

Izolace silic hřebíčku a skořice dostupné na českém trhu a jejich stanovení metodou GC-MS a HS-GC-MS

Bc. Jana Mátlová



Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně
Fakulta technologická
Ústav technologie tuků, tenzidů a kosmetiky

Akademický rok: 2021/2022

ZADÁNÍ DIPLOMOVÉ PRÁCE

(projektu, uměleckého díla, uměleckého výkonu)

Jméno a příjmení: **Bc. Jana Mátlová**
Osobní číslo: **T20134**
Studijní program: **N0711A130011 Biomateriály a kosmetika**
Forma studia: **Prezenční**
Téma práce: **Izolace silic hřebíčku a skořice dostupné na českém trhu a jejich stanovení metodou GC-MS a HS-CG-MS**

Zásady pro vypracování

I. Teoretická část

- 1) Zpracování literární rešerše na téma nízkomolekulární těkavé sloučeniny nacházející se v hřebíčku a skořici
- 2) Možnosti izolace silic hřebíčku a skořice
- 3) Metody stanovení silic hřebíčku a skořice

II. Praktická část

- 1) Provést izolaci silic hřebíčku a skořice pomocí destilace vodní parou a simultánní destilace-extrakce
- 2) Získané extrakty analyzovat pomocí GC-EI-MS
- 3) Provést analýzu studovaných vzorků hřebíčku a skořice metodou HS-GC-EI-MS
- 4) Získané výsledky vyhodnotit a provést jejich interpretaci

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

Seznam doporučené literatury:

- [1] D. O. Sparkman, Z. E. Penton, F. G. Kistson: Gas chromatography and mass spectrometry: a practical guide. **2011** (2nd Edition), Elsevier, 611 s., ISBN: 978012336284.
- [2] J. W. Robinson, E. M. S. Frame, G. M. Frame II: Undergraduate Instrumental Analysis. **2014** (7th Edition), CRC Press, 1231 s., ISBN: 978-1-4200-6135-1.
- [3] A. Kalaiselvi, J. G. A. Jenö, S. M. Roopan, G. Madhumitha, E. Nakkeeran: Chemical composition of clove bud oil and development of clove bud oil loaded niosomes against three larvae species. *International Biodeterioration & Biodegradation* **2019**, 137, 102-108.
- [4] L. Schipilliti, I. L. Bonaccorsi, L. Mondello: Characterization of natural vanilla flavour in foodstuff by HS-SPME and GC-C-IRMS. *Flavour and Fragrance Journal* **2017**, 32, 85-91.
- Luisa Schipilliti, a Ivana Lidia Bonaccorsi a * and Luigi Mondello Luisa Schipilliti, a Ivana Lidia Bonaccorsi a * and Luigi Mondello.

Vedoucí diplomové práce: **Ing. Michal Rouchal, Ph.D.**
Ústav chemie

Datum zadání diplomové práce: **25. února 2022**
Termín odevzdání diplomové práce: **13. května 2022**

L.S.

prof. Ing. Roman Čermák, Ph.D.
děkan

doc. Ing. Marián Lehocký, Ph.D.
ředitel ústavu

PROHLÁŠENÍ AUTORA DIPLOMOVÉ PRÁCE

Beru na vědomí, že:

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

Prohlašuji,

- že jsem diplomové práci pracoval samostatně a použitou literaturu jsem citoval. V případě publikace výsledků budu uveden jako spoluautor.
- že odevzdaná verze diplomové práce a verze elektronická nahraná do IS/STAG jsou obsahově totožné.

Ve Zlíně dne:

Jméno a příjmení studenta:

.....
podpis studenta

ABSTRAKT

Esenciální oleje obsahují desítky nízkomolekulárních sloučenin lišících se (někdy zanedbatelně) jejich chemickou strukturou. Každá z těchto látek má svou charakteristickou vůni, a přestože jsou mnohé v daném esenciálním oleji zastoupeny v nízké koncentraci, jejich vliv na výslednou vůni daného esenciálního oleje je klíčový. V rámci této diplomové práce byly pomocí dvou extrakčních metod (destilace vodní parou a simultánní destilace-extrakce) a dvou různých typů organických rozpouštědel (dichlormethan a hexan) extrahovány esenciální oleje ze skořice a hřebíčku, řadících se mezi koření světového významu. Extrahované esenciální oleje byly následně podrobeny GC-MS analýze s cílem navrhnout strukturu co možná největšího počtu sloučenin v extraktech se vyskytujících. Studované vzorky koření byly rovněž podrobeny HS-GC-MS analýze s cílem srovnat zastoupení těkavých nízkomolekulárních látek detekovaných při použití a za vyloučení extrakce.

Klíčová slova: esenciální olej, hřebíček, skořice, simultánní destilace-extrakce, destilace vodní parou, plynová chromatografie s hmotnostně-spektrometrickou detekcí, headspace

ABSTRACT

Essential oils contain dozens of low-molecular-weight compounds differing (sometimes insignificantly) in their chemical structure. Each of these compounds has its own characteristic odor, and although many of them are present in low concentrations in a given essential oil, their influence on the resulting odor of the essential oil is crucial. In this thesis, essential oils from cinnamon and clove, two spices of world importance, were extracted using two methods (steam distillation and simultaneous distillation-extraction) and two different types of organic solvents (dichloromethane and hexane). The extracted essential oils were then subjected to GC-MS analysis in order to propose the structure of as many compounds as possible. The studied spice samples were also subjected to HS-GC-MS analysis in order to compare the abundance of volatile low-molecular-weight compounds detected using and excluding extraction.

Keywords: essential oil, clove, cinnamon, simultaneous distillation-extraction, steam distillation, gas chromatography-mass spectrometry, headspace

Na tomto místě bych velmi ráda poděkovala především vedoucímu své diplomové práce, Ing. Michalovi Rouchalovi, Ph.D., za cenné rady a připomínky, trpělivost a ochotu v průběhu celé práce, a v neposlední řadě rovněž za čas strávený při korekturách a konzultacích. Velký dík také patří Mgr. Robertu Víchovi, Ph.D za cenné rady a kolektivu kolegů z Ústavu chemie za pomoc při práci v laboratoři.

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

OBSAH

ÚVOD	9
I TEORETICKÁ ČÁST	10
1 TĚKAVÉ SLOUČENINY HŘEBÍČKU A SKOŘICE	11
1.1 HŘEBÍČEK	13
1.1.1 Hřebíčkový esenciální olej	13
1.1.2 Hřebíčkový oleoresin	15
1.2 SKOŘICE	15
1.2.1 Skořicový esenciální olej	17
1.2.2 Skořicový oleoresin	20
2 EXTRAKČNÍ METODY	22
2.1 KONVENČNÍ EXTRAKČNÍ METODY	22
2.1.1 Lisování za studena	22
2.1.2 Extrakce rozpouštědlem	22
2.1.3 Enfleurage	23
2.1.4 Destilace	23
2.1.5 Simultánní destilace-extrakce	26
2.1.6 Superkritická fluidní extrakce	27
2.1.7 Soxhletova extrakce	29
2.1.8 Ultrazvukem asistovaná extrakce	30
2.1.9 Ohmická hydrodestilace	30
2.2 MIKROVLNAMI ASISTOVANÉ EXTRAKČNÍ METODY	31
2.2.1 Mikrovlnami asistovaná extrakce	31
2.2.2 Mikrovlnami asistovaná extrakce za vyloučení rozpouštědla	32
2.2.3 Mikrovlnami asistovaná hydrodestilace	35
3 ANALYTICKÉ METODY VHODNÉ PRO STANOVENÍ TĚKAVÝCH SLOUČENIN	36
3.1 PLYNOVÁ CHROMATOGRRAFIE	36
3.1.1 Typy chromatografických kolon	37
3.2 HMOTNOSTNÍ SPEKTROMETRIE	39
3.2.2 Hmotnostní analyzátory	42
3.2.3 Detektory	43
II PRAKTICKÁ ČÁST	44
4 METODIKA	45
4.1 MATERIÁL	45
4.2 POPIS EXTRAKČNÍCH METOD	46
4.2.1 Destilace vodní parou	46
4.3 ANALÝZA TĚKAVÝCH LÁTEK METODOU GC-MS	47
4.4 ANALÝZA TĚKAVÝCH LÁTEK METODOU HS-GC-MS	49

5	VÝSLEDKY A DISKUZE	50
5.1	EXTRAKCE TĚKAVÝCH LÁTEK	50
5.2	ANALÝZA TĚKAVÝCH LÁTEK METODOU GC-MS.....	52
5.3	ANALÝZA TĚKAVÝCH LÁTEK METODOU HS-GC-MS	79
	ZÁVĚR	84
	SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY	86
	SEZNAM POUŽITÝCH SYMBOLŮ A ZKRATEK	92
	SEZNAM OBRÁZKŮ	93
	SEZNAM TABULEK	94
	SEZNAM PŘÍLOH	95

ÚVOD

Esenciální oleje jsou známé již několik tisíc let a své využití našly v mnoha oborech lidské činnosti, jako je např. kosmetika, farmacie, potravinářství, aromaterapie a další. Z pohledu chemického představují esenciální oleje komplexní směs nízkomolekulárních látek získanou z rostlinného materiálu a vyznačující se silnou vůní. Kromě vůně jsou esenciální oleje oblíbené rovněž pro své terapeutické účinky, mezi něž lze zařadit např. účinky antioxidační, antibakteriální, antimykotické, antivirové, protizánětlivé či protinádorové. Právě díky tomu jsou esenciální oleje považovány za perspektivní látky nejen v průmyslu léčiv, ale také v průmyslu potravinářském. Složení esenciálních olejů je variabilní a může se lišit v závislosti na konkrétním druhu rostliny, její části, stanovišti, období sklizně, použité extrakční metodě a použité analytické metodě.

Cílem této práce bylo stanovit obsah a zastoupení volných těkavých látek ve vybraných vzorcích hřebíčku a skořice. Ze zakoupených vzorků koření byly nejprve pomocí vybraných extrakčních metod (destilace vodní parou a simultánní destilace-extrakce) izolovány esenciální oleje, které byly následně studovány pomocí plynové chromatografie s hmotnostně-spektrometrickou detekcí (GC-MS). Zakoupené rostlinné matrice byly následně studovány také pomocí plynové chromatografie s hmotnostně-spektrometrickou detekcí využívající dávkování vzorku pomocí headspace (HS-GC-MS).

Pro lepší orientaci v dané problematice byla nejprve zpracována detailní literární rešerše pojednávající o obecném složení esenciálních olejů, podrobněji pak bylo popsáno složení esenciálního oleje hřebíčkového a skořicového. V rešeršní části práce byly rovněž popsány vybrané extrakční metody, které byly v rámci této práce rozděleny do dvou kategorií – konvenční extrakční metody a mikrovlnami asistované extrakční metody. V poslední kapitole pak byly popsány metody analytické, které se pro stanovení těkavých sloučenin využívají.

Praktická část této práce nejprve pojednává o použitých experimentálních metodách. Jsou zde popsány extrakční metody, které byly v rámci experimentů použity pro izolaci příslušných esenciálních olejů a dále je zde pojednáno o jejich analýze, především pak z pohledu přístrojového vybavení a parametrů měření. Hlavní náplní praktické části této práce je pak samotná interpretace získaných výsledků, a to nejen s ohledem na značku příslušného koření, ale také s ohledem na použitou extrakční metodu a organické rozpouštědlo.

I. TEORETICKÁ ČÁST

1 TĚKAVÉ SLOUČENINY HŘEBÍČKU A SKOŘICE

Rostliny jsou schopny syntetizovat dva druhy olejů – netěkavé oleje (triacylglyceroly, tj. estery glycerolu a mastných kyselin) a esenciální oleje (označované také jako těkavé oleje). Esenciální oleje přispívají k chuti a vůni rostliny a plní funkci komunikační. Obecně působí jako atraktanty pro hmyz, příležitostně pak slouží pro komunikaci s rostlinami stejného druhu. Rostliny, které produkují esenciální oleje patří především do čeledí vavřínovité, myrtovité, borovicovité, lipnicovité, routovité, zázvorníkovité, hluchavkovité, cypřišovitě, hvězdicovité a miříkovité. Olej pak může být extrahován z různých částí rostlin, konkrétně pak např. z květů (růže), listů (máta), plodů (citron), semen (fenykl), kořenů (vetiver), oddenků (zázvor), květů stromů (ylang-alang), dřeva (cedr), kůry (skořice), pryskyřic (kadidlo), sušených pupat (hřebíček), cibulí (česnek) či trav (citronová tráva).

Esenciální oleje obsahují desítky chemických individuů s příbuznou, ale přesto odlišnou chemickou strukturou, přičemž každá látka má svou charakteristickou vůni. Většina z nich (např. β -limonen, linalool, pineny) je široce rozšířena a vyskytuje se ve velkém množství různých esenciálních olejů. Typický esenciální olej představuje komplexní směs 20 až 200 organických sloučenin, přičemž většina z nich je v esenciálním oleji přítomna v množství menším než 1 %. I tyto sloučeniny však mohou mít důležitý vliv na terapeutický či toxický účinek daného esenciálního oleje. [1]

Jak bylo zmíněno výše, esenciální oleje obsahují velké množství různých složek. Tyto složky lze rozdělit do dvou hlavních kategorií – uhlovodíky a kyslíkaté deriváty uhlovodíků. Přehled jednotlivých tříd sloučenin je uveden v **Tabulce 1**.

Tabulka 1. Přehled hlavních tříd sloučenin přítomných v esenciálních olejích. [1, 2]

Uhlovodíky		Kyslíkaté deriváty uhlovodíků
terpeny	monoterpeny	alkoholy
	seskviterpeny	fenoly
	diterpeny	aldehydy
fenylpropanoidy		ketony
		estery
		laktony
		karboxylové kyseliny
		ethery
		furany
		peroxydy

Terpeny představují rozsáhlou skupinu sloučenin, jež se přirozeně vyskytují v esenciálních olejích. Jejich molekuly jsou složeny z jednotek izoprenu (systematickým názvem 2-methylbuta-1,3-dien). Monoterpeny jsou tvořeny dvěma izoprenovými jednotkami. [2] Jedná se o vysoce těkavé bezbarvé kapaliny, které jsou snadno identifikovatelné, a navíc snadno získatelné destilací vodní parou. [2, 3] Tyto látky mají nízký bod varu a velmi rychle se odpařují, ale jejich vůně není příliš intenzivní. Monoterpeny jsou náchylné k oxidaci, a to i při nižších teplotách. Jejich oxidační produkty jsou považovány za dráždivé. Seskviterpeny jsou tvořeny třemi izoprenovými jednotkami, jejich molekulová hmotnost je tedy vyšší, v důsledku čehož jsou méně těkavé a mají vyšší bod varu než monoterpeny. V esenciálních olejích jsou zastoupeny méně než monoterpeny. Stejně jako monoterpeny jsou náchylné k oxidaci, celý proces však probíhá pomaleji. Diterpeny, které obsahují ve své molekule čtyři izoprenové jednotky, nejsou v esenciálních olejích tak běžné, protože jejich vyšší molekulová hmotnost a bod varu brání jejich extrakci destilací vodní parou. Nejčastěji se vyskytují v pryskyřicích. [1, 2]

Fenylpropanoidy, které se nacházejí v některých esenciálních olejích, jsou syntetizovány z kyseliny šikimové (kyselina 3,4,5-trihydroxycyklohex-1-en-1-karboxylová) a patří do skupiny látek aromatických. Jedním z neznámějších zástupců této skupiny látek je např. eugenol. Dalšími příklady fenylpropanoidů jsou pak dále např. chavicol, cinnamyl alkohol, methyleugenol či cinnamaldehyd. [1]

Kyslíkaté deriváty uhlovodíků mají (společně se seskviterpeny) významný vliv na výslednou vůni esenciálního oleje. Pokud jsou odvozeny od terpenů, jsou nazývány terpenoidy. Pravděpodobně nejrozmanitější skupinou derivátů, které se vyskytují v esenciálních olejích, jsou alkoholy. Ty jsou považovány za terapeuticky nejprospěšnější ze složek esenciálních olejů, mají nízkou toxicitu a příjemnou vůni. Esenciální oleje s vysokým obsahem fenolických sloučenin mohou být toxické pro játra a mít dráždivé účinky na kůži a sliznice. Typickými příklady jsou esenciální oleje ze skořice, hřebíčku, anýzu, bazalky, estragonu, červeného tymiánu a oregana. Aldehydy mají velmi silné aroma a široké použití v parfumérském průmyslu. Aldehydy, které se v tomto průmyslu používají, však nejsou deriváty terpenů, ale jedná se o syntetické aldehydy, odvozené od mastných kyselin. Aldehydy jsou velmi reaktivní a oxidují za vzniku karboxylových kyselin. To může mít za následek podráždění pokožky a vznik alergických reakcí (pokud nejsou esenciální oleje skladovány správně). Ketony se ve většině esenciálních olejů příliš často nevyskytují, zejména pak ty aromatické. Karboxylové kyseliny se v esenciálních olejích vyskytují

vzácně, jejich těkavost je totiž nízká. Reagují spolu s alkoholy za vzniku esterů. Mnoho esterů přítomných v esenciálních olejích se tvoří jako reakční produkty během destilačního procesu při extrakci. [1, 2]

1.1 Hřebíček

Hřebíčkovec vonný (*Syzygium aromaticum*) je tropický stálezelený strom z čeledi myrtovité, který dorůstá výšky 10 až 20 metrů a jehož původní domovinou jsou Molucké ostrovy. Tyto ostrovy se nacházejí v Indonésii a v minulosti si vysloužily název Ostrovy koření. Mimo Moluky roste tento strom především v Indonésii, Indii, Pákistánu, na Madagaskaru, Zanzibaru a Srí Lance. [4–6]

Hřebíčkovec je pěstován především pro neotevřená květní poupata, která se následně suší (popřípadě pak i melou) a můžeme je znát coby koření hřebíček. Zpočátku je barva pupat bledá, následně však dochází k jejich zezelenání. Poté se poupata zbarvují do růžova. V této fázi jsou poupata připravena ke sklizni. [4, 5]

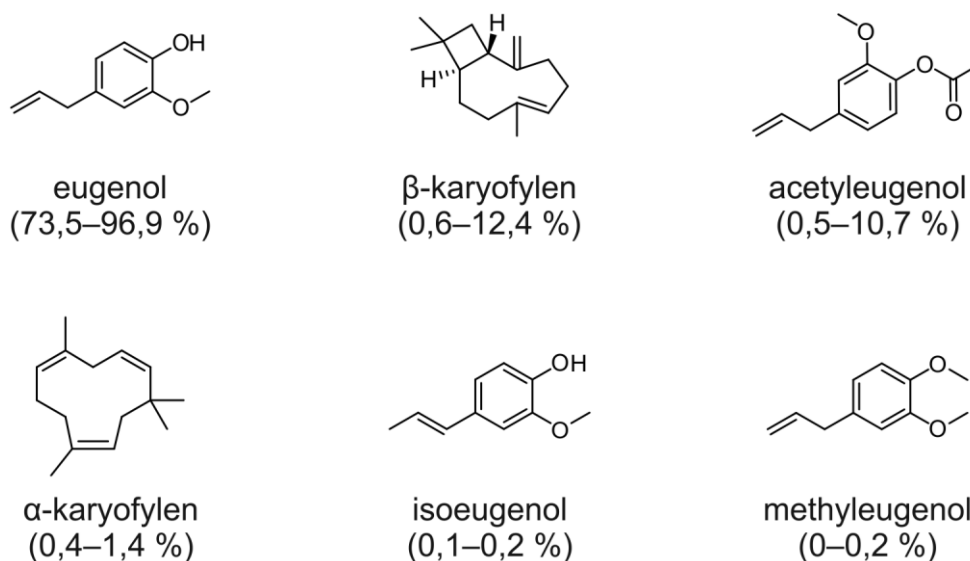
Většina produkovaného hřebíčku je využita při výrobě indonéských cigaret, tzv. kretek, které obvykle obsahují 60 % tabáku a 40 % mletého hřebíčku. Pouze asi 10 % produkce hřebíčku je využíváno pro jiné účely, jako je lidové léčitelství, výroba potravinářských aromat a konzervačních látek, výroba vonných látek a léčiv. [5, 6]

Světovým lídrem v produkci hřebíčku je Indonésie, z níž hřebíček pochází. Dalšími významnými producenty jsou Tanzanie (Zanzibar a Pemba) a Madagaskar, dále pak Komory, Srí Lanka, Malajsie (ostrov Penang), jižní Čína, Grenada, Keňa, Togo, Brazílie a Jamajka. [5, 6]

1.1.1 Hřebíčkový esenciální olej

Hřebíčkový esenciální olej se dá extrahovat z různých částí rostliny – ze sušených pupat, z listů či ze stonků. Nejdražším z těchto esenciálních olejů je olej extrahovaný z pupat, přičemž jeho množství se v sušených pupatech pohybuje kolem 15–20 %. [5] Barva extrahovaného oleje je nažloutlá až hnědá, olej je čirý a jeho vůně je intenzivní a kořeněná. [6] Chemické složení se pak liší v závislosti na místě, kde byl strom pěstován a mimo jiné závisí také na zvolené extrakční metodě. Z pohledu chemického představuje hřebíčkový olej směs různých sloučenin, v níž výrazně dominuje eugenol. Eugenol se řadí mezi fenolické sloučeniny a je částečně rozpustný ve vodě a snadno rozpustný v organických rozpouštědlech. [4, 5] Dalšími významnými sloučeninami jsou acetyleugenol a β -

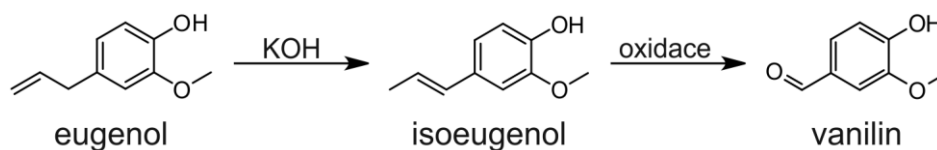
karyofylen. Strukturální vzorce vybraných sloučenin, jakož i jejich průměrné procentuální zastoupení v esenciálním oleji je uvedeno na **Obrázku 1**. [5, 7]



Obrázek 1. Vybrané sloučeniny přítomné v hřebíčku a jejich průměrné procentuální zastoupení. [7]

Nejlevnějším z hřebíčkových esenciálních olejů je olej extrahovaný z listů. Obsah esenciálního oleje v listech se pohybuje kolem 3 až 4 %, přičemž hlavní složkou je eugenol (77–88 %). Obsah acetyleugenolu je nízký (méně jak 1,2 %), obsah β -karyofylenu je naopak vyšší (3,5–6,4 %). Tento olej není vhodný pro potravinářské účely, využívá se především jako zdroj eugenolu. Eugenol se používá jako analgetikum a byl první přírodní sloučeninou, která byla použita při syntéze vanilinu (4-hydroxy-3-methoxybenzaldehyd) na přelomu 19. a 20. století. Syntéza vanilinu z eugenolu spočívá v isomeraci eugenolu na isoeugenol (liší se polohou dvojně vazby v propenylovém řetězci) v alkalických podmínkách a následné oxidaci (např. nitrobenzenem) isoeugenolu na vanilin. Schéma této reakce je znázorněno na **Obrázku 2**. V současnosti je pro výrobu syntetického vanilinu využívána modernější metoda, využívající reakce guajakolu s kyselinou glyoxalovou. Eugenol se také používá jako průmyslový zdroj pro výrobu methyleugenolu a isoeugenolu. [5, 7–9] Isomerace eugenolu je, stejně jako isomerace mnoha jiných alkenů, běžně katalyzována zásadami, jako je např. alkoholický roztok KOH (nejčastěji se jedná o vyšší alkoholy) při vysokých teplotách. Alternativně se pak ke katalýze těchto reakcí používají komplexy prvků VIII. skupiny (např. RhCl_3). Isoeugenol našel uplatnění v parfumérském a farmaceutickém průmyslu a dále se využívá zejména při výrobě cigaret, nealkoholických nápojů, zmrzliny a žvýkaček. [5, 10] O něco dražším je esenciální olej extrahovaný ze stonků, přičemž obsah oleje ve stoncích se

pohybuje kolem 5 až 7 %. Hlavní složkou je opět eugenol (76,4–84,8), zatímco obsah β -karyofylenu (3,5–12,4 %), acetyeugenolu (0,4–8,0 %) a dalších složek je nižší. [5, 7]



Obrázek 2. Schéma syntézy vanilinu z eugenolu. [9]

1.1.2 Hřebíčkový oleoresin

Oleoresiny představují extrémně koncentrované produkty, které se připravují extrakcí z různých částí rostlin, koření a bylin. Kromě esenciálního oleje obsahuje získaný oleoresin také netěkavé pryskyřičné látky, což vysvětluje, proč je jeho chuť a vůně tolik podobná původní rostlinné matrici. Oleoresiny jsou nejčastěji získávány extrakcí pomocí rozpouštědla. Mezi nejpoužívanější rozpouštědla patří ethyl-acetát, ethanol, chlorethan, hexan a aceton. Některé oleoresiny získané z koření mohou obsahovat také esenciální olej, který je k netěkavé oleoresinové frakci přidáván po odpaření rozpouštědla. Tento esenciální olej byl získán v samostatném extrakčním procesu, kterým je buď hydrodestilace či destilace vodní parou. Kromě extrakce rozpouštědlem je možné využít i jiné extrakční metody, jako je např. superkritická fluidní extrakce, ultrazvukem asistovaná extrakce či mikrovlnami asistovaná extrakce. [5, 11]

Hřebíčkový oleoresin se připravuje extrakcí stonků či sušených pupat hřebíčkovce, jeho chuť a vůně je pak velmi podobná hřebíčku, který se tímto oleoresinem někdy nahrazuje. [5] Hřebíčkový oleoresin se využívá v potravinářském průmyslu, obvykle je prováděna jeho dispergace v soli, mouce, glukose či sucharech. [5, 12]

1.2 Skořice

Rod *Cinnamomum* (česky skořicovník) patří do čeledi vavřínovitých a čítá asi 250 druhů stromů a keřů rostoucích v jihovýchodní Asii, Číně a Austrálii. Významným zástupcem tohoto rodu je strom *Cinnamomum verum* (jiným botanickým názvem také *Cinnamomum zeylanicum*), který pochází ze Srí Lanky a z oblasti Malabarského pobřeží v Indii. Jedná se o stálezelený strom rostoucí v tropických deštných pralesích, který ve volné přírodě dorůstá výšky 10 až 15 metrů. V pěstitelských podmínkách se však častěji pěstuje jako keř, který nedorůstá více než 3 metrů. Na keři vyrůstá 8–10 postranních větví, které se přibližně po třech letech sklízí a z nichž se následně získává skořice, jedno z nejstarších

a nejoblíbenějších koření, které lidstvo využívá. Jedná se o sušenou střední část kůry skořicovníku, která se využívá buď ve formě svitků či prášku. Barva této části kůry je světle hnědá a chuť mírně nasládlá. [7, 13, 14] Mezi největší producenty skořice patří Srí Lanka, Indonésie, Seychely, Vietnam a Madagaskar. Skořice se pěstuje také v Číně, Indii, Malajsii, Mexiku, Brazílii, Francouzské Guyaně, Karibiku (Jamajka, Martinik) či na Taiwanu. [6]

Pravá skořice je často falšována skořicí cassia. Tyto dva druhy skořice se od sebe odlišují nejen vzhledem, ale také chutí. Kůra cassie je tlustší, tvrdší a její chuť je extrémně hořká a palčivá s poněkud štiplavou příchutí. Mletá skořice cassia má červenohnědou barvu. Pravá skořice je oproti tomu až papírově tenká, křehká, snadno se drtí a mele. Její chuť je tlumenější, méně hořká a její příchutí je sladká. Její vůně je sladká a aromatická, kůra má žlutohnědou barvu. Skořice cassia pochází z Myanmaru (Barma) a jejím zdrojem je strom *Cinnamomum cassia* (synonymem *Cinnamomum aromaticum*), který roste v Číně a Vietnamu a jehož skořice bývá označována jako skořice čínská, dále pak strom *Cinnamomum burmanii*, který roste na Jávě a Sumatře a jehož skořice bývá označována jako skořice indonéská a pak také strom *Cinnamomum tamala*, který roste v severovýchodní části Indie a v Myanmaru a jehož skořice bývá označována jako skořice indická. Dalším významným druhem je pak *Cinnamomum loureiroi*, jehož skořice bývá označována jako skořice vietnamská. [13, 15]

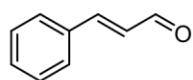
Hlavním rozdílem mezi cejlonskou skořicí a skořicí cassia je obsah kumarinu. Wang a kol. se touto problematikou zabývali ve své práci. Experimentální výsledky ukázaly, že zatímco kůra *Cinnamomum verum* obsahuje pouze stopové množství kumarinu (0,017 g/kg), kůra všech tří druhů cassie (*Cinnamomum burmanii*, *Cinnamomum loureiroi*, *Cinnamomum cassia*), jež byly podrobeny analýze, obsahovaly značné množství kumarinu, zvláště pak kůra *Cinnamomum burmanii* (2,15 g/kg) a *Cinnamomum loureiroi* (6,97 g/kg). Obsah kumarinu v *Cinnamomum cassia* byl nižší, než v ostatních druzích cassie (0,31 g/kg). [16]

Skořice představuje významné tradiční rostlinné léčivo, které je hojně využíváno především v Číně, ale také v dalších zemích, které se řadí mezi významné producenty skořice. Bylo zjištěno, že skořice má vynikající protizánětlivé, antioxidační, protirakovinné a antibakteriální účinky. V současné době se skořice hojně využívá ve farmaceutických přípravcích, kosmetice, kořeních přípravcích či potravinách a nápojích. [17]

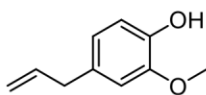
1.2.1 Skořicový esenciální olej

Nejdůležitější skořicové oleje jsou získávány z druhů *Cinnamomum zeylanicum*, *Cinnamomum cassia* a *Cinnamomum camphora*. Skořicový esenciální olej se dá extrahovat z různých částí rostliny (kůra skořicovníku, kůra kořenů, listy), přičemž mohou být využity různé extrakční metody. K extrakci se využívá buď hydrodestilace nebo destilace vodní parou, extrakce může být však provedena také pomocí organických rozpouštědel či pomocí mikrovlnami asistovaných extrakčních metod. Na zvolené extrakční metodě pak závisí nejen výtěžek, ale také složení esenciálního oleje, které se rovněž liší v závislosti na geografickém původu skořice a na způsobu jejího zpracování. [13, 14]

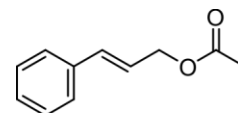
Skořicová kůra obsahuje 0,4 až 2,8 % těkavých složek. Sladká chuť skořice je způsobena přítomností cinnamaldehydu, který je hlavní složkou extrahovaného esenciálního oleje. Dále jsou pak v tomto esenciálním oleji přítomny složky jako eugenol, cinnamyl-acetát a další. Strukturní vzorce vybraných sloučenin, jakož i jejich procentuální zastoupení je uvedeno na **Obrázku 3**. Olej ze skořicové kůry má jantarovou až hnědou barvu, je čirý a jeho vůně je silná, teplá, sladce kořeněná. Chuť je štiplavá, sladká, ale ne hořká. [6, 13] Esenciální olej ze skořicové kůry našel své uplatnění ve farmaceutickém, kosmetickém a potravinářském průmyslu. Je součástí řady ajurvédských přípravků a je rovněž s oblibou využíván při léčbě revmatismu a zánětů. Ve farmaceutických přípravcích pak slouží k maskování nepříjemné chuti léků. Použití v průmyslu parfumérském je omezené, a to především kvůli jeho senzibilizujícím účinkům na pokožku. Používá se však jako vonná složka v mýdlech či přípravcích pro péči o zuby. V průmyslu potravinářském se využívá zejména pro svou silnou antibakteriální a antifungální aktivitu, díky které zpomaluje kažení masa. [13, 14, 18, 19] Za tímto účelem jej ve své práci využili Andevari a kol., kteří testovali želatinový povlak obohacený skořicovou silicí jako prostředek k udržení čerstvosti filetů pstruha duhového. Účinek tohoto povlaku byl pravidelně hodnocen pomocí mikrobiálních analýz. Bylo prokázáno, že želatinový povlak obsahující 1,5 a 2 % skořicové silice prodlužuje trvanlivost filetů, aniž by došlo ke změně jejich jakostních znaků. [19]



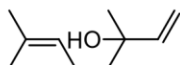
(*E*)-cinnamaldehyd
(63,1–75,7 %)



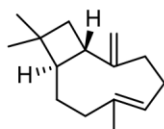
eugenol
(2,0–13,3 %)



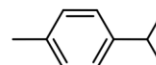
(*E*)-cinnamyl-acetát
(0,3–10,6 %)



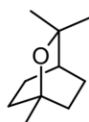
linalool
(0,2–7,0 %)



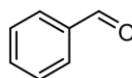
β -karyofylen
(1,3–5,8 %)



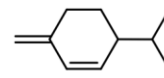
p-cymen
(1,7–2,5 %)



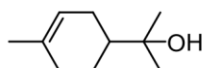
eukalyptol
(0,4–2,3 %)



benzaldehyd
(<2,2 %)



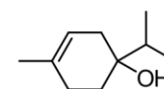
β -felandren
(<1,5 %)



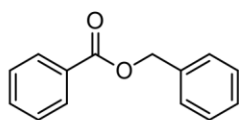
α -terpineol
(0,4–1,4 %)



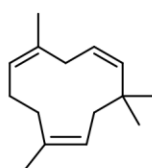
kafr
(<1,4 %)



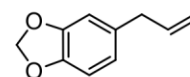
terpinen-4-ol
(0,4–1,1 %)



benzyl benzoát
(<1,0 %)



α -karyofylen
(<1,0 %)



safrol
(<0,04 %)

Obrázek 3. Vybrané sloučeniny přítomné ve skořici a jejich průměrné procentuální zastoupení. [7]

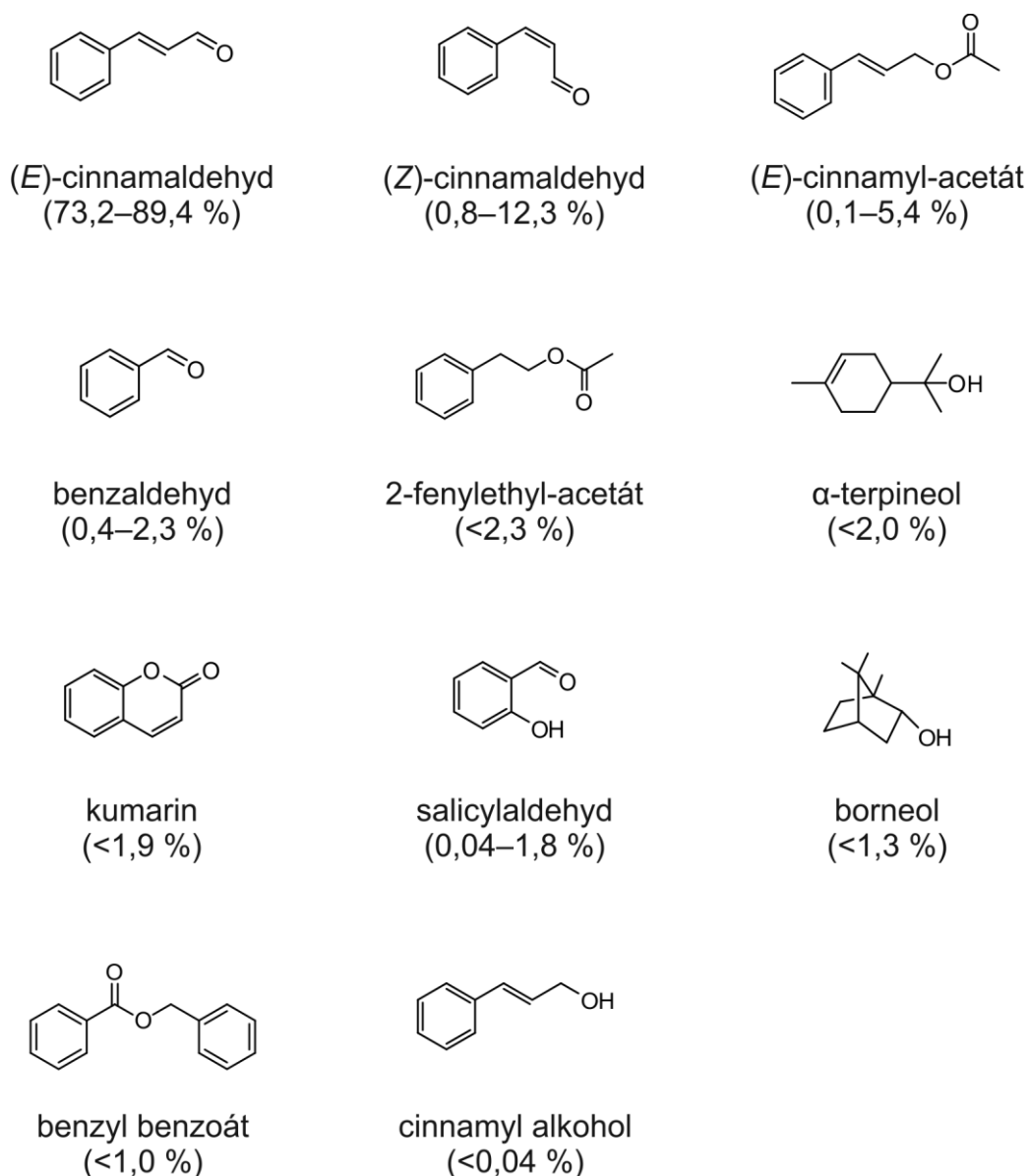
Olej z kůry může být falšován olejem z listů, nebo je také často falšován syntetickým cinnamaldehydem a přírodním eugenolem. Příležitostně je také možné zakoupit oleje, které byly získány z cassie či oleje, které byly uměle rekonstituovány. Rekonstituované esenciální

oleje jsou vyráběny kombinací jednotlivých složek, které se nacházejí v přírodním oleji. Obvykle je však vynechána většina minoritních složek přítomných v přírodním esenciálním oleji. [1, 6, 7, 13]

Olej extrahovaný z listů skořicovníku je levnější než olej extrahovaný ze skořicové kůry. Vůně tohoto oleje je teplá, kořeněná, ale poněkud ostřejší v porovnání s esenciálním olejem extrahovaným z kůry. Výtěžek oleje se pohybuje mezi 0,5–1,8 %. Stejně jako esenciální olej extrahovaný z listů hřebíčkovce se i tento olej využívá jako zdroj eugenolu, který je jeho hlavní složkou (68,6–87,0 %). Dalšími významnými složkami jsou pak eugenyl-acetát (1,0–8,1 %) a linalool (2,0–5,0 %). [7, 13] Tento olej lze rovněž využít k aromatizaci potravinářských výrobků. [14]

Olej je možno extrahovat také z kůry kořenů. Tento olej je bezbarvý až žlutohnědý a vůni se podobá oleji ze skořicové kůry, vůně je však slabší a kafrová. Právě kafr je hlavní složkou tohoto oleje a jeho obsah se pohybuje kolem 60 %. [13]

Esenciální olej lze získat také z kůry cassie, přičemž jeho výtěžek se pohybuje v rozmezí 1,5–4 %, v závislosti na tom, zda je pro extrakci použita čerstvá nebo sušená kůra. Tento olej má žlutou až červenohnědou barvu, vůně je kořeněná a nasládlá. Hlavní složkou esenciálního oleje extrahovaného z kůry cassie je (*E*)-cinnamaldehyd, v menším množství je pak dále přítomný také (*Z*)-cinnamaldehyd, (*E*)-cinnamyl-acetát a další. Strukturní vzorce vybraných sloučenin, jakož i jejich procentuální zastoupení je uvedeno na **Obrázku 4**. [6, 7]



Obrázek 4. Vybrané sloučeniny přítomné v cassii a jejich procentuální zastoupení. [7]

Esenciální olej z cassie lze, stejně jako v případě skořice, extrahovat také z listů. Barva takto získaného oleje je žlutá až hnědá, vlivem stárnutí nebo vzduchu pak olej tmavne a houstne. Hlavní složkou tohoto oleje je opět (*E*)-cinnamaldehyd (54,6–90,1 %), v menším množství je pak dále přítomný také (*E*)-cinnamyl-acetát (1,4–12,5 %), (*Z*)-cinnamaldehyd (0,4–10,5 %) a další. Stejně jako esenciální olej extrahovaný z kůry cassie, obsahuje i tento olej kumarin (0,03–2,5 %). [7]

1.2.2 Skořicový oleoresin

Skořicový oleoresin představuje vysoce koncentrovanou viskózní hydrofobní kapalinu tmavě hnědé barvy, která se získává extrakcí rozpouštědlem a obsahuje více jak 50 %

těkavého oleje. Jeho přesné chemické složení závisí na odrůdě rostliny a také na tom, ze které části rostliny byl oleoresin extrahován. [13, 20] Své uplatnění našel skořicový oleoresin v potravinářství, kde se používá především k aromatizaci potravinářských výrobků, jako jsou dorty, koláče, cukrovinky či nápoje. [14, 20]

Oleoresiny jsou bohaté na látky, které mají vynikající antioxidační a antimikrobiální vlastnosti. Tyto látky jsou však velmi náchylné k degradaci působením světla, kyslíku a teploty, což vede ke změně jejich chemických, fyzikálních a sensorických vlastností. V důsledku toho pak oleoresiny ztrácí svou ekonomickou a technologickou hodnotu. Další problém pak představuje lipofilita oleoresinů, která brání jejich začlenění do potravinových matric na bázi vody. [20, 21] Ferraza a kol. pojednávají o této problematice ve své práci zabývající se emulzifikací skořicového a paprikového oleoresinu a jejich následném využití v potravinářském průmyslu. Dané oleoresiny byly úspěšně emulgovány, přičemž bylo zjištěno, že směs skořicového a paprikového oleoresinu má synergický antioxidační účinek. [20] Touto problematikou se dále také zabývali Procopio a kol., jejichž práce se věnovala výrobě a charakterizaci tuhých lipidových mikročástic. Tyto částice obsahovaly skořicový oleoresin a byly vyrobeny technikou sprejového sušení. [21]

2 EXTRAKČNÍ METODY

Esenciální oleje mají komplexní a variabilní složení, sestávající z velkého množství složek, jejichž kombinací vzniká charakteristická vůně daného esenciálního oleje. Velmi důležitou součástí esenciálních olejů jsou nejen jejich majoritní, ale také minoritní složky. Proto je důležité, aby byl při extrakci zachován přirozený podíl jednotlivých složek, ať už jsou izolovány jakoukoliv metodou. Složení extrahovaného esenciálního oleje a výše jeho výtěžku se mohou značně lišit v závislosti na dané extrakční metodě.

Využití konvenčních extrakčních metod přináší několik nevýhod. Jednou z nich je například skutečnost, že tyto metody jsou obvykle energeticky náročné. Rostoucí náklady na energie a také snahy využívat postupy šetrnější k životnímu prostředí pak vedly k hledání alternativních extrakčních postupů, které budou efektivní, udržitelné a zároveň budou poskytovat extrakty se stejnými či dokonce lepšími vlastnostmi. [22]

2.1 Konvenční extrakční metody

2.1.1 Lisování za studena

Lisování za studena je nejstarší extrakční metodou, přičemž tato metoda je využívána téměř výhradně pro citrusy a pro jiné (necitrusové) oleje se obvykle nepoužívá. V citrusové slupce jsou přítomny žlázy obsahující esenciální olej, k jehož uvolnění dochází v důsledku jejich mechanického rozrušení. Kromě oleje se uvolňuje také voda a výsledkem extrakce je tak vodná emulze. Esenciální olej je od vody následně oddělen pomocí centrifugace.

Důvodem, proč se citrusové esenciální oleje získávají tímto způsobem, je termolabilita přítomných aldehydů. Oleje lisované za studena jsou obecně preferovány v parfumérském průmyslu a aromaterapii. Kromě lisování za studena lze pro extrakci citrusových olejů využít také destilaci (zejména pro limetkový olej). Jelikož fototoxické složky, které jsou v citrusových esenciálních olejích přítomny, představují poměrně velké netěkavé molekuly, lze předpokládat, že v důsledku toho budou tyto molekuly přítomny spíše v olejích lisovaných za studena než v olejích, které byly získány pomocí destilace. [1, 22]

2.1.2 Extrakce rozpouštědlem

Extrakce rozpouštědlem je považována za metodu relativně levnou a rychlou. Tuto metodu lze s výhodou využít pro extrakci termolabilních esenciálních olejů. Principem extrakčního procesu je umístění rostlinného materiálu do rozpouštědlové lázně, ve které dochází

k extrakci esenciálního oleje a dalších sloučenin. Extrakční lázeň může být během extrakčního procesu mírně zahřívána, v důsledku čehož dochází k urychlení difuze. Po extrakci je rostlinný materiál odfiltrován a získaný filtrát je následně zahuštěn. [22, 23] Konečným produktem je concrete, který kromě vonných látek obsahuje také rostlinné vosky. Přidáním ethanolu ke concrete dochází k rozpouštění vonných látek. Po odpaření ethanolu je pak výsledným produktem tzv. absolute. [1, 24]

Mezi běžně využívaná rozpouštědla patří aceton, hexan, ethanol, petrolether a methanol. Předností těchto rozpouštědel je poměrně nízká teplota varu, v důsledku čehož je pak během jejich oddestilování sníženo riziko chemických změn u extrahovaných sloučenin. [22, 23] Nevýhodou této extrakční metody je její časová náročnost, od které se pak také odvíjí cena takto extrahovaných olejů. [24]

2.1.3 Enfleurage

Enfleurage (také enfleuráž) je metodou, jejíž využití má kořeny až ve starověku, a přestože máme v dnešní době k dispozici velké množství metod vhodných pro extrakci těkavých sloučenin, je enfleurage stále považována za důležitou extrakční metodu. Používá se hlavně pro extrakci esenciálních olejů z květin (např. jasmín či tuberóza). Princip této metody je poměrně jednoduchý. Rostlinný materiál je při enfleuragi nanesen na vyčištěný, zápachu zbavený studený tuk, kterým jsou potřeny skleněné desky. Přírozenou vlastností tohoto tuku je vysoká absorpční schopnost a pokud se tedy tuk dostane do těsného kontaktu s vonnými květy, je schopen snadno absorbovat vůni, kterou květy uvolňují. Kvalita použitého tuku je pro správně provedenou enfleurage důležitou proměnnou. Kromě toho, že musí být tuk prakticky bez zápachu, musí mít také správnou konzistenci. Připravený tukový podklad nesmí být ani příliš tuhý, ani příliš měkký, a po provedení enfleurage by květy měly být snadno odstranitelné, aby nedocházelo ke ztrátám tuku. Během procesu jsou květiny několikrát obměňovány, dokud nedojde k saturaci tuku. Takto získaný tuk se nazývá pomáda, pokud je tuk extrahován alkoholem, nazývá se získaný produkt absolute. Z dnešního pohledu se jedná o metodu nákladnou, pracnou a časově náročnou. [22, 25, 26]

2.1.4 Destilace

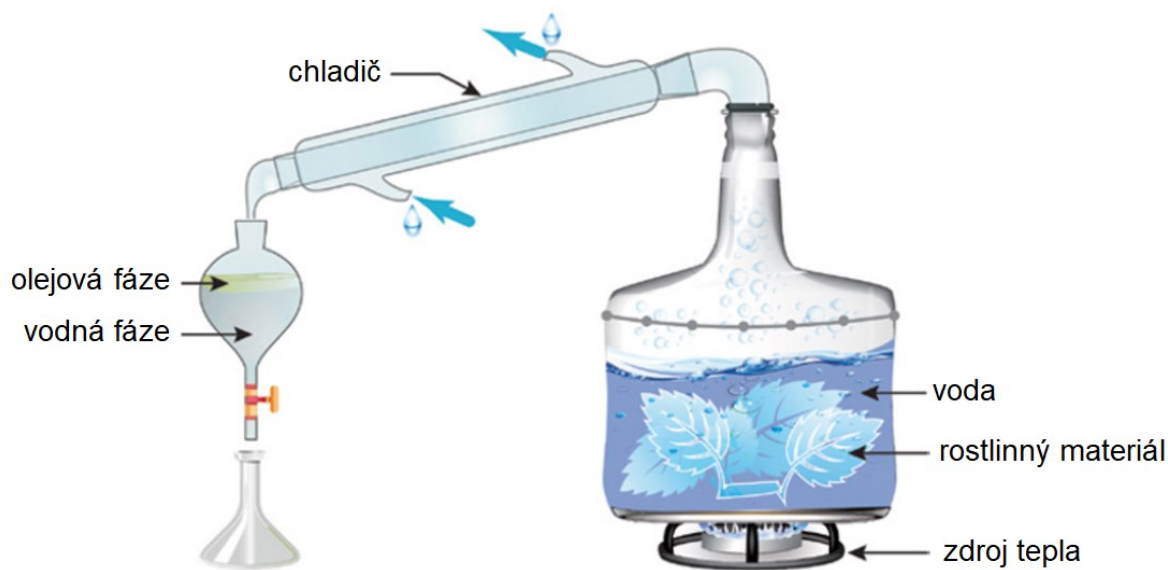
Destilace představuje celosvětově nejrozšířenější a nákladově nejefektivnější metodu pro extrakci většiny esenciálních olejů. Rostlinný materiál je při tomto způsobu extrakce vystaven působení vroucí vody (hydrodestilace, *HydroDistillation*, HD) nebo vodní páry (destilace vodní parou, *Steam Distillation*, SD), přičemž doba extrakce se pohybuje mezi

1 až 10 hodinami. Délka extrakce má pak společně s teplotou, tlakem a druhem použitého rostlinného materiálu vliv na množství extrahovaného esenciálního oleje. Během extrakčního procesu dochází k uvolnění esenciálních olejů, jejichž páry pak spolu s vodní párou kondenzují. Výsledkem kondenzace je nemísitelná směs, složená ze dvou fází, a to olejové a vodné. Olejová vrstva představuje komplexní směs převážně vonných látek, někdy zabarvených a často biologicky aktivních. Jedná se o vyextrahovaný esenciální olej. Vodná fáze se nazývá hydrosol či hydrolát a stejně jako olejová fáze obsahuje vonné složky. Tyto vonné složky jsou však ve vodné fázi obsaženy v mnohem nižších koncentracích a v jiném poměru, než v jakém jsou zastoupeny ve fázi olejové. [1, 22, 27]

Hydrodestilace

Při hydrodestilaci je čerstvý nebo sušený rostlinný materiál ponořen do vodní lázně a následně je teplota vody zvyšována až k bodu varu. Princip extrakce je pak založen na azeotropické destilaci. Extrakční proces probíhá za atmosférického tlaku a molekuly vody spolu s molekulami esenciálního oleje vytvářejí heterogenní směs, jejíž teplota varu je nižší (lehce pod 100 °C), než teplota varu jednotlivých složek přítomných v esenciálním oleji. Vzniklé páry jsou následně odváděny do kondenzační části aparatury, kde dochází k jejich ochlazení a kondenzaci. U získaného destilátu je možné po jeho dekantaci pozorovat dvě vrstvy. Spodní vrstva je tvořena vodnou fází, horní vrstva je pak tvořena extrahovaným esenciálním olejem. Schématické znázornění hydrodestilační aparatury je uvedeno na **Obrázku 5**. [1, 28–30]

Doba trvání hydrodestilace se obvykle pohybuje mezi 3 až 6 hodinami (v případě okvětních plátků růže až 24 hodin), v závislosti na extrahovaném rostlinném materiálu, přičemž délka trvání extrakce může ovlivnit nejen velikost výtěžku esenciálního oleje, ale také jeho chemické složení. Obecně lze říci, že hydrodestilace je vhodnou extrakční metodou pro byliny a koření, které obsahují esenciální oleje, které se izolují obtížně a které jsou bohaté na složky tepelně stabilní a ve vodě nerozpustné. V opačném případě může totiž snadno docházet k hydrolýze nenasycených nebo esterových sloučenin, polymerizaci aldehydů nebo tepelnému rozkladu termolabilních složek, v důsledku čehož pak dochází ke snížení kvality esenciálního oleje. [29, 30]



Obrázek 5. Schematické znázornění hydrodestilační aparatury. [29]

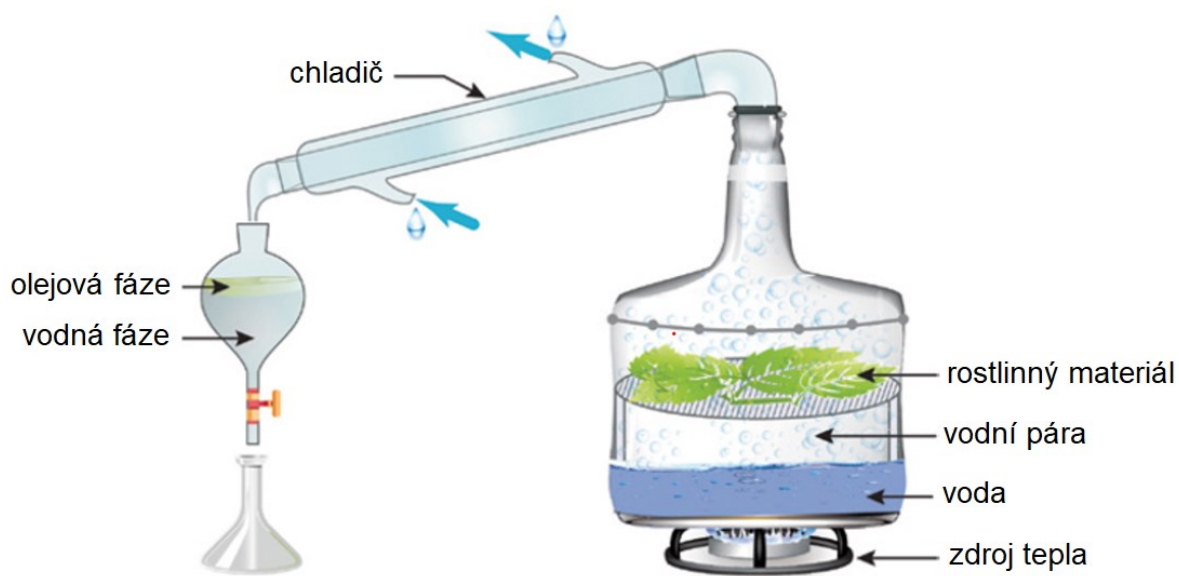
Tuto extrakční metodu využili např. Li a kol. ve své práci pojednávající o detekci a identifikaci složek obsažených ve skořicové kůře, přičemž proces hydrodestilace byl proveden v souladu s lékopisem Čínské lidové republiky. [17]

Destilace vodní parou

Při této extrakční metodě je rostlinný materiál vložen do nádoby s perforovaným dnem, které umožňuje průchod vodní páry rostlinným materiálem. Pára nasycená těkavými látkami obsaženými v rostlinném materiálu poté vstupuje do kondenzátoru, kde dochází k jejímu ochlazení a kondenzaci. Olejovou a vodnou fázi lze oddělit pomocí dekantace nebo odstředování. Schématické znázornění aparatury pro destilaci vodní parou je uvedeno na **Obrázku 6**. Nevýhodou této extrakční metody však zůstává její energetická náročnost. [25, 29]

Výhodou této metody je zkrácení časové náročnosti extrakčního procesu, snížení ztrát hlavních polárních sloučenin a omezení možných modifikací přirozených složek esenciálního oleje způsobených oxidací. Optimální doba trvání extrakce potřebná pro zajištění její účinnosti se u různých rostlinných materiálů liší. Bylo např. prokázáno, že při použití destilace vodní parou bylo maximálního výtěžku esenciálního oleje dosaženo u japonské máty už po 10 minutách, u levandule po 60 minutách, u heřmánku pak až po 480 minutách. Rovněž obecně platí, že množství složek s nízkým bodem varu je vyšší u extrakcí, které trvají kratší dobu. S prodlužující se dobou extrakce pak dochází k jejich

degradaci. U složek s vysokým bodem varu je pozorován opačný trend – čím déle extrakce trvá, tím je obsah těchto složek vyšší. [28, 29]

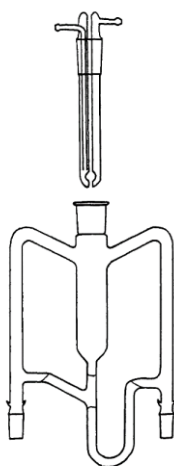


Obrázek 6. Schematické znázornění aparatury pro destilaci vodní parou. [29]

2.1.5 Simultánní destilace-extrakce

Simultánní destilace-extrakce (*Simultaneous Distillation-Extraction*, SDE) byla vyvinuta v 60. letech 20. století a patří mezi běžně používané extrakční metody, zejména pokud jde o extrakci vonných a chuťových látek, které jsou přítomny v komplexních maticích. SDE představuje metodu, která umožňuje provést izolaci a koncentraci extrahovaných složek v jednom kroku, což přináší výhodu v podobě časové úspory. [31, 32]

Na **Obrázku 7** je znázorněna Likensonova-Nickersonova aparatura, jejíž návrh pochází z roku 1964. Varná baňka připojená k levému rameni aparatury obsahuje extrahovaný vzorek (vodný roztok nebo suspenze pevného materiálu ve vodě), varná baňka připojená k pravému rameni pak organické rozpouštědlo, jehož hustota musí být vyšší než hustota vody. Pokud by bylo použito rozpouštědlo s hustotou menší, než je hustota vody, bylo by zapotřebí změnit pozici varných baněk. Obě varné baňky jsou následně zahřívány, přičemž páry těkavých látek, přítomných ve vzorku, stoupají spolu s vodní párou levým ramenem aparatury a poté v chladiči kondenzují spolu s parami příslušného organického rozpouštědla. Mezi oběma kapalnými filmy přítomnými na povrchu chladiče pak dochází k započetí extrakčního procesu. V separátoru, jež se nachází ve střední části aparatury, pak dochází ke shromažďování kondenzátu, jeho dekantaci na vodnou a organickou fázi a k jejich následnému navrácení zpět do příslušných varných baněk. [32]



Obrázek 7. Likensonova-Nickersonova aparatura. [32]

V průběhu let byla v různých studiích používána k extrakci pomocí SDE řada různých rozpouštědel, jako je např. dichlormethan, pentan, isopentan, hexan, chloroform, ethyl-acetát, diethyl-ether, methyl-*tert*-butyl ether, trichlorfluormethan, trichlortrifluorethan a dále pak směsi rozpouštědel, jako je např. směs pentanu a diethyl-etheru. Ze všech těchto studií lze vyvodit závěr který říká, že dichlormethan se obecně jeví jako nejlepší rozpouštědlo pro extrakci pomocí SDE. Přestože totiž pro některé specifické třídy sloučenin může jiné rozpouštědlo vykazovat vyšší účinnost, spektrum použitelnosti dichlormethanu je nejširší. [32]

Liao a kol. popsali ve své práci možnost přímého spojení Likensonovy-Nickersonovy aparatury s plynovou chromatografií s hmotnostní detekcí. Různé analyty, lišící se svou těkavostí, jsou charakterizovány různými optimálními dobami extrakce. U vysoce těkavých analytů může příliš dlouhá doba extrakce vést k jejich vyčerpání, zatímco u analytů méně těkavých může příliš krátká doba extrakce vést k jejich nedostatečnému extrahování z matrice. Díky systému SDE/GC-MS lze zaznamenávat extrakční profily v reálném čase, díky čemuž jsme schopni sledovat extrakční kinetiku jednotlivých těkavých analytů. [33]

2.1.6 Superkritická fluidní extrakce

Mnohé složky esenciálních olejů jsou citlivé vůči vysokým teplotám, což často znemožňuje použití klasických, výše komentovaných, extrakčních metod. Řešením může být aplikace superkritické fluidní extrakce (*Supercritical Fluid Extraction*, SFE), která využívá mírnějších teplot a kratších extrakčních časů, a díky které je možné získat esenciální oleje vysoké kvality s minimálními ztrátami jejich přirozených složek. Zachování hlavních složek

esenciálního oleje je tedy hlavní výhodou SFE oproti jiným tradičním extrakčním metodám. [22, 28]

Pro to, aby byla extrakce úspěšná, je třeba vzít do úvahy několik faktorů. Mezi tyto patří typ rostlinného materiálu a jeho předúprava, použité superkritické fluidum a způsob jeho přivádění k rostlinnému materiálu, výběr modifikátoru a dále také extrakční podmínky (tlak, teplota, průtok, délka extrakce). Nastavení optimálních podmínek má významný vliv nejen na výtěžek reakce, ale také na snížení ztrát vzorku a úsporu energie a času. Změnou extrakčních podmínek (např. teplota a tlak) pak lze selektivně extrahovat olej požadovaného složení. V praxi se obvykle tato extrakční metoda provádí s využitím CO₂. Mezi hlavní výhody patří jeho nízká kritická teplota, nízká cena, nulová toxicita, absence zápachu a chuti a v neposlední řadě také možnost jeho snadného odstranění bez zbytkových residuí. Polarita superkritického CO₂ je podobná, jako polarita pentanu, díky čemuž je tedy vhodným rozpouštědlem pro extrakci nepolárních a také některých polárních látek. Vzhledem k lipofilním vlastnostem esenciálních olejů je tedy zřejmé, že SFE je vhodnou metodou pro jejich extrakci. [22, 28]

Jak bylo uvedeno výše, na extrakční proces má vliv řada faktorů. Jedním z nich je např. teplota, jejíž vliv na extrakci konkrétního esenciálního oleje je obtížné předvídat, jelikož zvýšení teploty vede při extrakčním procesu ke dvěma protichůdným jevům. Jelikož jsou mnohé složky esenciálních olejů považovány za termolabilní, mohly by vyšší teploty způsobit jejich degradaci. V důsledku toho je během extrakčního procesu vhodné využívat teploty v rozmezí 35–50 °C. Obecně lze tedy říci, že teplota by se měla pohybovat v blízkosti kritického bodu CO₂ a zároveň by měla být teplota tak nízká, aby nedocházelo k degradaci extrahovaných látek.

Na kvalitu výsledného extraktu má pak také vliv i samotná rostlinná matrice. Jelikož se esenciální oleje nacházejí spíše v intracelulárních prostorech než na povrchu rostlinných buněk, je důležité zajistit dobrý kontakt esenciálního oleje s fluidem. Toho lze docílit rozrušením rostlinných buněk pomocí rozemletí či rozmělnění. Nadměrné mletí však může extrakci v důsledku zpětné adsorpce extraktu na povrch matrice zpomalit.

Extrakční proces je dále ovlivněn přidávanými modifikátory, které slouží jako korozpouštědla a jejichž cílem je zvýšit rozpustnost extrahovaných látek a také rozšířit množství látek, které lze z matrice extrahovat (superkritický CO₂ je poměrně nepolární, přídavek polárního modifikátoru je nezbytný pro zlepšení rozpustnosti molekul s vyšší

polaritou). V důsledku toho dochází ke zvýšení účinnosti SFE. Mezi běžně používané modifikátory patří methanol, ethanol, propan-2-ol, dichlormethan a acetonitril. [28]

Masghati a Ghoreishi využili tuto metodu pro extrakci cinnamaldehydu a eugenolu ze skořicové kůry. Aby bylo dosaženo lepší rozpustnosti eugenolu, který je látkou částečně polární, byl použit methanol, který zde vystupoval jako korozpouštědlo. S rostoucím tlakem docházelo ke zvýšení hustoty fluidu a ke zvýšení rozpustnosti cinnamaldehydu a eugenolu, v důsledku čehož bylo dosaženo vyšší výtěžnosti. [34]

Tato metoda byla rovněž využita Guanem a kol. při extrakci esenciálního oleje ze sušených hřebíčkových pupat. Výsledky jejich práce ukazují, že na obsah eugenolu v extrahovaném oleji měla největší vliv teplota extrakce, na výtěžek extrakce pak měla největší vliv velikost částic. [35]

2.1.7 Soxhletova extrakce

Soxhletova extrakce se řadí mezi nejstarší používané extrakční metody a představuje referenční metodu, k níž je vztahována účinnost jiných extrakčních metod, sloužících pro extrakci typu pevná látka–kapalina. Při této extrakční metodě je vzorek, jež má být extrahován, umístěn v extrakční patroně, přes kterou kontinuálně proudí extrakční rozpouštědlo. Po skončení extrakce tedy není nutné provádět separaci vyextrahovaného rostlinného materiálu a příslušného rozpouštědla. [25, 36, 37]

Stejně jako je tomu i u jiných metod, představuje použití Soxhletovy extrakce určité nevýhody. Jednou z nich je např. průměrná doba extrakce, která se pohybuje mezi 1 až 72 hodinami. Extrakční proces sice není možné urychlit pomocí míchání, extrakční dobu však lze zkrátit díky zmenšení velikosti částic extrahovaného materiálu. Jelikož jsou vzorky obvykle extrahovány při bodu varu extrakčního činidla po dlouhou dobu, nelze ignorovat ani možnost tepelného rozkladu termolabilní sloučenin. [28, 38]

Velmi důležitým aspektem Soxhletovy extrakce je výběr vhodného rozpouštědla, neboť toto výrazně ovlivňuje účinnost extrakce a také spektrum analytů, které budou z příslušné matrice extrahovány. Použité rozpouštědlo by tedy mělo být vysoce selektivní, tzn. že z rostlinného materiálu by měly být extrahovány pouze ty složky, jejichž extrakce je žádoucí. Polarita rozpouštědla by měla být podobná polaritě cílových analytů. [25, 37]

Sarikurkcü a kol. využili tuto metodu ve své práci věnované extrakci plodů drmků obecného za využití 4 rozpouštědel lišících se svou polaritou. Pro extrakci byl použit hexan,

dichlormethan, ethyl-acetát a methanol (řazeno podle stoupající polarity). Nejvyššího výtěžku bylo dosaženo při použití hexanu (1,67 %), dále pak dichlormethanu (1,09 %) a methanolu (0,97 %), nejnižšího výtěžku bylo dosaženo při použití ethyl-acetátu (0,95 %). Pro srovnání byla také provedena extrakce pomocí hydrodestilace, jejíž výtěžek činil 0,68 %. Z výsledků je patrné, že vyšších výtěžků bylo dosaženo při použití rozpouštědel s nižší polaritou. Na druhou stranu je však také nutné zmínit, že ze všech extrahovaných esenciálních olejů vykazoval právě olej extrahovaný pomocí hydrodestilace nejvyšší antioxidační aktivitu, a to pravděpodobně díky vysokému obsahu fenolických látek a flavonoidů. Druhým v pořadí pak byl olej extrahovaný pomocí methanolu. [39]

2.1.8 Ultrazvukem asistovaná extrakce

Ultrazvukem asistovaná extrakce (*Ultrasound-Assisted Extraction*, UAE) je extrakční metoda využívaná v technologii zpracování potravin. Díky této metodě lze snáze extrahovat jejich jednotlivé složky, jako jsou např. oleje, proteiny či polysacharidy. Díky předúpravě extrahovaného materiálu pomocí ultrazvuku je možné nejenom zefektivnit rychlost extrakčního procesu, ale také maximalizovat velikost výtěžku extrakce. Dalším benefitem této metody je skutečnost, že ultrazvuk má minimální účinky na přítomné složky, extrakční čas je kratší a dochází také ke snížení množství používaných rozpouštědel či k eliminaci jejich použití vůbec. [22]

Rostlinný materiál obsahuje dva typy žláznatých buněk (vnější a vnitřní), které obsahují esenciální olej. Pokožka vnějších žláznatých buněk je tenká, v důsledku čehož lze tyto buňky snadno narušit pomocí sonikace. Kromě toho může také ultrazvuk usnadnit bobtnání a hydrataci rostlinného materiálu. Bobtnání rostlinného materiálu vede ke zvýšení rychlosti přenosu hmoty a vede případně až k rozpadu buněčné stěny, díky čemuž dochází ke zvýšení účinnosti extrakce a/nebo zkrácení její doby. [40]

2.1.9 Ohmická hydrodestilace

Ohmická hydrodestilace (*Ohmic-Assisted Hydrodistillation*, OAHD) představuje pokročilou a zároveň tzv. „zelenou“ extrakční metodu, při níž je místo tradičního zdroje ohřevu, při němž je výměna tepla uskutečňována prostřednictvím kondukce či konvekce, využíván ohřev ohmický. Při tomto způsobu ohřevu dochází k přeměně elektrické energie na tepelnou, přičemž k vytváření tepla dochází přímo uvnitř elektrovodivých částic extrahované směsi. Je tedy zřejmé, že při tomto způsobu ohřevu nelze přímo ohřívat materiály, jejichž elektrická vodivost je nízká. Limitujícím faktorem je tedy iontová mobilita extrahovaného materiálu.

Výhodou tohoto způsobu ohřevu je urychlení celého extrakčního procesu (množství zkondenzované páry za jednotku času je vyšší). Využití ohmického ohřevu může také urychlit uvolňování esenciálního oleje, jelikož dochází k účinnému rozbití rostlinných struktur. Další benefit pak představuje energetická náročnost procesu, která je v porovnání s jinými extrakčními metodami nižší. [41, 42] Rychlost ohmického ohřevu ovlivňují různé faktory, včetně elektrické vodivosti rostlinného materiálu a intenzity elektrického pole. [41, 43]

Tato metoda má určitý aplikační potenciál, její průmyslové využití je však problematické. Hlavní nevýhodu představují kapitálové náklady, které instalace OAHD systému vyžaduje, a které jsou vyšší než v případě kapitálových nákladů nutných pro instalaci konvenčního extrakčního systému. Další nevýhody pak představuje možnost tepelného úniku a nemožnost přímého ohřevu materiálů, které nejsou elektricky vodivé (např. tukové kuličky). [41]

Tunç a Koca využili tuto metodu ve své práci pro extrakci esenciálního oleje z hřebíčku. Jelikož je destilovaná voda výborným elektrickým izolantem, byl pro extrakci pomocí OAHD použit 0,5% roztok NaCl. Dále pak byla provedena extrakce pomocí hydrodestilace v přítomnosti destilované vody a v přítomnosti 0,5% roztoku NaCl. Ačkoliv nebylo prokázáno, že by mezi energetickou náročností jednotlivých metod existoval statisticky významný rozdíl, extrakce pomocí OAHD poskytovala největší výtěžek esenciálního oleje ($13,18 \pm 1,50$ %). Takto extrahovaný esenciální olej sice obsahoval méně eugenolu, ale zároveň více isoeugenolu. Předpokládá se, že toto bylo způsobeno skutečností, že elektrický proud může urychlit isomeraci eugenolu na isoeugenol. Celková doba extrakce pak byla v případě OAHD kratší než u extrakce pomocí hydrodestilace. [43]

2.2 Mikrovlnami asistované extrakční metody

2.2.1 Mikrovlnami asistovaná extrakce

Mikrovlnami asistovaná extrakce (*Microwave-Assisted Extraction*, MAE) patří mezi nově využívané, tzv. „zelené“ extrakční metody. MAE představuje metodu, která kombinuje tradiční extrakci pomocí rozpouštědla s mikrovlnným ohřevem. Pro extrakci se obvykle používá sušený rostlinný materiál. Přestože je rostlinný materiál vysušený, rostlinné buňky stále obsahují stopové množství vlhkosti, která se díky působení mikrovln odpařuje a v důsledku toho pak vytváří tlak na vnitřní stranu buněčné stěny, který nakonec vede k prasknutí rostlinné buňky a vyloučení aktivních složek obsažených v rostlinné buňce do

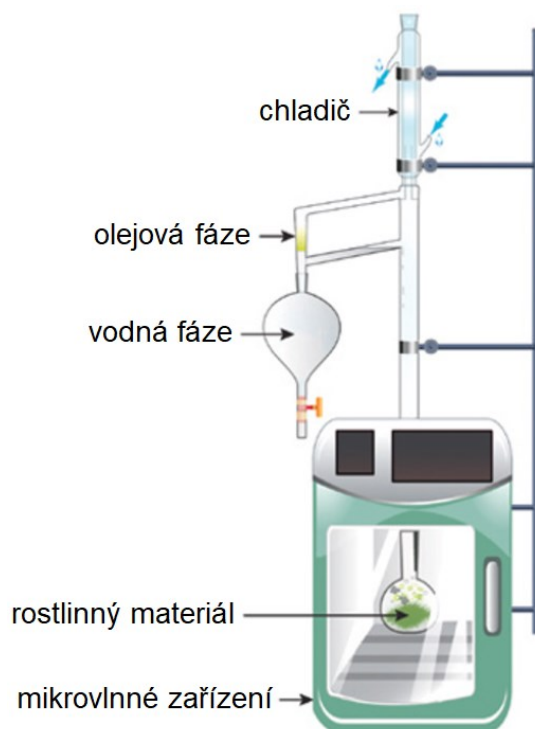
okolního rozpouštědla. Pokud je použito rozpouštědlo, které je schopno silně absorbovat energii mikrovln (např. ethylen glykol, ethanol, DMSO, methanol), dochází k postupnému zvyšování jeho teploty. Zvýšená teplota pak napomáhá rozpouštědлу penetrovat do rostlinného materiálu, což vede ke snadnější extrakci aktivních složek. Jiný přístup je uplatňován při extrakci termolabilních složek, kdy je zvýšení teploty extrakčního procesu nežádoucí. Pro jejich extrakci jsou používána nepolární rozpouštědla, která nemohou energii mikrovln efektivně absorbovat (např. hexan či chloroform). [22, 25, 27, 44]

Oproti konvenčním metodám (např. Soxhletova extrakce) je MAE rychlejší (extrakce obvykle netrvá déle než 30 minut), selektivnější, poskytuje vyšší výtěžky a ohřev probíhá rovnoměrně. Ve srovnání se Soxhletovou extrakcí je pak dalším benefitem této metody výrazné snížení spotřeby organického rozpouštědla (Soxhletova extrakce vyžaduje použití 100–500 cm³ rozpouštědla, zatímco pro MAE se obvykle nepoužívá více než 40 cm³). [22, 40]

2.2.2 Mikrovlnami asistovaná extrakce za vyloučení rozpouštědla

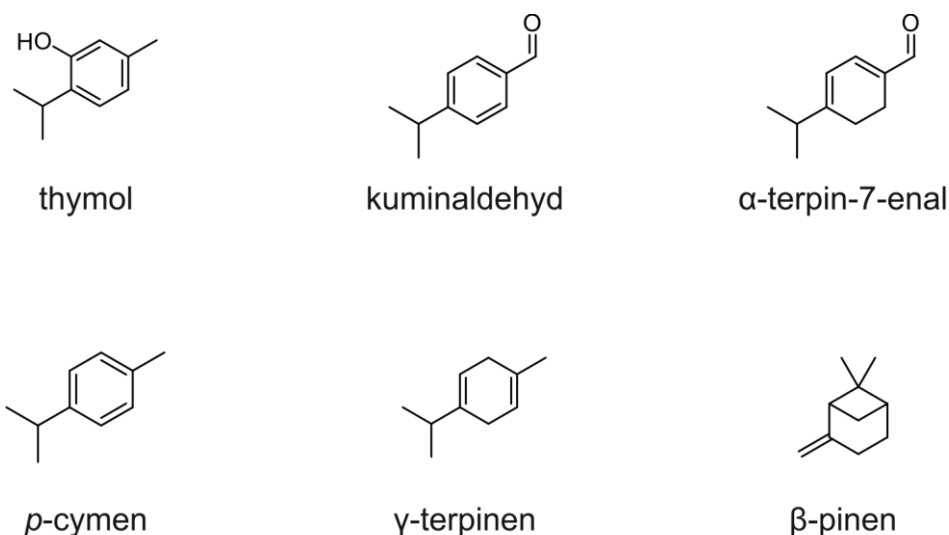
Mikrovlnami asistovaná extrakce za vyloučení rozpouštědla (*Solvent-Free Microwave Extraction*, SFME) patří mezi pokročilé „zelené“ extrakční metody. SFME je poměrně novou extrakční metodou. Byla vyvinuta v roce 2004 pro extrakci esenciálních olejů z aromatických bylin, které jsou široce využívány v potravinářském průmyslu. [22, 28, 42]

Princip tohoto extrakčního procesu je poměrně jednoduchý. Jedná se o mikrovlnami asistovanou suchou destilaci čerstvého rostlinného materiálu, přičemž celý proces je prováděn za atmosférického tlaku a bez přídavku jakéhokoliv rozpouštědla. Díky zahřívání vody přítomné v rostlinném materiálu (*in situ*) dochází k postupnému bobtnání pletiv, což následně vede k prasknutí žlázek, obsahujících esenciální olej. Následně se takto uvolněný esenciální olej odpařuje za pomoci vody *in situ* a díky chladicímu systému, který se nachází mimo mikrovlnný zdroj dochází k jeho kondenzaci. Přebytek vody může být refluxován zpět do extrakční nádoby, díky čemuž dochází k obnovení původního množství vody v rostlinném materiálu. Pro získání esenciálního oleje není nutné provádět extrakci rozpouštědlem, neboť izolace a zakoncentrování těkavých sloučenin je prováděno jednostupňově. Schéma aparatury pro SFME je znázorněno na **Obrázku 8**. [28, 45, 46]



Obrázek 8. Aparatura pro SFME. [29]

Lucchesi a kol. využili tuto metodu k extrakci esenciálních olejů z různých druhů koření. Bylo zjištěno, že esenciální oleje extrahované pomocí SFME obsahují vyšší podíl kyslíkatých sloučenin a nižší podíl monoterpenů, než esenciální oleje extrahované pomocí hydrodestilace. Bylo např. zjištěno, že u esenciálních olejů získaných z koptského a římského kmínu činil podíl kyslíkatých sloučenin více než 60 % při použití SFME, zatímco při použití HD činil tento podíl méně jak 40 %. Esenciální olej extrahovaný z koptského kmínu pomocí SFME obsahoval jako majoritní složku thymol, v menší míře pak *p*-cymen a γ -terpinen. Olej extrahovaný pomocí HD rovněž obsahoval výše uvedené sloučeniny, jejich poměr však byl poměrně vyrovnaný. Esenciální olej extrahovaný z římského kmínu obsahoval 5 hlavních sloučenin, jejichž procentuální zastoupení se však lišilo podle zvolené extrakční metody. Olej extrahovaný metodou SFME obsahoval více kuminaldehydu a α -terpin-7-enalu, než olej extrahovaný pomocí HD. Zastoupení γ -terpinenu, *p*-cymenu a β -pinenu bylo naopak vyšší u oleje extrahovaného pomocí HD. Z výsledků je patrné, že oleje extrahované pomocí SFME obsahovaly více kyslíkatých derivátů uhlovodíků, zatímco množství monoterpenů bylo nižší. Strukturální vzorce předmětných sloučenin jsou uvedeny na **Obrázku 9**. [2, 47]



Obrázek 9. Přehled vybraných sloučenin přítomných v koptském a římském kmínu.

Důležitým aspektem extrakčního procesu je vhodné nastavení výkonu mikrovlnného zdroje, neboť určuje rychlost odpařování vody, respektive azeotropní směsi tvořené vodou a esenciálním olejem. Filly a kol. sledovali vliv výkonu mikrovlnného zdroje (50, 150, 250, 500 a 750 W) na rychlost extrakce a složení extrahovaných esenciálních olejů (analýza byla provedena pomocí GC-FID a GC-MS). Jako optimální byl stanoven výkon 150 W při použití 150 g čerstvé rostlinné matrice (rozmarýn, obsah vlhkosti 70 %). [45, 48]

Dalším důležitým faktorem je vlhkost rostlinného materiálu. Obecně lze říci, že čím více vody rostlinný materiál obsahuje, tím je SFME účinnější. Jelikož je v čerstvém rostlinném materiálu dostatek vody, esenciální olej se může odpařovat díky ohřevu vody *in situ*, která může absorbovat mikrovlny. Čerstvý rostlinný materiál se však neshodně uchovává a mnoho druhů koření či bylin se před skladováním a použitím suší. V takovémto rostlinném materiálu je pak příliš málo vody, která by mohla energii mikrovln absorbovat a esenciální olej tedy nelze konvenčním způsobem SFME extrahovat. [28, 49]

Manouchehri a kol. využili tuto metodu ve své práci zabývající se extrakcí esenciálního oleje z damažské růže pomocí tří různých extrakčních metod – SFME, OAHD a HD. Bylo zjištěno, že SFME a OAHD jsou oproti HD výrazně rychlejší a k dosažení teploty extrakce a odpaření prvních kapiček esenciálního oleje stačí kratší čas. Obě tyto metody rovněž poskytovaly vyšší výtěžek esenciálního oleje, přičemž výtěžek pomocí SFME je o 17 % vyšší než pomocí OAHD. Výše uvedené výhody SFME a OAHD jsou způsobeny skutečností, že při těchto metodách dohází k efektivnějšímu a rychlejšímu ohřevu extrakční směsi, zejména pak při SFME. [42].

2.2.3 Mikrovlnami asistovaná hydrodestilace

Mikrovlnami asistovaná hydrodestilace (*Microwave-Assisted Hydrodistillation*, MAHD) využívá dielektrický ohřev mikrovln, v důsledku čehož dochází ke zkrácení doby extrakce, snadnějšímu zpracování a manipulaci a k vyšší čistotě získaných extraktů. Jak již z názvu vyplývá, jedná se o metodu, která jako rozpouštědlo využívá vodu.

Jeyaratnam a kol. využili tuto metodu ve své práci, která se zabývala extrakcí a analýzou esenciálního oleje získaného z čínské skořice (*Cinnamomum cassia*). Pro extrakci esenciálního oleje byla kromě MAHD využita také extrakce pomocí hydrodestilace. Bylo zjištěno, že esenciální olej získaný pomocí MAHD obsahoval o 9 % více kyslíkatých sloučenin než olej získaný pomocí hydrodestilace. Analýza pomocí infračervené spektroskopie s Fourierovou transformací (FTIR) odhalila, že všechny sloučeniny, které byly přítomny v esenciálním oleji extrahovaném pomocí hydrodestilace byly také v oleji extrahovaném pomocí MAHD. Morfologická analýza skořicového prášku po extrakci pak odhalila, že extrakce pomocí MAHD je mnohem efektivnější, přičemž poškození způsobené destruktivním roztržením olejových žláz bylo výrazně menší. Dále bylo zjištěno, že v případě použití MAHD dochází k úspoře energie a tato metoda je rovněž šetrnější k životnímu prostředí (emise CO₂ byly v porovnání s extrakcí pomocí hydrodestilace o 59 % nižší). [50]

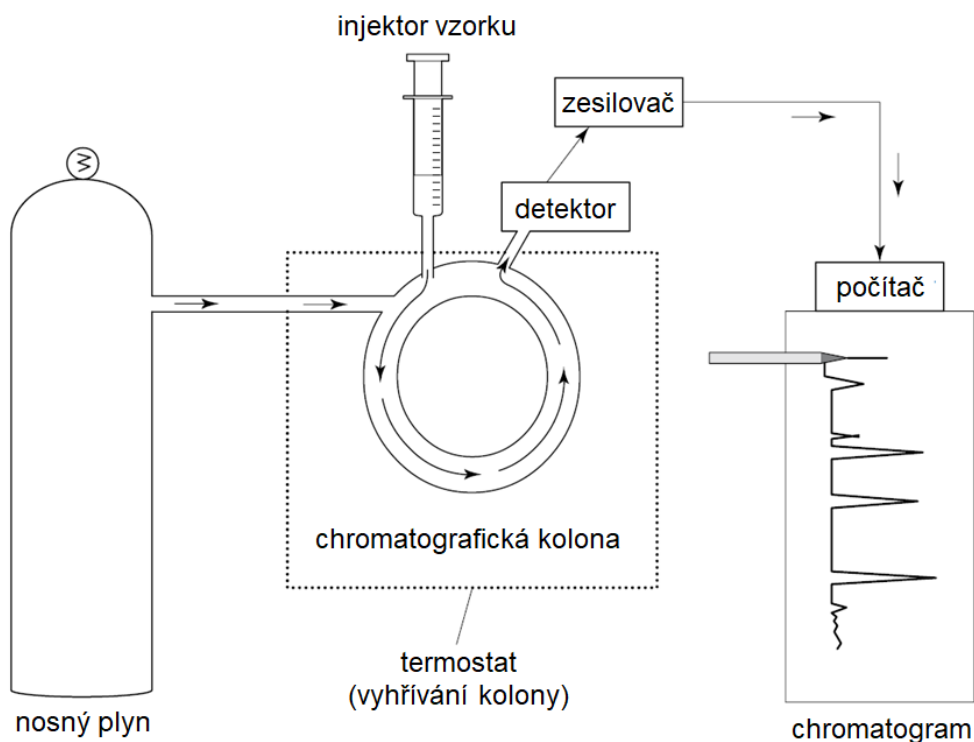
3 ANALYTICKÉ METODY VHODNÉ PRO STANOVENÍ TĚKAVÝCH SLOUČENIN

Při analýze esenciálních olejů se využívá řada analytických metod. Pro hodnocení esenciálních je důležité znát nejen jejich kvalitativní složení, ale také složení kvantitativní. Nejčastěji používanou technikou, která je vhodná pro analýzu těkavých sloučenin je plynová chromatografie (GC). Jedná se o metodu, která se výborně hodí pro detekci minoritních složek, zvláště pak je-li kombinována s hmotnostní spektrometrií (MS). Kombinace těchto technik pak bývá označována jako GC-MS. [1, 51]

3.1 Plynová chromatografie

Plynová chromatografie (*Gas Chromatography*, GC) představuje jednu z nejdůležitějších a nejpoužívanějších chromatografických metod. Pomocí plynové chromatografie je možné analyzovat nejen plyny, ale i látky pevné či kapalné, které je možné převést bez rozkladu do plynného stavu (do teploty 400 °C). Mobilní fáze tvořená nosným plynem prochází spolu s příslušným vzorkem, jenž byl převeden do plynné fáze, přes stacionární fázi, jež je umístěna v koloně. Zde dochází k separaci jednotlivých složek vzorku, přičemž rychlost separace závisí na jejich afinitě ke stacionární fázi. Čím menší je afinita složek ke stacionární fázi, tím rychleji se pohybují kolonou. Doba, za kterou daná složka projde kolonou se nazývá retenční čas. Nosný plyn je inertní, jeho účelem je pouze unášet složky vzorku kolonou, žádným způsobem však s nimi neinteraguje, stejně tak jako neinteraguje se stacionární fází. [51–54] Nejčastěji se jedná o N₂ či He, v některých případech se volí též H₂, Ar či CO₂. [55]

Analyzovaný vzorek může být ve skupenství plynném či kapalném, pro provedení analýzy je klíčová jeho těkavost. Dále také nesmí v průběhu separace docházet k jeho tepelné degradaci. Kapalné vzorky se nastříkují injekční mikrostříkačkou v objemu 0,1 až 20 µl přes těsnění ze silikonové gumy (septum) do vyhřívané dávkovací komory, jež je promývána mobilní fází. Teplota vyhřívání musí být nastavena tak, aby došlo k okamžitému odpaření vzorku. Zpravidla je používána teplota o 50 °C vyšší než teplota kolony. V případě použití kapilárních kolon se používá tzv. split (dělič), který slouží k odvedení nadbytečného množství vzorku mimo kolonu, aby nedošlo k její saturaci. [52, 53, 55, 56] Další možností dávkování je tepelná desorpce z vlákna použitého k mikroextrakci nebo ve spojení s technikou headspace. [53] Přístrojové vybavení, jehož části budou podrobněji probrány dále, je znázorněno na **Obrázku 10**.



Obrázek 10. Schematický náčrt plynového chromatografu. [51]

3.1.1 Typy chromatografických kolon

Náplňové kolony

Náplňové kolony jsou vyrobeny ze skla, nerezové oceli či jiného kovu a jsou naplněny porézním inertním nosičem (nejčastěji aluminosilikátem) o průměru částic 30–350 μm . Vnitřní průměr náplňových kolon se pohybuje kolem 2 až 4 mm, délka pak kolem 2 až 6 m. Jejich separační schopnost je obecně nižší, tzn. že maximální počet složek vzorků, které lze oddělit, se pohybuje kolem dvaceti. [52, 53]

Kapilární kolony

Kapilární kolony jsou tvořeny křemennou kapilárou, jejíž vnější povrch je pokrytý vrstvou ochranného polymeru (polyimidu). Vnitřní průměr kapilárních kolon se pohybuje kolem 50–350 μm , délka pak kolem 10 až 100 m. Na vnitřní stěně kapiláry je zakotvena (nanesena nebo chemicky navázána) netěkavá kapalina, která plní roli stacionární fáze. Kapilární kolony, jejichž stacionární fáze je navázána chemicky, se vyznačují vysokou separační schopností, díky které je možno separovat i více než sto složek vzorku. [52, 53]

3.1.2 Detektory používané v plynové chromatografii

Tepelně-vodivostní detektor

Tepelně-vodivostní detektor (*Thermal Conductivity Detector*, TCD), též nazývaný katharometr, představuje nejstarší používaný univerzální detektor. Tento detektor je schopen detekovat všechny látky, nevýhodou je však jeho menší citlivost. Princip tohoto detektoru je založen na změně odporu vlákna vlivem změny složení efluentu (mobilní fáze opouštějící kolonu). [52, 53]

Vlákno je vlivem průchodu elektrického proudu zahříváno na určitou teplotu. Pokud detektorem prochází čistý nosný plyn, jehož průtok je konstantní, je i teplota odporového vlákna konstantní. Pokud však dojde ke změně složení efluentu, změní se i jeho tepelná vodivost, v důsledku čehož dojde rovněž ke změně teploty a elektrického odporu vlákna. Elektrický odpor tohoto vlákna je poté porovnán s elektrickým odporem vlákna, jež je omýváno čistou mobilní fází. Pro TCD je nejvhodnějším takový nosný plyn, jehož tepelná vodivost je největší. Z těchto důvodů se nejčastěji využívá H₂ či He. [53, 55]

Plamenově-ionizační detektor

Plamenově ionizační detektor (*Flame Ionization Detector*, FID) patří v současnosti mezi nejčastěji používané detektory, ačkoliv na rozdíl od TCD není detektorem naprosto univerzálním. Přesto je tento detektor schopen detekovat většinu organických látek, citlivý je pak zejména k uhlovodíkům. Anorganické látky včetně vody a CO₂ odezvu neposkytují. Tento typ detektoru bývá používán např. v zařízeních kontroly kvality ovzduší. [52, 53, 55, 56] Jeho principem je spalování a hydrogenace efluentu ve vodíkovém plameni za vzniku iontů, elektronů a molekulových fragmentů. Takto vzniklé elektricky nabitě částice jsou schopny vést elektrický proud mezi dvěma elektrodami, na které bylo vloženo stejnosměrné napětí. [53]

Detektor elektronového záchytu

Detektor elektronového záchytu (*Electron Capture Detector*, ECD) patří mezi selektivní a vysoce citlivé detektory, zvláště pak pro látky obsahující halogeny a nitroskupiny. Díky tomu se ECD výborně hodí pro analýzu stopových množství halogen obsahujících látek. Může se jednat např. o rezidua pesticidů (DDT, PCB, dioxin) v půdě, vodě či potravinách. Velmi malou odezvu naopak poskytují aminy, alkoholy a uhlovodíky. [52, 54]

Plamenový fotometrický detektor

Plamenový fotometrický detektor (*Flame Photometric Detector*, FPD) využívá měření intenzity emise charakteristického záření při hoření některých látek ve vodíkovém plameni. Tento typ detektoru je citlivý zejména na látky, které ve své struktuře obsahují atomy síry či fosforu, proto je tedy vhodným detektorem pro měření jejich stopových množství v komplexních maticích vzorků životního prostředí (pesticidy, PCB), zpravidla pak v kombinaci s univerzálním detektorem, jako je např. FID. [53, 56]

Hmotnostně-spektrometrický detektor

Hmotnostně-spektrometrický detektor (*Mass Spectrometric Detector*, MS) je nejčastěji používaným detektorem používaným v kombinaci s plynovou chromatografií. Kromě registrace zón látek eluovaných z kolony umožňuje tento detektor také jejich identifikaci na základě zaznamenaného hmotnostního spektra. Využívá se pro analýzy komplexních matic a díky řadě jeho detekčních variant vede k vysoké selektivitě a snížení zbytkové nejistoty identifikace. [56]

3.1.3 Headspace

Headspace představuje techniku analýzy nasycených par, spočívající v nástřiku plynné fáze, jež se nachází nad příslušným analytem, kterým může být jak kapalina, tak pevná látka. Tato technika je vhodná pro těkavé látky, které jsou obsaženy v netěkavé matici, a to jak kapalné či pevné. [53] První možností, jak se dá tato technika provádět, je tzv. statický headspace. Při této technice je uzavíratelná vialka zčásti naplněna analyzovaným vzorkem a po ustanovení rovnováhy je plynná fáze nacházející se nad příslušným vzorkem podrobena analýze. [25, 53] Druhou možností je tzv. dynamický headspace. Ke vzorku umístěnému ve vialce je po stanovenou dobu konstantní rychlostí přiváděn inertní plyn. Těkavé sloučeniny jsou odváděny do adsorpční pasti, kde dochází k jejich koncentraci. Následně je past rychle zahřáta a desorbované analyty jsou přeneseny na chromatografickou kolonu. [25]

3.2 Hmotnostní spektrometrie

Hmotnostní spektrometrie (*Mass Spectrometry*, MS) představuje fyzikálně-chemickou metodu sloužící k určování hmotností atomů, molekul a jejich částí po jejich převedení na kladné nebo záporné ionty. Principem MS je rozdělování iontů v plynné fázi podle jejich poměru hmotnosti ku náboji a následná analýza jejich četnosti. Poměr hmotnosti ku náboji (m/z) představuje bezrozměrný poměr, kde m je hmotnostní číslo (nukleonové číslo) a z je

nábojové číslo, které je poměrem náboje iontu a elementárního náboje. V MS je zvykem vyjadřovat hmotnost iontu pomocí unifikované atomové hmotnostní jednotky, jejíž jednotka u odpovídá hmotnosti jedné dvanáctiny nuklidu ^{12}C . [53, 56]

Tato analytická metoda poskytuje jak kvalitativní, tak kvantitativní informace o studovaném analytu, přičemž při kvantitativní analýze je možné detekovat i stopová (méně než 10^{-6} g) a ultra stopová množství (méně než 10^{-15} g). Analyzovat lze látky anorganické i organické. [53]

Hmotnostní spektrometr je tvořen třemi hlavními částmi, kterými jsou:

- ▶ iontový zdroj,
- ▶ separátor iontů,
- ▶ detektor.

Základním předpokladem úspěšné separace iontů je vytvoření vysokého vakua, díky čemuž nedochází k vzájemným kolizím jednotlivých částic, a tedy ani k výměně energie mezi nimi. Toto je nezbytnou podmínkou umožňující jejich analýzu. Vysoké vakuum musí být vytvořeno v separátoru iontů, ale vstup vzorku, popř. ionizace se mohou odehrávat i za atmosférického tlaku, v závislosti na typu použité ionizace. [53]

3.2.1 Iontový zdroj

V této části hmotnostního spektrometru dochází k ionizaci neutrální molekuly analytu, přičemž produkt ionizace se může dále rozpadat na tzv. fragmentové ionty. Přítomnost a četnost těchto fragmentových iontů závisí na použitém způsobu ionizace. Podle úrovně fragmentace (respektive podle množství dodané energie) se obvykle ionizační techniky dělí na tzv. měkké a tvrdé. Při měkkých ionizačních technikách je energetický přebytek dodaný molekule nízký, pravděpodobnost fragmentace je tedy rovněž nízká. Při tvrdých ionizačních technikách je energetický přebytek již dostatečně vysoký, v důsledku čehož může docházet k výraznější fragmentaci primárně vzniklého iontu. Z toho vyplývá, že volbou vhodné ionizační techniky lze fragmentaci výrazně potlačit, díky čemuž pak dochází ke zvýšení intenzity signálu molekulového iontu v hmotnostním spektru. [53, 55, 56] Ionizačních technik je popsáno nepřehledné množství, níže bude stručně pojednáno jen o některých z nich.

Elektronová ionizace

Elektronová ionizace (*Electron Ionization*, EI) se řadí mezi tvrdé ionizační techniky. V současnosti se jedná o nejběžnější a nejlépe propracovaný způsob ionizace, který se běžně používá u kombinace GC-MS. Při tomto typu ionizace jsou molekuly, které jsou v plynném stavu, ionizovány pomocí interakce s proudem vysokoenergetických elektronů. Energie, která je molekule předána, vede primárně ke ztrátě elektronu a vzniku molekulárního ion-radikálu. Další část předané energie pak vede k rozpadu (fragmentaci) celku na příslušné fragmenty. Na základě zaznamenaných fragmentových iontů pak lze usuzovat na strukturu původní molekuly analytu. [53, 56]

Chemická ionizace

Chemická ionizace (*Chemical Ionization*, CI) se řadí mezi běžně používané měkké ionizační techniky a spolu s EI se běžně využívá u kombinace GC-MS. Primárním zdrojem energie je, stejně jako v případě EI, proud urychlených elektronů. Energie těchto elektronů však není přenášena na analyt přímo, ale prostřednictvím reakčního média. Do iontového zdroje je tedy kromě molekul analytu, které jsou v plynném stavu, přiváděn také tzv. reakční plyn. Příkladem takového plynu může být methan, isobutan či amoniak. Množství tohoto reakčního plynu je mnohonásobně větší než množství analytu, v důsledku čehož dochází vlivem proudu vysokoenergetických elektronů k jeho přednostní ionizaci. [53, 55, 56]

Ionizace laserem za účasti matrice

Ionizace laserem za účasti matrice (*Matrix-Assisted Laser Desorption Ionization*, MALDI) využívá pomocnou látku (matrici), s níž je analyt smísen. Tato matrice slouží k přenosu energie laserového záření na molekuly analytu. V důsledku toho pak dochází u molekul analytu k jejich desorpci a ionizaci. K excitaci jsou využívány pulzní lasery, které emitují v UV (nejčastěji) nebo IČ oblasti. Ve spojení s průletovým hmotnostním analyzátozem se tato ionizační technika úspěšně využívá např. pro analýzu biopolymerů. [53, 55]

Ionizace elektrosprejem

Ionizace elektrosprejem (*Electrospray Ionization*, ESI) je v současnosti nejčastěji používaným iontovým zdrojem pro kombinaci HPLC-MS. Tato ionizační technika je prováděna za atmosférického tlaku. ESI nepatří mezi univerzální ionizační techniky, neboť je vhodná pouze pro ionizaci středně polárních až polárních látek. Velkou výhodou je však skutečnost, že umožňuje ionizovat nejen látky nízkomolekulární, ale i vysokomolekulární (včetně proteinů). [53, 55, 56] Charakteristickým znakem ESI je vznik iontů s vysokým

nábojem. V závislosti na polaritě napětí vloženého na protielektrodu mohou vznikat kladně i záporně nabitě ionty. [56]

3.2.2 Hmotnostní analyzátory

Hmotnostní analyzátor umožňuje rozdělení směsi iontů o různých poměrech m/z , jež je produkována v iontovém zdroji. [56]

Kvadrupólový analyzátor

Kvadrupólový analyzátor je složen ze čtyř kovových tyčí kruhového či hyperbolického průřezu, na které je přiváděno stejnosměrné a vysokofrekvenční střídavé napětí. Polarita tyčí je odlišná – tyče umístěné naproti sobě mají polaritu stejnou, sousední tyče opačnou. [53] Ionty, které vlétnou do prostoru mezi tyčemi, se dostanou do střídavého elektrického pole, kde začnou oscilovat. Při vhodně zvolených hodnotách střídavého a stejnosměrného napětí a jejich vhodném poměru projdou kvadrupólovým analyzátozem do detektoru jen ionty o určité hodnotě m/z . Ostatní ionty se zachytí na stěnách přístroje či na tyčích tvořících kvadrupól. Postupnou změnou napětí vkládaných na kvadrupólové tyče (skenováním) je možno nechat kvadrupólem projít ionty ve zvoleném intervalu hodnot m/z . [56]

Výhodou kvadrupólového analyzátoru je rychlost proměření hmotnostního spektra, díky čemuž je analyzátozem s výhodou využíváným při hmotnostní spektrometrii s plynovou (GC-MS) či vysokoúčinnou kapalinou chromatografií (HPLC-MS). [53, 55]

Iontová past

Iontová past (*Ion Trap*) je trojrozměrnou obdobou kvadrupólového analyzátoru. Tento typ analyzátoru je tvořen vstupní a výstupní kruhovou elektrodou hyperbolického průřezu a jednou prstencovou středovou elektrodou. Vstupní a výstupní elektroda jsou uzemněny, na prstencovou středovou elektrodu je přiváděno vysokofrekvenční napětí s proměnnou amplitudou. Skrz vstupní elektrodu jsou do iontové pasti přivedeny molekuly analyzované látky. Následuje fáze akumulace, během které je na prstencovou elektrodu přiváděno střídavé napětí o malé amplitudě. Následným zvyšováním amplitudy dochází k postupnému vypuzení iontů skrz otvor výstupní elektrody do detektoru. Značnou výhodou tohoto typu analyzátoru představuje možnost opakované izolace a fragmentace požadovaného iontu (tzv. tandemová hmotnostní spektrometrie). [53, 56]

Průletový analyzátor

Průletový analyzátor (*Time of Flight*, TOF) představuje nejjednodušší typ hmotnostního analyzátoru, který je tvořen pouhou evakuovanou trubicí. K rozdělení iontů podle poměru jejich m/z dochází na základě jejich odlišné doby letu z iontového zdroje do detektoru. Ionty s odlišným m/z mají při stejné kinetické energii rozdílnou rychlost. Těžší ion se pohybuje pomaleji a do detektoru tak dorazí později. Tento typ analyzátoru vyžaduje pulzní dávkování iontů, což jej předurčuje k výhodnému spojení s ionizací MALDI, která používá pulzní lasery. Výhodou tohoto analyzátoru je rychlost měření a dále rovněž prakticky neomezený hmotnostní dosah. [53, 55, 56]

3.2.3 Detektory

Detektor, na nějž je směřován proud iontů vycházejících z hmotnostního analyzátoru, poskytuje analogový signál úměrný počtu těchto iontů. Následně je signál digitalizován, převeden do počítače a poté vhodným programovým vybavením zpracován do formy hmotnostních spekter. [53, 56]

Detektory používané v hmotnostní spektrometrii lze v základu rozdělit do dvou kategorií: detektory pro přímá měření a násobičové detektory. Detektory pro přímá měření detegují elektrický proud vznikající přímým dopadem iontů, násobičové detektory pak využívají efektu násobení elektronů, které vznikají po dopadu iontů. Tyto detektory poskytují měřitelné signály dokonce pro jednotlivé ionty. Výběr typu detektoru závisí na dané aplikaci. Detektory pro přímá měření jsou obecně součástí specializovaných zakázkových systémů, detektory násobičové jsou pak standardní součástí komerční instrumentace, včetně kombinovaných systémů GC-MS a LC-MS. [56]

II. PRAKTICKÁ ČÁST

4 METODIKA

4.1 Materiál

Pro účely extrakcí těkavých látek ze skořice a hřebíčku byly zakoupeny vzorky příslušných druhů koření dvou značek, jež jsou komerčně dostupné na českém trhu (**Obrázek 11**). V **Tabulce 2** jsou pak uvedeny detailnější informace o použitých rostlinných maticích.

Tabulka 2. Přehled použitých rostlinných matic.

Číslo vzorku	Značka	Původ koření a jeho cena	
		Hřebíček	Skořice
1	Vitana	neuvedeno 2 550 Kč/kg	neuvedeno 1 690 Kč/kg
2	Koření od Antonína	Komorské ostrovy 1 280 Kč/kg	Indonésie 1 200 Kč/kg

Vzorek označený číslem 1 je od značky Vitana a byl zakoupen v obchodním řetězci Kaufland. Pro účely extrakcí bylo od každého druhu koření zakoupeno několik balíčků, které obsahovaly 10 g (skořice celá) či 18 g (hřebíček celý) příslušné matrice. Ani u jednoho z koření nebyla uvedena země původu, stejně tak nebyl nikde uveden název stromu, z nějž bylo koření získáno.

Vzorek označený číslem 2 je od značky Koření od Antonína a byl zakoupen na e-shopu www.koreni.cz. Pro účely extrakcí byl od každého druhu koření zakoupen 1 gastrostrosáček, který obsahoval 200 g příslušného koření. Námí zakoupená skořice byla získána ze stromu *Cinnamomum burmanii* (skořicovník indonéský) a pochází z Indonésie. Zakoupený hřebíček byl získán ze stromu *Eugenia caryophyllata* a pochází z Komorských ostrovů.

Všechny vzorky, jež byly pro účely extrakcí použity, byly zakoupeny ve formě celé, nikoliv mleté. Podrcení příslušného vzorku bylo vždy provedeno až těsně před extrakcí.



Obrázek 11. Zakoupené vzorky koření.

4.2 Popis extrakčních metod

4.2.1 Destilace vodní parou

Do destilační baňky o objemu 500 cm³ bylo naváženo 10 g (s přesností na 0,1 g) příslušného vzorku koření, které bylo těsně před extrakcí nadrceno v třecí misce. Poté bylo do baňky přidáno 250 cm³ destilované vody. Tato směs byla zahřívána na topném hníždě a byla probublávána vodní parou, která byla generována ve vyvíječi vodní páry a pro jejíž přenos byla použita silikonová hadice. Destilace byla prováděna po dobu 1 hodiny od získání první kapky destilátu. Po ukončení destilace byl získaný kapalný podíl extrahován 3×15 cm³ organického rozpouštědla (dichlormethan či hexan). Spojené organické podíly byly následně vysušeny nad síranem sodným (min. 6 hodin) a rozpouštědlo bylo odpařeno na vakuové odparce. Takto získaný extrakt byl až do analýzy uchováván ve skleněné vialce pod ochrannou dusíkovou atmosférou při teplotě 4 °C na tmavém místě.

4.2.2 Simultánní destilace-extrakce

Simultánní destilace-extrakce byla prováděna v Likensonově-Nickersonově aparatuře. Do destilační baňky o objemu 500 cm³ bylo naváženo 10 g (s přesností na 0,1 g) příslušného vzorku koření, které bylo těsně před extrakcí nadrceno v třecí misce. Poté bylo do baňky přidáno 250 cm³ destilované vody. Druhá destilační baňka o objemu 500 cm³ byla naplněna 100 cm³ organického rozpouštědla (dichlormethan či hexan). Destilační baňka s vodou a kořením byla zahřívána na topném hnízdě, destilační baňka s organickým rozpouštědlem na olejové lázni. Extrakce byla prováděna po dobu 1 hodiny. Získaný organický podíl byl následně vysušen nad síranem sodným (min. 6 hodin) a rozpouštědlo bylo odpařeno na vakuové odparce. Takto získaný extrakt byl až do analýzy uchováván ve skleněné vialce pod ochrannou dusíkovou atmosférou při teplotě 4 °C na tmavém místě.

4.3 Analýza těkavých látek metodou GC-MS

4.3.1 Popis instrumentace a parametrů GC-MS analýz

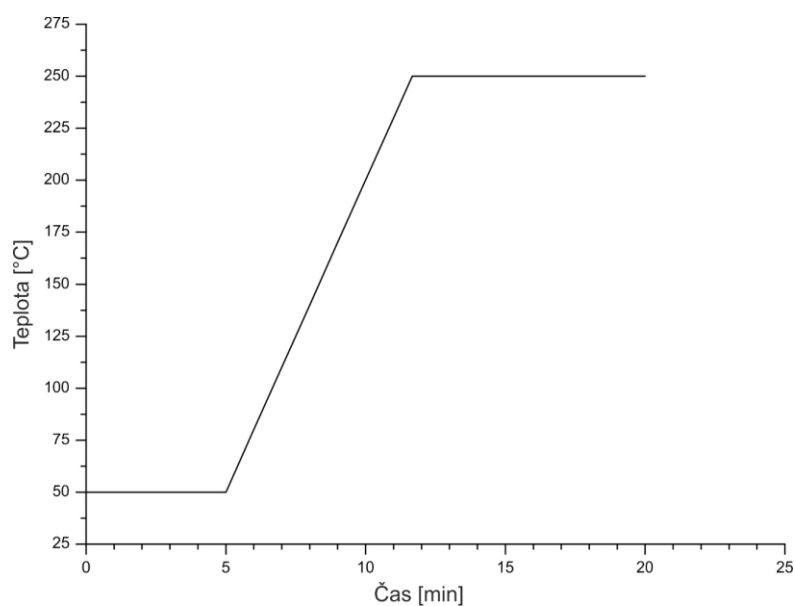
Vyextrahované esenciální oleje byly podrobeny GC-MS analýze, která byla prováděna na plynovém chromatografu GC-2010 (Shimadzu) spojeným s hmotnostním spektrometrem GCMS-QP2010 (Shimadzu) vybaveným kvadrupólovým hmotnostním analyzátozem. Nejdůležitější parametry měření jsou uvedeny níže.

Vybrané parametry pro GC

Chromatografická kolona:	Equity™-1 (30 m × 0,32 mm × 1,0 μm; Supelco)
Teplotní program:	50 °C/5 min; 30 °C/min zvýšení na 250 °C/8,33 min (Obrázek 12)
Tlak na koloně:	36,3 kPa
Nosný plyn:	helium
Průtok nosného plynu:	46,9 ml/min
Injekční mód:	splitovací
Splitovací poměr:	20,0
Teplota nástřiku:	250 °C

Vybrané parametry pro MS

Skenovací mód:	pozitivní
Ionizace:	ionizace elektrony
Iontový zdroj:	70 eV, 200 °C
Interface:	250 °C
Skenovací rychlost:	10 000 $m/z \cdot s^{-1}$
Počátek analýzy:	3,01 min
Konec analýzy:	19,99 min
Rozsah m/z :	40–300



Obrázek 12. Teplotní program na chromatografické koloně během analýzy GC-MS.

Pro samotná měření a rovněž i následné vyhodnocování výsledků jednotlivých analýz byl používán software GC-MS Solution typu Real time analysis a Postrun analysis. Pro účely kvantifikace byla plocha všech píků vztažena k ploše píku interního standardu (kapitola 4.3.2). Pro určování struktury jednotlivých látek byla použita integrovaná knihovna hmotnostních spekter NIST 02.

4.3.2 Příprava interního standardu

Jako interní standard (IS) byl zvolen benzofenon, který byl zakoupen z komerčních zdrojů (Fluka). Na základě provedené analýzy GC-MS byla ověřena jeho čistota a byl používán bez jakýchkoliv dalších úprav. Pro potřebu GC-MS analýz byl připraven zásobní roztok IS o koncentraci $7,5 \text{ mg}\cdot\text{ml}^{-1}$, kdy bylo do 10 cm^3 methanolu v LC-MS kvalitě přidáno 75 mg IS. Ze zásobního roztoku IS bylo vždy bezprostředně před samotnou GC-MS analýzou odebráno takové množství, aby výsledná koncentrace IS v analyzovaném extraktu činila $50 \text{ }\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$.

4.3.3 Příprava vzorků pro GC-MS

Esenciální oleje, vyextrahované z příslušných vzorků koření, byly po odpaření rozpouštědla na vakuové odparce uchovávány ve skleněných vialkách pod ochrannou dusíkovou atmosférou při teplotě $4 \text{ }^\circ\text{C}$ na tmavém místě. Následně byly extrakty podrobeny GC-MS analýze, a to v co nejkratším možném čase, nejpozději však do 48 hodin od jejich získání.

Jednotlivé vzorky byly připravovány do skleněných vialek o objemu $1,5 \text{ cm}^3$ tak, aby koncentrace esenciálního oleje činila $0,25 \text{ }\mu\text{l}$ oleje na $1 \text{ } 500 \text{ }\mu\text{l}$ rozpouštědla. Jako rozpouštědlo byl použit methanol v LC-MS kvalitě.

4.4 Analýza těkavých látek metodou HS-GC-MS

4.4.1 Popis instrumentace a parametrů HS-GC-MS analýz

Příslušné vzorky koření byly podrobeny HS-GC-MS analýze, která byla stejně jako analýza GC-MS prováděna na plynovém chromatografu GC-2010 (Shimadzu) spojeným s hmotnostním spektrometrem GCMS-QP2010 (Shimadzu) vybaveným kvadrupólovým hmotnostním analyzátozem. Parametry měření byly stejné jako v případě GC-MS analýz.

4.4.2 Příprava vzorků pro HS-GC-MS

Těsně před provedením analýzy byly příslušné vzorky koření podrceny v třecí misce. Následně bylo do skleněných vialek o objemu 20 cm^3 naváženo $0,5 \text{ g}$ podrceného vzorku a vialky byly uzavřeny magnetickým víčkem opatřeným septem. Před analýzou byly takto připravené vialky vyhřívány při teplotě $50 \text{ }^\circ\text{C}$ po dobu 10 minut ve vyhřívané komoře, která je součástí autosampleru (AOC 5000, Shimadzu).

5 VÝSLEDKY A DISKUZE

5.1 Extrakce těkavých látek

Pro extrakci těkavých látek, přítomných v hřebíčku a skořici byly od každého druhu koření použity dva vzorky. Každý z těchto vzorků byl extrahován pomocí dvou různých extrakčních metod, a sice pomocí destilace vodní parou (SD) a simultánní destilace-extrakce (SDE). Každá z těchto extrakčních metod byla provedena se dvěma různými typy organických rozpouštědel, a sice s dichlormethanem (DCM) a hexanem (HX), přičemž každý typ extrakce v kombinaci s příslušným organickým rozpouštědlem byl, s cílem ověřit opakovatelnost dané extrakční metody, proveden dvakrát, v případě nutnosti pak třikrát. Třetí extrakce byla prováděna zpravidla tehdy, lišila-li se zásadním způsobem v získaných chromatogramech intenzita některých píků. Pokud se intenzita daného píku pohybovala v rozmezí těchto intenzit, byly brány v potaz výsledky všech tří extrakcí.

Rostlinné matrice byly extrahovány v pořadí hřebíček značky Vitana, hřebíček značky Koření od Antonína, skořice značky Vitana a skořice značky Koření od Antonína. Destilační aparatury byly po každé provedené extrakci vždy promyty destilovanou vodou, tento způsob čištění se však ukázal jako nedostatečný, především pak v případě Likensonovy-Nickersonovy aparatury, a to s ohledem na její konstrukční složitost. Toto se pak markantně projevilo při extrakci a následné analýze prvního vzorku skořice značky Vitana. Ve spektru byly pozorovány píky těkavých látek, jejichž vysoká intenzita je typická právě pro hřebíček, nikoliv však pro skořici. Konkrétně se jednalo např. o eugenol, jehož intenzita se v první extrakci pohybovala kolem 42 %, zatímco při druhé extrakci již jeho intenzita činila pouze 2,4 %. Z těchto důvodů bylo přistoupeno k provedení třetí extrakce, díky níž bylo potvrzeno, že vysokou intenzitu eugenolu v první extrakci můžeme zcela jistě přisuzovat kontaminaci hřebíčkovou silicí, neboť intenzita píku odpovídajícího eugenolu se pohybovala kolem 1,3 %. Celkově bylo v rámci experimentální části této diplomové práce vyextrahováno 40 vzorků esenciálních olejů, přičemž do výsledků byla zahrnuta data získaná GC-MS analýzami 35 z nich.

5.1.1 Destilace vodní parou

Pro destilaci vodní parou bývá běžně používána aparatura sestávající z vyvíječe vodních par, přičemž pro přenos těchto par do destilační baňky lze využít různá média, jako je např. silikonová či polyethylenová hadice nebo měděná trubka. Právě tyto tři uvedené možnosti

přenosu vodní páry využila při optimalizaci extrakčního procesu Pavla Mirošová, jejíž diplomová práce pojednává o extrakci a GC-MS analýze těkavých látek přítomných ve vybraných typech nefermentovaných čajů. Cílem provedených experimentů bylo stanovit, který z uvedených nosičů bude pro vedení vodní páry nejvhodnější, především pak s ohledem na koncentraci kontaminujících látek. Provedenými experimenty bylo zjištěno, že nejvyšší koncentraci znečišťujících látek vykazovala hadice polyethylenová, následně hadice silikonová, nejméně pak měděná trubka. Na základě těchto experimentů byla jako nejvhodnější médium označena měděná trubka, která byla následně využita během experimentů s reálnými vzorky. Ve slepých pokusech bylo celkem identifikováno 12 shodných kontaminantů (převážně vyšší uhlovodíky, silikáty a ftaláty), přičemž nejvýznamnějším a zároveň nejintenzivnějším z nich byl 2,4-di-*terc*-butylfenol. [57]

V rámci této diplomové práce byla pro přenos vodních par do destilační baňky zvolena silikonová hadice. Po vydestilování prvního reálného vzorku byl tento podroben GC-MS analýze, díky níž bylo zjištěno, že se v získaném extraktu nevyskytují žádné kontaminující látky, o nichž bylo pojednáno ve výše citované diplomové práci. Na základě této analýzy byla silikonová hadice označena za médium vhodné pro přenos vodních par a byla využita i při dalších destilacích.

Důvodem absence kontaminujících látek ve vyextrahovaných esenciálních olejích by mohly být odlišné parametry extrakčního procesu, konkrétně doba, po kterou byla destilace prováděna. V rámci výše citované diplomové práce byla destilace prováděna po dobu 2 hodin, nebo do okamžiku získání 500 cm³ kapalného podílu v předloze (vždy >1,5 hodiny). V rámci této práce pak byla destilace prováděna pouze po dobu 1 hodiny. Tento rozdíl v délce extrakční doby mohl zapříčinit, že při delší době extrakce dochází k markantnějšímu uvolňování kontaminujících látek.

Po ukončení destilace byl získaný kapalný podíl extrahován 3×15 cm³ příslušného organického rozpouštědla. Spojené organické podíly byly následně vysušeny nad síranem sodným (min. 6 hodin) a rozpouštědlo bylo odpařeno na vakuové odparce. Takto získaný extrakt byl až do analýzy uchováván ve skleněné vialce pod ochrannou dusíkovou atmosférou při teplotě 4 °C na tmavém místě. Extrakty byly podrobeny GC-MS analýze v co nejkratším možném čase, nejpozději však do 48 hodin od jejich získání.

5.1.2 Simultánní destilace-extrakce

Pro simultánní destilaci-extrakci byla použita Likensonova-Nickersonova aparatura, o níž bylo pojednáno v rešeršní části této práce (viz kapitola 2.1.5). V této aparatuře dochází ke kondenzaci par těkavých látek společně s parami extrakčního rozpouštědla, v důsledku čehož dochází k izolaci a koncentraci extrahovaných složek v jednom kroku. Pokud byl jako extrakční rozpouštědlo použit dichlormethan, jehož hustota je vyšší než hustota vody, byla varná baňka s tímto rozpouštědlem připojena k pravému rameni aparatury. Pokud byl jako extrakční rozpouštědlo použit hexan, jehož hustota je nižší než hustota voda, byla varná baňka hexan obsahující připojena k levému rameni aparatury.

Vzhledem k odlišnému principu této metody již nebylo nutné provádět po ukončení extrakčního procesu extrakci kapalného podílu organickým rozpouštědlem, ale organický podíl byl po ukončení extrakce přímo jímán do Erlenmayerovy baňky. Takto získaný organický podíl byl následně vysušen nad síranem sodným (minimálně po dobu 6 hodin) a rozpouštědlo bylo následně odpařeno na vakuové odparce. Takto získaný extrakt byl až do analýzy uchováván ve skleněné vialce pod ochrannou dusíkovou atmosférou při teplotě 4 °C na tmavém místě. Extrakty byly podrobeny GC-MS analýze v co nejkratším možném čase, nejpозději však do 48 hodin od jejich získání.

5.2 Analýza těkavých látek metodou GC-MS


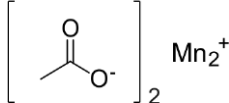







Obsah těkavých látek v extrahovaných esenciálních olejích byl studován metodou GC-MS. Každý vzorek, jenž byl pro GC-MS analýzu připraven, byl pro potvrzení opakovatelnosti metody proměřen duplicitně. Zjištěná experimentální chyba byla prakticky ve všech případech menší než 5 %, což je v souladu s limitem určujícím opakovatelnost analýzy. Výjimku tvořil pouze jeden vzorek, u něhož byla zjištěná experimentální chyba větší než 10 %. Tento vzorek již následně bohužel nebylo možné z důvodu mikrobiální kontaminace podrobit další analýze. Konkrétně se jednalo o olej extrahovaný ze skořice značky Vitana pomocí destilace vodní parou za použití hexanu jako extrakčního rozpouštědla.

Získané výsledky byly následně vyhodnoceny za použití dostupného softwarového vybavení (konkrétně programu s názvem Postrun Analysis). Díky tomuto programu bylo možné určit relativní zastoupení těkavých látek obsažených v jednotlivých vzorcích a navrhnout jejich strukturu (hmotnostní spektra vybraných těkavých sloučenin jsou uvedena v příloze **P I**). Na základě toho byl vytvořen seznam (**Tabulka 3**) všech těkavých sloučenin, jež se v analyzovaných extraktech vyskytovaly. Pro přehlednost byly do tabulky rovněž zařazeny

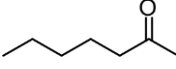
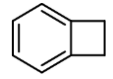
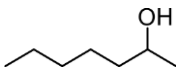

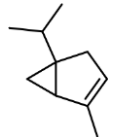
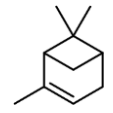
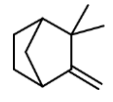
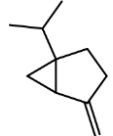
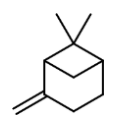
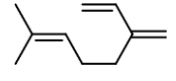
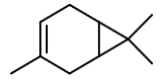
i látky, které byly identifikovány pouze pomocí HS-GC-MS analýzy, nikoliv však při analýze GC-MS. O analýze příslušných rostlinných matric pomocí HS-GC-MS analýzy bude blíže pojednáno v kapitole 5.3.

Jednotlivé těkavé látky jsou seřazeny vzestupně dle jejich unikátních retenčních časů (t_R). Součástí tabulky je rovněž i procentuální spolehlivost, s jakou byly dané látky pomocí knihovny hmotnostních spekter NIST 02 určeny. Ne všechny látky, které jsou uvedeny v následující tabulce, bylo možné s jistotou identifikovat (většinou se jednalo o látky, které byly určeny se spolehlivostí nižší jak 88 %, v tabulce označeny zkratkou „ND“). Pro snadnější orientaci případného čtenáře v textu je takto vytvořený seznam všech identifikovaných látek přiložen k diplomové práci ve formě tzv. „handoutu“.

Tabulka 3. Seznam všech identifikovaných těkavých látek.

Číslo látky	t_R [min]	Spolehlivost [%]	Název sloučeniny	Strukturní vzorec
1	1,30	95	ethanol	
2	1,41	95	octan manganatý	
3	1,60	97	methyl-acetát	
4	1,75	91	2-methylpropanal	
5	1,93	95	kyselina octová	
6	2,24	96	ethyl-acetát	
7	2,72	89	3-methylbutanal	
8	5,51	92	2,2-dimethoxybutan	
9	7,03	91	ethyl-2-methyl-butanoát	
10	7,41	81	ND	ND

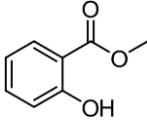
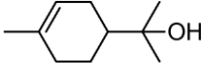
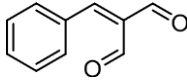
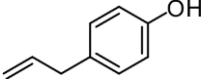
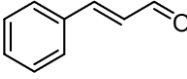
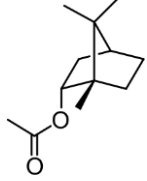
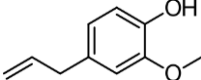
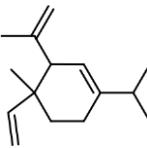
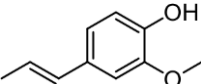
Tabulka 3. Seznam všech identifikovaných těkavých látek – pokračování.

Číslo látky	t_R [min]	Spolehlivost [%]	Název sloučeniny	Strukturní vzorec
11	7,46	94	heptan-2-on	
12	7,55	90	bicyklo[4.2.0]okta-1,3,5-trien	
13	7,63	93	heptan-2-ol	
14	8,06	95	tricyklen	
15	8,07	96	α -thujen	
16	8,15	98	α -pinen	
17	8,29	96	kamfen	
18	8,47	85	sabinen	
19	8,52	97	β -pinen	
20	8,56	93	β -myrcen	
21	8,68	93	vyšší uhlovodíky s jednoduchou vazbou	ND
22	8,71	76	ND	ND
23	8,79	89	δ -3-karen	

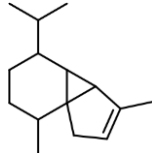
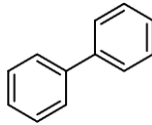
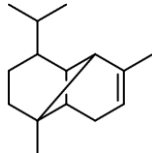
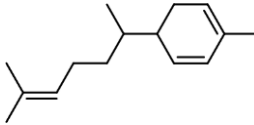
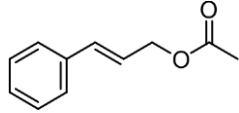
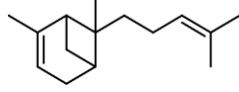
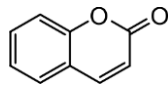
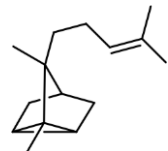
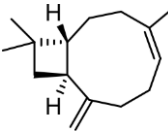
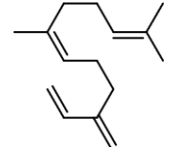
Tabulka 3. Seznam všech identifikovaných těkavých látek – pokračování.

Číslo látky	t_R [min]	Spolehlivost [%]	Název sloučeniny	Strukturní vzorec
24	8,81	94	α -terpinen	
25	8,83	93	<i>p</i> -cymen	
26	8,85	87	ND	ND
27	8,90	93	D-limonen	
28	8,91	94	eukalyptol	
29	8,97	91	<i>cis</i> - β -ocimen	
30	9,09	95	γ -terpinen	
31	9,20	92	nonan-2-on	
32	9,29	96	β -linalool	
33	9,30	95	α -terpinolen	
34	9,42	88	vyšší uhlovodíky s dvojnou vazbou	ND
35	9,63	90	hydrocinnamaldehyd	
36	9,72	76	ND	ND
37	9,80	88	borneol	
38	9,81	80	ND	ND
39	9,84	93	α -terpinen-4-ol	

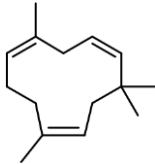
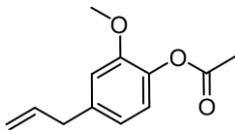
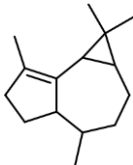
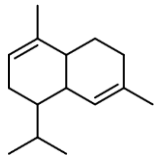
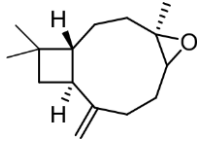
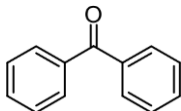
Tabulka 3. Seznam všech identifikovaných těkavých látek – pokračování.

Číslo látky	t _R [min]	Spolehlivost [%]	Název sloučeniny	Strukturní vzorec
40	9,89	94	methyl-salicylát	
41	9,90	95	α -terpineol	
42	9,98	93	benzylidenmalonaldehyd	
43	10,03	79	ND	ND
44	10,13	93	chavicol	
45	10,16	66	ND	ND
46	10,17	81	ND	ND
47	10,25	97	cinnamaldehyd	
48	10,38	79	ND	ND
49	10,43	95	bornyl-acetát	
50	10,62	78	ND	ND
51	10,71	95	eugenol	
52	10,78	93	δ -elemen	
53	10,82	73	ND	ND
54	10,83	79	isoeugenol	

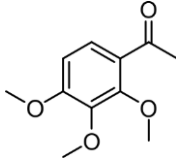
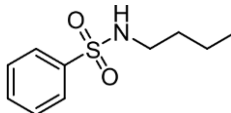
Tabulka 3. Seznam všech identifikovaných těkavých látek – pokračování.

Číslo látky	t_R [min]	Spolehlivost [%]	Název sloučeniny	Strukturní vzorec
55	10,85	93	α -kubeben	
56	10,91	91	bifenylyl	
57	10,92	68	ND	ND
58	11,00	94	kopaen	
59	11,05	90	α -zingiberen	
60	11,09	96	cinnamyl-acetát	
61	11,13	91	α -bergamoten	
62	11,14	89	kumarin	
63	11,23	85	α -santalen	
64	11,24	95	4,11,11-trimethyl-8-methylenbicyklo[7.2.0]undec-4-en	
65	11,35	88	β -cis-farnesen	

Tabulka 3. Seznam všech identifikovaných těkavých látek – pokračování.

Číslo látky	t_R [min]	Spolehlivost [%]	Název sloučeniny	Strukturní vzorec
66	11,39	95	α -karyofylen	
67	11,41	92	acetyლეუგენოლ	
68	11,44	85	ND	ND
69	11,45	82	ND	ND
70	11,51	90	α -gurjunen	
71	11,54	93	α -amorfen	
72	11,58	87	ND	ND
73	11,61	85	ND	ND
74	11,62	82	ND	ND
75	11,68	86	ND	ND
76	11,79	86	ND	ND
77	11,96	94	karyofylenoxid	
78	12,01	96	benzofenon (interní standard)	

Tabulka 3. Seznam všech identifikovaných těkavých látek – pokračování.

Číslo látky	t _R [min]	Spolehlivost [%]	Název sloučeniny	Strukturní vzorec
79	12,17	72	ND	ND
80	12,24	78	2,3,4-trimethoxyacetofenon	
81	12,29	75	ND	ND
82	12,66	89	N-butyl-benzensulfonamid	

5.2.1 Optimalizace měření GC-MS

Před započítím analýzy námi extrahovaných esenciálních olejů byla provedena série experimentů se dvěma komerčně dostupnými esenciálními oleji značky Nobilis Tilia, jež byly získány pomocí destilace vodní parou. Konkrétně se jednalo o olej extrahovaný ze skořicové kůry (*Cinnamomum zeylanicum*) a olej extrahovaný z hřebíčkových plodů (*Syzygium aromaticum*). Cílem těchto experimentů bylo optimalizovat přípravu vzorků pro následné GC-MS analýzy (především pak s důrazem na volbu vhodné koncentrace vzorku esenciálního oleje a volbu vhodného rozpouštědla) a rovněž také nalézt optimální parametry měření.

Optimalizace přípravy vzorků pro GC-MS

Série experimentů prováděných v rámci této diplomové práce byla zahájena proměřením komerčně dostupných esenciálních olejů značky Nobilis Tilia s cílem optimalizovat přípravu vzorků pro následné GC-MS analýzy našich reálných vzorků. Prvotním úkolem bylo nalezení takové koncentrace esenciálního oleje ve vzorku připraveném pro GC-MS analýzu, aby nedocházelo k saturaci detektoru. V rámci těchto experimentů byly vyzkoušeny celkem 3 různé koncentrace, konkrétně 1,0, 0,5 a 0,25 µl esenciálního oleje na 1500 µl rozpouštědla. Bylo zjištěno, že při koncentraci 1,0 a 0,5 µl na 1500 µl rozpouštědla dochází k saturaci detektoru, při koncentraci 0,25 µl na 1500 µl rozpouštědla již k saturaci detektoru nedocházelo. Tato koncentrace byla tedy shledána jako optimální a byla následně využívána při analýze extraktů reálných vzorků.

Dalším krokem pak bylo nalezení vhodného rozpouštědla, které bude pro přípravu vzorků pro GC-MS použito. Celkem byla vyzkoušena dvě rozpouštědla, jež se pro přípravu vzorků pro GC-MS běžně používají, a sice aceton a methanol. Jednotlivé vzorky byly připravovány tak, jak bylo popsáno v kapitole 4.3.3. V chromatogramu získaném analýzou skořicového esenciálního oleje značky Nobilis Tilia v acetonu byly detekovány celkem 4 kontaminující látky – cyklohexan, vinylcyklobutan, 4-hydroxypentan-2-on a 4-hydroxy-4-methylpentan-2-on (procentuální shoda s knihovnou hmotnostních spekter NIST 02 činila 94, 96, 96 a 97 %). Poslední z výše jmenovaných látek je produktem aldolové kondenzace dvou molekul acetonu, původ zbylých tří sloučenin se nepodařilo objasnit. V chromatogramu získaném analýzou stejného vzorku oleje v methanolu byla zjištěna přítomnost pouze jedné kontaminující látky, kterou byl 2,2-dimethoxybutan (procentuální shoda 92 %). Rovněž počet píků pozorovaných v získaných chromatogramech byl v případě methanolu vyšší, na základě čehož byl jako vhodnější rozpouštědlo zvolen právě methanol.

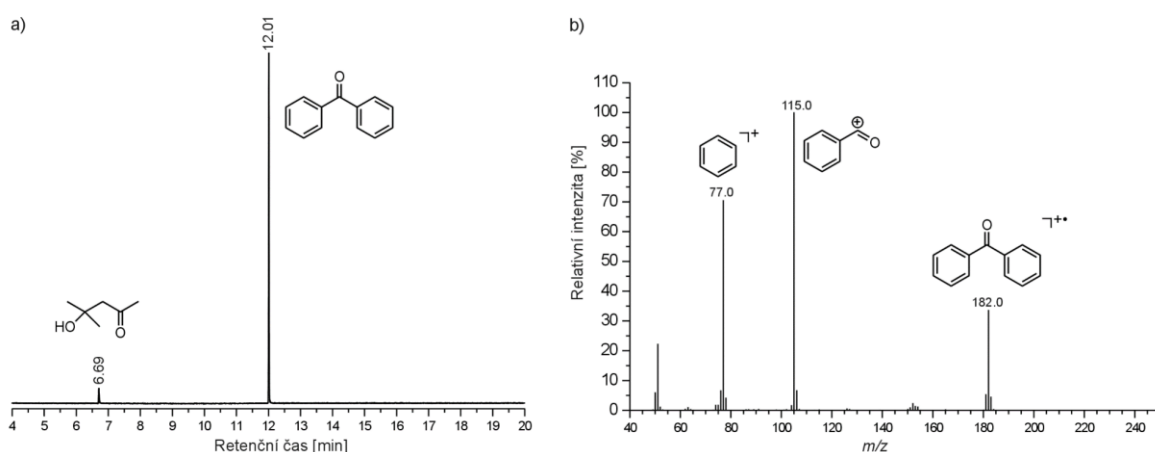
Optimalizace parametrů GC-MS analýz

Cílem série dalších prováděných experimentů byla optimalizace parametrů GC-MS analýz. V rámci těchto experimentů byly vyzkoušeny celkem tři různé metody měření, lišící se především svými teplotními programy a dobou analýzy. Jako první byla vyzkoušena metoda trvající 60 minut (teplotní program 100 °C/5 min; 30 °C/min zvýšení na 250 °C/50 min). Během této metody bylo zjištěno, že k eluci posledního píku dochází již po 16 minutách, na základě čehož bylo rozhodnuto o nevhodnosti této metody, a to zejména kvůli její zbytečné časové náročnosti. Následně byla vyzkoušena metoda trvající 34 minut (teplotní program (50 °C/0 min; 6 °C/min zvýšení na 120 °C/0 min; 15 °C/min zvýšení na 230 °C/15 min), kterou ve své práci zabývající se studiem silic rodu *Mentha* a *Eucalyptus* využila Aneta Jiráňová (v dané diplomové práci je metoda označena jako metoda A) [58] či Lucie Retová, jejíž práce pojednává o studiu levandulových olejů. [59] Kromě této metody byla rovněž vyzkoušena i metoda trvající 20 minut (teplotní program 50 °C/5 min; 30 °C/min zvýšení na 250 °C/8,33 min). Oběma metodami byly získány v podstatě totožné výsledky, se shodným počtem detekovaných látek (lišících se svými retenčními časy), nicméně z důvodu časové úspory byla jako vhodnější zvolena metoda trvající 20 minut, při které docházelo k eluci posledního píku ve 13. minutě.

5.2.2 Analýza vnitřního standardu

Pro účely kvantifikace jednotlivých těkavých látek byl jako vnitřní standard zvolen benzofenon, který není přirozenou součástí analyzovaných extraktů. Pro potřeby této práce byl použit benzofenon v analytické kvalitě, jenž byl zakoupen z komerčních zdrojů (Fluka). Čistota interního standardu byla ověřena pomocí GC-MS. Důležitým údajem byl také jeho zjištěný retenční čas, který za daných podmínek měření odpovídal hodnotě 12,01 minuty (**Obrázek 13a**). Jelikož bylo měření prováděno v acetonu, můžeme si v chromatogramu rovněž povšimnout píku odpovídajícího 4-hydroxy-4-methylpentan-2-onu, jež je produktem aldolové kondenzace dvou molekul acetonu. V průběhu provádění optimalizačních GC-MS analýz komerčně dostupných esenciálních olejů pak bylo zjištěno, že se v získaných chromatogramech nevyskytuje žádný pík, jehož retenční čas by byl blízký retenčnímu času interního standardu. Přítomnost takového píku by byla zcela nežádoucí, neboť by pak mohlo docházet k jejich nedokonalému oddělení či vzájemnému překryvu.

V naměřeném EI-MS spektru interního standardu byly kromě molekulového iontu ($182\ m/z$) pozorovány další významné fragmenty vznikající v průběhu ionizace. Základním píkem je ion o m/z 105, který byl identifikován jako benzoylový kation. Dále byly v hmotnostním spektru pozorovány fragmenty o m/z 77 (fenylový kation) a 51. Získané hmotnostní spektrum benzofenonu mohlo být porovnáno se spektrem obsaženým v knihovně hmotnostních spekter NIST 02, přičemž procentuální shoda mezi naměřeným spektrem a spektrem z databáze činila 96 %. Hmotnostní spektrum vnitřního standardu je uvedeno na **Obrázku 13b**.



Obrázek 13. GC-MS analýza interního standardu; (a) chromatogram získaný GC-MS analýzou benzofenonu, (b) hmotnostní spektrum benzofenonu a návrh jeho fragmentace.

5.2.3 Analýza hřebíčkových extraktů

Podle stanovené metodiky a vybraného teplotního programu (kapitola 4.3.1) byla provedena strukturní analýza vyextrahovaných hřebíčkových olejů. Každá hřebíčková matrice byla pomocí dané extrakční metody extrahována dvakrát, přičemž každá extrakce byla provedena s pomocí dvou různých extrakčních rozpouštědel. V některých případech pak byla extrakce provedena třikrát, a to konkrétně při extrakci hřebíčku značky Vitana pomocí SDE v kombinaci s hexanem (do výstupu byly zahrnuty výsledky všech tří extrakcí) a pomocí SD v kombinaci s dichlormethanem (do výstupu byly zahrnuty výsledky pouze ze dvou extrakcí). Při extrakci hřebíčku značky Koření od Antonína pak byla třetí extrakce provedena v případě extrakce pomocí SDE v kombinaci s hexanem (do výstupu byly zahrnuty výsledky všech tří extrakcí). Všechny získané extrakty byly následně dvakrát analyzovány pomocí GC-MS. V chromatogramech každého z analyzovaných extraktů esenciálních olejů byla provedena kvantifikace jednotlivých těkavých látek vztahem plochy jejich píku k ploše píku vnitřního standardu. S pomocí knihovny hmotnostních spekter NIST 02 pak byla navržena struktura jednotlivých těkavých látek. Zastoupení jednotlivých těkavých látek ve vybraných vzorcích hřebíčkových extraktů získané ze čtyř nebo šesti měření je přehledně sumarizováno v **Tabulce 4**. V **Tabulce 5** je pak uveden přehled těkavých látek detekovaných metodou GC-MS v hřebíčkových extraktech při jednotlivých extrakcích.

Tabulka 4. Zastoupení těkavých látek detekovaných metodou GC-MS v hřebíčkových extraktech.^a

Číslo látky	t _R [min]	Hřebíček značky Vitana				Hřebíček značky Koření od Antonína			
		SDE		SD		SDE		SD	
		DCM	HX	DCM	HX	DCM	HX	DCM	HX
8	5,51	1,3 ±0,4	1,2 ±0,3	0,77 ±0,05	0,79 ±0,06	1,88 ±0,12	1,11 ±0,16	1,86 ±0,10	0,77 ±0,04
40	9,89	0,11 ±0,07	0,38 ±0,07	0,11 ±0,07	0,18 ±0,07	ND	0,19 ±0,06	ND	ND
44	10,13	0,29 ±0,17	0,50 ±0,04	0,69 ±0,13	0,52 ±0,10	0,3 ±0,2	0,71 ±0,12	ND	0,59 ±0,04
50	10,62	0,63 ±0,15	0,20 ±0,10	0,25 ±0,03	0,4 ±0,3	ND	ND	ND	ND
51	10,71	320 ±70	330 ±30	330 ±30	400 ±18	245,4 ±1,5	270 ±20	222 ±4	258 ±17
54	10,83	0,18 ±0,11	0,41 ±0,08	0,05 ±0,05	0,26 ±0,07	ND	ND	ND	ND
56	10,91	ND	ND	ND	0,2 ±0,3	3,0 ±0,7	2,3 ±0,9	2,8 ±0,5	0,63 ±0,19
58	11,00	0,49 ±0,08	0,61 ±0,04	0,30 ±0,03	0,44 ±0,05	0,3 ±0,2	0,37 ±0,06	ND	0,22 ±0,05
64	11,24	13 ±4	15,4 ±0,5	6,9 ±0,3	11,6 ±1,1	13,5 ±2,0	14,1 ±0,6	7,9 ±0,4	6,4 ±0,4
66	11,39	ND	1,0 ±0,4	ND	ND	0,9 ±0,5	ND	ND	ND
67	11,41	28 ±5	19 ±6	30 ±3	37 ±3	22 ±3	29 ±5	26,3 ±0,5	33 ±3
73	11,61	0,56 ±0,08	0,50 ±0,06	0,33 ±0,08	0,44 ±0,07	0,4 ±0,3	0,48 ±0,08	ND	0,33 ±0,05
77	11,96	1,00 ±0,12	0,73 ±0,19	0,61 ±0,08	0,99 ±0,07	0,90 ±0,12	0,90 ±0,04	0,72 ±0,06	0,69 ±0,05
79	12,17	0,27 ±0,16	0,18 ±0,12	0,32 ±0,04	0,32 ±0,19	ND	0,15 ±0,10	ND	0,37 ±0,03
80	12,24	0,87 ±0,08	0,6 ±0,3	1,08 ±0,20	1,19 ±0,07	ND	0,11 ±0,07	ND	0,28 ±0,04
81	12,29	ND	0,10 ±0,07	ND	ND	ND	0,12 ±0,08	ND	0,31 ±0,03

^a výsledek z minimálně dvou nezávislých extrakcí dané matrice a minimálně čtyř GC-MS analýz; ND – sloučenina nebyla detekována

Tabulka 5. Přítomnost těkavých látek detekovaných metodou GC-MS v hřebíčkových extraktech v jednotlivých extrakcích.

Číslo látky	t _R [min]	Hřebíček značky Vitana									Hřebíček značky Koření od Antonína									
		SDE						SD			SDE						SD			
		DCM		HX			DCM		HX	DCM		HX	DCM		HX			DCM		HX
		1	2	1	2	3	1	2	1	2	1	2	1	2	3	1	2	1	2	
8	5,51	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
40	9,89	+	ND	+	+	+	ND	+	+	GC2	ND	ND	+	+	ND	ND	ND	ND	ND	
44	10,13	+	ND	+	+	+	+	+	+	+	+	ND	+	+	+	ND	ND	+	+	
50	10,62	+	+	ND	+	GC1	+	+	GC2	+	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	
51	10,71	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
54	10,83	+	ND	+	+	+	ND	GC1	+	+	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	
56	10,91	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	GC1	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
58	11,00	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	ND	+	+	+	ND	ND	+	+	
64	11,24	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
66	11,39	ND	ND	+	ND	+	ND	ND	ND	ND	+	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	
67	11,41	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
73	11,61	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	ND	+	+	+	ND	ND	+	+	
77	11,96	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
79	12,17	+	ND	ND	+	ND	+	+	ND	+	ND	ND	+	ND	ND	ND	ND	+	+	
80	12,24	+	+	ND	+	+	+	+	+	+	ND	ND	+	ND	ND	ND	ND	+	+	
81	12,29	ND	ND	ND	+	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	+	ND	ND	ND	ND	+	+	

+ – sloučenina byla detekována; ND – sloučenina nebyla detekována; GC1 – sloučenina byla detekována jen v prvním měření; GC2 – sloučenina byla detekována jen ve druhém měření

Z **Tabulky 4** je patrné, že ve všech analyzovaných hřebíčkových extraktech bylo detekováno celkem 16 těkavých látek, přičemž tyto látky jsou ve výše uvedené tabulce seřazeny vzestupně dle svých unikátních retenčních časů. Každé z těchto látek bylo zároveň přiřazeno její specifické číslo, jež je v souladu s **Tabulkou 3** (str. 53–59). Na první pohled je zřejmé, že nejhojněji zastoupenou sloučeninou byl eugenol (**51**), jenž byl detekován ve všech extrahovaných vzorcích. Eugenol se řadí do skupiny fenolických látek, stejně jako chavicol (**44**) a isoeugenol (**54**), které byly v extraktech rovněž detekovány. Ačkoliv v případě isoeugenolu činila procentuální shoda s knihovnou hmotnostních spekter NIST 02 pouhých 79 %, existuje zde předpoklad, že by pík s daným retenčním časem mohl skutečně odpovídat dané sloučenině. Další významnou skupinu látek tvořily estery, mezi něž je řazen acetyleugenol (**67**), po eugenolu druhá nejhojněji zastoupená sloučenina. Dalším detekovaným esterem pak byl methyl-salicylát (**40**). Kromě výše uvedených látek byly dále ve vzorcích detekovány látky ze skupiny seskviterpenů, a to kopaen (**58**), α -karyofylen (**66**) a 4,11,11-trimethyl-8-methylenbicyklo[7.2.0]undec-4-en (**64**), který je jedním ze stereoisomerů β -karyofylenu. Ve vzorcích byla rovněž detekována přítomnost karyofylenoxidu (**77**), 2,3,4-trimethoxyacetofenonu (**80**) a 2,2-dimethoxybutanu (**8**), přičemž poslední z uvedených sloučenin představuje látku pocházející z použitého rozpouštědla, tedy methanolu. V některých chromatogramech byly rovněž detekovány píky odpovídající bifenyly (**56**). Jelikož byla tato látka detekována ve všech vzorcích hřebíčku značky Koření od Antonína, existoval zde předpoklad, že by bifenyl mohl být obsažen v obalovém materiálu příslušného vzorku hřebíčku. Jelikož však bifenyl nebyl detekován v následné analýze pomocí HS-GC-MS, jeho původ zůstává neobjasněn. V extrahovaných vzorcích byly kromě výše uvedených látek detekovány ještě čtyři sloučeniny (**50**, **73**, **79**, **81**), jejichž strukturu se však navrhnout nepodařilo. U látky **73** činila dosažená procentuální shoda s knihovnou hmotnostních spekter NIST 02 nejvíce 73 %, přičemž se s největší pravděpodobností mělo jednat o isoleden či D-germacren. Tyto látky by se v hřebíčkových extraktech teoreticky vyskytovat mohly, neboť jak isoleden [35] tak D-germacren [60] byly dle citovaných prací v hřebíčkových extraktech identifikovány.

Hřebíček značky Vitana

V extraktech, jež byly vyizolovány z hřebíčku značky Vitana bylo metodou GC-MS detekováno všech 16 sloučenin, o nichž bylo pojednáno výše. Třináct z těchto složek pak bylo detekováno ve všech extraktech vyizolovaných z této rostlinné matrice, tzn. jak při extrakci pomocí SDE v kombinaci s dichlormethanem či hexanem, tak při extrakci pomocí

SD v kombinaci s dichlormethanem či hexanem. Na tomto místě je však nutné podotknout, že ne při všech extrakcích prováděných pomocí dané extrakční metody v kombinaci s příslušným organickým rozpouštědlem byla daná sloučenina detekována. Příkladem může být extrakce pomocí SDE v kombinaci s dichlormethanem, jež byla provedena celkem dvakrát. V extraktu získaném během první extrakce byl chavicol (**44**) detekován, v extraktu získaném během druhé extrakce však nikoliv. Z těchto důvodů lze říci, že je výsledek zatížen značnou experimentální chybou.

Zbývající tři sloučeniny byly detekovány pouze ojediněle. Konkrétně se jednalo o bifenyl (**56**), jež byl detekován ve vzorku získaném při druhé extrakci pomocí SD v kombinaci s hexanem, přičemž tato sloučenina byla detekována pouze při prvním měření vzorku připraveného pro GC-MS analýzu. Z těchto důvodů je výsledek opět zatížen značnou experimentální chybou. Další minoritně se vyskytující sloučeninou byl α -karyofylen (**66**), jež byl detekován pouze při dvou extrakcích ze tří prováděných pomocí SDE v kombinaci s hexanem. Poslední ojediněle se vyskytující sloučeninou byla neznámá látka (**81**), jež byla detekována v extraktu získaném pomocí SDE v kombinaci s hexanem. Tato látka však byla detekována pouze v jedné ze tří takto prováděných extrakcí. Stejně jako v předešlých případech je tedy výsledek zatížen značnou experimentální chybou.

Srovnáme-li metodu SDE, jež byla prováděna v kombinaci s dichlormethanem spolu s metodou SD prováděnou v témže rozpouštědle, dojdeme k závěru, že použitá extrakční metoda nemá na množství detekovaných sloučenin vliv (při obou metodách bylo detekováno shodné množství sloučenin). Intenzita detekovaných sloučenin se sice nepatrně liší, ale rozdíly nejsou nijak markantní, takže není možno rozhodnout, která z extrakčních metod je při použití dichlormethanu výhodnější. Srovnáme-li pak metodu SDE, jež byla prováděna za použití hexanu spolu s metodou SD prováděnou v témže rozpouštědle, dojdeme k závěru, že použitá extrakční metoda má na množství detekovaných sloučenin pouze zanedbatelný vliv. V extraktu získaném pomocí SDE bylo detekováno 15 sloučenin, v extraktu získaném pomocí SD pak bylo detekováno celkově 14 sloučenin, kdy třináct z nich bylo shodných. V extraktu získaném pomocí SDE byl navíc detekován α -karyofylen (**66**) a sloučenina (**81**), jejíž strukturu jsme nedokázali identifikovat. V extraktu získaném pomocí SD pak byl přítomen navíc bifenyl (**56**), který lze označit za látku kontaminující. Porovnáme-li zastoupení detekovaných sloučenin, je patrné, že množství dvou nejvýznamnějších složek, kterými jsou eugenol (**51**) a acetyleugenol (**67**), je vyšší v případě sloučenin, jež byly

detekovány v extraktech získaných pomocí SD. Intenzita ostatních složek se však různí, a tak není možné zcela jasně říci, která z extrakčních metod je při použití hexanu lepší.

Pokud jde o volbu rozpouštědla, byly sice při analýze extraktů, jež byly extrahovány pomocí SDE v kombinaci s hexanem detekovány navíc dvě sloučeniny (**66** a **81**), jež v extraktech extrahovaných pomocí dichlormethanu detekovány nebyly, jejich intenzita však nebyla nijak vysoká a výsledek byl v obou případech rovněž zatížen značnou experimentální chybou. První z těchto sloučenin byl α -karyofylen (**66**), který se v hřebíčkových extraktech běžně vyskytuje [7], strukturu druhé sloučeniny se bohužel určit nepodařilo. Srovnáme-li mezi sebou intenzitu ostatních sloučenin, jež se podařilo detekovat a identifikovat (**44**, **51**, **54**, **58**, **64**, **66**, **67**, **77**, **80**), můžeme si povšimnout nepatrně vyšší intenzity většiny z těchto sloučenin v extraktu získaném pomocí hexanu. S přihlédnutím k výše uvedeným skutečnostem bychom tedy mohli říci, že je hexan pro SDE vhodnějším rozpouštědlem, ale jelikož rozdíly v intenzitách nebyly nijak markantní a intenzita detekovaného α -karyofylenu (**66**) byla nízká, a navíc zatížena značnou experimentální chybou, nemůžeme zcela jasně říci, které z použitých rozpouštědel bylo pro extrakci pomocí SDE vhodnější.

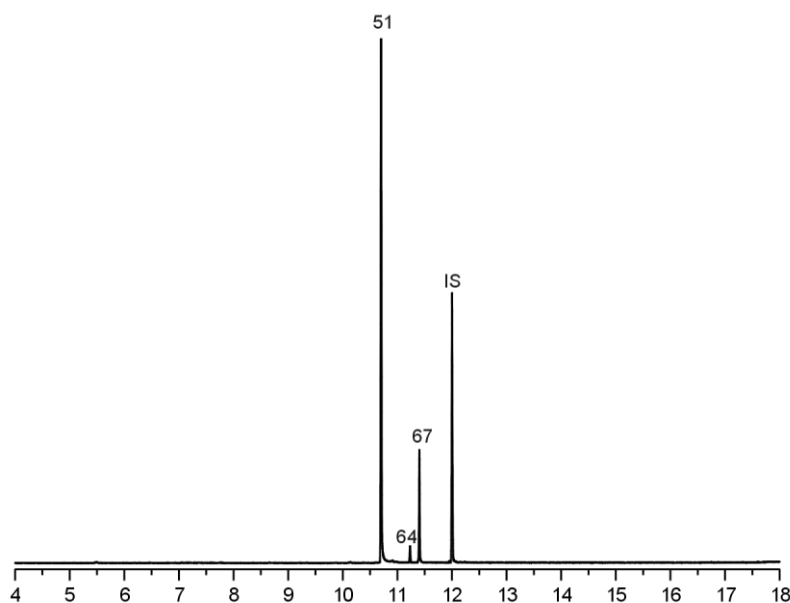
V případě extrakce pomocí SD v kombinaci s dichlormethanem bylo detekováno o jednu sloučeninu více než u téže extrakční metody při použití hexanu. Touto sloučeninou byl však bifenyl (**56**), jehož původ zůstává neobjasněn. Nepochybně se však jedná se o látku, jež se v dané matici přirozeně nevyskytuje. Přihlédneme-li k intenzitě jednotlivých detekovaných sloučenin, jeví se pro metodu SD jako lepší rozpouštědlo hexan, neboť intenzita většiny detekovaných sloučenin je vyšší než u sloučenin detekovaných v extraktu získaném pomocí dichlormethanu.

Hřebíček značky Koření od Antonína

V extraktech, jež byly vyizolovány z hřebíčku značky Koření od Antonína, bylo metodou GC-MS detekováno celkem 14 sloučenin, což je o 2 sloučeniny méně, než tomu bylo u hřebíčku značky Vitana. Konkrétně se jednalo o sloučeninu **50**, jejíž struktura nebyla identifikována a isoeugenol (**54**). Obě tyto sloučeniny byly přitom detekovány ve všech olejích extrahovaných z hřebíčku značky Vitana. Z těchto 14 sloučenin jich pouze 6 bylo přítomno v každém extraktu vyizolovaném z této hřebíčkové matrice. Konkrétně se jednalo o sloučeniny **8**, **51**, **56**, **64**, **67** a **77**. Zbývajících 8 sloučenin pak bylo detekováno jen při použití určité extrakční metody v kombinaci s určitým rozpouštědlem. Stejně jako v předešlých případech pak mnohdy daná sloučenina nebyla přítomna ve všech extrakcích provedených za použití určité extrakční metody v kombinaci s určitým rozpouštědlem.

Příkladem mohou být například sloučeniny **79**, **80** a **81**, jež byly detekovány v extraktu získaném při první extrakci pomocí SDE v kombinaci s hexanem. V extraktech získaných při dalších dvou takto provedených extrakcích však již tyto sloučeniny detekovány nebyly.

Při použití SDE v kombinaci s dichlormethanem bylo v získaném extraktu detekováno celkem 10 sloučenin, při použití SD v kombinaci s dichlormethanem pak pouze 6 sloučenin, přičemž těchto 6 sloučenin bylo pro obě metody společných. Extrakt získaný pomocí SDE obsahoval tedy o 4 sloučeniny více, konkrétně se jednalo o chavicol (**44**), kopaen (**58**), α -karyofylen (**66**) a sloučeninu **73**, jež nebyla identifikována. Všechny tyto složky se běžně v hřebíčkovém esenciální oleji vyskytují, a přestože jejich intenzita nebyla vysoká a výsledek byl zatížen značnou experimentální chybou, můžeme říci, že metoda SDE v kombinaci s dichlormethanem je pro extrakci vhodnější než metoda SD při použití stejného rozpouštědla. Při použití SDE v kombinaci s hexanem a SD v kombinaci s hexanem byly v získaných extraktech detekovány shodné sloučeniny. Mezi intenzitou těchto sloučenin sice existovaly určité rozdíly, ale tyto nebyly natolik markantní, abychom mohli s jistotou říci, která z extrakčních metod je při použití hexanu vhodnější. Příklad chromatogramu získaného GC-MS analýzou esenciálního oleje z této hřebíčkové matrice extrahovaného pomocí SD v kombinaci s hexanem je uveden na **Obrázku 14**.



Obrázek 14. Chromatogram získaný GC-MS analýzou esenciálního oleje z hřebíčku značky Koření od Antonína extrahovaného pomocí SD v kombinaci s hexanem.

Pokud jde o volbu rozpouštědla, byly při analýze extraktů, jež byly extrahovány pomocí SDE v kombinaci s hexanem detekovány navíc 4 sloučeniny, konkrétně methyl-salicylát

(40), 2,3,4-trimethoxyacetofenon (80) a sloučeniny 79 a 81, jejichž strukturu se nepodařilo identifikovat. Přihlédneme-li pak k intenzitě sloučenin detekovaných v extraktech získaných pomocí SDE v kombinaci s hexanem, můžeme říci, že pro extrakci pomocí SDE je hexan vhodnějším rozpouštědlem než dichlormethan. Při použití metody SD je pak situace obdobná – v extraktech získaných za použití hexanu bylo detekováno větší množství sloučenin než v případě extraktů získaných za použití dichlormethanu. Můžeme tedy říci, že hexan je vhodným rozpouštědlem i pro extrakci pomocí SD.

5.2.4 Analýza skořicových extraktů

Vyextrahované skořicové oleje byly podrobeny GC-MS analýze podle stejné metodiky jako tomu bylo v případě olejů hřebíčkových. Každá skořicová matrice byla pomocí dané extrakční metody extrahována dvakrát, přičemž každá extrakce byla provedena pomocí dvou různých rozpouštědel. V některých případech pak byla extrakce provedena třikrát, a to konkrétně při extrakci skořice značky Vitana pomocí SDE v kombinaci s hexanem (do výstupu byly zahrnuty výsledky pouze ze dvou extrakcí), dále pak pomocí SD v kombinaci s dichlormethanem (do výstupu byly zahrnuty výsledky všech tří extrakcí) a rovněž pomocí SD v kombinaci s hexanem (do výstupu byly zahrnuty výsledky pouze ze dvou extrakcí). Při extrakci skořice značky Koření od Antonína pak byla třetí extrakce provedena v případě extrakce pomocí SDE v kombinaci s dichlormethanem (do výstupu byly zahrnuty výsledky pouze ze dvou extrakcí) a pomocí SD v kombinaci s dichlormethanem (do výstupu byly zahrnuty výsledky pouze ze dvou extrakcí). Ve všech získaných chromatogramech každého z analyzovaných extraktů esenciálních olejů byla provedena kvantifikace jednotlivých těkavých látek vztahem plochy jejich píku k ploše píku vnitřního standardu. S pomocí knihovny hmotnostních spekter NIST 02 pak byla navržena struktura jednotlivých těkavých látek. Zastoupení jednotlivých těkavých látek ve vybraných vzorcích skořicových extraktů získané ze čtyř nebo šesti měření je přehledně sumarizováno v **Tabulce 6**. V **Tabulce 7** je pak uveden přehled těkavých látek detekovaných metodou GC-MS ve skořicových extraktech při jednotlivých extrakcích.

Tabulka 6. Zastoupení těkavých látek detekovaných metodou GC-MS ve skořicových extraktech.^a

Číslo látky	t _R [min]	Skořice značky Vitana				Skořice značky Koření od Antonína			
		SDE		SD		SDE		SD	
		DCM	HX	DCM	HX	DCM	HX	DCM	HX
8	5,51	1,79 ±0,09	1,64 ±0,08	1,91 ±0,10	1,62 ±0,11	1,51 ±0,11	1,71 ±0,20	1,6 ±0,2	1,58 ±0,08
16	8,15	0,68 ±0,05	0,55 ±0,08	ND	ND	0,74 ±0,08	ND	ND	ND
17	8,29	0,41 ±0,04	0,46 ±0,11	ND	ND	0,49 ±0,09	ND	ND	ND
19	8,52	0,52 ±0,04	0,43 ±0,10	ND	ND	0,59 ±0,12	ND	ND	ND
28	8,91	4,73 ±0,12	2,34 ±0,50	1,6 ±0,4	3,1 ±0,9	4,4 ±0,6	1,23 ±0,08	1,49 ±0,10	1,23 ±0,20
32	9,29	0,26 ±0,15	1,3 ±0,5	ND	ND	1,04 ±0,18	ND	0,30 ±0,19	ND
35	9,63	0,96 ±0,05	0,95 ±0,16	0,81 ±0,09	0,4 ±0,3	1,11 ±0,08	0,97 ±0,16	0,4 ±0,3	0,6 ±0,4
36	9,72	ND	ND	ND	ND	ND	ND	0,4 ±0,3	0,5 ±0,3
37	9,80	1,44 ±0,10	1,58 ±0,08	1,04 ±0,18	0,58 ±0,05	1,9 ±0,3	1,22 ±0,08	0,65 ±0,10	0,86 ±0,07
39	9,84	1,45 ±0,10	0,91 ±0,09	0,80 ±0,18	1,131 ±0,014	1,30 ±0,13	0,96 ±0,05	0,61 ±0,06	0,72 ±0,06
41	9,90	2,11 ±0,04	1,90 ±0,12	1,7 ±0,4	1,50 ±0,18	2,5 ±0,3	1,95 ±0,10	1,07 ±0,11	1,19 ±0,08
42	9,98	2,25 ±0,12	3,4 ±0,3	2,64 ±0,08	2,3 ±0,2	3,78 ±0,17	10 ±3	2,65 ±0,13	3,1 ±0,7
43	10,03	ND	ND	0,19 ±0,13	ND	ND	ND	ND	ND
46	10,17	ND	ND	ND	ND	0,56 ±0,08	0,67 ±0,14	ND	0,32 ±0,19
47	10,25	307 ±7	289 ±12	341 ±9	296 ±4	290 ±30	287 ±11	225 ±13	277 ±5
49	10,43	1,56 ±0,11	2,21 ±0,14	1,06 ±0,20	0,72 ±0,11	2,72 ±0,13	2,25 ±0,20	0,87 ±0,03	0,86 ±0,05
50	10,62	ND	ND	ND	ND	ND	ND	0,5 ±0,3	0,4 ±0,3
51	10,71	0,9 ±0,3	1,8 ±0,4	0,4 ±0,3	0,8 ±0,6	2,0 ±0,5	2,19 ±0,14	0,74 ±0,12	0,52 ±0,04
53	10,82	ND	ND	0,47 ±0,17	ND	ND	ND	ND	ND
57	10,92	2,1 ±0,4	2,5 ±0,6	1,5 ±0,3	2,0 ±0,6	3,7 ±0,5	2,95 ±0,6	2,5 ±1,3	10 ±5
58	11,00	0,82 ±0,06	0,59 ±0,07	0,25 ±0,16	ND	0,91 ±0,14	0,57 ±0,15	ND	ND
60	11,09	7,5 ±0,4	6,2 ±0,4	5,0 ±1,7	3,5 ±0,3	9,3 ±0,6	5,67 ±0,07	4,1 ±0,6	3,6 ±0,4
62	11,14	0,79 ±0,15	1,08 ±0,11	4,8 ±1,3	2,2 ±0,4	0,9 ±0,6	0,99 ±0,13	3,8 ±1,4	3,0 ±0,6
64	11,24	0,65 ±0,06	0,63 ±0,16	ND	0,21 ±0,13	0,90 ±0,09	0,64 ±0,10	ND	ND
65	11,35	ND	0,9 ±0,3	ND	ND	ND	ND	ND	ND

^a výsledek z minimálně dvou nezávislých extrakcí dané matrice a minimálně čtyř GC-MS analýz; ND – sloučenina nebyla detekována

Tabulka 7. Přítomnost těkavých látek detekovaných metodou GC-MS ve skořicových extraktech v jednotlivých extrakcích.

Číslo látky	t _R [min]	Skořice značky Vitana										Skořice značky Koření od Antonína									
		SDE				SD						SDE				SD					
		DCM		HX		DCM		HX		DCM		HX		DCM		HX		DCM		HX	
		1	2	1	2	1	2	3	1	2	1	2	1	2	1	2	1	2	1	2	
8	5,51	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+		
16	8,15	+	+	+	+	ND	ND	ND	ND	ND	+	+	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND		
17	8,29	+	+	+	+	ND	ND	ND	ND	ND	+	+	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND		
19	8,52	+	+	+	+	ND	ND	ND	ND	ND	+	+	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND		
28	8,91	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+		
32	9,29	ND	+	+	+	ND	ND	ND	ND	ND	+	+	ND	ND	+	+	ND	ND	ND		
35	9,63	+	+	+	+	+	+	+	ND	+	+	+	+	+	+	+	+	+	ND		
36	9,72	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	+	+	+	+	ND		
37	9,80	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+		
39	9,84	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+		
41	9,90	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+		
42	9,98	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+		
43	10,03	ND	ND	ND	ND	ND	+	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND		
46	10,17	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	+	+	+	+	ND	ND	+	+	ND		
47	10,25	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+		
49	10,43	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+		
50	10,62	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	+	+	+	+	ND		
51	10,71	+	+	+	+	+	ND	ND	+	ND	+	+	+	+	+	+	+	+	+		
53	10,82	ND	ND	ND	ND	ND	+	+	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND		
57	10,92	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+		
58	11,00	+	+	+	+	ND	ND	+	ND	ND	+	+	+	+	ND	ND	ND	ND	ND		
60	11,09	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+		
62	11,14	+	+	+	+	+	+	+	+	+	ND	+	+	+	+	+	+	+	+		
64	11,24	+	+	+	+	ND	ND	ND	+	ND	+	+	+	+	ND	ND	ND	ND	ND		
65	11,35	ND	ND	+	+	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND		

+ – sloučenina byla detekována; ND – sloučenina nebyla detekována

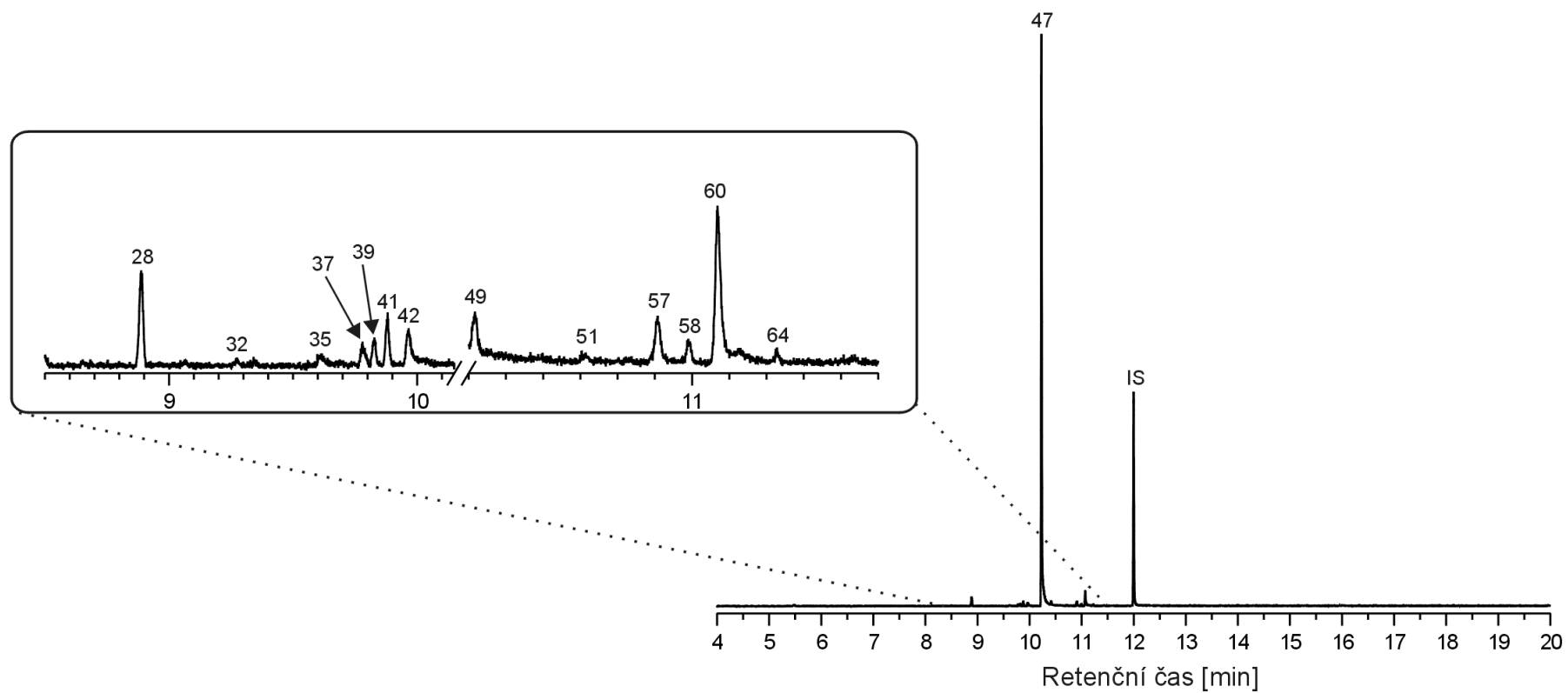
Z **Tabulky 6** je patrné, že ve všech analyzovaných skořicových extraktech bylo detekováno celkem 25 těkavých látek, přičemž tyto jsou ve výše uvedené tabulce seřazeny vzestupně dle svých unikátních retenčních časů. Každé z těchto látek bylo zároveň přiřazeno její specifické číslo, jež je v souladu s **Tabulkou 3** (str. 53–59). Na první pohled je zřejmé, že nejhojněji zastoupenou sloučeninou byl cinnamaldehyd (**47**), který byl detekován ve všech extrahovaných vzorcích. Cinnamaldehyd se řadí do skupiny karbonylových sloučenin, stejně jako benzylidenmalonaldehyd (**42**) a hydrocinnamaldehyd (**35**), které byly v extraktech rovněž detekovány. Další významnou skupinu látek pak tvořily estery, mezi něž je řazen cinnamyl-acetát (**60**), po cinnamaldehydu druhá nejhojněji zastoupená sloučenina. Dalším detekovaným esterem pak byl bornyl-acetát (**49**). Kromě výše uvedených látek byly dále ve vzorcích detekovány monoterpenické alkoholy, konkrétně β -linalool (**32**), borneol (**37**), α -terpinen-4-ol (**39**) a α -terpineol (**41**). Z fenolických látek byl pak v extraktech detekován eugenol (**51**), přičemž jeho intenzita byla v získaných skořicových extraktech výrazně nižší než v extraktech hřebíčkových. Další skupinou látek, jež byly ve skořicových extraktech detekovány byly monoterpenické uhlovodíky, mezi něž je řazen α -pinen (**16**), kamfen (**17**) a β -pinen (**19**). Ze seskviterpenů byly ve vzorcích detekovány kopaen (**58**), 4,11,11-trimethyl-8-methylenbicyklo[7.2.0]undec-4-en (**64**), jež je jedním ze stereoisomerů β -karyofylenu a dále pak také β -cis-farnesen (**65**). Významnou látkou ze skupiny oxidů pak byl kumarin (**62**), jehož přítomnost byla detekována ve všech získaných extraktech a jehož přítomnost je pro skořici cassia charakteristická. V extraktech byla dále detekována přítomnost eukalyptolu (**28**), jež je řazen do skupiny etherů. V neposlední řadě pak byla ve skořicových extraktech, stejně jako v extraktech hřebíčkových, detekována přítomnost 2,2-dimethoxybutanu (**8**) pocházejícího z methanolu. Zbývající sloučeniny, jež byly v extraktech detekovány, bohužel nebyly identifikovány. Konkrétně se jednalo o látky s kódovým označením **36, 43, 46, 50, 53 a 57**.

Skořice značky Vitana

V extraktech, jež byly vyizolovány ze skořice značky Vitana bylo metodou GC-MS detekováno celkem 22 sloučenin. Třináct z těchto látek pak bylo detekováno ve všech extraktech vyizolovaných z této rostlinné matrice, tzn. jak při extrakci pomocí SDE v kombinaci s dichlormethanem či hexanem, tak při extrakci pomocí SD v kombinaci s dichlormethanem či hexanem. Stejně jako v předešlých případech pak mnohdy daná sloučenina nebyla přítomna ve všech extrakcích provedených za použití určité extrakční metody v kombinaci s daným typem rozpouštědla. Tato situace nastávala častěji při

provádění extrakce pomocí SD, v případě SDE nastala pouze u jednoho vzorku, konkrétně při extrakci pomocí SDE v kombinaci s dichlormethanem. Při první takto prováděné extrakci nebyl v získaném extraktu β -linalool (**32**) vůbec detekován, při druhé extrakci již tato sloučenina byla detekována. Z těchto důvodů je výsledek opět zatížen značnou experimentální chybou. Zbývajících 9 sloučenin pak bylo detekováno jen při použití dané extrakční metody v kombinaci s určitým rozpouštědlem. Konkrétně se jednalo o sloučeniny **16**, **17**, **19**, **32**, **43**, **53**, **58**, **64** a **65**.

V extraktech získaných pomocí SDE a SD v kombinaci s dichlormethanem bylo detekováno 14 sloučenin, jež se vyskytovaly v obou extraktech. Extrakt získaný pomocí SDE pak obsahoval navíc ještě 5 dalších sloučenin, které se ve druhém jmenovaném extraktu nevyskytovaly. Konkrétně se jednalo o α -pinen (**16**), kamfen (**17**), β -pinen (**19**), β -linalool (**32**) a 4,11,11-trimethyl-8-methylenbicyklo[7.2.0]undec-4-en (**64**). V extraktu získaném pomocí SD v kombinaci s dichlormethanem pak byly detekovány další 2 sloučeniny, jež v extraktu získaném pomocí SDE v kombinaci s dichlormethanem detekovány nebyly. Konkrétně se jednalo o sloučeniny **43** a **53**, jejichž strukturu se určit nepodařilo. Jelikož všech 5 výše uvedených sloučenin, jež byly detekovány v extraktu získaném pomocí SDE v kombinaci s dichlormethanem, se nám podařilo identifikovat a můžeme s jistotou říci, že se jedná o sloučeniny, jež se běžně v extraktech ze skořice cassia vyskytují [6, 18], můžeme metodu SDE při použití dichlormethanu považovat za vhodnější extrakční metodu než SD kombinovanou s tímž rozpouštědlem. Příklad chromatogramu získaného GC-MS analýzou esenciálního oleje z této skořicové matrice extrahovaného pomocí SDE v kombinaci s dichlormethanem je uveden na **Obrázku 15**.



Obrázek 15. Chromatogram získaný GC-MS analýzou esenciálního oleje ze skořice značky Vitana extrahovaného pomocí SDE v kombinaci s dichlormethanem.

V extraktu získaném pomocí SD v kombinaci s hexanem bylo detekováno celkem 14 sloučenin, přičemž těchto 14 sloučenin bylo rovněž detekováno i v extraktu získaném pomocí SDE v kombinaci s hexanem. Ve druhém z jmenovaných extraktů pak bylo detekováno ještě dalších 6 sloučenin, a to konkrétně α -pinen (**16**), kamfen (**17**), β -pinen (**19**), β -linalool (**32**), kopaen (**58**) a β -*cis*-farnesen (**65**). Na základě tohoto zjištění můžeme říci, že metoda SDE je vhodnější extrakční metodou i při použití hexanu.

Z **Tabulky 6** je patrné, že při použití hexanu bylo při extrakci pomocí SDE detekováno o jednu látku více, než tomu bylo v případě extraktu získaného pomocí SDE v kombinaci s dichlormethanem. Konkrétně se jednalo o β -*cis*-farnesen (**65**). Porovnáme-li pak mezi sebou zastoupení jednotlivých detekovaných látek (vztažené vůči internímu standardu), můžeme vidět určité rozdíly, ale jelikož tyto nejsou nijak markantní, nedokážeme přesně říci, které rozpouštědlo je pro extrakci pomocí SDE vhodnější.

V extraktech získaných pomocí SD v kombinaci s dichlormethanem a hexanem bylo detekováno 13 sloučenin, jež se vyskytovaly v obou extraktech. V extraktu získaném pomocí SD v kombinaci s dichlormethanem pak byly navíc detekovány 3 sloučeniny, konkrétně látky **43**, **53** a **58**. Strukturu se podařilo identifikovat jen u jedné z nich, a to u látky **58**, kterou je kopaen. V druhém oleji, extrahovaném pomocí SD v kombinaci s hexanem, pak byla detekována 1 sloučenina, jež se v extraktu získaném pomocí SD v kombinaci s dichlormethanem nevyskytovala. Touto sloučeninou byl 4,11,11-trimethyl-8-methylenbicyklo[7.2.0]undec-4-en (**64**), jenž je stereoisomerem β -karyofylenu. Na základě počtu detekovaných látek tedy nemůžeme říci, které z rozpouštědel je pro extrakci pomocí SD vhodnější. Přihlédneme-li však k intenzitě jednotlivých detekovaných sloučenin, můžeme si v případě extraktu získaného za použití hexanu povšimnout vyšší intenzity většiny detekovaných sloučenin. Teoreticky tedy můžeme říci, že rozpouštědlem, které se pro extrakci pomocí SD jeví jako vhodnější, je dichlormethan.

Skořice značky Koření od Antonína

V extraktech, jež byly vyizolovány ze skořice značky Koření od Antonína bylo metodou GC-MS detekováno celkem 22 sloučenin. Třináct z těchto složek pak bylo detekováno ve všech extraktech vyizolovaných z této rostlinné matrice, tzn. jak při extrakci pomocí SDE v kombinaci s dichlormethanem či hexanem, tak při extrakci pomocí SD v kombinaci s oběma uvedenými rozpouštědly. Stejně jako v předešlých případech pak mnohdy daná sloučenina nebyla přítomna ve všech extrakcích provedených za použití určité extrakční metody v kombinaci s určitým rozpouštědlem. Stejně jako tomu bylo u skořice značky

Vitana, i při extrakci této rostlinné matrice nastávala tato situace častěji při provádění extrakce pomocí SD, při metodě SDE nastala taková situace jen jednou, opět při extrakci pomocí SDE v kombinaci s dichlormethanem. Při první takto prováděné extrakci nebyl v získaném extraktu kumarin (**62**) vůbec detekován, při druhé pak již tato sloučenina detekována byla. Z těchto důvodů je výsledek opět zatížen značnou experimentální chybou. Zbývajících 9 sloučenin pak bylo detekováno jen při použití dané extrakční metody v kombinaci s určitým rozpouštědlem. Konkrétně se jednalo o sloučeniny **16**, **17**, **19**, **32**, **36**, **46**, **50**, **58** a **64**.

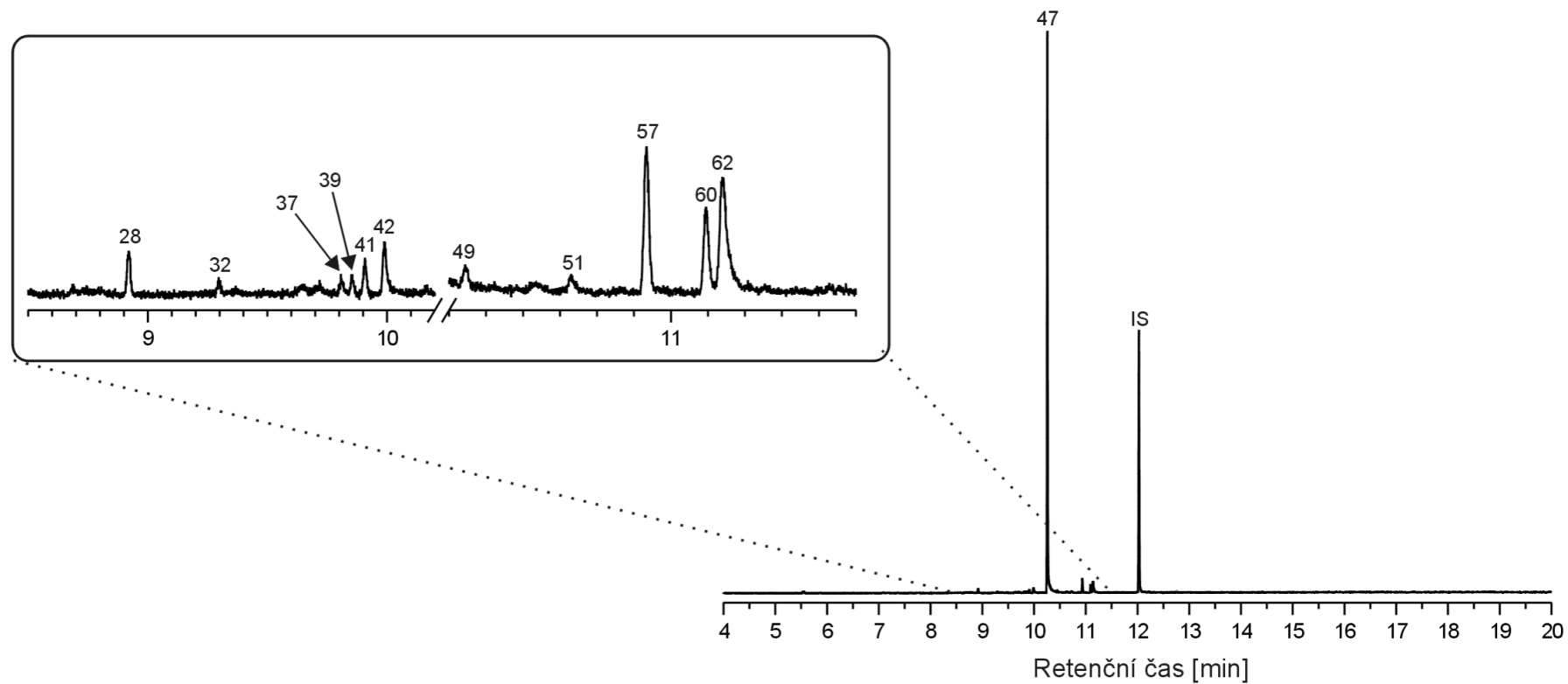
V extraktech získaných pomocí SDE a SD v kombinaci s dichlormethanem bylo detekováno 14 sloučenin, jež se vyskytovaly v obou extraktech. Extrakt získaný pomocí SDE pak obsahoval navíc ještě 5 dalších sloučenin, které se ve druhém jmenovaném extraktu nevyskytovaly. Konkrétně se jednalo o α -pinen (**16**), kamfen (**17**), β -pinen (**19**), sloučeninu **46** (strukturu se nepodařilo identifikovat) a 4,11,11-trimethyl-8-methylenbicyklo[7.2.0]undec-4-en (**64**). V extraktu získaném pomocí SD v kombinaci s dichlormethanem pak byly detekovány další 2 sloučeniny, jež v extraktu získaném pomocí SDE v kombinaci s dichlormethanem detekovány nebyly. Konkrétně se jednalo o sloučeniny **36** a **50**, přičemž ani jednu z těchto sloučenin se nepodařilo identifikovat. Situace je v tomto případě obdobná jako u skořice značky Vitana – vzhledem ke skutečnosti, že v extraktu získaném pomocí SDE v kombinaci s dichlormethanem bylo detekováno více složek, přičemž se nám většinu z těchto složek podařilo identifikovat, můžeme metodu SDE při použití dichlormethanu opět považovat za vhodnější extrakční metodu než SD kombinovanou s tímž rozpouštědlem.

V extraktu získaném pomocí SDE a SD v kombinaci s hexanem bylo detekováno celkem 16 sloučenin, jež se vyskytovaly v obou extraktech. Extrakt získaný pomocí SDE pak obsahoval navíc ještě 2 další sloučeniny, jež se ve druhém jmenovaném extraktu nevyskytovaly. Konkrétně se jednalo o kopaen (**58**) a 4,11,11-trimethyl-8-methylenbicyklo[7.2.0]undec-4-en (**64**). V extraktu získaném pomocí SD v kombinaci s hexanem pak byly rovněž detekovány 2 sloučeniny, jež v extraktu získaném pomocí SDE v kombinaci s hexanem detekovány nebyly. Konkrétně se jednalo o sloučeniny **36** a **50**, přičemž ani jednu z těchto sloučenin se nepodařilo identifikovat. Přihlédneme-li pak rovněž k intenzitě detekovaných sloučenin, můžeme říci, že je metoda SDE při použití hexanu pro extrakci vhodnější než metoda SD kombinovaná s tímž rozpouštědlem. Intenzita sloučenin detekovaných v extraktu získaném pomocí SDE v kombinaci s hexanem byla totiž s výjimkou dvou

případů, konkrétně neidentifikované sloučeniny (**57**) a kumarinu (**62**), vždy nepatrně vyšší než intenzita složek detekovaných v extraktu získaném pomocí SD v kombinaci s hexanem.

Z **Tabulky 6** je patrné, že při použití dichlormethanu bylo při extrakci pomocí SDE detekováno více látek než při extrakci pomocí SD v kombinaci s hexanem. Konkrétně se jednalo o α -pinen (**16**), kamfen (**17**), β -pinen (**19**) a β -linalool (**32**). Zbylé látky pak byly shodně detekovány v obou porovnávaných extraktech. Intenzity detekovaných látek jsou si pak velmi podobné, s výjimkou benzylidenmalonaldehydu (**42**). Intenzita této sloučeniny je vyšší v případě extraktu získaného pomocí SDE v kombinaci s hexanem, výsledek je však zatížen značnou experimentální chybou, a to i přesto, že byla tato sloučenina detekována ve všech čtyřech chromatogramech. Na základě těchto zjištění můžeme konstatovat, že pro metodu SDE se jako lepší rozpouštědlo jeví dichlormethan, a to především kvůli většímu počtu detekovaných sloučenin.

V extraktech získaných pomocí SD v kombinaci s dichlormethanem a hexanem bylo detekováno 15 sloučenin, jež se vyskytovaly v obou extraktech. V extraktu získaném pomocí SD v kombinaci s dichlormethanem pak byla navíc detekována 1 sloučenina, a to konkrétně β -linalool (**32**). Ve druhém oleji, extrahovaném pomocí SD v kombinaci s hexanem, pak byla detekována rovněž 1 sloučenina, jež se v extraktu získaném pomocí SD v kombinaci s dichlormethanem nevyskytovala. Jednalo se o sloučeninu **46**, jejíž strukturu se nepodařilo identifikovat. Na základě počtu detekovaných látek tedy nemůžeme rozhodnout, které z rozpouštědel je pro extrakci pomocí SD vhodnější, přičemž vhodnost daného rozpouštědla nemůže být posouzena ani na základě rozdílnosti intenzit jednotlivých detekovaných sloučenin. Příklad chromatogramu získaného GC-MS analýzou esenciálního oleje z této skořicové matrice extrahovaného pomocí SD v kombinaci s dichlormethanem je uveden na **Obrázku 16**.



Obrázek 16. Chromatogram získaný GC-MS analýzou esenciálního oleje ze skořice značky Koření od Antonína extrahovaného pomocí SD v kombinaci s dichlormethanem.

5.3 Analýza těkavých látek metodou HS-GC-MS

Obsah těkavých látek ve všech rostlinných matricích byl studován metodou GC-MS. Jednotlivé vzorky byly připravovány tak, jak bylo popsáno v kapitole 4.4.2. Každý vzorek, jenž byl pro HS-GC-MS analýzu připraven, byl pro potvrzení opakovatelnosti metody proměřen duplicitně. Bylo zjištěno, že chromatogramy, jež byly při analýze příslušné rostlinné matrice takto získány, jsou shodné. Výjimkou byly chromatogramy získané analýzou hřebíčku značky Vitana. Dva takto získané chromatogramy se lišily přítomností cinnamaldehydu (47). Přítomnost této sloučeniny zůstává neobjasněna, neboť cinnamaldehyd se typicky nachází ve skořici, nikoliv však v hřebíčku. Teoreticky by se mohlo jednat o kontaminaci vzorku způsobenou například nevhodnou manipulací se vzorky rostlinných matric během přípravy vzorků pro HS-GC-MS analýzy, jelikož však byla tato sloučenina detekována jen při druhém měření připraveného vzorku, zůstává přítomnost cinnamaldehydu ve vzorku neobjasněna.

Získané výsledky byly následně vyhodnoceny za použití dostupného softwarového vybavení (konkrétně programu s názvem Postrun Analysis). Díky tomuto programu bylo možné provést integraci jednotlivých píků a navrhnout strukturu jednotlivých detekovaných sloučenin. Těkavé sloučeniny, jež byly v rostlinných matricích detekovány jsou součástí **Tabulky 3** (str. 53–59). Jednotlivé těkavé látky jsou seřazeny vzestupně dle jejich unikátních retenčních časů (t_R). Součástí tabulky je rovněž i procentuální spolehlivost, s jakou byly dané látky pomocí knihovny hmotnostních spekter NIST 02 určeny. Na tomto místě je nutno podotknout, že procentuální shoda s knihovnou hmotnostních spekter NIST 02 byla v řadě případů často vyšší než spolehlivost, jaké bylo dosahováno při identifikaci jednotlivých sloučenin v získaných extraktech.

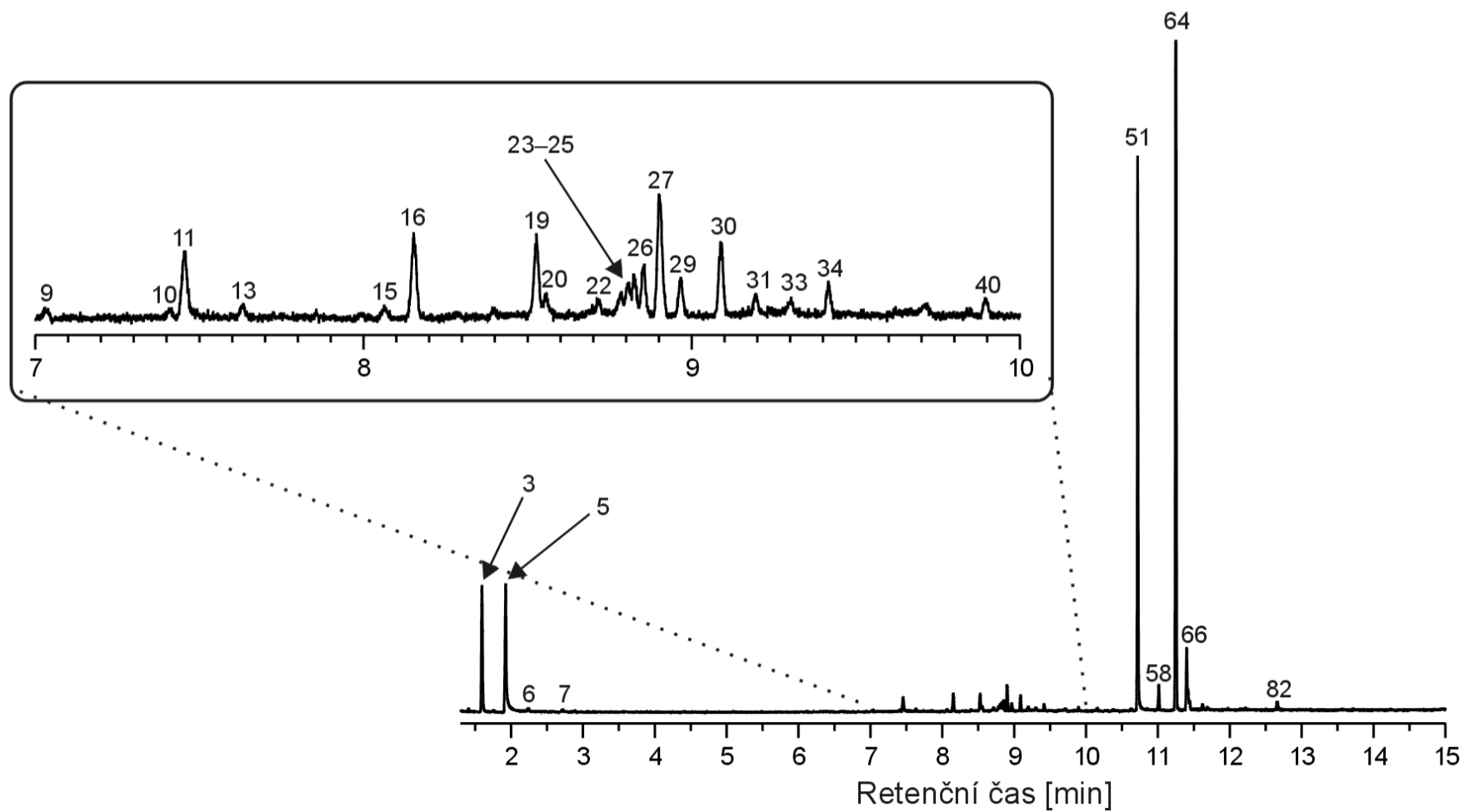
5.3.1 Analýza hřebíčkových matric

V hřebíčkových matricích bylo detekováno celkem 40 sloučenin, jejichž retenční čas se pohyboval v rozmezí 1,30 až 12,66 minut. Z celkového počtu sloučenin pak bylo 22 z nich přítomno v obou hřebíčkových matricích, konkrétně se jednalo o sloučeniny **2–7, 10, 11, 13, 26, 27, 29, 34, 40, 51, 58, 64, 66–68, 73 a 82**. Většinu těchto látek lze z hlediska jejich struktury zařadit do skupiny terpenických uhlovodíků. Z monoterpenů byly v matricích zastoupeny D-limonen (**27**) a *cis*- β -ocimen (**29**), ze sekviterpenů pak kopaen (**58**), 4,11,11-trimethyl-8-methylenbicyklo[7.2.0]undec-4-en (**64**), jenž je stereoisomerem β -karyofylenu a dále pak α -karyofylen (**66**). Další významnou skupinu sloučenin, jež byly v hřebíčkových

matricích detekovány, tvořily estery. Konkrétně se jednalo o methyl-acetát (3), ethyl-acetát (6), methyl-salicylát (40) a acetyleugenol (67). Z alkoholů byl detekován pouze heptan-2-ol (13), zástupcem skupiny fenolických sloučenin pak byl eugenol (51). Z látek řadících se do skupiny karbonylových sloučenin byly v hřebíčkových matricích detekovány dvě látky ze skupiny aldehydů, konkrétně 2-methylpropanal (4) a 3-methylbutanal (7) a jedna látka ze skupiny ketonů, konkrétně heptan-2-on (11). Ze skupiny karboxylových kyselin pak byla v hřebíčkových matricích detekována pouze kyselina octová (5). Kromě výše uvedených sloučenin pak byla v obou hřebíčkových matricích rovněž detekována přítomnost octanu manganatého (2) a *N*-butyl-benzensulfonamidu (82), který představuje nečistotu pocházející z přístrojového vybavení. Zbývajících pět sloučenin (10, 26, 34, 68 a 73) se bohužel identifikovat nepodařilo. U látky 68 činila dosažená procentuální shoda s knihovnou hmotnostních spekter NIST 02 nejvíce 85 %, přičemž se s největší pravděpodobností jednalo o aromadendren či jeho stereoisomer alloaromadendren. Tyto stereoisomery by se v hřebíčkových matricích teoreticky vyskytovat mohly, neboť přítomnost alloaromadenrenu byla v hřebíčkovém oleji dříve potvrzena. [60] Sloučeninou 73 by pak teoreticky mohl být isolateden či D-germacren (diskutováno blíže v kapitole 5.2.3).

Kromě výše uvedených sloučenin pak byly v hřebíčku značky Vitana detekovány ještě další čtyři sloučeniny, a to ethanol (1), sloučenina 21, jejíž strukturu se nepodařilo identifikovat, cinnamaldehyd (47), jenž však byl detekován pouze v případě jedné analýzy a konečně pak α -kubeben (55), který nebyl kromě analýzy HS-GC-MS hřebíčku značky Vitana detekován v žádné námi realizované analýze.

V hřebíčku značky Koření od Antonína pak bylo kromě výše uvedených 22 sloučenin detekováno ještě 14 dalších látek, jež se v hřebíčkové matici značky Vitana nevyskytovaly. Drtivá většina z těchto sloučenin patřila do skupiny monoterpenických uhlovodíků, konkrétně se jednalo o α -thujen (15), α -pinen (16), β -pinen (19), β -myrcen (20), δ -3-karen (23), α -terpinen (24), *p*-cymen (25), γ -terpinen (30) a α -terpinolen (33). Kromě těchto látek byla dále v hřebíčkové matici detekována přítomnost ethyl-2-methyl-butanoátu (9), který se řadí mezi estery a dále pak nonan-2-onu (31) patřícího mezi oxosloučeniny (ketony). Při HS-GC-MS analýze této matrice byly pak detekovány 3 sloučeniny, jejichž strukturu se nepodařilo navrhnout, konkrétně se jednalo o sloučeniny 22, 45 a 48. Příklad chromatogramu získaného HS-GC-MS analýzou této hřebíčkové matrice je uveden na **Obrázku 17**.

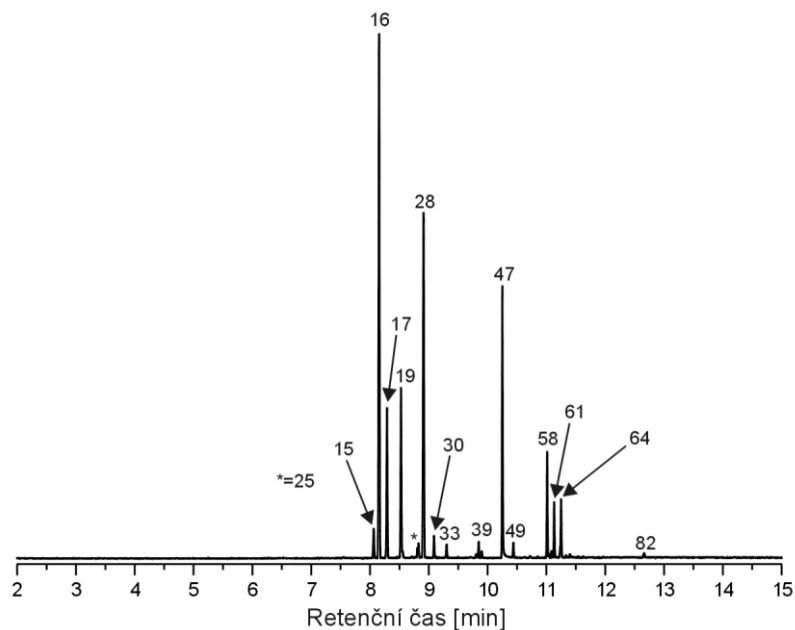


Obrázek 17. Chromatogram získaný HS-GC-MS analýzou hřebíčku značky Koření od Antonína.

5.3.2 Analýza skořicových matric

Ve skořicových matricích bylo detekováno celkem 41 sloučenin, jejichž retenční čas se pohyboval v rozmezí 1,41 až 12,66 minut. Z celkového počtu sloučenin pak bylo 16 z nich přítomno v obou skořicových matricích konkrétně se jednalo o sloučeniny **16, 17, 19, 25, 39, 41, 47, 49, 51, 58, 59, 61, 64, 66, 74** a **82**. Velká část těchto látek se řadila do skupiny terpenických uhlovodíků. Z monoterpenů byly v matricích zastoupeny α -pinen (**16**), kamfen (**17**), β -pinen (**19**) a *p*-cymen (**25**), ze sekviterpenů pak kopaen (**58**), α -zingiberen (**59**), α -bergamoten (**61**), 4,11,11-trimethyl-8-methylenbicyklo[7.2.0]undec-4-en (**64**), jenž je stereoisomerem β -karyofylenu a α -karyofylen (**66**). Z monoterpenických alkoholů byly v obou skořicových matricích detekovány α -terpinen-4-ol (**39**) a α -terpineol (**41**), z fenolických látek byl pak v obou matricích detekován eugenol (**51**). Jedinou karbonylovou sloučeninou, jež byla v matricích detekována byl cinnamaldehyd (**47**), jediným esterem pak bornyl-acetát (**49**). Stejně jako tomu bylo při HS-GC-MS analýze hřebíčkových matric, i v matricích skořicových byla detekována přítomnost *N*-butyl-benzensulfonamidu (**82**), který představuje látku kontaminující. Jedinou látkou, kterou se nepodařilo identifikovat byla sloučenina **74**.

Kromě výše uvedených sloučenin pak bylo ve skořici značky Vitana detekováno ještě dalších 12 sloučenin, a to konkrétně sloučeniny **12, 15, 18, 20, 24, 28, 30, 33, 38, 55, 60** a **65**. Velkou část těchto látek tvořily monoterpenické uhlovodíky, mezi něž patří α -thujen (**15**), sabinen (**18**), β -myrcen (**20**), α -terpinen (**24**), γ -terpinen (**30**) a α -terpinolen (**33**), ze seskviterpenů pak byly přítomny α -kubeben (**55**) a β -*cis*-farnesen (**65**). Dále byla ve skořici značky Vitana detekována přítomnost cinnamyl-acetátu (**60**), jenž se řadí mezi estery, eukalyptolu (**28**), který patří mezi ethery a v neposlední řadě rovněž bicyklický uhlovodík bicyklo[4.2.0]okta-1,3,5-trien (**12**). Poslední z detekovaných sloučenin (**38**) se nepodařilo identifikovat. Příklad chromatogramu získaného HS-GC-MS analýzou této skořicové matrice je uveden na **Obrázku 18**.



Obrázek 18. Chromatogram získaný HS-GC-MS analýzou skořice značky Vitana.

Ve skořici značky Koření od Antonína bylo kromě výše uvedených 16 sloučenin detekováno ještě 12 dalších sloučenin, jež se ve skořicové matici značky Vitana nevyskytovaly. Drtivá většina z těchto sloučenin patřila do skupiny seskviterpenů. Konkrétně se jednalo o δ -elemen (**52**), α -santalen (**63**), α -gurjunen (**70**) a α -amorfen (**71**). Z monoterpenů pak byly přítomny tricyklen (**14**) a D-limonen (**27**). Ze skupiny monoterpenických alkoholů byl přítomen pouze borneol (**37**), který byl mimo jiné detekován také ve skořicových extraktech obou značek, přičemž jeho intenzita byla ve všech extraktech velmi podobná. Zajímavostí tedy je, že ač byl borneol detekován ve všech extraktech skořice značky Vitana, při HS-GC-MS analýze této skořicové matice detekován nebyl. Poslední sloučeninou, jež se při HS-GC-MS analýze skořice značky Koření od Antonína podařilo identifikovat, je octan manganatý (**2**). Strukturu ostatních detekovaných sloučenin (**69**, **72**, **75** a **76**) se bohužel určit nepodařilo.

ZÁVĚR

V rámci předložené diplomové práce byl úspěšně stanoven obsah a zastoupení volných těkavých látek ve vybraných vzorcích hřebíčku a skořice dostupných na českém trhu, a to jak při použití, tak za vyloučení extrakce. Pro extrakci příslušných rostlinných matic byly použity dvě extrakční metody (destilace vodní parou a simultánní destilace-extrakce) a dva různé typy organických rozpouštědel (dichlormethan a hexan). Vyizolované esenciální oleje byly poté studovány pomocí metody GC-MS. Obě studované rostlinné matice byly rovněž analyzovány pomocí HS-GC-MS.

V extraktech, jež byly vyizolovány z hřebíčkových matic, bylo detekováno celkem 16 těkavých látek, přičemž v extraktech z hřebíčku značky Vitana byly detekovány všechny tyto sloučeniny, v extraktech z hřebíčku značky Koření od Antonína pak pouze 14 z nich. Sloučeninou, jež byla ve všech extraktech zastoupena nejhojněji, byl eugenol (51), následně pak acetyleugenol (67) a 4,11,11-trimethyl-8-methylenbicyklo[7.2.0]undec-4-en (64), který je jedním ze stereoisomerů β -karyofylenu. Nepodařilo se sice s určitostí prokázat, která z extrakčních metod byla pro izolaci hřebíčkových silic vhodnější, nicméně na základě vyššího počtu detekovaných sloučenin a/nebo jejich rozdílného zastoupení lze konstatovat, že pro izolaci hřebíčkových silic byl vhodnějším z použitých extrakčních rozpouštědel hexan.

V extraktech izolovaných ze skořicových matic bylo detekováno celkem 25 těkavých látek, přičemž počet sloučenin detekovaný v extraktech ze skořice značky Vitana a ze skořice značky Koření od Antonína byl shodný (22 sloučenin). Sloučeninou, jejíž množství dominovalo ve všech získaných extraktech, byl cinamaldehyd (47). Druhou nejhojněji zastoupenou sloučeninou pak představoval cinnamyl-acetát (60). Ve všech extraktech byla rovněž detekována přítomnost kumarinu (62), jehož přítomnost je pro skořici cassia typická. Na základě vyššího počtu detekovaných sloučenin se podařilo prokázat, že simultánní destilace-extrakce byla pro izolaci skořicových silic vhodnější extrakční metodou než destilace vodní parou, a to bez ohledu na typ použitého rozpouštědla. Na základě rozdílného zastoupení detekovaných sloučenin pak můžeme konstatovat, že pro izolaci skořicových silic pomocí destilace vodní parou byl dichlormethan vhodnějším extrakčním rozpouštědlem než hexan.

Rozdíl v kvalitativním zastoupení jednotlivých těkavých látek v daných rostlinných maticích se jasně prokázal při analýze studovaných vzorků koření metodou HS-GC-MS.

Z výsledků získaných analýzou hřebíčkových matric je patrné, že počet sloučenin detekovaných v hřebíčku značky Koření od Antonína byl vyšší (o 10 sloučenin) než tomu bylo v případě hřebíčku značky Vitana. Na základě tohoto zjištění tedy můžeme konstatovat, že hřebíček značky Koření od Antonína je kvalitnější matricí než hřebíček značky Vitana. Při analýze vzorků skořice pak byl u obou značek koření detekován shodný počet sloučenin (celkem 28 těkavých sloučenin), přičemž pouze 16 z nich bylo detekováno v obou značkách skořice současně. V případě skořice tedy můžeme konstatovat, že se nepodařilo s určitostí prokázat, která ze značek koření je kvalitnější.

Srovnáme-li pak výsledky analýz HS-GC-MS s GC-MS analýzami, kterým byly podrobeny vyizolované esenciální oleje, můžeme konstatovat, že metoda HS-GC-MS přináší v případě kvalitativní analýzy velmi uspokojivé výsledky, a to jak do počtu detekovaných, tak do počtu identifikovaných těkavých sloučenin. Procentuální shoda s knihovnou hmotnostních spekter NIST 02 byla v řadě případů často vyšší než shoda, jaké bylo dosahováno při identifikaci jednotlivých sloučenin ve vyizolovaných extraktech. Přihlédneme-li pak rovněž k časové nenáročnosti a výrazně menší pracnosti této metody, můžeme konstatovat, že HS-GC-MS byla pro analýzu těkavých látek přítomných v hřebíčku a skořici vhodnější analytickou metodou.

SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY

- [1] TISSERAND, Robert a Rodney YOUNG. Essential oil composition. In: *Essential Oil Safety* [online]. B.m.: Elsevier, 2014 [vid. 2022-02-14], s. 5–22. ISBN 978-0-443-06241-4. Dostupné z: doi:10.1016/B978-0-443-06241-4.00002-3
- [2] CLARKE, S. Families of compounds that occur in essential oils. In: *Essential Chemistry for Aromatherapy* [online]. B.m.: Elsevier, 2008 [vid. 2022-02-13], s. 41–77. ISBN 978-0-443-10403-9. Dostupné z: doi:10.1016/B978-0-443-10403-9.00003-0
- [3] DVOŘÁKOVÁ, Marcela, Irena VALTEROVÁ a Tomáš VANĚK. Monoterpeny v rostlinách. *Chemické listy*. 2011, **105**(11), 839–845.
- [4] GOŇI, María G., Sara I. ROURA, Alejandra G. PONCE a María R. MOREIRA. Clove (*Syzygium aromaticum*) Oils. In: *Essential Oils in Food Preservation, Flavor and Safety* [online]. B.m.: Elsevier, 2016 [vid. 2022-02-13], s. 349–357. ISBN 978-0-12-416641-7. Dostupné z: doi:10.1016/B978-0-12-416641-7.00039-0
- [5] NURDJANNAH, N. a N. BERMAWIE. Cloves. In: *Handbook of Herbs and Spices* [online]. B.m.: Elsevier, 2012 [vid. 2022-02-13], s. 197–215. ISBN 978-0-85709-039-3. Dostupné z: doi:10.1533/9780857095671.197
- [6] GROOT, Anton C. de a Erich SCHMIDT. *Essential Oils: Contact Allergy and Chemical Composition* [online]. B.m.: Routledge, 2021. ISBN 978-1-00-320435-0. Dostupné z: doi:10.1201/9781003204350
- [7] TISSERAND, Robert a Rodney YOUNG. Essential oil profiles. In: *Essential Oil Safety* [online]. B.m.: Elsevier, 2014 [vid. 2022-02-13], s. 187–482. ISBN 978-0-443-06241-4. Dostupné z: doi:10.1016/B978-0-443-06241-4.00013-8
- [8] KAMATOU, Guy P., Ilze VERMAAK a Alvaro M. VILJOEN. Eugenol—From the Remote Maluku Islands to the International Market Place: A Review of a Remarkable and Versatile Molecule. *Molecules* [online]. 2012, **17**(6), 6953–6981. ISSN 1420-3049. Dostupné z: doi:10.3390/molecules17066953
- [9] MARTĂU, Gheorghe Adrian, Lavinia-Florina CĂLINOIU a Dan Cristian VODNAR. Bio-vanillin: Towards a sustainable industrial production. *Trends in Food Science & Technology* [online]. 2021, **109**, 579–592. ISSN 09242244. Dostupné z: doi:10.1016/j.tifs.2021.01.059
- [10] KISHORE, D. a S. KANNAN. Isomerization of eugenol and safrole over MgAl hydrotalcite, a solid base catalyst Electronic supplementary information (ESI) available: Figs. S1 and S2: PXRD patterns. See <http://www.rsc.org/suppdata/gc/b2/b207865a/>. *Green Chemistry* [online]. 2002, **4**(6), 607–610. ISSN 14639262, 14639270. Dostupné z: doi:10.1039/b207865a
- [11] PROCOPIO, Fernanda Ramalho, Mariana Costa FERRAZ, Bruno Nicolau PAULINO, Paulo José DO AMARAL SOBRAL a Miriam Dupas HUBINGER. Spice oleoresins as value-added ingredient for food industry: Recent advances and perspectives. *Trends in Food Science & Technology* [online]. 2022, **122**, 123–139. ISSN 09242244. Dostupné z: doi:10.1016/j.tifs.2022.02.010
- [12] WEISS, E. A. *Essential oil crops*. Wallingford, Oxon, UK ; New York, NY, USA: CAB International, 1997. ISBN 978-0-85199-137-5.

- [13] THOMAS, J. a K. M. KURUVILLA. Cinnamon. In: *Handbook of Herbs and Spices* [online]. B.m.: Elsevier, 2012, s. 182–196. ISBN 978-0-85709-039-3. Dostupné z: doi:10.1533/9780857095671.182
- [14] CARDOSO-UGARTE, Gabriel A., Aurelio LÓPEZ-MALO a María E. SOSA-MORALES. Cinnamon (*Cinnamomum zeylanicum*) Essential Oils. In: *Essential Oils in Food Preservation, Flavor and Safety* [online]. B.m.: Elsevier, 2016, s. 339–347. ISBN 978-0-12-416641-7. Dostupné z: doi:10.1016/B978-0-12-416641-7.00038-9
- [15] PETER, K.V. a M.R. SHYLAJA. Introduction to herbs and spices: definitions, trade and applications. In: *Handbook of Herbs and Spices* [online]. B.m.: Elsevier, 2012 [vid. 2022-04-21], s. 1–24. ISBN 978-0-85709-039-3. Dostupné z: doi:10.1533/9780857095671.1
- [16] WANG, Yan-Hong, Bharathi AVULA, N. P. Dhammika NANAYAKKARA, Jianping ZHAO a Ikhlas A. KHAN. Cassia Cinnamon as a Source of Coumarin in Cinnamon-Flavored Food and Food Supplements in the United States. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* [online]. 2013, **61**(18), 4470–4476. ISSN 0021-8561, 1520-5118. Dostupné z: doi:10.1021/jf4005862
- [17] LI, Yan-qun, De-xin KONG a Hong WU. Analysis and evaluation of essential oil components of cinnamon barks using GC–MS and FTIR spectroscopy. *Industrial Crops and Products* [online]. 2013, **41**, 269–278. ISSN 09266690. Dostupné z: doi:10.1016/j.indcrop.2012.04.056
- [18] RAVINDRAN, P. N., K. NIRMAL BABU a M. SHYLAJA, ed. *Cinnamon and cassia: the genus Cinnamomum*. Boca Raton: CRC Press, 2004. Medicinal and aromatic plants--industrial profiles, v. 36. ISBN 978-0-415-31755-9.
- [19] ANDEVARI, Ghasem T. a Masoud REZAEI. Effect of gelatin coating incorporated with cinnamon oil on the quality of fresh rainbow trout in cold storage: Preservation of trout with Gelatin Coating. *International Journal of Food Science & Technology* [online]. 2011, **46**(11), 2305–2311. ISSN 09505423. Dostupné z: doi:10.1111/j.1365-2621.2011.02750.x
- [20] FERRAZ, Mariana Costa, Fernanda Ramalho PROCÓPIO, Guilherme DE FIGUEIREDO FURTADO, Amanda Maria Tomazini MUNHOZ MOYA, Cinthia Baú Betim CAZARIN a Miriam Dupas HUBINGER. Cinnamon and paprika oleoresin emulsions: A study of physicochemical stability and antioxidant synergism. *Food Research International* [online]. 2021, **150**, 110777. ISSN 09639969. Dostupné z: doi:10.1016/j.foodres.2021.110777
- [21] PROCÓPIO, Fernanda Ramalho, Vivian Boesso ORIANI, Bruno Nicolau PAULINO, Leonardo DO PRADO-SILVA, Glaucia Maria PASTORE, Anderson S. SANT’ANA a Miriam Dupas HUBINGER. Solid lipid microparticles loaded with cinnamon oleoresin: Characterization, stability and antimicrobial activity. *Food Research International* [online]. 2018, **113**, 351–361. ISSN 09639969. Dostupné z: doi:10.1016/j.foodres.2018.07.026
- [22] STRATAKOS, Alexandros Ch a Anastasios KOIDIS. Methods for Extracting Essential Oils. In: *Essential Oils in Food Preservation, Flavor and Safety* [online]. B.m.: Elsevier, 2016 [vid. 2022-02-13], s. 31–38. ISBN 978-0-12-416641-7. Dostupné z: doi:10.1016/B978-0-12-416641-7.00004-3
- [23] AZIZ, Zarith Asyikin Abdul, Akil AHMAD, Siti Hamidah Mohd SETAPAR, Alptug KARAKUCUK, Muhammad Mohsin AZIM, David LOKHAT, Mohd. RAFATULLAH,

Magdah GANASH, Mohammad A. KAMAL a Ghulam Md ASHRAF. Essential Oils: Extraction Techniques, Pharmaceutical And Therapeutic Potential - A Review. *Current Drug Metabolism* [online]. 2018, **19**(13), 1100–1110. ISSN 13892002. Dostupné z: doi:10.2174/1389200219666180723144850

[24] TONGNUANCHAN, Phakawat a Soottawat BENJAKUL. Essential Oils: Extraction, Bioactivities, and Their Uses for Food Preservation: Bioactivities and applications of essential oils.... *Journal of Food Science* [online]. 2014, **79**(7), R1231–R1249. ISSN 00221147. Dostupné z: doi:10.1111/1750-3841.12492

[25] MANDAL, Subhash C., Vivekananda MANDAL a Anup Kumar DAS. Classification of Extraction Methods. In: *Essentials of Botanical Extraction* [online]. B.m.: Elsevier, 2015 [vid. 2022-02-14], s. 83–136. ISBN 978-0-12-802325-9. Dostupné z: doi:10.1016/B978-0-12-802325-9.00006-9

[26] BUCKLE, Jane a Jane BUCKLE. *Clinical aromatherapy*. 2nd ed. Edinburgh ; New York: Churchill Livingstone, 2003. ISBN 978-0-443-07236-9.

[27] COOK, C.M. a T. LANARAS. Essential Oils: Isolation, Production and Uses. In: *Encyclopedia of Food and Health* [online]. B.m.: Elsevier, 2016 [vid. 2022-04-27], s. 552–557. ISBN 978-0-12-384953-3. Dostupné z: doi:10.1016/B978-0-12-384947-2.00261-0

[28] YOUSEFI, Mohammad, Mehdi RAHIMI-NASRABADI, Seied Mahdi POURMORTAZAVI, Marcin WYSOKOWSKI, Teofil JESIONOWSKI, Hermann EHRLICH a Somayeh MIRSADEGHI. Supercritical fluid extraction of essential oils. *TrAC Trends in Analytical Chemistry* [online]. 2019, **118**, 182–193. ISSN 01659936. Dostupné z: doi:10.1016/j.trac.2019.05.038

[29] ROOHINEJAD, Shahin, Mohamed KOUBAA, Francisco J. BARBA, Sze Ying LEONG, Anissa KHELFA, Ralf GREINER a Farid CHEMAT. Extraction Methods of Essential Oils From Herbs and Spices. In: *Essential Oils in Food Processing* [online]. B.m.: John Wiley & Sons, Ltd, 2017, s. 21–55. ISBN 978-1-119-14939-2. Dostupné z: doi:https://doi.org/10.1002/9781119149392.ch2

[30] ASBAHANI, A. El, K. MILADI, W. BADRI, M. SALA, E.H. Ait ADDI, H. CASABIANCA, A. El MOUSADIK, D. HARTMANN, A. JILALE, F.N.R. RENAUD a A. ELAISSARI. Essential oils: From extraction to encapsulation. *International Journal of Pharmaceutics* [online]. 2015, **483**(1–2), 220–243. ISSN 03785173. Dostupné z: doi:10.1016/j.ijpharm.2014.12.069

[31] POLLIEN, Philippe a Alain CHAINTREAU. Simultaneous Distillation–Extraction: Theoretical Model and Development of a Preparative Unit. *Analytical Chemistry* [online]. 1997, **69**(16), 3285–3292. ISSN 0003-2700, 1520-6882. Dostupné z: doi:10.1021/ac9701905

[32] CHAINTREAU, Alain. Simultaneous distillation-extraction: from birth to maturity – review. *Flavour and Fragrance Journal* [online]. 2001, **16**(2), 136–148. ISSN 0882-5734, 1099-1026. Dostupné z: doi:10.1002/ffj.967

[33] LIAO, Pei-Han, Hui-Hsien YANG, Pei-Chi WU, Noor Hidayat ABU BAKAR a Pawel L. URBAN. On-Line Coupling of Simultaneous Distillation–Extraction Using the Likens–Nickerson Apparatus with Gas Chromatography. *Analytical Chemistry* [online]. 2020, **92**(1), 1228–1235. ISSN 0003-2700, 1520-6882. Dostupné z: doi:10.1021/acs.analchem.9b04380

- [34] MASGHATI, Shima a Seyyed M. GHOREISHI. Supercritical CO₂ extraction of cinnamaldehyde and eugenol from cinnamon bark: Optimization of operating conditions via response surface methodology. *The Journal of Supercritical Fluids* [online]. 2018, **140**, 62–71. ISSN 08968446. Dostupné z: doi:10.1016/j.supflu.2018.06.002
- [35] GUAN, W, S LI, R YAN, S TANG a C QUAN. Comparison of essential oils of clove buds extracted with supercritical carbon dioxide and other three traditional extraction methods. *Food Chemistry* [online]. 2007, **101**(4), 1558–1564. ISSN 03088146. Dostupné z: doi:10.1016/j.foodchem.2006.04.009
- [36] LUQUE DE CASTRO, M.D. a F. PRIEGO-CAPOTE. Soxhlet extraction: Past and present panacea. *Journal of Chromatography A* [online]. 2010, **1217**(16), 2383–2389. ISSN 00219673. Dostupné z: doi:10.1016/j.chroma.2009.11.027
- [37] ZYGLER, A., M. SŁOMIŃSKA a J. NAMIEŚNIK. Soxhlet Extraction and New Developments Such as Soxtec. In: *Comprehensive Sampling and Sample Preparation* [online]. B.m.: Elsevier, 2012 [vid. 2022-04-29], s. 65–82. ISBN 978-0-12-381374-9. Dostupné z: doi:10.1016/B978-0-12-381373-2.00037-5
- [38] LÓPEZ-BASCÓN, M.A. a M.D. LUQUE DE CASTRO. Soxhlet Extraction. In: *Liquid-Phase Extraction* [online]. B.m.: Elsevier, 2020 [vid. 2022-02-13], s. 327–354. ISBN 978-0-12-816911-7. Dostupné z: doi:10.1016/B978-0-12-816911-7.00011-6
- [39] SARIKURKCU, Cengiz, Kadir ARISOY, Bektas TEPE, Ahmet CAKIR, Gulsah ABALI a Ebru METE. Studies on the antioxidant activity of essential oil and different solvent extracts of *Vitex agnus castus* L. fruits from Turkey. *Food and Chemical Toxicology* [online]. 2009, **47**(10), 2479–2483. ISSN 02786915. Dostupné z: doi:10.1016/j.fct.2009.07.005
- [40] HUIE, Carmen W. A review of modern sample-preparation techniques for the extraction and analysis of medicinal plants. *Analytical and Bioanalytical Chemistry* [online]. 2002, **373**(1–2), 23–30. ISSN 1618-2642, 1618-2650. Dostupné z: doi:10.1007/s00216-002-1265-3
- [41] GAVAHIAN, Mohsen a Asgar FARAHAKEY. Ohmic-assisted hydrodistillation technology: A review. *Trends in Food Science & Technology* [online]. 2018, **72**, 153–161. ISSN 09242244. Dostupné z: doi:10.1016/j.tifs.2017.12.014
- [42] MANOUCHEHRI, Roghaieh, Mohammad Jamal SAHARKHIZ, Akbar KARAMI a Mehrdad NIAKOUSARI. Extraction of essential oils from damask rose using green and conventional techniques: Microwave and ohmic assisted hydrodistillation versus hydrodistillation. *Sustainable Chemistry and Pharmacy* [online]. 2018, **8**, 76–81. ISSN 23525541. Dostupné z: doi:10.1016/j.scp.2018.03.002
- [43] TUNÇ, Merve Tuğçe a İlkey KOCA. Ohmic heating assisted hydrodistillation of clove essential oil. *Industrial Crops and Products* [online]. 2019, **141**, 111763. ISSN 09266690. Dostupné z: doi:10.1016/j.indcrop.2019.111763
- [44] DALLINGER, Doris a C. Oliver KAPPE. Microwave-Assisted Synthesis in Water as Solvent. *Chemical Reviews* [online]. 2007, **107**(6), 2563–2591. ISSN 0009-2665, 1520-6890. Dostupné z: doi:10.1021/cr0509410
- [45] LUCCHESI, Marie E., Jacqueline SMADJA, Steven BRADSHAW, Willem LOUW a Farid CHEMAT. Solvent free microwave extraction of *Elletaria cardamomum* L.: A multivariate study of a new technique for the extraction of essential oil. *Journal of Food*

Engineering [online]. 2007, **79**(3), 1079–1086. ISSN 02608774. Dostupné z: doi:10.1016/j.jfoodeng.2006.03.029

[46] LUCCHESI, Marie E, Farid CHEMAT a Jacqueline SMADJA. Solvent-free microwave extraction of essential oil from aromatic herbs: comparison with conventional hydro-distillation. *Journal of Chromatography A* [online]. 2004, **1043**(2), 323–327. ISSN 00219673. Dostupné z: doi:10.1016/j.chroma.2004.05.083

[47] LUCCHESI, Marie Elisabeth, Farid CHEMAT a Jacqueline SMADJA. An original solvent free microwave extraction of essential oils from spices. *Flavour and Fragrance Journal* [online]. 2004, **19**(2), 134–138. ISSN 0882-5734, 1099-1026. Dostupné z: doi:10.1002/ffj.1274

[48] FILLY, Aurore, Xavier FERNANDEZ, Matteo MINUTI, Francesco VISINONI, Giancarlo CRAVOTTO a Farid CHEMAT. Solvent-free microwave extraction of essential oil from aromatic herbs: From laboratory to pilot and industrial scale. *Food Chemistry* [online]. 2014, **150**, 193–198. ISSN 03088146. Dostupné z: doi:10.1016/j.foodchem.2013.10.139

[49] WANG, Ziming, Lan DING, Tiechun LI, Xin ZHOU, Lu WANG, Hanqi ZHANG, Li LIU, Ying LI, Zhihong LIU, Hongju WANG, Hong ZENG a Hui HE. Improved solvent-free microwave extraction of essential oil from dried *Cuminum cyminum* L. and *Zanthoxylum bungeanum* Maxim. *Journal of Chromatography A* [online]. 2006, **1102**(1–2), 11–17. ISSN 00219673. Dostupné z: doi:10.1016/j.chroma.2005.10.032

[50] JEYARATNAM, Nitthiyah, Abdurahman Hamid NOUR, Ramesh KANTHASAMY, Azhari Hamid NOUR, A.R. YUVARAJ a John Olabode AKINDOYO. Essential oil from *Cinnamomum cassia* bark through hydrodistillation and advanced microwave assisted hydrodistillation. *Industrial Crops and Products* [online]. 2016, **92**, 57–66. ISSN 09266690. Dostupné z: doi:10.1016/j.indcrop.2016.07.049

[51] CLARKE, S. Analytical techniques. In: *Essential Chemistry for Aromatherapy* [online]. B.m.: Elsevier, 2008 [vid. 2022-02-13], s. 95–114. ISBN 978-0-443-10403-9. Dostupné z: doi:10.1016/B978-0-443-10403-9.00005-4

[52] OPEKAR, František, Ivan JELÍNEK, Petr RYCHLOVSKÝ a Zbyněk PLZÁK. *Základní analytická chemie pro studenty, pro než analytická chemie není hlavním studijním oborem*. Praha: Karolinum, 2003. ISBN 978-80-246-0553-1.

[53] ZÁRUBA, Kamil a KOLEKTIV. *Analytická chemie (1. díl)*. Praha: Vysoká škola chemicko-technologická v Praze, 2016. ISBN 978-80-7080-950-1.

[54] KARLÍČEK, Rolf a KOLEKTIV. *Analytická chemie pro farmaceuty*. Praha: Karolinum, 2013. ISBN 978-80-246-2202-6.

[55] KŘÍŽEK, Martin a Jan ŠÍMA. *Analytická chemie*. České Budějovice: Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích, Zemědělská fakulta, 2015. ISBN 978-80-7394-486-5.

[56] ŠTULÍK, Karel a KOLEKTIV. *Analytické separační metody*. Praha: Karolinum, 2004. ISBN 978-80-246-0852-5.

[57] MIROŠOVÁ, Pavla. *Stanovení těkavých látek ve vybraných typech nefermentovaných čajů metodou GC-MS*. Zlín: Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně, Fakulta technologická, 2012.

- [58] JIRÁŇOVÁ, Aneta. *Kvalita silic rostlin rodu Mentha a Eucalyptus dostupných v České republice*. Zlín: Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně, Fakulta technologická, 2020.
- [59] RETOVÁ, Lucie. *Studium parametrů levandulového oleje*. Zlín: Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně, Fakulta technologická, 2020.
- [60] SRIVASTAVA, A. K., S. K. SRIVASTAVA a K. V. SYAMSUNDAR. Bud and leaf essential oil composition of *Syzygium aromaticum* from India and Madagascar. *Flavour and Fragrance Journal* [online]. 2005, **20**(1), 51–53. ISSN 0882-5734, 1099-1026. Dostupné z: doi:10.1002/ffj.1364

SEZNAM POUŽITÝCH SYMBOLŮ A ZKRATEK

DCM	dichlormethan
GC	plynová chromatografie
GC-FID	plynová chromatografie s plamenově ionizační detekcí
GC-MC	plynové chromatografie s hmotnostně-spektrometrickou detekcí
HD	hydrodestilace
HS-GC-MS	plynová chromatografie s hmotnostně-spektrometrickou detekcí využívající dávkování vzorku pomocí headspace
HX	hexan
IS	interní standard
LC-MS	kapalinová chromatografie s hmotnostně-spektrometrickou detekcí
MAE	mikrovlnami asistovaná extrakce
MAHD	mikrovlnami asistovaná hydrodestilace
MS	hmotnostní spektrometrie
<i>m/z</i>	hmotnost iontu ku velikosti náboje
OAHD	ohmická hydrodestilace
SD	destilace vodní parou
SDE	simultánní destilace-extrakce
SFE	superkritická fluidní extrakce
SFME	mikrovlnami asistovaná extrakce za vyloučení rozpouštědla
UAE	ultrazvukem asistovaná extrakce

SEZNAM OBRÁZKŮ

Obrázek 1. Vybrané sloučeniny přítomné v hřebíčku a jejich průměrné procentuální zastoupení. [7].....	14
Obrázek 2. Schéma syntézy vanilinu z eugenolu. [9]	15
Obrázek 3. Vybrané sloučeniny přítomné ve skořici a jejich průměrné procentuální zastoupení. [7].....	18
Obrázek 4. Vybrané sloučeniny přítomné v cassii a jejich procentuální zastoupení. [7]...	20
Obrázek 5. Schematické znázornění hydrodestilační aparatury. [29]	25
Obrázek 6. Schematické znázornění aparatury pro destilaci vodní parou. [29].....	26
Obrázek 7. Likensonova-Nickersonova aparatura. [32].....	27
Obrázek 8. Aparatura pro SFME. [29]	33
Obrázek 9. Přehled vybraných sloučenin přítomných v koptském a římském kmínu.	34
Obrázek 10. Schematický náčrt plynového chromatografu. [51]	37
Obrázek 11. Zakoupené vzorky koření.	46
Obrázek 12. Teplotní program na chromatografické koloně během analýzy GC-MS.....	48
Obrázek 13. GC-MS analýza interního standardu; (a) chromatogram získaný GC-MS analýzou benzofenonu, (b) hmotnostní spektrum benzofenonu a návrh jeho fragmentace. 61	61
Obrázek 14. Chromatogram získaný GC-MS analýzou esenciálního oleje z hřebíčku značky Koření od Antonína extrahovaného pomocí SD v kombinaci s hexanem.	68
Obrázek 15. Chromatogram získaný GC-MS analýzou esenciálního oleje ze skořice značky Vitana extrahovaného pomocí SDE v kombinaci s dichlormethanem.	74
Obrázek 16. Chromatogram získaný GC-MS analýzou esenciálního oleje ze skořice značky Koření od Antonína extrahovaného pomocí SD v kombinaci s dichlormethanem.	78
Obrázek 17. Chromatogram získaný HS-GC-MS analýzou hřebíčku značky Koření od Antonína.....	81
Obrázek 18. Chromatogram získaný HS-GC-MS analýzou skořice značky Vitana.	83

SEZNAM TABULEK

Tabulka 1. Přehled hlavních tříd sloučenin přítomných v esenciálních olejích. [1, 2]	11
Tabulka 2. Přehled použitých rostlinných matic.....	45
Tabulka 3. Seznam všech identifikovaných těkavých látek.....	53
Tabulka 4. Zastoupení těkavých látek detekovaných metodou GC-MS v hřebíčkových extraktech. ^a	63
Tabulka 5. Přítomnost těkavých látek detekovaných metodou GC-MS v hřebíčkových extraktech v jednotlivých extrakcích.	64
Tabulka 6. Zastoupení těkavých látek detekovaných metodou GC-MS ve skořicových extraktech. ^a	70
Tabulka 7. Přítomnost těkavých látek detekovaných metodou GC-MS ve skořicových extraktech v jednotlivých extrakcích.	71

SEZNAM PŘÍLOH

Příloha P I: Hmotnostní spektra vybraných těkavých sloučenin

PŘÍLOHA P I: HMOTNOSTNÍ SPEKTRA VYBRANÝCH TĚKAVÝCH SLOUČENIN

