



VLIV SILIC A JEJICH HLAVNÍCH ÚČINNÝCH LÁTEK NA MIKROORGANISMY A NA ARCHIVNÍ MATERIÁL

Mgr. Bronislava Bacílková, Ing. Hana Paulusová
Oddělení péče o fyzický stav archiválií

Národní archiv

Praha, leden 2012

Silice (nebo také esenciální oleje) jsou známé svými inhibičními účinky proti široké škále různých organismů, zahrnující např. viry, chlamydie, bakterie, houby, protozoa a škodlivý hmyz. (Inouye 2006) Největší praktické uplatnění nacházejí zejména v kosmetice a potravinářství. V poslední době však byla provedena řada pokusů s cílem ověřit možnost využití dezinfekčních účinků silic v archivech a knihovnách. Výhodou by v tomto případě bylo jejich působení v plynné fázi a tím i jednoduchá aplikace. Je ale třeba prověřit i možné negativní účinky silic, zejména na papír a další archivní materiál.

1 Obecná charakteristika silic

1.1 Vlastnosti silic

Silice (éterické oleje, esenciální oleje nebo aromatické oleje) definujeme jako těžké, intenzivně vonící směsi přírodních rostlinných látek olejovité konzistence, lipofilní, ve vodě těžko rozpustné. Zpravidla jsou bezbarvé, zvláště v čerstvém stavu, delším uchováváním snadno oxidují, pryskyřičnatí a tmavnou. Přírodně žlutohnědá je hřebíčková silice, zeleně nebo modře jsou zbarveny silice obsahující azulen. Za obvyčné teploty jsou zpravidla tekuté; některé, např. silice růžová nebo anýzová, částečně tuhnou. Hustota silic je většinou menší než 1. Výjimkou jsou silice s vysokým obsahem aromatických a síru obsahujících sloučenin (silice skořicová, hřebíčková, hořčičná). Vyznačují se optickou aktivitou a vysokým indexem lomu, daným přítomností nenasycených látek s dvojnými a trojnými vazbami. (Hubík 1989)

1.2 Složení silic

Silice se zpravidla skládají z velkého počtu chemických sloučenin. Dosud bylo identifikováno přes 500 různých látek, přičemž v jedné silici jich může být obsaženo až 50. Jsou zastoupeny látky různých biogenetických skupin, zejména látky s nižší molekulovou hmotností, s menším počtem kyslíkatých funkcí, bez glykosidní vazby na cukry. Tyto vlastnosti mají hlavně monoterpeny, seskviterpeny, diterpeny a fenylpropany. Jsou zastoupeny prakticky všechny typy organických sloučenin – uhlovodíky, alkoholy, aldehydy, ketony, kyseliny, estery, étery a jiné.

Uhlovodíky se vyskytují téměř ve všech silicích. Patří k nim monocyklické monoterpeny *limonen* (citrusové silice), *α-terpinen* (koriandr, kardamom), *α-felandren* (fenykl, eukalyptus), bicyklické monoterpeny *pinen* (jehličnaté rostliny), *sabinen*, vzácněji se vyskytující acyklické monoterpeny *ocimen* (*Ocimum*), bicyklické seskviterpeny *kadinen* (*Piper cubeba*, *Pix juniperi*), monocyklický *zingiberen* (zázvor).

Alkoholy se v silicích vyskytují jako acyklické, monocyklické a bicyklické monoterpeny a seskviterpeny. Součástí silic jsou také alifatické alkoholy – protože však jsou rozpustné ve vodě, přecházejí během destilace silic do vodné fáze. K acyklickým alkoholům patří

monoterpeny *geraniol*, *linalool* a *citronellol*, k monocyklickým *mentol* (máta), k bicyklickým *borneol* (rozmarýn).

Aldehydy v silicích jsou acyklické nebo cyklické. Mezi acyklické patří monoterpeny *citral* (*geranial*), odpovídající alkoholu geraniolu, a *citronellal*, odpovídající alkoholu citronellolu. Aromatické, cyklické aldehydy jsou *benzaldehyd*, *skořicový aldehyd*, *vanilin*. Triterpenické acyklické aldehydy se odvozují z acetátového metabolismu. Aromatické aldehydy vznikají z fenylpropanových prekursorů.

Ketony jsou buď monocyklické monoterpeny – *menthon* (máta peprná), *karvon* (kmín), *piperiton* (eukalyptus), *diosfenol* (buko) nebo bicyklické – *kafr*, *thujon* nebo neterpenické – *iron* (kosatec). Biosyntéza karvonu, kafru a thujonu vychází z mevalonátu a acetátu.

Fenoly se v silicích vyskytují buď genuinně, nebo se tvoří při destruktivní destilaci (dehty, *Olea empyreumatica*). K nejdůležitějším přírodním fenolům patří *eugenol*, *thymol* a *karvakrol*. Terpenické fenoly se tvoří acetátovým metabolismem.

Fenolické étery jsou *anethol* (anýz, fenykl), *safrol* (sassafras, japonský hvězdicový anýz), deriváty safrolu – *myristicin* (= metoxysafrol) a *apiol* (= dimetoxysafrol). Anethol se tvoří z fenylalaninu přes řadu meziproductů.

Oxidy se vyskytují v eukalyptové silici *eukalyptol* (= *cineol*), v merlíkové silici – *askaridol*.

Estery jsou nejčastěji *octany terpineolu*, *borneolu* nebo *geraniolu*. Patří sem také *isothiokyanatany* uvolňované z thioglykosidů a *salicylan methylnatý* (z *Gaultheria procumbens*). Terpenické estery se tvoří z odpovídajících alkoholů reakcí s alifatickou kyselinou (obvykle octovou), např. u menthyl acetátu. (Hubík 1989)

Jen v několika případech jedna složka svým množstvím převládá, jako např. eugenol v hřebíčkové silici nebo isothiokyanatan allylnatý v hořčičné silici.

Stárnutím mění silice své vlastnosti. Tmavnou, pryskyřičnatější (vzrůstá hustota), mění vůni. Dochází k autooxidaci, polymeraci, hydrolyze esterů. Chemické změny podporuje vyšší vlhkost, teplo, vzdušný kyslík, světlo. Nejrychleji se mění silice s vysokým obsahem terpenických uhlovodíků (citrusové silice, silice konifer), patrně proto, že nenasycené terpenické uhlovodíky se snadno oxidují, přenášejí kyslík na další součásti silice a uvolňují celé řetězové reakce. Původní vůně silice se tím často zásadně mění, např. citrusové silice nabývají terpentýnového zápachu. Protože se terpenické uhlovodíky podílejí na vůni silic jen málo, zbavují se silice těchto labilních látek a zvýší se tím jejich trvanlivost a zjemní vůně.

V silicích s vysokým obsahem esterů (bergamotová, levandulová) přibývá uchováváním obsahu kyselin vlivem částečného zmýdelnění esterů. Také silice s obsahem aldehydů a fenolů se často mění, zatímco silice obsahující jako hlavní složku alkoholy (geraniová) jsou relativně stálé. (Hubík 1989)

1.3 Výskyt silic

Pro některé čeledi rostlin je výskyt silic typický. Jsou to např. Pinaceae, Zingiberaceae, Lauraceae, Rutaceae, Myrtaceae, Lamiaceae. Mezi jednotlivými čeleděmi však existují rozdíly v tvorbě a ukládání silic. Tak například Lamiaceae vytvářejí povrchové žlázy – žláznaté trichomy s obsahem silic, Apiaceae vytvářejí siličné kanálky, Piperaceae tvoří siličné buňky. Silice se tvoří v protoplazmě nebo rozpadem buněčných blan nebo hydrolyzou určitých glykosidů. Mohou prostupovat všechna pletiva (např. u konifer) nebo se koncentrují v určitých orgánech, např. v plodech mrkvovitých, v kůře a listech skořicovníku, v žláznatých trichomech listů máty, v oplodí nebo květech citroníků.

Význam silic pro rostlinu je objasněn jen částečně. Zatím se vykládají jako lákadla pro opylující hmyz, jako usměřovače transpirace. Také plní v rostlině funkci fytoncidů, tedy látek s protipatogenními účinky. Obsah silic v rostlině kolísá nejen v průběhu jejího vývinu (ontogeneze), ale též během 24 hodin, což dokazuje jejich aktivní zapojení do látkové výměny.

1.4 Získávání silic

Silice se získávají z rostlinných surovin několika technologickými postupy.

a) Nejstarším způsobem je extrakce pomocí tuků. V omezeném rozsahu se používá dodnes k zpracování květů, v nichž je obsah silice velmi nízký (jasmín, tuberóza), jako tzv. enfleuráž. Čerstvé květy se rozloží na tenkou vrstvu tuku nebo oleje na skleněných deskách a po 24 až 72 hodinách se vymění za čerstvé květy. Tuk nasycený silicí se pak extrahuje alkoholem. Silici lze z květů extrahovat také zahříváním s roztaveným tukem, obvykle s vepřovým sádlem. Tuk se pak zbaví rostlinných částí hydraulickým lisováním nebo odstředěním, vonné látky se převedou do alkoholu a vzniklý extrakt se zahustí. Vysoce kvalitní silice se získávají extrakcí pomocí oxidu uhličitého. CO₂ je udržován pod tlakem v kapalném stavu v uzavřeném systému s rostlinnou drogou, ze které se uvolňuje silice.

b) Průmysl parfémů používá většinou kontinuální extrakce lehce těkavými rozpouštědly, zpravidla petroléterem nebo benzenem. Kromě vlastní silice se extrahují také vosky a tuky, takže po oddestilování vyluhovadla se získají polotuhé produkty (tzv. „konkrétní silice“). Balastní látky se oddělují jejich rozpouštěním v teplém lihu a vymražením. Vyčištěná silice se označuje jako „absolutní“. Extrakční postupy jsou poměrně nákladné a jejich použití se proto omezuje na případy, kdy je nutné získat vonné látky nezměněné nebo kdy je obsah silice v rostlinném materiálu tak nízký, že destilace nedává uspokojivé výsledky.

c) Pro farmaceutické účely se silice získávají většinou destilací. Destilace z vody se používá pro suchý materiál, v němž vroucí voda nezpůsobuje nežádoucí změny. Získává se tak hlavně terpentýnová silice z terpentýnu. Destilace přeháněním s vodní parou se používá

zejména pro sušený materiál, kde je přímý var ve vodě nežádoucí. Rozdrobněná droga se v destilační nádobě přelije vodou a do směsi se vhání pára. Čerstvý, dosud vlhký materiál (např. máta) se nemaceruje ve vodě, ale umístí se v destilačním kotli na drátěný rošt nebo do drátěného koše, a prohání se jím pára. Těkavé látky, i vysokovroucí, přecházejí i s vodní parou do chladiče a v kondenzátu se oddělují od vodné fáze. Destilací získané silice se vždy do jisté míry liší svým pachem od silic získaných extrakcí; vyšší teplota způsobuje změny ve složkách silic, hydrolyzu esterů apod. Destilace má proto probíhat co možná rychle, aby se rozklad snížil na minimum.

d) Silice, které nelze bez rozkladu destilovat, se nejlépe získávají lisováním, zvl. jsou-li siličné buňky nebo kanálky uloženy v povrchových vrstvách rostliny, jako je tomu např. v oplodí pomeranče nebo citronu. Vylisovaná tekutina však není čistou silicí, neboť obsahuje také vodu a rozličné jiné látky, např. pektiny. Citrusové silice se získávají také nabodáváním plodů jehlami.

2 Účinky silic na živé organismy

Antimikrobiální aktivita některých silic byla potvrzena mnoha studii – výsledky jsou však obtížně srovnatelné, protože jsou značně ovlivněny použitou metodikou a druhem testovaného mikroorganismu.

2.1 Testování antimikrobiálního účinku silic

Pro zkoušení antimikrobiálního účinku silic se nejčastěji využívají metody vyvinuté speciálně pro testování antibiotik. V tomto případě je roztok zkoušené látky v přímém kontaktu s mikroorganismem v tekuté nebo agarové živné půdě. Podle konkrétního uspořádání pokusu lze metody rozdělit na:

- agarové difúzní metody (s použitím papírových disků nebo jamek)
- diluční metody (v agarových nebo tekutých živných půdách).

Provedení obou typů metod komplikují některé specifické vlastnosti silic, především však jejich nedostatečná rozpustnost ve vodě a těkavost. Výše uvedené metody byly totiž vyvinuty pro vodorozpustné látky, proto musí být jejich provedení různě modifikováno. Silice se obecně vyznačují hydrofobním charakterem a poměrně vysokou viskozitou. Proto se do živných půd přidávají různá rozpouštědla (PEG, Tween, DMSO, ethanol), která sice mnohdy vyřeší problém rozpustnosti, mohou však nepříznivě ovlivnit růstové vlastnosti použitých mikroorganismů. (Kalemba 2003, Nedorostova 2009)

Další možností je testování účinků silic v plynné fázi. V tomto případě je silice umístěna mimo živnou půdu a do kontaktu se zkoušeným mikroorganismem se tak dostávají pouze její páry. Při tomto způsobu testování byl experimentálně prokázán výraznější účinek

silic zejména u hub. Jedním vysvětlením může být kombinovaný účinek působení par a nepřímého působení živné půdy s absorbovanou silicí. Houby rostou více na povrchu a jsou tedy více vystavené vlivu par, zatímco u bakterií převládá vliv silic akumulovaných v substrátu. Jiným vysvětlením může být obecně větší citlivost hub vůči silicím. (Bergkvist 2007)

2.2 Vliv silic na mikroorganismy

Mezi nejčastěji testované mikroorganismy patří zástupci gram-pozitivních bakterií (*Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus*), gram-negativních bakterií (*Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*), kvasinek (*Candida albicans*) a plísní (*Aspergillus niger*). Ze skupiny plísní byly použity ke zkouškám také typické archivní a muzejní kontaminanty *Aspergillus fumigatus*, *Aspergillus repens*, *Cladosporium herbarum*, *Penicillium frequentans*, *Trichoderma viride*, *Chaetomium globosum*, *Paecilomyces varioti* a *Stachybotrys atra*. (Rakotonirainy 2005) a rostlinné patogeny *Botrytis cinerea*, *Fusarium moniliforme*, *Fusarium oxysporum*, *Fusarium solani* a další. (Kalemba 2003)

Mechanismus účinku silic na mikroorganismy je komplexní a není ještě zcela úplně vysvětlen. Například terpenoidy jako látky lipofilního charakteru zřejmě působí na membránové enzymy a blokují respirační cyklus. Jiné součásti silic mohou působit na další biochemické buněčné děje – inhibují syntézu DNA, RNA, proteinů a polysacharidů. Přímou pozorovatelnou morfologickou změnou plísně *Cladosporium herbarum* byly prokázány při působení eugenolu a karvakrolu. Měkké a ohebné mycelium se stalo tuhým a fragilním, cytoplazma byla částečně vylučována ven z buněk. Rovněž se změnil způsob větvení hyf a tvorba konidií. Všechny tyto děje byly pravděpodobně způsobeny zásahem do činnosti enzymů buněčné stěny, jako jsou například chitinázy a glukánázy.

Stanovení optimální koncentrace silice pro dezinfekci je velmi obtížné. Kromě značných rozdílů v citlivosti mikroorganismů, které byly naměřeny při použití různých metod a silic z různých druhů rostlin, existují i rozdíly v citlivosti u silic získaných z téhož druhu rostliny, avšak jiným způsobem nebo za jiných podmínek. Chemické složení a tím i účinek silice ovlivňuje řada faktorů, jako jsou klimatické a růstové podmínky v lokalitě, odkud byla matečná rostlina získána (teplota, složení půdy apod.), použitá část rostliny a její vývojový stav v době sklizně, způsob destilace a uchovávání silice. (Kalemba 2003) V tabulce 1 jsou uvedeny příklady údajů o minimální inhibiční koncentraci silic získaných pomocí různých experimentů.

Tab. 1 Rostlinné silice, jejich hlavní účinné látky a údaje o minimální inhibiční koncentraci (MIC) stanovené různými experimenty (podle Ohlsson 2002)

Rostliny, koření	Účinná látka	Mikroorganismus	MIC (ppm)
nové koření	eugenol	houby, kvasinky	200
bazalka	linalool, methylchavikol	houby, kvasinky, bakterie	>1250
bobkový list	eugenol, linalool, 1,8-cineol	bakterie	400 – 5000
skořice	skořicový aldehyd, eugenol	kvasinky, bakterie	200 – 750
hřebíček	eugenol	houby, kvasinky, bakterie	250 – 1000
česnek	allicin	houby, kvasinky, bakterie	200 - >1000
citronová tráva	citral, limonen	houby, bakterie	1000, 5000
hořčice	allylisothiokyanát	houby, kvasinky, bakterie	0,034-600
oregano	thymol, karvakrol	houby, bakterie	100 – 1000 2,5 (fumigant)
rozmarnýn	linalool, kafr, 1,8-cineol	bakterie	1000 a více
šalvěj	thujon, 1,8-cineol	G-bakterie	750 – 3750
tymián	thymol, karvakrol, cymen	houby, kvasinky, bakterie	200 – 1000 3 (fumigant)

2.3 Vliv silic na lidský organismus

Silice se využívají ve velké míře v kosmetickém, farmaceutickém a potravinářském průmyslu a dalších oborech. Aromatické látky působí na čichové nebo chuťové receptory člověka a vyvolávají dojem vůně nebo chuti. Komplexní vjem vyvolaný vonnými a chuťovými látkami se označuje jako „aroma“. Aromatické látky vyvolávají u živých organismů vedle vjemu vůně a chuti také důležitou biologickou aktivitu. Tato bioaktivita působí na různých orgánových úrovních a vyvolává určité žádoucí (nebo také nežádoucí) účinky podle druhu použité silice. Působí-li rostlinné silice svou biologickou aktivitou na živý organismus, pak hovoříme o aromaterapii.

Ve farmacii se kromě silic používají též přímo siličné drogy i jednotlivé izolované složky silic – např. z natě máty peprné (*Herba menthae piperitae*) se izoluje mátová silice (*Oleum menthae piperitae*) a z ní potom mentol, z natě tymiánu (*Herba thymi*) se izoluje tymiánová silice (*Oleum thymi*) a z ní thymol. Přitom účinky drogy, silice a izolované látky bývají často odlišné. Samotné silice se využívají jako prostředky dráždící kůži (součást mastí proti revmatismu), protizánětlivé, podporující vykašlávání, podporující chuť k jídlu nebo mírně močopudné. (Hubík 1989)

Nezanedbatelné však mohou být i nežádoucí účinky silic. Některé jejich složky mohou působit dráždivě na pokožku nebo na sliznice (zejména ve vyšších koncentracích) nebo jako alergen. V silicích mohou být obsaženy i jedovaté látky (např. thujon).

3 Vliv par vybraných druhů silic na plísně a na papír

3.1 Materiál a metodika

3.1.1 Silice a hlavní účinné látky

Pro první experiment byla zvolena sada pěti silic, u nichž byly popsány protiplísňové účinky.

Bursera delpechiana (březule) NOBILIS TILIA, složení: linalool 81,5%, geranyl acetát 1,7%, linalyl acetát 1,1%

Cymbopogon citratus (citronová tráva) NOBILIS TILIA, složení: geranial 45,6%, neral 31,3%, citronellal 1,4%

Melaleuca alternifolia (tea tree) NOBILIS TILIA, složení: terpineol 45,0%, cineol 3,6%

Syzygium aromaticum (hřebíček) NOBILIS TILIA, složení: eugenol 79,8%, karyofylen 8,7%

Thymus vulgaris (tymián) NOBILIS TILIA, složení: thymol 35,6%, linalool 5,7%, karyofylen < 1%

Zároveň byly do pokusů zařazeny i chemické látky, které jsou hlavní součástí některých antimikrobně působících silic:

linalool, purum, Sigma-Aldrich

eugenol 99%, Sigma-Aldrich

thymol, čistý, Lachema Brno.

3.1.2 Tenkovrstvá chromatografie silic

K testování byly použity desky ALUGRAM Xtra SIL G/UV₂₅₄ (Macherey-Nagel, Německo) o velikosti 10x20 cm. Vzorky byly nanášeny pomocí mikropipety v množství 0,02 µl (čistá látka) nebo 0,08 µl (silice). Vyvíjecí soustavu tvořil ethylacetát s toluenem (7 : 93, v/v), komora byla sycena 1 hod před vyvíjením. Detekce byla provedena pomocí čerstvě připraveného roztoku vanilinu (1 % vanilin ve 2 % roztoku kyseliny sírové v ethanolu, v/v).

3.1.3 Vliv par silic na plísně

Zkoušené mikroorganismy (*Aspergillus niger* a *Penicillium chrysogenum*) byly naočkovány doprostřed agarové živné půdy na Petriho misce (sladinový agar, Hi-media). Zkoušené silice nebo jejich součásti byly umístěny na spodní část víčka Petriho misky. Celý systém byl uzavřen parafilmem tak, aby nedocházelo k úniku zkoušených látek do okolního prostředí. Po týdnu byla hodnocena velikost narostlé kolonie ve srovnání s kolonií vyvinutou v prostředí bez přítomnosti silice.

3.1.4 Vliv par silic na vlastnosti papíru

Byly provedeny první orientační testy na papírovou podložku (filtrační papír Whatman1 – čtverečky o rozměrech 6 × 6 cm umístěny do Petriho misky se silicemi o koncentraci 300 ppm po dobu 7 dní). Byla měřena barevná změna papírových vzorků v barevném prostoru CIELAB (spektrofotometr MINOLTA CM-2600d, úhel pozorovatele 2°) po 3 a 21 dnech od expozice.

3.1.5 Vliv par některých hlavních účinných látek silic na vlastnosti papíru

Po prvních orientačních testech byly pro druhý experiment vybrány dva oleje, a to linalool a eugenol, doplněné o thymol.

Podmínky experimentu

Do reagenční lahve se zábrusem bylo umístěno několik zkušebních archů filtračního papíru Whatman 1 a na dno lahve byl položen smotek papíru napuštěný příslušným olejem. Koncentrace par v lahvi dosáhla 300 ppm. Thymol za běžné teploty dosáhl koncentrace par pouze 75 ppm.

Lahve byly hermeticky uzavřeny a byly nechány v laboratorních podmínkách za konstantní teploty 23°C po dobu 3 měsíců. Poté byl papír vyjmut, v digestoři ponechán důkladně odvětrat a následně byl podroben umělému stárnutí v klimatizační komoře (Sanyo Gallenkamp PLC, Velká Británie) dle ČSN ISO 5630/3 při 80°C a 65% relativní vlhkosti po dobu 30 dní. Po kondicionování 24 hodin v podmínkách 23°C a 50% relativní vlhkosti byly vzorky papíru dále testovány.

Sledované vlastnosti

- barevné změny
- pH vodného výluhu za studena dle zrušené normy ČSN ISO 6588
- tržné zatížení dle ČSN ISO 1924 – 2
- tažnost dle ČSN ISO 1924 – 2
- odolnost v přehýbání dle ISO 5626



Obr. 1 Umístění vzorků papíru v lahvičkách a odvětrání papíru v digestoři

Změny optických vlastností

Optické vlastnosti byly sledovány přenosným spektrofotometrem CM – 2600d, (Minolta, Japonsko). Byla stanovena celková barevná diference ΔE^* , jasová odchylka ΔL^* a Δa^* , Δb^* znázorňující rozdíly pozic v kolorimetrickém diagramu CIELAB.

Podmínky měření: úhel pozorovatele 10° , osvětlovací zdroj D65 (teplota chromatičnosti 6504 K), průměr měřené plochy 8 mm.

Stanovení pH

Hodnoty pH byly stanoveny metodou studeného extraktu podle zrušené normy ČSN ISO 6588 na přístroji PerpHecT–metru, model 370 za použití výluhové kombinované elektrody PerpHecT 9256 BN (ATI ORION, USA). Výsledná hodnota je dána průměrem ze dvou naměřených hodnot.

Stanovení odolnosti v přehýbání

Odolnost v přehýbání byla stanovena dle ISO 5626 na zkušebním přístroji podle Schoppera (VEB Werkstoffprüfmaschinen Leipzig, Německo) při minimálním a maximálním tahu pružin 3,04 – 3,97 N. Udává se počtem dvojohybů zvlášť pro podélný a příčný směr.

Stanovení tržného zatížení

Tržné zatížení je zatížení změřené při zkoušce tahem, při němž dochází k přetržení proužku papíru stanovené délky a jednotkové šířky za stanovených podmínek.

Udává se v kNm^{-1} . Tržné zatížení bylo stanoveno na přístroji Alwetron TH1 (AB Lorentzen&Wettré, Švédsko) podle ČSN ISO 1924 – 2. Vzdálenost klem byla $50 \pm 0,1$ mm.

3.1.6 Vliv některých hlavních účinných látek silic na plasty

Po zkušenostech s uskladněním koncentrátů esenciálních olejů v polystyrenových zkumavkách, které se po určité době zakalily a polystyren se rozpouštěl, bylo sledováno i chování dalších materiálů na bázi syntetických polymerů v prostředí eugenolu, linaloolu a tymolu při koncentracích max. 300 ppm. Do skupiny zkoušených materiálů byly zařazeny takové, které se běžně objevují v archivních sbírkách buď přímo jako archivní materiál (acetátové a nitrátové podložky fotografického a filmového materiálu) nebo jako obaly (PP, PET a PVC folie) či se používají jako restaurátorský materiál (Filmoplast R).



Obr. 2 Polystyrenové zkumavky poškozené vlivem silic

Vybrané vzorky

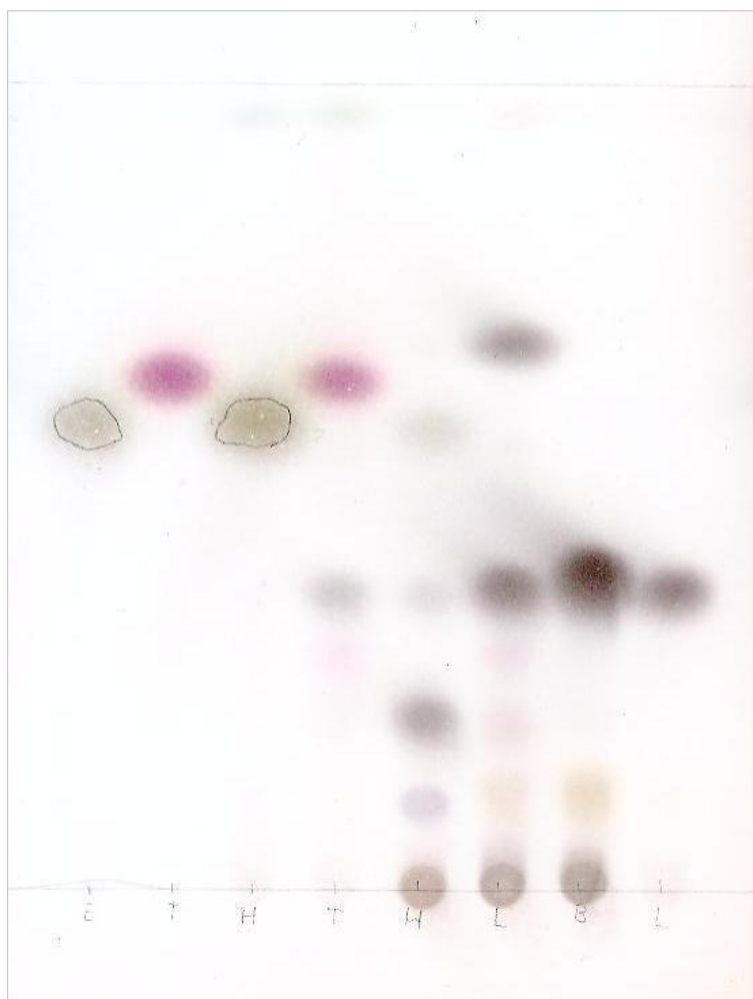
Acetátový a nitrátový film, Filmoplast R (japonský papír s termoplastickou vrstvou akrylátového kopolymeru), polypropylenová folie (obal), PET (polyethylentereftalátová folie), PVC folie, polystyrenová zkumavka.

Čtverečky plastových folií byly umístěny do reagenčních lahví v prostředí olejů a tymolu za konstantní teploty 23°C po dobu 2 měsíců. Po této době byly vzorky vyjmuty z lahví a odvětrány. Byla provedena jejich fotodokumentace a popis poškození.

3.2 Výsledky a diskuse

3.2.1 Tenkovrstvá chromatografie

Na chromatografické destičce jsou zřetelně viditelné barevné skvrny odpovídající vybraným obsahovým látkám testovaných silic. U některých se objevila pouze jedna skvrna hlavní obsahové sloučeniny (hřebíčková silice Nobilis Tilia), ve většině případů však bylo sloučenin více. Do pokusu byly pro porovnání také zařazeny dva vzorky hřebíčkové silice od různých dodavatelů (Nobilis Tilia a Essentials). I při použití této jednoduché metody je na první pohled vidět značně odlišné složení obou silic.



Obr. 3 Chromatogram vybraných silic (zleva: E-eugenol, T-thymol, H- hřebíčková silice Nobilis Tilia, T-tymiánová silice Nobilis Tilia, H-hřebíčková silice Essentials, L-levandulová silice Essentials, B-březulová silice Nobilis Tilia, L-linalool)

3.2.2 Vliv silic na plísně

Nejlepší protiplísňový účinek měla tymiánová silice (podle očekávání). O něco méně účinná byla silice z citronové trávy, hřebíčku a eugenol. Ještě méně účinná byla březulová silice a linalool; nejhorší výsledky měl tea tree (působí zřejmě pouze při přímém kontaktu, nikoliv v plynné fázi). Účinky silic na plísně jsou tedy prokazatelné - k jejich dostatečnému účinku je však zapotřebí poměrně vysoké koncentrace jejich par v ovzduší. U neúčinnějších silic (tymián, hřebíček, citronová tráva) by pravděpodobně bylo možné použít ještě nižších koncentrací par, avšak bylo by nutné vyzkoušet jejich účinek na mnohem širším spektru plísní, případně dalších mikroorganismů.

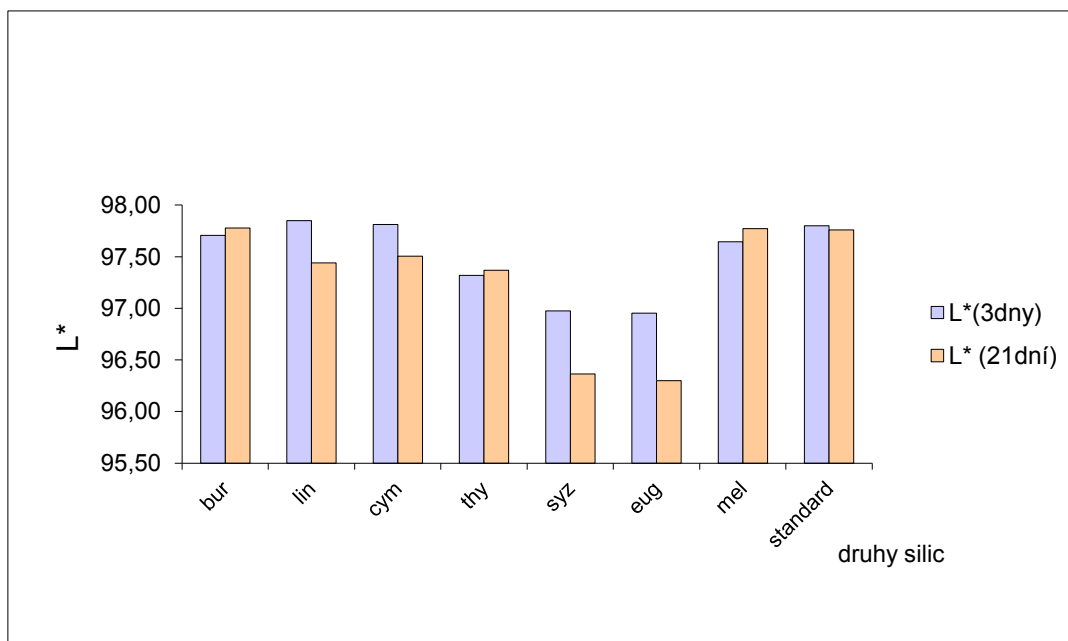
Tab. 2 Vliv koncentrace silic na velikost plísňové kolonie po 7 dnech (výsledky jsou uvedené v procentech a jsou porovnávány s průměrem kontrolních kolonií)

	<i>Penicillium chrysogenum</i>			<i>Aspergillus niger</i>		
	100 ppm	200 ppm	300 ppm	100 ppm	200 ppm	300 ppm
<i>Bursera delpechiana</i> (březule)	21,2	0	0	81,3	14,6	0
<i>Cymbopogon citratus</i> (citronová tráva)	0	0	0	2,1	0	0
<i>Melaleuca alternifolia</i> (tea tree)	75,8	12,1	9,0	89,6	75,0	41,7
<i>Syzygium aromaticum</i> (hřebíček)	0	0	0	12,5	0	0
<i>Thymus vulgaris</i> (tymián)	0	0	0	0	0	0
linalool	42,4	0	0	62,5	10,4	2,1
eugenol	0	0	0	2,1	0	0
kontrola	100			100		

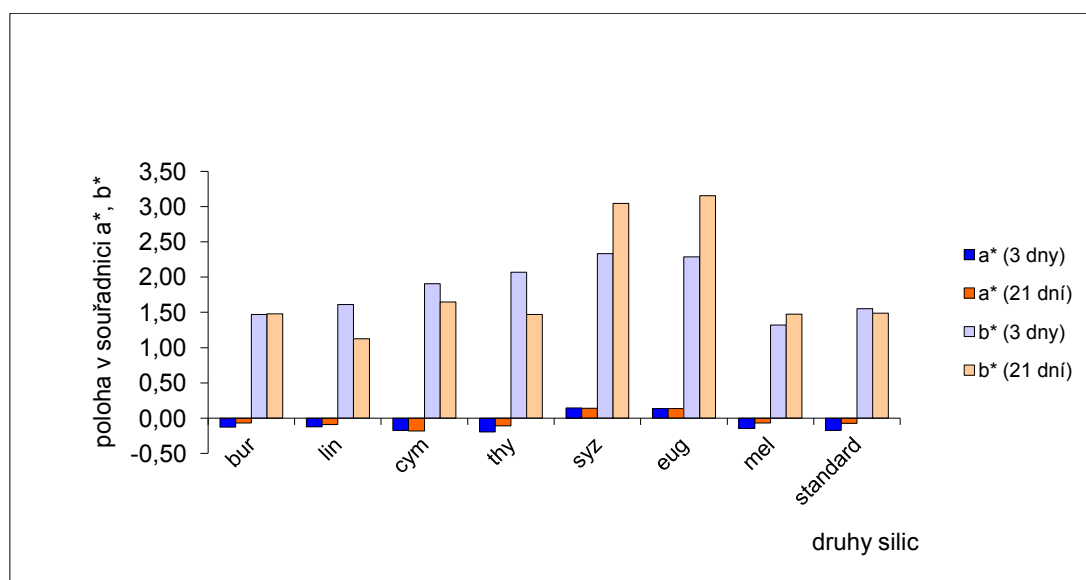
3.2.3 Vliv par silic na optické vlastnosti papíru

Optické vlastnosti papíru se po expozici parami vybraných silic nepatrně změnilo. Výraznější změny jasu L^* (obr. 4) jsou viditelné u hřebíčkové silice a u eugenolu, který

je hlavní složkou této silice. Pokles jasu (ztmavnutí) se po dalších dnech ještě zvýšil (standard: $L = 97,76$, eugenol: $L = 96,30$). Vlivem těchto látek se projevil i posun v souřadnici b , a to směrem do žluté oblasti (obr. 5). Celková barevná diference ΔE je 2,22. Barevná změna je pouhým okem viditelná.



Obr. 4 Vliv par silic na jas L^* barevného prostoru CIELAB papíru Whatman 1



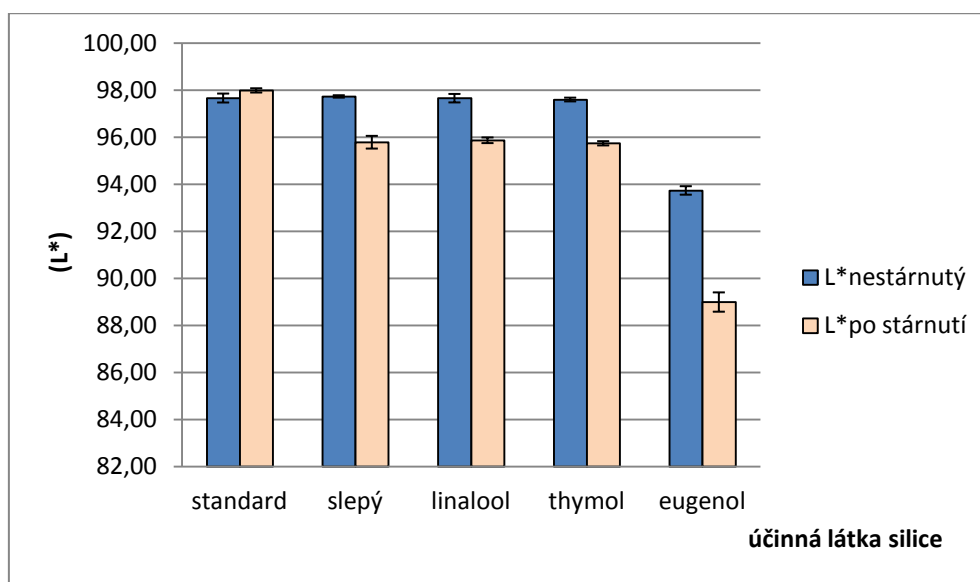
Obr. 5 Vliv par silic na polohu v souřadnicích a^* , b^* barevného prostoru CIE LAB papíru Whatman 1

3.2.4 Vliv par některých hlavních účinných látek silic na vlastnosti papíru

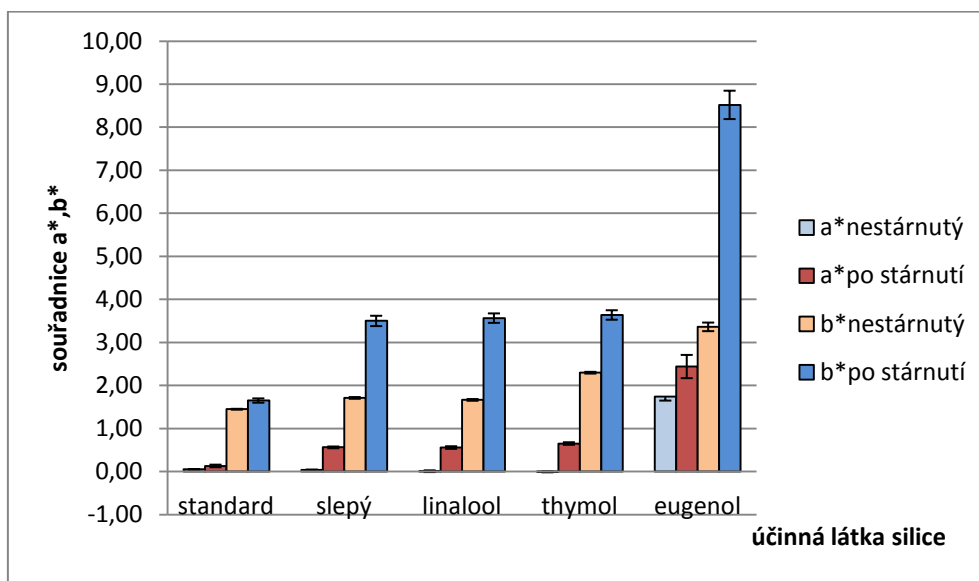
Barevný prostor CIELAB

Měření optických vlastností pomocí barevného prostoru CIELAB potvrdilo, že při použití některých esencí může dojít k barevným změnám papíru. Na obr. 6 je graficky zobrazen jas L^* . Zatímco vliv par linaloolu je srovnatelný s thymolem a hodnoty L^* jsou prakticky shodné se slepým vzorkem (stárnutý filtrační papír Whatman 1), vliv eugenolu je již dobře viditelný. Papír byl po expozici parami oleje tmavší a po umělém stárnutí se hodnoty L^* dále snížily. Pokud si barevný prostor rozložíme na složky, je zřejmé, že výrazné změny po aplikaci eugenolu probíhají na ose b posunem do žluté oblasti. Vliv oleje se projeví zejména po umělém stárnutí papíru (obr. 7).

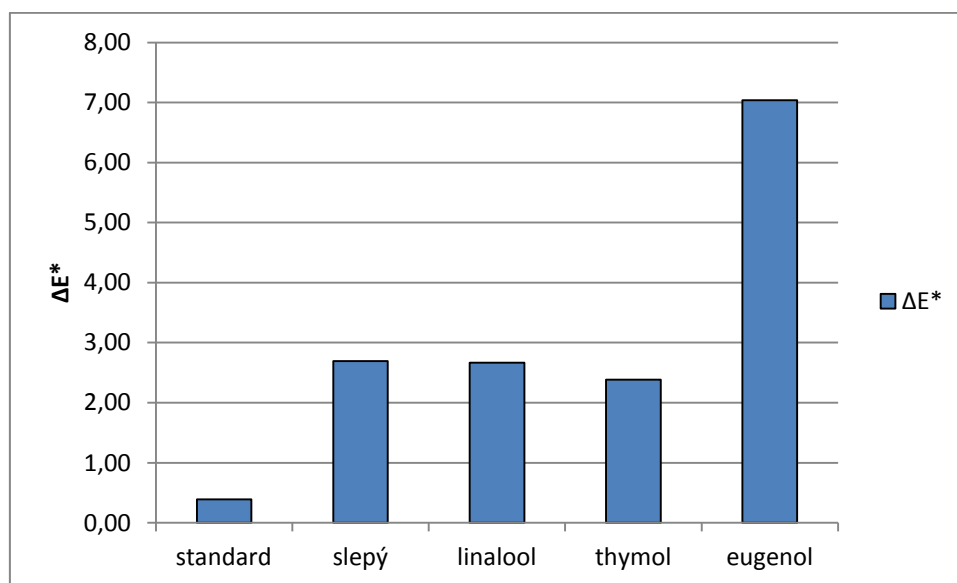
Celková barevná diference ΔE^* (obr. 8) papíru vlivem par eugenolu dosahuje po stárnutí ve vlhké atmosféře hodnot 7,04, což již nemůžeme považovat za akceptovatelné.



Obr. 6 Vliv par eugenolu, linaloolu a thymolu na jasnost v barevném prostoru CIEL*a*b* papíru Whatman1



Obr. 7 Vliv par eugenolu, linaloolu a thymolu na změnu na souřadnici a*,b* barevného prostoru CIELAB papíru Whatman 1



Obr. 8 Celková barevná diference ΔE^* papíru Whatman 1 po působení par eugenolu, linaloolu a thymolu

Stanovení pH

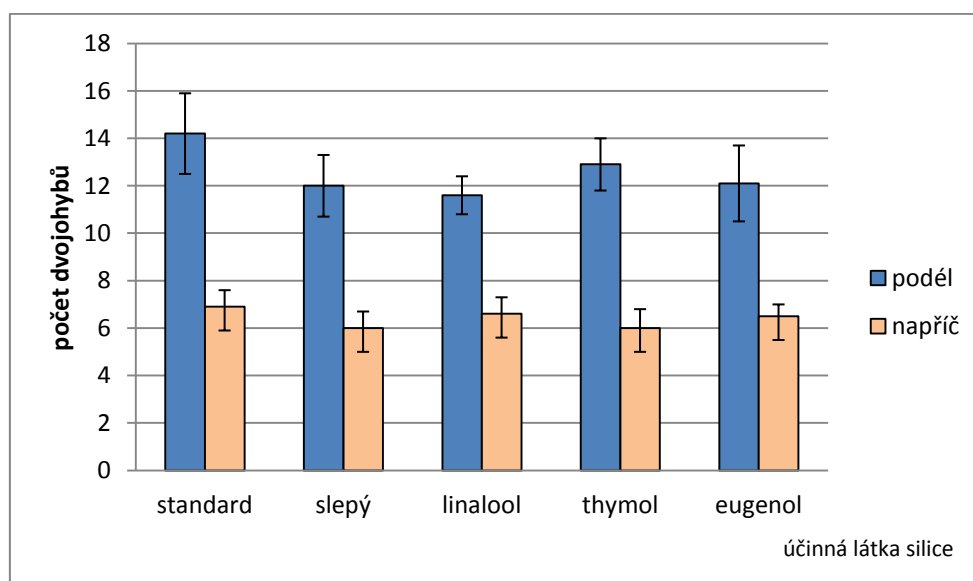
Hodnoty pH studeného vodného extraktu papíru jsou uvedeny v tabulce 3. Hodnoty pH nezaznamenaly žádných výrazných změn vzhledem ke standardu.

Tab. 3 pH studeného vodného výluhu po expozici par eugenolu, linaloolu a thymolu po umělém stárnutí

vzorek	pH studeného vodného výluhu
standard Whatman 1	6,35
slepý vzorek (Whatman 1 po stárnutí)	6,19
linalool po stárnutí	6,12
thymol po stárnutí	6,14
eugenol po stárnutí	6,18

Stanovení odolnosti v přehýbání

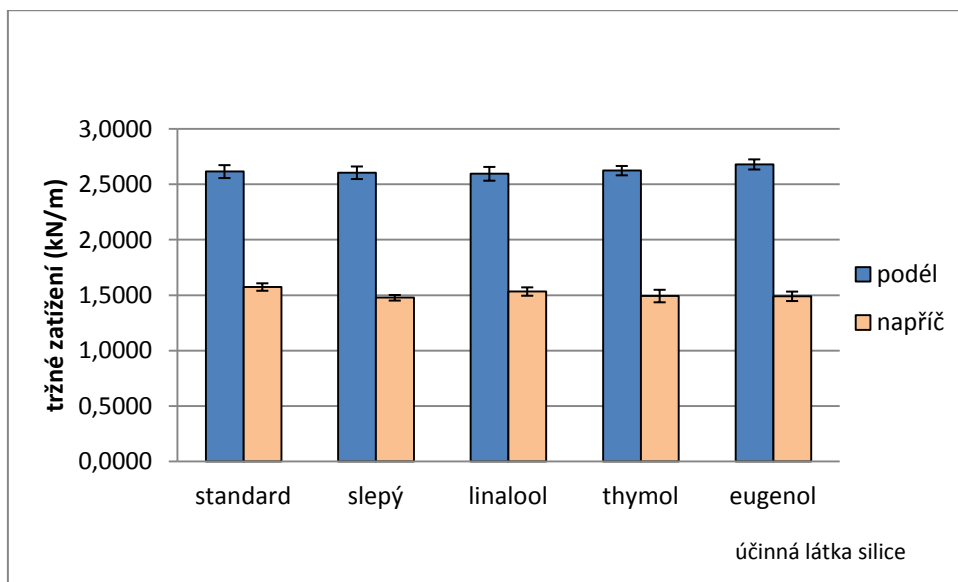
Odolnost v přehýbání je vyjádřena počtem dvojohybů (viz obr. 9). Na rozdíl od optických vlastností nejsou v tomto případě patrné výrazné rozdíly mezi účinky jednotlivých látek na pevnost papíru.



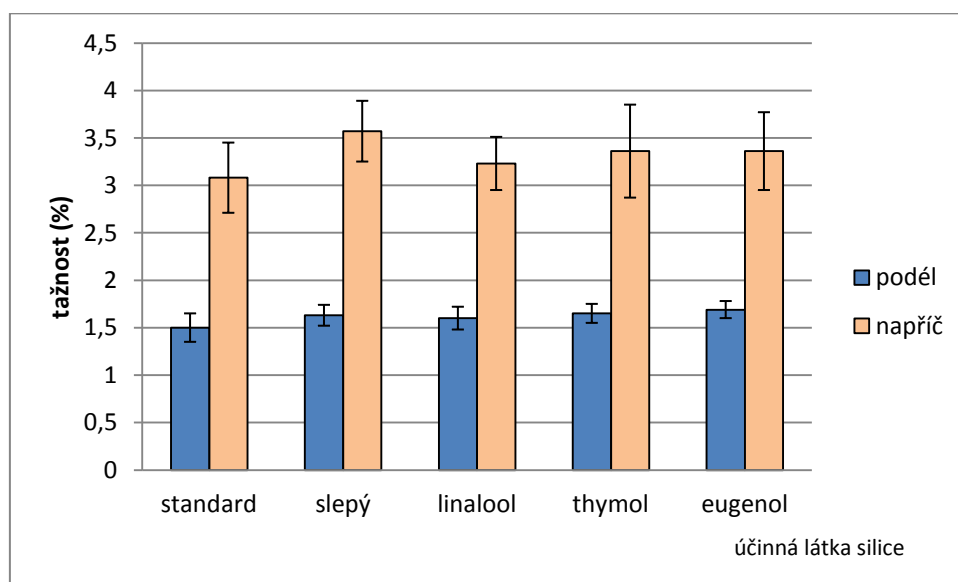
Obr. 9 Odolnost v přehýbání papíru Whatman 1 po působení eugenolu, linaloolu a thymolu po umělém stárnutí

Stanovení tržného zatížení a tažnosti

Pevnost v tahu vyjádřená tržným zatížením a tažností (obr. 10 a 11) neukazuje na žádné výrazné odlišnosti způsobené parami eugenolu, linaloolu a thymolu na papír. Hodnoty jsou prakticky srovnatelné s neexponovaným papírem.



Obr. 10 Tržné zatížení papíru Whatman 1 po působení eugenolu, linaloolu a thymolu po umělém stárnutí



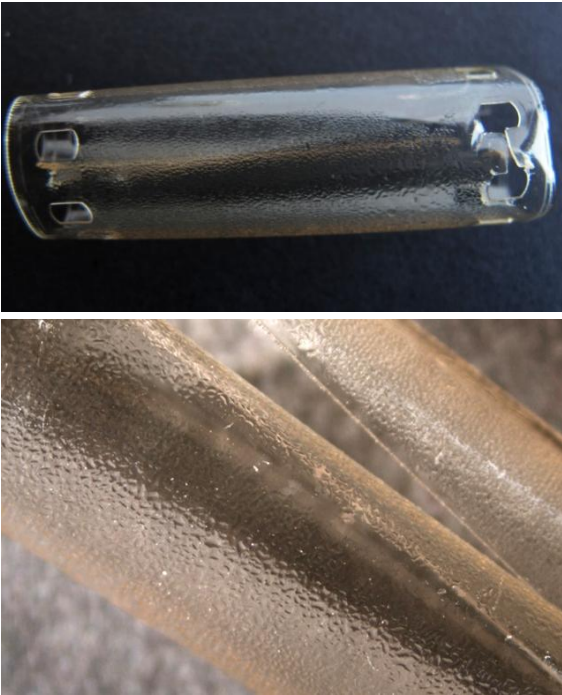
Obr. 11 Tažnost papíru Whatman 1 po působení eugenolu, linaloolu a thymolu po umělém stárnutí

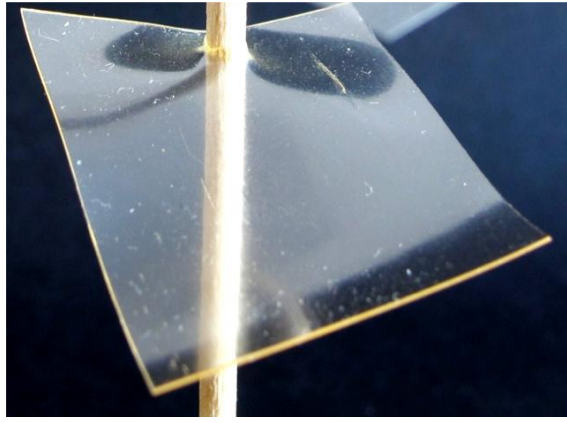
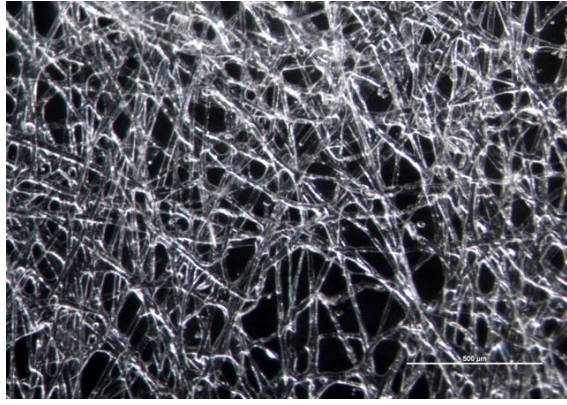
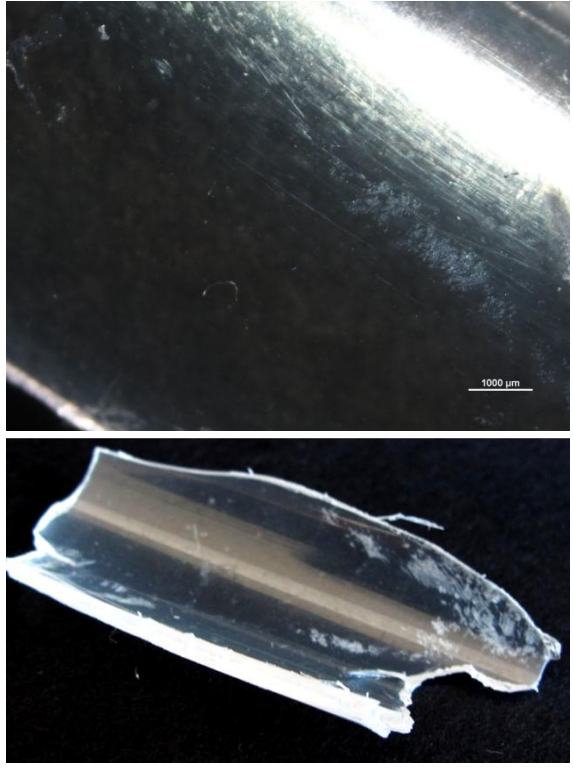
3.2.5 Vliv některých hlavních účinných látek silic na plasty

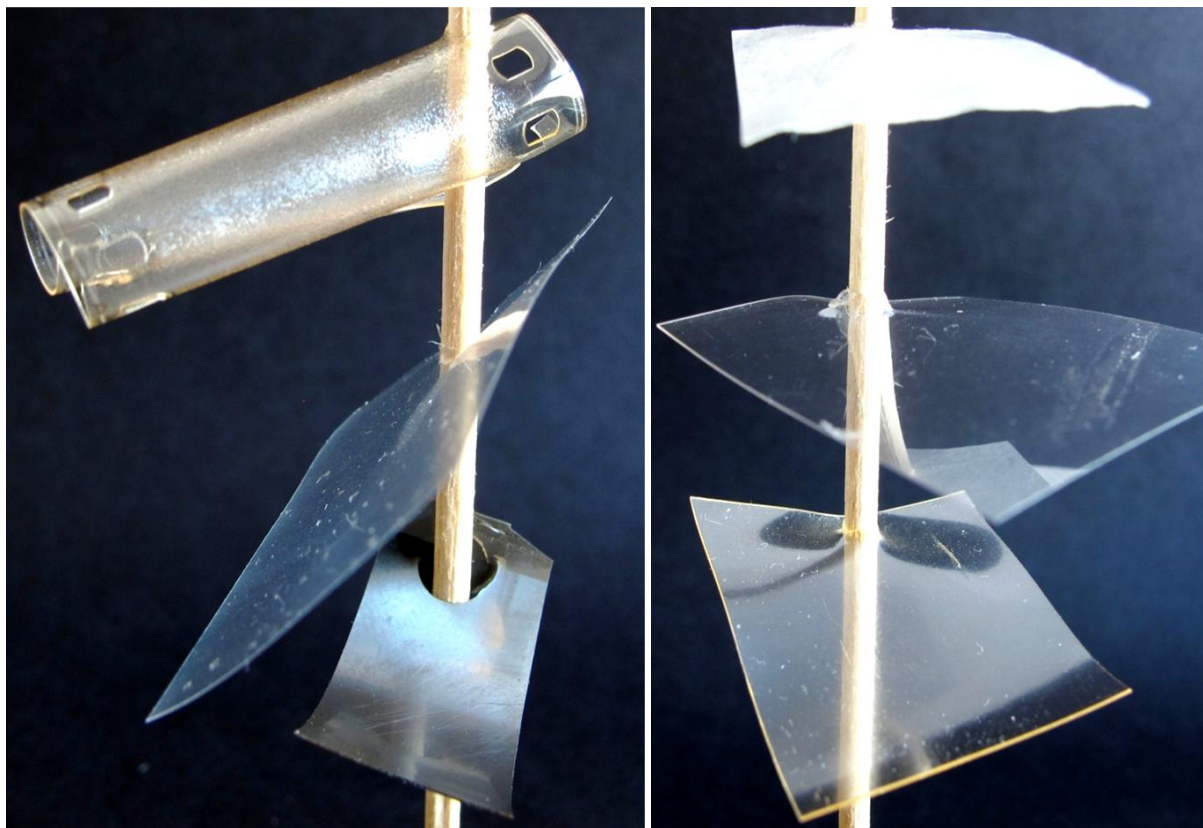
Zhodnocení vlastností vzorků plastových folií je pouze slovní a vizuální a má být chápáno jenom jako orientační.

V tabulkách je popsán vzhled materiálů po expozici a tam, kde je nutné, je připojena fotodokumentace detailních záběrů.

Vliv eugenolu

materiál	popis vzhledu po expozici parami	fotodokumentace
acetátová podložka (film)	změna zbarvení filmu do okrova, povrch pokrytý z obou stran drobnými olejnatými kapkami	
nitratová podložka (negativ)	beze změn	
polypropylenová folie (obal)	mírně lepivá, suchá	
polyetylentereftalátová folie	mírně lepivá, suchá	

<p>polyvinylchloridová folie (obal)</p>	<p>Výrazné změny! mírně zbarvená, výrazně zvýšená ohebnost – naměkčený film, na povrchu není žádná kapalina</p>	
<p>Filmoplast R (restaurátorský materiál)</p>	<p>akrylátová vrstva má sklovitý vzhled a na omak lepí (i bez aktivace)</p>	
<p>polystyren (zkumavka)</p>	<p>mléčně zbarvený suchý povrch, výskyt jemných krystalu na povrchu</p>	

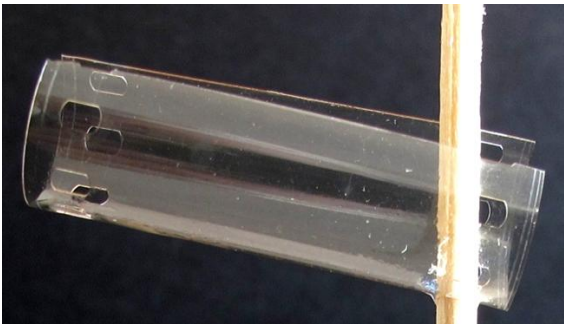


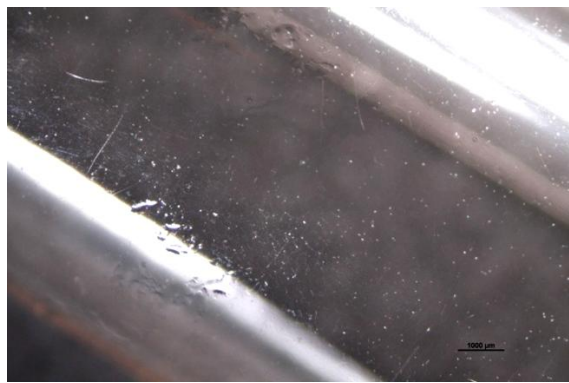
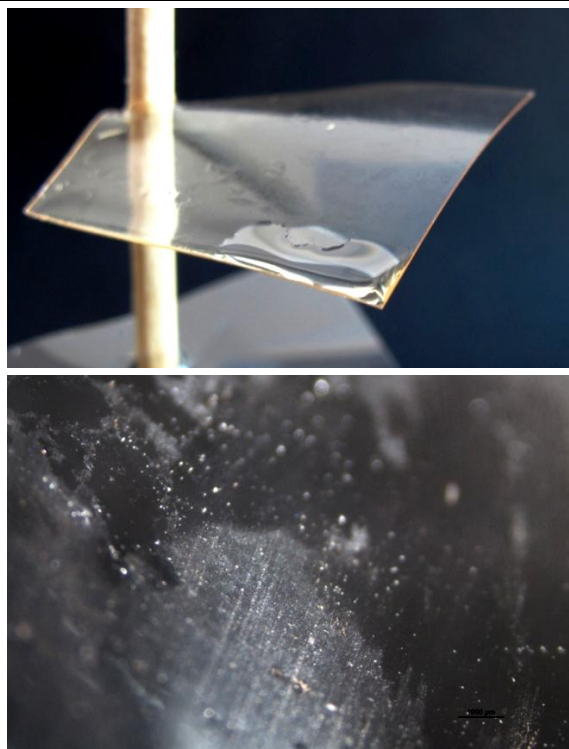
Soubor vzorků po vyjmutí z lahve s parami eugenolu

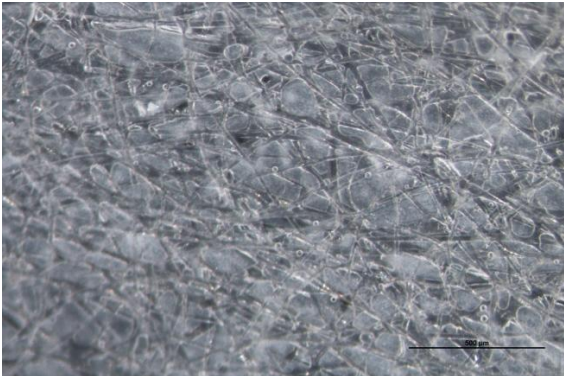

vlevo odshora dolů – acetátový film, polypropylenová folie, nitrátový film

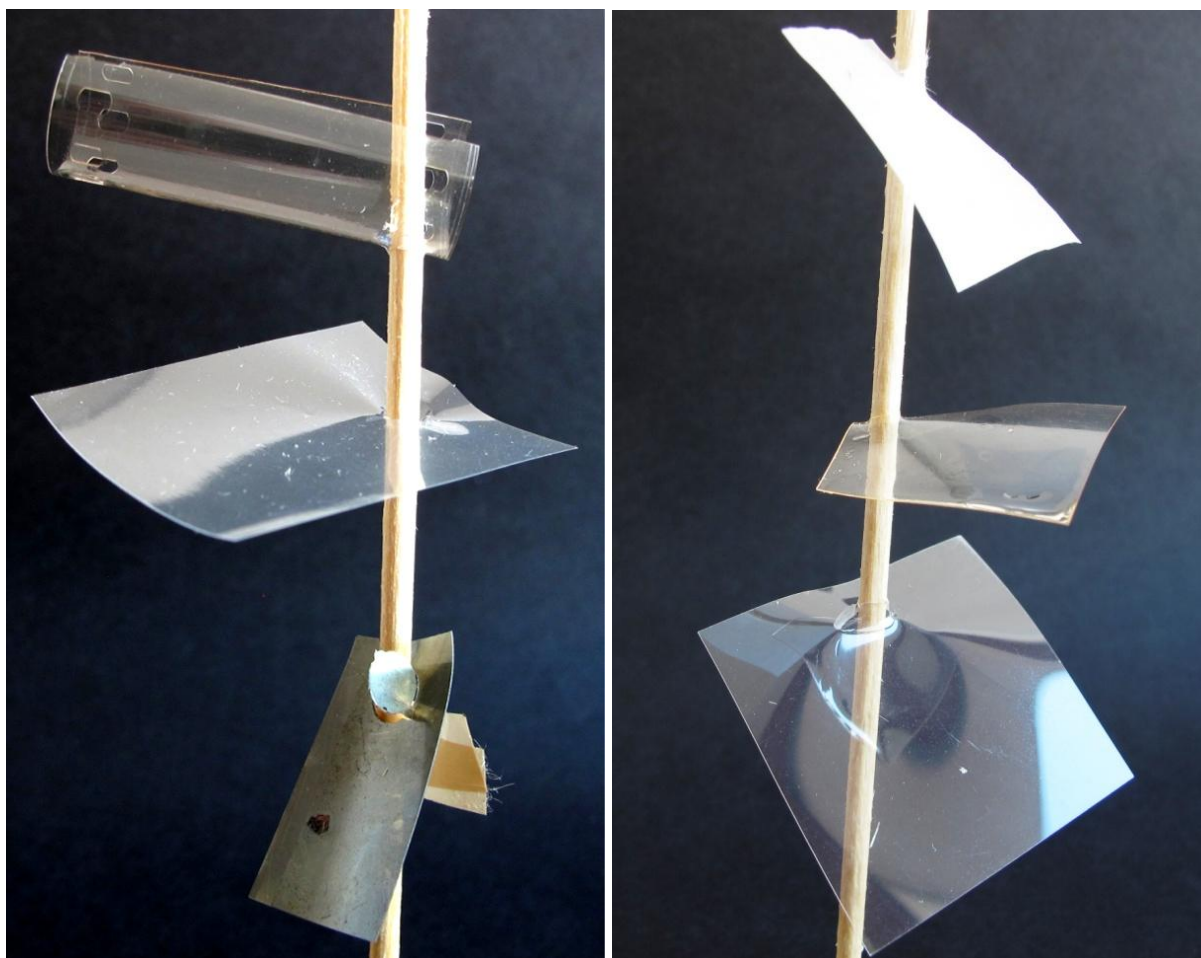
vpravo odshora dolů – Filmoplast R, polyethylentereftalátová folie, polyvinylchloridová folie

Vliv linaloolu

materiál	popis vzhledu po expozici parami	fotodokumentace
acetátová podložka (film)	čirý film bez barevné změny, povrch pokrytý z obou stran méně četnými drobnými olejnatými kapkami, které se slévají do větších	

		
nitrátová podložka (negativ)	beze změn	
polypropylenová folie (obal)	beze změn	
polyetylentereftalátová folie	beze změn	
polyvinylchloridová folie (obal)	Výrazné změny! folie pokryta kapalinou ve větším objemu - vytvořená kapka odebraná do violky, folie má sníženou ohebnost – došlo k ztvrdnutí	

<p>Filmoplast R (restaurátorský materiál)</p>	<p>akrylátová vrstva je zakalená a potrhaná</p>	
<p>Polystyren (zkumavka)</p>	<p>zakalený a silně naleptaný, byl umístěn na dně lahve pod PVC folií, jejíž kapky ho mohly poškodit</p>	

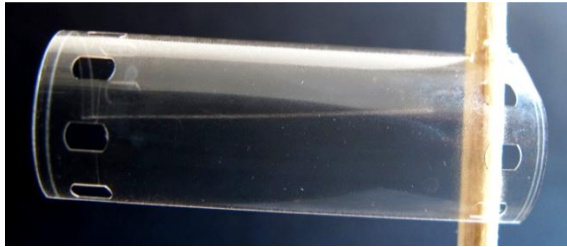


Soubor vzorků po vyjmutí z lahve s parami linaloolu

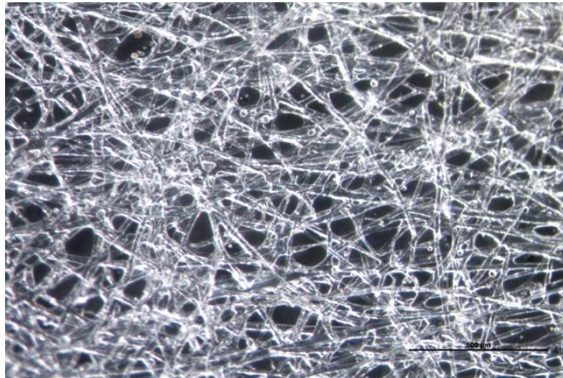
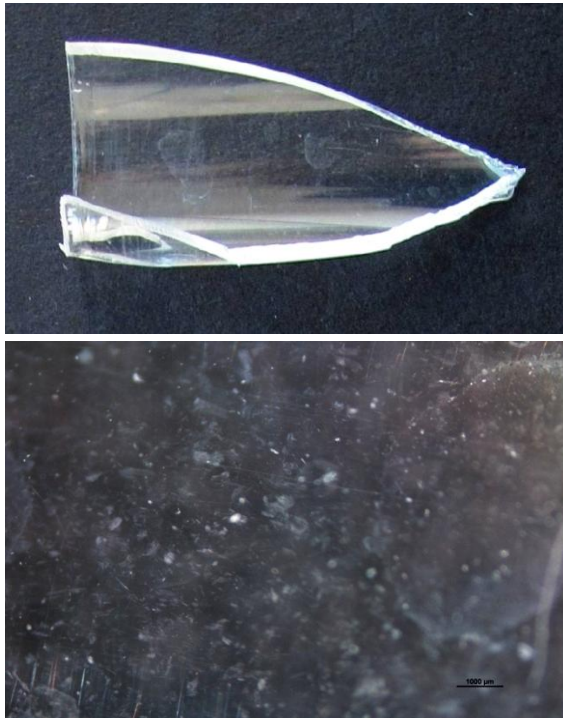
vlevo odshora dolů – acetátový film, polypropylenová folie, nitrátový film

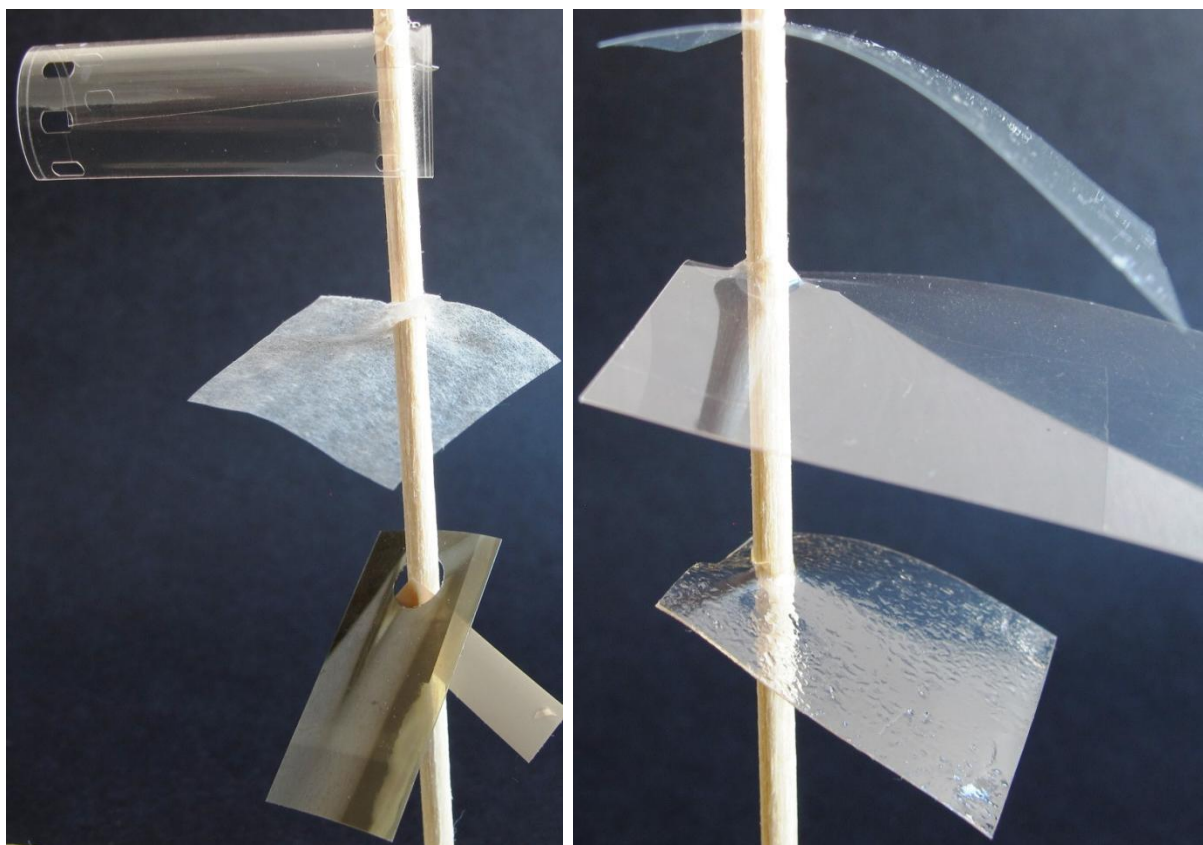
vpravo odshora dolů – Filmoplast R, měkčená polyvinylchloridová folie, polyethylentereftalátová folie

Vliv thymolu

materiál	popis vzhledu po expozici parami	fotodokumentace
acetátová podložka (film)	čirý film bez barevné změny, povrch pokrytý z obou stran drobnými olejnatými kapkami	

		
nitrátová podložka (negativ)	beze změn	
polypropylenová folie (obal)	mírně zakalená	
polyetylentereftalátová folie	beze změn	
polyvinylchloridová folie (obal)	Výrazné změny! Výskyt olejnatých kapek ve velkém množství, lepkavý povrch folie zůstává ohebná	
		

<p>Filmoplast R (restaurátorský materiál)</p>	<p>akrylátová vrstva je čirá, objevují se bublinky</p>	
<p>polystyren (zkumavka)</p>	<p>mírně zkalený povrch</p>	



Soubor vzorků po vyjmutí z lahve s parami thymolu

vlevo odshora dolů - acetátový film, Filmoplast R, nitrátový film

vpravo odshora dolů – polypropylenová folie, polyethylentereftalátová folie, měkčená polyvinylchloridová folie

4 Závěr

V provedených pokusech byl ověřen protiplísňový účinek vybraných silic a jejich hlavních účinných látek. Při případném použití těchto látek k dezinfekci by však bylo nutné dodržovat doporučené koncentrace jejich par v ovzduší – u nižších koncentrací je účinek nedostatečný a navíc hrozí vznik rezistentních kmenů mikroorganismů. Nepříznivé je rovněž značně kolísavé složení silic od různých výrobců. Z tohoto hlediska je výhodnější použití jejich hlavních účinných látek, např. thymolu, linaloolu apod.

Nelze podceňovat ani případný negativní vliv silic na ošetřovaný materiál. Již předběžné pokusy prokázaly možné změny barevnosti některých typů papíru.

Hlavní látky – eugenol, thymol a linalool jen minimálně ovlivnily mechanické vlastnosti filtračního papíru Whatman 1. Nebyl rovněž sledován jejich vliv na pH papíru stanoveného pomocí studeného vodného výluhu. Po působení par eugenolu došlo k zřetelným změnám barevnosti papíru, je proto třeba dát pozor při výběru oleje pro praktické využití.

Použití eugenolu se ukázalo jako nevhodné, papír po působení par tmavl a ztmavnutí dále pokračovalo při umělém stárnutí. Eugenol je z papíru cítit i po roce od provedeního experimentu.

Daleko závažnější vliv měly ale tyto látky na zkoušené polymerní látky. Po dvouměsíční expozici par o koncentraci max. do 300 ppm došlo vždy k poškození folií na bázi měkčeného polyvinylchloridu, které se projevilo především ve změně jejich flexibility.

Působením par linaloolu byla narušena (ztráta transparentnosti) akrylátová lepivá vrstva Filmoplastu R, který je používán při restaurování archiválií. Výsledkem by mohla být ztráta čitelnosti textu takto zrestaurovaných archiválií.

Nelze přehlédnout také poškození acetátových filmů, výskyt kapalné fáze na povrchu filmů je nežádoucí, stejně jako změna zbarvení čírého filmu po působení eugenolu.

I když nejsou k dispozici chemické analýzy poškozených plastů, je zřejmé, že použití esencí na dezinfekci v archivech vyžaduje značnou dávku obezřetnosti. Páry eugenolu, linaloolu i tymolu (případně dalších látek) mohou působit jako rozpouštědla a značně ovlivnit (i poškodit) některé materiály.

Literatura

Bergkvist, T. P.: *Antimicrobial activity of four volatile essential oils*. Master Thesis in Pharmacy, Göteborgs Universitet 2007.

Hubík, J.; Dušek, J.; Spilková, J.; Šícha, J.: *Obecná farmakognosie*. II. Sekundární látky. UK v Praze, SPN, Praha 1989.

Inouye, S.; Uchida, K.; Maruyama, N.; Yamaguchi, H.; Abe, S.: A novel method to estimate the contribution of the vapor activity of essential oils in agar diffusion assay. *Japanese Journal of medical mycology*, 47, 2006, 91–98.

Kalemba, D.; Kunicka, A.: Antibacterial and antifungal properties of essential oils. *Current Medicinal Chemistry*, 10, 2003, 813–829.

Nedorostova, L.; Kloucek, P.; Kokoska, L.; Stolcova, M.; Pulkrabek, J.: Antimicrobial properties of selected essential oils in vapour phase against foodborne bacteria. *Food Control*, 20, 2009, 157–160.

Ohlsson, T.; Bengtsson, N. (Ed.): *Minimal processing technologies in the food industry*. Woodehead Publishing Ltd., Cambridge 2002.

Rakotonirainy, M. S.; Lavédrine, B.: Screening for antifungal activity of essential oils and related compounds to control the biocontamination in libraries and archives storage areas. *International Biodeterioration & Biodegradation*, 55, 2005, 141–147.