

Kvalita silic rostlin rodu *Mentha* a *Eucalyptus* dostupných v České republice

Bc. Aneta Jiráňová

Diplomová práce
2020



Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně
Fakulta technologická

Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně
Fakulta technologická
Ústav technologie tuků, tenzidů a kosmetiky
Akademický rok: 2019/2020

ZADÁNÍ DIPLOMOVÉ PRÁCE

(projektu, uměleckého díla, uměleckého výkonu)

Jméno a příjmení: **Bc. Aneta Jiráňová**
Osobní číslo: **T18296**
Studijní program: **N2901 Chemie a technologie potravin**
Studijní obor: **Technologie tuků, detergentů a kosmetiky**
Forma studia: **Prezenční**
Téma práce: **Kvalita silic rostlin rodů *Mentha* a *Eucalyptus* dostupných v České republice**

Zásady pro vypracování

Student rozpracuje v práci následující teoretická témata:

1. Základní botanika rodů *Mentha* a *Eucalyptus*
2. Běžné esenciální oleje rodu *Mentha*
3. Běžné esenciální oleje rodu *Eucalyptus*
4. Izolační technologie pro daný typ rostlin
5. Stávající analytické metody sloužící k analýze esenciálních olejů

Informace z teoretického studia využije student pro charakterizaci vzorků olejů rodů *Mentha* a *Eucalyptus*:

1. Vzorky silic budou porovnány optickými metodami ? refraktometrie a polarimetrie.
2. Pro analyzované vzorky budou vybrány a otestovány nejvhodnější parametry nastavení plynového chromatografu vybaveného nepolární případně polární kolonou.
3. Pro získané nejvhodnější nastavení přístroje, bude provedena kalibraci retenčních časů známými konstituenty silic.
4. Zvolenou metodou budou analyzovány dostupné silice z českého trhu a získané data porovnána mezi sebou a literárními zdroji.

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

Seznam doporučené literatury:

- TISSERAND, Robert a Rodney YOUNG. *Essential oil safety: a guide for health care professionals*. Second edition. Edinburgh: Elsevier, 2013. ISBN 978-0-4430-6241-4.
- BASER, K. H. C. a Gerhard. BUCHBAUER. *Handbook of essential oils: science, technology, and applications*. Boca Raton, c2010. ISBN 978-1-4200-6315-8.
- PADALIA, Rajendra C., VERMA, Ram S., CHAUHAN, Amit a Velusamy SUNDARESAN. Essential oil composition of sixteen elite cultivars of Mentha from western Himalayan region, India. *Maejo International Journal of Science and Technology*. 2013, 7(1), 83-93. DOI: 10.14456/mijst.2013.7.
- DO, Thi Kieu Tien, HADJI-MINAGLOU, Francis, ANTONIOTTI Sylvain a Xavier FERNANDEZ. Authenticity of essential oils. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*. 2015, 66, 146-157. DOI: 10.1016/j.trac.2014.10.007.
- SOUTHWELL, Ian. Eucalyptus leaf oils: Use, chemistry, distillation and marketing. *Phytochemistry*. 1992, 31(6). DOI: 10.1016/0031-9422(92)80403-2.

Vedoucí diplomové práce: **Ing. Ondřej Rudolf, Ph.D.**
Ústav technologie tuků, tenzidů a kosmetiky

Datum zadání diplomové práce: **2. ledna 2020**
Termín odevzdání diplomové práce: **15. května 2020**

L.S.

prof. Ing. Roman Čermák, Ph.D.
děkan

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

Ve Zlíně dne 20. února 2020

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 užit 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

Obsahem teoretické části diplomové práce byla botanika rodů *Mentha* a *Eucalyptus*. Stěžejní část tvoří popis esenciálních olejů s důrazem na jejich chemické složení. Další kapitoly teoretické práce se zabývají problematikou izolace esenciálních olejů a jejich chemickou analýzou.

V praktické části diplomové práce je zpracována chemická analýza vzorků esenciálních olejů rodu *Mentha* a *Eucalyptus* pomocí plynové chromatografie s FID detektorem. Vzorky olejů byly zakoupeny na českém trhu. Z analýz vyplývá, že v esenciálních olejích rodu *Eucalyptus* je největší zastoupení 1,8-cineolu, limonenu, α -pinenu. Výjimkou je olej z *E. citriodora*, kde je nejvíce zastoupen citronellol. Např. u *E. globulus* by podle ISO normy 770:2002 měl být obsah 1,8-cineolu 60–80 % a u *E. citriodora* by podle ISO 3044:1997 měl být obsah citronellolu mezi 75–100 %. A bylo zjištěno, že obsah 1,8-cineolu v *E. globulus* se pohybuje v rozmezí od 62–80 % a obsah citronellolu je v rozmezí od 54–67 %

U esenciálních olejů rodu *Mentha* je v největší míře zastoupen menthol a menthon, dalšími komponenty jsou například limonen, isomenthol nebo methyl-acetát. Podle ISO 856:2006 by v oleji z máty peprné měl být obsah mentolu mezi 32–49 % a mentholu 13–28 %. Výjimku tvoří olej z máty klasnaté, kde největší podíl tvoří karvon a podle ISO 3033-1:2005 by jeho obsah měl být mezi 57–84 %. V tomto případě bylo zjištěno, že obsah mentholu v mátě peprné se pohybuje v rozmezí od 33–50 % a obsah menthonu je od 18–21 %. A obsah karvonu v mátě klasnaté je v rozmezí od 28–46 %

Klíčová slova: Esenciální olej, *Mentha*, *Eucalyptus*, plynová chromatografie, citronellol, cineol, menthol, menthon.

ABSTRACT

The content of the theoretical part of the diploma thesis is the botany of the genera *Mentha* and *Eucalyptus*. The main part is a description of essential oils and their chemical composition. Other chapters of the theoretical part deal with the isolation of essential oils and their chemical analysis.

In the experimental part of the diploma thesis, a chemical analysis of the samples from essential oils of the genera *Mentha* and *Eucalyptus* is processed using gas chromatography with a FID detector. All oil samples were purchased on the Czech market. The analyses show that the essential oils of the genus *Eucalyptus* have the largest proportion of 1,8-cineole, limonene and α -pinene. An exception is the oil from *E. citriodora*, where citronellol is most represented. For example, according to ISO standard 770:2002, the content of 1,8-cineole in *E. globulus* should be 60–80 % and, according to ISO 3044:1997, the content of citronellol in *E. citriodora* should be between 70–100 %. The content of 1,8-cineole in *E. globulus* was found to be in the range of 62–80 % and the representation of citronellol in *E. citriodora* in the range of 54–67 %.

Menthol and menthone are the most represented in essential oils of the genus *Mentha*. Other components are, for example, limonene, isomenthol or methyl acetate. According to ISO 856:2006, peppermint oil should contain 32–49 % of menthol and 13–28 % of menthone. An exception is the oil from the spearmint, where the carvon is most represented and, according to ISO 3033-1:2005, its content should be between 57–84 %. In this case, it was found that the content of menthol in peppermint oil ranges from 33–50 % and the menthone content ranges from 18–21 %. The content of carvone in spearmint is in the range of 28–46 %.

Keywords: Essential oil, *Mentha*, *Eucalyptus*, Gas chromatography citronellol, cineol, menthole, menthone

Chtěla bych moc poděkovat svému vedoucímu, panu Ing. Ondřeji Rudolfovi, Ph.D. za cenné rady, odborné vedení a čas, který mi věnoval. A hlavně za obrovskou trpělivost kterou se mnou měl. Další obrovské díky patří mým rodičům, hlavně mé nejlepší mamince, za neustálou podporu kterou mi dávali po celou dobu studia, dále přátelům a celé rodině.

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

OBSAH

ÚVOD.....	10
I TEORETICKÁ ČÁST	11
1 ZÁKLADNÍ BOTANIKA RODŮ <i>MENTHA</i> A <i>EUCALYPTUS</i>.....	12
1.1 MENTHA.....	12
1.2 EUCALYPTUS.....	15
2 TECHNOLOGIE IZOLACE ESENCIÁLNÍCH OLEJŮ.....	17
2.1 DESTILACE VODNÍ PAROU.....	17
2.2 METODA VAKUOVÉ DESTILACE	19
2.3 HYDRODESTILACE.....	19
2.4 EXTRAKCE	19
2.5 LISOVÁNÍ	20
3 STÁVAJÍCÍ ANALYTICKÉ METODY SLOUŽÍCÍ K ANALÝZE ESENCIÁLNÍCH OLEJŮ.....	21
3.1 PLYNOVÁ CHROMATOGRFIE (GC).....	26
3.2 KAPALINOVÁ CHROMATOGRFIE (HPLC)	32
4 ESENCIÁLNÍ OLEJE.....	33
4.1 BĚŽNÉ ESENCIÁLNÍ OLEJE RODU <i>MENTHA</i>	33
4.1.1 Chemické složení esenciálních olejů	35
4.2 BĚŽNÉ ESENCIÁLNÍ OLEJE RODU <i>EUCALYPTUS</i>	36
4.2.1 Chemické složení esenciálních olejů	37
II PRAKTICKÁ ČÁST	41
5 ÚVOD	42
6 PŘÍSTROJE, MATERIÁL, POMŮCKY	43
6.1 POMŮCKY.....	44
6.2 CHEMIKÁLIE.....	46
6.3 VZORKY ESENCIÁLNÍCH OLEJŮ	47
6.3.1 Příprava vzorků	48
7 VÝVOJ METOD K CHROMATOGRFICKÉ ANALÝZE	49
7.1 METODA A.....	49
7.2 METODA B.....	49
7.3 METODA C	50
7.4 METODA D.....	50
8 AKTIVNÍ SLOUČENINY V RŮZNÝCH ESENCIÁLNÍCH OLEJÍCH.....	51
9 VÝSLEDKY A DISKUZE.....	53

9.1	MĚŘENÍ INDEXU LOMU	53
9.2	VYHODNOCENÍ METODY A – <i>EUCALYPTUS</i>	55
9.3	VYHODNOCENÍ METODY A – <i>MENTHA</i>	61
9.4	VYHODNOCENÍ METODY D – <i>EUCALYPTUS</i>	65
9.5	VYHODNOCENÍ METODY D – <i>MENTHA</i>	69
ZÁVĚR		73
SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY.....		75
SEZNAM POUŽITÝCH SYMBOLŮ A ZKRATEK.....		82
SEZNAM OBRÁZKŮ		83
SEZNAM TABULEK.....		84
SEZNAM PŘÍLOH.....		86

ÚVOD

Esenciální oleje jsou směsi těkavých látek. Mají široké uplatnění od potravinářského průmyslu, farmacie, parfumářství až po kosmetický průmysl. Mají velký význam v aromaterapii, mátové i eukalyptové esenciální oleje jsou vhodné při léčbě nachlazení a rýmy, mají uvolňující účinky. Máta vykazuje i antimikrobiální, antioxidační, cytotoxické a některé druhy máty i protinádorové účinky. Eukalyptové oleje mají analgetické účinky, pomáhají od bolesti svalů., velice dobře fungují jako odpuzovače proti hmyzu.

Eukalyptvé oleje jsou bohaté na 1,8-cineol, limonen, α -pinen a mnoho dalších, zatímco mátové jsou bohaté na menthol, menthon, limonen, linalyl-acetát, karvon a další. Tyto oleje se získávají z čerstvých, polosuchých nebo suchých listů rostliny a to především destilací vodní parou, případně hydrodestilací nebo destilací za vakua. Pro tento typ oleje se nepoužívá lisování, to se využívá spíše pro např. citrusové esenciální oleje a ani použití extrakce k izolaci není typické.

Cílem této práce bylo provést analýzu jednotlivých vzorků olejů rodu *Mentha* a *Eucalyptus* za účelem identifikace jednotlivých analytů v olejích. K tomuto úkolu nám posloužili vzorky esenciálních olejů *Mentha* a *Eucalyptus* od výrobců Nobilis Tilia s.r.o., BEWIT FRANCHISE s.r.o., Saloos naturcosmetic s.r.o. (Míča a Harasta s.r.o.), Aromaterapeutická KH a.s. (Karel Hádek), Phytos Natur CZ s.r.o. a Český národní podnik s.r.o. (Manufaktura).

I. TEORETICKÁ ČÁST

1 ZÁKLADNÍ BOTANIKA RODŮ *MENTHA* A *EUCALYPTUS*

1.1 *Mentha*

Tato rostlina je známá již od středověku. Jednalo se však o jiné druhy, než které známe dnes. K rozšíření této byliny přispělo mezidruhovému vyšlechtění máty peprné v 17. století v Anglii [1]. Máta obecně roste v mírném klimatickém pásmu na celém světě. Často se také pěstuje v zemích východní Asie, Evropy a Austrálie. Tato rostlina se využívá hlavně pro výrobu esenciálního oleje. [2] Máta se řadí do čeledi *Lamiaceae* (*syn. Labiatae*). Máta má vysokou genetickou rozmanitost, díky tomu existuje spousta kříženců mezi druhy. Přirozené mezidruhové křížení se vyskytuje v sekci *Mentha* jak u volně žijících populací, tak při pěstování. [3] Tato čeleď obsahuje více jak 232 rodů a přibližně 7 200 druhů. Máta v této čeledi zahrnuje zhruba 25 až 30 druhů. [4] [5] [6] Jiná literatura uvádí, že v současné době, existuje 18 druhů máty a 11 jejich kříženců. Mezi „pravé“ máty můžeme zařadit například mátu klasnatou dlouholistou, obecnou rolní a vodní. Mezi její křížence můžeme zařadit mátu peprnou, která je křížencem máty klasnaté a vodní a využívá se ze všech druhů nejvíce, dále sem patří máta hebká, jemná, dalmatská, křovistní a přeslenitá. [7] Komerčně jsou nejvíce využívané druhy máta peprná (*Mentha piperita*) a máta (*Mentha spicata*), máta kukuřičná (*Mentha canadensis*) se pěstuje pouze pro produkci esenciálního oleje. Tyto dva komerčně využívané typy jsou bohaté hlavně na menthol a menthon, zatímco máta peprná je bohatá hlavně na L-karvon a pěstuje se v mnoha zemích jako koření. [8] [9]

Máta se řadí mezi aromatické vytrvalé rostliny. Má dřevnatý oddenek, podzemní i nadzemní výběžky a čtyřhranné lodyhy, které mohou být až 80 cm vysoké. Tvar listů je oválný až kopinatý a květ je pětizubý, kdy jejich kalich má řasnaté okraje. [2] Svědčí jí spíše polostín než přímý sluneční svit. [1] [7] Obsahuje mnoho silic. Jejich obsah kolísá se stářím rostliny, ale záleží i na tom, zda je den nebo noc a jak velké jsou listy a na počtu žláz. [7] Mátám svědčí spíše polostín než přímý sluneční svit. [1] Tato bylina vyžaduje půdu bohatou na humus, ne jílovitou a příliš mokrou, ale ani velké sucho jí nesvědčí. Hodnota pH půdy by měla být ideálně mezi 6,2 až 7. Pokud chceme získat lepší a kvalitnější složení silic, pak je vhodné mátu pěstovat v chladnějších, výše položených oblastech, kde se jí i lépe daří.

Tato bylina je léčivá a využívají se z ní buď čerstvé, nebo sušené listy rostliny. Má blahodárné účinky na trávení, v kuchyni zlepšuje chuť a vůni pokrmů a pití a má také protizánětlivý účinek. [1] Máta vykazuje antimikrobiální, antioxidační a cytotoxické účinky. Mezi potenciální kandidáty s těmito účinky patří například druhy *Mentha arvensis*, *Mentha*

piperita, *Mentha longifolia* a *Mentha spicata*. Tato biologická aktivita se přisuzuje některým chemickým složkám jako je menthon, linalool a kafr. Chemické složení rostlin je dále ovlivněno několika vnějšími faktory, jako je klima. Protože chemické složení některých rostlin se mění v závislosti na ročním období. To znamená, že stejná rostlina sklizená v různých obdobích, může obsahovat různé sloučeniny. Dokonce i nové s různou biologickou aktivitou. [2]

Některé druhy vykazují protinádorové účinky, což pravděpodobně znamená přítomnost fytosterolu, fenolických sloučenin a nenasycených mastných kyselin. [3]

Je to rostlina, která je součástí tradiční východní i západní medicíny. Historie jejích léčivých účinků sahá až do období starověkého Egypta, Řecka a Říma. [10] [11]

Tab. 1. Přehled druhů máty a jejich využití upraveno dle [14] 12



Obr. 1. Máta peprná [12]



Obr. 2. Máta klasnatá [13]

Tab. 1. Přehled druhů máty a jejich využití upraveno dle [14]

	Botanický název	Využití
Máta jablečná	<i>Mentha x rotunifolia</i>	Ovocné saláty, dezerty, čaje, jemná ovocná vůně
Máta bazalková	<i>Mentha spec</i>	Koření do salátů, mírně pepřná chuť, mátová
Máta bergamotová	<i>Mentha x piperita var. citrata</i>	směsi s černými čaji, vůně připomíná čaj Earl Grey
Máta klasnatá - black spearmint	<i>Mentha spicata</i>	Dezerty, čaje, likéry, intenzivní "žvýkačková" vůně
Máta zázvorová	<i>Mentha x gracilis</i>	Ozdoba dezertů, aromatická, pikantní
Máta kadeřavá	<i>Mentha spicata var. Crispa</i>	čaje, na výroba esenciálního oleje, intenzivní vůně
Máta levandulová	<i>Mentha spec.</i>	Dezerty, koupele při nachlazení, jemná ovocná vůně
Máta citronová	<i>Mentha x piperita var. Citrata</i>	Dezerty, míchané nápoje, svěží ovocná vůně
Máta marocká	<i>Mentha spicata</i>	Čaje, sladká, chladná, osvěžující vůně
Máta multimenta	<i>Mentha spec.</i>	Čaje, silná vůně
Máta <i>memorosa</i>	<i>Mentha spec.</i>	Čerstvé listy do long drinků, intenzivní vůně
Máta proserpina	<i>Mentha x piperita var. Piperita</i>	Čaje, velké výnosy, intenzivní vůně
Máta ruská	<i>Mentha spec.</i>	Čaje, ostrá intenzivní vůně
Máta Thai Bai Saranae	<i>Mentha spec.</i>	Koření do asijských masových pokrmů, silná aromatická vůně obsahující metol

1.2 Eucalyptus

Eukalyptus je původem z Austrálie, nicméně jeho několik druhů pochází ze sousedních zemí. Roste v široké škále půd a podnebí. [15] Eukalyptus roste v deštném pralese ale i v horách. [16] Proto se dnes pěstuje v Austrálii, Španělsku, Portugalsku, severní a jižní Africe, Asii a jižní Evropě. Mezidruhový kříženci se pěstují v Brazílii, Kongu, Číně, Indonésii a Jižní Africe a malé plantáže jsou na Filipínách, ve Vietnamu, Thajsku, Malajsii a v Jižní Americe (Argentina, Chile, Paraguay a Uruguay). Existuje přibližně 700 druhů po celém světě a pouze asi 1 % se používá pro průmyslové účely. [15] [17] Jiný zdroj uvádí, že existuje kolem 800 druhů eukalyptů. Eukalypty se používají jako stavební dřevo, palivo a jsou významným zdrojem esenciálních olejů. [13]

Eukalypty obsahují uhlovodíky terpenoidní povahy. Díky chemickému složení je lze rozdělit na léčivé, průmyslově zajímavé a pro výrobu parfémů, zubních past a kloktadel. [13] [17]

Eucalyptus citriodora

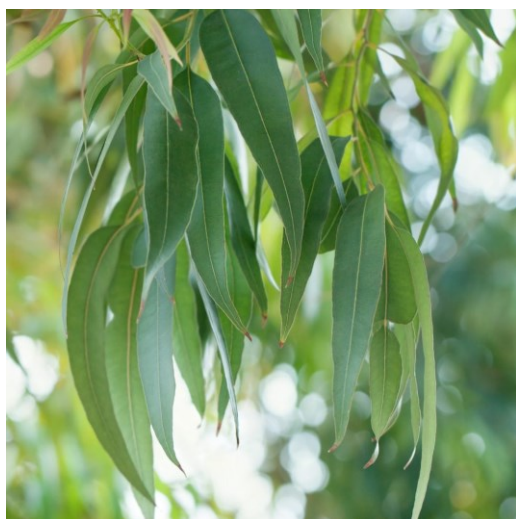
Tento druh se vyznačuje citronovou vůní a je jedním z nejznámějších druhů. Široce se pěstuje v Austrálii, ale i jinde ve světě. V Austrálii se mu daří i v zimě, tedy v období dešťů. Strom je velmi vysoký s hladkou kůrou. Při drcení listů je cítit citronová vůně. *Eucalyptus citriodora* je vzhledem podobný *E. maculata* a *E. henryi*. [16]

Eucalyptus globulus

Je to jeden z nejrozšířenějších druhů na světě. Je hlavním zdrojem eukalyptového oleje na světě. Pro tyto účely se pěstuje v Číně, Španělsku, Portugalsku, Indii, Argentině, Brazílii a v Chile. Stejně jako *E. citriodora* je tento strom vysoký a většinou má hladkou kůru. Má však typické listy, podle kterých se *E. globulus* pozná. Listy jsou konkávní a přisedlé. V současné době existují čtyři poddruhy *E. globulus*. Z nich jeden subsp. *globulus* z Tasmánie a jižního pobřeží Viktorie je hlavním druhem, který se pěstuje i v jiných zemích. [16] Esenciální olej z *E. globulus* má silné antimikrobiální účinky, zejména proti *Streptococcus pyogenes*, *Escherichia coli*, *Candida albicans* a *Staphylococcus aureus*. [19]

Tab. 2. Příklady pěstovaných druhů *Eucalyptus* a jejich použití upraveno dle [15]

Použití	Druh	Země původu
Medicína	<i>Eucalyptus globulus</i>	Čína, Portugalsko, Španělsko, India, Brazílie, Chile, Bolívie, Uruguay, Paraguay
	<i>E. smithii</i>	Jižní Afrika, Svazilsko, Zimbabwe
	<i>E. polybractea</i> (syn. <i>E. fruticetorum</i>)	Austrálie
	<i>E. exserta</i>	Čína
	<i>E. radiata</i> (<i>E. australiana</i> , <i>E. radiata</i> var. <i>Australiana</i>)	Jižní Afrika, Austrálie
	<i>E. dives</i>	Austrálie
Parfumářství	<i>E. citriodora</i>	Čína, Brazílie, Indie
	<i>E. staigeriana</i>	Brazílie

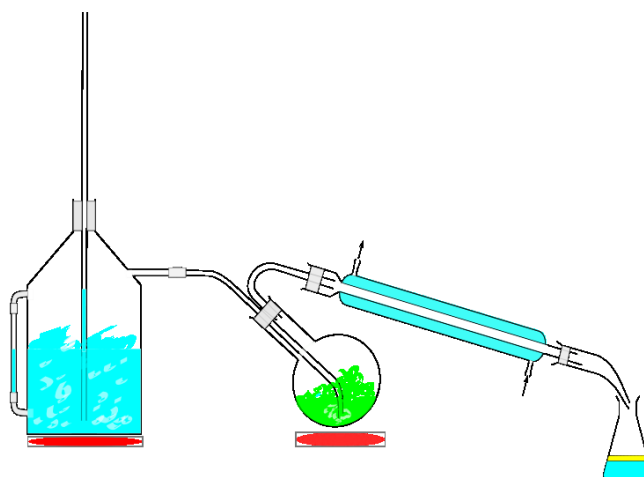
Obr. 3. *Eucalyptus globulus* [20]Obr. 4. *Eucalyptus citriodora* [21]

2 TECHNOLOGIE IZOLACE ESENCIÁLNÍCH OLEJŮ

Esenciální oleje jsou sekundární metabolity produkované rostlinami například v reakci na stres, infekci nebo parazitární nákazu, ale i jako výsledek přirozeného metabolismu. [22] [23]

2.1 Destilace vodní parou

Rostlinný materiál je umístěn v baňce a vodní parou dojde k odpařování těkavého oleje. Tento způsob je podobný hydrodestilaci, ale destilací vodní parou se získává vyšší výtěžek oleje. [24]



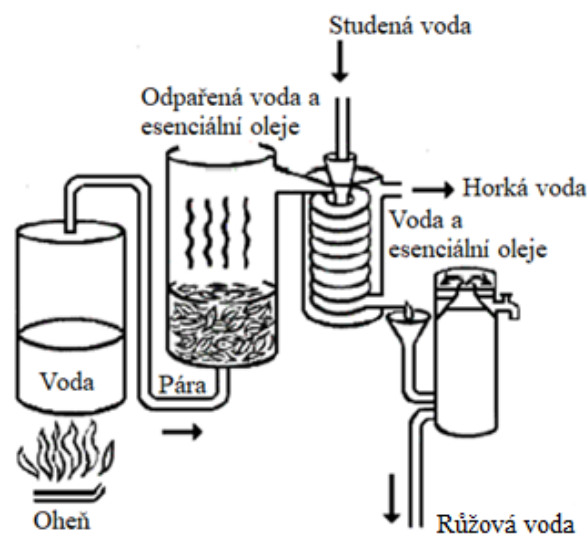
Obr. 5. Průmyslové schéma destilace vodní parou [25]

Přímá destilace

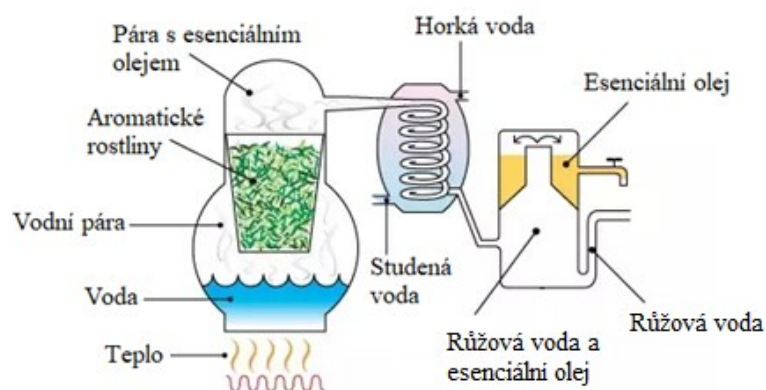
Vzorek připravený k destilaci je v baňce s kulatým dnem a je rozpuštěn ve vodě. Tento vzorek je zahříván přímo, za stálého míchání. Problém u přímé destilace může nastat, pokud dojde k připálení vzorku použitím velkého tepla. Metoda přímé destilace se využívá spíše pro potraviny. Zde můžou nastat další problémy způsobené pěněním potraviny, díky přítomnosti povrchově aktivních látek. K odstranění pěnění se používají odpěňovače, které tomuto problému mohou zabránit. Avšak ty jsou obvykle obsažené v destilátu. Což ukazuje následná analýza pomocí GC-MS. [26]

Nepřímá destilace

Tento způsob destilace má oproti přímé destilaci několik výhod. Nepřímá destilace je rychlejší, dochází k menšímu rozkladu vzorku, jelikož vzorek není zahříván přímým zdrojem tepla. Pára a těkavé složky vzorku jsou obvykle kondenzovány v sérii lapačů, kondenzátorů, chladičů, které jsou ochlazovány chladicími kapalinami (voda, aceton, methanol, suchý led). Pára může být generována v externím elektricky zahříváném parním generátoru nebo může být využita i technická pára. V případě použití technické páry musí pára přecházet přes sifon, který umožňuje odstranění všech nečistot, které mohou vycházet z potrubí. [26]



Obr. 6. Schéma destilace vodní parou upraveno dle [27]

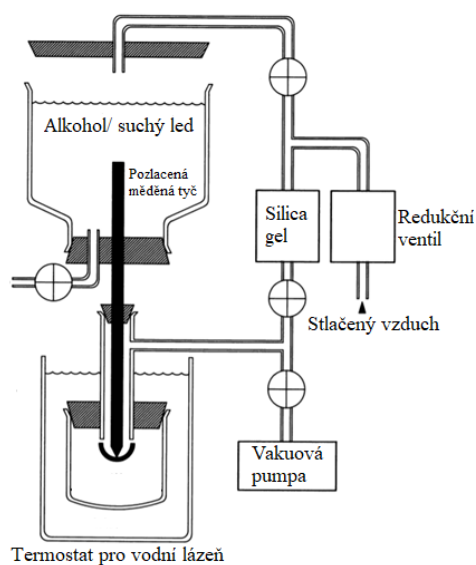


Obr. 7. Schéma destilace vodní parou/hydrodestilace upraveno dle [28]

2.2 Metoda vakuové destilace

Při extrakce esenciálního oleje vakuovou destilací se využívá nižších teplotách, čímž se zabrání změně chemického složení esenciálního oleje během destilace. [15]

Pro vakuovou destilaci se připraví vzorek, který se připravuje z listů rostliny. Ochladí se vakuovým dusíkem. [15] [30] Destilace probíhá za zvýšeného vakua a vzorek je zahříván ve vodní lázni. Po destilaci se vzorek centrifuguje čímž se docílí oddělení vody od oleje. [30] [26]



Obr. 8. Schéma vakuové destilace upraveno dle [30]

2.3 Hydrodestilace

Hydrodestilace je nejrychlejší a nejlevnější destilační metoda. Rostlinný materiál se namočí do vody a zahřívá se. Teplem dochází k uvolňování páry, která je kondenzována v chladiči. Poté dochází k oddělení silice (organické fáze) od hydrolátu (vodná fáze). [31]

2.4 Extrakce

Extrakce patří v dnešní době k velmi častým způsobům získávání olejů. Extrakce poskytuje velmi velkou výtěžnost oleje z rostliny, ale i tuků živočišného původu. Zbytkového oleje je méně než 1 %. Umožňuje získávat olej i z méně olejnatých rostlin. Nevýhodou této metody je používání rozpouštědel, která jsou velmi hořlavá. Před samotnou extrakcí je nutné provést řadu předúprav stejně jako u lisování. Pro izolaci esenciálních olejů se oficiálně nepoužívá, není přípustná. [32]

Tlaková kapalinová extrakce (PLE)

Jedná se o nedávno vyvinutou techniku, která by mohla odstranit nevýhody dosud používaných metod extrakce. PLE pracuje na principu přehřátých kapalin, kdy zvýšená difuze rozpouštědla vede ke zvýšení rychlosti účinnosti extrakce. PLE byla vyvinuta hlavně pro enviromentální analýzu a měla by sloužit jako náhrada Soxhletovy extrakce. Tato metoda se používá pro extrakci agrochemikálií, různých znečišťujících látek, léčiv a lipidů z různých matric. [33]

Superkritická kapalinová extrakce (SFE)

Využívá schopnost určitých plynů (obecně se používá CO₂) působit jako nepolární rozpouštědla při určité teplotě a tlaku. Je účinnější a rychlejší než hydrodestilace. [34]

Odsávání podkritické vody (SWE)

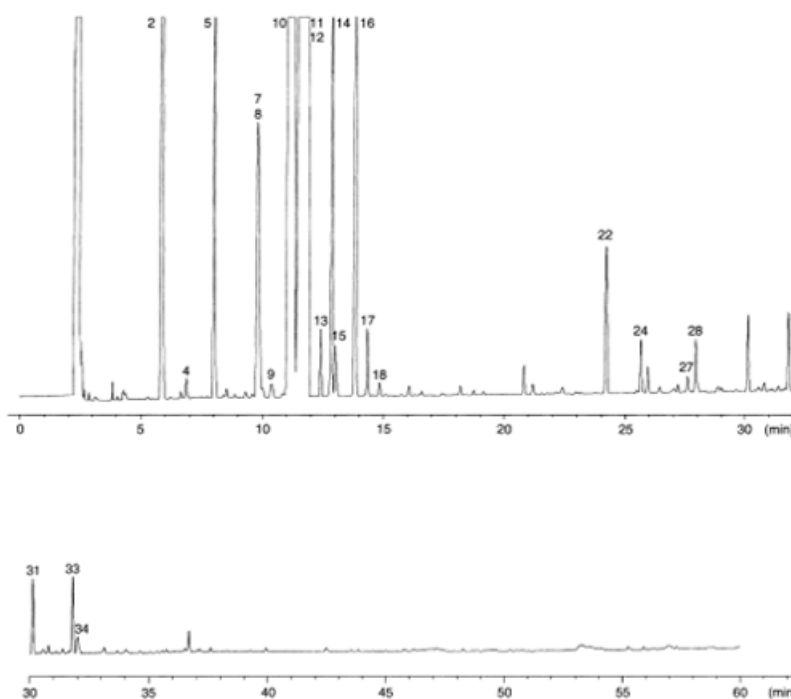
Používá se horkou voda (100–374 °C) jako odsávací a vysoký tlak. Je rychlejší a účinnější než hydrodestilace. Výhodou je kratší doba extrakce, vysoká kvalita extraktu, nižší náklady na odsávací činidlo a je šetrná k životnímu prostředí. [35]

2.5 Lisování

Lisování je metoda, kdy se pomocí tlaku působí na vhodně upravený materiál. Rozeznáváme dva druhy lisování. Lisování nízkotlaké (předlisování) a vysokotlaké. Předlisování se využívá hlavně u surovin bohatých na olej, kdy ve výliscích zůstane cca 20 % oleje a po následném dolisování je zbytek oleje ve výliscích zhruba 5–8 %. Předlisování se také používá pro výrobu velmi kvalitních olejů. Pokud se volí způsob bez předlisování, zbytkový olej ve výliscích se pohybuje kolem 5 %. Na množství získaného oleje má vliv druh rostliny a technologické úpravy před lisováním. Lisování patří mezi nejstarší metody získávání olejů. Tato metoda se převážně používá při lisování citrusů. [32]

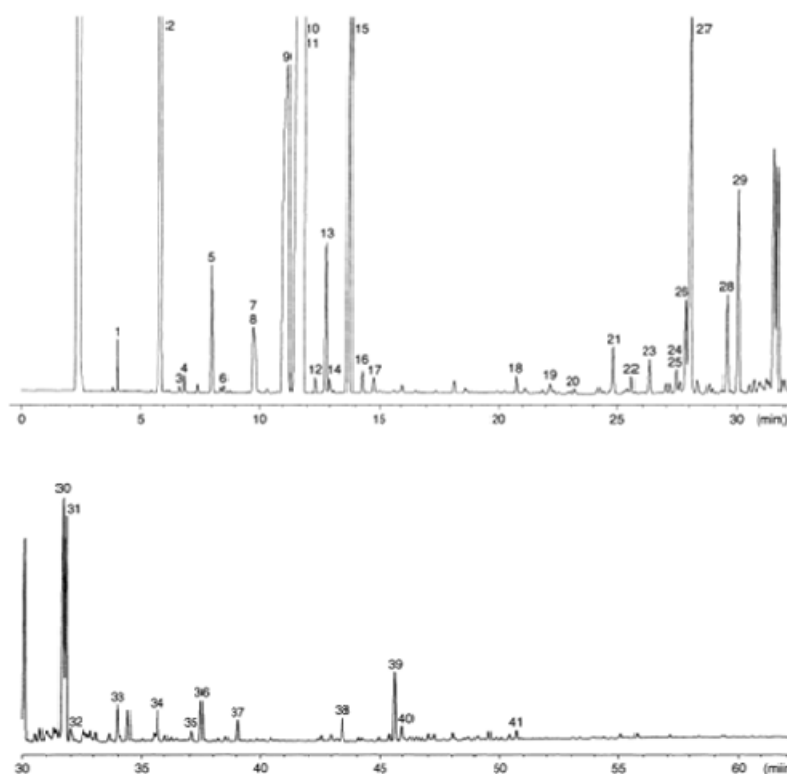
3 STÁVAJÍCÍ ANALYTICKÉ METODY SLOUŽÍCÍ K ANALÝZE ESENCIÁLNÍCH OLEJŮ

Chemický rozbor esenciálních olejů je poměrně složitý úkol, neboť mnoho sloučenin, které tvoří esenciální olej, jsou přítomné v nepatrném množství, a proto je těžké je detekovat. Některé sloučeniny se dají velmi dobře identifikovat, jiné je velice obtížné od sebe odlišit, protože si jsou velice podobné. A také proto, že se jedná o různě složité směsi. [36] Příkladem z literatury jsou níže uvedené chromatogramy eukalyptů z Číny a Španělska, a máty z Michiganu a nativní máty.



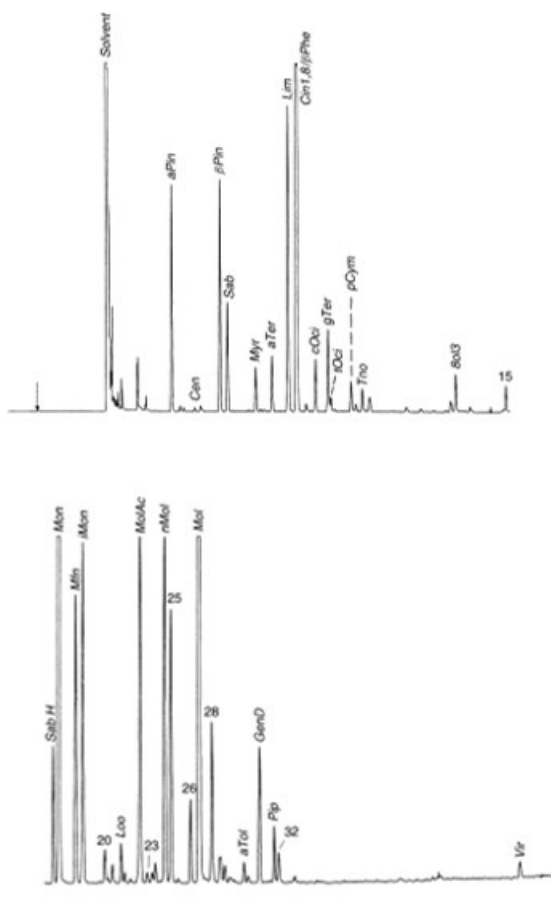
Obr. 9. Chromatogram *Eucalyptus* (Čína) [17]

Obr. 9: Kolona DB-Wax, délka 50 m, průměr 0,25 mm, síla filmu 0,25 μm , detektor FID; **2 = α -Pinen 6,01 %**, 4 = *Camphen* 0,03 %, 5 = **β -Pinen 0,80 %**, 7 = *Myrcen* 0,54 %, 8 = α - *Fellandren* 0,24 %, 9 = α -*Terpinen* 0,04 %, **10 = *limonen* 7,59 %**, 11 = **β -Fellandren 0,16 %**, 12 = **1,8-cineol 80,46 %**, 13 = (*Z*)- **β -Ocimen 0,09 %**, 14 = γ -*Terpinen* 0,7 %, 15 = (*E*)- **β -Ocimen 0,10 %**, 16 = *p-Cymen* 2,17 %, 17 = *Terpinolen* 0,10 %, 18 = *Isoamyl isobutyrate* 0,02 %, 22 *Kamfor* 0,27 %, 24 = *Linalool* 0,09 %, 27 = **β -Karyfyllen 0,04 %**, 28 = *Terpinen-4-ol* 0,10 %, 31 = *trans-pinokarveol* 0,13 %, 33 = α -*Terpineol* 0,13 %, 34 = *Geranyl acetate* 0,04 % [17]



Obr. 10. Chromatogram *Eucalyptus* (Španělsko) [17]

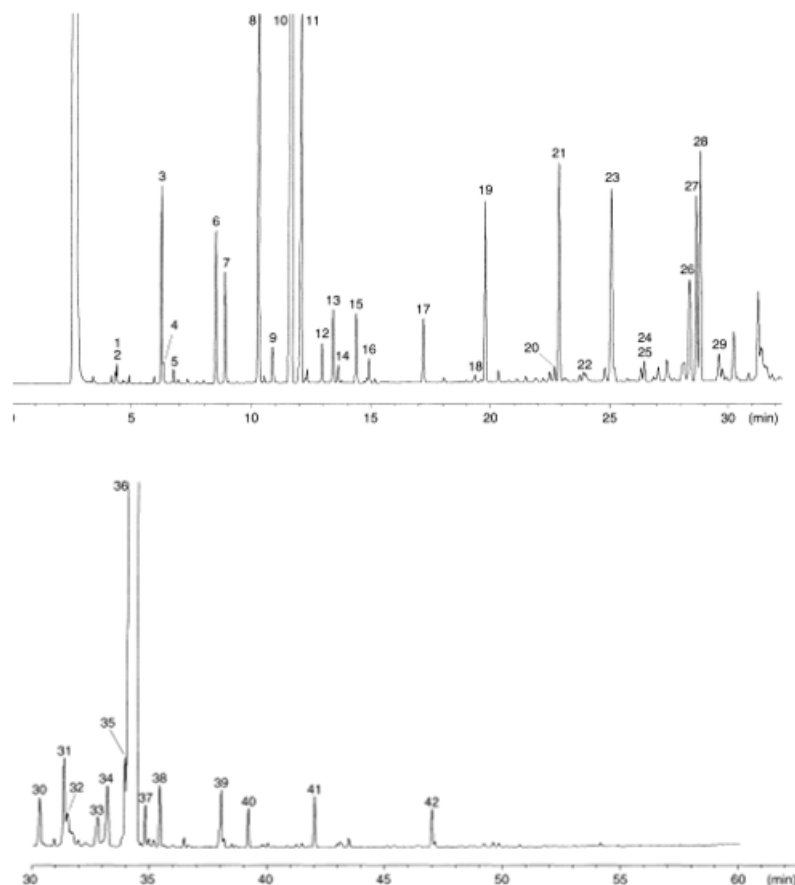
Obr. 10: Kolona DB-Wax, délka 50 m, průměr 0,25 mm, síla filmu 0,25 μm , detektor FID; **1** = ***\beta*-methylbutanal** 0,11 %, **2** = ***\alpha*-Pinen** 17,35 %, **3** = ***\alpha*-Fenehen** 0,02 %, **4** = **Kamphen** 0,16 %, **5** = ***\beta*-Pinen** 0,53 %, **6** = **Verbenen** 0,03 %, **7** = **Myrcen** 0,33 %, **8** = ***\alpha*-Fellandren** 0,13 %, **9** = ***\alpha*-Terpinen**, **10** = **Limonen** 4,65 %, **11** = ***\beta*-Fellandren** 0,13 %, **12** = **1,8-cineol** 61,76 %, **13** = ***\gamma*-Terpinen** 0,59 %, **14** = **(Z)-*\beta*-Ocimen** 0,06 %, **15** = **(E)-*\beta*-Ocimen** 0,07 %, **16** = ***p*-Cymen** 2,47 %, **17** = **Terpinolen** 0,09 %, **18** = **Isoamyl isobutyřát** 0,07 %, **19** = ***p*-cynemen** 0,07 %, **20** = **σ -Elemen** 0,05 %, **21** = ***\alpha*-Copaen** 0,0 %, **22** Kamfor? (?), **23** = ***\alpha*-Surjunen** 0,26 %, **24** = **Linalool** 0,07 %, **25** = **Pinokarvon** 0,18 %, **26** = ***\beta*-Guaien** 0,14 %, **27** = ***\beta*-Karyofyllen** 0,07 %, **28** = **Terpinen-4-ol** 0,48 %, **29** = **Aromadendren** 2,63 %, **30** = **Alloaromadendren** 0,51 %, **31** = ***trans*-Pinokarveol** 1 %, **32** = ***\alpha*-Terpinyl acetát** 1,6 %, **33** = ***\alpha*-terpineol** 1,04 %, **34** = **Borneol** 0,09 %, **35** = **Geranyl acetát** 0,19 %, **36** = ***trans-p*-Menth-1(7),8-dien-2-ol** 0,10 %, **40** = **$\text{C}_{15}\text{H}_{26}\text{O}$** 0,12 %, **41** = **Globulol** 0,36 % [17]



Obr. 11. Chromatogram mátového oleje (Michigan) [17]

Obr. Kolona DB-Wax, délka 50 m, průměr 0,25 mm, síla filmu 0,25 μ m, detektor FID; **Solvent** = rozpouštědlo, ***a*-Pin** = *a*-Pinen 1,34 %, **cen** = Campfen 0,01 %, ***β*-Pin** = *β*-Pinen 1,65 %, **sab** = Sabinen 0,77 %, **myr** = myrcen 0,33 %, ***α*Ter** = *α*-Terpinen 0,43 %, **Lin** = Limonen 2,44%, **Cin** 1,8/ ***β*Phe** = 1,8-cineol/ *β*-Fellandren 7,02 %, **cOci** = *cis-β*-Ocimen 0,41 %, **gTer** = γ -Terpinen 0,68 %, **tOci** = *trans-β*Ocimen 0,11 %, **pCym** = *p*-cymen 0,24 %, **Tno** = Terpeneol 0,18 %, **8o3** = Oktanol-3 0,30%, **15** = 1-Okten-3-ol 0,21 %, **tSabH** = *trans*-Sabinen hydrát 1,14 %, **mon** = Menthon 23,14 %, **mfn** = Menthofuran 2,48 %, **imon** = Isomenthon 3,08 %, **20** = *β*-Bourbonen 0,27 %, **Loo** = Linalool 0,31%, **Mo/Ac** = Menthyl acetát 3,69 %, **23** = Isopulegol 0,08 %, **nMol** = neo-Menthol 3,25 %, **25** = *β*-Karyofyllen/ terpinen-4-ol 2,24 %, **26** = neo-Isomenthol 0,78 %, **mol** = Menthol 38,01 %, **28** = pulegon/ Isomenthon 1,38 %, **α Tol** = *α*-Terpineol 0,15 %, **GenD** = Germacren D 1,27 %, **Pip** = Piperiton 0,46 %, **32** = karvon 0,24 %, **vir** = viridiflorol 0,15 % [17]

J



Obr. 12. Máťový olej (Native) [17]

Kolona DB-Wax, délka 50 m, průměr 0,25 mm, síla filmu 0,25 μm , 1 = *Methylbutanal* 0,03 %, 2 = *Methylbutanal* 0,07 %, 3 = *α -Pinen* 0,79 %, 4 = *α -Thujen* 0,08 %, 5 = *trans-2,5-Diethyl THF* 0,06 %, 6 = *β -pinen* 0,7 %, 7 = *Sabinen* 0,51 %, 8 = *Myrcen* 2,74 %, 9 = *α -Terpinen* 0,19 %, 10 = *Limonen* 10,62 %, 11 = *1,8-Cineol* 2,15 %, 12 (*Z*)- *β -Ocimen* 0,2 %, 13 = *γ -Terpinen* 0,38 %, 14 = (*E*)- *β -Ocimen* 0,2 %, 15 = *p-Cymen* 0,36 %, 17 = *3-Octyl acetát* 0,35 %, 18 = (*Z*)-*3 Hexenol* 0,05 %, 19 = *3-Octanol* 0,95 %, 20 = *Menthon* 0,09 %, 21 = (*E*)-*Sabinen hydrát* 1,21 %, 22 = *Isomenthon* 0,06 %, 23 = *β -Bourbon* 1,52 %, 24 = *Linalool* 0,08 %, 25 = (*Z*)-*Sabinen hydrát* 0,13 %, 26 = *β -Karyofyllen* 0,56 %, 27 = *terpinen-4-ol* 1,12 %, 28 = *cis-Dihydrokarvon* 1,42 %, 29 = *trans-Dihydrokarvon* 0,19 %, 30 = *γ -Muurolen* 0,35 %, 31 = (*E*)- *β -Farnesen* 0,68 %, 32 = *Dihydrokarvyl acetát* 0,34 %, 33 = *α -Terpineol* 0,33 %, 34 = *neo-Dihydrokarveol* 0,59 %, 36 = *Karvon* 66,26 %, 37 = *Dihydrokarveol* 0,25 % [17]

Analýza esenciálního oleje má v zásadě jeden cíl, a to dosáhnout co nejlepší separace pomocí nejúčinnější dostupné technologie. Výsledky analýzy jsou dále použity za účelem kontroly kvality oleje a chemotypizace, ke zjištění falzifikace, k charakterizaci přítomných sloučenin případně objevení dosud nerozpoznaných sloučenin obsažených ve vzorku esenciálního oleje. [31] [36]

Mezi moderní metody, které se využívají k chemické analýze obsažených látek patří plynová chromatografie (GC) a kapalinová chromatografie (HPLC) v kombinaci s hmotnostní spektrometrií (MS). Navíc existuje možnost aplikovat magnetickou nukleární rezonanci (NMR) pro ^{13}C a ^1H jádra. [26] [36] [38]

Studie esenciálních olejů je založena na vztahu mezi fyzikálními a chemickými vlastnostmi oleje a v neposlední řadě i na hodnocení organoleptických vlastností oleje. Metody, které se k hodnocení oleje nejčastěji používají jsou zaměřeny na aspekty kvality, tedy identifikaci a čistotu oleje. Tyto klasické metody nelze použít jako samostatné metody hodnocení a je třeba je kombinovat s moderními metodami, zejména s GC. Předtím než se začala používat metoda plynové chromatografie, byly oleje analyzovány měřením optické rotace, relativní hustoty, indexem lomu, číslem kyselosti, esterovým číslem, karbonylovým číslem, obsahem fenolu a koncentrací některých specifických izolatů (1,8-Cineolu). [39] [40]

Hustota

Je uváděna jako nejčastější fyzikálně – chemická vlastnost. Je to zvláštní případ relativní hustoty, která je definovaná jako poměr hustot daného oleje a vody při konstantní teplotě. Zjištěná hodnota se pohybuje mezi 0,696 a 1,118 při teplotě 15 °C a je charakteristická pro každý olej zvlášť. Pokud bylo měření prováděno při různých teplotách je možné použít normalizační údaje k faktorům konverze. [40]

Polarimetrie – Optická otáčivost

Tato metoda je určena pro látky, které jsou opticky aktivní a mají ve své molekule chirální uhlík (látky organické), nebo ty, které mají asymetrickou molekulu (látky anorganické). Tyto látky stáčí rovinnou polarizovaného světla. Látka může být buď pravotočivá nebo levotočivá, každá má svou specifickou rotaci. Ke stanovení optické otáčivosti se využívá právě polarimetrie, kde je úhel rotace závislý na řadě parametrů, jako je délka sloupce, přes které světlo prochází, vlnová délka a teplota. Stupeň a směr rotace je pro hodnocení čistoty zásadní, protože se vztahuje ke strukturám a koncentraci chirálních molekul ve vzorku. [40] [41]

Refraktometrie

Je fyzikální bezrozměrná konstanta. Je založená na měření indexu lomu látek. Když paprsek prochází rozhraním dvou fází, láme se (mění směr a rychlost). Tento jev se děje na základě různých rychlostí světla, které se šíří v obou prostředích, a na odlišné hustotě. V praxi to bývá většinou tak, že jedním prostředím je analyzovaná látka a druhým prostředím je vzduch. Tak je umožněno měřit změnu směru, když prochází oběma rozhraními. Na to se uplatňuje Snellův zákon. Index lomu je závislý na vlnové délce, proto se jako zdroj světla využívají wolframové žárovky (polychromatické světlo) nebo sodíkové výbojky. Oba zdroje světla poskytují spektrum (čárové) ve viditelné oblasti. Obvykle mohou nastat 2 případy, paprsek přechází z prostředí opticky řidšího do hustšího (lom světla ke kolmici) nebo z prostředí opticky hustšího do řidšího (lom světla od kolmice). K měření indexu lomu se většinou používá Abbého refraktometr. [41] [42] [43]

Senzoriické hodnocení

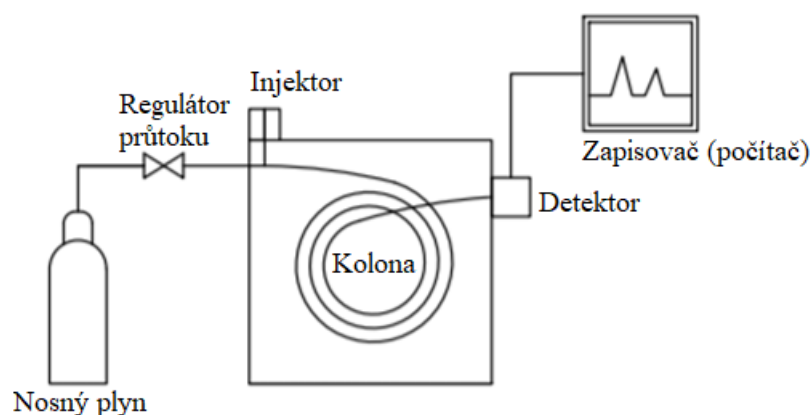
Esenciální oleje je možné hodnotit i organolepticky. Toto hodnocení jako nástroj měření zahrnuje lidské subjekty. To sebou ovšem nese problémy, a to vrozenou variabilitu mezi jednotlivci způsobenou nejen předchozími zkušenostmi a očekáváním ale i s jejich citlivostí. Jednotlivci pro senzorické hodnocení jsou pečlivě vybíráni. [40]

3.1 Plynová chromatografie (GC)

Princip plynové chromatografie spočívá v separaci analytů (plynných, kapalných i pevných), které mají bod varu do 400 °C. Analyty jsou rozptýleny mezi dvě fáze, stacionární a mobilní fázi. Kdy mobilní fází je v tomto případě plyn, který je zároveň nosným plynem. Nosným plynem je obvykle vodík nebo helium. [32] [43] Pro plynovou chromatografii jsou vhodné pouze ty sloučeniny, které se nerozkládají (nesmí se rozkládat). Jedná se o většinu rozpouštědel a pesticidů, esenciálních olejů, uhlovodíkových paliv a mnoho léčiv. Kyseliny, aminokyseliny, aminy, amidy, netěkavá léčiva, sacharidy a steroidy patří do skupiny látek, které často vyžadují derivatizaci před plynovou chromatografií. [43]

Velikost píku nebo plocha pod píkem, je přímo úměrná množství konkrétní složky procházející detektorem. To je zase úměrné koncentraci této složky v roztoku vzorku, a to je úměrné množství vstříkovaného roztoku. Množství vstříkovaného roztoku ovlivňuje to, kolik vzorku prochází detektorem. Velikost/ vrchol píku je tím větší, čím větší množství je detekováno. Proto je pro kvantitativní chemickou analýzu důležité, aby byla určena metoda

vyhodnocování. Nejčastěji se používá metoda integrace. Integrace je metoda, při které jsou sečteny hodnoty, které byly získány datovým systémem při sledování píku. Tento součet je tedy číslo, které bylo vygenerované datovým systémem a je považováno za oblast píku. [43] Pro esenciální oleje je nejlepší přímé vstříkávání, případně může být vzorek zředěn rozpouštědlem, aby se dosáhlo odezvy v mezích detektoru [29]



Obr. 13. Schéma plynového chromatografu [vlastní zdroj]

Základními částmi plynového chromatografu jsou, zdroj nosného plynu, tedy tlaková nádoba (zásobník), která obsahuje plyny dusík, vodík, helium nebo argon. Plyn je dále veden do dávkovače přes čistící systém, který redukuje nečistoty a případnou vlhkost. Dále přes redukční ventil plynu, ten zajišťuje stálý průtok plynu, do separační kolony, která je umístěna v termostátovém bloku spolu s detektorem. Termostátový blok umožňuje individuální nastavení jednotlivých částí (teploty, času, průtoku). Následně signál z detektoru přechází do PC, kde je zpracován. Zároveň PC slouží k regulaci a nastavení chromatografické analýzy. [43]

Nástřík (dávkování vzorku):

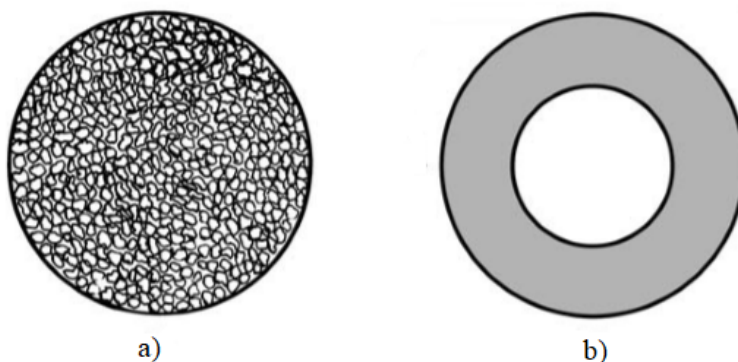
K nástříku se používá mikrostříkačka, kterou se vzorek aplikuje do dávkovače přes septum (polymerní těsnící přepážka) do proudu nosného plynu. Do dávkovače se většinou nástříkuje 1 μl vzorku, ale to záleží na typu kolony. Obecně lze říct, že je to velmi malé množství. Do dávkovače se nástříkuje větší množství vzorku než objem, který pokračuje na chromatografickou kolonu, zbytek vzorku se odvádí mimo ni. [43] [44] [45]

Kolony:

Kolona je stacionární fází v plynové chromatografii. Separační kolony jsou buď náplňové nebo kapilární.

Náplňové kolony – jsou 1-6 metrů dlouhé o vnitřním průměru 2-4 mm. Tento typ kolony se vyrábí buď ze skla nebo z oceli a jsou naplněné sorbenty nebo nosiči na kterých je nanášena kapalná fáze, nejčastěji se jedná o silikagel nebo oxid hlinitý. Mikronáplňové kolony mají malý průměr a částice které tvoří náplň jsou obvykle do velikosti 10 μm . To zajišťuje lepší separaci analytů při stejně dlouhé separační koloně jako u klasické náplňové kolony.[43] [44] [47]

Kapilární kolony – jsou 15-60 m dlouhé s vnitřním průměrem 50-350 μm . Stacionární fází u kapilárních kolon tvoří jejich vnitřní stěna (nanášena netěkavá kapalina). Nejčastěji se vyrábějí z křemene a jsou potažené tenkou vrstvou polymerního filmu, aby byly odolnější, protože jsou velmi křehké. [43] [47]

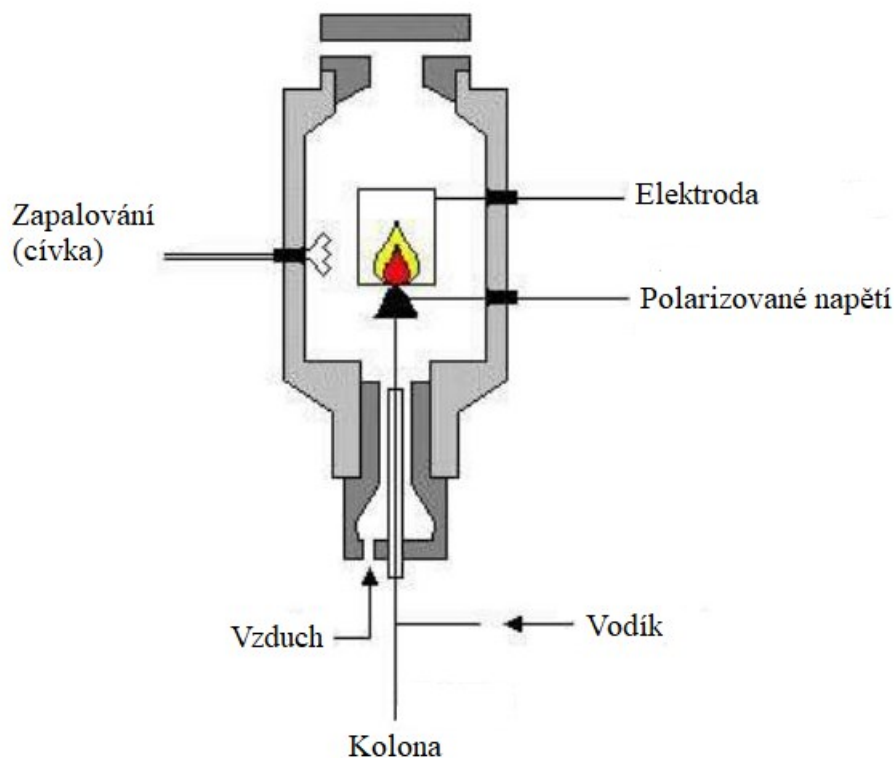


Obr. 14. Průřez chromatografickými kolonami a) náplňová kolona b) kapilární kolona upraveno dle [44]

Detektory:Plamenově ionizační detektor (FID)

Tento detektor je, co se týče použití v plynové chromatografii nejčastější a je velmi citlivý (detekční limit – pikogramy analytu). Zvládne detekovat téměř všechny látky, až na anorganické plyny a páry. Řadí se mezi ionizační detektory. Složky látek, které jsou postupně eluovány z kolony, jsou spalovány vodíkovým plamenem v detekčním prostoru.

Vodíkový plamen hoří mezi dvěma elektrodami a v průběhu spalování se organické molekuly štěpí, respektive jejich vazby. Molekuly se štěpí na ionty, radikály a elektrony. Ty pak vedou elektrický proud mezi dvěma elektrodami. Tento proud se v detektoru následně měří a odpovídá počtu vzniklých iontů. Detektor vydává odezvu v závislosti na množství aktivních uhlíkových a neuhlíkatých atomů a v závislosti na charakteru vazeb, které jsou mezi nimi. Pro FID je jako nejlepší nosný plyn dusík. [45] [46] [47]



Obr. 15. Schéma FID detektoru upraveno dle [48]

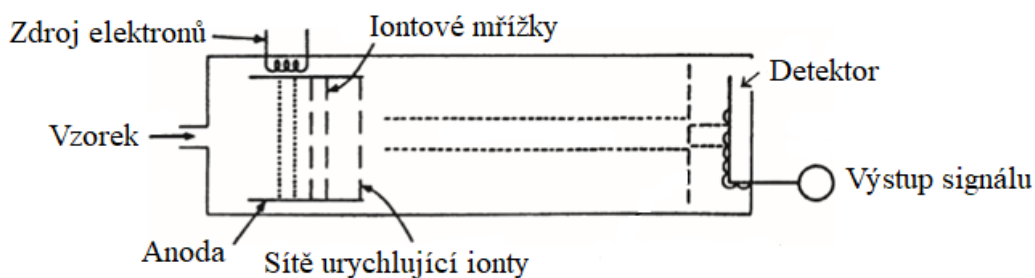
Hmotnostní detektor (MS)

Hmotnostní spektrometrie (MS) je technika, která vytváří ionty v plynné fázi z molekul nebo z atomů ve vzorku. MS je v současné době jednou z nejrychleji se rozvíjejících oblastí instrumentální analýzy. MS byla vyvinuta z metody, která se používá k prokázání, že většina prvků existuje jako izotopy různých hmot. MS je analytická technika, která poskytuje kvalitativní a kvantitativní informace, včetně hmotnosti molekul a atomů ve vzorcích a molekulární struktury organických a anorganických sloučenin. MS lze použít jako kvalitativní analytický nástroj k identifikaci a charakterizaci různých materiálů. MS se běžně používá pro kvantitativní analýzu směsí plynů, kapalin a pevných látek. [45]

Hmotnostní spektrometr je přístroj, který odděluje ionizované atomy, molekuly a fragmenty molekul v plynné fázi. Některé zdroje uvádějí, že MS odděluje ionty na základě hmotnosti, to je pravda pouze tehdy, když je náboj na iontu jediný kladný nebo záporný. Zatímco některé metody MS generují většinou ionty s nábojem 1+ (metoda ionizace Electron impacty ionization EI), mnoho nových technik generuje ionty s násobným nábojem (metoda ionizace Electrospray ionization ESI).[45] [49]

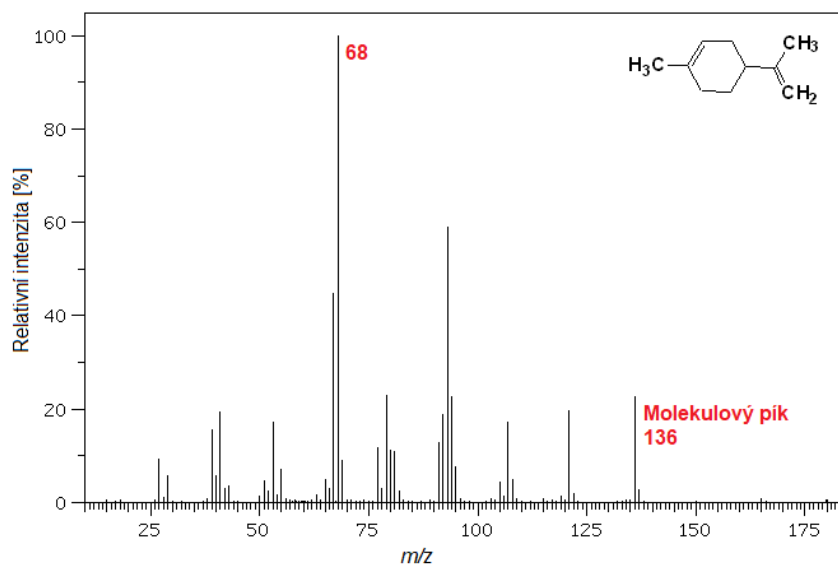
Hmotnost iontu je dána v jednotkách atomové hmotnosti, u. Jedna atomová hmotnostní jednotka se rovná 1/12 hmotnosti nejhojnějšího, stabilního, přirozeně se vyskytujícího izotopu uhlíku, ^{12}C . Hmotnost ^{12}C je definována jako přesně 12 u. Zkratka amu, pro atomovou hmotnostní jednotku je považována za zastaralou, ale v některé literatuře se s ní můžeme stále setkat. Synonymum pro sjednocenou jednotku atomové hmotnosti je dalton [Da]. $u = 1 \text{ Da}$. [49]

Základními složkami hmotnostního spektrometru jsou: čerpací systém, rozhraní s plynovým chromatografem, ionizační komora a elektronový zdroj, zaostřovací čočka, analyzátor, detektor a systém řízení. Čerpací systémy poskytující vysoké vakuum, jsou rozhodující pro provoz hmotnostního spektrometru. Elektrony a ionizované sloučeniny nemohou existovat dostatečně dlouho, aby se dostaly k detektoru, pokud se sráží s molekulami vzduchu v analyzátoru. [30]



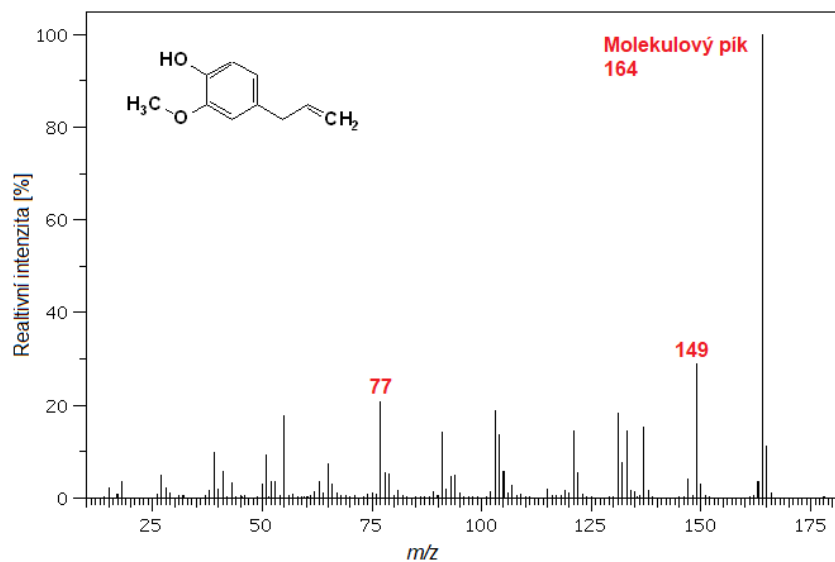
Obr. 16. Schéma hmotnostního spektrometru upraveno dle [30]

Hmotnostní spektrometr se často spojuje s plynovou chromatografií, což umožňuje získat výbornou identifikaci látek, hlavně organických sloučenin. [30]



Obr. 17. Hmotnostní spektrum eugenolu

[Upraveno podle Spectral Database for Organic Compounds SDBS, National Institute of Advanced Industrial Science and Technology (AIST), Japonsko, položka MS-NW-1514, SDBS No. 2573, 24. 4. 2020]



Obr. 18. Hmotnostní spektrum eugenolu

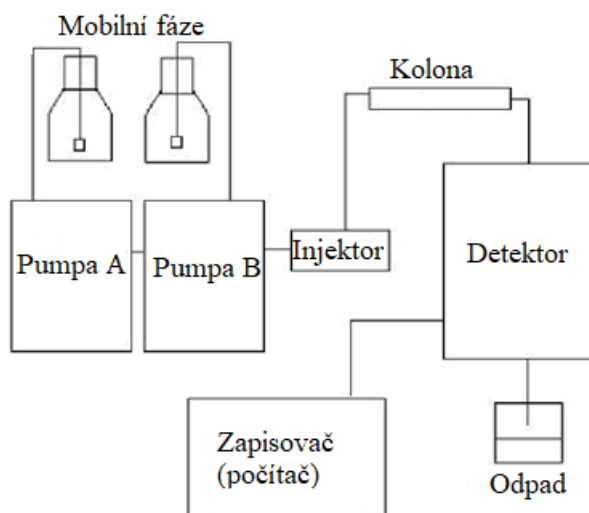
[Upraveno podle Spectral Database for Organic Compounds SDBS, National Institute of Advanced Industrial Science and Technology (AIST), Japonsko, položka MS-NW-1645, SDBS No. 91, 24. 4. 2020]

U plynové chromatografie se využívají ještě další dva typy detektorů. Tepelně vodivostní detektor TCD, a detektor elektronového záchytu ECD. Pro chemickou analýzu esenciálních olejů se nevyžívají. [44]

3.2 Kapalinová chromatografie (HPLC)

Pro hodnocení esenciálních olejů se využívá spíše plynové chromatografie, ale v některých případech jen data z GC k charakterizaci oleje nestačí (např. citrusové oleje). Pomocí kapalinové chromatografie můžeme analyzovat i netěkavou frakci oleje, jako jsou kyslíkaté heterocyklické sloučeniny (flavonoidy) anebo vosky. Ty mohou hrát roli při identifikaci oleje lisovaného za studena a při kontrole kvality i pravosti oleje. [30]

Kapalinová chromatografie má základní dva typy, a to kapalinová chromatografie na normální fázi (NP-HPLC) a kapalinová chromatografie na obrácené, reverzní fázi (RP-HPLC). První metoda se běžně používá, jestliže jsou stanovované analyty mírně polární. V tomto případě je stacionární fáze polární a mobilní fáze nepolární. Analyty jsou separovány na základě polarity. U RP-HPLC je stacionární fáze nepolární a mobilní fáze je vodná, polární. Pro polární molekuly jsou výsledné retenční časy kratší. [32, 44]



Obr. 19. Schéma kapalinového chromatografu upraveno dle [50]

4 ESECIÁLNÍ OLEJE

Rostliny je možné syntetizovat na dva druhy olejů. Na pevné oleje a esenciální oleje. Pevné oleje obsahují estery glycerolu a mastných kyselin (triglyceridy nebo triacylglyceroly), zatímco éterické oleje jsou směsí těkavých organických látek, které přispívají k chuti a vůni rostliny. Mnoho složek, které se vyskytují v esenciálních olejích, využívá hmyz pro komunikaci a jsou známy jako tzv. hmyzí feromony. Slovo esenciální se využívá k vyjádření vnitřní podstaty nebo podstaty rostlin, olej zase značí kapalinu, která je nerozpustná ve vodě. Oleje jsou rozpustné v nepolárních rozpouštědlech, jako je benzen nebo chloroform. Aromatické rostliny a oleje z nich vyrobené se používají v léčivech a kosmetice už po tisíce let. Odhaduje se, že celosvětově je 3 350 000 druhů rostlin a že 5 % z nich, tedy 17 500 druhů je aromatických. Z nich je více než 400 komerčně zpracováno pro své aromatické sloučeniny, z nichž asi 50 % je účelně pěstováno a zbytek je získáván buď jako vedlejší produkt primárního průmyslu nebo jsou sklizeny ve volné přírodě. [38]

4.1 Běžné esenciální oleje rodu *Mentha*

Mátový olej je bezbarvá, světle žlutá nebo světle zelenožlutá tekutina s charakteristickým zápachem a chutí následovanou pocitem chladu a je rozpustný v 70 % ethanolu. Roztok může vykazovat opalescenci. [51] Silice mají olejovitou konzistenci. Pokud se, ale skladují příliš dlouho, dochází k jejich oxidaci a tmavnutí. [3] Olej se nachází na spodní straně listů, extrahuje se z celé nadzemní části rostliny těsně před květenstvím, nejčastěji parní destilací a obvykle následuje rektifikace a frakcionace před jeho použitím. [2] Základní surovinou pro mátový olej jsou listy rostliny *Mentha arvensis* [51] Celá rostlina *Mentha* má esenciální oleje; množství oleje se však liší v závislosti na druhu a způsobu izolace. [4] Dále se získává z *Mentha piperita* L. a *M. arvensis* var. *piperascens*, patří mezi *Labiatae*. Mezi *Labiatae* se řadí mnoho známých esenciálních olejů, jako je máta peprná, bazalka, levandule, rozmarýn, šalvěj, majoránka a tymián. [51]

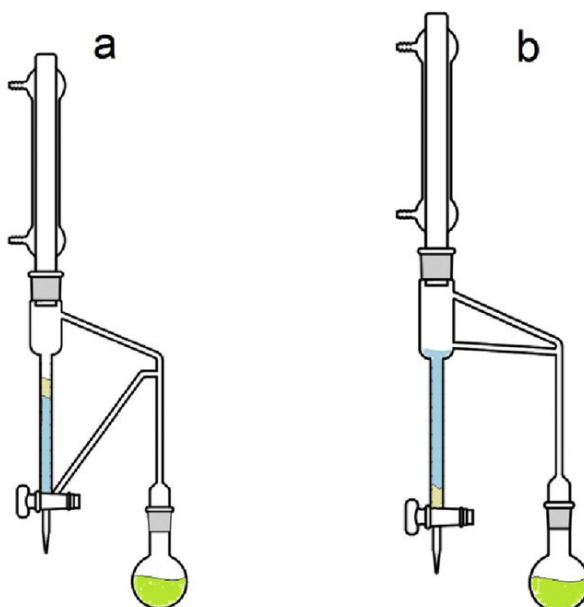
Mátový olej a jeho složky a deriváty se používají v potravinářském, kosmetickém, farmaceutickém, parfumářském a aromatickém průmyslu. Například se používá k výrobě likérů, žvýkaček, farmaceutických přípravků, zubních past, ústních vod, k parfemaci kosmetických přípravků. [14] [6] Hlavní složka menthol se používá při výrobě past, zubních past, balzámů na bolest, chladivých balzámů [2] Mátový olej se dále používá při výrobě repelentů proti komárům (1,5 %), v šamponech. Menthol má své uplatnění i při výrobě tabákových výrobků. [4] Olej se používá k léčbě určitých žaludečních poruch, jako je

poruchy trávení, problémy s plynatostí, kyselostí atd. Je hlavní složkou ajurvédských léků. [2] Máťový olej se také využívá při masážích (uvolňuje bolesti svalů) a aromaterapii. [3]

Esenciální oleje z máty se vyrábějí hlavně v Argentině, Angole, Austrálii, Brazílii, Bulharsku, Číně, České republice, Francii, Maďarsku, Indii, Itálii, Paraguai, Švýcarsku, Thajsku a USA. Roční světová produkce olejů *Mentha arvensis* a *Mentha piperita* je 22 000 a 7 500 tun, zatímco Indie produkuje 16000 a 100 tun ročně. [52]

U máťových olejů je možné se setkat s jeho falšováním. To se obvykle provádí přidáním podobného, ale levnějšího oleje, jako je kukuřičný olej (*Mentha arvensis*), nebo zředěním oleje různými rozpouštědlovými oleji. [2]

Esenciální oleje různých druhů *Mentha* byly izolovány různými metodami, jako je hydrodestilace pomocí Cleverengerova přístroje nebo lékopisu destilačního přístroje.



Obr. 20. Schéma Cleverengerova přístroje: a) destilace EO lehčího než voda, b) destilace EO těžšího než voda dle [53]

Cleverengerův přístroj se skládá z hlavní trubice kombinované s kondenzátorem a odměrné trubice s kohoutem. Olej se extrahuje parní destilací z čerstvé nebo částečně sušené rostliny a výtěžnost je 0,1–1,0 %. [54]

4.1.1 Chemické složení esenciálních olejů

Esenciální oleje jsou těkavé povahy a jedná se o složitou směs monoterpenů (C10), seskviterpenů (C15), diterpenů (C20), dále mohou být přítomny různé nízkomolekulární alifatické uhlovodíky, alkoholy, kyseliny, aldehydy, estery acyklických esterů nebo laktonů a výjimečně sloučeniny, které obsahují dusík nebo síru. Kumariny a homology fenylpropanoidů. [55] Některé strukturální vzorce, běžně se vyskytující látky v esenciálních olejích nalezneme v příloze III a) a příloze III b)

Mátový olej je přirozeným zdrojem mentholu, který je hlavní složkou kapek proti kašli. Dalšími látkami, které jsou obsaženy v mátovém oleji jsou viz. *Tab. 3*

Tab. 3. Chemické složení mátového oleje 22 upraveno dle [2]

Sloučeniny	%
Limonen	1,0—5,0
Cineol	3,5—14,0
Menthon	14,0-32,0
Menthofuran	1,0—9,0
Isomenthon	1,5—10,0
Menthyl-acetát	2,8—10,0
Isopulegon	max. 0,2
Menthol	30,0—55,0
Pulegon	max. 4,0
Karvon	max. 1,0

Další chemické analýzy ukázaly, že většina mátových olejů je bohatá na pulegon, menthon, menthol, karvon, 1,8-cineol, β -karyofylen.[6] Chemické složení esenciálních olejů se může lišit i způsobem získávání z rostliny. Jedna studie z koumala rozdíly mezi izolací mátového oleje využitím superkritické fluidní extrakce v porovnání s hydrodestilací. Při použití superfluidní extrakce měl olej vyšší obsah menthonu, mentholu, 1,8-cineolu a piperitonu a nižší obsah α -karyofylenu a α -cadinu. Okysličené monoterpenoidy, které jsou zodpovědné za vůni máty peprné činily 79,2 % [54] [55]

Ve studii, kdy bylo testováno 16 druhů máty z oblasti západní Himaláje v Indii, které byly analyzovány a porovnávány pomocí plynové chromatografie a plynové chromatografie s hmotnostním spektrometrem bylo identifikováno padesát sedm složek. Tyto složky představují 92,8 – 99,8 % celkového složení esenciálního oleje. U devíti kultivarů *M.*

arvensis jsou hlavními složkami esenciálního oleje monoterpenoidy v množství 88,1-98,6 %. Mezi další hlavní složky patří menthol (73,7–85,8 %), menthon (1,5–11,0 %), menthyl-acetát (0,5–5,3 %), isomenthon (2,1–3,9 %), limonen (1,2-3,3 %), neomenthol (1,9-2,5 %). U dalších pěti druhů kultivaru *M. spicata* to je 1-karvon (51,3-65,1 %), limonene (15,1-25,2 %), β -pinen (1,3-3,2 %) a 1,8-cineol ($\leq 0,1-1,6\%$). A v jednom kultivaru *M. spicata* jsou hlavními složkami oxid piperitenonu (76,7 %), α -terpineol (4,9 %) a limonen (4,7 %). U *M. citrata* jsou hlavními složkami linalool (59,7 %), linalyl-acetát (18,4 %), nerol (2 %), α -terpineol (1,5 %) a limonen (1,1 %). [56]

Indie je největším producentem mátových olejů. V Indii se máta pěstuje hlavně ve třech oblastech (Uttarpradéš, Haryana, Pandžáb) kde zabírají více než 162 800 hektarů zemědělské půdy. [5]

4.2 Běžné esenciální oleje rodu *Eucalyptus*

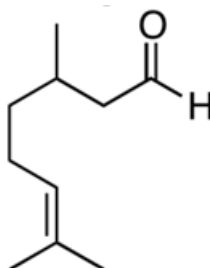
Eukalyptové esenciální oleje se využívají i v aromaterapii, při léčbě nosních dutin, kašle, chřipky, horečky, bolesti v krku, bolesti hlavy, močového ústrojí a k výrobě zubních past. [14] Dále vykazují antibakteriální a antimykotické účinky. Eukalyptové oleje a jejich izolované frakce se používají k ředění dražších olejů jako jsou rozmarýnové, tymiánové oleje a další. Vzhledem k tomu, že cena eukalyptových olejů typu 1,8-cineol je nízká, tak obecně nedochází k jejich falšování. (39) Eukalypty se během svého života mění, mění se například koncentrace 1,8-cineolu, kdy s věkem klesá. Některé jiné látky se můžou naopak zvyšovat nebo zůstávají konstantní. Při jedné studii bylo zjištěno, že u *Eucalyptus camaldulensis* pěstovaného v Řecku dochází k sezónnímu kolísání koncentrace oleje, maximální výtěžnost byla v létě, a naopak nejnižší v zimě. Koncentrace 1,8-cineolu (25,3-44,2 %) byla nejvyšší bez ohledu na čas sklizně. Velká variabilita všech olejových sloučenin však neprokázala jasnou tendenci, ani sezónní, ani pokud jde o stáří listů nebo polohu listů. Proto dospěli k závěru, že genotypové rozdíly převažují nad sezónními nebo environmentálními účinky eukalyptů. Obecně se Eukalyptové oleje vyznačují vysokým obsahem 1,8-cineolu a nízkým obsahem α -pinenu a *p*-cymenu. [9] [16]

4.2.1 Chemické složení esenciálních olejů

Hlavními složkami jsou monoterpeny (1,8-cineol, *p*-cymen, citronellal, citronellol, limonen, α -felandren, β -felandren, α -pinen, β -pindesmol, *trans*-pinokarveol, *terpinolen*, α -*terpineol*, α -thujen) a seskviterpeny (β -karyophylen, β -eudesmol, globulol, spathulenol a viridiflorol).

Chemický profil a hlavní složky olejů z listů eukalyptu se mezi druhy značně liší. (88 120). Například hlavní složky oleje *E. largiflorens* byly 1,8-cineol (37,5 %), *p*-cymen (17,4 %), neo-isoverbenol (9,1 %), limonin (6,5 %) a spathulenol (6,7 %), zatímco u *E. spathulata* oleje bylo 1,8-cineol (72,5 %), α -pinen (12,7 %) a *trans*-pinokarveol (3,3 %), s absencí neoisoverbenolu, limonenu a spathulenolu při nižších množstvích. Monoterpeny, 1,8-cineol a α -pinen, jsou hlavními složkami u většiny druhů. Zatímco *E. citriodora* je bohatá na citronellal (49,5–87 %) a citronellol (8–20 %). Obsah 1,8-cineol u eukalyptových olejů se pohybuje od 10–90 %. Obecně platí, že obsah α -pinenu je nižší než 20 %. Složení eukalyptových olejů se liší i mezi stromy stejného druhu v různých obdobích, lokalitách (25) a metodě extrakce/ čase.(21) Eukalyptové oleje jsou těkavé organické sloučeniny nalezené v ovoci, květinách, kůře, semenech, dřevě a kořenech. Nicméně, jsou hlavně extrahovány z listů [15]

Hlavní složkou oleje z *E. citriodora* je citronellal, který dává charakteristickou citronovou vůni. Přestože olej nedávno našel komerční využití jako aktivní složku některých repelentů proti komárům. Používá se hlavně pro parfumářské účely. Vyrábí se především v Číně, Indii a Brazílii. Pouze jeden další druh eukalyptu má olej s citronovou vůní, citronem bohatý *E. staigeriana*. [16]



Obr. 21. citronellal [vlastní zdroj]

Chemické složení esenciálního oleje extrahovaného z *Eucalyptus globulus* bylo analyzováno plynovou chromatografií a hmotnostní spektroskopií. Díky této analýze se zjistila přítomnost 14 sloučenin, které tvoří 90,98 % z celkového oleje *E. globulus*.

Hlavní složkou je zde 1,8-cineol (51,08 %) a pinen (24,6 %). Mezi minoritní složky se řadí *L*-pinocarveol (9,98 %) a globulol (2,81 %). Dalšími složkami, které byly v tomto oleji identifikované jsou α -terpineol, myrtenol, kafr a *cis*-karveol. Eukalyptový olej sestával převážně z oksličených monoterpenů. [57]

Tab. 4. Chemické složení *Eucalyptus globulus* získaného parní destilací (Alžír [58])

Sloučeniny	Retenční čas [min]	%
α -Pinen	13,117	24,600
Camphen	13,517	0,177
β -Pinen	14,460	0,217
1,8-cineol	16,323	51,083
α -Campholenal	17,083	0,390
Fenchol	18,729	0,179
<i>L</i> -pinocarveol	19,587	9,987
Borneol	20,233	0,346
4-Terpineol	20,541	0,178
Caren-4-ol	20,781	0,195
α -Terpineol	20,907	0,486
Myrtenol	21,044	0,202
<i>Cis</i> -Carveol	21,850	0,187
Globulol	30,509	2,817
Celkem identifikováno		90,984

Výtěžek eukalyptových olejů z listů závisí na zkoumaných druzích a pohybují se od 0,10 % do 9,0 % na základě suché hmotnosti, které jsou znázorněny v tabulce 5. Výnosy eukalyptových olejů ovlivňuje několik faktorů: stáří stromu a stáří listů, nadmořská výška, sezóna, doba sklizně a aplikace hnojiv. Mladé listy obsahují více oleje než staré listy, zatímco listy ze starších stromů mají mírně vyšší výnos oleje. Produkce oleje je však více ovlivněna nadmořskou výškou než věkem. Obsah oleje také kolísá s ročním obdobím. U *Eucalyptu citriodora* z Pakistánu bylo z listů, které byly shromažďovány shromážděné od

dubna až do května obsahoval 0,9% oleje než 1,3 % v prosinci. Dobré výtěžky eukalyptového oleje ve středním Thajsku byly získány od ledna do července. Aplikace dusíku, fosforu a draselných hnojiv zvýšila produkci esenciálních olejů [15]

Tab. 5. Výtěžky esenciálních olejů (%) upraveno dle [16]

Druh	Výtěžek (%)	Materiál
<i>E. brakeri</i>	1,8–3	suchá rostlina
<i>E. brachycorys, E. crutis</i>	0,75–3,75	suchá rostlina
<i>E. casea</i>	0,97	suchá rostlina
<i>E. camaldulensis</i>	0,39	čerstvá rostlina
<i>E. camaldulensis</i>	0,25–0,46	suchá rostlina
<i>E. cinerea</i>	1,2–2,3	suchá rostlina
<i>E. citriodora</i>	0,6	suchá rostlina
<i>E. citriodora</i>	0,9–1,3	suchá rostlina
<i>E. crebra</i>	0,29–1,33	suchá rostlina
<i>E. dunii</i>	3,67	suchá rostlina
<i>E. globulus</i>	1–2,7	čerstvá rostlina
<i>E. grandis</i>	0,36	čerstvá rostlina
<i>E. microtheca, E. spahulata</i>	0,38–1,88	suchá rostlina
<i>E. nitens, E. denticulata</i>	0,7–0,8	suchá rostlina
<i>E. porosa</i>	0,57	suchá rostlina
<i>E. propinqua, E. pulverulenta</i>	0,22–3,56	suchá rostlina
<i>E. radiata ssp. E. robertsonii</i>	6,7–8,4	suchá rostlina
<i>E. radiata ssp. Radiata, E. smithii</i>	6,0–9,0	suchá rostlina
<i>E. remophil, E. oleosa, E. patellaris, E. ranscontienalis, E. salubris</i>	0,1–5,3	suchá rostlina
<i>E. tereticornis</i>	1,57–2,09	suchá rostlina
<i>E. viminalis</i>	0,5–1,2	suchá rostlina

U *Eucalyptu globulus* je hlavní složkou 1,8-cineol. U *Eucalyptus camaldulensis* existuje více chemotypů. Jsou známe dvě formy, jedna je bohatá na 1,8-cineol a druhá na seskviterpeny. Stejně je to i *Eucalyptus radiata*, kdy se uvádějí dva chemotypy. Jeden je bohatý na 1,8-cineol a druhý na fellandren/ piperiton. [16]

Jedna studie se zabývala extrakcí eukalyptového esenciálního oleje z listů *Eucalyptus camaldulensis* pomocí destilace metodou Clevengerova přístroje. Kdy byly studovány účinky provozních parametrů na výtěžnost esenciálního oleje. Sledována byla doba do dosažení rovnováhy, teplota (70 až 100 °C), poměr rozpouštědla k pevné látce (4 : 1 až 8 : 1

(v/w)), rychlost míchání (0 až 900 ot./min) a velikost částic čerstvých listů (0,5 až 2,5 cm). Z výsledků je patrné, že nejvyšší výtěžnosti bylo dosaženo při teplotě 100 °C při rychlosti míchání 900 ot./min s poměrem rozpouštědla k pevné látce 5 : 1 při 160 min velikostí částic 0,5 cm. Pak byl procentuální zisk oleje 46 % [54]

Další studie se opět zabývala extrakcí oleje z listů *Eucalyptus camaldulensis*. Tentokrát organickými rozpouštědly *n*-hexanem a ethanolem. Byly sledovány hlavní provozní parametry a to doba pro dosažení rovnováhy, teplota pro *n*-hexan 45 °C až 65 °C a pro etanol 45 °C až 75 °C, poměr rozpouštědla k pevné látce 5 : 1 až 8 : 1 (v/w), rychlost míchání 0 až 900 ot./min a velikost částic 0,5 až 2,5 cm čerstvých listů, aby se našli nejlepší podmínky zpracování a pro dosažení maximálního výtěžku oleje. Koncentrace eukalyptového oleje v rozpouštědle byla měřena na UV-spektrofotometru. Pro *n*-hexan se jako nejlepší jevíly parametry kdy rychlost míchání byla 900 ot./min, teplota 65 °C s poměrem rozpouštědla k pevné látce 7 : 1 (v/w) velikosti částic 0,5 cm po dobu 210 minut. Výtěžnost eukalyptového oleje při těchto podmínkách byla 69 %. Pro ethanol se jako nejlepší jevíly stejné podmínky, až na teplotu, která v tomto případě byla 75 °C a výtěžnost oleje byla 65 %. [54]

II. PRAKTICKÁ ČÁST

5 ÚVOD

V praktické části diplomové práce jsme se pokusili optimalizovat metodu analýzy esenciálních olejů. K analýze jsme si vybrali plynový chromatograf. Jednak proto, že je to nejčastější způsob analýzy esenciálních olejů a také proto, že k tomu máme patřičné vybavení. Dalším cílem bylo porovnat esenciální oleje rodu *Mentha* a *Eucalyptus*, které jsou k dostání na českém trhu. K tomuto účelu jsme nakoupili nebo získali darem esenciální oleje od společností: Nobilis Tilia s.r.o., BEWIT FRANCHISE s.r.o., Saloos naturcosmetic s.r.o. (Míča a Harasta s.r.o.), Aromaterapeutická KH a.s. (Karel Hádek), Phytos Natur CZ s.r.o. a Český národní podnik s.r.o. (Manufaktura).

6 PŘÍSTROJE, MATERIÁL, POMŮCKY

Plynový chromatograf s plamenově ionizačním detektorem (FID):

DANI MASTER GC Fast Gas Chromatograph, Itálie.

Chromatografická stanice Clarity, DataApex, Česká republika.

Kolona Phenomenex® *Zebron*TM ZB-5MS, GC kapilární kolona 30 m × 0,25 mm × 0,5 μm, nepolární, Spojené státy americké.



Obr. 22. Plynový chromatograf DANi MASTER [vlastní zdroj]

Abbého refraktometr s digitálním teploměrem

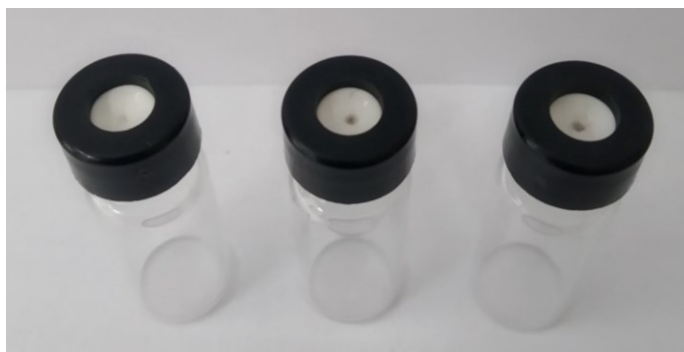


Obr. 23. Abbého refraktometr s digitálním teploměrem [vlastní zdroj]

6.1 Pomůcky

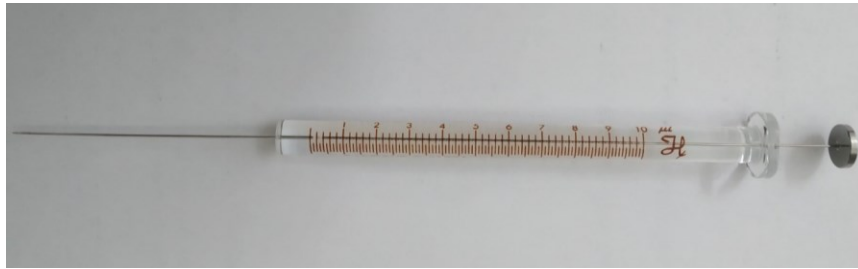
Automatická pipeta

Běžné laboratorní sklo



Obr. 24. Vialky N9 2ml se šroubovacím uzávěrem a septem [vlastní zdroj]

Mikroštrikačka (Hamilton 10, třída 700 a 1700)



Obr. 25. Mikroštrikačka Hamilton [vlastní zdroj]

6.2 Chemikálie

Tab. 6. Použité chemikálie - čistota (%), výrobce, země původu

Sloučenina	Koncentrace [%]	Výrobce	Země původu
Methanol	p. a.	Lach-Ner	Česká republika
α -Pinen (-)		Joseph Vögele	Německo
β -Pinen (-)		Joseph Vögele	Německo
Sabinen	75	SIGMA-ALDRICH s.r.o	Čína
<i>p</i> -Cymen	-	-	-
(<i>R</i>)-(+)-Limonen	97	SIGMA-ALDRICH s.r.o	USA
1,8-cineol	99	SIGMA-ALDRICH s.r.o	USA
Linalool	99	SIGMA-ALDRICH s.r.o	Čína
Kafr	96	SIGMA-ALDRICH s.r.o	Čína
Karvakrol	99	SIGMA-ALDRICH s.r.o	Čína
Benzyl-acetát	-	Joseph Vögele	Německo
Benzyl-benzoát	-	Joseph Vögele	Německo
(<i>cis, trans</i>) Menthon	98	Acros Organics B.V.B.A.	Indie
(\pm) Menthol	≥ 98	SIGMA-ALDRICH s.r.o	Německo
Terpinen-4-ol		Joseph Vögele	
(<i>cis, trans</i>) Citral	95	Acros Organics B.V.B.A.	Belgie
Citronellol	-	Joseph Vögele	Německo
terpineol	-	Joseph Vögele	Německo
Eugenol	99	SIGMA-ALDRICH s.r.o	Indonézie
(<i>cis, trans</i>) Isoeugenol	98	SIGMA-ALDRICH s.r.o	USA
Farnesol	95	SIGMA-ALDRICH s.r.o	Německo
Geraniol	99	Acros Organics B.V.B.A.	USA
Karvon	99	Acros Organics B.V.B.A.	Francie
Trans-cinamaldehyd	99	SIGMA-ALDRICH s.r.o	Čína
Thymol	99–101	SIGMA-ALDRICH s.r.o	Německo

6.3 Vzorčky esenciálních olejů

Vzorčky esenciálních olejů byly zakoupeny v červenci a září v roce 2019, buď v kamenných prodejnách, nebo přes internetové obchody výrobců. Společnosti Nobilis Tilia s.r.o. a Bewit Franchise, s.r.o. nám vzorčky olejů darovaly.

Nobilis Tilia s.r.o.

Tab. 7. Nobilis Tilia: druhy esenciálních olejů vybraných k chemické analýze

Druh	Šarže	Země původu
Máta peprná (<i>Mentha piperita</i>)	E0009	USA
Máta kadeřavá (<i>Mentha spicata</i>)	E0031	USA
Máta luční (<i>Mentha arvensis</i>)	E016	Nepál
Máta citronová (<i>Mentha citrata</i>)	E015	Nepál
<i>Eucalyptus globulus</i>	E0189	Austrálie
<i>Eucalyptus citronovonný</i>	E0089	Čína
<i>Eucalyptus camaldulensis</i>	E009	Nepál
<i>Bio Eucalyptus radiata</i>	B0002	Austrálie

BEWIT FRANCHISE, s.r.o.

Tab. 8. Bewit: druhy esenciálních olejů vybraných k chemické analýze

Druh	Šarže	Země původu
Peppermint (<i>Mentha piperita</i>)	1000000100150046	Čína
<i>Eucalyptus globulus</i>	1000000100150017	Indie
<i>Eucalyptus radiata</i>	1000000100150525	Indie
<i>Eucalyptus citriodora</i>	1000000100150596	Indie
<i>Eucalyptus camaldulensis</i>	1000000100150597	Indie
<i>Eucalyptus blue</i>	1000000100150595	Indie

Saloos naturcosmetic, s.r.o., M+H, Míča a Harašta s.r.o.

Tab. 9. Saloos: druhy esenciálních olejů vybraných k chemické analýze

Druh	Šarže	Země původu
Máta peprná (<i>Mentha piperita</i>)	02/2022	Indie
Máta kadeřavá (<i>Mentha spicata</i>)	11/2021	Čína
<i>Eucalyptus globulus</i>	-	Čína
<i>Eucalyptus citriodora</i>	12/2021	Čína

Aromaterapeutická KH a.s., Karel Hádek

Tab. 10. Karel Hádek: druhy esenciálních olejů vybraných k chemické analýze

Druh	Šarže	Země původu
Máta peprná	190614/001	-
Máta kadeřavá	190703/005	-
<i>Eucalyptus globulus</i>	190618/022	-
<i>Eucalyptus citriodora</i>	190722/016	-

Phytos Natur CZ, s.r.o.

Tab. 11. Phytos: druhy esenciálních olejů vybraných k chemické analýze

Druh	Šarže	Země původu
Máta peprná (<i>Mentha piperita</i>)	-	-
Máta kadeřavá (<i>Mentha spicata</i>)	-	-
Máta citronová (<i>Mentha citrata</i>)	-	-
<i>Eucalyptus globulus</i>	-	-
<i>Eucalyptus citriodora</i>	-	-
<i>Eucalyptus radiata</i>	-	-

Český národní podnik, s.r.o., Manufaktura

Tab. 12. Manufaktura: druhy esenciálních olejů vybraných k chemické analýze

Druh	Šarže	Země původu
<i>Mentha spicata</i>	08/2021	neuveдено
<i>Eucalyptus radiata</i>	10/2021	neuveдено

6.3.1 Příprava vzorků

Ředění 1:

K 1000 µl methanolu byl přidán 1 µl esenciálního oleje.

Ředění 2:

Bylo odebráno 500 µl vzorku z 1. ředění a přidáno 500 µl methanolu pro naředění vzorku.

Ředění 3:

Opět bylo odebráno 500 µl z předchozího ředění (2. ředění) a přidáno 500 µl methanolu.

7 VÝVOJ METOD K CHROMATOGRAFICKÉ ANALÝZE

Testovali jsme čtyři různé metody a to metodu A, metodu B, metodu C a metodu D. Metoda A již byla na plynovém chromatografu nastavena i s možnou kalibrací od pana Petra Radiměského z Nobilis Tilia. Metody B a C byly upraveny na základě nastavení a aplikačních listů společnosti Phenomenex®.

Následnou analýzu jsme po vyhodnocení separace na vybraných olejích prováděli pouze na metodě A a D. Metoda B a C nám nepřinášela zcela uspokojivé výsledky.

Nastavení plynového chromatografu:

Pro všechny čtyři metody jsou stejné tyto parametry:

Objem nastříkovaného vzorku: 1 µl v MeOH.

Kolona: *Zebron*TMZB-5MS, GC kapilární kolona 30 m × 0,25 mm × 0,5 µm, nepolární.

Detektor: FID průtok = dusík 25 ml/min, vodík 40 ml/min, vzduch 280 ml/min.

7.1 Metoda A

Nastavení:

Injektor/ nástřík: T = 200 °C, průtok 1 ml/min, dělič toku 1 : 25, oplach septa 5 ml/ min.

Teplotní profil: počátek 50 °C ohřev na 120 °C, gradient 6 °C/min do 230 °C, dále gradient 15 °C/min do 230 °C a setrvání 15 min.

Detektor: FID T = 270 °C

Celkový čas analýzy: 33,99 min.

7.2 Metoda B

Nastavení:

Injektor/ nástřík: T = 200 °C, průtok 1 ml/min, dělič toku 1 : 25, oplach septa 5 ml/ min

Teplotní profil: počátek 100 °C ohřev na 220 °C, gradient 2 °C/min do 220 °C a setrvání 5 min.

Detektor: FID T = 270 °C.

Celkový čas analýzy: 65 min.

7.3 Metoda C

Upravená metoda podle společnosti Phenomenex® a aplikace číslo 15564 on-line <https://www.phenomenex.com/Application/Detail/15564?returnURL=/Application/Search&fsr=1>.

Kolona aplikačního listu: *Zebron*TM ZB-5MS, GC kapilární kolona 20 m × 0,18 mm × 0,18 μm.

Nastavení:

Injektor/ nástřik: T = 200 °C, průtok 1ml/min, dělič toku 1 : 75, oplach septa 5 ml/min.

Teplotní profil: počátek 50 °C, gradient 18 °C/min na 225 °C a setrvání 10 min.

Detektor: FID T = 240 °C.

Celkový čas analýzy: 23,19 min.

7.4 Metoda D

Upravená metoda podle společnosti Phenomenex® a aplikace číslo 14957 on-line <https://www.phenomenex.com/Application/Detail/14957?returnURL=/Application/Search&fsr=1>

Kolona aplikačního listu: *Zebron*TM ZB-5MS, GC kapilární kolona 30 m × 0,25 mm × 0,25 μm.

Nastavení:

Injektor/ nástřik: T = 200 °C, průtok 1ml/min, dělič toku 1 : 75, oplach septa 5 ml/min.

Teplotní profil: počátek 4 min při 40 °C, gradient 8 °C/min na 120 °C, gradient 15 °C/min na 200 °C, gradient 25 °C/min do 300 °C a setrvání 5 min.

Detektor: FID T = 240 °C

Celkový čas analýzy: 28,33 min.

8 AKTIVNÍ SLOUČENINY V RŮZNÝCH ESENCIÁLNÍCH OLEJÍCH

Tab. 13 a) Aktivní sloučeniny v různých esenciálních olejích

Analyt	Retenční čas metoda A [min]	Retenční čas metoda D [min]
α -pinen	8,730	12,280
α -thujen	–	12,720
sabinen	9,710	13,350
β -pinen	9,880	13,183
β -myrcen	9,987	13,470
<i>p</i> -Cymen	10,980	14,320
D-Limonen	11,110	14,447
1,8-cineol	11,240	14,520
γ -terpinen	11,837	14,950
Linalool	12,640	15,557
Kafr	13,760	16,550
Benzyl-acetát	13,840	16,500
Menthon (<i>E/Z</i>)	13,840 + 14,000	16,610 + 16,740
Menthol	14,170	16,840
Terpinen-4-ol	14,250	16,873
Methyl-salicylát	14,450	17,110
Estragol	14,450	17,130
Terpineol	14,450	17,070
Citronellol	14,770	17,347
Neral/Citral B	15,000	17,610
Linalyl-acetát	15,097	17,66
Geraniol	15,120	17,637
Karvon	15,160	17,760
Geranial/Citral A	15,380	17,950
Cinnamaldehyd	15,560	18,040
Thymol	15,640	18,180
<i>trans</i> -Anethol	15,720	18,233

Tab. 2 b) Aktivní sloučeniny v různých esenciálních olejích

Analyt	Retenční čas metoda A [min]	Retenční čas metoda D [min]
Karvakrol	15,770	18,320
Eugenol	16,460	18,930
Methyl-anthranilát	16,480	18,880
Methyleugenol	16,910	19,340
β -karyofylen	17,357	19,760
Isoeugenol	17,520	19,820
Elemol	18,470	–
Farnesol	19,540 + 19,780	21,543 + 21,693
Benzyl-benzoát	20,480	22,120

Pro metodu B a C neuvádíme retenční časy. U těchto metod byly pro vhodnost nastavení chromatografických metod analyzovány přímo vybrané esenciální oleje.

9 VÝSLEDKY A DISKUZE

9.1 Měření indexu lomu

Index lomu esenciálních olejů rodu *Mentha* a *Eucalyptus*, tedy to, jak se šíří rychlost světla ve dvou optických prostředích, jsme měřili na Abbého refraktometru, v laboratorních podmínkách při teplotě 25 °C. Esenciální oleje byly měřeny proti vodě. K měření esenciálního oleje se používaly 2 kapky vzorku, protože při jedné kapce nebyly výsledky uspokojivé. Mezi každým měřením se vždy komora pro měřený vzorek očistila rozpouštědlem (methanolem).

Tab.13. Index lomu u jednotlivých vzorků vybraných esenciálních olejů *Mentha*

	Index lomu					
	Saloos	Nobilis Tilia	Karel Hádek	Phytos	Manufaktura	Bewit
Máta peprná	1,4565	1,4575	1,4565	1,4580	–	1,4569
Máta kadeřavá	1,4870	1,4864	1,4859	1,4853	–	–
Máta luční	–	1,4565	–		–	–
Máta citronová	–	1,4561	–	1,4555	–	–
Máta klasnatá	–	–	–		1,4915	–
Voda	1,3300					

Tab.14. Index lomu u jednotlivých vzorků vybraných esenciálních olejů *Eucalyptus*

	Index lomu					
	Saloos	Nobilis Tilia	Karel Hádek	Phytos	Manufaktura	Bewit
<i>Eucalyptus globulus</i>	1,4565	1,4564	1,4566	1,4590	1,4568	1,4610
<i>Eucalyptus citriodora</i>	1,4475	1,4495	1,4534	1,4531	–	1,4605
<i>Eucalyptus camaldulensis</i>	–	1,4600	–	–	–	1,4633
<i>Eucalyptus Blue</i>	–	–	–	–	–	1,4595
<i>Eucalyptus radiata</i>	–	–	–	1,4607	–	1,4551
<i>Bio Eucalyptus radiata</i>	–	1,4594	–	–	–	–
voda	1,3300					

Index lomu u máty peprné byl Nobilis Tilia 1,4565, Bewit 1,4569, Saloos 1,4565, Phytos 1,4580 a Karel Hádek 1,4565. V literatuře se uvádí, že máta peprná má index lomu 1,4600.[100] Takže ani jeden esenciální olej máty peprné se nijak značně nelišil od dostupné literatury. U máty klasnaté uvádí literatura index lomu 1,489 a máta klasnatá od Manufaktury měla index lomu 1,9415. Eucalyptus globulus od Nobilis Tilia má index lomu 1,4564, Bewitu 1,4600, Saloos 1,4565, Karla Hádka 1,4566, Phytosu 1,4590 a Manufaktury 1,4590. Literatura uvádí, že index lomu *E. globulus* je 1,460. [100] Esenciální olej *E. citriodora* má index lomu pro vzorek od Nobilis Tilia 1,4495, Bewitu 1,4605, Saloos 1,4475, Karla Hádka 1,4534 a Phytosu 1,4605. Literatura uvádí index lomu pro *E. citriodora* 1,4550. Pro esenciální olej *E. radiata* literatura uvádí index lomu 1,46. Index lomu u vzorků *E. radiata*, které jsme naměřili jsou, pro Nobilis tilia 1,4594, Bewit 1,4551 a Phytos 1,4607. [61] Pro mátu kadeřavou, luční, citronovou, klasnatou a *Eucalyptus camaldulensis*, a *E. blue* jsme nenašli porovnání s literaturou.

9.2 Vyhodnocení metody A – *Eucalyptus*

Pro chemické hodnocení jednotlivého vzorku esenciálního oleje jsme využili jen nejdominantnější signály z celého chromatogramu. Povětšinou se jednalo o pět signálů s nejvyšší intenzitou, plochou odkazující dostatečně i na jejich relativní procentuální zastoupení v silici. Tabulky s výsledky jednotlivých vzorků esenciálních olejů rodu *Mentha* a *Eucalyptus* jsou pro lepší přehlednost rozvrženy tak, že v jedné tabulce jsou výsledky např. všech vzorků máty peprné od jednotlivých výrobců. Výsledky v tabulce jsou řazeny podle nejvyšší koncentrace detekovaného analytu, nikoli podle jejich retenčních časů. Jako první jsou vyhodnoceny výsledky z metody A a poté z metody D.

Tab.15. Vyhodnocení analytů z metody A - *Eucalyptus camaldulensis*

Výrobce	Analyt	Koncentrace [%]	Rt [min]
Nobilis Tilia	1,8-Cineol	32	11,25
	Limonen	31,6	11,187
	<i>p</i> -Cymen	8,5	11,113
	α -Pinen	7,6	8,737
	β -Pinen	4,6	9,877
Bewit	Limonen	39,3	11,177
	1,8-Cineol	20	11,213
	<i>p</i> -Cymen	11,4	11,083
	α -Pinen	8,4	8,707
	β -Pinen	5,9	9,847

U esenciálního oleje *Eucalyptus camaldulensis* je obsah látek velmi podobný. V olejích se v největších koncentracích vyskytuje 1,8-cineol, limonen, *p*-cymen, α -pinen a β -pinen. Liší se v zastoupení 1,8-cineolu a limonenu. Kdy olej Nobilis Tilia má koncentraci látek skoro stejnou a u oleje Bewit je dominantní limonen s 39,3 % a 1,8-cineol je zastoupen jen v 20 %. Ostatní položky jsou si velmi blízké.

Tab.16. Vyhodnocení analytů z metody A - *Eucalyptus citriodora*

Výrobce	Analyt	Koncentrace [%]	Rt [min]
Nobilis Tilia	Citronellal	57,8	13,643
	Isopulegon	19,6	13,570
	Citronellol	4,6	14,770
Bewit	Citronellal	42,6	13,617
	α -Terpinen	18,0	10,577
	Kafr	5,4	13,690
	α -Pinen	5,2	8,700
	Limonen	3,5	11,077
Saloos	Citronellal	50,4	13,640
	Isopulegon	33,8	13,570
	Citronellol	2,2	14,773
Karel Hádek	Citronellal	31,2	13,627
	?	28,4	13,527
	?	8,7	13,473
	Kafr	3,8	13,700
	Citronellol	2,6	14,757

U *E. citriodora* je u všech analyzovaných vzorků v největší koncentraci zastoupen citronellal (Nobilis Tilia 57,8 % Bewit 42,6 %, Saloos 50,4 %, Karel Hádek 31,2 %). U dalších analytů s nejvyšší koncentrací, které byly detekovány nemůžeme s jistotou napsat o které konkrétní konstituenty olejů se jedná, protože jsme neměli jejich standardy a tudíž možnost zjistit v kterém retenčním čase mají odezvu na detektoru. Nicméně podle porovnávání s literaturou. [17] [38] [59] [60] navrhuje isopulegon v případě u Nobilis Tilia (Rt 13,570 19,6 %) a u Saloos (Rt 13,570 a 33,8 %) také isopulegon [99]. U *E. camaldulensis* od Karla Hádky se nám bohužel nepodařilo identifikovat o jaké látky by se mohlo jednat. Ani podle časopiseckých literárních zdrojů a ani podle zdrojů terciálních, souborných knih podle retenčních indexů.

Tab.17. Vyhodnocení analytů z metody A - *Eucalyptus globulus*

Výrobce	Analyt	Koncentrace [%]	Rt [min]
Nobilis Tilia	1,8-cineol	79,3	11,23
	Limonen	7,8	11,183
	<i>p</i> -Cymen	4,0	11,093
	α -Terpinen	4	10,96
Bewit	1,8-Cineol	31,1	11,213
	Limonen	29,7	11,150
	α -Pinen	14,5	8,690
	<i>p</i> -Cymen	5,5	11,070
Saloos	Limonen + <i>p</i> -Cymen	45,9	11,173
	1,8-Cineol	41,7	11,250
	α -Terpinen	4,3	10,983
Karel Hádek	Limonen	62,3	11,157
	1,8-Cineol	25,9	11,217
	α -Terpinen	3,2	10,897
Phytos	?	40,8	11,197
	1,8-Cineol	31,2	11,257
	?	6,4	11,120
	<i>p</i> -Cymen	5,8	10,987
Manufaktura	1,8-Cineol	50,6	11,247
	Limonen	30,1	11,190
	<i>p</i> -Cymen	7,2	11,117
	α -Terpinen	4,5	10,983

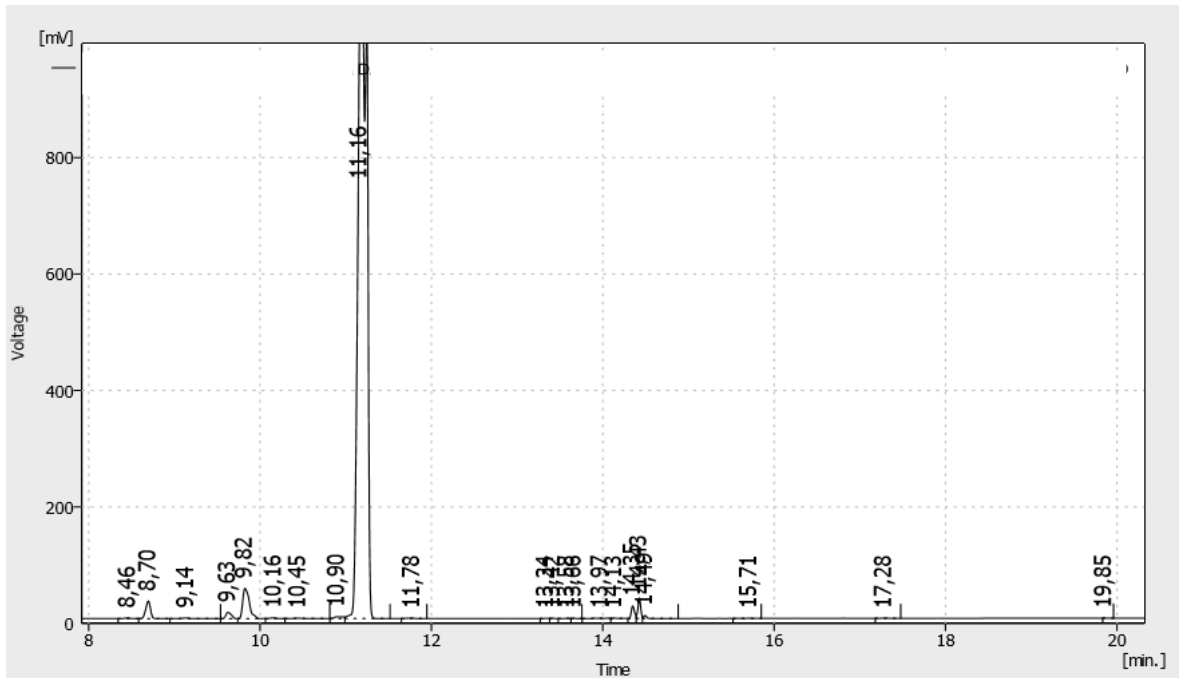
E. globulus od Nobilis Tilia má v největší koncentraci zastoupené analyty 1,8-cineol a limonen, kdy rozdíl mezi koncentracemi těchto dvou analytů je markantní 1-8-cineol je zastoupen v 79,3 % a limonen pouze v 7,8 %. U Bewitu je to stejné, jen u Nobilis Tilia následuje po limonenu *p*-cymen a u Bewitu α -pinen. U Saloos byl v největší koncentraci zastoupený limonen, ale jeho pík na chromatografu neměl typický pík, proto si myslíme, že došlo ke spojení analytů limonen a *p*-cymen. Karel Hádek má také v největší koncentraci analyt limonen a za ním 1,8-cineol. U Phytosu se nám nepodařilo identifikovat analyt

s největší koncentrací 40,8 % a retenčním časem 11,197 a pík 11,120 o koncentraci 6,4 %, 1,8-cineol je obsažen v koncentraci 31,2 %. U manufaktury je stejné pořadí analytů 1,8-cineol a limonen jako u Nobilis Tilia a u Bewitu. Dalšími analyty objevujícími se v *E.camaldulensis* jsou například *p*-cymen, α -pinen a α -terpinen. Kdy α -terpinen je opět jen návrh, jelikož nemáme k dispozici jeho standard, který jsme vyhodnotili jako možný vzhledem k druhu oleji a v porovnání s jinými vědeckými pracemi [99].

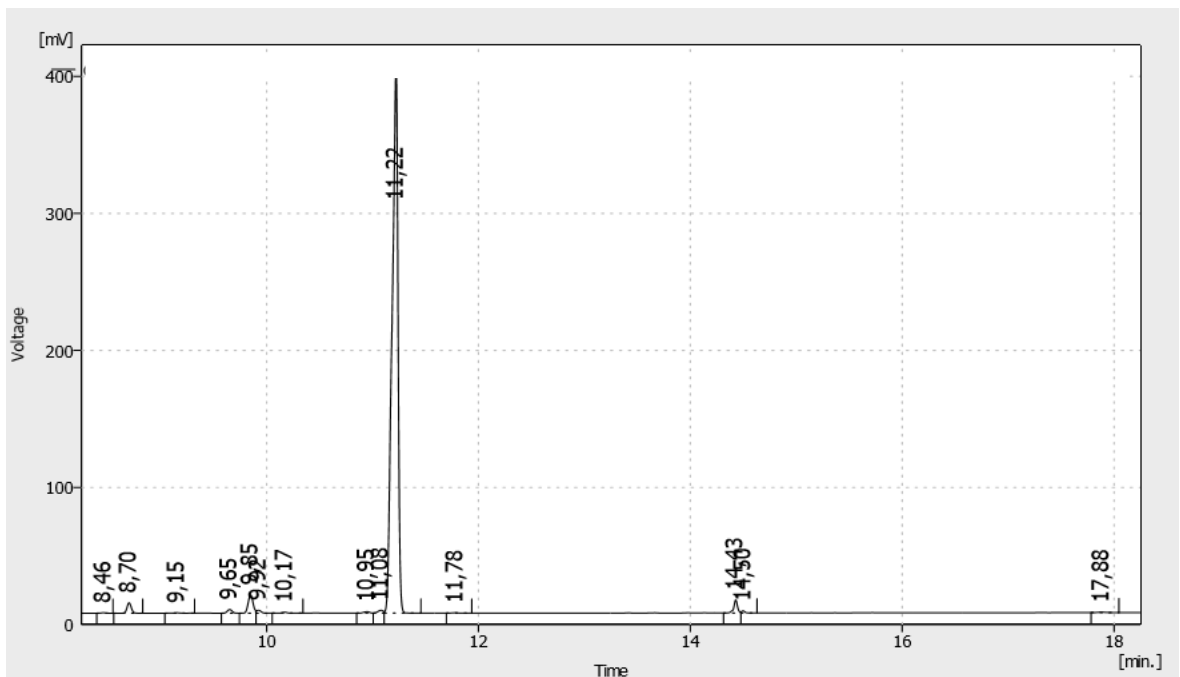
Tab.18. Vyhodnocení analytů z metody A - *Eucalyptus radiata*

Výrobce	Analyt	Koncentrace [%]	Rt [min]
Bewit	1,8-Cineol + Limonen	92,6	11,220
	β -Pinen	2,6	9,85
	Methyl-salicylát/ Terpeneol/ Estragol	1,4	14,427
Phytos	γ -Terpinen	32,3	11,193
	1,8-Cineol	20,9	11,253
	<i>p</i> -Cymen	9,5	10,987
	Limonen	7,3	11,123

U *E. radiata* od Bewitu nebylo možné s jistotou určit jednotlivé analyty. Pro interpretaci výsledků bylo vybráno třetí ředění, kde, ale pravděpodobně došlo ke spojení dvou analytů v jeden pík (1,8-cineol a limonen), neboť je zvláštní, že by tvořil 92,6 % oleje a také proto, že při srovnání s druhým ředěním byly na chromatogramu píky dva. U druhého ředění došlo pravděpodobně k vysaturování detektoru. Nicméně ani jedno ředění se nejevilo jako uspokojivé. Pro retenční čas 14,427 navrhuje jeden z analytů methyl-salicylát/ terpeneol/ estragol, blíže to nedokážeme určit, protože jejich retenční časy jsou si dost podobné.



Obr. 26. Chromatogram *Eucalyptus radiata* Bewit 2. ředění metoda A



Obr. 27. Chromatogram *Eucalyptus radiata* Bewit 3. ředění metoda A

Na obrázku č. 26 je vidět, že při druhém ředění dochází k štěpení největšího píku, avšak detektor je vysaturovaný a při třetím ředění, tedy menší koncentraci obr. č. 27 se největší pík již neštěpí.

E. radiata od Phytosu se pro pík s největší koncentrací podle retenčního času jeví jako γ -terpinen 32,3 % dále 1,8-cineol 20,9 %, *p*-cymen 9,5 % a limonen 7,3 %

Tab. 20. Vyhodnocení analytů z metody A – *BIO Eucalyptus radiata*

Výrobce	Analyt	Koncentrace [%]	Rt [min]
Nobilis Tilia	Limonen	36,3	11,19
	1,8-Cineol	35,4	11,24
	<i>p</i> -Cymen	6	11,1
	Methyl-salicylát/ Estragol	5,9	11,453

U bio *E. radiata* od Nobilis Tilia jsme v největší koncentraci identifikovali limonen 36,3 %, dále 1,8-cineol 35,4 %, *p*-cymen 6 % a koncentraci 5,9 % pro kterou navrhuje buď analyt methyl-salicylát nebo estragol.

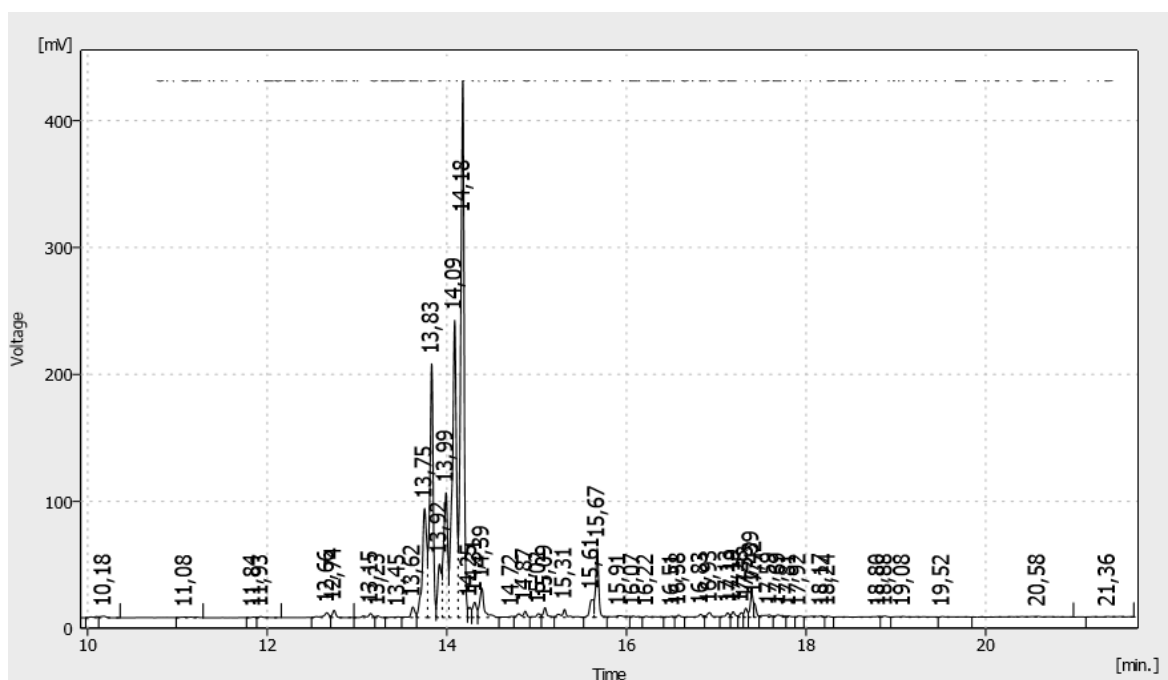
Tab. 9. Vyhodnocení analytů z metody A - *Eucalyptus blue*

Výrobce	Analyt	Koncentrace [%]	Rt [min]
Bewit	1,8-Cineol + Limonen	55,4	11,207
	α -Pinen	25,5	8,717
	α -Terpinen	11	10,580
	<i>p</i> -Cymen	2,4	11,080

V tomto případě pravděpodobně také došlo ke spojení píků 1,8-cineol a limonen, protože pík nebyl ostrý. I přesto, že se jedná o třetí ředění, tedy koncentrace je nízká, tak to nestačilo k jejich oddělení. Dalšími analyty, které měly vyšší koncentraci jsou α -pinen, α -terpinen (návrh), *p*-cymen

9.3 Vyhodnocení metody A – *Mentha*

U vzorků esenciálních olejů rodu *Mentha* se jako velmi problematická jevila identifikace retenčních časů pro menthol a menthon, jednak proto, že na chromatogramu je mnoho analytů v jednom místě, které se mohou překrývat a posunovat v retenčních časech vůči sobě jak je vidět na obrázku č. 28 a také proto, že menthon se vyskytuje ve směsi izomerů *E* a *Z*.



Obr. 28. Chromatogram máta peprná Bewit 3. ředění metoda A

Tab. 22. Vyhodnocení analytů z metody A – *Máta peprná*

Výrobce	Analyt	Koncentrace [%]	Rt [min]
Nobilis Tilia	Menthol	22,7	14,173
	?	21,7	14,080
	Menthon	13,4	13,837
	Kafr	7,6	13,750
	Limonen	4,7	11,153
Bewit	Menthol	28,8	14,177
	?	19,5	14,087
	Menthon	13,7	13,830
	Menthon	7,8	13,990
	Kafr	7,6	13,753
Saloos	Menthol	26,6	14,180
	?	21,7	14,097
	Menthon	10,6	13,84
	Kafr	10,1	13,767
	Limonen	5,8	11,170
Karel Hádek	Menthol	41,5	14,167
	?	15,2	14,103
	Menthon	12,2	13,823
	Menthon	7	13,987
	Kafr	4,2	13,777
Phytos	Menthol	21,9	14,18
	?	27,3	14,11
	Menthon	10,1	14
	Menthon	10	13,84
	Kafr	9,9	13,78

Vzorky máty peprné jsme měli k dispozici od firem Nobilis tilia, Bewit, Saloos, Karel Hádek a Phytos. Ve všech případech je v největší koncentraci menthol (Nobilis Tilia 22,7 %, Bewit 28,8 %, Saloos 26,6 %, Karel Hádek 41,5 %, Phytos 21,9 %), který se pohyboval v podobných koncentracích, až u Karla Hádka je jeho koncentrace vyšší. U Bewitu jsme nedokázali identifikovat pík s retenčním časem 14,87 mohlo by se jednat o menthon, ale nevíme jestli se mezi mentholem a menthonem v tomto oleji nevyskytuje ještě nějaký jiný

analyt. Stejný případ jako u Bewitu byl i u Phytosu u retenčního času 14,103. U Nobilis Tilia v retenčním čase 14,080 a Saloos v retenční čase 14,097 se s největší pravděpodobností jedná o jeden z izomerů menthonu, ale tyto dva časy jsou posunuté, takže to nemůžeme s určitostí potvrdit. Jako další analyt, který byl identifikován v koncentraci okolo 10 % byl kafr u Nobilis Tilia, Saloos, Karel Hádek a Phytos.

Tab. 23. Vyhodnocení analytů z metody A – *Máta kadeřavá*

Výrobce	Analyt	Koncentrace [%]	Rt [min]
Nobilis tilia	Karvon	33,3	15,187
	Linalyl-acetát	31,3	15,060
	Limonen	18,1	11,123
	β-Pinen	1,7	9,913
Saloos	Neral	35,6	14,990
	Karvon	32,2	15,183
	Limonen	19,8	11,110
Karel Hádek	Karvon	33,6	15,160
	Linalyl-acetát/ Neral	29,8	15,083
	Limonen	18,0	11,087
Phytos	Limonen	29,6	11,11
	Karvon	28,1	15,17
	Linalyl-acetát	22,6	15,10

U máty kadeřavé je ve všech vzorcích zastoupen karvon v podobných koncentracích, u vzorku od Nobilis Tilia je to 31,3 %, Saloos 32,2 %, Karel Hádek 33,6 % a Phytos 28,1 %. V největší koncentraci se vyskytuje pouze u Nobilis Tilia a u Karla Hádka u Saloos je v největší koncentraci zastoupen Neral 35,6 % a u Phytosu limonen 29,6 %.

Tab. 24. Vyhodnocení analytů z metody A – *Máta citronová*

Výrobce	Analyt	Koncentrace [%]	Rt [min]
Nobilis Tilia	Linalyl-acetát	31,1	15,087
	Linalool	26,5	12,650
	?	14,5	12,570
	Neral	9	15,027
Phytos	?	30,9	12,59
	Linalyl-acetát	22,3	15,09
	Linalool	19,7	12,66
	Neral	14,7	15,03

U Nobilis Tilia byl v největší koncentraci linalyl-acetát 31,1 % a linalool 26,5 % a neral 9 %. U Phytosu se nám pík s největší koncentrací nepodařilo určit. Podobný retenční čas byl i u máty citronové od Nobilis Tilia. Další nejvíce koncentrovaným analytem byl linalyl-acetát 22,3 % a linalool 19,7 % a neral 14,7 %.

Tab. 25. Vyhodnocení analytů z metody A – *Máta luční*

Výrobce	Analyt	Koncentrace [%]	Rt [min]
Nobilis Tilia	Menthol	49,0	14,187
	Menthon	23,2	14,117
	Menthon	5,4	13,843
	Limonen	4	11,117

U máty luční převažuje zastoupení mentholu 49 % a menthonu 23,2 % a 5,4 % a 4 % limonenu.

Tab. 2610. Vyhodnocení analytů z metody A – Máta klasnatá

Výrobce	Analyt	Koncentrace [%]	Rt [min]
Manufaktura	Karvon	45,6	15,170
	Linalyl-acetát/ Neral	39,1	15,083
	Limonen	9,1	11,107

U máty klasnaté od Manufaktury je v nejvyšší koncentraci analyt karvon 45,6 % a pro druhou nejvyšší koncentraci analytu 39,1 % navrhuje buď linalyl-acetát nebo neral B. Nedokážeme to s určitostí říct, protože jejich retenční časy jsou velmi podobné.

9.4 Vyhodnocení metody D – *Eucalyptus*

Od metody D jsme očekávali lepší dělení u problematických signálů jako je u eukalyptu 1-8 cineol a limonen nebo u máty menthol a menthon.

Tab. 27. Vyhodnocení analytů z metody D - *Eucalyptus camaldulensis*

Výrobce	Analyt	Koncentrace [%]	Rt [min]
Nobilis Tilia	1,8-Cineol	60,1	14,520
	Limonen	11,6	14,420
	α -Pinen	8,7	12,28
Bewit	1,8-Cineol	47,7	14,537
	p-cymen	12,1	14,430
	Limonen	10,9	14,493
	α -Pinen	8,5	12,290
	?	5,6	13,360

U *Eucalyptus camaldulensis* byl v obou případech nejvíce zastoupen 1,8-cineol, u Nobilis Tilia 60,1 % a u Bewitu 47,7 %. U obou byly obsaženy stejné analyty v klesající tendenci, ale u Bewitu byl ještě mezi 1,8-cineolem a limonenem identifikován p-cymen 12,1 %.

Tab. 28. Vyhodnocení analytů z metody D - *Eucalyptus citriodora*

Výrobce	Analyt	Koncentrace [%]	Rt [min]
Nobilis Tilia	Citronellal	55,4	16,423
	?	20,9	16,367
	Benzyl-acetát	4,1	16,503
	Citronellol	4,1	17,393
Bewit	Citronellal	36,7	16,433
	α -Terpinen	19,8	14,017
	?	5,3	16,377
	Benzyl-acetát	5,2	16,510
Saloos	Citronellal	66,6	16,413
	?	16,2	16,357
	Benzyl-acetát	3,2	16,487
	Citronellol	2,7	17,383
Karel Hádek	Citronellal	58,7	16,430
	?	12,1	16,357
	Benzyl-acetát	6,1	16,503
	Citronellol	4,3	17,397
Phytos	Citronellal	53,2	16,430
	?	10,4	16,380
	α -Terpinen	9,8	14,007
	Benzyl-acetát	5	16,507

U *E. camaldulensis* byl v největší koncentraci zastoupen citronellal (Nobilis Tilia 55,4 %, Bewit 36,7 %, Saloos 66,6 %, Karel Hádek 58,7 %, Phytos 53,2 %) u všech značek. Dalšími analyty, které se vyskytují *E. camaldulensis* jsou např. benzyl-acetát, citronellol a α -terpinen. Nepodařilo se nám identifikovat pík, který má retenční čas cca 16,35 a vyskytuje se v každém analyzovaném vzorku esenciálního oleje *E. camaldulensis*.

Tab. 29. Vyhodnocení analytů z metody D - *Eucalyptus globulus*

Výrobce	Analyt	Koncentrace [%]	Rt [min]
Nobilis Tilia	1,8-Cineol	78,6	14,530
	Limonen	7,7	14,427
	<i>p</i> -cymen	4	14,320
Bewit	1,8-Cineol	45,6	14,540
	Limonen	16,0	14,490
	α -Pinen	13,6	12,290
	<i>p</i> -Cymen	7,1	14,327
Saloos	1,8-Cineol	61,8	14,52
	Limonen	17,7	14,473
	?	7,2	14,420
	<i>p</i> -Cymen	4,6	14,307
Karel Hádek	1,8-Cineol + Limonen	80,1	14,533
	?	7,4	14,430
	<i>p</i> -Cymen	3,3	14,323
Phytos	1,8-Cineol	71,3	14,517
	Limonen	7,2	14,413
	<i>p</i> -Cymen	5,8	14,310
	γ -Terpinen	4,6	14,950
Manufaktura	1,8-Cineol	80	14,523
	Limonen	7,5	14,420
	<i>p</i> -Cymen	4,5	14,313

Olej *E. globulus* se svým složením v jednotlivých vzorcích nijak nelišil, pouze v množství zastoupeného analytu. Ve všech případech byl nejvíce zastoupený 1,8-cineol (Nobilis Tilia 78,6 %, Bewit 45,6 %, Saloos 61,8 %, Karel Hádek 80,1 %, Phytos 71,3 %, Manufaktura 80 %). Podle výsledků můžeme říct, že nejvíce 1,8-cineolu obsahoval vzorek od Karla Hádky, ale tam pravděpodobně došlo k sloučení dvou píků v jeden (1,8-cineol a limonen). Takže vzorek s největším množstvím 1,8-cineolu byl vzorek od Manufaktury a s nejnižší koncentrací od Bewitu. Druhým nejvíce koncentrovaným analytem byl limonen. Dalšími analyty vyskytujícími se v *E. globulus* jsou např. *p*-cymen, α -pinen, γ -terpinen.

Tab. 30. Vyhodnocení analytů z metody D - *Eucalyptus radiata*

Výrobce	Analyt	Koncentrace [%]	Rt [min]
Bewit	1,8-Cineol	47,3	14,500
	Linalool	45,9	14,537
	Sabinen	2,5	13,330
Phytos	1,8-Cineol	52,6	14,537
	p-Cymen	9,2	14,327
	Limonen	8,1	14,433

V největší koncentraci byl 1,8-cineol u Bewitu v 47,3 % i u Phytosu. 52,6 %. Zajímavé je, že u Bewitu je linalool v 45,9 % a u Phytosu ne.

Tab. 31. Vyhodnocení analytů z metody D – *BIO Eucalyptus radiata*

Výrobce	Analyt	Koncentrace [%]	Rt [min]
Nobilis Tilia	1,8-Cineol	70,8	14,520
	Methyl-salicylát/ Estragol	8	17,123
	Limonen	6,2	14,413

U Bio *E. radiata* od Nobilis Tilia byl v největší koncentraci 1,8-cineol 70,8 % a pak už byly jen koncentrace analytů nižší než 10 % jako je v 8 % methyl salicylát nebo estragol, nemůžeme s jistotou říct, který z nich to je a limonen v 6,2 %.

Tab.32. Vyhodnocení analytů z metody D - *Eucalyptus blue*

Výrobce	Analyt	Koncentrace [%]	Rt [min]
Bewit	1,8-Cineol	40,4	14,540
	α -Pinen	22,7	12,287
	Limonen	20,6	14,473

Opět byl nejvíce zastoupený 1,8-cineol 40,4 %, následuje α -pinen 22,7 % a limonen 20,6 %.

9.5 Vyhodnocení metody D – *Mentha*

Tab. 33. Vyhodnocení analytů z metody D – *Máta peprná*

Výrobce	Analyt	Koncentrace [%]	Rt [min]
Nobilis Tilia	Menthol	33,2	16,893
	Menthon	17,8	16,610
	?	7,6	16,843
	Menthon	6,1	16,747
	1,8-Cineol	5,9	14,527
Bewit	Menthol	37,8	16,903
	Menthol	17,9	16,613
	?	12,4	16,823
	Menthon	8,3	16,753
	Trans-anetol	5,1	18,220
Saloos	Menthol	42,7	16,900
	Menthon	19,0	16,610
	1,8-Cineol	5,7	14,530
	Menthol	5,4	16,827
Karel Hádek	Menthol	49,7	16,890
	Menthon	16,0	16,600
	Menthon	7,5	16,740
	Mentofuran	6,3	16,843
Phytos	Menthol	40,7	16,900
	Menthon	20,9	16,617
	Menthon	8,0	16,757

U všech vzorků máty peprné převažuje menthol a menthon, v malé míře je obsažen i 1,8-cineol u vzorku od Nobilis Tilia a Saloos a *trans*-anetol od Bewitu a u Karla Hádka menthofuran. U Nobilis Tilia se nám nepodařil identifikovat pík s retenčním časem 16,843. A u Bewitu se nám nepodařil identifikovat pík s retenčním časem 16,823.

Tab. 34. Vyhodnocení analytů z metody D – *Máta kadeřavá*

Výrobce	Analyt	Koncentrace [%]	Rt [min]
Nobilis Tilia	Karvon	52,5	17,767
	Limonen	19,0	14,420
	Geraniol	9,9	17,690
Saloos	Karvon	52,1	17,757
	Limonen	21,2	14,403
	Geraniol	13,2	17,710
Karel Hádek	Karvon	59,4	17,767
	Limonen	16,5	14,417
	Menthon	5	17,693
	Terpineol	2,6	17,170
Phytos	Karvon	43,4	17,763
	Limonen	28,9	14,413
	Geraniol	8,8	17,690
	Terpineol	3,0	17,167

U máty kadeřavé se menthol a menthon prakticky nenachází, pouze u vzorku od Karla Hádky. Jako nejvíce zastoupeným analytem je tu karvon (Nobilis tilia 52,5 %, Saloos 52,1 %, Karel Hádek 59,4 %, Phytos 43,4 %). Dalším identifikovaným analytem je limonen, geraniol terpineol

Tab. 35. Vyhodnocení analytů z metody D – *Máta citronová*

Výrobce	Analyt	Koncentrace (%)	Rt [min]
Nobilis Tilia	Linalyl-acetát	26,7	17,667
	Linalool	22,4	15,613
	?	19,9	15,513
	Neral	12,1	17,590
Phytos	Linalyl-acetát	30,2	17,660
	Linalool	29,1	15,603
	Citronellal	19,2	15,540

Stejně jako u výsledků metody A je nejvíce zastoupeným analytem linalyl-acetát, linalool, citronellal a neral. U vzorku od Nobilis Tilia se nám nepodařilo určit pík s retenčním časem 15,513.

Tab. 36. Vyhodnocení analytů z metody D – *Máta luční*

Výrobce	Analyt	Koncentrace (%)	Rt [min]
Nobilis Tilia	Menthol	52,1	16,893
	Menthol	20,6	16,800
	Menthon	5,7	16,603
	Menthon	3,9	16,747
	Limonen	3,6	14,423

U máty luční je nejvíce zastoupený menthol a menthon, v malé míře i limonen.

Tab. 37. Vyhodnocení analytů z metody D – *Máta klasnatá*

Výrobce	Analyt	Rt [min]	Koncentrace (%)
Manufaktura	Karvon	17,770	68,2
	Geraniol	17,703	15,1
	Limonen	14,430	10,4

Máta klasnatá má nejvíce karvonu. Dalšími látkami jsou i geraniol a limonen jak je vidět v tabulce 37.

Na separaci a identifikaci analytů má vliv koncentrace vzorku. Obecně se dá říct, že méně koncentrovaný vzorek je lepší a, že analyty jsou lépe separované a identifikovatelné. Toto neplatí vždy, v některých případech i ve velmi málo koncentrovaném vzorku nedochází k lepší separaci analytů a naopak ostatní analyty jsou ve vzorku v tak nízké koncentraci, že už nejsou detekovány.

V zadání diplomové práce jsou zmíněny dva body. Prvním bodem je, že vzorky silic měli být porovnány optickými metodami refraktometrie a polarimetrie. Výsledky nemůžeme porovnat, protože experiment za pomoci polarimetrie neproběhl. Zjistili jsme, že v daném přístroji na kterém měl experiment probíhat je velká kyveta a tím pádem by byla velká spotřeba vzorku a z důvodu tohoto zjištění k experimentu nedošlo. A bod číslo 2 se měl

věnovat ještě další chemické analýze na plynovém chromatografu, tentokrát na opačné, polární koloně. Původně mělo jít o typ Agilent DB-wax (30 m × 0,2 mm × 0,2 μm) a Phenomenex[®] ZB Wax plus (30 m × 0,25 mm × 0,25 μm), ale to jsme vzhledem k ostatním úkolům nestihli.

Pro jednoznačnější identifikaci jednotlivých složek bychom navrhli několik změn v práci v této problematice. A to zavedení, proměření takových standardů, které jsou analyticky čisté a jednoznačně identifikované isomery. Příkladem nejednoznačného určení je menthon, který má dva isomery a nebylo ze standardní látky jasné v kterém retenčním čase přesně ten, který isomer je z kolony eluován. Nadto tato komerční látka byla složitější směsí nežli by si analytický standard zasloužil. Podobně problematický je i farnesol, isoeugenol či menthol. Dalším řešením identifikace by byla komparace analýz mezi různými délkami chromatografických kolon o stejné polaritě v kombinaci s detektorem FID a MS. Další variantou je použít jiný nosný plyn, jako je např. helium, který je, ale ekonomicky náročný. Případně by se mohl jako nosný plyn použít i vodík, tato alternativa se dostává čím dál více do popředí. Nevýhodou vodíku je, že je za určitých podmínek výbušný. Poslední a schůdnou možností v našich podmínkách by byla identifikace jednotlivých komponent přes tzv. indexy, např. Kovatsovy nebo aritmetické indexy spočtené přes retenční časy homologické řady uhlovodíků v rozsazích od C6 (hexan) po C40 (tetrakontan) separované za totožných podmínek jako vzorky silic.

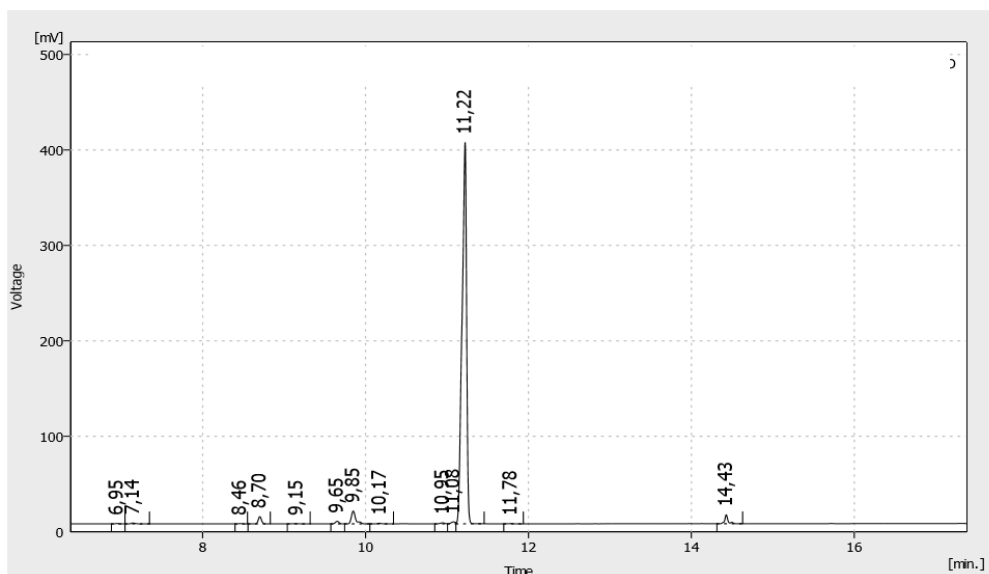
ZÁVĚR

Cílem práce bylo optimalizovat metodu separace esenciálních olejů metodou plynové chromatografie a analýza esenciálních olejů, které jsou k dostání na českém trhu. K tomu jsme vyzkoušeli metodu A, která byla již přednastavená na plynovém chromatografu DANI MASTER a další metody B, C a D, u kterých jsme si upravili nastavení na základě aplikačních listů od Phenomenex®. Ani na jedné metodě se vzorky dokonale neseparovali. Ale viditelně probíhala separace lépe na metodě D než na metodě A. Což můžeme vidět například u *Eucalyptus radiata* od Bewitu na obr. 29 a obr. 30. Kdy na obr. 30 můžeme vidět, že pík s nejvyšším retenčním časem se odštěpuje.

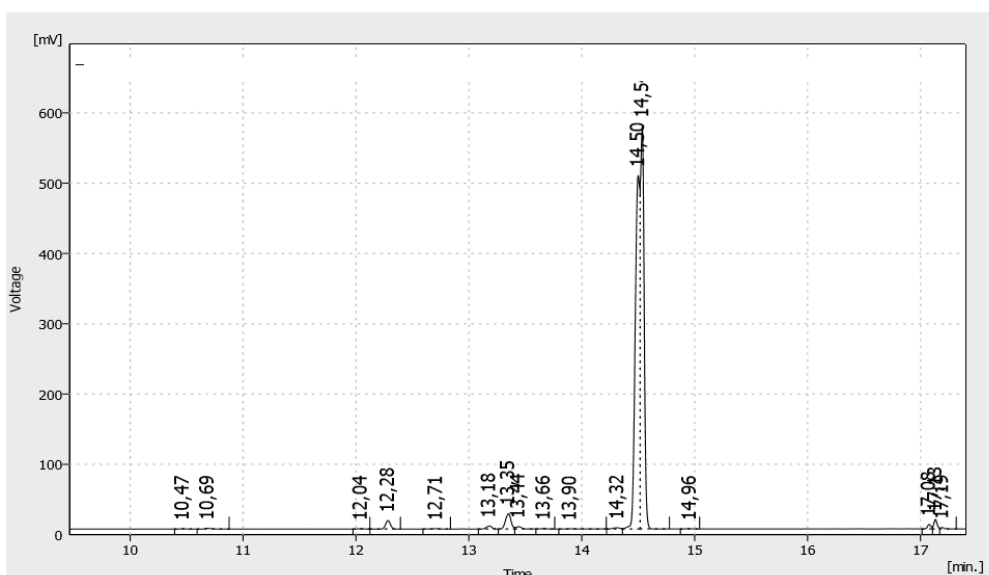
Vzhledem k rozdílnému nastavení plynového chromatografu a FID detektoru na metodě A a metodě D došlo k posunu retenčních časů na metodě D, celkový čas analýzy byl delší. A zajímavé je, že i koncentrace jednotlivých analytů, podle retenčního času píku a jeho plochy, byly vyšší než na metodě A.

Z výsledků analýzy můžeme říct, že u eukalyptových esenciálních olejů je v největší míře zastoupen 1,8- cineol, limonen a další kompozity jako je α -pinen, β -pinen, α -terpinen, methyl-salicylát a další. Až na *Eucalyptus citriodora* u kterého je v největší koncentraci zastoupený citronellol. U mátových esenciálních olejů převažuje menthol, menthon a limonen. Dalšími kompozity mátového oleje jsou například neral., linalool, linalyl-acetát, terpineol, geranial a další. U máty kadeřavé má největší zastoupení karvon a u máty citronové je to linalyl-acetát.

K dispozici jsme měli vzorky esenciálních olejů *Mentha* a *Eucalyptus* od výrobců Nobilis Tilia s.r.o., BEWIT FRANCHISE s.r.o., Saloos naturcosmetic s.r.o. (Míča a Harasta s.r.o.), Aromaterapeutická KH a.s. (Karel Hádek), Phytos Natur CZ s.r.o. a Český národní podnik s.r.o. (Manufaktura).



Obr. 29. Chromatogram *Eucalyptus radiata* Bewit 3. ředění metoda A



Obr. 30. Chromatogram *Eucalyptus radiata* Bewit 2. ředění metoda D

SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY

- [1] AUGUSTYNOVÁ, M. *Velká kniha pokojových rostlin*. Bratislava: Příroda, 2006. ISBN 80-07-01432-2.
- [2] HUSSAIN, Abdullah I, Farooq ANWAR, Poonam S NIGAM, Muhammad ASHRAF a Anwarul H GILANI. Seasonal variation in content, chemical composition and antimicrobial and cytotoxic activities of essential oils from four *Mentha* species. *Journal of the Science of Food and Agriculture*. 2010, , n/a-n/a. DOI: 10.1002/jsfa.4021. ISSN 00225142. Dostupné také z: <http://doi.wiley.com/10.1002/jsfa.4021>
- [3] NAZEM, Vahideh, Mohammad R. SABZALIAN, Ghodrattollah SAEIDI a Mehdi RAHIMMALEK. Essential oil yield and composition and secondary metabolites in self- and open-pollinated populations of mint (*Mentha* spp.). *Industrial Crops and Products*. 2019, **130**, 332-340. DOI: 10.1016/j.indcrop.2018.12.018. ISSN 09266690. Dostupné také z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0926669018310707>
- [4] HARLEY, R. M., S. ATKINS, A. L. BUDANTSEV, et al. Labiatae. *Flowering Plants · Dicotyledons*. Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg, 2004, 2004, 167-275. DOI: 10.1007/978-3-642-18617-2_11. ISBN 978-3-642-62200-7. Dostupné také z: http://link.springer.com/10.1007/978-3-642-18617-2_11
- [5] DORMAN, H.J.D., A. PELTOKETO, R. HILTUNEN a M.J. TIKKANEN. Characterisation of the antioxidant properties of de-odourised aqueous extracts from selected Lamiaceae herbs. *Food Chemistry*. 2003, **83**(2), 255-262. DOI: 10.1016/S0308-8146(03)00088-8. ISSN 03088146. Dostupné také z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0308814603000888>
- [6] DALVA, P., REJANE F. Production and chemical composition of *Mentha x piperita* var. *citrata* (Ehrh.) Briq. essential oil regarding to different potassium concentrations in the hydroponic solution. *Journal of Biotechnology and Biodiversity*. 2013, **4**(N. 3), 200-206.
- [7] TRÉGLOVÁ, L. a A. PONEŠOVÁ. *Máta: Vše, co nutně potřebuješ vědět* [online]. Praha: Grada Publishing, 2018, s. 112 [cit. 2020-02-25]. ISBN 8027121361. Dostupné z: <https://books.google.cz/books?id=Z-q4DwAAQBAJ&dq=m%C3%A1ta&hl=cs>

- [8] MIMICA-DUKIC, M., B. BOŽIN, M. SOKOVIC, B. MIHAJLOVIC a M. MATAVULJ. Antimicrobial and Antioxidant Activities of Three Mentha Species Essential Oils. *Planta Medica*. 2003, **69**(5), 413-419. DOI: 10.1055/s-2003-39704. ISSN 0032-0943. Dostupné také z: <http://www.thieme-connect.de/DOI/DOI?10.1055/s-2003-39704>
- [9] KOKKINI, S., R. KAROUSOU a T. LANARAS. Essential oils of spearmint (Carvone-rich) plants from the island of Crete (Greece). *Biochemical Systematics and Ecology*. 1995, **23**(4), 425-430. DOI: 10.1016/0305-1978(95)00021-L. ISSN 03051978. Dostupné také z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/030519789500021L>
- [10] SÚSTRIKOVÁ, A. a I. ŠALAMON Essential oil of peppermint (*Mentha × piperita* L.) from fields in Eastern Slovakia. *Horticultural Science (PRAGUE)*. 2004, **1**(34), 31-36.
- [11] BEIGI, M., M. TORKI-HARCHEGANI a A. GHASEMI PIRBALOUTI. Quantity and chemical composition of essential oil of peppermint (*Mentha × piperita* L.) leaves under different drying methods. *International Journal of Food Properties*. 2018, **21**(1), 267-276. DOI: 10.1080/10942912.2018.1453839. ISSN 1094-2912. Dostupné také z: <https://www.tandfonline.com/doi/full/10.1080/10942912.2018.1453839>
- [12] Máta peprná (Peppermint): *Mentha piperita*. In: *Esenciální oleje: Dar země* [online]. [cit. 2020-04-12]. Dostupné z: <https://www.certifikovane-esencialni-oleje.cz/esencialni-oleje-a-smesi/mata-peprna/>
- [13] Máta klasnatá (Spearmint): *Mnetha spicata*. In: *Esenciální oleje: Dar země* [online]. [cit. 2020-05-12]. Dostupné z: <https://www.certifikovane-esencialni-oleje.cz/mata-klasnata/>
- [14] BOHNE, Burkhard. *Bylinková zahrádka*. Praha: Grada, 2014. ISBN 978-802-4752-532.
- [15] ZHANG, J., M. AN, H. WU, R. STANTON a D. LEMERLE. Chemistry and bioactivity of Eucalyptus essential oils. *Allelopathy Journal*. **2010**(5), 1-20.
- [16] COPPEN, John J. W., ed. *Eucalyptus: The Genus Eucalyptus*. London: Taylor and Francis, 2002. ISBN 0-415-27879-1

- [17] KUBECZKA, H.H. a V. FORMÁČEK. *Essential oils analysis:: by capilar Gas chromatography and carbon-1 NMR spectroscopy*. 2. England: John Wiley, 2002. ISBN 0-471-96314-3.
- [18] AHMAD, N. R., M. A. HANIF a U. RASHID. Chemical Compositional and Intra Provenance Variation for Content of Essential Oil in *Eucalyptus crebra*. *Asian Journal of Plant Sciences*. 2005, 4(5), 519-523. DOI: 10.3923/ajps.2005.519.523. ISSN 16823974. Dostupné také z: <http://www.scialert.net/abstract/?doi=ajps.2005.519.523>.
- [19] DAMJANOVIĆ-VRATNICA, B., T DAKOV, D. ŠUKOVIĆ a J. DAMJANOVIĆ. Antimicrobial Effect of Essential Oil Isolated from *Eucalyptus globulus* Labill. from Montenegro. *Czech J. Food Sci.* 2011, 277-284.
- [20] Eucalyptus Globulus Essential Oil. In: *Artisan aromatics* [online]. [cit. 2020-04-25]. Dostupné z: <https://artisanaromatics.com/shop/eucalyptus-globulus-essential-oil-organic/>.
- [21] Eucalyptus (Citriodora) Essential Oil. In: *A Scents Worth LLC: Therapy for the Mind, Body, and Spirit* [online]. [cit. 2020-04-25]. Dostupné z: http://www.eo4life.com/Eucalyptus-Citriodora-Essential-Oil_p_46.html.
- [22] DO, Thi K. T., F. HADJI-MINAGLOU, S. ANTONIOTTI a X. FERNANDEZ. Authenticity of essential oils. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*. 2015, 66, 146-157. DOI: 10.1016/j.trac.2014.10.007. ISSN 01659936. Dostupné také z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0165993614002519>
- [23] CELIKEL, N. a G. KAVAS. Antimicrobial properties of some essential oils against some pathogenic microorganisms. *Czech Journal of Food Sciences*. 2008, 26(3), 174-181. DOI: 10.17221/1603-CJFS. ISSN 12121800.
- [24] SEFIDKON, F., BAHMANZADEGAN, A., ASSAREH, M.H. Effect of distillation methods and harvesting times on the essential oil and cineole content of *Eucalyptus dealbata*. *Chem Nat Compd* 44, 250–253 (2008). <https://doi.org/10.1007/s10600-008-9030-2>.
- [25] Steam distillation apparatus in a lab. In: *Wikiwand* [online]. [cit. 2020-04-24]. Dostupné z: https://www.wikiwand.com/en/Steam_distillation.
- [26] MARSILI, R., ed. *Flavor, fragrance and odor analysis*. New York: Marcel Dekker, 2002. ISBN 0-8247-0627-7.

- [27] Essential oil steam distillation diagram. In: *Pinterest* [online]. [cit. 2020-04-24]. Dostupné z: <https://cz.pinterest.com/pin/320881542191488607/?autologin=true>.
- [28] How is tea tree essential oil made? In: *Quora* [online]. [cit. 2020-04-24]. Dostupné z: <https://www.quora.com/How-is-tea-tree-essential-oil-made>.
- [29] BIGNELL, C.M., DUNLOP, P.J., BROPHY, J.J. Volatile leaf oils of some southwestern and southern Australian species of the genus *Eucalyptus* (Series I). Part XVIII. *Flavour and Fragrance Journal* 12: 423-432 (1997).
- [30] LINSKENS, H. F. a J.F. JACKSON, ed. *Essential oils and waxes*. Berlin Heidelberg: Springer-Verlag, 1991. ISBN 13:978-3-642-84025-8.
- [31] BASER, K.Husnu Can a Gerhard BUCHBAUER. *Handbook of essential Oils: Science, Technology, and Applications*. 1. United States of America: Taylor and Francis Group, 2010. ISBN 978-1-4200-6315-8.
- [32] KAŠPÁRKOVÁ, Věra. *Chemie a technologie tuků I, Zlín. Učební text*
- [33] BJORN, B., D. HENNING a M. HAMBURGER. Pressurized liquid extraction of medicinal plants. *Journal of Chromatography A*. **1999**(837), 211-219.
- [34] SOVOVÁ, H. a R. P. STATEVA. Supercritical fluid extraction from vegetable materials. *Reviews in Chemical Engineering*. 2011, **27**(3-4), 1-78. DOI: 10.1515/REVCE.2011.002. ISSN 2191-0235. Dostupné také z: <https://www.degruyter.com/view/j/revce.2011.27.issue-3-4/revce.2011.002/revce.2011.002.xml>
- [35] HERRERO, M., A. CIFUENTES a E. IBANEZ. Sub- and supercritical fluid extraction of functional ingredients from different natural sources: Plants, food-by-products, algae and microalgae. *Science direct: Food chemistry*. **2006**(98), 136-148.
- [36] BICCHI, C., E. LIBERTO, M. MATTEODO, B. SGORBINI, L. MONDELLO, B. ZELLNER, R. COSTA a P. RUBIOLO. Quantitative analysis of essential oils: a complex task. *Flavour and Fragrance Journal*. 2008, **23**(6), 382-391. DOI: 10.1002/ffj.1905. ISSN 08825734. Dostupné také z: <http://doi.wiley.com/10.1002/ffj.1905>
- [37] MARRIOTT J. P., R. SHELLIE a Ch. CORNWELL. Gas chromatographic technologies for the analysis of essential oils. *Journal of chromatography A*. 2001, **2001**(936), 1-22.

- [38] R., TISSERAND a YOUNG R. *Essential Oil Safety: A Guide for Health Care Professionals*. 2. Spojené státy americké: Churchill Livingstone, 2014. Health Professions 2013. ISBN 978-0-443-06241-4.
- [39] SOUTHWELL, I. Eucalyptus leaf oils: Use, chemistry, distillation and marketing. *Phytochemistry*. 1992, **31**(6). DOI: 10.1016/0031-9422(92)80403-2. ISSN 00319422. Dostupné také z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/0031942292804032>.
- [40] BASER, K.Husnu Can a Gerhard BUCHBAUER. *Handbook of essential Oils: Science, Technology, and Applications*. 1. United States of America: Taylor and Francis Group, 2010. ISBN 978-1-4200-6315-8.
- [41] KAŠPÁRKOVÁ, Věra. Analýza tuků a kosmetických přípravků, Zlín. Učební text
- [42] PRAUS, P. aj. VONTOROVÁ. *Analytická chemie II*. Ostrava: VŠB - Technická univerzita Ostrava, 2015. ISBN 978-80-248-3734-5.
- [43] OPEKAR, F.. *Základní analytická chemie pro studenty, pro něž analytická chemie není hlavním studijním oborem*. Praha: Karolinum, 2002. Učební texty Univerzity Karlovy v Praze. ISBN 80-246-0553-8.
- [44] KENKEL, J.. *Analytical chemistry for technicians*. 3rd ed. Boca Raton: Lewis Publishers, c2003. ISBN 15-667-0519-3.
- [45] MCMASTER, M. C. *GC/MS: a practical user's guide*. 2nd ed. Hoboken, N.J.: Wiley-Interscience, 2007. ISBN 978-0-470-10163-6.
- [46] ADAMS, R. P. *Identification of essential oil components by Gas chromatography/Mass spectrometry*. 4. USA: Allured Publishing Corporation, 2007. ISBN 978-1-9263-21-4.
- [47] KLOUDA, P.. *Moderní analytické metody*. 2., upr. a dopl. vyd. Ostrava: Pavel Klouda, 2003. ISBN 80-863-6907-2.
- [48] Plamenově ionizační detektor. In: *SlideServer* [online]. [cit. 2020-05-5]. Dostupné z: <https://image3.slideserve.com/6747428/plamenov-ioniza-n-detektor-flame-ionization-detector-fid-l.jpg>.
- [49] ROBINSON, J. W., E. M. Skelly FRAME a G. M. FRAME. *Undergraduate instrumental analysis*. Seventh edition. Boca Raton: CRC Press, [2014]. ISBN 978-1-4200-6135-2.

- [50] ROGALSKI, Alison. *Synthesis and Kinetic Analysis od Tendamistat-Based a-Amylase Inhibitors* (2007). Senior Honors Thesis. Paper 185.
- [51] ALANKAR, Shrivastava. A review on peppermint oil. *Asian Journal of Pharmaceutical and Clinical Research*. 2009, **2**(2), 27-33.
- [52] RAM, S. V., L. U. RAHMAN, A. SINGH., Essential Oil Composition of Menthol Mint (*Mentha arvensis*) and Peppermint (*Mentha piperita*) Cultivars at Different Stages of Plant Growth from Kumaon Region of Western Himalaya. *Open Access Journal of Medicinal and Aromatic Plants.*, 13-18.
- [53] VINATORU, M., T.J. MASON a I. CALINESCU. Ultrasonically assisted extraction (UAE) and microwave assisted extraction (MAE) of functional compounds from plant materials. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*. 2017, **97**, 159-178. DOI: 10.1016/j.trac.2017.09.002. ISSN 01659936. Dostupné také z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0165993617302091>.
- [54] AMBDUL-MAJEED, B. A., A. A. HASSAN a B. M. KURJI. Extraction of Oil from *Eucalyptus Camadulensis* Using Water Distillation Method. *Iragi Journal of Chemical and Petroleum Engineering*. 2013, **14**(No.2), 7-12. ISSN 1997-4884.
- [55] SINGH, P. a A. K. PANDEY. Prospective of Essential Oils of the Genus *Mentha* as Biopesticides: A Review. *Frontiers in Plant Science*. 2018, **9**. DOI: 10.3389/fpls.2018.01295. ISSN 1664-462X. Dostupné také z: <https://www.frontiersin.org/article/10.3389/fpls.2018.01295/full>.
- [56] PADALIA, R. C., R. S. VERMA, A. CHAUHAN, V. SUNDARESAN a Ch. CHANOTIYA. Essential oil composition of sixteen elite cultivars of *Mentha* from western Himayan region, India. *Maejo International: Journal of Science and Technologies*. 2011, **2013**(7), 83-93. ISSN 1905-7873.
- [57] BOUKHATEM, M. N., M. A. FERHAT, A., KAMELI, F., SAIDI, Kerkadi WALID a Sadok Bouziane MOHAMED. Quality Assessment of the Essential Oil from *Eucalyptus globulus* Labill of Blida (Algeria) Origin. *International Letters of Chemistry, Physics and Astronomy*. 2014, **36**, 303-315. DOI: 10.18052/www.scipress.com/ILCPA.36.303. ISSN 2299-3843. Dostupné také z: <https://www.scipress.com/ILCPA.36.303>.

- [58] BOUKHATEM M. N., et al., "Quality Assessment of the Essential Oil from *Eucalyptus globulus* Labill of Blida (Algeria) Origin", *International Letters of Chemistry, Physics and Astronomy*, Vol. 36, pp. 303-315, 2014.
- [59] KARAMIAN, R., A. MOHAMMADIAN a E. HASSANIMOGHADAN. Identification and comparison of the yield and composition of essential oil constituents of four *Eucalyptus* species adapted to the climatic conditions of Khorramabad. *Journal of HerbMed Pharmacology*. **2015**(4), 25-28.
- [60] ANTON C., De Groot a Smidt ERICH. *Essential Oils: Contact Allergy and Chemical Composition*. USA: Apple academic Press, 2016. ISBN 978-1-4822-4640-7.
- [61] Sigma aldrich: Merck. *Sigma aldrich* [online]. [cit. 2020-05-13]. Dostupné z: <https://www.sigmaaldrich.com/catalog/papers/25632486>

SEZNAM POUŽITÝCH SYMBOLŮ A ZKRATEK

PLE	Tlaková kapalinová extrakce
SFC	superkritická kapalinová extrakce
SWE	odsávání podkritické vody
CO ₂	oxid uhličitý
GC	plynová chromatografie
HPLC	vysokoučinná kapalinová chromatografie
MS	hmotnostní spektrometr
FID	Plamenově-ionizační detektor
EI	Electron Impacty ionization
ESI	Electrospray ionization
NP-HPLC	Kapalinová chromatografie na normální fázi
RP-HPLC	Kapalinová chromatografie na obrácené fázi
EO	Esenciální olej
MeOH	Methanol

SEZNAM OBRÁZKŮ

Obr. 1. Máta peprná [12]	13
Obr. 2. Máta klasnatá [13]	13
Obr. 3. <i>Eucalyptus globulus</i> [20]	16
Obrázek 4. <i>Eucalyptus citriodora</i> [21]	16
Obr. 5. Průmyslové schéma destilace vodní parou [25]	17
Obr. 6. Schéma destilace vodní parou upraveno dle [27]	18
Obr. 7. Schéma destilace vodní parou/ hydrodestilace upraveno dle [28]	18
Obr. 8. Schéma vakuové destilace upraveno dle [30]	19
Obr. 9. Chromatogram <i>Eucalyptus</i> (Čína) [14]	21
Obr. 10. Chromatogram <i>Eucalyptus</i> (Španělsko) [14]	22
Obr. 11. Chromatogram mátového oleje (Michigan) [14]	23
Obr. 12. Mátový olej (Native) [14]	24
Obr. 13. Schéma plynového chromatografu [vlastní zdroj]	27
Obr. 14. Průřez chromatografickými kolonami a) náplňová kolona b) kapilární kolona upraveno dle [44]	28
Obr. 15. Schéma FID detektoru upraveno dle [48]	29
Obr. 16. Schéma hmotnostního spektrometru upraveno dle [30]	30
Obr. 17. Hmotnostní spektrum eugenolu	31
Obr. 18. Hmotnostní spektrum eugenolu	31
Obr. 19. Schéma kapalinového chromatografu upraveno dle [50]	32
Obr. 20. Schéma Cleverengova přístroje: a) destilace EO lehčího než voda, b) destilace EO těžšího než voda dle [53]	34
Obr. 21. citronellal [vlastní zdroj]	37
Obr. 22. Plynový chromatograf DANI MASTER [vlastní zdroj]	43
Obr. 23. Abbého refraktometr s digitálním teploměrem [vlastní zdroj]	44
Obr. 24. Vialky N9 2ml se šroubovacím uzávěrem a septem [vlastní zdroj]	44
Obr. 25. Mikrostríkačka Hamilton [vlastní zdroj]	45
Obr. 26. Chromatogram <i>Eucalyptus radiata</i> Bewit 2. ředění metoda A	59
Obr. 27. Chromatogram <i>Eucalyptus radiata</i> Bewit 3. ředění metoda A	59
Obr. 28. Chromatogram máta peprná Bewit 3. ředění metoda A	61
Obr. 29. Chromatogram <i>Eucalyptus radiata</i> Bewit 3. ředění metoda A	74
Obr. 30. Chromatogram <i>Eucalyptus radiata</i> Bewit 2. ředění metoda D	74

SEZNAM TABULEK

Tab. 3. Přehled druhů máty a jejich využití [14]	14
Tab. 3. Příklady pěstovaných druhů <i>Eucalyptus</i> a jejich použití upraveno dle [15]	16
Tab. 3. Chemické složení mátového oleje	35
Tab. 4. Chemické složení <i>Eucalyptus globulus</i> získaného parní destilací (Alžír)	38
Tab. 5. Výtěžky esenciálních olejů (%)	39
Tab. 6. Použité chemikálie - čistota (%), výrobce, země původu	46
Tab. 7. <i>Nobilis Tilia</i> : druhy esenciálních olejů vybraných k chem. analýze	47
Tab. 8. <i>Bewit</i> : druhy esenciálních olejů vybraných k chem. analýze	47
Tab. 9. <i>Saloos</i> : druhy esenciálních olejů vybraných k chem. analýze	47
Tab. 10. <i>Karel Hádek</i> : druhy esenciálních olejů vybraných k chem. analýze	48
Tab. 11. <i>Phytos</i> : druhy esenciálních olejů vybraných k chem. analýze	48
Tab. 12. <i>Manufaktura</i> : druhy esenciálních olejů vybraných k chem. analýze	58
Tab. 13. a) Aktivní sloučeniny v různých esenciálních olejích	58
Tab. 13. b) Aktivní sloučeniny v různých esenciálních olejích	52
Tab. 15. Index lomu u jednotlivých vzorků vybraných esenciálních olejů <i>Mentha</i>	53
Tab. 15. Index lomu u jednotlivých vzorků vybraných esenciálních olejů <i>Eucalyptus</i>	53
Tab. 16. Vyhodnocení analytů z metody A - <i>Eucalyptus camaldulensis</i>	55
Tab. 17. Vyhodnocení analytů z metody A - <i>Eucalyptus citriodora</i>	56
Tab. 18. Vyhodnocení analytů z metody A - <i>Eucalyptus globulus</i>	57
Tab. 19. Vyhodnocení analytů z metody A - <i>Eucalyptus radiata</i>	58
Tab. 20. Vyhodnocení analytů z metody A - BIO <i>Eucalyptus radiata</i>	60
Tab. 21. Vyhodnocení analytů z metody A - <i>Eucalyptus blue</i>	60
Tab. 22. Vyhodnocení analytů z metody A - Máta peprná	62
Tab. 23. Vyhodnocení analytů z metody A - Máta kadeřavá	63
Tab. 24. Vyhodnocení analytů z metody A - Máta citronová	64
Tab. 25. Vyhodnocení analytů z metody A - Máta luční	64
Tab. 26. Vyhodnocení analytů z metody A - Máta klasnatá	65
Tab. 27. Vyhodnocení analytů z metody D - <i>Eucalyptus camaldulensis</i>	65
Tab. 28. Vyhodnocení analytů z metody D - <i>Eucalyptus citriodora</i>	66
Tab. 29. Vyhodnocení analytů z metody D - <i>Eucalyptus globulus</i>	67
Tab. 30. Vyhodnocení analytů z metody D - <i>Eucalyptus radiata</i>	68
Tab. 31. Vyhodnocení analytů z metody D - BIO <i>Eucalyptus radiata</i>	68
Tab. 32. Vyhodnocení analytů z metody D - <i>Eucalyptus blue</i>	68
Tab. 33. Vyhodnocení analytů z metody D - Máta peprná	69

<i>Tab. 34. Vyhodnocení analytů z metody D – Máta kadeřavá.....</i>	<i>70</i>
<i>Tab. 35. Vyhodnocení analytů z metody D – Máta citronová</i>	<i>70</i>
<i>Tab. 36. Vyhodnocení analytů z metody D – Máta luční</i>	<i>71</i>
<i>Tab. 37. Vyhodnocení analytů z metody D – Máta klasnatá.....</i>	<i>71</i>

SEZNAM PŘÍLOH

P I A: Chromatogramy esenciálních olejů metoda A - *Eucalyptus*

P I B: Chromatogramy esenciálních olejů metoda A - *Mentha*

P II A: Chromatogramy esenciálních olejů metoda D- *Eucalyptus*

P II B: Chromatogramy esenciálních olejů metoda D - *Mentha*

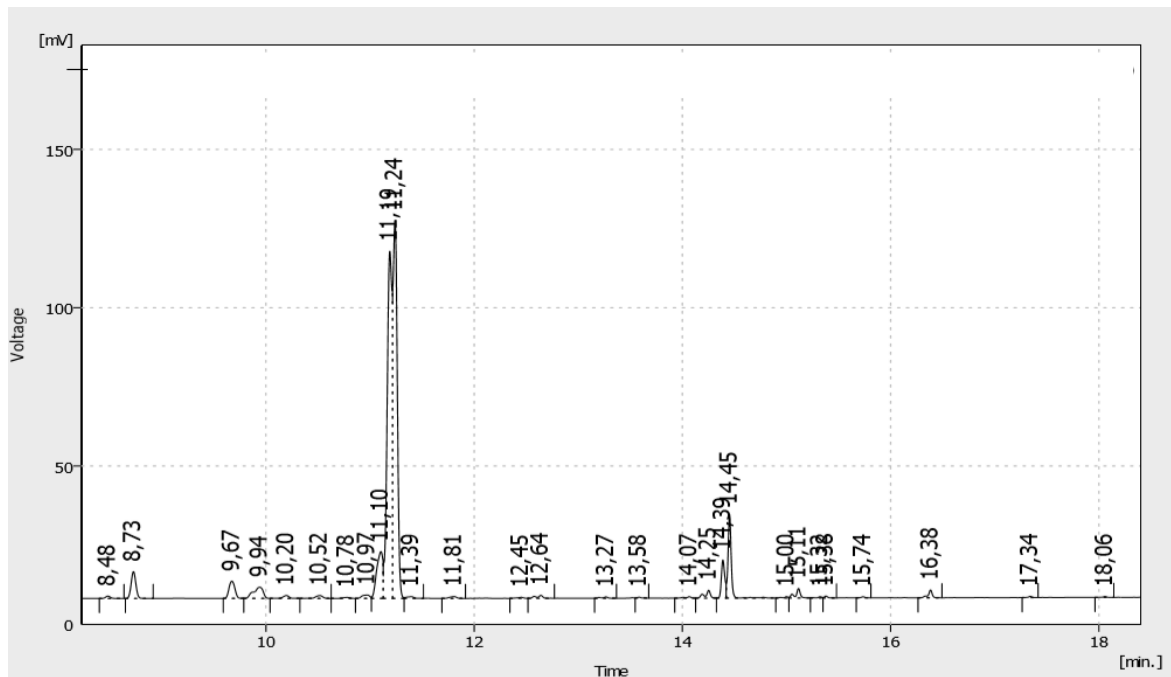
P III A: Strukturální vzorce aktivních sloučenin v různých esenciálních olejích

P III B: Strukturální vzorce aktivních sloučenin v různých esenciálních olejích

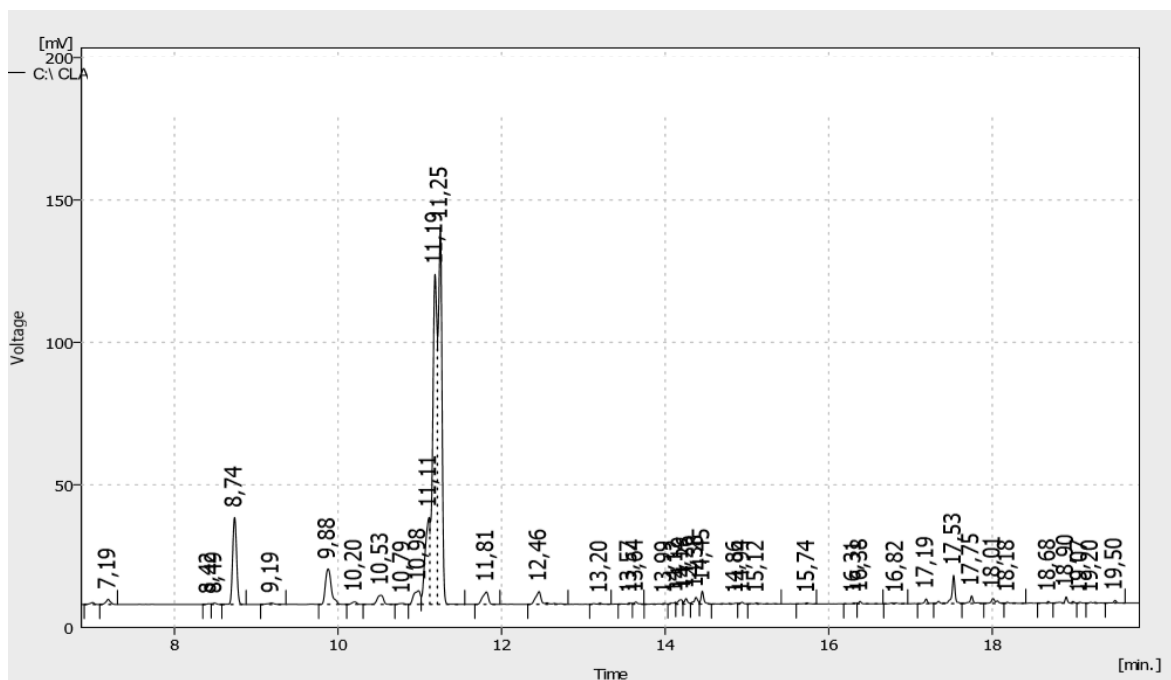
PŘÍLOHA I A: CHROMATOGRAMY ESENCIÁLNÍCH OLEJŮ

METODA A – *EUCALYPTUS*

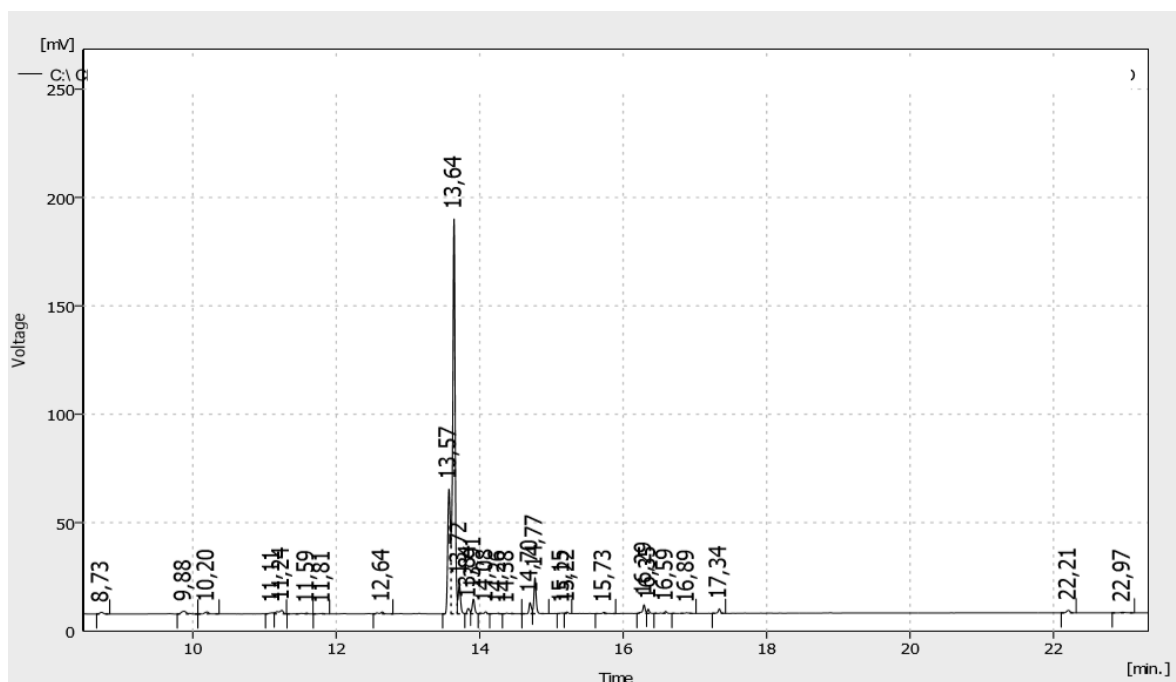
Chromatogram Eucalyptus radiata 3. ředění NOBILIS TILIA



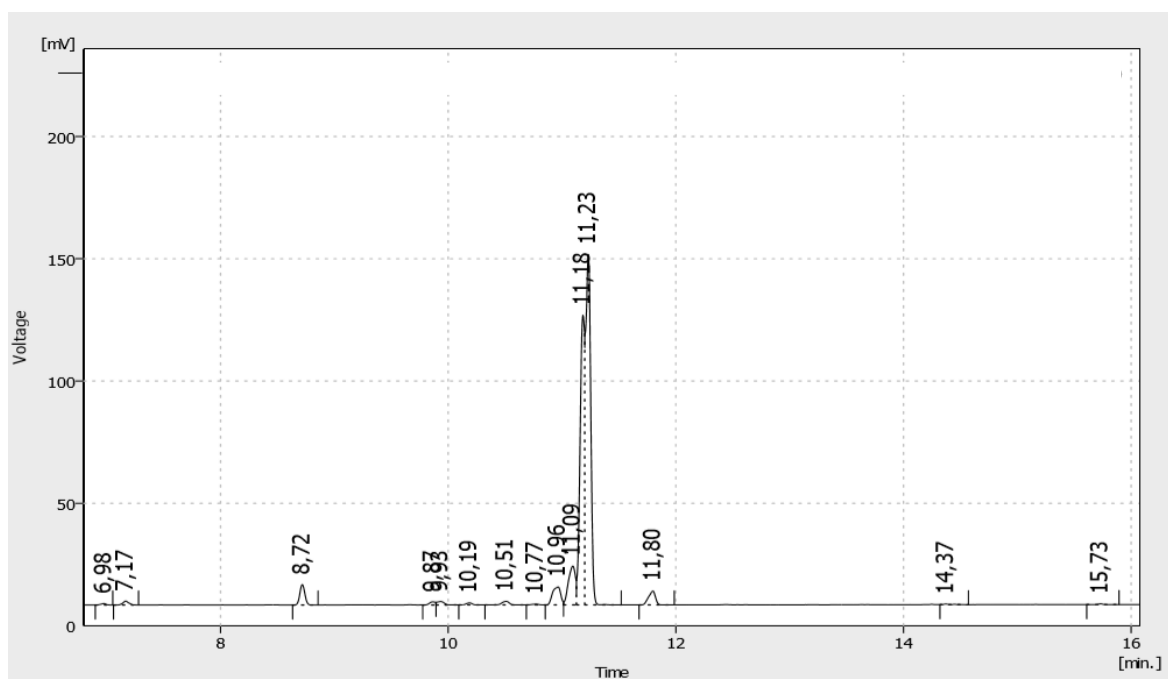
Chromatogram Eucalyptus camaldulensis 3. ředění NOBILIS TILIA



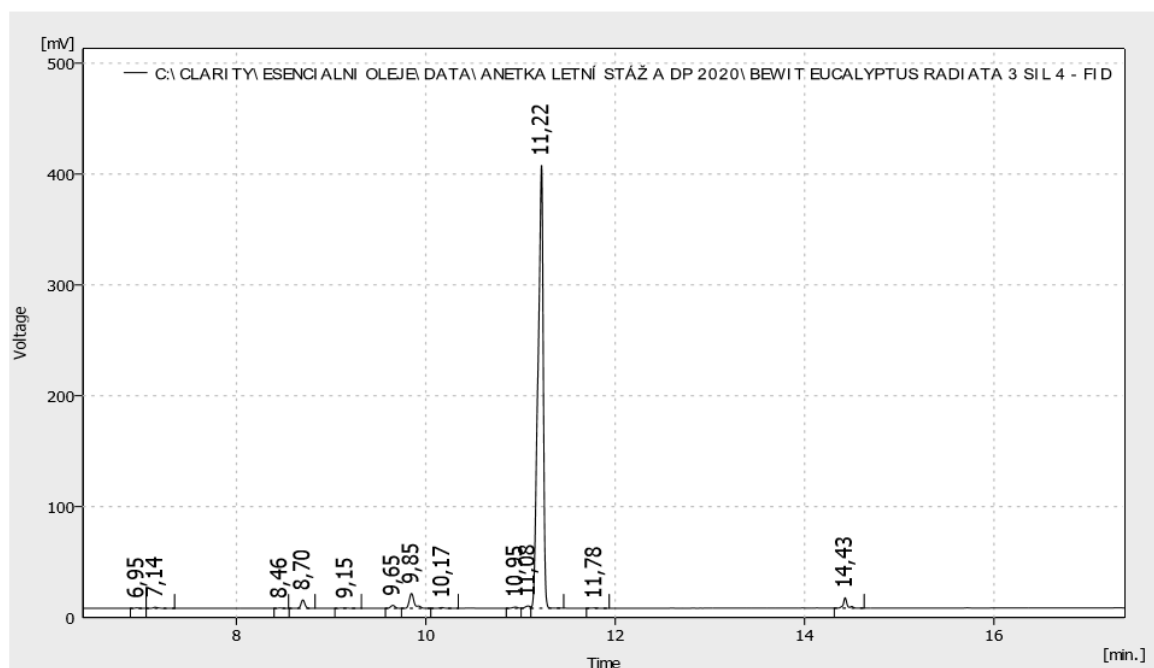
Chromatogram *Eucalyptus citriodora* 3. ředění NOBILIS TILIA



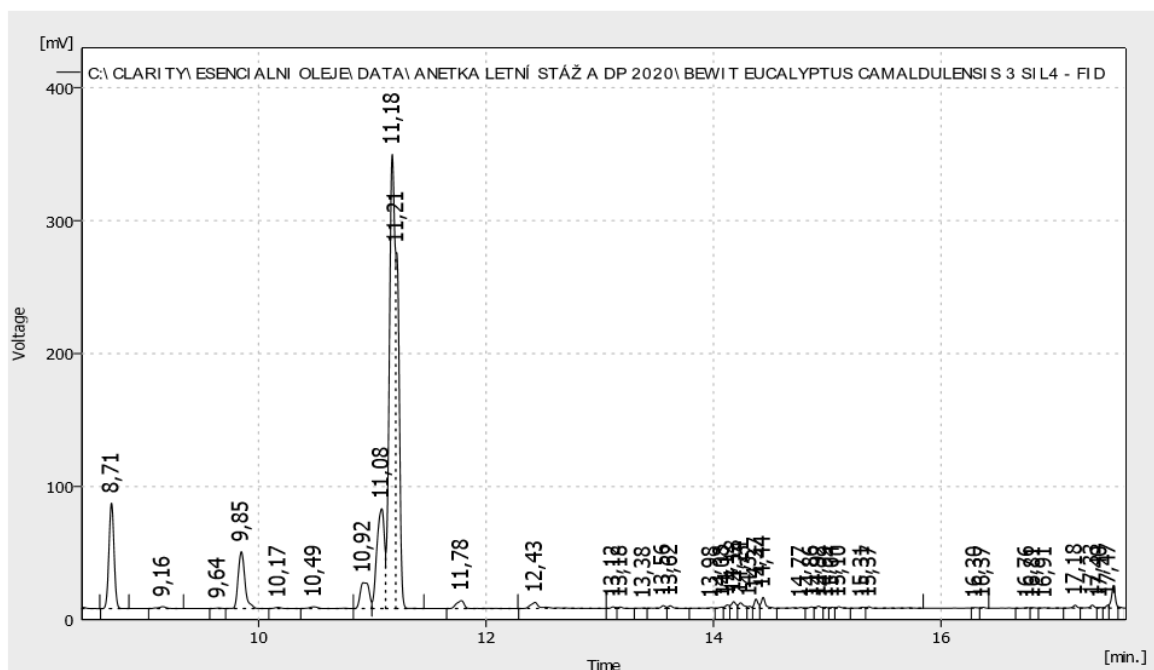
Chromatogram *Eucalyptus globulus* 3. ředění NOBILIS TILIA



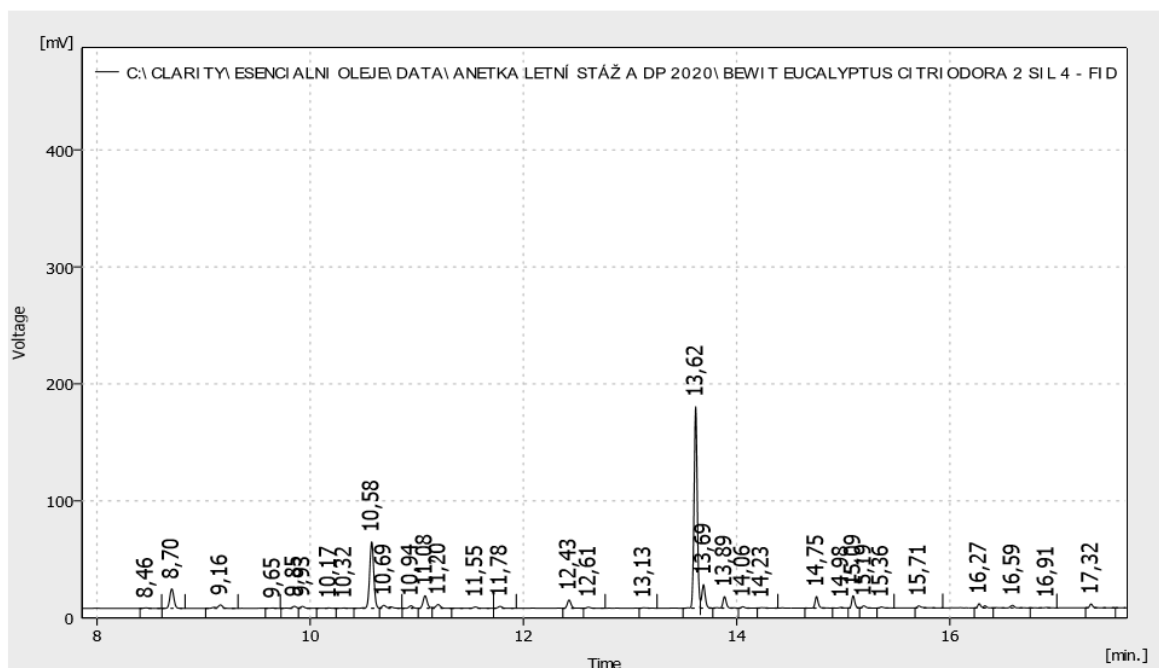
Chromatogram Eucalyptus radiata 3. ředění BEWIT



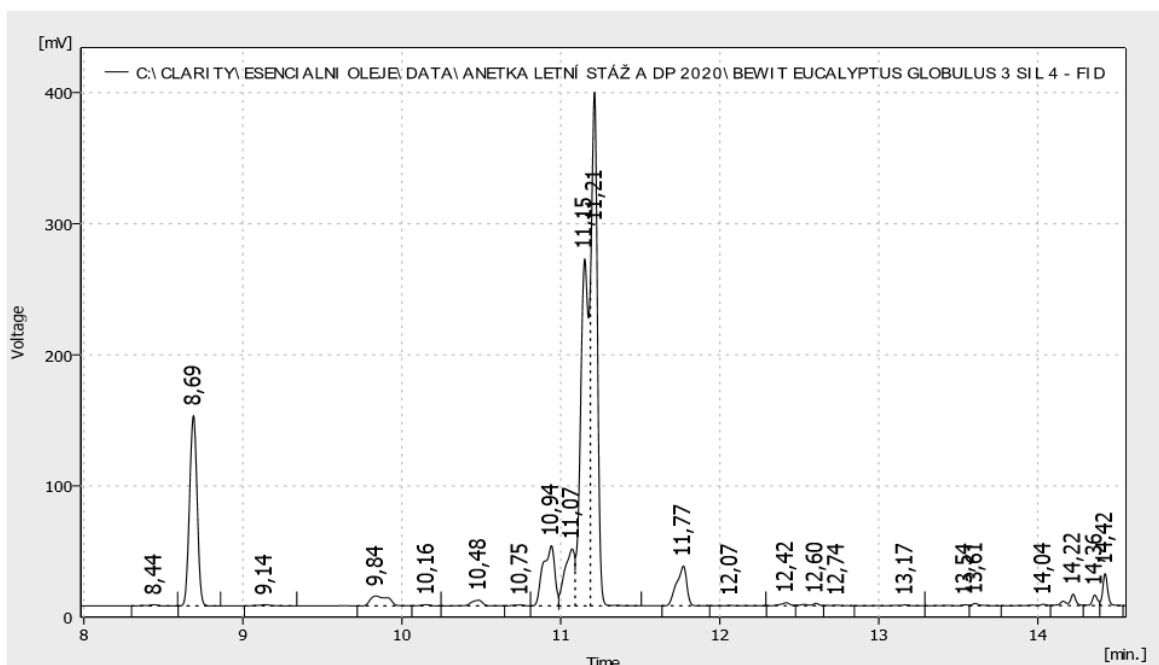
Chromatogram Eucalyptus camaldulensis 3. ředění BEWIT



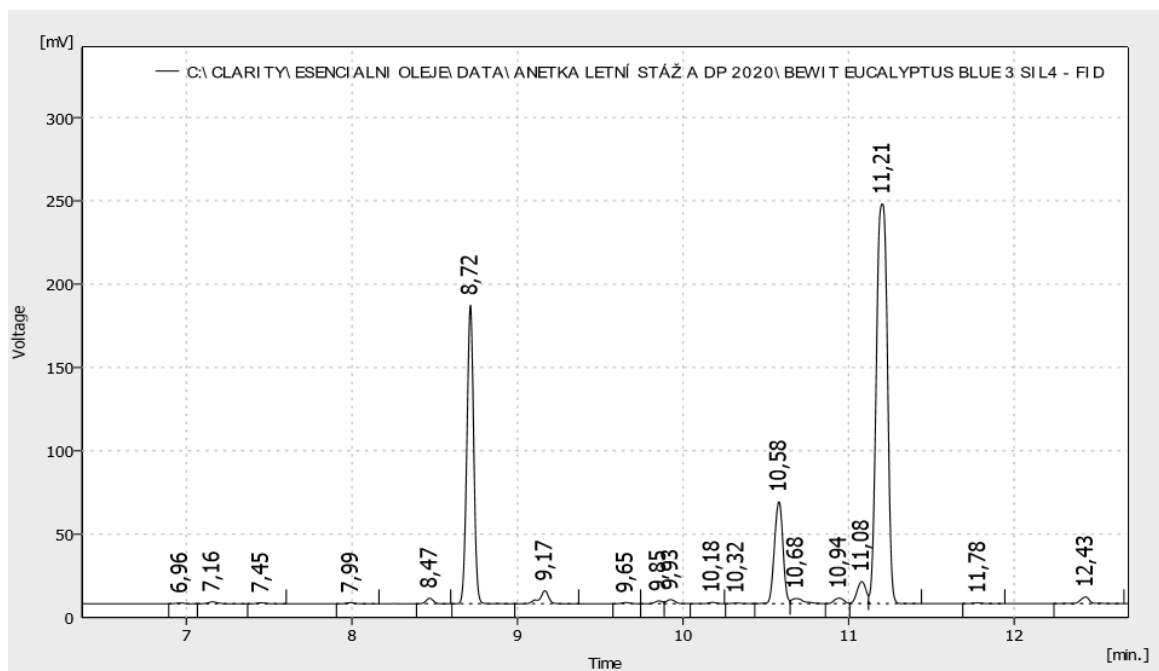
Chromatogram *Eucalyptus citriodora* 2. ředění BEWIT



Chromatogram *Eucalyptus globulus* 3. ředění BEWIT



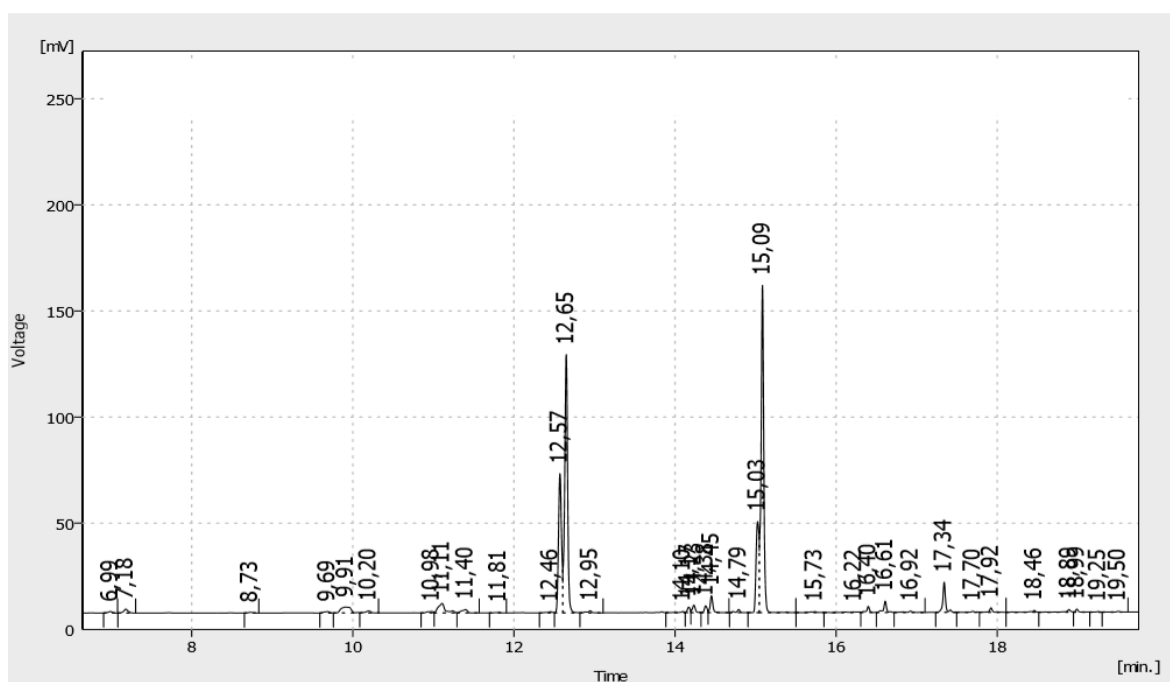
Chromatogram Eucalyptus blue 3. ředění BEWIT



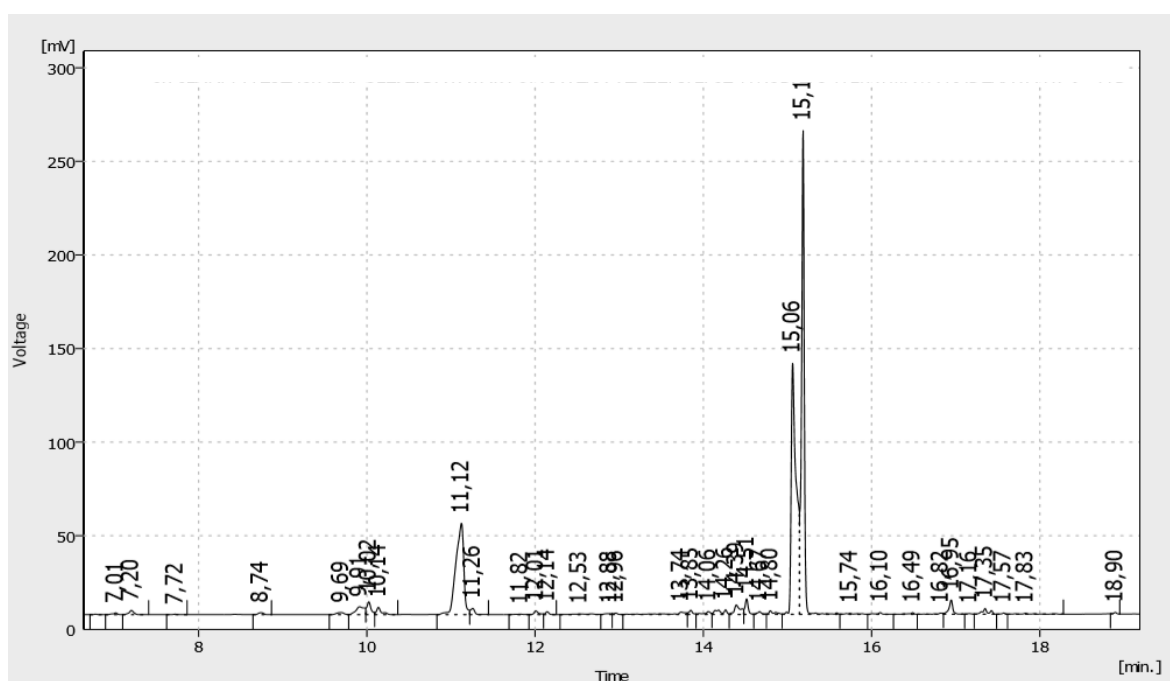
PŘÍLOHA I B: CHROMATOGRAMY ESENCIÁLNÍCH OLEJŮ

METODA A – *MENTHA*

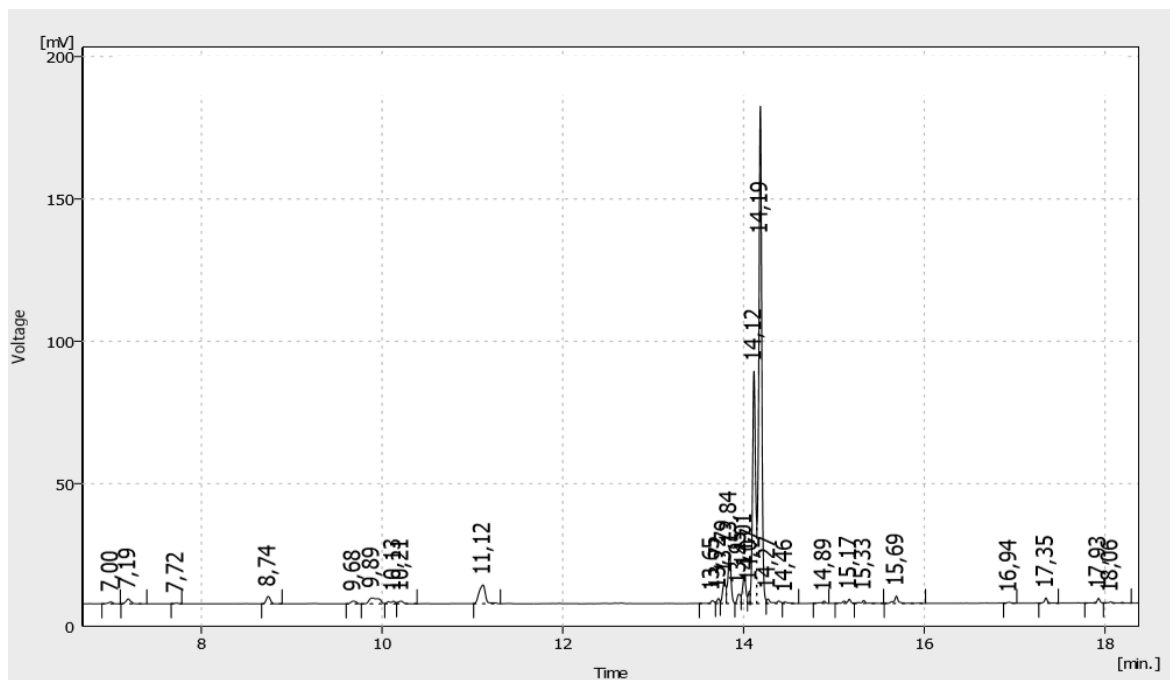
Chromatogram máta citronová 3. ředění NOBILIS TILIA



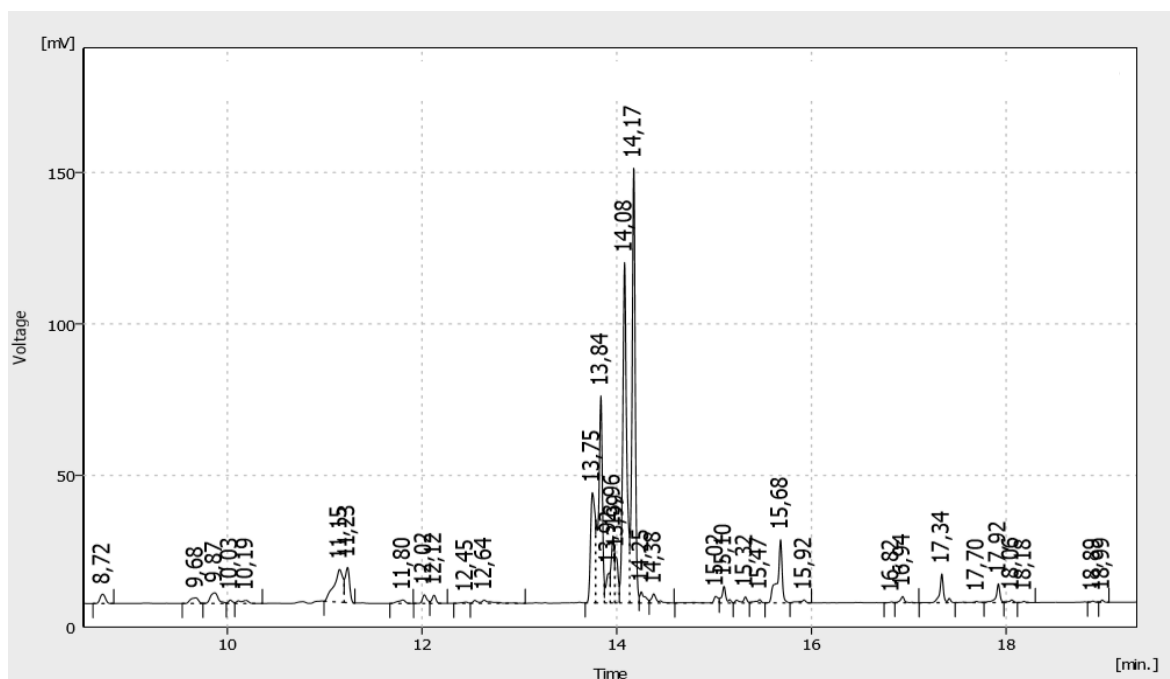
Chromatogram máta kadeřavá 3. ředění NOBILIS TILIA



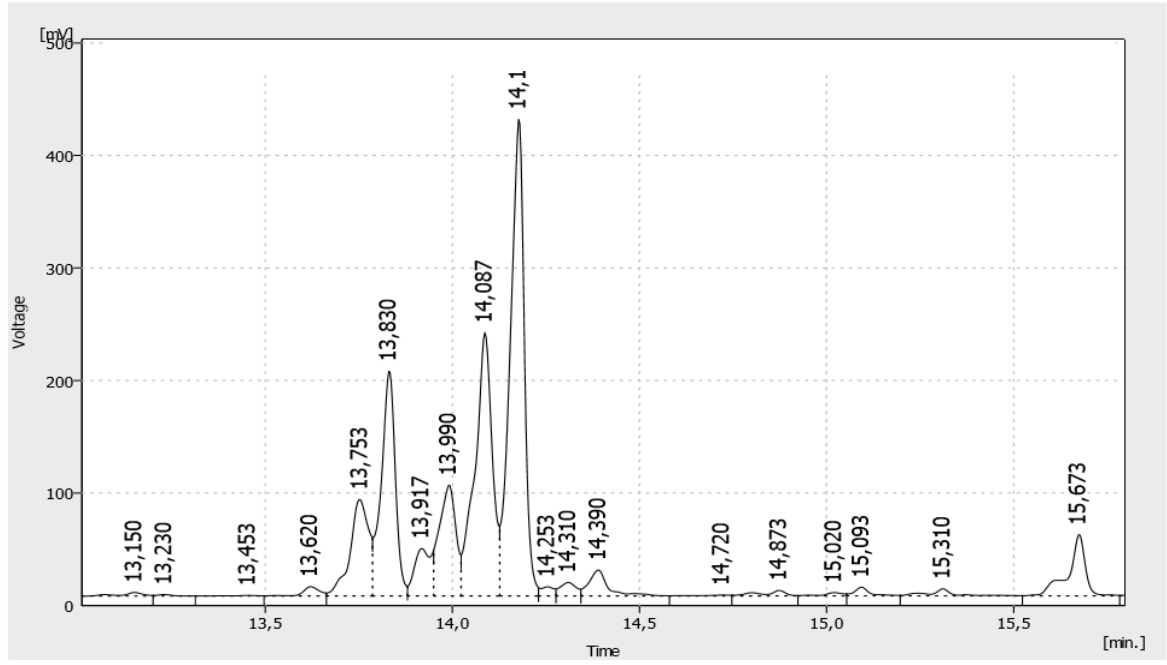
Chromatogram máta luční 3. ředění NOBILIS TILIA



Chromatogram máta peprná 3. ředění NOBILIS TILIA



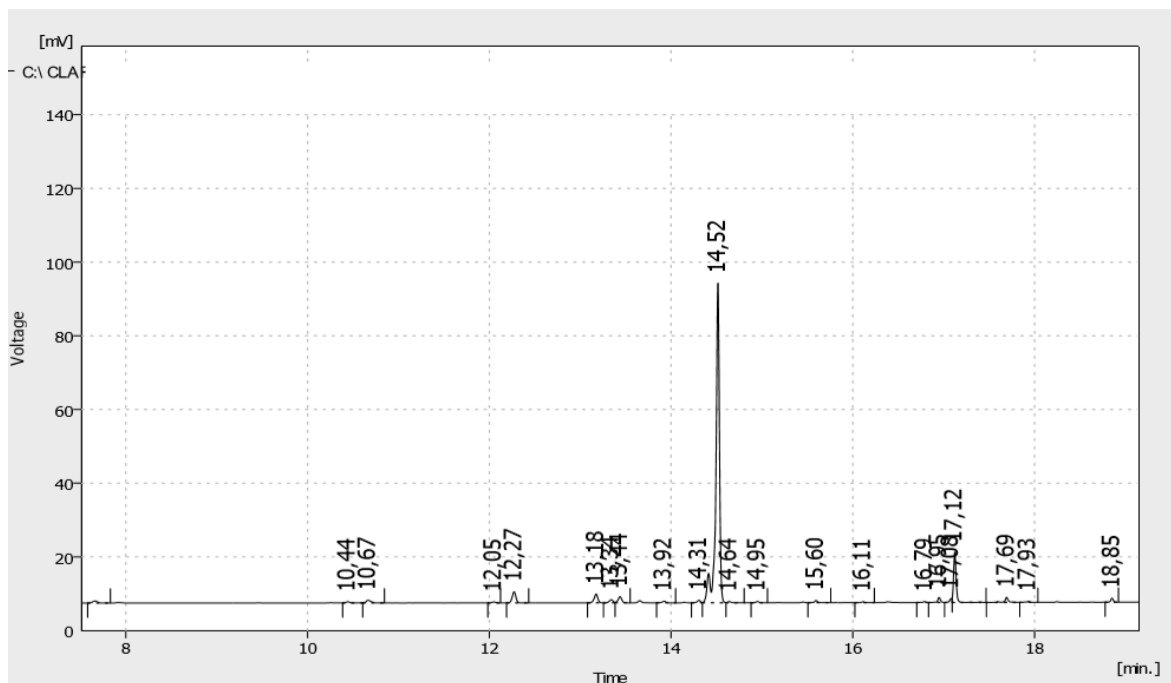
Chromatogram máta peprná 3. ředění BEWIT



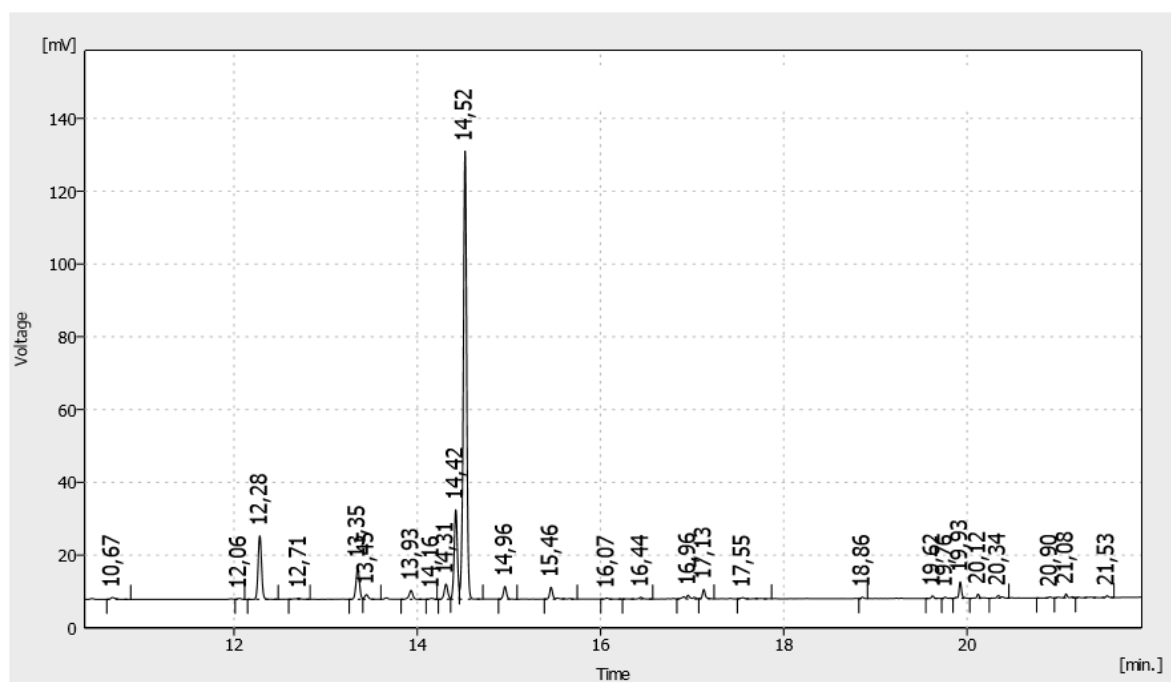
PŘÍLOHA P II: CHROMATOGRAMY ESENCIÁLNÍCH OLEJŮ

METODA D - *EUCALYPTUS*

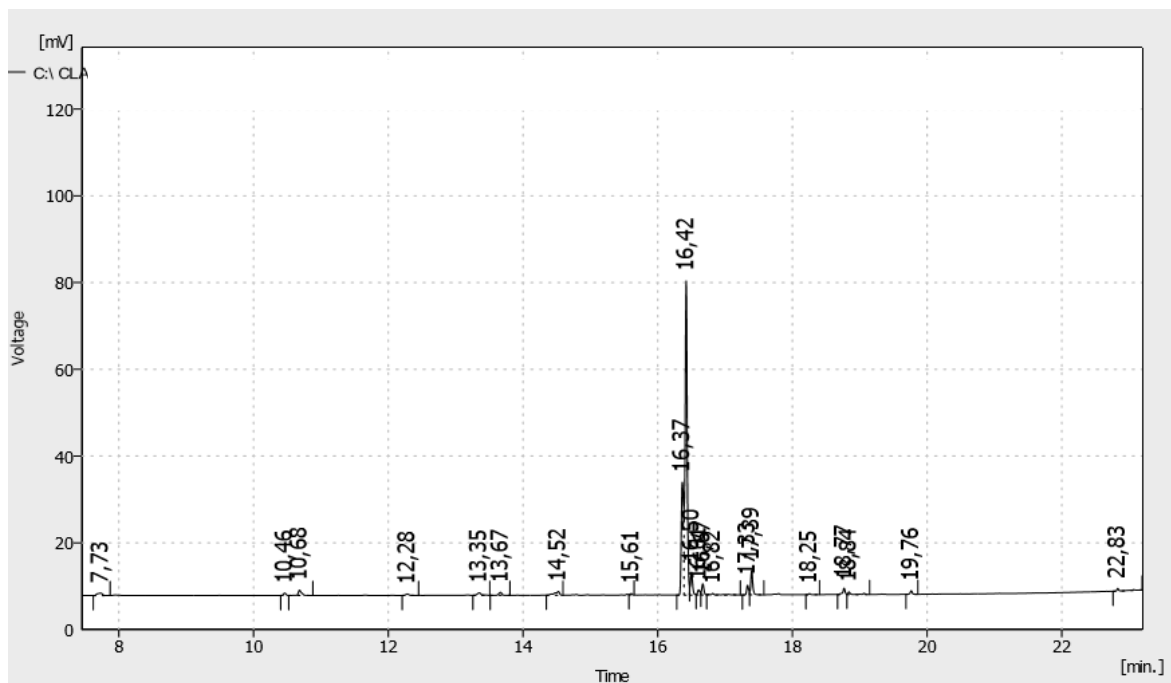
Chromatogram Eucalyptus radiata 3. ředění NOBILIS TILIA



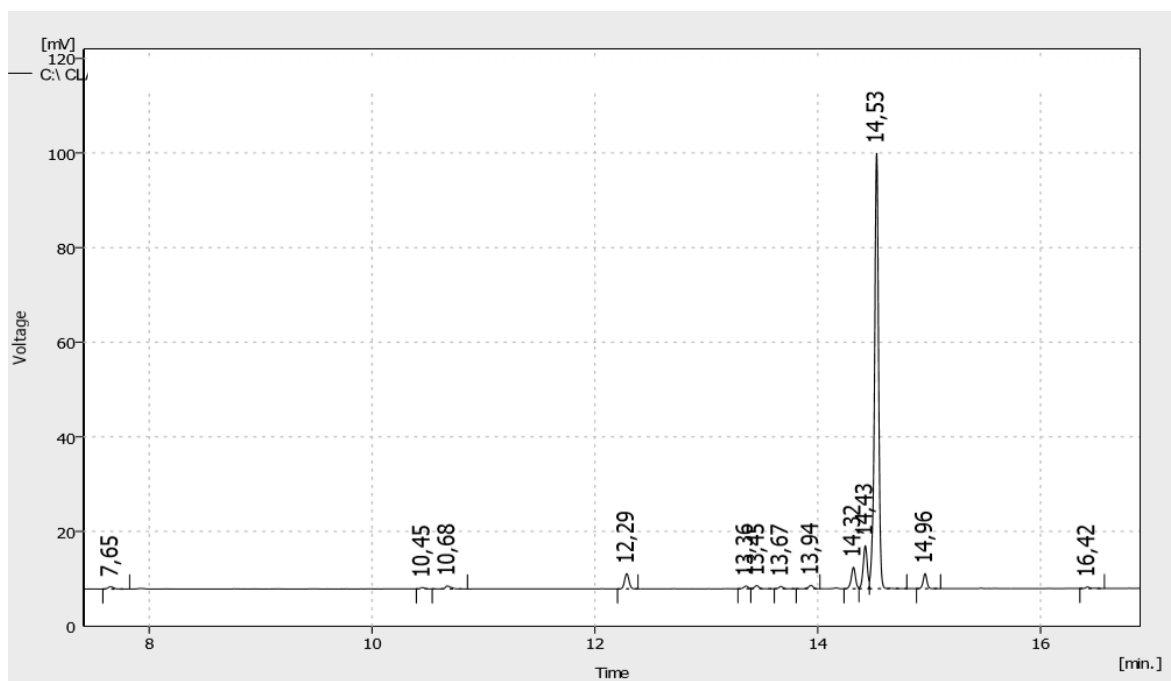
Chromatogram Eucalyptus camaldulensis 2. ředění NOBILIS TILIA



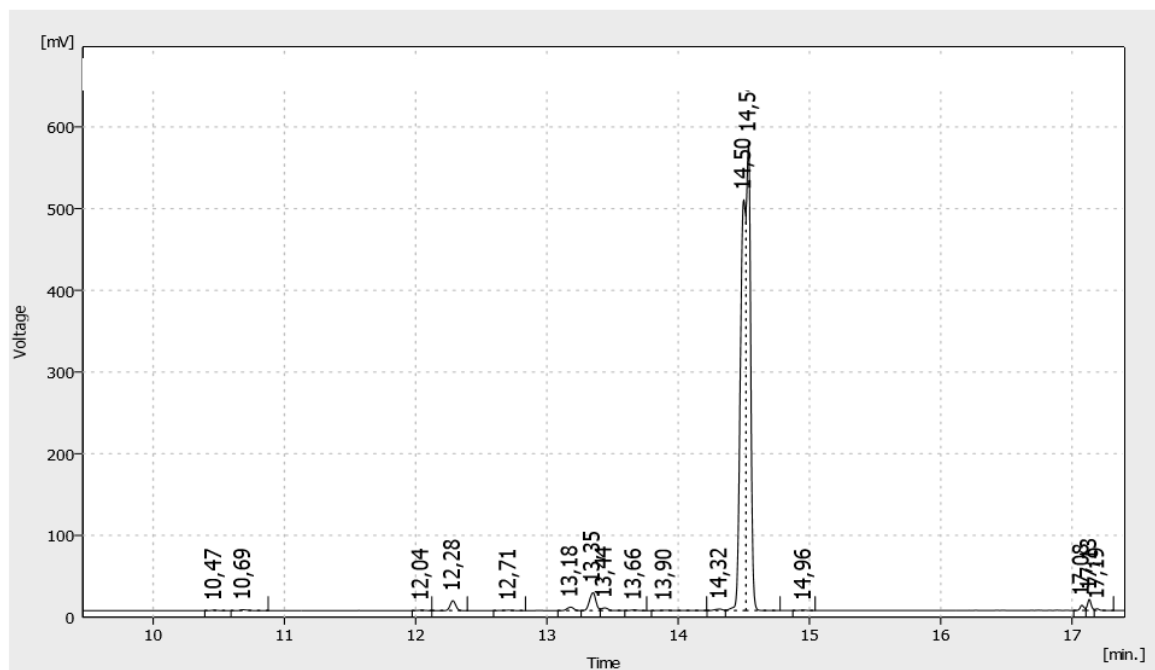
Chromatogram *Eucalyptus citriodora* 2. ředění NOBILIS TILIA



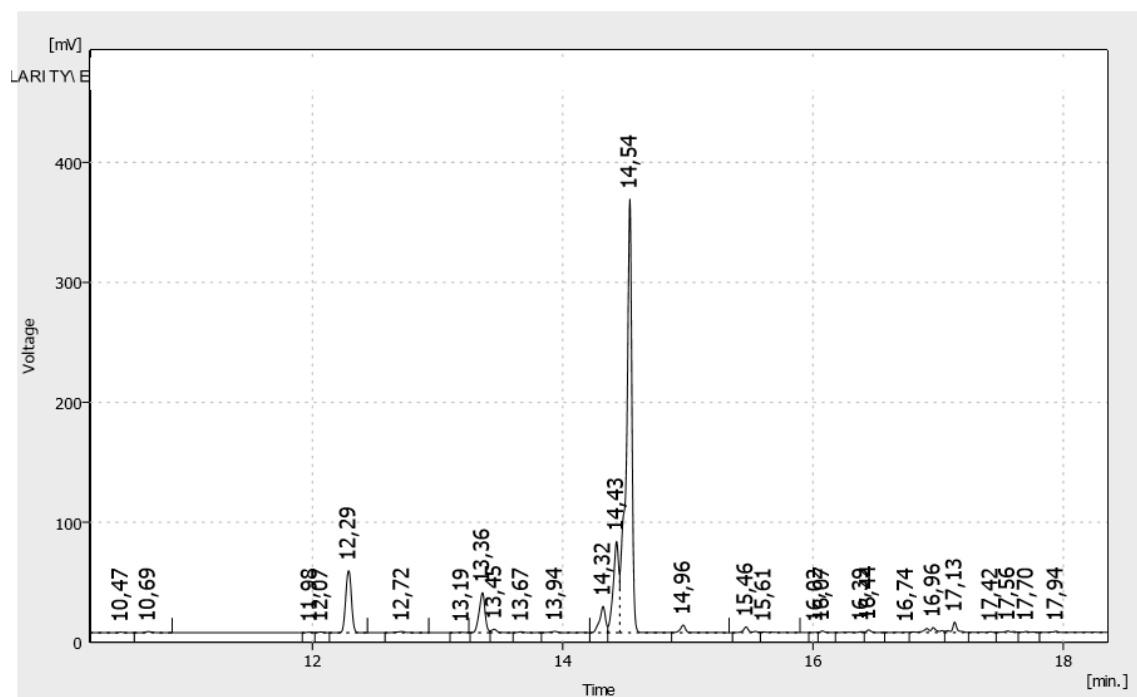
Chromatogram *Eucalyptus globulus* 3. ředění NOBILIS TILIA



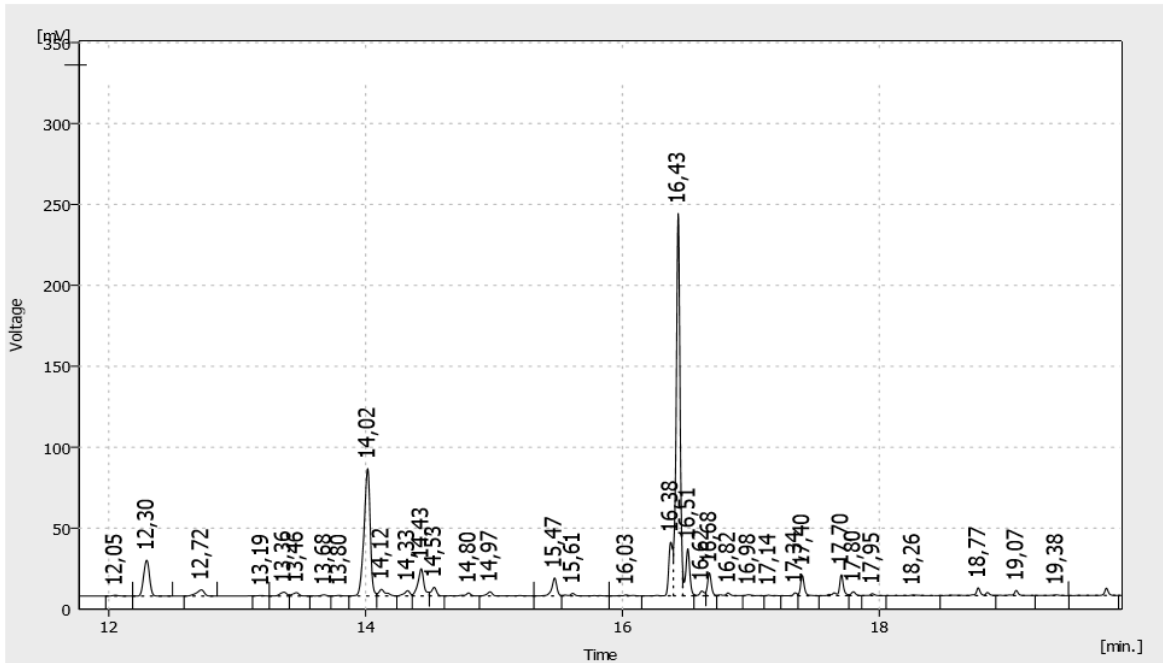
Chromatogram *Eucalyptus radiata* 2. ředění BEWIT



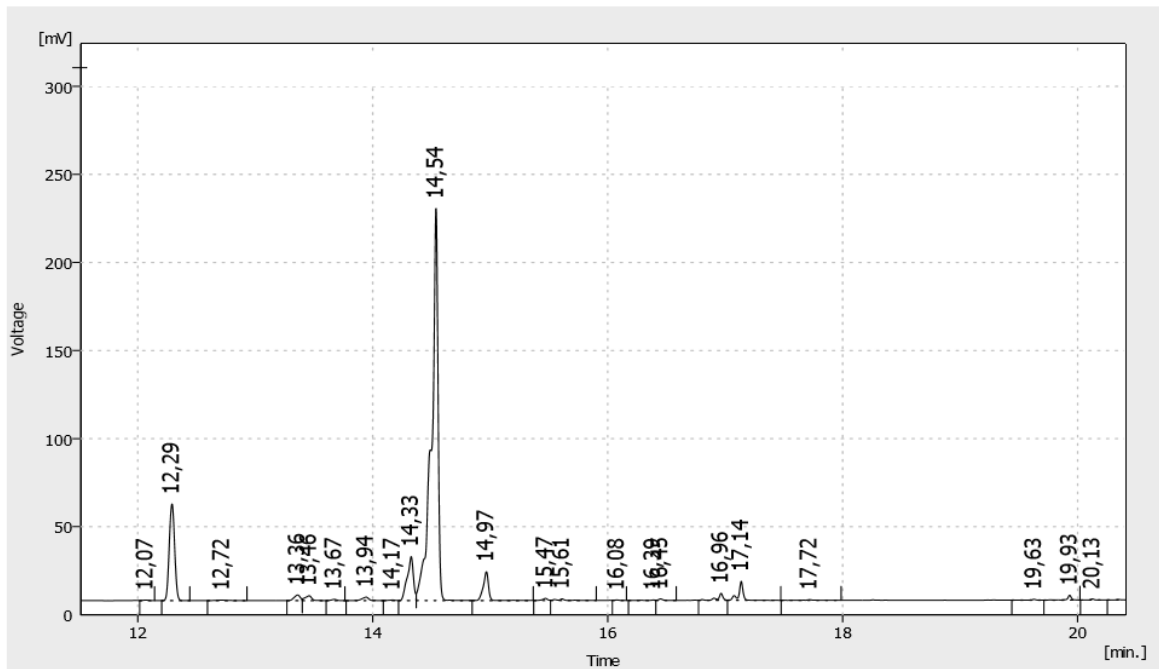
Chromatogram *Eucalyptus camaldulensis* 2. ředění BEWIT



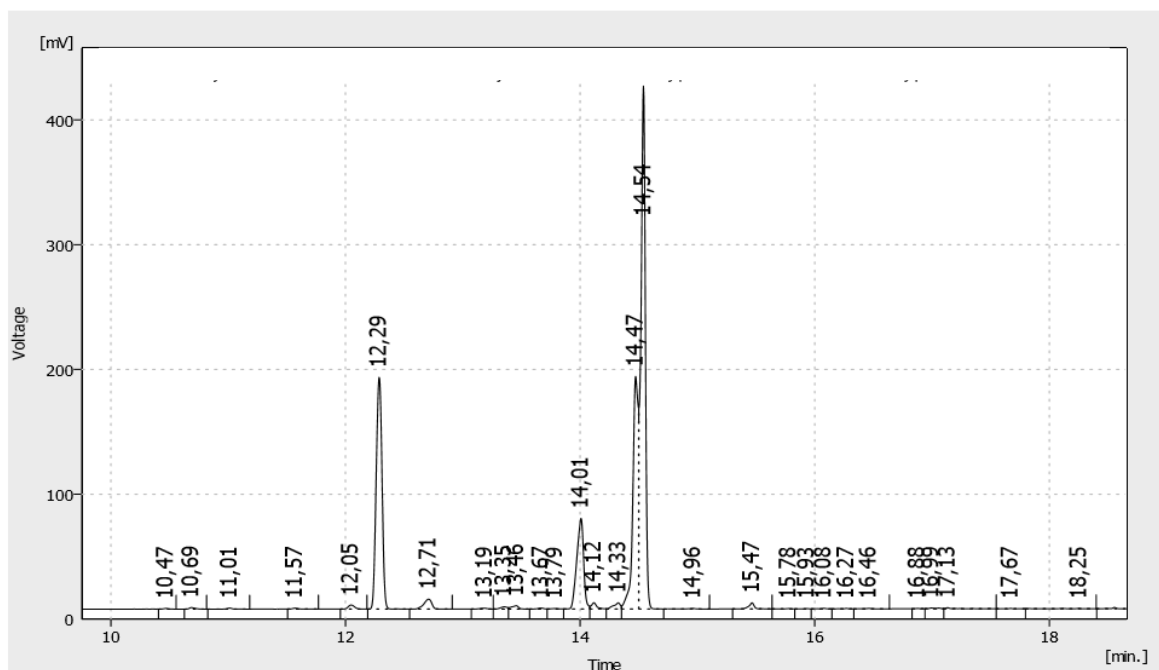
Chromatogram *Eucalyptus citriodora* 2. ředění BEWIT



Chromatogram *Eucalyptus globulus* 2. ředění BEWIT

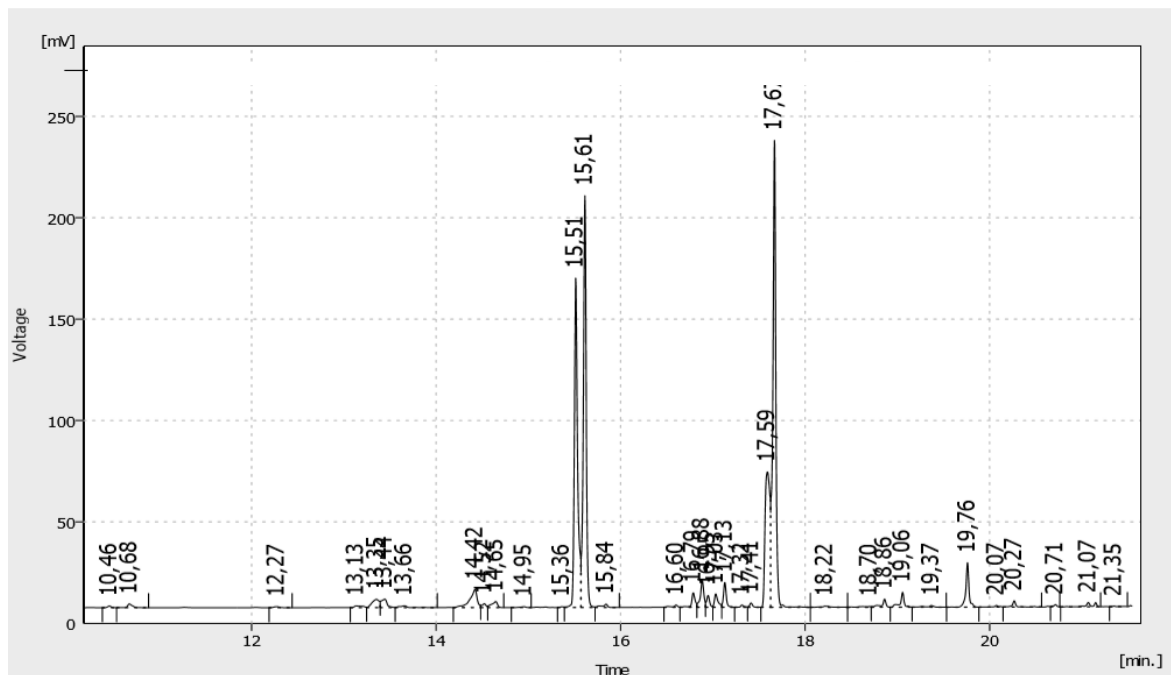


Chromatogram Eucalyptus blue 2. ředění BEWIT

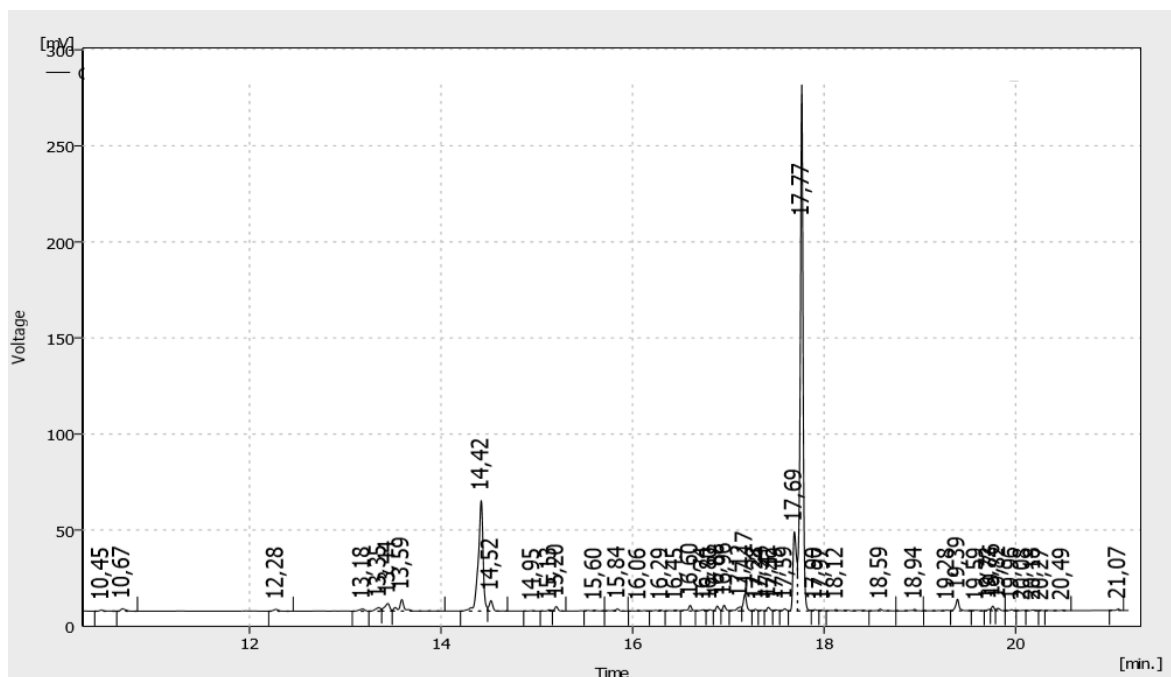


PŘÍLOHA P II B: CHROMATOGRAMY ESENCIÁLNÍCH OLEJŮ METODA D - *MENTHA*

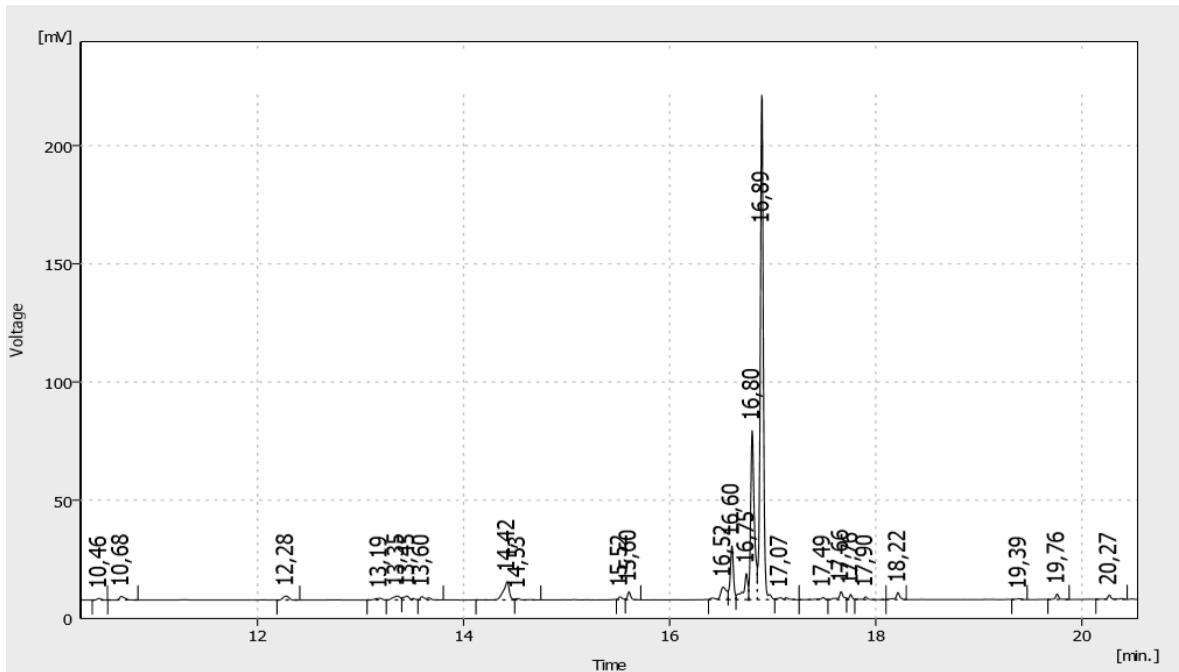
Chromatogram máta citronová 3. ředění NOBILIS TILIA



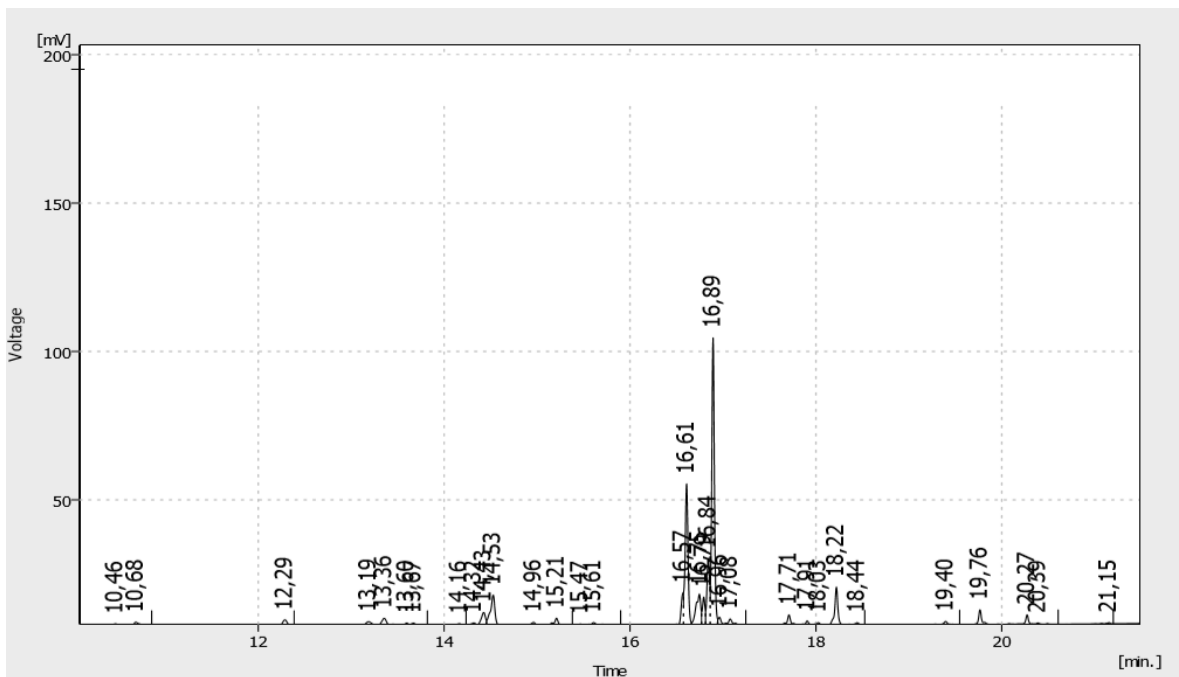
Chromatogram máta kadeřavá 2. ředění NOBILIS TILIA



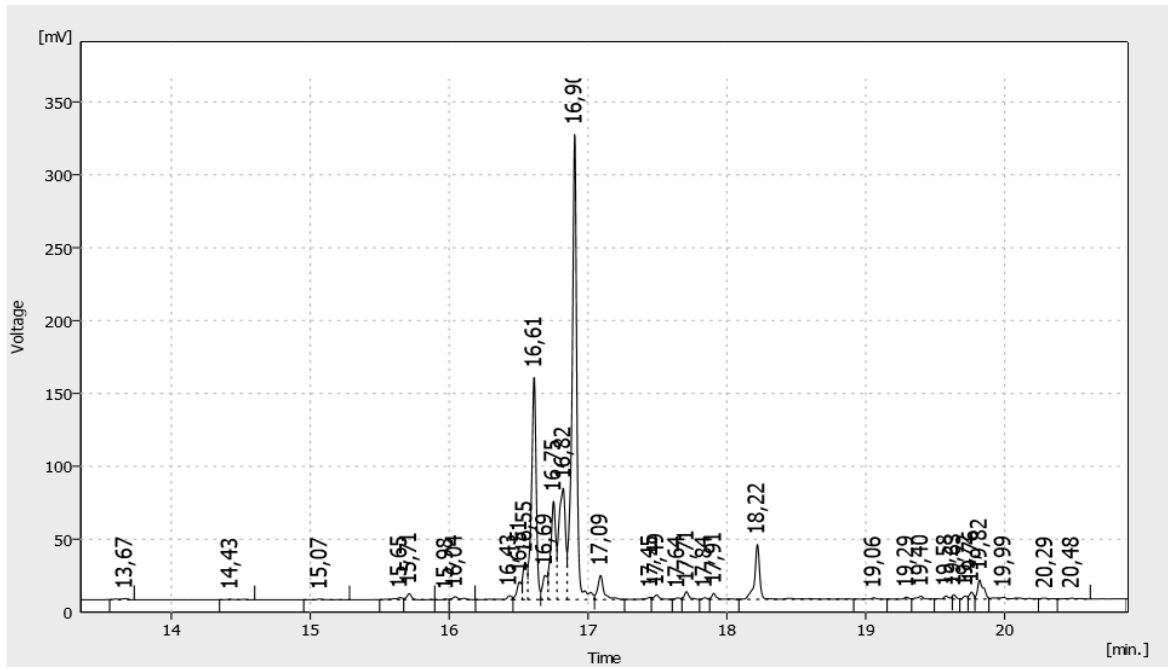
Chromatogram máta luční 3. ředění NOBILIS TILIA



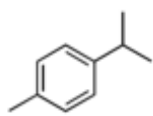
Chromatogram máta peprná 2. ředění NOBILIS TILIA



Chromatogram máta peprná 2. ředění BEWIT



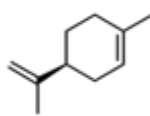
PŘÍLOHA III A: STRUKTURNÍ VZORCE AKTIVNÍCH SLOUČENIN V RŮZNÝCH ESENCIÁLNÍCH OLEJÍCH



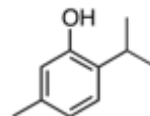
p-cymen



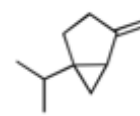
eukalyptol



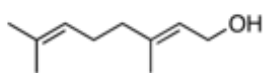
limonen



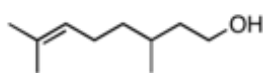
thymol



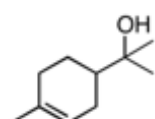
sabinen



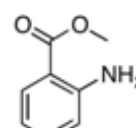
geraniol



citronellol



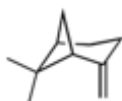
terpineol



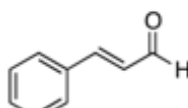
methyl-anthranilat



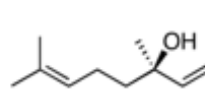
α -pinen



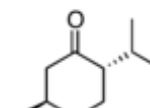
β -pinen



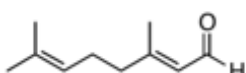
t-cinnamaldehyd



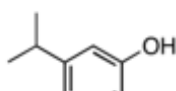
linalool



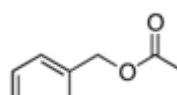
menthon



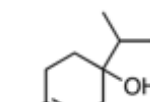
citral



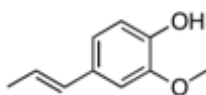
karvakrol



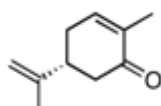
benzylacetát



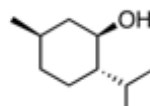
terpinen-4-ol



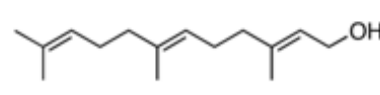
isoeugenol



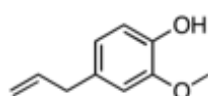
L-karvon



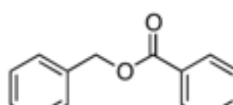
menthol



farnesol



eugenol



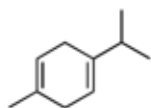
benzylbenzoát



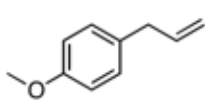
kafr



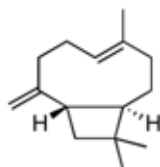
PŘÍLOHA III B: STRUKTURNÍ VZORCE AKTIVNÍCH SLOUČENIN V RŮZNÝCH ESENCIÁLNÍCH OLEJÍCH



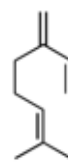
γ -terpinen



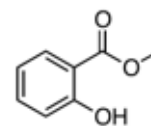
estragol



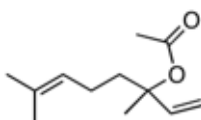
β -karyofylen



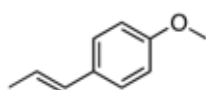
myrcen



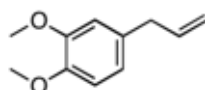
methylsalicylát



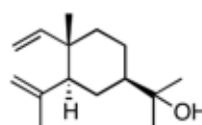
linalylacetát



trans-anetol



methyleugenol



elemol



α -thujen