans- $\beta$ -ocimen	2,01 %
8.	Okt-1-en-3-yl acetát	1,23 %
	3-Karen	1,23 %
9.	Endo-borneol	1,21 %
10.	Karyophylen	1,19 %
11.	$\beta$ -ocimene	1,12 %
	Lavandulol	1,12 %
12.	$\beta$ -myrcen	0,99 %
13.	Eukalyptol	0,67 %
14.	D-limonen	0,66 %
15.	$\beta$ -Farnesen	0,56 %
16.	Ostatní	5,99 %

**Graf 10.2.2** Průměrná zastoupení obsahových látek ve směsných vzorcích odrůdy krajová 3344 znázorněná ve výšečovém grafu

## ODRŮDA KRAJOVÁ



**Tabulka 10.3.1** Průměrná zastoupení obsahových látek ve směsných vzorcích odrůdy *beta* 3345 seřazená sestupně

<b>Odrůda <i>beta</i></b>		
Pořadí	látká	Průměrné zastoupení
1.	Linalyl acetát	26,75 %
2.	Linalool	25,92 %
3.	$\alpha$ -terpineol	8,04 %
4.	Lavandulyl acetát	7,64 %
5.	Terpinen-4-ol	5,59 %
6.	Karyophylen	2,68 %
7.	$\beta$ -ocimene	2,05 %
8.	3-Karen	1,87 %
	Geranyl acetát	1,87 %
9.	Eukalyptol	1,76 %
10.	Okt-1-en-3-yl acetát	1,70 %
11.	Trans- $\beta$ -ocimen	1,57 %
12.	$\beta$ -Farnesen	1,56 %
13.	$\beta$ -myrcen	1,40 %
14.	Endo-borneol	1,11 %
15.	D-limonen	0,59 %
16.	Lavandulol	0,13 %
17.	Ostatní	7,77 %



**Graf 10.3.2** Průměrná zastoupení obsahových látek ve směsných vzorcích odrůdy krajová 3344 znázorněná ve výšečovém grafu

