



VYSOKÉ UČENÍ TECHNICKÉ V BRNĚ

BRNO UNIVERSITY OF TECHNOLOGY

FAKULTA CHEMICKÁ

FACULTY OF CHEMISTRY

ÚSTAV FYZIKÁLNÍ A SPOTŘEBNÍ CHEMIE

INSTITUTE OF PHYSICAL AND APPLIED CHEMISTRY

STANOVENÍ OBSAHOVÝCH LÁTEK V MÁTĚ

DETERMINATION OF SUBSTANCES CONTENT IN MINT

BAKALÁŘSKÁ PRÁCE

BACHELOR'S THESIS

AUTOR PRÁCE

AUTHOR

Martina Novotná

VEDOUCÍ PRÁCE

SUPERVISOR

prof. RNDr. Milada Vávrová, CSc.

BRNO 2018

Zadání bakalářské práce

Číslo práce: FCH-BAK1308/2017
Ústav: Ústav fyzikální a spotřební chemie
Studentka: **Martina Novotná**
Studijní program: Chemie a chemické technologie
Studijní obor: Chemie pro medicínské aplikace
Vedoucí práce: **prof. RNDr. Milada Vávrová, CSc.**
Akademický rok: 2017/18

Název bakalářské práce:

Stanovení obsahových látek v mátě

Zadání bakalářské práce:

1. Zpracovat základní rešerši o mátě.
2. Na základě rešerše zvolit metodu pro identifikaci obsahových látek.
3. Provést analýzu mátového čaje různé provenience.
4. Zhodnotit výsledky.

Termín odevzdání bakalářské práce: 23.5.2018

Bakalářská práce se odevzdává v děkanem stanoveném počtu exemplářů na sekretariát ústavu. Toto zadání je součástí bakalářské práce.

Martina Novotná
student(ka)

prof. RNDr. Milada Vávrová, CSc.
vedoucí práce

prof. Ing. Miloslav Pekař, CSc.
vedoucí ústavu

V Brně dne 31.1.2018

prof. Ing. Martin Weiter, Ph.D.
děkan

ABSTRAKT

Bakalářská práce se zabývá stanovením obsahových látek v mátě.

Máta je v lékařství velmi oblíbenou bylinou, která je využívána více než 2000 let. Existuje mnoho druhů máty, nejznámějším a nejčastějším zástupcem je máta peprná.

V teoretické části je popis látek, které se běžně vyskytují v rostlinách, charakteristika máty a principy použitých analytických metod. V experimentální části jsou zaznamenány zjištěné látky v jednotlivých čajích.

ABSTRACT

This Bachelor thesis deals with determination of the content substances in mint (*Mentha*).

Mint is in pharmacy very popular herb, it is been used for over 2000 years. We know many species of mint. Peppermint (*Metha piperita*) is the most favorite and most common species.

In the theoretical part there is description of substances found in plants, the characteristic of mint and principles of used analytical methods. Practical part of this thesis describes substances found in examined teas.

KLÍČOVÁ SLOVA

Máta, *Mentha*, silice, mátový čaj, GC/MS

KEY WORDS

Mint, *Mentha*, silica, mint tea, GC/MS

NOVOTNÁ, M. *Stanovení obsahových látek v mátě*. Brno: Vysoké učení technické v Brně, Fakulta chemická, 2018. 36 s. 8 stran příloh. Vedoucí bakalářské práce prof. RNDr. Milada Vávrová, CSc..

PROHLÁŠENÍ

Prohlašuji, že jsem bakalářskou práci vypracovala samostatně a že všechny použité literární zdroje jsem správně a úplně citovala. Bakalářská práce je z hlediska obsahu majetkem Fakulty chemické VUT v Brně a může být využita ke komerčním účelům jen se souhlasem vedoucího bakalářské práce a děkana FCH VUT.

.....

podpis studenta

PODĚKOVÁNÍ

Ráda bych poděkovala své vedoucí práce prof. RNDr. Miladě Vávrové, CSc. za odborné vedení, ochotu a pomoc při vypracovávání mé bakalářské práce.

Dále bych chtěla poděkovat Ing. Ludmile Mravcové Ph.D. za pomoc při realizaci experimentální části bakalářské práce a konzultace při zpracování výsledků.

Také bych chtěla poděkovat Ing. Nikole Jančové za pomoc při měření výsledků k mé bakalářské práci.

Také děkuji mé kolegyni Michale Hroncové za poskytnutí fotografií použitých přístrojů a aparatur.

Strukturní vzorce, u kterých není uvedeno jméno autora, byly vytvořeny autorem práce v programu Chemscketch. Fotografie aparatur a přístrojů byly vyfoceny během měření.

OBSAH

1	Teoretická část.....	7
2	Úvod.....	7
3	Zpracování rostlin.....	8
4	Účinné látky obsažené v rostlinách	8
4.1	Skupiny drog.....	8
4.1.1	Alkaloidy	8
4.1.2	Glykosidy.....	9
4.1.3	Silice	9
4.1.4	Třísloviny.....	10
4.1.5	Saponiny	10
4.1.6	Hořčiny	10
4.1.7	Fytoncidy	10
4.1.8	Tuky a oleje	11
4.1.9	Mléčné šťávy.....	11
4.2	Jedovaté rostliny.....	11
4.2.1	Prevence před otravami a léčba otrav rostlinami	11
5	Úprava a způsoby použití drog.....	12
6	Máta	12
6.1.1	Historie	12
6.1.2	Sběr.....	12
6.1.3	Esenciální oleje a látky terpenické povahy vyskytující se v mátě	13
6.1.4	Obsahové látky přítomné v mátě	13
6.1.5	Využití	13
6.1.6	Rizika.....	14
6.2	Máta peprná	14
7	Analytické metody.....	15
8	Metody izolace	15
9	Extrakce	15
9.1	Extrakce z pevné fáze do fáze kapalné (Extrakce rozpouštědlem)	15
9.2	Extrakce pevnou fází	15
9.2.1	Mikroextrakce pevnou fází	15
10	Destilace.....	16

10.1	Destilace s vodní parou	16
11	Dělení látek	17
11.1	Chromatografie	17
11.2	Plynová chromatografie	17
11.2.1	Injektory	17
11.2.2	Kolony	18
11.2.3	Detektory	18
12	Použité metody pro identifikaci	19
12.1	Hmotnostní spektrometrie	19
12.1.1	Ionizace	19
12.1.2	Separace	21
12.1.3	Detekce	21
12.2	Plynová chromatografie – hmotnostní spektrometrie (GC-MS)	22
12.2.1	Výhody spojení GC a MS	22
12.2.2	Aplikace GC-MS	22
13	Experimentální část	23
13.1	Zkoumaný materiál	23
13.2	Přístroje a software	23
13.3	Chemikálie	23
13.3.1	Rozpouštědla	23
13.3.2	Nosný plyn	23
13.4	Pracovní postupy	23
13.4.1	Extrakce do hexanu	23
13.4.2	Odstranění chlorofylu pomocí silikagelu	24
13.4.3	Plynová chromatografie a hmotnostní spektrometrie (GC-MS)	24
13.4.4	Podmínky analýzy	25
13.4.5	Destilace s vodní parou	25
13.4.6	GC-MS	26
13.4.7	Mikroextrakce na tuhou fázi (SPME) – suchý vzorek	26
13.4.8	GC-MS	27
13.4.9	Podmínky analýzy	27
13.4.10	Mikroextrakce na tuhou fázi (SPME) – výluh	27
14	Výsledky a diskuze	29

14.1	Extrakce do hexanu.....	29
14.1.1	Vzorek č. 1.....	29
14.1.2	Vzorek č. 2.....	29
14.1.3	Vzorek č. 3.....	29
14.1.4	Vzorek č. 4.....	29
14.1.5	Vzorek č. 5.....	29
14.2	Destilace s vodní parou.....	30
14.2.1	Vzorek č. 1.....	30
14.2.2	Vzorek č. 2.....	30
14.2.3	Vzorek č. 3.....	30
14.2.4	Vzorek č. 4.....	30
14.2.5	Vzorek č. 5.....	31
14.3	SPME – suché vzorky.....	31
14.3.1	Vzorek č. 1.....	31
14.3.2	Vzorek č. 2.....	31
14.3.3	Vzorek č. 3.....	31
14.3.4	Vzorek č. 4.....	32
14.3.5	Vzorek č. 5.....	32
14.4	SPME – výluh.....	32
14.4.1	Vzorek č. 1.....	32
14.4.2	Vzorek č. 2.....	33
14.4.3	Vzorek č. 3.....	33
14.4.4	Vzorek č. 4.....	33
14.4.5	Vzorek č. 5.....	34
15	Závěr.....	35
16	Zdroje.....	36
17	Příloha.....	38
17.1	Získané chromatogramy.....	38
17.1.1	Extrakce do hexanu.....	38
17.1.2	Destilace s vodní parou.....	40
17.1.3	SPME – suché vzorky.....	41
17.1.4	SPME – výluh.....	42

1 TEORETICKÁ ČÁST

2 ÚVOD

První zmínky o léčivých účincích rostlin pochází ze 4. tisíciletí př. n. l. V té době již měli lidé dostatek informací o tom, že některé rostliny jim mohou pomáhat, jiné mohou být naopak jedovaté [1].

Z celkového počtu 3000 druhů rostlin, které se na našem území, má léčebné účinky přibližně 800 druhů. Za léčivé rostliny považujeme ty rostliny, ze kterých lze získat léčiva. Léčivo je definováno jako látka, která slouží k léčebným účelům, tzn. k předcházení chorob, k jejich diagnostice, k léčení chorob, případně jejich vedlejších příznaků, nebo k ovlivňování životních pochodů v organismu [1].

V současné době farmaceutický průmysl dělí na dvě odvětví – chemická léčiva a rostlinná léčiva (fytofarmaka). V dnešní době je vyšší poptávka po rostlinných léčivech, protože způsobují méně alergických reakcí a pro lidský organismus jsou přirozenější [1].

3 ZPRACOVÁNÍ ROSTLIN

K léčebným účelům se využívají zejména rostliny, které byly dříve nějakým způsobem konzervovány (např. sušením) a teprve v této formě je droga používána. Droga je sušená nebo jinak upravená vegetabilní surovina určité organizované struktury, jako jsou listy, kořeny, natě, květy, plody apod., nebo také produkty amorfni, kam lze zařadit například pryskyřice, slizy atd. Drogu lze použít přímo nebo z ní lze připravit čaj. Může existovat i jiná léková forma, například sirup, tinktura, extrakt apod.; z drog se nejčastěji izolují čisté obsahové účinné látky, ze kterých jsou potom vyráběna léčiva. K získání konečné fáze léku vede dlouhý výrobní proces, jehož součástí je správné určení druhu rostliny, izolování obsahových a účinných látek a jejich chemické určení. U látek, u nichž byl zjištěn léčivý účinek, je prováděno mnoho biologických a farmakologických zkoušek, při kterých se zjišťuje jejich přesná chemická struktura. Účelem tohoto procesu je také snaha nahradit přírodní látku látkou syntetickou, pokud se podaří vyrobit syntetická látka se stejnými vlastnostmi, jaké má látka získaná z rostliny; teprve potom je možné začít vyrábět lék. V případě, že u dané látky není bezpečně známa její struktura, případně pokud se nepodařila výroba syntetické látky, zůstává jediným vhodným zdrojem rostlina [1, 2].

4 ÚČINNÉ LÁTKY OBSAŽENÉ V ROSTLINÁCH

Účinné látky obsažené v rostlinách patří mezi tzv. sekundární (vedlejší) metabolity. Bývají obsaženy v rostlině ve velmi malém množství a jsou diagnostikovány pouze u některých druhů rostlin. Sekundární metabolity jsou vytvářeny z primárních metabolitů (bílkoviny, tuky, organické kyseliny a další), které vznikají v rostlině složitými procesy za využití energie získané z cukrů, které se v rostlině vytvořily během fotosyntézy [1].

Někdy účinné látky obsažené v rostlině působí samostatně, někdy jsou jejich účinky zesíleny jinou účinnou látkou. V některých případech může dojít k protichůdnému působení účinných látek a potom se účinek sníží, nebo úplně vymizí. Tvorbu účinných látek lze při pěstování regulovat například hnojením [1].

Z primárních metabolitů mají v lékařství praktické využití např. řepný cukr (sacharóza), který je využíván k výrobě sirupů nebo jako účinný konzervační prostředek, nebo škrob, který slouží k výrobě glukózy, případně jako pomocná látka při přípravě zásypů, tablet apod., dále inulin, slizy [1].

V lékařství jsou však ve větší míře používány metabolity sekundární. Některé z nich mají velmi silný účinek na lidský organismus, takže i nepatrné množství může způsobit poškození zdraví nebo až smrt. Také rostlinné jedy mají své uplatnění v lékařství, a to zejména některé alkaloidy a srdeční glykosidy. Tyto rostlinné jedy se však mohou používat pouze v čisté lékové formě, protože obsah jedu v rostlinách různě kolísá [1].

4.1 Skupiny drog

4.1.1 Alkaloidy

Alkaloidy jsou dusíkaté, zásaditě reagující látky, které vznikají při přeměně aminokyselin. Tvoří soli s organickými kyselinami [1, 2].

Mají velmi silné fyziologické účinky, i v malém množství to jsou prudké jedy (kurarové alkaloidy – účinná složka šípových jedů, námelové alkaloidy, opiové alkaloidy, atropin, nikotin aj.) [1].

Alkaloidy jsou hojně zastoupeny v rostlinách z čeledi mákovitých (mák, vlaštovičník), lilkovitých (rulík, blín, durman), liliovitých (ocún, kýchavice), pryskyřníkovitých (oměj), dymnivkovitých (dymnivka dutá) aj. [1, 2].

4.1.2 Glykosidy

Glykosidy jsou esterové deriváty cukrů. Vlivem enzymů jsou lehce štěpitelné na cukernou složku a necukerný aglykon. Jsou to hořké látky, které jsou většinou jedovaté. Glykosidy jsou zásobními a ochrannými látkami obsaženými v buněčných šťávách. Podle chemické skladby aglykonu se glykosidy dělí na několik typů, a to glykosidy kyanovodíkové, antrachinonové, hořčičné, flavonové aj. [1, 2].

Nejdůležitějšími glykosidy jsou glykosidy srdeční, které mají účinek na srdeční sval. Tyto glykosidy jsou používány pouze ve formě průmyslově vyráběných léčiv. Rostliny, které obsahují srdeční glykosidy, patří mezi prudce jedovaté. Patří sem především náprstník, konvalinka, hlaváček, oleandr aj. [1].

Dalšími významnými glykosidy jsou glykosidy fenolické, např. arbutin (v brusinkách), který je využíván k dezinfekci močových cest při zánětech, glykosidy antrachinonové (krušina, reveň), které mají projímavé účinky, thioglykosidy (v čeledi brukvovitých), které příznivě ovlivňují trávení a mají fytoncidní (antibiotický) účinek. Mezi glykosidy patří rovněž flavonoidy, které zvyšují odolnost cévních stěn (rutin z pohanky), zvyšují imunitu proti infekcím (hloh, bez, lípa, třezalka) s dále kumariny a hydroxykumariny (eskulin z jírovce) [1].

4.1.3 Silice

Silice jsou směsi těkavých a většinou vonných látek nejrůznějšího typu. Patří mezi nejcharakterističtější obsahové látky rostlin. Nejčastějšími silicemi jsou terpeny a jejich sloučeniny. V rostlinách se hromadí v některých buňkách, chlupech a v zásobních kanálcích, kde mají ochrannou funkci [1, 2].

Rostliny obsahující silice mají velmi rozsáhlé využití a většinou nemají nežádoucí vedlejší účinky. Většinou mají žlučopudný, protinádymavý a protikřečový účinek, pomáhají zvyšovat tvorbu žaludečních šťáv a dezinfikují trávicí trakt. Často jsou využívány jako koření; sem patří zejména kmín, fenykl, tymián, máta, anýz aj. Silice obsažené v plodech jalovce, kořenu petržele a libečku se rovněž používají při dezinfekci močových cest, kde podporují tvorbu moči, dále při dezinfekci dýchacích cest (zvyšují tvorbu hlenu a ulehčují odkašlávání), případně jsou využívány k inhalacím, výrobě nosních kapek a kloktadel (silice máty, fenyklu, tymiánu, mateřídoušky, eukalyptu aj.). Silice, které mají uklidňující účinek, se nachází např. v levanduli, kozlíku lékařském a chmelu. Protihlístový účinek mají silice vratiče, merlíku a pelyňku [1].

Silice jsou používány zevně buď v izolované formě (menthol) nebo ve formě nálevů (heřmáněk, šalvěj), které působí protizánětlivě [1].

Silicné drogy jsou aplikovány také v likérnictví, potravinářství a kosmetice [1].

4.1.4 Třísloviny

Třísloviny patří mezi fenolické látky, které jsou rozpustné ve vodě a srážejí bílkoviny, alkaloidy a těžké kovy. Jsou to bezdusíkaté vysokomolekulární látky, které jsou chemicky nejednotné. Dělí se na kondenzované (nehydrolyzovatelné) a hydrolyzovatelné (estery, glykosidy). Nesmí být dlouho skladovány na vzduchu, jinak ztrácejí svůj účinek [1, 2].

Jsou využívány především jako látky adstringenční k zastavení krvácení, protizánětlivé a proti nadměrnému pocení. Vnitřně jsou aplikovány při otravách těžkými kovy a alkaloidy. Lze je také použít při zánětech dutiny ústní, hemeroidech, popáleninách aj. [1, 2]. Vyskytují se např. v dubu, borůvkách, ostružiníku, řepíku aj. [1].

4.1.5 Saponiny

Saponiny jsou látky glykosidické povahy, které při třepání s vodou silně pění. Při větším množství mohou saponiny obsažené v krvi způsobit rozklad červených krvinek (krevní jed). Podle typu aglykonu se dělí na saponiny neutrální a saponiny kyselé [1, 2].

Saponiny také podporují vstřebávání jiných účinných látek přítomných v léčivu. V menším množství podporují rovněž vykašlávání a trávení, působí projímavě, močopudně a antimikrobiálně [1, 2].

Saponiny se vyskytují např. v lékořici, kde se používají při léčbě žaludečních vředů, dále u divizny, prvosenky, břízy a kaštanu koňského, kde jsou aplikovány zejména ke snížení křehkosti cévních stěn a proti zánětům žil [1].

4.1.6 Hořčiny

Hořčiny jsou nejedovaté, bezdusíkaté látky, které mají hořkou chuť [2].

Hořčiny napomáhají ke správné činnosti trávicího ústrojí a žláz s vnitřní sekrecí. Stejným způsobem působí na organismus také alkaloid chinin nebo tonikum; vzhledem k jedovatosti těchto látek nejsou doporučeny pro děti nebo těhotné ženy [1].

Hořčiny se vyskytují u čeledi vachtovitých (vachta), hořcovitých (hořec, zeměžluč), hvězdnicovitých a čekankovitých (pelyněk, pampeliška) [1].

V lékařství jsou využívány ve formě čajů, tinktur, extraktech, medicínálních vínech (vino s přídavkem extraktu z léčivých rostlin, alkoholické) nebo žaludečních likérů [1].

4.1.7 Fytoncidy

Fytoncidy jsou chemicky nejednotné látky, které produkují vyšší rostliny na obranu proti cizím organismům; bývají také označovány jako rostlinná antibiotika a mají antibakteriální účinek [2].

Mezi fytoncidy se řadí např. alicin (obsažen v česneku), různé silice (thymol, obsažený v tymiánu a mateřídoušce), glykokinin, které snižují hladinu krevního cukru a jsou využívány při cukrovce (ve fazolích, ješťřabinách a brusinkách) a steroidy, které jsou využívány k syntéze hormonálních přípravků [1, 2].

4.1.8 Tuky a oleje

Tuky a oleje jsou sloučeniny glycerolu s mastnými kyselinami, které se nachází v buňkách semen a plodů ve formě kapiček, kde fungují jako stavební a zásobní látky [2].

V rostlinách se vyskytují hlavně ve formě olejů (slunečnicový, makový, olivový aj.).

V lékařství se využívají k výrobě mastí [2].

4.1.9 Mléčné šťávy

Mléčné šťávy obsahují gumu, tuky, bílkoviny, silice, alkaloidy, slizy aj. a vytékají z mléčnic nebo v místě, kde byla rostlina poraněna. Na vzduchu většinou tuhnou [2]. Nachází se např. v máku (opium) a ve vlašovičnicku [2].

4.2 Jedovaté rostliny

Mezi jedovaté rostliny zařazujeme ty rostliny, které mohou ohrožovat zdraví nebo přímo způsobit smrt. Patří sem rostliny, obsahující fyziologicky prudce jedovaté látky, které i ve velmi malých množstvích (0,001 – 0,1 g) mohou škodit zdraví. I tyto rostliny však patří mezi významné léčivé rostliny. Jedovaté rostliny slouží hlavně k izolaci čistých látek, které jsou využívány ve farmaceutickém průmyslu při výrobě velmi účinných léčiv [1].

Mezi významné jedovaté rostliny ve farmakologii patří rulík zlomocný (atropin – výroba atropinových kapek na rozkapání očí při jejich vyšetření), durman obecný (k uvolňování křečí a snižují tonus sympatiku), náprstník vlnatý (kardioaktivní glykosidy), paličkovice nachová (námel – využití v interním lékařství, výchozí látka pro výrobu LSD) aj. [1].

Jedovatá jsou i semena (jádra) peckovin (např. meruňk), která obsahují kyanový glykosid, ze kterého se v trávicím traktu uvolňuje kyanid [1].

U jedinců se zvýšenou citlivostí na určitou látku může vyvolat alergickou reakci i nejedovatá rostlina. Mezi nejčastější alergeny patří travní pyly, které způsobují tzv. sennou rýmu, která může přejít např. do astmatu (při zanedbané léčbě). Dalšími alergeny jsou např. lehké úlomky suchých částí rostlin (jemné chloupky, které mohou být vdechnuty), silice (v pelargoniích, prvosenkách, chmelu aj.), které u citlivých jedinců po doteku způsobují vyrážky, puchýře, kopřivku, zvýšenou teplotu aj. [1].

V dnešní době se u rostlin vyskytuje tzv. druhotná jedovatost. Druhotná jedovatost se vyskytuje u rostlin původně nejedovatých, které se staly jedovatými v důsledku hromadění pesticidů (látky používané k ochraně rostlin) v rostlině nebo nadměrným používáním dusíkatých hnojiv [1].

4.2.1 Prevence před otravami a léčba otrav rostlinami

Základem prevence je sběr bezpečně známých rostlin. U dětí zabráníme otravám tak, že nebudeme vysazovat jedovaté rostliny v místech, kam se mohou dostat. V parcích předejdeme otravám dětí jejich dostatečným hlídáním. U rostlinných léčiv je nezbytné dbát na pokyny o dávkování a mít je uloženy na místě, kde nemůže dojít k záměně s jinými léky [1].

V případě otravy je zapotřebí vyvolat zvracení (uchovat vzorek pro stanovení příčiny otravy), také lze podávat silný neslazený čaj, který obsahuje hořčiny, které srážejí většinu alkaloidů. Dále lze postiženému podat látky se silným adsorpčním účinkem (např. živočišné uhlí, oxid hořečnatý aj.). Postiženému je nezbytné co nejdříve zajistit lékařskou pomoc [1].

5 ÚPRAVA A ZPŮSOBY POUŽITÍ DROG

U drog majících silnou zevní vrstvu (např. kůry, celé šípky, kožovité listy), by se účinné obsahové látky uvolňovaly málo, případně by se neuvolňovaly vůbec, a proto bývají drogy po usušení řezány na menší kusy. Velikost kusů je stanovena pro jednotlivé typy drog tak, aby bylo uvolňování účinných látek co nejvíce efektivní [1].

6 MÁTA

Máta je zařazena do čeledi hluchavkovitých (Lamiaceae). U máty rozlišujeme několik odrůd. Všechny odrůdy však patří mezi vytrvalé byliny. V blízkosti vody se vyskytuje například máta lesní, která je někdy také nazývána máta dlouholistá (*Mentha longifolia*), nebo máta vodní (*Mentha aquatica*). Na lukách a vlhčích polích lze najít mátu rolní (*Mentha arvensis*). Další známou odrůdou je máta klasnatá (*Mentha spicata*) [2, 3,4].

Mezi nejznámější a nejvýznamnější zástupce patří máta peprná (*Mentha piperita*), která vznikla křížením máty vodní a máty klasnaté [4].

6.1.1 Historie

Máta peprná byla poprvé popsána v 17. Století v Anglii. Některé její odrůdy byly známy už v antice. V antice byla máta používána zejména jako afrodiziakum, dále proti chrlení krve nebo pocitu na zvracení, rovněž jako obklad na vředy a při mnoha dalších onemocněních [4].

6.1.2 Sběr

Pro sběr je využívána nať a listy. Hlavní využití pro léčebné účely mají silice v mátě obsažené. Kvalita silic závisí kromě půdních a klimatických podmínek také na době, kdy je sbírána [1].

Při pozdní sklizni nebo při nevhodných klimatických podmínkách pro pěstování se na rostlinách může vyskytnout rez mátová (*Puccinia menthae*). Rostliny napadené rzí se již nesbírají [1].



Obrázek 1: Rez mátová (*Puccinia menthae*) [18]

6.1.3 Esenciální oleje a látky terpenické povahy vyskytující se v mátě

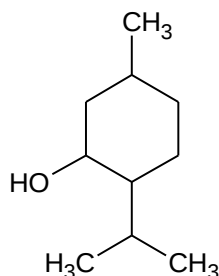
Esenciální oleje jsou těkavé oleje, které jsou složeny z aromatických látek (20-60 různých látek) a mají výraznou vůni a chuť. Esenciální oleje jsou sekundární metabolity, které se vyskytují ve všech částech rostliny. Jsou vylučovány pletivý, která se nazývají žlaznaté trichomy. U máty jsou trichomy umístěny na povrchu listů a stonku. Esenciální oleje plní ochrannou funkci před vysokými i nízkými teplotami a před býložravci a různými patogeny [15, 16].

Rostlinné extrakty bývají tvořeny 2 hlavními skupinami biosyntetického původu. Do první skupiny patří terpeny a terpenoidy a do druhé aromatické a alifatické složky. Terpeny jsou látky, které jsou tvořeny izoprenovými jednotkami. Mezi terpenoidy jsou řazeny terpeny, které byly modifikovány pomocí enzymů. Monoterpeny (2 isoprenové jednotky) patří mezi nejvíce zastoupené látky v esenciálním oleji. Monoterpeny mohou obsahovat různé funkční skupiny – alkoholy (linalol, menthol, borneol), aldehydy, ketony, estery (menthylacetát, linalylacetát), ethery (menthofuran) a fenoly (tymol) [16, 17].

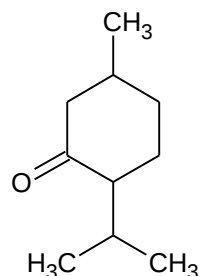
Terpenické látky u máty vznikají sekundární enzymatickou přeměnou limonenu [16].

6.1.4 Obsahové látky přítomné v mátě

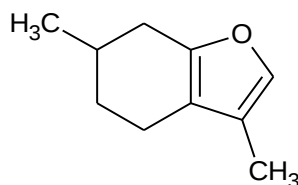
Silice máty jsou z velké části tvořeny alkoholy, zejména mentholem, případně jeho estery s kyselinou octovou a valerovou; v silicích máty peprné je menthol zastoupen více, než v silicích ostatních odrůd máty. Estery mentholu dodávají mátě charakteristickou vůni. Kromě alkoholů jsou přítomny také třísloviny a flavonoidy. Dalšími látkami, které jsou obsaženy v mátě, jsou menthon nebo menthofuran [1, 2, 4]. Silice se v mátě tvoří jen přes den [2].



Obrázek 2: Strukturní vzorec mentholu



Obrázek 3: Strukturní vzorec menthonu



Obrázek 4: Strukturní vzorec menthofuranu

6.1.5 Využití

Máta působí kladně na nervovou soustavu, protože silice snižují citlivost nervových zakončení a tím pomáhají tlumit bolest. Užívání máty podporuje vylučování žluči, zlepšuje trávení a zabraňuje nadýmání. Třísloviny působí proti průjmům [1].

Menthol působí chladivě, podporuje prokrvení, má dezinfekční účinky a pomáhá odstraňovat křeče [4].

Nejčastější forma, ve které je máta využívána, jsou čaje a čajové směsi. Menthol bývá také součástí mastí a gelů, kloktadel, nosních kapek, inhalačních směsí, masážních roztoků a dalších [1].

6.1.6 Rizika

Lidem s citlivým žaludkem může máta vyvolat žaludeční potíže. Rovněž se nedoporučuje nanášení silice v oblasti obličeje u malých dětí a kojenců. Silice u nich může vyvolat Kratschmerův reflex, což je dechová deprese, která může způsobit i udušení. Silice se nesmí nanášet také na poraněnou kůži nebo sliznice [4].

6.2 Máta peprná

Máta peprná roste téměř po celé Evropě. Je nejčastěji pěstovanou odrůdou, a to vzhledem k tomu, že netvoří semena a množí se pomocí postranních výhonků [4].

Je to vytrvalá bylina, která má dřevnatý oddenek, na němž jsou stolony s pupeny (podzemní i nadzemní výběžky). Chlupatá lodyha, která je 30 – 100 centimetrů vysoká, nese slabě chlupaté listy, které jsou vejčité kopinaté a vstřícně uspořádané. Lodyha i žilky na spodní straně listů bývají nafialovělé. Květy máty peprné mají bledě nachové až narůžovělé zbarvení. Jsou uspořádány v hustých lichopřeslenech, které tvoří koncové válcovité klasy. Plody se vytvářejí velmi málo a většinou bývají neklíčivé. Pokud ovšem vyklíčí, rostliny v druhé generaci se rozdělí na původní druhy [1].

Rozšířenou varietou máty peprné je máta kadeřavá (*Mentha crispa*). Máta kadeřavá je odolnější vůči mrazům. Tato odrůda se vyskytuje hlavně ve Středozeří. Hlavními obsahovými složkami silice jsou karvon, cineol a limonen. Další účinné látky v mátě kadeřavé jsou flavonové látky, například diosmetin a třísloviny [2].



Obrázek 5: Máta peprná (*Mentha piperita*) [19]

7 ANALYTICKÉ METODY

8 METODY IZOLACE

Pro analýzu silic je potřeba silice z rostlinného materiálu izolovat. Silice se mohou vyskytovat v celé rostlině či její určité části. Pro izolaci silic jsou využívány například různé typy extrakcí nebo destilací [9].

9 EXTRAKCE

Extrakcí nazýváme děje, kdy dochází k převodu látky mezi fázovým rozhraním. Při tomto ději přechází látka z jedné fáze do fáze druhé. Fáze, ze které látka přechází, může být plynná, kapalná i pevná [5].

Extrakce můžeme rozdělit podle skupenství fází do několika skupin [5].

První skupinou je extrakce z pevné fáze do fáze kapalné. Při tomto typu extrakce je používáno rozpouštědlo, ve kterém se rozpouští pouze požadovaná látka. Při extrakci z kapaliny do kapaliny se látka dělí mezi 2 vzájemně nemísitelné kapaliny. Princip je založen na rozdělovací rovnováze. Při extrakci z kapaliny nebo plynu na pevnou fázi je požadovaná látka selektivně zachycována na pevnou fázi [5].

9.1 Extrakce z pevné fáze do fáze kapalné (Extrakce rozpouštědlem)

Extrakce z pevné složky do kapaliny je využívána nejčastěji pro extrakce přírodních vzorků [6].

Tuto extrakci lze urychlit použitím Soxhletova extraktoru. Pevný vzorek je umístěn v patroně a rozpouštědlo v baňce. Během zahřívání páry rozpouštědla kondenzují v chladiči a stékají do patrony [6].

Extrakci lze urychlit také pomocí zvýšení teploty a tlaku. Při vyšších teplotách se zvyšuje rozpustnost extrahovaných látek v rozpouštědle a tím se zvýší rychlost transportu hmoty. Rozpouštědlo je udržováno v kapalném stavu pomocí zvýšeného tlaku [6].

Mezi tento typ extrakcí je řazena využitá extrakce do hexanu [6].

9.2 Extrakce pevnou fází

SPE je metoda extrakce, kterou lze připravit rychle a selektivně vzorek. Princip metody je založen na tom, že molekuly jsou zachycovány na pevném sorbentu na základě mezimolekulových interakcí [5].

Pomocí SPE lze extrahovat selektivně analyty z velkých objemů, které jsou následně zakoncentrovány [6].

Pevné fáze mají různé vlastnosti, které ovlivňují, které látky se budou sorbovat. Jako pevná fáze lze využít polymerní materiály nebo vlákno s modifikovaným povrchem [6].

9.2.1 Mikroextrakce pevnou fází

SPME slouží pro extrakci bez použití rozpouštědla. Látky jsou sorbovány na vlákno, které může být ponořeno do kapalného vzorku (DISPME) nebo je umístěno nad vzorkem, kde jsou páry nasyceny těkavými analyty (HS-SPME). Vlákno bývá vyrobeno z taveného křemene a je

pokryto zakotvenou fází. Vlákno je zasunuto v duté ocelové jehle, která ho chrání před mechanickým poškozením [5].

Vzorek získaný pomocí SPME je vhodný pro analýzu pomocí plynové chromatografie. Vlákno je zasunuto do dávkovacího zařízení, kde je desorbováno pomocí vysoké teploty. Analyty vstupují do chromatografické kolony, kde dochází k jejich separaci [5].

Při SPME nejsou látky ze vzorku extrahovány v co nejvyšší koncentraci, ale jen do ustálení jejich rovnovážného stavu [12].

10 DESTILACE

Princip destilace je založen na poznatku, že se při varu složení par liší od složení roztoku. Destilace lze využít pro koncentrování roztoků. Látky jsou separovány na základě jejich různých teplot varu. Látka s nejnižší teplotou varu bývá označována, jako látka nejtěkavější a jako první se dostává do plynného skupenství [13].

10.1 Destilace s vodní parou

Destilace s vodní parou je nejvíce používaná metoda pro izolaci silic. Pomocí této metody destilace lze dělit látky, které jsou ve vodě málo rozpustné. Tato technika je vhodná pro izolaci prchavých látek. Silice jsou rozpustné v organických rozpouštědlech, proto se využívá jako druhé rozpouštědlo. V případě, že jsou silice těžší než voda, využívá se glycerol, v opačném případě lze využít například hexan. Izolované silice zůstanou rozpuštěny v organickém rozpouštědle a přebytečná voda se vrací do směsi v destilační baňce. Pro destilaci s vodní parou je třeba použít speciální nástavec (viz Obrázek 6) [11].



Obrázek 6: Nástavec pro destilaci s vodní parou [20]

11 DĚLENÍ LÁTEK

11.1 Chromatografie

Principem všech typů chromatografie je dělení složek mezi 2 fázemi. Fáze, která se pohybuje, je označována jako fáze mobilní. Mobilní fáze může být ve skupenství kapalném nebo plynném. Podle skupenství mobilní fáze rozlišujeme různé druhy chromatografie. Druhá fáze, která se nepohybuje, je označována jako stacionární fáze neboli sorbent [9].

Analyzovaná směs je unášena mobilní fází. Během chromatografie dochází k opakovanému přesunu látek z mobilní do stacionární fáze a zase zpět [9].

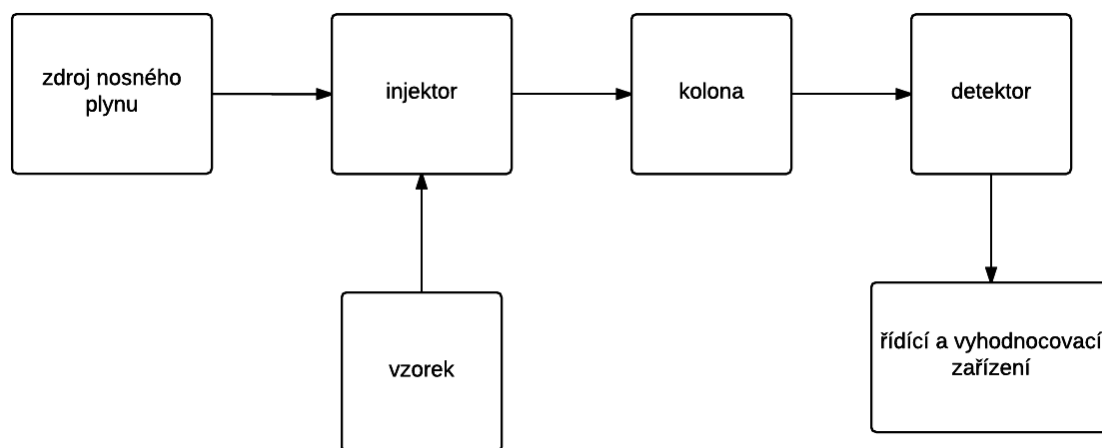
Doba, kterou konkrétní látka v koloně stráví (retenční čas) závisí na tom, jak daná látka interaguje se stacionární fází. Čím více daná látka se stacionární fází interaguje, tím vyšší je retenční čas. Látky přichází do detektoru jednotlivě, podle specifických retenčních časů [9].

Podle uspořádání dělíme chromatografie na metody plošně uspořádané, sloupcové a kolonové. Mezi plošně uspořádané metody patří papírová a tenkovrstvá chromatografie. Do kolonové chromatografie patří plynová (mobilní fáze je plyn) a kapalinová (mobilní fáze je kapalná) chromatografie [6].

11.2 Plynová chromatografie

U plynové chromatografie je mobilní fází plyn. Tato metoda bývá využívána pro analýzy biochemických, biomedicínských a farmaceutických vzorků [8].

Během plynové chromatografie je vzorek unášen kolonou pomocí nosného plynu. Jako nosný plyn bývá využíván inertní plyn (např. dusík, helium, argon aj.). Nosný plyn je volen např. podle jeho čistoty, hustoty a využitého detektoru. Nejprve je vzorek nastříknut do injektoru a na něm odpařen. Páry vzorku jsou pomocí nosného plynu unášeny na kolonu, z níž jsou následně jednotlivé složky postupně eluovány a postupují do detektoru [6, 10, 11].



Obrázek 7: Schéma plynového chromatografu [21]

Výsledky kvantitativní i kvalitativní analýzy ovlivňuje průtok nosného plynu. Konstantní průtok během analýzy zajišťuje regulátor průtoku, který je umístěný před injektorem [10, 11].

11.2.1 Injektory

Vzorek je dávkován do systému pomocí injektoru. Teplota injektoru je volena tak, aby došlo ihned k odpaření vzorku. Vzorek je odpařován v části injektoru zvané liner, jehož teplota

bývá většinou o 50 °C vyšší než teplota separační kolony. Při správném dávkování vzorku se nesmí změnit teplotní a tlakové podmínky. Aby nedocházelo k těmto změnám, je potřeba, aby vzorek vnikl do kolony velmi rychle [10, 11].

Injektory se dělí na odpařovací a neodpařovací. Vzorek může být dávkován dvěma technikami: nad ústí kolony umístěné na konci injektoru nebo přímo na kolonu. Nejčastějšími typy dávkování přímo na kolonu jsou: přímý nástřik na kapilární kolonu (on-column), bezděličové dávkování (splitless injection), nástřik s děličem toku (split injection) a dávkování s teplotně programovaným odpařováním vzorku (PTV injection). Při přímém nástřiku vzorek přechází na kolonu v kapalném skupenství a poté se odpaří. Vzorek je nástřikován při teplotě kolony nižší, než je bod varu. Tento způsob je vhodný pro analýzu termolabilních látek. Pro analýzu málo koncentrovaných vzorků se využívá bezděličové dávkování. Pro analýzu koncentrovaných vzorků je vhodný nástřik s děličem toku. Tento způsob nástřiku umožňuje velké rozlišení zón analyzovaných látek. Při použití PTV injektoru lze měnit podmínky pro odpařování rozpouštědla a analyzovaných látek. Během této analýzy může být rozpouštědlo odfouknuto z injektoru a do kolony pokračují jen analyzované látky [6, 10, 11].

Injektory pro bezděličové dávkování a nástřik s děličem toku se vzhledově neliší. U bezděličového dávkování je dělič toku uzavřen [8].

11.2.2 Kolony

Kolony využívané na plynovou chromatografii mohou být náplňové nebo kapilární [10].

Náplňové kolony jsou trubice vyrobené z kovu nebo skla a bývají plněny adsorbenty na bázi silikagelu, aktivního uhlí, molekulovými sítí nebo kopolymery styrenu a divinylbenzenu (porapaky). Křemelina a modifikovaná křemelina se využívají jako neaktivní nosiče. Vyšší účinnosti kolony lze dosáhnout použitím menších částic na plnění kolony. Čím jsou menší částice, tím je potřeba pro transport mobilní fáze vyšší tlak [10].

Kapilární kolony bývají například plastové, kovové, křemenné nebo skleněné. Vnitřní stěna kapiláry bývá potažena stacionární fází nebo je jí celá kapilára vyplněna. Pro zlepšení smáčivosti a eliminování vlivu aktivních center je nejprve vnitřní povrch kapilár deaktivován a pak teprve nanášena stacionární fáze [10].

11.2.3 Detektory

Detektory převádí změny složení mobilní fáze protékající detektorem na elektricky měřitelné veličiny. Pomocí detektorů lze identifikovat a kvantifikovat jednotlivé zóny separovaných látek. Detektory se dělí podle závislosti signálu na koncentračně závislé a hmotnostně závislé. U koncentračně závislého detektoru je signál úměrný koncentraci látky v detektoru, u hmotnostně závislého detektoru je signál úměrný množství látky [10].

Podle vlastností detektorů je rozlišováno několik typů detektorů, například tepelně vodivostní detektor (TCD), plamenový ionizační detektor (FID), plamenový termoionizační detektor (AFID, TID), plamenový fotometrický detektor (FPD), detektor elektronového zachytu (ECD) nebo argonový detektor [10].

U detektorů je sledována například citlivost, odezva, šum produkovaného signálu, nejmenší detekovatelná koncentrace nebo hmotnostní průtok, lineární dynamický rozsah odezvy, efektivní objem a rychlost odezvy [10].

Citlivost detektoru vyjadřuje vzrůst odezvy detektoru při jednotkové změně koncentrace nebo hmotnostního průtoku v detektoru [10].

Do šumu signálu patří změny výstupního signálu, které neodpovídají eluci látky ze vzorku a změny nulové linie [10].

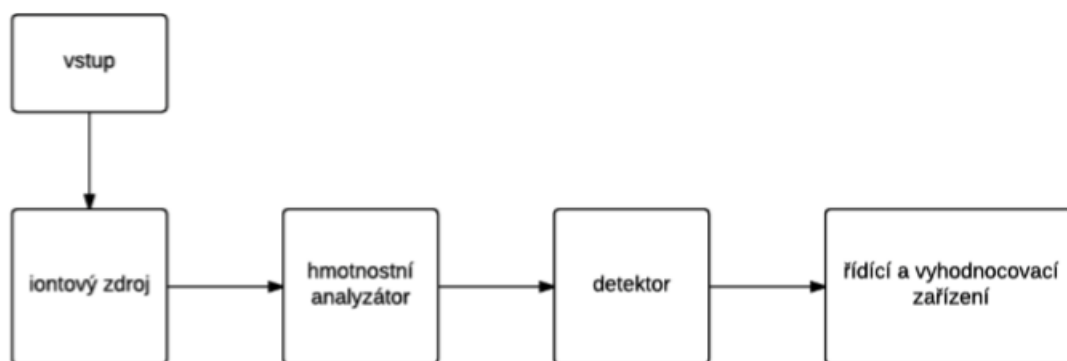
Nejmenší detekovatelná koncentrace je koncentrace, která vyvolá signál tvaru píku, který má výšku třikrát vyšší, než šum detektoru [10].

12 POUŽITÉ METODY PRO IDENTIFIKACI

12.1 Hmotnostní spektrometrie

MS je metoda, která separuje ionty podle poměru jejich hmotnosti a náboje. Pomocí MS lze také stanovit hmotnosti atomů, molekul nebo jejich částí. Analyzované částice je potřeba před analýzou převést na ionty. Na rozdíl od jiných spektrometrických metod je MS metodou destruktivní [6, 7, 10].

MS je tvořena několika kroky: ionizace, separace a detekce [10].



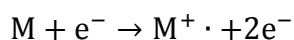
Obrázek 8: Schéma hmotnostního spektrometru [21]

12.1.1 Ionizace

K ionizaci částic dochází v iontovém zdroji [6].

Při ionizaci je neutrálním částicím dodána energie a vzniká iont. Dodaná energie musí být vyšší, než je prahová energie látky. Podle množství dodané energie rozdělujeme ionizační techniky na měkké a tvrdé. U měkkých technik je malý přebytek dodané energie a pravděpodobnost vzniku fragmentů je nízká. U tvrdých technik energetický přebytek vysoký a umožňuje rozsáhlejší fragmentaci [6, 10].

Nejčastějším typem ionizace je ionizace elektronem (EI). Tato technika je řazena mezi tvrdé ionizační techniky pro ionizaci v plynné fázi. Tento typ ionizace bývá využíván u kombinace metod GC-MS. Při této metodě jsou ionty tvořeny interakcemi částic analyzované látky s proudem urychlených elektronů. Pravděpodobnost srážky molekul s elektrony lze zvýšit přidáním permanentního magnetu, kdy se dráha zakříví pomocí magnetického pole. Při interakci dochází k následujícímu ději, kdy vzniká radikálkationt:



V prostoru iontového zdroje pro ionizaci elektronem je potřeba udržovat vysoké vakuum, aby nedocházelo ke srážkám molekul vzorku s molekulami vzduchu. Jako zdroj elektronů je

využíváno rheniové nebo wolframové vlákno, které je elektricky žhavené. Množství emitovaných elektronů závisí na velikosti žhavicího proudu. Proud elektronů je v iontovém zdroji směřován k anodě. Energie elektronů je určována rozdílem potenciálů katody a anody. Vzniklé ionty jsou pomocí repeleru vytlačovány z prostoru ionizace [6].

Dalším typem ionizace je chemická ionizace (CI). CI je řazena mezi měkké ionizační techniky pro plynnou fázi. Stejně jako u ionizace elektronem, je primárním zdrojem proud elektronů. Energie však není přenášena na molekulu přímo, ale pomocí reakčního média. Jako reakční médium se využívá nejčastěji plyn nebo páry nízkovroucí kapaliny (nejčastěji se využívá methan), které je v ionizační komůrce pod vysokým tlakem (50 – 150 kPa). Vysoký tlak pomáhá zvýšit pravděpodobnost mezimolekulárních a meziiontových interakcí. Průběh reakcí ionizace závisí na podmínkách v iontovém zdroji (například na tlaku reakčního média). Množství energie, která je předaná během ionizace, závisí na zvoleném typu reakčního média. Vzniklý iont MH^+ se nazývá kvazi-molekulární iont a má o jednotku vyšší relativní hmotnost než molekula před ionizací. Konstrukce iontového zdroje pro chemickou ionizaci se od zdroje při ionizaci elektronem neliší. U současných spektrometrů lze najít kombinaci těchto iontových zdrojů (EI-CI) [6].

Dalšími technikami ionizace využívanými v MS jsou tzv. techniky sprejové. Sprejové ionizační techniky jsou řazeny mezi měkké ionizační techniky pro vzorky v kapalně fázi. Tyto techniky jsou vhodné pro kombinaci hmotnostní spektrometrie s kapalinovou chromatografií a kapilární elektroforézou. Mezi sprejové techniky jsou řazeny termosprejová (TS) a elektrosprejová (ES) ionizace a chemická ionizace za atmosférického tlaku (APCI) [6]. Termosprej je nejstarší sprejová ionizační technika. Při tomto typu ionizace je vzorek z chromatografické kolony přiveden do kovové kapiláry, která je vyhřívána na teplotu 200-300 °C. Poté dojde k odpaření mobilní fáze a rozptýlení kapaliny do drobných kapiček. Kapky jsou postupně odpařovány, až se dostanou do plynné fáze a následně jsou pomocí repeleru vedeny do hmotnostního analyzátoru. Při ionizaci termosprejem vznikají kladně i záporně nabitě ionty. Výtěžek ionizace závisí na složení mobilní fáze a teplotě, na kterou je kapilára vyhřívána [6].

V současnosti nejpoužívanější metodou ionizace pro kombinaci metod LC-MS je elektrosprej. Z chromatografické kolony je vzorek veden do kovové kapiláry, kde je vlivem nehomogenního elektrického pole kapalně vzorek rozprášen. Elektrické pole se nachází mezi ústím kapiláry a protielektrodou. Vzniklé kapky s vysokým povrchovým nábojem jsou pomocí horkého inertního plynu vysušovány a přechází do plynné fáze. Při této ionizaci vznikají kladné i záporné ionty. Náboj iontů závisí na polaritě napětí, které je vloženo na elektrodu [6].

Při APCI je vzorek veden z chromatografické kolony vstupní kapilárou do pneumatického rozprašovače. Plášť pneumatického rozprašovače je vyhříván na vysokou teplotu (až 700 °C), při které dojde k odpaření kapalně vzorku. Páry mobilní fáze jsou pomocí koronového výboje ionizovány a spolu s ionizovanými molekulami zamlžovacího plynu tvoří tzv. chemicko-ionizační plazma. Molekuly vzorku jsou následně ionizovány chemickou ionizací, kdy vzniká kvazimolekulární iont $[M+H]^+$ nebo $[M-H]^-$ přenosem protonu [6].

12.1.2 Separace

Separace iontů podle poměru hmotnosti a náboje probíhá v části zvané hmotnostní analyzátor. Analyzátoři fungují 2 způsoby. Prvním způsobem je tzv. full scan, kdy probíhá snímání hmotnostních spekter periodicky v čase, nebo je sledována intenzita iontových druhů v čase. Pomocí full scan lze získat spektra, pomocí nichž lze identifikovat analyty. Druhý typ je vhodný pro sledování změn relativního zastoupení složek [6, 10].

Existuje několik typů hmotnostních analyzátorů, například kvadrupolový, magnetický, elektrostatický a průletový analyzátor, iontová past a další [10].

Kvadrupolový analyzátor je tvořen 4 kovovými tyčemi, které mají kruhový nebo hyperbolický průřez. Na tyče je ukládáno střídavé napětí. Na úhlopříčně protilehlých tyčích je ukládán stejný potenciál, který je tvořen stejnosměrnou a vysokofrekvenční složkou. Napětí se s časem mění a při vhodně zvolených časech, velikostech a poměrech napětí projdou kvadrupolem jen ionty o určitém poměru m/z . Zbylé ionty jsou zachyceny na tyčích nebo na stěnách přístroje [6, 10].

Nejstarším typem analyzátoru je magnetický hmotnostní analyzátor. Ionty jsou po průchodu mezi pólovými nástavci elektromagnetu urychleny a mají určitou kinetickou energii. Ionty s různým m/z mají různý poloměr zakřivení. Poloměr zakřivení závisí přímoúměrně na hmotnosti a rychlosti částice a nepřímoúměrně na intenzitě magnetického pole [6, 10].

Iontová past je třírozměrný kvadrupol, kde je možné uzavřít ionty v uzavřeném prostoru pomocí střídavého elektrického pole. Iontová past je tvořena 3 elektrodami: vstupní a výstupní kruhovou elektrodou a ze středové prstencové elektrody. Na středové elektrodě je vysokofrekvenční napětí, které má proměnnou amplitudu. Vstupní a výstupní elektroda jsou uzemněny. V iontové pasti mohou být molekuly ionizovány nebo jsou přiváděny již ionty vzniklé v iontovém zdroji. Během analýzy je postupně zvyšována amplituda střídavého napětí a ionty s rostoucím m/z jsou vypuzovány do detektoru [6, 10].

Principově nejjednodušším analyzátozem je průletový analyzátor, kdy jsou ionty urychleny pomocí elektrostatického pole a poté pokračují do evakuované trubice. Rychlost pohybu iontu v trubici závisí na jeho hmotnosti a náboji a na urychlovacím napětí. Ionty dopadají na detektor v různém čase, čím je dráha letu delší, tím je rozlišení iontů lepší. Ionty o vyšší hmotnosti se dostanou do detektoru později [6, 10].

12.1.3 Detekce

Detekce iontů vystupujících z analyzátoru probíhá v detektorech. Detektory využívané v MS se dělí na detektory pro přímá měření, které měří elektrický, který vznikne při přímém dopadu iontů a násobičové detektory, které využívají násobení elektronů vznikajících po dopadu iontů. Mezi detektory využívané v MS patří elektronásobičové a fotonásobičové detektory [10].

Elektronásobičové detektory se dělí na 2 typy: s diskretním dynodovým polem a s kontinuální dynodou. U detektoru s diskretním dynodovým polem je série kovových destiček (dynod), které jsou elektricky propojeny. Na dynody je vloženo napětí, které urychluje ionty směrem k následující dynodě, a následně jsou zachyceny kolektorem. Po dopadu iontu na dynodu jsou z dynody vyraženy elektrony, jejichž počet se při dalších dopadech násobí. Detektor s kontinuální dynodou je zakřivená trubice vyrobená z olovnatého skla, na níž je vysoký

elektrický odpor. Z materiálu trubice jsou po dopadu iontu vyraženy a pomocí elektrického pole jsou urychlovány a postupují směrem ke kolektoru. S dalšími nárazy iontů do stěny trubice počet elektronů roste. Zakřivení trubice zabraňuje, aby do násobiče prošly náhodně vzniklé ionty [6].

Složitější konstrukci než elektronásobičové detektory mají fotonásobičové detektory. Tento typ detektoru má vyšší citlivost než elektronásobičový. Podle polarity vloženého napětí detektor detekuje buďto kladně nebo záporné ionty. Při detekci fotonásobičem jsou převedeny ionty na kovové elektrody na elektrony, které po dopadu na scintilační stínítko poskytnou fotony, které následně vstupují do fotonásobiče [6].

12.2 Plynová chromatografie – hmotnostní spektrometrie (GC-MS)

Pro bezchybné fungování je potřeba zajistit, aby tlak na výstupu z kolony a tlak v iontovém zdroji byly přibližně stejné. Iontový zdroj pracuje ideálně za vysokého vakua. Dále je potřeba zajistit výkonný čerpací systém, který je schopen odčerpat nadbytek nosného plynu z iontového zdroje [6].

V současné době je nejčastějším typem kolony pro GC-MS kapilární separační kolona. Ústí kapilární kolony je možné bezproblémově propojit s iontovým zdrojem a při průtocích nosného plynu do $3 \text{ ml} \cdot \text{min}^{-1}$ je možné využít i běžné čerpací systémy pro udržení nízkého tlaku v iontovém zdroji [6].

12.2.1 Výhody spojení GC a MS

Největší výhodou propojení těchto technik je odstranění nepřesností. Při plynové chromatografii není vysoká spolehlivost při identifikaci látek podle retenčních časů. Při hmotnostní spektrometrii je někdy obtížné přiřadit k látce příslušné fragmenty. Těmito nedostatky se předchází právě spojením plynové chromatografie a hmotnostní spektrometrie [14].

12.2.2 Aplikace GC-MS

Spojení GC a MS se využívá v mnoha odvětvích chemické analýzy. Nejvíce se využívá pro analýzu komplikovaných směsí, kdy je identifikace látek podle retenčních časů nemožná. GC-MS se využívá například v potravinářském a kosmetickém průmyslu, farmaceutickém průmyslu a při toxikologických a ekologických analýzách [6].

13 EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST

13.1 Zkoumaný materiál

Pro stanovení obsahových látek v mátě bylo použito 5 různých druhů mátových čajů. Byly použity následující druhy čajů:

Tabulka 1: Použité mátové čaje

čaj	číslo čaje
Dr. Popov – sypaný	1
Vittotea	2
Pickwick	3
Apotheke	4
Jemča	5

13.2 Přístroje a software

- Analytické váhy (Sartorius)
- Topné hnízdo
- Hardware kontrol: Agilent® 6890 (option LECO® GCxGC)
- Plynový chromatograf: Agilent Technologies 6890N Network GC system
- Hmotnostní spektrometr: LECO Pegasus III
- Modré vlákno pro SPME: 65 µm PDMS/DVB, Fused Silica/SS
- Šedé vlákno pro SPME: 50/30 µm DVB/CAR/PDMS Stable Flex/SS (1 cm)

13.3 Chemikálie

- Silikagel

13.3.1 Rozpouštědla

- Hexan – Chromasolv, for HPLC, ≥97.0 % (GC) (Sigma – Aldrich)
- Petrolether p.a. ACS, ISO
- Síran sodný bezvodý p.a. (Penta)

13.3.2 Nosný plyn

- Helium 6.0 (SIADCZECH spol. s.r.o.)

13.4 Pracovní postupy

13.4.1 Extrakce do hexanu

Do vialek o objemu 12 ml bylo na analytických vahách naváženo 0,5 g od každého vzorku. K odváženým vzorkům bylo pipetou přidáno 10 ml hexanu. Další den byly extrakty přefiltrovány přes filtrační papír a uchovávány v lednici pro následující analýzu.

Tabulka 2: Množství vzorků pro extrakci do hexanu

vzorek	hmotnost [g]
1	0,5222
2	0,5194
3	0,5161
4	0,5111
5	0,5152

13.4.2 Odstranění chlorofylu pomocí silikagelu

Nejprve byly nachystány kolony. Kolony byly naplněny hexanem a postupně byl přisypáván a sklepáván aktivovaný silikagel. Ten byl aktivovaný v sušárně při teplotě 180 °C po dobu několika hodin. Následně byl přebytečný hexan vypuštěn z kolony.

Extrakty získané pomocí extrakce do hexanu byly zahuštěny dusíkem na zhruba poloviční objem. Pro zahuštění vzorků byla použita jehlová odpařovačka.

Zahuštěné vzorky byly pomocí Pasteurovy pipety nanесeny na silikagel a ponechány vsáknout. Po vsáknutí vzorku bylo přidáno 5 ml hexanu a opět byl ponechán vykapat z kolony. Po vykapání bylo přidáno 10 ml hexanu a frakce byla jímána do vialky o objemu 12 ml. Dále bylo na kolonu přidáno 5 ml petroletheru a po jeho vykapání z kolony bylo přidáno 10 ml petroletheru a tato frakce byla zachycena do 12ml vialky. Všechny frakce byly vysušeny pomocí dusíku na jehlové odpařovačce. Po úplném vysušení byl do vialek napipetován 1 ml hexanu. Následně byly vzorky přemístěny pomocí Pasteurovy pipety do vialek pro plynovou chromatografii.

Při použití UV lampy byla pozorována u chlorofylu na silikagelu červená fluorescence.

13.4.3 Plynová chromatografie a hmotnostní spektrometrie (GC-MS)

Bylo předpokládáno, že ve vzorcích budou především těkavé látky, a tak byla zvolena metoda plynové chromatografie. Všechny vzorky ze silikagelových kolon byly proměřeny na plynovém chromatografu v kombinaci s hmotným spektrometrem.



Obrázek 9: Plynový chromatograf a hmotnostní spektrometr



Obrázek 10: Plynový chromatograf a hmotnostní spektrometr

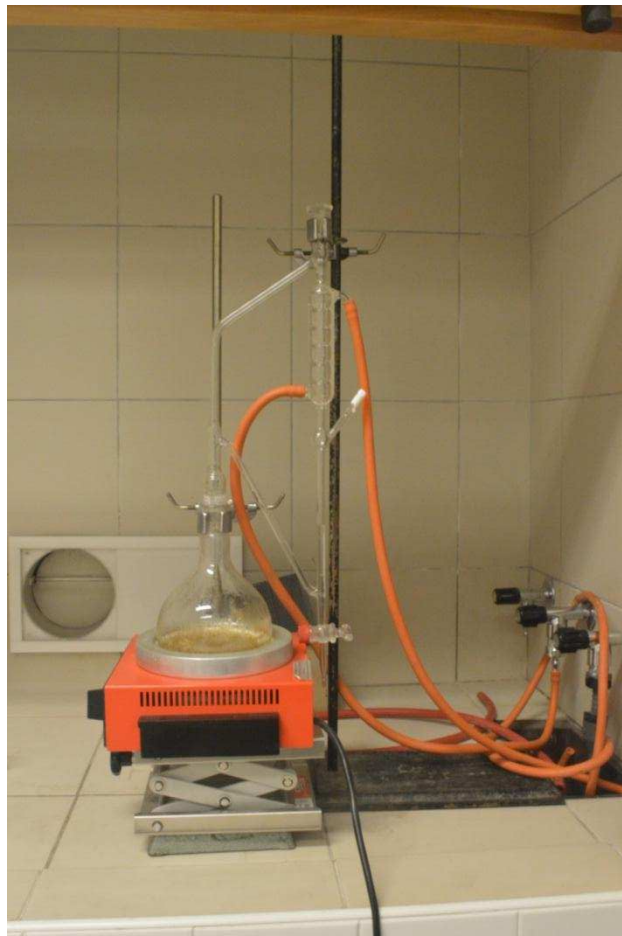
13.4.4 Podmínky analýzy

- Doba analýzy: 38 min
- Průtok nosného plynu: 1 ml/min
- Injektor: splitless
- Teplota injektoru: 250 °C
- Kolona: HT-5 (28 m x 0,25 mm; 0,25 µm)
- Počátek ukládání dat: 350 s
- Teplotní program: 80 – 300 °C (10 °C/min)
- Teplota iontového zdroje: 250 °C
- Rozsah sledovaných hmot: 50 – 600 °C
- Snímání: 20 spekter za sekundu
- Detektor: TOF
- Napětí na detektoru: 1800 V

13.4.5 Destilace s vodní parou

Nejprve byla sestavena aparatura pro destilaci s vodní parou (Obrázek 11). Do baňky o objemu 1000 ml bylo naváženo 5 g čaje a odměřeno 250 ml destilované vody. Do destilačního nástavce byla pipetou přidána destilovaná voda a 2 ml hexanu. Baňka se směsí byla zahřívána pomocí topného hnízda. Destilace probíhala 1,5 hodiny od počátku varu. Po ukončení destilace byla vodná fáze vypuštěna a hexanová fáze byla odebrána do vialky o objemu 4 ml.

Pro odstranění zbytků vodné fáze byl použit síran sodný. Malé množství síranu bylo přidáno do vialky. Po usazení síranu byla hexanová fáze odpipetována do vialek pro plynovou chromatografii.



Obrázek 11: Aparatura pro destilaci s vodní parou

13.4.6 GC-MS

Podmínky pro plynovou chromatografii a hmotnostní spektrometrii byly nastaveny stejně, jako při analýze vzorků ze silikagelových kolon.

13.4.7 Mikroextrakce na tuhou fázi (SPME) – suchý vzorek

Do velké vialky byl nasypán obsah čajového sáčku a vialka byla na 10 minut umístěna do sušárny vyhřáté na teplotu 50 °C. Po vyjmutí vialky ze sušárny bylo přes septum vsunuto vlákno pro SPME a absorpce probíhala 20 minut při laboratorní teplotě. Pro všechny vzorky bylo použito modré a šedé vlákno.

13.4.8 GC-MS

Vlákna byla ručně umístěna k dávkování na GC.



Obrázek 12: Dávkování vzorku po SPME do plynového chromatografu

13.4.9 Podmínky analýzy

- Doba analýzy: 864 s (14,4 min)
- Průtok nosného plynu: 1 ml/min
- Manuální nástřik
- Kolona: HT-5 (28 m x 0,25 mm; 0,25 μ m)
- Počátek ukládání dat: 350 s
- Teplotní program: 40 – 300 °C (25 °C/min)
- Teplota iontového zdroje: 250 °C
- Rozsah sledovaných hmot: 50 – 550 u
- Snímání: 20 spekter za sekundu
- Detektor: TOF
- Napětí na detektoru: 1800 V

13.4.10 Mikroextrakce na tuhou fázi (SPME) – výluh

Nejprve byly uvařeny čaje podle návodu na obalu. Po ukončení vyluhování byl čajový sáček vyjmut a část čaje byla přelita do velké vialky. Přes septum bylo do vzorku ponořeno vlákno pro SPME a za stálého míchání na magnetické míchačce probíhala 20 minut sorpce. Poté byl vzorek ponechán volně v laboratoři a po několika hodinách byla provedena sorpce znovu. U čerstvých i odstátých vzorků byla provedena sorpce na šedé i modré vlákno.

Všechny čaje byly vyluhovány ve 250 ml vroucí vody. Sypaný čaj byl po vyluhování přefiltrován přes filtrační papír.

Tabulka 3: Příprava vzorků

vzorek	délka vyluhování	odstátí – modré vlákno	odstátí – šedé vlákno
1	15 minut	3:09	2:49
2	6 minut	3:01	2:41
3	5 minut	2:31	2:53
4	15 minut	3:15	3:00
5	12 minut	3:53	3:05

Analýza nasorbovaných látek byla provedena pomocí GC-MS se stejným nastavením jako při analýze SPME suchých vzorků.

14 VÝSLEDKY A DISKUZE

Všechny vzorky byly analyzovány pomocí kombinace metod GC-MS. Látky byly identifikovány porovnáním se standardy pomocí software, databáze nist. Pro další práci byly vybrány látky s podobností nad 80 %. Z látek byly vybrány ty, které se běžně nachází v mátové silici.

14.1 Extrakce do hexanu

Žlutě podbarvené látky byly nalezeny pouze v hexanu, zeleně byly detekovány pouze v petroletheru. Bez podbarvení byly v hexanu i petroletheru.

U vzorku č. 1, 3 a 5 nebyly pro petrolether vhodné výsledky pro vyhodnocení.

14.1.1 Vzorek č. 1

Tabulka 4: Zjištěné látky v hexanu

karvon	germacren D	piperiton	α -pinen
β -pinen	isokaryofylen	α -copaen	menthyl acetát
menthon	limonen	levomenthol	

14.1.2 Vzorek č. 2

Tabulka 5: Zjištěné látky v hexanu a petroletheru

α -pinen	β -pinen	karyofylen	limonen
α -copaen	cineol (eukalyptol)		

14.1.3 Vzorek č. 3

Tabulka 6: Zjištěné látky v hexanu

germacren D	α -pinen	β -pinen	isokaryofylen
karyofylen	α -copaen	limonen	humulen

14.1.4 Vzorek č. 4

Tabulka 7: Zjištěné látky v hexanu a petroletheru

limonen	α -pinen	β -pinen	sabinen
karyofylen	humulen	α -copaen	

14.1.5 Vzorek č. 5

Tabulka 8: Zjištěné látky v hexanu

germacren D	isokaryofylen	limonen	
-------------	---------------	---------	--

U této metody bylo zjištěno nejméně látek, to mohlo být způsobeno tím, že nejvíce těkavé látky ze vzorku vyrchaly během odpařování dusíkem. U 3 vzorků nebyly vhodné výsledky látek v petroletheru, takže nebyly zahrnuty do tabulek. V petroletheru by měly být zjištěny látky, které byly více zadržovány na silikagelu v koloně.

14.2 Destilace s vodní parou

14.2.1 Vzorek č. 1

U vzorku č. 1 bylo nalezeno 105 látek s podobností více než 80 %.

Tabulka 9: Zjištěné látky v destilátu

karvon	piperiton	karyofylen	menthon
germacren D	α -pinen	karyofylen oxid	limonen
linalol	β -pinen	terpineol	cineol (eukalyptol)
mint furanon	menthofuran	menthol	humulen
eukarvon	sabinen	menthyl acetát	ledol
isokaryofylen			

14.2.2 Vzorek č. 2

U vzorku č. 2 bylo nalezeno 116 látek s podobností více než 80 %.

Tabulka 10: Zjištěné látky v destilátu

piperiton	sabinen	karyofylen oxid	limonen
α -copaen	menthofuran	terpineol	cineol (eukalyptol)
α -pinen	isokaryofylen	menthol	menthon
β -pinen	karyofylen	menthyl acetát	pulegon

14.2.3 Vzorek č. 3

U vzorku č. 3 bylo nalezeno 128 látek s podobností více než 80 %.

Tabulka 11: Zjištěné látky v destilátu

karvon	germacren D	linalol	mint furanon
terpineol	α -pinen	β -pinen	menthofuran
sabinen	isokaryofylen	karyofylen	karyofylen oxid
menthol	menthyl acetát	pulegon	limonen
cineol (eukalyptol)	humulen		

14.2.4 Vzorek č. 4

U vzorku č. 4 bylo nalezeno 116 látek s podobností více než 80 %.

Tabulka 12: Zjištěné látky v destilátu

karvon	germacren D	linalol	viridiflorol
piperiton	α -copaen	α -pinen	β -pinen
menthofuran	sabinen	karyofylen	karyofylen oxid
menthol	menthyl acetát	pulegon	cineol (eukalyptol)
humulen			

14.2.5 Vzorek č. 5

U vzorku č. 5 bylo nalezeno 130 látek s podobností více než 80 %.

Tabulka 13: Zjištěné látky v destilátu

germacren D	piperiton	α -copaen	α -pinen
β -pinen	terpineol	sabinen	isokaryofylen
karvon	karyofylen	karyofylen oxid	menthyl acetát
limonen	menthol	cineol (eukalyptol)	humulen

14.3 SPME – suché vzorky

Modře podbarvené látky byly zjištěny pouze pomocí modrého vlákna a šedé pouze pomocí vlákna šedého.

14.3.1 Vzorek č. 1

Tabulka 14: Zjištěné látky pomocí SPME

karvon	germacren D	α -pinen	β -pinen
terpineol	sabinen	levomenthol	karyofylen
karyofylen oxid	menthol	menthyl acetát	humulen
menthon	limonen	cineol (eukalyptol)	piperiton
menthofuran	isokaryofylen	α -copaen	isomethon

14.3.2 Vzorek č. 2

Tabulka 15: Zjištěné látky pomocí SPME

α -copaen	karyofylen	limonen	α -pinen
β -pinen	piperiton	cineol (eukalyptol)	menthol
menthon	menthyl acetát	karyofylen oxid	humulen
terpineol	sabinen	isokaryofylen	levomenthol
neomenthyl acetát	linalol	pulegon	germacren D
isomethon	menthofuran		

14.3.3 Vzorek č. 3

Tabulka 16: Zjištěné látky pomocí SPME

α -copaen	karyofylen	karyofylen oxid	terpineol
piperiton	menthol	menthyl acetát	menthon
isomethon	cineol (eukalyptol)	humulen	isokaryofylen
linalol	levomenthol	germacren D	viridiflorol
limonen	pulegon		

14.3.4 Vzorek č. 4

Tabulka 17: Zjištěné látky pomocí SPME

α -copaen	piperiton	α -pinen	β -pinen
karvon	karyofylen	karyofylen oxid	terpineol
menthol	menthyl acetát	menthon	limonen
cineol (eukalyptol)	levomenthol	isopulegol	isomenthon
germacren D			

14.3.5 Vzorek č. 5

Tabulka 18: Zjištěné látky pomocí SPME

karvon	α -copaen	germacren D	linalol
terpineol	isokaryofylen	karyofylen	karyofylen oxid
menthol	menthyl acetát	menthon	isomenthon
cineol (eukalyptol)	humulen	isopulegol	pulegon
limonen	piperiton	viridiflorol	levomenthol

Ze zjištěných látek plyne, že se jednotlivé druhy čajů od sebe moc neliší. Menší rozdíly byly zaznamenány při použití modrého a šedého vlákna pro SPME. Některé látky byly zachyceny pouze na šedém nebo modrém vlákně. To bylo pravděpodobně způsobeno rozdílným složením vláken. Některé látky se během sorbování stihly již desorbovat. U SPME velmi záleží na podmínkách měření na čase sorbování a teplotě. Pro kvantitativní měření by bylo vhodné zkusit různé časy a teploty při měření a tuto metodu optimalizovat.

14.4 SPME – výluh

Modře podbarvené látky byly zjištěny pouze pomocí modrého vlákna a šedé pouze pomocí vlákna šedého.

14.4.1 Vzorek č. 1

Tabulka 19: Látky v čerstvém výluhu

karvon	limonen	viridiflorol	piperiton
α -pinen	β -pinen	terpineol	sabinen
isokaryofylen	karyofylen oxid	menthol	menthon
cineol (eukalyptol)	linalol	pulegon	isomenthol
mint furanon	menthofuran	menthyl acetát	

Tabulka 20: Látky v odstátém výluhu

karvon	linalol	viridiflorol	mint furanon
piperiton	sabinen	karyofylen oxid	terpineol
menthyl acetát	isomenthon	pulegon	cineol (eukalyptol)
α -pinen	menthol	menthon	limonen

14.4.2 Vzorek č. 2

Tabulka 21: Látky v čerstvém výluhu

linalol	mint furanon	piperiton	isokaryofylen
karyofylen oxid	menthol	menthyl acetát	menthon
cineol (eukalyptol)	viridiflorol	neomenthol	isomenthon
limonen	α -pinen	ledol	terpineol
pulegon			

Tabulka 22: Látky v odstátém výluhu

linalol	mint furanon	terpineol	karyofylen oxid
menthol	menthyl acetát	menthon	cineol (eukalyptol)
pulegon	isomenthon	viridiflorol	piperiton
karvon			

14.4.3 Vzorek č. 3

Tabulka 23: Látky v čerstvém výluhu

linalol	mint furanon	piperiton	karyofylen
karyofylen oxid	menthol	menthyl acetát	isomenthon
cineol (eukalyptol)	ledol	terpineol	α -pinen
β -pinen	karvon	pulegon	karvomenthol
levomenthol	limonen	menthon	

Tabulka 24: Látky v odstátém výluhu

linalol	viridiflorol	mint furanon	terpineol
karyofylen oxid	menthol	menthyl acetát	menthon
karvon	isomenthon	pulegon	cineol (eukalyptol)
karyofylen	isokaryofylen		

14.4.4 Vzorek č. 4

Tabulka 25: Látky v čerstvém výluhu

linalol	viridiflorol	piperiton	karyofylen oxid
menthyl acetát	isomenthon	limonen	cineol (eukalyptol)
pulegon	terpineol	isokaryofylen	α -pinen
β -pinen	karvon	menthol	menthon
levomenthol			

Tabulka 26: Látky v odstátém výluhu

karvon	linalol	piperiton	menthol
menthyl acetát	menthon	cineol (eukalyptol)	pulegon
α -pinen	β -pinen	mint furanon	viridiflorol
isomenthon	terpineol	karyofylen oxid	levomenthol

14.4.5 Vzorek č. 5

Tabulka 27: Látky v čerstvém výluhu

cineol (eukalyptol)	karvon	linalol	viridiflorol
piperiton	terpineol	menthol	menthyl acetát
menthon	α -pinen	β -pinen	pulegon
limonen	karyofylen oxid	mint furanon	sabinen
isomenthon	levomenthol		

Tabulka 28: Látky v odstátém výluhu

karvon	linalol	viridiflorol	piperiton
terpineol	menthol	menthon	isomenthon
cineol (eukalyptol)	pulegon	levomenthol	mint furanon
sabinen	karyofylen oxid	menthyl acetát	

Z měření plyne, že v čerstvém výluhu je přítomno více látek než ve výluhu odstátém. Tento fakt byl způsoben pravděpodobně tím, že nejvíce těkavé látky během stání výluhu ze vzorku vyprchaly. Taktéž se liší látky nasorbované na modrém a šedém vlákně.

15 ZÁVĚR

Cílem měření bylo stanovení obsahových látek v mátě. Pro měření bylo využito 5 různých mátových čajů. Byla provedena pouze kvalitativní analýza.

Ve všech vzorcích bylo zjištěno několik desítek látek s podobností více než 80 %. Látky uvedené v tabulkách jsou látky specifické pro mátu.

Měření nebylo úplně spolehlivé, protože všechny typy měření u každého vzorku byly provedeny pouze jednou.

Podle zjištěných výsledků se jednotlivé druhy čaje od sebe příliš neliší. Použitá máta byla pravděpodobně pěstována, sbírána a sušena při podobných podmínkách.

Nejvíce látek bylo nalezeno při SPME suchých vzorků. Nejméně látek bylo nalezeno ve vzorcích po čištění od chlorofylu na kolonách.

16 ZDROJE

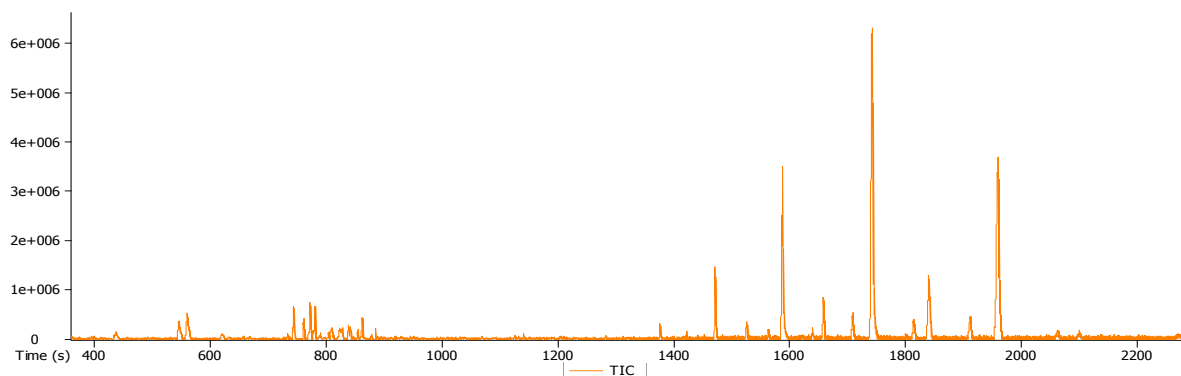
- [1] RUBCOV, V. G., RNDr. Karel BENEŠ a František SEVERA. *Zelená lékárna*. 1. Vydání. Praha: Lidové nakladatelství, 1984.
- [2] ENDRIS, Zdeněk, MUDr. Jaroslav KORBELÁŘ, CSC. a Jindřich KREJČA. *Naše rostliny v lékařství*. 7. vydání. Praha: Avicenum, N. P., Zdravotnické nakladatelství, 1981.
- [3] DEYL, Miloš a Květoslav HÍSEK. *Naše květiny I, II*. 2. vydání. Praha: Albatros, 1980.
- [4] MAYER, Johannes Friedrich, Kilian SAUM a Bernhard UEHLEKE. *Bylinky z klášterní lékárny: více než 100 léčivých rostlin: přesné receptury pro úspěšné domácí použití*. V Praze: Knižní klub, 2004. ISBN 80-242-1099-1.
- [5] KLOUDA, Pavel. *Moderní analytické metody*. Třetí, upravené vydání. Ostrava: Pavel Klouda - nakladatelství Pavko, 2016. ISBN 978-80-86369-22-8.
- [6] ŠTULÍK, Karel. *Analytické separační metody*. Praha: Karolinum, 2004. ISBN 80-246-0852-9.
- [7] BARKER, James, D. J. ANDO a Reg. DAVIS. *Mass spectrometry*. 2nd ed. /. New York, c1999. *Analytical Chemistry by Open Learning (Series)*. ISBN 04-719-6764-5.
- [8] CLEMENT, R. E. *Gas chromatography: biochemical, biomedical, and clinical applications*. New York: Wiley, c1990. ISBN 04-710-1048-0.
- [9] BÍLKOVÁ, Kateřina a Blanka KRÁLOVÁ. *Izolace biomakromolekul*. Praha: Vysoká škola chemicko-technologická, 1997. ISBN 80-708-0288-X.
- [10] SOMMER, Lumír. *Základy analytické chemie*. Brno: VUTIUM, 2000. ISBN 80-214-1742-0.
- [11] CHURÁČEK, Jaroslav. *Analytická separace látek: celostátní vysokoškolská učebnice pro vysoké školy chemickotechnologické*. Praha: Státní nakladatelství technické literatury, 1990. ISBN 80-030-0569-8.
- [12] ARTHUR, C. L., PAWLISZYN J. *Solid phase microextraction with thermal desorption using fused silica optical fibers*. *Analytical Chemistry*. 1990; 62(19), 2145–2148.
- [13] HENGSTEBECK, R. J., Ing. Zdeněk NOVOSAD, CSC a Ing. Milan RYLEK, CSC. *Destilace: Teoretické základy a návrh provozního zařízení*. Praha: Státní nakladatelství technické literatury, 1966.
- [14] ČÁSLAVSKÝ, Josef a Jiří Georg Kamil ŠEVČÍK. *Analýza organických látek: učební text projektu "Příprava kurzů a učebních textů v oboru vzorkování a chemické analýzy" : modul K02-2014*. Český Těšín: 2 THETA, 2014. *Analytical standards and equipment*. ISBN 978-80-260-7085-6.
- [15] BURT, Sara. *Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods—a review*. *International Journal of Food Microbiology* [online]. 2004, 94(3), 223–253 [cit. 2018-04-15]. ISSN 0168-1605. Dostupné z: <http://dx.doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2004.03.022>

- [16] LAWRENCE, Brian M. Mint: the genus *Mentha*. Boca Raton, FL: CRC Press, c2007. ISBN 978-084-9307-799.
- [17] RAJINDER, Singh, Muftah A.M. SHUSHNI a Asma BELKHEIR. Antibacterial and antioxidant activities of *Mentha piperita* L. *Arabian Journal of Chemistry* [online]. 2015, 8(3), 322–328 [cit. 2018-04-20]. ISSN 1878-5352. Dostupné z: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1878535211000232>
- [18] FENWICK, David. *Aphotofungi* [online]. In: [cit. 2018-03-21]. Dostupné z: http://www.aphotofungi.com/rust_puccinia_menthae_mint_hollyhock.html
- [19] *Zahradnictví Krulichovi, Květiny s láskou pěstované* [online]. [cit. 2018-03-21]. Dostupné z: <http://www.zahradnictvikrulichovi.cz/prodej/Mentha-piperita---May----Mata-peprna>
- [20] Simax Glass that lasts [online]. [cit. 2018-03-28]. Dostupné z: <https://www.kavalier.cz/pristroj-na-stanoveni-silic-v-drogach-sp270.html>
- [21] JANČOVÁ, Nikola. *Látky terpenické povahy v rostlinách máty a jejich ovlivnění elicitací*. Vysoké učení technické Brno, Fakulta chemická, 2017.

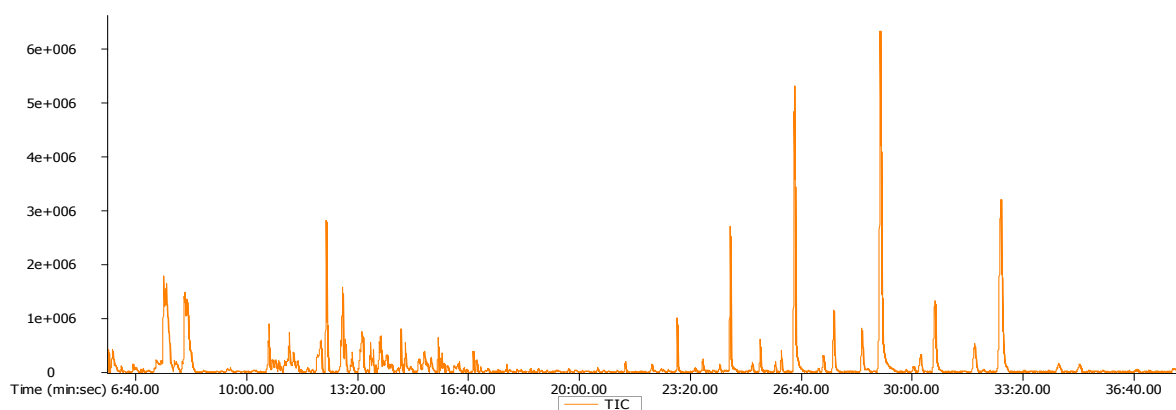
17 PŘÍLOHA

17.1 Získané chromatogramy

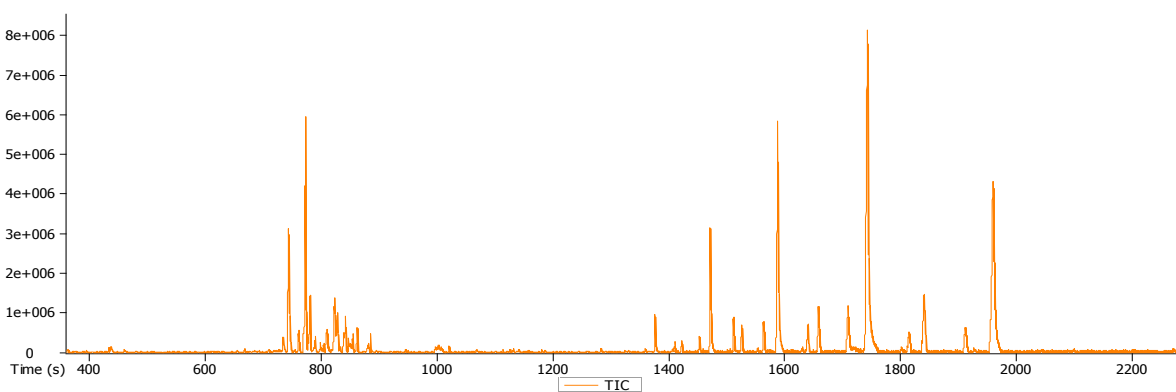
17.1.1 Extrakce do hexanu



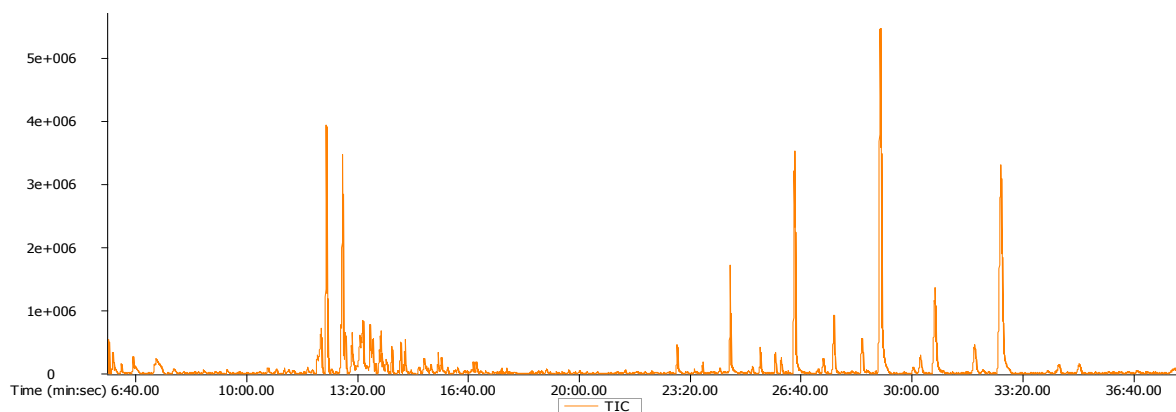
Obrázek 13: Vzorek č. 1 – hexan



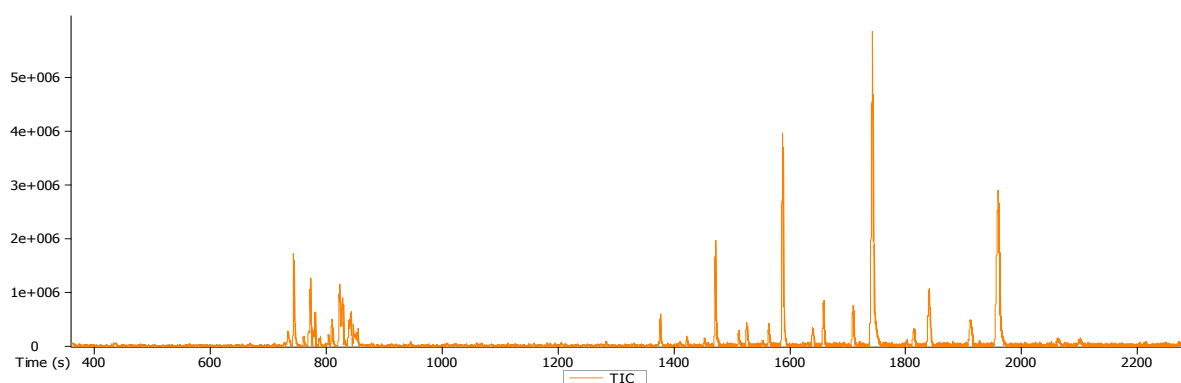
Obrázek 14: Vzorek č. 2 – hexan



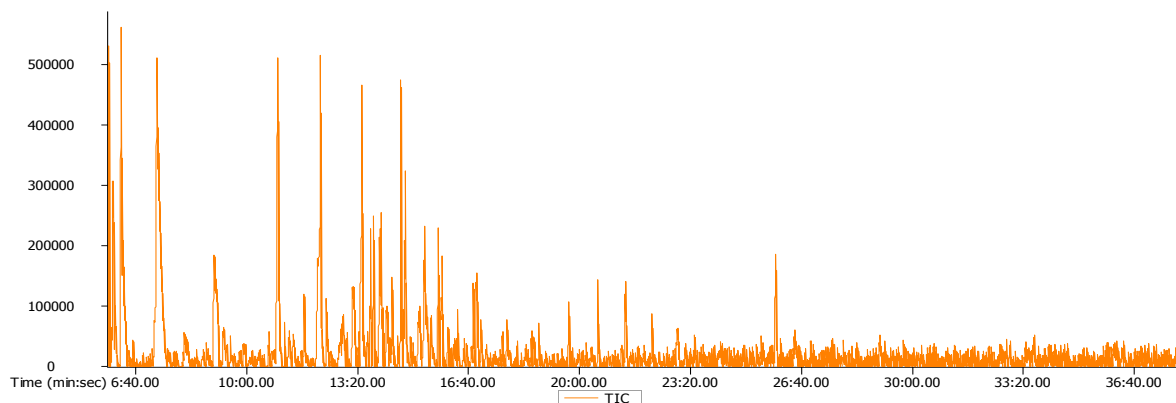
Obrázek 15: Vzorek č. 3 – hexan



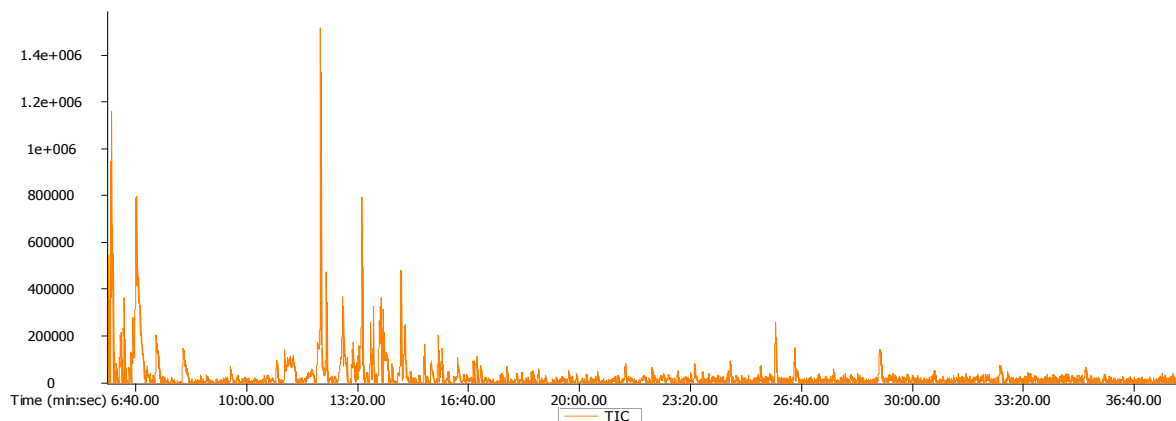
Obrázek 16: Vzorek č. 4 – hexan



Obrázek 17: Vzorek č. 5 – hexan

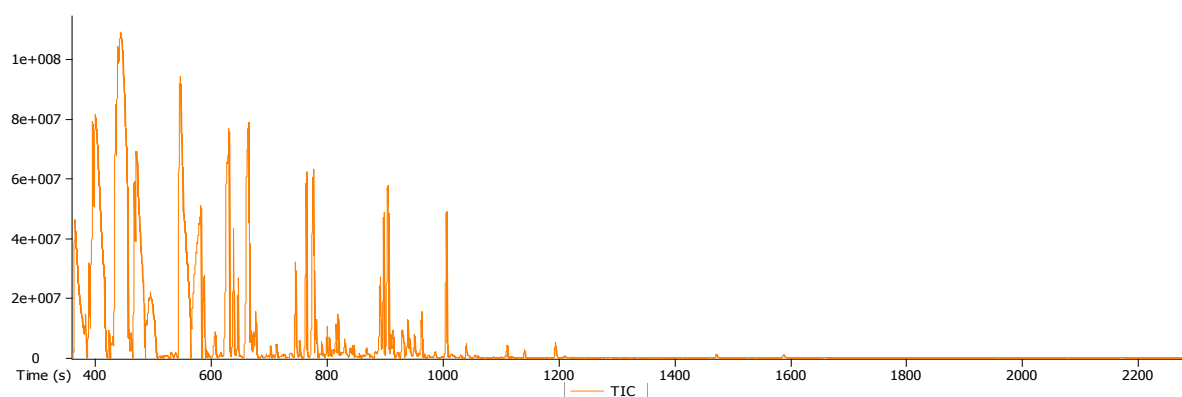


Obrázek 18: Vzorek č. 2 – petrolether

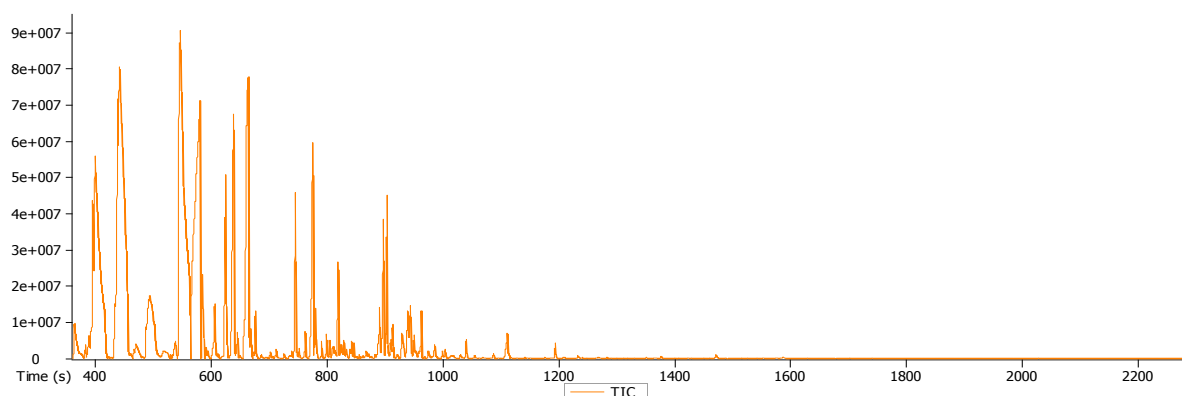


Obrázek 19: Vzorek č. 4 – petrolether

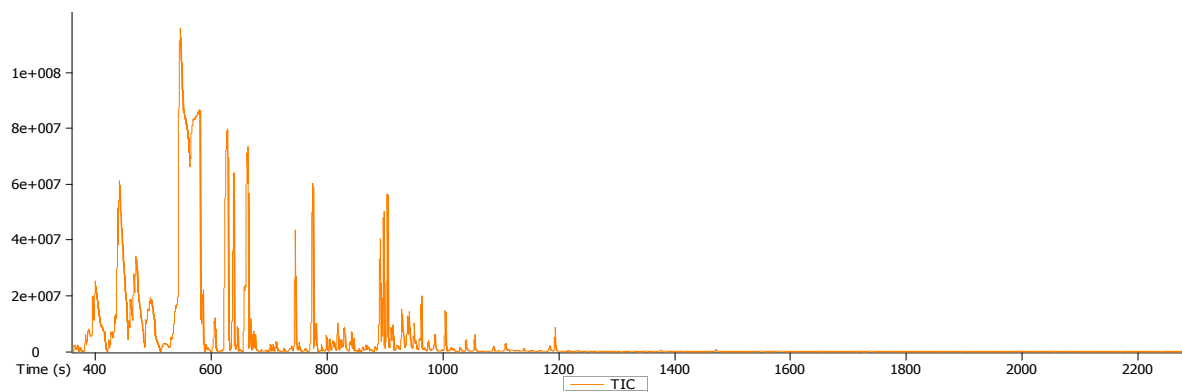
17.1.2 Destilace s vodní parou



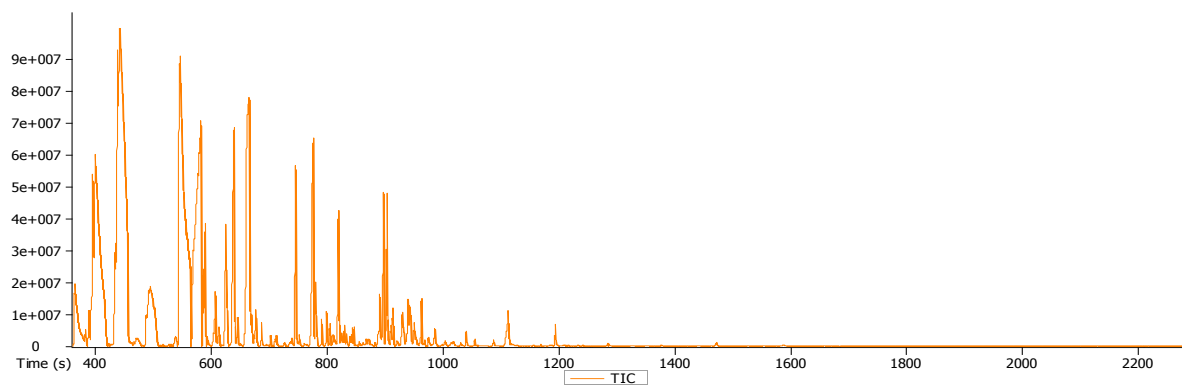
Obrázek 20: Vzorek č. 1



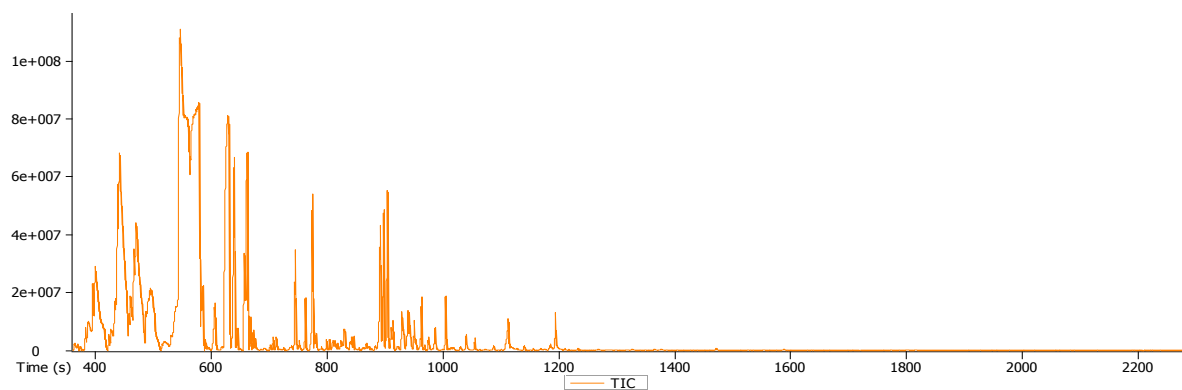
Obrázek 21: Vzorek č. 2



Obrázek 22: Vzorek č. 3

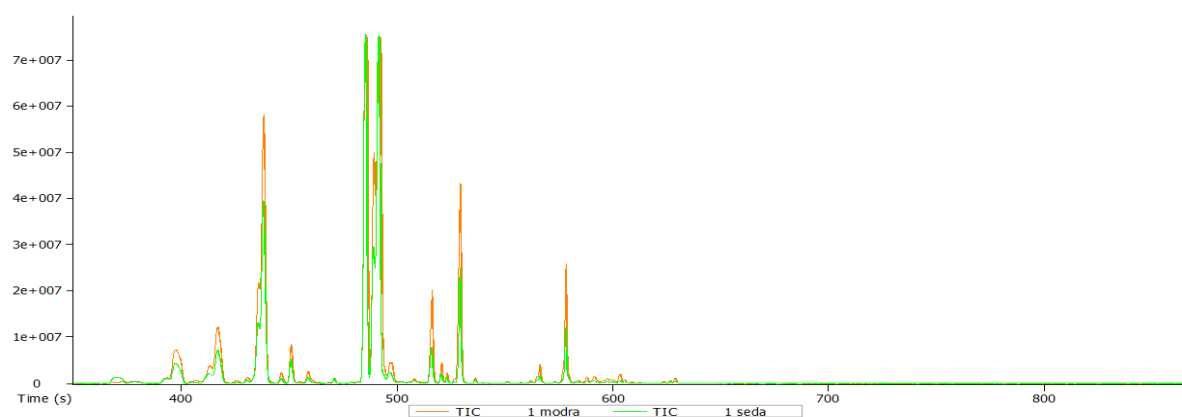


Obrázek 23: Vzorek č. 4

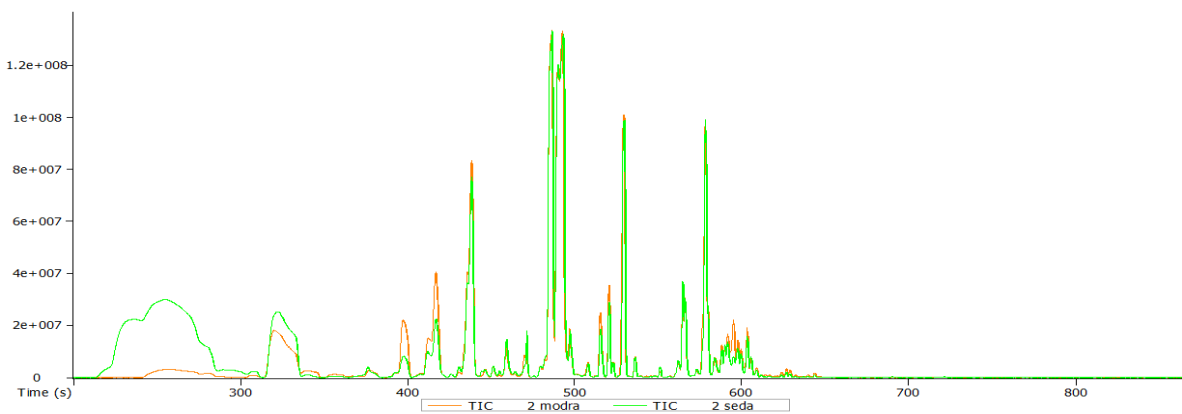


Obrázek 24: Vzorek č. 5

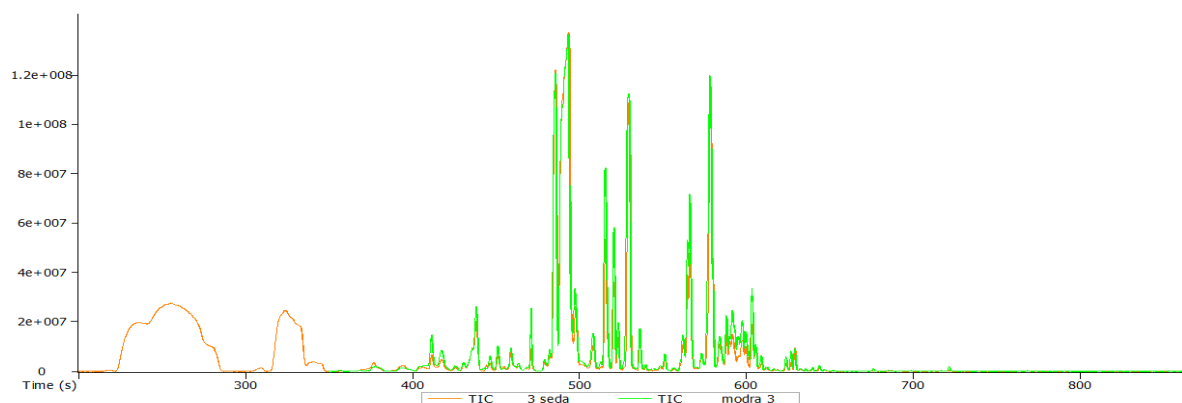
17.1.3 SPME – suché vzorky



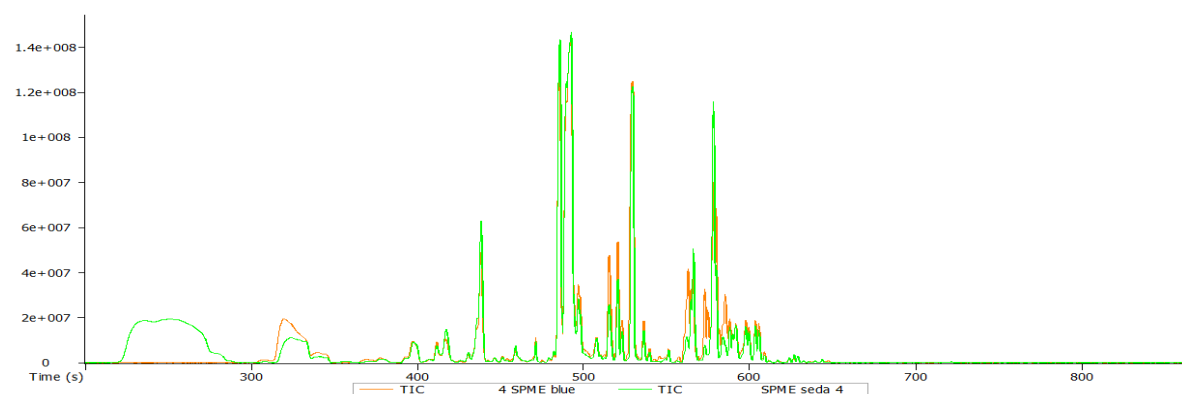
Obrázek 25: Vzorek č. 1 (šedé i modré vlákno)



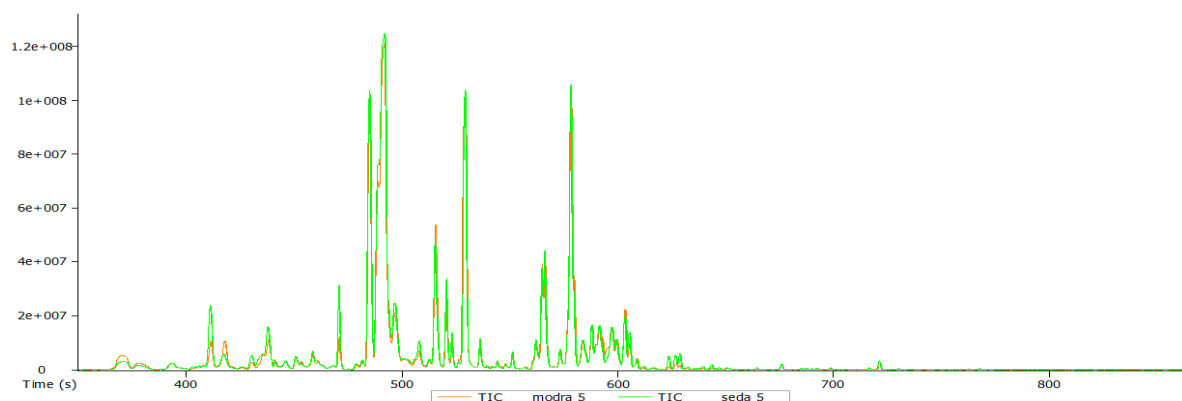
Obrázek 26: Vzorek č. 2 (šedé i modré vlákno)



Obrázek 27: Vzorek č. 3 (šedé i modré vlákno)

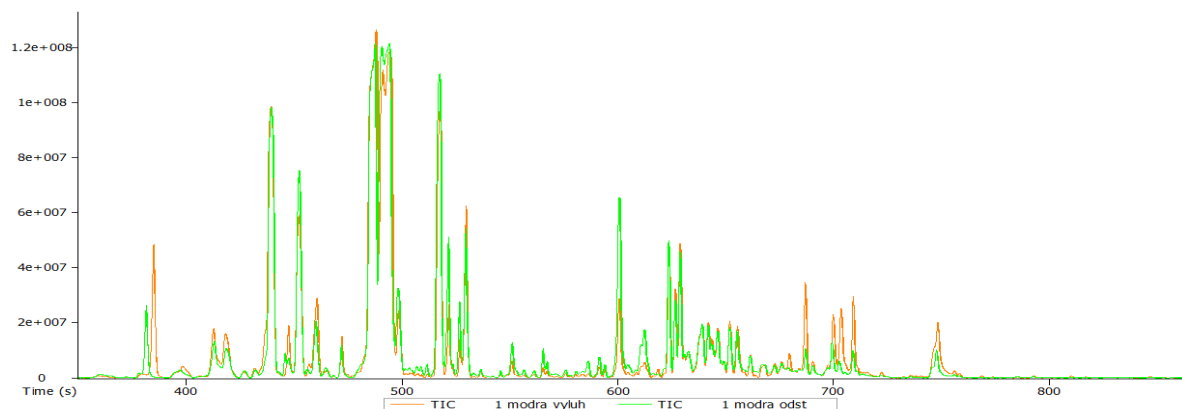


Obrázek 28: Vzorek č. 4 (šedé i modré vlákno)

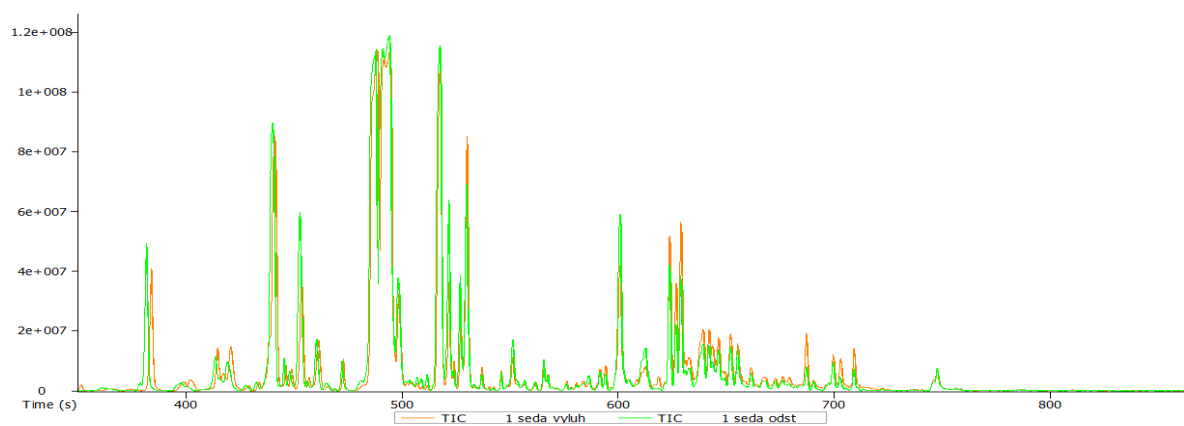


Obrázek 29: Vzorek č. 5 (šedé i modré vlákno)

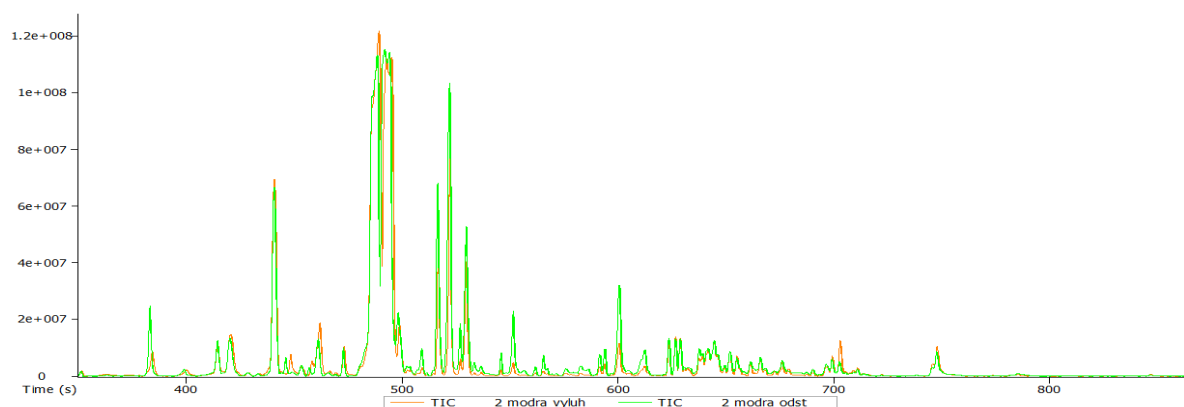
17.1.4 SPME – výluh



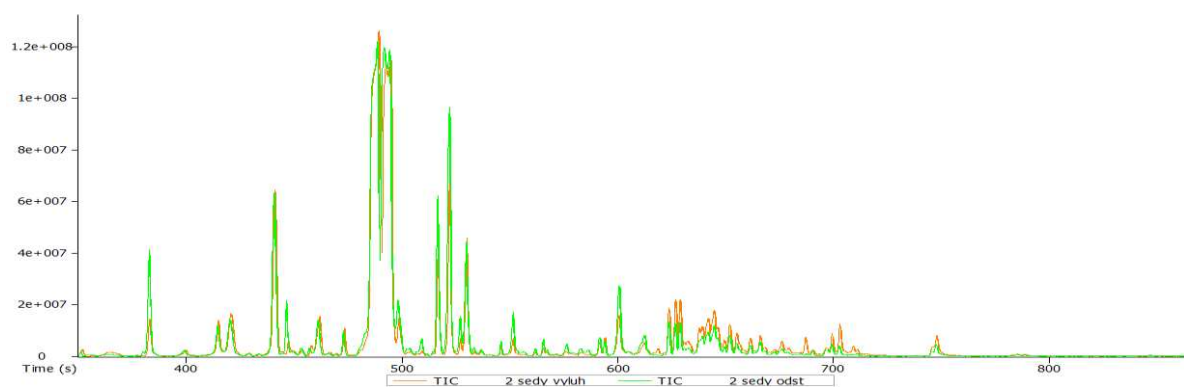
Obrázek 30: Vzorek č. 1 modré vlákno (čerstvý a odstátý)



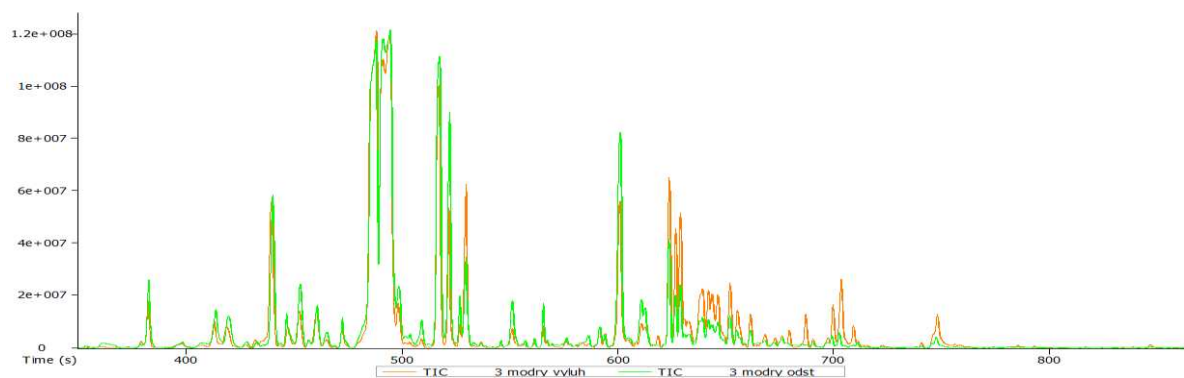
Obrázek 31: Vzorek č. 1 šedé vlákno (čerstvý a odstátý)



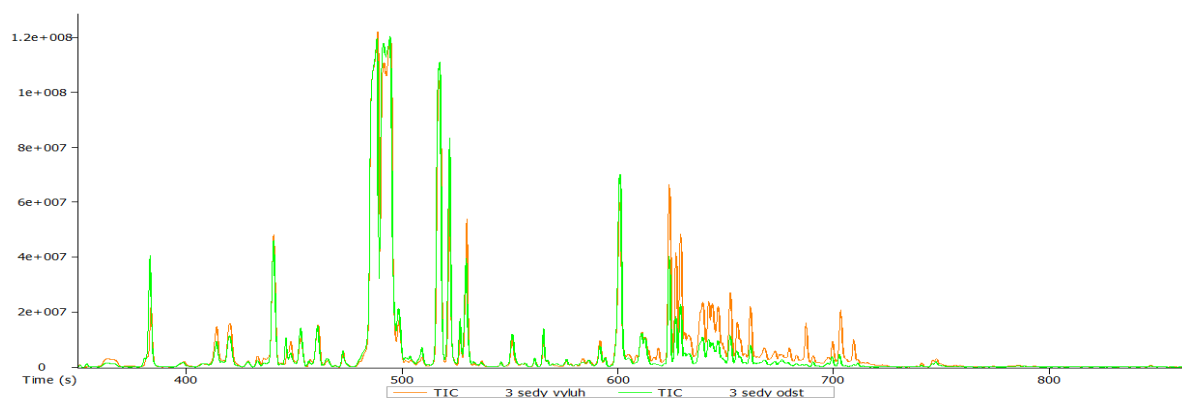
Obrázek 32: Vzorek č. 2 modré vlákno (čerstvý a odstátý)



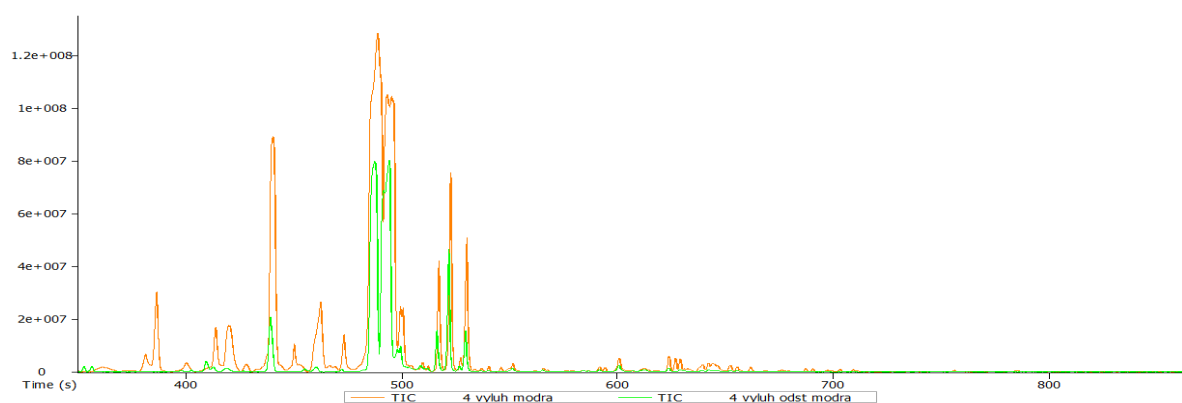
Obrázek 33: Vzorek č. 2 šedé vlákno (čerstvý a odstátý)



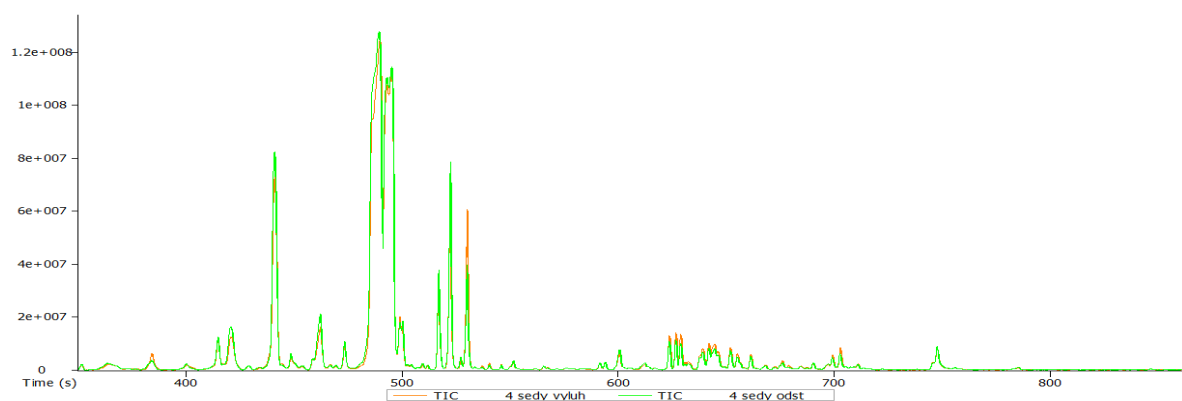
Obrázek 34: Vzorek č. 3 modré vlákno (čerstvý a odstátý)



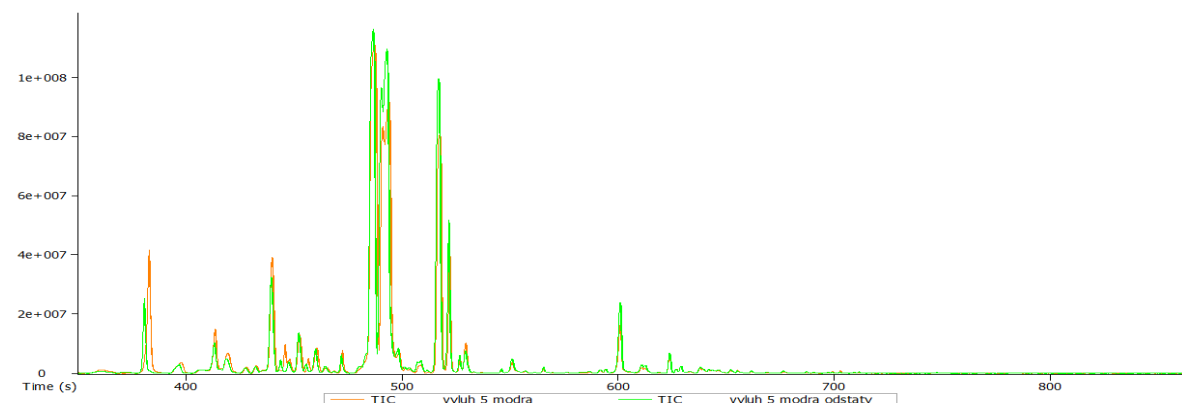
Obrázek 35: Vzorek č. 3 šedé vlákno (čerstvý a odstátý)



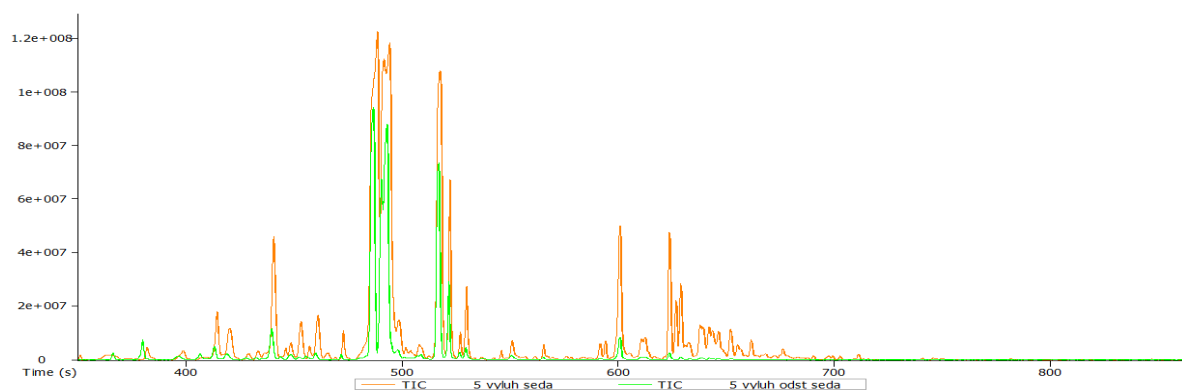
Obrázek 36: Vzorek č. 4 modré vlákno (čerstvý a odstátý)



Obrázek 37: Vzorek č. 4 šedé vlákno (čerstvý a odstátý)



Obrázek 38: Vzorek č. 5 modré vlákno (čerstvý a odstátý)



Obrázek 39: Vzorek č. 5 šedé vlákno (čerstvý a odstátý)