

Stanovení parametrů mandarinkového oleje

Bc. Karolína Chalupová, DiS.

Diplomová práce
2022



Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně
Fakulta technologická

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

Akademický rok: 2021/2022

ZADÁNÍ DIPLOMOVÉ PRÁCE

(projektu, uměleckého díla, uměleckého výkonu)

Jméno a příjmení: **Bc. Karolína Chalupová, DiS.**
Osobní číslo: **T20810**
Studijní program: **N0711A130011 Biomateriály a kosmetika**
Forma studia: **Kombinovaná**
Téma práce: **Studium parametrů mandarinkového oleje**

Zásady pro vypracování

I. Teoretická část:

1. V teoretické části popište zdroje mandarinkového oleje.
2. Dále se věnujte charakteristickým vlastnostem mandarinkového oleje.
3. Popište hlavní konstituenty mandarinkového oleje. Hodnotte parametry mandarinkového oleje jako hustota, otáčivost polarizovaného světla, index lomu a další.

II. Praktická část:

1. V praktické části analyzujte soubor alespoň deseti mandarinkových olejů z různých komerčních zdrojů.
2. Stanovte jejich složení pomocí plynové chromatografie a hodnotte poměr hlavních konstituentů limonenu a gamma-terpinenu.
3. Hodnotte případně i další minoritní konstituenty.
4. Stanovte pro vzorky jejich index lomu, hustotu, stáčívost polarizovaného světla a případně další parametry.
5. Výsledky vzájemně diskutujte a přehledně zpracujte.

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

Seznam doporučené literatury:

- [1] Hashemi S.M.B., Khaneghah A.M. Santana A.S.: Essential Oils in Food Processing – Chemistry, Safety and Applications, Wiley Blackwell, 2017, ISBN: 978-1-119-14934-7.
- [2] Attokaran M.: Natural Food Flavors and Colorants (2nd. edition), Wiley Blackwell, 2017, ISBN: 978-1-119-11476-5.
- [3] Taylor M.: Handbook of Natural Antimicrobials for Food Safety and Quality, Woodhead Publishing, 2014, ISBN: 9781782420347.
- [4] Dosoky N.S., Setzer W.N.: Biological Activity and Safety of Citrus spp. Essential Oils, 2018, International Journal of Molecular Sciences, volume 19, article number 1966.

Vedoucí diplomové práce: **doc. Ing. Marián Lehocký, Ph.D.**
Ústav technologie tuků, tenzidů a kosmetiky

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

L.S.

prof. Ing. Roman Čermák, Ph.D.
děkan

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

PROHLÁŠENÍ AUTORA DIPLOMOVÉ PRÁCE

Beru na vědomí, že:

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

Prohlašuji,

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

Ve Zlíně dne:

Jméno a příjmení studenta:

.....
podpis studenta

ABSTRAKT

Diplomová práce se zaměřuje v teoretické části na esenciální oleje, jejich historii, jakým způsobem byly získávány a jaké je jejich chemické složení. Podstatou této diplomové práce je mandarinkový olej, jeho složení, charakteristické biologické účinky, fyzikální vlastnosti a jeho využití. Praktická část je orientována na metody stanovení indexů lomu vybraných esenciálních olejů, optické otáčivosti a hustoty. Je zde zmíněno i stanovení jednotlivých složek mandarinkového oleje pomocí plynové chromatografie.

Klíčová slova: esenciální olej, mandarinková silice, plynová chromatografie

ABSTRACT

This diploma thesis deals with essential oils, their history, how they were obtained and their chemical composition. The principle of this diploma thesis is tangerine oil, its composition, characteristic biological effects, physical properties and its use. The practical part deals with methods for determining the refractive indexes of selected essential oils, optical rotation and density. The determination of individual components of tangerine oil by gas chromatography is also mentioned.

Keywords: essential oil, tangerine oil, gas chromatography

Tímto bych ráda poděkovala doc. Ing. Mariánovi Lehockému, Ph.D., za odborné vedení, cenné připomínky, rady a vstřícnost při zpracování této diplomové práce.

Dále bych chtěla poděkovat Ing. Ondřeji Rudolfovi, Ph.D., za trpělivost a čas strávený se mnou v laboratoři při praktické části mé diplomové práce.

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

OBSAH

ÚVOD	9
I TEORETICKÁ ČÁST	10
1 ESENCIÁLNÍ OLEJE	11
1.1 HISTORIE	12
1.2 ZÍSKÁVÁNÍ ESENCIÁLNÍCH OLEJŮ	13
1.2.1 Destilace vodní parou.....	13
1.2.2 Hydrodestilace.....	15
1.2.3 Enfleuráž	16
1.2.4 Lisování za studena	17
1.2.5 Superkritická fluidní extrakce	18
1.2.6 Ultrazvuková extrakce (sonikace).....	19
1.2.7 Extrakce pomocí pulzního elektrického pole	20
1.3 CHEMICKÉ SLOŽENÍ.....	20
1.3.1 Neterpenoidní a terpenoidní uhlovodíky	21
2 MANDARINKA OBECNÁ	24
3 MANDARINKOVÁ SILICE	26
3.1 DEFINICE MANDARINKOVÉ SILICE	28
3.2 CHEMICKÉ SLOŽENÍ.....	28
3.2.1 Limonen	29
3.2.2 γ -terpinen.....	30
3.3 BIOLOGICKÉ ÚČINKY	31
3.3.1 Antimikrobiální účinky	31
3.3.2 Antifungální účinky	32
3.3.3 Antioxidační účinky	32
3.4 FYZIKÁLNÍ VLASTNOSTI	32
3.4.1 Refraktometrie.....	32
3.4.2 Polarimetrie	33
3.4.3 Hustota	34
II PRAKTICKÁ ČÁST	35
4 POUŽITÉ PŘÍSTROJE, VYBAVENÍ, VZORKY A CHEMIKÁLIE	36
4.1 PŘÍSTROJE A VYBAVENÍ.....	36
4.2 VZORKY A CHEMIKÁLIE.....	36
5 METODIKA	39
5.1 CHROMATOGRAFICKÁ ANALÝZA ESENCIÁLNÍCH OLEJŮ.....	39
5.1.1 Plynová chromatografie (GC).....	39
5.1.2 Vlastní chromatografická analýza vybraných esenciálních olejů	40
5.2 STANOVENÍ INDEXU LOMU VYBRANÝCH ESENCIÁLNÍCH OLEJŮ	42

5.3	STANOVENÍ OPTICKÉ OTÁČIVOSTI VYBRANÝCH ESENCIÁLNÍCH OLEJŮ	43
5.4	STANOVENÍ HUSTOTY VYBRANÝCH ESENCIÁLNÍCH OLEJŮ.....	44
6	VÝSLEDKY A DISKUZE	45
6.1	VÝSLEDKY CHROMATOGRAFICKÉ ANALÝZY VYBRANÝCH ESENCIÁLNÍCH OLEJŮ STANOVENÉ METODOU SILICE 4.....	45
6.1.1	Vzorek č.1 esenciální olej Mandarinka (Atok)	45
6.1.2	Vzorek č.2 esenciální olej Mandarinka (Saloos).....	47
6.1.3	Vzorek č.3 esenciální olej Bio Mandarinka (Saloos).....	49
6.1.4	Vzorek č.4 esenciální olej Mandarinka (Nobilis Tilia).....	50
6.1.5	Vzorek č.5 esenciální olej Bio Mandarinka (Nobilis Tilia)	52
6.1.6	Vzorek č.6 esenciální olej Mandarinka (Bewit).....	53
6.1.7	Vzorek č.7 esenciální olej Red Mandarin (Bewit)	55
6.1.8	Vzorek č.8 esenciální olej Green Mandarin (Bewit).....	56
6.1.9	Vzorek č.9 esenciální olej Mandarinka červená (Salus)	58
6.1.10	Vzorek č.10 esenciální olej Mandarinka zelená (Salus)	60
6.2	VÝSLEDKY CHROMATOGRAFICKÉ ANALÝZY VYBRANÝCH ESENCIÁLNÍCH OLEJŮ STANOVENÉ METODOU SILICE 8	62
6.2.1	Vzorek Bio Mandarinka (Nobilis Tilia).....	62
6.2.2	Vzorek Red Mandarin (Bewit).....	64
6.2.3	Vzorek Green Mandarin (Bewit).....	65
6.2.4	Vzorek Yellow Mandarin (Bewit)	67
6.2.5	Vzorek Bio Mandarinka (Saloos).....	68
6.3	SROVNÁNÍ HODNOT NAMĚŘENÝCH METODOU SILICE 4 A 8	70
6.4	VÝSLEDKY STANOVENÍ INDEXU LOMU VYBRANÝCH ESENCIÁLNÍCH OLEJŮ	74
6.5	VÝSLEDKY STANOVENÍ OPTICKÉ OTÁČIVOSTI VYBRANÝCH ESENCIÁLNÍCH OLEJŮ	75
6.6	VÝSLEDKY STANOVENÍ HUSTOTY VYBRANÝCH ESENCIÁLNÍCH OLEJŮ.....	76
	ZÁVĚR	77
	SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY.....	78
	SEZNAM POUŽITÝCH SYMBOLŮ A ZKRATEK	86
	SEZNAM OBRÁZKŮ	87
	SEZNAM TABULEK.....	89

ÚVOD

Hesperidium neboli mandarinka je exotický menší citrusový šťavnatý plod oranžové barvy. V dřívějších dobách byl využíván ke křížení jiných citrusových plodů, což je písemně interpretováno již z doby Maurů, tedy z doby více než tisíce let od minulosti. Dostupné zdroje nejsou jednoznačné v prvních zmínkách o mandarince, ale některé uvádějí výskyt již z 12. století př. n. l. Nám Evropanům se mandarinka představila až roku 1805. Ve středověku Egypťané a Římané hojně používali mandarinkový olej jako antioxidant. Arabské země ji upotřebily jako jednu z mnoha vonných složek do parfémů. Evropané si s ní zpříjemňovali jídelní stůl.

Mandarinkový esenciální olej pro své zklidňující účinky je vhodný při nespavosti, lze jej použít proti migrénám a mírní svalové napětí. Zmírňuje úzkost, depresi, zlepšuje zažívání, povzbuzuje činnost lymfatického systému, ale také je to výborný prostředek proti akné a striím.

Mandarinka svým složením je podobná pomeranči. Ale pro menší množství vitamínu C, minerálů, organické kyseliny, a jiné výživné látky není bohužel ve vitaminovém řetězci tak hodnotná. Přese všechno v poslední době se pěstitelé zaměřují na stále větší množství odrůd tohoto citrusového produktu. Jak jsme již zmínili, mandarinka je zpravidla doporučovanou vitaminovou potravinou a dnešní moderní doba ji začíná hojně využívat pro její léčivé účinky. Z vědeckých studií vyplývá, že například vitamín C, pektin, vláknina pomáhají snižovat hodnoty krevního cholesterolu, což je velmi vítáno při současných civilizačních chorobách, jakými je diabetes, hyperlipidémie a jiné. Je také dobrým antioxidantem pomáhající předcházet škodlivým volným radikálům, a dokonce se osvědčila i v ochraně proti některým formám rakoviny.

Hlavním cílem závěrečné diplomové práce bude nejen prozkoumat konstituenty mandarinkové silice s využitím v lékařství, kosmetickém a farmaceutickém průmyslu, ale také pro její parametry, kterými jsou hustota, otáčivost polarizovaného světla a index lomu.

I. TEORETICKÁ ČÁST

1 ESENCIÁLNÍ OLEJE

Esenciální a éterické oleje, silice i esence jsou identické názvy pro komplex směsí těkavých složek vyprodukovaných živými organismy. V rostlinách se vyskytují v siličných kanálcích, dutinách a žláznatých trichomech. Silice lze ze své mateční části uvolnit a izolovat různými chemickými i fyzikálními metodami. Prvenství v těchto metodách zaujímá především destilace, a to jak vodní, tak i parní. Lze také využít i suché destilace. Pro citrusové plody je doporučováno spíše mechanické lisování.

Esence hrají velmi důležitou roli v přírodě pro své antibakteriální a antimykotické účinky i antivirotika chránící rostlinu. Stejně tak rostlina produkuje insekticidy, jež využívá ke své ochraně proti škůdcům. Vlhkost a zvýšená teplota vytváří příznivé podmínky pro množení mikroorganismů a hmyzích parazitů, před kterými se právě rostlina dokáže chránit. Ovšem mnoho rostlin cíleně zvyšuje produkci vlastního éterického oleje, za účelem nalákání hmyzu k individuálnímu opylení.

Rostlinou vytvořená olejová konzistence je lipofilní, tedy těžce rozpustná ve vodě. Nepříliš esenciálních olejů je živočišného původu, například známé pižmo kapybary pižmové. Éterické oleje jsou také produkovány mikroorganismy. [1,2] Silice v čerstvém stavu jsou bezbarvé, ale vlastní oxidací po delší době mohou získat tmavou barvu. Některé silice v raně získaném stádiu mohou mít zelenou, ale i modrou barvu. Toto zbarvení se vyskytuje u heřmánku pravého pro jeho vysoký obsah azulenu. Nevýhodou je, že všechny esence dlouhodobostí pryskyřičnatí. Silice s vysokým obsahem terpenických uhlovodíků, jako jsou například citrusové silice, nejrychleji mění chemické vlastnosti. Zásadním důvodem je nenasycenost terpenických uhlovodíků snadno oxidujících a vyvolávajících řetězové reakce. [3] Esenciální oleje zůstávají tekuté při pokojové teplotě. S pevnými ani mastnými oleji se nemohou zaměňovat, pro jejich přirozeně se vyskytující směsi lipidů. Avšak kapka těkavého esenciálního oleje se na papíře, na rozdíl od mastných olejů, zcela vypaří. Tím se silice zcela liší jak chemickými, tak i fyzikálními vlastnostmi od mastných olejů. [4,5,6]

Esenciální oleje se staly neoddělitelnou součástí každodenního života. Pro své kladné osvědčené vlastnosti a pro velký ohlas se využívají jako antimykotické, antibakteriální a insekticidní frakce. Kvůli své vůni a chuti jsou hojně využívány v potravinářském, kosmetickém a farmaceutickém průmyslu, kde právoplatně nachází uplatnění. Nyní známe přibližně asi 3000 druhů silic. Během 19. století produkce esenciálních olejů výrazně

vzrostla. Množství esenciálních olejů vyrobených po celém světě se liší poptávkou závislejší na jeho zpracování, poměru a jiných přidaných přírodních, nebo chemických složkách. Na každém kontinentu najdeme mnoho producentských společností. Mezi hlavní zhotovitele patří Čína, Indie i Amerika. V Evropě se centrum výroby soustřeďuje například v Itálii a Francii. Mnoho unikátních esenciálních olejů pochází z Austrálie. [7,8]

1.1 Historie

Esenciální oleje jsou lidstvu známy již po několik tisíciletí. Řada významných civilizací používala vonné oleje a látky k různým účelům. V záznamech nacházíme použití při náboženských obřadech, anebo v medicíně při léčení infekčních nemocí. Dlouho předtím, než byly aplikovány jako samotné aromata, měly využití jako nápravné prostředky. Egyptologové ve svých análech dokládají bezkonkurenčnost balzamování esenciálními oleji a přípravu zemřelých (z vyšších kast), před samotným pohřbíváním, k mumifikaci. Z květů rostlin připravovali vonné esence, které byly smíchány s oleji či tuky.

V Mezopotámii od třetího tisíciletí před naším letopočtem byly vonné oleje a masti běžně zahrnuty do kosmetických prostředků. Z hliněných tabulek asi kolem roku 2750 před naším letopočtem je objevena zmínka v klínopisném podání, jež zaznamenává vonné látky, které se používaly v chrámech k výrobě esenciálních masť a olejů. I starý zákon ve svých letopisech zmiňuje četnost používání vonných silic. Odvoláváním se na starověké Asiaty, Řeky a další kultury nacházející se kolem Středomořího moře, kodifikující aromatické látky k liturgickým a terapeutickým účelům, přejímáme a vyzdvihujeme jejich dokonalost až do dnešní doby.

Po pádu Římské říše byla věda o vůních převezena do arabského světa, kde dosáhla vývoje vysoké propracovanosti. Arabské parfémové byly pověstné svou kvalitou a vyžadovány v pravidelných zásobovacích cyklech i pro byzantský císařský dvůr. Středověké křižácké výpravy se přičinily o předávání znalostí a zkušeností po celé Evropě. V evropských kláštřích byly silice využívány k léčbě různých nemocí a při výrobě mýdel a parfémů. Období renesance rozšířilo příměsí vonných silic, v parfumerii i kosmetice, po celém světě.

V současné době známe přibližně asi 3000 druhů silic. Pro potravinářský, farmaceutický, hygienický, kosmetický a parfémový průmysl je využíváno přibližně 300 druhů. [7,8,9] Aplikace esenciálních olejů jsou rozmanité a podřizují se poptávce, kterou ovlivňují módní

trendy dané doby. Vůně nacházíme také v přísadách tabákového průmyslu a osvěžovačů vzduchu, objevují se v biocidech a přidávají se do repelentů proti hmyzu. V aromaterapii se aplikují do zředěné formy. Například D-limonen, který je hlavní obsahovou složkou mandarinkové silice, se vyskytuje v mýdlech, krémech, parfémeh, v čistících prostředcích, v průmyslových rozpouštědlech, ale i příchutích do potravin. V lázních, aromaterapii, anebo při masáži jsou esenciální oleje nedílnou součástí daného procesu. [7,10]

1.2 Získávání esenciálních olejů

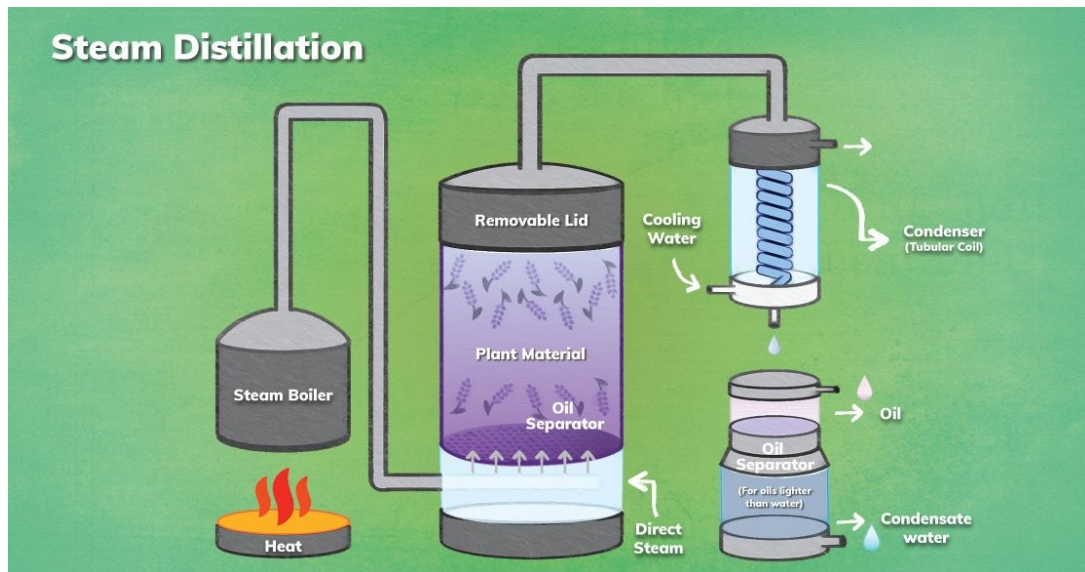
Silice mohou být získávány z různých částí rostlin. Můžeme vytěžit například ze dřeva, kořenů, listů, stonků, květů, plodů nebo semen pomocí předem zvolených, vhodných metod. Podle Mezinárodní organizace pro normalizaci (ISO) je esenciální olej definován jako výrobek, který je získaný z bylinných částí utvořený vodní nebo parní destilací. Na některé procesy je vhodná suchá destilace nebo mechanický proces doporučovaný u citrusových plodů. [7,11] Takto vyráběné esenciální oleje jsou žádané k terapeutickým nebo potravinářským účelům. Esenciální oleje, kde je předpoklad větší extrakce nebo enflueráže jsou vhodnější do parfémového průmyslu. [3] Silice lze tedy získat mnohými metodami. K tradičnímu získávajícímu procesu vonných esencí začleňujeme destilaci vodou, parní destilaci nebo lisování. V současné době přibývá inovativních metod, které zlepšují efektivitu výroby. Inovace snižuje dobu extrakce a přispívá k ochraně životního prostředí i tím, že omezuje používání organických rozpouštědel a snižuje spotřebu energie. K progresivním metodám se řadí superkritická fluidní extrakce, ale i extrakce asistovaná ultrazvukem. Výběr extrakčních metod závisí na druhu rostlinného materiálu a požadovaném využití cílového produktu. Zvolený algoritmus v závěru ovlivňuje kvalitu získaných esenciálních olejů. [8,12]

1.2.1 Destilace vodní parou

Jako jeden z nejoblíbenějších postupů používaných k získávání extraktů a izolaci vonných látek z rostlin je pomocí destilace vodní parou. Tento zvolený proces obnáší probublávání páry zahřátou směsí surovin. V páře se postupně odpařují těkavé sloučeniny rostlinného materiálu. Proces je ukončen kondenzací a sběrem esencí. Destilování pomocí vodní páry

je postup izolování rostlinného materiálu parou generovanou mimo procesní jednotku. Postup je založen na postupném zahřívání rostlinného materiálu v destilační aparatuře. Destilační jednotka se skládá z externího kotle přetvářející páry, nádrže na rostlinný materiál, chladiče a sběrné nádoby na esenciální oleje. Rostlinné části jsou uloženy na nerezové mřížce. Mřížka je umístěna na dno nádrže, kterým prochází pára z externího zdroje. K reakci dochází při prostupu páry rostlinnou hmotou. Ta uvolňuje silice na povrch vlastních buněk. Výhodou parního prostupu je regulování požadovaného množství páry, čímž lze snadno vyvažovat výslednou koncentraci. Přeměněné těkavé silice jsou parou unášeny do spirálového chladiče. Odtud ochlazená směs vstupuje do sběrné nádoby, ve které je na základě rozdílných hustot vody a silic oddělena. Většina silic má hustotu nižší, než je hustota vody, takže se drží na hladině a voda se shromažďuje na dně. Reakce probíhá při teplotě nižší, než je 100 °C. Nedochází tedy k žádnému tepelnému poškození materiálu ani snížení kvality takto získaných vonných látek. Na základě řízení a regulování požadovaného množství tepla, se kterým rostlinná hmota přijde do styku, se zabraňuje degradaci obsahových látek. Pro kvalitní destilaci parou je doporučovaný proces s nízkým nebo středním tlakem, a to ještě bez přidání organických rozpouštědel.

Vodní parou je možné destilovat látky, které se s vodou nedají mísit, nebo jsou ve vodě nepatrně rozpustné. Někteří výrobci volí raději kvantitu před kvalitou, čímž poškozují získávané látky z rostlinných materiálů. Kvantitativní destilace je sice finančně efektivnější ovšem má negativní dopad na jemnost a ojedinělost výsledného produktu. Někteří výrobci, vydávající se za ekologické výrobce, kladou důraz na opatrné pomalejší a náročnější postupy v destilaci vodní parou. Každá rostlina je charakteristická nejen svými vlastnostmi, ale i stavbou těla, a tudíž vyžaduje jiné zpracování i v destilaci. Aby bylo možné extrahovat co nejvyšší možné spektrum jejich účinných látek. Například máta se extrahuje pár desítek minut, anýž až několik hodin. Touto metodou lze získat silice vysoké kvality. V metodě pomalejšího procesu získáme bohatší extrakty, které jsou hojně využívány při terapiích. Ovšem nevýhodou destilací vodní parou jsou vyšší náklady spojené s vybudováním zařízení sloužícímu k tomuto účelu. [4,12]



Obrázek 1 Schéma parní destilační jednotky [13]

1.2.2 Hydrodestilace

Z historického hlediska je nejvíce využívaná metoda pro extrakci esenciálních olejů hydrodestilace. Při tomto procesu se zvolené rostlinné části vaří ve vodě. Z toho tedy vyplývá, že rostlinná surovina je vždy v přímém kontaktu s vodou, čímž se volí nejjednodušší a nejlevnější metoda získávání esencí. Než je zvolený podklad přiveden k varu, musí být ponořen do dostatečného množství vody, aby bylo možno izolovat éterické oleje. Při zahřívání a vlivem horké vody jsou uvolňovány esence z olejovitých žláz z rostlinných tkání. Vodní pára strhává uvolněný esenciální olej a kondenzace probíhá při další fázi při nepřímém chlazení vodou. Takto získaná směs odchází z kondenzátoru tato směs do separátoru. V separátoru se získaná směs samočinně oddělí od destilované vody na základě rozdílu hustot kapalin. Obecně lze tedy říci, že hydrodestilace se odehrává v rozmezí mezi 3–6 hodinami a odvíjí se od rostlinného materiálu.

Hydrodestilace je vhodná pro získávání extrakcí z okvětních lístků a květů, jelikož zabraňuje zbytnění surovin při jejich získávání. Bohužel i hydrodestilace má některé nevýhody. Nutností je po celou dobu procesu zajistit dostatečné množství vody, aby se rostlinná surovina neponičila. Nasekaná nebo namletá rostlinná hmota musí být neustále míchána, aby nedocházelo k jejímu usazování na dno destilační baňky, kde by se mohla zahřátím přehřát nebo spálit. Dlouhodobý var bylin při vysokých teplotách může podporovat hydrolyzu nenasycených sloučenin a tepelný rozklad citlivých

komponentů.

Další nevýhodou hydrodestilace je již výše zmíněná delší doba procesu extrakce a malé výtěžky esence. A proto je horizontální časová relace pro získání většího množství požadovaného oleje překážkou. Z toho plyne, že každá takto získaná šarže do potřebného množství, může být kvalitnější, ovšem výsledek může skončit nevhodnou či špatnou jakostí. Tento parametr je ovlivněn výtěžkem esenciálního oleje a jeho chemickým složením. Hydrodestilace většinou přináší sytější barevnou výraznost olejů, a také nesou výraznější aroma než oleje získávané jinými metodami. Oleje s vysokým bodem varu nelze zcela odpařit anebo vyžadují velké množství páry.

Hydrodestilace je stále žádanou pro nenáročnost vybavení a snadnou realizaci získaných extraktů. Moderní doba nahrazuje hydrodestilaci za destilaci vodní párou, procházející skrz zvolené rostlinné části. Tuto metodu volí většina dnešních výrobců. [12,14]

1.2.3 Enfleuráž

Jelikož se jedná o starší metodu využívanou hojně v jižní Francii v oblasti Grasse, což byla kolébka výroby parfému, zůstává tato výroba ve výlučném opatrování typizující tuto oblast. Využitelnost enfleuráže je tradována ještě před příchodem extrakcí pomocí rozpouštědel, které se využívají v kvalitním kosmetickém průmyslu. Někteří výrobci zaměřeni na aromaterapie si do dnešní doby drží takto vyrobené produkty.

Základem metody enfleuráže je čištěný rostlinný nebo živočišný tuk bez zápachu, který je rozetřen na skleněné desky v rámu, kde po určité době procesu tuhne. V praxi to znamená, že čerstvě natrhané květy rozložíme po povrchu vyčištěné bezzápachové tukové báze a stlačíme je. Proces s rostlinnými částmi ponecháme až do jejich úplného vyčerpání a následně nahrazujeme novými, čerstvými květy. Periodu opakujeme do doby, než tuk dosáhne požadovaného nasycení/vtisknutí vonných silic do tukové báze. Po úplném nasycení jsou květy odstraněny a esenciální olej je z tuku extrahován alkoholem a následně izolován. Po odpaření alkoholu ze směsi zůstává absolutní éterická směs. Přebytek nevyužitého zbývajícího tuku lze použít jako například přísada k výrobě mýdel. Doba působení extrakce se odvíjí od druhu rostliny. To znamená, větší časovou relaci nasycenosti vonných látek od několika dnů až týdnů. Celý postup se provádí v chladných místnostech. Úspěšnost enfleuráže je také závislá na kvalitě použitého tuku a jeho čisté koncentrace.

Metoda enfleuráže je velmi pracná. Jedná se o náročný a nákladný způsob získávání extraktů vhodného spíše pro rostlinný materiál, který je ojedinělý, drahý a choulostivý. Využívá se zejména k získání koncentrátu silic z jasmínu a tuberóz. [14]



Obrázek 2 Enfleuráž [15]

1.2.4 Lisování za studena

Dalším způsobem, jak získat éterické oleje, je proces zvaný exprese. Expresse, skarifikace neboli lisování za studena jsou termíny označující jakýkoliv fyzický proces, při kterém jsou váčky ve slupce rozdrčeny a schopny uvolnit vonné silice. Metoda je volena pro získání vonných esencí z citrusových plodů, respektive jejich oplodí, jimiž jsou mandarinka, citron, bergamot, pomeranč a grapefruit.

Metoda skarifikace byla poprvé praktikována před mnoha lety na Sicílii. Citrusový plod se rozkrojil ostrým předmětem a dužina se oddělila od kůry. Pomocí stlačování/lisování oproti tvrdému předmětu z pálené hlíny se z kůry získával éterický olej. Uvolněná vonná emulze se následně shromažďovala v čistých nádobách.

V současnosti by citrusy používané pro metodu lisování neměly být chemicky ošetřeny. Celý omytý plod je rolován přes koryto, ve kterém se nacházejí ostré výstupky. Tyto výstupky pronikají kůrou a propichují drobné váčky obsahující vonné silice. Pro více šťávy a větší uvolnění éterického aroma je celý plod vylisován/vymačkán. Ze slupek je získáván citrusový olej a větší množství šťávy poskytuje dužina.

Citrusové šťávy vytlačují esenciální olej na povrch. Za pomoci centrifugy jsou citrusový olej a šťáva od sebe odděleny. [14,16]

Uvádí se, že silice získávané lisováním obsahují více ovocné vůně než silice získávané jinými metodami. Citrusová aromata se získávají jako vedlejší produkt při výrobě ovocných šťáv. Esenciální citrusové oleje jsou kvůli vysokému obsahu terpenů náchylnější k oxidaci a rychlému poškození teplem. Z tohoto důvodu by měly být chráněny před slunečním světlem a uchovávány na suchém místě. [14,17]

1.2.5 Superkritická fluidní extrakce

Alternativní metoda vůči klasickým je superkritická fluidní extrakce. Volíme ji k získávání éterických směsí za pomoci oxidu uhličitého (CO_2). Oxid uhličitý je známý jak ve formě plynu, tak ve formě suchého ledu. V tekutém stavu v atmosférickém tlaku neexistuje. Jako plyn může snadno projít pevným materiálem a rozpustit složky, jakožto kapalné rozpouštědlo. Změnou tlaku a teploty lze upravovat vlastnosti rozpouštědla. Schopnost rozpouštět látky se zvyšuje s rostoucí hustotou rozpouštědla. Za preferované rozpouštědlo se využívá oxidu uhličitého (CO_2). Tekutiny nad kritickou teplotou vykazují vlastnosti podobné kapalině i plynům. Kritická teplota oxidu uhličitého je $31\text{ }^\circ\text{C}$. Jedná se o fyzikální proces, při kterém nedochází k žádné chemické reakci, ale ani k uvolnění tepla. Celý proces probíhá tak, že je pevný materiál vložen do nádrže/tlakové nádoby, do které je přiváděn oxid uhličitý. Čímž v nádrži vzniká tlak.

Zvolené části rostlin, ze kterých budeme provádět extrakci, umístíme do tlakové nádoby, do které je přiváděn oxid uhličitý. Tím se uvnitř nádrže vytváří tlak. Za vysokého tlaku se oxid uhličitý stává superkritickou tekutinou a dobrým rozpouštědlem k extrakci silic z rostlinného materiálu. Naopak když vznikne probíhající reakce za nízkých teplot, vrací se do plynného stavu bez zbytků rozpouštědla. Reakce při nízkých teplotách je vhodná i pro termolabilní látky. Takto získané směsi éterických olejů jsou čistší a výraznější aromatem (více připomínají živé rostliny), než silice získané destilací vodní parou.

Odborné studie ukazují, že získávání koncentrátů oxidem uhličitým produkuje vonnou směs, jež má značné zachování původních biologických vlastností. Superkritická fluidní extrakce participuje při extrakci s CO_2 za použitelnosti nižších teplot, to je $31\text{--}60\text{ }^\circ\text{C}$,

čímž zůstávají zachovány i preceptory citlivé na teplo. Oxid uhličitý je vhodným rozpouštědlem, protože je inertní, bezbarvý, bez zápachu, netoxický, nehořlavý a recyklovatelný plyn, což je metoda šetrná i k životnímu prostředí. Nevýhodou této metody je vysoká pořizovací cena. [4,11,18]

1.2.6 Ultrazvuková extrakce (sonikace)

V dnešní době je kladen důraz na nekonvenční chemii s konceptem „Green chemie“ založenou ve vyváženosti šetrných na chemické a fyzikální úpravy. Tím se do popředí dostává extrakce ultrazvuku, která má velký potenciál v různorodých škálách technologických procesů. Tato metoda se využívala dříve pro čištění, diagnostické analýzy a jiné. V posledních letech zaznamenala aplikace sonikace v chemickém, potravinářském a farmaceutickém průmyslu velký boom pro jejich rozvoj. Ultrazvuk je uznávaným alternativním přístupem k tradičním extrakčním metodám. Proces ultrazvukové extrakce je využíván pro akustickou energii a rozpouštědla při extrakci na cílovou sloučeninu z různých rostlinných částí.

Princip spočívá v použití ultrazvuku o frekvencích přibližně 20 kHz. Sonikace předává ultrazvukovou energii ve formě vln přes kapalně rozpouštědlo, které obsahuje pevné částice. Tím, jak vlny narážejí na povrch materiálu, vzniká tlak, buď kolmý nebo rovnoběžný s povrchem. Takto vytvořená zvuková energie se přeměňuje na mechanickou energii ve formě rázových vln. Tyto vlny vytváří kavitační bubliny v roztoku a vytváří dostatek energie k narušení struktur obsahující silice, dochází ke zvýšení propustnosti buněčné stěny a uvolnění silic. Má se za to, že rychlé umístění zvýšení tlaku a teploty jsou zodpovědné za narušení buněčných membrán, čímž je usnadněna migrace rozpouštědla do buňky. Tudiž je prováděna cílená extrakce požadované složky. Sonikace je atraktivní způsob extrakce. Vyluhování se provádí pomocí ultrazvukové sondy nebo ultrazvukové koupele. Metoda ultrazvukové extrakce byla navržena pro extrakci fenolických sloučenin z pšeničných otrub a prášku z kokosových skořápek nebo k extrakci izoflavonů ze sójových bobů. Všechny extrakční metody jsou voleny na základě výsledků získaných koncentrátů. Liší se v použitých surovinách a rozpouštědlech. [12,14,19,20]

1.2.7 Extrakce pomocí pulzního elektrického pole

Pulzní elektrické pole je jednou z oblíbených netermálních technik, které jsou využívány pro extrakci. Podstatou metody využití pulzního elektrického pole je rozrušení struktur buněčných membrán za účelem zvýšení extrakce. Na působení pulzního elektrického pole jsou citlivé části buněčných membrán, které fungují na dipólovém charakteru. Při překročení kritické hodnoty přibližně 1V transmembránového potenciálu, vzniká mezi látkami s dipólem odpor, což vede ke tvorbě pórů v membráně. To způsobuje uvolňování intracelulárních sloučenin z rostlinných tkání, čímž se zvýší permeability membrány. Propustnost buněčných membrán je způsobená aplikací krátkých a intenzivních elektrických impulzů. [21]

1.3 Chemické složení

Esence jsou složeny z komplexních směsí sloučenin s nízkou molekulovou hmotností, ale obvykle je menší než 300 Daltonů. Jedná se o souhrnné směsi terpenických uhlovodíků a kyslíkatých derivátů, jimiž jsou alkoholy, aldehydy a estery. Jediná silice může obsahovat až 50 různých komponentů a v sobě odlišných koncentracích. V každé silici se vždy vyskytují dvě až tři hlavní složky s vysokým obsahem dané koncentrace. Toto obohacování je doplněno různým počtem minoritních složek. Každá přidaná sloučenina je znatelná a odráží se ve výsledcích vůně. Nedílnou součástí silic jsou neopomenutelné také minoritní složky, jelikož dodávají esenciálním olejům typickou, charakteristickou vůni. Z tohoto důvodu je velmi důležité zachovat jakoukoliv prováděnou technologii o přirozeném obsahu podílejících se složek.

Citrusové silice nejrychleji mění své chemické vlastnosti, protože obsahují vysoké množství terpenoidů. Rychlost reakce způsobují nenasyčené terpenické uhlovodíky v esencích, které snadno oxidují a rychleji vyvolávají řetězové reakce v přirozené struktuře. Z důvodu lipofility se esenciální oleje nedají smístit s vodou. Vonné oleje jsou ale rozpustné ve většině běžných organických rozpouštědlech a dobře mísitelné s rostlinnými oleji, tuky či vosky. Jejich hustota je nižší než hustota vody. Pro silice je charakteristický vysoký index lomu světla, což způsobuje přítomnost dvojných a trojných vazeb v jejich molekulách. Převážná většina aromatických látek je schopna stáčet rovinu polarizovaného světla, které jimi prochází, říkáme, že jsou opticky aktivní. Mnohé silice získané ze stejného druhu rostlin se mohou lišit chemickým složením,

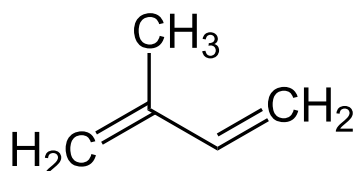
což ovlivňuje například geografický původ, klimatické podmínky, anebo způsob jejich sběru. Rostlinná produkce éterických olejů je získávána z jejich různých částí, například kořene, stonku, listů, květů i plodů. Z takto rozříděných zlomků rostlin můžeme pozorovat podobnost, nebo různorodost chemického složení.

Vevnitř v rostlinných tkáních, to je sekrečních kanálcích, olejových buňkách, anebo v trichomech, což jsou žlázovité chloupky rostlin, se hromadí esenciální oleje, které jsou tvořeny rostlinou. Bylinou vytvořené složky se dají rozdělit do dvou skupin: na neterpenoidní a terpenoidní uhlovodíky. [6,8,11,22]

1.3.1 Neterpenoidní a terpenoidní uhlovodíky

Neterpenoidní uhlovodíky se nacházejí v esenciálních olejích. Vznikají degradací, nebo metabolickou přeměnou fosfolipidů a mastných kyselin. Jedná se především o alkoholy s krátkým řetězcem a aldehydy. Ve své molekule mohou obsahovat kyslík, síru nebo dusík. Uhlíky jsou spojeny buď jednoduchou, dvojnou, nebo trojnou vazbou. [1]

Terpenoidy jsou jednou z největších skupin nacházející se v přírodních látkách. Ze všech živých organismů, ať z říše rostlin, anebo živočichů, bylo izolováno více než 30 000 terpenoidních látek. Terpenoidy jsou důležitými složkami silic. Prvním vědcem pojmenujícím sloučeninu $C_{10}H_{16}$, jako budoucí terpenoid, byl roku 1880 Kekulé. Fridrich Augustus Kekulé byl významným německým chemikem. Podnět pro nově uznaný název dala profesoru Kekulému sloučenina $C_{10}H_{16}$ objevující se v terpentýnu. Jeho asistent Otto Wallach, taktéž německý chemik navázal na profesora Kekulého a terpeny chemicky hlouběji analyzoval. Roku 1887 zjistil, že se skládají ze dvou, nebo více izoprenových jednotek. Za tento objev získal v roce 1910 Nobelovu cenu za chemii. [1]



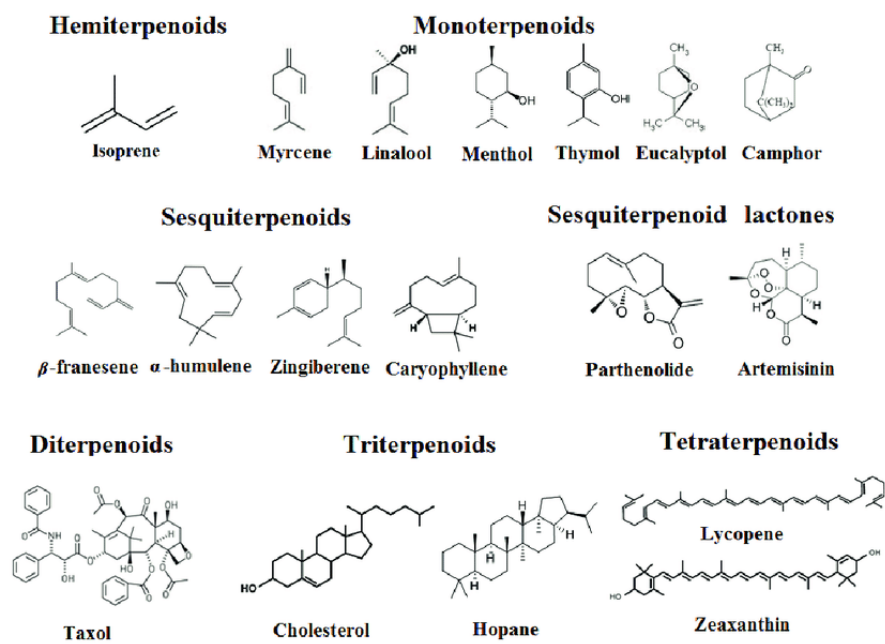
Obrázek 3 Izopren [23]

Terpeny vznikají mevalonátovou cestou ze základních prekurzorů isoprenyldifosfátu a dimethylallyldifosfátu. Jsou biosyntetizovány z acetylkoenzymu A, přes kyselinu mevalonovou. Základní stavební složkou je izopren, obsahující pět atomů uhlíku. Jedna izoprenová jednotka se nazývá hemiterpen (C_5H_8). Molekuly tvořené ze dvou izoprenových jednotek se nazývají monoterpeny ($C_{10}H_{16}$), ze tří izoprenových jednotek seskviterpeny ($C_{15}H_{24}$) a molekuly složené ze čtyř izoprenových jednotek diterpeny ($C_{20}H_{32}$). Aromatické terpeny, jež se vyskytují v silicích jsou odvozeny od monoterpenické nebo seskviterpenické struktury. Diterpeny jsou méně těkavé a obvykle nejsou součástí vonných složek silic. [1,4,24]

Monoterpeny se skládají ze dvou izoprenových jednotek. V rostlinách jsou syntetizovány v parenchymatických buňkách. Pro bylinu jsou významné tím, že ji chrání před vysycháním a napadením před škůdci. Monoterpeny zprostředkovávají interakci mezi prostředím a rostlinou. Nacházejí se v lineární, acyklické (např. β -ocimen) nebo cyklické formě. Cyklické monoterpeny jsou klasifikovány na monocyklické (např. limonen), bicyklické (např. α -pinen) a tricyklické. Molekula s obsahem benzenového jádra je další možností monoterpenů nacházející se v silicích. [1,25]

Seskviterpeny tvořené třemi izoprenovými jednotkami mohou být v lineární, rozvětvené, nebo cyklické formě. Jsou nejrozmanitější skupinou těkavých terpenoidů. Seskviterpeny jsou nenasycené sloučeniny. [1]

Diterpeny, které se skládají ze čtyř izoprenových jednotek nalezneme většinou v pryskyřicích. Některé z nich mohou být ojedinelou složkou v esenciálních olejích, například fytol. Fytol se začátkem 19. století poprvé izoloval během esterifikace molekuly chlorofylu. Diterpeny se vyskytují v acyklické, cyklické, bicyklické a tricyklické formě. [1]



Obrázek 4 Příklady různých skupin terpenů [26]

2 MANDARINKA OBECNÁ

Rod *Citrus* je jedním z nejstarších, nejoblíbenějších a nejobchodovanějších plodin na světě. Mandarinka obecná, *Citrus reticulata*, *Rutaceae*, je stálezelený neopadavý menší keř, nebo strom dorůstající do výšky až 6 metrů, kterému vyhovuje spíše subtropické podnebí. Co je považováno za domovinu citrusovníků nedokážeme s určitostí říci. Snad se jedná o Japonsko, Taiwan anebo Východní Čínu? Vysoké stromy jsou typické hustými symetrickými otevřenými vrcholy tvořenými štíhlými větvemi ojedinele porostlé trny. Listy citrusovníků mají vejčitý tvar s lesklou tmavě zelenou barvou. Čepel listů je 5–7 cm dlouhá a 2–3 cm široká, ukončená špičkou a po obvodu s jemným vroubkováním. Žlázky listů obsahují vonné silice. Sladce vonící bílé květy vyrůstají jednotlivě či ve skupinách z paždí listů. Rostliny začínají plodit okolo třetího roku stáří. Plody mohou být kulovité, anebo zploštělé. Slupka nabývá ve zralosti jasně oranžové až červenooranžové barvy. Je volná a snadno se odděluje od segmentů. Plod neboli hesperidium se skládá z endokarpu s 8–10 segmenty obsahující šťávové váčky. Nad endokarpem se vyskytuje bělavý nitkovitý mezokarp a vnější slupka, exokarp, s olejovými žlázkami, které vylučují silici a vytváří typickou pomerančovou vůni. Mandarinka je žádaná pro svoji ovocnou chuť a sladkou šťávu. Silice získávané ze slupek, ale také květů a listů jsou žádané v kosmetickém, farmaceutickém i potravinářském průmyslu. I přes svou hořkosladkou příchut' a vysoký nutriční obsah patří plod mandarinky mezi nejoblíbenější citrusové plody k přímé konzumaci. V současné době se exotická mandarinka pěstuje na rozsáhlých plantážích ve vlhkých oblastech tropů a subtropů po celé zeměkouli. Jelikož se jedná o teplomilný druh, daří se mu právě v podnebí s dostatkem srážek a konstantní teplotou. Z citrusovníků je nejvíce odolný vůči suchu a chladu. Mladší rostlinky nejsou tak odolné, jako starší keře/stromy, které dokáží přežít i při krátkodobých teplotách do -9 °C. Mandarinka nevyžaduje bohatost živin v půdě, ale tam kde se pěstuje, musí být půda vlhká a propustná. Křížením a šlechtěním mandarinky se docílilo možnosti pěstování i v chladných podmínkách.



Obrázek 5 Květ mandarinky obecné [27]

Mandarinka je široce rozšířená a žádaná v Indii i Číně. Do Evropy se dostala až roku 1805. V současné době jsou její plody dostupné po celém světě. [6,22,28,29] Pro různý obsah bioaktivních složek, jimiž jsou vitaminy, minerální látky, flavonoidy a blahodárný účinek na lidský organismus je vyhledávaným exotickým ovocem. Mandarinka má vysoký podíl vitamínu C, který je rozpustný ve vodě. Vitamin C je součástí podpory tvorby kolagenu, napomáhá k odolnosti imunitního systému, ale je také vyhledávaným antioxidantem. V mandarince nacházíme také žádaný vitamin E, který je rozpustný v tucích a chrání buněčnou membránu jako antioxidant. Vitamin E napomáhá ke zpomalování neodvratného procesu stárnutí buněk. Dalším významným antioxidantem je β -karoten, který je ve vztahu s vitamínem A. Pro nervový systém, elasticitu pokožky a správně fungující metabolismus jsou prospěšné vitaminy B1, B2, B3, B6, B9, které se také nacházejí v citrusovém ovoci/mandarince. Pro správnou funkci svalů a dobrý vývoj kostí i zubů nalezneme v mandarince i minerální látky, jimiž je draslík, hořčík, sodík, vápník a fosfor. Nejvíce obsaženým flavonoidem v mandarince je přírodní látka zvaná hesperidin, řazená mezi flavonoidní glykosidy. Hesperidin pomáhá zvyšovat odolnost cévních stěn, cév samotných a také omezuje tvorbu otoků, čímž získává velké zastoupení a využití ve farmaceutickém průmyslu. [30,31,32,33,34,35]

3 MANDARINKOVÁ SILICE

Mandarinkový esenciální olej má zklidňující účinky na nervový systém. Je vhodný při nespavosti, zmírňuje svalové napětí a je vyhledávaným prostředkem proti migrénám. Také kosmetický průmysl jej hodně využívá.

Mandarinková silice obsahuje aminokyseliny, estery (linalylacetát), flavonoidy (hesperidin, nobiletin, rutin a jiné), fytoosteroly, karotenoidy, kyseliny například arachidonová, asparagová a jiné, kumariny, lipidy, velké množství minerálních látek, třísloviny, vitaminy A, B, C, D a jiné. Na trhu je i olej, který neobsahuje bergapten, tedy způsobuje minimální nebo žádnou fotocitlivost na UV. Takový olej je vyrobený vakuovou destilací, a kromě bergaptenu neobsahuje i některé další látky, které obsahuje olej lisovaný za studena.

Z mandarinkového oleje můžeme zmínit výborné zklidňující účinky. S úspěchem se využívá pro zklidnění hyperaktivních dětí a autismu. Afrodisiakum, antiseptikum, ale i antidepressivum zmírňující úzkosti a deprese. Baktericidum, dezinficiens a digestivum a cholagogum, karminativum upravující zažívání. Mandarinkový olej povzbuzuje i činnost lymfatického systému. Tím, že reguluje produkci kožního mazu, jsou v kosmetickém průmyslu mandarinkové silice žádané v boji proti akné a striím, a také využívané ve věkových řadách pro problematickou, mastnou a zralou pleť.

Mandarinková silice je mírně analgetická a pomáhá v boji proti zánětům močopohlavního ústrojí. Tím, jak je mandarinková esence bohatá na vitamin C, odvádí škodlivé toxiny z těla, detoxikuje, zlepšuje krevní oběh a napomáhá v dermatologii při hojení a zmenšování špatně se hojících jizev. Modernizace zaznamenal i farmaceutický průmysl v boji proti rakovině. Mandarinková esence brání množení rakovinových buněk, čímž přispívá v prevenci proti rakovině. Lékaři tvrdí, že mandarinková silice má protinádorové účinky a mohou výrazně snížit riziko onkologických onemocnění mléčných žláz a vaječníků. Vysoké koncentrace betakryptoxantinu jsou zábranou nástupu rakoviny plic.

Molybden, který je součástí mandarinky, normalizuje procesy v lidském těle. Tento stopový prvek podporuje vstřebávání železa a zabraňuje chudokrevnosti. Pro vnitřní využití musí být mandarinkový olej vysoce kvalitní, kdy stačí dvě kapky esence na 100 ml tekutiny. Při zevním použití rozlišujeme inhalaci, difuzér, kožní využití či koupele. Při doporučeném využití mandarinkové silice nejsou zaznamenány žádné vážné

kontraindikace s vedlejšími účinky. Pouze citlivá pokožka či alergici můžou zaznamenat potíže.

Mandarinkovou esenci lze dobře kombinovat s jinými oleji například cypřišovým, cedrovým, hřebíčkovým, levandulovým, citrusovými, mátovým, pepřovým, rozmarýnovým, santalovým, šalvějovým, tea tree a dalšími. Hojně je mandarinková silice využívána v potravinářském průmyslu v kosmetice. V parfémovém průmyslu se nachází v deodorantech, parfémeh, toaletních a kolínských vodách. V drogistickém průmyslu je součástí neléčebných osvěžovačů vzduchu.

Stejně tak je i důležité dbát na bezpečnost, zvláště pak u dětí, těhotných a kojících žen. Při vnitřním předávkování může mandarinková esence způsobit nevolnost až zvracení. Mandarinkovou silici nesmí užívat osoby s citlivou pokožkou či alergií na citrusové plody. Může být fototoxická. [36]

Plody mandarinky se sklízají v různých fázích zralosti. V první fázi zralosti je získaná silice světle zelené až tmavě zelené barvy. Ve druhé fázi zralosti má světle žlutou až tmavě oranžovou barvu. Ve třetí fázi má silice oranžové až tmavě červené zbarvení. Ve všech fázích zralosti vykazuje modrou fluorescenci. Nejvíce se používají silice ze zralých plodů, proto v dalších kapitolách budou popsány parametry týkající se pouze silice získané ze zralých plodů. [24,28,37,38]



Obrázek 6 Plody mandarinky obecné [39]

3.1 Definice mandarinkové silice

Český lékopis uvádí definici, že silice z vnější části kůry čerstvých plodů druhu *Citrus reticulata* jsou nejvhodnějším mechanickým postupem získaných bez použití tepla.

Dle Mezinárodní organizace pro standardizaci je mandarinková silice definována jako éterický olej získaný expresí, bez pomoci tepla, anebo bez předchozího oddělení dužiny a kůry z čerstvých plodů *Citrus reticulata* z čeledi *Rutaceae* je kvalitním získaným produktem. (ISO 3528). V této mezinárodní normě se udává i procentuální složení, kterému musí odpovídat získané hodnoty silice, aby splňovala mezinárodní kritéria. Složení je uvedeno v tabulce 1. [38,40]

Tabulka 1 Požadavky na složení mandarinkové silice dle normy ISO 3528:2012 [40,41]

Složka	Minimum [%]	Maximum [%]
limonen	65	75
γ -terpinen	16	22
α -pinen	1,8	3
β -myrcen	1,5	2
β -pinen	1,2	2
methyl-antranilát	0,3	0,6
α -sinensal	0,1	0,5
n-decanal	0,04	0,12
Linalool	0,03	0,2
n-octanal	0,03	0,8
p-cymen	–	0,8

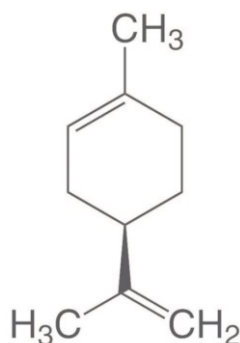
3.2 Chemické složení

Mandarinková silice je oranžová až červená kapalina, charakteristická pro svou svěží ovocnou, sladkou vůni. Je mírně rozpustná v propylenglykolu a nerozpustná v glycerolu. Získává se lisováním čerstvých mandarinkových plodů za studena. Hlavními aktivní konstituenty jsou: limonen (65–75 %) a γ -terpinen (16–22 %). Další konstituenty by měly být v rozsahu: α -pinen (1,8–3 %), β -myrcen (1,5–2 %), β -pinen (1,2–2 %) a methyl-antranilát (0,3–0,6 %). Dalšími složkami, které se vyskytují ve stopovém množství jsou linalool, p-cymen nebo n-octanal.

Některé studie uvádí, že mandarinková silice má nevyčíslitelný vliv na vůni a obsahuje až 48 komponentů. Moderní analytické metody, mezi které se řadí plynová chromatografie prokázaly, že mandarinkový olej s mnoha komponenty, které působí synergicky, přispívá k hojivým procesům. Množství bioaktivních složek se může výrazně lišit od jiných druhů mandarinkových olejů. Evropský lékopis obsahuje limity a rozmezí obsahu převládajících komponentů. Obecně se považuje mandarinková silice za vysoce kvalitní získaný produkt. Složení éterických olejů se může lišit s ohledem na geografické podmínky, stáří rostliny a dobu sklizně. [4,30,37,41,42]

3.2.1 Limonen

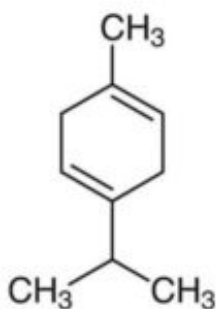
Limonen, chemicky 1-methyl-4-(1-methylethenyl)cyklohexen, se skládá ze dvou izoprenových jednotek, řadíme jej mezi monocyklické monoterpeny. Čistý limonen je bezbarvá kapalina, lehce rozpustná ve vodě. Teplota varu je až u 176 °C. Může se vyskytovat ve dvou opticky aktivních formách. Každá forma vylučuje jiné aroma. L-limonen voní po borovici, zatímco D-limonen má příjemnou citrusovou vůni po pomerančích. Limonen se objevuje také ve formě D,L-limonenu. Izomery jsou chemicky totožné. Jejich molekulární struktury jsou si navzájem zrcadlovými obrazy. Tato směs izomerů je známá jako dipenten a nachází se v terpentýnovém oleji. D-limonen je jedním z často se vyskytujících terpenů v aromatických rostlinách, především citrusech. Je hlavním komponentem citrusových silic, jimiž je například pomeranč, citron, grapefruit, bergamot, mandarinka, ale také v kopru a kmínu. Limonen se také od roku 1995 začal vyrábět synteticky. Syntetický limonen získáváme alkalickou extrakcí citrusových zbytků a parní destilací. Nalezneme jej jako vonnou složku v parfémeh, kosmetických a čisticích výrobcích. Je součástí pesticidů a používá se i při výrobě pryskyřic. Stále více je používán jako rozpouštědlo. Nahrazuje tak chlorované uhlovodíky, chlorofluoruhlovodíky a další rozpouštědla. Využívá se k odmašťování kovů, na čištění v polygrafickém průmyslu a jako rozpouštědlo různých druhů barev. Ve farmaceutickém průmyslu bývá používán pro zlepšení penetrace a snížení bariérové odolnosti při trasepidermálním podání léčiv. Bylo prokázáno, že limonen má antioxidační, protizánětlivé a antikancerogenní účinky. [28,43,44,45,46]



Obrázek 7 D-limonen [47]

3.2.2 γ -terpinen

Látka γ -terpinen, chemicky 1-methyl-4-(1-methylethyl)-1,4-cyklohexadien, je jedním ze tří izomerních monoterpenů lišících se polohou dvou dvojných vazeb. V γ -terpinenu jsou dvojně vazby v polohách 1 a 4. Chemická látka γ -terpinen bezbarvá kapalina a je obsažena v mnoha přírodních zdrojích jakými jsou citrusové plody, ale i koriandr, skořice nebo zázvor. Právě získaná látka γ -terpinen má silnou citrusovou vůni s antioxidačními a protizánětlivými účinky. Ovšem může dráždit precitlivělou kůži nebo alergiky, je fototoxický. [28,46,48]

Obrázek 8 γ -terpinen [49]

3.3 Biologické účinky

Mandarinková esence je známá a hojně využívaná pro její antibakteriální, antimykotické, sedativní efekt. Využívá se nejen jako antidepresivum, antiflogistikum, dezinficiens, baktericidum, diuretikum, digestivum, expektorans, ale i pro detoxikaci těla a pokožky, k léčbě popálenin, zamezení otokům, při bodnutí hmyzem, tak i jako afrodisiakum, stimulant, stomachikum, tonikum a mnoha dalších. Mimo různých aktivních ohlasů mandarinkového oleje byla prokázána i účinnost při infekci rezistentních mikroorganismů na antibiotika a další léky, kterými jsou například i preparáty k prevenci rakovinnému bujení. Biologické vlivy esenciálních olejů jsou výsledkem obsažených hlavních komponentů. Jejich biologickou odezvu můžeme využít tedy jak v péči o zdraví, tak i v péči o krásu. Nejdůležitějším efektem mandarinkové silice je antimikrobiální, antifungální a antioxidační působnost.

3.3.1 Antimikrobiální účinky

Mandarinkový esenciální olej vykazuje vysokou antibakteriální aktivitu. Bylo zjištěno vysoké působení proti široké řadě grampozitivních i gramnegativních bakterií. Z grampozitivních je to například *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus*, *Listeria monocytogenes* a *Micrococcus luteus*. Z gramnegativních bakterií například *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa*. Antimikrobiální účinky jsou spojeny s obsaženými monoterpeny, které difundují a poškozují integritu buněčné membrány mikroorganismů. Esenciální oleje jsou lipofilní povahy, a proto snadno prostupují buněčnou membránou. Inhibice růstu bakterií může být způsobena také synergickými účinky mezi složkami esenciálního oleje i u těch, které jsou obsaženy v malém množství. Mezi testovací metody používané k charakterizaci antimikrobiální aktivity patří agarový difúzní a agarový diluční test. Při difúzním testu je esenciální olej nanesen na papírový disk a poté vložen na povrch média, na kterém jsou naočkovány mikroorganismy. Antibakteriálně aktivní silice způsobují inhibiční zónu kolem rezervoáru. Velikost inhibiční zóny je považována za míru antibakteriální účinnosti esenciálního oleje. Při diluční metodě je esenciální olej součástí agaru, na který se naočkují mikroorganismy. Na agarových plotnách je esenciální olej v různých koncentracích. Metody jsou vhodné ke stanovení minimální inhibiční koncentrace antimikrobiálních látek. [28,29,41]

3.3.2 Antifungální účinky

S houbami – plísněmi mohou být v kontaminaci kosmetický i potravinářský průmysl. Potenciální nebezpečí představují houby rodu *Aspergillus*. *Aspergillus niger* produkuje ochratoxin a *Aspergillus flavus* tvoří aflatoxiny, které jsou toxické a řadí se mezi karcinogeny. Proti rodu *Aspergillus* vykazují inhibiční efekt složky mandarinkové silice jako pinen, limonen a nerol. Další skupinou, na kterou působí inhibičně je *Penicillium italicum* a *Penicillium digitatum*. Tady je antifungální efekt přičítán citralu, linaloolu, oktalanu a γ -terpinenu. Dochází k narušení integrity buněčné membrány. Mandarinková silice je také účinná proti kulturám *Candida albicans* či *Fusarium oxysporum*. [28,29,50]

3.3.3 Antioxidační účinky

Antioxidanty jsou dle definice látky, bránící oxidačnímu působení kyslíku na některé složky v kosmetických prostředcích nebo potravinách. Jejich úkolem je oddálit nástup oxidace nebo zpomalit rychlost jejího průběhu, čímž přitahuje zájem mnoha vědců pro různá zaměření. Antioxidanty reagují různorodými způsoby. Mandarinková silice pro svou vysokou chelatační aktivitu tvoří komplexy, které inaktivují kovové ionty, čímž zabraňují působnosti volných radikálů. Mandarinková esence vykazuje značnou odolnost vůči peroxidaci lipidů. Lze ji tedy využít k omezení tvorby toxických produktů oxidace a pro zachování vysoké kvality a trvanlivosti výrobků. Některé syntetické antioxidanty mohou při vyšších dávkách působit toxicky, což způsobuje nevolnost až vyvolání zvracení. Proto výrobci reagují na vzrůstající poptávku spotřebitelů po přírodních antioxidantech. [29]

3.4 Fyzikální vlastnosti

Mezi hlavní fyzikální vlastnosti mandarinkového esenciálního oleje řadíme index lomu, hustotu a optickou otáčivost.

3.4.1 Refraktometrie

Základem metody je měření indexu lomu látek. Index lomu je bezrozměrná fyzikální veličina kdy paprsek světla dopadá na fázové rozhraní, kdy může docházet k lomu světla.

Při průchodu paprsku světla do jiného úseku prostředí se paprsek láme v důsledku rozdílu propustné rychlosti světla v závislosti na daných fázích. Když přechází paprskový svit do prostředí, kde je rychlost světla nižší, dochází k lomu světla ke kolmici. Naopak při přechodu paprsku do dimenze, ve které je vyšší rychlost světla, tak dochází k lomu od kolmice. Indexem lomu rozumíme stanovisko rychlostí světla paprsku závisícího ve dvou prostupujících fázích. Pro lomový index platí Snellův zákon, což je poměr sinů úhlů dopadu a lomu pro určitá dvě prostředí stálý a rovný poměr velikosti a rychlosti vlnění v jednotlivých prostředích. Je to jeden ze základních zákonů popisující šíření elektromagnetického vlnění přecházejícího z jednoho prostředí do druhého. Snellův zákon je nejdůležitější a využíváný v geometrické optice.

Základním principem měření refraktometry je zjišťování mezních úhlů lomu, což je maximální možný úhel lomu, když se úhel dopadu přiblíží 90° . Refraktometr sleduje rozhraní mezi osvětlenou a neosvětlenou částí kvadrantu. V zorném poli je nitkovitý kříž. Při měření se nastavuje toto rozhraní světla a stínu v zorném poli dalekohledu přesně na střed zorného pole. Díky tomu můžeme na stupnici odečíst index lomu.

Index lomu se odvíjí od teploty a vlnové délky měření. Přístroje, kterými se měří index lomu nazýváme refraktometry. Nejčastěji se používá Abbeho refraktometr, ten se skládá se z osvětlovacího a měřícího hranolu. Hranoly jsou vyrobeny z islandského vápence. Mezi ně se aplikuje zkoumaná látka. Pro měření bodu lomu stačí kapka zkoumaného vzorku. Index lomu je charakteristickým znakem každé látky. Pro mandarinkovou silici je index lomu 1,472–1,474 při 20°C . Abbeho refraktometr měří v rozpětí 1,300–1,700. Tvůrcem tohoto refraktometru byl německý fyzik Ernst Karl Abbe. Refraktometrie je využívána pro ověřování čistoty zkoumaných látek jak v kapalině, tak i v tuhé fázi. [37,38,51,52]

3.4.2 Polarimetrie

Polarimetrie je metoda, která je založena na schopnosti některých látek stáčet rovinu polarizovaného světla. Takové látky nazýváme opticky aktivní. Opticky aktivní jsou všechny látky, jejichž molekuly nelze otáčením ztotožnit s jejich zrcadlovým obrazem. Většinou se jedná o organické látky, které ve své molekule obsahují asymetrický uhlík. Asymetrický uhlík je ten, na němž jsou navázány čtyři různé substituenty. Opticky aktivní látky mohou být levotočivé nebo pravotočivé. Měrná otáčivost je rovna úhlu, o který otočí opticky aktivní látka rovinu polarizovaného světla pro tloušťku vrstvy

1 dm a koncentraci roztoku 1 kg/dm^3 . Optická otáčivost je měřena pomocí polarimetru, což je přístroj sloužící k měření úhlu otočné roviny polarizovaného světla při průchodu opticky aktivní látkou.

Zdrojem světla bývá sodíková výbojka. V polarimetrech jsou umístěny hranoly z islandského vápence, takzvané Nicolovy hranoly. Jeden hranol slouží jako analyzátor, druhý jako polarizátor. Lineárně polarizované světlo vzniká z nepolarizovaného světla právě pomocí polarizátoru. Paprsek se rozštěpí na řádný a mimořádný paprsek. Mimořádný paprsek postupuje polarimetrem přes kyvetu se vzorkem a dopadá na analyzátor. Úhel, o který je nutné pootočit analyzátozem je rovno úhlu, o který aktivní látka pootočila rovinu polarizovaného světla. Při měření je nutno najít takovou polohu, ve které jsou všechny tři části zorného pole stejně osvětlené. Hodnotu optické otáčivosti poté odečteme na stupnici. Schopnost stáčet polarizované světlo má i mandarinková silice. Hodnoty optické otáčivosti jsou $+70^\circ$ až $+79^\circ$. [38,51]

3.4.3 Hustota

Hustota je fyzikální veličina, která určuje hmotnost látky připadající na daný objem. Relativní hustota je poměr hmotnosti určitého objemu látky k hmotnosti stejného objemu vody při 20°C . Jedná se o bezrozměrnou veličinu. Relativní hustota mandarinkového oleje by měla být v rozsahu 0,844–0,853. [38,53]

Všeobecně jsou silice těkavé, často hořlavé a ve vodě nerozpustné olejové látky nebo směsi látek. Silice jsou vonné a při nízkých teplotách těkavé sloučeniny. Jsou rozpustné v tucích, éteru, chloroformu a benzínu. Obvykle mají silice hustotu nižší než voda, a proto tvoří plovoucí kapičky na vodní hladině. Výjimkou je skořicový olej. Tím že jsou citrusové silice hydrofobní, jsou ve vodě nerozpustné. Při normálním tlaku je jejich bod varu mnohem vyšší než bod varu vody. V přehřáté vodní páře se odpařují, aniž by zanechávaly zbytky mastnoty.

II. PRAKTICKÁ ČÁST

4 POUŽITÉ PŘÍSTROJE, VYBAVENÍ, VZORKY A CHEMIKÁLIE

4.1 Přístroje a vybavení

- Plynový chromatograf DANI Master GC Fast Gas Chromatograph
- Abbeho refraktometr
- Polarimetr
- Hustoměr VariDens SCHMIDT + HAENSCH
- Automatické pipety
- Vialky
- Mikroštríkačka Hamilton
- Běžné laboratorní sklo a vybavení

4.2 Vzorky a chemikálie

- Esenciální olej Mandarinka Atok
- Esenciální olej Mandarinka Saloos
- Esenciální olej Bio Mandarinka Saloos
- Esenciální olej Mandarinka Nobilis Tilia
- Esenciální olej Bio Mandarinka Nobilis Tilia
- Esenciální olej Mandarin Bewit
- Esenciální olej Red Mandarin Bewit
- Esenciální olej Green Mandarin Bewit
- Esenciální olej Yellow Mandarin Bewit
- Esenciální olej Mandarinka červená Salus
- Esenciální olej Mandarinka zelená Salus
- Dichlormethan 99,6% Sigma-Aldrich



Obrázek 9 Analyzované vzorky mandarinkových esenciálních olejů

Tabulka 2 Popis analyzovaných vzorků

Číslo vzorku	Název esenciálního oleje	Matečná rostlina	Výrobce	Země původu
1.	Mandarinka	<i>Citrus reticulata</i>	Atok	Itálie
2.	Mandarinka	<i>Citrus reticulata</i>	Saloos	Brazílie
3.	Bio Mandarinka	<i>Citrus reticulata</i>	Saloos	Španělsko
4.	Mandarinka	<i>Citrus reticulata</i>	Nobilis Tilia	Itálie
5.	Bio Mandarinka	<i>Citrus reticulata</i>	Nobilis Tilia	Itálie
6.	Mandarin	<i>Citrus reticulata</i>	Bewit	Brazílie
7.	Red Mandarin	<i>Citrus reticulata</i>	Bewit	Itálie
8.	Green Mandarin	<i>Citrus reticulata</i>	Bewit	Itálie
9.	Mandarinka červená	<i>Citrus nobilis</i>	Salus	Itálie
10.	Mandarinka zelená	<i>Citrus reticulata</i>	Salus	Itálie

5 METODIKA

V experimentální části diplomové práce bylo zkoumáno deset vybraných vzorků mandarinkových esenciálních olejů. U všech vzorků byla uskutečněna celková analýza jednotlivých obsažených složek pomocí plynové chromatografie, stanoven index lomu, optická otáčivost a hustota.

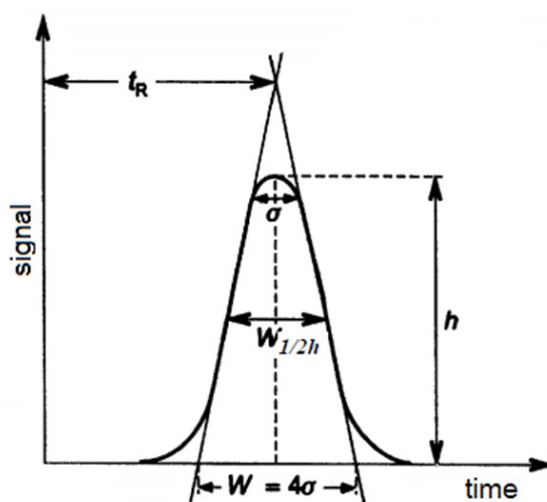
5.1 Chromatografická analýza esenciálních olejů

5.1.1 Plynová chromatografie (GC)

K dělení plynů, ale stejně tak i těkavých látek, které mají bod varu do asi 400 °C je stanovená metoda plynové chromatografie. Principem u této metody je rozložení na stejné dělení do dvou fází, a to fázi pohyblivou, takzvanou mobilní a fázi nepohyblivou takzvanou stacionární. V plynové chromatografii je mobilní fáze plyn, který nazýváme nosným. V chromatografické koloně je působiště stacionární fáze. Tato stacionární fáze u náplňových kolon může být jak pevná látka (silikagel, aktivní uhlí, polymerní sorbenty, oxid hlinitý a další), tak vysokovroucí kapalina, jež je aplikována v tenké vrstvě na pevném inertním nosiči. Pokud jsou přítomny kapilární kolony, je stacionární fáze nanášena v tenkém filmu přímo na upravenou vnitřní stěnu křemenné kapiláry.

Podstatou separování látek je kolona se stacionární fází, kterou je rozváděn neustále nosný plyn, který nese a následně rozděljuje složky. Roztříděné vzorky jsou nesený do vyhřívaného bloku – nástřikové komory (injektoru), kde jsou odpařeny a posléze formou par unášeny nosným plynem dále. Dalším krokem ve stacionární fázi je při počátku sorbování vzorků, které pak postupují procesem desorpce čerstvým přicházejícím nosným plynem. Čerstvý přicházející nosný plyn provází složky vzorku ke konci kolony, čímž výše uvedený proces se neustále opakuje. Všechny dělené složky vzorku prochází kolonou svou vlastní rychlostí. Takto upravená kapalina postupně vychází z kolony v pořadí rostoucích hodnot distribučních konstant a vstupuje do detektoru. Detektor indikuje okamžitou koncentraci separovaných látek v nosném plynu. Konečná odezva detektoru je vhodně upravena a plynule zaregistrována. Výsledná analýza, v graficky upraveném záznamu, závislá na signálu detektoru na čase se nazývá chromatogram. Popsaná chromatografická metoda je označována jako eluční. Dojde-li na chromatografické koloně

k rozdělení/separaci všech n -složek analyzovaného vzorku, obsahuje chromatogram n -elučních křivek nebo-li píků těchto složek. Podle ukazatele polohy píku můžeme předpokládat identitu zkoumané kapaliny. Zaznamenaná výše píku je úměrným ukazatelem množství látky ve zkoumaném vzorku. V chromatogramu je na ose y zaznamenávána odezva detektoru a na ose x čas. Z teorie chromatografické teorie vyplývá, že chromatografický pík má tvar Gaussovy distribuce. Tvar Gaussovy distribuce je popsán třemi parametry, za prvé retenčním časem t_R , za druhé výškou píku h a za třetí šířkou píku měřenou buď na základní linii w_D , nebo v polovině výšky píku w_h . [54]



Obrázek 10 Parametry chromatografického píku [55]

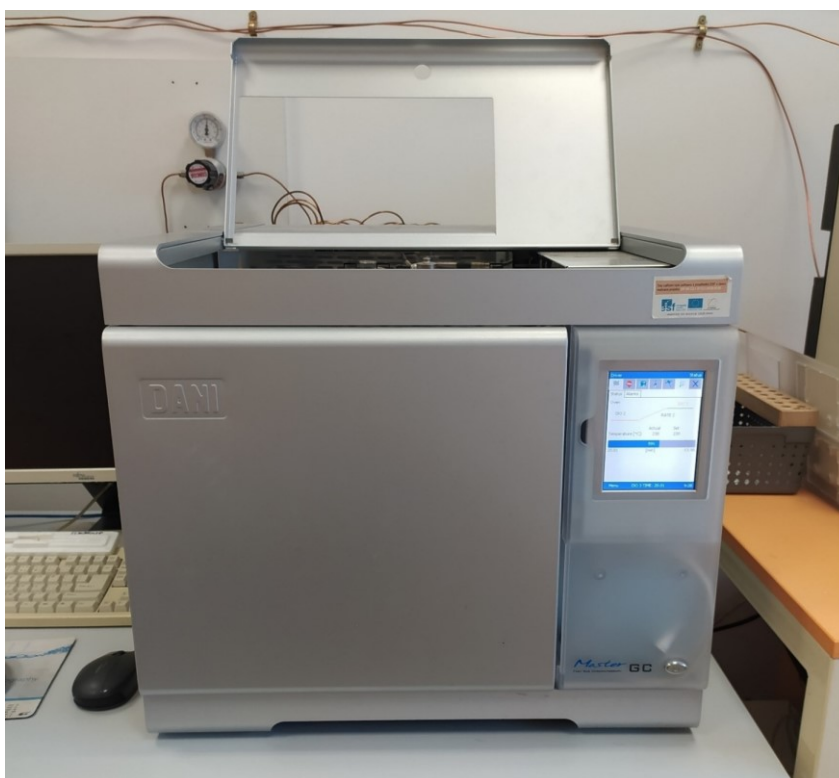
5.1.2 Vlastní chromatografická analýza vybraných esenciálních olejů

Pomocí plynového chromatografu DANI Master GC Fast Gas Chromatograph (obrázek 10) s příslušnou kolonou – ZebronTM ZB-5MS, s GC kolonou 30 m × 0,25 mm × 0,5 μm a plamenovým ionizačním detektorem (FID) bylo vytyčení jednotlivých složek vybraných esenciálních olejů. Měření probíhala dle metody Silice 4. Jako nosný plyn byl použit vzduch s průtokem 280 ml/min, vodík s průtokem 40 ml/min a dusík s průtokem 25 ml/min. Počáteční teplota reakce započala na hodnotě 50 °C a postupně přibývala rychlostí 6 °C/min na 120 °C, dále pak rychlostí 15 °C/min až na teplotu 230 °C. Koncových patnáct minut analýzy byla teplota ustálena na 230 °C. Při nástřiku byla teplota injektoru na 200 °C a teplota detektoru 270 °C. Vzorky pro vlastní analýzu byly připraveny odběrem 1 μl esenciálního oleje a 1 ml dichlormethanu, vloženy do vialky a protřepány. Z takto připraveného roztoku bylo pomocí mikrostříkačky Hamilton odebráno množství

1 μl vzorku a nadávkováno přes septum do injektoru. Z injektoru byly páry vzorku unášeny nosným plynem na kolonu. V ní docházelo k separaci jednotlivých složek vzorku. Celkový čas analýzy byl zaznamenán v době 34 min.

Následně bylo pět vybraných esenciálních olejů měřeno metodou Silice 8. Jako nosný plyn byl zvolen vzduch s průtokem 280 ml/min, vodík s průtokem 40 ml/min a dusík s průtokem 25 ml/min. Teplotní profil byl počáteční hodnotou 60 °C. Postupně se navyšoval rychlostí 3 °C/min až na teplotu 250 °C. Teplota injektoru při nástřiku byla na hodnotě 220 °C a teplota detektoru byla 260 °C. Vzorky pro vlastní analýzu byly připraveny odběrem 1 μl esenciálního oleje a 1 ml dichlormethanu, vloženy do vialky a protřepány. Z takto připraveného roztoku bylo pomocí mikrostříkačky Hamilton odebráno 1 μl vzorku a nadávkováno přes septum do injektoru. Z injektoru byly opět páry vzorku nesený nosným plynem na kolonu. V konečném procesu docházelo k separaci jednotlivých složek zkoumaného vzorku. Celkový čas analýzy byl 63 min.

Analýza zkoumaných vzorků proběhla pouze jedenkrát. Vzniklé chromatogramy byly následovně kvalitativně vyhodnoceny a zaznamenány analýzou jednotlivých píků. Pomocí zaznamenaných retenčních časů byly přiřazeny látky obsažené v silici a identifikovány vůči standardům čistých složek.

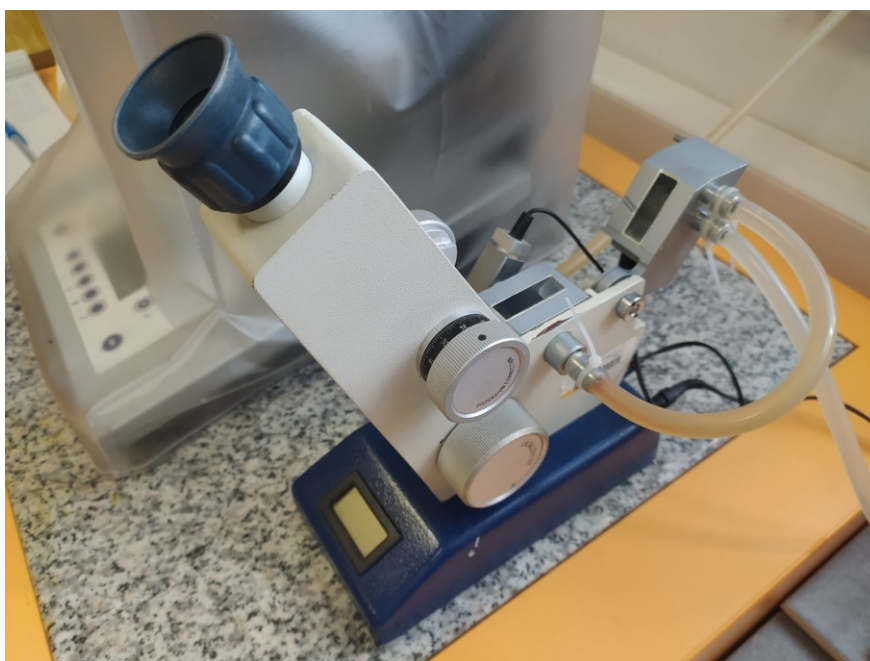


Obrázek 11 Plynový chromatograf DANIEL Master GC Fast Gas Chromatograph

5.2 Stanovení indexu lomu vybraných esenciálních olejů

Stanovení indexu lomu silic bylo provedeno pomocí Abbeho refraktometru (obr. 11). Abbeho refraktometr slouží k měření indexu lomu s přesností $\pm 0,0002$ v rozsahu indexu lomu 1,300–1,700. Index lomu je charakteristickým znakem každé látky. Na základě indexu lomu lze identifikovat zkoumané látky, ale také určit jejich čistotu nebo koncentraci. Stanovení indexu lomu je rychlé, snadné a přesné. Pro měření bodu lomu stačí kapka zkoumaného vzorku. Základním principem měření refraktometry je zjišťování mezních úhlů lomu, což je maximální možný úhel lomu, když se úhel dopadu přiblíží 90° . Refraktometr sleduje rozhraní mezi osvětlenou a neosvětlenou částí kvadrantu. V zorném poli je nitkovitý kříž. Při měření se nastavuje toto rozhraní světla a stínu v zorném poli dalekohledu přesně na střed zorného pole. Díky tomu můžeme na stupnici odečíst index lomu. [51,52]

Zkoumaný vzorek byl nanesen na čistý a suchý povrch hranolu a refraktometr byl uzavřen. Pomocí šroubu byl ukazatel posunut do polohy, aby se rozhraní světla a stínu vyskytovalo na středu nitkového kříže v zorném poli. Na stupnici byla poté odečtena hodnota indexu lomu. Měření probíhalo při teplotě 20°C . Měření každé silice bylo provedeno pětkrát a stanovena směrodatná odchylka.



Obrázek 12 Abbeho refraktometr

5.3 Stanovení optické otáčivosti vybraných esenciálních olejů

Optická otáčivost je měřena pomocí polarimetru, což je přístroj sloužící k měření úhlu otočné roviny polarizovaného světla při průchodu opticky aktivní látkou. V polarimetrech jsou umístěny hranoly z islandského vápence, Nicolovy hranoly. Jeden hranol slouží jako analyzátor, druhý jako polarizátor. Lineárně polarizované světlo vzniká z nepolarizovaného světla právě pomocí polarizátoru. Paprsek se rozštěpí na řádný a mimořádný paprsek. Mimořádný paprsek postupuje polarimetrem přes kyvetu se vzorkem a dopadá na analyzátor. Úhel, o který je nutné pootočit analyzátozem je rovno úhlu, o který aktivní látka pootočila rovinu polarizovaného světla. Při měření je nutno najít takovou polohu, ve které jsou všechny tři části zorného pole stejně osvětlené. Hodnotu optické otáčivosti poté odečteme na stupnici. [38,51]

Kyvetu byla naplněna analyzovaným roztokem, osušena a vložena do lůžka polarimetru. Pomocí analyzátoru byla nastavena taková poloha, aby všechny tři části zorného pole byly stejně osvětlené. Na stupnici byla poté odečtena hodnota úhlu, o který opticky aktivní látka stočila rovinu polarizovaného světla. Měření probíhalo při teplotě 20 °C. Měření každé silice bylo provedeno pětkrát a stanovena směrodatná odchylka.

5.4 Stanovení hustoty vybraných esenciálních olejů

Stanovení hustoty bylo uskutečněno pomocí digitálního hustoměru VariDens SCHMIDT+HAENSCH na partnerském pracovišti MU v Brně. Hustoměr slouží k měření hustoty s velmi vysokou přesností. Využívá principu oscilační skleněné trubice ve tvaru „U“, do které je vložen analyzovaný vzorek. Pro měření byl použit 1 ml vzorku. Během měření dochází k oscilaci U-trubice se vzorkem. Hustoměr poté automaticky vyhodnotí hodnotu hustoty na základě charakteristické oscilační frekvence a korekční doby. Vzhledem k použití vyššího objemu vzorku během analýzy bylo měření provedeno pouze jednou. Měření probíhalo při teplotě 20 °C.



Obrázek 13 Hustoměr VariDens SCHMIDT + HAENSCH [56]

6 VÝSLEDKY A DISKUZE

V praktické části diplomové práce bylo pracováno s deseti vzorky mandarinkové silice. V následující kapitole jsou shrnuty výsledky jednotlivých měření pomocí plynové chromatografie. Dále jsou uvedeny výsledky stanovení indexů lomu, optické otáčivosti a hustoty.

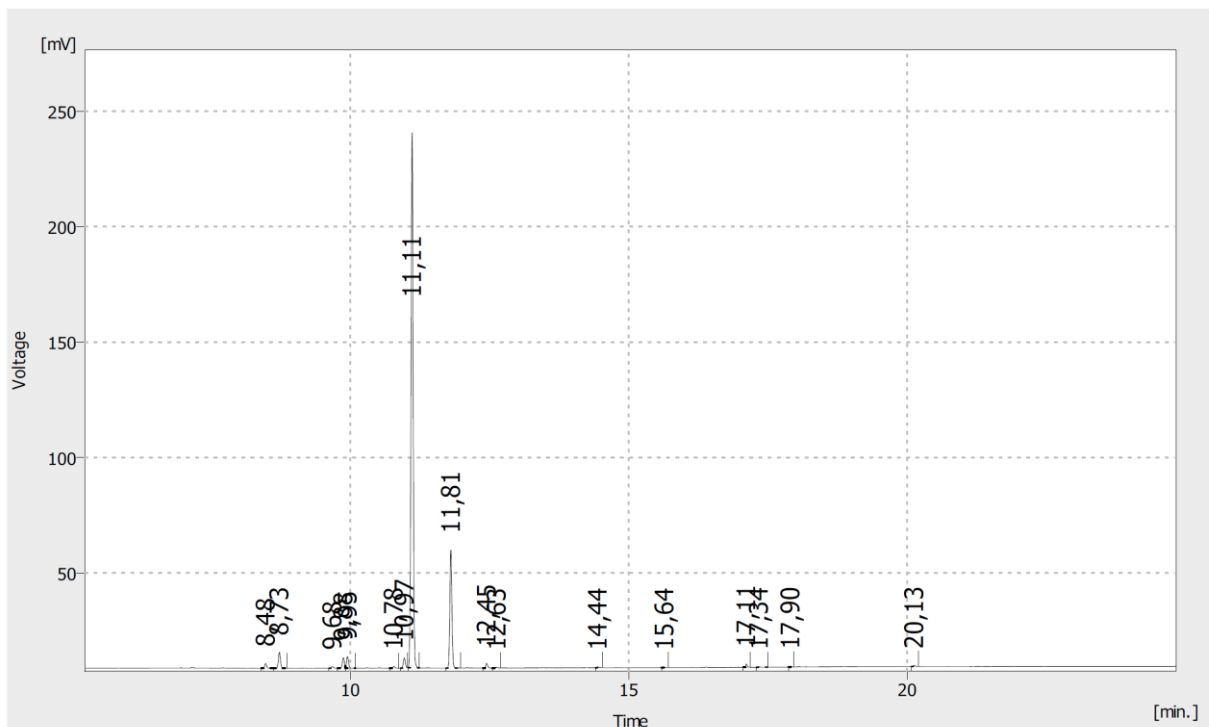
6.1 Výsledky chromatografické analýzy vybraných esenciálních olejů stanovené metodou Silice 4

6.1.1 Vzorek č.1 esenciální olej Mandarinka (Atok)

Vlastní vzorek esence byl připraven smícháním 1 μ l esenciálního oleje a 1 ml dichlormethanu. Z takto připraveného roztoku byl pomocí mikrostříkačky Hamilton odebrán 1 μ l vzorku a nadávkován do injektoru plynového chromatografu a provedena analýza. Celkový čas analýzy byl zaznamenán v době 34 min.

Tabulka 3 Chromatografická analýza esenciálního oleje Mandarinka (Atok)

Název složky	Retenční čas [min]	Plocha [%]	Hodnoty udávané výrobcem [%]
α -thujen	8,480	0,6	–
α -pinen	8,727	2,2	–
sabinen	9,680	0,2	–
β -pinen	9,877	1,4	–
β -myrcen	9,950	1,6	–
α -terpinen	10,780	0,2	–
p-cymen	10,970	1,4	–
limonen	11,110	74,9	–
γ -terpinen	11,807	15,9	–
terpinolen	12,450	0,6	–
linalool	12,627	0,1	–
α -terpineol	14,443	0,1	–



Obrázek 14 Chromatogram analýzy esenciálního oleje Mandarinka (Atok)

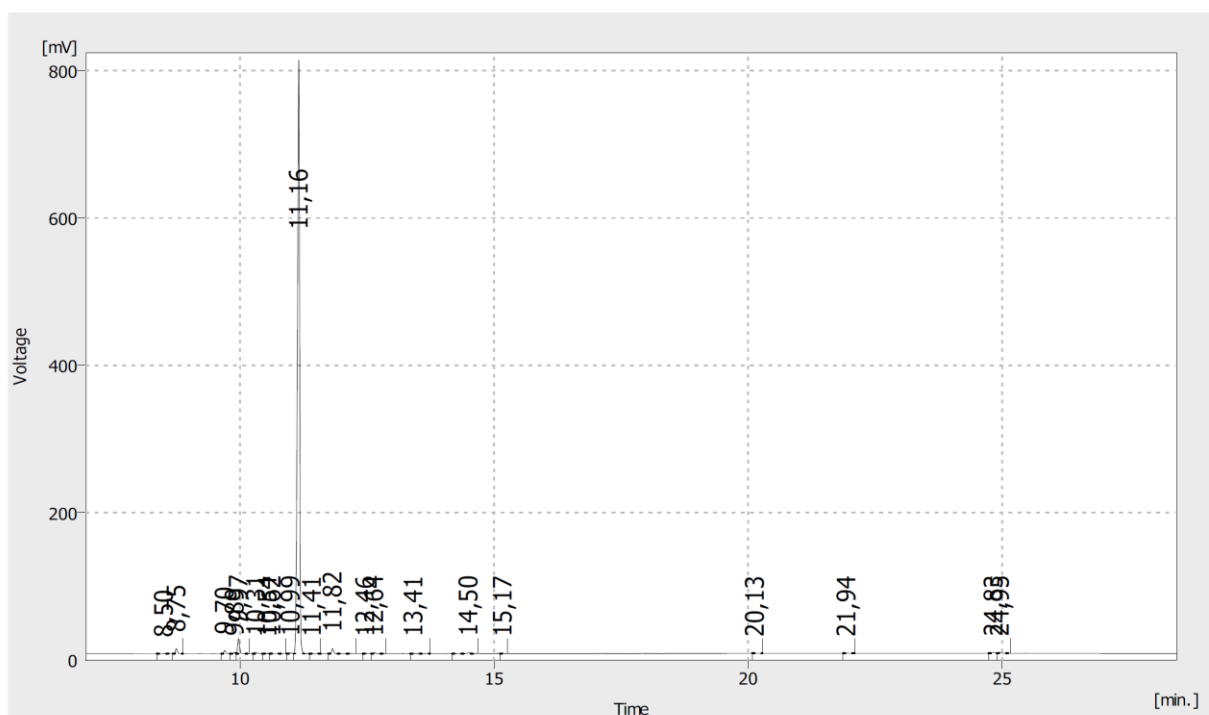
Z výše uvedených naměřených hodnot esenciálního oleje Mandarinka od firmy Atok vyplynulo, že hlavními zastoupenými složkami byly limonen (74,9 %) v retenčním čase 11,110 min a γ -terpinen (15,9 %) v retenčním čase 11,870 min. Obsah limonenu odpovídá hodnotám normy ISO 3528:2012 uvádějící hodnoty v rozmezí 65–75 %. Obsah γ -terpinenu by podle této normy měl být 16–22%, naměřená hodnota byla mírně pod normou. Dalšími naměřenými složkami byly: α -pinen (2,2 %) s retenčním časem 8,727 min, β -pinen (1,4 %) s retenčním časem 9,877 min, β -myrcen (1,6 %) s retenčním časem 9,950 min, p-cymen (1,4 %) s retenčním časem 10,970 min a linalool (0,1 %) s retenčním časem 12,627 min. V porovnání s ISO normou všechny hodnoty odpovídají, až na výjimku p-cymenu, který by měl být v hodnotě do 0,8 %. Vzorek je původem z Itálie. Podobně jako u dalších zkoumaných vzorků původem z Itálie (vzorky č. 4 Tilia Nobilis a č. 9 Salus) se hodnoty nejvíce blížily normě.

6.1.2 Vzorek č.2 esenciální olej Mandarinka (Saloos)

Vzorek esence byl připraven smícháním 1 μ l esenciálního oleje a 1 ml dichlormethanu. Z takto připraveného roztoku byl pomocí mikrostříkačky Hamilton odebrán 1 μ l vzorku a nadávkován do injektoru plynového chromatografu a provedena analýza. Celkový čas analýzy byl zaznamenán v době 34 min.

Tabulka 4 Chromatografická analýza esenciálního oleje Mandarinka (Saloos)

Název složky	Retenční čas [min]	Plocha [%]	Hodnoty udávané výrobcem [%]
α -thujen	8,500	0,1	–
α -pinen	8,747	0,7	–
sabinen	9,697	0,4	–
β -pinen	9,893	0,2	–
β -myrcen	9,970	2,0	–
α -terpinen	10,620	0,1	–
p-cymen	10,993	0,1	–
limonen	11,157	94,4	–
γ -terpinen	11,820	0,7	–
linalool	12,640	0,2	–
α -terpineol	14,497	0,1	–



Obrázek 15 Chromatogram analýzy esenciálního oleje Mandarinka (Saloos)

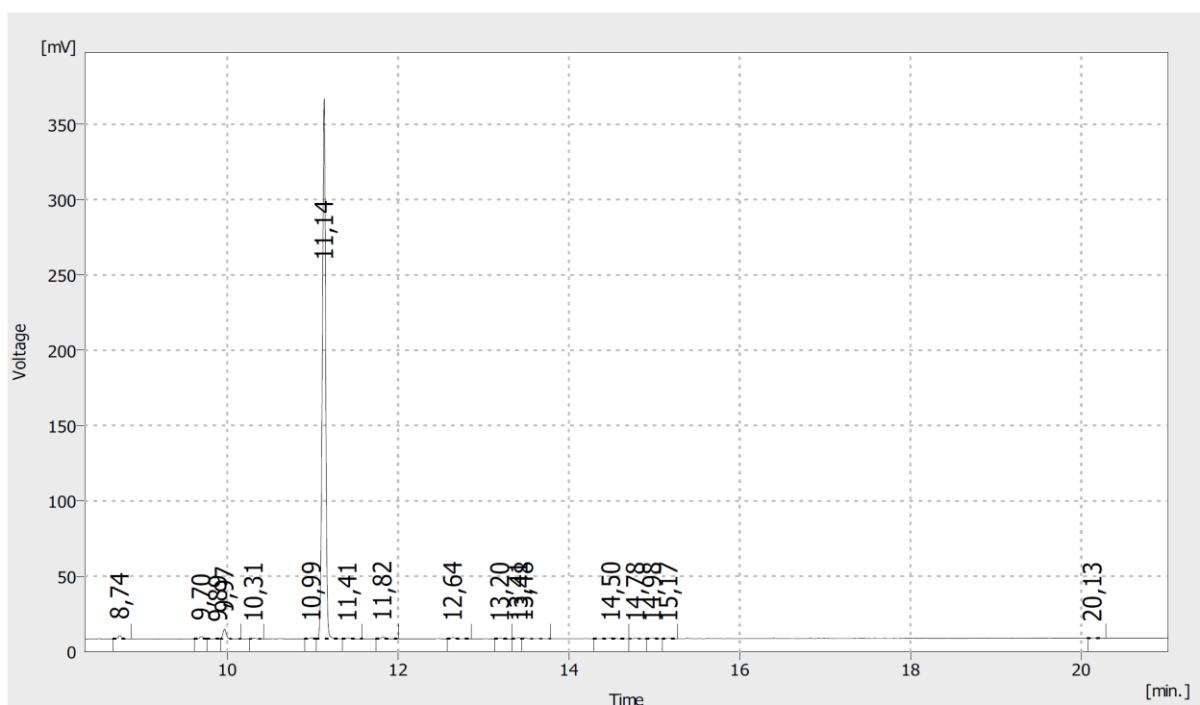
V esenciálním oleji Mandarinka od firmy Saloos bylo analyzováno nejvyšší množství limonenu (94,4 %) v retenčním čase 11,157 min. Obsah limonenu převyšuje normu téměř o 20 %. Naměřená hodnota byla nejvyšší ze všech analyzovaných vzorků. Naopak složka γ -terpinen, která by měla dosahovat hodnotu 16–22% byla naměřena v obsahu 0,7 % v retenčním čase 11,820 min. Další naměřené složky byly: α -pinen (0,7 %) s retenčním časem 8,747 min, β -pinen (0,2 %) s retenčním časem 9,893 min, β -myrcen (2,0 %) s retenčním časem 9,970 min, p-cymen (0,1 %) s retenčním časem 10,993 min a linalool (0,2 %) s retenčním časem 12,640 min. Naměřené hodnoty α -pinenu a β -pinenu byly o 1 % nižší, než uvádí ISO norma. Obsah p-cymenu a linaloolu normě odpovídaly. Na etiketě esenciálního oleje je napsán název Mandarinka, ovšem na stránkách výrobce je ve složení uvedeno, že se jedná o směs mandarinkového esenciálního oleje a esenciálního oleje z pomerančovníku sladkého (*Citrus aurantium dulcis*, Rutaceae). Přesné složení však výrobce neudává. Někteří autoři uvádí složení pomerančového esenciálního oleje v hodnotách 94,8 % limonen, 0,01 % γ -terpinen, 0,3 % α -pinen a 0,65 % β -pinen. [57] Z vlastních naměřených hodnot bych předpokládala, že složení odpovídá spíše pomerančové silici, než mandarinkové, i když na etiketě je uveden název Mandarinka.

6.1.3 Vzorek č.3 esenciální olej Bio Mandarinka (Saloos)

Vlastní vzorek esence byl připraven smícháním 1 μ l esenciálního oleje a 1 ml dichlormethanu. Z této směsi byl pomocí mikrostříkačky Hamilton odebrán 1 μ l vzorku a nadávkován do injektoru plynového chromatografu a provedena analýza. Celkový čas analýzy byl zaznamenán v době 34 min.

Tabulka 5 Chromatografická analýza esenciálního oleje Bio Mandarinka (Saloos)

Název složky	Retenční čas [min]	Plocha [%]	Hodnoty udávané výrobcem [%]
α -pinen	8,743	0,6	–
sabinen	9,697	0,4	–
β -pinen	9,893	0,1	–
β -myrcen	9,967	1,7	–
p-cymen	10,990	0,2	–
limonen	11,137	95,2	–
γ -terpinen	11,820	0,3	–
linalool	12,643	0,2	–
α -terpineol	14,497	0,3	–
citronellol	14,783	0,1	–



Obrázek 16 Chromatogram analýzy esenciálního oleje Bio Mandarinka (Saloos)

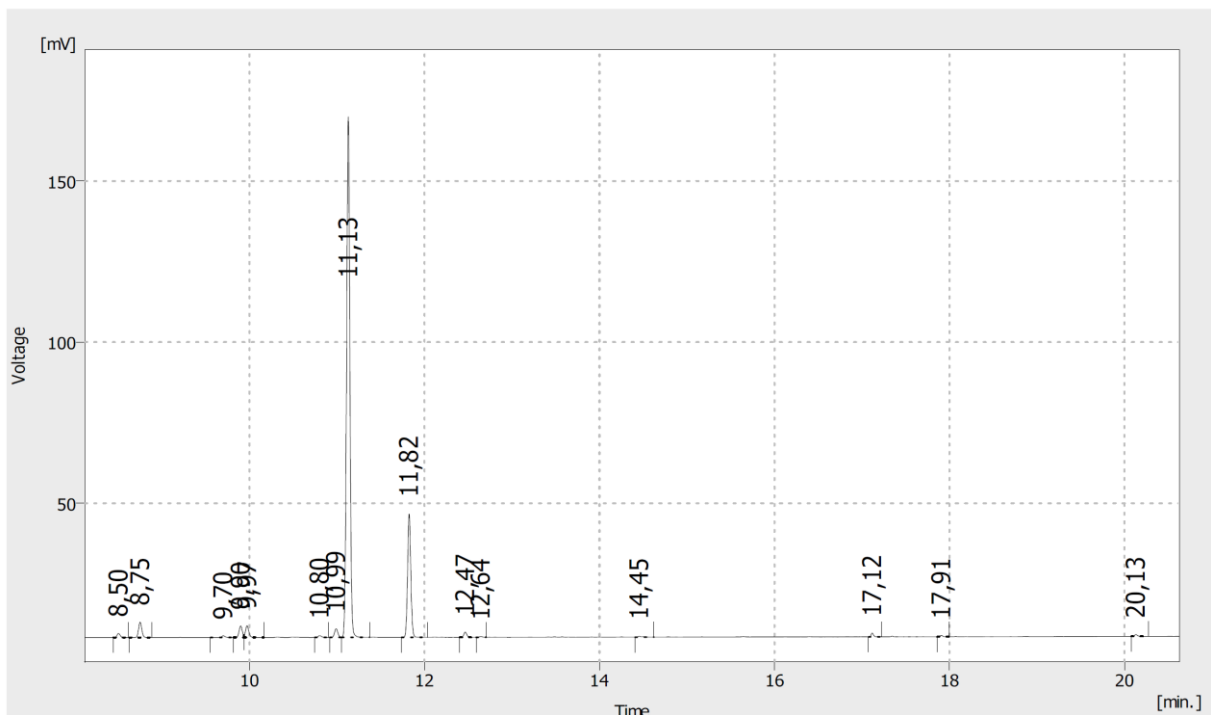
Z uvedeného chromatogramu esenciálního oleje Bio Mandarinka od firmy Saloos vyplynulo, že nejvíce zastoupenou složkou byl limonen (95,2 %) v retenčním čase 11,137 min. Narozdíl od ostatních zkoumaných esenciálních olejů bylo zjištěné množství vysoké. Obsah limonenu převyšuje normu o 20% hodnotu. V opačném případě γ -terpinen, který by měl dosahovat hodnot 16–22 %, byl naměřen v obsahu 0,3 % a v retenčním čase 11,820 min. Dále zde byly nalezeny složky jako α -pinen (0,6 %) s retenčním časem 8,743 min, β -pinen (0,1 %) s retenčním časem 9,893 min, β -myrcen (1,7 %) s retenčním časem 9,967 min, p-cymen (0,2 %) s retenčním časem 10,990 min a linalool (0,2 %) s retenčním časem 12,643 min. Naměřené hodnoty α -pinenu a β -pinenu byly nižší, než uvádí ISO norma. Obsah p-cymenu a linaloolu je v souladu s normou. Nezvykle vysoké množství limonenu může být způsobeno tím, že tato silice jako jediná zanalyzovaných pochází ze Španělska.

6.1.4 Vzorek č.4 esenciální olej Mandarinka (Nobilis Tilia)

Vlastní vzorek silice byl připraven smícháním 1 μ l esenciálního oleje a 1 ml dichlormethanu. Z připraveného roztoku byl pomocí mikrostríkačky Hamilton odebrán 1 μ l vzorku a nadávkován do injektoru plynového chromatografu. Následně byla provedena analýza, jejíž celkový čas byl 34 min.

Tabulka 6 Chromatografická analýza esenciálního oleje Mandarinka (Nobilis Tilia)

Název složky	Retenční čas [min]	Plocha [%]	Hodnoty udávané výrobcem [%]
α -thujen	8,503	0,6	–
α -pinen	8,750	2,1	–
sabinen	9,700	0,2	–
β -pinen	9,900	1,6	–
β -myrcen	9,973	1,7	–
α -terpinen	10,803	0,3	–
p-cymen	10,990	1,2	–
limonen	11,130	73,6	65–94
γ -terpinen	11,823	17,0	–
terpinolen	12,467	0,7	–
linalool	12,643	0,1	0,03–6,1
α -terpineol	14,453	0,2	–



Obrázek 17 Chromatogram analýzy esenciálního oleje Mandarinka (Nobilis Tilia)

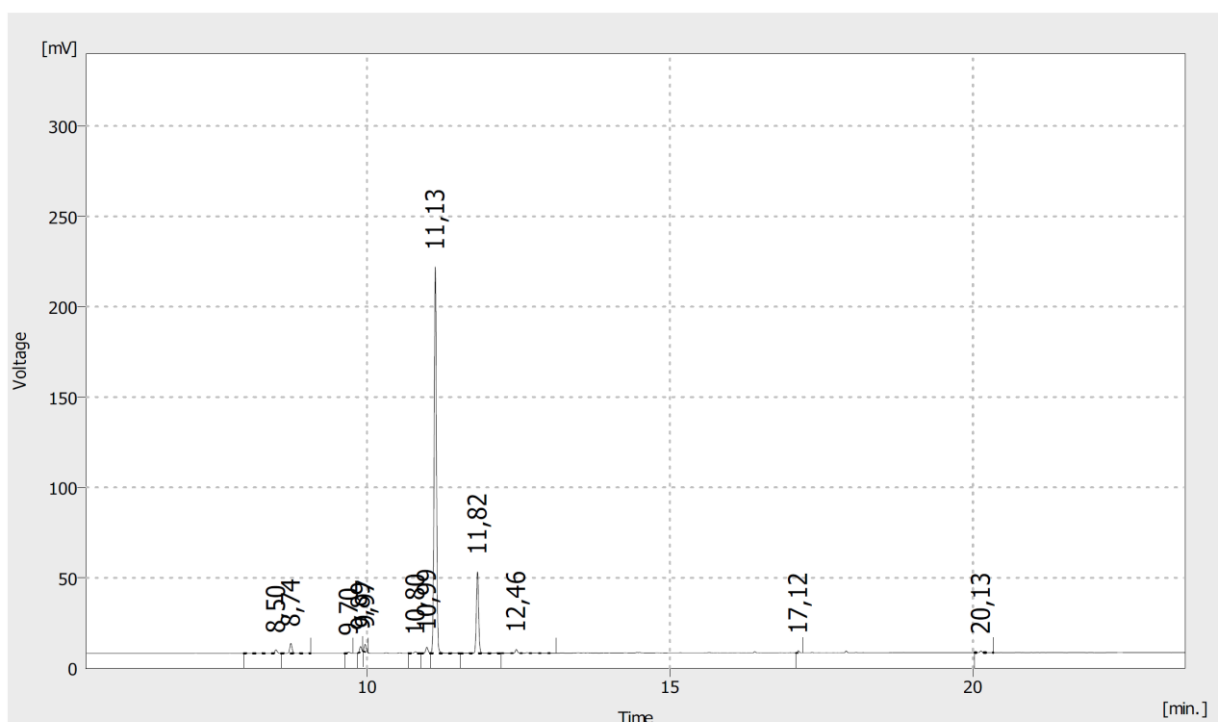
V esenciálním oleji Mandarinka od firmy Nobilis Tilia, původem z Itálie, byly analyzovány hlavní zastoupené složky jako limonen (73,6 %) v retenčním čase 11,130 min a γ -terpinen (17,0 %) v retenčním čase 11,823 min. Obsah limonenu odpovídá hodnotám normy ISO 3528:2012, která uvádí hodnoty v rozmezí 65–75 % a zároveň splňuje i hodnoty deklarované výrobcem, a to 65–94 %. Také hodnota γ -terpinenu odpovídá normě. Další naměřené složky byly: α -pinen (2,1 %) s retenčním časem 8,750 min, β -pinen (1,6 %) s retenčním časem 9,900 min, β -myrcen (1,7 %) s retenčním časem 9,973 min, p-cymen (1,2 %) s retenčním časem 10,990 min a linalool (0,1 %) s retenčním časem 12,643 min. Zde také všechny tyto naměřené hodnoty odpovídají normě, až na výjimku p-cymenu, který by měl být v hodnotě do 0,8 %. Oproti jiným analyzovaným vzorkům pocházejících z Itálie (vzorky č. 1, 5, 7 a 9) byly dodrženy obsahy obou hlavních konstituentů. I přes vyšší obsah p-cymenu tato silice vyšla svým složením nejlépe ze stanovovaných mandarinkových silic.

6.1.5 Vzorek č.5 esenciální olej Bio Mandarinka (Nobilis Tilia)

Vlastní vzorek esence byl připraven smícháním 1 μ l esenciálního oleje a 1 ml dichlormethanu. Z takto připraveného roztoku byl pomocí mikrostríkačky Hamilton odebrán 1 μ l vzorku a nadávkován do injektoru plynového chromatografu a provedena analýza. Celkový čas analýzy byl zaznamenán v době 34 min.

Tabulka 7 Chromatografická analýza esenciálního oleje Bio Mandarinka (Nobilis Tilia)

Název složky	Retenční čas [min]	Plocha [%]	Hodnoty udávané výrobcem [%]
α -thujen	8,497	0,7	–
α -pinen	8,743	2,0	–
sabinen	9,697	0,2	–
β -pinen	9,893	1,0	–
β -myrcen	9,967	1,3	–
α -terpinen	10,800	0,3	–
p-cymen	10,987	1,2	–
limonen	11,127	76,2	65–94
γ -terpinen	11,823	15,6	–
terpinolen	12,463	0,9	–



Obrázek 18 Chromatogram analýzy esenciálního oleje Bio Mandarinka (Nobilis Tilia)

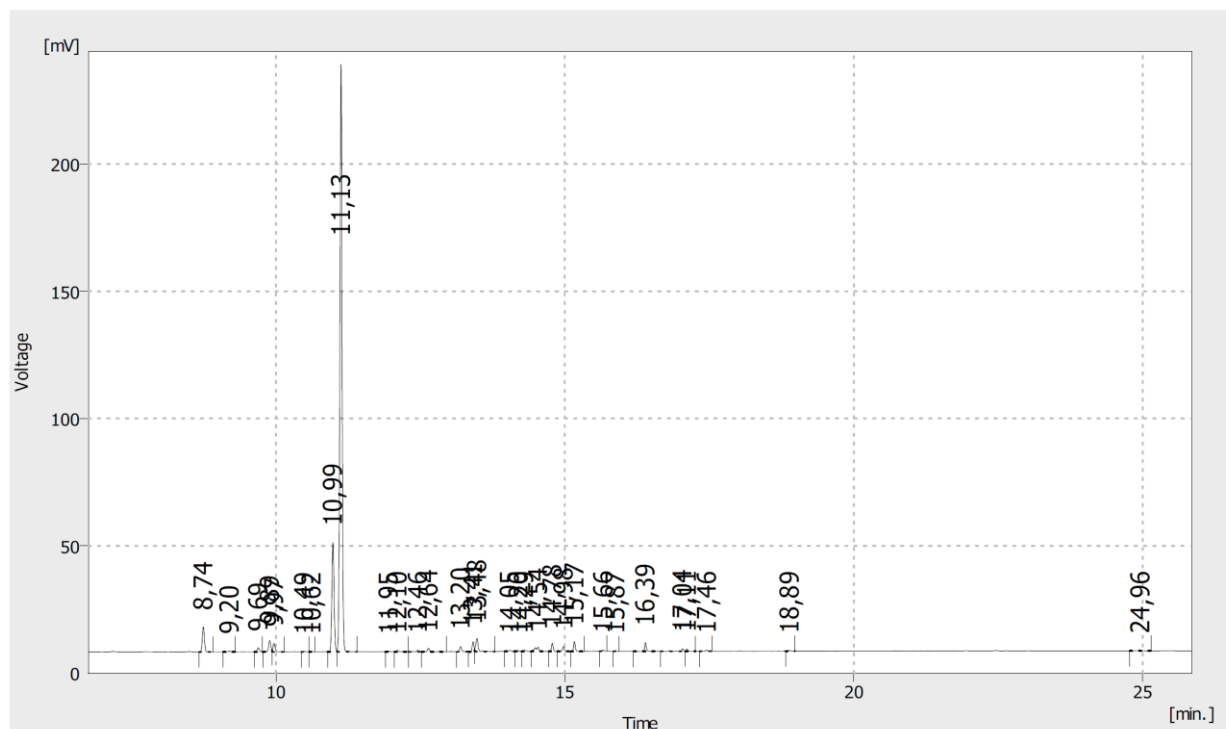
Naměřené hodnoty esenciálního oleje Bio Mandarinka od firmy Nobilis Tilia nám ukázaly, že hlavními zastoupenými složkami byly limonen (76,2 %) v retenčním čase 11,127 min a γ -terpinen (15,6 %) v retenčním čase 11,823 min. Obsah limonenu ani γ -terpinenu není v souladu s normou. Naměřené hodnoty limonenu byly lehce nad povolenou hranicí, zatímco obsah γ -terpinen mírně pod normou. Dalšími nalezenými složkami byly: α -pinen (2,0 %) s retenčním časem 8,743 min, β -pinen (1,0 %) s retenčním časem 9,893 min, β -myrcen (1,3 %) s retenčním časem 9,967 min a p-cymen (1,2 %) s retenčním časem 10,987 min. Hodnoty naměřené u β -pinenu i β -myrcenu jsou mírně pod normou, zatímco hodnota p-cymenu je mírně nad normou. Celkově naměřené hodnoty splňovaly ISO normu pouze obsahem α -pinenu. Ve výsledku tato silice vychází jako jedna z nejhorších, podobně jako vzorek č. 7 (Red Mandarin, Bewit). Závěrem u zkoumaného vzorku č.5 se vyskytla zajímavost, že analyzovaný esenciální olej původem z Itálie, jako jediný neodpovídá svému složení opírající se o ISO normu.

6.1.6 Vzorek č.6 esenciální olej Mandarinka (Bewit)

Vzorek silice byl připraven smícháním 1 μ l esenciálního oleje a 1 ml dichlormethanu. Z připraveného roztoku byl pomocí mikrostříkačky Hamilton odebrán 1 μ l vzorku a nadávkován do injektoru plynového chromatografu. Následně byla provedena analýza, jejíž celkový čas byl 34 min.

Tabulka 8 Chromatografická analýza esenciálního oleje Mandarinka (Bewit)

Název složky	Retenční čas [min]	Plocha [%]	Hodnoty udávané výrobcem [%]
α -pinen	8,743	2,9	3,1
kampfen	9,197	0,2	–
sabinen	9,693	0,5	0,6
β -pinen	9,893	1,4	1,6
β -myrcen	9,967	1,0	1,9
α -terpinen	10,617	0,1	0,3
p-cymen	10,987	13,2	10,1
limonen	11,127	70,3	77,1
γ -terpinen	11,950	0,1	3,2
terpinolen	12,457	0,2	–
linalool	12,640	0,5	0,4
citronellal	13,480	1,9	–
α -terpineol	14,293	0,2	0,2
citronellol	14,783	0,8	–
neral	14,977	0,5	–



Obrázek 19 Chromatogram analýzy esenciálního oleje Mandarinka (Bewit)

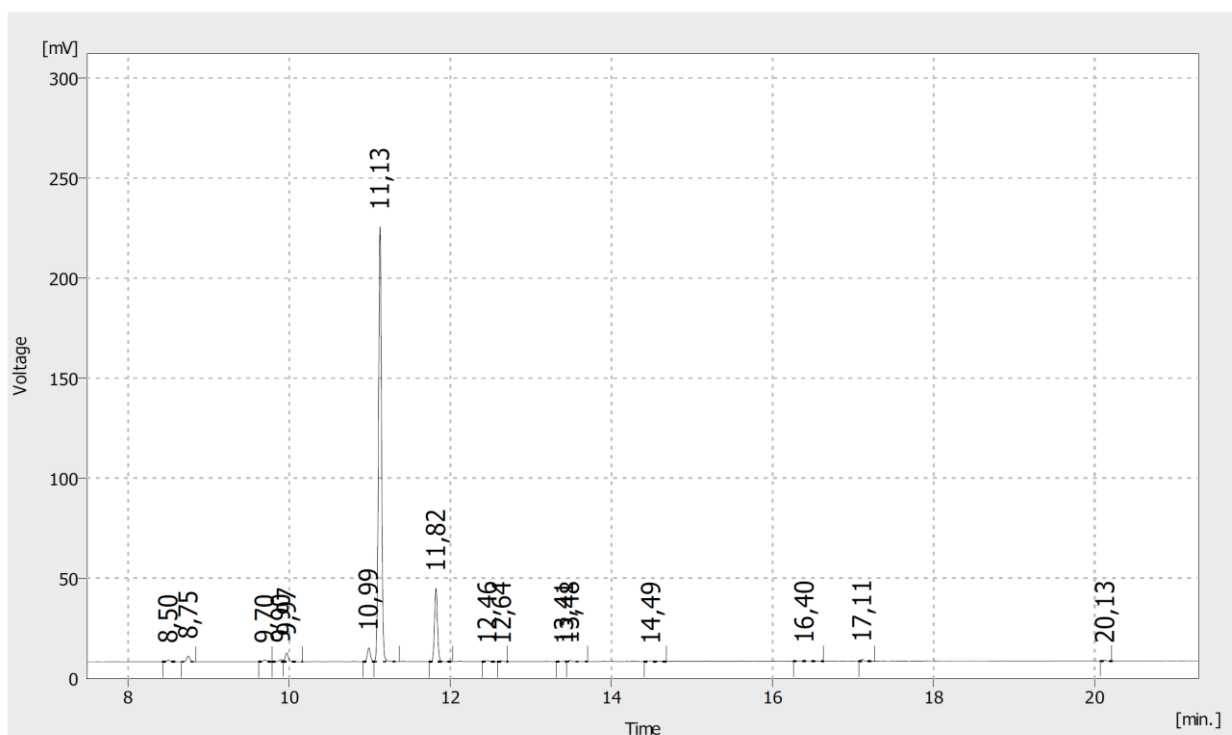
V analyzované silici Mandarinka od firmy Bewit bylo naměřeno 70,3 % limonenu v retenčním čase 11,127 min. Obsah limonenu odpovídá normě, ale neodpovídá uvedeným hodnotám deklarovaným výrobcem. Producent uvádí množství limonenu 77,1 %. Složka γ -terpinen, která by měla dosahovat hodnot 16–22 % byla naměřena v obsahu 0,1 % v retenčním čase 11,950 min, což zcela neodpovídá normě. Ostatní naměřeny složky byly: α -pinen (2,9 %) s retenčním časem 8,743 min, β -pinen (1,4 %) s retenčním časem 9,893 min, β -myrcen (1,0 %) s retenčním časem 9,967 min. Hodnota β -myrcenu je mírně pod normou. V porovnání s ostatními oleji se zde objevilo nezvykle vysoké množství p-cymenu, a to 13,2 % s retenčním časem 10,987 min. Norma uvádí obsah do 0,8 %. Dále zde oproti ostatním olejům byl zjištěn obsah citronellalu (1,9 %) s retenčním časem 13,480 min. U poslední uvedené složky s retenčním časem 14,977 min by se mohlo jednat o neral (0,5 %). Země původu této silice je Brazílie. Tato skutečnost může být důvodem odlišného složení oproti jiným analyzovaným vzorkům.

6.1.7 Vzorek č.7 esenciální olej Red Mandarin (Bewit)

Vlastní vzorek esence byl připraven smícháním 1 μ l esenciálního oleje a 1 ml dichlormethanu. Z takto připraveného roztoku byl pomocí mikrostríkačky Hamilton odebrán 1 μ l vzorku a nadávkován do injektoru plynového chromatografu a provedena analýza. Celkový čas analýzy byl zaznamenán v době 34 min.

Tabulka 9 Chromatografická analýza esenciálního oleje Red Mandarin (Bewit)

Název složky	Retenční čas [min]	Plocha [%]	Hodnoty udávané výrobcem [%]
α -thujen	8,500	0,3	–
α -pinen	8,747	1,0	1,1
sabinen	9,697	0,3	0,6
β -pinen	9,897	0,4	0,8
β -myrcen	9,970	1,6	1,7
p-cymen	10,987	2,5	0,8
limonen	11,127	79,3	76,2
γ -terpinen	11,823	13,0	17,1
terpinolen	12,463	0,2	–
linalool	12,640	0,1	–
α -terpineol	14,493	0,2	0,3
methyl-antranilát	16,397	0,2	–



Obrázek 20 Chromatogram analýzy esenciálního oleje Red Mandarin (Bewit)

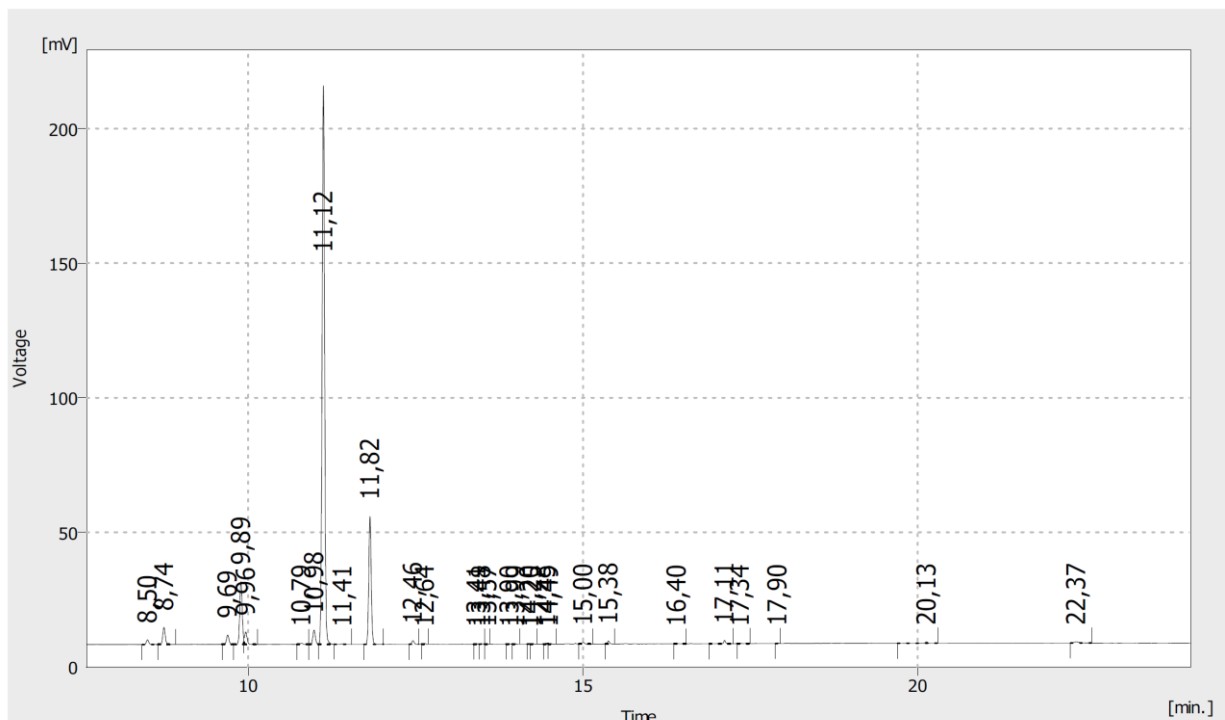
Z uvedeného chromatogramu esenciálního oleje Red Mandarin od firmy Bewit vyplynulo, že nejvíce zastoupenými složkami byly: limonen (79,3 %) v retenčním čase 11,127 min a γ -terpinen (13,0 %) v retenčním čase 11,823 min. Naměřené hodnoty hlavních konstituentů neodpovídají ISO normě ani deklarovaným hodnotám výrobce. Další naměřené složky byly stanoveny jako α -pinen (1,0 %) s retenčním časem 8,747 min, β -pinen (0,4 %) s retenčním časem 9,897 min, β -myrcen (1,6 %) s retenčním časem 9,970 min a p-cymen (2,5 %) s retenčním časem 10,987 min. Oproti ostatním esenciálním mandarinkovým olejům zkoumaných metodou Silice 4 zde byl zjištěn obsah methyl-antranilátu (0,2 %) s retenčním časem 16,397 min. Získané hodnoty, sice jen minimálně, neodpovídají hodnotám udaným výrobcem. Ze zkoumaných složek splňoval ISO normu pouze β -myrcen. Ve výsledku tato silice vychází jako jedna z nejhorších, podobně jako vzorek č. 5 (Bio Mandarinka od firmy Nobilis Tilia).

6.1.8 Vzorek č.8 esenciální olej Green Mandarin (Bewit)

Vzorek silice byl připraven smícháním 1 μ l esenciálního oleje a 1 ml dichlormethanu. Z takto připraveného roztoku byl pomocí mikrostříkačky Hamilton odebrán 1 μ l vzorku a nadávkován do injektoru plynového chromatografu. Následně byla provedena analýza, jejíž celkový čas byl 34 min.

Tabulka 10 Chromatografická analýza esenciálního oleje Green Mandarin (Bewit)

Název složky	Retenční čas [min]	Plocha [%]	Hodnoty udávané výrobcem [%]
α -thujen	8,497	0,6	–
α -pinen	8,743	2,1	2,0
sabinen	9,693	1,1	1,3
β -pinen	9,893	7,6	7,6
β -myrcen	9,963	1,5	1,6
α -terpinen	10,793	0,1	0,2
p-cymen	10,983	1,7	1,4
limonen	11,123	67,8	67,2
γ -terpinen	11,820	15,6	15,8
terpinolen	12,463	0,9	–



Obrázek 21 Chromatogram analýzy esenciálního oleje Green Mandarin (Bewit)

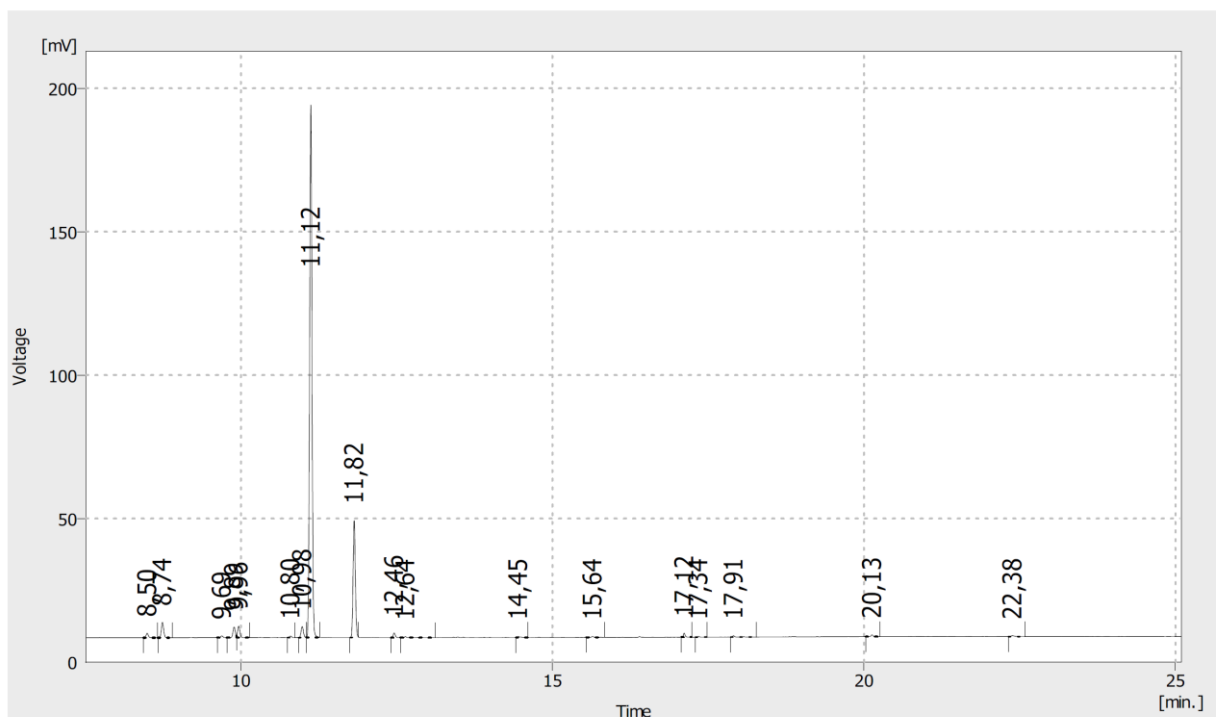
V chromatografickém spektru s esenciálním olejem u Green Mandarin od firmy Bewit vyplynulo, že nejvíce zastoupenými složkami byly limonen (67,8 %) v retenčním čase 11,123 min a γ -terpinen (15,0 %) v retenčním čase 11,820 min. Obsah limonenu v esenciálním oleji z nezralých plodů mandarinky obecné je v souladu s hodnotami ISO normy pro zelenou silici, která udává hodnoty od 65–74 %. Zatímco obsah γ -terpinenu by měl odpovídat rozmezí 17–22%, byl již pod limitem normy. Dalšími naměřenými složkami byly: α -pinen (2,1 %) s retenčním časem 8,743 min, β -pinen (7,6 %) s retenčním časem 9,893 min, β -myrcen (1,5 %) s retenčním časem 9,963 min a p-cymen (1,7 %) s retenčním časem 10,983 min. Čímž nesplňují ISO normu uvádějící povolený obsah β -pinenu 1–2 % a p-cymenu do 0,4 %. Tyto hodnoty byly překročeny. Normu splňuje pouze α -pinen v rozmezí 1,6–2,7 % a β -myrcen 1,4–2 %. Všechny naměřené údaje se liší minimálně od hodnot uvedených výrobcem.

6.1.9 Vzorek č.9 esenciální olej Mandarinka červená (Salus)

Vlastní vzorek silice byl připraven smícháním 1 μ l esenciálního oleje a 1 ml dichlormethanu. Z takto připraveného roztoku byl pomocí mikrostríkačky Hamilton odebrán 1 μ l vzorku a nadávkován do injektoru plynového chromatografu. Následně byla provedena analýza, jejíž celkový čas byl 34 min.

Tabulka 11 Chromatografická analýza esenciálního oleje Mandarinka červená (Salus)

Název složky	Retenční čas [min]	Plocha [%]	Hodnoty udávané výrobcem [%]
α -thujen	8,497	0,6	–
α -pinen	8,740	2,1	–
sabinen	9,693	0,3	–
β -pinen	9,890	1,5	–
β -myrcen	9,963	1,6	–
α -terpinen	10,797	0,2	–
p-cymen	10,983	1,5	–
limonen	11,123	74,5	–
γ -terpinen	11,820	15,5	–
terpinolen	12,460	0,6	–
linalool	12,640	0,2	–
α -terpineol	14,450	0,2	–



Obrázek 22 Chromatogram analýzy esenciálního oleje Mandarinka červená (Salus)

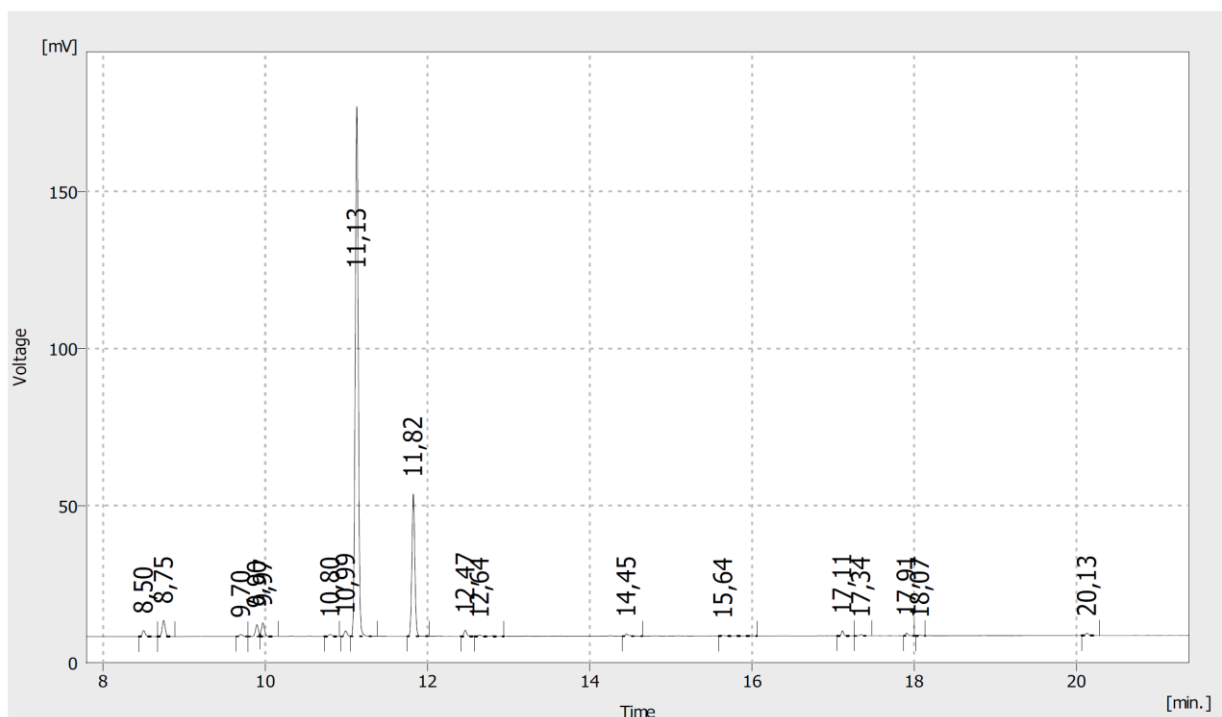
Éterický olej Mandarinky červené od firmy Salus obsahoval nejvyšší zastoupenou složku limonen (74,5 %) v retenčním čase 11,123 min, což odpovídá normě a dále γ -terpinen (15,5 %) v retenčním čase 11,820 min. Naměřené hodnoty γ -terpinenu o 0,5 % neodpovídají ISO normě. Další naměřené složky byly: α -pinen (2,1 %) s retenčním časem 8,740 min, β -pinen (1,5 %) s retenčním časem 9,890 min, β -myrcen (1,6 %) s retenčním časem 9,963 min a p-cymen (1,5 %) s retenčním časem 10,983 min. Čímž splňují ISO normu uvádějící povolený obsah α -pinenu 1,8–3 %, β -pinenu 1,2–2 %, β -myrcenu 1,5–2 %, až na p-cymen, který je povolen ISO normou maximálně do 0,8 %. Tato hodnota byla překročena. Jako matečná rostlina je na etiketě silice uvedena *Citrus nobilis*, Rutaceae. Podle ISO normy 4720:2018 uvádějící seznam botanických názvů používaných k výrobě esenciálních olejů je název *Citrus nobilis* synonymum pro *Citrus reticulata*. [58] Z hlediska chemického složení se silice blíží hodnotám stanovenými ISO normou 3528:2012. Některé zdroje uvádějí, že se jedná o kříženec klementinky a tangela, čímž je již křížencem mandarinky a grapefruitu. Ovšem tady se jedná spíše jen o fyziologické hledisko, protože plod má jinou konzistenci a tvar. Složení, stejně tak i využití je obdobné.

6.1.10 Vzorek č.10 esenciální olej Mandarinka zelená (Salus)

Vlastní vzorek esence byl připraven smícháním 1 μ l esenciálního oleje a 1 ml dichlormethanu. Z takto připraveného roztoku byl pomocí mikrostríkačky Hamilton odebrán 1 μ l vzorku a nadávkován do injektoru plynového chromatografu a provedena analýza. Celkový čas analýzy byl zaznamenán v době 34 min.

Tabulka 12 Chromatografická analýza esenciálního oleje Mandarinka zelená (Salus)

Název složky	Retenční čas [min]	Plocha [%]	Hodnoty udávané výrobcem [%]
α -thujen	8,500	0,8	–
α -pinen	8,747	2,1	–
Sabinen	9,700	0,3	–
β -pinen	9,897	1,5	–
β -myrcen	9,970	1,8	–
α -terpinen	10,800	0,3	–
p-cymen	10,990	0,7	–
Limonen	11,127	71,3	–
γ -terpinen	11,823	18,4	–
terpinolen	12,467	0,7	–
linalool	12,643	0,3	–
α -terpineol	14,453	0,3	–
Thymol	15,643	0,2	–



Obrázek 23 Chromatogram analýzy esenciálního oleje Mandarinka zelená (Salus)

Z posuzovaného chromatografického spektru s esenciálním olejem u Mandarinky zelené od firmy Salus vyplynula nejvyšší zastoupenost měly složky limonen (71,3 %) v retenčním čase 11,127 min a γ -terpinen (18,4 %) v retenčním čase 11,823 min. Esenciální olej z nezralých plodů mandarinky obecné je v souladu s hodnotami ISO normy pro zelenou silici udávající hodnoty od 65–74 % obsahu limonenu a 17–22 % γ -terpinenu. Dalšími naměřenými hodnotami ve složkách byly: α -pinen (2,1 %) s retenčním časem 8,747 min, β -pinen (1,5 %) s retenčním časem 9,897 min, β -myrcen (1,8 %) s retenčním časem 9,970 min a p-cymen (0,7 %) s retenčním časem 10,990 min. Čímž splňují ISO normu přípustnou s povoleným obsahem α -pinenu 1,6–2,7 %, β -pinenu 1–2 %, β -myrcenu 1,4–2 %, až na p-cymen, který je povolen ISO normou maximálně do 0,4 %. Hodnota byla zdatelně překročena. Ve srovnání se vzorkem č. 8 (Green Mandarin, Bewit), jenž je získán z nezralých plodů mandarinky, původem z Itálie s obsahem γ -terpinenu a β -pinenu, splňující předepsanou normu.

6.2 Výsledky chromatografické analýzy vybraných esenciálních olejů stanovené metodou Silice 8

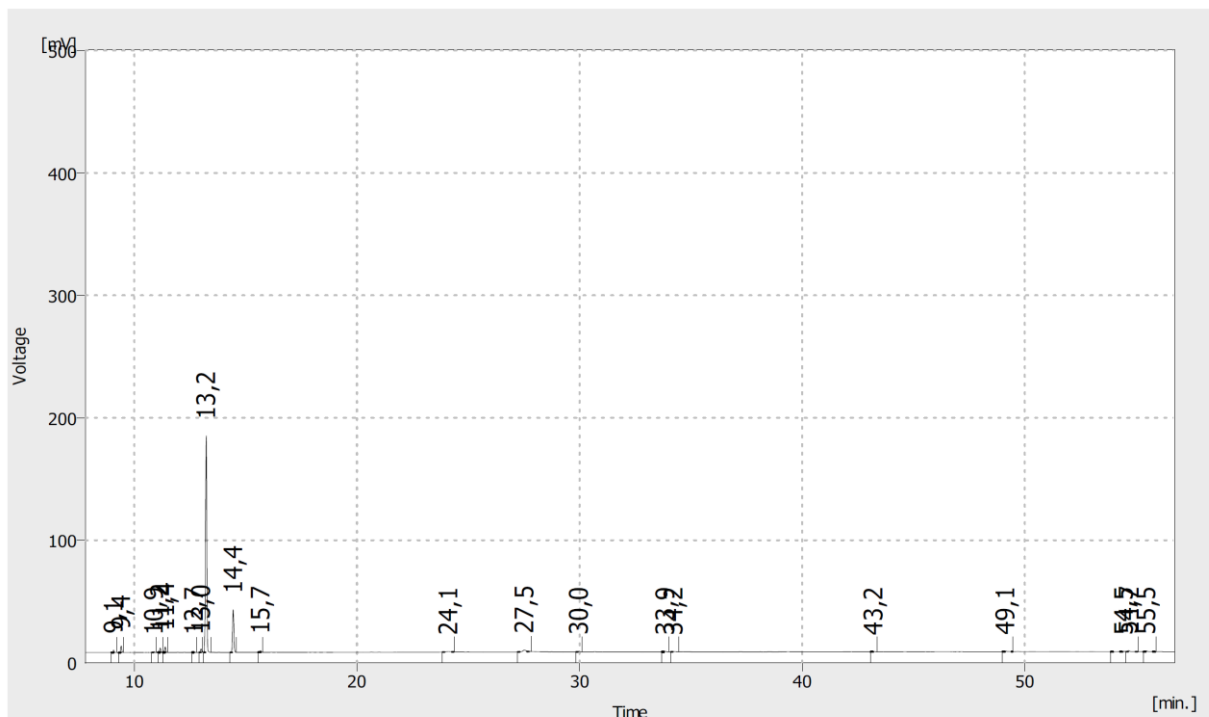
Při této metodě je využito mírnějšího vzrůstu teploty během analýzy.

6.2.1 Vzorek Bio Mandarinka (Nobilis Tilia)

Vlastní vzorek esence byl připraven smícháním 1 μ l esenciálního oleje a 1 ml dichlormethanu. Z takto připraveného roztoku byl pomocí mikrostríkačky Hamilton odebrán 1 μ l vzorku a nadávkován do injektoru plynového chromatografu a provedena analýza. Celkový čas analýzy byl zaznamenán v době 63 min.

Tabulka 13 Chromatografická analýza esenciálního oleje Bio Mandarinka (Nobilis Tilia)

Název složky	Retenční čas [min]	Plocha [%]	Hodnoty udávané výrobcem [%]
α -thujen	9,067	0,7	–
α -pinen	9,410	1,9	–
sabinen	11,163	1,4	–
β -pinen	11,387	1,7	–
α -terpinen	12,680	0,3	–
p-cymen	12,997	1,1	–
limonen	13,230	72,8	65–94
γ -terpinen	14,443	14,5	–
methyl-antranilát	27,520	1,6	<0,9
benzyl-benzoát	43,207	0,2	–



Obrázek 24 Chromatogram analýzy esenciálního oleje Bio Mandarinka (Nobilis Tilia)

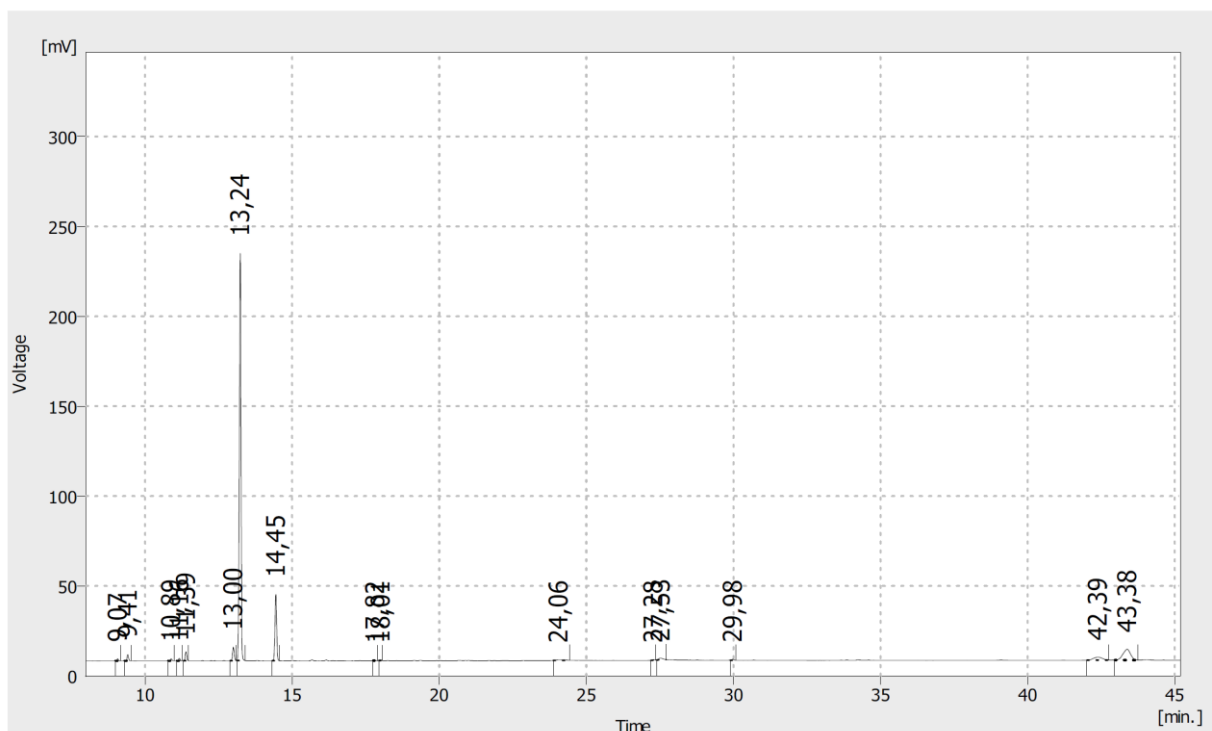
U esenciálního oleje Bio Mandarinka od firmy Nobilis Tilia vyplynulo, že nejvíce zastoupenými složkami byly limonen (72,8 %) v retenčním čase 13,230 min a γ -terpinen (14,5 %) v retenčním čase 14,443 min. Obsah limonenu je v souladu s hodnotami ISO normy udávající hodnoty 65–75%. Obsah odpovídá i hodnotám deklarovaným výrobcem. Množství γ -terpinenu je o 1,5 % pod limitem normy. Dalšími naměřenými složkami byly: α -pinen (1,9 %) s retenčním časem 9,410 min, β -pinen (1,7 %) s retenčním časem 11,387 min, p-cymen (1,1 %) s retenčním časem 12,997 min, methyl-antranilát (1,6 %) s retenčním časem 27,520 min a benzyl-benzoát (0,2 %) s retenčním časem 43,207. Naměřené hodnoty α -pinenu a β -pinenu splňují normu. Hodnoty p-cymenu i methyl-antranilátu překročily povolený obsah. Množství naměřeného methyl-antranilátu bylo nad hodnotou oznámenou výrobcem. Složky, které odpovídají retenčním časům nad 43,207 min nelze zcela určit, protože chybí standardy daných látek.

6.2.2 Vzorek Red Mandarin (Bewit)

Vzorek esence byl připraven smícháním 1 μ l esenciálního oleje a 1 ml dichlormethanu. Z takto připraveného roztoku byl pomocí mikrostříkačky Hamilton odebrán 1 μ l vzorku a nadávkován do injektoru plynového chromatografu. Následně byla provedena analýza, jejíž celkový čas byl 63 min.

Tabulka 14 Chromatografická analýza esenciálního oleje Red Mandarin (Bewit)

Název složky	Retenční čas [min]	Plocha [%]	Hodnoty udávané výrobcem [%]
α -thujen	9,070	0,3	–
α -pinen	9,413	0,9	1,1
sabinen	11,163	0,4	0,6
β -pinen	11,390	1,4	0,8
p-cymen	13,000	2,3	0,8
limonen	13,237	70,3	76,2
γ -terpinen	14,447	11,5	17,1
methyl-antranilát	27,527	0,7	–
benzyl-benzoát	43,383	8,4	–



Obrázek 25 Chromatogram analýzy esenciálního oleje Red Mandarin (Bewit)

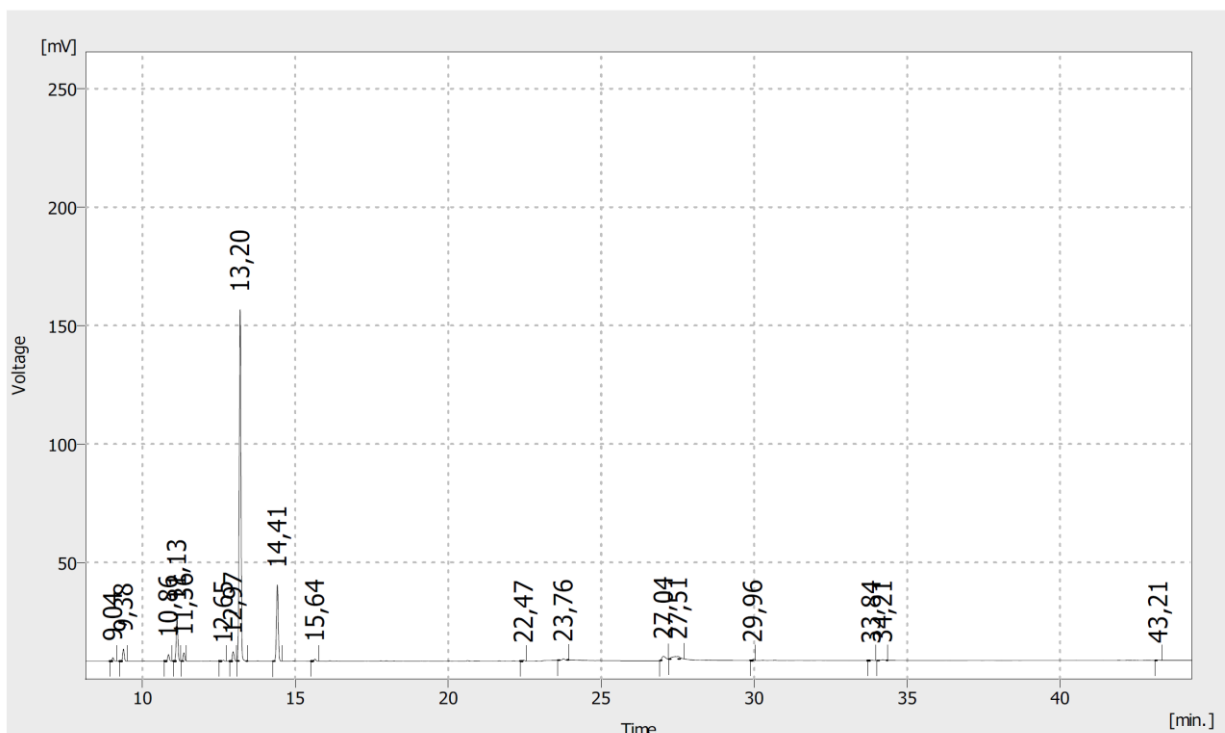
V analyzovaném esenciálním oleji Red Mandarin od firmy Bewit bylo naměřeno 70,3 % limonenu v retenčním čase 13,237 min a 11,5 % γ -terpinenu v retenčním čase 14,447 min. Obsah limonenu je v souladu s ISO normou, ale neodpovídá hodnotám deklarovaným výrobcem. Množství γ -terpinenu je o 4,5 % nižší, než norma stanovuje. Dále zde byly nalezeny složky jako α -pinen (0,9 %) s retenčním časem 9,413 min, β -pinen (1,4 %) s retenčním časem 11,390 min, p-cymen (2,3 %) s retenčním časem 13,000 min, methyl-antranilát (0,7 %) s retenčním časem 27,527 min a benzyl-benzoát (8,4 %) s retenčním časem 43,383. Naměřené hodnoty α -pinenu, β -pinenu a p-cymenu nesplňují ISO normu. Obsah methyl-antranilátu byl mírně nad limit normy.

6.2.3 Vzorek Green Mandarin (Bewit)

Vlastní vzorek silice byl připraven smícháním 1 μ l esenciálního oleje a 1 ml dichlormethanu. Z takto připraveného roztoku byl pomocí mikrostríkačky Hamilton odebrán 1 μ l vzorku a nadávkován do injektoru plynového chromatografu a provedena analýza. Celkový čas analýzy byl zaznamenán v době 63 min.

Tabulka 15 Chromatografická analýza esenciálního oleje Green Mandarin (Bewit)

Název složky	Retenční čas [min]	Plocha [%]	Hodnoty udávané výrobcem [%]
α -thujen	9,040	0,5	–
α -pinen	9,383	2,0	2,0
sabinen	11,133	7,5	1,3
β -pinen	11,357	1,4	7,6
α -terpinen	12,653	0,1	–
p-cymen	12,967	1,7	1,4
limonen	13,200	65,8	67,2
γ -terpinen	14,413	14,5	15,8
citronellool	22,467	0,2	–
methyl-antranilát	27,040	1,4	–
benzyl-benzoát	43,210	0,1	–



Obrázek 26 Chromatogram analýzy esenciálního oleje Green Mandarin (Bewit)

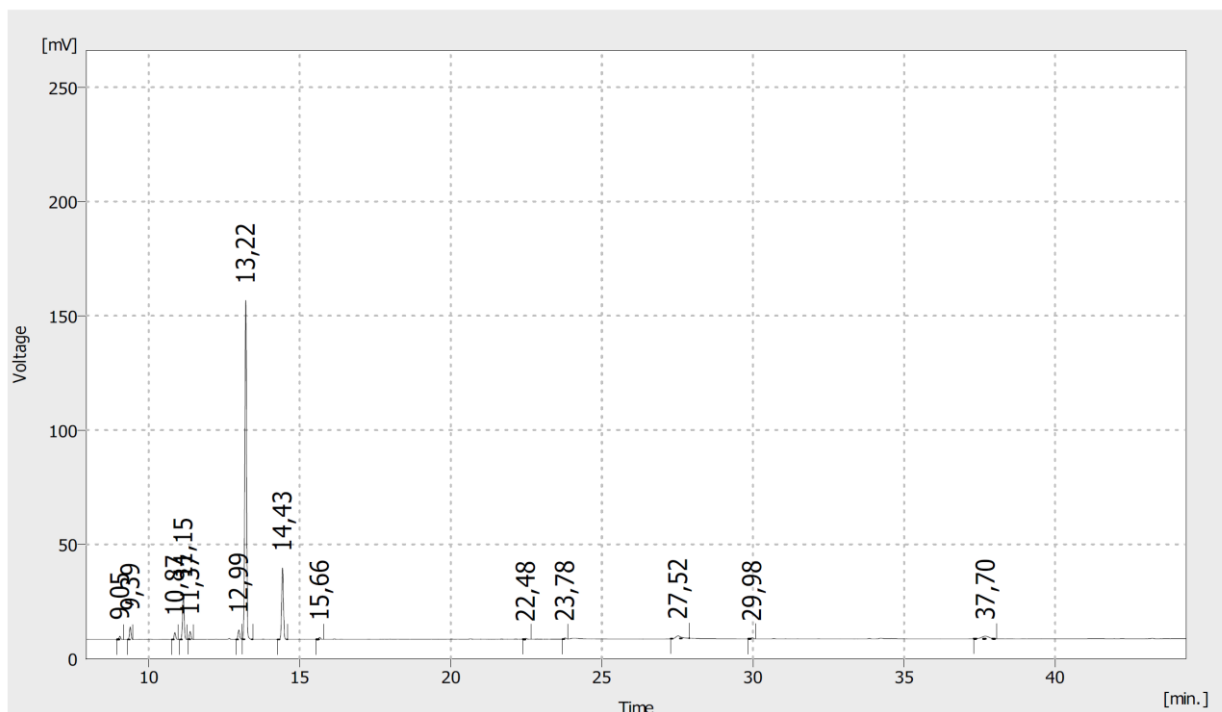
Z chromatogramu zkoumaného esenciálního oleje Green Mandarin od firmy Bewit vyplynulo, že nejvíce zastoupenými konstituenty byly limonen (65,8 %) v retenčním čase 13,200 min a γ -terpinen (14,5 %) v retenčním čase 14,413 min. Obsah limonenu v esenciálním oleji z nezralých plodů mandarinky obecné je v souladu s hodnotami normy ISO pro zelenou silici, která udává hodnoty od 65–74 %. Zatímco obsah γ -terpinenu by měl odpovídat 17–22 %, byl pod limitem normy. Ani jedna hodnota neodpovídá údajům deklarovaným výrobcem. Dalšími naměřenými složkami byly: α -pinen (2,0 %) s retenčním časem 9,383 min, β -pinen (1,4 %) s retenčním časem 11,357 min, p-cymen (1,7 %) s retenčním časem 12,967 min, methyl-antranilát (1,4 %) s retenčním časem 27,040 min a benzyl-benzoát (0,1 %) s retenčním časem 43,210 min. Obsah p-cymenu nesplňuje ISO normu uvádějící povolený obsah do 0,4 %. Tato hodnota byla překročena. Všechny naměřené hodnoty se liší od hodnot uvedených výrobcem, až na α -pinen.

6.2.4 Vzorek Yellow Mandarin (Bewit)

Vzorek esence byl připraven smícháním 1 μ l esenciálního oleje a 1 ml dichlormethanu. Z takto připraveného roztoku byl pomocí mikrostříkačky Hamilton odebrán 1 μ l vzorku a nadávkován do injektoru plynového chromatografu a provedena analýza. Celkový čas analýzy byl zaznamenán v době 63 min.

Tabulka 16 Chromatografická analýza esenciálního oleje Yellow Mandarin (Bewit)

Název složky	Retenční čas [min]	Plocha [%]	Hodnoty udávané výrobcem [%]
α -thujen	9,050	0,5	–
α -pinen	9,393	2,1	2,3
sabinen	11,150	8,1	1,3
β -pinen	11,373	1,4	8,4
p-cymen	12,987	1,8	1,5
limonen	13,217	65,8	66,8
γ -terpinen	14,433	14,1	15,5
citronellol	22,483	0,2	–
methyl-antranilát	27,523	1,6	–



Obrázek 27 Chromatogram analýzy esenciálního oleje Yellow Mandarin (Bewit)

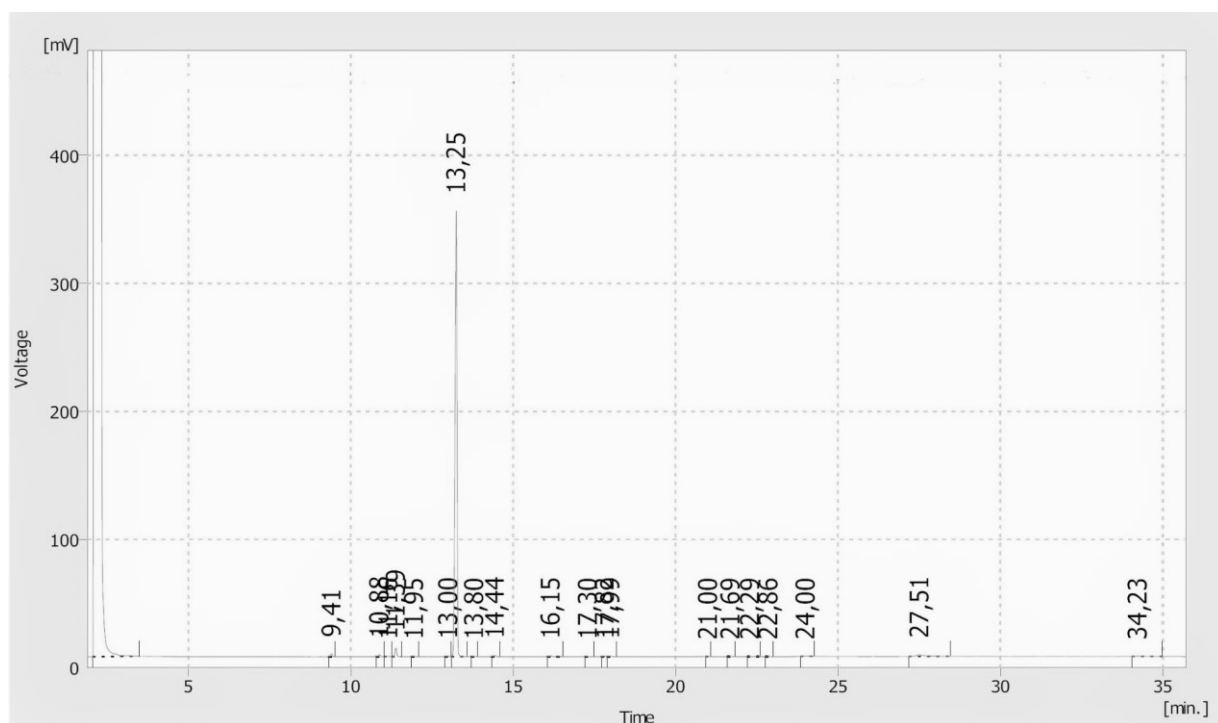
Z uvedeného chromatogramu esenciálního oleje Yellow Mandarin od firmy Bewit bylo zjištěno, že nejvíce zastoupenými konstituenty jsou limonen (65,8 %) v retenčním čase 13,217 min a γ -terpinen (14,1 %) v retenčním čase 14,433 min. Obsah limonenu v esenciálním oleji z polozralých plodů mandarinky obecně je v souladu s ISO normou, která uvádí hodnoty 65–75 %. Ale mírně se liší od hodnot deklarovaných výrobcem. Zatímco obsah γ -terpinenu by měl odpovídat 17–22 %, byl pod limitem normy. U vzorku byly nalezeny složky: α -pinen (2,1 %) s retenčním časem 9,393 min, β -pinen (1,4 %) s retenčním časem 11,373 min, p-cymen (1,8 %) s retenčním časem 12,987 min a methyl-antranilát (1,6 %) s retenčním časem 27,523 min. Naměřené hodnoty α -pinenu a β -pinenu splňují ISO normu uvádějící povolený obsah α -pinenu 1,6–2,7 % a β -pinenu 1–2 %. Obsah p-cymenu nespĺňuje ISO normu uvádějící povolený obsah do 0,5 %. Tato hodnota byla překročena. Obsah methyl-antranilátu je také nad limitem přípustné normy.

6.2.5 Vzorek Bio Mandarinka (Saloos)

Vlastní vzorek silice byl připraven smícháním 1 μ l esenciálního oleje a 1 ml dichlormethanu. Z takto připraveného roztoku byl pomocí mikrostríkačky Hamilton odebrán 1 μ l vzorku a nadávkován do injektoru plynového chromatografu a provedena analýza. Celkový čas analýzy byl zaznamenán v době 63 min.

Tabulka 17 Chromatografická analýza esenciálního oleje Bio Mandarinka (Saloos)

Název složky	Retenční čas [min]	Plocha [%]	Hodnoty udávané výrobcem [%]
α -pinen	9,407	0,5	–
sabinen	11,160	0,1	–
β -pinen	11,387	1,6	–
β -myrcen	11,947	0,1	–
p-cymen	13,000	0,2	–
limonen	13,247	93,3	–
γ -terpinen	14,437	0,3	–
α -terpineol	20,997	0,1	–
citronellol	22,293	0,1	–
methyl-antranilát	27,507	1,8	–



Obrázek 28 Chromatogram analýzy esenciálního oleje Bio Mandarinka (Saloos)

Z chromatografické analýzy esenciálního oleje Bio Mandarinka od firmy Saloos vyplynulo, že nejvíce zastoupenou složkou byl limonen (93,3 %) v retenčním čase 13,247 min. Oproti ostatním esenciálním olejům je zjištěné množství vysoké. Obsah limonenu převyšuje normu až o 20 %. Naopak γ -terpinen, který by měl dosahovat hodnot 16 – 22 % byl naměřen v obsahu 0,3 % v retenčním čase 14,437 min. Byly nalezeny i složky: α -pinen (0,5 %) s retenčním časem 9,407 min, β -pinen (1,6 %) s retenčním časem 11,387 min, β -myrcen (0,1 %) s retenčním časem 11,947 min, p-cymen (0,2 %) s retenčním časem 13,000 min, citronellol (0,1 %) s retenčním časem 22,293 min a methyl-antranilát (1,8 %) s retenčním časem 27,507 min. Naměřené hodnoty α -pinenu a β -myrcenu byly nižší, než uvádí norma. Obsah p-cymenu je v souladu s ISO normou. Legislativní dokument udává hodnoty do 0,4 %. Naopak obsah methyl-antranilátu byl vyšší. Nezvykle vysoké množství limonenu může být způsobeno tím, že tato silice jako jediná z analyzovaných pochází ze Španělska.

6.3 Srovnání hodnot naměřených metodou Silice 4 a 8

Tabulka 18 Srovnání naměřených hodnot EO Bio Mandarinka (Nobilis Tilia) metodou 4 a 8

Název složky	Metoda 4 Plocha [%]	Metoda 8 Plocha [%]	Hodnoty udávané výrobcem [%]
α -thujen	0,7	0,7	–
α -pinen	2,0	1,9	–
sabinen	0,2	1,4	–
β -pinen	1,0	1,7	–
β -myrcen	1,3	–	–
α -terpinen	0,3	0,3	–
p-cymen	1,2	1,1	–
limonen	76,2	72,8	65–94
γ -terpinen	15,6	14,5	–
terpinolen	0,9	–	–
methyl-antranilát	–	1,6	<0,9
benzyl-benzoát	–	0,2	–

Analýzou metodou 4 byla v souladu s ISO normou pouze hodnota α -pinenu. Obsah hlavního konstituentu limonenu byl nad povolenými hodnotami, naopak γ -terpinen mírně pod normou. Měření metodou 8 bylo v souladu s normou o obsahu α -pinenu i β -pinenu. V porovnání s metodou 4 bylo také naměřeno vyšší množství limonenu odpovídající hodnotám uváděným ISO normou. Obsah γ -terpinenu byl i při měření metodou 4 pod normou. Při měření metodou 8 nebyl ve vzorku přítomen β -myrcen. Ostatní složky jako α -thujen a p-cymen byly obsaženy během obou měření v přibližně stejném množství. V případě měření metodou 4 tato silice vychází jako jedna z nejhorších, podobně jako vzorek níže (Red Mandarin firmy Bewit). O poznání lepší hodnoty byly naměřeny metodou 8.

Tabulka 19 Srovnání naměřených hodnot EO Red Mandarin (Bewit) metodou 4 a 8

Název složky	Metoda 4 Plocha [%]	Metoda 8 Plocha [%]	Hodnoty udávané výrobcem [%]
α -thujen	0,3	0,3	–
α -pinen	1,0	0,9	1,1
sabinen	0,3	0,4	0,6
β -pinen	0,4	1,4	0,8
β -myrcen	1,6	–	1,7
α -terpinen	–	0,3	–
p-cymen	2,5	2,3	0,8
limonen	79,3	70,3	76,2
γ -terpinen	13,0	11,5	17,1
terpinolen	0,2	–	–
linalool	0,1	–	–
α -terpineol	0,2	1,6	0,3
methyl-antranilát	0,2	0,7	–
benzyl-benzoát	–	8,4	–

Měřením metodou 4 byl v souladu s ISO normou pouze obsah β -myrcenu. Pomocí metody 8 byl naměřen nižší obsah hlavního konstituentu limonenu. Ten v tomto případě splňoval limit normy. Naopak obsah β -pinenu byl naměřen ve vyšší koncentraci, čímž již odpovídal hodnotám opírajících se o normu ISO. Dalším rozdílem mezi jednotlivými měřeními je ten, že při použití delší analýzy nebylo detekováno žádné množství β -myrcenu, který v metodě 4 jako jediný byl v souladu s ISO normou. Pomocí metody 8 byl naměřený obsah ostatních složek přibližně stejný. Rozdíl v měření mohl být ovlivněn lidským faktorem. V případě měření metodou 4 vycházela hodnota silice jako jedna z nejhorších, podobně jako vzorek výše (Bio Mandarinka firmy Nobilis Tilia). Zjištěné hodnoty metodou 8 již byly optimističtější ve všech měřených hodnotách.

Tabulka 20 Srovnání naměřených hodnot EO Green Mandarin (Bewit) metodou 4 a 8

Název složky	Metoda 4 Plocha [%]	Metoda 8 Plocha [%]	Hodnoty udávané výrobcem [%]
α -thujen	0,6	0,5	–
α -pinen	2,1	2,0	2,0
sabinen	1,1	7,5	1,3
β -pinen	7,6	1,4	7,6
β -myrcen	1,5	–	1,6
α -terpinen	0,1	0,1	0,2
p-cymen	1,7	1,7	1,4
limonen	67,8	65,8	67,2
γ -terpinen	15,6	14,5	15,8
terpinolen	0,4	–	–
linalool	0,1	–	–
citronellol	–	0,2	–
α -terpineol	0,2	–	–
methyl-antranilát	0,2	1,4	–
benzyl-benzoát	–	0,1	–

Srovnáním získaných hodnot z analýzy nezralých plodů mandarinky obecné se obsah jednotlivých složek lišil minimálně. Až na obsah β -pinenu, který při měření metodou 8 byl sice naměřen v nižším množství oproti metodě 4, ale splňoval požadavky ISO normy. Obsah hlavního konstituentu limonenu naměřen metodou 8 již byl v souladu s hodnotami ISO normy pro zelenou silici, která udává hodnoty od 65–74 %, zatímco obsah γ -terpinenu, který by měl odpovídat a 17–22 %, byl opět pod limitem normy. Obsah methyl-antranilátu naměřený delší analýzou dvojnásobně překročil limitní hodnotu normy. Hodnoty udávané výrobcem byly přibližně s naměřenými údaji pomocí metody 4.

Tabulka 21 Srovnání naměřených hodnot EO Bio Mandarinka (Saloos) metodou 4 a 8

	Metoda 4	Metoda 8	
Název složky	Plocha [%]	Plocha [%]	Hodnoty udávané výrobcem [%]
α -pinen	0,6	0,5	–
sabinen	0,4	0,1	–
β -pinen	0,1	1,6	–
β -myrcen	1,7	0,1	–
p-cymen	0,2	0,2	–
limonen	95,2	93,3	–
γ -terpinen	0,3	0,3	–
linalool	0,2	–	–
α -terpineol	0,3	–	–
citronellol	0,1	0,1	–
methyl-antranilát	–	1,8	–

Obsah dílčích složek se během obou měření lišil minimálně. Jen obsah β -pinenu během měření metodou 8 byl naměřen ve větším množství než metodou 4, ale byl v souladu s ISO normou. Obsah β -myrcenu naměřený metodou 4 splňoval limit ISO normy. Při měření metodou 8 byl jeho obsah minimální, tedy nesplňoval normu. Získané hodnoty hlavních konstituentů limonenu a γ -terpinenu nejsou ani v jednom případě v souladu s hodnotami ISO normy. Obsah limonenu překročil limit normy o 20 %, což byla jedna z nejvyšších naměřených hodnot. Jak bylo výše zmíněno u jediné analyzované silice je zemí původu Španělsko. Což mohlo ovlivnit koncentraci jednotlivých složek.

6.4 Výsledky stanovení indexu lomu vybraných esenciálních olejů

Hodnoty indexu lomu mandarinkové silice získané z mandarinky obecné (*Citrus reticulata*) by měly odpovídat hodnotám 1,472–1,474 (při 20 °C). Pro silice získané z nezralých plodů uvádí ISO norma hodnoty 1,473–1,475 (při 20 °C).

V následující tabulce (tabulka 22) jsou uvedeny naměřené hodnoty indexu lomů pro jednotlivé mandarinkové esenciální oleje.

Tabulka 22 Naměřené hodnoty indexů lomu mandarinkových esenciálních olejů

Index lomu							
číslo vzorku	měření 1	měření 2	měření 3	měření 4	měření 5	průměr	sm.odch.
1	1,472	1,472	1,472	1,472	1,472	1,4720	0
2	1,471	1,472	1,471	1,471	1,472	1,4714	0,0005
3	1,472	1,472	1,472	1,472	1,471	1,4718	0,0004
4	1,471	1,471	1,472	1,472	1,472	1,4716	0,0005
5	1,472	1,472	1,472	1,472	1,472	1,4720	0
6	1,473	1,474	1,473	1,473	1,473	1,4732	0,0004
7	1,472	1,472	1,473	1,472	1,472	1,4722	0,0004
8	1,472	1,472	1,472	1,472	1,472	1,4720	0
9	1,472	1,472	1,472	1,471	1,472	1,4718	0,0004
10	1,472	1,472	1,472	1,472	1,472	1,4720	0

Ze stanovených indexů lomů vyplynulo, že vzorky č. 1, 5, 6, a 7 (firmy Atok, Nobilis Tilia a Bewit) spadají do rozmezí hodnot 1,472–1,474. Jsou tedy v souladu s ISO normou 3528:2012. Vzorky č. 2, 3, 4 a 9 jsou mírně pod hranicí normy. Vzorky č. 8 a 10 (firma Bewit a Salus) získané z nezralých plodů by měly mít index lomu od 1,473–1,475, což ani jeden nesplňuje.

6.5 Výsledky stanovení optické otáčivosti vybraných esenciálních olejů

Metodou polarimetrie byla měřena optická otáčivost roviny polarizovaného světla vybranými vzorky. Dle ISO standartu (ISO 3528:2012) by hodnoty stáčení roviny polarizovaného světla pro mandarinkový olej (*Citrus reticulata*) měly nabývat kladných hodnot, a to konkrétně v rozmezí od $+70^\circ$ do 79° (při 20°C). V případě silice z nezralých plodů jde o rozmezí $+69^\circ$ do $+75^\circ$ (při 20°C).

Tabulka 23 Naměřené hodnoty optické otáčivosti mandarinkových esenciálních olejů

Optická otáčivost [$^\circ$]							
číslo vzorku	měření 1	měření 2	měření 3	měření 4	měření 5	průměr	sm.odch.
1	69	70	70	70	69	69,6	0,5
2	71	71	71	71	70	70,8	0,4
3	69	69	68	70	69	69	0,7
4	70	70	70	70	71	70,2	0,4
5	69	71	71	70	71	70,4	0,9
6	69	70	70	69	69	69,4	0,5
7	69	69	69	69	69	69	0,0
8	68	69	69	69	69	68,8	0,4
9	72	72	71	72	71	71,6	0,5
10	68	68	68	69	69	68,4	0,5

Z uvedených hodnot je zřejmé, že vzorky č. 2, 4, 5 a 9 odpovídají požadovaným limitům, kdy se hodnoty blíží spíše spodní hranici. Vzorky č. 1, 3, 6 a 7 jsou mírně pod hranicí normy. V případě vzorků č. 8 a 10 (získaných z nezralých plodů) hodnoty dosahovaly těsně pod spodní povolenou hranicí uvedenou v normě.

6.6 Výsledky stanovení hustoty vybraných esenciálních olejů

Hustota mandarinkové silice získané z mandarinky obecné (*Citrus reticulata*) by se měla pohybovat v rozmezí od 0,844–0,853 g/cm³ (při 20 °C). Pokud je olej získán z nezralých plodů, uvádí ISO norma hodnoty 0,847–0,855 g/cm³ (při 20 °C). V následující tabulce (tabulka 24) jsou uvedeny naměřené hodnoty indexu lomů pro jednotlivé mandarinkové esenciální oleje.

Tabulka 24 Naměřené hodnoty hustoty mandarinkových esenciálních olejů

číslo vzorku	Hustota [g/cm ³]
1	0,851
2	0,853
3	0,851
4	0,852
5	0,849
6	0,852
7	0,850
8	0,848
9	0,852
10	0,848

Z výsledků zde uvedených vyplynulo, že výsledky hustot ze zralých plodů spadají do rozmezí hodnot 0,844–0,853 g/cm³. Vzorky č. 8 a 10 (firma Bewit a Salus) získané z nezralých plodů by měly mít hustotu 0,847–0,855 g/cm³. Všechny hodnoty jsou tedy v souladu s ISO normou 3528:2012.

ZÁVĚR

V praktické části bylo zkoumáno deset mandarinkových olejů od různých výrobců. Pomocí plynové chromatografie byly stanoveny jednotlivé konstituenty silice a jejich procentuální zastoupení. Z prováděného výzkumu vyplynulo, že výsledné hodnoty se mírně lišily. Nejlépe svým složením vyšel vzorek č. 4 Mandarinka od firmy Nobilis Tilia, původem z Itálie. Obsah hlavních složek, a to limonenu (73,6 %) a γ -terpinenu (17 %) i minoritních konstituentů byl v souladu s ISO normou, až na vyšší obsah p-cymenu. Na druhou stranu vzorek č.3 Bio Mandarinka od firmy Saloos obsahoval nejvyšší podíl limonenu (95,2 %), což o 20 % překročil normu a naopak byl zaznamenán nízký konspekt γ -terpinenu (0,3 %). Zajímavostí byl výsledek u vzorku č.2 esenciálního oleje Mandarinka od firmy Saloos. Bylo zde analyzováno vysoké množství limonenu (94,4 %). Výrobce uvádí, že se jedná o směs mandarinkové a pomerančové silice. Složení se blíží spíše hodnotám pomerančové silice a přesto je na obalu uveden název Mandarinka. U ostatních zkoumaných mandarinkových esenciálních olejů byl obsah jednotlivých složek přibližně stejný. Vždy alespoň jeden hlavní konstituent splňoval požadavky ISO normy. Přesné složení a koncentrace složek silic závisí na několika proměnných činitelích. Složení mohlo být ovlivněno stářím rostliny, stupněm zralosti, způsobem sběru či místem původu. Také metoda extrakce i podmínky skladování mohly mít vliv na obsahy zkoumaných složek. Z refraktometrického stanovení indexů lomů bylo zřejmé, že pouze vzorky č. 1, 5, 6, a 7 (firmy Atok, Nobilis Tilia a Bewit) spadají do rozmezí hodnot 1,472–1,474 daných ISO normou 3525:2012.

Následně byla metodou polarimetrie měřena optická otáčivost roviny polarizovaného světla. Hodnoty by měly nabývat hodnot od $+70^\circ$ do $+79^\circ$. Z analýzy vyplynulo, že vzorky č. 2, 4, 5 a 9 odpovídají požadovaným limitům. Nejvyšší hodnoty dosáhnul vzorek č.9 Mandarinka červená od firmy Salus, a to $71,6^\circ$. Poslední zkoumanou fyzikální vlastností byla hustota. Oproti ostatním metodám, hustota byla měřena pouze jednou vzhledem vyšší spotřebě vzorku. Všechny naměřené hodnoty byly v souladu s ISO normou.

V této diplomové práci byla mandarinková silice zkoumána z chemického a fyzikálního hlediska. Jistě by bylo přínosné v rámci dalších studií hlouběji prozkoumat i její biologické účinky pro rozsáhlejší využití.

SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY

- [1] BAŞER, K. Hüsnü Can. Chemistry of Essential oils. In: BERGER, R. G. *Flavours and Fragrances: Chemistry, Bioprocessing and Sustainability*. New York: Springer, 2007, s. 43 - 63. Chapter 4. ISBN 978-3-540-49338-9.
- [2] FRANZ, Chlodwig a Johannes NOVAK. Sources of Essential Oils. In: BAŞER, K. Hüsnü Can a Gerhard BUCHBAUER. *Handbook of essential oils: science, technology and applications*. Second edition. Boca Raton: CRC Press, Taylor & Francis Group, 2016, s. 43 - 45. Chapter 3. ISBN 978-1-4665-9046-5.
- [3] Národní archiv. BACÍLKOVÁ, Bronislava a Hana PAULUSOVÁ. *Vliv silic a je jich hlavních účinných látek na mikroorganismy a na archivní materiál* [online]. Praha, 2012 [cit. 2021-10-29]. Dostupné z: <https://docplayer.cz/364642-Vliv-silic-a-jejich-hlavnich-ucinnych-latek-na-mikroorganismy-a-na-archivni-material.html>
- [4] ATTOKARAN, Mathew. *Natural Food Flavors and Colorants* [online]. 2017. John Wiley & Sons, 2017 [cit. 2021-10-29]. ISBN 9781119114796. Dostupné z: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/book/10.1002/9781119114796>
- [5] CHEMAT, Farid. Techniques for oil extraction. In: SAWAMURA, Masayoshi. *Citrus Essential Oils: Flavor and Fragrance*. New Jersey: John Wiley, 2010, s. 9 - 11. Chapter 2. ISBN 978-0-470-37218-0.
- [6] DENKOVA-KOSTOVA, Rositsa, Desislava TENEVA, Teodora TOMOVA, Bogdan GORANOV, Zapryana DENKOVA, Vesela SHOPSKA, Aleksandar SLAVCHEV a Yana HRISTOVA-IVANOVA. Chemical composition, antioxidant and antimicrobial activity of essential oils from tangerine (*Citrus reticulata* L.), grapefruit (*Citrus paradisi* L.), lemon (*Citrus lemon* L.) and cinnamon (*Cinnamomum zeylanicum* Blume). *Zeitschrift für Naturforschung C* [online]. 2021, 76(5-6), 175-185 [cit. 2021-10-29]. ISSN 1865-7125. Dostupné z: <https://www.degruyter.com/document/doi/10.1515/znc-2020-0126/html>

[7] SCHMIDT, Erich. Production of Essential Oils. In: BAŞER, K. Hüsnü Can a Gerhard BUCHBAUER. *Handbook of essential oils: science, technology and applications*. Second edition. Boca Raton: CRC Press, Taylor & Francis Group, 2016, s. 127 - 132. Chapter 5. ISBN 978-1-4665-9046-5.

[8] RÍOS, José-Luis. Essential oil: What they are and how the terms are used and defined. In: PREEDY, Victor R. *Essential Oils in Food Preservation, Flavor and Safety* [online]. Elsevier, 2016, s. 3 – 9. Chapter 1. [cit. 2021-10-29]. ISBN 978-0-12-416641-7.

Dostupné z: <https://www.sciencedirect.com/book/9780124166417/essential-oils-in-food-preservation-flavor-and-safety>

[9] VONDRUŠKA, Vlastimil. *Intimní historie: od antiky po baroko*. Vyd. 2. Brno: MOBA, 2013. ISBN 978-80-243-5589-4.

[10] KAR, Shagufta, Pawan GUPTA a Jeena GUPTA. Essential Oils: Biological Activity Beyond Aromatherapy. *Natural Product Sciences* [online]. **24**(3) [cit. 2021-10-29]. ISSN 1226-3907. Dostupné z: doi:10.20307/nps.2018.24.3.139

[11] STRATAKOS, Alexandros Ch a Anastasios KOIDIS. Methods for extracting Essential oils. In: PREEDY, Victor R. *Essential Oils in Food Preservation, Flavor and Safety* [online]. Elsevier, 2016, s. 31 – 35. Chapter 4. [cit. 2021-10-29]. ISBN 978-0-12-416641-7. Dostupné z: <https://www.sciencedirect.com/book/9780124166417/essential-oils-in-food-preservation-flavor-and-safety>

[12] ROOHINEJAD, Shahin, Mohamed KOUBAA a Francisco J. BARBA. Extraction methods of Essential oils from herbs and spices. In: HASHEMI, Seyed Mohammed Bagher a Amin Mousavi KHANEGHAH. *Essential Oils in Food Processing: Chemistry, Safety and Applications*. John Wiley & Sons, 2018, s. 21 - 43. Chapter 2. ISBN 978-1-119-14935-4.

[13] Steam Distillation. In: *doTERRA* [online]. [cit. 2021-10-30]. Dostupné z: <https://www.doterra.com/US/en/blog/science-research-news-steam-distillation>

[14] HANDA, Sukhdev Swami. An Overview of Extraction Techniques for Medicinal and Aromatic Plants. In: HANDA, Sukhdev Swami, Suman Preet Singh KHANUJA, Gennaro

LONGO a Dev Dutt RAKESH. *Extraction Technologies for Medicinal and Aromatic Plants* [online]. Trieste: United Nations Industrial Development Organization and the International Centre for Science and High Technology, 2008, s. 25 - 50. Chapter 2. [cit. 2021-10-30].

[15] Enfleurage [online]. [cit. 2021-10-30]. Dostupné z:

https://agritech.tnau.ac.in/horticulture/extraction_methods_natural_essential_oil.pdf

[16] GETIE, Atnkut. *Essential oil distillation plant project* [online]. Haramaya university, s.1-56. [cit. 2021-10-30]. Dostupné z:

https://www.academia.edu/36690754/Essential_oil_distillation_plant_project

[17] DONG, Z.B., W.Y SHAO a Y.R LIANG. Isolation and Characterization of Essential Oil Extracted from Tangerine Peel. *Asian Journal of Chemistry* [online]. 2014, **16**(26), s. 4975 - 4978 [cit. 2021-10-30]. Dostupné z: doi:10.14233/ajchem.2014.16277

[18] CAPUZZO, Andrea, Massimo MAFFEI a Andrea OCCHIPINTI. Supercritical Fluid Extraction of Plant Flavors and Fragrances. *Molecules* [online]. 2013, **18**(6), s.7194-7238 [cit. 2021-11-14]. ISSN 1420-3049. Dostupné z: doi:10.3390/molecules18067194

[19] MUSSATTO, Solange I. Generating Biomedical Polyphenolic Compounds from Spent Coffee or Silverskin. *Coffee in Health and Disease Prevention* [online]. Elsevier, 2015, 2015, s. 93-106 [cit. 2021-11-15]. ISBN 9780124095175. Dostupné z:

<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/B9780124095175000115?via%3Dihub>

[20] EBRINGEROVÁ, Anna a Zdenka HROMÁDKOVÁ. An overview on the application of ultrasound in extraction, separation and purification of plant polysaccharides. *Open Chemistry* [online]. 2010, **8**(2), 243-257 [cit. 2021-11-15]. ISSN 2391-5420. Dostupné z:

<https://link.springer.com/article/10.2478/s11532-010-0006-2>

[21] AZMIR, J., I.S.M. ZAIDUL, M.M. RAHMAN, et al. Techniques for extraction of bioactive compounds from plant materials: A review. *Journal of Food Engineering* [online]. 2013, **117**(4), 426-436 [cit. 2022-01-02]. ISSN 02608774. Dostupné z: doi:10.1016/j.jfoodeng.2013.01.014

- [22] BOUGHENDJIOUA, Hicham, Nour El Houda MEZEDJERI a Ilhem IDJOUADIENE. Chemical constituents of Algerian mandarin (*Citrus reticulata*) essential oil by GC-MS and FT-IR analysis. *Current Issues in Pharmacy and Medical Sciences* [online]. 2020, 33(4), 197-201 [cit. 2022-01-30]. ISSN 2300-6676. Dostupné z: <https://sciendo.com/article/10.2478/cipms-2020-0032>
- [23] Izopren. *Izoprenoidy* [online]. [cit. 2022-01-30]. Dostupné z: <https://cs.wikipedia.org/wiki/Izoprenoidy>
- [24] TAIZ, Lincoln a Eduardo ZEIGER. *Plant physiology*. 3rd ed. Sunderland, Mass.: Sinauer Associates, 2002. ISBN 0878938230.
- [25] DVOŘÁKOVÁ, Marcela, Irena VALTEROVÁ a Tomáš VANĚK. *Monoterpeny v rostlinách*. Chem. Listy, 105, 2011, s. 839-840.
- [26] ABDALLAH, Ingy I. a Wim J. QUAX. A Glimpse into the Biosynthesis of Terpenoids. *KnE Life Sciences* [online]. 2017, 3(5), 81-98 [cit. 2022-02-07]. ISSN 2413-0877. Dostupné z: https://www.researchgate.net/publication/319645034_A_Glimpse_into_the_Biosynthesis_of_Terpenoids
- [27] Manarinka obecná. In: *Wikiwand* [online]. [cit. 2022-02-07]. Dostupné z: https://www.wikiwand.com/cs/Mandarinka_obecná
- [28] DOSOKY, Noura a William SETZER. Biological Activities and Safety of Citrus spp. Essential Oils. *International Journal of Molecular Sciences* [online]. 2018, 19(7), s. 1 – 25 [cit. 2022-02-07]. ISSN 1422-0067. Dostupné z: doi:10.3390/ijms19071966
- [29] MANDAL, Shyamapada a Manisha MANDAL. Tangerine (*Citrus reticulata* L. var.) Oils. In: PREEDY, Victor. *Essential Oils in Food Preservation, Flavor and Safety* [online]. Elsevier, 2016, s. 803 – 811. Chapter 91. [cit. 2022-02-07]. ISBN 978-0-12-416641-7. Dostupné z: <https://www.sciencedirect.com/book/9780124166417/essential-oils-in-food-preservation-flavor-and-safety>

[30] FOUAD ABOBATTA, Waleed. Nutritional Benefits of Citrus Fruits. *American Journal of Biomedical Science & Research* [online]. 2019, **3**(4), s. 303-306 [cit. 2022-02-19]. ISSN 26421747. Dostupné z: doi:10.34297/AJBSR.2019.03.000681

[31] GOLDENBERG, Livnat, Yossi YANIV, Ron PORAT a Nir CARMI. Mandarin fruit quality: a review. *Journal of the Science of Food and Agriculture* [online]. 2018, **98**(1), s.18-26 [cit. 2022-02-19]. ISSN 00225142. Dostupné z: https://onlinelibrary.wiley.com/doi/epdf/10.1002/jsfa.8495?saml_referrer

[32] LIU, YuQiu, Emily HEYING a Sherry A. TANUMIHARDJO. History, Global Distribution, and Nutritional Importance of Citrus Fruits. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety* [online]. 2012, **11**(6), s. 530-545 [cit. 2022-02-19]. ISSN 15414337. Dostupné z: doi:10.1111/j.1541-4337.2012.00201.x

[33] EL BARNOSSI, Azeddin, Fatimazhrae MOUSSAID a Abdelilah IRAQI HOUSSEINI. Tangerine, banana and pomegranate peels valorisation for sustainable environment: A review. *Biotechnology Reports* [online]. **29** [cit. 2022-02-20]. ISSN 2215017X. Dostupné z: doi:10.1016/j.btre.2020.e00574

[34] DE GROOT, Anton C. a Erich SCHMIDT. *Essential Oils Contact Allergy and Chemical Composition*. Boca Raton: CRC Press, Taylor & Francis Group, 2016, s. 531 - 538. Chapter 5.55. Mandarin oil. ISBN 978-1-4822-4640-7.

[35] PUTNIK, Predrag, Francisco J. BARBA, Jose Manuel LORENZO, Domagoj GABRIĆ, Avi SHPIGELMAN, Giancarlo CRAVOTTO a Danijela BURSAĆ KOVAČEVIĆ. An Integrated Approach to Mandarin Processing: Food Safety and Nutritional Quality, Consumer Preference, and Nutrient Bioaccessibility. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety* [online]. 2017, **16**(6), s. 1345-1358 [cit. 2022-02-21]. ISSN 15414337. Dostupné z: doi:10.1111/1541-4337.12310

[36] HEMZAL, Boleslav. *Léčivé oleje*. Brno: Neptun, 2016. ISBN 978-80-86850-12-2.

[37] BOUDRIES, H., S. LOUPASSAKI, Y. LADJAL ETTOUMI, et al. Chemical profile, antimicrobial and antioxidant activities of *Citrus reticulata* and *Citrus clementina* (L.)

essential oils. *International Food Research Journal* [online]. 2017, **24**(4), s. 1782 - 1792 [cit. 2022-02-21]. Dostupné z: [http://www.ifrj.upm.edu.my/24%20\(04\)%202017/\(56\).pdf](http://www.ifrj.upm.edu.my/24%20(04)%202017/(56).pdf)

[38] *Český lékopis 2017: Pharmacopoea Bohemica MMXVII (Ph. B. MMXVII)*. 4. díl, Evropská část, Národní část. Praha: Grada Publishing, 2017. ISBN 978-80-271-0500-7.

[39] Liquid Citrus Reticulata Tangerine Essential Oil. In: *Indiamart* [online]. [cit. 2022-02-22]. Dostupné z: <https://www.indiamart.com/proddetail/tangerine-essential-oil-21234716630.html>

[40] ISO 3528:2012. *International standard: Essential oil of mandarin, Italian type (Citrus reticulata Blanco)*. 3rd. edition. Switzerland, 2012.

[41] PAULI, Alexander a Heinz SCHILCHER. In Vitro Antimicrobial Activities of Essential Oils Monographed in the European Pharmacopoeia 8th Edition. In: BAŞER, K. Hüsnü Can a Gerhard BUCHBAUER. *Handbook of essential oils: science, technology and applications*. Second edition. Boca Raton: CRC Press, Taylor & Francis Group, 2016, s. 437 - 535. Chapter 14. ISBN 978-1-4665-9046-5.

[42] VIUDA-MARTOS, Manuel, Yolanda RUIZ-NAVAJAS, Juana FERNÁNDEZ-LÓPEZ a José Angel PÉREZ-ÁLVAREZ. Chemical Composition of Mandarin (*C. reticulata* L.), Grapefruit (*C. paradisi* L.), Lemon (*C. limon* L.) and Orange (*C. sinensis* L.) Essential Oils. *Journal of Essential Oil Bearing Plants* [online]. 2009, **12**(2), s. 236-243 [cit. 2022-02-22]. ISSN 0972-060X. Dostupné z: <https://www.tandfonline.com/doi/pdf/10.1080/0972060X.2009.10643716?needAccess=true>

[43] NIKFAR, S. a A.F. BEHBOUDI. Limonene. *Encyclopedia of Toxicology* [online]. Elsevier, 2014, s. 78-82 [cit. 2022-02-22]. ISBN 9780123864550. Dostupné z: doi:10.1080/0972060X.2009.10643716

[44] GAD, Samantha E a Pertti J HAKKINEN. Limonene. *Encyclopedia of Toxicology* [online]. Elsevier, 2005, s. 720 - 725 [cit. 2022-02-23]. Dostupné z: <https://reader.elsevier.com/reader/sd/pii/B0123694000002891?token=53BA4579982FC6F>

[B877956E7174A0C475D2C72EA91B5700B13B03F0CC4773D868735AF74162E6912AE9F23C285FAA9B4&originRegion=eu-west-1&originCreation=20211226124330](https://doi.org/10.1002/9781118443064.ch9)

[45] JÄGER, Walter a Martina HÖFERL. Metabolism of Terpenoids in Animal Models and Humans. BAŞER, K. Hüsnü Can a Gerhard BUCHBAUER. *Handbook of essential oils: science, technology and applications*. Second edition. Boca Raton: CRC Press, Taylor & Francis Group, 2016, s. 253 - 262. Chapter 9. ISBN 978-1-4665-9046-5.

[46] TISSERAND, Robert a Rodney YOUNG. *Essential Oil Safety*. Second edition. Elsevier, 2014, s. 580 - 634. Chapter 14. Constituent profiles. ISBN 978-0-4430-6241-4.

[47] D-Limonen. In: *Carl Roth* [online]. [cit. 2022-02-23]. Dostupné z: <https://www.carlroth.com/at/de/von-a-bis-z/d-%28%2B%29-limonen/p/6722.1>

[48] LI, Guo-Xiang a Zai-Qun LIU. Unusual Antioxidant Behavior of α - and γ -Terpinene in Protecting Methyl Linoleate, DNA, and Erythrocyte. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* [online]. **57**(9), 3943-3948 [cit. 2022-02-23]. ISSN 0021-8561. Dostupné z: doi:10.1021/jf803358g

[49] Gamma-Terpinene. In: *Lab effects* [online]. [cit. 2022-02-23]. Dostupné z: <https://labeffects.com/terpene-glossary-gamma-terpinene/>

[50] VIUDA-MARTOS, M., Y. RUIZ-NAVAJAS, J. FERNÁNDEZ-LÓPEZ a J. PÉREZ-ÁLVAREZ. Antifungal activity of lemon (*Citrus lemon* L.), mandarin (*Citrus reticulata* L.), grapefruit (*Citrus paradisi* L.) and orange (*Citrus sinensis* L.) essential oils. *Food Control* [online]. **19**(12), 1130-1138 [cit. 2022-02-25]. ISSN 09567135. Dostupné z: doi:10.1016/j.foodcont.2007.12.003

[51] KLOUDA, Pavel. *Moderní analytické metody*. 2., upr. a dopl. vyd. Ostrava: Pavel Klouda, 2003. ISBN 80-86369-07-2.

[52] LÁZNÍČKOVÁ, Alice a Vladimír KUBÍČEK. *Základy fyzikální chemie: vybrané kapitoly pro posluchače Farmaceutické fakulty*. 3. vyd. V Praze: Karolinum, 2014. ISBN 978-80-246-2791-5.

[53] *Český lékopis 2017 - Doplněk 2020 (ČL 2017 - Dopl. 2020): Pharmacopoea Bohemica MMXVII - Addendum MMXX (Ph. B. MMXVII - Add. MMXX)*. 1. díl, Národní část, Evropská část. Praha: Grada Publishing, 2020. ISBN 978-80-271-1757-4.

[54] ZACHAŘ, P. a D. SYKORA. Plynova chromatografie [online]. s. 1-11 [cit.2022-03-20]. Dostupné z: <http://old.vscht.cz/anl/lach2/GC.pdf>

[55] Parametry chromatografického píku. In: <https://www.researchgate.net> [online]. [cit. 2022-03-20]. Dostupné z: https://www.researchgate.net/publication/271383368_Application_of_multidimensional_data_analysis_to_chromatography/figures?lo=1

[56] *Hustoměr VariDens SCHMIDT + HAENSCH* In: *Schmidt-haensch* [online]. [cit. 2022-05-11]. Dostupné z: <https://schmidt-haensch.com/product/varidens-density-meter/>

[57] SANEI-DEHKORDI, Alireza, Mohammad Mehdi SEDAGHAT, Hassan VATANDOOST a Mohammad Reza ABAI. Chemical Compositions of the Peel Essential Oil of *Citrus aurantium* and Its Natural Larvicidal Activity against the Malaria Vector *Anopheles stephensi* (Diptera: Culicidae) in Comparison with *Citrus paradisi*. *Journal of Arthropod-Borne Diseases* [online]. 4 Oct 2016, **10**(4), 577-585 [cit. 2022-05-11]. Dostupné z: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28032110/>

[58] ISO 4720:2018. *Essential oils - Nomenclature*. 4th edition. Switzerland, 2018.

SEZNAM POUŽITÝCH SYMBOLŮ A ZKRATEK

- CO₂ Oxid uhličitý
- EO Esenciální olej
- GC Plynová chromatografie
- ISO Mezinárodní organizace pro normalizaci

SEZNAM OBRÁZKŮ

Obrázek 1 Schéma parní destilační jednotky [13]	15
Obrázek 2 Enfleuráž [15].....	17
Obrázek 3 Izopren [23]	21
Obrázek 4 Příklady různých skupin terpenů [26]	23
Obrázek 5 Květ mandarinky obecné [27]	25
Obrázek 6 Plody mandarinky obecné [39]	27
Obrázek 7 D-limonen [47].....	30
Obrázek 8 γ -terpinen [49]	30
Obrázek 9 Analyzované vzorky mandarinkových esenciálních olejů	37
Obrázek 10 Parametry chromatografického píku [55]	40
Obrázek 11 Plynový chromatograf DANI Master GC Fast Gas Chromatograph	41
Obrázek 12 Abbeho refraktometr	42
Obrázek 13 Hustoměr VariDens SCHMIDT + HAENSCH [56].....	44
Obrázek 14 Chromatogram analýzy esenciálního oleje Mandarinka (Atok)	46
Obrázek 15 Chromatogram analýzy esenciálního oleje Mandarinka (Saloos).....	47
Obrázek 16 Chromatogram analýzy esenciálního oleje Bio Mandarinka (Saloos).....	49
Obrázek 17 Chromatogram analýzy esenciálního oleje Mandarinka (Nobilis Tilia).....	51
Obrázek 18 Chromatogram analýzy esenciálního oleje Bio Mandarinka (Nobilis Tilia) ...	52
Obrázek 19 Chromatogram analýzy esenciálního oleje Mandarinka (Bewit).....	54
Obrázek 20 Chromatogram analýzy esenciálního oleje Red Mandarin (Bewit)	55
Obrázek 21 Chromatogram analýzy esenciálního oleje Green Mandarin (Bewit).....	57
Obrázek 22 Chromatogram analýzy esenciálního oleje Mandarinka červená (Salus)	58
Obrázek 23 Chromatogram analýzy esenciálního oleje Mandarinka zelená (Salus).....	60
Obrázek 24 Chromatogram analýzy esenciálního oleje Bio Mandarinka (Nobilis Tilia) ...	63
Obrázek 25 Chromatogram analýzy esenciálního oleje Red Mandarin (Bewit)	64

Obrázek 26 Chromatogram analýzy esenciálního oleje Green Mandarin (Bewit).....	66
Obrázek 27 Chromatogram analýzy esenciálního oleje Yellow Mandarin (Bewit).....	67
Obrázek 28 Chromatogram analýzy esenciálního oleje Bio Mandarinka (Saloos)	69

SEZNAM TABULEK

Tabulka 1 Požadavky na složení mandarinkové silice dle normy ISO 3528:2012 [23,24].	28
Tabulka 2 Popis analyzovaných vzorků	38
Tabulka 3 Chromatografická analýza esenciálního oleje Mandarinka (Atok)	45
Tabulka 4 Chromatografická analýza esenciálního oleje Mandarinka (Saloos).....	47
Tabulka 5 Chromatografická analýza esenciálního oleje Bio Mandarinka (Saloos).....	49
Tabulka 6 Chromatografická analýza esenciálního oleje Mandarinka (Nobilis Tilia).....	50
Tabulka 7 Chromatografická analýza esenciálního oleje Bio Mandarinka (Nobilis Tilia) .	52
Tabulka 8 Chromatografická analýza esenciálního oleje Mandarinka (Bewit).....	53
Tabulka 9 Chromatografická analýza esenciálního oleje Red Mandarin (Bewit)	55
Tabulka 10 Chromatografická analýza esenciálního oleje Green Mandarin (Bewit).....	56
Tabulka 11 Chromatografická analýza esenciálního oleje Mandarinka červená (Salus)	58
Tabulka 12 Chromatografická analýza esenciálního oleje Mandarinka zelená (Salus)	60
Tabulka 13 Chromatografická analýza esenciálního oleje Bio Mandarinka (Nobilis Tilia)	62
Tabulka 14 Chromatografická analýza esenciálního oleje Red Mandarin (Bewit)	64
Tabulka 15 Chromatografická analýza esenciálního oleje Green Mandarin (Bewit).....	65
Tabulka 16 Chromatografická analýza esenciálního oleje Yellow Mandarin (Bewit).....	67
Tabulka 17 Chromatografická analýza esenciálního oleje Bio Mandarinka (Saloos).....	68
Tabulka 18 Srovnání naměřených hodnot EO Bio Mandarinka (Nobilis Tilia) metodou 4 a 8	70
Tabulka 19 Srovnání naměřených hodnot EO Red Mandarin (Bewit) metodou 4 a 8	71
Tabulka 20 Srovnání naměřených hodnot EO Green Mandarin (Bewit) metodou 4 a 8....	72
Tabulka 21 Srovnání naměřených hodnot EO Bio Mandarinka (Saloos) metodou 4 a 8....	73
Tabulka 22 Naměřené hodnoty indexů lomu mandarinkových esenciálních olejů.....	74
Tabulka 23 Naměřené hodnoty optické otáčivosti mandarinkových esenciálních olejů.....	75
Tabulka 24 Naměřené hodnoty hustoty mandarinkových esenciálních olejů	76

