

Univerzita Pardubice
Fakulta chemicko-technologická

Analýza těkavých sloučenin ve vzorcích dřeva

Bc. Eliška Petržilková

Diplomová práce

2023

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

ZADÁNÍ DIPLOMOVÉ PRÁCE

(projektu, uměleckého díla, uměleckého výkonu)

Jméno a příjmení: **Bc. Eliška Petržilková**
Osobní číslo: **C21416**
Studijní program: **N0531A130028 Analytická chemie**
Téma práce: **Analýza těkavých sloučenin ve vzorcích dřeva**
Téma práce anglicky: **Analysis of volatile compounds in wood samples**
Zadávající katedra: **Katedra analytické chemie**

Zásady pro vypracování

1. Proveďte literární rešerši zaměřenou na složení dřeva z pohledu těkavých sloučenin a možnosti jejich stanovení.
2. V experimentální části vyvíjte metodu pro extrakci a separaci těkavých sloučenin obsažených ve vzorcích dřeva. Využijte metody hydrodestilace a mikroextrakce tuhou fází pro extrakci, plynovou chromatografii pro separaci. Výsledné postupy použijte na analýzu těkavých sloučenin v jádrovém a bělovém dřevě vybraných druhů stromů.
3. Dosažené výsledky zhodnoťte.

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

Seznam doporučené literatury:

Podle pokynů vedoucího práce.

Vedoucí diplomové práce: **doc. Ing. Tomáš Bajer, Ph.D.**
Katedra analytické chemie

Konzultant diplomové práce: **Ing. Jana Kubáleková**
Katedra analytické chemie

Datum zadání diplomové práce: **7. února 2023**

Termín odevzdání diplomové práce: **5. května 2023**

prof. Ing. Petr Němec, Ph.D. v.r.
děkan

L.S.

doc. Ing. Petr Česla, Ph.D. v.r.
vedoucí katedry

V Pardubicích dne 20. února 2023

Prohlašuji:

Tuto práci 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. 9/2012 Pravidla pro zveřejňování závěrečných prací a jejich základní jednotnou formální úpravu, ve znění pozdějších dodatků, bude práce zveřejněna v Univerzitní knihovně a prostřednictvím Digitální knihovny Univerzity Pardubice.

V Pardubicích dne 1. 5. 2023

Bc. Eliška Petržilková

Poděkování

Ráda bych poděkovala vedoucímu mé diplomové práce, Ing. Tomáši Bajerovi, Ph.D., za odborné vedení a rady při psaní této práce. Poděkování patří i mé rodině za podporu a chápavý přístup během celé doby mého studia.

ANOTACE

Diplomová práce je zaměřena na analýzu těkavých sloučenin ve vybraných vzorcích dřeva. Teoretická část se věnuje stavbě, vlastnostem a chemickému složení dřeva, dále izolaci a analýze těkavých sloučenin, a nakonec metodám použitým při stanovení.

V experimentální části byla provedena izolace těkavých látek modřínu a ořešáku pomocí vybraných metod, konkrétně simultánní destilací – extrakcí a mikroextrakcí tuhou fází. Vzorky byly analyzovány pomocí plynové chromatografie s hmotnostní a plamenově ionizační detekcí. Na základě výsledků měření analýz byla provedena identifikace a stanovení relativního zastoupení jednotlivých látek v extraktech.

KLÍČOVÁ SLOVA

Modřín, Ořešák, simultánní destilace – extrakce, mikroextrakce tuhou fází, plynová chromatografie

TITLE

Analysis of volatile compounds in wood samples.

ANNOTATION

The diploma thesis is focused on the analysis of volatile compounds in wood species. The theoretical part is devoted to the structure, properties and chemical composition of wood, as well as the isolation and analysis of volatile compounds, and finally the methods used in the determination.

In the experimental part, larch and walnut volatiles were isolated using selected methods, namely simultaneous distillation–extraction and solid phase microextraction. Samples were analyzed by gas chromatography with mass and flame ionization detection. Based on the results of the analysis measurements, the identification and determination of the relative representation of individual substances in the extracts was carried out.

KEYWORDS

Larch, Walnut, simultaneous distillation–extraction, solid phase microextraction, gas chromatography

Obsah

Seznam obrázků	9
Seznam tabulek a příloh.....	10
Seznam zkratk	12
Úvod	13
1. Teoretická část	14
1.2. Dřevo.....	14
1.1.1. Druhy dřevin.....	14
1.1.2. Strukturální stavba dřeva	15
1.1.3. Vlastnosti dřeva.....	16
1.1.4. Chemické složení dřeva.....	18
1.1.5. Minoritní složky dřeva.....	18
1.1.5.1. Terpenické látky	18
1.1.5.2. Třísloviny	19
1.1.5.3. Lipidické látky.....	20
1.1.5.4. Alkaloidy	20
1.2. Modřín.....	20
1.3. Ořešák	21
1.4. Metody izolace silic	21
1.4.1. Destilace	21
1.4.1.1. Simultánní destilace-extrakce	23
1.4.2. Lisování.....	23
1.4.3. Extrakce	24
1.4.3.1. Mikroextrakce tuhou fází	25
1.5. Plynová chromatografie	28
1.5.1. Historie plynové chromatografie	28
1.5.2. Základy plynové chromatografie.....	29
1.5.3. Kolony v plynové chromatografii	31
1.5.4. Detekce v plynové chromatografii	33
1.5.4.1. Plamenově ionizační detektor.....	34
1.5.4.2. Hmotnostní spektrometr	36
1.6. Aplikace extrakčních a separačních metod v analýze aromaprofilů vybraných dřevin	38
2. Experimentální část.....	40

2.1.	Vzorky.....	40
2.2.	Chemikálie a materiál.....	40
2.3.	Instrumentace	40
2.4.	Pracovní postupy.....	40
2.4.1.	Simultánní destilace – extrakce	40
2.4.2.	Mikroextrakce tuhou fází	41
2.4.3.	Plynová chromatografie	41
3.	Výsledky a diskuze.....	43
3.1.	Výběr vlákna pro SPME	43
3.2.	Optimalizace podmínek SPME	43
3.2.1.	Shrnutí optimalizace	46
3.3.	Analýza vzorků	46
3.3.1.	Ořech.....	47
3.3.1.1.	Simultánní destilace-extrakce	47
3.3.1.2.	Mikroextrakce tuhou fází	51
3.3.2.	Modřín.....	53
3.3.2.1.	Simultánní destilace-extrakce	53
3.3.2.2.	Mikroextrakce tuhou fází	59
3.3.2.3.	Porovnání s literaturou	60
	Závěr.....	62
	Zdroje	63
	Přílohy	69

Seznam obrázků

Obrázek 1: Hydrodestilační systém Clevengerova přístroje	22
Obrázek 2: Extrakční režimy: A) přímá extrakce, B) extrakce plynného prostoru, C) extrakce s membránovou ochranou [24].....	25
Obrázek 3: Modifikace SPME [24].....	28
Obrázek 4: Schéma plynového chromatografu [33]	31
Obrázek 5: Znázornění stacionárních fází v jednotlivých typech kapilárních kolon [36]	33
Obrázek 6: Schéma plamenově ionizačního detektoru [39].....	36
Obrázek 7: Kvadrupólový analyzátor [36].....	38
Obrázek 8: Analyzované vzorky pilin.....	40
Obrázek 9: Závislost počtu píků na teplotě a čase	44
Obrázek 10: Závislost celkové plochy píků na teplotě a čase	45
Obrázek 11 (A,B): Kombinace počtu píků a celkové plochy vyjádřená jako vhodnost v závislosti na teplotě a čase v 3D (A) a 2D (B) zobrazení	46

Seznam tabulek a příloh

Tabulka 1: Oblast použití dřeva podle procentuálního obsahu vody [3]	14
Tabulka 2: Průměrné hodnoty sledovaných ukazatelů [9]	17
Tabulka 3: Skupiny terpenů	19
Tabulka 4: Dělení tríslovin.....	19
Tabulka 5: Příklady destilačních časů stanovených normou [17].....	22
Tabulka 6: Komerčně dostupné povlaky vláken SPME [26].....	26
Tabulka 7: Výběr vhodného vlákna SPME [27]	26
Tabulka 8: Porovnání GC detektorů	34
Tabulka 9: Porovnání metod pro stanovení aromatických látek ve dřevě	38
Tabulka 10: Výsledky analýz s použitím extrakčních vláken s různými sorbenty (separační metoda GC-MS).....	43
Tabulka 11: Výsledky jednotlivých extrakcí při optimalizaci podmínek HS-SPME na vlákne 50/30 µm DVB/CAR/PDMS (separační metoda GC-FID)	44
Tabulka 12: Porovnání počtu a zastoupení látek v jádrovém a bělovém ořechovém dřevě po simultánní destilaci – extrakci	47
Tabulka 13: Identifikované sloučeniny po simultánní destilaci – extrakci vzorku jádrového a bělového ořechového dřeva	48
Tabulka 14: Porovnání počtu a zastoupení látek v jádrovém a bělovém ořechovém dřevě po mikroextrakci tuhou fází	51
Tabulka 15: Identifikované sloučeniny po mikroextrakci tuhou fází vzorku jádrového a bělového ořechového dřeva	52
Tabulka 16: Porovnání počtu a zastoupení látek v jádrovém a bělovém modřínovém dřevě po simultánní destilaci – extrakci.....	54
Tabulka 17: Identifikované sloučeniny po simultánní destilaci – extrakci vzorku jádrového a bělového modřínového dřeva	54
Tabulka 18: Porovnání počtu a zastoupení látek v jádrovém a bělovém modřínovém dřevě po mikroextrakci tuhou fází	59
Tabulka 19: Identifikované sloučeniny po mikroextrakci tuhou fází vzorku jádrového a bělového modřínového dřeva	59

Příloha 1: GC-MS chromatogram extraktu jádrového dřeva modřínu po simultánní destilaci-extrakci	69
Příloha 2: GC-MS chromatogram extraktu bělového dřeva modřínu po simultánní destilaci-extrakci	70
Příloha 3: GC-MS chromatogram extraktu jádrového dřeva ořešáku po simultánní destilaci-extrakci	71
Příloha 4: GC-MS chromatogram extraktu bělového dřeva ořešáku po simultánní destilaci-extrakci	72
Příloha 5: GC-MS chromatogram extraktu jádrového dřeva modřínu po mikroextrakci tuhou fází	73
Příloha 6: GC-MS chromatogram extraktu bělového dřeva modřínu po mikroextrakci tuhou fází	74
Příloha 7: GC-MS chromatogram extraktu jádrového dřeva ořešáku po mikroextrakci tuhou fází	75
Příloha 8: GC-MS chromatogram extraktu bělového dřeva ořešáku po mikroextrakci tuhou fází	76

Seznam zkratek

VMK – vyšší mastné kyseliny

SDE – simultánní destilace-extrakce

SFE – superkritická fluidní extrakce

SPE – extrakce tuhou fází

HS-SPME – mikroextrakce tuhou fází z headspace prostoru

PDMS – polydimethylsiloxan

DVB – divinylbenzen

CAR – karboxen

CW – karbowax

PEG – polyethylenglykol

PFBHA – O-(2,3,4,5,6-pentafluorbenzyl) hydroxylamin hydrochlorid

PA – polyakrylát

MW – molekulová hmotnost

GC – plynová chromatografie

ppb – (parts per billion) – jedna miliardtina

ppm – (parts per million) – jedna miliontina

SF – stacionární fáze

LOD – limit detekce

FID – plamenově ionizační detektor

MS – hmotnostní spektrometrie

EI – elektronová ionizace

CI – chemická ionizace

Úvod

Těkavé látky se v dřevinách vyskytují v minoritním množství, ale dávají nám celkové aroma dřeva. Vyskytují se jak pod povrchem kůry (v bělovém dřevě), tak ve středu (v jádrovém dřevě), kde by jejich zastoupení a intenzita měla být nejvyšší. Těkavé látky z rostlinného materiálu se tradičně používají v parfumérském průmyslu. Druhy a množství těkavých látek se mezi druhy dřevin může lišit. Složení je závislé na podmínkách a prostředí růstu, proto se odlišují i jednotlivé poddruhy dřevin.

Tyto látky se z rostlinných materiálů izolují nejčastěji destilačními nebo extrakčními metodami. Hydrodestilace je metoda, která se dá využít jak v laboratořích, tak ve velkovýrobě. Nevýhodou této metody je časová náročnost, ale tu kompenzuje její nízká cena. Častou alternativou se v dnešní době stává mikroextrakce tuhou fází nebo extrakce nadkritickou tekutinou. První z těchto alternativ vyniká svou jednoduchostí, rychlostí a vyžaduje pouze malé množství vzorku, nicméně se jedná pouze o metodu pro laboratorní analýzu

Cílem diplomové práce byla identifikace těkavých látek v jádrovém a bělovém dřevě modřínu a ořešáku. Dále stanovení relativního zastoupení identifikovaných látek a porovnání obsahu látek v různých částech dřeva i mezi vybranými druhy dřevin v závislosti na metodě izolace. Izolace těkavých látek byla provedena dvěma vybranými metodami. První byla simultánní destilace – extrakce a druhá mikroextrakce tuhou fází. K analýze izolovaných látek byla použita plynová chromatografie s hmotností a plamenově ionizační detekcí.

1. Teoretická část

1.2. Dřevo

Dřevo jako materiál využíváme ke stavbě, výrobě nábytku, nástrojů, zbraní nebo papíru. Jeho široká pestrost technických a vzhledových vlastností nám určuje využití jednotlivých druhů pro konkrétní účely. Dřeviny, které méně pracují a jsou stabilní – borovice, smrk, jasan nebo javor. Další jsou dřeviny s dobrou opracovatelností – buk, olše, lípa a druhy dřevin s dobrou povrchovou úpravou – jasan, třešeň, ořech. Toto základní dělení nám určuje oblasti využití různých druhů stromů. Dalším důležitým faktorem při výběru dřeva pro odborníky je vlhkost viz. *Tabulka 1*. Mezi nejčastěji používané dřevo se řadí dub. Jeho dřevo je využitelné prakticky ve všech možných odvětvích s dřevem spojených. Nejvíce odolává povětrnostním podmínkám i střídání vlhka a sucha. Druhým nejčastěji používaným dřevem je smrk. V oblasti stavebnictví se tyto 2 druhy využívají nejvíce, navíc ještě s borovicí. Nábytkářský průmysl je velmi rozmanitý ohledně výběru dřeva. Nejčastěji používaným dřevem je bukové či dubové. Masivní nábytek je z modřínového dřeva a pokud je zájem o barevnější kousky, tak se využívá třešeň či švestka. Javorové dřevo se naopak řadí mezi nejsvětější dřevo. Mahagonové dřevo se používá v replikách starožitného nábytku. Mezi luxusní nábytek se řadí ebenové dřevo. Hudební nástroje jsou vyráběny z dřevin, které výborně rezonují a mezi ně se řadí lípa či habr. Rukojeti zbraní se nejčastěji vyrábí z ořechu nebo akátu. Papírnický průmysl využívá topol či břízu. Důležitou oblastí využití dřeva je i sport. Sportovní náčiní vyžaduje pružný a zároveň pevný materiál a tomu odpovídá jasanové dřevo. [1, 2]

Tabulka 1: Oblast použití dřeva podle procentuálního obsahu vody [3]

Vlhkost dřeva	
Použití dřeva	Max. %
Vodní díla	30
Konstrukce vystavené vlivu počasí, nechráněné	18-25
Chráněná díla pod širým nebem	16-20
Pod střechou	13-18
Uzavřené vytápěné prostory	6-8
Okna	10-14
Hračky, hudební nástroje	5-6

1.1.1. Druhy dřevin

Jehličnany jsou celoročně zelené rostliny s neopadavým jehličím (až na výjimku modřínu). Rostou převážně v chladných, mírných severních oblastech a jsou globálním zdrojem dřeva. Na Zemi se objevily před více než 275 miliony let, přesáhly všechny ostatní rostliny, a

nakonec obsadily celé dvě třetiny zemského povrchu. Rozsáhlé jehličnaté lesy pokrývají nad 60. stupněm severní šířky celou oblast polárních krajin. Jiný název pro tuto skupinu stromů je tzv. nahosemenné rostliny. Jejich semena nejsou uzavřena v semeníku nebo plodu, ale spojena s modifikovaným listem (šiškou). Druhy plodící šišky se vyskytují také na území s mírným podnebím. Jehličnaté stromy jsou často nazývány také jako měkké dřeviny. Mezi zástupce patří smrk, borovice, jedle a modřín (jako jeden ze zkoumaných vzorků bude více popsán níže).

Listnaté stromy zahrnují druhy, z nichž většina v chladných oblastech na zimu shazuje své listí. Tyto druhy se na Zemi objevily později, a to teprve před 140 miliony let. Vzdušný zemské kůry a velké klimatické změny mělo za následek početného snížení počtu listnatých stromů a místy byly nahrazeny rozsáhlými pláněmi savan a bezstromového porostu. Tyto druhy dřevin jsou často nazývány také jako tvrdé dřeviny. Listnaté stromy mající květy a plody se řadí mezi krytosemenné rostliny. Ty se dále dělí do dvou podskupin – jednoděložné (kam spadají byliny, které neobsahují samotné dřevo jako takové) a dvouděložné. Dvouděložné se dále dělí na vyšší a nižší. Vyšší mají květy, které obsahují kalich a korunu. Mezi ně se řadí například jablonoň, hrušeň, javor a další. Naopak nižší dvouděložné rostliny mají nenápadné květy, které neobsahují korunu a často ani kalich, ale naopak produkují odolnější dřevo. Patří sem například bříza, olše, buk, dub a ořešák (jako druhý zástupce ze zkoumaných vzorků bude více popsán níže). Listnaté lesy se rozkládají v mírném pásu Evropy, Asie a Ameriky a jejich souvislý porost přerušují pouze pohoří a suché oblasti. [4]

1.1.2. Strukturální stavba dřeva

U letitějších stromů můžeme pozorovat změnu vnitřní části kmene. Dřevo je zde sušší a hustší, oproti tomu dřevo dál od středu, tedy pod kůrou je vlhčí a řidší. Tyto dvě části kmene jsou často odlišeny i barevně. Rozdělujeme je na tmavší středovou část neboli jádrové dřevo a světlejší část nazývanou bělové dřevo. Bělové dřevo (též běl) je aktivní část kmene a vede vodu s živinami. Do vodních kanálků se ukládají pryskyřice, třísloviny a jiné látky. Jádrové dřevo (též jádro) vzniká odumíráním živých buněk, již nevede vodu a mění se na zralé dřevo. Jádro je méně propustné, trvanlivější a více rezistentní vůči parazitům. Některé druhy dřevin mají jádro velmi široké a běl úzký, jindy naopak je běl široký a někdy až nerozlišitelný od jádra. Některé dřeviny jádro nemají a nazýváme je bělové, jedná se například o břízu, olši, javor či buk. Příklady jádrového dřeva jsou dub, modřín, kaštan či ořech. [5, 6]

Tvorba jádrového dřeva je posledním krokem v životním cyklu buněk. Před touto konečnou fází prochází buňky metabolickými změnami v přechodové zóně mezi bělovým a

jádrovým dřevem. Dochází ke zvýšené syntéze sekundárních metabolických sloučenin nazývaných extrakty (extraktivní látky). Tyto extrakty mají zásadní vliv na vlastnosti dřeva, zejména co se týče jeho odolnosti vůči plísním a dalším formám biologického napadení. Proces tvorby jádrového dřeva je tedy spojen se smrtí buňky, mizením zásobního materiálu a zvýšením obsahu extraktů. Byly popsány dva možné mechanismy tvorby jádrového dřeva. První popisuje akumulaci fenolických extraktivních látek v přechodové zóně, mezi jádrem a bělem, bez jakékoli indikace fenolických prekurzorů ve stárnoucím bělovém dřevě. Druhý popisuje postupnou akumulaci fenolických prekurzorů ve stárnoucích tkáních bělového dřeva, u tohoto typu vznikají extraktivní látky v přechodové zóně primárními a sekundárními reakcemi jako je oxidace a hydrolýza prekurzorových látek. Druhy a počty těchto extraktivních látek jsou závislé na druhu dřeva, genetických predispozicích a na prostředí. U některých druhů jsou extraktivní látky přítomny v nižších koncentracích, příkladem je smrk, kde se pohybujeme okolo 1-2 %. Naopak u jiných druhů jako je například modřín se dostaneme až na 30 %. Tato skutečnost řadí modřín mezi význačné zdroje trvanlivého dřeva. Jeho extraktivní látky se řadí do skupin terpenoidů, flavonoidů, lignanů, mastných kyselin a dalších. [7]

1.1.3. Vlastnosti dřeva

Každé dřevo má své charakteristické vlastnosti. Rozdílnost druhů je znatelná již na první pohled a jedná se o barvu. Ta je ovšem ovlivněna stářím a dalšími vnějšími vlivy jako hniloba. Dále můžeme dřevo rozlišovat podle tzv. kresby. Kresby (textury) jsou ovlivněny směrem řezu dřeva. Rozlišujeme 3 základní řezy – příčný, radiální, tangenciální. Esenciální vlastností dřeva je vůně. Celkové aroma je složeno z kombinací různých látek specifických pro každý druh dřeva, ale je ovlivněno i přítomností tříslovin a hub. Mezi nejintenzivnější látky se řadí pryskyřice. Poslední z těchto tzv. vzhledových vlastností je lesk. Některé dřeviny jsou charakteristické svým hedvábným leskem (např. javor, lípa).

Mezi mechanické vlastnosti dřeva řadíme hmotnost, hustotu, tvrdost, pružnost a dominantní vlastností je pevnost. Hmotnost je s hustotou velmi provázaná. Čím vyšší má dřevo hustotu, tím má méně pórů, a tudíž větší hmotnost. Dřeviny dle hmotnosti můžeme rozdělit na velmi lehké (balza), lehké (lípa, topol), poměrně lehké (smrk, borovice, modřín), středně těžké (javor, buk), těžké (habr) a velmi těžké (eben). Hustota dřeva je závislá na stavbě dřeva a na objemu vody ve dřevě. Z tohoto důvodu se uvádí údaj vlhkost dřeva. Tvrdost je rozhodující vlastnost v souvislosti s opracovatelností dřeva. Čím je dřevo tvrdší, tím více odolává nástrojům na obrábění, ale také způsobuje jejich opotřebení. Také tato vlastnost je závislá na struktuře buněk a obsahu vody. S rostoucí hustotou tvrdost roste, ale s větším obsahem vody klesá.

V praxi postačuje dělení tvrdosti dřeva na měkké a tvrdé dřeviny. Pružnost je schopnost dřeva vracet se do původního tvaru poté co vnější síla přestane na dřevo působit. Po překročení stanoveného limitu pružnosti dochází k deformaci až prasknutí. Pokud na dřevo působí síla dlouhodobě, jsou dřevní vlákna opotřebena a opět může dojít k deformaci. Pevnost dřeva je odpor proti vnějšímu působení síly a je značně rozdílná i v rámci jednoho druhu a s větším objemem vody klesá. Jádrové dřevo je pevnější než bělové. [8]

Některé fyzikálně chemické vlastnosti různých částí kmene dřeva jsou shrnuty v *Tabulce 2* (30 různých stromů ze 4 oblastí v České republice). Dle hodnot si můžeme potvrdit rozdíly ve vlhkosti jádra a běli. Obsah vody pak následně ovlivňuje absorpční koeficient i hustotu u čerstvého dřeva. U sušiny se hodnoty absorpčního koeficientu i objemové hmotnosti téměř rovnají. [9]

Tabulka 2: Průměrné hodnoty sledovaných ukazatelů [9]

Typ vzorků	$\bar{x} (\cdot 10^{-4})$
Absorpční koeficient čerstvého dřeva (μ/cm)	
Kůra-Běl	1460,1
Běl	1432,9
Běl-Jádro	1035,2
Jádro	796,5
Hustota čerstvého dřeva (g/cm^3)	
Kůra-Běl	0,976
Běl	0,929
Běl-Jádro	0,714
Jádro	0,533
Vlhkost (%)	
Kůra-Běl	138,2
Běl	135,2
Běl-Jádro	63,7
Jádro	32,2
Absorpční koeficient sušiny (μ/cm)	
Kůra-Běl	649,1
Běl	651,4
Běl-Jádro	705
Jádro	656,9
Hustota sušiny (g/cm^3)	
Kůra-Běl	0,415
Běl	0,43
Běl-Jádro	0,478
Jádro	0,449

1.1.4. Chemické složení dřeva

Dřevo se řadí mezi obnovující se surovinu hojně požívanou v různých oblastech lidské činnosti. Je to základní stavební materiál vyšších organismů rostlinné říše. Pevnost dřeva je založena na polymerní látce zvané celulóza. Ta je tmelena dalšími cukernými látkami (hemicelulózami) a ligninem (necukerná vysokomolekulární látka). Dalšími látkami, které se ve dřevě nacházejí jsou lipidické látky, terpenické látky, třísloviny, alkaloidy a jiné. Procentuální složení dřevní hmoty je zhruba 70-80 % polysacharidy a 12-30 % lignin. Ostatní látky jsou pouze ve zlomcích procent, jedná se o silice, terpeny atd. U polysacharidů představuje dominantní podíl celulósa a zbytek hemicelulosity s nižším polymeračním stupněm. Obsah sušiny je zhruba 45 % celulósa, 25 % hemicelulosity, 25 % ligninu a posledních 5 % je tvořeno minoritními látkami, kterými se budeme dále zabývat. [10]

1.1.5. Minoritní složky dřeva

Během růstu rostlin probíhá řada biochemických procesů, které mají za výsledek 2 skupiny produktů. První skupinou jsou látky pro rostlinu nepostradatelné, které využívá jako zdroj energie, stavební materiál a další. Jedná se o cukry, tuky a bílkoviny. Druhou skupinou, jsou látky vytvořené při degradačních procesech primárních látek. Zahrnuje to látky, které jsou pro rostlinu postradatelné a tvoří je pouze v případě dostatečného množství primárních produktů. Spadají sem alkaloidy, glykosidy, třísloviny, steroidní látky a také vonné látky neboli silice, které tvoří aroma. Starší název pro silice je „éterické oleje“. Řadí se mezi účinné rostlinné látky. Ve většině případech se jedná o kapaliny s přívětivou vůní, hydrofobní a dobře rozpustné v organických rozpouštědlech. V dřevinách jsou uloženy v tzv. siličných buňkách. Vonné látky se mohou tvořit 2 způsoby. Prvním je tzv. mevalonátový proces. Jedná se o kondenzaci izoprenových jednotek za přítomnosti specifického enzymu. Při tomto procesu vznikají terpenické látky. Druhým je fenylypropanový proces, který začíná u glukózy a postupuje až na skořicovou kyselinu, z ní dalšími procesy vznikají konečně vonné látky obsahující aromatické jádro. [11]

1.1.5.1. Terpenické látky

Molekuly terpenických látek též řečeno isoprenoidů lze odvodit od různého počtu navzájem spojených molekul isoprenu (isoprenových jednotek). Jedná se o nenasycené acyklické a cyklické uhlovodíky, částečně nebo zcela hydrogenované a také kyslíkaté deriváty těchto uhlovodíků. Zde se jedná například o alkoholy, aldehydy, ketony nebo karboxylové kyseliny. Jejich přírodní směsi rostlinného původu (silice) jsou příznačné tím, že těkají s vodní

párou. Podle počtu izoprenových jednotek v dané molekule dělíme terpeny do skupin, viz. *Tabulka 3.*

Tabulka 3: Skupiny terpenů

Terpeny	Počet isoprenových jednotek	Celkový počet atomů uhlíku
Monoterpeny	2	C ₁₀
Seskviterpeny	3	C ₁₅
Diterpeny	4	C ₂₀
Triterpeny	6	C ₃₀
Tetraterpeny	8	C ₄₀
Polyterpeny	n (≈ 5000)	C _{5n}

Tyto skupiny terpenů můžeme dále rozdělit na dvě skupiny: acyklické a cyklické terpeny. Cyklické lze dále dělit podle počtu spojených uhlíkatých cyklů na terpeny monocyklické, bicyklické a tricyklické. Označení terpeny je nejčastěji používáno ve spojení s kapalnými terpeny. Tuhé látky jsou poté označovány jako balzámy. Balzámy jsou směsí silic a jejich oxidačních a polymerních produktů též známých jako pryskyřice. Pryskyřice jde od silic dobře oddělit, jelikož s vodní párou netěkají a zůstávají v destilačním zbytku.

1.1.5.2. Třísloviny

Třísloviny jsou látky polyfenolického charakteru, jež mají schopnost srážet bílkoviny z vodných roztoků a vytvářet amorfni látky s alkaloidy nebo se solemi těžkých kovů. Jsou obsaženy ve vaskulárních pletivech (listy, jehličí, kůra, dřevo, semena či květy). Za primární funkci tříslovin se považuje ochranný účinek proti býložravcům díky jejich svíravé a trpké chuti. Můžeme je rozdělit na 2 základní skupiny. První skupinu můžeme štěpit pomocí kyselin či hydroxidů, jedná se o hydrolyzovatelné třísloviny a druhou skupinu štěpit nelze, zde hovoříme o nehydrolyzovatelných tříslovinách. Skupiny můžeme dále dělit do podskupin, viz. *Tabulka 4.*

Tabulka 4: Dělení tříslovin

Třísloviny	
1. Hydrolyzovatelné	2. Nehydrolyzovatelné
A) gallotaniny	A) třísloviny na bázi flavan-3-olů
B) ellagotaniny	B) třísloviny na bázi flavan 3,4-diolů
C) estery fenolkarboxylových kyselin	C) třísloviny na bázi hydroxystilbenů

1.1.5.3. Lipidické látky

Lipidy jsou látky hydrofobního charakteru, které lze extrahovat nepolárními rozpouštědly. Jejich molekuly jsou složeny z vyšších mastných kyselin, které se vážou na glycerol nebo jiné alkoholy. Lipidy obecně můžeme dělit podle chemické struktury do několika skupin a podskupin:

1. Homolipidy jsou estery mastných kyselin a alkoholů a neobsahují žádné další složky.
 - a) Tuky, oleje (estery vyšších mastných kyselin (VMK) a glycerolu)
 - b) Vosky (estery VMK a jednosytných alkoholů)
2. Heterolipidy obsahují navíc další složku.
 - a) Fosfolipidy (obsahují vázané mastné kyseliny, glycerol, kyselinu trihydrogenfosforečnou a dusíkaté deriváty)
 - b) Sulfatidy (obsahují estericky vázanou kyselinu sírovou)
 - c) Sulfolipidy (obsahují vázanou kyselinu sulfonovou)
 - d) Lipamidy (též sfingolipidy – obsahují amidicky vázané VMK na alkohol sfingosin)
3. Komplexní lipidy obsahují vedle mastných kyselin vázaných kovalentními vazbami ještě další složky vázané fyzikálními silami
 - a) Lipoproteiny a proteolipidy (obsahující bílkoviny nebo polypeptidy)
 - b) Glykolipidy (obsahují polysacharidy vázané na lipidovou část fyzikálními vazbami)
 - c) Mukolipidy (s vázanými polysacharidy nebo oligosacharidy)

1.1.5.4. Alkaloidy

Jsou přírodní dusíkaté organické látky bazického charakteru. Tvoří se v malých množstvích jako produkty metabolismu aminokyselin. Mezi nejznámější alkaloidy vyskytující se ve dřevě patří berberin, liriodenin, anibin a diktamin. Alkaloidy se vyskytují ve skupinách se strukturální podobností. Jejich zásaditý charakter způsobuje, že se vyskytují v podobě solí karboxylových kyselin, které se nacházejí v buňkách. Obsah alkaloidů je proměnlivý s ohledem na vegetační dobu. [12]

1.2. Modřín

Modřín je mezi jehličnatými stromy vzácností. Oproti ostatním druhům na zimu shazuje své jehličí. Dosahuje průměrné výšky 30-45 m a průměru kmene 100-120 cm. Jádrové dřevo modřínu má barvu červenohnědou až cihlově červenou s patrnými letokruhy. Bělová část je úzká a nažloutlá. Dřevo modřínu schne poměrně rychle. Je vysoce ceněné pro své vlastnosti (pružnost, odolnost) a dobře se opracovává jak ručně, tak i strojově. Jde o středně trvanlivé

dřevo a často náchylné k poškození červotočem. Modřín se řadí mezi jedny z mála jehličnanů, které poskytují pryskyřici jinak nazývanou benátský terpentýn. Olejový terpentýn se používá v kosmetice a léčitelství díky svým pozitivním účinkům. Éterický olej se získává parovodní destilací z jehličí. Majoritními složkami jsou monoterpeny, monoterpenoly a estery.

1.3. Ořešák

Ořešák dorůstá výšky 24-30 m a průměru kmene 60-150 cm. Jádrové dřevo je nejčastěji šedohnědé s nepravidelnými tmavě hnědými až černými žilkami. Ořešák je s touto výraznou kresbou tvořící jádro zcela odlišitelný od ostatního dřeva. Jádrové dřevo je poměrně trvanlivé, naopak bělové dřevo je náchylné k poškození červotočem. Toto dřevo se už od historie používá na výrobu prvotřídního nábytku. Plodem ořešáku je vlašský ořech, který má pevnou slupku a stromy je začínají plodit až od 8. roku života. Lisováním těchto plodů se získává kvalitní rostlinný olej. K účinným látkám ořešáku patří třísloviny, flavonoidy, silice, fenolkarbonové kyseliny a chinony. Plody ořešáku obsahují 50-70 % lipidů. Významné jsou nenasycené mastné kyseliny a také vitamín B . [4, 13]

1.4. Metody izolace silic

Technologické postupy, které slouží k izolaci vonných látek ze surovin rostlinného původu je možno rozdělit do tří základních skupin: [14]

1. Destilace
2. Extrakce
3. Lisování

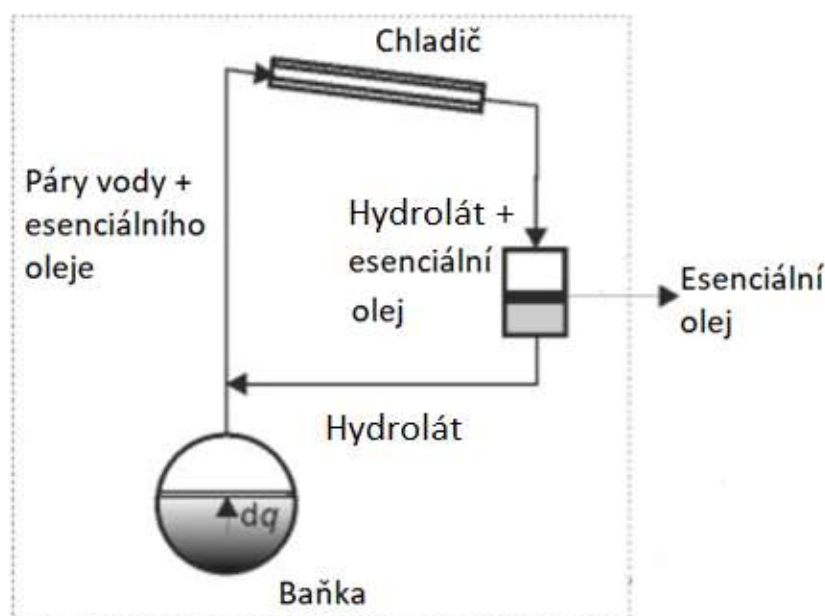
1.4.1. Destilace

K získání vonných látek z rostlinného materiálu se nejvíce využívají destilační metody, při kterých se využívá principu destilace s vodní párou. Silice můžeme destilovat dvojitým způsobem: vodní destilace (hydrodestilace) a parní destilace. V případě hydrodestilace naplníme nádobu určitým množstvím vzorku a požadovaným objemem vody a tuto směs (vzorek + voda) zahřejeme. Látky se uvolňují ze vzorku účinkem vařící vody, jedná se o proces hydrodifúze. Páry, které se během destilace tvoří, jsou odváděny přes chladič a sráží se v kondensát, který se v separátoru dělí na organickou (silice) a vodnou vrstvu (hydrolát). Po definovaném čase destilaci zastavíme, viz *Tabulka 5*. Vzorek můžeme v destilační baňce vyměnit za nový a postup opakovat. [15, 16]

Tabulka 5: Příklady destilačních časů stanovených normou [17]

Název vzorku	Destilační doba (hod)
Máta peprná	2
Heřmánek římský	3
Muškatový květ	4
Směs koření	5

Hydrodestilace se využívá především pro zachycení malého množství těkavých látek z aromatických rostlin ve výzkumných laboratořích a z části pro stanovení obsahu silic ve vzorcích. Nejvíce využívaným zařízením u této techniky je oběhový destilační přístroj neboli Clevengerova aparatura (*Obrázek 1*) nesoucí název po svém vynálezci Josephu Franklinovi Clevengerovi z roku 1928. Aparatura prošla v průběhu let několika modifikacemi. Zařízení se skládá z vyhřívané baňky s kulatým dnem, která je spojena s chladičem a odměrnou trubicí pro objemové stanovení esenciálního oleje. Hydrolát se postupně vrací zpět do baňky, neboť se jedná o kontinuální destilaci s uzavřeným okruhem. Po ukončení destilačního procesu izolujeme esenciální olej od vodné fáze. Délka destilačního procesu z pravidla závisí na zkoumaném materiálu, ale obvykle se pohybuje v řádu hodin. Při stanovení obsahu silic se před započítáním destilačního procesu přidává nad vodnou fází do odměrné trubice obvykle 0,5 ml xylenu, aby se zachytily i malé kapičky silic během destilace a odseparovaly se od kolující vodné fáze. Objem silic se následně odečítá z odměrné trubice od objemu aplikovaného xylenu. [18]



Obrázek 1: Hydrodestilační systém Clevengerova přístroje

(zdroj - doi:10.1016/j.bej.2007.10.017)

Ačkoli hydrodestilace poskytuje silice v nízkých výtěžcích, používá se tato metoda nejčastěji. Esenciální olej je extrahován při nižších teplotách, než jsou body varu jeho složek, a to nám umožňuje separaci i některých sloučenin citlivých na teplo. Hydrodestilace je prováděna jednoduchým a bezpečným způsobem a je šetrná k životnímu prostředí. Další výhodou této metody je, že těkavé látky se mísí s vodní párou a ta vytěsňuje vzdušný kyslík, což chrání těkavé složky před jejich oxidací. Naopak jistou nevýhodou této metody je vysoká energetická spotřeba v případě několikahodinového provozu. V porovnání s vyspělejší metodou superkritickou fluidní extrakcí je hydrodestilace stále levnější s ohledem na kapitálové náklady. V menším měřítku výroby, např. v laboratořích se využívá již zmíněná Clevengerova aparatura, zatímco ve větším měřítku se používají různé typy destilačních jednotek (destilátorů) s přímým přívodem páry nebo bez něj. Hydrodestilace za atmosférického tlaku stále zůstává nejvíce využívanou technikou v průmyslovém měřítku díky její ekonomické životaschopnosti. Dále byly testovány i jiné typy destilací jako je vakuová destilace ze zahřátých práškových materiálů tzv. suchá destilace a vodní destilace ve vakuu.

U parní destilace se vzorek umístí do destilačního zařízení a pára prochází materiálem. Z rostlinného materiálu se uvolňují silice do páry. Pára se po průchodu vzorkem ochladí a rozdělí na 2 fáze – esenciální olej a hydrolát (tzv. květinovou vodu) stejně jako u hydrodestilace. [19]

1.4.1.1. *Simultánní destilace-extrakce*

Simultánní destilace-extrakce (SDE) je metoda, která nám poskytuje současnou destilaci a extrakci těkavých sloučenin do organického rozpouštědla a využívá se pro materiály s nízkým obsahem těkavých sloučenin. Rozdíl oproti hydrodestilaci je pouze ten, že v separátoru je umístěno vhodné organické rozpouštědlo (např. hexan). Těkavé látky jsou po průchodu buněčnou membránou odpařovány a unášeny párou do chladiče, kde kondenzují a následně jsou průchodem přes vrstvu organického rozpouštědla extrahovány. [20]

1.4.2. Lisování

Metoda izolace silic pomocí lisování je nejstarší metoda a používá se výhradně k výrobě citrusových silic. Tato metoda využívá rozbití žlázek esenciálního oleje ve slupce, aby byl olej následně uvolněn. Proces vede k produkci vodnaté emulze, která je odstředěna pro oddělení fáze esenciálního oleje. Dříve se tato metoda prováděla výhradně ručně, nyní se v průmyslu využívají lisovací stroje a slouží k produkci peelingových olejů. Důvodem využívání této metody u citrusů je tepelná nestabilita přítomných aldehydů. [21]

1.4.3. Extrakce

První možností je extrakce rozpouštědlem. Je vhodná pro extrakci látek, které jsou tepelně labilní. Rostlinný materiál je umístěn do rozpouštědlové lázně, kde se rozpustí. Poté je směs přefiltrována. Vhodnými rozpouštědly jsou hexan, ethanol, petrolether a methanol. Výhodou této metody oproti destilaci je nízká teplota. Extrakce rozpouštědlem je levná a relativně rychlá metoda. Rychlost můžeme ovlivnit použitím horkých rozpouštědel dle možností rostlinného materiálu a silic. Tato metoda našla své uplatnění v parfémovém průmyslu. [21]

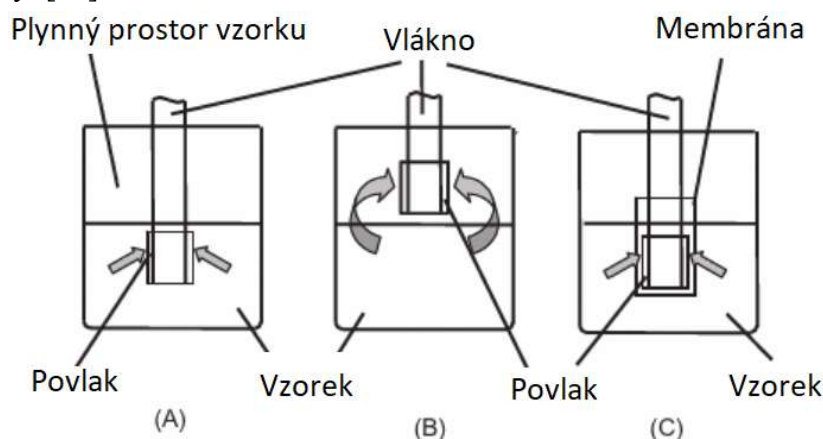
Druhou možností je superkritická fluidní extrakce (SFE). SFE si získává v posledních letech větší pozornost s ohledem na svou ekologickou šetrnost. Nejčastěji se využívá jako superkritická kapalina oxid uhličitý díky svým vlastnostem. Má kritický tlak 74 barů a kritickou teplotu 32 °C, je netoxický, nehořlavý, dostupný, poměrně levný a snadno odstranitelný z extraktu. Svou polaritou se podobá kapalnému pentanu, a proto se využívá k extrakci silic, které jsou lipofilního charakteru. Na proces SFE má vliv mnoho proměnných a mezi ně patří tlak, teplota, doba extrakce, předúprava vzorku, použitá část rostliny a další. Znalost rozpustnosti esenciálních olejů v superkritické kapalině je nezbytná pro vytvoření optimálních extrakčních podmínek. [22]

Třetí možností je extrakce tuhou fází (SPE), což je metoda, kde se přítomné látky ve vzorku sorbují z plynné nebo kapalně fáze na tuhý sorbent. Tato technika se využívá při extrakci silic z hydrolátů získávaných jako vedlejší produkt při destilaci silic. Během extrakce nastávají 3 možnosti. Váže se analyt (nečistoty zůstanou v původní fázi), nečistoty (vzorek zůstává přítomný v původní fázi) nebo se sorbují obě komponenty a tuhý sorbent se následně selektivně promývá pro získání požadované komponenty. Tuhý porézní sorbent může být polární např. silikagel, alumina nebo florisil, na něj se vážou polární složky. Na nepolární sorbenty např. aktivní uhlí nebo silikagel s chemicky modifikovanými uhlovodíky (navázány nitrilové skupiny nebo primární aminy) se sorbují nepolární složky. Sorbent je umístěn v injekčních stříkačkách, uvnitř disku nebo uvnitř jednorázové plastové špičky s pneumatickým dávkovačem. Průběh SPE můžeme popsat v několika bodech: 1. kondicionace sorbentu, 2. nanesení vzorku, 3. retence analytu, 4. promytí, 5. eluce (desorpce) zachycených analytů. Modifikací SPE je mikroextrakce tuhou fází (SPME), této metodě se budeme podrobněji věnovat níže. [23]

1.4.3.1. Mikroextrakce tuhou fází

Slabá vrstva sorbentu je nanesena na křemenné vlákno, které je umístěno v ochranné kovové jehle. Sorpce je prováděna v kapalně nebo plynné fázi a desorpce látek je v případě separace plynovou chromatografií prováděna zvýšením teploty. Vlákno se po sorpci zavede přímo do vstupu plynového chromatografu a desorbované látky vzorku jsou unášeny do kolony nosným plynem. [23]

Uspořádání SPME lze rozdělit na 3 extrakční režimy (*Obrázek 2*): 1. přímá extrakce, 2. extrakce plynného prostoru a 3. extrakce s membránovou ochranou. První možnost (*Obrázek 2A*), kdy je vlákno ponořeno do vzorku se využívá u kapalných vzorků. Zde je nutné využít techniky míchání či proudění, kvůli zvýšení pohybu vzorku z objemu roztoku do blízkosti vlákna. Zabraňuje se tak vytvoření tzv. zóny vyčerpání, která vzniká v blízkosti vlákna. U druhé možnosti (*Obrázek 2B*) tzv. headspace zachycení, se vlákno umístí do prostoru nad matrici. Ta může být kapalná či pevná. Na vlákno jsou extrahovány pouze těkavé látky uvolněné z matrice např. zvýšením teploty. Zde postačuje přirozené proudění vzduchu bez nutnosti míchání. Tato možnost je vhodná pro vzorky s vysokomolekulárními interferenty. Poslední třetí možnost (*Obrázek 2C*) je výhodná pro kapalně vzorky, které obsahují netěkavé látky a zároveň vysokomolekulární interferenty. Zde nám membrána pomáhá k lepší reprodukovatelnosti a přesnosti analýzy. [24]



Obrázek 2: Extrakční režimy: A) přímá extrakce, B) extrakce plynného prostoru, C) extrakce s membránovou ochranou [24]

Selektivitu extrakčního procesu lze ovlivnit typem polymeru. Rozmanitost dostupných povlaků se sice neustále rozšiřuje, ale stále jich je málo vzhledem k dnešním požadavkům ve vysoce specifických aplikacích. Ve skutečnosti je výběr omezen na polydimethylsiloxan (PDMS), divinylbenzen (DVB), karboxen (CAR), carbowax (CW) a polyethylenglykol (PEG) v různých kombinacích a tloušťkách vrstev, viz *Tabulka 6*. Jeho volba je závislá na povaze analyzovaného vzorku. Těkavé látky potřebují větší vrstvu sorbentu, a naopak slabší vrstva je

vhodná pro středně těkavé analyty. Vhodnou volbou typu a tloušťky lze dosáhnout maximálního výtěžku a zlepšit selektivitu. Nepolární povlaky jsou účinnější pro vzorkování nepolárních analytů a polární povlaky pro polární sloučeniny. Kromě toho mohou být vlákna ošetřena derivatizačními činidly, jako O-(2,3,4,5,6-pentafluorbenzyl) hydroxylamin hydrochlorid (PFBHA) na vlákne PDMS/DVB pro odběr vzorků aldehydů, nebo bromovodík na vlákne CAR/PDMS pro odběr vzorků ethylenoxidů. Při použití SPME je důležité dodržovat shodnou délku doby vzorkování, teplotu vzorku a hloubku ponoru vlákna. Velkou výhodou této metody je výrazné zrychlení přípravy vzorku. [25, 26]

Tabulka 6: Komerčně dostupné povlaky vláken SPME [26]

Označení vlákna	Povlak	Tloušťka povlaku (μm)
PDMS	Polydimethylsiloxan	7/30/100
CAR/PDMS	Karboxen/polydimethylsiloxan	75/85
PDMS/DVB	Polydimethylsiloxan/divinylbenzen	60/65
CW/DVB	Karbowax/divinylbenzen	65
PA	Polyakrylát	85

Existují kritéria, která se běžně používají při výběru vhodného povlaku vlákna pro konkrétní aplikaci, a to: (a) molekulová hmotnost (MW) a velikost analytů, (b) polarita analytů, (c) koncentrace a (d) složení vzorku. V následující *Tabulce 7* jsou přiřazeny různé druhy analytů k vhodným povlakům vláken. [27]

Tabulka 7: Výběr vhodného vlákna SPME [27]

Typ analytu	Doporučené vlákno SPME
Plyn a sloučeniny s nízkou MW (MW 30-225)	75 μm/85 μm carboxen/PDMS
Nepolární a těkavé sloučeniny (MW 60-275)	100 μm PDMS
Těkavé amino a nitroaromatické sloučeniny (MW 50-300)	65 μm PDMS/DVB
Polární a polotěkavé sloučeniny (MW 80-300)	85 μm PA
Nepolární a polotěkavé sloučeniny (MW 80-500)	30 μm PDMS
nepolární sloučeniny a sloučeniny s vysokou MW (MW 125-600)	7 μm PDMS
Alkoholy a polární sloučeniny (MW 40-275)	60 μm PEG
Aromatické sloučeniny (těkavé a polotěkavé C3-C20) (MW 40-275)	50/30 μm DVB/carboxen/PDMS

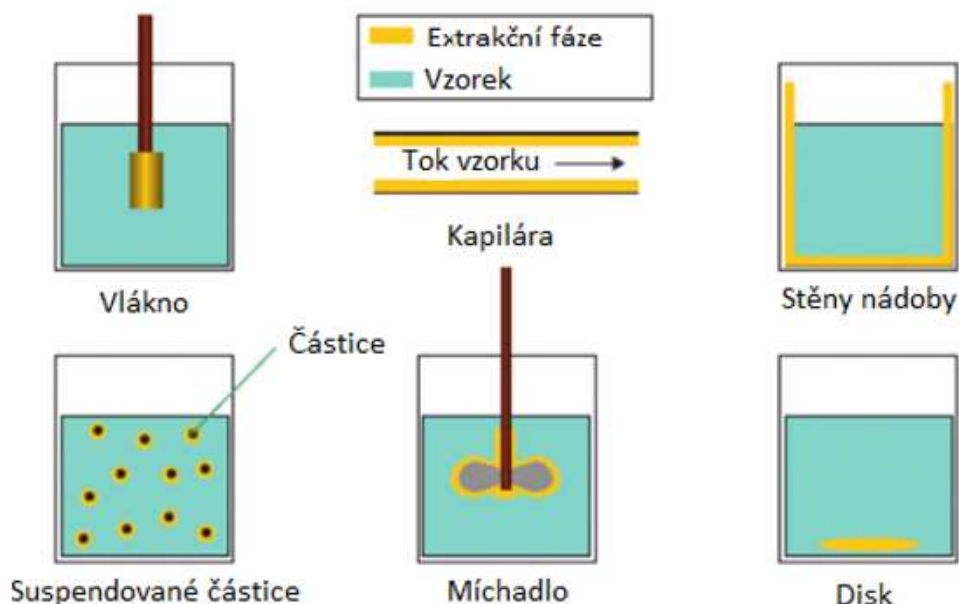
Nejčastěji používaným povlakem pro SPME aplikace je PDMS. Při extrakční teplotě se jedná o imobilizovanou kapalinu. Polydimethylsiloxan se standardně používá jako stacionární fáze v plynové chromatografii. Jeho výhodami jsou termostabilita (až do teploty 300 °C), chemická neutralita, a navíc jeho povrch neobsahuje žádná aktivní centra, tudíž možné interakce mezi analytem a sorbentem jsou nespecifické. Poslední jeho předností je, že vzorky mohou být desorbovány při mírných teplotách, a proto nedochází k jejich rozkladu. PDMS je nepolární sorbent, tudíž je vhodný pro extrakci nepolárních látek (např. těkavé organické látky, polycyklické aromatické uhlovodíky a další).

Nové typy povlaků vláken jsou neustále zkoumány a vyvíjeny. Zaměřují se především na izolaci polárních analytů, zejména vodu. Ve spojitosti s tím se výzkum soustředí na polykrystalické grafity, molekulárně imprintované polymery a imunosorbenty, které jsou dále používány pro výzkum biologických vzorků s komplexním složením matrice. Sorbenty na bázi uhlíku jsou termostabilní a dále mají poměrně velkou afinitu k organickým sloučeninám. Naopak jejich nevýhodou je, že na povrchu vlastní aktivní centra, která způsobují silnější vazbu látek na sorbent a je zapotřebí vysoká teplota k desorpci méně těkavých látek, což může mít za následek tepelný rozklad některých látek. Nejnovější posuny v oblasti chemie polymerů a materiálového inženýrství, vedly k novému uplatnění polymerních sorbentů, které odstraňovaly nedostatky uhlíkatých sorbentů. Mezi výhody polymerních materiálů patří jejich poměrně nízká cena, tvárnost a snadná možnost úpravy jejich tepelných a mechanických vlastností. K dosažení sorpčních vlastností u polymeru se vážou různé funkční skupiny, jejichž vhodnost je důležitá při rozpoznávání molekul. Povlak musí být rezistentní proti kyselinám, zásadám, solím a organickým rozpouštědlům. [28]

Metoda SPME byla navržena primárně pro řešení problémů s přípravou vzorku, která je zde nenáročná a rychlá. Díky této výhodě je možné vzorkovat i přímo v místě potřeby. Při této metodě je vystaveno malé množství extrakční fáze na pevném nosiči vzorku na určitý čas. Na *Obrázku 3* jsou znázorněny příklady realizací SPME. Technika vláken stále dominuje a řadí se mezi nejpoužívanější přístupy SPME. [24]

Modifikací tradičních SPME vláken jsou SPME Arrows (tzv. šípky). Byly navrženy, aby odstranily nedostatky tradičních SPME vláken, jako je omezená mechanická odolnost a malé objemy extrakční fáze. Tradiční SPME vlákna mají vnější průměry okolo 0,5 mm a SPME Arrows se vyrábí s průměry 1,0 nebo 1,5 mm. Hrot šípů nám také přispívá ke zvýšení mechanické odolnosti, neboť síla potřebná k proniknutí septem je menší navzdory zvětšenému

průměru jehly. Bohužel SPME Arrows nelze použít jako přímou náhradu za tradiční SPME vlákna. Je nutná úprava dávkovacího mechanismu a vstupu do nástřikového portu plynového chromatografu. [29]



Obrázek 3: Modifikace SPME [24]

1.5. Plynová chromatografie

1.5.1. Historie plynové chromatografie

Za vynálezce plynové chromatografie (GC – Gas Chromatography) jsou považováni A.T. James a A.J.P. Martin na základě jejich článku z roku 1952 [30]. Jejich práce uvádí separaci těkavých mastných kyselin rozdělovací chromatografií s plynným dusíkem jako mobilní fází a stacionární fází silikonového oleje/kyseliny stearové na křemelině. Tato myšlenka byla již sepsána v publikaci Martina a R.L.M. Synge z roku 1941 [31], ale pouze teoreticky. Konkrétně se jednalo o větu „Mělo by být možné velmi jemné separace těkavých látek v koloně, ve které proudí permanentní plyn přes gel impregnovaný těkavým rozpouštědlem...“.

V 50. letech se velká řada chemiků a laboratoří snažila zanalyzovat složení ropy, která se tehdy dostala do popředí zájmu jako náhrada uhlí a stala se zdrojem kapalných paliv a chemických surovin. Ropné společnosti Shell či British Petroleum se plynové chromatografie ujaly velmi rychle a začaly s vývojem a aplikacemi. V průběhu let se rozšířila do dalších odvětví. [32]

V dnešní době je téměř nepředstavitelné mít organickou analytickou laboratoř bez plyného chromatografu. Plynová chromatografie je výhradní technikou pro separaci a analýzu těkavých látek. Je možné analyzovat organické i anorganické materiály s molekulovými hmotnostmi od 2 do více než 1000 Da. Plynové chromatografy se v průběhu let staly nejrozšířenějšími analytickými nástroji na světě. Používané kapilární kolony dávají vysoké rozlišení a citlivé detektory, jako je plamenově ionizační detektor, mohou kvantifikovat i stopová množství organických sloučenin s relativní odchylkou pět procent. Plně zautomatizované systémy mohou denně zanalyzovat i více než 100 vzorků. Plynová chromatografie se tedy stala nepostradatelnou technikou. Celosvětový trh s GC se odhaduje na 2-3 miliardy dolarů a více než 40 000 přístrojů ročně. [33]

1.5.2. Základy plynové chromatografie

Plynová chromatografie je separační analytická metoda, pomocí které je možné určit kvalitu i kvantitu. Analyzují se jak vzorky plyné, tak vzorky kapalné či pevné, pokud je lze převést do plyného stavu. Separace probíhá buď v systému plyn-kapalina nebo plyn-tuhá látka. V obou systémech je mobilní fáze plyná a nazýváme ji jako nosný plyn. Stacionární fáze je buď pevná (tuhý adsorbent) nebo kapalná, která je zakotvená na nosiči a je umístěna v chromatografické koloně. [34]

Výhody a nevýhody plynové chromatografie: [34]

Výhody:

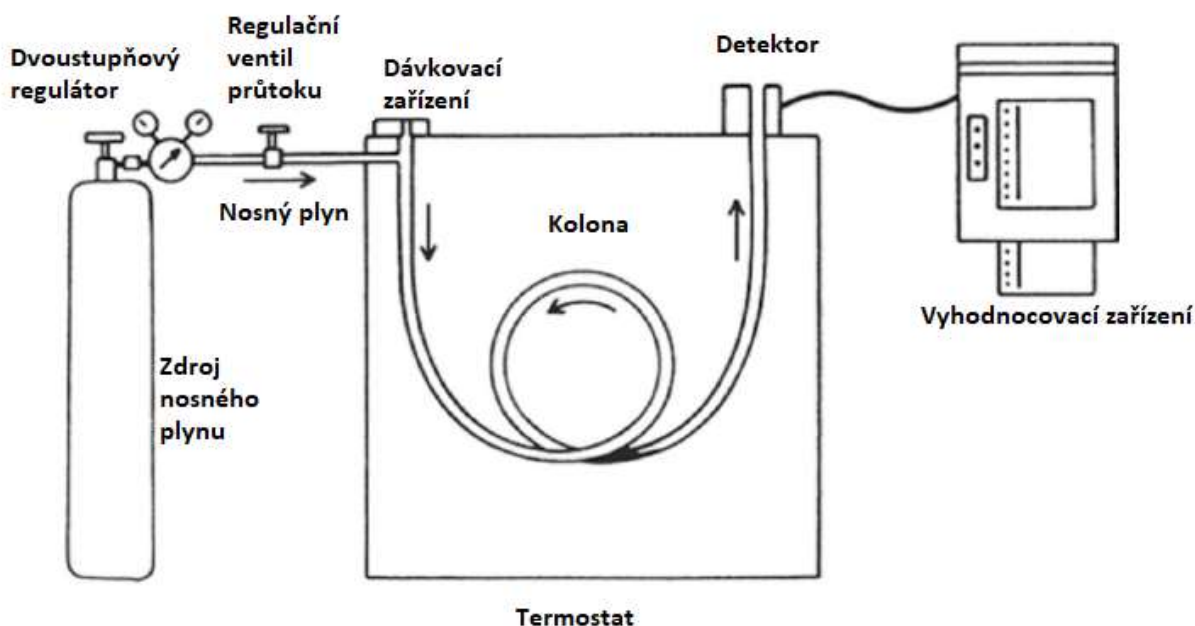
- Rychlost analýz
- Vysoké rozlišení
- Citlivost (ppm, ppb)
- Vysoká přesnost kvantitativní analýzy
- Malé množství vzorku (μl)

Nevýhody:

- Omezeno na těkavé vzorky
- Nesnadné u tepelně labilních vzorků
- Obtížné pro velké objemy vzorků (preparativní analýzy)
- Vyžaduje spektroskopické metody pro kvalitativní analýzu

Přístroj pro GC se nazývá plynový chromatograf (*Obrázek 4*) a skládá se z několika částí.

1. Zdroj nosného plynu je tlaková láhev. Nejčastěji se používají plyny: vodík, dusík, helium nebo argon. Plyn musí být inertní a nesmí mít přímý vliv na separaci látek. K zachycení vlhkosti, nečistot, a hlavně reaktivního kyslíku, který poškozuje stacionární fázi (SF), slouží čistící zařízení ve formě patron naplněných sorbenty. Volba nosného plynu záleží na koloně, detektoru a povaze separovaných složek.
2. Regulační systém nám pomáhá k udržení stálého či regulaci měnícího se průtoku nosného plynu.
3. Dávkovací zařízení je určené k zavedení vzorku do proudu nosného plynu. Musí zaručit odpaření vzorku co nejrychleji. Pokud dávkujeme plynné vzorky, je potřeba použít plynotěsné injekční stříkačky, případně využít metodu SPME (viz kapitola 1.4.3.1). Pro kapalně vzorky se využívají injekční stříkačky o objemu 0,1 – 10 μl . Dávkuje se přes pryžové septum a jedná se o tzv. nástřik vzorku. Metody nástřiku jsou různé. U klasických náplňových kolon je základní metodou nástřik do kolony („on column“). U kapilárních kolon, které mají malou kapacitu objemu, se využívá dělič toku („split injection“), kdy se na kolonu zavádí pouze zlomek dávkovaného množství. Poslední používanou metodu dávkování je bez děliče toku („splitless injection“). Je vhodná pro větší objemy, které jsou nutné použít u stopových analýz. Zde najdeme taky dělič toku, ale odvod je zde zavřený.
4. Kolona je srdcem separačního procesu a je uložena v termostatu. Je zde umístěna stacionární fáze a probíhá tu separace látek. Prvním typem kolon používaných v plynové chromatografii jsou tzv. náplňové kolony. Další variantou jsou mikronáplňové kolony, které využívají menších průměrů a velikosti částic, a proto dosahují vyšší účinnosti při stejné délce. Dalším typem, v současnosti nejvíce používaným, jsou kapilární kolony. Volba kolony a stacionární fáze je klíčová pro separaci vzorku.
5. Detektor má úlohu detekce látek v nosném plynu vycházejícím ze separační kolony.
6. Vyhodnocovací zařízení zpracovává signál z detektoru, zakresluje chromatogram a vyhodnocuje výsledky. [35]



Obrázek 4: Schéma plynového chromatografu [33]

1.5.3. Kolony v plynové chromatografii

Rozdělujeme 2 základní typy kolon podle toho, jak je stacionární fáze ukotvena uvnitř kolony. V prvním případě je stacionární fáze pevná a je umístěna do kolony přímo v tomto stavu nebo jsou částice potaženy kapalnou stacionární fází a kolona je jimi naplněna, hovoříme tedy o náplňových kolonách. Jsou to ocelové nebo skleněné trubice, které jsou buď naplněné sorbentem nebo nosičem (např. Al_2O_3) pokrytým kapalnou fází. Adsorbenty jsou např. silikagel, grafitizované saze nebo alumina. Většinou se jejich délka pohybuje v rozmezí 1-3 m a průměru 2-3 mm. U druhého typu je kolona potažena na vnitřní straně vrstvou stacionární fáze nebo je k vnitřnímu povrchu připojena, jedná se o kapilární kolony. Kapilární kolony na rozdíl od náplňových kolon dosahují větších délek (průměrně okolo 30 m), ale naopak menších průměrů (0,1-0,6 mm) a to jim zaručuje vyšší účinnost separace.

Zpočátku byly pouze náplňové kolony, postupem času se došlo k závěrům, že delší a užší kolony umožňují lepší výsledky separací. Kapilární kolony jsou mnohem účinnější a umožňují nám provádět separace za nižších teplot a v kratším čase než kolony náplňové s obdobnou stacionární fází. U kapilárních kolon je nevýhodou nedostupnost některých stacionárních fází a nízká zatížitelnost vzorkem, a proto mají náplňové kolony stále své místo v plynové chromatografii. Jednoduchým vysvětlením je, že náplňové kolony obsahují větší množství stacionární fáze a lze dávkovat větší objemy bez přetížení kolony. Využívá se toho například u stopových analýz nečistot ve vysoce čistých plynech. Průtoky nosného plynu u

náplňových kolon se pohybují mezi 15-30 ml/min, aby bylo dosaženo vyhovujících lineárních průtoků, což vede k vyšším provozním nákladům než u kapilárních kolon.

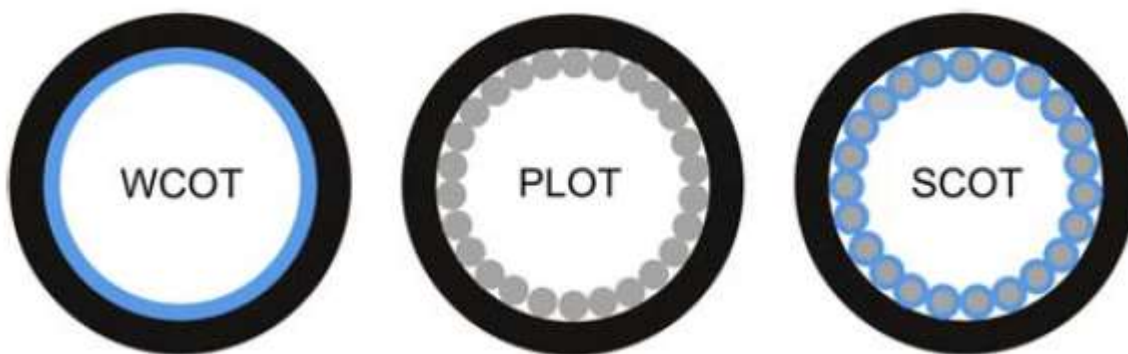
Mikronáplňové kolony nám dávají kompromis mezi separačním výkonem a kapacitou (zatížitelností) kolony, a proto se poslední dobou dostávají stále více do popředí u plynové chromatografie. Vnitřní průměr kolon se pohybuje mezi 0,75 – 1 mm a délka deaktivované kovové trubky je 10 cm. Velikost vnitřních částic je menší, a tudíž je vyžadován vyšší tlak, aby byl umožněn souvislý tok nosného plynu. Kolony mohou pojmout až 40x větší vzorek, než by bylo možné za stejných podmínek nanést na kapilární kolony.

Kapilární kolony o vnitřních průměrech mezi 0,1 - 0,53 mm, mohou být zhotoveny z různých materiálů, ale nejběžněji se vyrábí z taveného křemene a jsou pokryty polyimidovou vrstvou, která poskytuje kolonám pružnost a zamezuje zlomení. Kolony se nazývají otevřené, protože vrstva stacionární fáze je nanесena nebo připojena k vnitřnímu povrchu stěny kapiláry a střed zůstává otevřený. Rozdělujeme 3 typy v závislosti na způsobu jakým je stacionární fáze distribuována na stěně kapiláry (*Obrázek 5*).

WCOT – otevřené kolony s pokrytými stěnami, jsou nejrozšířenějším typem kapilárních kolon, ale ne v analýze plynů. Stacionární fáze je zde kapalný film, kterým je potažena deaktivovaná stěna kapiláry. Běžně používanými stacionárními fázemi jsou polysiloxany a polyethylenglykoly, které odolávají vysokým teplotám. Látky se na koloně dělí podle polarit y a bodu varu.

PLOT – otevřené kolony s pórovitou vrstvou, jsou často používané pro separaci plynů a těkavých látek při teplotách okolí nebo vyšších. Malé porézní částice, které jsou nanесeny na stěně kapiláry, dělí látky ve vzorku podle rozdílných velikostí a tvarů molekul analytu. Pórovitá vrstva je držena na stěně kapiláry chemickým pojivem. Částice se mohou uvolňovat, a proto je vhodné za kolonu připojit tzv. lapač částic.

SCOT – otevřené kolony s pokrytým nosičem, byly vyvinuty jako náhrada náplňových kolon se stejnými stacionárními fázemi, ale menším vnitřním průměrem. K vnitřní stěně kapiláry je připevněn nosič (křemelina) a na něm je nanесena stacionární fáze. Nevýhodou je, že toto uspořádání je velmi křehké a jakákoliv vibrace může způsobit odpadnutí stacionární fáze a zablokování kolony. Toto uspořádání se využívá velmi málo, a to pouze ve speciálních aplikacích. [36]



Obrázek 5: Znáznornění stacionárních fází v jednotlivých typech kapilárních kolon [36]

1.5.4. Detekce v plynové chromatografii

Detekce v plynové chromatografii se řadí mezi její přednosti. Používání nosných plynů jako mobilní fáze, které jsou univerzální pro většinu detektorů, má za následek nízkou úroveň pozadí a interferencí. Toto nám umožňuje větší možnosti ve výběru detektoru. První skupina detektorů generuje jednorozměrný signál v závislosti na množství eluující látky. Mezi ně patří například:

- Detektor tepelné vodivosti (TCD)
- Plamenově ionizační detektor (FID)
- Detektor elektronového záchytu (ECD) a další

Druhou skupinou detektorů jsou takové, které generují vícenásobnou (multiplexní) odezvu a řadí se sem:

- Atomový emisní detektor (AED)
- Infračervený detektor (IRD)
- Hmotnostní spektrometr (MS)

Detektory se dále řadí do dvou obecných kategorií: univerzální a selektivní. Jak už název napovídá, detektory univerzální mohou detekovat všechny sloučeniny na rozdíl od selektivních, které detekují pouze vybrané třídy sloučenin na základě molekulárních, elementárních či fyzikálních vlastností. Další dělení detektorů závisí na tom, zda reagují na koncentraci analytu nebo na hmotnostní tok analytu, který jím prochází. Koncentrační detektory tedy generují signál úměrný koncentraci analytu v nosném plynu a hmotnostní detektory reagují na hmotnost analytu procházejícího detektorem v daném čase. Dále je důležitou vlastností destruktivita. Nedestruktivní detektory jsou převážně koncentrační detektory, detekují látky, aniž by je měnily. Důležitá je tato vlastnost při sběru frakcí či spojování detektorů za sebou pro získání

většího množství výsledků a dat. Abychom mohli odlišit a porovnat GC detektory, je zapotřebí definovat několik metrik. První je LOD (detekční limit/limit detekce), který udává minimální množství vzorku, které lze odlišit od pozadí (signálu šumu). Druhou je dynamický rozsah, který udává použitelný rozsah, kdy detektor generuje měnící se signál v závislosti na množství analytu. Dolní hranicí je LOD a horní je omezen saturací detektoru. Související definicí je lineární dynamický rozsah, který nám udává kdy je odezva detektoru lineární. Čím větší je, tím lépe. Udávají se jako mocniny (o základu 10) a jsou o několik řádů vyšší než u detektorů kapalinové chromatografie. Srovnání jednotlivých detektorů dle parametrů najdeme v *Tabulce 8*. Podrobněji budou popsány detektory, které byly prakticky využity v experimentální části diplomové práce. Jedná se o plamenově ionizační detektor a hmotnostní spektrometr. [37]

Tabulka 8: Porovnání GC detektorů

Detektor	Odezva	Použitelné pro	LOD	Lineární dynamický rozsah	Koncentrační/hmotnostní	Destruktivní?
FID	selektivní	uhlík	2 pg C/s	107	hmotnostní	ano
TCD	univerzální	cokoliv s tepelnou vodivostí odlišnou od nosného plynu	400 pg/ml	105	koncentrační	ne
ECD	selektivní	elektroforý v plynné fázi	50 fg/ml	104	koncentrační	ne
AED	univerzální, specifický	atomové emise (C, S, N, H,..)	1-150 pg/s	103	hmotnostní	ano
IRD	univerzální, specifický	Organické látky (detekce molekulárních vibrací)	100 pg/ml	103	koncentrační	ne
MS	univerzální, specifický	laditelné pro jakýkoliv druh	10 pg - ng	105	hmotnostní	ano

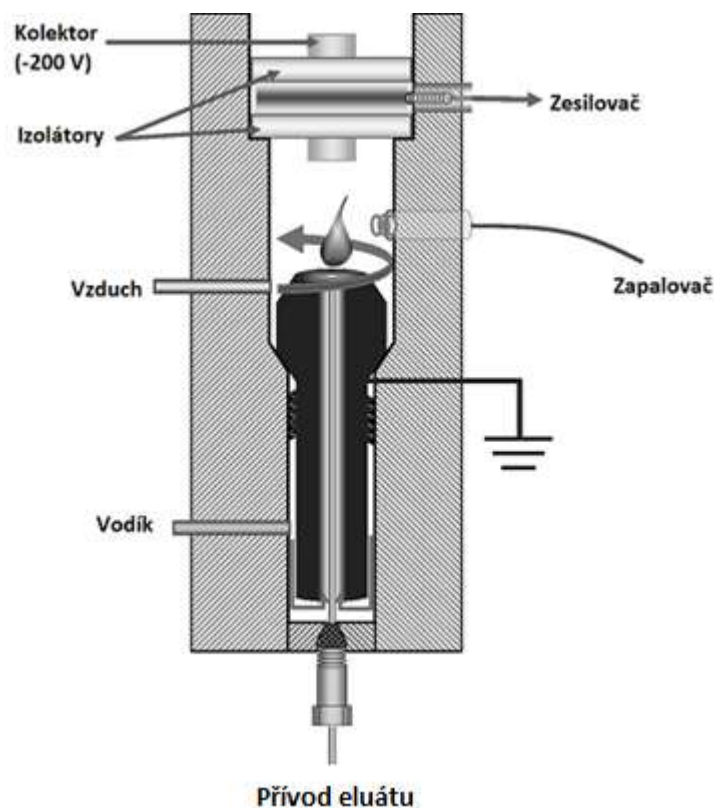
* ng – nanogram, pg – pikogram, fg – femtogram, ml – mililitr, s – sekunda, C – uhlík

1.5.4.1. Plamenově ionizační detektor

Nejvíce využívaný detektor v plynové chromatografii je plamenově ionizační detektor (*Obrázek 6*). Princip FID je následný. Efluent je přiváděn z kolony do plamene. Ten vzniká spalováním směsi vodíku a vzduchu. V plameni produkuje většina organických látek ionty a

elektrony. Vzniklé ionty a elektrony vedou elektrický proud, který je měřen ampérmetrem. Princip spalování vzorku a generování proudu spočívá v redukcí organických sloučenin na nasycené molekuly v počátečních částech plamene, kde se pohybujeme u nižších teplot a dále postupem v plameni do vyšších teplot se tyto nasycené molekuly přemění na methan reakcí s vodíkem. Methan se poté spaluje za vzniku formyliového iontu CHO^+ , který poskytuje signál. Tento iont může dále reagovat s vodou za vzniku hydroniového iontu H_3O^+ . Kladné ionty jsou seskupovány záporně nabitým kolektorem, vzniká nám tok proudu, který je následně zesílen a zaznamenán. Proud je úměrný počtu iontů. I přes to, že výtěžek iontů je řádově 1 iont na 10^6 atomů uhlíku, nám FID dává výsledky v rádech pikogramů. Elektrony jsou uzemněny a na rozdíl od kationtů vedeny v opačném směru. Některé funkční skupiny ($-\text{COH}$, $-\text{OH}$, $-\text{X}$, $-\text{NH}_2$) v plameni produkují malé množství ionů nebo vůbec žádné. Detektor také není citlivý na nespalitelné plyny, jako je vodní pára, CO_2 , SO_2 a NO_x . Díky těmto vlastnostem je FID vhodným univerzálním detektorem pro mnoho organických látek. FID má vysokou citlivost stanovení, široký lineární dynamický rozsah a nízký šum. Dále mezi jeho výhody patří, že je robustní a jednoduchý na obsluhu. Určitou nevýhodou je, že je destruktivní. [38, 39]

Odezva FID detektoru je úměrná množství uhlíku, který jím projde za jednotku času. Jednotková odezva znamená, že FID reaguje lineárně na množství uhlíku, který prochází detekční celou nezávisle na struktuře sloučeniny. Tato vlastnost nám umožňuje kvantifikovat složky ve směsích bez nutnosti kalibračních standardů pro každou látku. Množství látek ve vzorku bude úměrné plochám píků. Šum pozadí je minimalizován aktivními filtry. Rozsah odezvy závisí hlavně na velikosti plamene, předpětí na kolektorové elektrodě a geometrii detektoru. V převážné většině případů separací kapilárních kolon je rychlost sběru dat 10 Hz, pro vícerozměrné separace je pak vyžadována rychlost vyšší než 50 Hz. Výkon detektoru je závislý na poměrech průtoku nosného plynu, vodíku a vzduchu společně s geometrií detektoru. Naopak menší vliv má teplota či výběr nosného plynu. V plameni reagují 2 jednotky vodíku s 1 jednotkou kyslíku ze vzduchu za vzniku vody. Vzduch, který obsahuje okolo 20 % kyslíku, nám změní stechiometrický poměr vodíku a kyslíku na 2:5. Průzkumy ukázaly nutnost přebytku vzduchu k dosažení nejširšího lineárního dynamického rozsahu. Poměr 6:1 vzduchu k vodíku je minimální, ale řada výrobců udává 10:1 a vyšší. [37, 39]



Obrázek 6: Schéma plamenově ionizačního detektoru [39]

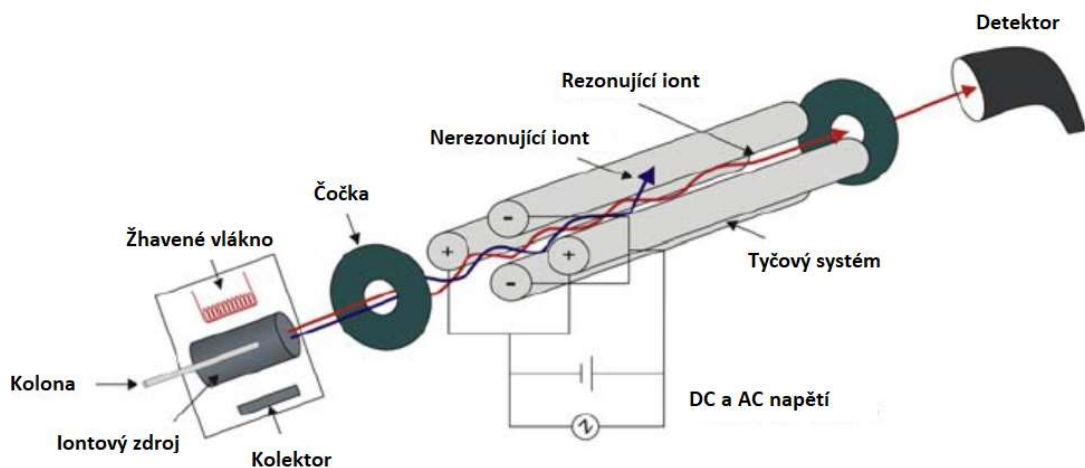
1.5.4.2. Hmotnostní spektrometr

Hmotnostní spektrometrie se odlišuje od ostatních spektrálních metod tím, že vzorek neabsorbuje záření. Je to destruktivní metoda, ale je velice citlivá a postačuje malé množství vzorku. Hmotnostní spektrometry nejsou samostatné přístroje, často bývají spojeny s chromatografem a počítačem. Chromatograf dělí látky ve směsi a ty putují dále do hmotnostního spektrometru. Hmotnostní spektrometr molekuly analytu ionizuje, poté vzniklé ionty separuje a nakonec detekuje. Všechny 3 součásti (iontový zdroj, analyzátor a detektor) MS jsou uloženy v pouzdře a celý systém pracuje pod vysokým vakuem. Vysoké vakuum zajišťuje, že vytvořené ionty se nesráží, neboť to by mohlo vést k fragmentaci či vychýlení z dráhy. Vakuum nám také chrání kovové a oxidované povrchy iontového zdroje, analyzátoru a detektoru před korozí vzduchem a vodní párou.

U spojení GC-MS jsou molekuly vzorku zavedeny do iontového zdroje přes konec kapilární kolony. Průtok nosného plynu musí být dostatečně nízký, aby byl nosný plyn odstraněn vakuovým systémem. Nejvýhodnějšími plyny pro spojení GC-MS jsou helium či vodík, a to díky jejich nízkým atomovým hmotnostem, které jsou nižší než všechny pozorované ionty. Po zavedení do iontového zdroje jsou molekuly ionizovány. Nejběžnějšími technikami ionizace jsou elektronová ionizace (EI) a chemická ionizace (CI). Při EI dochází k tvorbě ionů při

interakci látky s proudem elektronů emitovaných z rozžhavené wolframové katody. Vznikají kationt-radikály, které se dále rozpadají na kladně nabitě ionty. Experimentálně se nejčastěji používá energie elektronů 70 eV a díky tomu je možné různá spektra mezi sebou porovnávat a vyhledávat v knihovnách. U CI se využívá principu iontově-molekulových reakcí s ionty, které vznikly z reakčního plynu interakcí s elektrony. Energie je zde nižší, což se projevuje vzrůstem intenzity píku molekulových iontů a potlačením fragmentace látky. Jako reakční plyn se používá např. methan, isobutan, oxid dusný nebo oxid dusnatý. Rozdělení iontů podle poměru m/z zajišťují hmotnostní analyzátoři. Ty jsou založeny na různých fyzikálně-chemických principech: zakřivení dráhy letu iontů v magnetickém nebo elektrickém poli - magnetický nebo elektrostatický analyzátor, různá stabilita oscilací iontů v dvoj- nebo trojrozměrné kombinaci stejnosměrného a vysokofrekvenčního střídavého napětí - kvadrupól nebo iontová past, různá doba rychlosti letu iontů - analyzátor doby letu, různá frekvence harmonických oscilací – orbitrap, různá absorpce energie při cykloidálním pohybu iontů v kombinovaném magnetickém a elektrickém poli - iontová cyklotronová resonance. V této práci byl využit kvadrupólový analyzátor, a proto si ho přiblížíme více. [40, 41]

Kvadrupól (viz *Obrázek 7*) se stal postupem času nejrozšířenějším hmotnostním analyzátořem a byl standardně volen pro přístroje pro plynovou a kapalinovou chromatografii ve spojení s hmotnostní spektrometrií. Jeho obliba je na základě nízké pořizovací ceny. Také je zde potřeba nižšího napětí k urychlení iontů ze zdroje do analyzátoru než u ostatních druhů analyzátořů, a navíc je prostorově menší. Dělení iontů uvnitř kvadrupólu je výsledkem pohybu iontů v elektrickém poli a je přímo závislé na poměru m/z . Zde na rozdíl od jiných analyzátořů není důležitým parametrem kinetická energie. Kvadrupól se skládá ze čtyř přesně opracovaných, kovových tyčí, které fungují jako hmotnostní filtr. Kombinace stejnosměrného proudu a vysokofrekvenčního napětí je aplikována na protilehlé páry tyčí a při konkrétním nastavení projdou systémem tyčí pouze ty ionty se specifickým poměrem hmotnosti k náboji. Všechny ostatní ionty se srazí s tyčemi. Ionty se zvolenou m/z jsou postupně vypuzovány na detektor zvýšením velikosti obou napětí při zachování konstantního poměru. Horní mez hodnoty m/z může být až 4000. Následuje detekce iontů separovaných podle m/z analyzátořem. Ionty dopadají na detektor, který generuje signál. Nejběžnější je elektronový násobič, dále fotonásobič nebo Faradayova klec. [36, 42]



Obrázek 7: Kvadrupólový analyzátor [36]

1.6. Aplikace extrakčních a separačních metod v analýze aromaprofilů vybraných dřevin

V následující *Tabulce 9* jsou shrnuty nalezené práce s tématem stanovení aromatického profilu různých druhů dřevin. Obsahuje popsání přípravy vzorku, analytickou metodu stanovení a počet identifikovaných těkavých aromatických látek.

Tabulka 9: Porovnání metod pro stanovení aromatických látek ve dřevě

Vzorek	Příprava vzorku	Separace	Počet identifikovaných látek (významné)	Zdroj
Modřín dahurský	Vzorek: dřevěná moučka HS-SPME – 100 μm PDMS extrakce při 80 °C a 30 minut	GC/MS	9 identifikováno (α- pinen, hexanal, nonanal, 3- karen)	[43]
Borovice lesní	Vzorek: dřevěné hobliny Extrakce do dichlormethanu metodou SAFE. Vysušeno bezvodým síranem sodným a zakoncentrováno.	GC-MS-O	39 identifikováno (α- pinen, vanilin, kyselina pentanová, hexanal)	[44]
Pazerav sbíhavý	Vzorek: dřevěné hobliny Extrakce do dichlormethanu metodou SAFE. Vysušeno bezvodým síranem sodným a zakoncentrováno.	GC-MS-O	19 identifikováno (α- pinen, vanilin, α- bisabolol, kyselina octová)	[45]

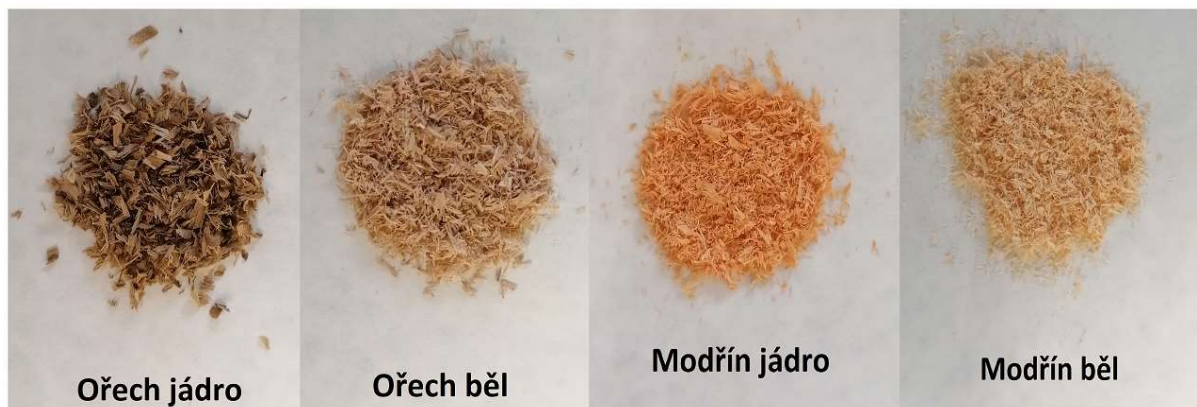
Dub balkánský	Vzorek: dřevěné hobliny Extrakce do dichlormethanu metodou SAFE. Vysušeno bezvodým síranem sodným a zakoncentrováno.	GC-MS-O	91 identifikováno (α - pinen, β -myrcen, limonen, α -thujon, α -terpineol)	[46]
Dub zimní	Vzorek: dřevěné piliny Pyrolýza při různých teplotách: 300, 400, 450, 500, 600 °C	Py-GC/MS	74 identifikováno (kyselina octová, maltol, vanilin, eugenol, methylpalmitát)	[47]
Borovice lesní	Vzorek: dřevěné kvádry (5cm ³) Extrakce metodou purge and trap do adsorpčního lapače naplněného uhlím. Látky eluovány směsí methylenchloridu a methanolu.	GC/MS/EAD	31 identifikováno (α - pinen, limonen, p- cymene, α - terpineol, thymol)	[48]
Dub bílý	Vzorek: dřevěné piliny Extrakce do dichlormethanu. Vysušeno bezvodým síranem sodným a zakoncentrováno.	GC/MS	44 identifikováno (eugenol, vanilin, trans- β -methyl- γ - octalacton, syringaldehyd)	[49]
Třešeň ptačí	Vzorek: mleté dřevo Temperace vzorku na 250 °C 7 minut, poté desorpce sloučenin při 250 °C 6 minut.	DTD-GC/MS	23 identifikováno (vanilin, kyselina palmitová, kyselina octová)	[50]
Borovice černá	Vzorek: dřevěné třísky Destilace do ropného benzínu. Zakoncentrováno odpařením za mírného vakua.	GC/MS	94 identifikováno (α - pinen, limonen, germacrene D, isopimaral)	[51]
Modřín čínský	Vzorek: dřevěné hobliny Pyrolýza při 600 °C.	Py-GC/MS	29 identifikováno (eugenol, vanilin, kyselina octová, p- kresol)	[52]

* *HS-SPME-GC-MS* – Metoda mikroextrakce na pevné fázi v headspace prostoru v kombinaci s plynovou chromatografií a hmotnostní spektrometrií, *SAFE* – metoda odpařování těkavých látek za pomoci rozpouštědla, *GC-MS-O* – Plynová chromatografie s hmotnostní spektrometrií a olfaktometrií, *Py-GC/MS* – Pyrolýza s plynovou chromatografií a hmotnostní spektrometrií, *GC/MS/EAD* – Plynová chromatografie s hmotnostní spektrometrií a elektroantennografickou detekcí, *DTD-GC/MS* – Přímá termální desorpce plynovou chromatografií s hmotnostní spektrometrií

2. Experimentální část

2.1. Vzorky

K identifikaci těkavých látek byly použity vzorky jádrového a bělového dřeva modřínu evropského a ořešáku evropského ve formě pilin z České zemědělské univerzity (*Obrázek 8*).



Obrázek 8: Analyzované vzorky pilin

2.2. Chemikálie a materiál

- Hexan od firmy Sigma-Aldrich (Praha, Česká republika)
- Destilovaná voda – purifikována s použitím systému Mili-Q[®] od firmy Merck KGaA (Darmstadt, Německo)
- Standard n-alkanů C8-C40 od firmy Sigma-Aldrich (Praha, Česká republika)
- Vodík a helium od firmy Linde Gas a.s. (Praha, Česká republika)
- SPME vlákna od firmy Supelco (Bellefonte, PA, USA)

2.3. Instrumentace

- Plynový chromatograf GC-2010 s plamenově ionizačním detektorem od firmy Shimadzu (Kyoto, Japonsko)
- Plynový chromatograf GCMS-QP2010 Plus s hmotnostním detektorem od firmy Shimadzu (Kyoto, Japonsko)

2.4. Pracovní postupy

2.4.1. Simultánní destilace – extrakce

Destilace těkavých sloučenin byla provedena v modifikaci simultánní destilace – extrakce do hexanu. Do 2000 ml destilační baňky bylo naváženo 50 g vzorku a přidáno 1000 ml vody. Destilace byla prováděna po dobu 4 hodin, pro extrakci těkavých sloučenin z kondenzátu byla

použita vrstva hexanu. Výsledná organická fáze byla převedena do 2ml odměrné baňky a doplněna po rysku. Každý vzorek byl destilován 2x.

2.4.2. Mikroextrakce tuhou fází

K zachycení těkavých látek ze vzorku bylo použito vlákno (šedé) s vrstvou 50/30 μm DVB/CAR/PDMS (divinylbenzen/karboxen/polydimethylsiloxan). Byla provedena extrakce z parního prostoru ve vialkách obsahujících 200 mg vzorku pilin. Extrakce těkavých sloučenin vzorku modřínového dřeva byla provedena při teplotě 115 °C po dobu 110 minut. U vzorku ořechového dřeva probíhala extrakce při teplotě 110 °C po dobu 120 minut. Proces extrakce a následné desorpce látek v nástřikovém bloku chromatografu byl proveden pomocí autosampleru COMBI PAL od firmy CTC Analyticals AG (Zwingen, Švýcarsko).

2.4.3. Plynová chromatografie

Pro separaci extrahovaných látek a identifikaci jednotlivých složek v extraktech byl použit plynový chromatograf s hmotnostním detektorem obsahující kvadrupólový hmotnostní analyzátor. Jako nosný plyn bylo použito helium při lineární rychlosti 30 cm/s. Splitovací poměr byl 1:10. Teplotní program byl následující: 40 °C (2 min), 2 °C/min \rightarrow 250 °C (5 min). Celková doba analýzy při zvoleném teplotním programu byla 112 min. Chromatografická kolona byla použita SLB-5MS (30 m x 0,25 mm x 0,25 μm) od firmy Supelco (Bellefonte, PA, USA). Pro semikvantifikaci separovaných látek byl využit plamenově ionizační detektor. Dávkování vzorku bylo prováděno pomocí autosampleru COMBI PAL. Dávkovaný objem vzorku byl 1 μl . Teplota nástřiku byla 230 °C. Parametry detektorů jsou uvedeny níže.

Hmotnostní spektrometr

Interface:	230 °C
Iontový zdroj:	230 °C
Rozsah m/z :	33-500
Skenovací rychlost:	2000 Da/s
Ionizační energie:	70 eV

Plamenově ionizační detektor

Průtok vodíku:	40 ml/min
Průtok vzduchu:	400 ml/min
Teplota:	270 °C

Pro identifikaci látek byly využity knihovny NIST 14 (NIST, Gaithersburg, MS, USA) a FFNSC 2 (Shimadzu, Kyoto, Japonsko). Ověření identifikovaných látek bylo provedeno pomocí retenčních indexů jednotlivých píků vypočtených podle vztahu Van den Doola (viz rovnice 1). Retenční indexy byly vypočítány s využitím retenčních časů řady standardů alkanů C8-C40. Analýza standardů byla provedena pomocí GC-MS a GC-FID za podmínek analýzy vzorků. Identifikované látky byly následně zkvantifikovány na základě shody retenčních indexů píků z obou analýz. Identifikovaným sloučeninám z GC-MS byla tedy přiřazena relativní procenta vypočítána z ploch píků z analýz GC-FID.

$$RI = 100 \left(\frac{t'_x - t_n}{t_{n+1} - t_n} \right) + 100n \quad (\text{rovnice 1})$$

kde t'_x je redukovaný retenční čas (prakticky byl použit retenční čas t_x), n je počet atomů uhlíku na n -alkanu, t_n je retenční čas n -alkanu a t_{n+1} je retenční čas vyššího n -alkanu

3. Výsledky a diskuze

3.1. Výběr vlákna pro SPME

Pro optimalizaci mikroextrakce tuhou fází byly testovány různé druhy vláken a z nich následně vybráno to s nejlepší sorpcí těkavých látek. Mezi testovaná vlákna byla podle doporučení výrobce zařazeny: vlákno šedé (s povlakem 50/30 μm DVB/CAR/PDMS), vlákno červené (s povlakem 100 μm PDMS), vlákno modré (s povlakem 85 μm CAR/PDMS) a vlákno růžové (s povlakem 65 μm PDMS/DVB). Do headspace vialek bylo naváženo 200 mg vzorku a ty byly následně podrobeny SPME extrakci při stanovených teplotách (*Tabulka 10*) po dobu 30 minut. Doba inkubace byla 20 minut. Desorpce byla provedena v nástřikovém bloku plynového chromatografu. Dle výsledků bylo vybráno vlákno šedé (s povlakem 50/30 μm DVB/CAR/PDMS), které poskytovalo výsledky s největším počtem piků i celkové plochy (viz *Tabulka 10*).

Tabulka 10: Výsledky analýz s použitím extrakčních vláken s různými sorbenty (separační metoda GC-MS)

<i>Teplota</i>	<i>Počet piků</i>	<i>Celková plocha</i>
Ořech jádro – šedé vlákno		
80 °C	31	59995960
110 °C	31	49464955
Ořech jádro – modré vlákno		
80 °C	34	40913469
110 °C	24	25173673
Ořech jádro – červené vlákno		
80 °C	24	12395969
110 °C	12	4438601
Ořech jádro – růžové vlákno		
80 °C	13	6579512
110 °C	15	7481719

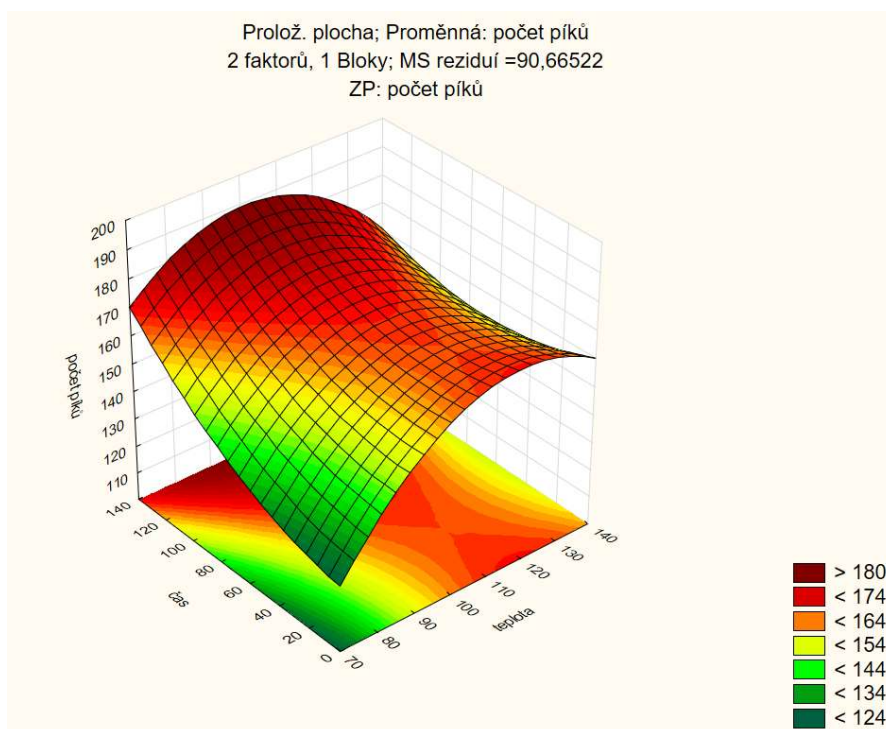
3.2. Optimalizace podmínek SPME

Optimalizace podmínek pro mikroextrakci tuhou fází byla provedena pomocí centrálního kompozitního designu založeného na metodě odezvové plochy (RSM – response surface methodology). Doba a teplota extrakce byly označeny jako nezávislé faktory. Tyto faktory byly následně zkoumány v několika bodech. Za základě předběžných pokusů byly stanoveny rozsahy teplot 80-130 °C a času 10-120 minut. Celkem 12 extrakcí v náhodném pořadí bylo zanalyzováno pomocí plynového chromatografu s plamenově ionizační detekcí (viz *Tabulka 11*). Následné vyhodnocení optimálních podmínek extrakce bylo provedeno pomocí

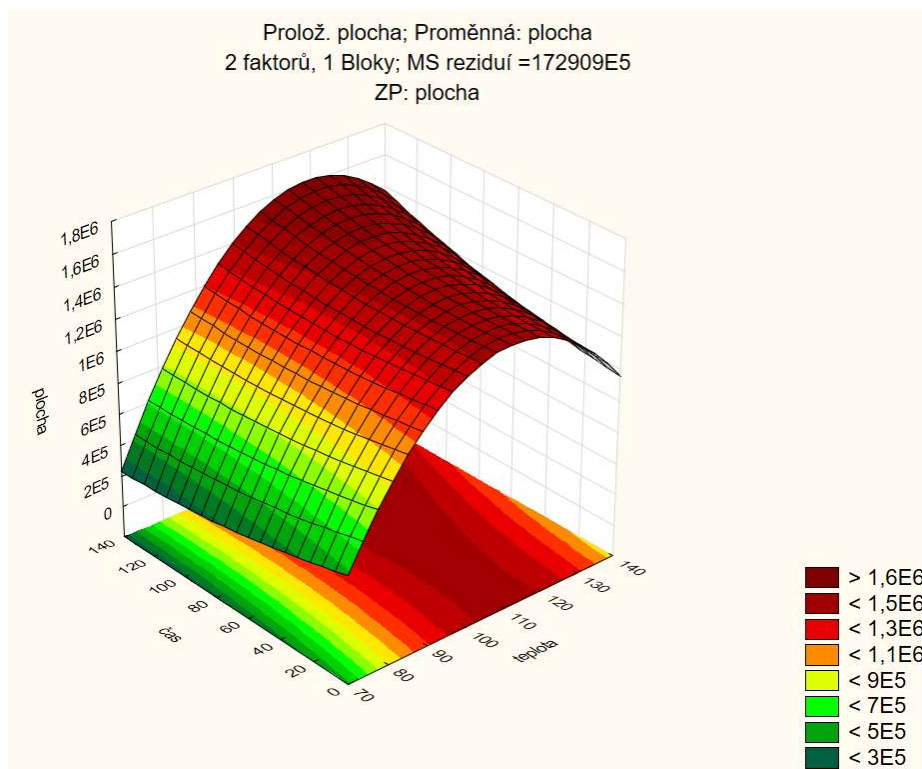
softwaru Statistica (StatSoft ČR, Praha, Česká republika). Dle grafických vizualizací na základě počtu píků i celkové plochy, byly stanoveny optimální podmínky extrakce ořechu při teplotě 110 °C a 120 minut.

Tabulka 11: Výsledky jednotlivých extrakcí při optimalizaci podmínek HS-SPME na vlákne 50/30 µm DVB/CAR/PDMS (separační metoda GC-FID)

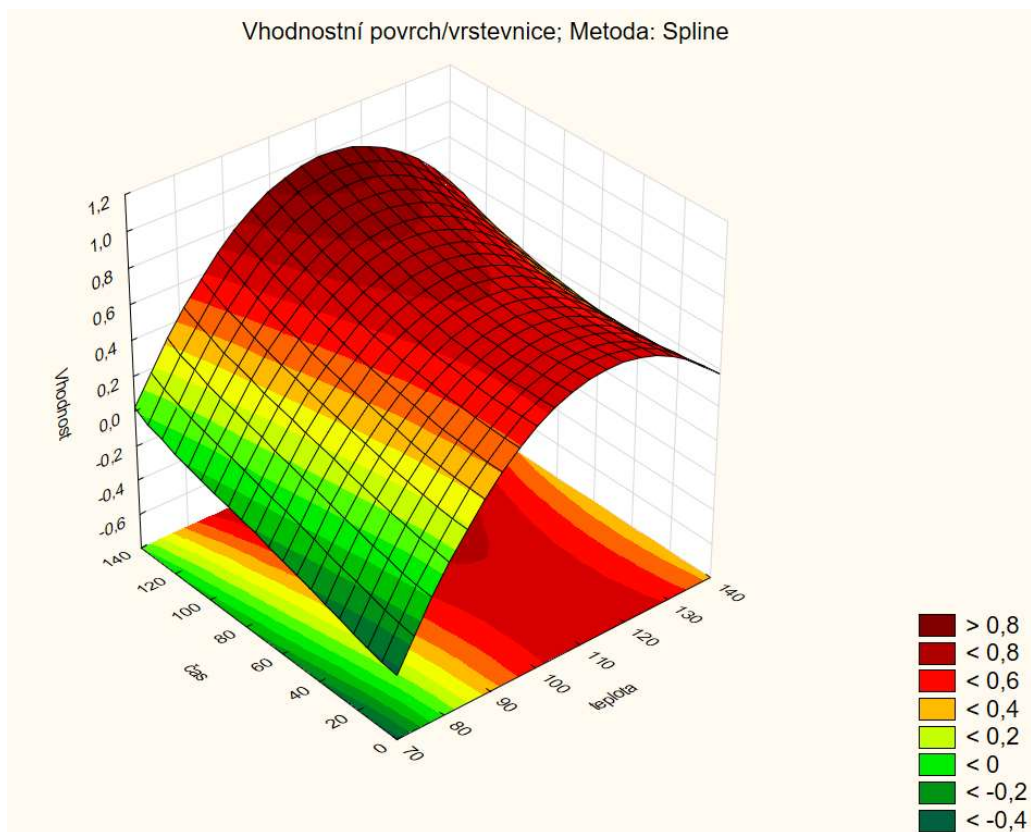
Teplota (°C)	Doba (min)	Počet píků	Celková plocha
80	10	144	991500
130	10	178	1224169
80	50	151	860706
130	120	165	1483729
110	90	178	1618600
80	50	150	874996
110	50	170	1484481
110	10	151	1355164
130	90	163	1348108
110	120	186	1420464
80	120	165	797203
130	50	150	1354687



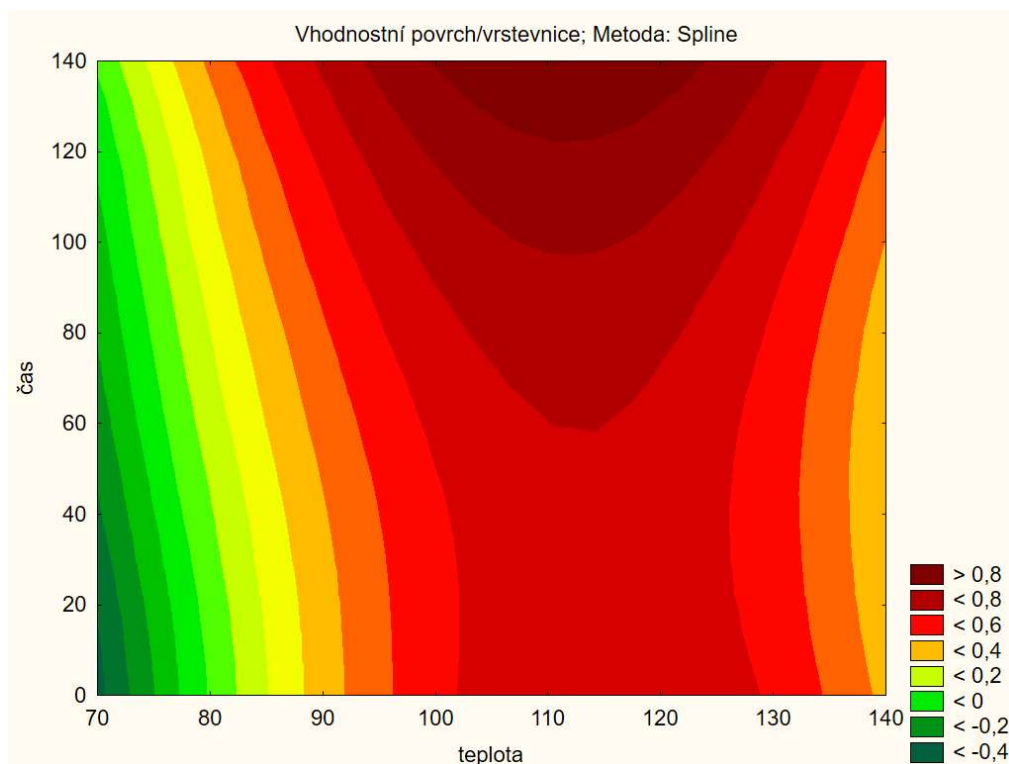
Obrázek 9: Závislost počtu píků na teplotě a čase



Obrázek 10: Závislost celkové plochy píků na teplotě a čase



A)



B)

Obrázek 11 (A,B): Kombinace počtu piků a celkové plochy vyjádřená jako vhodnost v závislosti na teplotě a čase v 3D (A) a 2D (B) zobrazení

3.2.1. Shrnutí optimalizace

Vzorky jádrového a bělového ořechového dřeva byly dle výsledků optimalizace analyzovány při optimálních podmínkách 110 °C a 120 minut. Optimální podmínky pro analýzu vzorků jádrového a bělového modřínového dřeva byly převzaty z práce T. Bajera a spol. [53], kde byly jako optimální podmínky zvoleny 115 °C a 110 minut s použitím vlákna 50/30 μm DVB/CAR/PDMS . Výsledky obou optimalizací nám ukazují velkou podobnost.

3.3. Analýza vzorků

Extrakty získané pomocí SDE a HS-SPME byly analyzovány pomocí GC-MS a GC- FID. Identifikované sloučeniny byly v extraktech semikvantifikovány na základě shodnosti retenčních indexů z obou typů analýz. V následujících *Tabulkách 12-19* jsou výsledky měření ve vzorcích jádrového a bělového dřeva, modřínu a ořešáku pomocí dvou výše uvedených metod.

3.3.1. Ořech

3.3.1.1. Simultánní destilace-extrakce

Metodou SDE jádrového ořechového dřeva bylo detekováno 290 píků o celkové ploše 26 377 875. Z toho bylo identifikováno 64 látek, celkem z 15 skupin viz *Tabulka 12*. Nejpočetnější skupinou byly karbonylové sloučeniny s 23 identifikovanými látkami. Nejvíce zastoupenou skupinou byly oxidované seskviterpeny s necelými 34 % z celkových 52 % (tzn. ze všech identifikovaných sloučenin v extraktu). Po simultánní destilaci – extrakci bělového ořechového dřeva bylo detekováno 269 píků o celkové ploše 13 597 996. Z toho bylo identifikováno 57 látek, celkem ze 14 skupin. Nejpočetnější skupinou byly opět karbonylové sloučeniny s 18 identifikovanými látkami a nejvíce zastoupenou skupinou oxidované seskviterpeny s téměř 34 % z celkových 52 %.

Tabulka 12: Porovnání počtu a zastoupení látek v jádrovém a bělovém ořechovém dřevě po simultánní destilaci – extrakci

Skupina	Ořech jádro		Ořech běl	
	Celkový počet	Relativní zastoupení (%)	Celkový počet	Relativní zastoupení (%)
karbonylové sloučeniny	23	2,42	18	2,36
estery	3	0,78	4	0,11
aromatické uhlovodíky	3	0,05	3	0,02
alkoholy	4	0,20	2	0,27
alifatické uhlovodíky	1	< 0,01	3	0,01
monoterpeny	5	0,11	4	0,19
apokarotenoidy	2	< 0,01	3	0,57
furany	1	0,09	1	0,16
oxidované monoterpeny	2	0,01	2	0,06
estery monoterpenů	1	< 0,01	1	0,01
seskviterpeny	5	0,15	5	0,14
oxidované seskviterpeny	2	6,01	2	2,860
karboxylové kyseliny	3	9,01	4	11,46
oxidované diterpeny	8	33,55	5	33,90
étery	1	0,08	X	X
Detekovaný počet píků	290		269	
Celková plocha	26 377 875		13 597 996	

Tabulka 13 představuje seznam identifikovaných látek ve vzorku jádrového a bělového ořechového dřeva získaných po simultánní destilaci – extrakci. V jádrovém ořechovém dřevě bylo celkem identifikováno 64 látek s relativním zastoupením v extraktu 52,46 %. Největší zastoupení měly látky bulnesol (11,9 %), hinesol (10,8 %) a guaiol (10,4 %). V bělovém dřevě

bylo identifikováno 57 látek s relativním zastoupením v extraktu 52,12 %. Největší zastoupení měly látky eremoligenol (18,9 %) a agarospirol (14,7 %).

Tabulka 13: Identifikované sloučeniny po simultánní destilaci – extrakci vzorku jádrového a bělového ořechového dřeva

Identifikované látky	Retenční index	CAS číslo	JÁDRO (%)	BĚL (%)
Karboxylové sloučeniny				
Hexanal	802	66-25-1	1,00	1,20
(E)-2-Hexenal	853	6728-26-3	< 0,01	X
2-Heptanon	891	110-43-0	0,02	X
(Z)-4-Heptenal	902	6728-31-0	< 0,01	X
Heptanal	904	111-71-7	0,11	0,08
(E)-2-Heptenal	958	18829-55-5	0,02	0,03
Benzaldehyd	964	100-52-7	0,06	0,02
Octanal	1005	124-13-0	0,03	0,04
3-Octen-2-on	1041	1669-44-9	< 0,01	< 0,01
Salicylaldehyde	1042	90-02-8	< 0,01	X
(E)-2-Octenal	1060	2548-87-0	0,18	0,20
Pelargonaldehyd	1105	124-19-6	0,07	0,11
(E,E)-2,4-Octadienal	1113	30361-28-5	< 0,01	X
3-Nonen-2-on	1139	14309-57-0	< 0,01	< 0,01
(E,Z)-2,6-Nonadienal	1155	557-48-2	0,02	< 0,01
(E)-2-Nonenal	1164	18829-56-6	0,76	0,45
2-Dekanon	1192	693-54-9	< 0,01	X
Dekanal	1207	112-31-2	0,04	0,07
(E,E)-2,4-Nonadienal	1215	5910-87-2	0,04	0,02
(E)-2-Dekenal	1264	3913-81-3	< 0,01	0,01
Undekanal	1310	112-44-7	< 0,01	0,01
(E,E)-2,4-Dekanedienal	1319	25152-84-5	0,06	0,06
(8Z)-8-Undekenal	1363	147159-49-7	0,01	0,03
2-Pentadekanon	1696	2345-28-0	X	0,02

<i>Estery</i>				
n-Butylacetát	818	123-86-4	< 0,01	< 0,01
2,2,4-Trimethyl-1,3-pentanediol diisobutyrate	1586	6846-50-0	0,14	0,08
Methyl-linoleát	2090	112-63-0	0,64	0,02
Methyl-linolenát	2098	301-00-8	X	< 0,01
<i>Aromatické uhlovodíky</i>				
Ethylbenzen	856	100-41-4	0,01	0,01
p-Xylen	864	106-42-3	0,03	X
Mesitylen	994	108-67-8	< 0,01	0,01
Naftalen	1176	91-20-3	X	< 0,01
<i>Alkoholy</i>				
Hexanol	875	111-27-3	0,01	X
1-Octen-3-ol	978	3391-86-4	0,03	0,05
2-Ethyl-1-Hexanol	1029	104-76-7	0,16	0,22
<i>Alifatické uhlovodíky</i>				
Nonan	899	111-84-2	< 0,01	< 0,01
Pentakosan	2500	629-99-2	X	0,01
Heptakosan	2700	593-49-7	X	< 0,01
<i>Monoterpeny</i>				
α -Pinen	935	80-56-8	0,02	0,03
δ -3-Karen	1007	13466-78-9	0,03	0,05
p-Cymen	1025	99-87-6	0,01	0,03
Limonen	1031	138-86-3	0,04	0,09
p-Cymenen	1088	1195-32-0	< 0,01	X
<i>Apokarotenoidy</i>				
6-Methyl-5-Hepten-2-on	989	110-93-0	< 0,01	0,01
Dihydro- α -ionon	1412	31499-72-6	< 0,01	X
Nerylaceton	1446	3879-26-3	X	< 0,01
Phyton	1839	502-69-2	X	0,55

<i>Furany</i>				
2-Pentylfuran	992	3777-69-3	0,09	0,16
<i>Étery</i>				
1,3- Dimethoxybenzen	1169	151-10-0	0,08	X
<i>Oxidované monoterpeny</i>				
4-Terpineol	1181	562-74-3	< 0,01	0,04
α -Terpineol	1195	98-55-5	< 0,01	0,02
<i>Estery monoterpenů</i>				
Bornylacetát	1284	76-49-3	< 0,01	0,01
<i>Seskviterpeny</i>				
α -Kopaen	1373	3856-25-5	0,01	< 0,01
(E)- β -Karyofylen	1417	87-44-5	X	0,08
γ -Elemen	1432	29873-99-2	< 0,01	X
α -Karyofylen	1454	6753-98-6	0,01	< 0,01
Valencen	1489	4630-07-3	0,04	0,04
β -Selinen	1485	17066-67-0	0,09	X
α -Calacoren	1541	21391-99-1	X	0,02
<i>Oxidované seskviterpeny</i>				
(E)-Nerolidol	1561	40716-66-3	0,06	< 0,01
Karyofylen oxid	1578	1139-30-6	0,07	X
Guaiol	1596	489-86-1	10,42	0,32
Humulen epoxid II	1611	19888-34-7	0,03	X
Rosifoliol	1609	63891-61-2	0,29	X
Eremoligenol	1627	10219-71-3	X	18,86
Hinesol	1639	23811-08-7	10,82	X
Agarospinol	1641	1460-73-7	X	14,72
α -Eudesmol	1652	473-16-5	< 0,01	X
β -Eudesmol	1657	473-15-4	X	< 0,01
Bulnesol	1673	22451-73-6	11,86	X
<i>Karboxylové kyseliny</i>				

Kyselina pelargonová	1273	112-05-0	X	< 0,01
Kyselina myristová	1790	544-63-8	7,02	0,98
Kyselina pentadecylová	1877	1002-84-2	0,76	1,06
Kyselina palmitová	2002	57-10-3	1,23	9,41
Oxidované diterpeny				
Epimanool	2054	1438-62-6	6,01	2,86
Dehydroabietal	2283	13601-88-2	< 0,01	< 0,01

3.3.1.2. Mikroextrakce tuhou fází

Metodou SPME jádrového ořechového dřeva bylo detekováno 188 píků. Z toho bylo identifikováno 21 látek, celkem ze 7 skupin viz *Tabulka 14*. Nejpočetnější skupinou byly diterpeny s 5 identifikovanými látkami. Po extrakci bělového ořechového dřeva bylo detekováno 176 píků. Z toho bylo identifikováno 13 látek, celkem z 5 skupin. U bělového dřeva nebyly identifikovány diterpeny a aromatické uhlovodíky oproti jádrovému dřevu. Nejpočetnější skupinou byly alifatické uhlovodíky se 6 identifikovanými látkami.

Tabulka 14: Porovnání počtu a zastoupení látek v jádrovém a bělovém ořechovém dřevě po mikroextrakci tuhou fází

Skupina	Ořech jádro		Ořech běl	
	Celkový počet	Relativní zastoupení (%)	Celkový počet	Relativní zastoupení (%)
estery	2	0,09	1	2,17
alifatické uhlovodíky	4	0,140	6	1,73
seskviterpeny	4	0,04	1	0,04
oxidované seskviterpeny	4	7,61	4	6,68
diterpeny	5	1,81	-	-
karboxylové kyseliny	1	34,83	1	32,95
aromatické uhlovodíky	1	< 0,01	-	-
Detekovaný počet píků	188		176	

Tabulka 15 představuje seznam identifikovaných látek ve vzorku jádrového a bělového ořechového dřeva získaných po mikroextrakci tuhou fází. V jádrovém ořechovém dřevě bylo identifikováno 21 látek s relativním zastoupením v extraktu 44,52 %. Největší zastoupení měla kyselina palmitová (34,8 %). V bělovém dřevě bylo identifikováno 13 látek s relativním zastoupením v extraktu 43,57 %. Největší zastoupení měla opět kyselina palmitová (32,9 %).

Tabulka 15: Identifikované sloučeniny po mikroextrakci tuhou fází vzorku jádrového a bělového ořechového dřeva

Identifikované látky	Retenční index	CAS číslo	JÁDRO (%)	BĚL (%)
Aromatické uhlovodíky				
Dekamethylcyklopentasiloxan	1135	541-02-6	< 0,01	X
Diterpeny				
α -Cedren	1413	19069-48-8	0,03	X
Neophytadien	1834	504-96-1	0,15	X
Isopimara-9(11),15-dien	1908	39702-28-8	< 0,01	X
Cembren	1936	1898-13-1	1,01	X
Sandaracopimaradien	1963	1686-56-2	0,62	X
Seskviterpeny				
α -Guaien	1433	3691-12-1	< 0,01	X
Aristolochen	1468	823810-22-6	< 0,01	X
Selina-4,11-dien	1476	17627-30-4	< 0,01	X
β -Selinen	1485	17066-67-0	0,04	X
Valencen	1489	4630-07-3	X	0,04
Estery				
α -Bulnesen	1490	489-81-6	< 0,01	X
2,2,4-Trimethyl-1,3-pentandiol diisobutyřát	1586	6846-50-0	0,08	2,17
Alifatické uhlovodíky				
n-Hexadekan	1600	544-76-3	< 0,01	X
Octadekan	1799	593-45-3	< 0,01	0,82
Nonadekan	1900	629-92-5	X	0,10
Ikosan	2000	112-95-8	X	0,34
Henikosan	2099	629-94-7	X	0,20
Dokosan	2200	629-97-0	0,11	0,15
Trikosan	2300	638-67-5	0,03	0,13
Oxidované seskviterpeny				
Eremoligenol	1627	10219-71-3	X	3,01

γ -Eudesmol	1629	1209-71-8	7,46	X
Hinesol	1639	23811-08-7	< 0,010	1,25
α -Eudesmol	1652	473-16-5	< 0,010	X
β -Eudesmol	1657	473-15-4	X	1,73
Phyton	1839	502-69-2	0,15	0,70
<i>Karboxylové kyseliny</i>				
Kyselina palmitová	2002	57-10-3	34,83	32,95

U jádrového ořechového dřeva bylo detekováno a identifikováno více těkavých látek než u bělového dřeva dle předpokladů. I celková plocha píků dle výsledků analýz extraktů získaných metodou SDE u jádrového ořechového dřeva je téměř dvojnásobná proti bělovému ořechovému dřevu. Z porovnání mezi použitými metodami je patrný nižší počet píků i identifikovaných látek u mikroextrakce tuhou fází oproti simultánní destilaci-extrakci. Důvodem jsou odlišné principy obou izolačních metod. Zatímco v případě SDE se zachytávají všechny těkavé sloučeniny rozpustné v organickém rozpouštědle, u HS-SPME je extrahovatelné množství ovlivněno např. kapacitou vlákna, počtem extrakčních kroků (jeden u HS-SPME vs. mnoho u SDE) či zvolenými parametry (inkubace vzorku a extrakce při jedné teplotě). Dalším faktorem je stáří vzorku. Čerstvě nařezané piliny by mohly poskytovat větší intenzitu aromatických látek. Bohužel není možné srovnání s další publikovanou prací, jelikož práce se doposud zabývaly pouze analýzou plodů ořešáku.

3.3.2. Modřín

3.3.2.1. *Simultánní destilace-extrakce*

Metodou SDE jádrového modřínového dřeva bylo detekováno 322 píků o celkové ploše 24 230 912. Z toho bylo identifikováno 92 látek, celkem z 15 skupin viz *Tabulka 16*. Nejpočetnější skupinou byly karbonylové sloučeniny s 19 identifikovanými látkami. Nejvíce zastoupenou skupinou byly oxidované diterpeny s téměř 35 % z celkových 52 %. Po simultánní destilaci – extrakci bělového modřínového dřeva bylo detekováno 358 píků o celkové ploše 12 663 967. Z toho bylo identifikováno 86 látek, celkem ze 14 skupin. U bělového dřeva nebyly identifikovány estery diterpenů oproti jádrovému dřevu. Nejpočetnější skupinou byly karbonylové sloučeniny s 26 identifikovanými látkami, ale opět nejvíce zastoupenou skupinou byly oxidované diterpeny se 36 % z celkových 53 %.

Tabulka 16: Porovnání počtu a zastoupení látek v jádrovém a bělovém modřínovém dřevě po simultánní destilaci – extrakci

Skupina	Modřín jádro		Modřín běl	
	Celkový počet	Relativní zastoupení (%)	Celkový počet	Relativní zastoupení (%)
karbonylové sloučeniny	19	2,12	26	6,53
estery	2	0,54	1	0,13
alkoholy	1	0,03	2	0,07
alifatické uhlovodíky	4	0,37	7	0,27
monoterpeny	15	1,73	13	2,72
furany	1	0,06	1	0,02
oxidované monoterpeny	12	2,25	15	1,47
estery monoterpenů	2	0,52	2	0,52
seskviterpeny	13	0,54	3	0,03
oxidované seskviterpeny	10	2,87	5	2,97
diterpeny	2	0,02	2	0,08
oxidované diterpeny	4	34,42	3	33,08
estery diterpenů	2	0,86	-	-
karboxylové kyseliny	3	5,24	2	5,01
fenolické deriváty	2	0,09	4	0,09
Detekovaný počet píků	322		358	
Celková plocha	24 230 912		12 663 967	

Tabulka 17 představuje seznam identifikovaných látek ve vzorku jádrového a bělového modřínového dřeva získaných po simultánní destilaci – extrakci. V jádrovém modřínovém dřevě bylo celkem identifikováno 92 látek s relativním zastoupením v extraktu 51,66 %. Největší zastoupení měl epimanol (27,4 %). V bělovém dřevě bylo identifikováno 86 látek s relativním zastoupením 52,99 %. Největší zastoupení měl opět epimanol (32,6 %).

Tabulka 17: Identifikované sloučeniny po simultánní destilaci – extrakci vzorku jádrového a bělového modřínového dřeva

Identifikované látky	Retenční index	CAS číslo	JÁDRO (%)	BĚL (%)
Karbonylové sloučeniny				
Hexanal	802	66-25-1	1,25	3,00
(E)-2-Hexenal	853	6728-26-3	< 0,01	X
2-Heptanon	891	110-43-0	X	0,16
Heptanal	904	111-71-7	0,03	0,17
(E)-2-Heptenal	958	18829-55-5	0,04	0,03
Benzaldehyd	964	100-52-7	< 0,01	< 0,01

Isopropylpentylketon	984	923-28-4	X	< 0,01
2-Octanon	991	111-13-7	X	0,01
Octanal	1005	124-13-0	0,08	0,03
3-Octen-2-on	1041	1669-44-9	< 0,01	< 0,01
(E)-2-Octenal	1060	2548-87-0	0,14	0,30
2-Nonanon	1092	821-55-6	< 0,01	0,05
Pelargonaldehyd	1105	124-19-6	0,16	0,76
Nopinon	1129	24903-95-5	X	< 0,01
(E)-2-Nonenal	1164	18829-56-6	0,10	0,19
4-Methylacetofenon	1187	122-00-9	X	0,11
Methyloctylketon	1192	693-54-9	< 0,01	0,37
Dekanal	1207	112-31-2	0,04	X
(E,E)-2,4-Nonadienal	1215	5910-87-2	0,03	0,05
(E)-2-Dekanal	1264	3913-81-3	0,06	0,35
(E,E)-2,4-Dekanedienal	1319	25152-84-5	0,04	0,07
(8Z)-8-Undekenal	1363	147159-49-7	0,05	0,31
Lauraldehyd	1409	112-54-9	< 0,01	0,02
Tridekanal	1511	10486-19-8	X	0,04
Myristaldehyd	1613	124-25-4	X	0,06
Tridecylmethylketon	1696	2345-28-0	0,02	0,03
(Z)-9-Hexadekenal	1793	56219-04-6	X	0,03
Monoterpeny				
Santen	880	529-16-8	0,04	0,02
Tricyklen	923	508-32-7	X	0,02
α -Thujen	924	2867-05-2	< 0,01	X
α -Pinen	935	80-56-8	0,64	1,27
α -Fenchen	946	471-84-1	< 0,01	X
Kamfen	943	79-92-5	0,11	0,02
Dehydrosabinen	951	36262-09-6	< 0,01	0,13
β -Pinen	974	127-91-3	0,01	X

δ-3-Karen	1007	13466-78-9	0,06	0,10
α-Terpinen	1015	99-86-5	0,06	0,01
p-Cymen	1025	99-87-6	0,28	0,36
Limonen	1031	138-86-3	0,36	0,29
γ-Terpinen	1061	99-85-4	0,04	0,04
Terpinolen	1086	586-62-9	0,04	0,02
p-Cymenen	1088	1195-32-0	0,09	0,09
p-Cymen-8-ol	1189	1197-01-9	< 0,01	0,35
Estery				
Pentyl acetát	915	628-63-7	< 0,01	X
2,2,4-Trimethyl-1,3-pentanediol diisobutyrate	1585	6846-50-0	0,54	0,13
Alkoholy				
Hexanol	875	111-27-3	X	0,02
1-Octen-3-ol	978	3391-86-4	0,03	0,06
Furany				
2-Pentylfuran	992	3777-69-3	0,06	0,02
Oxidované monoterpeny				
1,4-Cineol	1013	470-67-7	< 0,01	X
(E)-Linalool furanoxid	1088	34995-77-2	X	0,03
Linalool	1100	78-70-6	0,01	0,04
Fenchol	1122	1632-73-1	0,24	0,01
α-Kamfolenal	1124	4501-58-0	0,02	0,09
(E)-Pinocarveol	1140	5947-36-4	< 0,01	0,29
Kamfor	1147	76-22-2	< 0,01	0,13
(E)-Pinokamfon	1156	547-60-4	X	0,10
Isoborneol	1158	124-76-5	0,02	0,16
Kamfen hydrát	1159	465-31-6	< 0,01	0,05
Borneol	1171	507-70-0	0,47	X
4-Terpineol	1181	562-74-3	0,44	0,10

α -Terpineol	1195	98-55-5	1,04	0,21
Kmínaldehyd	1240	122-03-2	X	< 0,01
Karvon	1243	99-49-0	X	0,04
Fellandral	1276	21391-98-0	< 0,01	< 0,01
<i>Fenolické deriváty</i>				
Estragol	1196	140-67-0	0,09	0,09
Methyl-thymol	1231	1076-56-8	< 0,01	< 0,01
(E)-Anetol	1288	4180-23-8	X	< 0,01
Methyl-p-anisát	1375	121-98-2	X	< 0,01
<i>Estery monoterpenů</i>				
Bornylacetát	1284	76-49-3	0,38	0,37
Bornyl-isovalerát	1514	76-50-6	0,14	0,15
<i>Karboxylové kyseliny</i>				
Kyselina pelargonová	1273	112-05-0	0,13	0,95
Kyselina pentadecylová	1877	1002-84-2	0,41	X
Kyselina palmitová	2002	57-10-3	4,71	4,07
<i>Seskviterpeny</i>				
α -Kopaen	1373	3856-25-5	0,02	X
Longifolen	1418	475-20-7	0,05	0,01
(E)- β -Karyofylen	1417	87-44-5	0,04	X
γ -Elemen	1432	29873-99-2	< 0,01	X
(E)- β -Farnesen	1453	18794-84-8	< 0,01	X
Alloaromadendren	1458	25246-27-9	0,01	X
γ -Muurolen	1472	30021-74-0	0,06	X
α -Amorfen	1486	483-75-0	0,14	X
α -Muurolen	1497	10208-80-7	0,02	X
γ -Kadinen	1512	39029-41-9	0,04	X
δ -Kadinen	1517	483-76-1	0,11	< 0,01
Selina-4(15),7(11)-dien	1546	58893-88-2	< 0,01	X
α -Calacoren	1541	21391-99-1	0,05	0,02

<i>Oxidované seskviterpeny</i>				
Salvia-4(14)-en-1-on	1590	73809-82-2	0,07	X
Guaiol	1596	489-86-1	1,05	2,92
Longiborneol	1602	465-24-7	0,03	< 0,01
Humulene epoxid II	1611	19888-34-7	0,07	X
Rosifoliol	1609	63891-61-2	0,03	X
γ -Eudesmol	1629	1209-71-8	0,15	X
Eremoligenol	1630	10219-71-3	X	0,04
Hinesol	1639	23811-08-7	0,60	0,01
τ -Muurolol	1643	19912-62-0	< 0,01	X
α -Eudesmol	1655	473-16-5	0,86	< 0,01
Bulnesol	1665	22451-73-6	0,42	X
<i>Diterpeny</i>				
Isopimara-9(11),15-dien	1908	39702-28-8	0,02	< 0,01
Cembren	1936	1898-13-1	< 0,01	X
Biformen	1942	5957-33-5	X	0,07
<i>Oxidované diterpeny</i>				
Manool oxid	2010	596-84-9	3,61	0,13
Epimanool	2054	1438-62-6	27,44	32,65
Dehydroabietal	2283	13601-88-2	3,05	X
Abietal	2331	6704-50-3	0,32	0,30
<i>Estery diterpenů</i>				
Methyl-isopimarát	2313	1686-62-0	0,70	X
Methyl-dehydroabietát	2349	1235-74-1	0,16	X
<i>Alifatické uhlovodíky</i>				
Tetradekan	1400	629-59-4	X	0,01
Dokosan	2200	629-97-0	X	0,03
Trikosan	2300	638-67-5	X	0,06
Tetrakosan	2400	646-31-1	0,35	0,08
Pentakosan	2500	629-99-2	0,02	0,04

Hexakosan	2600	630-01-3	< 0,01	0,02
Heptakosan	2700	593-49-7	< 0,01	0,01

3.3.2.2. Mikroextrakce tuhou fází

Metodou SPME jádrového modřínového dřeva bylo detekováno 128 piků. Z toho bylo identifikováno 11 látek, celkem ze 6 skupin viz *Tabulka 18*. Nejpočetnější a zároveň nejvíce zastoupenou skupinou byly diterpeny s 5 identifikovanými látkami (2,4 % z celkových 3,8 %). Po extrakci bělového modřínového dřeva bylo detekováno 124 piků. Z toho bylo identifikováno 5 látek, celkem ze 2 skupin. U bělového dřeva byly identifikovány pouze diterpeny a karboxylová kyselina oproti jádrovému dřevu.

Tabulka 18: Porovnání počtu a zastoupení látek v jádrovém a bělovém modřínovém dřevě po mikroextrakci tuhou fází

Skupina	Modřín jádro		Modřín běl	
	Celkový počet	Relativní zastoupení (%)	Celkový počet	Relativní zastoupení (%)
karbonylové sloučeniny	1	< 0,01	-	-
alifatické uhlovodíky	1	0,02	-	-
diterpeny	5	2,38	4	1,11
oxidované diterpeny	2	0,31	-	-
estery diterpenů	1	0,08	-	-
karboxylové kyseliny	1	1,01	1	0,10
Detekovaný počet piků	128		124	

Tabulka 19 představuje seznam identifikovaných látek ve vzorku jádrového a bělového modřínového dřeva získaných po mikroextrakci tuhou fází. V jádrovém modřínovém dřevě bylo identifikováno 11 látek s relativním zastoupením v extraktu 3,8 %. Největší zastoupení měl sandarakopimaradien (2 %). V bělovém dřevě bylo identifikováno 5 látek s relativním zastoupením v extraktu 1,2 %. Největší zastoupení měl pimaradien (0,6 %).

Tabulka 19: Identifikované sloučeniny po mikroextrakci tuhou fází vzorku jádrového a bělového modřínového dřeva

Identifikované látky	Retenční index	CAS číslo	JÁDRO (%)	BĚL (%)
Karbonylové sloučeniny				
Vanilin	1409	121-33-5	< 0,01	X
Diterpeny				
Isopimara-9(11),15-dien	1908	39702-28-8	0,05	< 0,01

Cembren	1936	1898-13-1	0,18	0,30
Pimaradien	1968	1686-61-9	0,12	0,57
Sandarakopimaradien	1963	1686-56-2	1,97	0,25
Abietadien	2103	35241-40-8	0,06	X
Karboxylové kyseliny				
Kyselina palmitová	2002	57-10-3	1,01	0,10
Oxidované diterpeny				
Manool	2062	596-85-0	0,09	X
Dehydroabietal	2283	13601-88-2	0,22	X
Estery diterpenů				
Methyl-isopimarát	2313	1686-62-0	0,08	X
Alifatické uhlovodíky				
Heptakosan	2700	593-49-7	0,02	X

Zde bylo detekováno více píků u bělového modřínového dřeva, ale identifikováno bylo opět více těkavých látek u jádrového modřínového dřeva. Znovu i celková plocha u jádrového modřínového dřeva je bezmála dvojnásobná proti bělovému dřevu provedené metodou SDE. Zde je rozdíl mezi použitými metodami zásadní. Vidíme výrazný pokles identifikovaných látek u mikroextrakce tuhou fází oproti simultánní destilaci – extrakci. V tomto případě můžeme stáří vzorku porovnat s prací T. Bajera a spol. [53], kde čerstvě nařezané vzorky modřínového dřeva dávají u chromatogramů metodou HS-SPME z GC-FID, mnohem větší počet detekovaných píků. Staří vzorku je tedy jedním z faktorů. Dalším důvodem může být jeden extrakční krok u HS-SPME oproti několikanásobně více extrakčních kroků u SDE, tím se dosáhlo požadovaného stupně zakoncentrování a následně byly sloučeniny detekovatelné.

3.3.2.3. Porovnání s literaturou

Výsledky můžeme porovnat s několika pracemi zabývající se stanovením těkavých látek v modřínovém dřevě.

V práci Ostroukhovové a kol. [54] byly v modřínové pryskyřici detekovány, pomocí plynové a kapalinové chromatografie, karbonylové sloučeniny, uhlovodíků, alkoholy, diterpenoidy a některé mastné a pryskyřičné kyseliny. Epimanool jako charakteristická sloučenina modřínové pryskyřice byla shodně identifikována v této diplomové práci.

Ve studii Wajsové a kol. [55] porovnávali aromaprofilu smrku norského, borovice lesní a modřínu evropského. Byla použita extrakční metoda HS-SPME a následně byly látky separovány, detekovány a identifikovány pomocí GC-MS. Bylo použito vlákno se sorbentem DVB/CAR/PDMS. Dominující látkou byl α -pinen. V této diplomové práci bylo shodně se studií Wajsové identifikováno 36 látek (např. hexanal, α -pinen, β -pinen, δ -3-karen nebo δ -kadinen).

Ve třetí práci, Bajera a spol. [56], bylo analyzováno 7 evropských dřevin (akát, olše, buk, jilm, modřín, javor a dub). Opět byla použita metoda HS-SPME následovaná GC-MS. Vlákno bylo na bázi DVB/CAR/PDMS. Největší zastoupení měl manool. Zde bylo shodně s touto prací identifikováno 45 látek (např. cembren, dehydroabietal, α -terpineol, γ -muurolen, δ -kadinen nebo již zmíněný manool).

V práci Sunové a kol. [43] byla analyzována odrůda modřínu dahurského. Též byla použita metoda HS-SPME-GC-MS. Vlákno bylo zvoleno se sorbentem PDMS. Látky hexanal a α -pinen byly shodně identifikovány i v této práci.

Ve studii Wang a spol. [52] byl analyzován modřín čínský metodou Py-GC/MS. Stejně jako v této diplomové práci byl identifikován vanilin a guaiol při všech třech zvolených teplotách pyrolýzy.

Závěr

Cílem této diplomové práce bylo porovnání metod simultánní destilace – extrakce a mikroextrakce tuhou fází ke stanovení aromaprofilů ve vzorcích jádrového a bělového dřeva dvou druhů dřevin, modřínu evropského a ořešáku evropského. V teoretické části bylo popsáno dřevo a jeho složení. V experimentální části byly analyzovány vzorky dřeva metodami simultánní destilace-extrakce (SDE) a mikroextrakce tuhou fází z headspace prostoru (HS-SPME) s následnou analýzou plynovou chromatografií. Jednotlivé vzorky dřevin byly porovnávány podle počtu detekovaných a také identifikovaných látek a jejich relativního zastoupení v získaných extraktech. Jednotlivé sloučeniny byly identifikovány pomocí hmotnostních spekter a porovnáním retenčních indexů s publikovanými daty. Pomocí naměřených dat z GC - FID bylo identifikovaným látkám přiřazeno relativní zastoupení v extraktech. Skupiny těkavých látek vyskytujících se v dřevinách jsou monoterpeny, seskviterpeny, diterpeny, jejich oxidované formy či estery, alkoholy, karbonylové sloučeniny, karboxylové kyseliny, estery a alifatické či aromatické uhlovodíky. Jádrové dřevo u ořechu i modřínu poskytovalo téměř dvojnásobně vyšší celkovou plochu píků v chromatogramu. U obou vzorků dřevin po simultánní destilaci – extrakci dominovaly v počtu identifikovaných látek karbonylové sloučeniny, ale v relativním zastoupení zaostávaly za terpenickými látkami. U ořechového dřeva dominovaly oxidované seskviterpeny a u modřínového dřeva byly majoritní skupinou v obou částech stromu oxidované diterpeny. Co se týká jednotlivých sloučenin, tak u vzorků ořešáku bylo zjištěno nejvyšší zastoupení v extraktu z HS-SPME u kyseliny palmitové, v extraktech z SDE to byl bulnesol, hinesol a guaiol. U vzorků modřínu to byl sanrakopimaradien a pimaradien (HS-SPME) a epimanol (SDE). Metoda HS-SPME neposkytovala tak bohaté extrakty jako SDE. Metoda izolace pomocí SDE vedla k většímu počtu detekovaných i identifikovaných látek oproti HS-SPME. V tomto provedení metoda HS-SPME není vhodná pro starší vzorky, přestože byly skladovány při laboratorní teplotě bez přístupu světla a vzduchu. U modřínového dřeva byly navíc potvrzeny identifikované látky v porovnání s jinými publikovanými pracemi.

Zdroje

- [1] PATŘIČNÝ, Martin. *Pracujeme se dřevem: základní příručka*. 5., přepracované vydání. Praha: Grada Publishing, 2017. ISBN 978-80-271-0307-2
- [2] FORRESTER, Paul. *Práce se dřevem: kompletní obrazový průvodce technikami*. Praha: Slovart, 2011. ISBN 978-80-7391-475-2
- [3] *Dřevo od A do Z*. Čestlice: Rebo, 2006. ISBN 80-7234-531-1
- [4] WALKER, Aidam, ed. *Dřevo – Velká encyklopedie*. Praha: Grada, 2009. ISBN 978-80-274-28558-2
- [5] KAVINA, Karel. *Anatomie dřeva*. V Praze: Ministerstvo zemědělství, 1932. Publikace Ministerstva zemědělství RČS
- [6] HÁJEK, Václav. *Pracujeme se dřevem*. Praha: Svoboda-Libertas, 1993. ISBN 80-205-0323-4
- [7] PIQUERAS, Sara, Sophie FÜCHTNER, Rodrigo ROCHA DE OLIVEIRA, Adrián GÓMEZ-SÁNCHEZ, Stanislav JELAVIĆ, Tobias KEPLINGER, Anna DE JUAN a Lisbeth Garbrecht THYGESSEN. Understanding the Formation of Heartwood in Larch Using Synchrotron Infrared Imaging Combined With Multivariate Analysis and Atomic Force Microscope Infrared Spectroscopy. *Frontiers in Plant Science*. 2020, **10**. ISSN 1664-462X. Dostupné z: doi:10.3389/fpls.2019.01701
- [8] JOSTEN, Elmar, Thomas REICHE a Bernd WITTCHEN. *Dřevo a jeho obrábění*. Praha: Grada, 2010. Průvodce truhláře. ISBN 978-80-247-2961-9
- [9] *Lesnictví: Forestry : mezinárodní vědecký časopis*. 31. Praha: Ústav zemědělských a potravinářských informací, 1969-1998, 1985. ISSN 0024-1105
- [10] KIZLINK, Juraj. *Technologie chemických látek I.: chemický průmysl, koroze, konstrukční materiály, technické plyny, anorganické a organické produkty, dřevo, zpracování uhlí, úprava paliv*. 2. vyd. Brno: VUTIUM, 2001. ISBN 80-214-1875-3
- [11] TREPKOVÁ, Emilie a František VONÁŠEK. *Vůně a parfémy: tajemství přitažlivosti*. Praha: Maxdorf, 1997. ISBN 80-85800-48-9
- [12] JANKOVSKÝ, Miroslav, Jaromír LACHMAN a Ludmila STASZKOVÁ. *Chemie dřeva*. 1. Praha: ČZU, 1999. ISBN 9788020008367
- [13] *Bioo: Encyklopedie* [online]. Praha: LambdaSystem, 2007 [cit. 2023-02-12]. Dostupné z: <https://www.biooo.cz/>
- [14] *Lesnictví: Forestry : mezinárodní vědecký časopis*. 26. Praha: Ústav zemědělských a potravinářských informací, 1969-1998. ISSN 0024-1105

- [15] LÖFFLER, Jiří, Arnošt KUNST a Jiří POŠTA. *Destilace a rektifikace: určeno pro pracovníky v oboru průmyslové destilace*. Praha: Státní nakladatelství technické literatury, 1956. Řada chemické literatury
- [16] FAGBEMI, Kehinde Oluwakemi, Daniel Ayandiran AINA, Olufunmiso Olusola OLAJUYIGBE a Claudio CAMESELLE. Soxhlet Extraction versus Hydrodistillation Using the Clevenger Apparatus: A Comparative Study on the Extraction of a Volatile Compound from Tamarindus indica Seeds. *The Scientific World Journal* [online]. 2021, **2021**, 1-8 [cit. 2023-02-24]. ISSN 1537-744X. Dostupné z: doi:10.1155/2021/5961586
- [17] ČSN ISO 5671. *Koření, kořenící látky a byliny – Stanovení obsahu těkavých olejů (silic) (metoda destilace s vodní parou)*. 1. Praha: Český normalizační institut, 2009
- [18] BAŞER, K. H. C. a Gerhard BUCHBAUER. *Handbook of essential oils: science, technology, and applications*. Boca Raton: CRC Press/Taylor & Francis, c2010. ISBN 9781420063158.
- [19] MILOJEVIC, Svetomir, Dragana RADOSAVLJEVIC, Vladimir PAVICEVIC, Srdjan PEJANOVIC a Vlada VELJKOVIC. Modeling the kinetics of essential oil hydrodistillation from plant materials. *Hemijska industrija* [online]. 2013, **67**(5), 843-859 [cit. 2023-02-24]. ISSN 0367-598X. Dostupné z: doi:10.2298/HEMIND121026009M
- [20] BAJER, Tomáš, Silvie SURMOVÁ, Aleš EISNER, Karel VENTURA a Petra BAJEROVÁ. Use of simultaneous distillation-extraction, supercritical fluid extraction and solid-phase microextraction for characterisation of the volatile profile of *Dipteryx odorata* (Aubl.) Willd. *Industrial Crops and Products* [online]. 2018, **119**, 313-321 [cit. 2023-04-11]. ISSN 09266690. Dostupné z: doi:10.1016/j.indcrop.2018.01.055
- [21] STRATAKOS, Alexandros Ch a Anastasios KOIDIS. Methods for Extracting Essential Oils. In: *Essential Oils in Food Preservation, Flavor and Safety* [online]. Elsevier, 2016, 2016, s. 31-38 [cit. 2023-03-11]. ISBN 9780124166417. Dostupné z: doi:10.1016/B978-0-12-416641-7.00004-3
- [22] FORNARI, Tiziana, Gonzalo VICENTE, Erika VÁZQUEZ, Mónica R. GARCÍA-RISCO a Guillermo REGLERO. Isolation of essential oil from different plants and herbs by supercritical fluid extraction. *Journal of Chromatography A* [online]. 2012, **1250**, 34-48 [cit. 2023-03-13]. ISSN 00219673. Dostupné z: doi:10.1016/j.chroma.2012.04.051

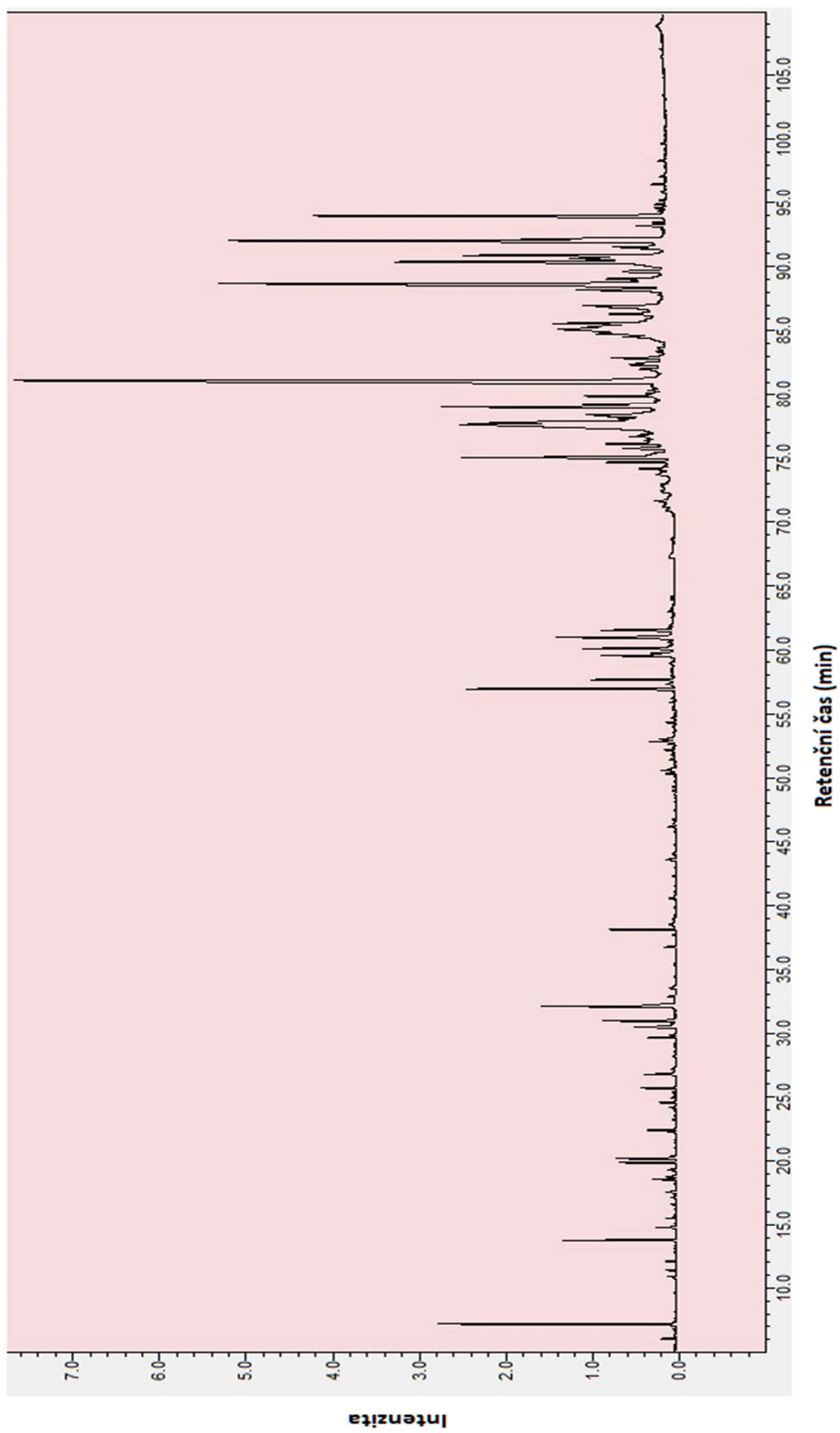
- [23] ZÁRUBA, Kamil. *Analytická chemie*. Praha: Vysoká škola chemicko-technologická v Praze, 2016. ISBN 978-80-7080-950-1
- [24] ST. LOUIS, Mo, PAWLISZYN, Janusz, ed. *Handbook of Solid Phase Microextraction* [online]. 1. Waterloo: Elsevier, 2011 [cit. 2023-02-19]. ISBN 9780123914491. Dostupné z: <https://ebookcentral.proquest.com>
- [25] *Mikroextrakce tuhou fází SPME*. 1. Praha: Sigma-Aldrich, 2000
- [26] ESTEVE-TURRILLAS, F.A., A. PASTOR a M. DE LA GUARDIA. Passive Sampling of Atmospheric Organic Contaminants. In: *Comprehensive Sampling and Sample Preparation* [online]. Elsevier, 2012, 2012, s. 201-222 [cit. 2023-02-15]. ISBN 9780123813749. Dostupné z: doi:10.1016/B978-0-12-381373-2.00011-9
- [27] OUYANG, Gangfeng a Ruifen JIANG, ed. *Solid Phase Microextraction* [online]. Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg, 2017 [cit. 2023-02-15]. ISBN 978-3-662-53596-7. Dostupné z: doi:10.1007/978-3-662-53598-1
- [28] SPIETELUN, Agata, Michał PILARCZYK, Adam KLOSKOWSKI a Jacek NAMIEŚNIK. Current trends in solid-phase microextraction (SPME) fibre coatings. *Chemical Society Reviews* [online]. 2010, **39**(11) [cit. 2023-02-15]. ISSN 0306-0012. Dostupné z: doi:10.1039/c003335a
- [29] HERRINGTON, Jason S., German A. GÓMEZ-RÍOS, Colton MYERS, Gary STIDSEN a David S. BELL. Hunting Molecules in Complex Matrices with SPME Arrows: A Review. *Separations* [online]. 2020, **7**(1) [cit. 2023-04-21]. ISSN 2297-8739. Dostupné z: doi:10.3390/separations7010012
- [30] JAMES, A. T. a A. J. P. MARTIN. Gas-liquid partition chromatography. A technique for the analysis of volatile materials. *The Analyst* [online]. 1952, **77**(921) [cit. 2023-03-11]. ISSN 0003-2654. Dostupné z: doi:10.1039/an9527700915
- [31] MARTIN, A. J. P. a R. L. M. SYNGE. A new form of chromatogram employing two liquid phases. *Biochemical Journal* [online]. 1941, **35**(12), 1358-1368 [cit. 2023-03-11]. ISSN 0306-3283. Dostupné z: doi:10.1042/bj0351358
- [32] BARTLE, Keith D. a Peter MYERS. History of gas chromatography. *TrAC Trends in Analytical Chemistry* [online]. 2002, **21**(9-10), 547-557 [cit. 2023-02-28]. ISSN 01659936. Dostupné z: doi:10.1016/S0165-9936(02)00806-3
- [33] MCNAIR, Harold M., James M. MILLER a Nicholas H. SNOW. *Basic Gas Chromatography*. 3. USA: Wiley, 2019. ISBN 9781119450757
- [34] VONDRÁK, Dalibor a Jaroslav VULTERIN. *Analytická chemie*. 1. Praha: Nakladatelství techn. lit, 1985

- [35] KLOUDA, Pavel. *Moderní analytické metody*. 2., upr. a dopl. vyd. Ostrava: Pavel Klouda, 2003. ISBN 80-86369-07-2
- [36] SWINLEY, John a Piet DE CONING. *A Practical Guide to Gas Analysis by Gas Chromatography* [online]. 1. Elsevier, 2019 [cit. 2023-02-27]. ISBN 9780128188897. Dostupné z: <https://ebookcentral.proquest.com>
- [37] POOLE, C. F. *Gas chromatography*. Amsterdam: Elsevier, 2012. ISBN 978-0-12-385540-4
- [38] SKOOG, Douglas A., Donald M. WEST, F. James HOLLER a Stanley R. CROUCH. *Analytická chemie*. Přeložil Karel NESMĚRÁK, přeložil Václav ČERVENÝ, přeložil Tomáš KRÍŽEK, přeložil Eliška NOVÁKOVÁ. Praha: Vysoká škola chemicko-technologická v Praze, 2019. ISBN 978-80-7592-043-0
- [39] POOLE, Colin F. Ionization-based detectors for gas chromatography. *Journal of Chromatography A* [online]. 2015, **1421**, 137-153 [cit. 2023-02-27]. ISSN 00219673. Dostupné z: doi:10.1016/j.chroma.2015.02.061
- [40] SMOLKOVÁ, Eva a Ladislav FELTL. *Analýza látek v plynném stavu*. Praha: SNTL, 1991
- [41] SMITH, Martin a Kenneth BUSH. *Understanding Mass Spectra : A Basic Approach* [online]. 2. New Jersey: John Wiley & Sons, Incorporated, 2004 [cit. 2023-03-15]. ISBN 9780471479345. Dostupné z: <https://ebookcentral.proquest.com>
- [42] GLISH, Gary L. a Richard W. VACHET. The basics of mass spectrometry in the twenty-first century. *Nature Reviews Drug Discovery* [online]. 2003, **2**(2), 140-150 [cit. 2023-02-27]. ISSN 1474-1776. Dostupné z: doi:10.1038/nrd1011
- [43] SUN, Shijing, Jun SHEN a Zhiming LIU. Study on Determination and Composition of Volatile Organic Compounds of Larix Gmelini Particles. In: *2010 4th International Conference on Bioinformatics and Biomedical Engineering* [online]. IEEE, 2010, 2010, s. 1-4 [cit. 2023-03-03]. ISBN 978-1-4244-4712-1. ISSN 2151-7614. Dostupné z: doi:10.1109/ICBBE.2010.5516642
- [44] CHREINER, Linda, Patrick BAUER a Andrea BUETTNER. Resolving the smell of wood - identification of odour-active compounds in Scots pine (*Pinus sylvestris* L.). *Scientific Reports* [online]. 2018, **8**(1) [cit. 2023-03-03]. ISSN 2045-2322. Dostupné z: doi:10.1038/s41598-018-26626-8
- [45] SCHREINER, Linda, Helene M. LOOS a Andrea BUETTNER. Identification of odorants in wood of *Calocedrus decurrens* (Torr.) Florin by aroma extract dilution analysis and two-dimensional gas chromatography–mass

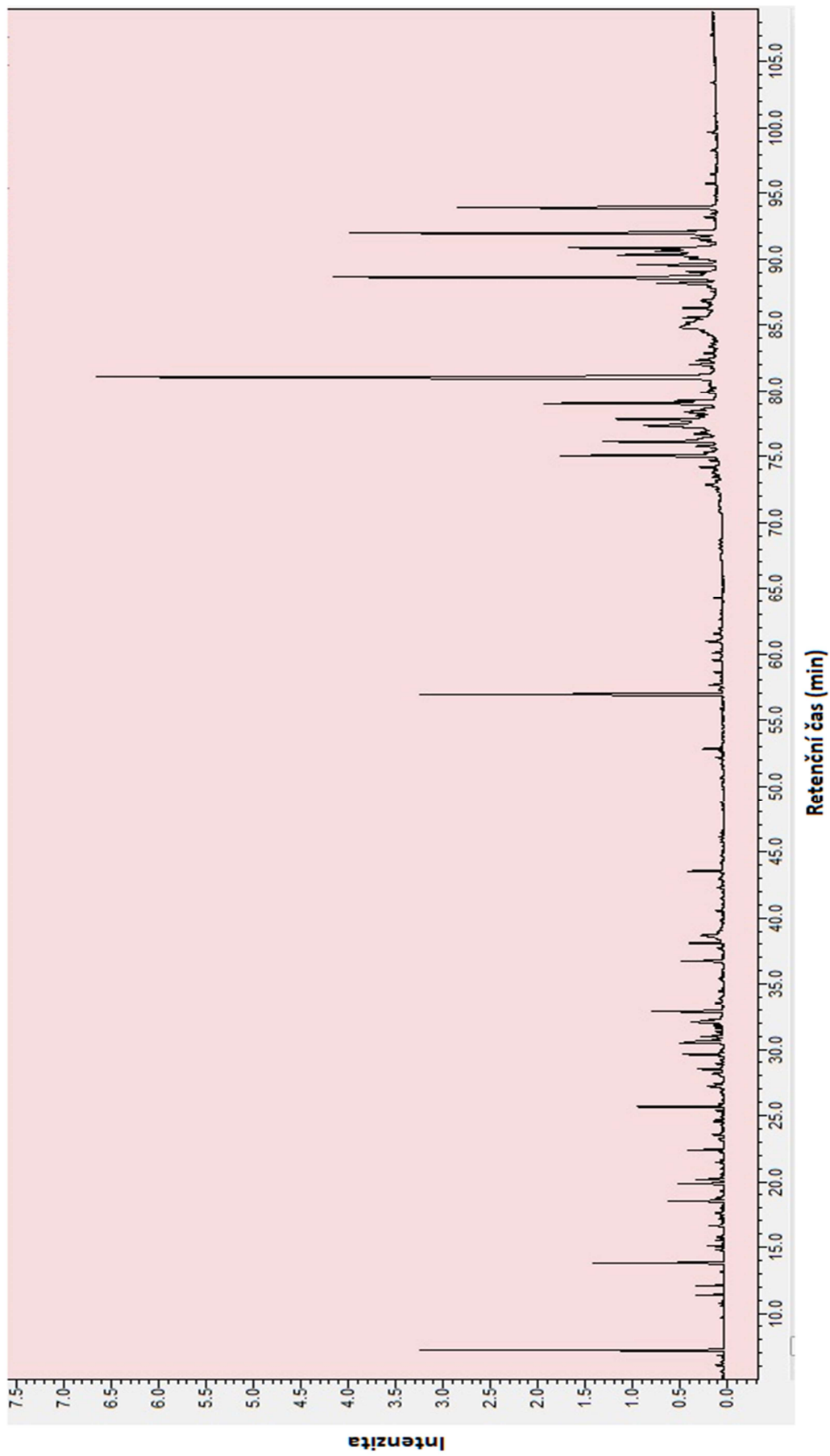
- spectrometry/olfactometry. *Analytical and Bioanalytical Chemistry* [online]. 2017, **409**(15), 3719-3729 [cit. 2023-03-03]. ISSN 1618-2642. Dostupné z: doi:10.1007/s00216-017-0314-x
- [46] GHADIRIASLI, Rahil, Maria WAGENSTALLER a Andrea BUETTNER. Identification of odorous compounds in oak wood using odor extract dilution analysis and two-dimensional gas chromatography-mass spectrometry/olfactometry. *Analytical and Bioanalytical Chemistry* [online]. 2018, **410**(25), 6595-6607 [cit. 2023-03-03]. ISSN 1618-2642. Dostupné z: doi:10.1007/s00216-018-1264-7
- [47] NONIER, M.F., N. VIVAS, N. VIVAS DE GAULEJAC, C. ABSALON, Ph. SOULIÉ a E. FOUQUET. Pyrolysis–gas chromatography/mass spectrometry of *Quercus* sp. wood. *Journal of Analytical and Applied Pyrolysis* [online]. 2006, **75**(2), 181-193 [cit. 2023-03-03]. ISSN 01652370. Dostupné z: doi:10.1016/j.jaap.2005.05.006
- [48] WEISSBECKER, Bernhard, Gerrit HOLIGHAUS a Stefan SCHÜTZ. Gas chromatography with mass spectrometric and electroantennographic detection: analysis of wood odorants by direct coupling of insect olfaction and mass spectrometry. *Journal of Chromatography A* [online]. 2004, **1056**(1-2), 209-216 [cit. 2023-03-03]. ISSN 00219673. Dostupné z: doi:10.1016/j.chroma.2004.06.120
- [49] CADAHÍA, Estrella, Brígida FERNÁNDEZ DE SIMÓN a Jerzy JALOCHA. Volatile Compounds in Spanish, French, and American Oak Woods after Natural Seasoning and Toasting. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* [online]. 2003, **51**(20), 5923-5932 [cit. 2023-03-03]. ISSN 0021-8561. Dostupné z: doi:10.1021/jf0302456
- [50] GUERRERO-CHANIVET, María, Manuel J. VALCÁRCEL-MUÑOZ, M. Valme GARCÍA-MORENO a Dominico A. GUILLÉN-SÁNCHEZ. Characterization of the Aromatic and Phenolic Profile of Five Different Wood Chips Used for Ageing Spirits and Wines. *Foods* [online]. 2020, **9**(11) [cit. 2023-03-03]. ISSN 2304-8158. Dostupné z: doi:10.3390/foods9111613
- [51] UÇAR, G. a M. BALABAN. Volatile wood extractives of black pine (*Pinus nigra* Arnold) grown in Eastern Thrace. *Holz als Roh- und Werkstoff* [online]. 2001, **59**(4), 301-305 [cit. 2023-03-03]. ISSN 0018-3768. Dostupné z: doi:10.1007/s001070100205
- [52] WANG, Zhe, Xia YANG, Bailing SUN, Yubo CHAI, Junliang LIU a Jinzhen CAO. Effect of Vacuum Heat Treatment on the Chemical Composition of Larch Wood. *BioResources* [online]. 2016, **11**(3), 5743-5750 [cit. 2023-03-03]. ISSN 1930-2126. Dostupné z: doi:10.15376/biores.11.3.5743-5750

- [53] BAJER, Tomáš, Jakub ŠULC, Karel VENTURA a Petra BAJEROVÁ. Volatile compounds fingerprinting of larch tree samples for Siberian and European larch distinction. *European Journal of Wood and Wood Products* [online]. 2020, **78**(2), 393-402 [cit. 2023-04-24]. ISSN 0018-3768. Dostupné z: doi:10.1007/s00107-020-01498-w
- [54] OSTROUKHOVA, L. A., V. A. RALDUGIN, V. A. BABKIN, N. A. ONUCHINA a A. A. LEVCHUK. Investigation of the chemical composition of larch wood resin. *Russian Journal of Bioorganic Chemistry* [online]. 2012, **38**(7), 775-779 [cit. 2023-04-22]. ISSN 1068-1620. Dostupné z: doi:10.1134/S1068162012070151
- [55] WAJS, Anna, Andrey PRANOVICH, Markku REUNANEN, Stefan WILLFÖR a Bjarne HOLMBOM. Headspace-SPME Analysis of the Sapwood and Heartwood of *Picea Abies*, *Pinus Sylvestris* and *Larix Decidua*. *Journal of Essential Oil Research* [online]. 2007, **19**(2), 125-133 [cit. 2023-04-24]. ISSN 1041-2905. Dostupné z: doi:10.1080/10412905.2007.9699244
- [56] BAJER, Tomáš, Jakub ŠULC, Karel VENTURA a Petra BAJEROVÁ. Design of the Extraction Process for Characterization of Volatile Profile of Stem Wood by Solid-Phase Microextraction. *Natural Product Communications* [online]. 2019, **14**(5) [cit. 2023-03-07]. ISSN 1934-578X. Dostupné z: doi:10.1177/1934578X19842721

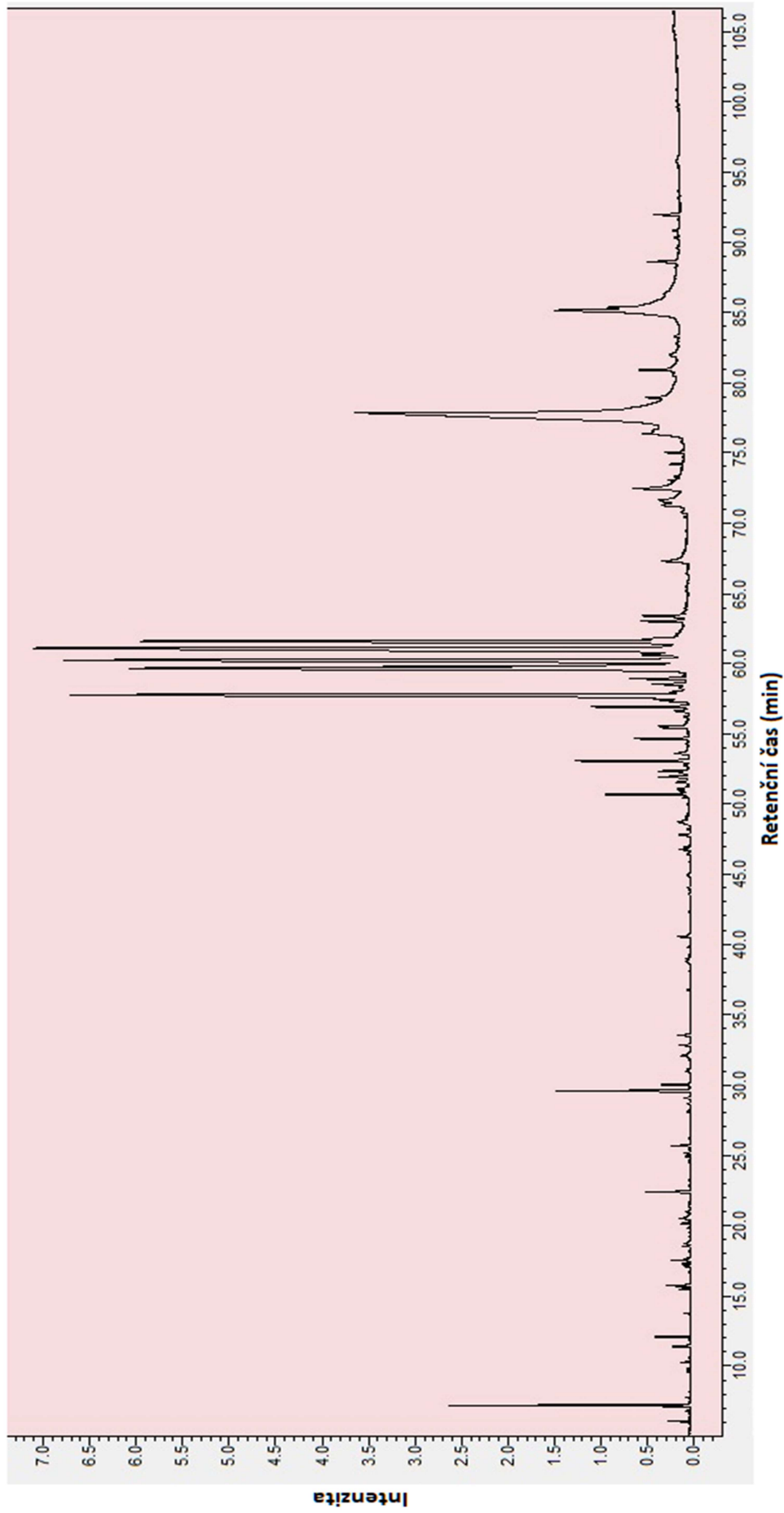
Přílohy



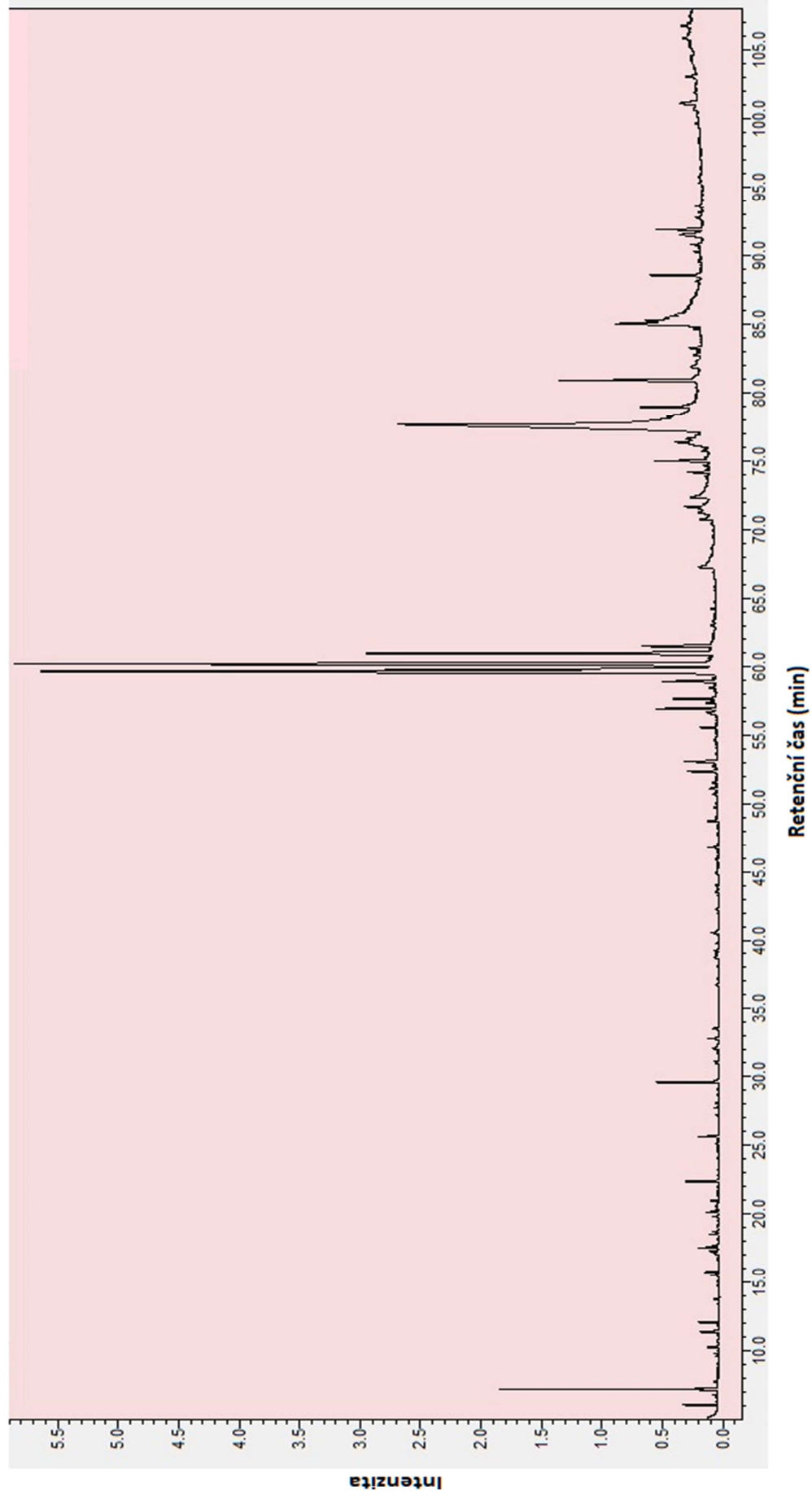
Příloha 1: GC-MS chromatogram extraktu jádrového dřeva modřínu po simultánní destilaci-extrakci



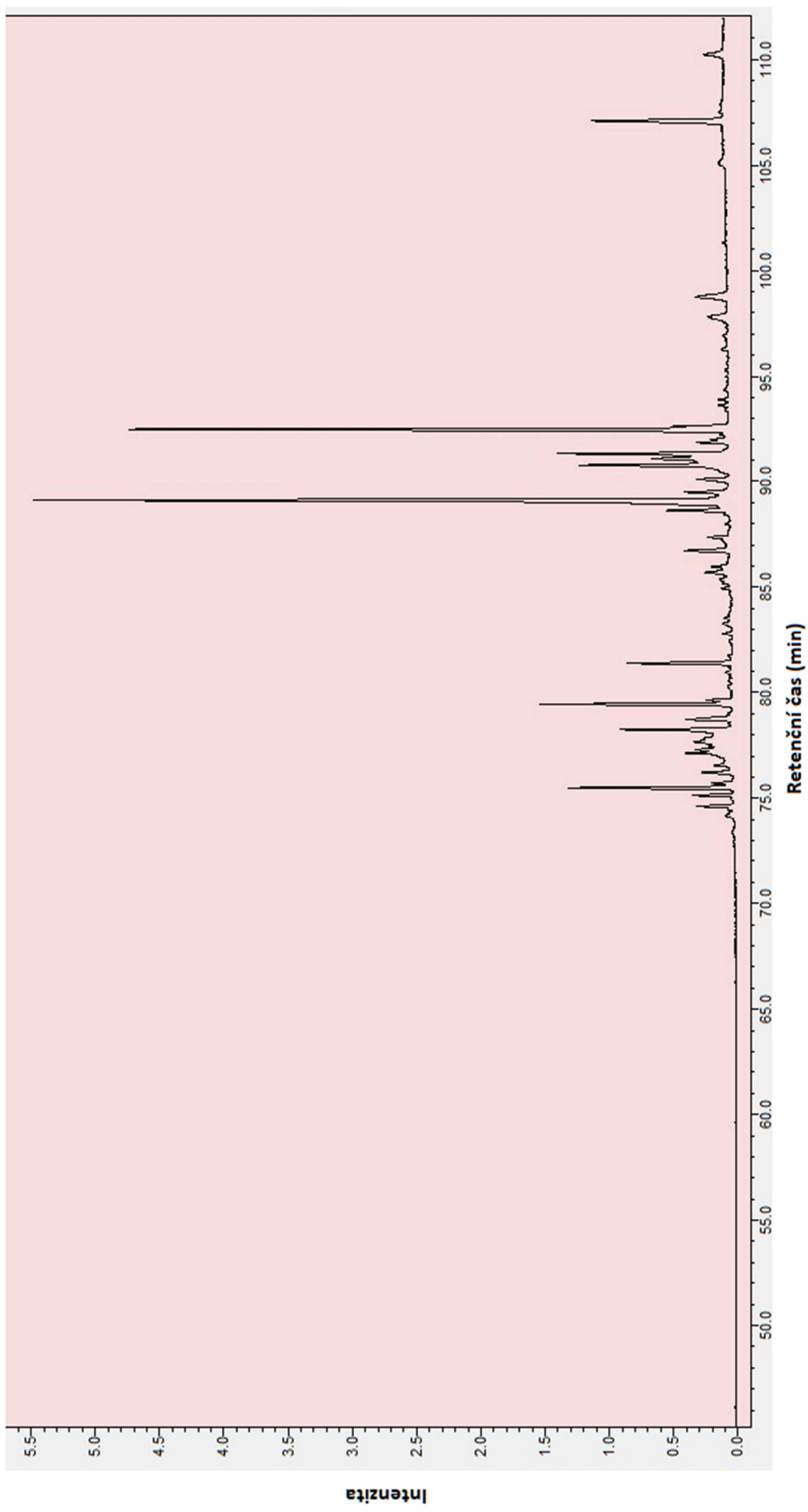
Príloha 2: GC-MS chromatogram extraktu bieleho dreva modřinu po simultánni destilaci-extrakci



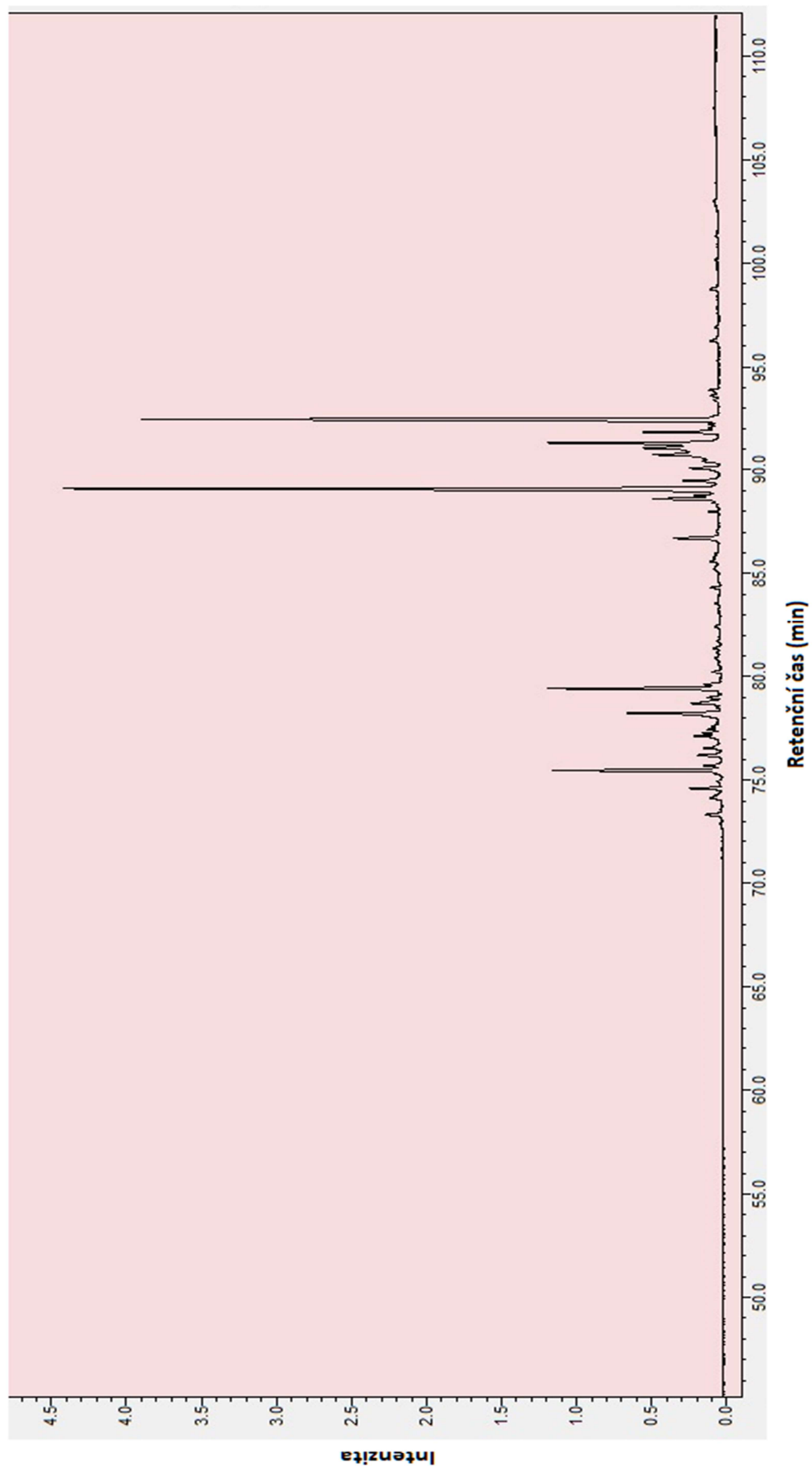
Příloha 3: GC-MS chromatogram extraktu jádrového dřeva ořešáku po simultánní destilaci-extrakci



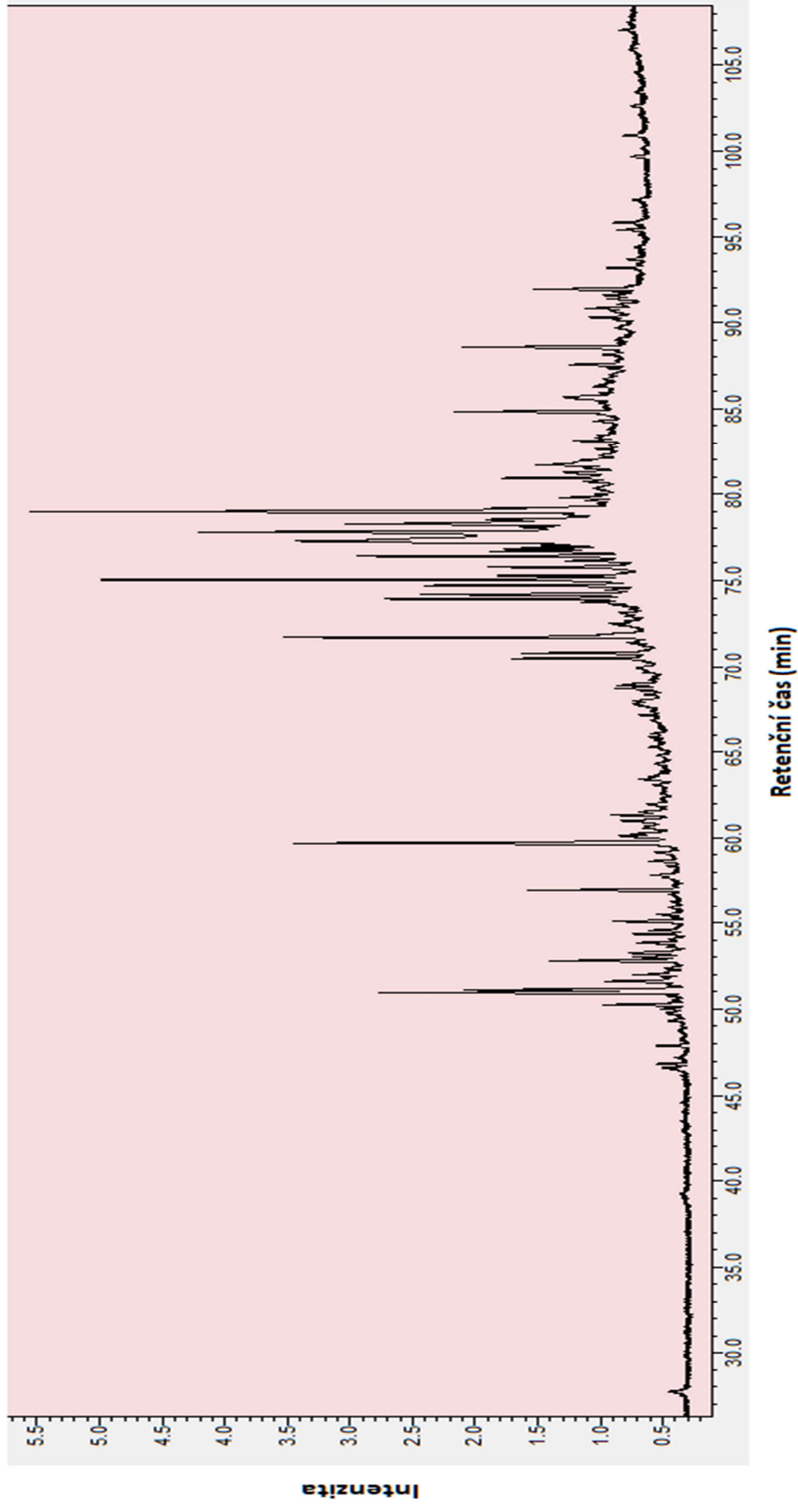
Příloha 4: GC-MS chromatogram extraktu bělového dřeva ořecháku po simultánní destilaci-extrakci



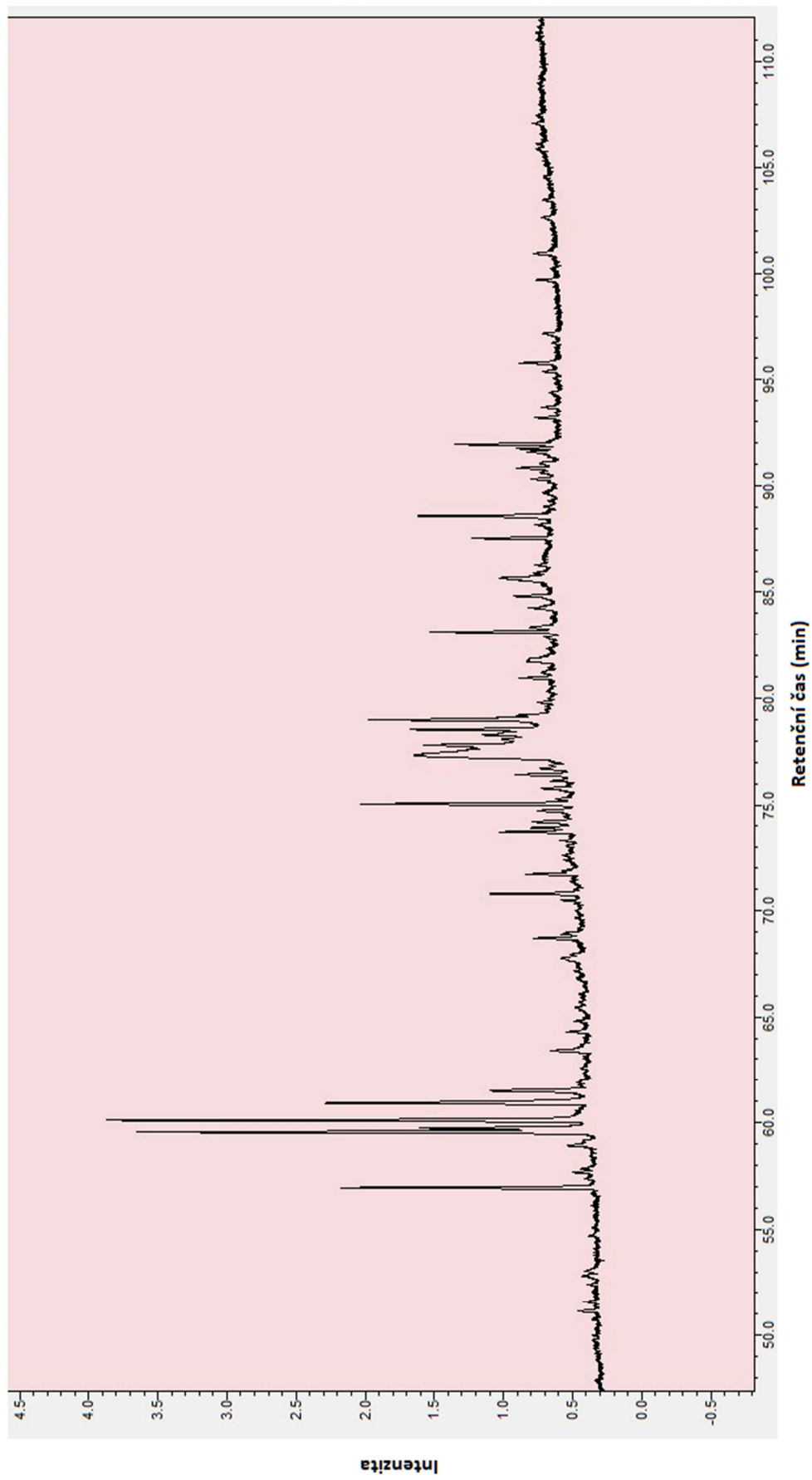
Príloha 5: GC-MS chromatogram extraktu jadrového dreva modřinu po mikroextrakci tuhou fází



Příloha 6: GC-MS chromatogram extraktu bělového dřeva modřínu po mikroextrakci tuhou fází



Příloha 7: GC-MS chromatogram extraktu jádrového dřeva ořecháku po mikroextrakci tuhou fází



Příloha 8: GC-MS chromatogram extraktu bělového dřeva ořešáku po mikroextrakci tuhou fází