

Analytické metody pro hodnocení esenciálních olejů

Jana Hudečková

Bakalářská práce
2021

 Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně
Fakulta technologická

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

Akademický rok: 2020/2021

ZADÁNÍ BAKALÁŘSKÉ PRÁCE (projektu, uměleckého díla, uměleckého výkonu)

Jméno a příjmení: **Jana Hudečková**
Osobní číslo: **T19654**
Studijní program: **B2901 Chemie a technologie potravin**
Studijní obor: **Technologie výroby tuků, kosmetiky a detergentů**
Forma studia: **Prezenční**
Téma práce: **Analytické metody pro hodnocení esenciálních olejů**

Zásady pro vypracování

Student v práci postupně rozebere tato témata:

1. Esenciální oleje a jejich zdroje, možnosti izolací z rostlin.
2. Chemické složení a chemotypizace silic.

U analytických metod se student zaměří na:

1. Plynová chromatografie s různým uspořádáním (detektory/kolony).
2. Kapalinová chromatografie s různým uspořádáním detekční a chromatografické části.
3. Další metody použitelné k analýze rostlinných silic.

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

Seznam doporučené literatury:

- [1] TISSERAND, Robert a Rodney YOUNG. Essential oil safety: a guide for health care professionals. Second edition. Edinburgh: Elsevier, 2013. ISBN 978-0-4430-6241-4.
- [2] BRATTOLI, Magda, Ezia CISTERNINO, Paolo DAMBRUOSO, Gianluigi DE GENNARO, Pasquale GIUNGATO, Antonio MAZZONE, Jolanda PALMISANI a Maria TUTINO. Gas Chromatography Analysis with Olfactometric Detection (GC-O) as a Useful Methodology for Chemical Characterization of Odorous Compounds. *Sensors*. 2013, 13(12), 16759-16800. DOI: 10.3390/s131216759.
- [3] BASER, K. H. C. a Gerhard. BUCHBAUER. Handbook of essential oils: science, technology, and applications. Boca Raton, c2010. ISBN 978-1-4200-6315-8.
- [4] SILVERSTEIN, Robert M., Francis X. WEBSTER a David J. KIEMLE. Spectrometric identification of organic compounds. 7th ed. Hoboken, NJ, c2005. ISBN 978-0-471-39362-7.
- [5] BICCHI, Carlo, Erica LIBERTO, Maura MATTEODO, Barbara SGORBINI, Luigi MONDELLO, Barbara dAcampora ZELLNER, Rosaria COSTA a Patrizia RUBIOLLO. Quantitative analysis of essential oils: a complex task. *Flavour and Fragrance Journal*. 2008, 23(6), 382-391. DOI: 10.1002/ffj.

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

Datum zadání bakalářské práce: **2. ledna 2021**
Termín odevzdání bakalářské práce: **21. května 2021**

L.S.

prof. Ing. Roman Čermák, Ph.D.
děkan

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

Ve Zlíně dne 20. února 2021

PROHLÁŠENÍ AUTORA BAKALÁŘSKÉ PRÁCE

Beru na vědomí, že:

- bakalářská práce bude uložena v elektronické podobě v univerzitním informačním systému a dostupná k nahlédnutí;
- na moji bakalářskou 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 – bakalářskou 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 bakalářské práce využito softwaru poskytnutého Univerzitou Tomáše Bati ve Zlíně nebo jinými subjekty pouze ke studijním a výzkumným účelům (tj. k nekomerčnímu využití), nelze výsledky bakalářské práce využít ke komerčním účelům;
- pokud je výstupem bakalářské práce jakýkoliv softwarový produkt, považují 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 na bakalářské práci pracoval samostatně a použitou literaturu jsem citoval. V případě publikace výsledků budu uveden jako spoluautor.
- že odevzdaná verze bakalářské práce a verze elektronická nahraná do IS/STAG jsou obsahově totožné.

Ve Zlíně, dne:

Jméno a příjmení studenta:

.....
podpis studenta

ABSTRAKT

Bakalářská práce především pojednává o složení a analytických metodách používaných k hodnocení esenciálních olejů. Jelikož jsou esenciální oleje čím dál více hojně využívány, dochází tak k jejich častému falšování, proto je důležité sledovat a kontrolovat jejich složení a kvalitu.

První kapitola se věnuje historii a zdrojům esenciálních olejů. Dále pak stručně sensorickému hodnocení, fyzikálně-chemickým parametrům a instrumentálním technikám. Následující kapitola popisuje chemické složení a chemotypizace silic. Další část práce se zabývá metodami izolace, mezi které se řadí především destilace a lisování, podílejících se na jejich získávání. Poslední část práce je věnována analytickým metodám, které identifikují a charakterizují základní složky esenciálního oleje.

Klíčová slova: esenciální olej, silice, chemické složení, chemotyp, plynová chromatografie, nukleární magnetická rezonance

ABSTRACT

The bachelor thesis deals mainly with the composition of essential oils and analytical methods used for their evaluation. As essential oils are increasingly used, they are frequently adulterated, so it is important to monitor and control their composition and quality.

The first chapter deals with the history and sources of essential oils. Furthermore, briefly sensory evaluation, physico-chemical parameters and instrumental techniques. The following chapter describes the chemical composition and chemotyping of essential oils. The next part of the thesis deals with methods of their isolation, which include distillation and pressing, involved in their recovery. The last part of the thesis is devoted to analytical methods that identify and characterize the basic components of essential oil.

Keywords: essential oil, chemical composition, chemotype, gas chromatography, nuclear magnetic resonance

Ráda bych chtěla poděkovat vedoucímu práce Ing. Ondřeji Rudolfovi Ph.D. za trpělivost, ochotu, rady a pomoc při psaní bakalářské práce. Dále kamarádkám (především Verči a Dítě) za milou kritiku práce a jejich velkou podporu. A v neposlední řadě také rodičům a prarodičům, kteří se mi snažili vytvořit klidnou atmosféru v době korony.

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

OBSAH

ÚVOD	9
1 ESENCIÁLNÍ OLEJE	10
1.1 HISTORIE.....	11
1.2 ZDROJE ESENCIÁLNÍCH OLEJŮ.....	11
1.3 FALŠOVÁNÍ.....	12
1.4 ANALÝZA ESENCIÁLNÍCH OLEJŮ.....	13
1.4.1 Senzorické hodnocení.....	13
1.4.2 Fyzikálně-chemické parametry.....	13
1.4.3 Instrumentální techniky.....	13
2 CHEMICKÉ SLOŽENÍ A CHEMOTYPIZACE SILIC	15
2.1 IZOMERY.....	17
2.2 CHEMICKÉ SLOŽENÍ.....	18
2.2.1 Uhlovodíky.....	18
2.2.2 Terpenoidy.....	19
Monoterpeny.....	19
Seskviterpeny.....	20
Diterpeny.....	21
2.2.3 Fenylypropanoidy.....	21
2.2.4 Alkoholy.....	22
2.2.5 Fenoly.....	22
2.2.6 Aldehydy.....	22
2.2.7 Ketony.....	22
2.2.8 Karboxylové kyseliny a estery karboxylových kyselin.....	22
2.2.9 Estery.....	23
2.2.10 Laktony.....	23
2.2.11 Aromatické uhlovodíky.....	24
2.3 CHEMOTYPIZACE.....	24
3 IZOLACE Z ROSTLIN	26
3.1 PARNÍ DESTILACE.....	26
3.2 HYDRODESTILACE.....	28
3.3 LISOVÁNÍ.....	29
3.4 DALŠÍ POSTUPY.....	30
4 ANALYTICKÉ METODY	31
4.1 PLYNOVÁ CHROMATOGRFIE (GC).....	31
4.1.1 Detektory.....	31
4.1.2 Kolony.....	32
4.1.3 Plynový chromatograf.....	34
4.1.4 Technika plynové chromatografie-olfaktometrie (GC-O).....	35
4.2 KAPALINOVÁ CHROMATOGRFIE (LC).....	36

4.2.1	Vysoce výkonná kapalinová chromatografie (HPLC)	36
4.2.2	Kapalinový chromatograf.....	36
4.2.3	Detektory	37
4.3	TENKOVSTVÁ CHROMATOGRFIE (TLC).....	37
4.4	HEADSPACE EXTRAKCE (HS)	38
4.5	HMOTNOSTNÍ SPEKTROMETRIE (MS)	39
4.5.1	Hmotnostní spektrum	40
5	DALŠÍ METODY.....	42
5.1	POLARIMETRIE	42
5.2	INDEX LOMU.....	43
5.3	HUSTOTA	43
5.4	NMR.....	43
5.4.1	¹³ C-NMR	44
	ZÁVĚR	50
	SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY.....	51
	SEZNAM POUŽITÝCH SYMBOLŮ A ZKRATEK.....	56
	SEZNAM OBRÁZKŮ	58
	SEZNAM TABULEK.....	59
	SEZNAM PŘÍLOH.....	60

ÚVOD

Esenciální oleje jsou přírodní materiály široce využívané po celém světě a jejich používání neustále vzrůstá. V mnoha oborech existuje poptávka po čistě přírodních surovinách a z toho důvodu se ve světě vyrábí velká množství esenciálních olejů, které jsou součástí aromaterapie a fytomedicíny, v průmyslu chutí a vůní, kosmetiky a zdravotnictví. Některé esenciální oleje se proto vyrábějí ve velkém měřítku (např. produkce pomerančových olejů a citronových olejů), jiné se díky své vzácnosti vyrábějí naopak v mnohem menším měřítku a za vyšší ceny (např. olej z agarového dřeva, iris nebo růžový olej). Jelikož poptávka po esenciálních olejích roste, roste tak i poměr falšovaných, pančovaných olejů na trhu. Přídatnými látkami mohou tak být rostlinné nosné oleje, alkoholy a syntetické oleje používané jako ředidla. Dále pak levnější oleje stejného druhu, ale různého zeměpisného původu, extrahované z jiné části rostliny nebo izolované přírodní či syntetické sloučeniny. Autentizace je tedy důležitým předmětem pro spotřebitele i pro chemické společnosti. Z hlediska regulace byly normy kvality stanoveny prostřednictvím požadavku na označení kvality, které specifikuje chemické složení každého esenciálního oleje. Je známo, že chemické složky esenciálních olejů se mohou lišit v závislosti na období sklizně, stanovišti, procesech sušení, použitých extrakčních a izolačních technikách a mnoha dalších faktorech. Je proto nezbytné stanovit profil chemických složek esenciálních olejů. Zvažujeme tedy použití různých analytických metod, včetně fyzikálních, chemických, chromatografických, spektroskopických a tepelných technik.

1 ESENCIÁLNÍ OLEJE

Staly se nedílnou součástí každodenního života. Esenciální oleje, především jejich frakce a izoláty jsou využívány jako doplňkové látky, v potravinářství, kosmetice a parfémeh. Kromě toho mají uplatnění v oborech medicíny, lázeňství a homeopatii. Více pak specializovaná oblast jejich používání může být aromaterapie. Esenciální olej, může být také definován jako esence, éterický olej či těkavý olej. Jedná se o složité směsi těkavých organických sloučenin biosyntetizovaných živými organismy. Vyskytují se především v aromatických rostlinách. Ve vodě jsou nerozpustné, anebo mají rozpustnost omezenou, mají určitý rozdělovací koeficient, kdy jde o poměr mezi oktanolem a vodou. Některé složky se rozpustí méně a jiné více. Jsou dobře rozpustné v ethanolu, diethyl etheru a dalších organických rozpouštědlech. Obsahují mimo jiné uhlovodíky a jejich kyslíkaté deriváty. Některé obsahují i atomy dusíku nebo síry. Mohou existovat ve formě alkoholů, kyselin, esterů, epoxidů, aldehydů, ketonů, aminů a sulfidů. Monoterpeny, seskviterpeny, a dokonce některé diterpeny tvoří kompozici mnoha esenciálních olejů. Velká většina složek je přítomná v množství nižším než 1 % [1, s. 41], [2, s. 2, 7, 13], [3, s. 43, 44], [4, s. 146, 147].

Oleje jsou používány jako takové nebo ve zředěné formě. Uvolněny mohou být ze svých matric například vodou, vodní párou, suchou destilací, nebo expresí u citrusových plodů. V některých případech jsou vázány se sacharidy ve formě glykosidů. Tyto látky musí být uvolněny hydrolyzou glykosidické vazby. Extrakty z aromatických rostlin nebo živočišných materiálů, získané za použití organických rozpouštědel nejsou považovány za čisté silice [1, s. 41], [2, s. 6], [13, s. 155].

Vzhledem k jejich kapalnému skupenství při pokojové teplotě, by neměly být zaměňovány s oleji potravinářskými. Ty se totiž skládají z přirozeně se vyskytující směsi triacylglycerolů (TAG), které nejsou těkavé. Z tohoto důvodu, se esenciální oleje liší chemickým složením, tak i fyzikálními vlastnostmi. Rozdíl jsou patrné i při zkoušce, kdy se esenciální olej úplně vypaří z filtračního papíru, a naopak olej potravinářský neboli TAG na něm zanechá trvalou mastnou skvrnu, která se neodpaří ani při zahřátí [6, s. 179].

Většina esenciálních olejů je bezbarvá nebo světle žlutá, ačkoli některé jsou výrazně barevné, jako například modrý heřmánkový a řebříčkový olej, nebo kozlík lékařský, který má barvu zelenou [2, s. 6].

1.1 Historie

Éterické oleje jsou známy po staletí, dokonce tisíciletí, jejich používání má tedy dlouhou historii. Dříve než se začaly používat samotné vůně olejů, muselo být rozpoznáno jejich působení. Lidé objevovali, že některé listy, plody a kořeny, které sbírali, působily na zlepšení stavu nemocných lidí, nebo že výtažky z některých rostlin napomáhali k hojení ran. Pozorovali rovněž rostliny, které si vybírala nemocná zvířata k jídlu. Na základě těchto svých zkušeností a znalostí pak dále oleje využívali k různým účelům. Později byly také použity při přípravě rané kosmetiky, pracích prášků a mýdel [1, s. 85–88].

Pokud jde o historický počátek výroby esenciálního oleje, tak se názory výrazně liší. Podle některých byla kolébkou hydrodestilace Čína, zatímco jiní poukazují na Indskou kulturu. Avšak jsou zde i zprávy, které uznávají také Araby, jako vynálezce destilace. Některé publikovatelné zprávy naznačují, že první praktické zařízení pro destilaci vody, je datováno z Indské kultury před 5000 lety. Nicméně nebyly zjištěny žádné písemné doklady, které by to potvrzovaly. Nejstarší doložené záznamy o metodě a zařízení, které se zdají být druhem destilačního postupu pochází z Mezopotámské kultury. Popisují druh hrnce na vaření, který se lišil od designu hrnce té doby, kdy zvláštním rysem byl kanál mezi vyvýšenými okraji. Mezopotámské umění destilace bylo poté oživeno ve starověkém Egyptě a rozšířeno o techniku lisování citrusových plodů [1, s. 87, 88].

První důkaz schopný rozlišovat mezi těkavými oleji a vonnými mastnými oleji byl předložen v šestnáctém století. Dostupnost tištěných knih usnadnila vědcům hledání návodů k destilaci esenciálních olejů. Zatímco znalosti vědy o esenciálních olejích se během sedmnáctého století nezvýšily, osmnácté století přineslo malý pokrok v konstrukci zařízení a zdokonalování používaných technik. Začátek devatenáctého století přinesl pak velký pokrok v chemii. Vzhledem k tomu, že během devatenáctého století začala průmyslová výroba syntetických chemikálií, zvýšila se tak i výroba esenciálních olejů, která narostla v důsledku jejich významu pro novodobý způsob života [1, s. 85–88].

1.2 Zdroje esenciálních olejů

Esenciální oleje lze nalézt v různých částech rostlin ve zvláštních pletivech. Jsou tak přítomny v květech (levandule, růže, magnolie) a v listech (eukalypty, máty, petitgrain, pačuli, lemongrass). Někdy mohou být použity celé části

rostlin (bazalka, tymián, rozmarýn). Oleje se také často získávají ze semen, které bývají součástí plodů, jako je koriandr, kardamom, pepř a nové koření. Citrusové oleje jsou lisovány z epikarpu citrusů (citron, limetka, grapefruit, mandarinka). Plody nebo možná přesněji bobule získáme z jalovce. Znamé mohou být také pro získávání kůry z břízy a skořice. Dále se využívá benzoe a peruánský balzám (kadidlo), šišek (cypriš), jádro dřeva (santalové dřevo), jehličí (pro esenciální oleje získaných z druhů Pinus), oddenků (zázvor, kozlík) a kořenů trav (vousatka-vetiver), kde jsou uloženy v sekrečních buňkách, dutinách, kanálcích, epidermálních buňkách nebo žlázových trichomech. Nalézt EO můžeme i v mořských řasách, houbách a plísních. U rostlin plní esenciální oleje ochranou funkci proti býložravcům, škůdcům, ale také lákají hmyz k opylování rostliny, nebo jsou využity ke komunikaci (hmyzí feromony) [1, s. 41], [2, s. 6], [3, s. 43, 44].

1.3 Falšování

Nákladnější esenciální oleje, jak bylo řečeno v úvodu, bývají předmětem falšování, pančování. Mezi takové patří například silice růže, santalového dřeva nebo neroli. Účelem je zvýšit zisk přidáním jiných pachových látek. Takové vonné příměsi pak mohou obsahovat jiné esenciální oleje či syntetické chemikálie. Příměsi nebo „plniva“, které se používají, jsou látky, jako je ethanol, rostlinný a minerální olej, glykoly, ftaláty a stále oleje především řepkový a bavlníkový [5, s. 11].

Přidávání rostlinných nebo minerálních olejů je především z důvodu jejich relativně nízkým nákladům, snadné dostupnosti, hustotě blízké éterických olejů a podobné mastné textuře. Tento druh falšování má za následek pouze ředění, které snižuje vůni esenciálního oleje [4, s. 148].

K provádění kontrol olejů se obvykle používají moderní analytické techniky, jsou ale také k dispozici jednoduché testy, které byly nastaveny dlouho před příchodem výkonných analytických zařízení. Tyto jednoduché testy se osvědčily a byly široce používány. V průběhu času, ale začaly vykazovat drobné nedostatky. Například lze uvést jódový test, který můžeme použít k charakterizaci oxidací produktu, což je považováno za známku falšování rostlinnými oleji. Další test může být proveden saponifikační reakcí s vodným hydroxidem draselným, kdy tvorba krystalů indikuje potenciální podvod přidáním esterů [4, s. 150, 153].

1.4 Analýza esenciálních olejů

V dnešní době kontrola shody esenciálního oleje začíná řadou zkoušek podle doporučení certifikačních a regulačních orgánů (např. ISO a lékopisy), aby se zajistila identita, kvalita, bezpečnost a účinnost extraktu [3, s. 73, 74], [4, s. 150], [13, s. 157].

Mezi techniky a kritéria, které se používají k posouzení kvality esenciálních olejů patří:

- Senzorické hodnocení
- Fyzikálně-chemické parametry
- Instrumentální techniky

1.4.1 Senzorické hodnocení

Provádí se pomocí smyslových orgánů. Za nejdůležitější orgán tohoto hodnocení je nos. Senzorické hodnocení bývá považováno za jedno z velmi důležitých, například pro parfumářský průmysl. Parfumeráři či experti na vůně mají často poslední slovo o kritériích přijatelnosti. Jejich hodnocení bývají ověřena a doložena experimentálním důkazem. [3, s. 73].

1.4.2 Fyzikálně-chemické parametry

Jedná se o testy, které jsou vyžadovány v publikovaných monografiích o esenciálním oleji v normách, lékopisech a kodexech.

Fyzikálně-chemické vlastnosti stanovujeme standardizovanými metodami, jako je měření indexu esterů, kyselin nebo karbonylů, lomu, hustoty, optické aktivity, bodu tuhnutí nebo bodu varu. Na základě těchto technik lze provádět kontrolu kvality a hodnocení esenciálních olejů a následně detekovat možné falšování. Některé esenciální oleje, jako jsou například citrusové, obsahují převážně (+)-limonen, budou tak mít při přidání terpentýnu nižší měrnou hmotnost a nižší optickou rotaci, protože α -pinen, jeho hlavní složka, má nižší bod varu a nižší optickou rotaci. U pepermintového oleje je přidání terpentýnu charakterizováno bodem tuhnutím nižším než 10,5 °C [3, s. 73], [13, s. 158, 159].

1.4.3 Instrumentální techniky

Jako jedny z moderních metod, používané k hodnocení kvality esenciálních olejů se využívají chromatografické techniky. Pro analýzu esenciálních olejů jsou nejdůležitější

separační techniky, jako plynová chromatografie GC a kapalinová chromatografie LC. V kombinaci s GC lze použít celou řadu detektorů. Pro kvantitativní analýzu základních složek esenciálního oleje je dostačující plamenově ionizační detektor FID. Dále můžeme zmínit například hmotnostní kvadrupólový detektor, který je také nezbytný pro charakterizaci složek silic.

Mezi další techniky patří nukleární magnetická rezonance NMR, kterou považujeme za novější nástroj pro detekci falšování. Podobná je pak i další technika ^{13}C -NMR, která může být úspěšně využita v přímé analýze esenciálních olejů. Dále se můžeme setkat s metodami jako tenkovrstvá chromatografie TLC, infračervená spektrometrie IR, hmotnostní spektrometrie MS a ultrafialovo-viditelná spektroskopie UV/VIS [3, s. 73, 74], [13, s. 159].

2 CHEMICKÉ SLOŽENÍ A CHEMOTYPIZACE SILIC

Esenciální oleje jsou organické (tj. na bázi uhlíku) sloučeniny, jako například i rostlinné oleje, se kterými se často mísí. Obvykle obsahují desítky podobných složek, ale i výrazně odlišné chemické struktury. Každá složka má charakteristickou vůni a účinky na tělo člověka či jeho psychiku. Většina složek je široce rozšířena v celé rostlině. Ačkoliv esenciální oleje obsahují mnoho různých typů sloučenin, jedna nebo dvě složky často převládají. Procentuální zastoupení dané složky neboli silice se často mění. To můžeme vidět u příkladu viz. tabulka 1. Tyto odchylky mohou být způsobeny faktory, které mají vliv na prostředí, ve kterém se rostliny nachází [1, s. 42, 43], [2, s. 7, 13–15], [3, s. 43, 44], [4, s. 147], [13].

Je to například:

- A) způsob izolace,
- B) geografická poloha,
- C) povětrnostní podmínky,
- D) typ půdy a hnojivo, které se používá,
- E) důsledky faktorů jako je stáří rostliny, denní doba nebo rok, kdy byly rostliny sklizeny [2, s. 7].

Tabulka 1 Hlavní sloučeniny esenciálního oleje vybraných typů Aksamitníku (*Tagetes lucida*)

Látka	Anethol Typ (2)	Estragol Typ (8)	Methyleugenol Typ (7)	Nerolidol Typ (5)	Smíšený Typ
Linalool	0,26	0,69	1,01	st.	3,68
Estragol	11,57	78,02	8,68	3,23	24,28
Anethol	73,56	0,75	0,52	st.	30,17
Methyleugenol	1,75	5,50	79,80	17,76	17,09
β-Karyofylen	0,45	1,66	0,45	2,39	0,88
Germakren D	2,43	2,89	1,90	st.	5,41
Methylisoeugenol	1,42	2,78	2,00	st.	3,88
Nerolidol	0,35	0,32	0,31	40,52	1,24
Spathulenol	0,10	0,16	0,12	st.	0,23
Karyofylen oxid	0,05	0,27	0,45	10,34	0,53

Místo původu v Guatemala: (2) Cabrican / Quetzaltenango, (5) La Fuente / Jalapa, (7) Joyabaj / El Quiche, (8) Sipacapa / S. Marcos, Smíšený typ: Taltimiche / San Marcos [2].

Tabulka 2 Citrón (destilace) [2, s. 330]

Složka	Obsah
(+)-Limonen	64,0–70,5 %
β -Pinen	8,2–14,0 %
γ -Terpinen	8,4–10,7 %
Geranial	0,7–2,2 %
α -Pinen	1,1–2,1 %
Sabinen	0,8–1,7 %
β -Myrcen + methyl-heptenon	1,4–1,6 %
Neral	0,5–1,5 %

Tabulka 3 Citrón (lisování) [2, s. 331]

Složka	Obsah
(+)-Limonen	56,6–76,0 %
β -Pinen	6,0–17,0 %
γ -Terpinen	3,0–13,3 %
α -Terpineol	0,1–8,0 %
α -Pinen	1,3–4,4 %
Geranial	0,5–4,3 %
Sabinen	0,5–2,4 %
<i>p</i> -Cymen	st.–2,3 %
β -Myrcen	st.–2,2 %
Neral	0,4–2,0 %
Terpinen-4-ol	st.–1,9 %
Neryl-acetát	0,1–1,5 %

*st. – stopové množství/stopý

Tabulka 4 Geografická poloha – Růže damaská (*Rosa × damascena*) [2]

Složka	Obsah
Bulharsko	
Citronellol	16–35,9 %
Geraniol	15,7–25,7 %
Alkany a alkeny	19–24,5 %
Nerol	3,7–8,7 %
Turecko	
Citronellol	24,5–43,5 %
Nonadekan	6,4–20,6 %
Geraniol	2,1–18 %
Henikosan	2–8,9 %

Tabulka 5 Geografická poloha – Levandule (*Lavandula angustifolia*) [2]

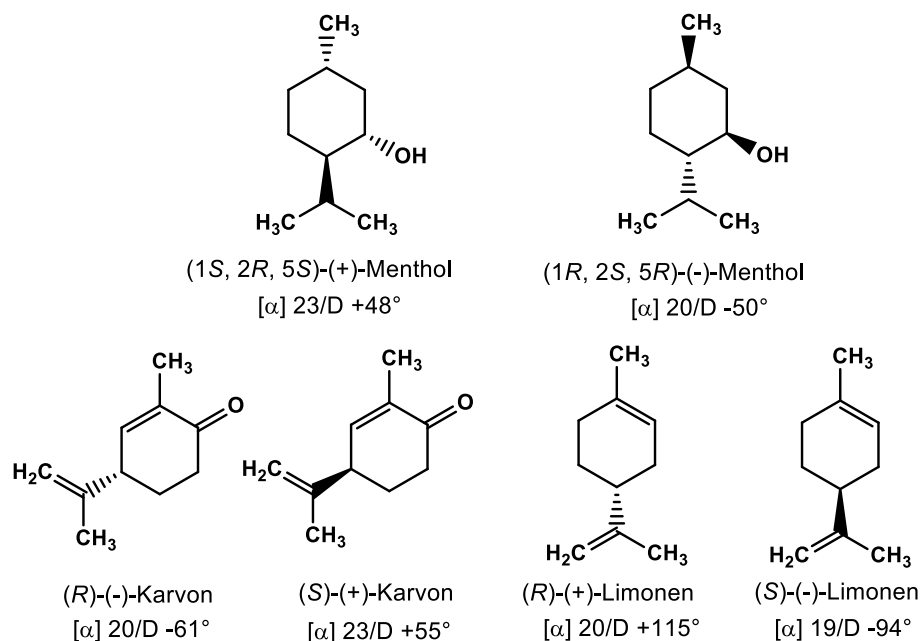
Složka	Obsah
Francie	
Linalool	30–45 %
Linalyl-acetát	33–46 %
Levandulyl-acetát	<1,3 %
β -Karyofylen	1,80 %
Bulharsko	
Linalool	22–34 %
Linalyl-acetát	30–42 %
Levandulyl-acetát	2–5 %
(<i>Z</i>)- β -Ocimen	3–9 %
Austrálie	
Linalool	25–38 %
Linalyl-acetát	25–45 %
Terpinen-4-ol	1,5–6 %
(<i>Z</i>)- β -Ocimen	3–9 %

2.1 Izomery

Izomery (nebo enantiomery) jsou sloučeniny se stejným počtem a typem základních atomů, liší se ale způsoby, jakými bývají jejich atomy uspořádány v molekule. Geraniol a nerol patří mezi známé geometrické izomery. Mají různá uspořádání atomů u každého konce jedné z jejich dvojných vazeb uhlík-uhlík. Na rozdíl od jednoduché vazby uhlík-uhlík, dvojně vazby nejsou obvykle schopné volně se otáčet, a proto existují odlišné izomery, které nejsou schopné interkonvertovat. Každá chirální molekula má zrcadlový obraz, který se nazývá optický izomer, jehož atomy a spojení jsou identické, ale uspořádání v prostoru je jiné. Optické izomery mají schopnost otočit rovinu polarizovaného světla v opačných směrech (ve směru hodinových ručiček a proti směru hodinových ručiček) a ve stejném rozsahu. Tato rotace lze měřit s přesností a pomáhá tyto sloučeniny rozlišit. Ačkoli páry optických izomerů jsou v mnoha z nich prakticky identické, vlastnosti jako je teplota tání a teplota varu, které mohou mít, bývají zcela odlišné kvůli asymetrii makromolekul, se kterými interagují.

Pokud existují dva enantiomery ve stejném poměru, pak se jejich sloučenina nazývá racemát. Enantiomery mohou být levotočivé (L, l, -, S), nebo pravotočivé (D, d, +, R). Racemické sloučeniny ukazují nulovou optickou rotaci. Každý enantiomer může vykazovat zcela odlišné organoleptické vlastnosti a být tak charakteristický pro konkrétní zdroj éterického oleje, to může také sloužit jako důkaz pravosti nebo jeho falšování.

Esenciální oleje mají obecně chirální struktury s vysokou enantiomerní čistotou. „Enantiotaxonomy“ lze použít enantiomerní chemotypy nebo „enantiotypy“ za účelem rozpoznání chemické látky mezi úzce souvisejícími aromatickými rostlinami [2, s. 14, 15], [3, s. 71–73].



Obrázek 1 Ukázka izomerů a hodnota optické otáčivosti, roztoky 10 % v ethanolu

[41]

2.2 Chemické složení

V éterických olejích většina funkčních skupin obsahuje heteroatomy (atomy jiné než uhlík) zejména kyslík, zahrnující alkoholy, fenoly, aldehydy, ketony, estery a ethery. Mohou tak být rozděleny do různých skupin v závislosti na jejich chemické struktuře. Obecně však bývají klasifikovány jako terpeny a neterpenové uhlovodíky (alkoholy s krátkým řetězcem a aldehydy tvořící se metabolickou přeměnou či degradací fosfolipidů a mastné kyseliny). Pod pojmem funkční skupina rozumíme atom, nebo skupinu atomů, určující do značné míry charakteristické chemické vlastnosti jakékoli molekuly, která ho obsahuje. Nahradit funkční skupiny atomy vodíku v uhlovodíku neznamená, že uhlovodíková část molekuly nemá žádnou roli ve fyzikálních, nebo chemických vlastnostech sloučeniny. Naopak, má významný vliv na rozpustnost a těkavost, což jsou klíčové faktory vzhledem k pachovým a chuťovým receptorům [2, s. 7, 15], [3, s. 43, 44].

2.2.1 Uhlovodíky

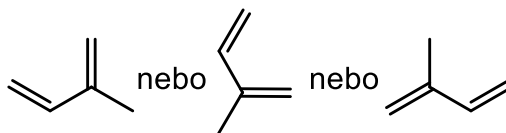
Uhlovodíky jsou rozpustné v lipidech (tj. lipofilní), ale velmi špatně rozpustné ve vodě. Skládají se výhradně z atomů uhlíku a vodíku, mají velkou variabilitu ve velikosti a složitosti struktur. Nejjednodušší uhlovodík je methan (CH₄), vysoce hořlavý plyn bez barvy a zápachu. Uhlíky jsou spojeny jednoduchou, dvojnou nebo trojnou vazbou za vzniku

uhlovodíků s vyšší molekulovou hmotností. Nasycené struktury s přímým řetězcem se nazývají alkany, zatímco jejich nenasycené formy se nazývají alkeny. Alkeny vykazují izomerii vzhledem k poloze atomů vodíku připojených k dvojné vazbě.

- **Alkany:** příklad methan, všechny atomy jsou spojeny dohromady jednoduchými vazbami.
- **Alkeny:** mají jeden nebo více dvojných vazeb ve své struktuře, tato dvojná vazba má významné chemické vlastnosti. Ve složkách obsahujících kruhové struktury může dvojná vazba C=C tvořit část kruhu (endocyklická alkeny), nebo mohou být součástí postranního řetězce (exocyklické alkeny, např. fenypropenoidy).
- **Alkyny:** na rozdíl od alkenů mají alespoň jednu trojnou vazbu C≡C, normálně se nenachází v EO. Společně s alkany se často vyskytují v kruhové nebo alicyklické struktuře a zahrnují cyklohexan, který obsahuje šestičlenný kruh. Složky obsahující jeden nebo více kruhů a jsou označovány jako mono-, bi-, tri-, tetracyklické atd. [1, s. 112], [2, s. 15], [6, s. 8, 27, 51].

2.2.2 Terpenoidy

Nazývané také jako terpeny či izoprenoidy. Nejčastěji se vyskytující sloučeniny v esenciálních olejích společně s fenypropenoidy. Jsou biologicky syntetizovány. Více než 30 000 terpenů bylo izolováno z rostlin, mikroorganismů a zvířat. Dělí se podle počtu izoprenových jednotek. Za hemiterpen bývá považován izopren, který je základní jednotkou; chemicky 2-methyl-1,3-butadien (viz. obrázek 2) [2, s. 16–17], [3, s. 7–14, 44, 45, 540].

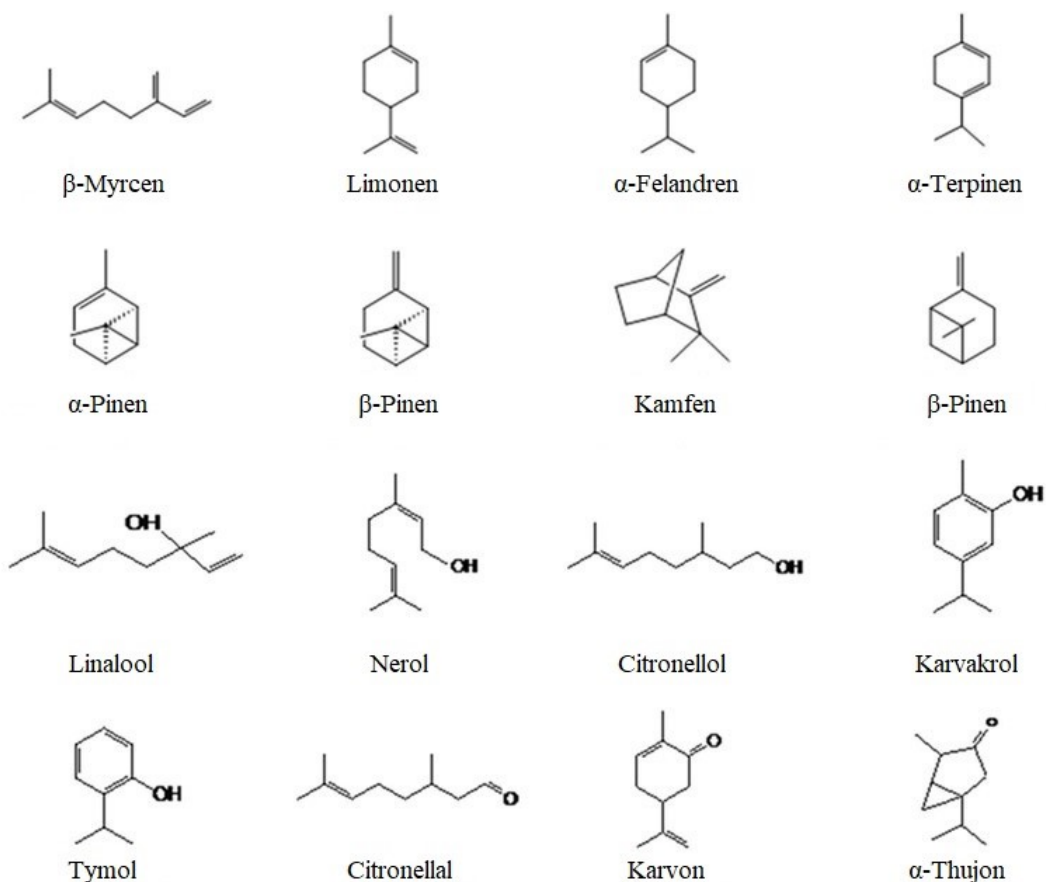


Obrázek 2 Izopren [3, s. 45]

Monoterpeny

Jsou vytvořeny ze dvou připojených jednotek izoprenu: 2,6-dimethyloktanu, jako nejjednodušší kostra. Mohou tedy být acyklické nebo lineární jako β -myrcen, cyklické zahrnují i další důležité členy, a to oxidované deriváty například α -terpineol a mentol. V esenciálních olejích se vyskytují jako aromatické monoterpeny, obsahující benzenový

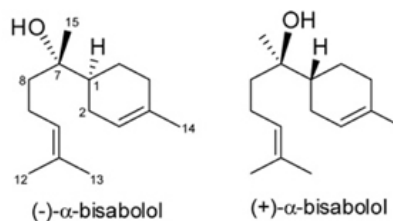
kruh. Například thymol a fenylethylalkohol, kteří jsou společní pro mnoho esenciálních olejů, jako je esenciální olej z oregana, tymiánu a růže [2, s. 16, 17], [6, s. 63–76].



Obrázek 3 Příklady monoterpenů [27]

Seskviterpeny

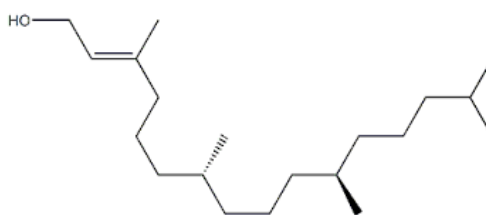
Tvoří se přidáním jedné další izoprenové jednotky k monoterpenové molekule, obsahují tedy tři izoprenové jednotky. Jsou to nenasycené sloučeniny. Existují lineární, rozvětvené nebo cyklické seskviterpeny. Cyklické seskviterpeny mohou být dále monocyklické, bicyklické nebo tricyklické. Jsou méně bohaté na esenciální oleje než monoterpeny, mají větší molekulovou hmotnost a vykazují nižší těkavost. Patří mezi nejrozmanitější skupinu těkavých terpenoidů. Azuleny jsou skupina bicyklických seskviterpenů, které zodpovídají za modré zbarvení některých typických EO. Obsahují vysoce konjugované pětičlenné a šestičlenné členy aromatické uhlíkové kruhy spojené dohromady [2, s. 16, 17], [6, s. 78].



Obrázek 4 Příklad monocyklického seskviterpenu [28]

Diterpeny

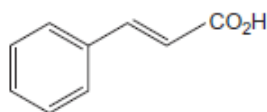
Přeskupení čtyř izoprenových jednotek má za následek tvorbu diterpenů. Skládají se tedy z 20 atomů uhlíku. Diterpeny se obvykle vyskytují v pryskyřicích, např. kyselina pimarová a kyselina abietová. Některé diterpenoidy bývají také složkami éterických olejů, např. phytol. Jako seskviterpeny jsou diterpeny těžší než monoterpeny a potřebují více energie k těkavosti. Z tohoto důvodu musí mít delší destilační časy [3, s. 60–63], [6, s. 86].



Obrázek 5 Phytol [29]

2.2.3 Fenylpropanoidy

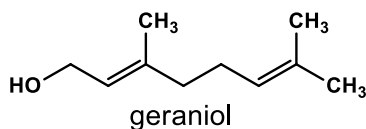
Jsou biosyntetizovány cestou šikimové kyseliny z fosfoenolpyruvátu a erytroxy-4-fosfátu. Nepovažují se za terpenoidy kvůli jejich různým biogenetickým původům. Jednoduché fenylpropanoidy bývají složkami éterických olejů. Vyznačují se řetězcem tří atomů uhlíku připojený k benzenovému kruhu. Jejich hlavní představitelé zahrnují oxidované uhlovodíky anethol, eugenol a safrol, které mají dvojnou vazbu C=C v postranním řetězci a jsou tedy fenylpropenoidové alkeny, nebo „fenylpropenoidy“. Lze zde zařadit i aldehyd kyseliny skořicové a vanilin [2, s. 16], [3, s. 64].



Obrázek 6 (E)-kyselina skořicová [2, s. 18]

2.2.4 Alkoholy

Obsahují hydroxylovou funkční skupinu a nejspíše jsou nejrozmanitější skupina derivátů terpenů. Bývají relativně netoxické a mají nízkou dráždivost a alergenní účinky. Příklady geraniol, linalool, mentol [2, s. 17], [6, s. 9, 27], [18, s. 197].



Obrázek 7 Geraniol

2.2.5 Fenoly

Stejně jako alkoholy, mají také fenoly hydroxylovou skupinu. Ovšem, -OH je připojena k benzenovému kruhu, což činí hydroxylovou skupinu slabě kyselou a poměrně reaktivní. V tomto důsledku mohou fenoly způsobovat podráždění pokožky či sliznice. Příkladem je thymol (viz. obrázek 3) [2, s. 17].

2.2.6 Aldehydy

Tyto sloučeniny obsahují karbonylovou funkční skupinu. Aldehydy, které lze považovat za částečně oxidované primární alkoholy, jsou široce rozšířeny jako složky přírodního esenciálního oleje. Aldehydy mají lehce ovocnou vůni. Často způsobují podráždění kůže a alergické reakce [2, s. 18], [3, s. 51], [6, s. 12], [18, s. 189].

2.2.7 Ketony

Ketony jsou strukturně podobné aldehydům a mají také karbonylovou skupinu. Ketony mohou být produkovány oxidací sekundárních alkoholů. Jsou to relativně stabilní sloučeniny a nejsou dále snadno oxidovány [2, s. 18], [6, s. 17, 44], [18, s. 193].

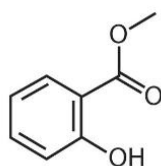
2.2.8 Karboxylové kyseliny a estery karboxylových kyselin

Další kategorií karbonylových funkčních skupin je skupina karboxylové kyseliny, obsahující -COOH. Karboxylové kyseliny vznikají při oxidaci aldehydů a jsou zřídka nalezeny v EO kvůli jejich nízké těkavosti. Jedná se o slabé kyseliny, velmi reaktivní a často mají štiplavý zápach. Ochotně tvoří estery s alkoholy (nebo laktony, pokud je alkohol skupina je ve stejné molekule) a amidy s aminy. Estery karboxylových kyselin mají často intenzivně sladkou a ovocnou vůni, lze je vyrobit z odpovídajícího terpenového alkoholu a karboxylové

kyseliny. Jejich nejvyššího obsahu bývá dosaženo při zralosti ovoce / rostliny nebo při plném květu rostlin [2, s. 18], [18, s. 197].

2.2.9 Estery

Estery benzenoidů a monoterpenových kyselin a alkoholů i nenasycené karboxylové kyseliny se nachází v EO. Například methyl-salicylát, hlavní složka zimostřezového oleje, je odvozen od kyseliny benzoové. Dalšími důležitými estery jsou linalyl-acetát, benzyl-benzoát a benzyl-isobutyrát [1, s. 155], [3, s. 64], [6, s. 18].



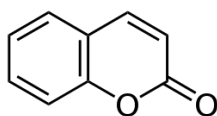
Obrázek 8 Methyl-salicylát [33]

2.2.10 Laktony

Laktony jsou cyklické estery odvozené od kyseliny mléčné. Jsou také složkami mnoha esenciálních olejů i ve složitějších molekulách, které mají nízkou těkavost. Jejich názvy bývají poměrně variabilní. Obsahují heterocyklický kyslík vedle karboxylové funkční skupiny na kruhu, který může být nasycený nebo nenasycený. Ty, které mají pětičlenný kruh se nazývají γ -laktony, a ty, které obsahují šestičlenný kruh, se nazývají δ -laktony. Seskviterpenové laktony jsou proslulé svými tendencemi být senzibilizátory kůže [2, s.19], [3, s. 66], [18, s. 197–200].

Kumarin

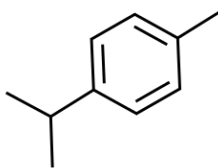
Benzenoidní lakton, který se vyskytuje v několika esenciálních olejích a také ve formě derivátů. Skládá se ze dvou kondenzovaných kruhů. Vůni má podobnou vanilce, a je zodpovědný za vůni nově posekaného sena, nalezneme jej i ve fazoli tonka [2, s. 19], [3, s. 66].



Obrázek 9 Kumarin [25]

2.2.11 Aromatické uhlovodíky

Další třída uhlovodíků je známá jako aromatická. Tyto sloučeniny obvykle obsahují benzenový kruh. Zahrnují fenyl, benzyl, fenylethyl a fenylpropyl i polycyklické struktury, jako je naftalen. Název aromatický pochází z prvních derivátů benzenu izolovaných z rostlin, u kterých bylo shledáno, že jsou příjemně vonící. Příkladem je *p*-cymen [2, s. 15–17], [9, s. 105].



Obrázek 10 *p*-Cymen [26]

2.3 Chemotypizace

Chemotypizace pojednává o rostlinách stejného rodu, které mohou být prakticky identické vzhledem, ale produkují esenciální oleje s různými hlavními složkami. Například komerčně vyráběné tymiánové oleje, jsou rozdělovány odborníky do následujících sedmi chemotypů:

- 1) Karvakrol,
- 2) Thymol,
- 3) Thymol/Karvakrol,
- 4) Borneol,
- 5) Geraniol,
- 6) Linalool,
- 7) Thujanol [2, s. 7].

Příklady:

Tabulka 6 Chemotyp Divoká majoránka (*Origanum majorana*) [2]

Složka	Obsah
Typ Karvakrol	
Karvakrol	76,4–81,0 %
<i>p</i> -Cymen	5,2–6,0 %
γ -Terpinen	3,0–3,6 %
α -Felandren	0–1,8 %
Typ Linalool	
Linalool	67,7 %
Karvakrol	23,3 %
γ -Terpinen	2,1 %
<i>p</i> -Cymen	2,0 %

Tabulka 7 Chemotyp Niaouli (*Melaleuca quinquenervia*) [2]

Složka	Obsah
Typ Cineol	
1,8-Cineol	55–65 %
α -Pinen	7–12 %
Limonen	6–12 %
α -Terpineol	4–10 %
Typ Linalool	
(<i>E</i>)-Nerolidol	61,1 %
1,8-Cineol	2,6 %
α -Pinen	1,9 %
Limonen	23,9 %
α -Terpineol	1,8 %
Typ Nerolidol	
(<i>E</i>)-Nerolidol	75,7–92,5 %
β -Karyofylen	0,5–8,7 %
1,8-Cineol	st.–6,6 %
Karyofylen oxid	0,1–6,1 %

Tabulka 8 Chemotyp Rozmarýn (*Rosmarinus officinalis*) [2]

Složka	Obsah
Typ Borneol	
1,8-Cineol	20 %
Borneol	15,6 %
Kafr	15,3 %
Verbenon	8,4 %
Typ Bornyl-acetát	
α -Pinen	24–28,5 %
Bornyl-acetát	11,5–14,3 %
1,8-Cineol	6,8–13,6 %
Kafr	9,9–10,4 %

Složka	Obsah
Typ Kafr	
Kafr	17–27,3 %
1,8-Cineol	17–22,5 %
α -Pinen	4,4–22 %
γ -Terpinen	0,5–10,8 %
Typ 1,8-Cineol	
1,8-Cineol	39–57,7 %
Kafr	7,4–14,9 %
α -Pinen	9,6–12,7 %
β -Pinen	5,5–7,8 %

3 IZOLACE Z ROSTLIN

Existuje několik metod, které se využívají, mezi nejčastější patří destilace. Uplatněna zejména při zpracování ropy a v potravinářství při výrobě destilátů. V průběhu destilace se oddělují dvě nebo více látek, které se liší bodem varu (těkavostí). Při zahřátí dvousložkové směsi na teplotu varu přechází do plynné fáze směs bohatší na těkavější složku. Termín „destilace“ je odvozen z latinského „distillare“ což znamená „stékání“. Ve své nejjednodušší formě bývá destilace definována jako „odpařování a následné kondenzování kapaliny“. Všechny kapaliny se ve větší či menší míře odpařují, a to i za běžné pokojové teploty. Expres neboli lisování je pravděpodobně nejstarší metoda a používá se téměř výhradně pro výrobu citrusových olejů. Další metodou je hydrodestilace nebo destilace párou, ta patří mezi nejčastěji používanou metodu pro výrobu esenciálních olejů. Patří zde i suchá destilace, která se ale používá jen zřídka pro některé velmi zvláštní případy [1, s. 5, 95, 96], [3, s. 364, 365, 415, 416].

Uvádějí se tři nejčastější metody, které budou dále zmíněny a to:

- Parní destilace.
- Hydrodestilace.
- Lisování.

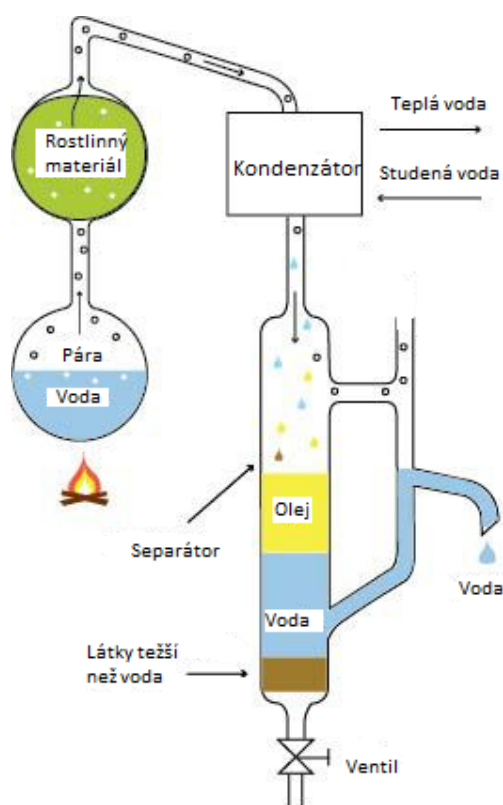
3.1 Parní destilace

V průběhu destilace vodní parou, se těkavé rostlinné látky strhávají parou a následně kondenzují při ochlazení. Vzniká tak nemísitelná olejová a vodná fáze označována také jako květinová voda [13, s. 83].

Historie ukazuje, že o extrahování složek rostlin parní destilací je dlouholetý zájem. Destilační zařízení s různou konstrukcí se hojně vyskytují po celém světě. Zatímco v některých rozvojových zemích se stále používají tradiční a někdy poněkud primitivní metody, vyspělé země se naopak snaží využívat technologicky vyvinutější a komplexnější vybavení jako třeba počítač, který pomáhá s analýzou v procesu konečného produktu. Oba tyto velmi odlišné způsoby komerční výroby poskytují ovšem vynikající kvalitu esenciálního oleje [1, s. 99–117].

Destilační zařízení se skládá ze zásobníku biomasy neboli rostlinného materiálu, chladicího systému, odlučovače oleje a velkokapacitního parního generátoru. Válcový kotel slouží jako

skladovací nádrž s parními trubkami umístěnými ve spodní části destilačního zařízení. Desky s perforovaným sítím se často používají k oddělení rostlinného materiálu, předcházejí tak zhutnění, což umožňuje páře neomezený přístup k biomase. Vývod pro vodní páru nasycenou olejem bývá začleněn do konstrukce obvykle polokulovitého sklopného víka hrnce. Pára pak prochází chladícím systémem, buď deskovým výměníkem tepla nebo povrchovým výměníkem tepla, jako například kondenzátor studené vody. Kapalný kondenzát se často rozděluje na esenciální olej a destilační vodu, ve vhodném odlučovači oleje, jako je florentská nádoba. Destilační voda může být v některých případech redestilovaná a veškerý esenciální olej izolován, vysušen a skladován [1, s. 99–117], [13, s. 89].



Obrázek 11 Obecné schéma parní destilace [30]

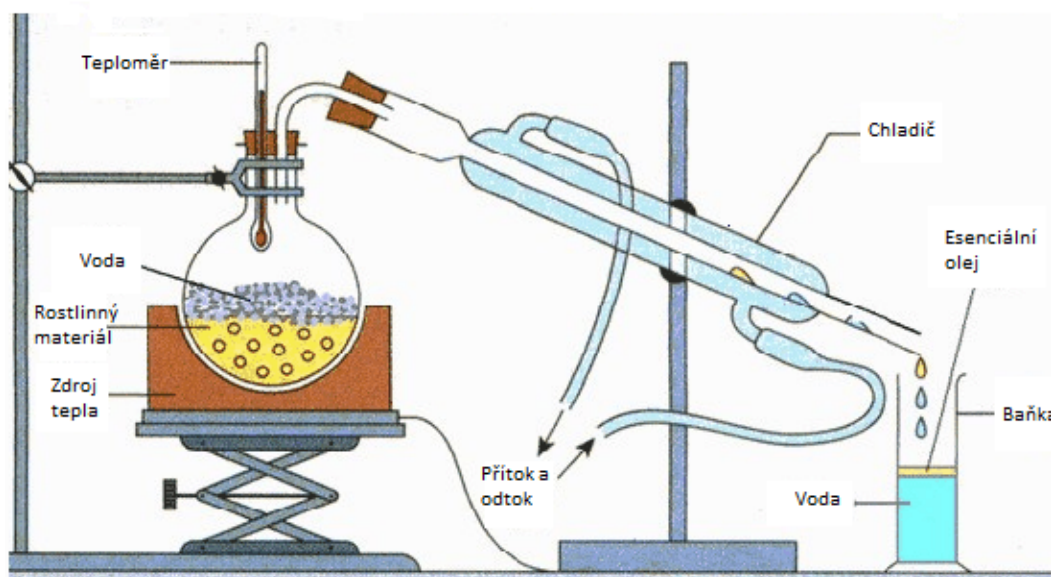
3.2 Hydrodestilace

Princip hydrodestilace je založen na varu suspenze aromatického rostlinného materiálu a vody tak, aby jeho páry byly schopné kondenzace. Olej, který je s vodou nemísitelný, se poté oddělí. Při destilaci bývá rostlinný materiál vždy v přímém kontaktu s vodou. Extrémně důležitým faktorem je to, že v destilátech, kde je voda vařena v přímém kontaktu s ohněm, musí být voda přítomná v destilačním zařízení vždy více než dostatečná, aby vydržela po celou dobu destilace. Rostlinný materiál by se jinak mohl přehřát a zuhelnatět. Lze tomu zabránit, pokud bude udržováno míchání rostlinného materiálu, zatímco se voda vaří, jinak aglomerace hustšího materiálu budou usazeny na dně destilační nádoby a materiál se stane tepelně degradovaným. Důležité je taky zajistit, aby dávka rostlinného materiálu byla snadno rozptýlena ve vodě [1, s. 5], [13, s. 83].

Oleje destilované vodou mají obvykle tmavší barvy a mnohem silnější tóny než oleje produkované jinými metodami. Pokud olej obsahuje složky s vyšší teplotou varu (fenoly, alkenylfenolyethery nebo seskviterpeny), prodlužuje se doba destilace u olejů, které obsahují pouze monoterpenové uhlovodíky a okysličené složky. Obecně není možné vložit dostatek vody do destilace a nechat ji běžet po celý destilační cyklus. Aby se toto kompenzovalo, je na bok destilační trubice umístěna soudržná trubice, voda se tak může neustále vracet do hrnce. Oleje vyrobené hydrodestilací mají tendenci být nižší kvality, než oleje vyrobené jinými metodami z následujících důvodů:

- Hydrolizovatelné složky, jako jsou estery, bývají citlivé na reakci s vodou, zatímco jiné, jako například acyklické monoterpenové uhlovodíky nebo aldehydy, jsou náchylné k polymeraci.
- Oxygenované složky, jako jsou fenoly, mají tendenci se částečně rozpouštět v destilační vodě, takže jejich úplné odstranění destilací není možné.
- Hydrodestilace je pomalejší proces než například destilace parní, v důsledku tedy méně energeticky efektivní.

Výhodou může být to, že u rostlinného materiálu, který má tendenci aglomerovat nebo aglutinovat na neproniknutelnou hmotu, jímž neprojde pára (okvětní lístky růží), je hydrodestilace považována za preferovanou metodu izolace oleje [13, s. 100].



Obrázek 12 Obecné schéma hydrodestilace [31]

3.3 Lisování

Expres nebo lisování za studena, je prováděna převážně u citrusových plodů. Jedná se hlavně o pomeranče, grapefruity, citrony a mandarinky. Tato metoda byla praktikovaná dlouho předtím, než lidé objevili proces destilace, pravděpodobně proto, že nezbytné nástroje byly snadno dostupné. Kameny nebo dřevěné nástroje se jeví jako vhodné pro rozbití olejových buněk a jejich následné uvolnění [1, s. 5, 95–99].

Patří i mezi nejjednodušší techniku, bez nutnosti dodávání tepla. Jde tedy o proces, při kterém se olejové buňky uvnitř kůry citrusových plodů mechanicky rozdrtí tlakem a dochází tak k uvolnění jejich obsahu. Ten je následně převeden do vody, kde vzniká vodná emulze, poté dochází k jejímu odstředování, při kterém se oddělí EO. Dále může probíhat čištění a dochlazení. Tyto oleje lisované za studena jsou běžně komerčně dostupné. Výhodné bývají především pro kosmetiku a aromaterapii [2, s. 119, 120].

Důvodem extrakce citrusových olejů z ovocné kůry pomocí mechanických metod je relativní nestabilita aldehydů v nich obsažených. Mastné, například alifatické aldehydy, jako heptanal, oktanal, dekanal, dodekanal podléhají snadno oxidaci vzdušným kyslíkem, dávají tak podnět k tvorbě zapáchajících karboxylových kyselin [1, s. 96].

Jeden z druhů lisování citrusových plodů se nazývá Pellatrice Process. Jde o proces, kdy jsou citrusové plody přiváděny z násypky do abrazivního pláště stroje. Plody se otáčejí proti abrazivnímu plášti s pomalu se pohybujícím archimédským šroubem, jehož povrch narušuje

ovocný povrch a způsobuje prasknutí některých dutin s esenciálním olejem na kůře a jejich následné uvolnění do emulze olej/voda. Tento šroub dále přepravuje ovoce do násypky, ve které válce pokryté brusnými hroty narušují zbývající olejové dutiny EO. Emulze oleje a vody se z ovoce omyje jemným postřikem vody. Dále pak emulze prochází separátorem, kde jsou odstraněny veškeré pevné látky, poté prochází dvěma odstředivými separátory pracujícími v sérii za získání produktu ve formě čistého oleje. Tímto způsobem se vyrábí většina bergamotového a citronového oleje [13, s. 104, 105].

3.4 Další postupy

Mezi další využívané postupy lze zařadit různé typy extrakce a enfleuráž (kladení čerstvých květů na skleněnou desku, která je pokryta vrstvou tuků) [6, s. 36].

- Extrakce kapalina-kapalina (LLE)
- Extrakce kapalina-pevná látka (LSE)
- Superkritická fluidní extrakce (SFE)
- Extrakce tuhou fází (SPE)
- Mikroextrakce tuhou fází (SPME)

Můžeme zde zařadit i ethanolovou extrakci, která se v případě rostlinných materiálů moc nevyužívá, z důvodu vysokého podílu vody ve srovnání s olejem v rostlině. Tato metoda bývá mnohem důležitější pro materiály jako je ambra. Vorvaň vytváří triterpen známý i pod názvem ambrine ve svém střevním traktu. Jelikož je látka vylučována do moře, prochází řadou degradačních reakcí. Látku pak podrobíme extrakcí etanolem a získáme tinkturu ambry [1, s. 5], [3, s. 364].

4 ANALYTICKÉ METODY

V průběhu posledního půlstoletí bylo vyvinuto a aplikováno velké množství technik k analýze éterických olejů. Část z nich byla dnes nahrazena účinnějšími, nebo snadněji ovladatelnějšími technikami, zatímco jiné metody si zachovaly svůj význam a byly vylepšeny. Mezi nejčastější metody dostupné pro analýzu éterických olejů patří tenkovrstvá chromatografie (TLC), různé typy kapalinové chromatografie (LC) a plynová kapalinová chromatografie (GC). Kromě toho lze uvést několik spektroskopických technik, jako je UV a IR spektroskopie, MS a $^1\text{H-NMR}$ spektroskopie.

Jedna z nejvyužívanějších analytických metod je považována chromatografie. Jde o separační metodu, při které se rozdělují složky přítomné ve vzorku. Vzorek je vpraven mezi dvě, vzájemně se nemísitelné fáze, fází stacionární (nepohyblivou) a fází mobilní (pohyblivou). Existuje velké množství chromatografických metod, které lze rozdělit pomocí skupenství mobilní fáze, uspořádání stacionární fáze, nebo podle povahy děje, který převládá při separaci [1, s. 11], [2, s. 13], [7, s. 10].

4.1 Plynová chromatografie (GC)

Ideální je pro těkavé sloučeniny a ve zjišťování vedlejších chemických složek, zvláště při použití ve spojení s MS a NMR spektroskopií. Jedná se o způsob oddělování komplexní směsi a následné kvantifikaci jednotlivých složek. Do proudu plynu (dusík nebo helium) se dávkuje vzorek, který je dále unášen kolonou. Vzorek musí být okamžitě přeměněn na plyn nebo páru, aby došlo k jeho transportu. Separace složek probíhá na základě různé schopnosti sloučenin poutat se na stacionární fázi. Složky, které opouštějí kolonu, následně zaznamenává detektor vyhodnocující signál z časového průběhu a intenzity daného signálu, pomocí něhož je určen druh a kvantitativní zastoupení složek [1, s. 12, 13], [2, s. 10, 13], [5, s. 14], [13, s. 160–163], [18, s. 106, 107, 114], [23, s. 30].

4.1.1 Detektory

Reagují na přítomnost analytu a zaznamenávají signál v závislosti na čase. Požadavkem je jejich vysoká selektivita pro stanovované analyty. Existuje celá řada detektorů nejvíce se však v analýze esenciálních olejů používá plamenově-ionizační detektor (FID) a hmotnostní spektrometr (MS).

Příklady detektorů v plynové chromatografii:

- Tepelně-vodivostní (TCD): typ univerzálního detektoru, byl jako první komerčně dostupný, nejvíce využívaný při analýzách nízkomolekulárních látek a anorganických plynů.
- Ionizační: založeny na vedení elektriny v plynech, patří zde například plamenově-ionizační detektor (FID), plamenově-ionizační detektor s alkalickým kovem (AFID), detektor elektronového záchytu (ECD) a fotoionizační detektor (PID).
- Atomový emisní (AED): využívají emise záření vzorkem [7, s. 13, 14], [8, s. 896–900, 902, 904, 905], [18, s. 107].

4.1.2 Kolony

- Náplňové: trubice naplněné sorbenty nebo nosiči pokrytými kapalnou fází. Vyrobeny jsou z oceli či skla, o vnitřním průměru 2 až 3 mm a délky 1 až 3 m. Pro adsorpční chromatografii se jako náplně adsorbentů využívá silikagelu nebo grafitizované saze a alumina. Jako molekulová síta se využívá hlinitokřemičitanů. V rozdělovací chromatografii jsou nosiče kapalné fáze na bázi křemeliny.
- Kapilární: nosiči stacionární fáze své vnitřní stěny. Jedná se o kolony dlouhé 15 až 60 m, vyrobené ze skla nebo z taveného křemene s malým vnitřním průměrem od 0,1 do 0,6 mm.

Rozlišujeme 3 typy kapilárních kolon podle uložení mobilní fáze. WCOT, kde se tvoří kapalná stacionární fáze na vnitřní stěně sloupu/kapiláry. PLOT, mající na vnitřní stěně tenkou vrstvičku pórovitého materiálu jako adsorbentu. A jako poslední SCOT, kde je kapalná stacionární fáze potažena na neutrálních porézních nosných částicích. Důležitá bývá také polarita separovaných složek a volba stacionární fáze, která je rozhodující pro výběr vhodné kolony pro daný vzorek. Nepolární sloučeniny bývají složeny jen z uhlíkových a vodíkových atomů, proto se pro analýzy směsí alkanů využívají nepolární kapilární kolony. Na separaci polárních molekul, obsahující na uhlíkovém řetězci jeden nebo více atomů O, N, S, P nebo Cl (aminy alkoholy, estery ketony, thioly, ...) a polarizovatelných molekul, které obsahují jednu či více násobných vazeb mezi uhlíky, používáme spíše polárních kolon. Dále se pro analýzu esenciálních olejů používají nepolární silikonové fáze jako SE-30, SE-52, SE-54, OV-1, OV-73, OV-101, DB-1 a DB-5 [7, s. 12], [13, s. 160–163].

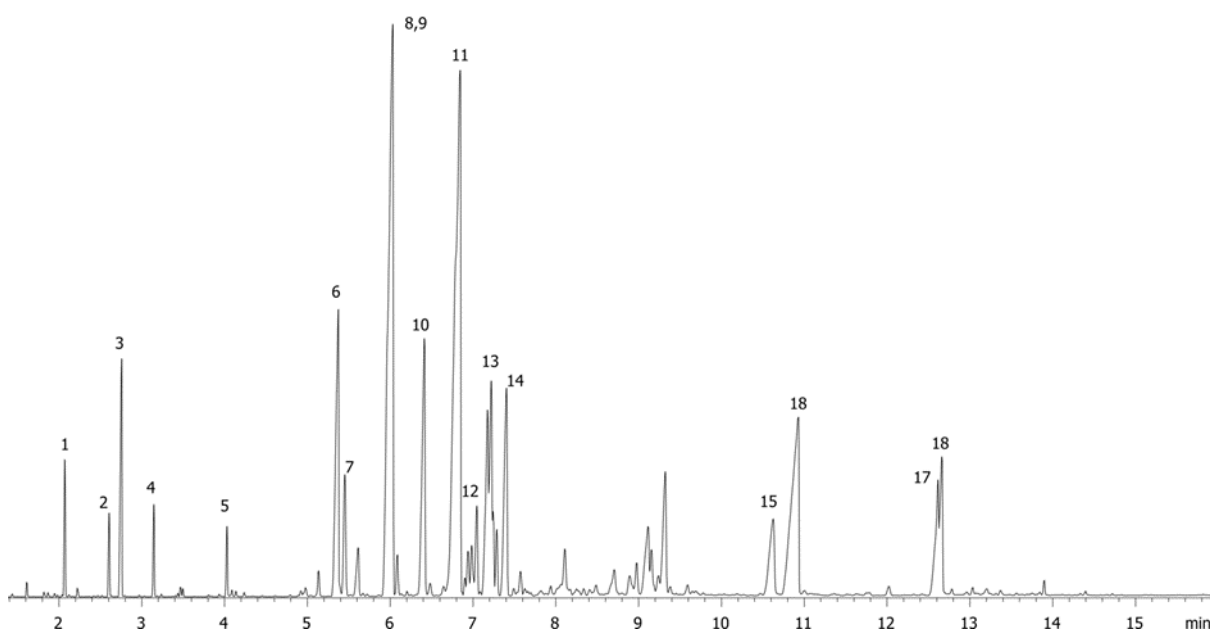
P. A. Paranagama a kolektiv v roce 2001 porovnávali složení olejů získaných z kůry, kořenů, plodů a listů skořicovníku (*Cinnamomum zeylanicum*) rostoucího na Srí Lance. Plynový chromatograf s FID detektorem i MS byl vybaven kolonou Suplecowax-10 a SBP-1. S tím, že bylo konstatováno, že kolona Suplecowax-10 je pro separaci jednotlivých analytů vhodnější. Navíc bylo zjištěno, že EO z jednotlivých částí rostliny mají jiné zastoupení analytů (viz. tabulka 9) [39, s. 148, 149].

Tabulka 9 Zastoupení analytů skořice (*Cinnamomum zeylanicum*) [39, s. 151]

	Kůra	Listí	Kořeny	Plody
Monoterpeny	25,3	6,7	95,2	6,7
Fenyl propanoidy	64,8	85,4	2,2	0,9
Seskviterpeny	8,7	4,7	0,7	83,6

Příklady vybraných kolon od společnosti Phenomenex:

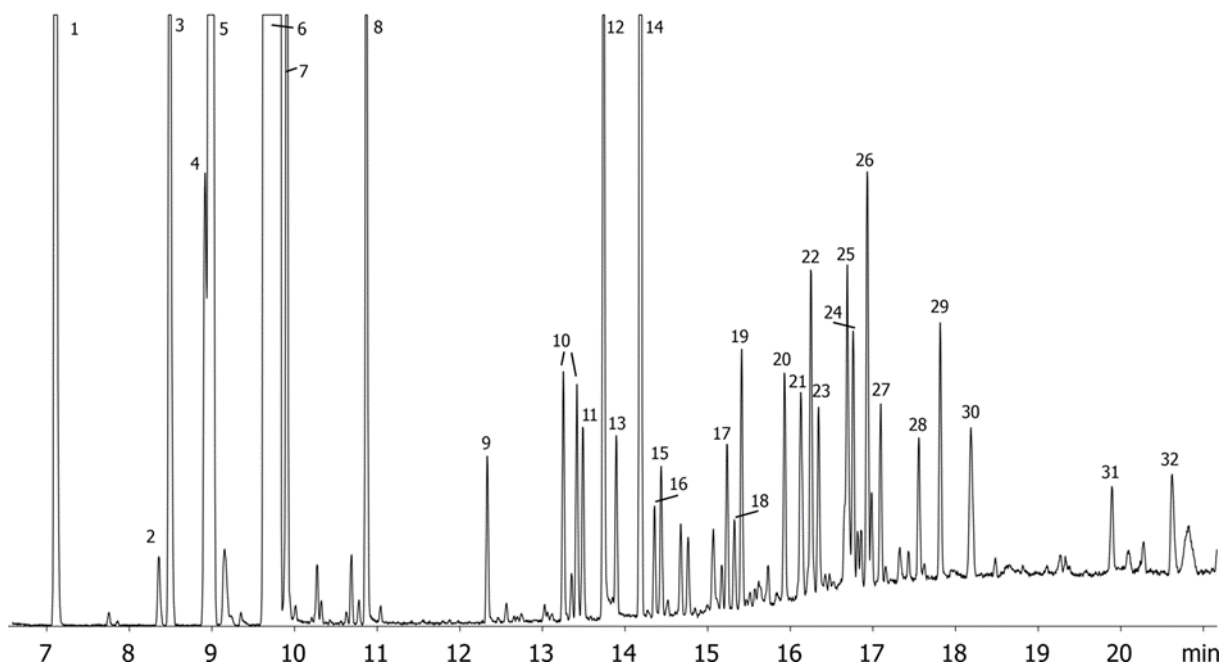
1. Kolona nepolární ZB-1ms o rozměrech 10 m × 0,10 mm × 0,10 μm přičemž je podle podmínek uvedených v aplikačním listu 16053 analyzován EO Ylang Ylang.



Obrázek 13 Složky esenciálního oleje Ylang Ylang [37]

Kde: 3 linalool, 5 geraniol, 10 humulen, 11 germakren, 15 farnesol

2. Kolona polární ZB-WAX Plus 60 m × 0,25 mm × 0,25 μm. Podle podmínek aplikačního listu 15812 je chromatogram ukázkou separace složek za studena lisovaného EO z pomeranče.

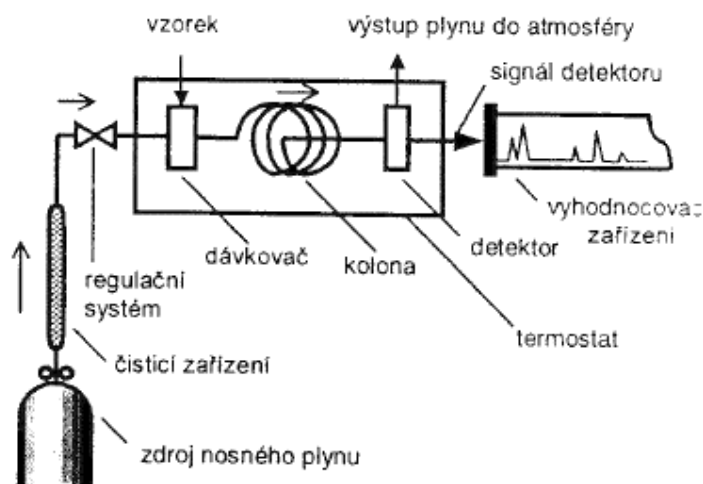


Obrázek 14 Složky za studena lisovaného esenciálního oleje z pomeranče [38]

Kde: 3 sabinen, 6 limonen, 8 oktanal, 14 linalool

4.1.3 Plynový chromatograf

Tlaková láhev slouží pro zdroj nosného plynu, obsahující obvykle vodík, dusík, nebo helium. Čistící zařízení zachytává nečistoty nosného plynu, zbavuje je tak ostatních nežádoucích plynů, které mohou být přítomny. Průtok nosného plynu zajišťuje regulační systém. Dávkovač má na starosti zavedení vzorku do proudu nosného plynu. V koloně je poté umístěna stacionární fáze, kde probíhá separace složek. K identifikaci látek se využívá detektor, který vyšle signál. Ten zachytí vyhodnocovací zařízení a vytvoří tak chromatogram. Následně se provádí vyhodnocení. Termostat zajišťuje dostatečně vysokou teplotu, aby byl udržen vzorek v plynném stavu [7, s. 11].



Obrázek 15 Schéma plynového chromatografu [7, s. 11]

4.1.4 Technika plynové chromatografie-olfaktometrie (GC-O)

V potravinářském průmyslu existuje zvýšená poptávka po rychlých, jednoduchých a citlivých metodách využívaných k hodnocení těkavých látek, pro identifikaci, autentizaci, kontrolu nebo formulaci produktu. Protože kvalita surovin a zpracované produkty jsou často určovány těkavými vlastnostmi, je třeba pro konkrétní vůni objektivní metody k hodnocení aromat a chutí. Ve skutečnosti jsou pro tento účel vycvičeny lidské smyslové panely, které odborníci používají v již zmiňovaném potravinářském a aromatickém průmyslu, k doplnění analytických metod, jako je plynová chromatografie (GC). Aby bylo možné k interpretaci laboratorní analýzy je nutné tyto metody GC často kombinovat s MS nebo současně používat „čichající“ linky. Avšak i tyto nejvíce sofistikované analytické metody nemohou plně nahradit lidský nos, který jako jediný lidský smysl může určit, zda je sloučenina relevantní pro konkrétní vůni/zápach. Není proto divu, že bylo vynaloženo opakované úsilí léta zavádět nástroje fungující na podobném principu jako lidský nos. Byly tedy realizovány uspořádání, které se často nazývají „elektronické nosy“ nebo „umělé nosy“. Princip činnosti, počet senzorů i citlivost a selektivita jsou však velmi odlišné. Proto by byl lepší název „technologie multisenzorového pole“. Potenciální oblasti použití zahrnují tedy potravinářský průmysl, parfumerie, chemický průmysl, farmaceutický průmysl, tabákový průmysl, kosmetiku, kontrolu zdraví a životního prostředí, pokud jsou určeny k požití tak pro kontrolu kvality surového a vyrobeného produktu, sledování čerstvosti

a zralosti, hodnocení efektivity procesu, predikce trvanlivosti a detekce mikrobiálních patogenů [3, s. 326], [14, s. 350, 351].

4.2 Kapalinová chromatografie (LC)

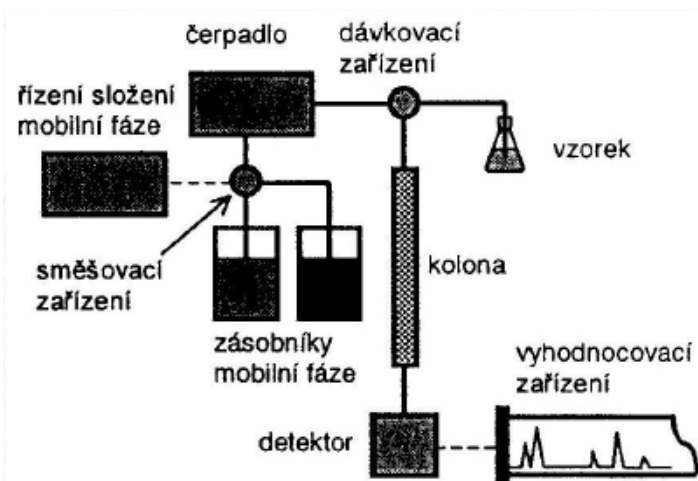
Mobilní fázi bývá kapalina, a je možné pracovat za laboratorní teploty bez nutnosti převádět vzorek na plyn, tudíž může být kapalinová chromatografie vhodná pro separaci tepelně nestálých a netěkavých sloučenin. Techniky kapalinové chromatografie se vždy používaly při analýze éterických olejů. Pro separaci terpenových uhlovodíků od okysličených uhlovodíků se používá jednoduchá sloupcová chromatografie (CC) s normálními fázemi. Frakce se eluují v následujícím pořadí, nejprve n-hexanem nebo pentanem, poté diethyletherem. Vysokoúčinná/vysoce výkonná kapalinová chromatografie (HPLC), středotlaká kapalinová chromatografie (MPLC), vylučovací chromatografie (SEC) (= gelová permeační chromatografie – GPC) a superkritická fluidní chromatografie (SFC), jsou techniky používající se pro prefrakcionaci složitých směsí esenciálních látek před analýzou GC [7, s. 25], [13, s. 160].

4.2.1 Vysoce výkonná kapalinová chromatografie (HPLC)

V některých případech nestačí charakterizovat informace pomocí GC, například u citrusových esenciálních olejů může být vyžadována analýza netěkavé frakce. Analýza se tedy obvykle provádí pomocí LC, označována také jako vysoce výkonná kapalinová chromatografie (HPLC), v normálních (NP-HPLC, kdy je oddělování analytů založeno na základě polaritě pomocí polární stacionární fáze a nepolární mobilní fáze), nebo reverzních fázích (RP-HPLC, založeny na použití nepolární stacionární fáze a vodné, mírně polární mobilní fáze, kdy retenční časy jsou kratší pro polárnější molekuly, které se snadno eluují) [1, s. 165–167], [4, s. 153], [8, s. 921, 922], [18, s. 114].

4.2.2 Kapalinový chromatograf

Čerpadlo, které může být pístové nebo membránové slouží k tomu, aby se kapalina dostala do kolony. Naprogramované směšovací zařízení, zajišťuje složení mobilní fáze. Kolony se využívají pouze náplňové, ovšem různé délky, průměru a náplně. Jsou zpravidla zhotoveny z nerezové oceli, v rozmezí 3–50 cm dlouhé o vnitřním průměru 1–5 mm [7, s. 25].



Obrázek 16 Schéma kapalinového chromatografu [7, s. 25]

4.2.3 Detektory

Měly by být málo citlivé na mobilní fázi, a také selektivní pro analyty. Mezi nejpoužívanější detektory můžeme zařadit:

- Fotometrické: měří absorbanci eluátu vycházejícího z kolony, kdy jednodušší detektory využívají měření při jedné vlnové délce v ultrafialové oblasti a složitější detektory mohou pak využít nastavení vlnové délky pomocí monochromátoru.
- Refraktometrické (RI): měří rozdíly mezi indexem lomu eluátu vzorku a čisté mobilní fáze.
- Fluorescenční: založeny na fluorescenci, jsou vysoce selektivní a lze je kombinovat s fotometrickým detektorem.

Dále se pak můžou využívat i detektory elektrochemické (ECD), které se dělí na dvě třídy, a to voltametrické a konduktometrické. Zařadit lze i hmotnostní spektrometr, který se jako detektor využívá nejen v CG ale i LC [7, s. 26], [8, s. 934, 935, 938, 940–943].

4.3 Tenkovrstvá chromatografie (TLC)

Tato technika se dnes kvůli špatné separační síle nepoužívá pro kvalitativní ani kvantitativní účely pro komplexní směsi, jako jsou éterické oleje. Přesto může být užitečnou technikou pro hodnocení jednoduché směsi [1, s. 155], [13, s. 160].

TLC lze spojit s výkonnými detekčními systémy: MS, IR a Ramanovy spektroskopie [4, s. 152].

4.4 Headspace extrakce (HS)

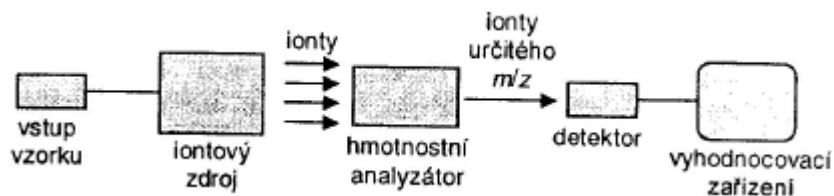
Analýza headspace (HS) se stala další z velmi často používaných technik pro zkoumání aromatických rostlin, vůní a koření. Je to prostředek k oddělení těkavých látek od kapalin nebo pevných látek před analýzou plynovou chromatografií. Přednostně se používá pro vzorky, které se nemohou přímo vstříkovat do plynového chromatografu [1, s. 8], [18, s. 98, 99, 112], [21, s. 251–254].

Techniku HS lze rozdělit do dvou typů: statické a dynamické. Statický HS uzavírá květinu po stanovenou dobu a analyzuje těkavé látky shromážděné na konci období. Dynamický HS v podstatě přesouvá aromatické chemikálie nepřetržitě z květu přímo do sběrné matice. První technika headspace používaná ke sběru vůně květiny, byla statická technika, vyvinutá Dodsonem a Hillem v roce 1966, kteří se pokoušeli identifikovat aromatické látky odpovědné za přilákání včel k orchideji. Umístili tedy orchidej do uzavřené nádoby, po 30 minutách byl plynný vzorek odebrán stříkačkou a vstříknut přímo do GC. Následně byli schopni pomocí této techniky identifikovat různé vonné složky. Jejich jednoduché experimenty zahájily novou cestu výzkumu. Statický HS má však nevýhodu, poskytuje velmi nízké koncentrace méně těkavých aromatických látek, často pod detekčními limity analytických metod. Květina, která má být studována pomocí dynamické HS, je umístěna do zařízení (nádoby) pro minimalizaci vzdušného znečištění životním prostředím. Sběrné nádoby jsou obvykle vyrobeny ze skla a obsahují opatření pro vstupní port, výstupní port a otvor, který umožní zařízení být umístěno kolem nebo nad květinou, aniž by ji poškodilo. Filtr umístěn na vstupním portu obsahuje materiál, sloužící k adsorpci nečistot ve vzduchu. Výstupní port má pasti obsahující materiál, na kterém bude vonící květ adsorbován. To je připojeno k vhodnému čerpadlu nebo vakuovému zařízení. Vzduch přenáší těkavé látky emitované z květu do sběrné pasti, kde jsou zachyceny na adsorpčním materiálu (např. aktivní uhlí, Tenax, Prosil atd.), který je tepelně desorbován nebo vhodně eluován minimálním množstvím vodného rozpouštědla před analýzou pomocí GC nebo GC/MS [13, s. 157], [14, s. 252–255].

4.5 Hmotnostní spektrometrie (MS)

Všestranná, citlivá a rychlá metoda sloužící především ke kvalitativní, ale i kvantitativní chemické analýze. Poskytuje totiž velké množství informací o vzorku a jeho složení. Napomáhá k identifikaci, určení struktury organické látky a určení její relativní molekulové hmotnosti. Používá se tedy hlavně pro objasnění struktury izolovaných sloučeniny. Existují však některé zprávy o hmotnostní spektrometrické analýze éterických olejů. Jeden příklad představil Schultze a kolektiv (1986), zkoumající sekundární metabolity v sušeném rostlinném materiálu přímým hmotnostním spektrometrickým měřením. Pomocí této techniky bylo zkoumáno mnoho léčivých rostlin, jejichž hlavní komponenty byly touto metodou identifikovány [1, s. 21, 28], [7, s. 52], [8, s. 705], [18, s. 108, 114].

Hmotnostní spektrometrie spadá mezi separační techniku, převádějící vzorek na ionizovanou plynnou fázi a vzniklé ionty separuje podle podílu jejich hmotnosti a náboje m/z . Mezi základní kroky této techniky patří odpaření vzorku, ionizace, akcelerace iontů do hmotnostního analyzátoru, separace iontů hmotnostním filtrem a detekce iontů. Hlavní výhodou může být, že analyty jsou odstraněny z matrice vzorku bez použití organického rozpouštědla. Výsledný chromatogram tedy neobsahuje rozpouštědlo [7, s. 50], [9, s. 705], [14, s. 351], [10, s. 118, 119].



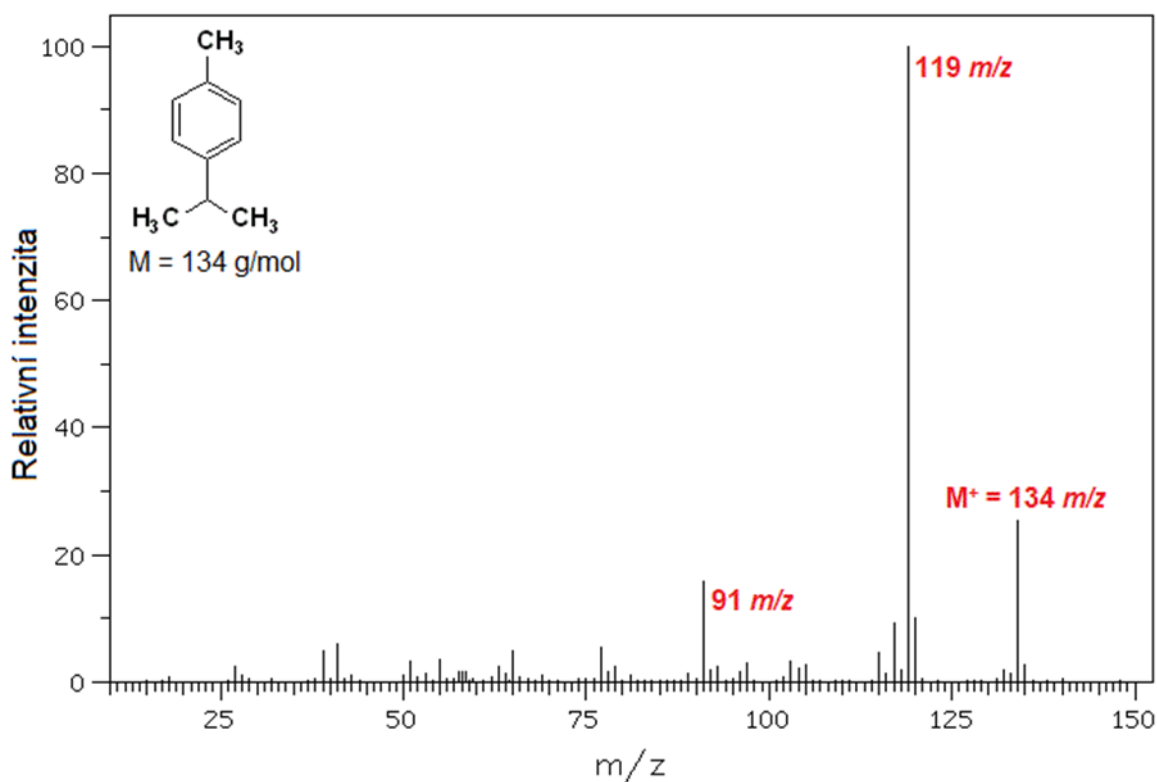
Obrázek 17 Schéma hmotnostního spektrometru [7, s. 50]

Plynová chromatografie / hmotnostní spektrometrie (GC / MS) je sofistikovaná technika, při které MS slouží jako detektor sloučenin separovaných GC. Moderní zařízení GC / MS mají počítačové knihovny a pokročilé vyhledávací systémy. Plynová chromatografie separuje vzorek organické látky. Tyto separované složky jsou v molekulovém separátoru zaveny nosného plynu a analyzovány hmotnostním spektrometrem. Hmotnostní spektrum každé detekované sloučeniny může být okamžitě porovnáno a porovnáno s tisíci hmotnostních spekter obsažených v počítačové knihovně pro identifikaci [7, s. 52], [13, s. 157, 163].

4.5.1 Hmotnostní spektrum

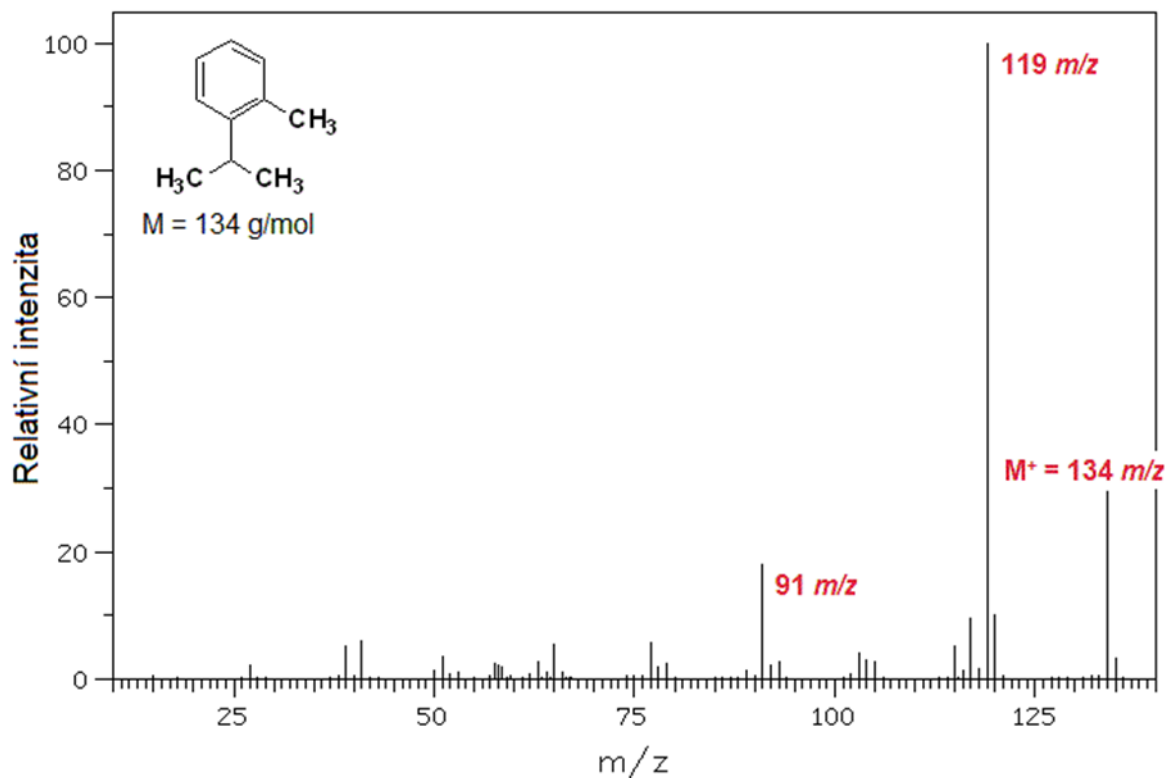
Je to poměrné zastoupení různých druhů iontů, které vznikly za určitých experimentálních podmínek. Vodorovná osa zobrazuje hodnoty m/z a svislá představuje hodnoty relativní intenzity iontového proudu v procentech (viz. obrázek 18) [7, s. 52], [10, s. 118, 119].

Nejintenzivnější pík má pak ve spektru hodnotu 100 % a je označen za základní pík. Společně se základním píkem se vyskytuje i pík molekulový, nazývaný také jako molekulární iont. Zapisován bývá symbolem M^+ a poskytuje molekulovou hmotnost sloučeniny. Tyto molekulové píky můžeme hojně najít například u benzenu či naftalenu. Pokud je základní pík stejný jako pík molekulový, svědčí to o velké stabilitě sloučeniny. Naopak vysoce rozvětvené alifatické sloučeniny, které jsou snadno fragmentovány, mají velmi malé nebo dokonce neexistující molekulové píky a svědčí tak o tom, že sloučenina vykazuje nestabilitu [40].

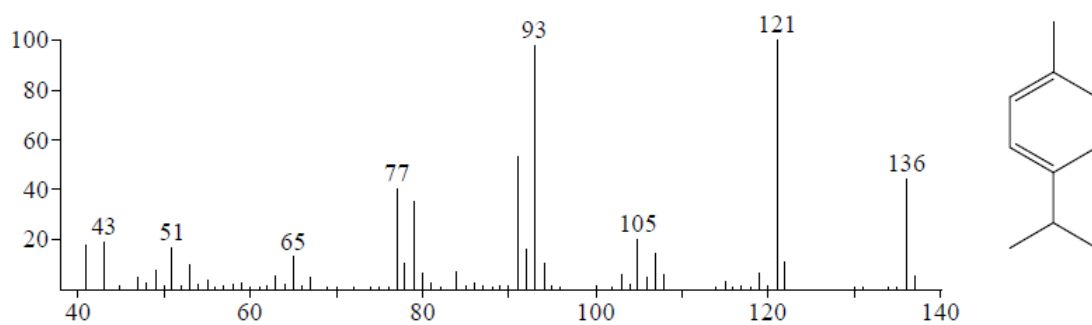


Obrázek 18 Graf – *p*-Cymen [35]

SDBS 1176, CAS 99-87-6, $M^+ = 134 m/z$ (25,5 %), $119 m/z$ (100 %), $91 m/z$ (15,9 %), Retenční čas 8,53 min, AI = 1020 a KI = 1024

Obrázek 19 Graf – *o*-Cymene [35]

SDBS 6722, CAS 527-84-4, $M^+ = 134 \text{ m/z}$ (29,4 %), 119 m/z (100 %), 91 m/z (17,9 %),
Retenční čas 8,59 min, AI = 1022 a KI = 1026

Obrázek 20 Graf – α -Terpinen [11]

CAS 99-86-5, $M^+ = 136 \text{ m/z}$ (40 %), 121 m/z (100 %), 93 m/z (95 %); Retenční čas 8,30 min,
AI = 1014 a KI = 1017

Hmotnostní spektra byla získána na hmotnostním spektrometru Hewlett Packard 5970b MSD, který byl spojen s plynovým chromatografem HP 5890 s kolonou DB-5, 30 m \times 0,25 mm \times 0,25 μ m. Teplota kolony byla zahřívána gradientovým způsobem od 60 $^{\circ}$ C do 246 $^{\circ}$ C rychlostí 3 $^{\circ}$ C/min. Mobilní fáze bylo helium.

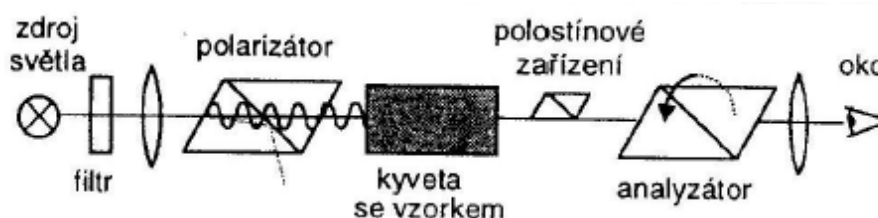
5 DALŠÍ METODY

Dalšími metodami zabývající se hodnocením esenciálních olejů jsou:

- Polarimetrie
- Index lomu
- Hustota
- NMR

5.1 Polarimetrie

Princip polarimetrie spočívá ve sledování schopnosti některých látek stáčet rovinu polarizovaného světla. Takové látky jsou většinou organického původu, a mají ve své molekule uhlíkový atom substituovaný čtyřmi různými substituenty. Mohou to být i látky anorganického původu, které mají asymetrickou molekulu. Souhrnně tyto látky nazýváme jako opticky aktivní. Lze je rozdělit podle směru stáčení roviny polarizovaného světla a rozlišit tak látky pravotočivé a levotočivé. Opticky aktivní látky jsou charakterizované pomocí měrné otáčivosti. Měrná otáčivost je pak definovaná jako úhel, o který otočí opticky aktivní látka rovinu monochromatického polarizovaného světla o jednotkové tloušťce vrstvy a jednotkové koncentraci. Polarimetrie nachází využití především v potravinářském průmyslu, kde se využívá optické aktivity sacharidů. Optická rotace esenciálního oleje je úhel rotace roviny polarizace světelného záření při vlnové délce $589 \pm 0,3$ nm, když prochází přes tloušťku 100 mm esenciálního oleje za dobře definovaných teplotních podmínek [4, s. 148], [7, s. 58, 59].



Obrázek 21 Schéma subjektivního polarimetru [7, s. 59]

Tabulka 10 Základní fyzikální parametry vybraných esenciálních olejů

Název oleje	Optická aktivita $[\alpha]_{20/D}$	Index lomu $n_{[20]}$	Hustota $[\text{g/ml}, 25\text{ }^\circ\text{C}]$	CAS
Citrón (lisovaný za studena)	+ 64°	1,473	0,850–0,853	8008-56-8
Lemongrass	-10° až 0°	–	0,896	8007-02-1
Tymián	-1°	1,502	0,917	8007-46-3
Santalové dřevo	-15°	1,507	0,974	8006-87-9
Zázvor	-39°	1,490	0,871	8007-08-7
Máta peprná	-26°	1,461	0,898	8006-90-4
Eukalypt	–	1,460	0,909	8000-48-4
Petitgrain	-3°	1,459	–	8014-17-3
Rozmarýn	+1,2°	1,467	0,908	8000-25-7
Hřebíček plody	-1,5° až 0°	1,532	1,050	8000-34-8

5.2 Index lomu

Index lomu je poměr mezi sinem úhlu dopadu a sinem úhlu lomu světelného paprsku předem stanovené vlnové délky v éterickém oleji udržovaný při konstantní teplotě [4, s. 148].

5.3 Hustota

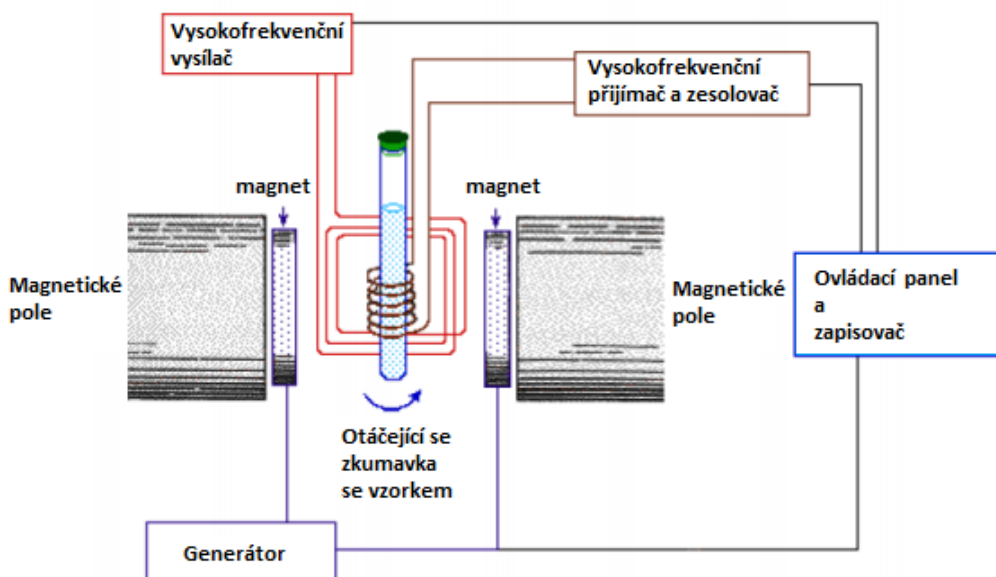
Hustota esenciálního oleje je poměr mezi jeho objemovou hmotností a objemovou hmotností referenční sloučeniny (vody) [4, s. 148].

5.4 NMR

Objev nukleární magnetické rezonance (NMR) sahá do roku 1945. Znamenalo to tak velký skok, který podnítil další vývoj spektrálních metod. První komerční přístroj, Varian HR- 30, byl instalován v roce 1952. Postupem času se NMR stala hlavní identifikační metodou a napomohla tak rozvoji organické chemii nejen v oblasti heterocyklických sloučenin, ale také v oblasti chirálních sloučenin, stereoselektivní syntéze a za poslední roky i při syntéze přírodních sloučenin.

Dokáže studovat intramolekulární a intermolekulární interakce a je také cenným nástrojem v supermolekulární chemii pro látky v kapalném, plynném tak i tuhém stavu. Objasňuje struktury molekul zkoumáním prostředí specifických atomů, jako je například vodík, při

pohledu na jejich charakteristické jaderné spiny. Je tedy založená na interakci spinů jader s radiofrekvenčním zářením v přítomnosti silného homogenního magnetického pole [2, s. 7, 12, 13], [4, s. 152], [7, s. 92–94], [8, s. 113], [10, s. 143–145, 147], [18, s. 109].



Obrázek 22 Schéma NMR spektrometru [34]

NMR spektrometr se skládá ze: silného magnetického pole vytvořeného magnety, zkumavky se vzorkem zachycené v cívce (skrz cívku měněna frekvence radiofrekvenčního záření vznikajícího v generátoru), vysílače, přijímače, zesilovače a z ovládacího panelu (sloužící jako vyhodnocovací zařízení, ze kterého je výsledkem spektrum NMR) [7, s. 94], [10, s. 153].

5.4.1 ^{13}C -NMR

Využita v přímé analýze esenciálních olejů bez potřeby oddělit pomocí GC. Používá se k objasnění struktury chemických látek.

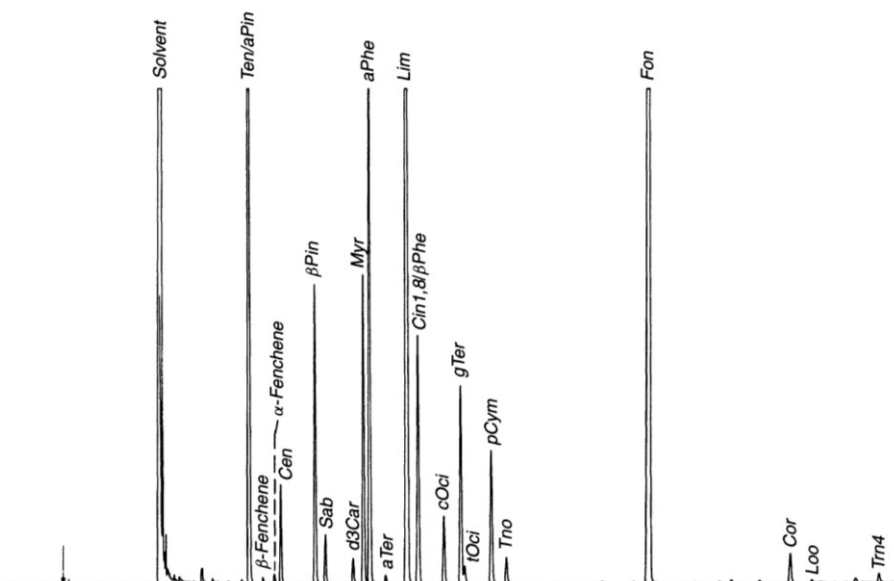
Technika ^{13}C -NMR spektroskopie umožňuje analyzovat vzorek éterického oleje bez předchozího rozdělení na jeho složky. Další výhodou této techniky je, že poskytuje přímé informace o molekulární struktuře a funkčních skupinách jednotlivých složek. Pro rutinní analýzu éterického oleje, se používá protonová širokopásmová oddělovací technika [1, s. 29], [3, s. 74], [8, s. 177], [13, s. 167], [19], [22, s. 265].

Příklad experimentu na *Alpinia speciosa*.

Esenciální olej byl nejprve analyzován za použití přístroje HP-5971 GC / MS vybaveného 25 m kolonou z oxidu křemičitého s kapilárou SE-54 (0,25 mm id), za použití helia jako nosného plynu (1 ml / min) a teplotu naprogramovanou zpočátku od 50 do 180 ° C při 4 ° C / min a poté od 180 do 250 ° C při 20 ° C / min. ¹³C-NMR spektrum oleje bylo získáno na přístroji Bruker A200 (200 MHz, 12 hodin po získání) [22, s. 269].

Tabulka 11 Chemické složení éterického oleje z *Alpinia speciosa* pomocí ¹³C-NMR shody [22, s. 269]

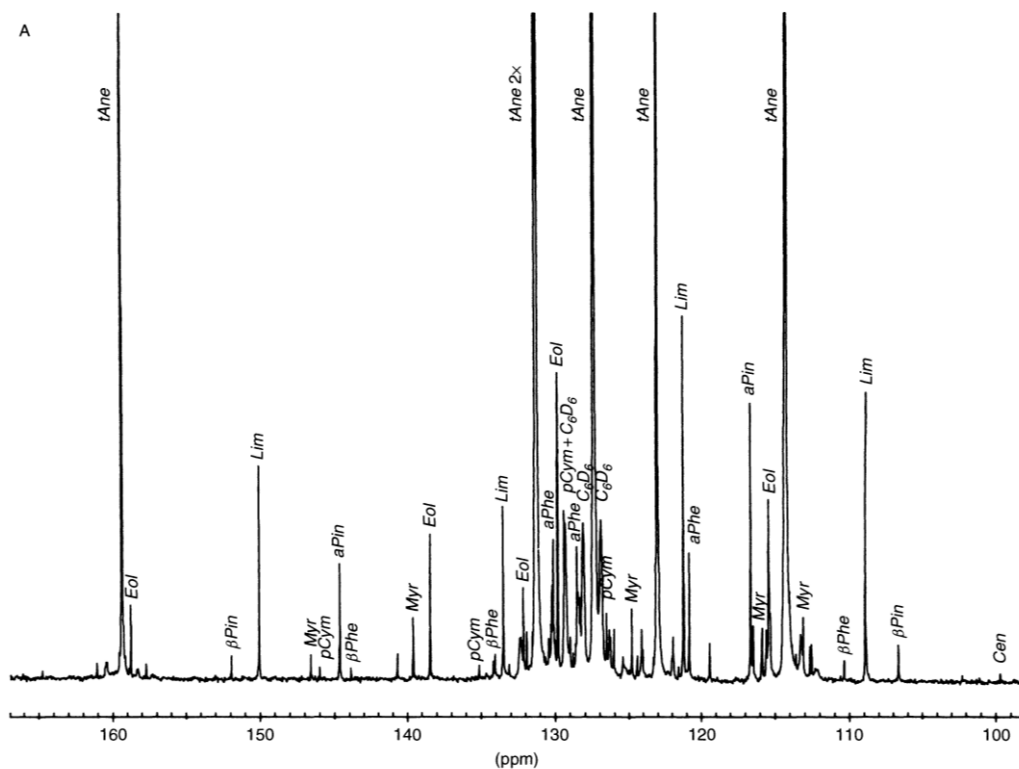
Sloučenina	KI	Obsah [%]	MIG	Shoda 1	Shoda 2
<i>p</i> -Cymen	1011	33,1	0,9	1,0	1,0
1,8-Cineol	1017	18,9	0,9	1,0	1,0
(<i>E</i>)-Terpinen-4-ol	1173	18,8	1,0	1,0	1,0
Sabinen	963	8,2	1,0	1,0	1,0
(<i>Z</i>)-Karyofylenoxid	1556	2,4	0,9	0,9	0,8
α -Thujen	921	2,1	1,0	0,9	0,6
Linalool	1084	1,8	0,9	0,8	0,7
β -Pinen	966	1,6	1,0	0,8	0,5
α -Terpineol	1176	1,1	0,9	0,9	0,4
α -Pinene	927	0,9	1,0	0,8	0,4
(<i>Z</i>)-Sabinen hydrát	1101	0,9	0,8	0,7	0,4
(<i>E</i>)-Sabinen hydrát	1128	0,8	0,8	0,6	0,3
<i>p</i> -Cymen-9-ol	1181	0,7	0,8	0,9	0,7
β -Terpineol	1051	0,7	0,8	0,9	0,3
Piperitol	1196	0,3	0,8	0,7	0,2
(<i>Z</i>)-Nerolidol	1527	0,3	1,0	0,9	0,3
β -Karyofylen	1410	0,2	0,9	0,7	0,2
Bornyl acetát	1269	0,2	0,9	0,7	0,1
Myrcen	978	0,2	1,0	0,6	0,0



Obrázek 23 Chromatogram pro fenyklový olej (Maďarsko) [36, s. 118]

Tabulka 12 Hodnoty pro Fenyklový olej (Maďarsko) [36, s. 118]

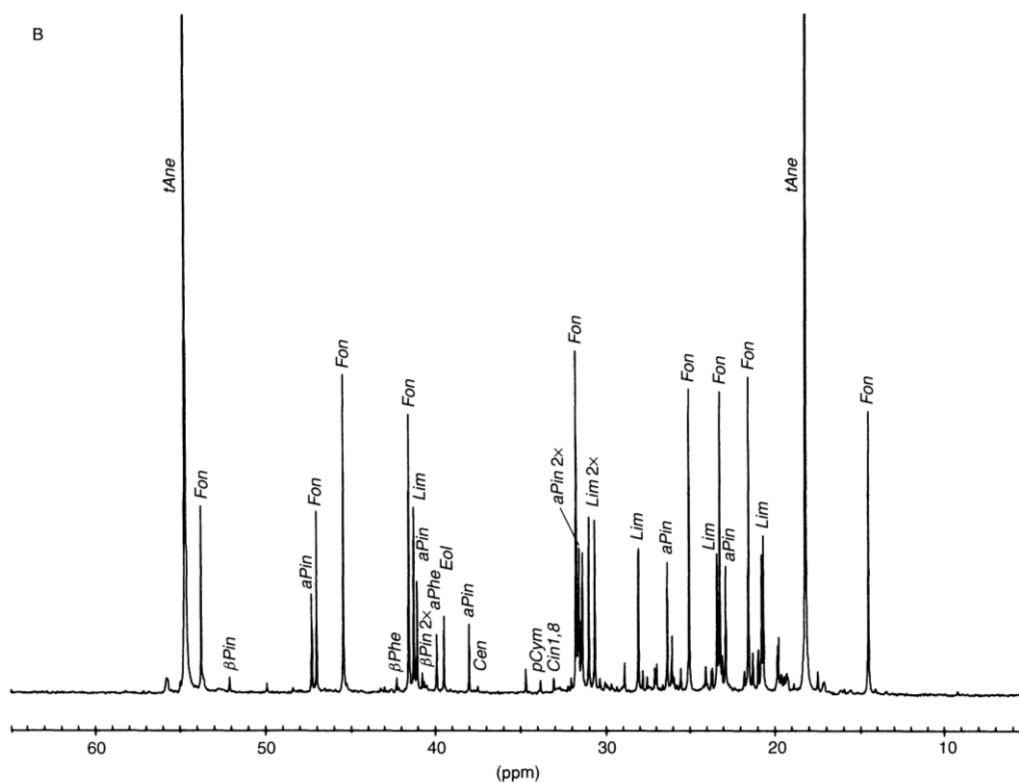
Sloučenina	Kód	Maďarsko	Španělsko	Rektifikovaný	Sladký
		%			
α-Thujen/α-Pinen	Ten/αPin	11,73	15,86	0,73	1,95
β-Pinen	βPin	1,63	4,15	0,06	0,59
Sabinen	Sab	0,27	0,21	0,22	0,10
Myrcen	Myr	1,80	3,13	0,11	0,87
Limonen	Lim	10,33	28,58	5,72	21,03
Linalool	Loo	0,01	0,01	–	0,35
Estragol	Eol	2,34	1,44	5,07	2,28
<i>trans</i> -Anethol	tAne	47,59	14,48	67,30	58,12



Obrázek 24 ^{13}C -NMR spektrum (A) pro fenyklový olej (Maďarsko), rozsah 100 až 160 ppm [36, s. 120]

Tabulka 13 Hodnoty chemického posunu ^{13}C -NMR spektrum (A) [36, s. 120]

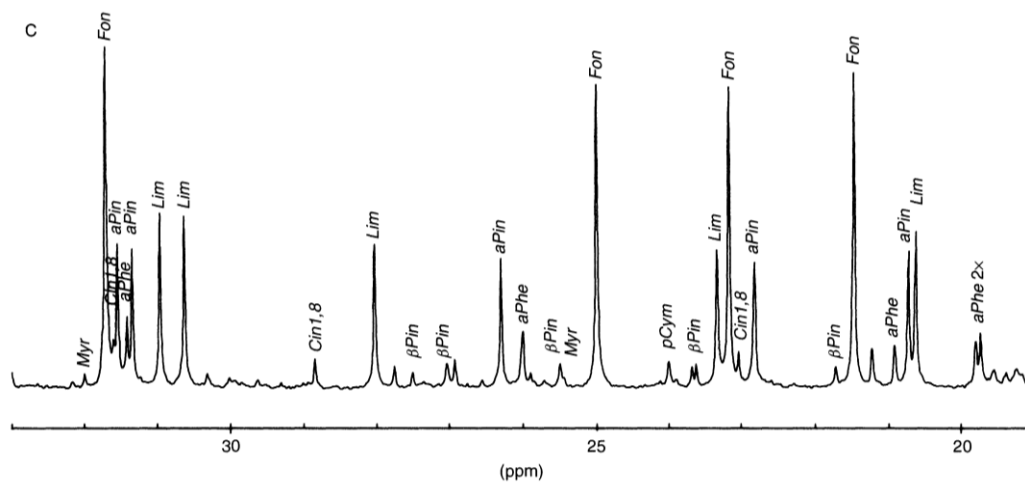
Chemický posun [ppm]	Intenzita [%]	Kód	Sloučenina
159,24	24,4	tAne	<i>trans</i> -Anethol
158,65	1,1	Eol	Estragol
149,96	3,0	Lim	Limonen
144,53	1,6	α Pin	α -Pinen
139,47	0,9	Myr	Myrcen
138,31	2,1	Eol	Estragol
133,37	2,4	Lim	Limonen
132,03	1,3	Eol	Estragol



Obrázek 25 ^{13}C -NMR spektrum (B) pro fenyklový olej (Maďarsko), rozsah 10 až 60 ppm [36, s. 121]

Tabulka 14 Hodnoty chemického posunu ^{13}C -NMR spektrum (B) [36, s. 121]

Chemický posun [ppm]	Intenzita [%]	Kód	Sloučenina
54,69	49,5	tAne	<i>trans</i> -Anethol
47,32	2,7	α Pin	α -Pinen
41,24	5,1	Lim	Limonen
41,06	3,0	α Pin	α -Pinen
40,73	0,5	β Pin	β -Pinen
39,47	2,1	Eol	Estragol
37,99	1,9	α Pin	α -Pinen
31,00	4,8	Lim	Limonen



Obrázek 26 ^{13}C -NMR spektrum (C) pro fenyklový olej (Maďarsko), rozsah 20 až 33 ppm [36, s. 122]

Tabulka 15 Hodnoty chemického posunu ^{13}C -NMR spektrum (C) [36, s. 122]

Chemický posun [ppm]	Intenzita [%]	Kód	Sloučenina
31,59	4,0	α Pin	α -Pinen
31,00	4,8	Lim	Limonen
30,67	4,7	Lim	Limonen
25,53	0,7	β Pin/Myr	β -Pinen/Myrcen
23,71	0,6	β Pin	β -Pinen
23,37	3,8	Lim	Limonen
22,85	3,5	α Pin	α -Pinen
21,75	0,6	β Pin	β -Pinen

ZÁVĚR

Cílem této bakalářské práce bylo shrnout složení a metody využívající se pro hodnocení esenciálních olejů. Jelikož se esenciální oleje staly nedílnou součástí našeho života, nalezneme je například v oborech medicíny, lázeňství či aromaterapii. Jejich frakce a izoláty se pak používají jako doplňkové látky v potravinářství, kosmetice i parfumerářství.

Vzhledem k rozšířené poptávce, se některé oleje vyrábějí ve velkém množství, to může v důsledku způsobovat narůstající pančování a falšování. Existují tak například levnější oleje stejného druhu, ale různého zeměpisného původu, nebo oleje extrahované z jiné části rostliny. Dále pak mohou obsahovat i přídavné látky, například alkoholy či rostlinné oleje, které se používají jako ředidla.

Autentizace je tedy velmi důležitá jak pro spotřebitele, tak i pro chemické společnosti. Ke stanovení profilu chemických složek éterického oleje slouží analytické metody, včetně chromatografických a spektroskopických technik. Pro analýzu silic jsou nejdůležitější separační techniky (GC, LC), které lze použít i v kombinaci s řadou detektorů. Další technikou využívající se pro detekci falšování je NMR. Ta objasňuje struktury molekul zkoumáním prostředí specifických atomů. Velmi podobná je i ^{13}C -NMR spektroskopie umožňující analyzovat vzorek éterického oleje bez předchozího rozdělení na jeho složky. Výhodou této techniky může být i to, že poskytuje přímé informace o molekulární struktuře a funkčních skupinách jednotlivých složek.

SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY

- 1 BAŞER, K. H. C. a Gerhard BUCHBAUER. *Handbook of essential oils: science, technology, and applications*. Boca Raton: CRC Press/Taylor & Francis, c2010. ISBN 978-1-4200-6315-8.
- 2 TISSERAND, Robert a Rodney YOUNG. *Essential oil safety: a guide for health care professionals*. Second edition. Edinburgh: Elsevier, c2013. ISBN 978-0-4430-6241-4.
- 3 BERGER, Ralf G. *Flavours and fragrances: chemistry, bioprocessing and sustainability*. New York: Springer, c2007. ISBN 978-3-540-49338-9.
- 4 Thi Kieu Tiên Do, Francis Hadji-Minaglou, Sylvain Antoniotti, Xavier Fernandez, *Authenticity of essential oils*, TrAC Trends in Analytical Chemistry, **66**, 2015, Pages 146-157, ISSN 0165-9936, DOI: 10.1016/j.trac.2014.10.007
- 5 Tzi Bun Ng, Evandro Fei Fang, Alaa El-Din Ahmed Bekhit, Jack Ho Wong, *Chapter 2 - Methods for the Characterization, Authentication, and Adulteration of Essential Oils*, Editor(s): Victor R. Preedy, *Essential Oils in Food Preservation, Flavor and Safety*, Academic Press, 2016, Pages 11-17, ISBN 9780124166417, <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-416641-7.00002-X>.
- 6 PYBUS, David H. a Charles S. SELL. *The chemistry of Fragrances*. RSC Paperbacks. Ashford, Kent, UK: The Royal Society of Chemistry, c1999. ISBN 978-0-85404-528-0.
- 7 KLOUDA, Pavel. *Moderní analytické metody*. 2., upr. a dopl. vyd. Ostrava: PavelKlouda, 2003. ISBN 80-86369-07-2.
- 8 ROBINSON, James W., Eileen M. Skelly FRAME a George M. FRAME. *Undergraduate instrumental analysis*. Seventh edition. Boca Raton: CRC Press, Taylor & Francis Group, c2014. ISBN 1420061356.
- 9 SURBURG, Horst, Johannes PANTEN a Kurt BAUER. *Common fragrance and flavor materials: preparation, properties and uses*. 5th completely rev. Weinheim: Wiley-VCH, c2006. ISBN 3-527-31315-x.
- 10 MILATA, Viktor a Peter SEGĽA. *Spektrálne metódy v chémii*. Bratislava: Vydavateľstvo STU, 2004. Edícia vysokoškolských učebníc. ISBN 80-227-2049-6.

- 11 ADAMS, Robert P. *Identification of essential oil components by gas chromatography/mass spectrometry*. 4th ed. Carol Stream, Ill.: Allured Pub., c2007. ISBN 978-1-932633-21-4.
- 12 SALVADOR, Amparo a Alberto CHISVERT. *Analysis of cosmetic products*. London: Elsevier, c2007. ISBN 978-0-444-52260-3.
- 13 TULEY DE SILVA, K. *A manual on the essential oil industry*. Vienna, Austria: United Nations Industrial Development Organization (UNIDO), c1995. https://www.unido.org/sites/default/files/2009-10/A_manual_on_the_essential_oil_industry_0.pdf
- 14 MARSILI, Ray. *Flavor, fragrance, and odor analysis*. New York: Marcel Dekker, c2002. Food science and technology (Marcel Dekker, Inc.), 115. ISBN 0-8247-0627-7.
- 15 BICCHI, Carlo, Erica LIBERTO, Maura MATTEODO, Barbara SGORBINI, Luigi MONDELLO, Barbara dAcampora ZELLNER, Rosaria COSTA a Patrizia RUBIOLO. *Quantitative analysis of essential oils: a complex task*. Flavour and Fragrance Journal. 2008, **23**(6), 382-391. DOI: 10.1002/ffj.
- 16 SILVERSTEIN, Robert M., Francis X. WEBSTER a David J. KIEMLE. *Spectrometric identification of organic compounds*. 7th ed. Hoboken, NJ, c2005. ISBN 978-0-471-39362-7.
- 17 BEIGI, Mohsen, Mehdi TORIKI-HARCHEGANI a Abdollah GHASEMI PIRBALOUTI. *Quantity and chemical composition of essential oil of peppermint (*Mentha × piperita* L.) leaves under different drying methods*. *International Journal of Food Properties* [online]. 2018, **21**(1), 267-276 [cit. 2020-04-19]. DOI: 10.1080/10942912.2018.1453839. ISSN 1094-2912. Dostupné z: <https://www.tandfonline.com/doi/full/10.1080/10942912.2018.1453839>
- 18 SWIFT, Karl A. D., ed. *Current Topics in Flavours and Fragrances* [online]. Dordrecht: Springer Netherlands, c1999 [cit. 2020-03-27]. DOI: 10.1007/978-94-011-4022-5. ISBN 978-94-010-5775-2.
- 19 OUATTARA, Zena A., Jean Brice BOTI, Antoine Coffy AHIBO, Sylvain SUTOUR, Joseph CASANOVA, Félix TOMI a Ange BIGHELLI. *The key role of ¹³C NMR analysis in the identification of individual components of *Polyalthia longifolia* leaf oil†*. Flavour and Fragrance Journal, 2014, **29**(6), 371-379. DOI: 10.1002/ffj.3215 Published online in Wiley Online Library.

- 20 TOMI, Felix a Joseph CASANOVA. *¹³C NMR as a tool for identification of individual components of essential oils from Labiatae - A review*. Acta Horticulturae. 2006, 723(723), 186-192. DOI:10.17660/ActaHortic.2006.723.21
- 21 ŞERBAN, Elena, Sonia SOCACI, Maria TOFANA a Marius BOJITA. *Advantages of "Headspace" technique for GC/MS analysis of essential oils*. Farmacia. 2012, 60(2), 249-256. DOI:10.1155/1997/930701
- 22 WILSON ALENCAR, José, Maria GORETTI SILVA a Maria Iracema LACERDA MACHADO. *Use of ¹³C-NMR as complementar identification tool in essential oil analysis*. Spectroscopy. 1997, 13(4), 265-273. DOI:10.1155/1997/930701
- 23 BOJITA, Marius a Sameh ABOUZID. *Use of Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy in Analysis of Fennel Essential Oil*. Natural Product Sciences. 2016, 22(1), 30-40. DOI: 10.20307/nps.2016.22.1.30
- 24 BRATTOLI, Magda, Ezia CISTERNINO, Paolo DAMBRUOSO, Gianluigi DE GENNARO, Pasquale GIUNGATO, Antonio MAZZONE, Jolanda PALMISANI a Maria TUTINO. *Gas Chromatography Analysis with Olfactometric Detection (GC-O) as a Useful Methodology for Chemical Characterization of Odo-rous Compounds*. Sensors. 2013, 13(12), 16759-16800. DOI: 10.3390/s131216759
- 25 Kumarin [online]. [cit. 2021-03-10]. Dostupné z: <https://cs.wikipedia.org/wiki/Kumarin>
- 26 *p*-cymen [online]. [cit. 2021-03-10]. Dostupné z: <http://www.chemspider.com/Chemical-Structure.7183.html>
- 27 Monoterpeny [online]. [cit. 2021-03-10]. Dostupné z: https://www.researchgate.net/figure/Examples-of-some-monoterpenes-compounds-found-in-essential-oils-of-plants_fig1_309584490
- 28 Monocyklický seskviterpen [online]. [cit. 2021-03-10]. Dostupné z: https://www.researchgate.net/figure/Alpha-bisabolol-different-isomers-and-farnesol-a-possible-catabolyte_fig1_276079918
- 29 Phytol [online]. [cit. 2021-03-10]. Dostupné z: https://www.chemicalbook.com/ProductChemicalPropertiesCB5281473_EN.htm
- 30 Schéma parní destilace [online]. [cit. 2020-05-19]. Dostupné z: <https://www.meatsandsausages.com/alcohol/equipment/essential-oils>

- 31 Schéma hydrodestilace [online]. [cit. 2020-05-19]. Dostupné z: <http://eoanalyst.blogspot.com/2012/07/small-scale-essential-oil-extraction.html>
- 32 HANNEGUELLE, Sophie, Jean-Noél THIBAUT, Norbert NAULET a Gérard J. MARTIN. *Authentication of Essential Oils Containing Linalool and Linalyl Acetate by Isotopic Methods*. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 1992, **40**(1), 81-87. DOI:10.1021 / jf00013a016.
- 33 Methylsalicylát [online]. [cit. 2021-03-13]. Dostupné z: <https://cz.vwr.com/store/product/2364695/methylsalicylat-98>
- 34 Schéma NMR spektrometru [online]. [cit. 2021-03-13]. Dostupné z: https://web.vscht.cz/~koplikr/NMR_%C4%8D%C3%A1st_1.pdf
- 35 Grafy [online]. [cit. 2020-05-19]. Dostupné z: https://sdb.sdb.aist.go.jp/sdb/cgibin/cre_index.cgi
- 36 KUBECZKA, K. H. a V. FORMÁČEK. *ESSENTIAL OILS ANALYSIS BY CAPILLARY GAS CHROMATOGRAPHY AND CARBON-13 NMR SPECTROSCOPY*. Second 'completely revised' edition. England: John Wiley and Sons. ISBN 0-471-96314-3.
- 37 Složky esenciálního oleje Ylang Ylang [online]. [cit. 2021-04-12]. Dostupné z: <https://www.phenomenex.com/Application/Detail/16053?alias=ZB-1MS&returnURL=/Application/Search>
- 38 Složky za studena lisovaného esenciálního oleje z pomeranče. [online]. [cit. 2021-04-12]. Dostupné z: <https://www.phenomenex.com/Application/Detail/15812?alias=ZB-WAXplus&returnURL=/Application/Search>
- 39 PARANAGAMA, P.A., WIMALASENA, S., JAYATILAKE, G.S., JAYAWARDENA, A.L., SENANAYAKE, U.M. and MUBARAK, A.M., 2001. A comparison of essential oil constituents of bark, leaf, root and fruit of cinnamon (*Cinnamomum zeylanicum* Blum) grown in Sri Lanka. *Journal of the National Science Foundation of Sri Lanka*, **29**(3-4), pp.147–153. DOI: 10.4038/jnsfr.v29i3-4.2613
- 40 STAUFFER E., Julia A. DOLAN, Reta NEWMAN, CHAPTER 8 - *Gas Chromatography and Gas Chromatography—Mass Spectrometry*, Editor(s): Eric Stauffer, Julia A. Dolan, Reta Newman, *Fire Debris Analysis*, Academic Press, 2008,

Pages 235-293, ISBN 9780126639711, DOI: 10.1016/B978-012663971-1.50012-9.
[online]. [cit. 2021-04-30]. Dostupné z:
<https://www.sciencedirect.com/topics/physics-and-astronomy/mass-spectra>

41 Hodnoty optické otáčivosti [online]. [cit. 2021-05-08]. Dostupné z:
www.sigmaaldrich.com

42 The Molecular Ion (M^+) Peak. (2020, August 15) [online]. [cit. 2021-05-14].
Dostupné z: <https://chem.libretexts.org/@go/page/3728>

SEZNAM POUŽITÝCH SYMBOLŮ A ZKRATEK

EO	Esenciální olej (Essential Oil)
GC	Plynová chromatografie (Gas Chromatography)
LC	Kapalinová chromatografie (Liquid Chromatography)
FID	Plamenově-Ionizační detektor (Flame Ionization Detektor)
MS	Hmotnostní spektrometrie (Mass Spectrometry)
NMR	Nukleární magnetická rezonance (Nuclear Magnetic Resonance)
MHE	(Multiple Headspace Extraction)
LLE	Extrakce kapalina-kapalina (Liquid-Liquid Extraction)
LSE	Extrakce kapalina-pevná látka (Liquid-Solid Extraction)
SFE	Superkritická fluidní extrakce (Supercritical Fluid Extraction)
SPE	Extrakce tuhou fází (Solid Phase Extraction)
SPME	Mikroextrakce tuhou fází (Solid Phase Micro Extraction)
HS	(Headspace Extraction)
TAG	Triacylglyceroly
TLC	Tenkovrstvá chromatografie (Thin Layer Chromatography)
IR	Infračervená spektrometrie (Infrared spectroscopy)
UV/VIS	Ultrafialovo-viditelná spektroskopie (Ultraviolet-visible spectroscopy)
RI	Index lomu (Refractive index)
ECD	Elektrochemické detektory (Electrochemical Detector)
TCD	Tepelně-vodivostní detektor (Thermal Conductivity Detector)
AFID	Plamenově-ionizační detektor s alkalickým kovem (Alkali Flame Ionisation Detector)
PID	Fotoionizační detektor (Photo Ionization Detector)
AED	Atomový emisní detektor (Atomic Emission Detector)

GC-O Technika plynové chromatografie-olfaktometrie (Gas Chromatography-Olfactometry)

WCOT (Wall Coated Open Tubular)

SCOT (Support Coated Open Tubular)

PLOT (Porous Layer Open Tubular)

SEZNAM OBRÁZKŮ

Obrázek 1 Ukázka izomerů a hodnota optické otáčivosti, roztoky 10 % v ethanolu	18
Obrázek 2 Izopren [3, s. 45]	19
Obrázek 3 Příklady monoterpenů [27].....	20
Obrázek 4 Příklad monocyklického seskviterpenu [28]	21
Obrázek 5 Phytol [29].....	21
Obrázek 6 (<i>E</i>)-kyselina skořicová [2, s. 18]	21
Obrázek 7 Geraniol.....	22
Obrázek 8 Methyl-salicylát [33]	23
Obrázek 9 Kumarin [25]	23
Obrázek 10 <i>p</i> -Cymen [26]	24
Obrázek 11 Obecné schéma parní destilace [30].....	27
Obrázek 12 Obecné schéma hydrodestilace [31].....	29
Obrázek 13 Složky esenciálního oleje Ylang Ylang [37].....	33
Obrázek 14 Složky za studena lisovaného esenciálního oleje z pomeranče [38].....	34
Obrázek 15 Schéma plynového chromatografu [7, s. 11].....	35
Obrázek 16 Schéma kapalinového chromatografu [7, s. 25].....	37
Obrázek 17 Schéma hmotnostního spektrometru [7, s. 50].....	39
Obrázek 18 Graf – <i>p</i> -Cymen [35]	40
Obrázek 19 Graf – <i>o</i> -Cymene [35]	41
Obrázek 20 Graf – α -Terpinen [11]	41
Obrázek 21 Schéma subjektivního polarimetru [7, s. 59].....	42
Obrázek 22 Schéma NMR spektrometru [34]	44
Obrázek 23 Chromatogram pro fenyklový olej (Maďarsko) [36, s. 118].....	46
Obrázek 24 ¹³ C-NMR spektrum (A) pro fenyklový olej (Maďarsko), rozsah 100 až 160 ppm [36, s. 120]	47
Obrázek 25 ¹³ C-NMR spektrum (B) pro fenyklový olej (Maďarsko), rozsah 10 až 60 ppm [36, s. 121]	48
Obrázek 26 ¹³ C-NMR spektrum (C) pro fenyklový olej (Maďarsko), rozsah 20 až 33 ppm [36, s. 122]	49

SEZNAM TABULEK

Tabulka 1 Hlavní sloučeniny esenciálního oleje vybraných typů Aksamitníku (<i>Tagetes lucida</i>)	15
Tabulka 2 Citrón (destilace) [2, s. 330]	16
Tabulka 3 Citrón (lisování) [2, s. 331].....	16
Tabulka 4 Geografická poloha – Růže damaská (<i>Rosa × damascena</i>) [2]	16
Tabulka 5 Geografická poloha – Levandule (<i>Lavandula angustifolia</i>) [2]	16
Tabulka 6 Chemotyp Divoká majoránka (<i>Origanum majorana</i>) [2].....	25
Tabulka 7 Chemotyp Niaouli (<i>Melaleuca quinquenervia</i>) [2]	25
Tabulka 8 Chemotyp Rozmarýn (<i>Rosmarinus officinalis</i>) [2].....	25
Tabulka 9 Zastoupení analytů skořice (<i>Cinnamomum zeylanicum</i>) [39, s. 151].....	33
Tabulka 10 Základní fyzikální parametry vybraných esenciálních olejů	43
Tabulka 11 Chemické složení éterického oleje z <i>Alpinia speciosa</i> pomocí ¹³ C-NMR shody [22, s. 269]	45
Tabulka 12 Hodnoty pro Fenyklový olej (Maďarsko) [36, s. 118]	46
Tabulka 13 Hodnoty chemického posunu ¹³ C-NMR spektrum (A) [36, s. 120]	47
Tabulka 14 Hodnoty chemického posunu ¹³ C-NMR spektrum (B) [36, s. 121]	48
Tabulka 15 Hodnoty chemického posunu ¹³ C-NMR spektrum (C) [36, s. 122]	49

SEZNAM PŘÍLOH

Příloha P I: Výhody a nevýhody technik hodnocení kvality esenciálních olejů [4, s. 149]

PŘÍLOHA P I: VÝHODY A NEVÝHODY TECHNIK HODNOCENÍ KVALITY ESENCIÁLNÍCH OLEJŮ

