

Univerzita Pardubice  
Fakulta chemicko-technologická

Analýza profilu těkavých látek máku setého s využitím mikroextrakce tuhou fází

Diplomová práce

2023

Bc. Michaela Martínková

Univerzita Pardubice  
Fakulta chemicko-technologická  
Akademický rok: 2022/2023

# ZADÁNÍ DIPLOMOVÉ PRÁCE

(projektu, uměleckého díla, uměleckého výkonu)

Jméno a příjmení: Bc. Michaela Martínková  
Osobní číslo: C21429  
Studijní program: N0531A130030 Hodnocení a analýza potravin  
Téma práce: Analýza profilu těkavých látek máku setého s využitím mikroextrakce tuhou fází  
Zadávající katedra: Katedra analytické chemie

## Zásady pro vypracování

1. Vypracujte literární rešerši zaměřenou na analýzu těkavých látek v potravinách s důrazem na profilování těkavých látek. Zaměřte se především na analýzu těkavých složek a jejich zastoupení v semenech máku setého (*Papaver somniferum* L.). Pro tento účel popište možnosti využití mikroextrakce tuhou fází (SPME) ve spojení s metodou plynové chromatografie (GC) s různými detekčními systémy.
2. V experimentální části prověřte možnosti vzorkování SPME metodou ve vhodném uspořádání s následnou separací sloučenin metodou GC s hmotnostním (MS), případně plamenovým ionizačním (FID) detektorem. Porovnejte profily těkavých látek jednotlivých vzorků máku setého a s využitím dostupných retenčních indexů a knihoven hmotnostních spekter identifikujte co největší počet složek.

Rozsah pracovní zprávy:  
Rozsah grafických prací:  
Forma zpracování diplomové práce: tištěná

Seznam doporučené literatury:  
Podle pokynů vedoucího práce.

Vedoucí diplomové práce: **doc. Ing. Martin Adam, Ph.D.**  
Katedra analytické chemie

Datum zadání diplomové práce: **7. února 2023**  
Termín odevzdání diplomové práce: **5. května 2023**

L.S.

---

**prof. Ing. Petr Němec, Ph.D.**  
děkan

---

**doc. Ing. Petr Česla, Ph.D.**  
vedoucí katedry

V Pardubicích dne 20. února 2023

Prohlašuji:

Práci s názvem „Analýza profilu těkavých látek máku setého s využitím mikroextrakce tuhou fází“ jsem vypracovala samostatně. Veškeré literární prameny a informace, které jsem v práci využila, jsou uvedeny v seznamu použité literatury.

Byla jsem seznámena s tím, že se na moji práci vztahují práva a povinnosti vyplývající ze zákona č. 121/2000 Sb., o právu autorském, o právech souvisejících s právem autorským a o změně některých zákonů (autorský zákon), ve znění pozdějších předpisů, zejména se skutečností, že Univerzita Pardubice má právo na uzavření licenční smlouvy o užití této práce jako školního díla podle § 60 odst. 1 autorského zákona, a s tím, že pokud dojde k užití této práce mnou nebo bude poskytnuta licence o užití jinému subjektu, je Univerzita Pardubice oprávněna ode mne požadovat přiměřený příspěvek na úhradu nákladů, které na vytvoření díla vynaložila, a to podle okolností až do jejich skutečné výše.

Beru na vědomí, že v souladu s § 47b zákona č. 111/1998 Sb., o vysokých školách a o změně a doplnění dalších zákonů (zákon o vysokých školách), ve znění pozdějších předpisů, a směrnicí Univerzity Pardubice č. 7/2019 Pravidla pro odevzdávání, zveřejňování a formální úpravu závěrečných prací, ve znění pozdějších dodatků, bude práce zveřejněna prostřednictvím Digitální knihovny Univerzity Pardubice.

V Pardubicích dne 4. 5. 2023

Bc. Michaela Martínková

## **Poděkování**

Ráda bych poděkovala vedoucímu práce doc. Ing. Martinu Adamovi, Ph.D. za jeho trpělivost, cenné rady a ochotu pomoci během vypracovávání celé diplomové práce. Také chci poděkovat doc. Ing. Lence Husákové, Ph.D. za pomoc při zpracování dat a Ing. Vlastimilu Mikšíkovi, Ph.D. ze spolku Český modrý mák z.s. za poskytnutí vzorků k této diplomové práci. Velké poděkování patří i mé rodině a přátelům.

## **ANOTACE**

Tato diplomová práce je zaměřena na analýzu těkavých látek celých semen máku setého za pomoci headspace mikroextrakce tuhou fází ve spojení s plynovou chromatografií s hmotnostní spektrometrií a pomoci headspace mikroextrakce tuhou fází ve spojení s plynovou chromatografií s plamenovým ionizačním detektorem. V teoretické části jsou shrnuty základní informace o máku setém a jeho nutriční parametry. Je zde popsáno aroma potravin, možnosti izolace těkavých látek a jejich následná analýza. Dále jsou popsány postupy analýzy těkavých látek zejména v makových olejích. V praktické části byla provedena optimalizace extrakčních podmínek, jako je navážka vzorku, teplota a čas extrakce, za účelem extrakce co největšího počtu těkavých látek. Výsledkem byly aromaprofily několika odrůd semen máku setého, kde se podařilo identifikovat podstatné množství těkavých látek. Dále byla semena různých odrůd mezi sebou porovnána.

## **KLÍČOVÁ SLOVA**

Semena máku setého, mikroextrakce tuhou fází, GC-MS, těkavé látky, makový olej

## **TITLE**

Analysis of poppy seeds volatile compounds profile using solid phase microextraction

## **ANNOTATION**

This thesis deals with analysis of volatile substances of whole poppy seed by headspace solid phase microextraction followed by gas chromatography and mass spectrometry and using headspace solid phase microextraction followed by gas chromatography with a flame ionisation detector. The theoretical part summarises the basic information about poppy seed and its nutritional parameters. It describes the aroma of food, the possibilities of the isolation of volatile substances, and their subsequent analysis. It also describes the procedures for analysing volatile substances, especially in poppy oils. The practical part of this work consists of optimisation of extraction conditions such as weight, temperature, and extraction time to extract as many volatile substances as possible from poppy seeds. The results were aroma profiles of several varieties of poppy seeds, where a substantial number of volatile substances were identified. Additionally, seeds of different varieties were compared with each other.

## **KEYWORDS**

Poppy seeds; Solid phase microextraction; GC-MS; Volatile substances; Poppy seeds oil

## Obsah

ÚVOD.....	15
1 TEORETICKÁ ČÁST .....	16
1.1 Mák setý .....	16
1.1.1 Taxonomie máku setého .....	16
1.1.2 Morfologie máku setého .....	16
1.1.3 Semena máku.....	17
1.1.4 Dělení máku setého .....	18
1.1.4.1 Dělení dle následného využití (zemědělsky nejdůležitější členění).....	18
1.1.4.2 Dělení na máky potravinářské, průmyslové a okrasné.....	18
1.1.4.3 Členění dle pěstitelského zaměření .....	19
1.1.4.4 Další možnosti dělení máku .....	19
1.1.5 Šlechtění máku setého .....	20
1.1.6 Mák setý a Česká republika.....	20
1.1.6.1 Legislativní opatření a normy týkající se máku setého.....	21
1.1.6.2 Speciální označení máku.....	22
1.1.6.3 Pěstované odrůdy máku .....	23
1.1.7 Nutriční hodnota makových semen .....	25
1.1.7.1 Tuky .....	25
1.1.7.2 Bílkoviny.....	25
1.1.7.3 Minerální látky .....	26
1.1.7.4 Vitamíny, sacharidy a další biologicky aktivní látky.....	27
1.2 Aroma potravin .....	29
1.2.1 Primární aroma .....	31
1.2.2 Sekundární aroma .....	31
1.2.3 Skupiny vonných látek .....	32
1.2.4 Princip uvolňování aromatických látek .....	33

1.2.5	Metody izolace těkavých látek .....	34
1.2.5.1	Extrakce tuhou fází .....	34
1.2.5.2	Headspace analýza .....	34
1.2.5.3	Mikroextrakce tuhou fází .....	35
1.2.5.3.1	Proces mikroextrakce tuhou fází .....	37
1.2.5.3.2	Optimalizace procesu mikroextrakce tuhou fází .....	37
1.2.5.3.3	Vlákno .....	38
1.2.5.3.4	Výhody mikroextrakce tuhou fází .....	39
1.2.5.3.5	Nevýhody mikroextrakce tuhou fází .....	39
1.2.5.3.6	Trendy mikroextrakce tuhou fází .....	40
1.2.5.3.7	Spojení mikroextrakce tuhou fází s plynovou chromatografií .....	41
1.2.5.4	Extrakce rozpouštědlem .....	41
1.2.5.5	Parní destilace .....	41
1.2.5.6	Extrakce nadkritickou tekutinou .....	42
1.2.6	Instrumentální metody stanovení těkavých látek .....	42
1.2.6.1	Elektronický nos.....	42
1.2.6.2	Plynová chromatografie .....	43
1.2.6.2.1	Plamenový ionizační detektor .....	44
1.2.6.2.2	Hmotnostní spektrometr .....	45
1.2.6.2.3	Olfaktometrický detektor.....	47
1.2.7	Těkavé látky v semenech máku setého a jejich analýza.....	48
1.2.7.1	Těkavé látky v makových olejích .....	49
1.2.7.2	Těkavé látky v mletém máku .....	52
2	EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST .....	53
2.1	Vzorky.....	53
2.2	Chemikálie .....	54
2.3	Instrumentace a nádobí .....	54



2.4	Pracovní postupy .....	55
2.4.1	Optimalizace podmínek HS-SPME .....	55
2.4.2	Podmínky separace na plynovém chromatografu s hmotnostní spektrometrií a kvalitativní analýza .....	57
2.4.3	Podmínky separace na plynovém chromatografu s plamenovým ionizačním detektorem .....	58
3	VÝSLEDKY A DISKUSE .....	59
3.1	Optimalizace podmínek extrakce .....	59
3.1.1	Optimalizace navážky celých semen máku setého .....	59
3.1.2	Optimalizace navážky drcených semen máku setého .....	60
3.1.3	Extrakce těkavých látek celých semen máku při 30 °C .....	62
3.1.4	Vakuově asistovaná mikroextrakce tuhou fází při 30 °C .....	64
3.1.5	Centrálně kompozitní plánování .....	65
3.1.5.1	Centrálně kompozitní plánování pro extrakci bez vakua .....	65
3.1.5.2	Centrálně kompozitní plánování pro extrakci za účasti vakua .....	70
3.1.5.3	Porovnání vybraných optimálních podmínek na reálných vzorcích celého máku .....	73
3.2	Extrakce a analýza těkavých látek vzorků máku .....	75
3.2.1	Porovnání vzorků .....	75
3.2.2	Analýza naměřených dat .....	80
	ZÁVĚR .....	84
	Použitá literatura .....	85
	Přílohy .....	94

## SEZNAM TABULEK

Tabulka 1: Taxonomické zařazení máku setého .....	16
Tabulka 2: Obsah minerálních látek v máku .....	26
Tabulka 3: Obsah některých vitamínů v máku .....	28
Tabulka 4: Příklady klíčových aromatických látek .....	29
Tabulka 5: Zařazení odrůd do skupin dle obsahu morfinu v makovině .....	54
Tabulka 6: Podmínky HS-SPME extrakce na základě CCD .....	57
Tabulka 7: Porovnání vybraných metod extrakce .....	74
Tabulka 8: Přímé porovnání extrakcí při 95 °C po dobu 110 minut.....	74
Tabulka 9: Souhrn naměřených parametrů ze záznamů CG-MS i GC-FID .....	77
Tabulka 10: Skupiny podobných objektů .....	80

## SEZNAM ILUSTRACÍ

Obrázek 1: Mák setý ( <i>Papaver somniferum</i> L.) .....	17
Obrázek 2: Otevření makovic, zleva – hledák a slepák .....	19
Obrázek 3: Logo České cechovní normy .....	22
Obrázek 4: Logo Chráněného zeměpisného označení .....	23
Obrázek 5: Uznané množitelenské plochy máku setého v roce 2022 .....	24
Obrázek 6: Kyselina linolová a kyselina linolenová .....	25
Obrázek 7: Hlavní zdroje těkavých složek potravy .....	30
Obrázek 8: Schématické zobrazení zařízení používaného při SPME .....	35
Obrázek 9: Režimy SPME .....	36
Obrázek 10: Vlastnosti různých stacionárních fází používaných v SPME .....	38
Obrázek 11: Plamenový ionizační detektor .....	45
Obrázek 12: Schéma typického kapilárního GC/MS systému .....	46
Obrázek 13: Diagram plynové chromatografie-olfaktometrie.....	48
Obrázek 14: Zkoušené odrůdy makových semen .....	53
Obrázek 15: Plynový chromatograf GC-2030 s MS-QP2020 NX detekcí a možností FID detekce .....	55
Obrázek 16: Porovnání vhodnosti navážky celých semen máku.....	59
Obrázek 17: Porovnání navážek drcených semen máku .....	61
Obrázek 18: Vliv přídavku destilované vody k drcenému máku.....	62
Obrázek 19: Vliv délky extrakce při 30 °C na vybrané parametry.....	63
Obrázek 20: Porovnání extrakce při 30 °C bez vakua s extrakcí s vakuem .....	64
Obrázek 21: Profily pro vhodnost a předpovědi pro optimalizaci extrakčních podmínek .....	66
Obrázek 22: Metoda odezvové plochy pro optimalizaci extrakčních podmínek.....	67
Obrázek 23: Porovnání pozorovaných a předpovězených hodnot pro počet identifikovaných látek .....	67
Obrázek 24: Paretův graf standardizovaných efektů na počet identifikovaných látek.....	68
Obrázek 25: Profily po vhodnost a předpovědi pro optimalizaci extrakčních podmínek po úpravě vstupních dat.....	69
Obrázek 26: Profily po vhodnost a předpovědi pro optimalizaci extrakčních podmínek za účasti vakua .....	70
Obrázek 27: Metoda odezvové plochy pro optimalizaci extrakčních parametrů za účasti vakua.....	71

Obrázek 28: Porovnání pozorovaných a předpovězených hodnot pro počet identifikovaných látek .....	72
Obrázek 29: Paretův graf standardizovaných efektů pro počet identifikovaných látek .....	72
Obrázek 30: Porovnání vyhodnocených optimálních podmínek .....	73
Obrázek 31: Vennův diagram porovnávaných podmínek .....	75
Obrázek 32: Porovnání vzorků .....	76
Obrázek 33: Bublinový graf vzorků .....	79
Obrázek 34: Analýza sousedních komponent.....	80
Obrázek 35: Analýza hlavních komponent.....	81
Obrázek 36: Rozptylový diagram komponentních skóre .....	82
Obrázek 37: Heat mapa komponentních vah .....	82
Obrázek 38: Diagram standardizovaných hodnot koncentrací vybraných analytů zařazených do příslušných skupin .....	83

## SEZNAM ZKRATEK A SYMBOLŮ

AMK	Aminokyseliny
CAR	Carboxen
CCD	Metoda centrálně kompozitního plánování ( <i>Central Composite Design</i> )
CI	Chemická ionizace
DI	Přímé ponoření ( <i>Direct Immersion</i> )
DI-SPME	Mikroextrakce tuhou fází přímým ponořením ( <i>Direct Immersion-Solid Phase Microextraction</i> )
DVB	Divinylbenzen
EI	Elektronová ionizace
FID	Plamenový ionizační detektor ( <i>Flame Ionization Detector</i> )
GC	Plynová chromatografie ( <i>Gas Chromatography</i> )
GC-FID/O	Plynová chromatografie s plamenovým ionizačním a olfaktometrickým detektorem ( <i>Gas Chromatography-Flame Ionization Detector/Olfactometry</i> )
GC-MS	Plynová chromatografie s hmotnostní spektrometrií ( <i>Gas Chromatography-Mass Spectrometry</i> )
GC-O	Plynová chromatografie s olfaktometrickou detekcí ( <i>Gas Chromatography-Olfactometry</i> )
HPLC	Vysokoúčinná kapalinová chromatografie ( <i>High-Performance Liquid Chromatography</i> )
HS	Headspace prostor ( <i>Headspace</i> )
HS-SPME	Mikroextrakce tuhou fází z headspace prostoru ( <i>Headspace-Solid Phase Microextraction</i> )
HS-SPME-GC-MS	Mikroextrakce tuhou fází z headspace prostoru ve spojení s plynovou chromatografií s hmotnostní spektrometrií ( <i>Headspace-Solid Phase Microextraction-Gas Chromatography-Mass Spectrometry</i> )

CHZO	Chráněné označení zeměpisného původu
LC	Kapalinová chromatografie ( <i>Liquid Chromatography</i> )
LRI	Lineární retenční index
MF	Mobilní fáze
MK	Mastné kyseliny
MS	Hmotnostní spektrometrie ( <i>Mass Spectrometry</i> )
PA	Polyakrylát
PDMS	Polydimethylsiloxan
PEG	Polyethylenglykol
PUFA	Polynenasycené mastné kyseliny ( <i>Polyunsaturated Fatty Acids</i> )
RI	Retenční index
SDE	Simultánní destilace-extrakce ( <i>Simultaneous Distillation-Extraction</i> )
SF	Stacionární fáze
SFE	Extrakce nadkritickou tekutinou ( <i>Supercritical Fluid Extraction</i> )
SH	Statická headspace ( <i>Static Headspace</i> )
SPE	Extrakce tuhou fází ( <i>Solid Phase Extraction</i> )
SPME	Mikroextrakce tuhou fází ( <i>Solid Phase Microextraction</i> )
Vac-HS-SPME	Vakuum asistovaná headspace mikroextrakce tuhou fází ( <i>Vacuum Assisted-Headspace-Solid Phase Microextraction</i> )

## ÚVOD

Nejvýznamnější rostlinou rodu mák (*Papaver*) je mák setý (*Papaver somniferum* L.). Česká republika dlouhodobě patří mezi nejvýznamnější světové producenty kvalitního potravinářského máku. Kvalitní semena vyšlechtěných potravinářských odrůd máku setého se využívají k přímé lidské spotřebě. Zbylá makovina je využita ve farmaceutickém průmyslu pro izolaci alkaloidů využitelných na výrobu léčiv.

Maková semena, stejně jako každá jiná potravinářská surovina, mají charakteristické aroma, tedy specifickou skladbu těkavých látek, kterých je velké množství. Obsažené těkavé látky mohou vypovídat o hygienické kvalitě produktu, místě původu, nebo mohou být markery falšování atd.

Před samotou analýzou je potřeba provést izolaci těkavých látek a jako nejvýznamnější metoda izolace se jeví mikroextrakce tuhou fází (*Solid Phase Mikroextraction*, SPME). Jednou z hlavních výhod je, že během extrakce nedochází k interferencím způsobeným složitou potravinovou maticí. SPME extrakce z prostoru headspace (HS) se využívá zejména ve spojení s analýzou pomocí plynové chromatografie (*Gas Chromatography*, GC). Detekce separovaných těkavých látek může probíhat různými způsoby. Velmi často je k detekci využita hmotnostní spektrometrie (*Mass Spectrometry*, MS), kdy je možné látky identifikovat. Jako další způsob, který se v posledních letech dostává do popředí, a to zejména u potravinových analýz, je olfaktometrická detekce (GC-O).

Hlavním cílem této diplomové práce bylo optimalizovat extrakční podmínky mikroextrakce tuhou fází z prostoru headspace (HS-SPME) pro získání co největšího počtu těkavých látek semen máku setého a po provedené optimalizaci extrakce analyzovat poskytnuté vzorky několika různých odrůd máku setého a nelézt možnou spojitost mezi těmito vzorky.

# 1 TEORETICKÁ ČÁST

## 1.1 Mák setý

### 1.1.1 Taxonomie máku setého

Mák setý (*Papaver somniferum* L.) je stará kulturní plodina, jejíž původ není zcela známý. Nejpravděpodobněji však vznikl z planého druhu máku štetinkatého (*Papaver setigerum* DC.). Taxonomické zařazení máku setého je zobrazeno v Tabulce 1. Nejstarší dochované údaje o jeho pěstování jsou již z mladší doby kamenné. Mák je řazen do čeledi makovitých a rodu mák. Tento rod zahrnuje asi 120 druhů rostlin rostoucích převážně ve Středozeří. Taxonomicky se máky třídí do několika odlišných sekcí [1–4].

Tabulka 1: Taxonomické zařazení máku setého [5]

Říše	<i>Plantae</i>	Rostliny
Oddělení	<i>Magnoliophyta</i>	Krytosemenné
Třída	<i>Magnoliopsida</i>	Nižší dvouděložné
Řád	<i>Papaverales</i>	Pryskyřníkotvaré
Čeleď	<i>Papaveraceae</i>	Makovité
Rod	<i>Papaver</i>	Mák
Druh	<i>Papaver somniferum</i> L.	Mák setý

### 1.1.2 Morfologie máku setého

Mák setý, který je zobrazen na Obrázku 1, je jednoletá bylina, která kvete v období červen až srpen. Lodyha je vzpřímená, v průřezu dutá a dosahuje výšky od 50 do 180 cm [2; 6]. Hloubka kořenového systému je 50 až 80 cm. Poupata máku jsou převislá a různých tvarů. Stonek je pokryt listy, jejichž tvar se různí dle umístění na stonku [1]. Korunní lístky jsou většinou celokrajné, mírně zvlněné a různě barevné. Makovice má různé tvary i velikosti, a to přímo ovlivňuje velikost a množství semen. V době zralosti se makovice otevírá malými otvory, nebo zůstává zavřená. Obvyklé množství semen v makovicích je okolo 4–6 tisíc, což jsou 2 až 3 g. Ideální tvar makovic je široký oválný, semena jsou velikostně stejná a plnohodnotná. Počet i výška větví, olistění, hloubka kořenového systému, barva květů, velikost a tvar makovice i množství semen jsou přímo ovlivněny podmínkami růstu a konkrétním genotypem rostliny [1; 2; 4].



Rostliny obsahují v pletivech mléčnice, které po narušení roní bílou šťávu (latex). Tato šťáva, která rychle schne a hnědne, se nazývá opium [1; 5]. Opium obsahuje přírodní alkaloidy – morfin, kodein, noskamin, thebain, papaverin aj. [7]. Mléčnice potravinářského máku však téměř latex neprodukuje a obsah alkaloidů je nízký [8].

Doba výsevu záleží na počasí. Jarní mák se doporučuje vysévat nejdéle do konce dubna. Sklizeň probíhá v době, kdy již došlo k oddělení semen od lamel uvnitř makovice (od poloviny července do začátku září). Lze to poznat tak, že při zatřesení s makovicí, mák uvnitř šustí. Všechny tobolky jsou v tuto dobu hnědé a suché [2; 4; 9].



Obrázek 1: Mák setý (*Papaver somniferum* L.) [10]

### 1.1.3 Semena máku

Semena máku setého mají ledvinkovitý, mírně zploštělý tvar a jsou 1–1,5 mm dlouhá. Povrch semen je drsný a rozbrázděný na šestiúhelníkové plošky. Ty jsou ohraničeny vystouplými žebry. Jejich barva může být různá – černá, hnědá, fialová, blankytně modrá, bílá aj. Blankytně modrá barva je nejčastější barva semen a určitá záruka typické makové chuti. Světlá semena naproti tomu mají nevýraznou chuť, vůni a mají vyšší obsah tuku [2; 4]. Bílý mák má až lehce oříškovou příchut' a je sladší než mák modrosemenný [11]. Barva semene je rozhodující faktor užití semene v pekárenských výrobcích a kuchyňské spotřebě [12].

Osemení semen máku setého se skládá z několika vrstev: epidermis, krystalická, vláknitá, příčná a pigmentová vrstva. Osemení je velmi tenké a snadno propouští vodu. To způsobuje

rychlé vysychání nebo vlhnutí. Kvůli tomu jsou semena náchylná k mechanickému poškození, což způsobí uvolňování kapiček oleje, který rychle žlukne. Na takto poškozená semena se lepí prach z makoviny, což následně výrazně zvyšuje obsah morfinu, obvykle i nad bezpečnou hranici, která je 20 ppm (20 mg/kg semene). Skladování takto poškozených semen po delší dobu a častá manipulace s nimi zvyšují obsah morfinu i riziko žluknutí [2; 4].

Makové semeno samo o sobě neobsahuje žádné alkaloidy. Ty se na semena dostávají během sklizně, kdy se na nich usazuje prach z makoviny. Zralé semeno obsahuje 42–55 % polovysychavého oleje dle odrůdy a růstových podmínek [2; 4; 13].

#### **1.1.4 Dělení máku setého**

Druhy máku lze členit dle různých hledisek. Mezi hlavními faktory, podle kterých se dělí do skupin, jsou využití máků, kvalita semen, obsah morfinových alkaloidů, otevírání makovic nebo ozimost.

##### **1.1.4.1 Dělení dle následného využití (zemědělsky nejdůležitější členění)**

**Opiové máky** jsou typické vyšším obsahem morfinových alkaloidů s dobře vytvořeným vodivým lýkem a velkými mléčnicemi. Je pěstován zejména v subtropických oblastech. Následně je využíván k farmaceutické produkci opia. Ve velkém množství je pěstován i nelegálně.

**Olejný mák** mají oproti opiovému máku makovice, které téměř nemléčí. Jejich pěstování probíhá zejména v zemích mírného pásu. Hlavním produktem jsou maková semena, která se využívají v potravinářském průmyslu. Suchá makovina, jako vedlejší produkt, se po výmlatu využívá ve farmaceutickém průmyslu [2; 6].

##### **1.1.4.2 Dělení na máky potravinářské, průmyslové a okrasné**

**Potravinářské máky** jsou pěstovány zejména pro svá semena, která se využívají v potravinářském a tukovém průmyslu. Mají nízký obsah morfinu v makovině (do 1 %).

**Průmyslové máky** mají v suché makovině obsah morfinu až 2,5 %. Využívají se k průmyslové extrakci alkaloidů ve farmaceutickém průmyslu.

**Okrasné máky** jsou okrasné letničky s dekorativními květy. Jejich pěstování probíhá bez omezení [2; 6].

### 1.1.4.3 Členění dle pěstitelského zaměření

Modrosemenné odrůdy s **velmi nízkým obsahem morfinu** – semeno je využito jako potravina. Nehroží zde žádné riziko zneužití makoviny pro výrobu narkotik.

Modrosemenné odrůdy s **nízkým a nízkým až středně vysokým obsahem morfinu v makovině** – semena se využijí jako potravina.

Modrosemenné odrůdy se **středním obsahem morfinu v makovině** – semeno je využito jako potravina, makovina jako surovina pro farmaceutický průmysl.

Modrosemenné odrůdy se **středně vysokým až vysokým obsahem morfinu v makovině** – semeno je využito jako potravina, makovina je využitelná pro farmaceutický průmysl.

**Bělosemenné a okrovosemenné odrůdy s nízkým a nízkým až středně vysokým obsahem morfinu v makovině** – semeno je využito jako potravina [14].

### 1.1.4.4 Další možnosti dělení máku

Dle způsobu otevírání makovice:

- Hled'ák – otvory pod korunkou (Obrázek 2 vlevo).
- Slepák – makovice bez otvorů (Obrázek 2 vpravo).
- Přechodný typ máku – mají malé neúplné otvory pod bliznou [2].



Obrázek 2: Otevření makovic, zleva – hled'ák [15] a slepák [16]

Dělení podle genetického základu ozimosti:

- **Jarní mák** se vysévá v období jara a sklízí během letních měsíců [4].
- **Ozimý mák** je vyséván na podzim a sklizeň je dřívější než u jarního máku [2].

### 1.1.5 Šlechtění máku setého

Obdobně jako u většiny plodin probíhá i u máku intenzivní šlechtění [8]. Záměr šlechtění máku se odvíjí od požadavků zemědělské praxe, farmaceutického průmyslu a potravinářského průmyslu [17]. Mák je řazen mezi fakultativně cizosprašné rostliny. Rozhodující podíl opylení je tedy samosprašením a od toho se odvíjí způsoby šlechtění [4].

Šlechtění máku má několik obecných cílů. Mezi nimi je zvýšení výnosu semen a makoviny, nebo v některých případech i opia, a morfologická homogenita rostlin. Dalším cílem šlechtění je odolnost proti chorobám, vodnímu deficitu, herbicidům a abiotickým stresovým faktorům a ozimost [2; 17; 18].

Další cíle šlechtění jsou závislé na oblasti využití. Pro farmaceutický průmysl je potřeba kultivarů s vyšším obsahem alkaloidů, v některých případech i jiných než s morfinem, ale např. s kodeinem nebo noskapinem. Potravinářskému průmyslu vyhovují kultivary máku s nízkým obsahem alkaloidů, různých barev a olejnatosti. Tyto kultivary by se mohly v budoucnu pěstovat bez omezení. Žádoucí je šlechtit odrůdy máku, které budou univerzální a vhodné pro využití jak ve farmaceutickém, tak v potravinářském průmyslu [2; 17; 18].

Dosažení výše uvedených šlechtitelských cílů je dosahováno následujícími metodami:

- Výběrem rostlin dle rodokmenu a následným křížením
- Polyploidizací – genová mutace, kdy dochází ke zmnožení počtů sad chromozomů, což má vliv na vlastnosti rostlin
- Mutagenezí – mutace pomocí  $\gamma$ -záření na suchém semeni
- Mezidruhovým křížením
- Hybridním pěstováním – křížení kultivarů atd. [17]

### 1.1.6 Mák setý a Česká republika

Česká republika je nejvýznamnějším producentem makových semen jako potraviny na světě. Dalšími významnými producenty jsou Turecko, Španělsko, Francie nebo Maďarsko, kde jsou semena máku vedlejším produktem máku pěstovaného pro farmaceutické účely. V České republice se pěstují převážně české a slovenské modrosemenné odrůdy. V posledních letech dochází ke zvětšování osevních ploch bělosemenných odrůd a předpokládá se, že tento trend bude přetrvávat [8; 14]. Český mák je známý především svou čistotou. Zrno totiž není znečištěno alkaloidy. Pěstují se zde odrůdy s nižším obsahem alkaloidů, kdy je makovina stále

využitelná ve farmaceutickém průmyslu. Kromě toho se maková semena těší velké kulinářské oblibě [2; 6].

Osevní plocha máku setého v České republice se pohybuje okolo 33 tisíc ha ročně s průměrným výnosem 0,69 t/ha (tj. průměrně 23 t/rok) [19], což dělá z máku druhou nejvýznamnější olejninu v českém zemědělství. Nejvýznamnější olejninou je řepka olejná. Domácí produkce vysoce přesahuje spotřebu obyvatel, která je cca 400 g na osobu za rok [14]. Export máku se dlouhodobě pohybuje okolo 85 % celkové produkce za částku nad miliardu korun, což převyšuje i český chmel. Největšími odběrateli jsou státy, kde je mák kulinární surovinou. Jedná se o slovanské země, zejména Rusko a regiony střední, jihovýchodní a východní Evropy [20; 21].

#### **1.1.6.1 Legislativní opatření a normy týkající se máku setého**

Mák setý je označován jako možný zdroj návykových látek, a to nejen v České republice, proto je jeho pěstování a prodej regulován zákony [22; 23]. V České republice se jedná o zákon č. 167/1998 Sb. o návykových látkách a o změně některých dalších zákonů. Součástí tohoto zákona je ustanovení týkající se oznamovací povinnosti osob pěstujících mák setý nebo konopí na celkové ploše větší než 100 m<sup>2</sup> [24]. Další povinnosti určuje vyhláška č. 172/2015 Sb. o informační povinnosti příjemce potravin v místě určení [25]. Tato vyhláška je provádějící předpis k zákonu o potravinách a tabákových výrobcích č. 110/1997 Sb. [26]. Vyhláška č. 399/2013 Sb., kterou se mění vyhláška Ministerstva zemědělství č. 329/1997 Sb. určuje maximální obsah morfinových alkaloidů v máku pro použití v potravinářství. Toto množství je maximálně 0,8 % alkaloidů v sušině makovice. Současně nesmí být obsah těchto alkaloidů na povrchu semen vyšší než 25 mg/kg. Tato vyhláška ve své Příloze č. 9 uvádí požadavky na chemické a fyzikální vlastnosti máku určeného pro lidskou výživu. Mezi parametry, které uvádí, jsou např. povolená vlhkost, množství anorganických nečistot aj. [27]. Příloha č. 9 vyhlášky je v Příloze I této diplomové práce.

V červenci vstoupilo v 2022 platnost nařízení komise (EU) 2021/2142, kterým se mění nařízení (ES) č. 1881/2006, pokud jde o maximální limity opiových alkaloidů v některých potravinách. Je zde stanoven maximální limit opiových alkaloidů pro celá, rozdrčená nebo mletá maková semena, která jsou uváděná na trh pro konečného spotřebitele na 20 mg/kg. Limit pro pekařské výrobky obsahující maková semena a nebo produkty z nich odvozené je stanoven na 1,50 mg/kg [28].

Míku jakožto olejniny se dotýká i několik mezinárodních norem. Technické normy jsou kvantifikovaná doporučení, jejichž používání je dobrovolné, ale všestranně výhodné. Jsou nezbytnou podmínkou pro volný oběh zboží v Evropské unii [29]. Mezinárodní normy zahrnují např. odběr vzorků (ČSN EN ISO 21294) [30], úpravu laboratorního vzorku na analytický vzorek (ČSN EN ISO 664) [31], stanovení obsahu nečistot (ČSN EN ISO 658) [32], referenční metodu stanovení obsahu oleje (ČSN EN ISO 659) [33] atd. Kromě mezinárodních norem je i několik Českých technických norem, které se týkají máku setého, a to ČSN 46 2300–1, ČSN 46 1011–2, ČSN 46 2300–3 aj. [34–36].

### 1.1.6.2 Speciální označení máku

**Česká cechovní norma** stanovuje kvalitativní parametry určité potraviny. Jednoznačně určuje, co se do daného výrobku musí a může použít. Z normy vyplývají tzv. nadstandardní parametry. Těmito parametry jsou: definice povinných složek, stanovení přípustných a nepřípustných složek a definice těchto nadstandardních parametrů. Návrhy na normy posuzuje odborná hodnotící komise, která je složena ze zástupců vysokých škol, výzkumných ústavů, státních kontrolních orgánů, Ministerstva zemědělství ČR a Potravinářské komory ČR. Pokud výrobek splňuje tuto normu, tak se může značit logem České cechovní normy, které je zobrazeno na Obrázku 3.



Obrázek 3: Logo České cechovní normy [22]

Českému modrému máku a Českému modrému máku mletému byla tato **Česká cechovní norma** přiznána v roce 2019. Nadstandardními parametry u těchto produktů jsou např. odrůdy máku, maximální obsah morfinových alkaloidů (20 mg/kg), vlhkost, olejnatost, chemická čistota, průběh sklizně, použití termostabilizace aj. [22; 37; 38].

**Chráněné zeměpisné označení** (CHZO), v angličtině *Protected Geographical Indication* (PGI), je název, který identifikuje produkt z určitého místa nebo regionu. U tohoto označení je postačující, když pouze definovaná část výroby nebo zpracování produktu proběhne

na vymezeném území. Toto zboží má určitou kvalitu, pověst nebo jiné výjimečné vlastnosti, které lze připsat tomuto zeměpisnému původu. O registraci označení CHZO rozhoduje Evropská komise [22; 39].

Český modrý mák označení CHZO, jehož logo je na Obrázku 4, získal v roce 2021. Hlavním důvodem o uznání Chráněného zeměpisného označení pro tento produkt bylo rozlišení dvou rozdílných komodit se stejným názvem – máku technického a máku potravinářského. Mák technický se nesmí použít jako potravina. Český modrý mák je ze své podstaty potravina a má zcela jiné kvality než mák technický [22].

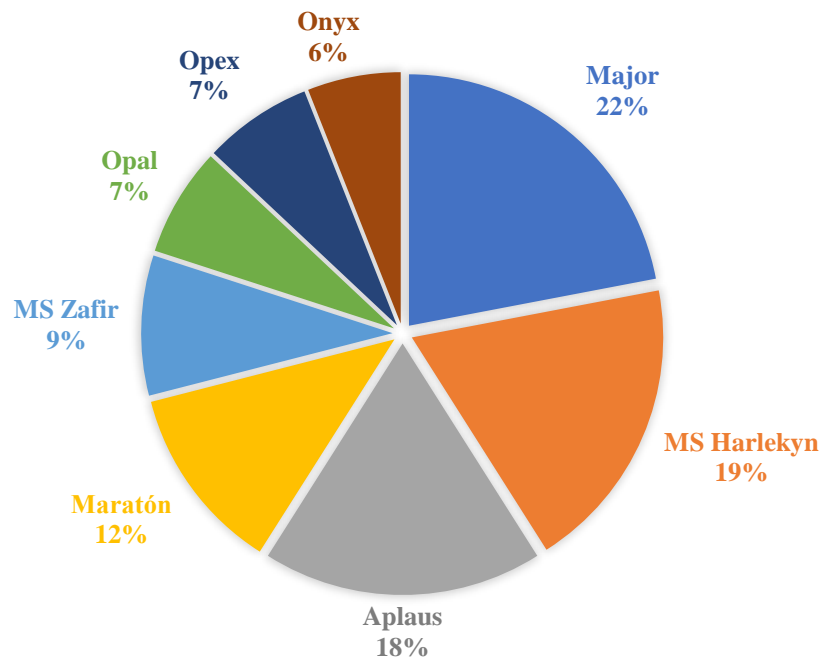


Obrázek 4: Logo Chráněného zeměpisného označení [22]

### 1.1.6.3 Pěstované odrůdy máku

V České republice se v největším množství pěstují odrůdy jarního máku setého a jeho modrosemenné odrůdy se středně vysokým až vysokým obsahem morfinu, modrosemenné odrůdy se středně vysokým obsahem morfinu a v menší míře i bělosemenné a okrovosemenné odrůdy s nízkým a nízkým až středně vysokým obsahem morfinu. Pěstování těchto bělosemenných a okrovosemenných odrůd je v posledních letech na vzestupu. Ve velmi malém množství se pěstují i odrůdy ozimého máku [8; 14].

Výsečový graf na Obrázku 5 zobrazuje procentuální zastoupení pěstovaných odrůd máku na uznaných množitelských plochách v roce 2022. Zároveň jsou uvedeny některé z odrůd, které byly poskytnuty jako vzorky k experimentální části této diplomové práce od spolku Český modrý mák z.s. Veškeré jmenované odrůdy jsou určeny k produkci semene pro potravinářské účely a současně i pro produkci makoviny pro farmaceutický průmysl [14].



Obrázek 5: Uznané množitelské plochy máku setého v roce 2022 [12]

Odrůda **Major** je středně ranná modrosemenná odrůda s dobrou barevnou vyrovnaností. Odrůda má vysoký výnos semen a střední obsah morfinu v makovině. Rostliny této odrůdy jsou odolné vůči chorobám, proti vyvracení a polehávání [40; 41].

**Aplaus** je středně raná modrosemenná odrůda se středně vysokým obsahem morfinu v makovině. Obsah oleje v semeni je středně vysoký [40].

**MS Harlekyn** typ modrosemenného máku se středně vysokým až vysokým obsahem morfinu v makovině se středně vysokým obsahem oleje v semenech. Největší předností této odrůdy je vysoký výnose semene [14; 42].

**Onyx** je také modrosemenná odrůda se středně vysokým až vysokým obsahem morfinu v makovině. Semena mají středně vysoký až vysoký obsah oleje. Odrůda byla v roce 2016 oceněna „Zlatým klasem“ [43].

**Opex** je jedna z nejranějších modrosemenných odrůda se středně vysokým až vysokým obsahem morfinu v makovině. Semena mají vysoký obsah oleje [43].

**Orel** je odrůda bělosemenného máku s nízkým až středně vysokým obsahem morfinu v makovině. Semenům této odrůdy je připisována oříšková chuť. Obsah oleje v semenech je středně vysoký až vysoký [14; 44].

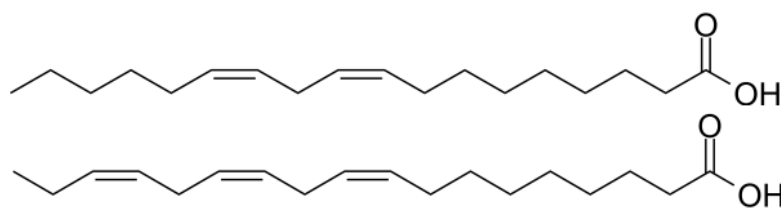


### 1.1.7 Nutriční hodnota makových semen

Nejvíce zastoupenou složkou v semenech máku je olej, kterého semena obsahují dle některých zdrojů až 57 % [45] (většina zdrojů uvádí obsah oleje do 50 % [2; 11; 46; 47]). Dále mák obsahuje až 20 % bílkovin, do 3 % sacharidů, z toho 1,8 % cukrů, okolo 9 % vlákniny, až 6 % minerálních látek a významné množství vitamínů [11; 45]. Tyto hodnoty se liší v závislosti na odrůdě máku.

#### 1.1.7.1 Tuky

**Makový olej** lisovaný za studena je nažloutlý, průhledný a nasládlý [48]. Z nutričního hlediska má zajímavé složení. Makový olej obsahuje okolo 88 % nenasycených mastných kyselin – mononenasycených mastných kyselin i polynenasycených mastných kyselin (PUFA), z toho až 75 % kyseliny linolové (strukturní vzorec je na Obrázku 6), což je  $\omega$ -6 esenciální mastná kyselina. V lidském těle působí např. na snížení bolesti a zmírnění otoků. Při nedostatku této esenciální mastné kyseliny dochází k vysoušení vlasů a jejich vypadávání, špatnému hojení ran aj. Mezi další nenasycené mastné kyseliny, které mák obsahuje, patří kyselina olejová (do 15 %), palmitolejová a linolenová (pod 1 %, strukturní vzorec je na Obrázku 6), která patří mezi  $\omega$ -3 esenciální mastné kyseliny. Nasycené mastné kyseliny jsou zastoupeny asi jen ve 12 % a jsou zastoupeny kyselinou palmitovou (asi 9 %) a kyselinou stearovou (okolo 2 %). Tyto nasycené mastné kyseliny působí v lidském organismu spíše negativně, protože mohou zvyšovat hladinu celkového cholesterolu [46; 47; 49]. Vyšší obsah PUFA poukazuje na náchylnost makového oleje k oxidaci [11]. Obsah a poměr mastných kyselin určuje oxidační stabilitu oleje, která je důležitým kvalitativním ukazatelem. Tuto stabilitu ovlivňuje kromě jiného i obsah tokoferolů v oleji [50].



Obrázek 6: Kyselina linolová (nahore) a kyselina linolenová (dole) [51]

#### 1.1.7.2 Bílkoviny

Při extrakci olejů z máku vzniká jako vedlejší produkt makový koláč, kde je právě největší zastoupení **makových bílkovin**, což může být slibná alternativa k živočišným bílkovinám. Mák totiž obsahuje všechny esenciální aminokyseliny (AMK). Nejvíce zastoupenou AMK je

kyselina glutamová, dále arginin a kyselina asparagová. Dalšími AMK, které mák obsahuje jsou leucin, izoleucin a valin. Co se týče kvality bílkovin, tak index esenciálních aminokyselin (*Essential Amino Acid Index*, EAAI) [52], což je geometrický průměr procentických obsahů esenciálních aminokyselin v bílkovině ve vztahu k týmž bílkovinám ve vaječné bílkovině [53] dosahuje podle této studie asi 125 %, což ukazuje na vysoce kvalitní rostlinnou bílkovinu [52].

### 1.1.7.3 Minerální látky

Maková semena vynikají vysokým obsahem minerálních látek. V porovnání s jinými potravinami má mák např. 3× více železa než špenát, kdy z máku je i 4× lepší vstřebatelnost tohoto minerálu než ze špenátu. 2× více draslíku než v banánu a až 15× více vápníku než v kravském mléce. Vstřebatelnost tohoto rostlinného Ca je nízká v důsledku vazby vápníku na soli oxalátů a fytátů [11; 47]. Obsah nejdůležitějších minerálních látek v máku je zobrazen v Tabulce 2.

Tabulka 2: Obsah minerálních látek v máku (upraveno) [46]

Minerální látky	Bílý mák	Modrý mák
Fosfor	1060 mg/100 g	1010 mg/100 g
Draslík	780 mg/100 g	830 mg/100 g
Vápník	1480 mg/100 g	1500 mg/100 g
Hořčík	370 mg/100 g	380 mg/100 g
Sodík	<10 mg/100 g	<10 mg/100 g
Železo	10,6 mg/100 g	9,7 mg/100 g
Měď	2,6 mg/100 g	2,0 mg/100 g
Zinek	11,9 mg/100 g	8,7 mg/100 g
Mangan	8,4 mg/100 g	7,3 mg/100 g
Kadmium	0,02 mg/100 g	0,05 mg/100 g

**Vápník** je velmi důležitým minerálem pro tvorbu kostí a zubů, ale je nezastupitelný i v řadě dalších fyziologických procesů. Mezi ty patří například srážlivost krve nebo přenos nervových impulzů [54].

**Fosfor**, který je součástí fosfátů, má klíčovou roli v několika různých biologických procesech, je důležitou složkou lipidové dvojvrstvy buněčných membrán a dalších intracelulárních sloučenin jako jsou nukleové kyseliny atd. [55].

**Draslík** má v lidském těle důležitou roli v regulaci krevního tlaku. Zvýšený příjem draslíku snižuje vylučování vápníku močí, čímž snižuje riziko ledvinových kamenů a pomáhá předcházet demineralizaci kostí (osteoporóze) [56].

**Železo** je nezbytným prvkem, protože se účastní široké škály metabolických procesů, včetně přenosu kyslíku, syntézy deoxyribonukleové kyseliny a přenosu elektronů. Nedostatek železa může být příčinou anémie [57].

#### **1.1.7.4 Vitamíny, sacharidy a další biologicky aktivní látky**

Obsah sacharidů v **makových semenech** je poměrně malý, zatímco zastoupení vlákniny je významně vyšší [47]. Databáze složení potravin uvádí až 23 % [58].

V největší míře je v **makových semenech** zastoupen vitamín E (tokoferoly a tokotrienoly). Jedná se zejména  $\gamma$ -tokoferoly, v menším množství i  $\alpha$ -tokoferoly a tokotrienoly. Údaje o obsahu těchto látek se však značně liší a některá literatura uvádí obsah tokoferolů až 280 mg/kg. V malé míře se v máku také nachází vitamíny řady B (B<sub>1</sub>, B<sub>2</sub>, B<sub>3</sub>, B<sub>5</sub>, B<sub>6</sub>, B<sub>7</sub> a B<sub>9</sub>) a vitamín C. Maková semena obsahují i jiné biologicky aktivní látky, mezi které patří fytosteroly nebo další polyfenolové látky, jejichž celkový obsah v máku je vyjádřen jako 395 mg ekvivalentu kyseliny gallové/100 g [11; 47; 49]. Obsah většiny uvedených vitamínů je uveden v Tabulce 3 na konci této kapitoly.

**Vitamíny E a další fenolické látky** jsou látky, kterým je přisuzován antimutagení, antibakteriální, antivirový a protizánětlivý účinek, které mají vliv v prevenci proti mnohým onemocněním. Většina těchto pozitivních vlastností souvisí s antioxidačním potenciálem jmenovaných látek. To znamená, že jsou schopny neutralizovat volné radikály a vychytávat singletový a tripletový kyslík [11]. Celková hladina vitamínů E má důležitou roli při ochraně proti oxidační degradaci PUFA [49].

**Vitamíny skupiny B** jsou součástí buněčných enzymatických systémů energetického a substrátového metabolismu nebo se účastní při vedení nervového vzruchu [59].

**Fytosteroly** jsou steroly rostlinného původu, látky strukturně podobající se cholesterolu, které dokáží snížit jeho hladinu v krvi. Mají tak příznivý vliv na lidské zdraví [11].

Tabulka 3: Obsah některých vitamínů v máku (upraveno) [46]

Vitamín	Bílý mák	Modrý mák
E	18,3 mg/kg	22,8 mg/kg
B <sub>1</sub>	11,6 mg/kg	5,8 mg/kg
B <sub>2</sub>	0,58 mg/kg	0,35 mg/kg
B <sub>3</sub>	7,88 mg/kg	1,7 mg/kg
B <sub>5</sub>	15,7 mg/kg	15,3 mg/kg
B <sub>6</sub>	3,3 mg/kg	1,6 mg/kg
B <sub>7</sub>	0,24 mg/kg	0,21 mg/kg
B <sub>9</sub>	28,2 mg/kg	30,6 mg/kg

## 1.2 Aroma potravin

Pro jakéhokoliv spotřebitele potravin jsou velice důležité organoleptické vlastnosti a kvalita těchto vlastností. Mezi těmito ukazateli organoleptické kvality mají své místo vůně a chuťové vjemy. Uvádí se, že mezi aroma a kvalitou produktu existuje silný vztah. Přítomnost, obsah a složení těkavých a polotěkavých látek v potravinách má významný vliv na jejich kvalitu. Navíc každý produkt má charakteristické a jedinečné složení a obsah těchto látek [60–62].

Aromatické látky jsou těkavé sloučeniny, které jsou vnímány pomocí čichových receptorů čichového orgánu a vyvolávají vjem vůně. K receptorům se dostanou, když jsou vtaženy nosem nebo hrdlem poté, co jsou uvolněny žvýkáním. Aroma potravinářských produktů se skládá z komplikovaných směsí, někdy až stovek sloučenin. Výsledný vjem vůně nebo chuti lze jen těžko přisoudit jen jediné látce (tzv. klíčové látce) nebo několika málo látkám. Příklady těchto klíčových látek jsou uvedeny v Tabulce 4. Obecně to jsou látky málo polární nebo nepolární s nízkou molekulovou hmotností, nízkým bodem varu a s vysokou tenzí par [60; 63–65].

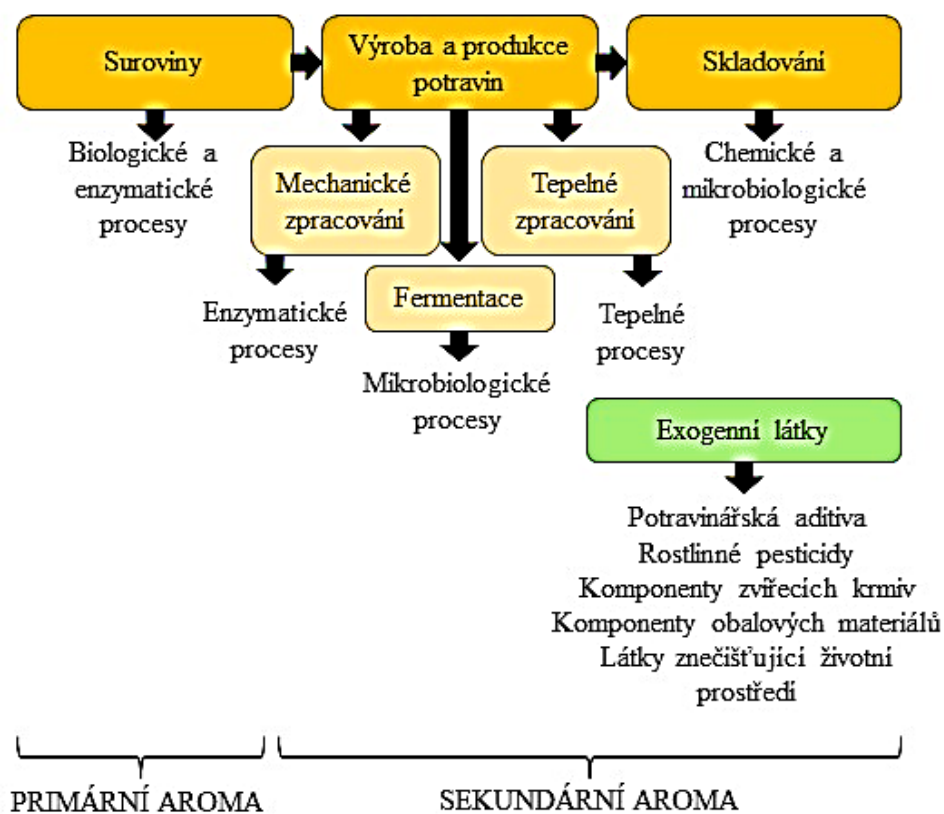
Tabulka 4: Příklady klíčových aromatických látek [63]

Látka	Vůně	Výskyt
( <i>R</i> )-Limonen	Citrusová	Pomerančový džus
( <i>R</i> )-1- <i>p</i> -Methan-8-thiol	Grapefruitová	Grapefruitový džus
Benzaldehyd	Hořké mandle	Mandle
Neral/Geraniol	Citronová	Citrony
1-( <i>p</i> -Hydroxy-fenyl)-3-butanon (malinový keton)	Malinová	Maliny
( <i>R</i> )-(-)-1-Okten-3-ol	Houbová	Žampiony, camembert
( <i>E,Z</i> )-2,6-Nonadienal	Okurková	Okurky
Geosmin	Zemitá	Červená řepa
<i>Trans</i> -5-Methyl-2-hepten-4-on (filberton)	Oříšková	Lískové oříšky
2-Furfurilthiol	Pražená	Káva
4-Hydroxy-2,5-dimethyl- 3(2 <i>H</i> )-furanon	Karamelová	Sušenky, černé pivo, káva
2-Acetyl-1-pyrrolin	Pražená	Kůrka bílého chleba

Těkavé látky, které potravina obsahuje, mohou pocházet ze všech složek této potraviny. Jsou přítomny v surovinách nebo záměrně či nechtěně vznikají během technologického

procesu. Také vznikají i během procesu skladování potravinářských výrobků. Přesto je množství těkavých látek v potravinách extrémně nízké (cca 10–15 mg/kg). Profily vůní, které se nachází v potravinách, jsou výsledkem velkého množství reakcí pobíhajících mezi složkami, které se v nich nachází. Charakter a intenzita výsledného aroma závisí na řadě faktorů: dostupnosti a struktuře reagujících látek, reakčních podmínkách (hladina kyslíku, pH, aktivita vody, teplota atd.), podílu tuku, volných aminokyselin, bílkovin a sacharidů v potravine. Vonné látky s těmito složkami potravin interagují, což ovlivňuje koncentraci aromatických látek v plynné fázi [60; 61; 63; 64].

Analýza vůně nebo zápachu může představovat cenný zdroj informací o kvalitě potravin, které zahrnuje jak organoleptické vlastnosti, tak zdravotní nezávadnost pro spotřebitele. Bylo detekováno již tisíce pachových sloučenin a stále jsou identifikovány nové. Hlavní zdroje těkavých látek, včetně aromatických, se dělí do třech skupin, z nichž jsou dvě hlavní znázorněny na následujícím schématu (Obrázek 7) [60].



Obrázek 7: Hlavní zdroje těkavých složek potravy (upraveno) [60]

### 1.2.1 Primární aroma

Jak je zřejmé z Obrázku 7, mezi primární aroma se řadí přírodní pachové sloučeniny. Jsou to takové sloučeniny, které vznikají při metabolických drahách aminokyselin a tuků (alkoholy, karboxylové kyseliny, karbonylové sloučeniny a laktony), nebo látky vznikající při zrání ovoce (terpeny, estery a ethery) aj. Obecně lze říct, že jsou to **sekundární metabolity produkované nitrobuněčnými procesy**. Jsou to sloučeniny charakteristické pro danou surovinu nebo produkt, ale zároveň jsou závislé na řadě faktorů (druh a původ suroviny, zralost, podmínky prostředí atd.). Tyto látky také mohou svědčit o pravosti produktu. Na základě stanovení těkavých složek je možné detekovat falšování olejů, nebo rozlišovat produkty podle jejich zeměpisného původu (např. sýry, čaje, ovoce, med a další) [60; 64].

### 1.2.2 Sekundární aroma

Sekundární aroma tvoří látky vznikající při **výrobě a zpracování potravin**, které mohou mít pozitivní i negativní zdravotní efekty. Obsah těchto látek, jak kvalitativní, tak kvantitativní, silně závisí na podmínkách průběhu procesu a je výsledkem velkého množství různých a často ne zcela prozkoumaných enzymatických, mikrobiálních a tepelných procesů probíhajících v potravinách. Stanovení těkavých látek lze využít pro řízení technologických procesů (sledování stupně oxidace lipidů při výrobě sušeného mléka, výrobě vařeného masa atd.) [60].

Důležitým ukazatelem kvality jsou těkavé látky vznikající při **skladování** potravin. V nejjednodušším případě během skladování těkavé látky unikají a dochází k postupnému rozkladu vůně. Častěji však také nové aromatické látky vznikají, a to podobnými mechanismy jako při zpracování potravin – chemickými nebo mikrobiologickými procesy nebo za účasti mikrobiologických enzymů. Jsou to látky, které mají pozitivní vliv na organoleptickou kvalitu, ale i látky vznikající ve zkažených potravinách. Nejčastěji jsou to sekundární produkty oxidace lipidů – aldehydy, ketony nebo organické kyseliny. Jako indikátor stupně oxidace potravinářských produktů, zejména u masa, lze považovat hexanal, u kterého je pozorován vzestup koncentrace během skladování. U rostlinných olejů bylo navrženo spíše stanovení nonanalů jako indikátoru, protože v produktech tohoto typu pochází značné množství hexanalů také z enzymatické „lypoxigenázové dráhy“ [60].

Jak během skladování, tak během technologického procesu, může dojít ke kontaminaci výrobků plísněmi. Dochází nejen k výraznému zhoršení organoleptických vlastností, ale i ke zdravotní závadnosti potravin, což lze také zjistit na základě pozorovaných změn v aromatických profilech. Kontaminace nežádoucími mikroorganismy je rovněž zásadní problém během

fermentačních procesů. Příkladem může být přítomnost zvýšeného množství butylových sloučenin, především isobutylakoholu, v surových lihovinách [60].

Třetí skupinou je terciální aroma, které není na dříve uvedeném obrázku. Jedná se o aroma vína vzniklé enzymatickými a fyzikálně-chemickými reakcemi. Tyto reakce probíhají během konzervace a zrání vína [66].

### 1.2.3 Skupiny vonných látek

**Uhlovodíky** (terpeny a další alifatické, alicyklické a aromatické uhlovodíky) jsou v potravinách nejčastěji přítomny jako složky silic a lipidového podílu potravin. Jsou buď přirozenou složkou surovin nebo vznikají během skladování nebo zpracování potravin. Vyskytují se také jako sekundární produkty oxidace lipidů, ale i mnoha dalších složek.

**Alkoholy** jsou primární i sekundární vonné a chuťové látky a lze je považovat za první stupeň oxidační řady uhlovodíků. Mezi aromatické alkoholy patří zejména primární alkoholy (methanol, ethanol atd.) a jejich estery, nižší alifatické nasycené a nenasycené alkoholy (zejména monoterpenové a seskviterpenové alkoholy).

**Ethery** odvozené od mono- a seskviterpenů a aromatické ethery se jako vonné látky uplatňují nejvíce. V potravinách se vyskytují i další ethery – symetrické, asymetrické alifatické, aromatické a ethery s atomem kyslíku vázaným v cyklu.

**Ketony a aldehydy** (aromatické, terpenové aj.) se řadí k nejdůležitějším chuťovým a vonným látkám a v potravinách se vyskytují jako primární i sekundární aromatické látky. Mnohdy jsou žádoucími složkami aroma a v některých případech slouží i jako indikátory nežádoucích změn v potravinách. Zároveň s karbonylovými sloučeninami v přebytku alkoholů se vyskytují **acetal**y a **ketaly**, které mají charakteristické vůně.

**Kyseliny** se jako vonné látky uplatňují zejména ve formě nižších karboxylových kyselin a některých aromatických kyselin. Některé karboxylové kyseliny jsou prekurzory jiných vonných a chuťových látek.

Mezi další skupiny významných vonných látek, jak žádoucích, tak nežádoucích, patří funkční deriváty karboxylových kyselin a laktony, fenoly, sírné sloučeniny, dusíkaté sloučeniny a heterocyklické sloučeniny [64].



#### 1.2.4 Princip uvolňování aromatických látek

Odoranty lze charakterizovat podle jejich senzoričkových vlastností. Za vůni je odpovědná jak chemická struktura, tak i koncentrace těchto látek. Těkavost aromatických látek závisí kromě vlastností a struktury surovin i na fyzikálně-chemických vlastnostech samotného aroma. Velkou roli hraje molekulová hmotnost – čím vyšší, tím je nižší rychlost uvolňování těkavé látky. To znamená, že sloučeniny s nízkou molekulovou hmotností mohou difundovat skrze matici snadněji než jiné sloučeniny [67].

Mimo jiné se zdá, že struktura těchto látek, zejména pozice a povaha jejich funkčních skupin, má výrazný vliv na typ a sílu interakcí s maticí. U tohoto pravidla však existuje i několik výjimek. Obecně platí, že jak polarita látek, tak složení matrice řídí schopnost uvolňovat látky a jejich schopnost difundovat do prostředí [67]. Jsou dva hlavní faktory, které řídí rychlost uvolňování aroma z potravin – těkavost aromatických sloučenin v produktu a rezistence pro přenos hmoty z matrice do vzduchu. Těkavost aromatické sloučeniny se vyjadřuje jako podíl jejich koncentrací ve vzduchu a v produktu za rovnovážných podmínek:

$$P_{ap} = C_a / C_p \quad (1)$$

kde  $P_{ap}$  je rozdělovací koeficient vzduch-produkt,  $C_a$  a  $C_p$  jsou koncentrace (g/l) aromatické sloučeniny ve vzduchu a produktu. Rozdělovací koeficient vzduch-produkt je funkcí složení produktu a teploty, ale není ovlivněn texturou a strukturou tohoto produktu. Přenos aroma z produktu do parní fáze probíhá jen tehdy, pokud je narušena fázová rovnováha. Nerovnováha je hnací silou pro transport látek. Rychlost, kterou lze dosáhnout rovnováhy, je určena koeficientem přenosu hmoty  $k$ , což je míra rychlosti, kterou látka z produktu difunduje. Odolnost proti přenosu hmoty ( $1/k$ ) je ovlivněna texturou a mikrostrukturou produktu, nikoliv rozdělením. Vliv odporu proti převodu se projeví až za dynamických podmínek, kdy jsou narušeny fázové rovnováhy [68].

Velká rozmanitost chemického složení odorantů a jejich různá množství v reálných vzorcích činí analýzu složitou. Některé látky, které jsou zodpovědné za vůni nebo zápach, se vyznačují velmi nízkými koncentracemi. Selektivní extrakce aroma je založena na těkavosti (analýza prostoru nad potravinou) nebo rozpustnosti vonných látek (extrakce rozpouštědlem). Vlastnosti, které jsou potřebné pro výzkum a kontrolu, jakožto správnost, přesnost a robustnost, mají do značné míry analytické techniky, jako jsou plynová chromatografie kombinovaná s hmotnostní spektrometrií (GC-MS) a/nebo olfaktometrickou detekcí (GC-O) [67].

### 1.2.5 Metody izolace těkavých látek

Izolace těkavých látek je zvláště důležitá. Izolované látky musí být, pokud možno, reprezentativní pro zkoumaný produkt, proto je volba vhodné metody pro izolaci klíčová. Ve většině případů je nezbytné izolovat požadované složky výrobku, aby se eliminovaly rušivé signály ze složité potravinové matrice [60]. Po mnoho let byly standardními technikami extrakce kapalina-kapalina. V posledních letech pokrok přináší zjednodušení, miniaturizaci a minimalizaci použití organických činidel [62]. Nejčastější řešení izolace těkavých látek jsou uvedena v následujících kapitolách.

#### 1.2.5.1 Extrakce tuhou fází

Extrakce tuhou fází (SPE) je s velkou pravděpodobností v současné době jednou z nejpoužívanějších extrakčních metod, a to v různých módech a modifikacích. K izolaci analytů ze složitých matric dochází současně s přečištěním a zakoncentrováním cílových látek na tuhé fázi. Dochází tím k významnému snížení spotřeby organických rozpouštědel. Dalšími výhodami je vyšší výtěžnost, účinnější zakoncentrování a možnost automatizace [69]. SPE lze přímo použít i k izolaci těkavých látek z kapalných vzorků. V závislosti na typu sorbentu (tuhé fáze) a vlastnostech analytů dojde k řadě interakcí, které umožňují separaci analytu od ostatních složek vzorku [70].

#### 1.2.5.2 Headspace analýza

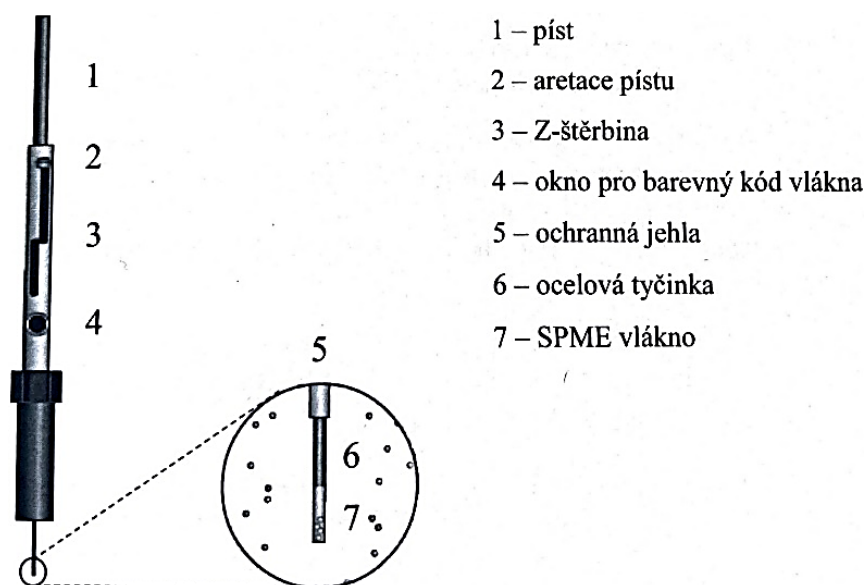
Techniky statické headspace (HS) i dynamické headspace (DH) umožňují přímou analýzu ze surovin bez narušení nebo změny jejich struktury a bez použití chemických látek, tedy z kapalného nebo tuhého vzorku. Při obou metodách dochází k extrakci pouze těkavých nebo polotěkavých látek a zároveň se jedná o jednu z nejjednodušších a levnějších technik extrakce. Další výhodou těchto technik je minimalizace kontaminace kolony chromatografu [60; 67; 71].

Významnější roli má **statická headspace** analýza, kdy se vzorek vloží do uzavíratelné nádoby. Mezi vzorkem a plynnou fází se ustanoví rovnováha a plyn se následně dávkuje do chromatografické kolony. Složení headspace je závislé na rozdělení těkavých látek mezi vzduchem a matricí. Metoda statické headspace je nejjednodušší metoda pro analýzu těkavých látek, jde mimo jiné i snadno automatizovat a zkracuje dobu potřebnou k přípravě vzorku. Detekční limity, které se nachází v jednotkách ppm, však mohou být v některých případech nedostatečné. Pro zlepšení lze využít např. zvýšení teploty [67; 72].

Metoda **dynamické headspace**, nebo-li „*purge and trap*“, je založena na dynamických podmínkách. Inertní plyn prochází termostatovou komorou se vzorkem tak dlouho, dokud nejsou ze vzorku extrahovány všechny, nebo většina těkavých sloučenin. Zároveň dochází k zachycování analytu na lapači, nejčastěji prostřednictvím kryogenního záchytu. Zachycování analytů za pomoci kryogenního záchytu je nejúčinnější s ohledem na většinu těkavých sloučenin. K uvolnění zachycených analytů dochází většinou teplenou desorpceí. Jako v předchozím případě je i zde možnost automatizace, zároveň proces kryofokusace pomáhá ke zlepšení detekčních limitů až na jednotky ppb. Navzdory takové citlivosti ve srovnání s mikroextrakcí tuhou fází je použití této metody omezeno na vzorky s nízkým obsahem vody. Další nevýhodou je však složitější a dražší přístrojové vybavení, což vyžaduje monitorování a optimalizaci většího počtu kroků [60; 67].

### 1.2.5.3 Mikroextrakce tuhou fází

Mikroextrakce tuhou fází (SPME) je metoda založená na rovnovážné extrakci sledovaných látek. Metoda byla vyvinuta Pawliszynem a jeho spolupracovníky v roce 1990 a stala se významnou pro odběr vzorků a jako prekoncentrační technika. To zejména kvůli své jednoduchosti a citlivosti, kdy odběr a příprava vzorku jsou prováděny v jednom kroku. Extrakce probíhá na malém množství stacionární fáze, která je umístěná na povrchu tenkého křemenného vlákna. Tato vlákna mají velmi jednoduchý design, který je znázorněn na Obrázku 8 [63; 69]

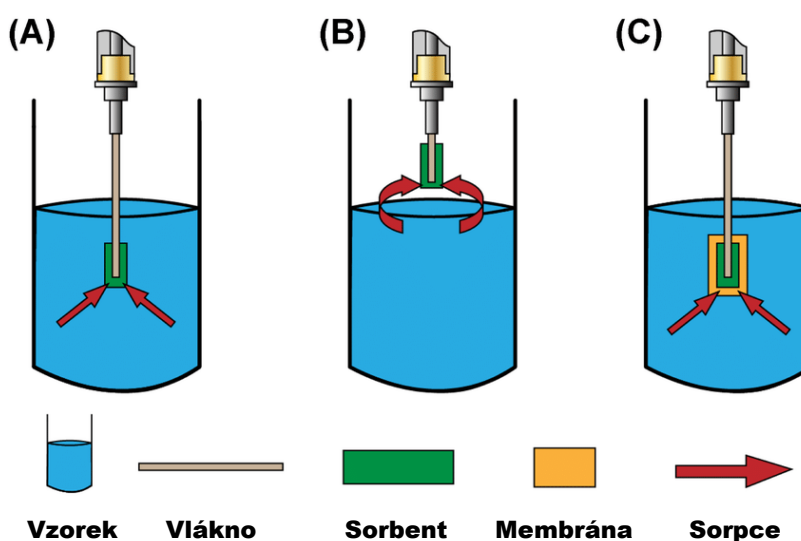


Obrázek 8: Schématické zobrazení zařízení používaného při SPME [69]

Zároveň není potřeba žádných organických rozpouštědel a umožňuje rychlé a cenově výhodné extrakce. Principem SPME z prostoru headspace (HS-SPME) je rovnovážné dělení analytů mezi povlakem vlákna, prostorem headspace a matricí vzorku. Metoda vyžaduje pouze malé množství vzorku, umožňuje izolovat těkavé a polotěkavé analyty z matric, které jsou v tuhém nebo i kapalném stavu v krátkém čase, jednoduchým způsobem a s relativně nízkými finančními náklady. Zajišťuje také linearitu výsledků v širokém rozmezí koncentrací a je aplikovatelná v mnoha oblastech analytické chemie [60; 69; 73; 74].

Mikroextrakce tuhou fází lze provést ve třech základních módech:

- Přímá sorpce z roztoku (DI-SPME = *Direct Immersion-Solid Phase Microextraction*), na Obrázku 9 zobrazena jako varianta (A). Vlákno se během tohoto režimu ponoří přímo do matrice vzorku a analyty jsou přenášeny ze vzorku přímo do extrakční fáze [75].
- Sorpce analytů z plynné fáze nad vzorkem (HS-SPME = *Headspace-Solid Phase Microextraction*), na Obrázku 9 zobrazena jako varianta (B). Vlákno potažené sorbentem je v tomto případě v prostoru nad vzorkem, kde jsou látky zachycovány. Toto provedení je upřednostňováno pro extrakci těkavých látek u komplexních vzorků [75].
- Mikroextrakce tuhou fází s ochrannou membránou, na Obrázku 9 zobrazena jako varianta (C) [75]. Membrána zabraňuje difúzi velkých molekul do extrakční fáze a zároveň umožňuje přenos cílových analytů [75].



Obrázek 9: Režimy SPME (upraveno) [76]

### 1.2.5.3.1 Proces mikroextrakce tuhou fází

Vzorek ve vhodném množství je umístěn do lahvičky se septovým uzávěrem. Vláknem se vždy před extrakcí vyčistí od možných kontaminantů. Následně jehla propíchně septum a vláknem se vysune do vzorku nebo prostoru nad vzorkem. Cílové analyty se rozdělí mezi matici vzorku a stacionární fází vlákna. Po vhodné dlouhé době extrakce se vláknem zatáhne zpět do ochranné jehly. Jehla se vyjme z nádoby a vloží se přímo do nástřikového prostoru plynového chromatografu, nebo desorpční komory rozhraní SPME-HPLC. Analyty se následně přenesou přímo do kolony k analýze [77].

Techniky HS-SPME a DI-SPME jsou kombinovatelné s libovolným systémem GC, GC-MS, HPLC a LC-MS [77].

### 1.2.5.3.2 Optimalizace procesu mikroextrakce tuhou fází

Ustanovení rovnováhy, citlivost a opakovatelnost SPME jsou ovlivněny velkou řadou faktorů. Mezi důležité faktory, které mají významný vliv na proces extrakce, patří: sorbent SPME vlákna (viz kapitola 1.2.5.3.3), množství vzorku, povaha matrice, teplota extrakce, vliv pH a iontové síly, doba sorpce a míchání [69; 77].

Extrakce se obvykle urychluje a zlepšuje mícháním. Dochází tím k urychlení přenosu analytů z matrice. Další možností je přidavek rozpustných solí ( $\text{NaCl}$ ,  $\text{NaHCO}_3$ ,  $\text{K}_2\text{CO}_3$  nebo  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ ). Přesycení vzorku solemi je pro extrakci analytů účinné díky efektu vysolení. Přídavek soli je upřednostňován u metody HS-SPME kvůli možnému poškození vlákna během DI-SPME. Velký vliv na formu analytů má pH. Obecně se vzorek okyselí, pokud se extrahují kyselé analyty a naopak. Dojde tím k potlačení disociace, čímž se sníží rozpustnost daných látek ve vodě. Také se používá netěkavá kyselina nebo zásada pro HS-SPME a těkavé pro DI-SPME, kdy je však povlak vlákna citlivý na vysoké/nízké pH [77]. Pro zvýšení koncentrace analytů v plynné fázi se vzorek zahřívá. Teplota má významný vliv na kinetiku extrakce méně těkavých látek. Může však dojít k rozkladu některých termolabilních sloučenin, nebo tvorbě fragmentů. Pro přesnou a precizní analýzu jsou konzistentní doba extrakce, teplota a další parametry nezbytné [77; 78].

SPME má maximální citlivost v rovnovážném bodě, ale úplná rovnováha není pro přesnou analýzu nutná kvůli lineárnímu vztahu mezi množstvím analytu sorbovaného SPME vláknem a počáteční koncentrací v matici vzorku v nerovnovážných podmínkách [77]. Těkavé analyty mají typicky vysokou Henryho konstantou ( $K_H$ ) a jsou extrahovány rychleji než méně těkavé

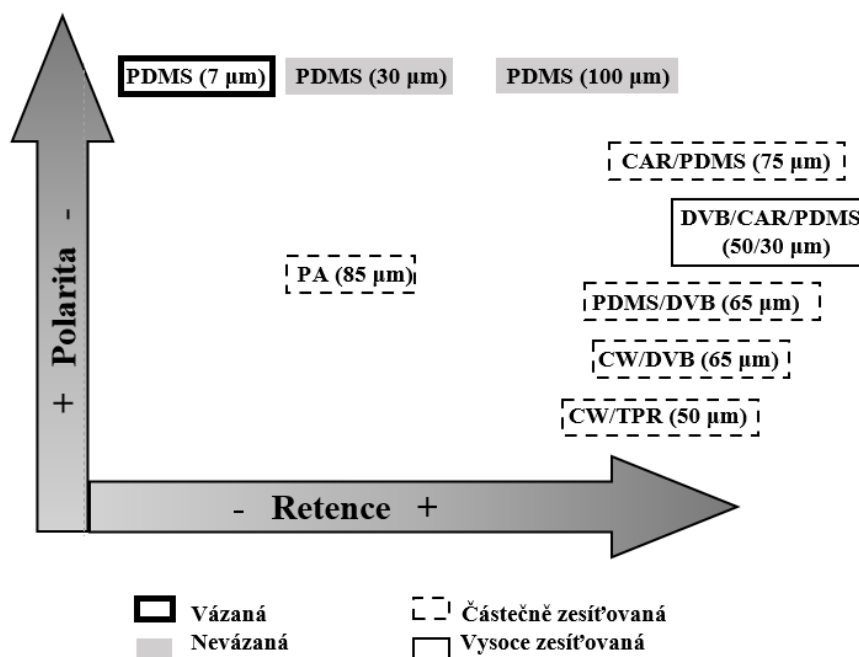
analyty, které jsou dělené mezi vzorkem, headspace prostorem a vláknem. Rychlost přechodu látek mezi fázemi je řízena odporem na rozhraní matrice/headspace [73; 74; 79].

### 1.2.5.3.3 Vlákn

Vlákn pro SPME je vyrobené z taveného oxidu křemičitého, což je chemicky inertní materiál, a je potaženo extrakční fází. Nejčastěji se jako stacionární fáze používají polymerní organické materiály, nebo jejich směsi s tuhým absorbentem [67; 80]. Organické polymery nebo jejich směsi jsou zesíťované a pevně připevněné na křemenné vlákn. Takto upravené vlákn je vystaveno matrici vzorku vysunutím z ochranného pouzdra do nádoby skrze septum. Tento krok je automatizovatelný, nebo se provádí ručně [67]. V současné době je na trhu velký výběr různých druhů vláken s různými typy sorbentů, které mají různé vlastnosti. Ty se liší různými tloušťkami, polaritou a afinitou k různým analytům. Afinita vláken je na principu „podobné se rozpouští v podobném“. Na Obrázku 10 jsou znázorněny charakteristiky některých z častěji používaných fází [70; 77].

Podle povahy filmu, který je na vlákně nanesen, jsou látky absorbovány, nebo adsorbovány. K absorpci dochází u čistě polymerních filmů a k adsorpci dochází na porézních částicích suspendovaných v polymeru:

- Absorbenty – polydimethylsiloxan (PDMS) nebo polyakrylát (PA)
- Adsorbenty – suspendované porézní částice – divinylbenzen (DVB) nebo Carboxen (CAR) [81]



Obrázek 10: Vlastnosti různých stacionárních fází používaných v SPME (upraveno) [70]

Selektivnější extrakci zajišťuje vhodný výběr vlákna. Správný výběr vlákna při analýze vonných látek je důležitý nejen kvůli různému složení potravinových matric, ale různá vlákna zajišťují i různou opakovatelnost. Zároveň záleží i na způsobu extrakce – z prostoru headspace nebo z ponoření do roztoku [60]. Množství analytu, které se sorbuje na vlákno, je určeno především rozdělovacím koeficientem samotného analytu mezi matici vzorku a povlak vlákna [67].

#### **1.2.5.3.4 Výhody mikroextrakce tuhou fází**

Metoda HS-SPME je zvláště užitečná při stanovení těkavých pachových látek. Při této metodě dochází zároveň k izolaci a obohacování bez interferencí matrice. Další výhodou této metody je to, že do systému chromatografu není zavedena voda. Také zachovává mírné podmínky procesu, které nezpůsobují změny ve složení vzorku, a vykazuje větší opakovatelnost výsledků [60].

U jednoduchých vzorků, které neobsahují žádné složky, co by mohly interferovat (tuky, bílkoviny atd.) a zároveň obsahují středně a málo těkavé látky se upřednostňuje SPME s přímým ponořením vlákna do kapalné matrice (DI-SPME). Dochází tím zároveň ke zkrácení času extrakce a ke zvýšení účinnosti [60]. DI-SPME je vhodná metoda pro extrakci analytů v kapalných vzorcích [77].

#### **1.2.5.3.5 Nevýhody mikroextrakce tuhou fází**

Citlivost technik headspace analýzy, včetně SPME, silně záleží na složení matrice a současně je vysoce citlivá na změny v jejím složení. Například vysoký obsah tuku snižuje účinnost extrakce, zejména u méně těkavých složek. Citlivost SPME při izolaci těkavých látek z jedlých olejů je nižší než u stejných těkavých látek z vodných roztoků. Důvodem je rozpustnost těchto látek, která je v oleji mnohem větší než ve vodě. Proto analýza pachu olejů vyžaduje vyšší extrakční teploty. Další nevýhodou je, že přítomnost některých organických činidel může snižovat adsorpci analytů na vlákno [60].

V přítomnosti velkého množství analytu s vysokým rozdělovacím koeficientem stacionární fáze vlákna – plynná fáze vzniká kompetiční efekt a zároveň dochází k vytěsnění jiných analytů z povrchu vlákna. V takovém případě, kdy může dojít k přetížení vlákna, nebo falešným výsledkům, lze chybám předejít zkrácením doby extrakce [60].

### 1.2.5.3.6 Trendy mikroextrakce tuhou fází

Modifikace metody SPME jsou vyvíjeny s cílem rozšíření využití této techniky. Některé z těchto modifikací, jako třeba extrakce na míchadélku (SBSE) a sorpční extrakce na míchadélku v headspace prostoru (HSSE) umožňují stanovení analytů vyskytujících se ve stopovém nebo dokonce ultrastopovém množství [60].

Metoda **SPME v trubičce** (in-tube) je využitelná hlavně pro HPLC. Využívá se otevřená tubulární křemenná kapilára, ve které je extrakční fáze. Ta může být ve formě povlaku imobilizovaného na stěně, nebo sorbentové lože. Tato technika má další modifikace. Jednou z nich je wire-in-tube, kdy je do extrakční kapiláry vložen přídatné vlákno z nerezové oceli [82].

**Zařízení pro HS-SPME s vnitřně chlazeným vláknem** bylo vyvinuto za účelem urychlení procesu přenosu hmoty a zvýšení distribuční konstanty. Současně může docházet k zahřívání matrice vzorku a záchytu analytů na chlazeném vlákně [82].

Nevláknové SPME techniky byly vyvíjeny během posledních dvou desetiletí. Mezi tyto techniky extrakce patří např. **mikroextrakce na tenkém filmu** (*Thin-Film Microextraction*, TFME). Při TFME se jako extrakční fáze používá tenký film s vysokým poměrem plochy povrchu ku svému objemu. Další z těchto metod jsou techniky in-needle SPME, kdy se k extrakci využívá jehly namísto zkumavky. Částice a aerosoly ze vzduchu se zachycují na křemennou vatu, která je chráněná jehlou. **MEPS** (*Microextraction In A Packed Syringe*) je miniaturizovaná forma SPE, kde extrakce probíhá v náplni uvnitř jehly mikrostříkačky. Může být on-line propojena s HPLC a GC systémy [82].

**Vakuově asistovaná headspace mikroextrakce na tuhou fází** (Vac-HS-SPME) byla vyvinuta k urychlení kinetiky extrakce analytů s nízkou afinitou k headspace prostoru – sloučeniny s nízkou Henryho konstantou  $K_H$ . Metoda dosahuje vysoké účinnosti a citlivosti během krátkých časů extrakce při mírných teplotách. Jediným krokem, který je třeba udělat, je evakuace vzorkovnice [73].

Nízký tlak má pozitivní vliv na kinetiku extrakce. Tento stav může být zvláště prospěšný pro látky s nízkou hodnotou  $K_H$  (látky s malou tendencí unikat do prostoru headspace), protože dojde ke snížení odporu převodu hmoty do plynné fáze na tenké plynové vrstvě rozhraní vzorku a plynu. Vac-HS-SPME proto zlepšuje rychlost odpařování těchto sloučenin a výsledkem by měl být rychlejší proces než klasické HS-SPME. Vzorek rychleji reaguje na pokles



koncentrace analytů v prostou nad ním. Naopak se neočekává, že by tato metoda zlepšila rychlost extrakce u látek s vysokou hodnotou  $K_H$  [73; 74; 79].

#### **1.2.5.3.7 Spojení mikroextrakce tuhou fází s plynovou chromatografií**

U stanovení těkavých látek pomocí plynové chromatografie je velmi důležitá příprava vzorku a prekoncentrace. Metoda SPME je jedna z nejslibnějších a zároveň nejpoužívanějších metod pro extrakci těkavých organických sloučenin z komplexních matic. Kombinace těchto metod umožňuje získat chemické informace o vůni potravin, a to s dostatečnou citlivostí [83–85]. Detekční systémy vhodné pro analýzu těkavých látek jsou popsány v kapitole 1.2.6.2 Plynová chromatografie.

#### **1.2.5.4 Extrakce rozpouštědlem**

Extrakce rozpouštědlem jsou klasické extrakční techniky, které se dělí do několika podskupin v závislosti na povaze extrahovaného vzorku, a to na extrakci kapalina-kapalina (*Liquid-Liquid Extraction*, LLE), extrakci tuhá látka-kapalina (*Solid-Liquid Extraction*, SLE).

Klasický postup je založen na rozdrobení tuhého vzorku a následném smísení s rozpouštědlem. Extrakt je odfiltrován a nerozpustná část je podrobena opětovné extrakci. Všechny části extraktů se spojí a zkoncentrují [86]. V případě extrakce kapalina-kapalina jsou obě fáze kapaliny, kdy hlavní podmínkou je jejich nemísitelnost. Nejčastěji je jednou kapalinou voda a druhou organické rozpouštědlo [69].

Soxhletova extrakce je používána pro extrakci lipidů z tuhých matic. Tuto extrakční techniku, která je založena na extrakci pevná látka-kapalina, v současné době nahradily modernější metody, ale dodnes se využívá jako referenční metoda [69].

Použití typických rozpouštědel obvykle vede k extrakci dalších složek matrice, než požadované frakce těkavých látek [67]. Další nevýhodou je používání velkého množství organických rozpouštědel, které znečišťují životní prostředí, jsou zdraví nebezpečné a drahé. Navíc přidání rozpouštědla znamená i následnou potřebu jeho odstranění, kterého se nejčastěji dosahuje zvýšením teploty, což způsobuje ztrátu těkavých složek, které jsou skryty za píky rozpouštědel během chromatografických analýz [86].

#### **1.2.5.5 Parní destilace**

Parní destilace (*Steam Distillation*, SD) je separační metoda pro těkavé složky a destilaci esenciálních olejů. Vodní pára prochází materiálem, přičemž se těkavé látky odpařují,

kondenzují a shromažďují v nádobkách [87]. Metody, při kterých dochází k zahřívání vzorku, mohou kvalitativně i kvantitativně změnit složení látek [72].

#### **1.2.5.6 Extrakce nadkritickou tekutinou**

Extrakce nadkritickou tekutinou (*Supercritical Fluid Extraction*, SFE) je relativně rychlá analytická technika. K extrakci se využívá CO<sub>2</sub>, což je netoxický, inertní, nehořlavý a cenově dostupný plyn. Hlavní výhodou je snadné dosažení jeho kritického tlaku ( $p_k = 7,38$  MPa) a také kritické teploty ( $T_k = 31,1$  °C) [69]. To umožňuje zpracování vzorků při nižších teplotách, čímž se omezí tepelná degradace a použití organických činidel. SFE u přírodních produktů je využitelná zejména pro nepolární skupiny látek (zejména u esenciálních olejů), jiných aromatických a vonných sloučenin, lipidů, karotenů, alkaloidů, tokoferolů, tokotrienolů aj. [88]

Další metody, které by bylo vhodné zmínit v souvislosti s izolací těkavých látek, patří kontinuální extrakce kapalina-kapalina, simultánní destilace/extrakce (SDE) aj. [60]

#### **1.2.6 Instrumentální metody stanovení těkavých látek**

Klasické metody stanovení pachových látek, tj. senzorické analýzy, jsou v dnešní době nahrazeny kvůli svým nedostatkům analýzami instrumentálními [60]. Identifikace a kvantifikace aromatických látek přírodních produktů, přitahuje stále větší pozornost. Vonné látky se používají nejen v potravinářském průmyslu, ale i např. ve farmaceutickém nebo kosmetickém průmyslu [67]. Informace získané těmito analýzami umožňují charakterizovat různé produkty s ohledem na kvalifikaci, bezpečnost, padělání, znečištění aj. Porovnáním aromatických profilů může vést k oddělení jednotlivých látek nebo skupin látek, které mohou poukazovat na rozdíly mezi produkty. To jak v kvalitě těchto produktů, tak i v původu. Nejčastěji používanými technikami jsou plynová chromatografie a v menší míře elektronický nos [54].

##### **1.2.6.1 Elektronický nos**

Elektronický nos, nebo také e-nos, je rychlá nedestruktivní a nechromatografická metoda hodnocení kvality produktů. Jedná se o zařízení, které je kompatibilní s lidským čichem. Proces snímání-interpretace-rozlišování napodobuje mechanismus lidského čichu. Těkavé molekuly reagují se snímacími materiály senzorů a způsobí nevratné změny v elektrických vlastnostech, jako je vodivost. Takové změny jsou detekovány a charakterizovány algoritmy rozpoznávání vzorků k provedení diskriminace nebo klasifikace [61; 89]. Odezva systému v závislosti na čase vytváří aromatický profil pachu vzorku [60].

Konfigurace elektronických nosů se liší dle plánovaného využití, např. různými snímacími materiály plynových senzorů nebo algoritmy na vyhodnocení. Jako snímací materiály slouží například vodivé polymery, polovodiče oxidů kovů, snímače povrchových akustických vln aj. Mezi používané algoritmy rozpoznávání vzorků nebo klasifikátory vzorků patří analýza hlavních komponent, umělé neuronové sítě a další algoritmy, které umožňují rozpoznání různých typů vzorků [61; 89].

Metoda se využívá v různých odvětvích, jako jsou zemědělství, potravinářství, farmacie, lékařství atd. Elektronický nos se používá zejména pro hodnocení kvality, detekci zralosti a identifikaci poddruhů při testování ovoce a zeleniny. V lékařství se tato metoda využívá jako diagnostická metoda pro včasnou detekci nemocí [61; 90].

### 1.2.6.2 Plynová chromatografie

Největší uplatnění u stanovení těkavých látek má plynová chromatografie (GC) s různými detekčními systémy [60]. Popularita GC souvisí s vysokou selektivitou a rozlišením, dobrou přesností, širokým dynamickým rozsahem a vysokou citlivostí. Jedním ze základních požadavků GC je, že testované látky musí být těkavé a stabilní při teplotě vstřikování, aby mohly být eluovány a detekovány za provozní teploty. Netěkavé látky se na těkavé převádí pomocí derivatizace [67; 85].

Existují dva typy GC. Prvním typem je chromatografie s plynnou mobilní fází (MF) a kapalnou stacionární fází (SF) – GLC (*Gas-Liquid Chromatography*). Analyt je v tomto případě rozdělován mezi plynnou MF a znehybněnou kapalinovou netěkavou SF na stěnách kolony. Tento typ chromatografie je využíván ve všech vědních oborech a název se zkracuje na GC. Druhým typem je s plynnou MF a SF tvoří tuhá látka – GSC (*Gas-Solid Chromatography*). Tuhá látka zadržuje analyty z důsledku fyzikální adsorpce. Aplikace GSC je omezena kvůli semipermanentní retenci aktivních nebo polárních molekul [85; 91].

Způsob distribuce molekul mezi fáze v chromatografické koloně definuje distribuční konstanta  $K_D$  (poměr koncentrace molekul v SF ke koncentraci v MF). Čas, který uplyne od nástřiku látky po dosažení maxima píku, se nazývá retenční čas  $t_R$ . Během této doby se molekuly látek pohybují mezi MF a SF. Látka, která se na stacionární fázi nezadržuje, je charakterizována mrtvým retenčním časem  $t_0$  [92; 93]. Za účelem kvalitativní analýzy se používají retenční data, jako retenční časy nebo retenční objemy. Tato data jsou však funkcemi experimentálních podmínek a pro snížení závislosti hodnot byly navrženy retenční indexy (Kovatsovy aj.), které se zaznamenávají v databázích. Pro kvalitativní účely je důležité

kombinovat GC s dokonalejšími identifikačními vlastnostmi, které může poskytnout např. hmotnostní spektrometrie. Pro kvantitativní analýzu se využívá výška nebo plocha píků [69; 91; 94].

**Kolona** chromatografu je místo, kde dochází k separačnímu procesu a její volbou – typu (kapilární nebo náplňová), rozměrů, druhem stacionární fáze – lze určit proveditelnost, kvalitu a dobu trvání analýzy [85]. Náplňové kolony mají oproti kapilárním 10 až 1000× větší kapacitu, ale mají v některých případech až o 50 % méně teoretických pater. Kapilární kolony mají vysokou separační účinnost oproti náplňovým, a proto jsou v GC používané častěji [91]. Dalšími významnými faktory, které ovlivňují analýzu jsou: nosný plyn a jeho průtok, teplotní program, výběr způsobu dávkování vzorku a teplota nástřikového prostoru po separaci látek a jejich následná detekce vhodným detektorem [93].

Ideální **detektor** by měl být přiměřeně citlivý. Obecně se citlivost dnešních detektorů pohybuje v rozmezí  $10^{-8}$  až  $10^{-15}$  g rozpuštěné látky/s. Měl by mít lineární odezvu pro sledované látky v rámci několika řádů, dobrou stabilitu a reprodukovatelnost, teplotní rozsah od laboratorní teploty po minimálně 400 °C, krátký čas odezvy nezávisle na průtoku MF, vysokou spolehlivost a snadnost použití a v neposlední řadě selektivní odezvu a nedestruktivnost. Detektor, který by vykazoval všechny tyto vlastnosti, však neexistuje [91].

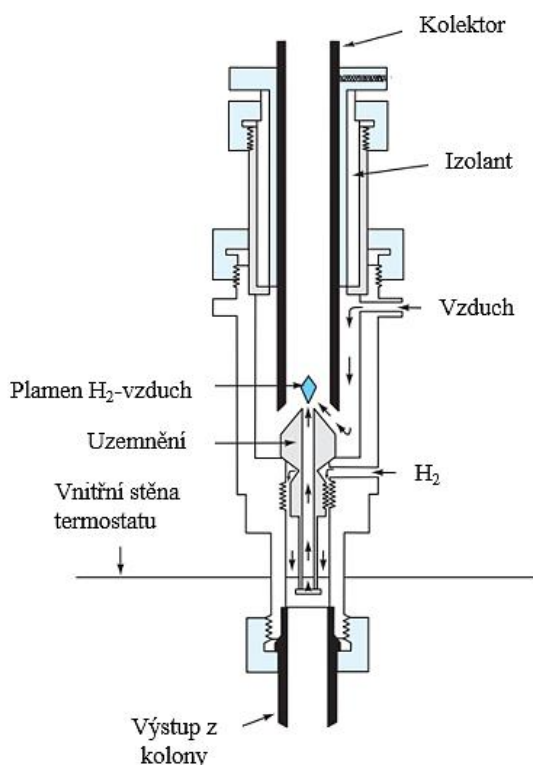
V následujících podkapitolách jsou popsány nejvyužívanější detektory pro identifikaci těkavých a vonných látek. Mohou se využívat i jiné detektory, než jsou níže popsány, např. detektory elektronového záchytu nebo fotoionizační detektory. V případě těkavých látek jejich využití není tak časté [95].

#### **1.2.6.2.1 Plamenový ionizační detektor**

Způsob detekce pomocí plamenového ionizačního detektoru (FID), jehož konstrukce je zobrazena na Obrázku 11, je v analýze potravin hojně využíván kvůli vysokému výskytu uhlíkatých sloučenin. Při detekci těchto sloučenin je mnohonásobně citlivější než například tepelně-vodivostní detektory [85; 91]. FID současně umožňuje získat plný aromagram dané potraviny [60].

Plyn, který vychází z kolony, je spalován v plameni vzduch-vodík za vzniku iontů a elektronů, které vedou elektrický proud, jež se sleduje. Potenciálový spád mezi hrotem hořáku a kolektorovou elektrodou umístěnou nad plamenem způsobí přesun iontů a elektronů ke kolektoru a výsledný proud je měřen pikoampérmetrem [91; 93].

Plamenový ionizační detektor reaguje na počet atomů uhlíků vstupujících do detektoru za jednotku času. Počet vzniklých iontů je zhruba úměrný počtu redukovaných atomů uhlíku v plameni. Výhodou tohoto detektoru je malý vliv změny průtoku MF, necitlivost vůči nehořlavým plynům, ušlechtilým plynům a  $\text{NO}_x$ , žádná nebo malá produkce iontů funkčních skupin, jako jsou karbonyly, alkoholy, halogeny nebo aminy [91].



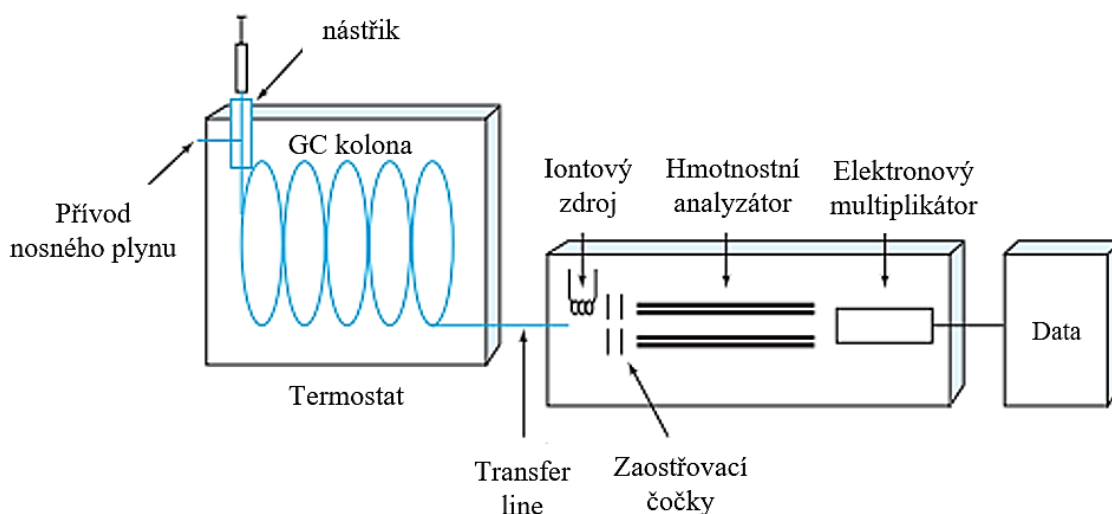
Obrázek 11: Plamenový ionizační detektor (upraveno) [91]

#### 1.2.6.2.2 Hmotnostní spektrometr

Hmotnostní spektrometr (MS) je jedním z nejvýkonnějších detekčních systémů, které se používají ve spojení s plynovou chromatografií. Spojení GC-MS, které je vidět na Obrázku 12, je jedna z nejkompexnějších instrumentálních technik v analýze potravin. Tato metoda nabízí velmi dobré detekční limity, spektra, která jsou pro každou látku jedinečná, a schopnost měřit atomové izotopové poměry a molekulové hmotnosti. Poskytuje proto spolehlivé informace pro identifikaci sloučenin, což lze využít např. v oblasti bezpečnosti potravin (identifikace toxinů, pesticidů aj.). Nevýhodou je relativně vysoká pořizovací cena [85; 91].

Hmotnostní spektrometr se skládá z iontového zdroje, separační jednotky hmota/náboj (analyzátoru) a iontového detektoru, který převádí intenzitu jednotlivých fragmentů na elektrický signál. Pro správnou funkci musí být v hmotnostním spektrometru vakuum. V případě spojení GC a MS se v chromatografii používají kapilární kolony, kde jsou průtoky

plynu dostatečně nízké na přímé spojení těchto metod. Konec kapilární kolony je zaveden přímo do iontového zdroje, kde je vakuum [69; 85].



Obrázek 12: Schéma typického kapilárního GC/MS systému (upraveno) [91]

Nejběžnější ionizační technikou v GC-MS je elektronová ionizace (EI), popř. chemická ionizace (CI) [85]. **Elektronová ionizace** se používá v MS pro relativně těkavé vzorky, které jsou tepelně stabilní a mají nižší molekulovou hmotnost. K ionizaci dochází za pomoci interakce proudu vysokoenergetických elektronů (70 eV) s neutrálními molekulami analytu a následného odstranění elektronu za vzniku radikalkationtu (též molekulový ion). EI je vysoce energetický proces a přebytečná energie může způsobit fragmentaci kovalentních vazeb v molekulárním iontu. Tato fragmentace je definována chemickou strukturou analytu a její proces je vysoce reprodukovatelný, což bylo využito k rozvoji komerčních knihoven MS spekter [96].

**Chemická ionizace** je méně energetický proces než EI [96]. Hlavním rozdílem oproti EI je použití reagenčního plynu, běžně methanu, isobutanu aj., za určitého tlaku. Reagenční plyn je nejprve ionizován za pomoci elektronové ionizace, tím dojde ke generaci molekulárního iontu. Ten se poté fragmentuje a/nebo reaguje s jinými molekulami plynu a ionty. Jelikož je reakční plyn v nadbytku, tak k ionizaci vzorku dochází ve větší míře reakcí s ionty tohoto plynu než EI. Vzhledem k tomu, že ionty v tomto případě nemají takový přebytek energie jako v případě EI, dochází pouze k malé fragmentaci. Proto je CI vhodnější pro molekuly, které nadměrně fragmentují během EI. Neposkytuje však takové množství informací o struktuře jako EI [97]. Mezi další způsoby ionizace patří např. ionizace elektrosprejem, různé druhy ionizace za atmosférického tlaku atd. [96].

Běžnými **hmotnostními analyzátory** v těchto sestavách jsou kvadrupólové analyzátory nebo iontové pasti. Používají se i jiné druhy analyzátoru, jako analyzátor doby letu, magnetický sektorový analyzátor aj. Kvadrupólový analyzátor nabízí nízké skenovací časy, což je velmi výhodné pro snímání chromatografických eluentů v reálném čase. Zároveň je velmi kompaktní, levný a robustní [91]. Analyzátor se skládá ze čtyř paralelních válcových tyčí, které slouží jako elektrody. Každý pár protilehlých tyčí je elektricky propojen a mezi jedním párem a druhým párem tyčí s potenciálem stejného znaménka je aplikováno vysokofrekvenční napětí se stejnosměrným napětím. Těmito faktory je ovlivňována trajektorie putujících iontů a pouze ionty určité  $m/z$  (poměr hmotnosti ku náboji) mají stabilní trajektorie pro dosažení detektoru pro daný poměr napětí [98]. V posledních letech se v rutinních laboratořích rozšiřují tandemová uspořádání hmotnostních analyzátorů jako trojitý kvadrupól (QqQ) nebo kvadrupól s průletovým analyzátorem (QqTOF). Trojitý kvadrupól je populární, protože je cenově dostupný, vysoce citlivý, specifický a robustní. Jedná se o tři kvadrupóly, kdy druhý slouží jako kolizní cela [99].

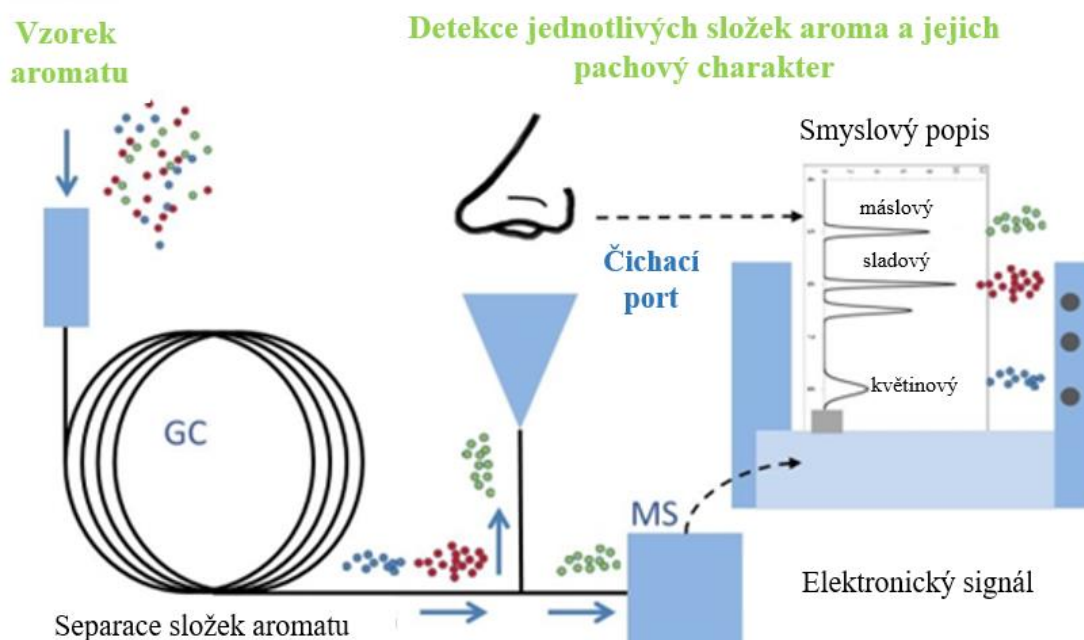
Při známosti složek, které nejlépe popisují kvalitu produktu je možné při použití systémů s vysokým rozlišením, přeskočit fázi chromatografické separace a využít přímo metodu HS-MS. Tento nový přístup vede k aromatickému profilu celku nerozděleného na jednotlivé složky. Nedostatkem tohoto spojení je absence možné identifikace a kvantitativního stanovení jednotlivých sloučenin [60].

#### **1.2.6.2.3 Olfaktometrický detektor**

Kombinace plynové chromatografie s olfaktometrií (GC-O) se jeví jako účinný nástroj pro rozlišení relevantních pachově aktivních vonných složek v potravinách. Zavedení GC-O bylo průlomem v analytickém výzkumu aroma [100]. Analytický potenciál tohoto spojení ještě není plně využit [67].

Pouze malá část z velkého množství těkavých látek v matrici přispívá k celkovému vnímanému aroma. Proto nemusí nutně znamenat, že velká plocha píku detekovaná chemickým detektorem, je vysoká intenzita vůně. V důsledku toho byl zájem o vyvinutí metody, která bude zaměřena na stanovení příspěvku jednotlivých složek k celkové vůni. GC-O umožňuje stanovení pachově aktivních složek v komplexních směsích [100]. Eluované látky mohou být vnímány současně dvěma detektory. Jedním z nich je právě lidský čich a jako druhý detektor je nejčastěji FID nebo MS [60; 100]. Znázornění kombinace GC-O současně s GC-MS je vidět na Obrázku 13. Na výstupu z GC kolony je čichací maska, kde vyškolený pracovník může cítit

rozseparované látky. Pokaždé, když pracovník ucítí pachovou látku, stiskne tlačítko a popíše a poskytne informace o přítomnosti zápachu a jeho charakteristice. Tímto způsobem vznikne olfaktogram [101].



Obrázek 13: Diagram plynové chromatografie-olfaktometrie (upraveno) [101]

Kvantitativní metody při GC-O lze rozdělit do těchto skupin: metody vyhodnocující intenzitu zápachu analytů jako funkci času během jedné chromatografické analýzy a metody založené na prahu senzoričké vnímatelnosti [60].

### 1.2.7 Těkavé látky v semenech máku setého a jejich analýza

Mák má, stejně jako spoustu jiných produktů, charakteristické aroma [102]. Většina studií [103–108] zkoumalo těkavé složky makových olejů (semena obsahují okolo 45 % oleje), jen jedna dostupná studie zkoumala mletá maková semena [102], žádná maková semena jako celek. Extrakce těkavých látek téměř vždy probíhá metodou HS-SPME, výjimečně jinak. Pro analýzu těkavých látek z makového oleje byla ve všech studiích použita GC-MS nebo různé varianty této metody. Plocha píků však v tomto případě nemusí znamenat intenzitu vůně. V takovém případě je vhodné využít GC-O, která poskytuje selektivní detekci sloučenin, jejichž koncentrace je nad jejich prahem vnímání.

Co se týče obsahu těkavých látek v máku nebo v makovém oleji, tak většina látek, které se v něm vyskytují, jsou produkty oxidace lipidů. Mezi typické markery oxidace patří hexanal (hlavní oxidační produkt kyseliny linolové) a nonanal. Na produkty oxidace byla zaměřena



studie A. Gaca a kol. [104]. Hexanal byl vždy ve zkoušených vzorcích nalezen ve výrazném množství. Také bylo zjištěno, že zastoupení těkavých látek závisí na způsobu úpravy makových semen a způsobu lisování (pražení, zahřátí aj.). Pokud je vzorek vystaven vyšším teplotám, dojde k tvorbě pyrazinových sloučenin, které mají typický pražený a ořechový pach [103].

Nejčastěji detekované těkavé látky v olejích jsou: hexanol, 2-heptanon, 2-pentanon, 2-pentylfuran, limonen, hexanal a kyselina kapronová [106]. Celkový počet detekovaných látek v makových olejích se mezi autory liší od 15 látek, které identifikoval Guo J. a kol. [105] po 75 látek v práci D. D. Emira [107]. Studie, které zařadily mezi zkoušené vzorky i bílý mák nebo olej z bílého máku, se shodují v tom, že tyto vzorky obsahují více těkavých látek [102; 104]. Variabilita látek v makových olejích podle Luhmerové [106] není závislá pouze na odrůdě máku, ale i na směsi vnějších vlivů, jako jsou místo pěstování a abiotické a biotické stresové faktory. V následujících odstavcích je prezentováno několik studií zabývajících se skladbou těkavých látek máku setého.

### 1.2.7.1 Těkavé látky v makových olejích

Sabine Krist a kol. [103] zkoumali těkavé sloučeniny u olejů z různých odrůd máku. Olej byl lisován za různých podmínek – za pokojové teploty, nebo byla lisována semena zahřátá na teplotu 60 °C. K extrakci těkavých látek použili metodu SPME-GC-MS. Mikroextrakce probíhala na vlákne 50/30 μm DVB/CAR/PDMS StableFlex o délce 2 cm v prostoru headspace. Množství oleje v nádobce činilo 10 ml, čas extrakce byl 60 minut za pokojové teploty. Separace probíhala na nepolární koloně HP-5MS 30 m × 0,25 mm (id), tloušťka filmu 0,25 μm, a alternativně pomocí polární kolony Nukol FFAP 30 m × 0,25 mm (id), tloušťka filmu 0,25 μm. Počáteční teplota kolony byla 38 °C a byla udržována 1 min, poté se postupně zvyšovala o 5 °C/min až na 220 °C, která byla udržována ještě po dobu následujících 2 min. Ve všech zkoušených vzorcích byly identifikovány tyto sloučeniny: pentanal, hexanal a kyselinu kapronovou, které byly zodpovědné za mastný a ořechový čichový dojem; sladké a ovocné dojmy byly připisovány 1-pentanolu, 3-okten-2-onu a γ-hexalaktonu; zelené tóny *trans*-2-heptenal, 2-pentylfuranu a také hexanal, kterého bylo velké množství. Kromě výše uvedených těkavých sloučenin byly v olejích identifikovány látky jako 3-karen, limonen, p-cymen, α-pinen aj. Dohromady v makových olejích identifikovali 30 těkavých látek, z nichž většina představuje oxidační produkty lipidů. Také bylo zjištěno, že kvalitativní a kvantitativní složení těkavých látek bylo ovlivněno lisovací metodou [103].

Stejná výzkumná skupina publikovala článek o detekci falšování makového oleje slunečnicovým olejem pomocí analýzy těkavých látek a triacylglycerolového složení. Těkavé látky byly stanoveny metodou HS-SPME-GC-MC. Těkavou látku, která byla zvolena jako marker pro detekci falšování, byl  $\alpha$ -pinen. Ten se nachází ve slunečnicovém oleji jako jedna z převládajících látek, kdežto v makovém oleji nebyl detekován vůbec, nebo ve velmi malém, minoritním množství [108].

Těkavé látky v za studena lisovaných olejích praženého máku (pražení při 150 °C, po dobu 30 min) a enzymaticky (pomocí hemicelulázy) ošetřeného máku zkoumal D. D. Emir a kol. [107]. Analytické techniky, které použili, vycházeli ze studie Krist a kol. [103]. K extrakci bylo použito 5 ml oleje (ve 40ml lahvičce společně s 1 g NaCl a 10  $\mu$ l vnitřního standardu). Před extrakcí byla lahvička se vzorkem zahřívána na 40 °C, po dobu 20 min. Extrakce probíhala při 40 °C, po dobu 20 minut na vlákno 50/30  $\mu$ m DVB/CAR/PDMS StableFlex o délce 2 cm. K separaci byla použita nepolární kolona HP-5MS (30 m  $\times$  0,25 mm (id)  $\times$  0,25  $\mu$ m) při teplotním programu: 38 °C po dobu 1 minuty a 38 až 220 °C při 5 °C/min, kdy konečná teplota byla udržována po dobu 20 minut. Analýzou pomocí SPME-GC-MS bylo stanoveno 75 těkavých látek. Těkavé látky stanovené ve většině vzorků byly 1-hexanol, 1-okten-3-ol, 1-pentanol,  $\gamma$ -butyrolakton,  $\gamma$ -nonalakton,  $\gamma$ -oktalakton, 2-heptanon, 2-nonanon, 2-pentanon, 3-ethyl-2-methyl-1,3-hexadien,  $\alpha$ -pinen, limonen, kyselina merkaptooctová, naftalen, dekanal, heptanal, hexanal a kyselina kaprylová. Dále tito autoři uvádí vztahy mezi obsahem těchto těkavých látek a aromatem olejů [107].

Anna Gaca a kol. [104] zkoumali chemické změny během skladování u více druhů za studena lisovaných olejů, mezi nimiž byl zastoupen i olej z modrého a bílého máku. Tyto změny běhe skladování většinou souvisí s oxidací nenasycených mastných kyselin. K rozlišení profilů těkavých látek byla aplikována metoda SPME-GC-HRMS. Oxidace lipidů byla mimo jiné charakterizována i peroxidovým číslem. Pro extrakci bylo použito vlákno 50/30  $\mu$ m DVB/CAR/PDMS StableFlex o délce 1 cm. Samotná extrakce trvala 10 min. Ještě předtím byla 10ml lahvička s 250 mg oleje inkubována při 40 °C po dobu 5 min. Jako kolona v GC byla použita HP-Innowax (30 m  $\times$  0,25 mm  $\times$  0,25  $\mu$ m) a byl použit následující teplotní program: počáteční teplota 40 °C po dobu 2 minut, poté 6 °C/min až na 130 °C, následně 30 °C/min až na 270 °C a tato teplota byla udržována po dobu 2 minut. V makových olejích byly přítomny látky jako pentanal, 2-pentylfuran, hexanal a 1-pentanol. V obou olejích bylo hojně zastoupení 2-pentylfuranu, hexanal, 1-hexanolu a 1-okten-3-olu. V průběhu experimentu došlo v makových olejích k mírnému nárůstu počtu těkavých látek.

Jako nejdůležitější těkavé produkty oxidace lipidů byly u oleje z modrého máku identifikovány tyto látky: (*E*)-2-oktenal, (*E,E*)-2,4-heptadienal, 2-hexenal, 2-heptenal, 2-pentenal, 2-propenal, 1-okten-3-ol, kyselina octová, kyselina kapronová, kyselina máselná a kyselina valerová. U oleje z bílého máku to byly tyto látky: (*E,E*)-2,4-dekadienal, 2-pentenal, 2-propenal a propanal. Při porovnání oleje z modrého a bílého máku z hlediska obsahu těkavých látek zjistili, stejně jako i v dalších studiích, že olej z bílého máku obsahuje těchto látek více. Zejména se jednalo o deriváty furanu [104].

V další studii Katharina Luhmer a kol. [106] zkoumali těkavé látky v oleji několika odrůd máku. Pro extrakci metodou HS-SPME bylo použito vlákno 50/30  $\mu\text{m}$  DVB/CAR/PDMS StableFlex o délce 2 cm stejně jako ve většině jmenovaných studií. Extrakce probíhala v 10ml nádobky s 1 mg makového oleje s vnitřním referenčním standardem skatolem (5  $\mu\text{l}$  s koncentrací 10 g/l). Doba preinkubace byla 20 min při 85 °C a doba extrakce následně 20 minut při téže teplotě. Teplotní program byl následující: 38 °C a následné zvyšování po 1,5 °C/min do 140 °C, udrženo po dobu 7 min, zvyšování po 30 °C/min až na 300 °C. Jako kolona byla použita RTX-5 s vnitřním průměrem 0,25 mm. V prostoru HS se podařilo detekovat 44 těkavých sloučenin. Látky přítomné ve většině vzorků byly hexanal, 1-hexanol, kyselina pentanová,  $\alpha$ -pinen, 2-heptenal, 1-heptanol, 1-okten-3-ol, 2-pentylfuran, limonen, kyselina valerová, 2-oktenal, 1-oktanol, fenchon, 2-nonen-1-ol, kyselina enanthová, estragol, dekanal, anethol a 2-butyl-2-oktenal. Velká část identifikovaných látek byly degradačními produkty autooxidace nenasycených MK. V této studii byla nejhojnější látkou v máku kyselina kapronová, hexanal byl až druhou nejhojnější látkou. Látky jako  $\alpha$ -terpinolen, methylsalicylát,  $\alpha$ -gurjunen,  $\beta$ -bisabolen a dva neznámé seskviterpeny byly nalezeny pouze v jednom ze vzorků spolu s neobvykle vysokým množstvím  $\beta$ -farnesenu. Autoři tuto skutečnost připisují abiotickému stresu během sklizně. Tyto seskviterpeny se totiž podílí na stresových reakcích rostlin [106].

Jian Guo a kol. [105] také zkoumali makové oleje. Extrakce těkavých látek probíhala metodou SDE, kdy extrakce trvala 2 hodiny a těkavé látky byly extrahovány do dichlormethanu, který byl následně sušen bezvodým síranem sodným. Analýza extraktu byla provedena metodou GC-MS. Použitou kolonou byla kapilární kolona DB-5MS (30 m  $\times$  0,25 mm, 0,25  $\mu\text{m}$  tloušťka filmu). Teplota kolony byla naprogramována s počáteční teplotou 50 °C, 5 min, poté zvýšení rychlostí 10 °C/min na 200 °C. Identifikovali 15 těkavých látek s aktivním aroma [105].

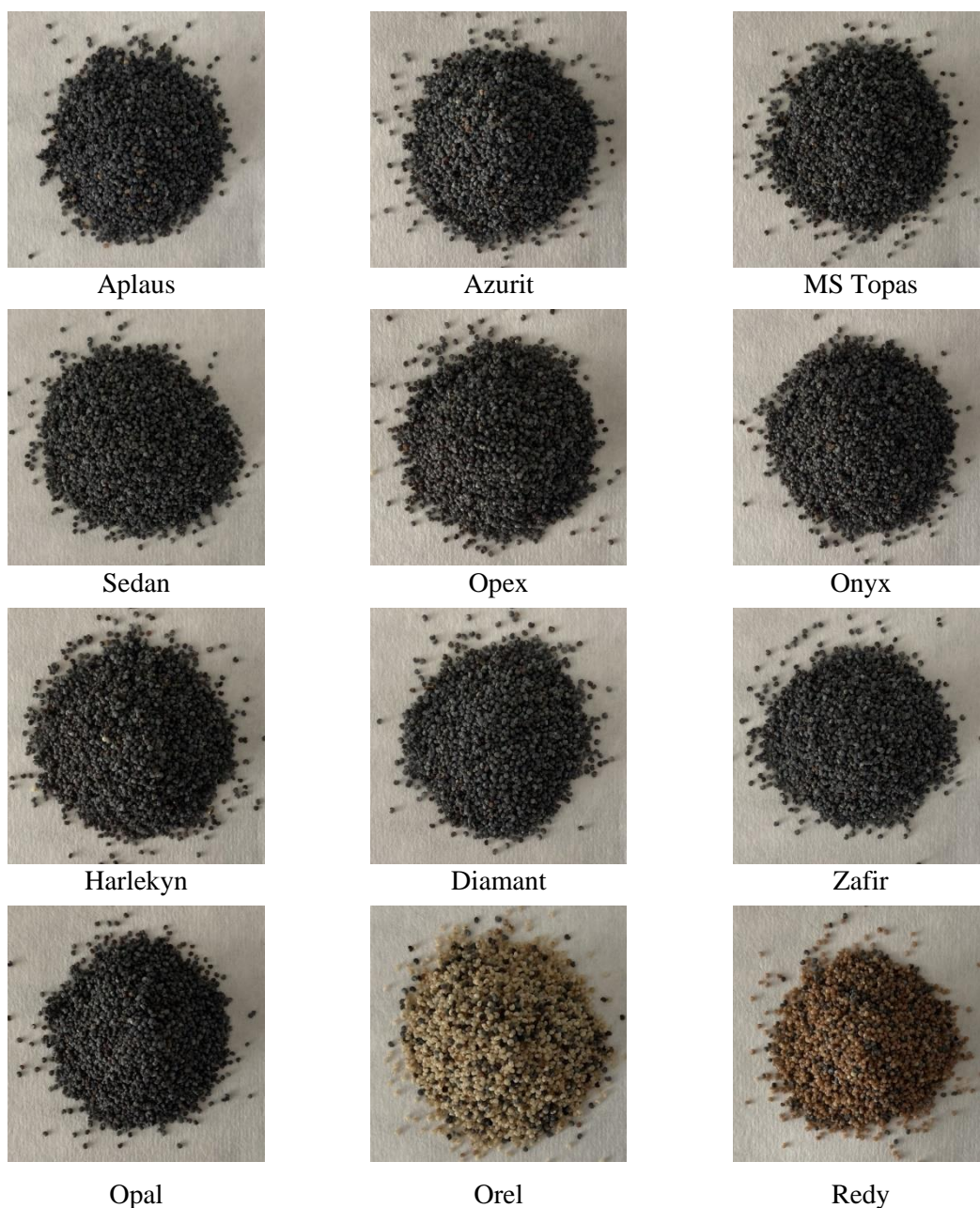
### 1.2.7.2 Těkavé látky v mletém máku

Mária Kopuncová a kol. [102] charakterizovali kvalitu semen slovenských odrůd máku z hlediska organoleptických vlastností za pomoci metod HS-SPME-GC-MS a GC-FID/O. Vzorok máku byly vždy před extrakcí namlety za pomoci kuchyňského mlýnku. Extrakce z prostoru HS probíhala z 5 g vzorku ve 40ml nádobce při 50 °C po dobu 30 min. Pro extrakci bylo použito stejné vlákno jako ve studii S. Krist a kol. [103]. Separace, která byla prováděna na soustavě GC-MS, probíhala na kapilární koloně Ultra 1 (50 m × 0,32 mm × 0,52 μm) pracující s teplotním programem 40 °C (1 min), 5 °C/min, 250 °C (1 min). Analýza pomocí GC-FID/O probíhala za účasti komise o 5 členech, kteří měli za úkol intenzitu zápachu popsat na stupnici 0 až 3. Pro separaci látek byla použita stejná kolona i teplotní program jako v předchozím případě. Experimenty HS-SPME-GC-MS neprokázaly žádný významný rozdíl mezi modrosemennými odrůdami máku, nejvíce se odlišovala bělosemenná odrůda Albín. U této odrůdy bylo až o 1/3 látek více. Všechny z přítomných látek se více či méně významně podílely na jeho celkovém aromatu. Celková vůně této odrůdy se skládala z 23 těkavých sloučenin (21 čichových odezev). Kombinace všech přítomných složek vedla k jedinečnému aromatu odrůdy Albín, které nakonec evokovalo více ořechové aroma než typické makové aroma. Jako nejhojnější těkavá látka ve všech semenech byl popsán hexanal. Další aldehydy, jako pentanal, (*E*)-2-oktenal a (*E*)-2-nonenal a alkoholy, jako 1-pentanol, 1-hexanol a 1-okten-3-ol, jsou uváděny jako těkavé látky vznikající rozkladem hydroperoxidů kyseliny linolové. Nonanal a dekanal byly identifikovány jako produkty autooxidace kyseliny olejové. V těkavých frakcích analyzovaných makových semen nebyla zjištěna žádná pyrazinová sloučenina. Výsledky získané metodou GC-FID/O jasně prokázaly, že ne všechny těkavé látky s vysokým obsahem poskytovaly také nejvyšší intenzitu zápachu. Nejzřetelnější to bylo u 1-hexanolu, který vykazoval nízkou intenzitu 1, přestože se jednalo o druhou nejhojnější těkavou sloučeninu. Podobně hexanal, nejhojnější sloučenina ve všech odrůdách, vykazoval pouze střední intenzitu 2. Naopak limonen vykazoval nejvyšší intenzitu 3 ve všech odrůdách navzdory nízkému relativnímu obsahu. Z pohledu sensorické aktivity při daných koncentracích bylo zjištěno, že nejvýznamnější vliv na aromatický charakter a kvalitu všech analyzovaných makových variací mají limonen, nonanal, neznámá sloučenina se silnou balzamikovou vůní (RI mezi 1030–1081), 2-pentylfuran, 1-pentanol a hexanal. Bylo popsáno, že 2-pentylfuran má v určitých koncentracích typickou vůni máku, což dokládá jeho význam pro tvorbu typického aromatu máku [102].

## 2 EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST

### 2.1 Vzorky

Na optimalizaci podmínek extrakce a separace byl použit mák značky Dr. Esna (ENCINGER SK s.r.o., Bratislava, Slovensko) pořízený v obchodním řetězci Kaufland. Pro analýzu těkavých látek máku byl použit mák, který byl darován spolkem Český modrý mák z. s. Jednalo se o 12 vzorků semen odlišných odrůd máku setého, které byly sklizeny v roce 2022 ve Výzkumné stanici ČZU v Červeném Újezdě. Vzorky byly poskytnuty v množství asi 100 g, byly baleny v papírovém pytlíku a skladovány v mrazáku při teplotě  $-18\text{ }^{\circ}\text{C}$ . Vzhled a označení vzorků je uveden v Obrázku 14.



Obrázek 14: Zkoušené odrůdy makových semen

Zkoumané odrůdy se dělí do několika skupin dle obsahu morfinu v makovině, což je zobrazeno v Tabulce 5.

Tabulka 5: Zařazení odrůd do skupin dle obsahu morfinu v makovině

Rozdělení odrůd dle obsahu morfinu v makovině	Název odrůdy
Bělosemenné a okrovosemenné odrůdy s nízkým až středně vysokým obsahem morfinu v makovině	Orel, Redy
Odrůdy s nízkým obsahem morfinu v makovině	Sedan
Odrůdy s nízkým až středně vysokým obsahem morfinu v makovině	Opal
Odrůdy se středním obsahem morfinu v makovině	Azurit, MS Topas, Diamant, Zafir
Odrůdy se středně vysokým až vysokým obsahem morfinu v makovině	Aplaus, Opex, Onyx, Harlekyn

## 2.2 Chemikálie

- Destilovaná voda (centrální rozvod Univerzity Pardubice, Česká republika),
- *n*-pentan, *n*-hexan a *n*-heptan (Sigma-Aldrich, Praha, Česká republika)
- Homologická řada *n*-alkanů C8–C40 (Sigma-Aldrich, Praha, Česká republika).

## 2.3 Instrumentace a nádobí

- Automatická pipeta 100–1000  $\mu$ l a 1000–5000  $\mu$ l (Biohit Oyj, Helsinky, Finsko),
- Keramická třecí miska s tloučkem,
- Horkovzdušná sušárna (Memmert UM 300, Swabach, Německo),
- Plastová injekční stříkačka s jehlou (20 ml, Chirana, Slovensko),
- Mikrostríkačka Hamilton 10  $\mu$ l (HAMILTON Bonaduz AG, Bonaduz, Švýcarsko),
- Vzorkovací nádobky o objemu 20 ml s víčky se silikonovým septem (Supelco Bellefonte, PA, USA),
- Analytické váhy Kern ABT 220-4M (Kern&Sohn GmbH, Balingen, Německo),
- Plynový chromatograf GC-2030 s MS-QP2020 NX detekcí a možností FID detekce zobrazený na Obrázku 15 (Shimadzu, Kyoto, Japonsko),
- Autosampler AOC-6000 (Shimadzu, Kyoto, Japonsko),
- Nepolární kapilární kolona SLB-5MS (30 m  $\times$  0,25 mm, tloušťka filmu 0,25  $\mu$ m), (Supelco Bellefonte, PA, USA),

- SPME vlákno 50/30  $\mu\text{m}$  DVB/CAR/PDMS (Supelco Bellefonte, PA, USA),
- Nosný plyn helium o čistotě 4.6 (Linde Gas, Praha, Česká republika),
- Vodík o čistotě 3.0 (Linde Gas, Praha, Česká republika),
- Tlakový vzduch (centrální rozvod Univerzity Pardubice),
- Sběr dat: GC Solution, GCMS Solution 4.20 a LabSolution (Shimadzu, Kyoto, Japonsko),
- Interpretace MS spekter: knihovna spekter Národního institutu pro standardy a technologii (NIST 17 Mass Spectral library) a knihovna FFNSC 2 (Flavour & Fragrance Natural & Synthetic Compounds GC/MS library),
- Software Statistica 14 (StatSoft, Inc., Praha, Česká republika).



Obrázek 15: Plynový chromatograf GC-2030 s MS-QP2020 NX detekcí a možností FID detekce

## 2.4 Pracovní postupy

### 2.4.1 Optimalizace podmínek HS-SPME

Před prvním použitím bylo mikroextrakční vlákno 50/30  $\mu\text{m}$  DVB/CAR/PDMS o délce 1 cm kondicionováno při 270  $^{\circ}\text{C}$  po dobu 30 min. Následně byla provedena optimalizace extrakčních podmínek: navážky, extrakční teploty a doby extrakce. Jako testovací vzorek byl využit celý mák Dr. Esna.

Jako první byla optimalizována navážka celého máku (tj. nedrceného) pro HS-SPME. Do vzorkovací nádoby byl navážen  $1,00 \pm 0,01$  g máku, následně byla nádoba umístěna do

držáku autosampleru AOC-6000 Plus a pomocí něj byla provedena extrakce a analýza HS-SPME-GC-MS (podmínky GC-MS jsou uvedeny v následující kapitole). Extrakce započala po propíchnutí septa a vysunutí extrakčního vlákna, probíhala při 90 °C po dobu 60 minut, což jsou podmínky, které se jeví jako ideální během vypracování studentské vědecké a odborné činnosti [109]. Následně při stejných podmínkách byly extrahovány a proměřeny navážky 2,00 g, 3,00 g, 4,00 g, 5,00 g a 6,00 g s přesností na 0,01 g, vždy dvakrát (celkem 12 vzorkovacích nádobek). Celý proces byl zopakován navážek s větším rozptylem výsledků. Zvolená navážka byla využita při testování dalších parametrů.

Kromě celého máku byla testována optimální navážka i drceného máku. Zkušební vzorek byl ve vhodném množství drcen v třecí misce po dobu asi 5 minut vždy před každou sérií analýz zvlášť. Po rozdrcení bylo naváženo a analyzováno dvakrát 1,00 až 6,00 s přesností na 0,01 g. Poté byla provedena série měření, kdy bylo k navážce  $2,00 \pm 0,01$  g vzorku přidáno různé množství destilované vody. Přídavky destilované vody k drcenému máku byly 0,5 ml, 1 ml a 2 ml. Měření bylo provedeno u každého objemu dvakrát.

Byla provedena i měření, kdy extrakce těkavých látek probíhala při 30 °C po různou dobu. Testované časy extrakce byly 30 min, 60 min, 90 min, 120 min a 180 min. U extrakce při 30 °C byl testován i vliv vakua na rychlost extrakce. Jeho vliv byl testován při stejných časech extrakce jako v případě extrakce bez vakua. Všechny pokusy byly provedeny za daných podmínek třikrát.

Dalšími optimalizovanými parametry byla doba extrakce a teplota extrakce. Cílem bylo extrahovat a následně identifikovat co největší počet těkavých látek. Testované podmínky jsou uvedeny v Tabulce 6 a byly sestaveny na základě metody centrálně kompozitního plánování (CCD) experimentů. Stejný plán experimentu byl využit při optimalizaci extrakce za využití vakua. Do 12 vzorkovacích nádobek bylo naváženo po 4,00 g s přesností na 0,01 g máku, které byly podrobeny HS-SPME extrakci při podmínkách dle Tabulky 6 a následné analýze GC-MS.



Tabulka 6: Podmínky HS-SPME extrakce na základě CCD

Číslo měření	Čas extrakce (min)	Teplota extrakce (°C)
1	60	51,7
2	30	60
3	90	60
4	60	80
5	60	80
6	17,6	80
7	102,4	80
8	60	80
9	60	80
10	30	100
11	90	100
12	60	108,3

#### 2.4.2 Podmínky separace na plynovém chromatografu s hmotnostní spektrometrií a kvalitativní analýza

Extrakce a následné dávkování do GC byly provedeny pomocí autosampleru AOC-6000 Plus. Před každou analýzou byla provedena aktivace vlákna při 200 °C po dobu 1 min. Desorpce analytů probíhala v nástřikovém prostoru GC při teplotě 250 °C po dobu 1 minuty. Separace analytů probíhala na nepolární kapilární koloně SLB-5MS (30 m × 0,25 mm × 0,25 μm). Po každé analýze bylo SPME vlákno čištěno při teplotě 200 °C po dobu 5 minut, aby se zabránilo nežádoucím interferencím.

Režim dávkování vzorků byl realizován ve splitovacím poměru 1:10. Teplota nástřiku byla 250 °C a teplotní program byl následující: teplota 55 °C byla udržována po dobu 3 min, následně teplota rostla do 250 °C rychlostí 6 °C/min, kde byla udržována 10 minut. Celkový čas programu v obou případech činil 45,5 minuty. Teplota GC-MS převodníku byla 200 °C.

Ionizační energie zdroje byla nastavena na 70 eV a teplota iontového zdroje na 200 °C. Pro měření byl použit SCAN mód pro zaznamenání všech látek ve spektru. Použitým nosným plynem bylo helium s konstantní lineární rychlostí 30 cm/s.

Získané chromatogramy v závislosti intenzity odezvy na retenčním čase byly vyhodnoceny pomocí programu GSMS Solution 4.2. Pro výpočet retenčních indexů (RI) podle Van den Doola, které byly využity pro identifikaci separovaných látek ze vzorků máku, byla proměřena homologická řada *n*-alkanů C5–C40. Samotný výpočet byl proveden způsobem dle Van den Doola a Kratze [110]. Společně s RI byly využity k identifikaci zaznamenaná hmotnostní spektra, která byla porovnána s knihovnamí NIST 17 a FFNSC 2, kdy jako nejmenší přijatelná shoda byla nastavena 85 %. K potvrzení identifikace byla použita i online databáze, jako např. NIST WebBook nebo dostupné studie. Kromě RI byly hodnoceny i relativní obsahy jednotlivých látek, a to jako podíl na celkové ploše.

### **2.4.3 Podmínky separace na plynovém chromatografu s plamenovým ionizačním detektorem**

Analytické podmínky, jako teplota nástřiku, teplotní program, nosný plyn a typ kolony, byly stejné pro GC-FID i GC-MS. Pro FID detektor GC-2010 byla nastavena teplota na 255 °C. Průtok plynů pro detektor byl následující: průtok vodíku 32 ml/min, průtok vzduchu 200 ml/min, doplňkovým plynem byl dusík s průtokem 24 ml/min. Splitovací poměr byl 1:5.

Získané chromatogramy byly vyhodnoceny pomocí programu LabSolution a retenční indexy byly vypočteny na základě naměřených retenčních časů separovaných látek a homologické řady *n*-alkanů.

### 3 VÝSLEDKY A DISKUSE

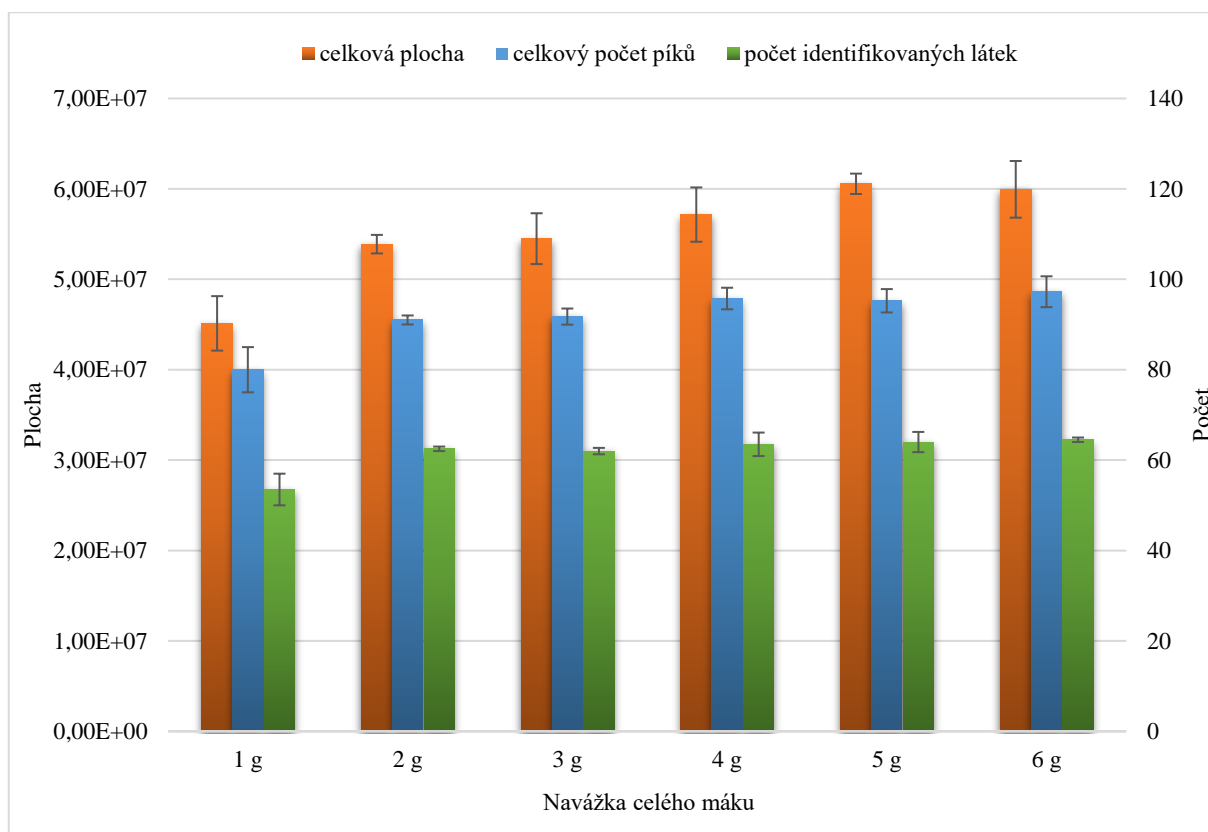
#### 3.1 Optimalizace podmínek extrakce

Veškeré optimalizace podmínek byly prováděny na reálném vzorku celého máku Dr. Esna. Prvním parametrem, který byl optimalizován, byla navážka celých semen máku. Po optimalizaci navážky následovaly parametry teplota extrakce, čas extrakce a využití vakua.

##### 3.1.1 Optimalizace navážky celých semen máku setého

Do 20ml vzorkovací nádobky bylo naváženo určité množství celého máku. Jednalo se o 1 g až 6 g. Extrakce probíhala při teplotě 90 °C po dobu 60 min. Tato extrakční teplota a čas se jevily jako nejvhodnější kombinace extrakčních podmínek během vypracování studentské vědecké a odborné činnosti, která byla také zaměřena na optimalizaci extrakce těkavých látek semen máku setého [109]. Nejprve byl pokus proveden u každé navážky dvakrát, následně u navážek 3 g až 6 g byl proveden dvakrát znovu. Důvodem byly velmi rozdílné výsledky jednotlivých měření těchto navážek.

Z naměřených hodnot byl sestaven graf na Obrázku 16, ve kterém jsou porovnány celkové plochy chromatogramů, počet všech píků a zároveň počet všech píků identifikovaných látek.



Obrázek 16: Porovnání vhodnosti navážky celých semen máku (navážky 1 a 2 g  $n = 2$ , zbylé navážky  $n = 4$ )

Na základě tohoto porovnání na Obrázku 16, byla vybrána navážka 4 g celého máku. Celková plocha chromatogramu a celkový počet píků se nadále zvětšoval, ale počet identifikovaných látek, resp. píků identifikovaných látek, byl relativně podobný, což znamená, že se vzrůstající navážkou klesal podíl píků, které se následně podařilo identifikovat.

Pro srovnání – při navážce 3 g celých semen máku bylo detekováno průměrně 92 píků s plochou  $5,45 \cdot 10^7$  a u 62 píků se podařilo identifikovat konkrétní látku. Při navážce 4 g bylo detekováno 96 píků o ploše  $5,72 \cdot 10^7$  a 64 píků bylo identifikováno. Zároveň se vyšší navážky než 4 g máku nejevily výhodně, a to kvůli vysoké spotřebě vzorků. Současně s narůstajícím objemem vzorku se zvyšovalo riziko poškození SPME vlákna, protože místo v nádobce již nebylo dostatečné pro jeho bezpečné zavedení a aby nedocházelo k přímému kontaktu vlákna a vzorku.

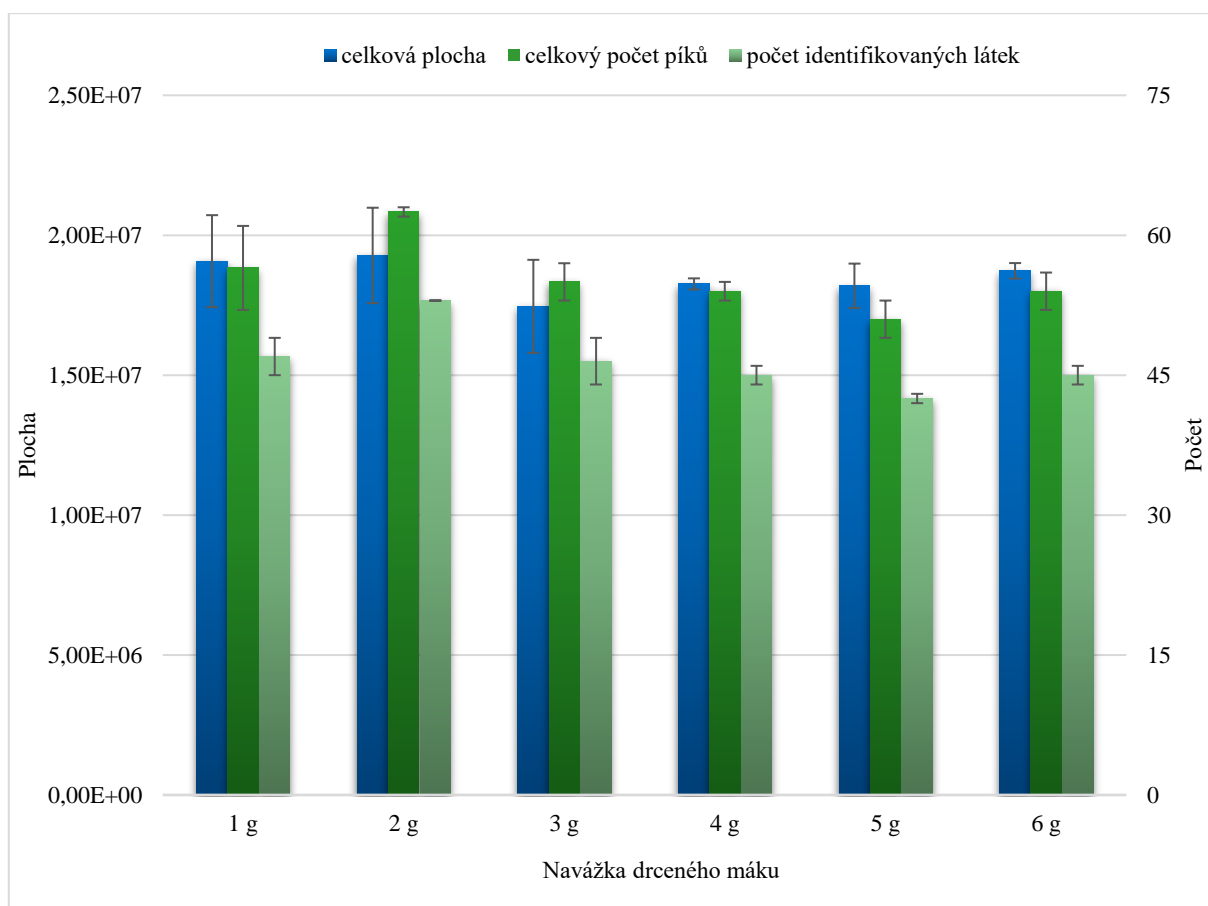
### **3.1.2 Optimalizace navážky drcených semen máku setého**

Dále byl proveden pokus optimalizace navážky drcených makových semen, za účelem extrakce a následné analýzy většího množství těkavých látek než u celých semen. Vzorek celého máku Dr. Esna byl drcen v keramické třecí misce po dobu asi 5 minut. Nadrcený má byl navážen do 20ml vzorkovací nádoby. Navážky byly 1 g až 6 g. Vhodné množství máku bylo vždy nadrceno před extrakcí. Hlavním důvodem byla možná oxidace oleje, který je v makových semenech majoritní složkou. Extrakce probíhala stejně jako v předchozím případě při teplotě 90 °C po dobu 60 min. Každá navážka byla extrahována a měřena vždy dvakrát.

Z naměřených hodnot byl sestaven graf – Obrázek 17, ve kterém jsou porovnány stejné parametry jako u celých semen máku – celkové plochy chromatogramů, počet všech píků a zároveň počet všech píků identifikovaných látek.

Z tohoto grafu (Obrázek 17) se jeví jako nejvhodnější navážka 2 g drcených semen máku. Bylo průměrně detekováno 63 píků jejichž celková plocha činí  $1,93 \cdot 10^7$  a identifikováno bylo 53 látek. U ostatních navážek, kromě 1 g jsou tyto hodnoty významně nižší.

Zároveň je z tohoto grafu zřejmé, že celková plocha chromatogramu se rapidně zmenšila, a to o více než polovinu celkové plochy ku nedrceným makovým semenům. Současně bylo detekováno a identifikováno méně látek. Důvodem takto velkého poklesu odezvy může být větší afinita těkavých látek k uvolněnému makovému oleji. Látky pak méně ochotně přechází do prostoru headspace odkud by měly být následně extrahovány.

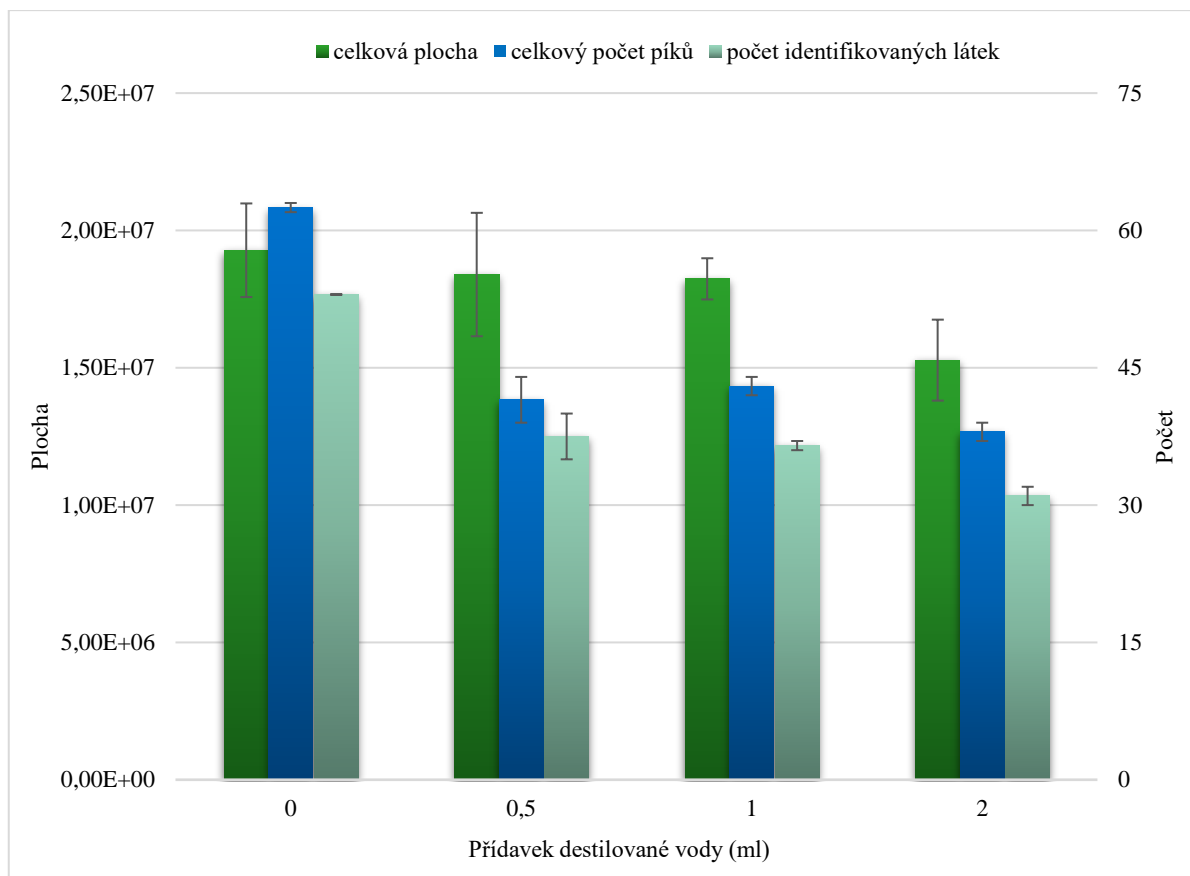


Obrázek 17: Porovnání navážek drcených semen máku ( $n = 2$ )

Vzhledem k zjištění, že množství těkavých látek se výrazně sníží po rozdrcení semen, byl proveden pokus, kdy bylo ke 2 g drceného máku (drceného vždy před analýzou po dobu asi 5 min) odměřeno určité množství destilované vody. Přidávky byly 0,5 ml až 2 ml a měření probíhalo vždy ve dvou opakováních. Důvodem toho přidavku je vyšší těkavost silic s vodní parou.

Z naměřených hodnot byl sestaven graf – Obrázek 18, ve kterém jsou porovnány parametry jako: plochy chromatogramů, počet všech píků a zároveň počet všech identifikovaných látek. Současně jsou naměřené hodnoty s přidavkem vody porovnány s měřením bez přidavku.

Z tohoto grafu (Obrázek 18) vyplývá, že přidavek destilované vody příznivý vliv na uvolňování těkavých látek drcených semen máku nemá. Přidavek vody způsobil ještě větší pokles detekovaných těkavých látek. U navážky 2 g bez přidavku vody byla celková průměrná plocha 63 detekovaných píků  $1,93 \cdot 10^7$  a u 2 g navážky s přidavkem 2 ml destilované vody byla plocha 38 detekovaných píků  $1,53 \cdot 10^7$ .

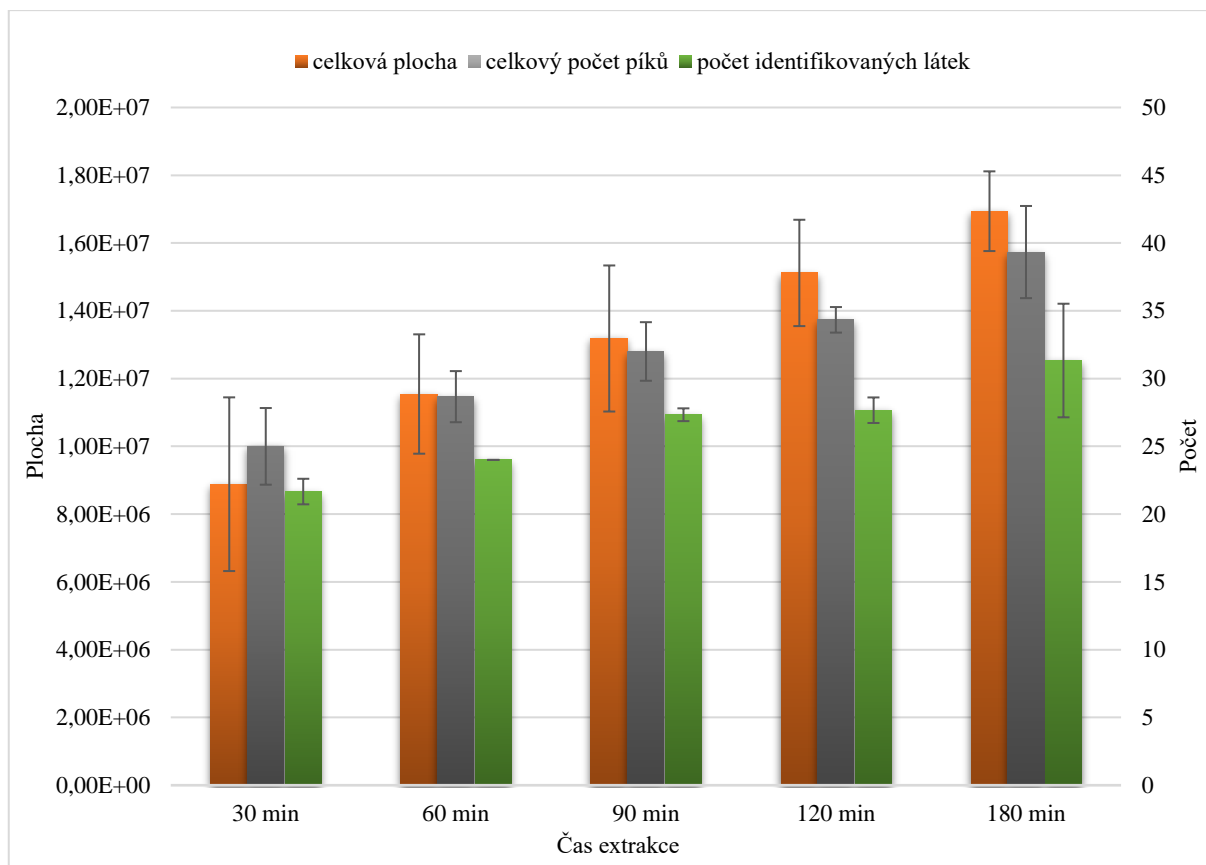


Obrázek 18: Vliv přídavku destilované vody k drcenému máku ( $n = 2$ )

Na základě těchto poznatků a možnosti vzniku významné lidské chyby během drcení máku, byl z následných experimentů drcený mák vynechán a zaměřilo se na vliv teploty, času a vakua na extrakci.

### 3.1.3 Extrakce těkavých látek celých semen máku při 30 °C

Extrakce těkavých látek byla provedena při 30 °C, což je nejnižší možná teplota, která lze nastavit na agitátoru, kde probíhá vyhřívání vzorkovací nádoby se vzorkem. Extrakce probíhala po různě dlouhé časové úseky. Nejkratší čas extrakce byl 30 min, následně 60 min, 90 min, 120 min a nejdelší čas extrakce byl 180 min. Navážka celých semen máku použitých pro tuto sérii extrakcí byly 4 g, které byly pro extrakci vybrány jako optimální. Měření probíhalo vždy ve třech opakováních. Z naměřených hodnot byl sestaven graf na Obrázku 19 zobrazující porovnání celkové plochy, počtu píků a počtu identifikovaných látek.



Obrázek 19: Vliv délky extrakce při 30 °C na vybrané parametry ( $n = 3$ )

Na první pohled je z grafu (Obrázek 19) zřejmé, že čím delší dobu extrakce probíhá, tím je větší celková plocha píků a zároveň vzrůstá i množství detekovaných látek. Zároveň lze pozorovat, že extrakce po dobu delší než 90 minut nevede k významnějšímu nárůstu počtu identifikovaných látek – u extrakce trvající 90 min bylo identifikováno průměrně 27 látek, u 120 min extrakce 28 látek a u 180 min extrakce 31 látek. Prodlužování extrakce z 90 minut na 180 minut se jeví jako neefektivní kvůli časové náročnosti.

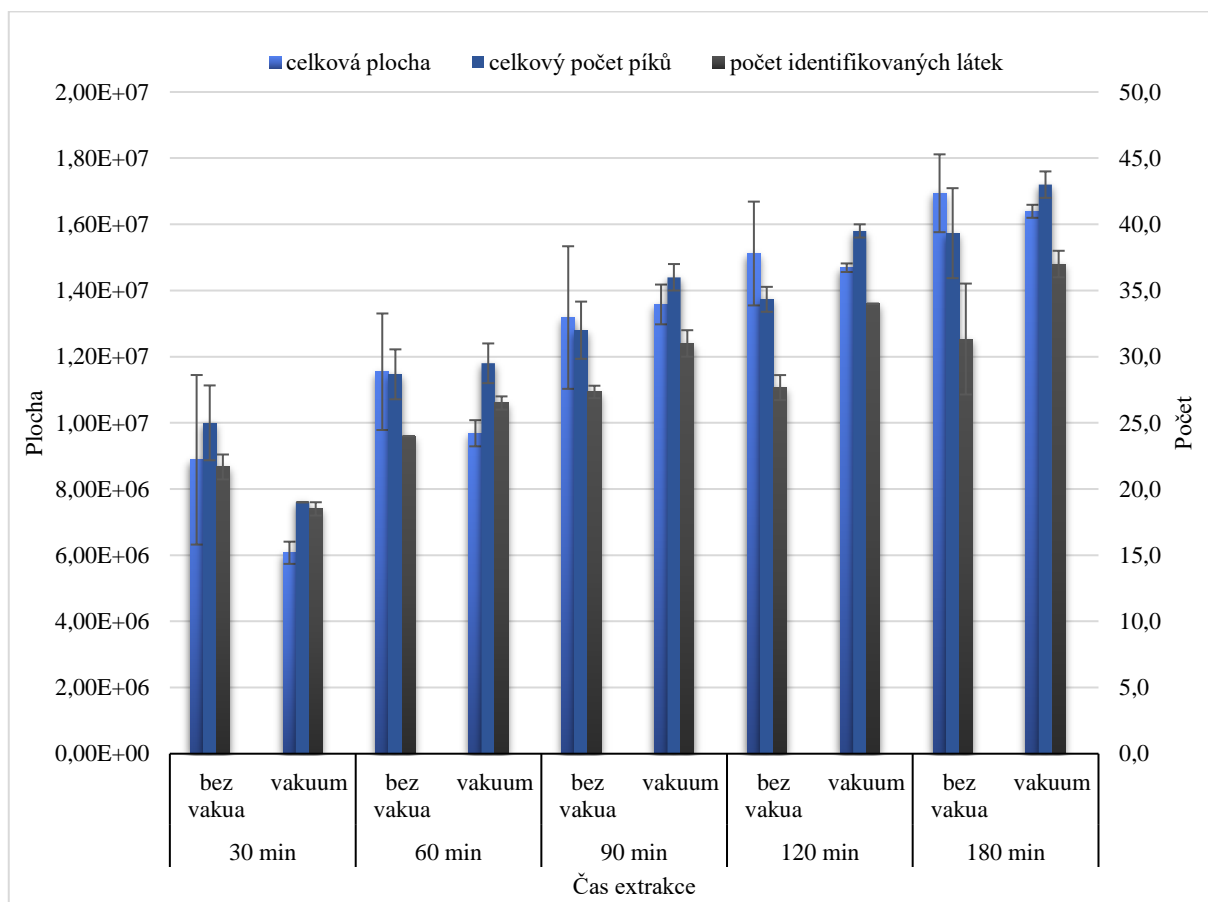
Důvodem pro zkoušení 30 °C extrakční teploty byly některé ze studií uvedené v kapitole 1.2.7. Jedná se například o studie D. D. Emira a kol., kdy byla použita extrakční teplota 40 °C po dobu 20 min s identickou dobou preinkubace. Následně se jim podařilo identifikovat 75 těkavých látek [107]. Ve studii S. Krist a kol., kdy extrakce těkavých látek probíhala při pokojové teplotě po dobu 60 minut, identifikovali 30 těkavých látek [103]. V obou těchto studiích však byl jako vzorek použitý makový olej, nikoli celá maková semena. Avšak naměřené množství těkavých látek při nižších extrakčních teplotách se během vypracování této diplomové práce ani zdaleka neblíží studii D. D. Emira. Mnohem podobnějších výsledků i přes rozdílnou matici vzorků bylo dosaženo s druhou jmenovanou studií S. Krist.

### 3.1.4 Vakuově asistovaná mikroextrakce tuhou fází při 30 °C

Vzhledem k časové náročnosti extrakcí, které se jeví nejvýhodněji, byla do experimentální části zařazena vakuově asistovaná mikroextrakce tuhou fází.

Nejprve byl testován vliv vakua na extrakci probíhající při 30 °C po stejně dlouhé časové úseky jako v kapitole 3.1.3. Navážka celého máku vždy činila 4 g a měření vždy probíhalo ve třech opakováních. Z naměřených hodnot byl sestaven graf na Obrázku 20, kde jsou porovnány celkové plochy, počty piků a počty identifikovaných látek extrakce bez vakua s extrakcí za asistence vakua.

Z grafu na Obrázku 20 vyplývá, že extrakce za vakua se začíná vyplácet z pohledu množství všech i identifikovaných látek již u 60 minutové extrakce, kde bylo získáno průměrně 30 detekovaných látek, z toho 27 identifikovaných, oproti 29 detekovaných, z toho 24 identifikovaných látek u extrakce bez vakua. Tento trend, kdy je detekováno a identifikováno více těkavých látek, trvá až do 180minutové extrakce. Celková plocha chromatogramu se začíná vyrovnávat s extrakcí bez vakua u 90 min extrakce a její hodnoty jsou vyšší až do 120 min extrakce, kde již o něco klesá.



Obrázek 20: Porovnání extrakce při 30 °C bez vakua s extrakcí s vakuem ( $n = 3$ )



Rozdíly při extrakci za využití vakua a bez jeho využití při extrakční teplotě 30 °C nejsou tak výrazné. Vliv vakua byl testován i při extrakcích za vyšších teplot.

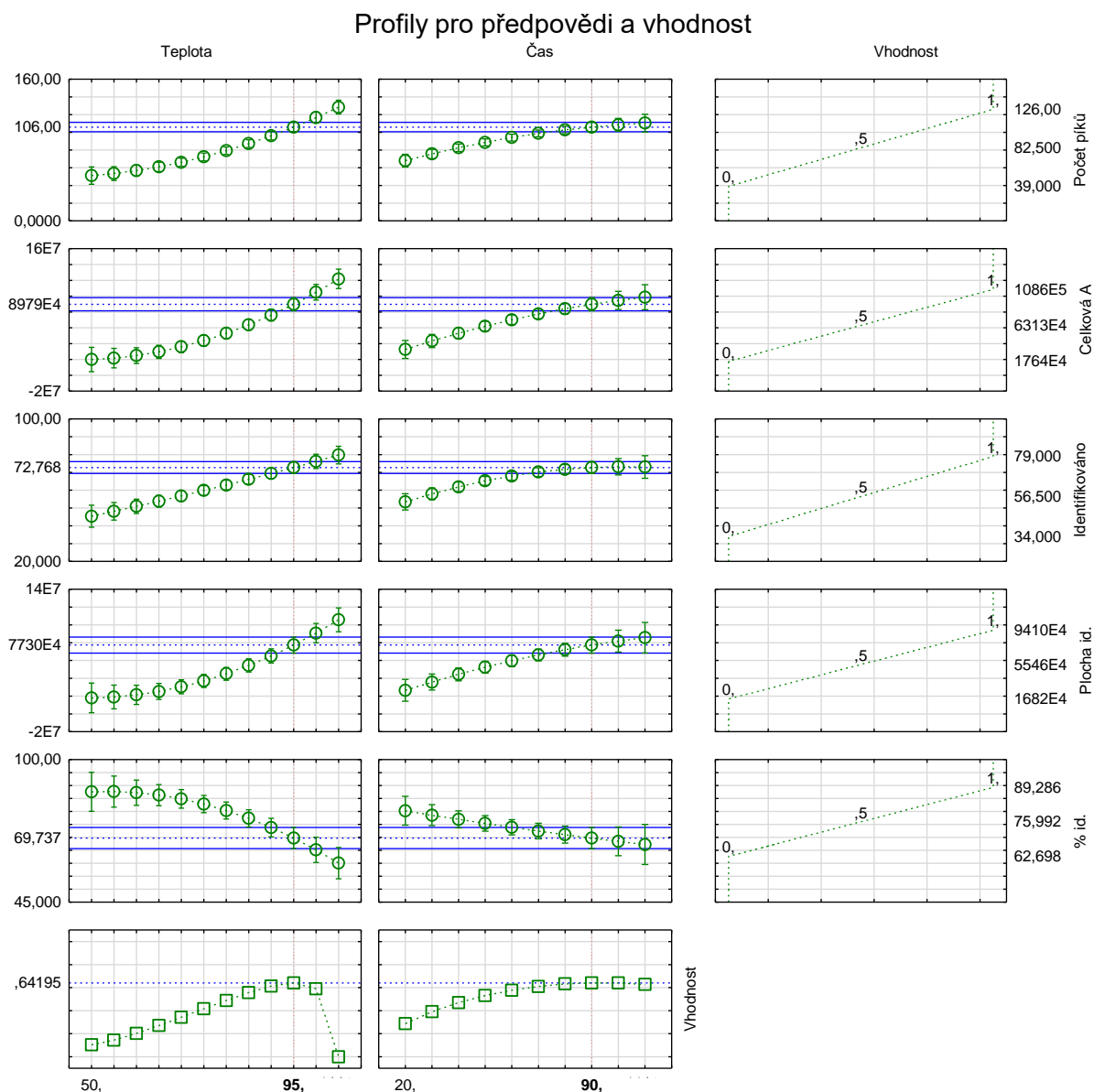
### **3.1.5 Centrálně kompozitní plánování**

Na optimalizaci teplotních a časových podmínek extrakce bylo využito CCD. Pomocí softwaru Statistica 14 byl navržen experiment pro jejich optimalizaci. V tabulce 6 (viz Experimentální část) je zobrazeno 12 experimentů, kde extrakce probíhá za různých teplot a různě dlouhou dobu. Navážka pro každý experiment byla 4,00 g s přesností na 0,01 g. Tento postup byl realizován jak u postupu bez vakua, tak i s vakuem.

#### **3.1.5.1 Centrálně kompozitní plánování pro extrakci bez vakua**

Obrázek 21 znázorňuje odezvoový profil, který popisuje vhodnost optimalizovaných parametrů extrakce těkavých látek máku bez vakua (celkový čas extrakce a její teplota). Ze získaných výsledků lze zjistit vliv teploty a času extrakce na množství píků, celkovou plochu chromatogramu, počet identifikovaných látek, plochu píků identifikovaných látek a procento identifikovaných látek vůči veškerým detekovaným látkám.

U celkového počtu píků, jejich plochy a plochy píků identifikovaných látek se vhodnost se stoupající teplotou a prodlužujícím se časem extrakcí zvyšuje. Pro získání většího počtu identifikovaných látek se jeví lepší vyšší teplota bez nutnosti delší extrakce než 90 minut. Vyšší extrakční teplota a delší čas extrakce mají nepříznivý vliv na procento identifikovaných látek, které postupně klesá.

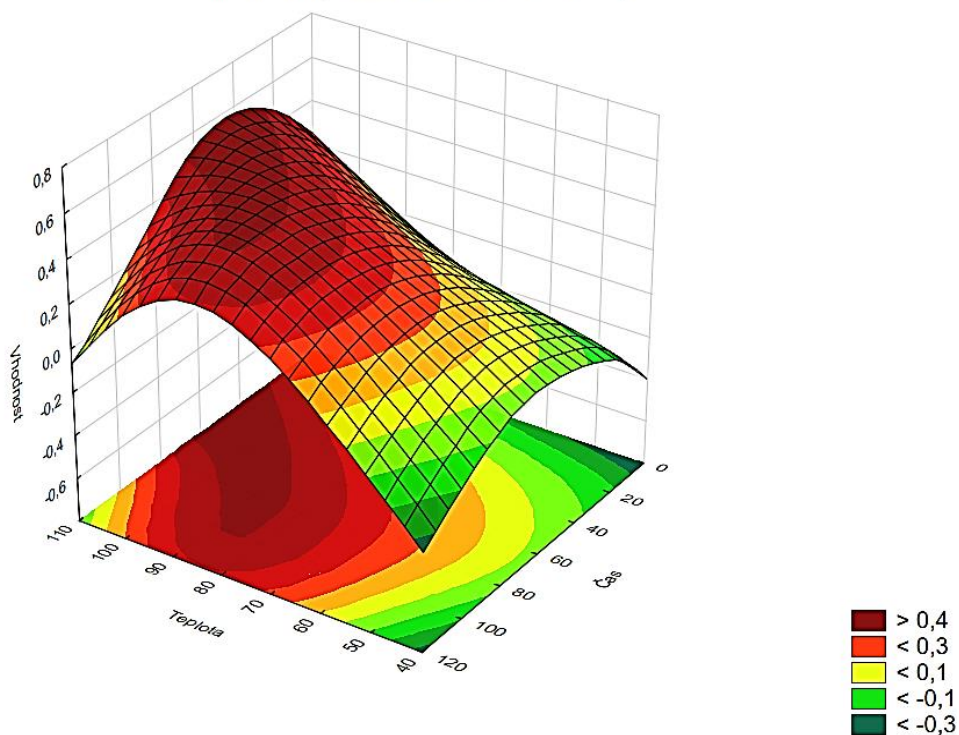


Obrázek 21: Profily pro vhodnost a předpovědi pro optimalizaci extrakčních podmínek

Obrázek 22 na kterém je zobrazena odezвовá plocha, je znázorněn vztah mezi testovanými parametry. Tmavě červenou barvou jsou znázorněny maximální hodnoty parametrů, tmavě zelenou naopak nejnižší.

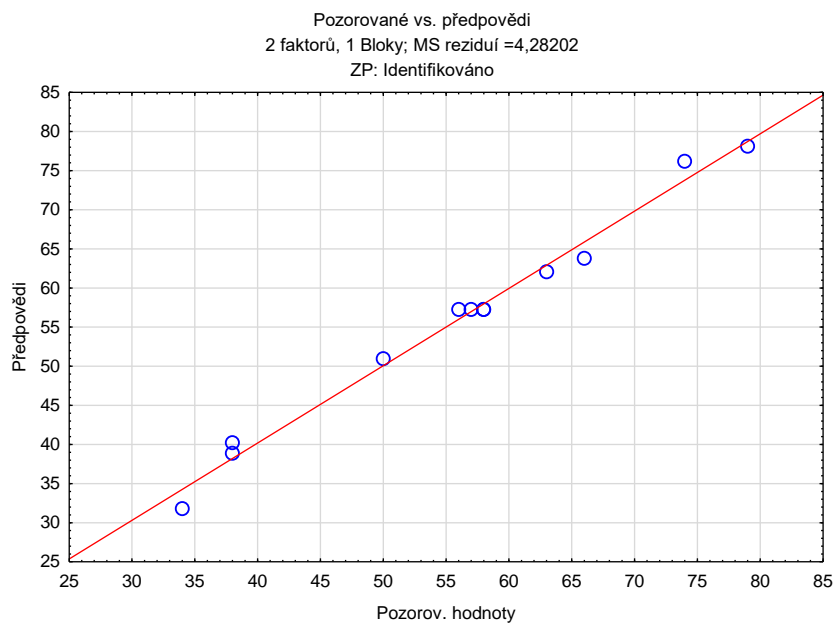
Pomocí Obrázků 21 a 22 byly vyhodnoceny jako nejlepší parametry pro extrakci: teplota 95 °C po dobu 90 minut.

Vhodnostní povrch/vrstevnice; Metoda: Spline



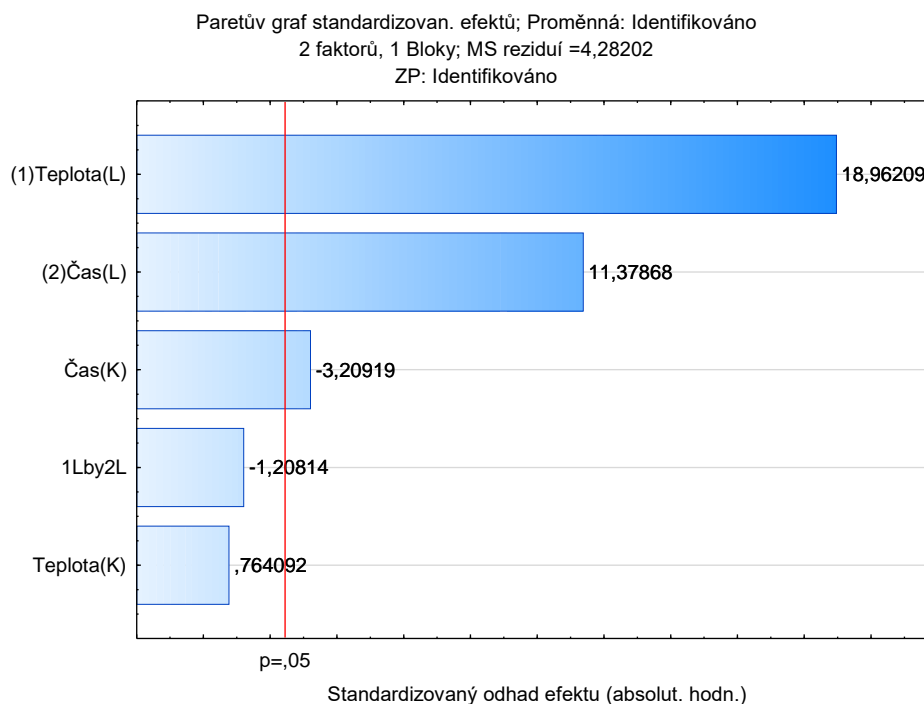
Obrázek 22: Metoda odezvové plochy pro optimalizaci extrakčních podmínek

Graf pozorovaných a předpovězených hodnot na Obrázku 23 porovnává vhodnost metody z pohledu celkového počtu identifikovaných látek. Za nejvhodnější jsou považovány body v grafu, které leží přímo na červené přímce. Je vidět, že navržený model velmi dobře popisuje reálné chování tohoto systému.



Obrázek 23: Porovnání pozorovaných a předpovězených hodnot pro počet identifikovaných látek

Paretův graf standardizovaných efektů, který je na Obrázku 24, zobrazuje význam experimentálních proměnných na počet identifikovaných látek při extrakci těkavých látek z celých semen máku setého. Z grafu vyplývá, že statisticky významnými parametry na množství identifikovaných látek jsou oba testované parametry extrakce.



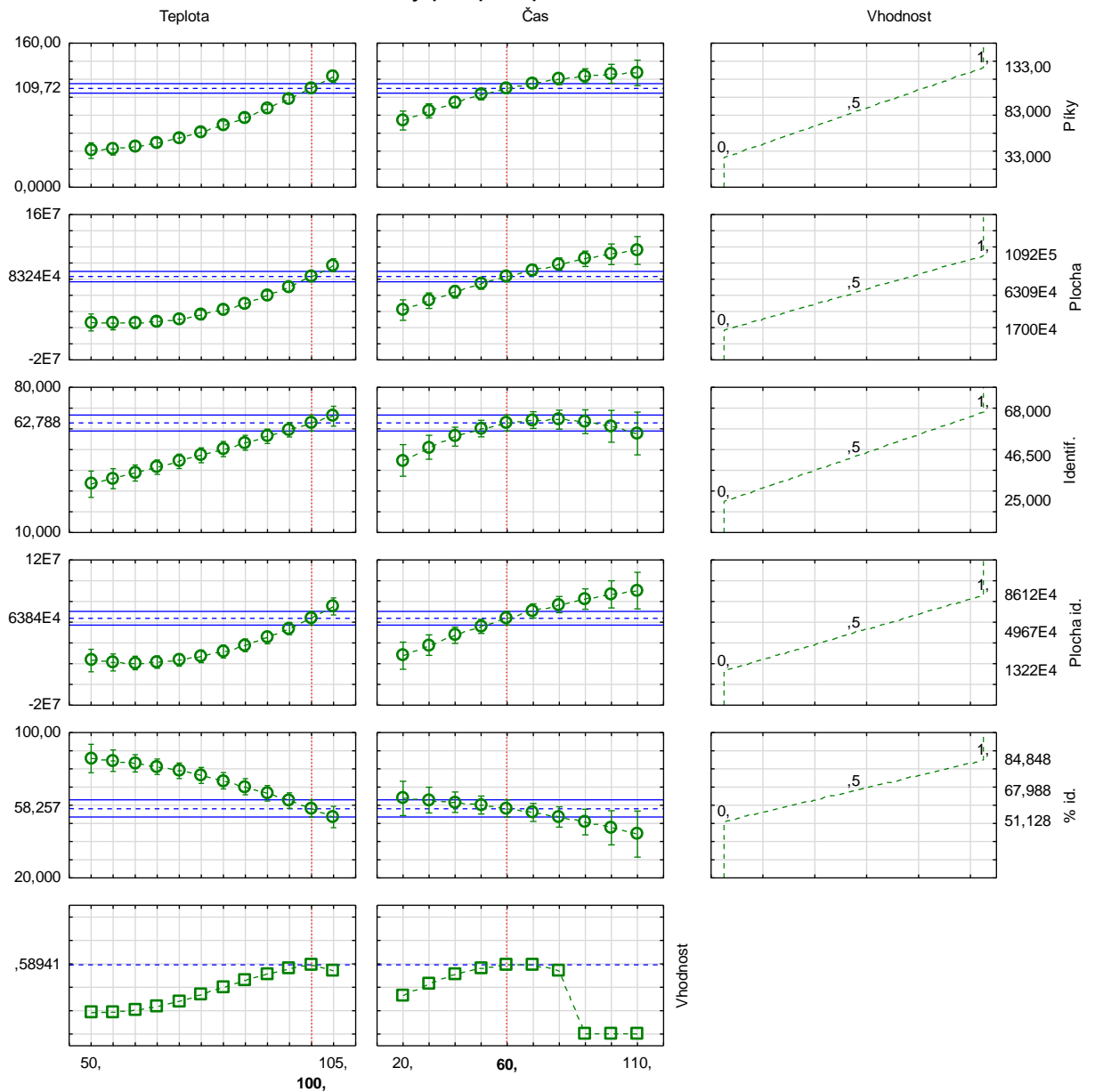
Obrázek 24: Paretův graf standardizovaných efektů na počet identifikovaných látek

Po dalších několika měřeních došlo k úpravě původních dat použitých k této datové analýze. Úprava spočívala ve zvýšení limitu minimální plochy a výšky při integraci chromatografických píků, aby vyhodnocení záznamů bylo pokud možno co nejvíce jednotné. Datová analýza byla s takto upravenými daty provedena znovu. Výsledkem byly profily pro předpovědi a vhodnosti na Obrázku 25. Následně byla data vyhodnocována dle přístupu, který byl na konci optimalizace zvolen za nejlepší možný.

Z Obrázku 25 jsou vidět podobné závislosti jako u Obrázku 21 u celkového počtu píků, jejich plochy, plochy píků identifikovaných látek a procenta identifikovaných látek. Došlo ke změně závislosti u množství identifikovaných látek, kdy u delší extrakce nedochází k ustalování množství identifikovaných látek, ale k jejich poklesu. Jako optimální podmínky extrakce v tomto případě vychází 100 °C po dobu 60 minut.

Na základě těchto profilů na Obrázku 21 a 25 bylo rozhodnuto otestovat tyto podmínky na reálných vzorcích a dle výsledků vybrat nejlepší možnou variantu.

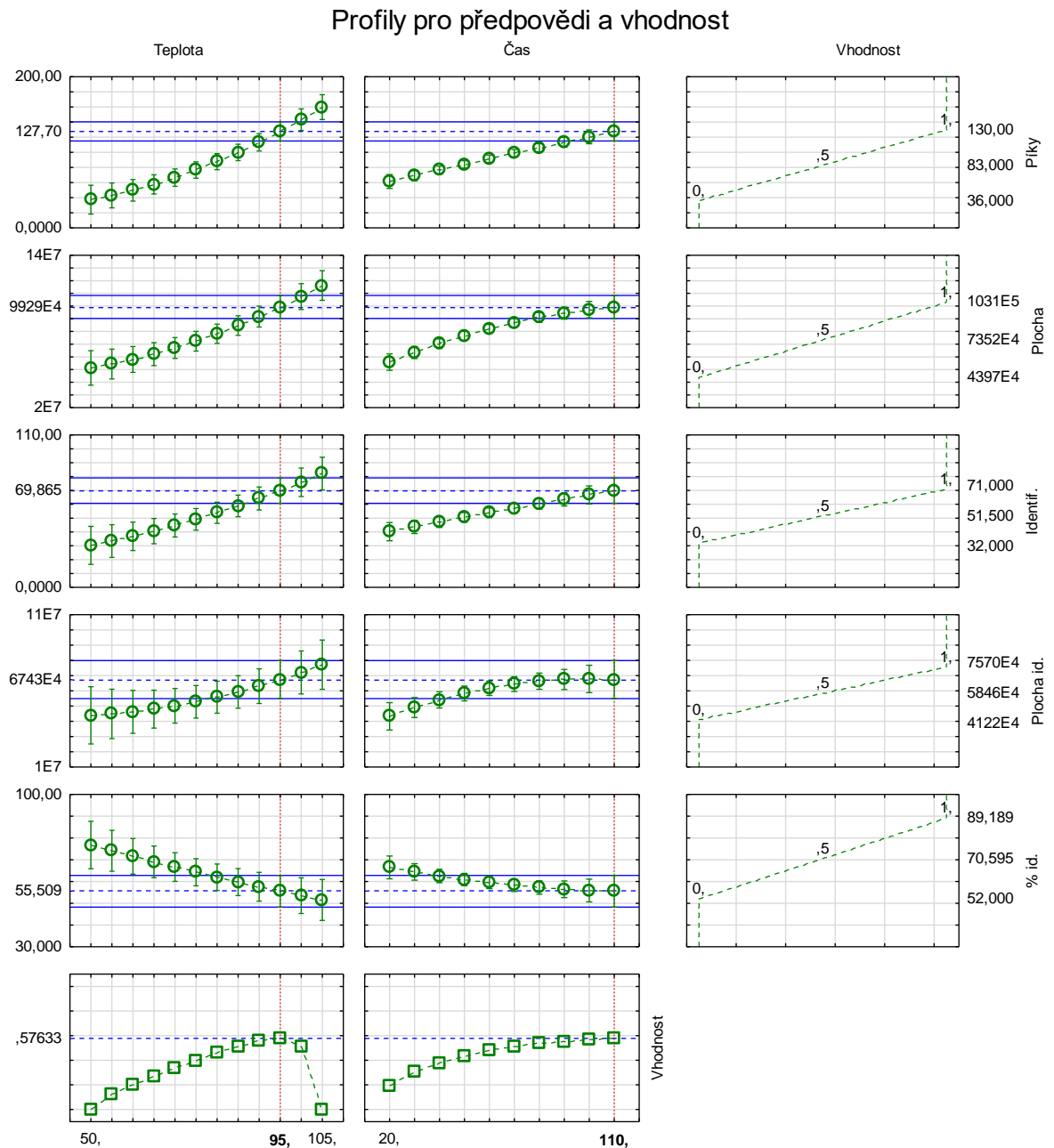
### Profily pro předpovědi a vhodnost



Obrázek 25: Profily po vhodnost a předpovědi pro optimalizaci extrakčních podmínek po úpravě vstupních dat

### 3.1.5.2 Centrálně kompozitní plánování pro extrakci za účasti vakua

Na Obrázku 26 zobrazují profily pro předpovědi a vhodnost popisující vhodnost optimalizovaných parametrů extrakce těkavých látek máku za účasti vakua.



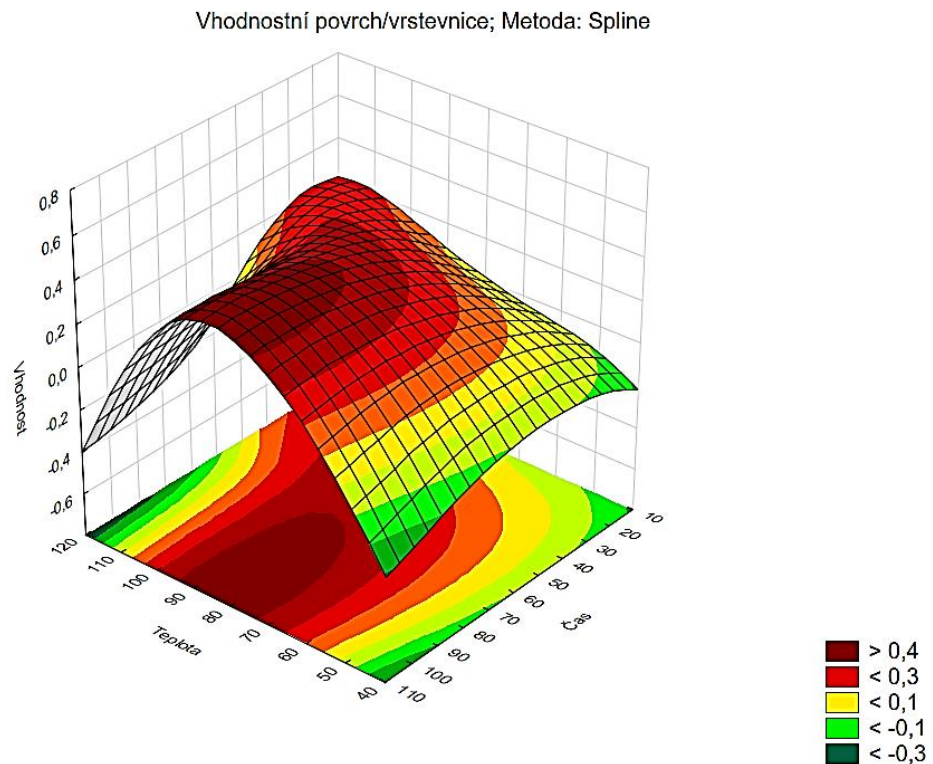
Obrázek 26: Profily po vhodnost a předpovědi pro optimalizaci extrakčních podmínek za účasti vakua

V tomto případě je na Obrázku 26 vidět vhodnost vyšší teploty u 4 parametrů – celkového množství píků, jejich celkové plochy, množství identifikovaných látek a jejich plochy. Delší čas extrakce se jeví jako lepší řešení u parametrů jako celkové množství píků, jejich plochy a množství identifikovaných píků. U plochy identifikovaných píků dochází k ustalování jejich

počtu u 90 min. Vyšší teplota i delší čas extrakce působí negativně na poslední zobrazený parametr, kterým je procento identifikovaných látek.

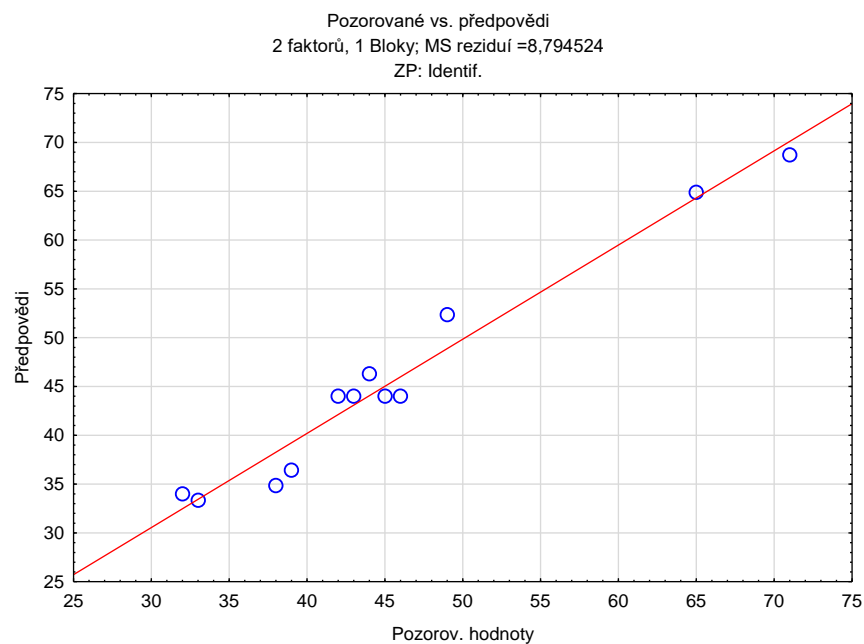
Obrázek 27 na kterém je vidět odezvovala plocha zobrazuje vztah mezi testovanými parametry. Barevné rozložení plochy je stejné jako u Obrázku 22.

Pomocí Obrázků 26 a 27 byly vyhodnoceny jako nejlepší parametry extrakce za účasti vakua extrakční teplota 95 °C po dobu 110 minut.



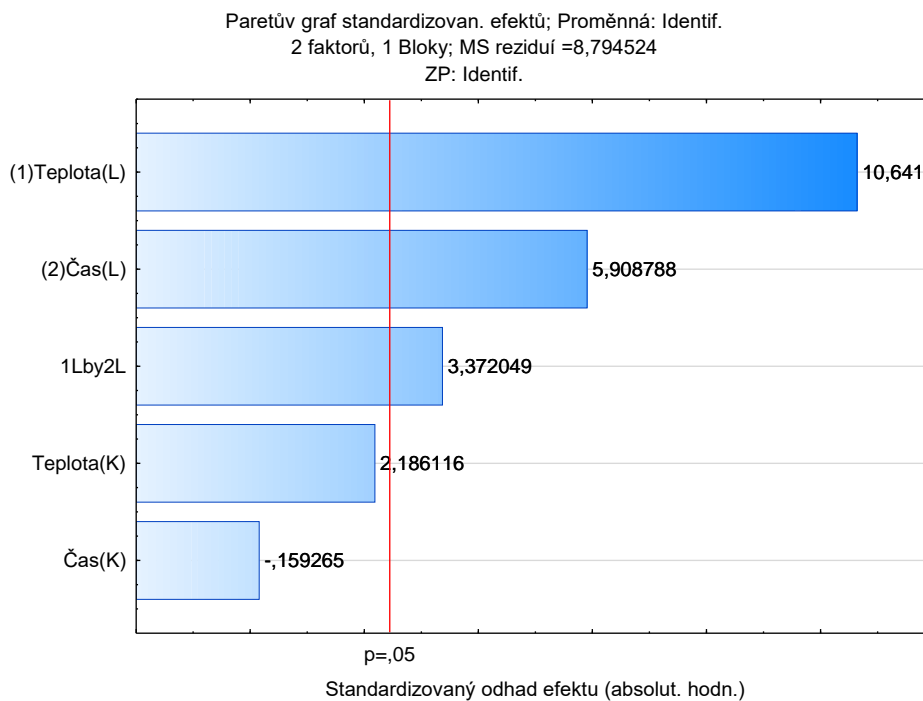
Obrázek 27: Metoda odezvovala plochy pro optimalizaci extrakčních parametrů za účasti vakua

Graf pozorovaných a předpovězených hodnot na Obrázku 28 porovnává vhodnost metody za účasti vakua z pohledu celkového počtu identifikovaných látek. Je zde vidět, že body se pohybují v těsné blízkosti červené přímky, což znamená, že navržený model je pro tento systém vhodný.



Obrázek 28: Porovnání pozorovaných a předpovězených hodnot pro počet identifikovaných látek

Paretův graf standardizovaných efektů, který je na Obrázku 29, zobrazuje význam experimentálních proměnných na celkové množství identifikovaných látek při extrakci těkavých látek celých semen máku setého za účasti vakuu.



Obrázek 29: Paretův graf standardizovaných efektů pro počet identifikovaných látek

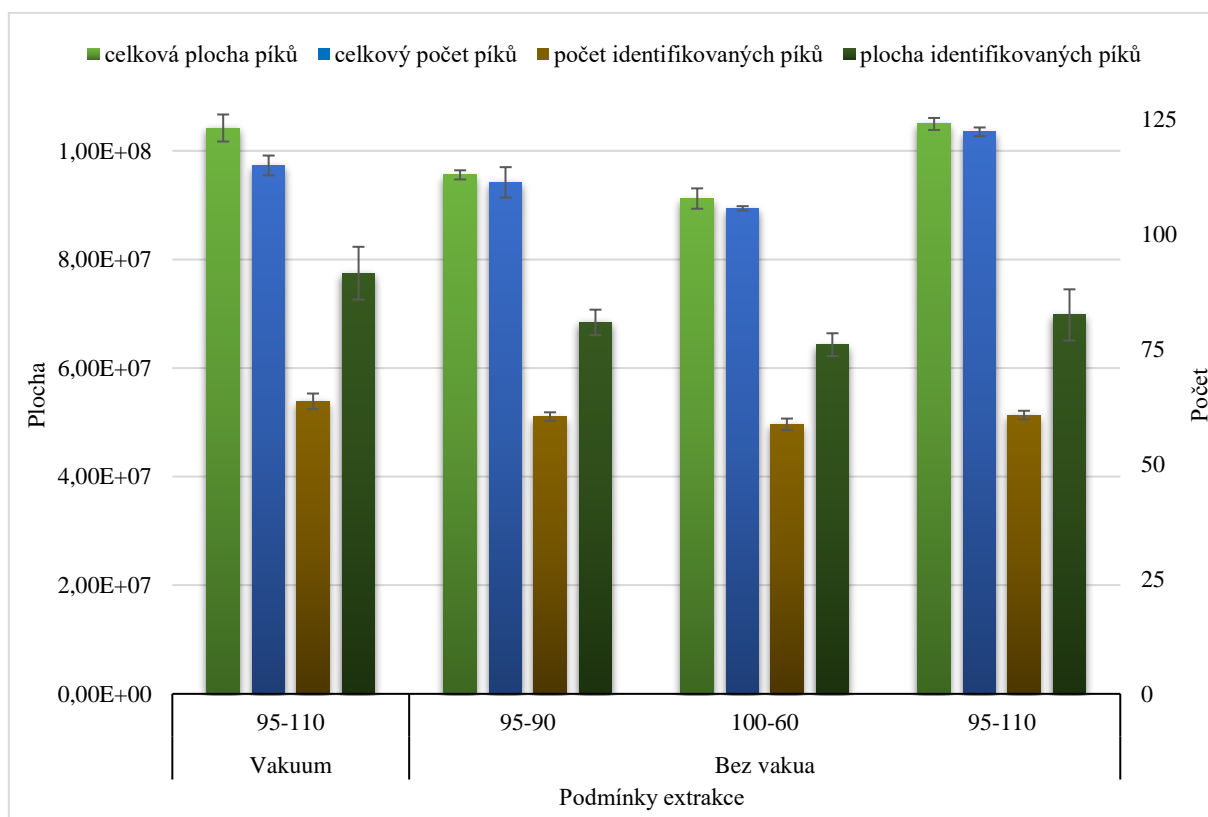


### 3.1.5.3 Porovnání vybraných optimálních podmínek na reálných vzorcích celého máku

Po vyhodnocení dat naměřených podle experimentu sestaveného pomocí CCD bylo vyhodnoceno několik optimálních podmínek pro extrakci těkavých látek celých semen máku setého. Těmito podmínkami extrakce jsou: 95 °C extrakce po dobu 90 min bez vakua, 100 °C extrakce po dobu 60 minut bez vakua a 95 °C extrakce po dobu 110 minut za účasti vakua. Současně pro přímé porovnání byla testována extrakce při 95 °C po dobu 110 min bez vakua. Podmínky extrakce byly testovány na navážce 4,00 g s přesností na 0,01 g ve třech opakováních.

Graf na Obrázku 30 porovnává všechny 4 způsoby extrakce. Jsou zde znázorněny čtyři podstatné parametry – celkový počet píků a jejich plocha a počet identifikovaných píků a jejich plocha.

Nejvýhodněji ve všech těchto aspektech, kromě celkového počtu píků, se ukazuje vakuově asistovaná extrakce při 95 °C po dobu 110 minut. Rozdíl mezi touto, na první pohled nejlepší metodou, a tou s nejhorsími výsledky, extrakce při 100 °C trvající 60 min a bez vakua, není však tak rapidní. Číselně jsou hodnoty pro tyto dvě metody porovnány v Tabulce 7, kde jsou uvedeny průměrné výsledky měření.



Obrázek 30: Porovnání vyhodnocených optimálních podmínek ( $n = 3$ )

Tabulka 7: Porovnání vybraných metod extrakce

Metoda extrakce	Celková plocha	Celkový počet píků	Identifikovaný počet látek	Plocha píků id. látek
95 °C – 110 min za vakua	$1,04 \cdot 10^8$	115	64	$7,75 \cdot 10^7$
100 °C – 60 min bez vakua	$9,12 \cdot 10^7$	106	59	$6,43 \cdot 10^7$

Extrakce při 100 °C po dobu 60 min se jevila jako nejméně efektivní a metody extrakce trvající 110 minut měly sice o něco lepší výsledky, ale prodlužování délky extrakce nad 90 minut se jeví jako zbytečné a zdlouhavé.

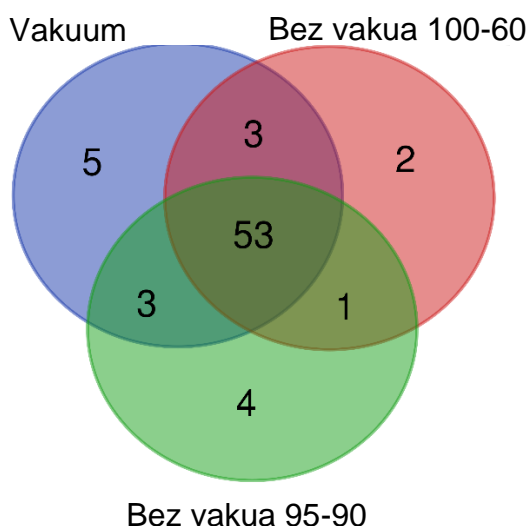
Při přímém porovnání extrakce za účasti vakua a bez vakua, které je vidět v Tabulce 8, metoda bez využití vakua v některých hodnotách předčila metodu využívající vakuuum. Na základě tohoto porovnání bylo vyhodnoceno, že krok evakuace vzorkovací nádoby je nadbytečný a je prostorem pro zanesení možných chyb nebo nepřesností, a proto se využití vakua pro extrakci těkavých látek ze semen máku také jeví jako nevýhodné.

Tabulka 8: Přímé porovnání extrakcí při 95 °C po dobu 110 minut

Metoda extrakce	Celková plocha	Celkový počet píků	Identifikovaný počet látek	Plocha píků id. látek
95 °C – 110 min za vakua	$1,04 \cdot 10^8$	115	64	$7,75 \cdot 10^7$
95 °C – 110 min bez vakua	$1,05 \cdot 10^8$	122	61	$6,98 \cdot 10^7$

Z vyhodnocených dat, konkrétně z identifikovaných látek byl vytvořen Vennův diagram, který je na Obrázku 31. Ten ukazuje množství látek, které byly extrahovány při všech metodách extrakce, při dvou způsobech extrakce nebo pouze při jednom způsobu extrakce.

Po porovnání naměřených hodnot u všech těchto způsobů extrakce byla jako nejvhodnější metoda pro extrakci těkavých látek z reálných vzorků vybrána metoda extrakce při 95 °C působící po dobu 90 minut bez využití vakua.



Obrázek 31: Vennův diagram porovnávajících podmínek

### 3.2 Extrakce a analýza těkavých látek vzorků máku

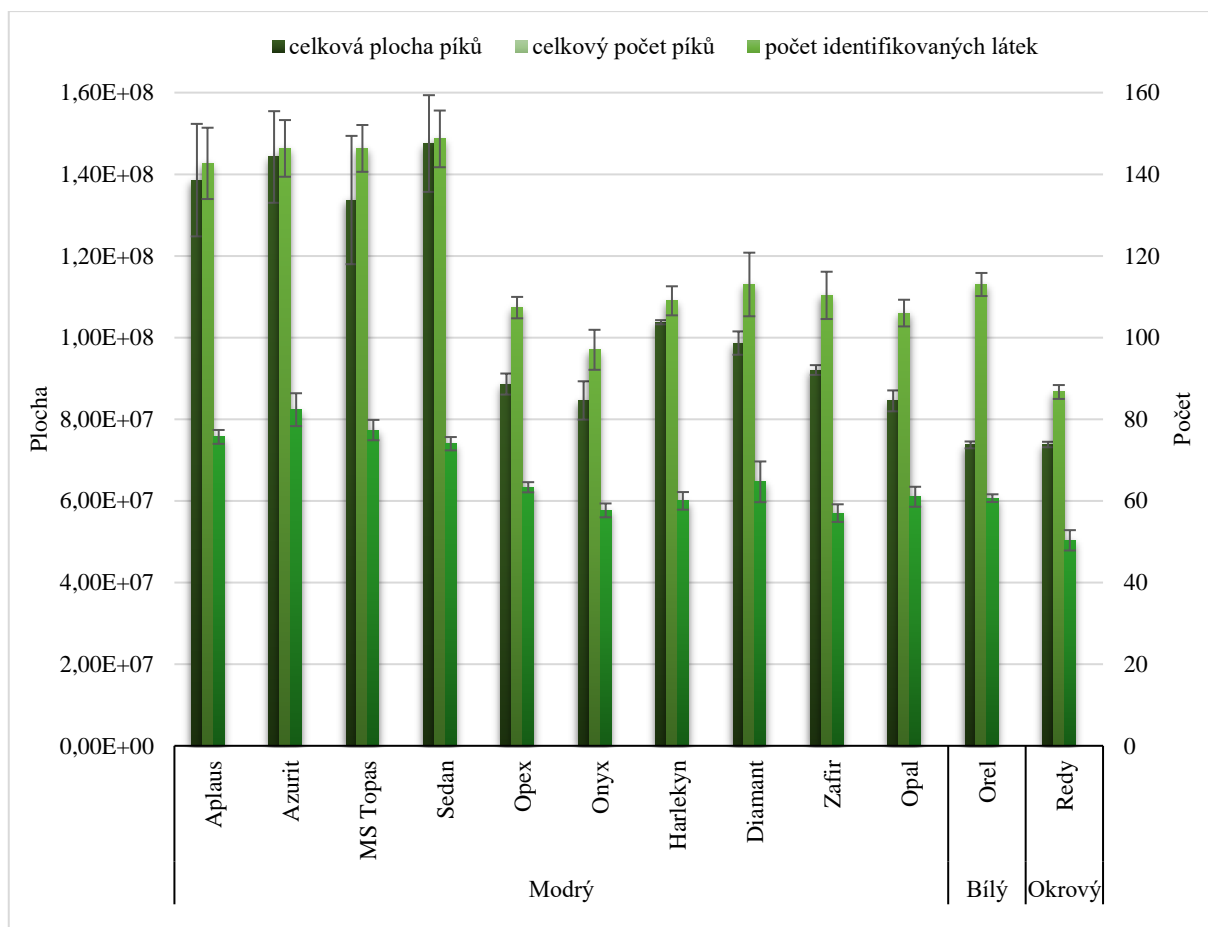
Extrakce těkavých látek ze vzorků makových semen probíhala pomocí optimalizovaných podmínek: navážka 4,00 g s přesností na 0,01 g, extrakční teplota 95 °C a čas extrakce 90 minut. Extrakty byly nejprve analyzovány pomocí GC-MS, následně i pomocí GC-FID za podmínek popsaných v kapitole 2.4.2 a 2.4.3. Všechny analýzy vzorků probíhaly třikrát.

Záznamy jednotlivých měření byly vyčištěny od chybně nebo nepřesně integrovaných píků. Následně u záznamů z hmotnostního spektrometru byla provedena identifikace látek na základě lineárních retenčních indexů (LRI) a hmotnostních spekter. Tato spektra byla porovnána s knihovnamí spekter NIST 17 a FFNSC 2. Retenční indexy byly v případech pochybnosti porovnány s internetovými databázemi nebo dostupnými studiemi. Pokud byly píky identifikovány pomocí databáze jako siloxany, byly z výsledného záznamu odstraněny. V případě záznamů z FID byly pomocí naměřených retenčních časů vypočítány LRI. U obou druhů záznamů byl proveden výpočet relativního zastoupení jednotlivých látek jako podíl na celkové ploše. Jako celková plocha byl po celou dobu brán součet ploch všech správně integrovaných píků, které byly detekovány.

#### 3.2.1 Porovnání vzorků

Při přímém grafickém porovnání na Obrázku 32, kdy jsou porovnávanými parametry jako celkový počet píků, celková plocha chromatogramu a počet identifikovaných látek ze záznamů GC-MS. Je ihned zřejmé, že první čtyři vzorky – Aplaus, Azutit, MS Topas a Sedan jistým způsobem vyčnívají. Obsah těkavých látek je u těchto 4 vzorků suverénně největší. Je také zřejmé, že na

těkavé látky „nejchudším“ vzorkem je okrovosemenný mák Redy a po něm modrosemenný mák Onyx. Vzorky se středním obsahem těkavých látek jsou Onyx, Harlekn, Diamant, Zafír, Opal a Orel.



Obrázek 32: Porovnání vzorků

Shrnutí celkového počtu píků, jejich plochy a dalších posuzovaných parametrů z obou způsobů měření (GC-MS i GC-FID) je shrnut v Tabulce 9. Tabulka všech detekovaných a identifikovaných látek pomocí GC-MS je v Příloze II. Čísla píků u chromatografických záznamů metody GC-MS neodpovídá pořadí uvedeném v Tabulce II/1, jedná se pouze o pořadí látek, které jsou řazeny vzestupně na základě RI. Tabulky detekovaných látek pomocí GC-FID u jednotlivých vzorků jsou v Příloze III. Jednotlivé chromatografické záznamy jsou v Příloze IV této diplomové práce.

Z Tabulky 9 je vidět, že co se týče nejnižšího obsahu těkavých látek, tak platí to samé, jako v předchozím případě i při detekci pomocí FID. Zbýlé rozřazení na vzorky s vysokým a středním obsahem těkavých látek není na první pohled tak zjevné.

Maximální počet identifikovaných látek u jednoho vzorku, konkrétně u vzorku máku Azurit, byl 82. Což je o 7 látek více než ve studii D. D. Emira, kde dohromady ve všech vzorcích, které zkoumali, bylo identifikováno 75 těkavých látek [107]. Celkový počet detekovaných těkavých látek v této diplomové práci ve všech vzorcích byl 221 a z toho bylo identifikováno 108 látek. Studie, které mezi vzorky zahrnuly produkty z bělosemenných máků, došly k závěru, že tyto produkty obsahovaly větší množství těkavých látek než modrosemenné odrůdy máků [102]. V případě této diplomové práce je tomu spíše naopak, bělosemenná odrůda Orel patří ke vzorkům s menším počtem těkavých látek a některé modrosemenné odrůdy mají výrazně větší počet těkavých látek, než právě tato bělosemenná odrůda.

Tabulka 9: Souhrn naměřených parametrů ze záznamů GC-MS i GC-FID

Vzorek	Záznam z GC-MS				Záznam z GC-FID		
	Počet píků	Celková plocha	Počet id.* látek	Plocha id. píků	Procento id. látek	Počet píků	Celková plocha
Aplaus	143	$1,386 \cdot 10^8$	76	$9,038 \cdot 10^7$	65,4	153	$6,276 \cdot 10^6$
Azurit	146	$1,442 \cdot 10^8$	82	$9,483 \cdot 10^7$	65,9	148	$5,602 \cdot 10^6$
MS Topas	146	$1,337 \cdot 10^8$	77	$9,215 \cdot 10^7$	69,1	157	$5,488 \cdot 10^6$
Sedan	149	$1,475 \cdot 10^8$	74	$9,016 \cdot 10^7$	61,5	163	$6,715 \cdot 10^6$
Opex	107	$8,862 \cdot 10^7$	63	$6,129 \cdot 10^7$	69,2	127	$4,584 \cdot 10^6$
Onyx	97	$8,459 \cdot 10^7$	58	$5,673 \cdot 10^7$	67,2	115	$4,314 \cdot 10^6$
Harlekyn	109	$1,038 \cdot 10^8$	60	$6,818 \cdot 10^7$	65,7	146	$5,483 \cdot 10^6$
Diamant	113	$9,865 \cdot 10^7$	65	$6,925 \cdot 10^7$	70,2	141	$4,873 \cdot 10^6$
Zafir	110	$9,205 \cdot 10^7$	57	$6,338 \cdot 10^7$	68,9	147	$4,871 \cdot 10^6$
Opal	106	$8,449 \cdot 10^7$	61	$5,868 \cdot 10^7$	69,4	130	$4,293 \cdot 10^6$
Orel	113	$7,371 \cdot 10^7$	61	$4,777 \cdot 10^7$	64,8	127	$3,449 \cdot 10^6$
Redy	87	$7,379 \cdot 10^7$	50	$5,247 \cdot 10^7$	71,1	108	$3,963 \cdot 10^6$

\* id. – identifikovaných

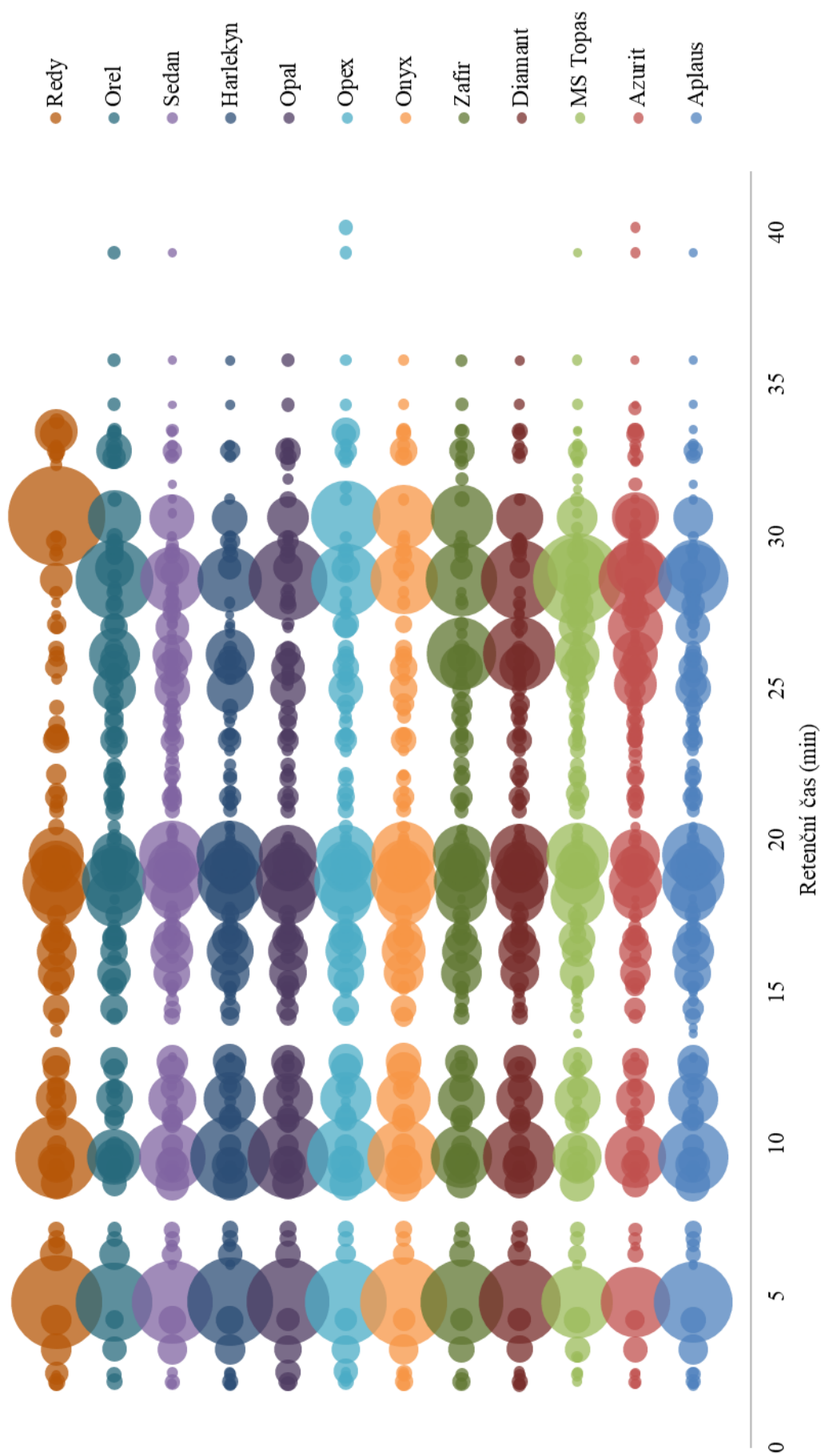
Všechny vzorky ve všech 3 měřeních obsahovaly v relativním zastoupení vysoké množství hexanalů a to v rozmezí 6,3–10,8 %, 3,1–8,7 % 2-pentylfuranu, což souhlasí se studiemi uvedenými v kapitole 1.2.7. Dalšími látkami, které se v podstatném množství nacházely ve všech vzorcích, ale nebyly nalezeny v žádných předešlých studiích, jsou: 6,10,14-trimethyl-2-pentadekanon v relativním zastoupení 1,4–10,4 %, neidentifikovaná látka s RI 1385 2,5–5,8 %, neidentifikovaná látka s RI 1347 2,7–6,0 %, kyselina palmitová, která byla detekována u vzorků Opex s rel. zastoupením 6,0–6,5 % a u vzorku Redy s rel. zastoupením 9,2–12,4 %.

2-pentadekanol byl detekován v rel. zastoupení 6,5–7,0 % u vzorků Diamant a Zafir. Vzorek Orel obsahoval 3,2–4,2 % (*E,E*)-2,4-dekadienalu, který byl detekován i v předešlých studiích.

Bylo identifikováno velké množství látek, které byly identifikovány ve výše jmenovaných studiích a to ze skupiny alkoholů, ketonů, aldehydů, organických kyselin, esterů, derivátů furanu nebo terpeny, ale nebyly nalezeny látky ze skupiny methoxypyrazinů.

Vzorky byly porovnány také pomocí bublinového grafu, který je na Obrázku 33. Zobrazuje látky dle jejich retenčních časů a zároveň jejich zastoupení ve vzorcích. Vzorky jsou v grafu řazeny do skupin, které jsou si v tomto grafickém uspořádání nejvíce podobné. Rozdílnosti mezi vzorky jsou zejména v úseku od 24 minuty. V první polovině grafu nejsou mezi vzorky vidět významné rozdíly.

Jedná se o skupinky – Aplaus, Azurit a MS Topas, dále Diamant a Zafir, nebo Onyx, Opex, Opal, Harlekyn Sedan a Orel. Poslední skupinou je samostatný Redy, který si s ostatními vzorky v této části grafu je nejméně podobný. Zároveň je zde vidět, že se jedná o „nejchudší“ vzorek.



Obrázek 33: Bublinový graf vzorků

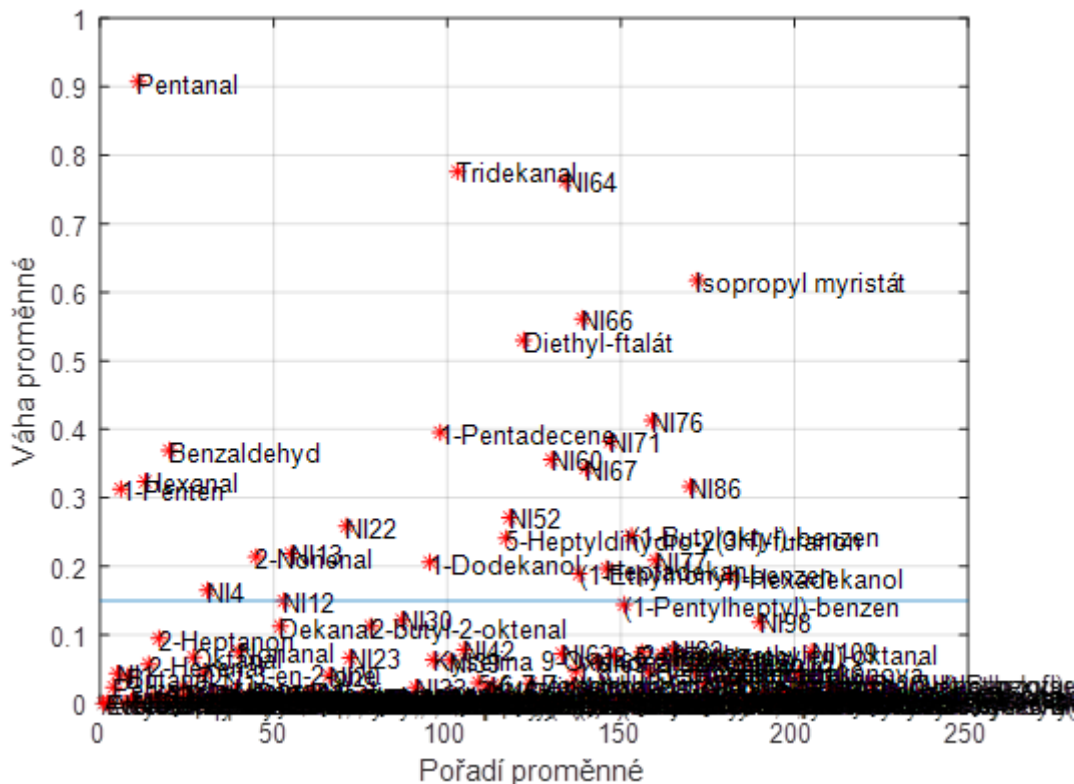
### 3.2.2 Analýza naměřených dat

Před samotnou analýzou dat byl celkový počet 221 vstupních proměnných (celkové množství detekovaných látek při GC-MS analýzách, jejich seznam je v Tabulce II/1) zredukovat. Byla použita metoda shlukové analýzy (metoda k-nejbližších sousedů), která rozčlení objekty dle podobnosti do shluků. Vzorky byly rozřazeny do skupin 1 až 4, jak je uvedeno v následující Tabulce 10.

Tabulka 10: Skupiny podobných objektů

Skupina	Vzorek
1	Diamant, Zafir, Opal, Orel
2	Aplaus, Sedan
3	Opex, Onyx, Harlekyn, Redy
4	Azurit, MS Topas

Poté byla použita metoda analýza sousedních komponent (NCA), která našla proměnné nejvýznamnější pro tuto klasifikaci. Tyto proměnné jsou vidět na Obrázku 34 nad modrou linií, která odděluje významné proměnné (s váhou větší než 0,1) od nevýznamných.

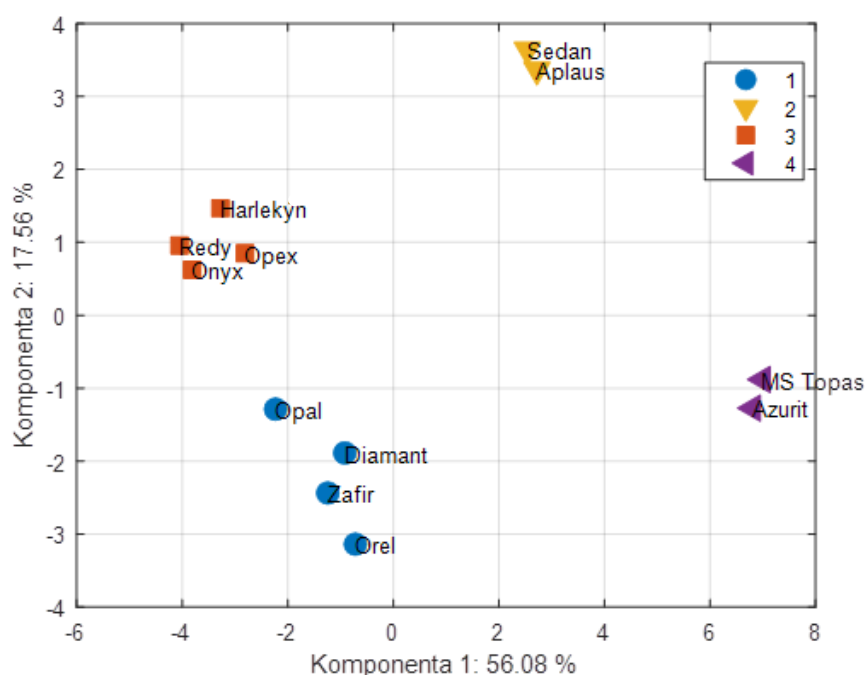


Obrázek 34: Analýza sousedních komponent



Těchto významných proměnných bylo 27. Jejich seznam společně s vypočteným RI, protože ne ve všech případech byla konkrétní látka identifikována (označeno NI), je následující: 1-penten (RI 553), pentanal (RI 698), hexanal (RI 804), benzaldehyd (RI 968), NI4 (RI 986), 2-nonenal (RI 1164), NI13 (RI 1210), NI22 (RI 1322), 1-dodekanol (RI 1477), 1-pentadecen (RI 1493), tridekanal (RI 1514), heptylbutyrolakton (RI 1579, na obrázcích jako 5-heptyldihydro-2(3*H*)-furanon), NI52 (RI 1571), diethylftalát (RI 1593), NI60 (RI 1623), NI64 (RI 1642), 3-fenylundekan (RI 1669, 1-ethylnonyl-benzen), NI66 (RI 1648), NI67 (RI 1652), heptadekan (RI 1700), NI71 (RI 1684), 5-fenyldodekan (RI 1734, 1-butyloktyl-benzen), NI76 (RI 1745), NI77 (RI 1761), NI86 (RI 1808), isopropyl myristát (RI 1824) a 1-hexadekanol (RI 1884).

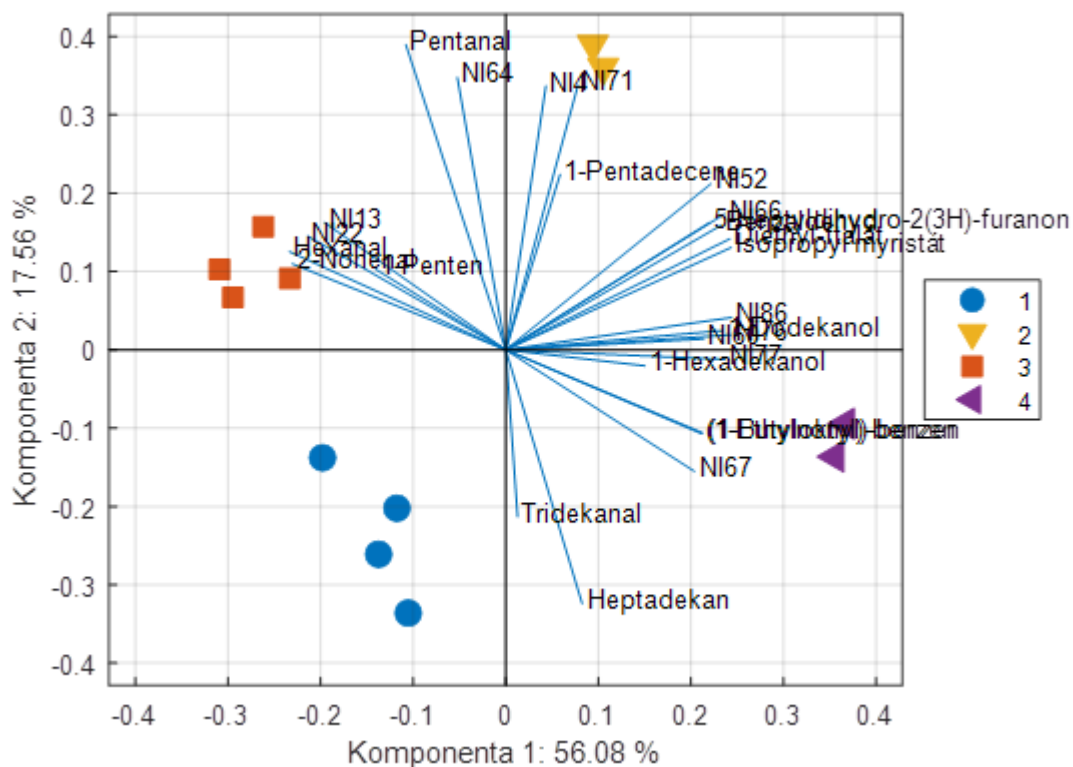
Dále byla použita metoda hlavních komponent (PCA), jejíž výsledky jsou zobrazeny na Obrázku 35. Tato metoda transformuje data do 3D nebo 2D dimenze. Pokud se ve 2D dimenzi objeví rozdílné shluky bodů, reprezentuje to rozdíl mezi různými shluky, pokud se body spíše překrývají, nebo jsou si velmi blízké, tak to znamená určitou shodu.



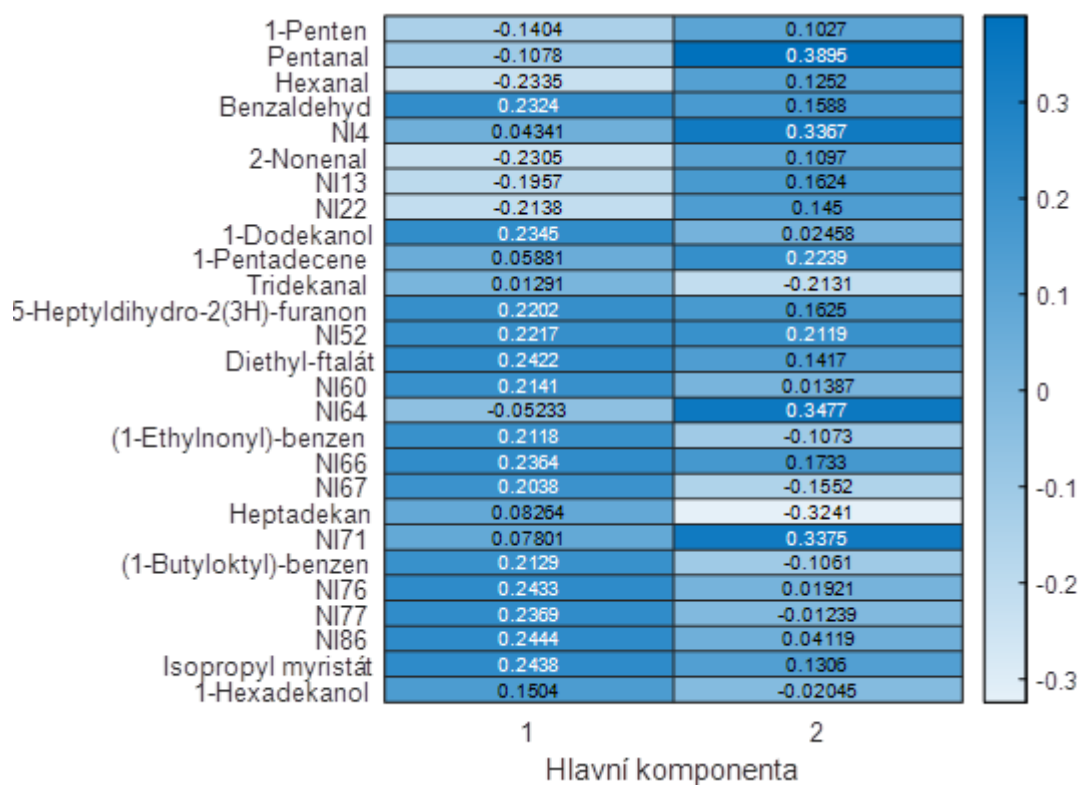
Obrázek 35: Analýza hlavních komponent

Je zde vidět, že data se výrazně separovala a uspořádala do skupin, které jsou již dříve uvedeny v Tabulce 10. To značí, že mezi jednotlivými vzorky je výrazný rozdíl v obsazích vybraných analytů (proměnných), což je také vidět na následujícím Obrázku 36, kde je zobrazen rozptylový diagram komponentních skóre. Do 2D dimenze se promítají i látky (proměnné),

kteře mají významný podíl na rozdílnosti vzorků. Souřadnice těchto proměnných jsou uvedeny na heat mapě na Obrázku 37.

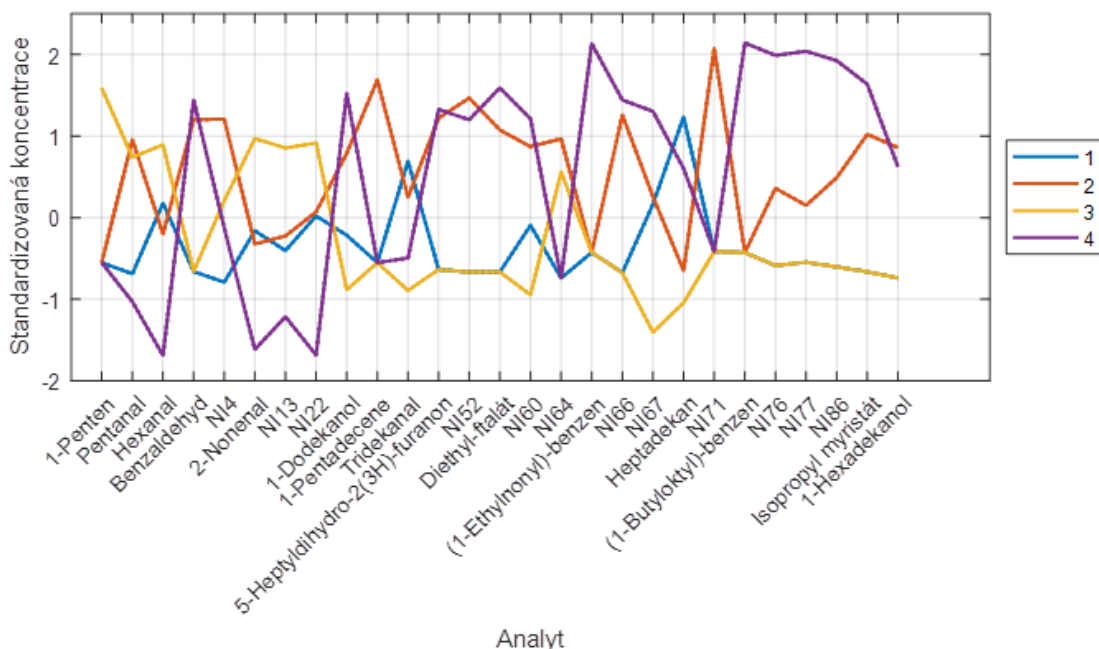


Obrázek 36: Rozptylový diagram komponentních skóre



Obrázek 37: Heat mapa komponentních vah

Diagram standardizovaných hodnot koncentrací vybraných analytů zařazených do příslušných skupin, který je na Obrázku 38, zobrazuje standardizované koncentrace analytů v každé z výše definovaných skupin vzorků.



Obrázek 38: Diagram standardizovaných hodnot koncentrací vybraných analytů zařazených do příslušných skupin

Vzhledem k tomu, že všechny poskytnuté vzorky byly pěstovány na stejném území během sezóny 2022, tak rozdíly mezi odrůdami nemohou být s největší pravděpodobností způsobené různými podmínkami během pěstování (množství vláhy, slunečního světla, nadmořská výška aj.). Současně odrůdy jiných barev semen „zapadly“ do různých skupin s odrůdami modrosemenných máků a nevytvořily rozdílnou skupinu. Zároveň domněnka, že odlišnost bude na základě obsahu morfinu v makovině (viz Tabulka 5 v experimentální části diplomové práce) také nebyla potvrzena.

Možné pojitko mezi těmito skupinami je jejich šlechtitelský původ a genetika rostlin. Skupina 4 – Azurit a MS Topas – pochází od stejného šlechtitele a mají původ na Slovensku. Velká část skupiny 3, Opex, Onyx a Redy, pochází také ze stejné šlechtitelské dílny, tentokrát v České republice. Většina skupiny 1 má nejspíše stejný genetický základ, pouze odrůda Orel má jinou historii, ale zastoupením látek se podobá zbytku skupiny – odrůdám Opal, Diamant a Zafir. Sedan, který byl zařazen do skupiny 2, je slovenská odrůda, která se složením látek blíží odrůdě Aplaus vyšlechtěné na českém území.

## ZÁVĚR

Cílem této diplomové práce bylo najít optimální podmínky pro mikroextrakci tuhou fází ve spojení s metodou GC-MS a následně i GC-FID, pro získání a následnou identifikaci co největšího množství těkavých látek z celých semen máku setého. Experimentálně byly optimalizovány tři hlavní parametry extrakce – navážka, čas a teplota extrakce. Dále byl testován vliv vakuově asistované mikroextrakce tuhou fází na extrakci těkavých látek, nebo byly provedeny extrakce ze vzorků drceného máku.

Optimalizací bylo zjištěno, že nejvhodnější je navážka 4 g celého máku s následnou extrakcí při 95 °C po dobu 90 minut bez asistence vakua. Vyšší teploty a delší časy extrakce poskytovaly větší počet detekovaných látek, ale zároveň se stoupající teplotou a časem nebylo identifikováno více látek, než při zvolených podmínkách. Extrakce za vakua neměla tak významný vliv na počet identifikovaných látek, aby byla aplikována na testované vzorky. Drcený mák měl více než o polovinu menší odezvu než celá semena máku. Důvodem nejspíše bylo uvolnění makového oleje a následně snížená ochota těkavých látek přecházet do prostoru headspace.

Po optimalizaci metody bylo analyzováno 12 vzorků různých odrůd máku setého, a to pomocí GC-MS a následně i GC-FID. Z chromatografických záznamů GC-MS byly identifikovány jednotlivé látky. Identifikace proběhla na základě vypočtených retenčních indexů dle Van den Doola a zaznamenaných hmotnostních spekter. Tímto způsobem se podařilo dohromady detekovat 221 látek a identifikovat 108 látek. Ukázalo se, že nejméně detekovaných těkavých látek obsahoval okrovosemenný mák Redy (87 látek) a největší modrosemenný mák Sedan (149 látek). Nejvíce těkavých látek se podařilo identifikovat u vzorku Azurit, a to 82.

Následná datová analýza rozřadila testované vzorky do čtyř skupin na základě 27 významných proměnných, které měly hlavní vliv na odlišnost vzorků. Příčina těchto odlišností bude nejspíše pramenit z genetického základu rostlin. Tyto odlišnosti by měly být předmětem dalšího zkoumání.

## Použitá literatura

- [1] VALÍČEK, Pavel. *Léčivé rostliny a omamné drogy*. Brno: Mendelova zemědělská a lesnická univerzita, 2003. ISBN 80-7157-725-1.
- [2] VAŠÁK, Jan. *Mák*. 1. Praha: Powerprint, 2010. ISBN 978-80-904011-8-1.
- [3] JAHODÁŘ, Luděk. *Léčivé rostliny v současné medicíně: (co Mattioli ještě nevěděl)*. Praha: Havlíček Brain Team, 2010. ISBN 978-80-87109-22-9.
- [4] BECHYNĚ, Miroslav, Timoteus KADLEC a Jan VAŠÁK. *Mák*. Praha: Agrospoj, 2001. ISBN 80-239-4237-9.
- [5] LABANCA, Fabiana, Jaroslava OVESNÁ a Luigi MILELLA. *Papaver somniferum L. taxonomy, uses and new insight in poppy alkaloid pathways*. *Phytochemistry Reviews*. 2018, **17**, 853–871.
- [6] NOVÁK, Jan a Helena NOVÁKOVÁ. *Mák jako potravina a droga: makový receptář*. Praha: Aventinum, 2018. Fotografické atlasy. ISBN 978-80-7442-101-3.
- [7] SPILKOVÁ, Jiřina. *Farmakognozie*. Vydání první. Praha: Univerzita Karlova v Praze, nakladatelství Karolinum, 2016. ISBN 978-80-246-3264-3.
- [8] JOZOVÁ, Eva, Martina STARÁ, Jiří HORÁČEK, Michaela LUDVÍKOVÁ a Vladislav ČURN. *Metodika pro genotypizaci genetických zdrojů máku setého (Papaver somniferum L.) pomocí SSR a IRAP markerů*. České Budějovice, 2020. Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích, Zemědělská fakulta.
- [9] HAVEL, Jiří. *Pěstitelská technologie máku pro snížení rizikovosti pěstování*. 1. Zubří, provozovna Opava: OSEVA vývoj a výzkum, 2018. ISBN 978-80-905808-1-7.
- [10] PRUDEK, Daniel. Detail of flowering opium poppy in Latin papaver somniferum, poppy field, white colored poppy is grown in Czech Republic. In: *Shutterstock* [online]. 2003 [cit. 2022-10-26]. Dostupné z: <https://www.shutterstock.com/cs/image-photo/detail-flowering-opium-poppy-latin-papaver-562734052>
- [11] SABOLOVÁ, Monika. *Role máku ve výživě člověka* [online]. Praha: Česká zemědělská univerzita v Praze, 2020 [cit. 2022-11-11]. Dostupné z: <http://www.vyzivaspol.cz/wp-content/uploads/2020/02/mak1.pdf>
- [12] ZEHNÁLEK, Petr a Pavel KRAUS. *Olejniny 2023: Seznam doporučených odrůd řepky olejky – ozimé 2023, Seznam doporučených odrůd lnu setého 2023, Přehledy odrůd hořčice bílé, máku setého a kmínu kořeného 2023*. 1. Brno: Tiskárny Havlíčkův Brod, a.s., 2023. ISBN 978-80-7401-222-8.
- [13] JINDROVÁ, Jana. *Léčivé rostliny*. Praha: Ottovo nakladatelství, 2010. ISBN 978-80-7360-588-9.
- [14] ZEHNÁLEK, Petr a Pavel KRAUS. *Olejniny 2022: Seznam doporučených odrůd řepky olejky – ozimé 2022, Seznam doporučených odrůd lnu setého 2022, Přehledy odrůd hořčice bílé, máku setého a kmínu kořeného 2022*. 1. Brno: Tiskárny Havlíčkův Brod, a.s., 2022. ISBN 978-80-7401-207-5.

- [15] HILL, Sue J. Close up of a Poppy Head or Poppy Seed Capsule with a blurred background in the garden. In: *Shutterstock* [online]. 2003 [cit. 2022-10-27]. Dostupné z: <https://www.shutterstock.com/cs/image-photo/close-poppy-head-seed-capsule-blurred-1184149909>
- [16] PHOTO, Yassmin. Detail of a poppy head, mature and dry in the summer. Traditional plant used in the bakery. Yellow and white points of the chamomiles in the blurry background. West Slovakia. In: *Shutterstock* [online]. 2003 [cit. 2022-11-01]. Dostupné z: <https://www.shutterstock.com/cs/image-photo/detail-poppy-head-mature-dry-summer-1800176065>
- [17] FEJÉR, Jozef. Breeding Aspects of Poppy in Slovakia. *Acta Horticulturae*. 2014, **1036**, 101–105.
- [18] BERNATH, Jenő a Ewa NEMETH. Poppy. In: VOLLMANN, Johann a Istvan RAJCAN. *Oil Crops: Handbook of Plant Breeding*. 4. New York: Springer, 2009, s. 449–468. ISBN 978-0-387-77593-7. Dostupné z: doi:[https://doi.org/10.1007/978-0-387-77594-4\\_15](https://doi.org/10.1007/978-0-387-77594-4_15)
- [19] *Český statistický úřad* [online]. Praha [cit. 2023-02-21].
- [20] PŘIBÍK, Oldřich. Česká republika je velmocí v produkci a exportu potravinářského máku. In: *Zemědělec: Odborný a stavovský týdeník* [online]. Praha: Profi Press, 2019 [cit. 2022-11-01]. Dostupné z: <https://www.zemedelec.cz/ceska-republika-je-velmoci-v-produkci-a-exportu-potravinarskeho-maku/>
- [21] ŠIMKOVÁ, Kateřina a Stanislava KOPRDOVÁ. Čeští zemědělci ročně vyexportují mák za více než miliardu. In: *I Prosperita.cz* [online]. Praha: RIX s.r.o., 2010 [cit. 2022-11-01]. Dostupné z: <https://www.iprosperita.cz/lobby-info/10356-cesti-zemedelci-rocne-vyexportuji-mak-za-vice-nez-miliardu>
- [22] *Český modrý mák* [online]. Praha: Český modrý mák, 2021 [cit. 2022-11-11]. Dostupné z: <https://ceskymodrymak.cz/cs/>
- [23] PROCHÁZKA, Petr a Luboš SMUTKA. Czech Republic as an Important Producer of Poppy Seed. *AGRIS on-line Papers in Economics and Informatics* [online]. 2012, **4**(2), 35–47 [cit. 2023-02-21]. Dostupné z: doi:10.22004/ag.econ.131361
- [24] Zákon č. 167 ze dne 15. července 1998 o návykových látkách a o změně některých dalších zákonů. In: *Sbírka zákonů České republiky*. 1998, částka 57. Dostupné také z: <https://www.zakonyprolidi.cz/cs/1998-167>
- [25] Vyhláška č. 172 ze dne 10. července 2015 o informační povinnosti příjemce potravin v místě určení. In: *Sbírka zákonů České republiky*. 2015, částka 70. Dostupné také z: <https://www.zakonyprolidi.cz/cs/2015-172>
- [26] Zákon č. 110 ze dne 19. května 1997 o potravinách a tabákových výrobcích a o změně a doplnění některých souvisejících zákonů. In: *Sbírka zákonů České republiky*. 1997, částka 38. Dostupné také z: <https://www.zakonyprolidi.cz/cs/1997-110>

- [27] Vyhláška č. 399 ze dne 9. prosince 2013, kterou se mění vyhláška Ministerstva zemědělství č. 329/1997 Sb., kterou se provádí § 18 písm. a), d), h), i), j) a k) zákona č. 110/1997 Sb., o potravinách a tabákových výrobcích a o změně a doplnění některých souvisejících zákonů, pro škrob a výrobky ze škrobu, luštěniny a olejnata semena, ve znění vyhlášky č. 418/2000 Sb. In: *Sbírka zákonů České republiky*. 2013, částka 156. Dostupné také z: <https://www.zakonyprolidi.cz/cs/2013-399>
- [28] *Nařízení Komise (EU) 2021/2142 ze dne 3. prosince 2021, kterým se mění nařízení (ES) č. 1881/2006, pokud jde o maximální limity opiových alkaloidů v některých potravinách*. In: *Úřední věstník Evropské unie*. Dostupné také z: <https://esipa.cz/sbirka/sbsrv.dll/sb?DR=SB&CP=32021R2142> .
- [29] Často kladené otázky – Technická normalizace. In: *ÚNMZ* [online]. Praha: Úřad pro technickou normalizaci, metrologii a státní zkušebnictví, 2021 [cit. 2021-05-27]. Dostupné z: <https://www.unmz.cz/caste-dotazy/casto-kladene-otazky-technicka-normalizace/>
- [30] ČSN EN ISO 21294. *Olejnata semena: Manuální nebo automatický diskontinuální odběr vzorků*. Brusel: European Committee for Standardization, 2018.
- [31] ČSN EN ISO 664. *Olejnata semena: Úprava laboratorního vzorku na analytický vzorek*. Brusel: European Committee for Standardization, 2009.
- [32] ČSN EN ISO 658. *Olejnata semena: Stanovení obsahu nečistot*. Brusel: European Committee for Standardization, 2004.
- [33] ČSN EN ISO 659. *Olejnata semena: Stanovení obsahu oleje (Referenční metoda)*. Brusel: European Committee for Standardization, 2011.
- [34] ČSN 46 2300-1. *Olejnata semena - Část 1: Společná ustanovení*. Praha: Úřad pro technickou normalizaci, metrologii a státní zkušebnictví, 2006, 8 s. 462300.
- [35] ČSN 46 1011-2. *Zkoušení obilovin, luštěnin a olejnin: Smyslové zkoušky*. Praha: Úřad pro technickou normalizaci, metrologii a státní zkušebnictví, 1988, 2 s. 461011.
- [36] ČSN 46 2300-3. *Olejnata semena - Část 3: Semeno máku*. Praha: Úřad pro technickou normalizaci, metrologii a státní zkušebnictví, 2006, 4 s. 462300.
- [37] Co jsou cechovní normy. In: *České cechovní normy* [online]. Praha: Potravinářská komora ČR, 2021 [cit. 2022-11-11]. Dostupné z: <https://www.cehovninormy.cz/jsou-cehovni-normy/>
- [38] Český modrý mák. In: *České cechovní normy* [online]. Praha: Potravinářská komora ČR, 2021 [cit. 2022-11-11]. Dostupné z: <https://www.cehovninormy.cz/norma/cesky-modry-mak/>
- [39] *EAGRI: Potraviny* [online]. Praha: Ministerstvo zemědělství, 2009 [cit. 2022-11-11]. Dostupné z: <https://eagri.cz/public/web/mze/potraviny/>
- [40] Mák setý. In: *Elita* [online]. Brno [cit. 2022-11-24]. Dostupné z: <http://www.elita.cz/mak-sety-22>

- [41] Mák. In: *Oseva UNI* [online]. Choceň [cit. 2022-12-13]. Dostupné z: <https://www.osevauni.cz/osiva/mak.php>
- [42] ZEHNÁLEK, Petr. *Nově registrované odrůdy: Mák setý*. Hradec nad Svitavou: Česká republika, Ústřední kontrolní a zkušební ústav zemědělský, 2018.
- [43] Opex. In: *Selgen* [online]. [cit. 2022-11-24]. Dostupné z: <https://selgen.cz/mak/opex/>
- [44] Orel. In: *Selgen* [online]. [cit. 2022-11-24]. Dostupné z: <https://selgen.cz/mak/orel/>
- [45] CHMELOVÁ, Daniela, Miroslav ONDREJOVIČ, Michaela HAVRLETOVA a Jan KRAIC. Evaluation of polar polyphenols with antioxidant activities in *Papaver somniferum* L. *Journal of Food and Nutrition Research*. 2018, **57**(1), 98–107.
- [46] MIKŠÍK, Vlastimil a Václav LOHR. *The Czech republic: Producer of breadseed poppy*. Praha: Ministerstvo zemědělství ČR, 2020.
- [47] MIKŠÍK, Vlastimil. Český mák - nutriční rekordman. In: KOLEKTIV AUTORŮ. *21. Makový občasník: Mák v roce 2022*. Praha: Česká zemědělská univerzita v Praze, 2022, s. 7–10.
- [48] MUSA, Özcan M. a Atalay ÇIGDEM. Determination of seed and oil properties of some poppy (*Papaver somniferum* L.) varieties. *Grasas y Aceites*. 2006, **57**(2), 169–174.
- [49] BOZAN, Berrin a Feral TEMELLI. Chemical composition and oxidative stability of flax, safflower and poppy seed and seed oils. *Bioresource Technology*, 2008, **99**(14), 6354–6359.
- [50] ERINC, Hakan, Aziz TEKIN a Mehmet ÖZCAN. Determination of fatty acid, tocopherol and phytosterol contents of the oils of various poppy (*Papaver somniferum* L.) seeds. *Grasas y Aceites*. 2009, **60**(4), 375–381. ISSN 0017-3495.
- [51] *MedChemExpress* [online]. New Jersey, 2013 [cit. 2022-12-17]. Dostupné z: [https://www.medchemexpress.com/mce\\_contactUs.shtml](https://www.medchemexpress.com/mce_contactUs.shtml)
- [52] MELO, Diana, Manuel ÁLVAREZ-ORTÍ, Maria NUNES, Liliana ESPÍRITO SANTO, Susana MACHADO, José PARDO a Maria OLIVEIRA. Nutritional and Chemical Characterization of Poppy Seeds, Cold-Pressed Oil, and Cake: Poppy Cake as a High-Fibre and High-Protein Ingredient for Novel Food Production. *Foods*. 2022, **11**(193027).
- [53] Hodnocení dusíkatých látek pro nepřežvýkavá zvířata. In: *Hodnocení výživové hodnoty krmiv* [online]. Brno: Mendlova Univerzita v Brně, 2011 [cit. 2022-12-15]. Dostupné z: [https://web2.mendelu.cz/af\\_222\\_multitext/cvicebnice/page.php?sekce=13&page=19](https://web2.mendelu.cz/af_222_multitext/cvicebnice/page.php?sekce=13&page=19)
- [54] KUNOVÁ, Václava. *Zdravá výživa*. 2. přeprac. vyd. Praha: Grada Publishing, 2011. ISBN 978-80-247-3433-0.
- [55] GAASBEEK, André a A. MEINDERS. Hypophosphatemia: An update on its etiology and treatment. *The American Journal of Medicine*. 2005, **118**(10), 1094–1101.
- [56] JE, Feng a Graham MACGREGOR. Fortnightly review: Beneficial effects of potassium. *BMJ*. 2001, **323**(7311), 497–501.



- [57] ABBASPOUR, Nazanin, Richard HURRELL a Roya KELISHADI. Review on iron and its importance for human health. *Journal of Research in Medical Sciences*. 2014, **19**(2), 164–174.
- [58] *Centrum pro databázi složení potravin: Databáze složení potravin ČR, verze 8.20* [online]. Praha: Ústavu zemědělské ekonomiky a informací, 2020 [cit. 2021-04-13]. Dostupné z: <http://www.nutridatabaze.cz/>
- [59] FAJFROVÁ, Jana. Vitaminy a jejich funkce v organismu. *Interní Medicína*. 2011, **13**(12), 466–468.
- [60] PLUTOWSKA, Beata a Waldemar WARDENCKI. Aromagrams – Aromatic profiles in the appreciation of food quality. *Food Chemistry*. 2007, **101**(2), 845–872.
- [61] MOHD ALI, Maimunah, Norhashila HASHIM, Samsuzana ABD AZIZ a Ola LASEKAN. Principles and recent advances in electronic nose for quality inspection of agricultural and food products. *Trends in Food Science & Technology*. 2020, **99**, 1–10.
- [62] DIEZ-SIMON, Carmen, Brenda AMMERLAAN, Marco VAN DEN BERG, John VAN DUYNHOVEN, Doris JACOBS, Roland MUMM a Robert HALL. Comparison of volatile trapping techniques for the comprehensive analysis of food flavourings by Gas Chromatography-Mass Spectrometry. *Journal of Chromatography A*. 2020, **1624**, 461191.
- [63] BELITZ, Hans-Dieter, Werner GROSCHE a Peter SCHIEBERLE. Aroma Compounds. In: *Food Chemistry*. 4. Berlin: Springer Science & Business Media, 2009, s. 340–400. ISBN 978-3-540-69933-0.
- [64] VELÍŠEK, Jan a Jana HAJŠLOVÁ. *Chemie potravin II*. 3. Havlíčkův Brod: OSSIS, 2009. ISBN 978-80-86659-16-9.
- [65] LUBES, Giuseppe a Mohammad GOODARZI. Analysis of Volatile Compounds by Advanced Analytical Techniques and Multivariate Chemometrics. *Chemical Reviews*. 2017, **117**(9), 6399–6422.
- [66] ABREU, Teresa, Rosa PERESTRELO, Matteo BORDIGA, Monica LOCATELLI, Jean COISSON a José CÂMARA. The Flavor Chemistry of Fortified Wines – A Comprehensive Approach. *Foods*. 2021, **10**(6), 1239.
- [67] BINIECKA, Małgorzata a Sergio CAROLI. Analytical methods for the quantification of volatile aromatic compounds. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*. 2011, **30**(11), 1756–1770.
- [68] DE ROOS, Kris B. Effect of texture and microstructure on flavour retention and release. *International Dairy Journal*. 2003, **13**(8), 593–605.
- [69] ČÁSLAVSKÝ, Josef a Jiří ŠEVČÍK. *Organická analýza*. 1. vydání. Český Těšín: 2 THETA, 2022. ISBN 978-80-88279-17-4.

- [70] CASTRO, Remedios, Ramón NATERA, Enrique DURÁN a Carmelo GARCÍA-BARROSO. Application of solid phase extraction techniques to analyse volatile compounds in wines and other enological products. *European Food Research and Technology*. 2008, **228**, 1–18.
- [71] SHELLIE, R. A., Gas Chromatography. In: SIEGEL, Jay A. a Pekka J. SAUKKO. *Encyclopedia of Forensic Sciences*. 2. Academic Press, 2013, s. 579–585. ISBN 9780123821669.
- [72] HEREDIA, F., M. GONZÁLEZ-MIRET, A. MELÉNDEZ-MARTÍNEZ a I. VICARIO. Instrumental assessment of the sensory quality of juices. In: *Instrumental Assessment of Food Sensory Quality*. 2013, 565–610e.
- [73] PSILLAKIS, Elefteria. Vacuum-assisted headspace solid-phase microextraction: A tutorial review. *Analytica Chimica Acta*. 2017, **986**, 12–24.
- [74] TRUJILLO-RODRÍGUEZ, María, Verónica PINO, Elefteria PSILLAKIS, Jared ANDERSON, Juan AYALA, Evangelia YIANTZI a Ana AFONSO. Vacuum-assisted headspace-solid phase microextraction for determining volatile free fatty acids and phenols. Investigations on the effect of pressure on competitive adsorption phenomena in a multicomponent system. *Analytica Chimica Acta*. 2017, **962**, 41–51.
- [75] JALILI, Vahid, Abdullah BARKHORDARI a Alireza GHIASVAND. A comprehensive look at solid-phase microextraction technique: A review of reviews. *Microchemical Journal*. 2020, **152**.
- [76] BORDEN, Scott, Jan PALATY, Veronica TERMOPOLI, Giorgio FAMIGLINI, Achille CAPIELLO, Chris GILL a Pierangela PALMA. Mass spectrometry analysis of drugs of abuse: Challenges and emerging strategies. *Mass Spectrometry Reviews*. 2020, **39**(2), 703–744.
- [77] KATAOKA, Hiroyuki, Heather LORD a Janusz PAWLISZYN. Applications of solid-phase microextraction in food analysis. *Journal of Chromatography A*. 2000, **880**(1–2), 35–62. ISSN 0021-9673.
- [78] PSILLAKIS, Elefteria, Evangelia YIANTZI, Lucia SANCHEZ-PRADO a Nicolas KALOGERAKIS. Vacuum-assisted headspace solid phase microextraction: Improved extraction of semivolatiles by non-equilibrium headspace sampling under reduced pressure conditions. *Analytica Chimica Acta*. 2012, **742**, 30–36.
- [79] MASCREZ, Steven, Elefteria PSILLAKIS a Giorgia PURCARO. Vacuum Assisted Headspace Solid-phase Microextraction: A Powerful Tool for Olive Oil Analysis. *Chromatography today*. 2020, 4–8.
- [80] SPME. In: *HPST: a member of Altium Group* [online]. Olomouc, 2023 [cit. 2023-03-07]. Dostupné z: <https://www.labicom.cz/produkty/spotrebni-material/priprava-vzorku-prislusenstvi/spme>
- [81] PROCHÁZKOVÁ, Dana. Mikroextrakce na tuhou fázi a stanovení obsahu analytů. *Chemické listy*. 2002, **96**, 827–852.

- [82] MERKLE, Sybille, Kim KLEEBERG a Jan FRITSCHÉ. Recent Developments and Applications of Solid Phase Microextraction (SPME) in Food and Environmental Analysis—A Review. *Chromatography*. 2015, **2**(3), 293–381.
- [83] UETA, Ikuo. Gas chromatographic determination of volatile compounds. *Analytical Sciences*. 2022, **38**, 737–738.
- [84] OLIVER-POZO, Celia, Ramón APARICIO-RUIZ, Inmaculada ROMERO a Diego GARCÍA-GONZÁLEZ. Analysis of Volatile Markers for Virgin Olive Oil Aroma Defects by SPME-GC/FID: Possible Sources of Incorrect Data. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 2015, **63**(48), 10477–10483.
- [85] SONG, Shiqing, Haining ZHUANG a Lingyun YAO, Tao FENG, Min SUN. Gas chromatography for food quality evaluation. In: ZHONG, Jian a Xichang WANG. *Evaluation Technologies for Food Quality*. 1. Elsevier, s. 219–265. ISBN 9780128142172.
- [86] DUGO, P. a L. MONDELLO. Sampling and Sample Preparation Techniques for the Determination of the Volatile Components of Milk and Dairy Products. In: PAWLISZYN, Janusz. *Comprehensive Sampling and Sample Preparation: Analytical Techniques for Scientists*. 4. Waterloo: Academic Press, 2012, s. 43–59. ISBN 978-0-12-381374-9.
- [87] EL-TOUMY, S. a A. HUSSEIN. Cold pressed yuzu (*Citrus junos* Sieb. ex Tanaka) oil. In: RAMADAN, Mohamed. *Cold Pressed Oils*. 1. Academic Press, 2020, s. 711–718.
- [88] CAPUZZO, Andrea, Massimo MAFFEI a Andrea OCCHIPINTI. Supercritical Fluid Extraction of Plant Flavors and Fragrances. *Molecules*. 2013, **18**(6), 7194–7238.
- [89] TAN, Juzhong a Jie XU. Applications of electronic nose (e-nose) and electronic tongue (e-tongue) in food quality-related properties determination: A review. *Artificial Intelligence in Agriculture*. 2020, **4**, 104–115.
- [90] ARAKAWA, Takahiro, Kenta IITANI, Koji TOMA a Kohji MITSUBAYASHI. Biosensors: Gas Sensors. *Encyclopedia of Sensors and Biosensors*. 2023, **1**, 478–504.
- [91] SKOOG, Douglas, F. HOLLER a Stanley CROUCH. *Principles of instrumental analysis*. Seventh edition. Boston: Cengage Learning, 2018. ISBN 978-1-305-57721-3.
- [92] FORGÁCS, E. a T. CSERHÁTI. Gas chromatography. In: LEES, Michèle. *Food Authenticity and Traceability*. 1. Elsevier, 2003, s. 197–217. ISBN 9781855735262.
- [93] AL-BUKHAITI, Wedad, Anwar NOMAN, Aseela QASIM a Ammar AL-FARGA. Gas Chromatography: Principles, Advantages and Applications in Food Analysis. *International Journal of Agriculture Innovations and Research*. 2017, **6**(1), 123–128.
- [94] ZHANG, J., A. FANG, B. WANG, S. KIM, B. BOGDANOV, Z. ZHOU a X. ZHANG. IMatch: A retention index tool for analysis of gas chromatography–mass spectrometry data. *Journal of Chromatography A*. 2011, **1218**(37), 6522–6530.

- [95] DEWULF, Jo, Herman VAN LANGENHOVE a Gyula WITTMANN. Analysis of volatile organic compounds using gas chromatography. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*. 2002, **21**(9–10), 637–646.
- [96] HOCART, Charles H. Mass Spectrometry: An Essential Tool for Trace Identification and Quantification. In: LIU, Hung-Wen a Lew MANDER. *Comprehensive Natural Products II*. 1. Elsevier, 2010, s. 327–388. ISBN 9780080453828.
- [97] SMITH, R. Waddell. Mass Spectrometry. In: SIEGEL, Jay, Pekka SAUKKO a Max HOUCK. *Encyclopedia of Forensic Sciences*. 2. Academic Press, 2013, s. 603–608. ISBN 9780123821669.
- [98] AMORESANO, Angela a Piero PUCCI. Mass spectrometry in metabolomics. In: TROISI, Jacopo. *Metabolomics Perspectives*. 1.: Academic Press, 2022, s. 109–147. ISBN 9780323850629.
- [99] FRIEDECKÝ, D. a K. LEMR. Úvod do hmotnostní spektrometrie. *Klinická biochemie a metabolismus*. 2012, **20**(41), 152–157.
- [100] ZELLNER, Barbara, Paola DUGO, Giovanni DUGO a Luigi MONDELLO. Gas chromatography–olfactometry in food flavour analysis. *Journal of Chromatography A*. 2008, **1186**(1–2), 123–143.
- [101] Gas Chromatography Olfactometry. In: *Odour Observatory* [online]. 2018 [cit. 2023-03-29]. Dostupné z: <https://odourobservatory.org/measuring-odour/gas-chromatography-olfactometry/>
- [102] KOPUNCOVÁ, Mária, Jana SÁDECKÁ, Jaroslav BLAŠKO, Michaela HAVRENTOVÁ a Emil KOLEK. Key odour-active compounds in selected Slovakian poppy seed (*Papaver somniferum* L.) varieties revealed by gas chromatography-olfactometry. *Journal of Food and Nutrition Research*. 2016, **55**(3), 237–246. ISSN 1336-8672.
- [103] KRIST, Sabine, Gerald STUEBIGER, Heidrun UNTERWEGERR, Franz BANDION a Gerhard BUCHBAUE. Analysis of Volatile Compounds and Triglycerides of Seed Oils Extracted from Different Poppy Varieties (*Papaver somniferum* L.). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 2005, **53**(21), 8310–8316.
- [104] GACA, Anna, Eliška KLUDSKÁ, Jaromír HRADECKÝ, Jana HAJŠLOVÁ a Henryk JELEŇ. Changes in Volatile Compound Profiles in Cold-Pressed Oils Obtained from Various Seeds during Accelerated Storage. *Molecules*. 2021, **26**(2), 285.
- [105] GUO, Jian, Dongqian KONG a Hu LIANDONG. Comparative Analysis of Volatile Flavor Compounds of Poppy Seed Oil Extracted by Two Different Methods via Gas Chromatography/Mass Spectrometry. *Journal of PharmaSciTech*. 2015, **4**(2), 36–38.
- [106] LUHMER, Katharina, Nadine SCHULZE-KAYSERS, Michelle FEUEREISEN et al. Fatty Acid Composition, Tocopherols, Volatile Compounds, and Sensory Evaluation of Low Morphine Yielding Varieties of Poppy (*Papaver somniferum* L.) Seeds and Oils. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 2021, **69**(11), 3439–3451.

- [107] EMIR, D.D., O. GÜNEŞERA a E. YILMAZ. Cold Pressed Poppy seed Oils: Sensory Properties, Aromatic Profiles and Consumer Preferences. *Grasas Aceites*. 2014, **65**(3).
- [108] KRIST, Sabine, Gerald STUEBIGER, Stefanie BAIL a Heidrun UNTERWEGER. Detection of Adulteration of Poppy Seed Oil with Sunflower Oil Based on Volatiles and Triacylglycerol Composition. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 2006, **54**(17), 6385–6389.
- [109] MARTÍNKOVÁ, Michaela. Optimalizace metody HS-SPME pro analýzu těkavých látek v semenech máku setého. In: ADAM, Martin, ed. *Studentská vědecká odborná činnost 2021/2022*. Pardubice: Univerzita Pardubice, 2022, s. 109-114. ISBN 978-80-7560-434-7.
- [110] VAN DEN DOOL, H. a P. D. KRATZ. A generalization of the retention index system including linear temperature programmed gas-liquid partition chromatography. *Journal of Chromatography A*. 1963, **11**, 463–471.

## **Přílohy**

Příloha I: Příloha č. 9 k vyhlášce č. 329/1997 Sb. – Fyzikální a chemické požadavky na jakost olejnatých semen

Příloha II: Seznam detekovaných a identifikovaných látek pomocí GC-MS v jednotlivých vzorcích a jejich relativní zastoupení ve vzorcích

Příloha III: Seznamy detekovaných látek u jednotlivých vzorků pomocí GC-FID

Příloha IV: Chromatografické záznamy jednotlivých vzorků z GC-MS a GC-FID

**Příloha I: Příloha č. 9 k vyhlášce č. 329/1997 Sb. – Fyzikální a chemické požadavky na jakost olejnatých semen**

Tabulka I/1: Semeno máku setého (*Papaver somniferum* L.) semenného, olejného typu [27]

Barva semene	Modrá		Nejvýše 0,2 % hmotnosti máku bílého
	Bílá nebo směs barev		Nad 0,2 % hmotnosti máku bílého
Vlhkost	Jakost		Nejvýše 8,0 % hmotnosti
	jakost		Nejvýše 10,0 % hmotnosti
Semena nevybarvená tmavá až černá			Nejvýše 5,0 % hmotnosti
Příměsi a nečistoty celkem			Nejvýše 8,0 % hmotnosti
Z toho:			
a)	Semena nevyzrálá rezavé barvy		Nejvýše 5,0 % hmotnosti
b)	Poškozená semena		Nejvýše 3,0 % hmotnosti
c)	nečistoty	Celkem 1. jakost	Nejvýše 0,2 % hmotnosti
		Celkem 2. jakost	Nejvýše 1,0 % hmotnosti
d)	Semena bínu černého ( <i>Hyoscyamus niger</i> L.)		Nejvýše 0,00 % hmotnosti
e)	Semena laskavce a merlíku		Nejvýše 0,2 % hmotnosti
f)	Anorganické nečistoty		Nejvýše 0,0 % hmotnosti
g)	Obsah kadmia		Nejvýše 0,8 mg/kg
h)	Obsah arsenu		Nejvýše 0,1 mg/kg
i)	Obsah rtuti		Nejvýše 0,012 mg/kg
j)	Obsah olova		Nejvýše 1,0 mg/kg
k)	Obsah morfinových alkaloidů		Nejvýše 25 mg/kg

## Příloha II: Seznam detekovaných a identifikovaných látek pomocí GC-MS a jednotlivých vzorcích a jejich relativní zastoupení ve vzorcích

Tabulka II/1: Seznam detekovaných a identifikovaných látek pomocí GC-MS a jednotlivých vzorcích a jejich relativní zastoupení ve vzorcích

Pořadí	Detekovaná látka	RI <sup>a</sup>	RI <sup>b</sup>	CAS	Aplaus	Azurit	MS Topas	Sedan	Opex	Onyx	Harle-kyn	Dia-mant	Zafir	Opal	Orel	Redy
1	Acetaldehyd	435!	418	75-07-0	0,15	ND	ND	ND	ND	ND	0,18	0,23	ND	ND	ND	ND
2	Ethanol	468!	444	64-17-5	0,16	0,14	ND	0,14	ND	0,24	0,19	0,20	0,21	ND	ND	0,26
3	Aceton	485!	481	67-64-1	ND	0,24	ND	0,30*	0,36*	0,45*	ND	ND	ND	0,28*	0,33	0,38
4	Pentan	558	500	109-66-0	0,30	ND	0,14	ND	ND	ND	0,34	0,34*	0,42*	0,48*	ND	ND
5	NI1	530			ND	ND	ND	ND	0,23	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
6	1-Penten	554	487	109-67-1	ND	ND	ND	ND	0,17*	0,16*	ND	ND	ND	ND	ND	0,15
7	Kyselina octová	572	600	64-19-7	0,28	0,17	0,21	ND	0,13	0,35	0,22	0,20	0,24	0,80	0,30	0,71
8	Butanal	591	593	123-72-8	0,17	0,13	0,17	0,18	0,79	0,16	0,17	0,18	ND	ND	ND	ND
9	NI2	660			ND	ND	0,12	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
10	NI3	665			ND	ND	0,19	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
11	Pentanal	698	698	110-62-3	1,17	0,82	0,89	1,18	1,04	1,10	1,18	0,94	0,88	0,98	0,79	1,28
12	1-Pentanol	766	764	71-41-0	0,83	0,50	0,90	1,03	0,64	0,66	0,99	0,69	0,69	0,69	0,43	1,20
13	Hexanal	804	802	66-25-1	8,26	6,25	6,64	8,49	8,83	9,88	9,70	8,78	8,95	9,18	7,81	10,83
14	(E)-2-Hexenal	856	856	6728-26-3	0,12	ND	0,13	0,12	ND	ND	0,12	ND	ND	ND	ND	ND
15	1-Hexanol	871	865	111-27-3	0,34	0,34	0,46	0,53	0,50	0,60	0,76	0,71	0,85	0,92	1,21	1,40
16	Kyselina valerová	883	879	109-52-4	0,22	0,12	ND	0,20	ND	ND	0,23	0,17	ND	ND	ND	0,39
17	2-Heptanon	892	893	110-43-0	0,30*	0,24*	0,27*	0,29	0,31	0,34	0,35*	0,38	0,39*	0,36*	0,33	0,38
18	Heptanal	905	896	111-71-7	0,37	0,26	0,29	0,35	0,35	0,41	0,38	0,34	0,32	0,36	0,28	0,34
19	(E)-2-Heptenal	960	957	18829-55-5	1,60	0,92	1,55	1,47	1,49	1,65	1,53	1,17	1,21	1,35	0,81	1,29
20	Benzaldehyd	968	966	100-52-7	0,12	0,16	0,10	0,11	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
21	1-Heptanol	974	975	111-70-6	0,25	0,15	0,25	0,31	0,24	0,25	0,30	0,25	0,25	0,24	ND	0,22
22	1-Okten-3-on	980	980	4312-99-6	0,22	0,16	0,16	0,23	0,23	0,32	0,22	0,23	0,26	0,24	0,34	0,33
23	1-Okten-3-ol	983	983	3391-86-4	1,57	1,12	1,71	1,48	1,70	1,92	1,68	1,61	1,75	1,77	1,62	1,67
24	NI4	986			1,07	0,75	ND	1,07	1,28	1,56	1,04	1,30	1,21	1,13	1,50	1,76



Tabulka II/1: Seznam detekovaných a identifikovaných látek pomocí GC-MS a jednotlivých vzorcích a jejich relativní zastoupení ve vzorcích (pokračování)

Pořadí	Detekovaná látka	RI <sup>a</sup>	RI <sup>b</sup>	CAS	Aplaus	Azurit	MS Topas	Sedan	Opex	Onyx	Harle- kyn	Dia- mant	Zafir	Opal	Orel	Redy
25	Kyselina kapronová	989	986	142-62-1	ND	ND	0,54	ND	ND	ND	ND	ND	1,41	ND	2,03	ND
26	2-Pentylfuran	992	993	3777-69-3	6,58	4,90	3,11	5,77	7,79	7,07	8,49	6,81	4,93	8,73	3,81	8,71
27	Oktanal	1006	1007	124-13-0	0,60	0,44	0,49	0,60	0,65	0,71	0,64	0,59	0,55	0,62	0,44	0,50
28	2-Ethyl-1-hexanol	1032	1028	104-76-7	0,19	0,26	0,33	0,42	0,22	0,23	0,14	0,57	0,34	0,43	ND	ND
29	3-Ethyl-2-methyl-1,3-hexadien	1036	1030	61142-36-7	0,66	0,49	0,80	0,62	0,67	0,75	0,67	0,65	0,69	0,70	0,51	0,50
30	Okt-3-en-2-on	1042	1034	1669-44-9	0,58	0,40	0,38	0,57	0,58	0,65	0,63	0,55	0,62	0,65	0,56	0,57
31	NI5	1050			0,13	ND	0,08	0,11	0,13	ND	0,12	ND	ND	ND	ND	ND
32	$\gamma$ -Kaprolakton	1058	1043	695-06-7	0,16	0,12	0,14	0,20	0,14	ND	0,19	0,15	ND	0,17	ND	0,28
33	(E)-2-Oktenal	1062	1063	2548-87-0	3,35	2,01	2,83	3,05	3,44	3,83	3,58	2,86	2,99	3,25	1,79	2,25
34	NI6	1064			ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	0,33	0,55
35	1-Oktenol	1074	1074	111-87-5	0,62	0,39	0,62	0,71	0,55	0,64	0,69	0,81	0,80	0,72	0,47	0,46
36	Kyselina heptanová	1078	1078	111-14-8	0,24	0,24	ND	0,13	0,38	0,32	0,27	ND	ND	0,22	0,22	0,43
37	NI7	1093			ND	ND	0,1	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
38	NI8	1097			1,21	0,71	0,39	0,95	1,21	1,46	1,18	0,9	0,84	1,11	0,58	0,94
39	NI9	1102			ND	ND	0,18	ND	ND	ND	ND	0,13	0,19	0,24	ND	ND
40	Nonanal	1107	1104	124-19-6	1,38	0,94	1,14	1,36	1,54	1,75	1,51	1,40	1,40	1,45	1,00	1,06
41	$\beta$ -Thujon	1113	1112	471-15-8	0,13	0,11	0,12	0,12	ND	ND	0,13	ND	0,25	0,25	ND	ND
42	Non-3-en-2-on	1142	1144	14309-57-0	0,10	ND	0,10	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
43	NI10	1146			ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	0,19
44	NI11	1150			0,12	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
45	(E)-2-Nonenal	1164	1164	18829-56-6	0,36	0,27	0,27	0,34	0,43	0,48	0,43	0,35	0,36	0,40	0,36	0,39
46	Kyselina kaprylová	1174	1176	124-07-2	0,57	0,61	ND	0,37	0,90	0,85	0,59	0,36	0,29	0,66	1,01	0,96
47	1-Nonanol	1175	1175	143-08-8	ND	ND	0,14	ND	ND	ND	ND	0,14	0,17	ND	ND	ND

Tabulka II/1: Seznam detekovaných a identifikovaných látek pomocí GC-MS a jednotlivých vzorcích a jejich relativní zastoupení ve vzorcích (pokračování)

Pořadí	Detekovaná látka	RI <sup>a</sup>	RI <sup>b</sup>	CAS	Aplaus	Azurit	MS Topas	Sedan	Opex	Onyx	Harle- kyn	Dia- mant	Zafir	Opal	Orel	Redy
48	Levomenthol	1185	1178	2216-51-5	0,19	0,23	0,20	0,22*	ND	ND	0,20*	0,25	0,32	0,29	ND	ND
49	NI12	1194			0,12	ND	0,13	0,11	0,18	ND	0,20	0,15	0,24	0,24	ND	ND
50	2,4-Nonadienal	1199	1199	6750-03-4	0,19	ND	0,20	0,19	0,24	0,23	0,29	0,22	0,24	0,27	ND	0,22
51	$\alpha$ -Terpineol	1202	1192	10482-56-1	0,23	0,48	0,24	0,25	ND	0,17	0,18	ND	0,20	0,70	0,47	ND
52	Dekanal	1208	1208	112-31-2	ND	ND	0,15	ND	ND	ND	ND	0,48	ND	ND	ND	ND
53	NI13	1210			0,58	0,61	0,16	0,47	0,73	0,83	0,60	ND	0,47	0,62	0,86	1,00
54	( <i>E,E</i> )-2,4-Nonadienal	1221	1216	5910-87-2	1,77	1,28	1,61	1,78	1,80	2,10	2,05	1,94	2,20	1,93	1,52	1,73
55	NI14	1242			0,26	0,20	0,19	0,24	0,27	0,30	0,32	0,23	0,22	0,28	0,25	0,39
56	NI15	1250			2,22	1,44	1,25	2,40	2,26	2,57	2,90	2,36	2,11	2,05	1,02	2,11
57	NI16	1258			ND	ND	ND	0,12	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
58	NI17	1262			ND	ND	ND	0,07	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
59	( <i>E</i> )-2-Decenal	1266	1264	3913-81-3	1,52	0,90	1,77	1,78	1,53	1,77	1,72	1,48	1,40	1,34	0,74	1,09
60	NI18	1269			0,44	0,37	ND	0,60	ND	0,57	0,82	0,51	0,37	0,88	0,82	1,22
61	Kyselina nonanová	1271	1272	112-05-0	0,32	0,56	ND	ND	1,27	0,65	ND	ND	ND	ND	0,47	ND
62	NI19	1273			0,34	0,21	0,42	0,46	0,35	0,44	0,45	0,45	0,51	0,44	0,40	0,37
63	1-Dekanol	1275	1272	112-30-1	ND	ND	0,09	0,11	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
64	NI20	1284			0,32	0,23	0,26	0,37	0,28	0,31	0,38	0,37	0,37	0,32	0,23	0,29
65	Pentylester kyseliny kapronové	1288	1287	540-07-8	0,12	ND	0,09	0,13	ND	ND	0,11	0,10	ND	ND	ND	ND
66	NI21	1295			0,19	0,12	0,28	0,15	ND	ND	0,15	0,25	0,29	0,22	ND	ND
67	( <i>E,Z</i> )-2,4-Dekadienal	1299	1295	25152-83-4	0,35	0,29	0,52	0,40	0,39	0,42	0,42	0,44	0,45	0,44	0,40	0,51
68	Undekanal	1310	1310	112-44-7	0,14	0,10	0,11	0,20	ND	ND	0,16	0,16	ND	ND	ND	ND
69	NI22	1321			0,09	0,08	ND	ND	ND	ND	ND	ND	0,10	ND	0,14	ND

Tabulka II/1: Seznam detekovaných a identifikovaných látek pomocí GC-MS a jednotlivých vzorcích a jejich relativní zastoupení ve vzorcích (pokračování)

Pořadí	Detekovaná látka	RI <sup>a</sup>	RI <sup>b</sup>	CAS	Aplaus	Azurit	MS Topas	Sedan	Opex	Onyx	Harle- kyn	Dia- mant	Zafir	Opal	Orel	Redy
70	( <i>E,E</i> )-2,4-De- kadienal	1324	1325	25152-84-5	2,77	2,53	3,93	2,40	3,43	3,92	3,16	3,14	3,50	3,76	4,16	3,87
71	NI23	1347			4,99	3,68	2,67	4,87	5,28	5,89	5,66	4,33	4,06	5,46	5,43	6,00
72	NI24	1351			0,61	0,46	0,56	0,60	0,70	0,85	0,75	0,70	0,69	0,72	0,67	0,63
73	NI25	1358			1,50	0,90	1,02	1,94	1,40	1,64	2,18	1,90	1,62	1,30	0,65	1,41
74	NI26	1363			0,52	0,33	0,47	0,44	0,42	0,50	0,46	0,37	0,33	0,45	0,23	0,32
75	$\gamma$ -Amylbutyrolak- ton	1367	1366	104-61-0	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	3,10	ND
76	2-Undecenal	1368	1368	2463-77-6	2,81	2,07	2,51	3,19	3,21	3,65	3,51	3,2	3,06	3,12	ND	3,35
77	6-Dodekanon	1372	1355	6064-27-3	0,29	0,20	0,36	0,35	0,27	0,33	0,36	0,42	0,43	0,35	0,42	0,31
78	2-Butyl-2-oktenal	1375	1378	13019-16-4	0,34	0,42	0,53	0,48	0,37	0,52	0,56	0,89	1,18	0,61	0,94	0,47
79	<i>trans</i> -4,5-Epoxy- ( <i>E</i> )-2-Decenal	1379	1378	134454-31-2	1,52	0,99	1,63	1,66	1,30	1,57	1,68	1,36	1,21	1,36	0,84	1,08
80	NI 27	1385			5,02	3,26	5,13	5,56	4,50	5,52	5,81	4,63	4,29	4,53	2,50	3,92
81	Tetradekan	1400	1400	629-59-4	0,09	0,09	0,10	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
82	NI28	1404			0,23	ND	0,21	0,18	ND	ND	0,21	0,31	0,34	ND	ND	ND
83	NI29	1405			ND	0,22	ND	ND	0,23	0,25	ND	ND	ND	0,28	0,31	ND
84	Dodekanal	1412	1411	112-54-9	0,20*	0,20*	0,20*	0,15	0,18	0,16	0,15	0,19	0,19	0,17	0,26	ND
85	NI30	1419			ND	ND	ND I	0,22	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
86	NI31	1423			0,09	ND	0,17	0,13	ND	ND	0,15	0,15	0,16	ND	ND	ND
87	NI32	1427			0,13	0,15	ND	0,10	0,24	0,21	0,17	ND	ND	ND	0,24	0,36
88	<i>trans</i> -Geranyla- ceton	1452	1452	3796-70-1	0,26*	0,29	0,36	0,31*	0,36*	0,28*	0,29*	0,33*	0,28*	0,29*	0,46*	0,31*
89	NI33	1458			0,12	0,13	ND	0,18	0,14	0,17	0,13	0,12	0,15	0,17	0,34	0,26
90	NI34	1466			0,40	0,38	0,43	0,47	0,30	0,29	0,33	0,32	0,38	0,29	0,49	0,23
91	NI35	1470			ND	ND	0,08	ND	ND	ND	ND	0,13	0,17	ND	ND	ND
92	NI36	1471			ND	ND	ND	0,21	ND	ND	0,15	ND	ND	ND	0,28	ND

Tabulka II/1: Seznam detekovaných a identifikovaných látek pomocí GC-MS a jednotlivých vzorcích a jejich relativní zastoupení ve vzorcích (pokračování)

Pořadí	Detekovaná látka	RI <sup>a</sup>	RI <sup>b</sup>	CAS	Aplaus	Azurit	MS Topas	Sedan	Opex	Onyx	Harle- kyn	Dia- mant	Zafir	Opal	Orel	Redy
93	NI37	1472			0,56	0,45	0,27	0,55	0,49	0,63	0,63	0,62	0,70	0,62	0,63	0,70
94	NI38	1475			0,10	0,06	ND	0,18	ND	ND	0,12	ND	ND	ND	ND	ND
95	1-Dodekanol	1477	1473	112-53-8	0,36	0,38	0,7	0,39	ND	ND	ND	0,12	ND	0,18	0,25	ND
96	Kyselina 9-oxo- nonanová	1481	1483	2553-17-5	0,11*	0,20	ND	0,15	0,33	0,14	0,19	ND	ND	ND	0,30	0,38
97	NI39	1487			ND	ND	0,11	0,11	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
98	1-Pentadecen	1493	1493	13360-61-7	0,11	ND	ND	0,12	ND	ND	ND	0,11	ND	ND	ND	ND
99	NI40	1498			ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	0,27	ND
100	Pentadekan	1500	1500	629-62-9	0,36	0,33	0,39	0,28	0,37	0,33	0,28	0,31	0,32	0,43	0,50	ND
101	NI41	1506			0,41	0,44	0,43	0,39	0,30	0,15	0,28	0,50	0,40	0,27	0,69	ND
102	NI42	1507			ND	ND	ND	ND	ND	0,15	ND	ND	ND	ND	ND	0,54
103	Tridekanal	1514	1512	10486-19-8	0,12	0,08	ND	0,11	ND	ND	ND	0,12	0,13	0,19	0,33	ND
104	NI43	1522			0,25	0,21	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
105	NI44	1522			ND	ND	0,28	0,32	ND	ND	ND	0,27	0,34	0,31	0,30	ND
106	NI45	1523			ND	ND	ND	ND	ND	ND	0,22	ND	ND	ND	ND	ND
107	NI46	1533			ND	ND	ND	0,21	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
108	NI47	1536			ND	0,25	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
109	4,4,7a-Trimethyl- 5,6,7,7a-tetra- hydro-1-benzo- furan-2(4H)-on	1546	1548	17092-92-1	0,20	0,28*	0,33	0,21	0,21	0,17	0,16	0,21	0,25	0,20	0,35	ND
110	NI48	1559			0,16	0,16	0,15	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
111	NI49	1561			ND	0,26	0,45	0,69	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
112	NI50	1562			0,55	ND	ND	ND	ND	0,86	0,73	0,82	0,74	0,65	1,01	NI
113	Kyselina laurová	1563	1562	143-07-7	ND	0,32	ND	ND	0,70*	ND	ND	ND	ND	ND	ND	0,89*
114	NI51	1567			0,40	0,40	0,18	0,37	0,42	0,42	0,41	0,33	0,24	0,36	0,56	0,79
115	NI52	1571			0,15	0,23	0,16	0,21	0,19	0,20	0,17	0,21	0,24	0,21	0,37	0,61





Tabulka II/1: Seznam detekovaných a identifikovaných látek pomocí GC-MS a jednotlivých vzorcích a jejich relativní zastoupení ve vzorcích (pokračování)

Pořadí	Detekovaná látka	RI <sup>a</sup>	RI <sup>b</sup>	CAS	Aplaus	Azurit	MS Topas	Sedan	Opex	Onyx	Harle- kyn	Dia- mant	Zafir	Opal	Orel	Redy
161	NI79	1771			0,16	0,40	0,49	0,08	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
162	NI80	1778			0,13	0,15	ND	0,16	ND	ND	0,11	0,17	ND	ND	ND	0,13
163	NI81	1781			0,47	1,10	0,47	0,43	0,18	ND	ND	0,15	ND	ND	ND	ND
164	NI82	1790			ND	ND	ND	0,12	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
165	NI83	1791			0,15	0,16	0,25	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
166	NI84	1795			0,68	0,87	1,42	0,47	0,23	ND	ND	0,19	NI	0,37	0,46	ND
167	Oktadekan	1800	1800	593-45-3	0,21	0,26	0,26	0,22	0,23	0,26	0,17	0,23	0,23	0,30	0,30	0,14
168	NI85	1806			ND	0,27	ND	0,22	ND	ND	ND	ND	0,18	0,30	ND	ND
169	NI86	1808			0,30	0,16	0,66	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
170	NI87	1812			0,29	0,51	0,53	0,16	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
171	Hexadekanal	1820	1822	629-80-1	0,45*	0,61*	0,7*	0,28*	0,19*	0,19	ND	0,19*	0,13	0,28	0,37*	0,25*
172	Isopropyl myristát	1823	1823	110-27-0	0,12	0,15	0,15	0,10	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
173	NI88	1827			0,46	0,63	1,02	0,22	ND	ND	ND	ND	ND	0,18	0,28	ND
174	NI89	1831			0,18	0,23	0,42	0,07	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
175	NI90	1837			ND	0,17	0,13	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
176	6,10,14-Trime- thyl-2-pentadeka- non	1844	1847	502-69-2	6,40	7,22	10,37	5,27	6,53	5,95	5,41	7,74	6,77	8,24	7,84	1,38
177	NI91	1850			ND	ND	ND	ND	ND	0,16	ND	ND	ND	ND	0,25	ND
178	Galaxolid	1857	1851	1222-05-5	0,81	2,13	0,72	0,67	0,29	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
179	Diisobutyl ftalát	1866	1868	84-69-5	3,86	4,21	4,6	1,61	1,13	0,58	0,73	0,53	0,7	1,17	2,00	ND
180	1-Hexadekanol	1884	1882	36653-82-4	0,14	0,12	0,11	0,13	ND	ND	ND	ND	ND	ND	0,25	ND
181	NI92	1889			0,14	0,41	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
182	NI93	1890			ND	ND	0,31	0,35	NI	0,40	0,33	0,28	0,28	0,35	0,44	ND
183	NI94	1891			0,12	ND	ND	ND	0,38	ND	ND	ND	ND	ND	ND	0,28
184	NI95	1899			0,27	0,45	0,61	0,32	0,26	0,28	0,21	0,31	0,28	0,28	0,45	0,18

Tabulka II/1: Seznam detekovaných a identifikovaných látek pomocí GC-MS a jednotlivých vzorcích a jejich relativní zastoupení ve vzorcích (pokračování)

Pořadí	Detekovaná látka	RI <sup>a</sup>	RI <sup>b</sup>	CAS	Aplaus	Azurit	MS Topas	Sedan	Opex	Onyx	Harle- kyn	Dia- mant	Zafir	Opal	Orel	Redy
185	2-Heptadekanon	1903	1901	2922-51-2	ND	ND	ND	0,08	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
186	2-Heptadekanol	1910	1909	16813-18-6	0,11*	0,36	0,21	0,24	ND	ND	0,28	0,42	0,35	ND	0,42	ND
187	NI96	1917			ND	ND	ND	ND	ND	0,26	0,53	0,33	ND	0,59	ND	0,53
188	NI97	1919			ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	0,24	ND
189	NI98	1920			ND	0,23	0,17	ND	ND	ND	ND	ND	ND	0,17	ND	ND
190	Methylpalmitát	1926	1926	112-39-0	0,16	0,08	0,09	0,13	0,17	0,20	0,20	0,11	0,19	0,18	0,36	0,20
191	NI99	1933			ND	0,16	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
192	NI100	1942			ND	ND	0,19	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
193	NI101	1946			ND	0,16	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
194	NI102	1950			ND	0,18	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
195	NI103	1962			ND	2,20	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
196	Kyselina palmitová	1964	1963	57-10-3	2,10	2,91	2,24	2,68	6,31	5,18	1,67	2,90	5,10	2,23	3,76	12,43
197	NI104	1972			ND I	0,12	0,13	0,12	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
198	Eicosan	1999	2000	112-95-8	0,12	0,11	0,26	0,11	0,19	0,19	0,17	0,21	0,30	0,36	0,28	ND
199	NI105	2019			ND	ND	0,11	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
200	NI106	2022			ND	ND	ND	ND	0,2	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
201	NI107	2031			0,11	0,26	ND	0,12	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
202	Manoyl oxid	2041	2010	596-84-9	ND	ND	0,16	ND	ND	ND	ND	ND	0,24	0,17	ND	ND
203	NI108	2070			ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	0,19
204	NI109	2076			ND	0,12	0,17	ND	0,17	ND	ND	ND	0,28	0,33	0,18	ND
205	Kauren	2078	2071	34424-57-2	ND	0,12	0,12	ND	ND	ND	ND	ND	0,14	ND	0,26	ND
206	1-Oktadekanol	2088	2084	112-92-5	0,30	0,33	0,27	0,27	0,36	0,41	0,20	0,23	0,21	0,37	0,71	0,27
207	Methyl linoleát	2095	2095	112-63-0	0,11	0,09	ND	0,10	0,17	0,18	ND	0,14	ND	0,18	0,29	0,31
208	Heneikosan	2100	2100	629-94-7	0,49*	0,17	0,52*	0,52*	0,63	0,99*	0,51*	0,34	0,87*	0,90	1,68*	0,43*
209	NI110	2108			0,11	0,11	0,13	ND	0,14	ND	ND	ND	0,18	0,27	0,22	ND



Tabulka II/1: Seznam detekovaných a identifikovaných látek pomocí GC-MS a jednotlivých vzorcích a jejich relativní zastoupení ve vzorcích (pokračování)

Pořadí	Detekovaná látka	RI <sup>a</sup>	RI <sup>b</sup>	CAS	Aplaus	Azurit	MS Topas	Sedan	Opex	Onyx	Harle- kyn	Dia- mant	Zafir	Opal	Orel	Redy
210	$\gamma$ -Palmitolakton	2112	2106	730-46-1	0,18	0,20	ND	0,16	0,23	0,21	0,17	0,15	0,18	ND	0,40	0,19
211	Fytol	2113	2111	150-86-7	ND	ND	0,18	ND	ND	ND	ND	ND	ND	0,20	ND	ND
212	(Z,Z)-9,12-Okta- dekadienová kyselina	2136	2144	60-33-3	ND	0,44	ND	ND	0,54	0,28	ND	0,23	ND	ND	0,30	1,39
213	(E)-9-Oktadece- nová kyselina	2141	2141	112-79-8	ND	0,38	0,11	0,14	1,02	0,33	ND	0,36	0,30	ND	0,22	2,37
214	NI111	2144			ND	ND	0,10	0,21	ND	ND	ND	ND	0,22	ND	0,27	ND
215	NI112	2145			0,11	0,3	ND	ND	ND	0,23	ND	0,16	ND	ND	ND	ND
216	Kyselina stearová	2165	2162	57-11-4	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	0,30
217	NI113	2192			ND	0,23	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
218	Dokosan	2199	2200	629-97-0	0,11	0,09	0,16	0,10	0,19	0,17	0,15	0,16	0,23	0,26	0,23	ND
219	Trikosan	2299	2300	638-67-5	0,12	0,11	0,15	0,10	0,17	0,15	0,13	0,14	0,2	0,22	0,24	ND
220	Pentakosan	2499	2500	629-99-2	0,11	0,14	0,10	0,10	0,22	ND	ND	ND	ND	ND	0,23	ND
221	Bis(2-ethylhe- xyl)-ftalát	2533	2500	117-81-7	ND	0,15	ND	ND	0,30	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND

! – mimo homologickou řadu *n*-alkanů; RI<sup>a</sup> – retenční index vypočtený dle Van den Doola; RI<sup>b</sup> – retenční index nalezený; CAS – registrační číslo; NI<sub>x</sub> – látka, která nebyla identifikována; ND – látka nebyla detekována; \* – látka byla detekována s uvedeným RI, ale nebyla identifikována jako látka jmenovaná na začátku řádku

### Příloha III: Seznamy detekovaných látek u jednotlivých vzorků pomocí GC-FID

Tabulka III/1: Seznam detekovaných látek ve vzorku Aplaus pomocí GC-FID

Pořadí	RI <sup>a</sup>	% A	Pořadí	RI <sup>a</sup>	% A	Pořadí	RI <sup>a</sup>	% A
1	466!	0,20	52	1371	0,10	103	1708	0,13
2	488!	0,09	53	1378	2,40	104	1715	0,29
3	508	0,22	54	1382	0,49	105	1718	0,07
4	578	0,07	55	1387	0,13	106	1722	0,17
5	599	0,13	56	1395	0,36	107	1735	0,11
6	662	0,06	57	1398	0,13	108	1747	0,21
7	801	1,92	58	1409	0,17	109	1755	0,18
8	865	1,26	59	1412	0,32	110	1764	0,13
9	902	13,77	60	1422	0,18	111	1771	0,08
10	955	0,17	61	1446	0,07	112	1776	0,10
11	969	0,43	62	1450	2,30	113	1779	0,26
12	978	0,37	63	1455	5,58	114	1784	0,51
13	991	0,29	64	1462	0,31	115	1794	0,24
14	1003	0,08	65	1467	1,74	116	1799	0,07
15	1007	0,39	66	1471	0,54	117	1807	0,23
16	1059	0,07	67	1474	2,39	118	1818	0,25
17	1067	1,81	68	1478	0,16	119	1844	0,74
18	1071	0,11	69	1484	0,23	120	1856	0,12
19	1078	0,29	70	1500	1,60	121	1859	0,31
20	1080	0,63	71	1503	6,21	122	1864	0,31
21	1091	1,77	72	1511	0,07	123	1872	0,31
22	1104	7,71	73	1522	0,11	124	1876	0,06
23	1130	0,53	74	1526	0,12	125	1882	0,15
24	1136	0,14	75	1551	0,12	126	1891	1,08
25	1140	0,64	76	1556	0,07	127	1896	0,46
26	1149	0,50	77	1560	0,06	128	1906	0,20
27	1156	0,13	78	1563	0,06	129	1909	0,23
28	1161	0,22	79	1569	0,24	130	1912	0,14
29	1172	3,75	80	1571	0,16	131	1921	0,39
30	1195	0,94	81	1576	0,08	132	1928	0,14
31	1201	1,13	82	1582	0,44	133	1931	0,56
32	1206	0,07	83	1586	0,12	134	1943	0,11
33	1212	1,22	84	1592	0,49	135	1959	0,11
34	1241	0,07	85	1599	0,45	136	1966	0,19
35	1247	0,07	86	1602	0,17	137	1983	0,36
36	1256	0,09	87	1605	0,13	138	1988	0,31
37	1259	0,10	88	1613	0,14	139	1992	0,16
38	1263	0,09	89	1621	0,20	140	1998	3,95
39	1270	0,34	90	1631	0,08	141	2017	0,52
40	1273	0,56	91	1647	0,33	142	2025	3,13
41	1283	0,09	92	1659	0,17	143	2040	0,15
42	1293	0,19	93	1662	0,16	144	2061	0,07
43	1298	0,09	94	1667	0,08	145	2071	0,07
44	1301	0,05	95	1670	0,16	146	2133	0,26
45	1307	0,19	96	1673	0,38	147	2187	0,09
46	1319	0,26	97	1678	0,42	148	2195	0,12
47	1341	0,58	98	1682	0,17	149	2200	0,19
48	1347	1,42	99	1685	0,16	150	2212	1,93
49	1355	0,41	100	1691	0,12	151	2245	0,10
50	1361	1,90	101	1696	0,14	152	2300	0,06
51	1365	0,18	102	1700	0,10	153	2400	0,07

! – mimo homologickou řadu *n*-alkanů; % A – relativní zastoupení látky v %; RI<sup>a</sup> – retenční index vypočtený dle Van den Doola

Tabulka III/2: Seznam detekovaných látek ve vzorku Azurit pomocí GC-FID

Pořadí	RI <sup>a</sup>	% A	Pořadí	RI <sup>a</sup>	% A	Pořadí	RI <sup>a</sup>	% A
1	467!	0,24	51	1423	3,13	101	1755	0,59
2	489!	0,13	52	1446	4,72	102	1761	0,09
3	509	0,27	53	1450	0,36	103	1764	0,20
4	600	0,11	54	1455	1,20	104	1771	0,12
5	801	1,61	55	1462	0,57	105	1776	0,32
6	865	0,97	56	1467	2,23	106	1779	0,23
7	902	12,36	57	1471	0,16	107	1784	0,88
8	955	0,12	58	1474	0,34	108	1794	0,18
9	969	0,42	59	1477	1,27	109	1799	0,59
10	976	0,18	60	1484	4,74	110	1807	2,74
11	991	0,31	61	1500	0,10	111	1817	0,38
12	1003	0,38	62	1504	0,15	112	1844	0,14
13	1059	1,45	63	1511	0,14	113	1856	1,24
14	1067	0,11	64	1522	0,27	114	1859	0,69
15	1072	0,30	65	1526	0,10	115	1864	0,18
16	1081	2,78	66	1551	0,26	116	1872	0,20
17	1089	3,34	67	1556	0,22	117	1876	0,14
18	1091	3,11	68	1562	0,13	118	1882	0,38
19	1104	0,53	69	1563	0,28	119	1891	0,14
20	1130	0,18	70	1565	0,09	120	1896	0,37
21	1136	0,70	71	1569	0,18	121	1899	0,09
22	1140	0,47	72	1571	0,46	122	1905	0,13
23	1149	0,10	73	1576	0,50	123	1909	0,09
24	1157	0,15	74	1582	0,11	124	1912	0,14
25	1161	3,01	75	1592	0,11	125	1921	0,32
26	1172	0,92	76	1600	0,22	126	1927	0,22
27	1196	0,83	77	1602	0,14	127	1931	0,15
28	1206	1,18	78	1605	0,45	128	1943	5,44
29	1241	0,07	79	1613	0,19	129	1959	0,66
30	1247	0,10	80	1622	0,14	130	1965	1,25
31	1256	0,09	81	1647	0,18	131	1983	0,13
32	1259	0,10	82	1659	0,45	132	1988	0,09
33	1263	0,35	83	1662	0,51	133	1998	0,17
34	1270	0,79	84	1667	0,16	134	2002	0,08
35	1273	0,07	85	1670	0,25	135	2009	0,23
36	1283	0,12	86	1674	0,16	136	2025	0,08
37	1293	0,10	87	1678	0,11	137	2040	0,38
38	1298	0,21	88	1683	0,08	138	2063	5,30
39	1301	0,22	89	1685	0,19	139	2170	0,09
40	1307	0,80	90	1691	0,29	140	2187	0,35
41	1319	1,46	91	1696	0,08	141	2195	0,15
42	1341	0,24	92	1701	0,24	142	2200	0,11
43	1347	1,38	93	1708	0,15	143	2212	0,33
44	1355	0,10	94	1715	0,27	144	2234	0,26
45	1365	2,44	95	1718	0,16	145	2239	0,25
46	1371	0,42	96	1722	0,21	146	2245	0,16
47	1382	0,27	97	1736	0,15	147	2300	0,09
48	1395	0,15	98	1741	0,10	148	2400	0,09
49	1398	0,37	99	1747	0,19	149	2487	0,18
50	1409	0,16	100	1751	0,09			

! – mimo homologickou řadu *n*-alkanů; % A – relativní zastoupení látky v %; RI<sup>a</sup> – retenční index vypočtený dle Van den Doola

Tabulka III/3: Seznam detekovaných látek ve vzorku MS Topas pomocí GC-FID

Pořadí	RI <sup>a</sup>	% A	Pořadí	RI <sup>a</sup>	% A	Pořadí	RI <sup>a</sup>	% A
1	465!	0,24	54	1361	0,10	107	1736	0,15
2	487!	0,10	55	1365	2,14	108	1741	0,09
3	508	0,23	56	1371	0,59	109	1747	0,18
4	598	0,08	57	1378	0,15	110	1755	0,10
5	661	0,07	58	1382	0,39	111	1765	0,11
6	801	1,67	59	1387	0,13	112	1776	0,22
7	864	1,69	60	1395	0,26	113	1779	0,12
8	890	0,08	61	1398	0,47	114	1784	1,04
9	902	13,58	62	1409	0,21	115	1795	0,14
10	955	0,19	63	1423	3,42	116	1799	0,46
11	969	0,72	64	1446	3,98	117	1807	1,86
12	975	0,11	65	1450	0,36	118	1817	0,23
13	991	0,34	66	1455	1,62	119	1827	0,09
14	1003	0,41	67	1463	0,46	120	1835	0,08
15	1059	2,06	68	1468	2,89	121	1844	0,14
16	1063	0,07	69	1471	0,23	122	1856	0,52
17	1067	0,09	70	1474	0,51	123	1859	0,61
18	1071	0,43	71	1478	1,92	124	1864	0,16
19	1078	0,69	72	1484	6,98	125	1873	0,18
20	1081	2,61	73	1500	0,08	126	1876	0,09
21	1091	3,57	74	1503	0,22	127	1881	0,18
22	1104	0,59	75	1512	0,17	128	1891	0,08
23	1130	0,35	76	1522	0,16	129	1895	0,26
24	1136	0,95	77	1551	0,19	130	1900	0,12
25	1140	0,46	78	1556	0,13	131	1906	0,16
26	1149	0,12	79	1560	0,07	132	1909	0,07
27	1156	0,22	80	1563	0,39	133	1912	0,16
28	1161	3,82	81	1568	0,16	134	1921	0,21
29	1169	0,10	82	1571	0,46	135	1927	0,18
30	1172	0,77	83	1576	0,30	136	1931	0,15
31	1192	0,13	84	1585	0,09	137	1944	8,81
32	1196	0,61	85	1592	0,13	138	1959	0,33
33	1201	0,13	86	1598	0,08	139	1965	0,91
34	1206	1,28	87	1600	0,09	140	1983	0,15
35	1213	0,16	88	1602	0,17	141	1988	0,10
36	1230	0,08	89	1604	0,17	142	1999	0,30
37	1241	0,08	90	1615	0,09	143	2009	0,16
38	1256	0,10	91	1622	0,18	144	2017	0,12
39	1263	0,36	92	1647	0,27	145	2025	0,12
40	1268	0,07	93	1662	0,56	146	2040	0,31
41	1270	0,10	94	1667	0,14	147	2060	1,12
42	1273	0,18	95	1670	0,19	148	2100	0,15
43	1284	0,23	96	1673	0,14	149	2123	0,08
44	1285	0,08	97	1678	0,08	150	2146	0,06
45	1293	0,20	98	1683	0,09	151	2180	0,09
46	1298	0,28	99	1686	0,09	152	2187	0,35
47	1301	0,22	100	1691	0,17	153	2195	0,07
48	1308	0,32	101	1696	0,10	154	2199	0,24
49	1319	1,89	102	1701	0,23	155	2212	0,31
50	1341	0,31	103	1708	0,09	156	2300	0,11
51	1347	1,52	104	1715	0,17	157	2400	0,08
52	1351	0,17	105	1718	0,15	158	2487	0,16
53	1355	0,14	106	1722	0,16			

! – mimo homologickou řadu *n*-alkanů; % A – relativní zastoupení látky v %; RI<sup>a</sup> – retenční index vypočtený dle Van den Doola

Tabulka III/4: Seznam detekovaných látek ve vzorku Sedan pomocí GC-FID

Pořadí	RI <sup>a</sup>	% A	Pořadí	RI <sup>a</sup>	% A	Pořadí	RI <sup>a</sup>	% A
1	465!	0,18	54	1365	2,37	107	1764	0,16
2	487!	0,09	55	1371	0,47	108	1771	0,07
3	507	0,22	56	1378	0,14	109	1776	0,18
4	598	0,12	57	1382	0,40	110	1779	0,26
5	661	0,06	58	1387	0,16	111	1784	0,91
6	801	1,95	59	1395	0,15	112	1796	0,14
7	864	1,57	60	1398	0,32	113	1799	0,48
8	902	14,63	61	1409	0,19	114	1807	1,40
9	955	0,16	62	1412	0,07	115	1818	0,37
10	969	0,64	63	1422	2,11	116	1830	0,16
11	977	0,33	64	1446	5,36	117	1844	0,15
12	991	0,30	65	1450	0,33	118	1856	1,53
13	1003	0,42	66	1455	1,95	119	1864	0,19
14	1007	0,06	67	1463	0,46	120	1873	0,34
15	1059	1,80	68	1468	2,81	121	1876	0,15
16	1067	0,12	69	1471	0,22	122	1882	0,40
17	1071	0,41	70	1474	0,35	123	1891	0,12
18	1078	0,69	71	1478	1,61	124	1896	0,31
19	1081	1,81	72	1484	6,00	125	1900	0,09
20	1091	7,52	73	1500	0,07	126	1905	0,12
21	1104	0,61	74	1503	0,14	127	1909	0,08
22	1130	0,31	75	1511	0,13	128	1912	0,14
23	1136	0,65	76	1515	0,16	129	1921	0,32
24	1140	0,58	77	1522	0,12	130	1927	0,21
25	1149	0,12	78	1551	0,21	131	1931	0,14
26	1156	0,25	79	1556	0,15	132	1943	3,16
27	1161	3,60	80	1563	0,47	133	1959	0,54
28	1172	0,96	81	1568	0,15	134	1965	1,27
29	1192	0,08	82	1571	0,49	135	1978	0,08
30	1196	1,03	83	1576	0,33	136	1983	0,19
31	1201	0,07	84	1592	0,09	137	1988	0,06
32	1206	1,29	85	1599	0,15	138	1998	0,26
33	1213	0,06	86	1605	0,48	139	2009	0,18
34	1241	0,07	87	1613	0,15	140	2017	0,24
35	1243	0,08	88	1621	0,20	141	2025	0,18
36	1247	0,13	89	1647	0,14	142	2040	0,18
37	1256	0,10	90	1659	0,35	143	2061	1,23
38	1263	0,36	91	1662	0,37	144	2094	0,10
39	1269	0,42	92	1667	0,20	145	2100	0,07
40	1273	0,12	93	1669	0,12	146	2133	0,11
41	1283	0,21	94	1673	0,16	147	2158	0,15
42	1286	0,08	95	1678	0,11	148	2187	0,23
43	1293	0,14	96	1682	0,08	149	2195	0,09
44	1295	0,06	97	1685	0,15	150	2200	0,14
45	1298	0,23	98	1691	0,25	151	2212	0,25
46	1301	0,29	99	1696	0,10	152	2245	0,08
47	1304	0,08	100	1701	0,16	153	2293	0,14
48	1308	0,35	101	1708	0,12	154	2300	0,08
49	1319	1,65	102	1715	0,23	155	2399	0,06
50	1341	0,37	103	1718	0,18	156	2423	0,07
51	1347	2,10	104	1722	0,19	157	2488	0,20
52	1355	0,17	105	1747	0,16			
53	1361	0,11	106	1755	0,52			

! – mimo homologickou řadu *n*-alkanů; % A – relativní zastoupení látky v %; RI<sup>a</sup> – retenční index vypočtený dle Van den Doola

Tabulka III/5: Seznam detekovaných látek ve vzorku Opex pomocí GC-FID

Pořadí	RI <sup>a</sup>	% A	Pořadí	RI <sup>a</sup>	% A	Pořadí	RI <sup>a</sup>	% A
1	466!	0,34	43	1347	1,89	85	1700	0,17
2	488!	0,15	44	1352	0,12	86	1708	0,12
3	508	0,29	45	1354	0,20	87	1715	0,25
4	600	0,11	46	1361	0,11	88	1718	0,12
5	801	1,52	47	1365	3,16	89	1747	0,14
6	865	0,98	48	1371	0,53	90	1754	0,24
7	902	13,06	49	1382	0,35	91	1764	0,18
8	955	0,15	50	1395	0,17	92	1771	0,11
9	969	0,55	51	1398	0,46	93	1776	0,26
10	975	0,19	52	1409	0,21	94	1779	0,15
11	991	0,33	53	1422	3,63	95	1784	0,74
12	1003	0,42	54	1446	5,98	96	1799	0,31
13	1059	1,88	55	1450	0,45	97	1806	0,33
14	1067	0,13	56	1455	1,47	98	1817	0,31
15	1072	0,36	57	1462	0,63	99	1844	0,12
16	1079	0,98	58	1467	2,89	100	1856	0,34
17	1081	2,36	59	1471	0,17	101	1859	1,03
18	1089	3,66	60	1474	0,33	102	1876	0,13
19	1091	3,46	61	1477	1,44	103	1881	0,16
20	1104	0,64	62	1484	5,31	104	1896	0,22
21	1130	0,13	63	1504	0,17	105	1920	0,18
22	1136	0,75	64	1511	0,13	106	1927	0,10
23	1140	0,57	65	1522	0,28	107	1930	0,11
24	1149	0,14	66	1526	0,11	108	1943	4,47
25	1157	0,16	67	1551	0,24	109	1948	0,10
26	1161	4,01	68	1556	0,17	110	1959	0,40
27	1172	1,07	69	1563	0,24	111	1965	0,77
28	1196	1,20	70	1569	0,10	112	1998	0,24
29	1206	1,50	71	1571	0,46	113	2025	0,16
30	1241	0,10	72	1576	0,42	114	2040	0,23
31	1247	0,15	73	1592	0,10	115	2062	4,82
32	1256	0,10	74	1599	0,17	116	2100	0,12
33	1259	0,15	75	1604	0,19	117	2180	0,10
34	1263	0,48	76	1613	0,10	118	2187	0,29
35	1270	1,03	77	1621	0,12	119	2195	0,15
36	1283	0,14	78	1647	0,15	120	2200	0,15
37	1293	0,12	79	1659	0,52	121	2212	0,28
38	1298	0,24	80	1662	0,47	122	2233	0,27
39	1301	0,17	81	1667	0,14	123	2239	0,27
40	1307	0,82	82	1670	0,21	124	2244	0,16
41	1319	1,77	83	1685	0,17	125	2300	0,11
42	1341	0,38	84	1691	0,17	126	2399	0,10

! – mimo homologickou řadu *n*-alkanů; % A – relativní zastoupení látky v %; RI<sup>a</sup> – retenční index vypočtený dle Van den Doola

Tabulka III/6: Seznam detekovaných látek ve vzorku Onyx pomocí GC-FID

Pořadí	RI <sup>a</sup>	% A	Pořadí	RI <sup>a</sup>	% A	Pořadí	RI <sup>a</sup>	% A
1	467!	0,41	40	1347	1,54	79	1715	0,18
2	488!	0,20	41	1352	0,10	80	1718	0,18
3	509	0,34	42	1355	0,16	81	1722	0,34
4	600	0,09	43	1365	2,77	82	1747	0,13
5	801	1,54	44	1371	0,47	83	1764	0,18
6	865	1,04	45	1382	0,28	84	1776	0,17
7	902	11,17	46	1398	0,69	85	1779	0,11
8	955	0,20	47	1408	0,19	86	1784	0,65
9	969	0,58	48	1411	0,14	87	1799	0,23
10	975	0,14	49	1423	5,67	88	1806	0,27
11	991	0,28	50	1446	5,34	89	1817	0,21
12	998	0,13	51	1450	0,41	90	1843	0,10
13	1003	0,37	52	1455	1,49	91	1859	1,72
14	1059	2,72	53	1462	0,81	92	1873	0,48
15	1072	0,29	54	1467	2,60	93	1899	0,13
16	1078	0,93	55	1471	0,19	94	1930	0,20
17	1081	2,80	56	1474	0,22	95	1943	2,54
18	1087	2,41	57	1477	2,03	96	1959	0,70
19	1091	2,83	58	1484	7,46	97	1965	0,61
20	1104	0,50	59	1500	0,09	98	1983	0,17
21	1130	0,12	60	1504	0,18	99	1992	0,12
22	1136	0,93	61	1522	0,19	100	1999	0,29
23	1141	0,46	62	1526	0,14	101	2017	0,24
24	1149	0,18	63	1551	0,20	102	2040	0,78
25	1157	0,14	64	1556	0,18	103	2062	5,75
26	1161	4,99	65	1563	0,50	104	2077	0,36
27	1172	0,85	66	1568	0,21	105	2092	0,13
28	1196	1,00	67	1571	0,46	106	2100	0,23
29	1206	1,17	68	1576	0,47	107	2180	0,19
30	1241	0,08	69	1592	0,09	108	2187	0,20
31	1256	0,12	70	1599	0,16	109	2200	0,20
32	1263	0,51	71	1604	0,12	110	2212	0,31
33	1270	0,85	72	1621	0,15	111	2233	0,29
34	1298	0,24	73	1647	0,12	112	2239	0,30
35	1301	0,40	74	1659	0,45	113	2244	0,15
36	1305	0,23	75	1662	0,41	114	2299	0,19
37	1307	0,44	76	1667	0,17	115	2399	0,14
38	1319	1,64	77	1670	0,11	116	2499	0,10
39	1341	0,37	78	1701	0,14			

! – mimo homologickou řadu *n*-alkanů; % A – relativní zastoupení látky v %; RI<sup>a</sup> – retenční index vypočtený dle Van den Doola

Tabulka III/7: Seznam detekovaných látek ve vzorku Harlekyň pomocí GC-FID

Pořadí	RI <sup>a</sup>	% A	Pořadí	RI <sup>a</sup>	% A	Pořadí	RI <sup>a</sup>	% A
1	465!	0,31	51	1361	0,09	101	1708	0,09
2	487!	0,14	52	1365	2,27	102	1715	0,20
3	507	0,30	53	1371	0,52	103	1718	0,21
4	598	0,10	54	1378	0,12	104	1722	0,16
5	661	0,07	55	1382	0,32	105	1747	0,11
6	801	1,66	56	1387	0,09	106	1754	0,07
7	864	1,46	57	1395	0,13	107	1764	0,16
8	902	11,80	58	1398	0,63	108	1771	0,08
9	955	0,20	59	1409	0,20	109	1776	0,15
10	969	0,71	60	1411	0,09	110	1779	0,09
11	977	0,25	61	1423	4,49	111	1784	0,88
12	991	0,28	62	1446	4,63	112	1795	0,12
13	998	0,10	63	1450	0,36	113	1799	0,34
14	1003	0,36	64	1455	1,54	114	1806	1,86
15	1007	0,06	65	1463	0,61	115	1817	0,15
16	1048	0,07	66	1467	2,54	116	1841	0,12
17	1059	2,42	67	1471	0,20	117	1844	0,11
18	1072	0,29	68	1474	0,26	118	1856	0,21
19	1078	0,70	69	1478	2,10	119	1860	1,31
20	1081	2,32	70	1484	7,65	120	1876	0,11
21	1091	7,19	71	1500	0,07	121	1881	0,13
22	1104	0,48	72	1504	0,15	122	1890	0,08
23	1130	0,10	73	1511	0,10	123	1896	0,15
24	1136	0,84	74	1522	0,18	124	1900	0,07
25	1141	0,42	75	1526	0,12	125	1905	0,14
26	1149	0,15	76	1551	0,16	126	1911	0,17
27	1152	0,07	77	1556	0,13	127	1920	0,17
28	1157	0,18	78	1563	0,49	128	1930	0,21
29	1161	4,30	79	1568	0,12	129	1943	3,18
30	1172	0,80	80	1571	0,51	130	1959	0,80
31	1196	0,68	81	1576	0,21	131	1965	0,48
32	1206	1,00	82	1579	0,15	132	1971	0,07
33	1213	0,08	83	1586	0,13	133	1983	0,09
34	1241	0,11	84	1592	0,10	134	1992	0,07
35	1243	0,07	85	1598	0,12	135	1999	0,13
36	1247	0,09	86	1599	0,09	136	2009	0,15
37	1256	0,11	87	1604	0,22	137	2025	0,09
38	1263	0,41	88	1608	0,11	138	2040	1,20
39	1268	0,43	89	1615	0,10	139	2063	4,79
40	1273	0,13	90	1621	0,16	140	2100	0,11
41	1284	0,13	91	1647	0,10	141	2180	0,08
42	1293	0,10	92	1659	0,37	142	2187	0,15
43	1298	0,21	93	1662	0,36	143	2195	0,14
44	1301	0,35	94	1667	0,20	144	2199	0,17
45	1307	0,29	95	1670	0,11	145	2212	0,23
46	1319	1,43	96	1674	0,15	146	2233	0,21
47	1341	0,34	97	1686	0,14	147	2239	0,28
48	1347	1,43	98	1691	0,13	148	2262	0,08
49	1351	0,10	99	1696	0,07	149	2299	0,09
50	1355	0,15	100	1701	0,13	150	2399	0,06

! – mimo homologickou řadu *n*-alkanů; % A – relativní zastoupení látky v %; RI<sup>a</sup> – retenční index vypočtený dle Van den Doola



Tabulka III/8: Seznam detekovaných látek ve vzorku Diamant pomocí GC-FID

Pořadí	RI <sup>a</sup>	% A	Pořadí	RI <sup>a</sup>	% A	Pořadí	RI <sup>a</sup>	% A
1	465!	0,24	49	1371	0,57	97	1754	0,15
2	486!	0,13	50	1378	0,13	98	1764	0,18
3	507	0,27	51	1382	0,38	99	1771	0,09
4	598	0,10	52	1387	0,13	100	1776	0,27
5	801	1,58	53	1395	0,19	101	1779	0,18
6	864	1,16	54	1398	0,35	102	1784	1,51
7	902	14,23	55	1422	2,61	103	1795	0,18
8	955	0,13	56	1446	4,47	104	1799	0,70
9	969	0,92	57	1450	0,43	105	1807	5,03
10	976	0,26	58	1455	1,78	106	1817	0,32
11	991	0,37	59	1462	0,29	107	1840	0,16
12	1003	0,39	60	1467	2,72	108	1844	0,15
13	1059	1,48	61	1471	0,24	109	1856	0,35
14	1071	0,37	62	1474	0,58	110	1859	0,95
15	1078	0,78	63	1477	1,23	111	1865	0,16
16	1081	2,05	64	1484	4,58	112	1872	0,17
17	1084	1,00	65	1500	0,08	113	1876	0,21
18	1089	2,31	66	1503	0,26	114	1881	0,19
19	1091	4,21	67	1511	0,15	115	1890	0,10
20	1104	0,57	68	1521	0,18	116	1895	0,33
21	1130	0,32	69	1550	0,24	117	1900	0,12
22	1136	0,68	70	1556	0,15	118	1906	0,17
23	1140	0,57	71	1562	0,12	119	1909	0,08
24	1149	0,10	72	1563	0,27	120	1912	0,15
25	1156	0,18	73	1568	0,16	121	1921	0,25
26	1161	3,30	74	1571	0,59	122	1927	0,18
27	1172	0,90	75	1576	0,30	123	1930	0,17
28	1192	0,09	76	1592	0,12	124	1943	5,30
29	1195	0,89	77	1599	0,10	125	1959	0,41
30	1201	0,08	78	1604	0,38	126	1965	0,78
31	1206	1,28	79	1613	0,09	127	1983	0,15
32	1212	0,08	80	1621	0,18	128	1999	0,19
33	1263	0,35	81	1647	0,15	129	2001	0,07
34	1267	0,24	82	1659	0,39	130	2009	0,25
35	1270	0,08	83	1662	0,42	131	2025	0,10
36	1273	0,14	84	1667	0,14	132	2039	0,37
37	1283	0,18	85	1670	0,19	133	2061	1,76
38	1293	0,15	86	1673	0,15	134	2100	0,16
39	1298	0,24	87	1682	0,10	135	2146	0,09
40	1301	0,23	88	1686	0,14	136	2180	0,11
41	1307	0,35	89	1690	0,21	137	2187	0,28
42	1319	1,80	90	1695	0,11	138	2200	0,16
43	1341	0,28	91	1701	0,21	139	2212	0,25
44	1347	1,92	92	1708	0,10	140	2244	0,08
45	1352	0,13	93	1715	0,24	141	2300	0,13
46	1354	0,16	94	1718	0,10	142	2400	0,09
47	1361	0,09	95	1722	0,19	143	2482	0,21
48	1365	2,07	96	1746	0,16	144	2486	0,15

! – mimo homologickou řadu *n*-alkanů; % A – relativní zastoupení látky v %; RI<sup>a</sup> – retenční index vypočtený dle Van den Doola

Tabulka III/9: Seznam detekovaných látek ve vzorku Zafir pomocí GC-FID

Pořadí	RI <sup>a</sup>	% A	Pořadí	RI <sup>a</sup>	% A	Pořadí	RI <sup>a</sup>	% A
1	467!	0,29	51	1371	0,60	101	1755	0,12
2	489!	0,15	52	1378	0,14	102	1764	0,12
3	509	0,29	53	1382	0,41	103	1776	0,28
4	600	0,09	54	1387	0,12	104	1779	0,11
5	801	1,41	55	1395	0,29	105	1784	1,67
6	865	1,16	56	1398	0,39	106	1796	0,13
7	902	13,08	57	1409	0,15	107	1799	0,69
8	955	0,14	58	1422	2,93	108	1807	4,69
9	969	0,84	59	1446	4,16	109	1817	0,28
10	975	0,18	60	1450	0,42	110	1844	0,15
11	991	0,36	61	1455	1,84	111	1856	0,26
12	1003	0,35	62	1462	0,30	112	1859	0,57
13	1059	1,66	63	1467	2,57	113	1864	0,21
14	1071	0,36	64	1471	0,23	114	1872	0,26
15	1078	0,80	65	1474	0,64	115	1876	0,17
16	1081	2,19	66	1477	1,33	116	1881	0,17
17	1086	1,97	67	1484	5,00	117	1891	0,13
18	1091	4,12	68	1500	0,09	118	1895	0,55
19	1104	0,50	69	1503	0,28	119	1899	0,15
20	1130	0,32	70	1511	0,17	120	1906	0,18
21	1136	0,73	71	1522	0,17	121	1909	0,14
22	1140	0,56	72	1531	0,10	122	1912	0,18
23	1149	0,11	73	1550	0,24	123	1921	0,33
24	1156	0,18	74	1556	0,13	124	1927	0,35
25	1161	3,53	75	1563	0,26	125	1931	0,18
26	1170	0,15	76	1567	0,21	126	1943	5,36
27	1172	0,76	77	1571	0,49	127	1959	0,25
28	1192	0,10	78	1576	0,32	128	1965	1,66
29	1196	0,83	79	1602	0,15	129	1983	0,13
30	1201	0,16	80	1604	0,29	130	1999	0,36
31	1206	1,20	81	1613	0,14	131	2009	0,29
32	1212	0,17	82	1621	0,19	132	2017	0,12
33	1230	0,08	83	1647	0,16	133	2025	0,18
34	1263	0,36	84	1658	0,34	134	2039	0,16
35	1266	0,14	85	1662	0,39	135	2060	1,34
36	1270	0,11	86	1667	0,16	136	2092	0,09
37	1273	0,16	87	1670	0,19	137	2100	0,20
38	1283	0,29	88	1674	0,15	138	2123	0,10
39	1293	0,12	89	1678	0,11	139	2146	0,12
40	1298	0,25	90	1682	0,12	140	2180	0,15
41	1301	0,23	91	1686	0,16	141	2187	0,25
42	1307	0,36	92	1691	0,32	142	2195	0,13
43	1319	2,00	93	1696	0,13	143	2200	0,20
44	1335	0,09	94	1701	0,36	144	2212	0,27
45	1341	0,30	95	1708	0,14	145	2299	0,18
46	1347	1,84	96	1715	0,24	146	2399	0,12
47	1351	0,16	97	1718	0,14	147	2482	0,20
48	1354	0,17	98	1724	0,29	148	2486	0,21
49	1361	0,09	99	1735	0,16			
50	1365	1,93	100	1746	0,18			

! – mimo homologickou řadu *n*-alkanů; % A – relativní zastoupení látky v %; RI<sup>a</sup> – retenční index vypočtený dle Van den Doola

Tabulka III/10: Seznam detekovaných látek ve vzorku Opal pomocí GC-FID

Pořadí	RI <sup>a</sup>	% A	Pořadí	RI <sup>a</sup>	% A	Pořadí	RI <sup>a</sup>	% A
1	467!	0,34	43	1347	1,31	85	1695	0,11
2	489!	0,17	44	1351	0,15	86	1701	0,40
3	508	0,30	45	1354	0,12	87	1708	0,14
4	600	0,11	46	1365	2,19	88	1715	0,29
5	801	1,48	47	1371	0,48	89	1718	0,11
6	865	0,96	48	1381	0,28	90	1722	0,28
7	902	13,80	49	1395	0,19	91	1736	0,17
8	955	0,13	50	1398	0,40	92	1747	0,25
9	969	0,96	51	1408	0,24	93	1764	0,20
10	975	0,20	52	1422	3,84	94	1776	0,28
11	991	0,38	53	1446	5,56	95	1779	0,13
12	1003	0,41	54	1449	0,50	96	1784	1,29
13	1059	1,54	55	1454	1,24	97	1799	0,44
14	1072	0,34	56	1462	0,50	98	1806	0,94
15	1078	1,02	57	1467	2,82	99	1817	0,31
16	1081	2,35	58	1471	0,26	100	1844	0,10
17	1088	3,34	59	1474	0,67	101	1859	0,94
18	1091	4,14	60	1477	1,21	102	1876	0,12
19	1104	0,60	61	1483	4,38	103	1896	0,20
20	1130	0,34	62	1503	0,31	104	1899	0,14
21	1136	0,79	63	1511	0,18	105	1906	0,19
22	1140	0,67	64	1521	0,24	106	1920	0,18
23	1149	0,10	65	1526	0,11	107	1930	0,13
24	1157	0,17	66	1550	0,28	108	1943	6,69
25	1161	3,55	67	1556	0,26	109	1959	0,29
26	1172	1,00	68	1561	0,20	110	1965	0,63
27	1192	0,11	69	1563	0,22	111	1983	0,19
28	1195	0,91	70	1567	0,27	112	1999	0,21
29	1201	0,13	71	1571	0,59	113	2001	0,09
30	1206	1,39	72	1576	0,39	114	2009	0,10
31	1212	0,25	73	1602	0,46	115	2025	0,15
32	1230	0,10	74	1613	0,22	116	2040	0,19
33	1263	0,45	75	1621	0,21	117	2061	2,44
34	1268	0,60	76	1647	0,24	118	2100	0,16
35	1273	0,18	77	1658	0,45	119	2180	0,12
36	1283	0,28	78	1662	0,48	120	2187	0,43
37	1293	0,18	79	1666	0,16	121	2195	0,17
38	1298	0,26	80	1669	0,24	122	2200	0,33
39	1301	0,53	81	1674	0,14	123	2212	0,33
40	1307	0,46	82	1682	0,13	124	2244	0,12
41	1319	1,93	83	1686	0,17	125	2300	0,13
42	1341	0,38	84	1690	0,22	126	2399	0,12

! – mimo homologickou řadu *n*-alkanů; % A – relativní zastoupení látky v %; RI<sup>a</sup> – retenční index vypočtený dle Van den Doola

Tabulka III/11: Seznam detekovaných látek ve vzorku Orel pomocí GC-FID

Pořadí	RI <sup>a</sup>	% A	Pořadí	RI <sup>a</sup>	% A	Pořadí	RI <sup>a</sup>	% A
1	466!	0,38	45	1408	0,16	89	1794	0,18
2	487!	0,12	46	1422	3,96	90	1799	0,62
3	508	0,19	47	1446	5,78	91	1806	2,70
4	801	1,30	48	1450	0,50	92	1817	0,44
5	865	0,78	49	1454	0,71	93	1844	0,13
6	902	11,61	50	1462	0,41	94	1855	0,84
7	969	1,31	51	1466	2,47	95	1859	1,28
8	974	0,17	52	1471	0,21	96	1865	0,13
9	991	0,35	53	1474	0,60	97	1872	0,16
10	1003	0,31	54	1477	0,63	98	1881	0,23
11	1059	1,14	55	1483	2,25	99	1891	0,12
12	1067	0,13	56	1503	0,28	100	1895	0,40
13	1072	0,26	57	1511	0,22	101	1899	0,14
14	1079	1,21	58	1522	0,29	102	1906	0,15
15	1081	2,17	59	1550	0,28	103	1909	0,13
16	1084	1,51	60	1556	0,34	104	1912	0,14
17	1087	1,50	61	1560	0,15	105	1921	0,32
18	1091	3,43	62	1563	0,19	106	1927	0,26
19	1104	0,42	63	1568	0,47	107	1931	0,20
20	1136	0,62	64	1571	0,51	108	1943	6,21
21	1140	0,63	65	1576	0,50	109	1959	0,53
22	1157	0,20	66	1582	0,17	110	1965	1,61
23	1161	2,57	67	1597	0,18	111	1983	0,27
24	1172	0,87	68	1602	0,31	112	1988	0,13
25	1196	0,67	69	1604	0,44	113	1991	0,13
26	1206	1,00	70	1613	0,32	114	1999	0,30
27	1243	0,13	71	1621	0,24	115	2001	0,16
28	1263	0,38	72	1647	0,27	116	2009	0,35
29	1269	0,97	73	1659	0,62	117	2025	0,26
30	1283	0,17	74	1662	0,66	118	2040	0,37
31	1298	0,16	75	1670	0,62	119	2061	4,08
32	1301	0,65	76	1685	0,24	120	2100	0,21
33	1304	0,20	77	1691	0,29	121	2180	0,17
34	1307	0,59	78	1701	0,37	122	2187	0,78
35	1319	1,46	79	1708	0,20	123	2195	0,22
36	1341	0,44	80	1715	0,27	124	2200	0,44
37	1347	0,85	81	1724	0,20	125	2212	0,61
38	1351	0,13	82	1741	0,13	126	2234	0,18
39	1360	0,12	83	1747	0,35	127	2239	0,17
40	1365	2,19	84	1754	0,36	128	2244	0,13
41	1371	0,53	85	1764	0,18	129	2300	0,22
42	1381	0,23	86	1776	0,41	130	2399	0,23
43	1383	0,13	87	1779	0,20	131	2599	0,17
44	1398	0,43	88	1784	1,03			

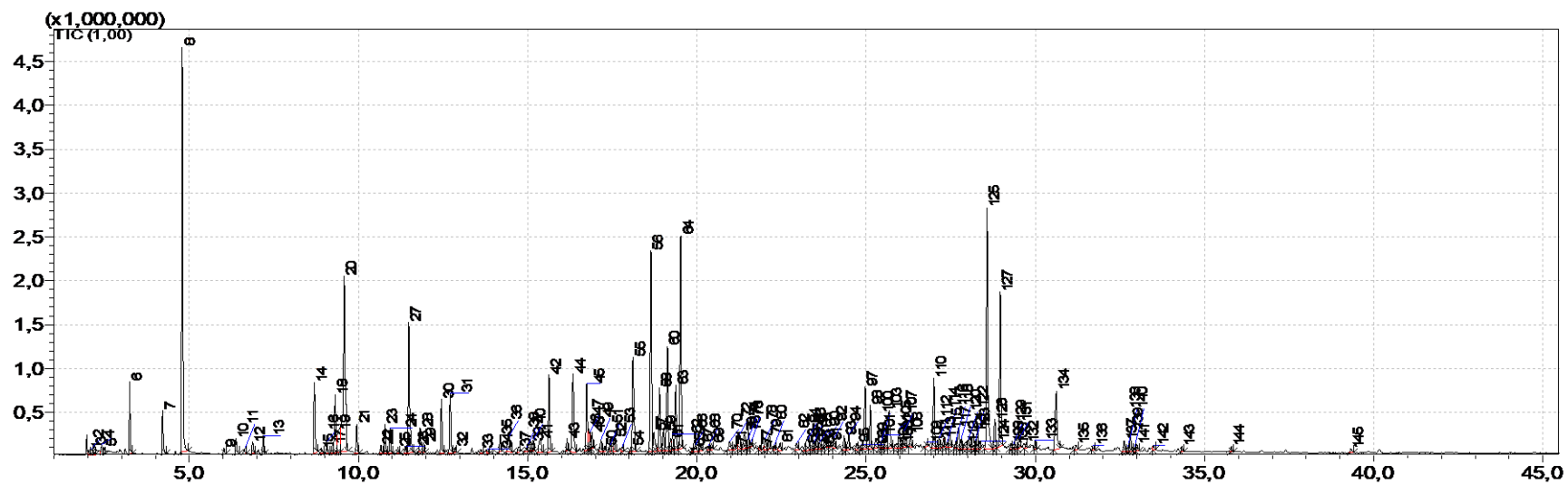
! – mimo homologickou řadu *n*-alkanů; % A – relativní zastoupení látky v %; RI<sup>a</sup> – retenční index vypočtený dle Van den Doola

Tabulka III/12: Seznam detekovaných látek ve vzorku Redy pomocí GC-FID

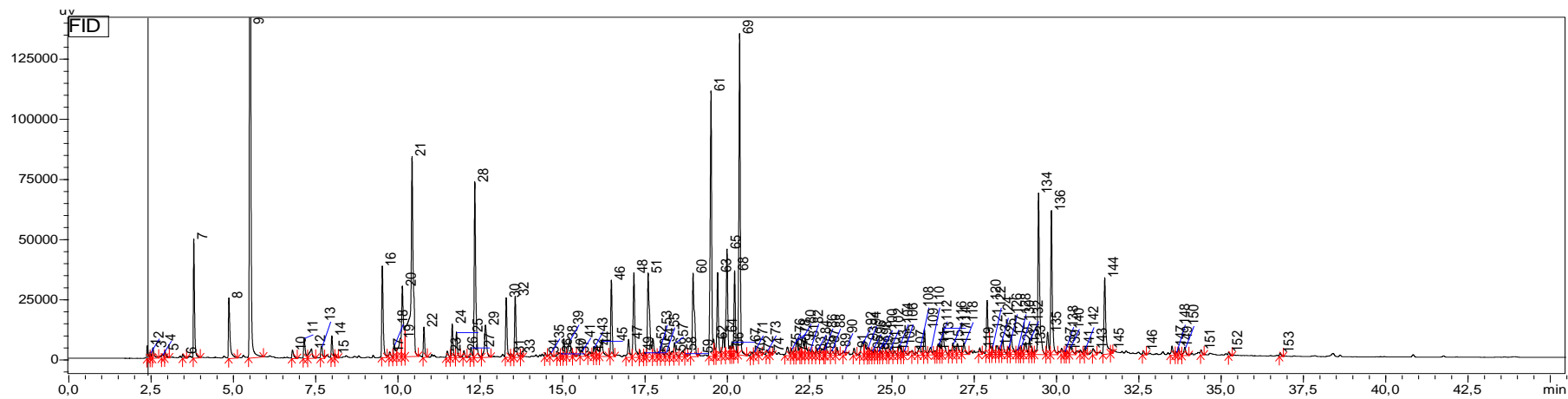
Pořadí	RI <sup>a</sup>	% A	Pořadí	RI <sup>a</sup>	% A	Pořadí	RI <sup>a</sup>	% A
1	466!	0,36	38	1298	0,16	75	1662	0,70
2	487!	0,14	39	1301	0,12	76	1668	0,39
3	508	0,25	40	1307	0,95	77	1685	0,25
4	570	0,13	41	1319	1,46	78	1708	0,12
5	599	0,17	42	1341	0,40	79	1715	0,21
6	661	0,11	43	1347	1,79	80	1718	0,19
7	801	2,07	44	1354	0,20	81	1722	0,15
8	864	1,78	45	1361	0,14	82	1760	0,13
9	902	15,07	46	1365	2,29	83	1764	0,10
10	955	0,14	47	1371	0,42	84	1784	0,50
11	968	1,57	48	1382	0,36	85	1799	0,21
12	977	0,42	49	1387	0,14	86	1807	0,20
13	990	0,37	50	1398	0,44	87	1817	0,18
14	1003	0,38	51	1408	0,21	88	1844	0,09
15	1059	1,47	52	1422	3,28	89	1855	0,10
16	1072	0,31	53	1446	6,16	90	1859	1,12
17	1079	1,02	54	1450	0,39	91	1876	0,11
18	1081	1,92	55	1455	1,76	92	1897	0,13
19	1084	1,25	56	1462	0,44	93	1918	0,15
20	1091	6,90	57	1467	2,72	94	1930	0,12
21	1104	0,46	58	1471	0,21	95	1943	0,68
22	1136	0,54	59	1474	0,37	96	1959	0,48
23	1140	0,52	60	1477	1,24	97	1965	0,13
24	1149	0,10	61	1484	4,29	98	1998	0,14
25	1156	0,35	62	1503	0,12	99	2025	0,10
26	1161	2,98	63	1522	0,78	100	2040	0,54
27	1172	0,95	64	1551	0,19	101	2064	9,06
28	1196	0,86	65	1556	0,25	102	2170	0,17
29	1206	0,94	66	1563	0,28	103	2195	0,20
30	1243	0,21	67	1569	0,28	104	2200	0,15
31	1247	0,12	68	1571	0,45	105	2211	0,20
32	1252	0,17	69	1577	0,64	106	2234	1,09
33	1256	0,12	70	1598	0,34	107	2239	0,90
34	1259	0,13	71	1606	0,54	108	2244	0,59
35	1263	0,37	72	1614	0,18	109	2262	0,19
36	1270	0,92	73	1631	0,12			
37	1283	0,16	74	1659	0,44			

! – mimo homologickou řadu *n*-alkanů; % A – relativní zastoupení látky v %; RI<sup>a</sup> – retenční index vypočtený dle Van den Doola

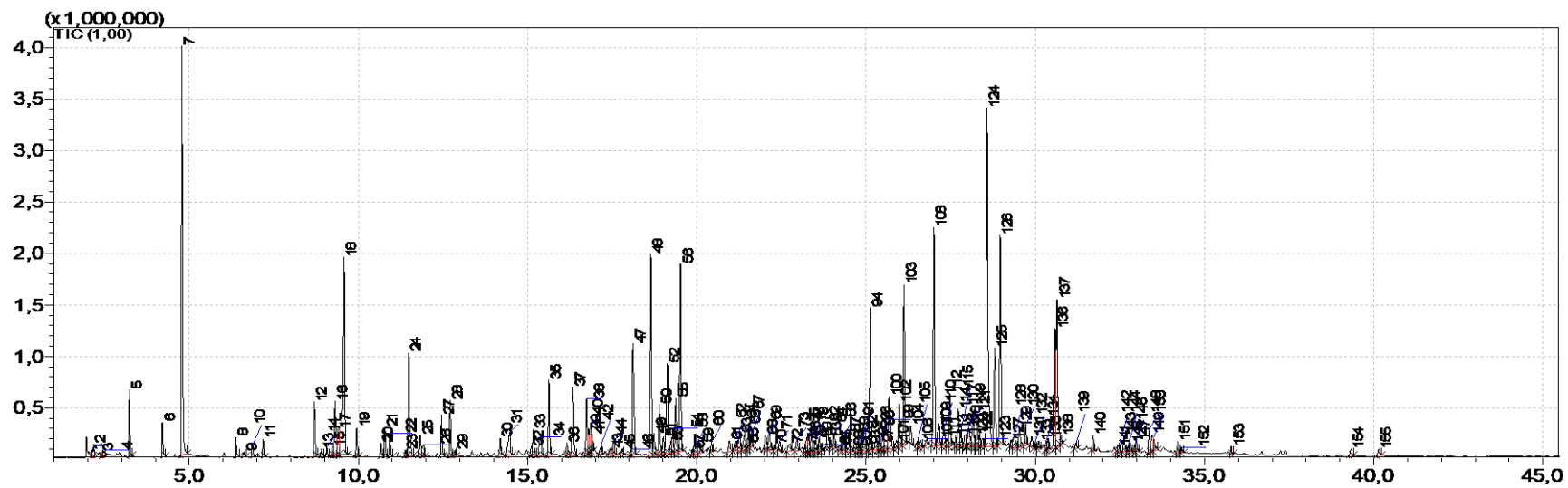
## Příloha IV: Chromatografické záznamy jednotlivých vzorků z GC-MS a GC-FID



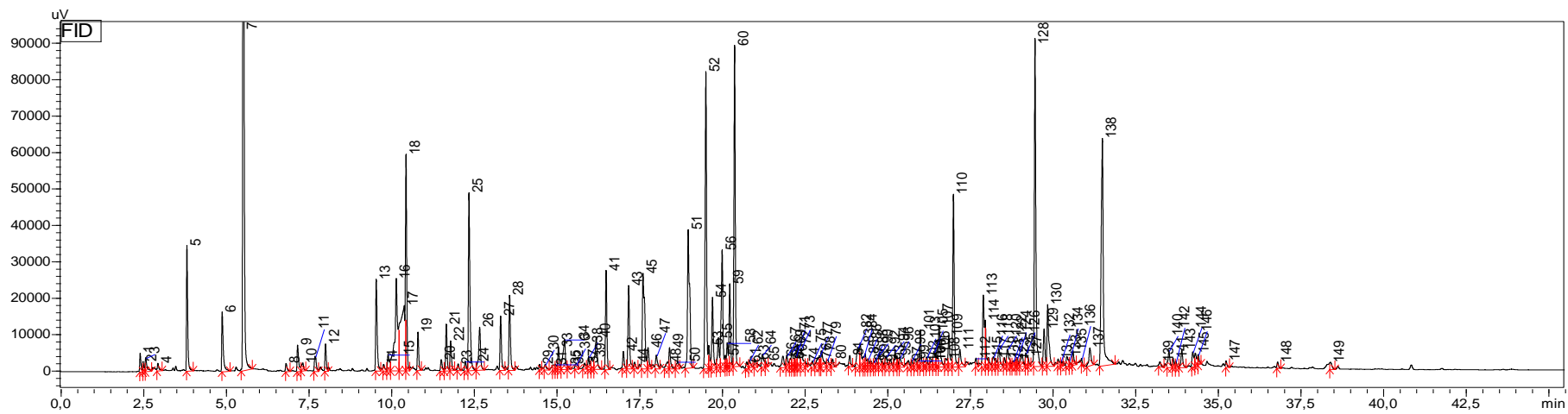
Obrázek IV/1: GC-MS chromatogram máku Aplaus



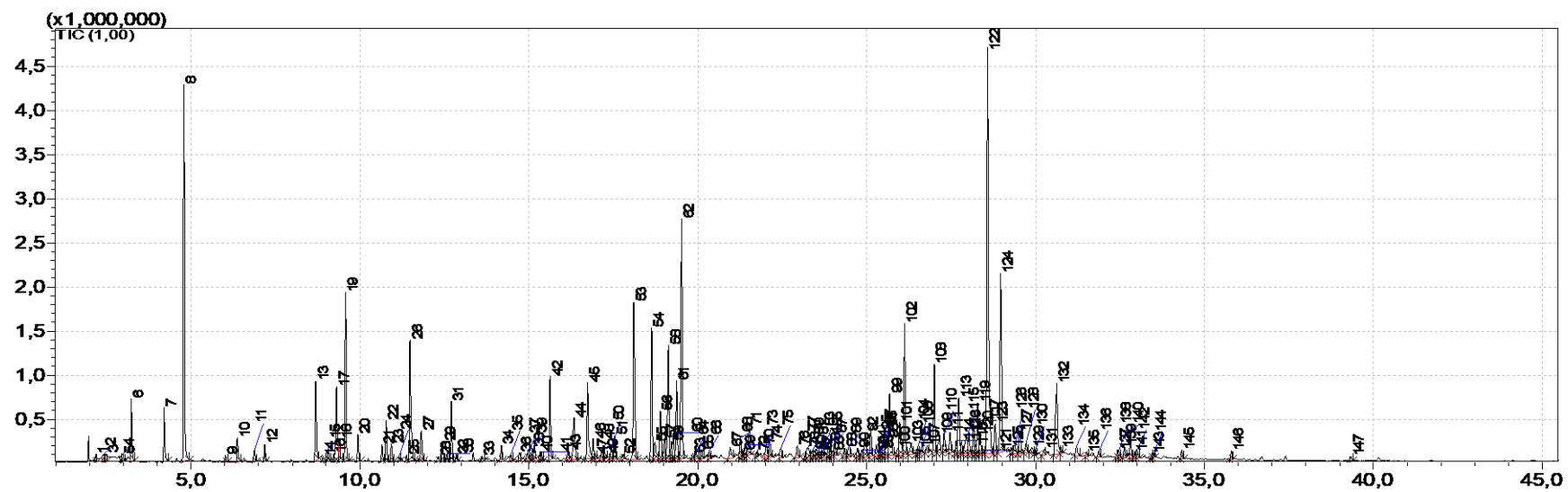
Obrázek IV/2: GC-FID chromatogram máku Aplaus



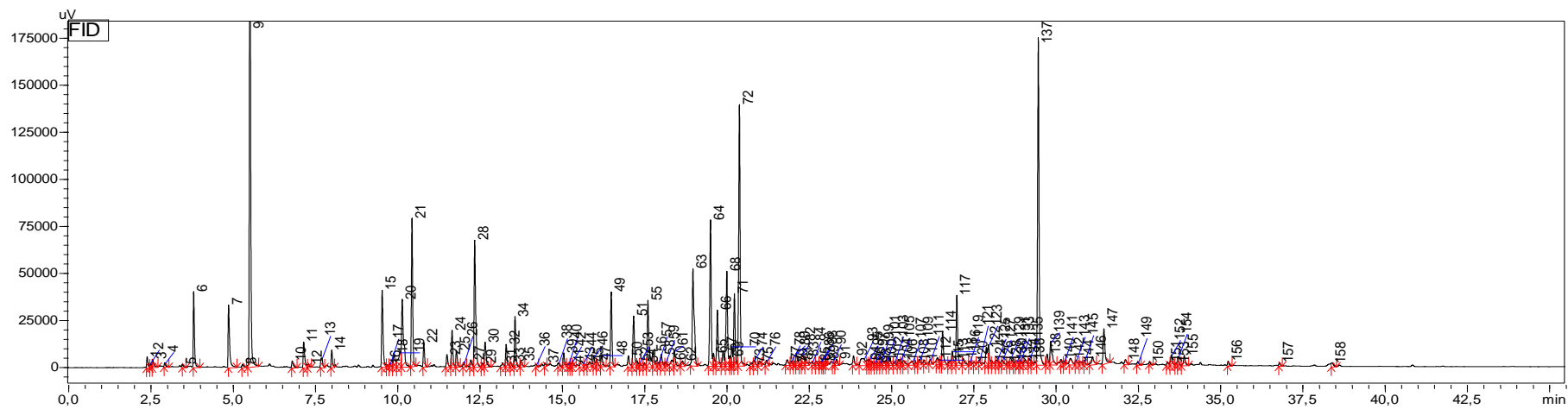
Obrázek IV/3: GC-MS chromatogram máku Azurit



Obrázek IV/4: GC-FID chromatogram máku Azurit

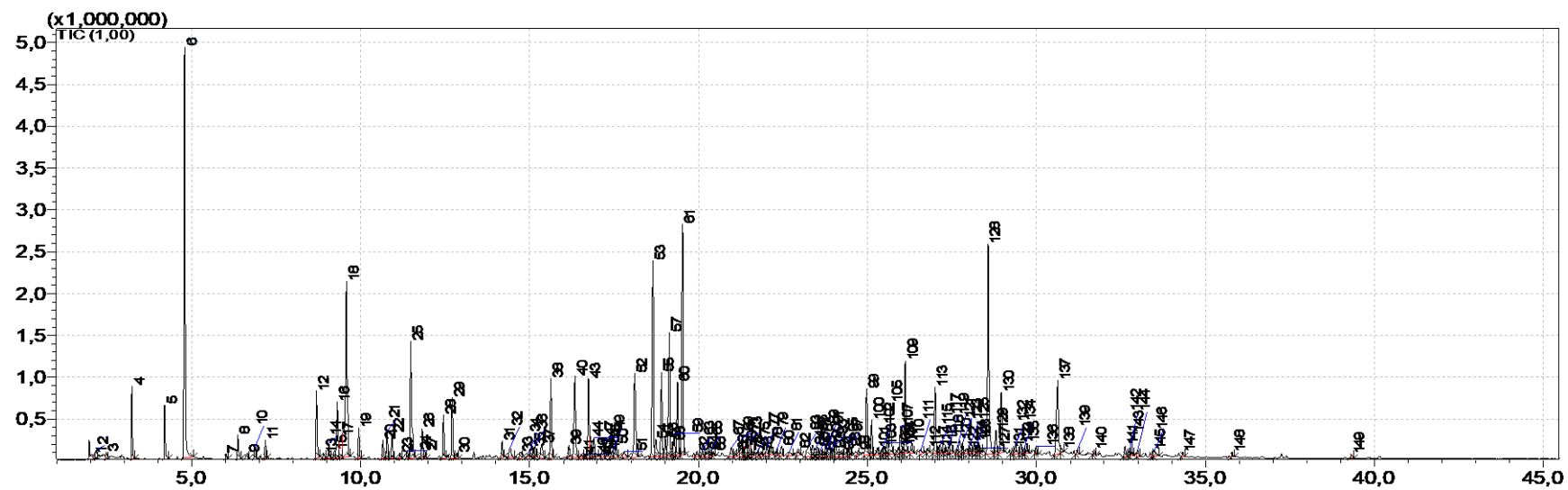


Obrázek VI/5: GC-MS chromatogram máku MS Topas

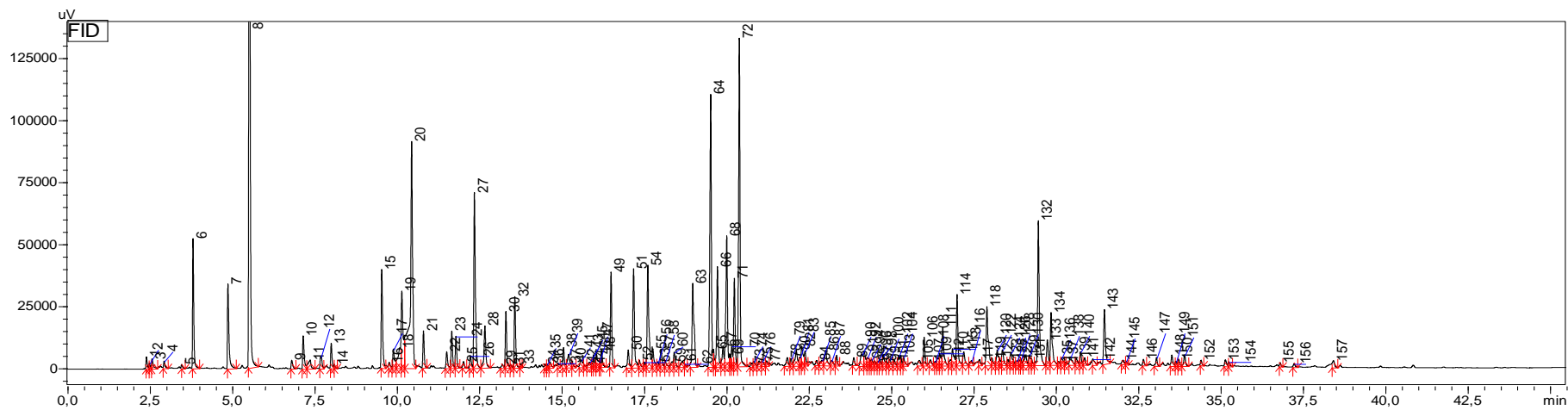


Obrázek VI/6: GC-FID chromatogram máku MS Topas

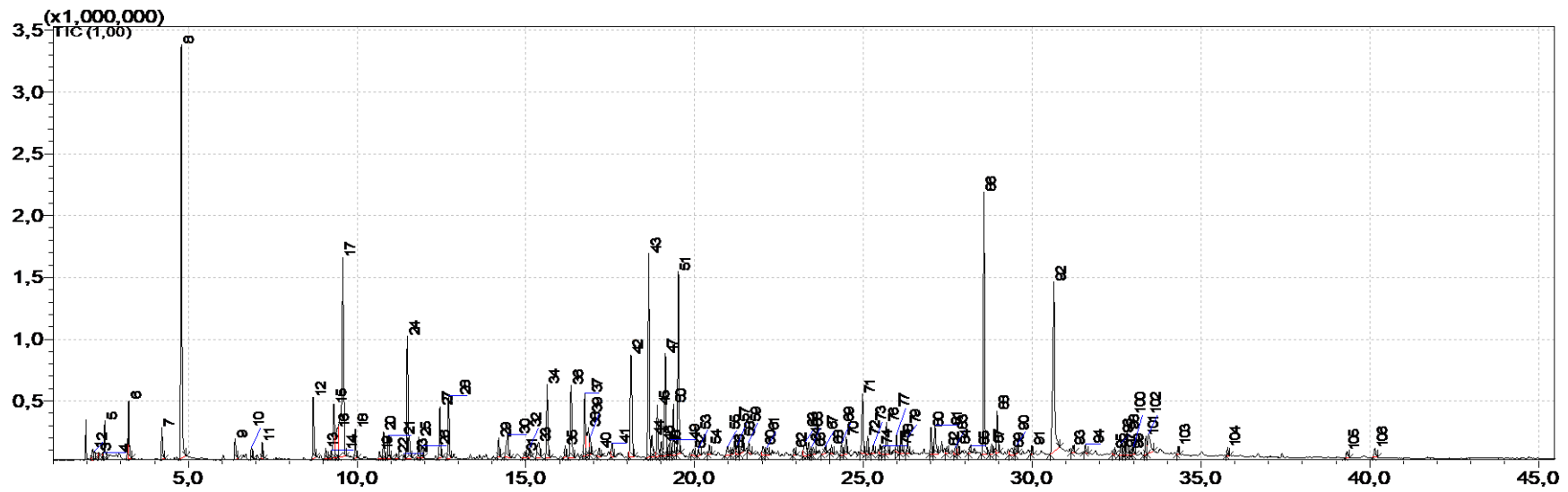




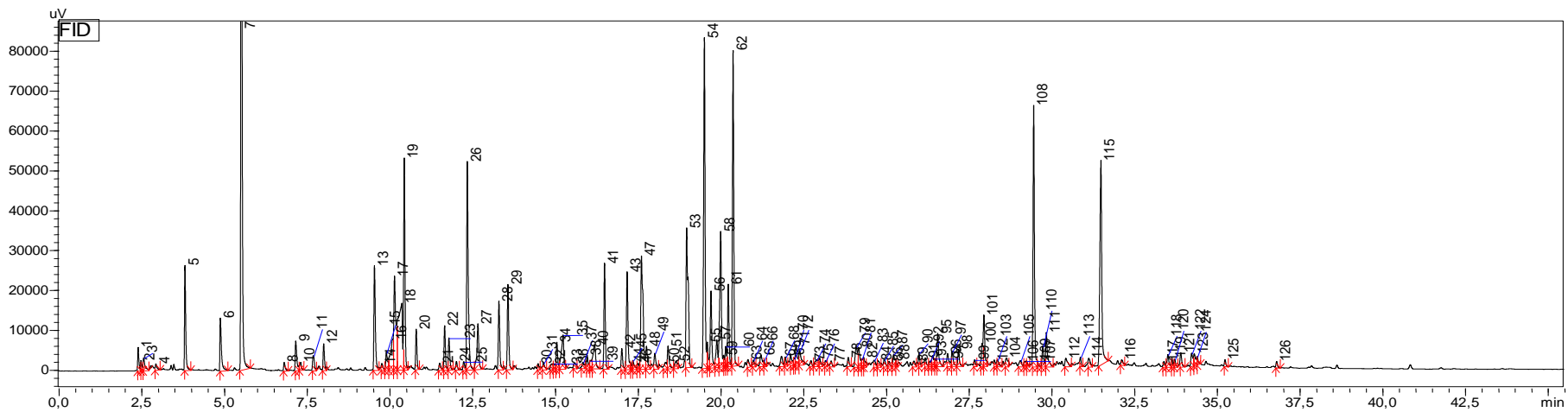
Obrázek IV/7: GC-MS chromatogram máku Sedan



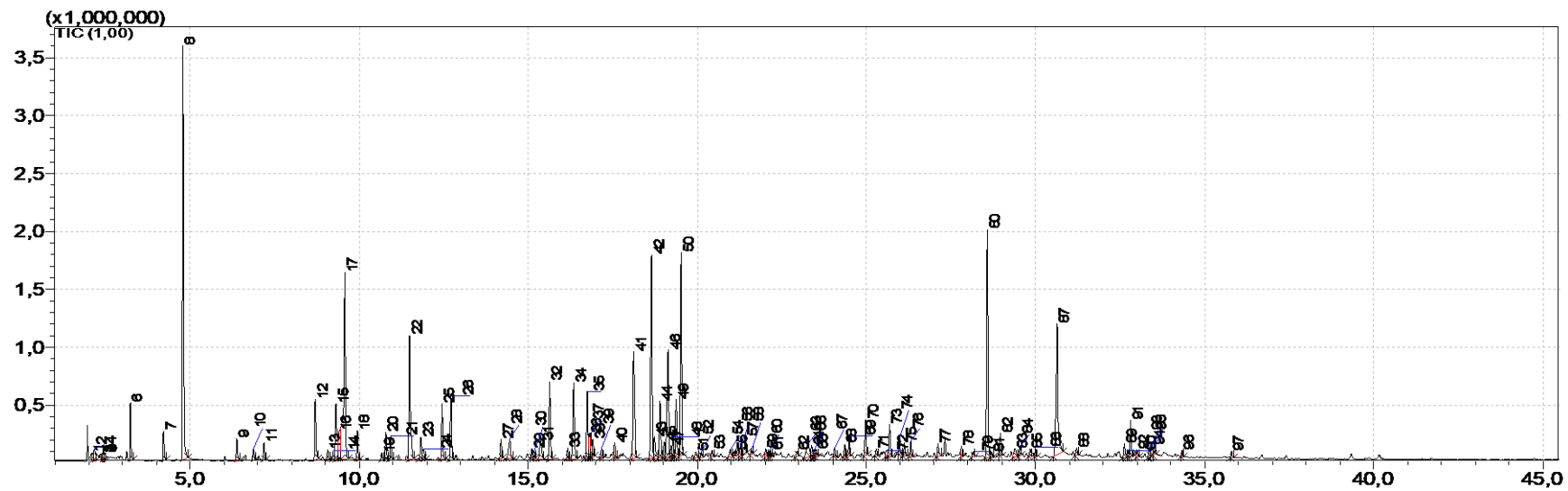
Obrázek IV/8: GC-FID chromatogram máku Sedan



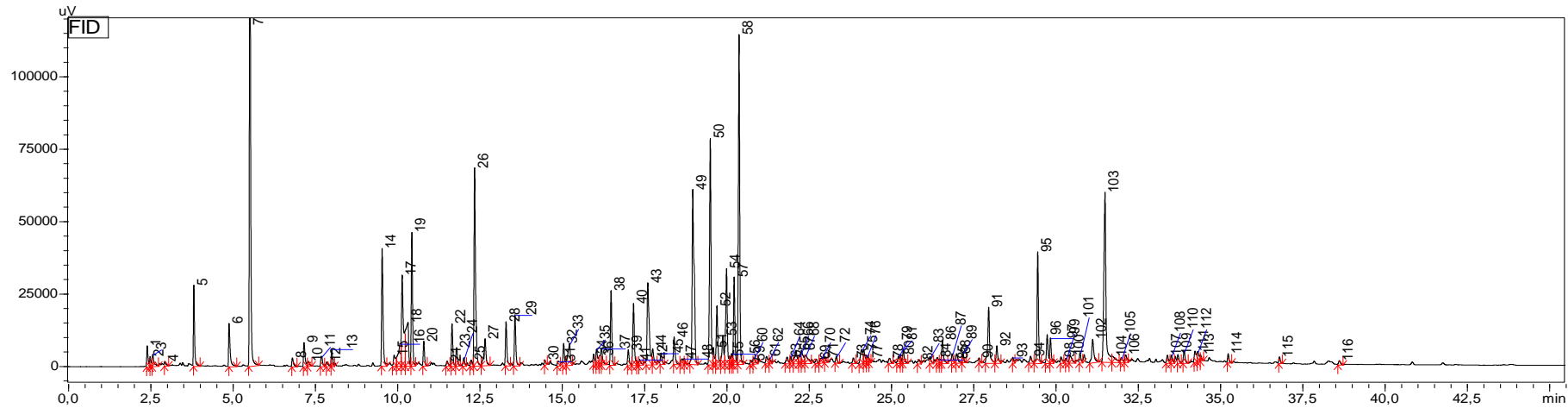
Obrázek IV/9: GC-MS chromatogram máku Opex



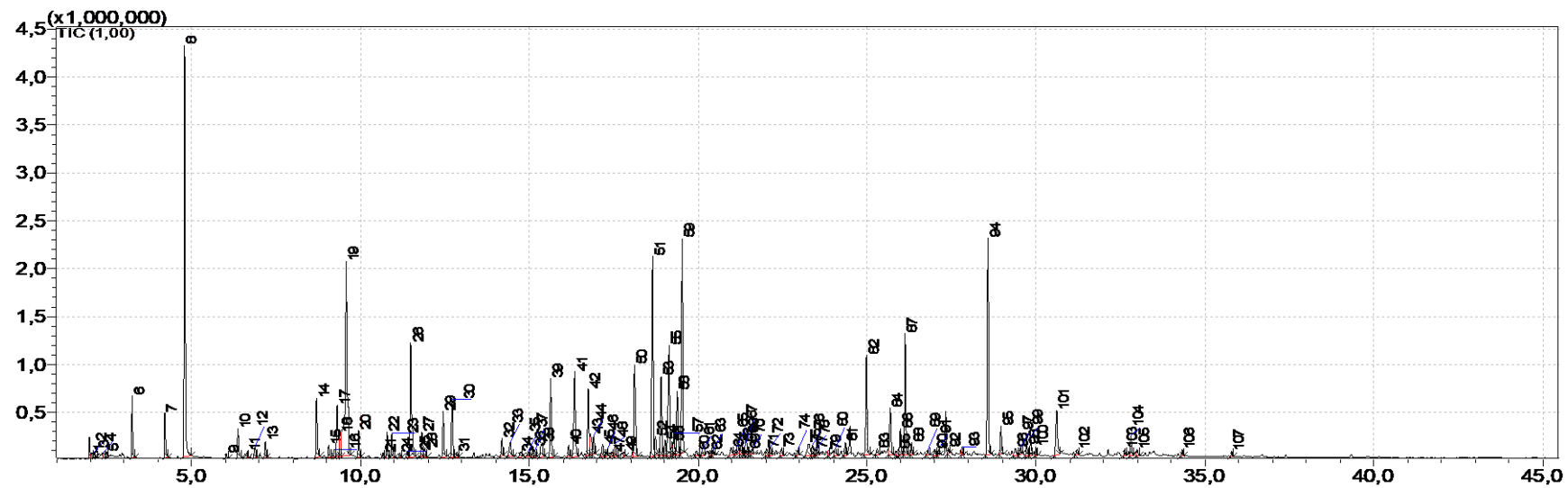
Obrázek IV/10: GC-FID chromatogram máku Opex



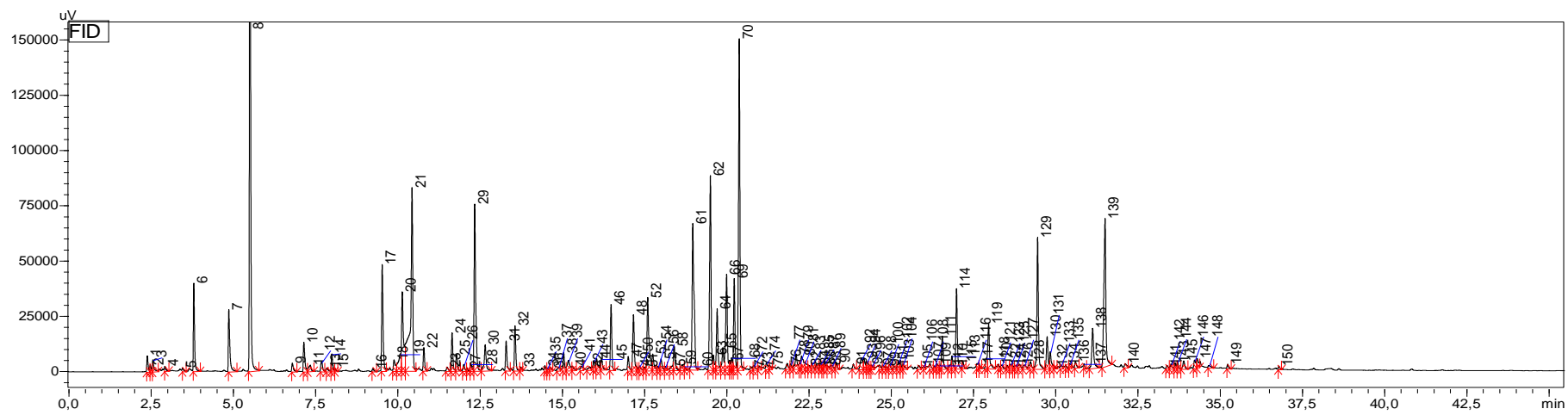
Obrázek IV/11: GC-MS chromatogram máku Onyx



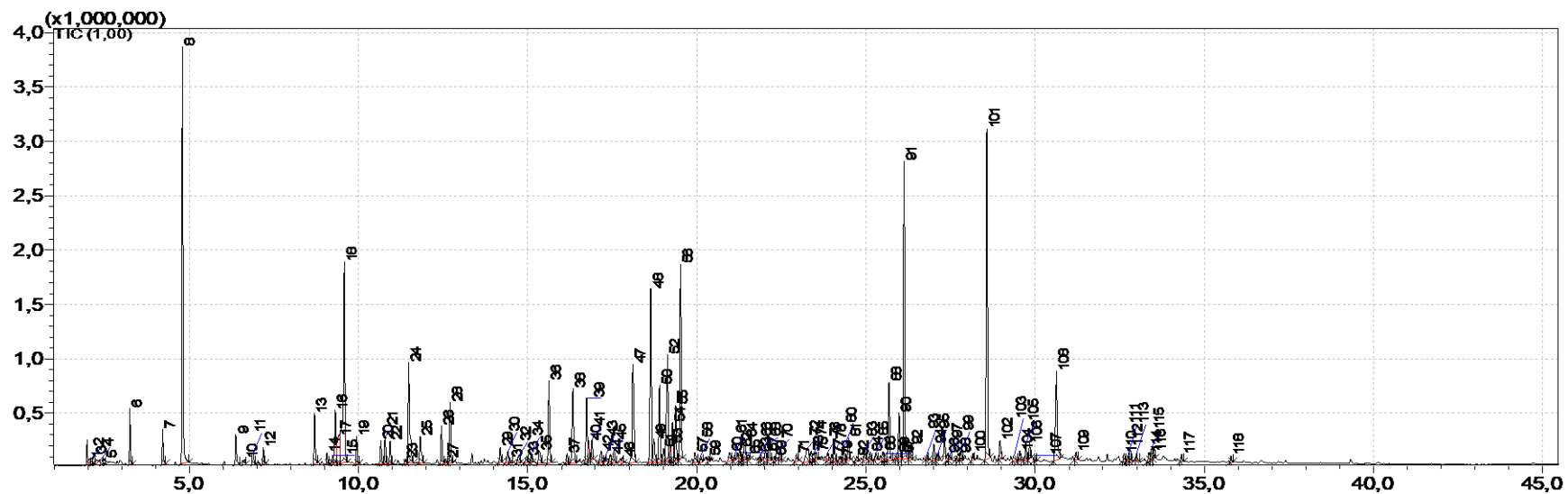
Obrázek IV/12: GC-FID chromatogram máku Onyx



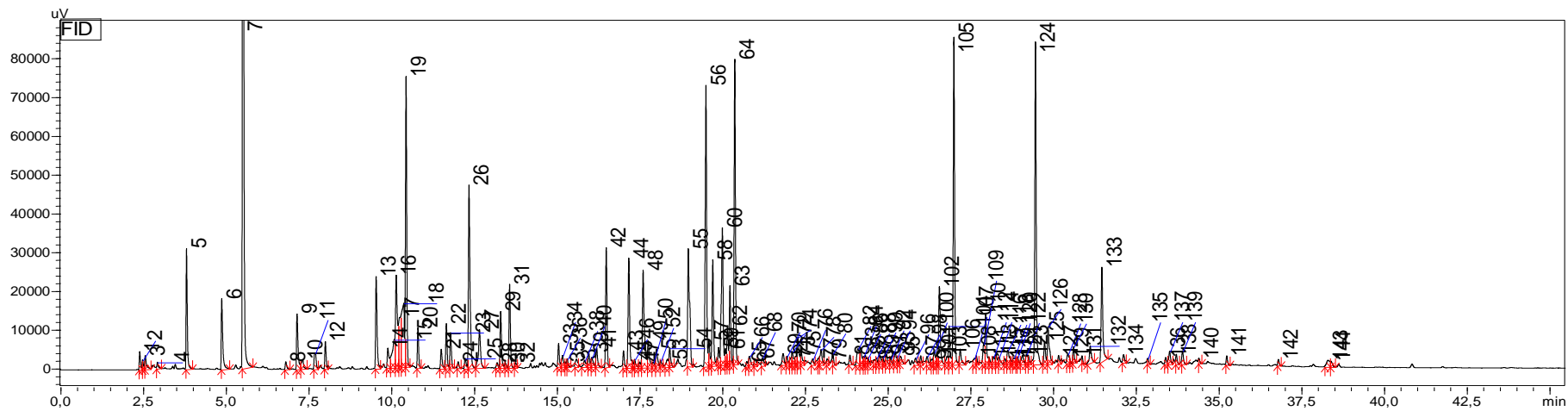
Obrázek IV/13: GC-MS chromatogram máku Harlekyn



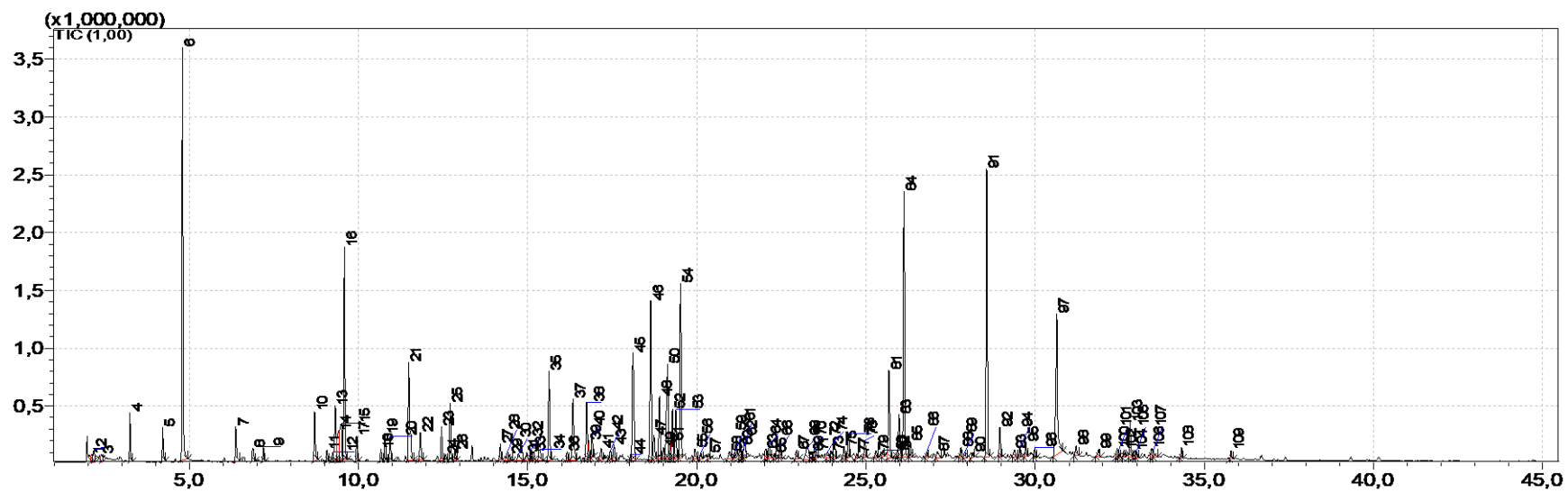
Obrázek IV/14: GC-FID chromatogram máku Harlekyn



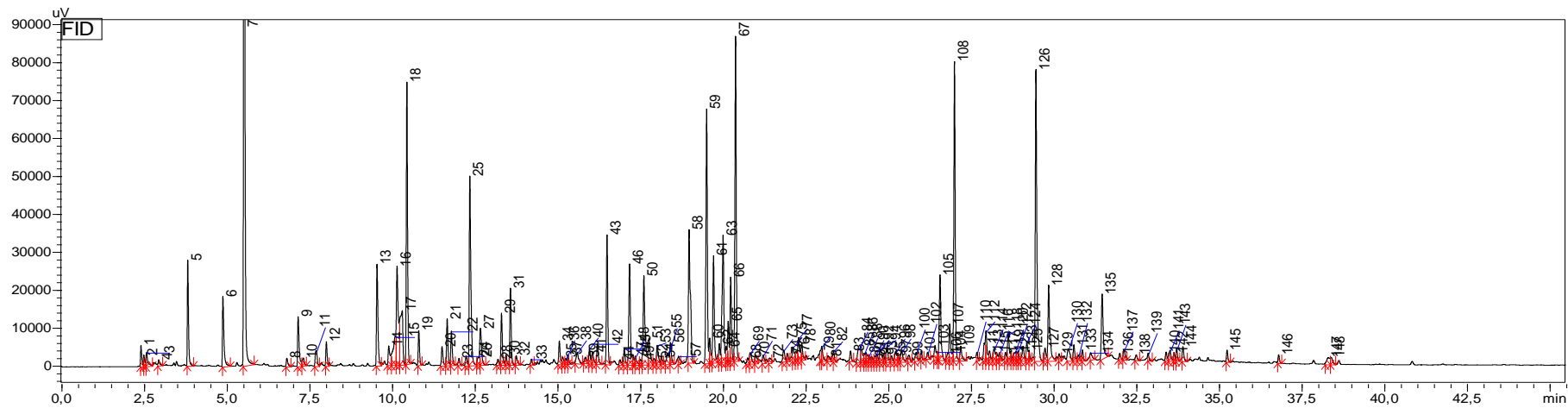
Obrázek IV/15: GC-MS chromatogram máku Diamant



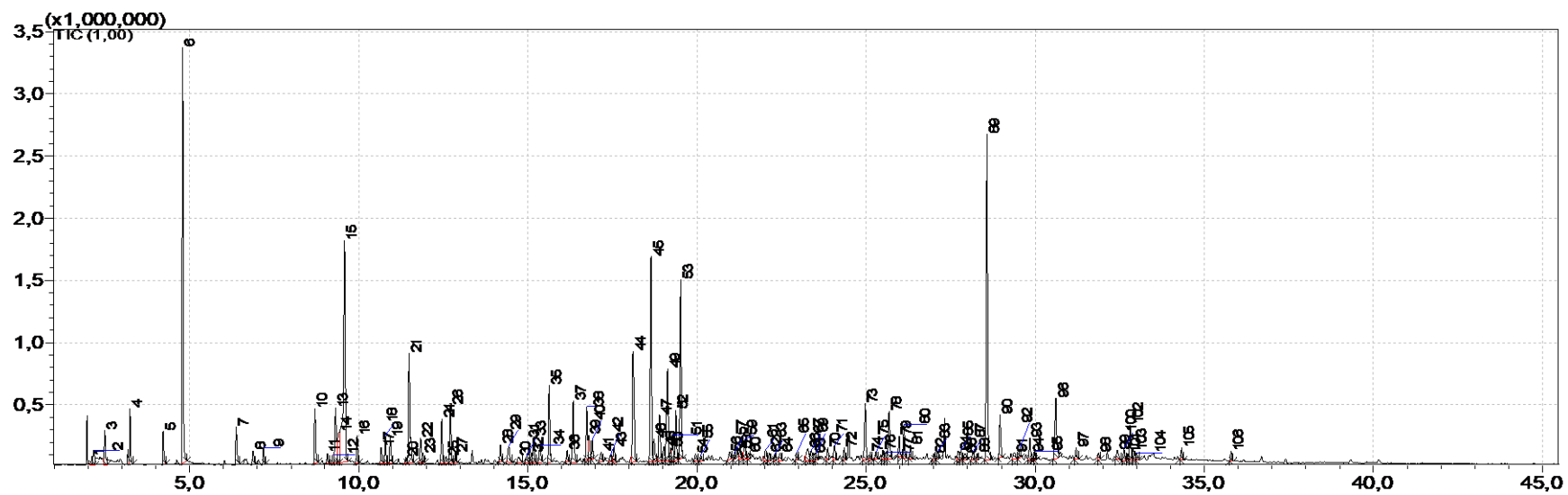
Obrázek IV/16: GC-FID chromatogram máku Diamant



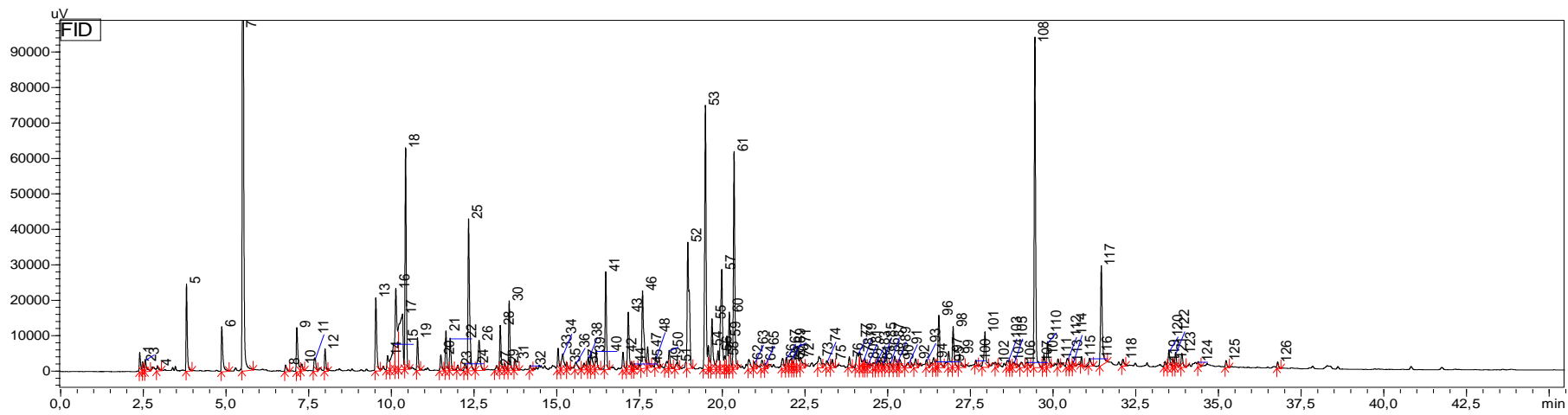
Obrázek IV/17: GC-MS chromatogram máku Zafir



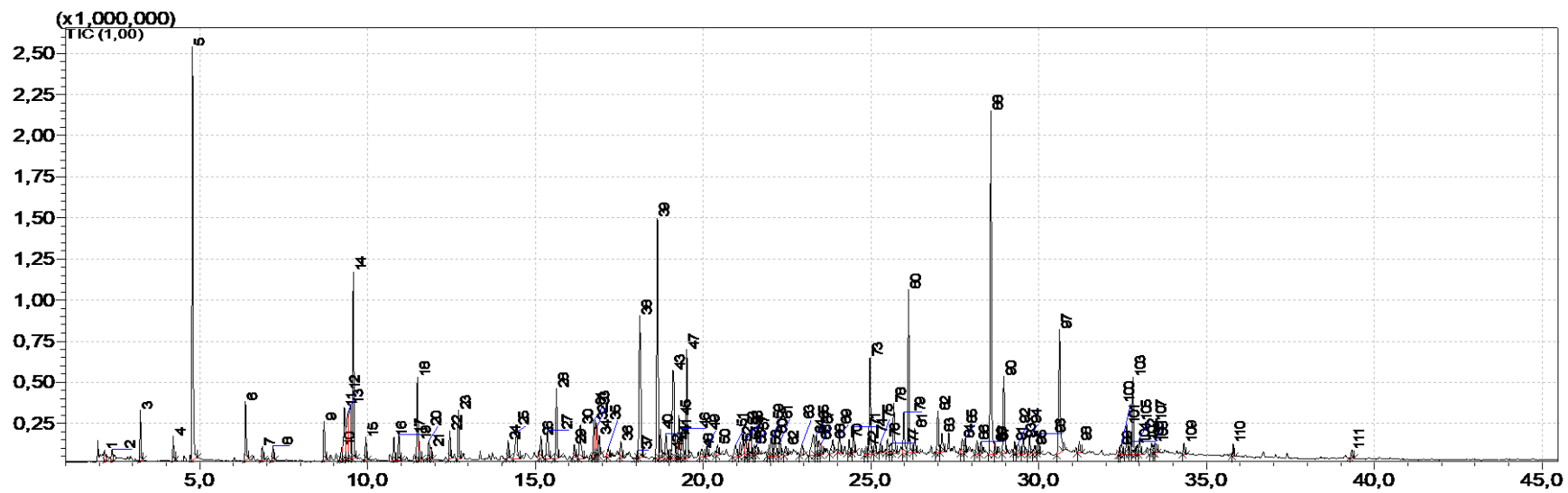
Obrázek IV/18: GC-FID chromatogram máku Zafir



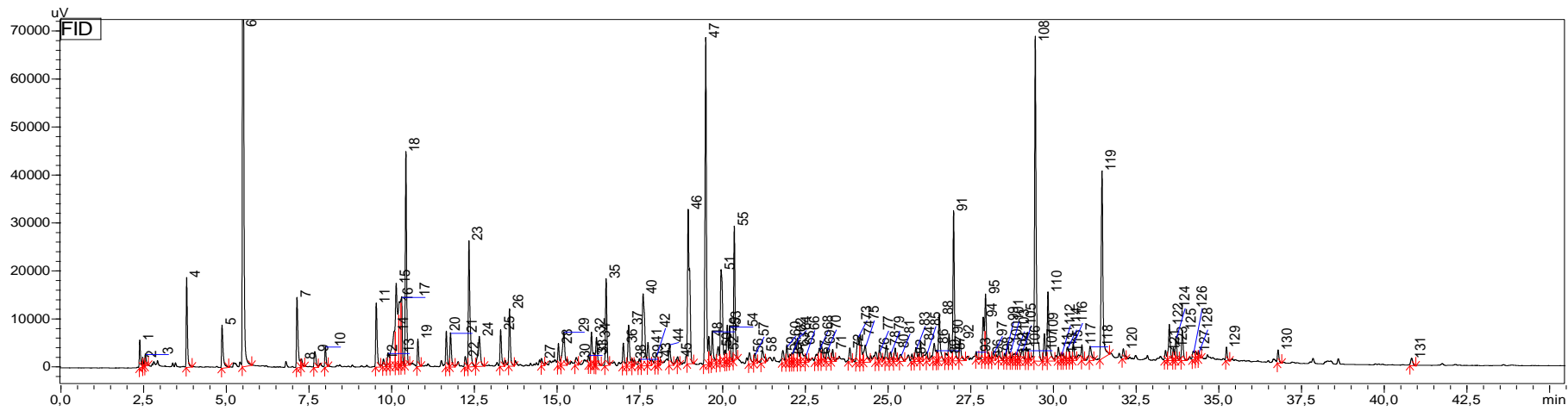
Obrázek IV/19: GC-MS chromatogram máku Opal



Obrázek IV/20: GC-FID chromatogram máku Opal

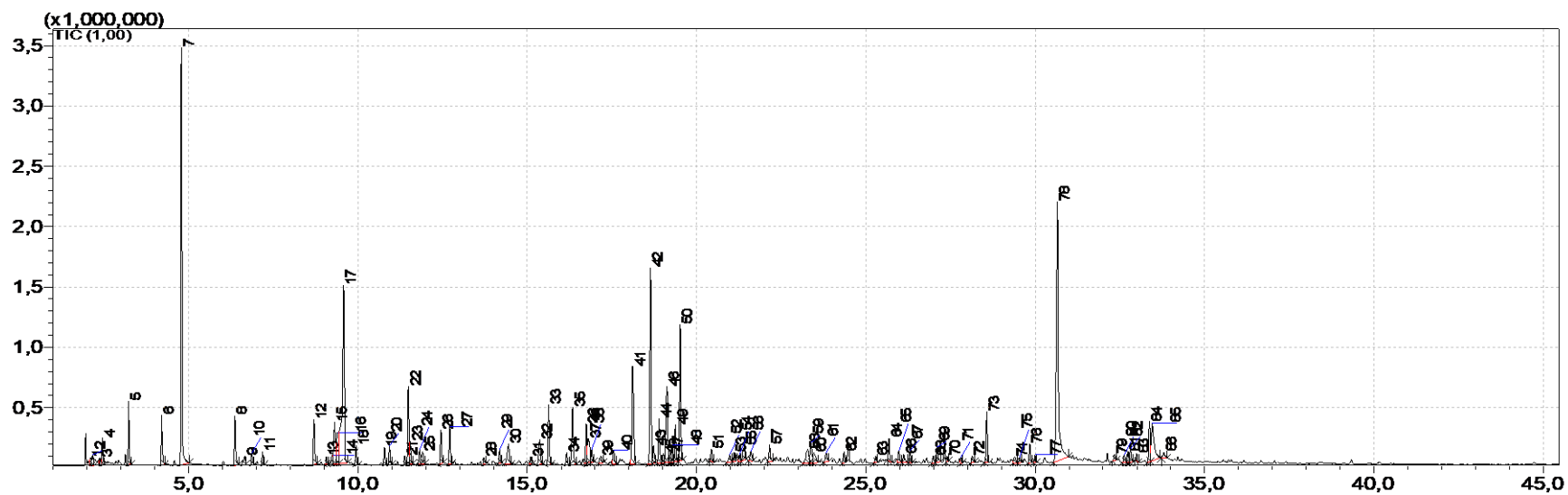


Obrázek IV/21: GC-MS chromatogram máku Orel

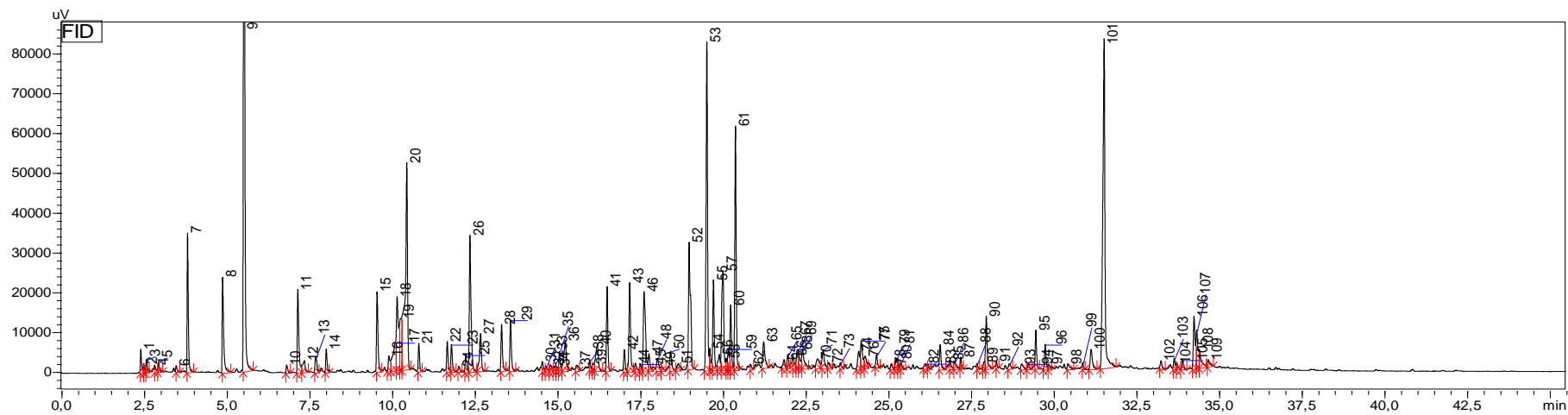


Obrázek IV/22: GC-FID chromatogram máku Orel





Obrázek IV/23: GC-MS chromatogram máku Redy



Obrázek IV/24: GC-FID chromatogram máku Redy