

ČESKÁ ZEMĚDĚLSKÁ UNIVERZITA V PRAZE

Fakulta tropického zemědělství



Česká zemědělská univerzita v Praze

**Fakulta tropického
zemědělství**

**Chemická analýza bioaktivních složek
extraktu z Aloe**

Bakalářská práce

Praha 2018

Vypracovala:

Alena Třebická

Vedoucí práce:

Ing. Klára Urbanová, Ph.D.

Prohlášení

Čestně prohlašuji, že jsem tuto práci na téma Chemická analýza bioaktivních složek extraktu z Aloe vypracovala samostatně, veškerý text je v práci původní a originální a všechny použité literární prameny jsem podle pravidel Citační normy FTZ řádně uvedla v referencích.

V Praze dne

.....
Alena Třebická

Poděkování

Mé poděkování patří Ing. Kláře Urbanové, Ph.D. za odborné vedení, trpělivost a ochotu, kterou mi v průběhu zpracování bakalářské práce věnovala.

Abstrakt

Cílem práce byla analýza bioaktivních složek ze tří druhů *Aloe*. Vzorky těchto druhů byly vybrány ze tří destinací. První vzorek *Aloe chinensis* byl z Kanárských ostrovů, přesněji ostrov Lanzarote. Druhý vzorek *Aloe candelabrun* byl přivezen ze španělské provincie Galicie a třetím vzorkem byla *Aloe barbadensis* z České republiky. Všechny tři vzorky byly vyextrahovány pomocí Soxhletovy extrakce a následně analyzovány v plynové chromatografii s hmotnostní spektrometrií (GC–MS). S pomocí výsledků se následně identifikovaly látky *Aloe*, které byly porovnány mezi všemi zkoumanými vzorky a v závěru také s odbornými články. Výsledky potvrdily přítomnost pozitivních složek ve všech zkoumaných druzích *Aloe*, ale zároveň poukázaly na odlišnosti druhů v zastoupení identifikovaných látek.

Klíčová slova: extrakt, Aloe Vera, GC-MS, sitosterol, alfa-tokoferol

Author's abstract

The aim of the work was to analyze bioactive components from three different types of *Aloe*. Samples of these species were collected from three destinations. The first sample of *Aloe chinensis* was from the Canary Islands, specifically the island Lanzarote. The second sample of *Aloe candelabrum* was brought from the Spanish province of Galicia and the third sample was *Aloe barbadensis* from the Czech Republic. All three samples were extracted by Soxhlet extraction and analyzed by gas chromatography with mass spectrometry (GC-MS). The *Aloe* substances were subsequently identified and then compared between all samples examined. Also comparison with specialized articles has not been omitted. The results confirmed the presence of components in all examined species of *Aloe*, but also highlighted the differences between the quantity of identified substances.

Key words: extract, Aloe Vera, GC-MS, sitosterol, alpha-tocopherol

Obsah

1. ÚVOD.....	1
2. CÍLE	3
2.1 Hlavní cíl	3
2.2 Specifické cíle	3
3. LITERÁRNÍ REŠERŠE.....	4
3.1 ALOE VERA.....	4
3.1.1 Historie Aloe Vera	6
3.1.2 Rozšíření.....	7
3.1.3 Pěstování Aloe Vera	7
3.1.4 Sklizeň a zpracování	7
3.1.5 Světová produkce.....	8
3.1.6 Využití <i>Aloe Vera</i> :	8
3.1.6.1 Farmaceutické využití	8
3.1.6.2 Podpora hojení ran/jizev a protizánětlivé účinky.....	8
3.1.6.3 Anti – rakovinné a anti-diabetické účinky.....	9
3.1.6.4 Využití v kosmetickém průmyslu	10
3.2 ÚČINNÉ LÁTKY V ALOE VERA.....	11
3.2.1 α - Tokoferol	11
3.2.2 β - Sitosterol	13
3.3 CHROMATOGRAFIE	14
3.3.1 Plynová chromatografie	15
3.4 HMOTNOSTNÍ SPEKTROMETRIE.....	16
3.5 METODY EXTRAKCE TĚKAVÝCH LÁTEK	17
3.5.1 Obecná charakteristika extrakce	17
3.5.2 Soxhletova extrakce	18
4. METODIKA	20
4.1 SBĚR VZORKŮ.....	20
4.2 PŘÍPRAVA VZORKU	22

4.3	EXTRAKCE TĚKAVÝCH LÁTEK	23
4.4	GC-MS ANALÝZA	25
4.5	IDENTIFIKACE LÁTEK	25
5.	VÝSLEDKY	26
6.	DISKUZE.....	30
7.	ZÁVĚR	31
8.	REFERENCE	32

Seznam tabulek:

Tabulka 1 - Taxonomická klasifikace <i>Aloe Vera</i>	5
Tabulka 2 - Identifikace bioaktivních složek.....	28

Seznam obrázků:

Obrázek 1 - Řez listu <i>Aloe Vera</i>	5
Obrázek 2 - Molekula Alfa – Tokoferolu.....	11
Obrázek 3 - Molekula Beta – sitosterolu.....	13
Obrázek 4 - Schéma plynového chromatografu.....	15
Obrázek 5 - Soxhletova extrakce.....	18
Obrázek 6 - Destinace sběru <i>Aloe</i>	20
Obrázek 7 - Vzorek č.1 <i>Aloe chinensis</i> , Kanárský ostrov Lanzarote.....	21
Obrázek 8 - Vzorek č.2 <i>Aloe barbadensis</i> , ČR.....	21
Obrázek 9 - Vzorek č. 3 <i>Aloe candelabrun</i> , Galicie, Španělsko.....	21
Obrázek 10 - Plátky <i>Aloe</i> v Petriho miskách.....	22
Obrázek 11 - Sušení v digestoři.....	22
Obrázek 12 - Sušená <i>Aloe chinensis</i>	22
Obrázek 13 - Sušená <i>Aloe candelabrun</i>	22
Obrázek 14 - Extrakty <i>Aloe candelabrun a chinensis</i>	23
Obrázek 15 - Soxhletova extrakce <i>Aloe barbadensis</i>	23
Obrázek 16 - Pevná složka z extraktu <i>Aloe barbadensis</i>	24
Obrázek 17 - Rotační vakuová odparka.....	24
Obrázek 18 - Spektrum látky hentriacontane.....	27
Obrázek 19 - Chromatogramy jednotlivých druhů.....	27

Seznam zkratk použitých v práci:

GC – *gas chromatography* (plynová chromatografie)

GC-MS – *gas chromatography/mass spectrometry* (plynová chromatografie kombinovaná s hmotnostní spektrometrií)

SGP – sérum glutamát pyruvát

SGO – sérum glutamát oxaloacetát

DHT - dehydrotestosteron

AML - akutní myeloidní leukémie

ALL - akutní lymfatická leukémie

EI – elektronová ionizace

LLE – liquid liquid extraction

1. Úvod

Aloe Vera byla důležitým zdrojem medicíny po tisíce let. Dnes, Světová Zdravotnická Organizace odhaduje, že 80 % lidí k léčbě stále využívá tradičních prostředků (Rao N. & Thammanna K. 1987). Druhy *Aloe* se ve velké míře vyskytují v Africe, Evropě a dále se šíří do téměř celého světa. Mnoho výzkumů se zaměřovalo na bioaktivní složky *Aloe*, které zahrnují antibakteriální a antimikrobiální účinky neustále se objevujících v gelu této rostliny (Magwa M. L. et al. 2006). Nicméně se už méně vyskytují výzkumy na bioaktivní složky právě extraktu *Aloe*.

Aloe Vera byla používána k ošetření různých zranění kůže, řezné rány, spáleniny a ekzémy. Údajně šťáva z *Aloe* zmírňovala bolest a redukovala záněty. Nicméně evidence těchto účinků byla rozporuplná (Arunkumar S. & Muthuselvam M. 2009). Dnes už díky mnoha výzkumům můžeme léčivé účinky potvrdit. Proto je také *Aloe* přidávána do nespočtu kosmetických a farmaceutických přípravků. Mluvíme zde o šamponech pro podporu růstu vlasů, krémy na suchou až ekzémovou pleť, opalovací krémy a mnoho dalších. Extrakt z *Aloe* se používal k léčbě rakovinných nádorů, žaludečních vředů, a dokonce i k léčbě AIDS (Saljooghianpour M. & Javaran T.A. 2012).

Aloe Vera patří do skupiny *Aloeaceae* a je to sukulentní měkká rostlina tvořena z velké části z vody (99-99,5 %). Pevná část obsahuje řadu bioaktivních složek (látky rozpustné v tucích a vodě, vitamíny, jednoduché/komplexní polysacharidy, organické kyseliny, enzymy a sloučeniny fenolu (Baruah A. 2016). Listy jsou složeny z gelu, latexu a svrchní kůry.

K získání extraktu vzorků (*Aloe chinensis*, *candelabrun*, *barbadensis*) byla použita Soxhletova extrakční metoda. Jde o metodu kontinuální extrakce, kdy jsou látky při protiproudovém pohybu stále v kontaktu. Slouží k izolaci jedné nebo více organických látek z pevné matrice (Borkovcová I., Kostrhounová R. 2013).

K analýze extraktů a následné identifikaci bioaktivních složek byla použita jako separační metoda plynová chromatografie s hmotnostní spektrometrií. Jedná se o základní separační metodu, během které mezi dvěma nemísitelnými složkami několikrát opakovaně vzniká rovnováha. Tato metoda dokáže v jednom kroku rozdělit směs na jednotlivé složky a zároveň získat kvalitativní i kvantitativní informace. Můžeme tedy

řít, že kromě funkce směsi lze rozpoznat i koncentraci individuálních složek (Fiehn O. 2016).

Z následné identifikace látek se na závěr porovná procentuální zastoupení látek ve všech vzorcích a následně také s vybranými odbornými články.

2. Cíle

2.1 Hlavní cíl

Cílem práce byla chemická analýza extraktů ze tří druhů Aloe a identifikace účinných látek.

2.2 Specifické cíle

- Provést literární rešerši o Aloe Vera a jejích účinných látkách.
- Porovnat případné rozdíly v chemickém složení jednotlivých vzorků.
- Porovnat výsledky analýzy s vědeckými články.

3. Literární rešerše

3.1 Aloe Vera

Vědecký název *Aloe Vera* podle Mezinárodních pravidel botanické nomenklatury je *Aloe barbadensis*. Taxonomicky *Aloe Vera* patří do čeledi *Aloeaceae* (taxonomické rozdělení v Tabulce č. 1). Původ této rostliny je zřejmě u jižní Afriky, dnes se však rozšířila prakticky do celého světa, všude kde v zimě půda nepromrzá (Nilanjana D. & Chattopadhyay R. N. 2004). Gel tvořící vnitřní část listu obsahuje více než 200 biologicky aktivních látek. Jedná se o směs polysacharidů, různých enzymů, vitamínů, minerálních látek, antioxidantů a esenciálních aminokyselin. Zastoupení a přirozená kombinace esenciálních látek, které se vzájemně ve svých účincích podporují, je to, co *Aloe Vera* dělá mimořádnou rostlinou (Cervantes J.L. et al. 2018).

Mezi tyto látky řadíme:

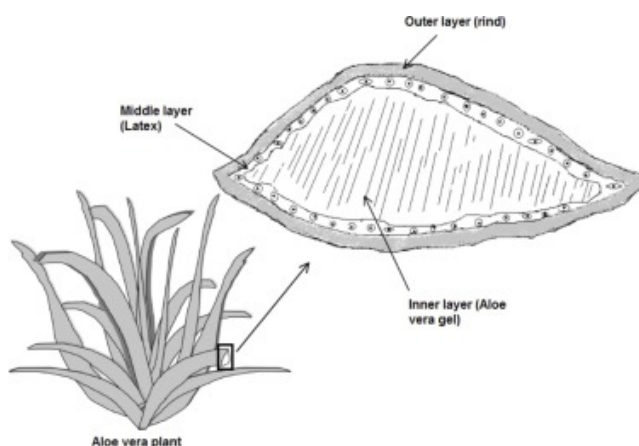
- Vitamíny – vitamín A ve formě betakarotenu, B1, B2, B6, stopy B12, C, PP, E, kyselina folová, niacin, cholin
- Minerály – vápník, draslík, magnesium, sodík, měď, železo, zinek, mangan
- Aminokyseliny – lysin, threonin, valin, methionin, izoleucin, fenylalanin, tryptofan, arginin, kyselina asparagová, serin, kyselina glutamová, glycin, alanin, cystein, tyrosin, histidin, prolin, hydroxyprolin, leucin, asparagin, glutamin
- Monosacharidy a polysacharidy – acemannan, arabinosa, galaktosa, glukosa, manosa, rhamnosa, xylosa, kyselina hexuronová, kyselina glukuronová, kyselina galakturonová, celulosa
- Enzymy – oxidasa, katalasa, amylasa, bradykinasa, celulasa, lipasa, aliinasa, fosphatasa, krestinfosphokinasa, dahydrogenasa, SGO – transaminasa, SGP – transaminasa
- Steoroly – campesterol, lupeol, beta – sitosterol
- Aminocukry – glukosamin, galaktosamin
- Další – kyselina jablečná, lignin, sapogenin (Sui Chin S. et al. 2017).

TABULKA 1 - TAXONOMICKÁ KLASIFIKACE *ALOE VERA*

Zdroj: USDA Natural Resources Conservation Service

Taxonomická jednotka	Vědecký název (latinsky)
Říše	<i>Plantae</i>
Podříše	<i>Tracheobionta</i>
Oddělení	<i>Magnoliophyta</i>
Třída	<i>Liliopsida</i>
Podtřída	<i>Lilidae</i>
Řád	<i>Liliales</i>
Čeleď	<i>Aloeacea</i>
Rod	<i>Aloe L.</i>
Druh	<i>Aloe barbadensis</i>

Aloe je sukulentní měkká rostlina tvořena z velké části z vody (99-99,5 %). Pevná část, v rozsahu 0,5-1 %, obsahuje škálu aktivních složek (látky rozpustné v tucích a vodě, vitamíny, jednoduché/komplexní polysacharidy, organické kyseliny, enzymy a sloučeniny fenolu (Baruah A. 2016). Listy jsou složeny ze tří vrstev: gel, latex a svrchní kůra (OBRÁZEK 1).



OBRÁZEK 1 - ŘEZ LISTU *ALOE VERA*

Zdroj: Boudreau M.D. & Beland F.A. 2006

- Gel: Vnitřní vrstva je tvořena z vlhkého, jemného a čistého pletiva, které obsahuje hlavně vodu (99 %), glukomany, aminokyseliny, lipidy, steroly a vitamíny.
- Latex: Prostřední vrstva obsahující antrachinony, hořkou žlutou mizu a glykosidy.
- Svrchní kůra: Zevní tlustá vrstva složená z 15-20 buněk, které chrání gelovou vrstvu a pomáhají v syntéze karbohydrátů a proteinů (Maan A. et al. 2018).

3.1.1 Historie Aloe Vera

První historické poznatky o *Aloe Vera* pocházejí z roku 2100 př.n.l., kde byla zmíněna v kolekci sumerských hliněných desek (Sánchez – Machado D. et al. 2017). V roce 1552 př.n.l. to bylo zmíněno jako laxativum v egyptském ebersově papyru. Ve skutečnosti až v knize De Materia Medica řecký lékař Discordes uvedl, že *Aloe Vera* může léčit rány, infekce kůže, omezit ztráty vlasů a eliminovat hemeroidy (Shelton R.M. 1991).

Ve 4. století př.n.l. našli Řekové *Aloe Vera* na ostrově Socotra v Indickém oceánu. Alexandr Veliký, přesvědčen jeho mentorem Aristotelem, dobyl tento ostrov kvůli zásobám *Aloe Vera*, aby uzdravil své zraněné vojáky. *Aloe Vera* používala také Cleopatra (69-30 př.n.l.) a Nefertiti jako součást jejich kosmetických ošetření pleti (Manvitha K. & Bidya B. 2013).

V roce 1920 se nejprve pěstovala *Aloe Vera* pro farmaceutickou distribuci. Komerční užití *Aloe Vera* gelu začalo v 50. a v 60. letech. Lékárník Dr. Bill Coat v Dallasu (Texas, USA) dosáhl svého cíle, kdy během extrakce gelu *Aloe Vera* došlo k zachování jeho léčebných vlastností. Tento úspěch otevřel mnoho dalších možností k využití této rostliny. Mexiko je hlavním světovým producentem *Aloe Vera* (Sánchez – Machado D. et al. 2017).

3.1.2 Rozšíření

Rozšíření je klimaticky velmi rozsáhlé, roste od mírného až k subtropickému pásmu. Pochází z jižní a východní Afriky podél Nilu odkud pak byla zavedena do severní Afriky a do středomořských zemí. *Aloe Vera* není přizpůsobena k přežití v teplotách mrazu. Každá rostlina má obvykle 12–16 listů (o délce mezi 25 až 30 cm) (Sánchez – Machado D. et al. 2017). Každý z nich při zralosti váží 1,5 kg a podél okrajů mají ostré zuby. Kvetे od října do ledna a dlouhé květenství obsahuje velké množství malých žlutých a červených kvítků. Množení rostlin je obecně vegetativní. Plody se rozvíjejí od února do dubna a obsahují mnoho semen. Listy jsou pokryté tlustou kutikulí s bílými a šedo – zelenými skvrnami (Shelton R.M. 1991).

3.1.3 Pěstování Aloe Vera

Aloe Vera se pěstuje v řadách na plantážích. Pokud jde o vodu, není *Aloe Vera* náročná. Proto v oblastech, které čelí problému sucha, by pěstování *Aloe Vera*, z důvodu ekonomické atraktivnosti pro zemědělce, prospělo. Listy mohou být sklizeny po 7-8 měsíci po výsadbě, a to s použitím ostrého nože. Nejvyšší výtěžnost je dosažena po dvou letech a životnost je 12 let (Sánchez – Machado D. et al. 2017).

3.1.4 Sklizeň a zpracování

Při sklizni se ostrým nožem ručně odřezávají listy od stonku ve spodní části rostliny. Dále se pak šetrně omyjí od vnějších nečistot. Všechny okraje listu se odříznou a následně se odřízne celá svrchní vrstva. Na konec už zůstane jen průhledný mazlavý gel, který je vhodný pro kosmetický či potravinový průmysl (Ramachandra C.T. & Srinivasa Rao P. 2008).

3.1.5 Světová produkce

Mezi největší producenty podle *The International Aloe Science Council* patří Spojené státy americké, Střední Amerika, Jižní Amerika, Čína, Indie, Afrika, Karibské země, Austrálie a tropická Asie.

Dále pak mezi největší evropské zpracovatele *Aloe Vera* patří německá kosmetická firma LR Health & Beauty v Ahlenu. Přes 20 let vyrábí především kosmetiku a tento rok se navíc stala nejmodernější a největší výrobnou *Aloe Vera* produktů na světě. Hlavními produkty jsou kosmetické výrobky a *Aloe Vera* džusy, které vyváží do celého světa. V dnešní době je firma rozšířena do 28 evropských zemí.

3.1.6 Využití *Aloe Vera*:

Užití této sukulentní rostliny je velmi rozsáhlé. Od využití v potravinářském a kosmetickém průmyslu až po využití farmaceutické.

3.1.6.1 Farmaceutické využití

Mnohé výzkumy potvrdily zvyšující se významnost léčivých látek z *Aloe Vera*. V důsledku se *Aloe* využívala k přípravě produktů ve farmacii, počínaje mastičkami a pilulkami. Rozmanitost složek přítomných v *Aloe Vera* byla shledána jako efektivní v boji s různými nemocemi (žaludeční problémy, zácpa, infekce, rakovina, aj.) (Maan A. et al. 2018).

3.1.6.2 Podpora hojení ran/jizev a protizánětlivé účinky

Aminokyseliny přítomné v *Aloe Vera* napomáhají rychlému hojení jizev. Také obsahuje spoustu anorganických elektrolytů, jako železo, draslík, hořčík, chrom, měď, vápník, sodík a zinek, která jsou nezbytná pro správný a rychlý průběh hojení. Stimuluje tělo k produkci protilátek a uvolňováním růstových faktorů dojde k hojení. Mnohé studie dokázaly, že s léčbou *Aloe Vera* opravdu dochází k rychlejšímu hojení. *Aloe vera* zabraňuje tvorbě jizev během poranění kůže tím, že stimuluje buněčnou produkci a podporuje regenerační proces v nejhlubších vrstvách kůže.

Díky přítomnosti antrachinonů a chromonů má *Aloe Vera* velmi efektivní protizánětlivé účinky (Vásquez B. et al. 1996) (Subhashis P. et al. 2014). Orální podání malého množství *Aloe* gelu zjemňuje bolest a napomáhá k léčbě aftózní stomatitidy. *Aloe Vera* také velmi ulevuje s bolestí kloubů. Složité mechanismy těla způsobují bolestivé záněty, které vedou k produkci bradykininu (zánětlivý mediátor) v reakci na různé typy zranění. Studie ukázaly, že *Aloe Vera* má anti-bradykininové vlastnosti, protože obsahuje enzym bradykinázy, který rozkládá bradykinin a snižuje zánět. *Aloe Vera* gel je účinnější proti zánětu způsobenému syntézou prostaglandinu a infiltraci leukocytů a méně účinný proti zánětu způsobenému alergenními činidly (Cervantes J.L. et al. 2018).

3.1.6.3 *Anti – rakovinné a anti-diabetické účinky*

Glykoproteiny a polysacharidy přítomné v *Aloe Vera* z ní dělají silné chemo-preventivní činidlo, užitečné proti různým druhům rakoviny. Barbaloin (aloin), aloe-emodin a aloesin extrahované z *Aloe Vera* ukázaly cytotoxicitu rakovinných buněk akutní myeloidní leukémie (AML) a akutní lymfatické leukémie (ALL) (Maan A. et al. 2018).

Aloe gel je efektivní anti – hyperglykemické činidlo proti dvěma typům cukrovky. Snižuje hladinu glukózy v krvi bez narušení normální hladiny lipidů v krvi a funkci jater či ledvin (Dajeong L. et al. 2018) (Tabatabaei S.R.F. et al. 2017).

3.1.6.4 Využití v kosmetickém průmyslu

Aloe gel se v kosmetickém průmyslu intenzivně používá a stal se tak velmi důležitou prodejní složkou. Používá se jako základní materiál k výrobě mnoha přípravků včetně zvlhčovačů a opalovacích emulzí, které se používají k hydrataci kůže. Díky cenným hydratačním a uklidňujícím účinkům má v kosmetice *Aloe Vera* gel a prášek dalších mnoho možných aplikací. Výrobky jako jsou šampony, mýdla, čistící prostředky a hydratační krémy mají tu výhodu, že nezanechávají pokožku suchou a podrážděnou. *Aloe* výtažky jsou dokonce přidávány do některých holicích pěn ke zmírnění bolesti a zvýšení hojení ran po holení (Javed S. & Rahman A. 2014).

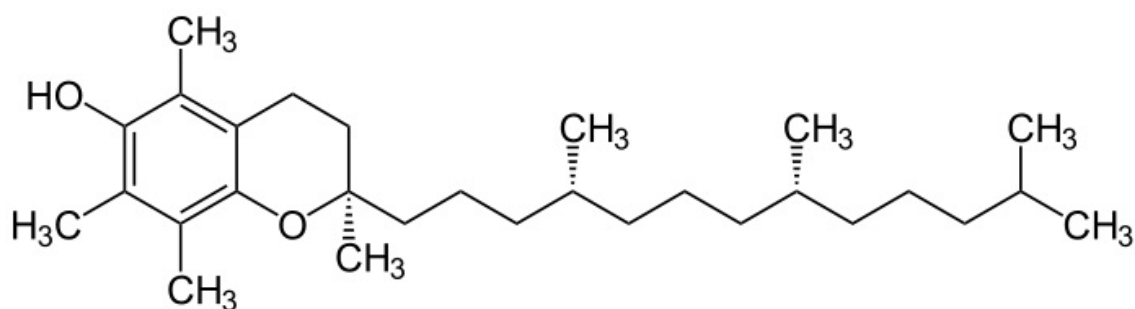
Řada kožních problémů jako spáleniny Slunce, šupinovitá nebo suchá kůže, problémy s vlasy a pokožkou hlavy, psoriáza, strupy a lupy jsou léčeny krémy či opalovacími krémy. *Aloe vera* je proslulá svou silnou léčivou aktivitou i na epiteliální úrovni pokožky a poskytuje tak ochrannou vrstvu na pokožce, která umožňuje pokožce hojit se rychleji kvůli jejímu nutričnímu obsahu a antioxidačním vlastnostem (Lobine D. et al. 2018). Prevencí před vysušením pleti je aplikace *Aloe Vera* před použitím minerálního make – upu. Její zvlhčující účinek je paradoxně ideální pro mastnou pleť, protože nezanechává mastný pocit. Giberelin, přítomný v *Aloe Vera*, je růstový hormon, který stimuluje růst nových buněk a léčí tak pokožku s minimálními jizvami. *Aloe Vera* se používá v Ayurvédském lékařství k léčbě chronických kožních problémů, jako je již zmíněná psoriáza, akné a ekzém. Antioxidanty včetně β -karotenu, vitamínu C a E přítomné v listu *Aloe Vera* zlepšují přirozenou pevnost pokožky a udržují pokožku hydratovanou (Maan A. et al. 2018).

3.2 Účinné látky v Aloe Vera

3.2.1 α - Tokoferol

(2R) – 2, 5, 7, 8 – Tetramethyl – 2 – [(4R, 8R) – (4, 8, 12 – trimethyltridecyl)] chroman – 6 – ol

(dle mezinárodního názvosloví IUPAC)



OBRÁZEK 2 - MOLEKULA ALFA – TOKOFEROLU

Zdroj: www.nafun.cz

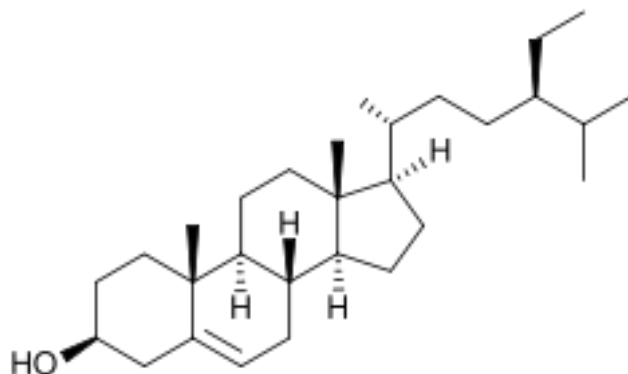
α - tokoferol neboli vitamín E, je přirozeně nejvíce obsažen v rostlinných olejích. Známý jsou 4 druhy tokoferolů, α -, β -, γ -, δ - tokoferoly. Z těchto je α - tokoferol nejčastěji přítomen v potravinách a je považován za tokoferol s nejvyšší nutriční hodnotou (Phuong D. et al. 2018). Máme na mysli rostlinné oleje, dále různá semínka, zrníčka, ořechy aj. (Albanes D. et al. 1996). Tokoferoly jsou přírodní antioxidanty a patří mezi vitamíny rozpustné v tucích (Phuong D. et al. 2018). Vitamín E nalezneme také v mléce, másle, salátu, mase savců atd. V případě jakékoliv úpravě či konzervování potravin jeho obsah klesá. Během zvýšeného příjmu nenasycených tuků nebo zvýšeném vystavení kyslíku se potřeba vitamínu E zvyšuje. Obecná antioxidační ochrana není jediná funkce vitamínu E. Další vlastností je ochrana před škodlivými vlivy a vznikem některých onemocnění. Mezi tato onemocnění řadíme diabetes a šedý zákal. Dále dokáže ovlivnit imunitní reakce a snížit škodlivé následky ischemie.

Často se tvrdí, že α - tokoferol má účinné vlastnosti v boji proti rakovině plic či je jeho užití prevencí proti vzniku rakoviny plic. Vědci však v mnoha studiích zjistili, že tomu tak není. Během studií pozorovali výběr mužů a žen, kuřáků i nekuřáků, během užívání právě α - tokoferolu a k porovnání také β – karotenu. Po několika letech výsledky ukázaly, že větší pravděpodobnost prevence či léčby rakoviny plic má β – karoten a α - tokoferol nejeví žádné účinky (Albanes D. et al. 1996) (Virtamo J. et al. 2003).

Na druhou stranu jiná studie poukázala na fakt, že α - tokoferol zpomaluje vývoj Alzheimerovy choroby (Sano M. et al. 1997).

3.2.2 β - Sitosterol

17 - (5 - Ethyl - 6 - methyleptan - 2 - yl) - 10, 13 - dimethyl - 2, 3, 4, 7, 8, 9, 11, 12, 14, 15, 16, 17 - dodecahydro - 1H - cyclopenta phenanthren - 3- ol
(dle mezinárodního názvosloví IUPAC)



OBRÁZEK 3 - MOLEKULA BETA - SITOSTEROLU

Zdroj: www.chemfaces.com

β - sitosterol je rostlinný sterol nebo také fytosterol. Najdeme ho v některých rostlinách a plní podobnou funkci jako cholesterol u vyšších živočichů. Je to velmi významná živina, která se nachází v různých druzích ovoce, převážně v tropickém ovoci, zelenině, ořechách a semenech. Dále se získává například z hnědé rýže.

V těle působí jako antioxidant a dehydrotestosteron (DHT). Zvýšená hladina DHT v krvi je ovlivněna biologickým stárnutím a vždy při tom dochází k degenerativním změnám. Mezi tyto změny řadíme zvětšení prostaty a zvýšené vypadávání vlasů, zvýšené ukládání tuků a oslabení imunitního systému. Používá se k výrobě léků a také se používá během léčby zvětšené prostaty. β - sitosterol může pomoci snížit hladinu cholesterolu v krvi či navázat na prostatu a snížit tak otok a v neposlední řadě má protizánětlivé účinky (Arndt T. 2008).

Některá studie po výzkumném šetření dokazují, že β - sitosterol je opravdu efektivní léčbou v boji proti benigní hyperplazii prostaty (Klippel K.F., Hiltl D.M. & Schipp B. 2003). Další studie poukazuje zase na jeho protizánětlivé účinky a na jeho antipyretické vlastnosti (Gupta M.B. et al. 2008).

3.3 Chromatografie

Chromatografie je základní separační metoda, během které mezi dvěma nemísitelnými složkami několikrát opakovaně vzniká rovnováha. Jde o vícestrannou metodu, která dokáže v jednom kroku rozdělit směs na jednotlivé složky a zároveň získat kvalitativní i kvantitativní informace. Můžeme tedy říct, že kromě funkce směsi lze rozpoznat i koncentraci individuálních složek (Fiehn O. 2016).

Podstatou metody je odlišná rychlost pohybu látek v soustavě mobilní a stacionární fáze. Mobilní fází je unášen vzorek obsahující několik složek. Podle vazby jednotlivých složek ke stacionární a mobilní fázi dochází buď k rychlému nebo pomalému pohybu některých složek (Dostál H. 2004). Mobilní fází bývá plyn nebo kapalina. Naopak stacionární fáze má rozdílnou podobu podle typu chromatografie. Můžou to být například částičky, tuhá fáze, tenká vrstva kapaliny na pevných částicích a další (Ubik K. 2000).

Chromatografické metody můžeme rozdělit podle několika kritérií:

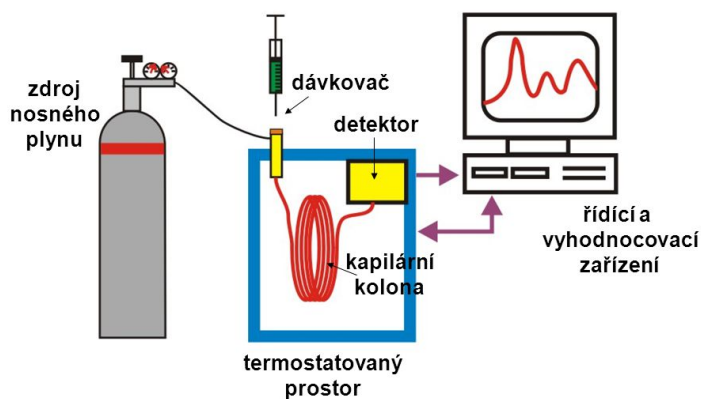
- Podle skupenství mobilní fáze
 - plynová chromatografie, kdy mobilní fází je plyn
 - tato metoda byla použita při analýze extraktu *Aloe Vera*
 - kapalinová chromatografie, mobilní fází je kapalina
 - plazmová chromatografie, kdy mobilní fází je látka v nadkritickém stavu
- podle stacionární fáze
 - kolonová chromatografie – stacionární fáze je situována v koloně
 - papírová chromatografie – stacionární fází je papír nebo upravená celulóza

- chromatografie na tenké vrstvě – tenkou vrstvou myslíme suspenzi na pevném nosiči (skleněná deska, hliníková fólie)

3.3.1 Plynová chromatografie

Plynová chromatografie patří mezi separační a analytické metody. Významně se podílí při analýze těkavých látek. Díky této metodě dochází k jednoduchému a rychlému provedení analýzy a účinnému oddělení látek pomocí malého množství vzorku potřebného k analýze.

K separaci látek pomocí plynové chromatografie dochází tehdy, když nosný plyn stále prochází kolonou stacionární fáze. Zkoušený vzorek se nastříkne do injektoru, kde dojde k odpaření a ve formě páry je dále unášen nosným plynem až do kolony. Separované složky ze vzorku se sorbují na začátku kolony ve stacionární fázi a následně desorbují nosným plynem. Postupně jsou nosným plynem unášeny složky na konec kolony a separační proces se neustále opakuje. Detektor okamžitě indikuje koncentraci oddělených látek v nosném plynu. Signál detektoru se vyhodnotí a z jeho chromatogramu, tedy časového průběhu, se určí druh a počet zastoupených složek (Ubik K. 2000).



OBRÁZEK 4 - SCHÉMA PLYNOVÉHO CHROMATOGRAFU

Zdroj: Separací metody chromatografie

3.4 Hmotnostní spektrometrie

Hmotnostní spektrometrie je jednou ze separačních technik podobně jako chromatografie. Hlavním rozdílem mezi chromatografií a hmotnostní spektrometrií je prostředí, ve kterém k separaci dochází. U chromatografie dochází k separaci v kapalině nebo plynu. Princip MS je interakce nabitých částic s magnetickým nebo elektrickým polem ve vakuu. Skládá se ze tří částí – iontový zdroj, analyzátor a detektor částic (Friedecký D. & Lemr K. 2012).

Iontové zdroje jsou důležitou součástí MS. Zde se tvoří ionty v plynné fázi, které mohou po svém vzniku fragmentovat. Ze složek vstupujících do iontového zdroje následně vznikají kladně nebo záporně nabitě ionty. Iontové zdroje lze rozdělit na tzv. tvrdé a měkké ionizace. Mezi ty tvrdé patří elektronová ionizace (EI), která pracuje na principu vydávání energie letících elektronů molekulám analytu (De Hoffman E. & Stroobant V. 2007). EI závisí na energii elektronu i molekuly. Urychlovací schopnosti jsou dány energií elektronů a energie molekuly je závislá na teplotě iontového zdroje a také na její teplotě (Ubik K. 2000).

Složky vystupující z iontového zdroje obsahují ionty různých hmot a nesou jeden i více nábojů, proto je třeba je před vstupem do detektoru roztřídit. V kvadrupolovém hmotovém filtru dochází k separaci iontů jejich průchodem mezi čtyřmi kovovými tyčemi, tzv. filtrem (Ubik K. 2000). Na filtr působí kombinace střídavého a stejnosměrného napětí. Na základě velikosti amplitudy mezi napětím, se v daném okamžiku ionty s určitou hodnotou pohybují po stále stejné trajektorii dále k detektoru. Ionty, které změní trajektorii jsou vychýleny a na detektor nedopadnou (Friedecký D. & Lemr K. 2012).

Po separaci iontů v hmotnostním analyzátoru se z detektoru, na který dopadají ionty generuje signál. Následně se signál převede do digitálního formátu, který se ihned ukládá do paměti počítače (Ubik K. 2000).

3.5 Metody extrakce těkavých látek

Extrakce účinných látek je možné provést několika způsoby, fluidní extrakcí, Soxhletovou extrakcí, extrakcí kapalnou fází aj.

3.5.1 Obecná charakteristika extrakce

Jde o proces, při kterém se separují (oddělují) dvě vzájemně nemísitelné látky. Na základě rozdílné rozpustnosti (různých rozdělovacích koeficientů) ve vybraných rozpouštědlech dojde k rozdělení analytu mezi tyto látky. K nejdokonalejšímu oddělení dochází při největším rozdílu mezi rozdělovacími koeficienty.

Cílem extraktu je selektivní až charakteristická separace analytu od ostatních komponentů zkoumaného vzorku nebo naopak separace rušících komponentů od analytu.

Rozdělení extrakcí:

- podle zúčastněných frakcí
 - plyn – kapalina – headspace metoda
 - extrakce těkavých látek plynem z kapaliny
 - použití např. v plynové chromatografii
 - kapalina – kapalina – LLE – liquid liquid extrakce
 - tuhá fáze – kapalina – selektivní rozpouštění, loužení

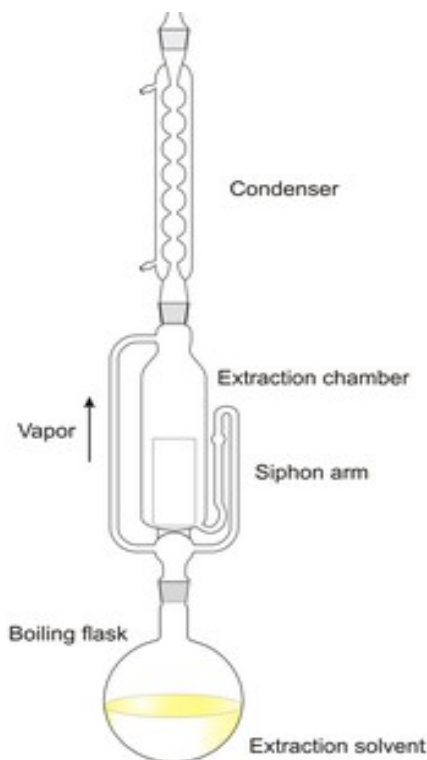
- podle způsobu provedení
 - jednostupňová – dochází k vytvoření jedné rovnováhy mezi látkami, např. třepání v separační nálevce
 - mnohostupňová – proces vytvoření rovnováhy se několikrát opakuje v separačních krocích
 - kontinuální – látky jsou při protiproudovém pohybu stále v kontaktu
 - např. extrakce v Soxhletově extraktoru

- podle charakteru extrahovaných látek
 - extrakce organických látek
 - extrakce kovových chelátů
 - extrakce iontových asociátů

Proces extrakce můžeme rozdělit do třech na sebe navazujících fází. V první fázi dochází k úpravě vzorku, kdy se vytvoří extrahovatelná forma námi vybrané a následně sledované látky. Další fáze je samotná extrakce, při které dojde k vytvoření separační rovnováhy. Na závěr se odpaří rozpouštědlo, dojde k reextrakci a případně se izoluje zkoumaná látka z organické fáze (Borkovcová I. & Kostrhounová R. 2013).

3.5.2 Soxhletova extrakce

- metoda kontinuální extrakce – látky jsou při protiproudovém pohybu stále v kontaktu
- slouží k izolaci jedné nebo více organických látek z pevné matrice



OBRÁZEK 5 - SOXHLETOVA EXTRAKCE

Zdroj: Chemistry glossary

Do střední části (extraction chamber) přístroje se vloží papírová extrakční patrona válcovitého tvaru s kulatým dnem, kterou naplníme vzorkem.

Baňku (boiling flask) naplníme vhodným rozpouštědlem, v němž se dobře rozpouští složka, kterou chceme separovat. Poté zahříváme varnou baňku k varu vybraného rozpouštědla. Páry rozpouštědla stoupají boční trubičkou (vapor) kolem střední části extraktoru do chladiče (condenser), kde kondenzují. Na vzorek obsažený v papírové patroně nám kape rozpouštědlo.

Střední část extraktoru se nám tak pomalu zaplňuje zkondenzovaným rozpouštědlem, které stoupá i v úzké přepadové trubičce (siphon arm). Dostane-li se hladina rozpouštědla ve střední části extraktoru do nejvyšší části přepadové trubičky, přeteče roztok do destilační baňky, z níž se těkavé rozpouštědlo znovu destiluje (Borkovcová I. & Kostrhounová R. 2013).

4. Metodika

4.1 Sběr vzorků

Byly vybrány 3 destinace, kde proběhl sběr vzorků. První lokalitou byl jeden z Kanárských ostrovů, ostrov Lanzarote (*Aloe chinensis*). Dalším místem sběru *Aloe* bylo Španělsko, přesněji jeho severozápadní provincie Galicie (*Aloe candelabrun*). Poslední vzorek (*Aloe barbadensis*) byl z České Republiky. Důvodem tohoto výběru bylo porovnání „našeho“ klasicky pěstovaného *Aloe*, který je tak oblíben při léčbě drobných poranění. Zda *Aloe barbadensis* vypěstovaná v domácnostech mírného pásma obsahuje menší, stejné či větší množství léčivých látek než *Aloe* pěstovaná v subtropických oblastech.

Dále bude popsán proces identifikace chemických látek extraktu všech vzorků: *Aloe chinensis*, *Aloe barbadensis* a také *Aloe candelabrun*.





**OBRÁZEK 7 - VZOREK Č.1 *ALOE CHINENSIS*,
KANÁRSKÝ OSTROV LANZAROTE**

Zdroj: autorka práce



**OBRÁZEK 8 - VZOREK Č.2 *ALOE BARBADENSIS*,
ČR**

Zdroj: autorka práce

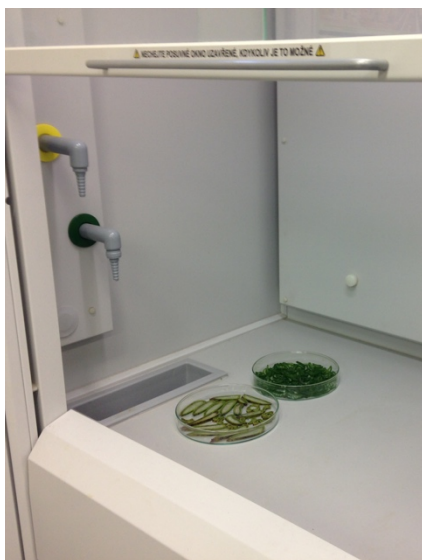


**OBRÁZEK 9 - VZOREK Č. 3 *ALOE CANDELABRUN*, GALICIE,
ŠPANĚLSKO**

Zdroj: autorka práce

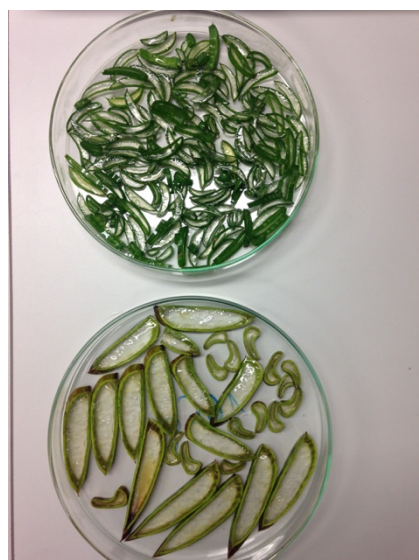
4.2 Příprava vzorku

Všechny 3 vzorky Aloe byly nejprve omyty destilovanou vodou. Následně nakrájeny na přibližně půl milimetru tenké plátky, které se vyskládaly do skleněných Petriho misek. Ty byly vloženy do otevřené digestoře a po dobu 24 hodin sušeny při pokojové teplotě 24°C.



OBRÁZEK 11 - SUŠENÍ V DIGESTOŘI

Zdroj: autorka práce



OBRÁZEK 10 - PLÁTKY ALOE V PETRIHO MISKÁCH

Zdroj: autorka práce



OBRÁZEK 12 - SUŠENÁ ALOE CHINENSIS

Zdroj: autorka práce

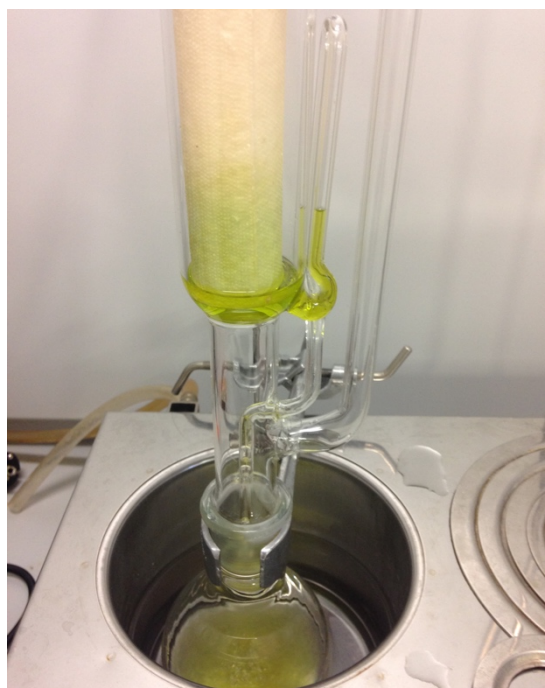


OBRÁZEK 13 - SUŠENÁ ALOE CANDELABRUN

Zdroj: autorka práce

4.3 Extrakce těkavých látek

Po sušení bylo potřeba ze vzorků separovat extrakt pro správnou identifikaci jednotlivých složek *Aloe*. K dispozici bylo 2,9 g *Aloe candelabrun*, 2,3 g *Aloe chinensis* a 2,5 g *Aloe barbadensis*. Extrakt byl získán Soxhletovou extrakcí za použití hexanu (99 %, Sigma Aldrich) jako rozpouštědla, který byl přítomen v baňce ponořené do vody zahříváné na 60°C. V papírové patroně byl usušený vzorek *Aloe* a takto se v několika opakovaných cyklech získal extrakt z každého vzorku.



OBRÁZEK 15 - SOXHLETOVA EXTRAKCE *ALOE BARBADENSIS*

Zdroj: autorka práce



OBRÁZEK 14 - EXTRAKTY *ALOE CANDELABRUN* A *CHINENSIS*

Zdroj: autorka práce

Po extrakci bylo rozpouštědlo odpařeno pomocí rotační vakuové odparky a byly získány pevné složky vzorků, které byly následně použity v GC-MS analýze.



OBRÁZEK 17 - ROTAČNÍ VAKUOVÁ ODPARKA

Zdroj: autorka práce



OBRÁZEK 16 - PEVNÁ SLOŽKA Z EXKTRAKTU *ALOE BARBADENSIS*

Zdroj: autorka práce

4.4 GC-MS analýza

Z každého vzorku bylo odebráno 5 mg a naředěno 1 ml hexanu. Každý vzorek byl měřen 3x, celkem bylo provedeno 9 měření.

Analýza byla provedena použitím plynového chromatografu s hmotnostní spektrometrií, Agilent Technologies 5977A MSD, s kolonou HP-5MS (5% fenyl-metyl-siloxan), (30nm \times 0.25mmID \times 0.25 μ m). Teplotní program měření byl nastaven na 2 minuty, kdy byla udržována základní teplota 70 °C a následně teplota vzrůstala rychlostí 10 °C /min. Po dosažení konečné teploty 300 °C byla takto udržována po dobu 10 min. Nosným plynem bylo helium (1 ml/min). Hmotnostní detektor měl elektronovou energii 70 eV s teplotou zdroje (MSD source heater) 230°C.

Vzorky byly na kolonu nastříknuty v objemu 1 μ l, při teplotě 250 °C.

4.5 Identifikace látek

Spektra byla vyhodnocena pomocí softwaru MassHunter, Workstation Software, B.07.00. Identifikace látek byla provedena srovnáním jejich hmotnostních spekter s knihovnou NIST verze 2.2. Procentuální zastoupení složek bylo zprůměrováno ze všech tří měření a pro každou látku byl spočítán Kovatsův index. Ten byl následně porovnán s Kovatsovým indexem z literatury, pokud byl pro danou těkavou látku dostupný. K vyhledání Kovatsových indexů sloužila internetová databáze Pherobase.com. Zdrojem Kovatsových indexů byly výsledky Adamse RP z roku 1995 změřené na koloně DB-5.

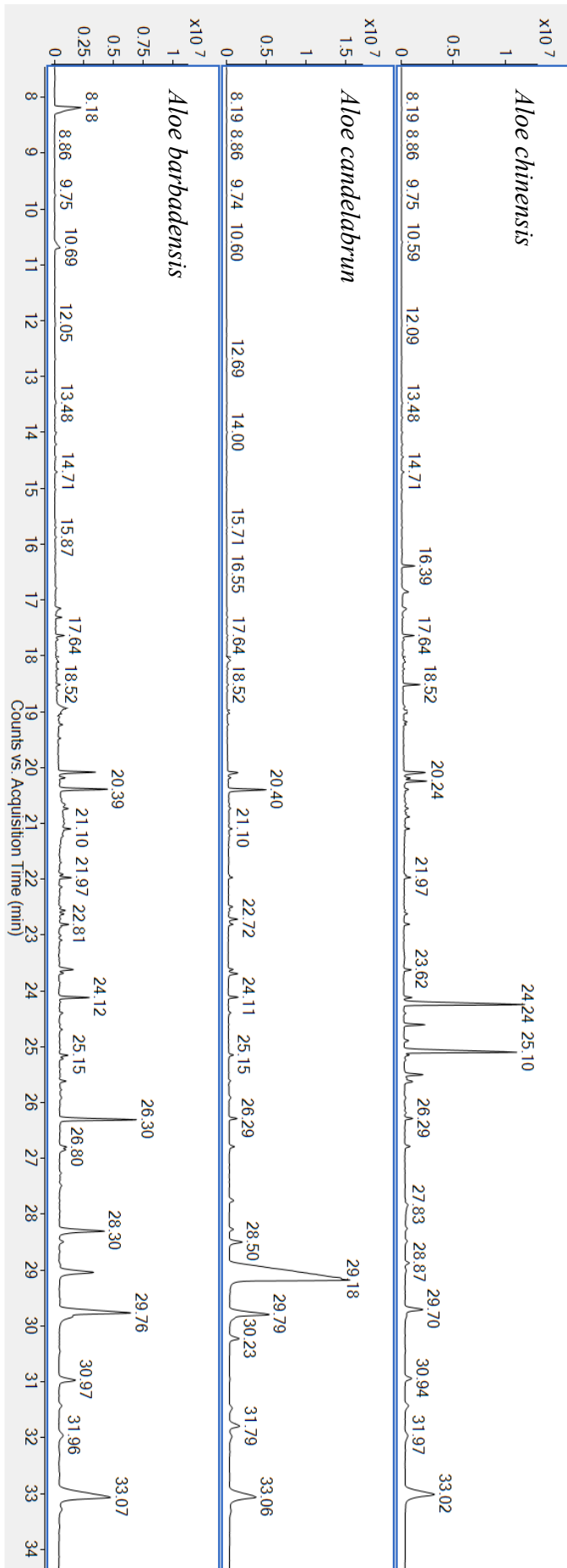
5. Výsledky

Pro porovnání bylo vybráno 10 nejvíce zastoupených látek. Největší procentuální zastoupení sitosterolu bylo zjištěno ve vzorku *Aloe barbadensis* (16,79 %), následováno vzorkem *Aloe chinensis* (13,04 %) a nejmenší zastoupení ve vzorku *Aloe candelabrun* (5,61 %).

Procentuální zastoupení α - tokoferolu bylo také největší v *Aloe barbadensis* (14,93 %). Pořadí následující se obrátilo a větší zastoupení tentokrát bylo ve vzorku *Aloe candelabrun* (8,99 %) a nejmenší v *Aloe chinensis* (4,43 %). Lze spekulovat o příčinách. *Aloe barbadensis* disponuje velmi léčivými složkami, na druhou stranu, jak je vidět v následující tabulce, *Aloe chinensis* má opravdu obsáhlé zastoupení látkou otobain (41,15 %), ve vzorku *Aloe barbadensis* byl zastoupen pouze v 1,39 % a v *Aloe candelabrun* nebyl dokonce vůbec. Tato látka podle výzkumu Zhongzhou Li et al. 2016 potlačuje růst nádoru rakoviny plic. *Aloe candelabrun* zase naopak disponuje látkou hentriacontane (60,14 %), který patří mezi alkany a je tvořen z 8–9 % včelím voskem. Proto by byl vhodným doplňkem do například balzámů na rty. Velmi zajímavým výsledkem je nepřítomnost tohoto uhlovodíku v ostatních vzorcích.

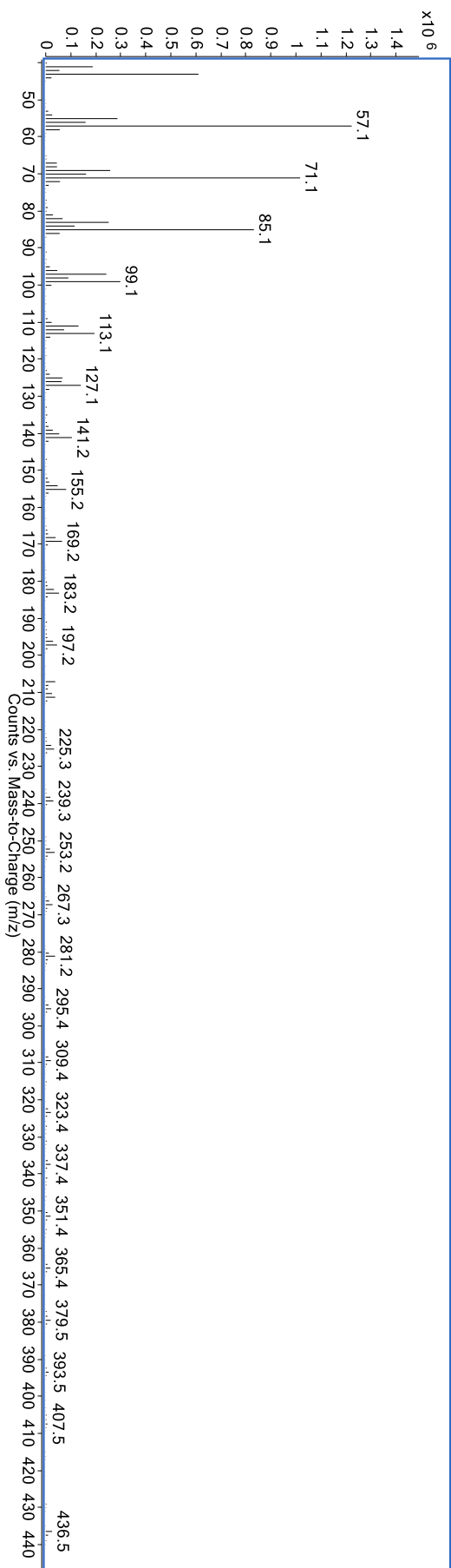
Dalšími významnějšími látkami zjištěnými ve vzorcích byl octadecanol, phytol, hexadecanoic acid, lupeol, squalene a octacosanol. Studie ukazují, že látka lupeol má protizánětlivé účinky a až z 20 % může značně snížit riziko rakoviny prostaty, stěv a prsu (Saleem M. 2009).

Níže na obrázku 18 je pro ukázkou vloženo spektrum látky hentriacontane a chromatogramy všech zkoumaných druhů *Aloe*. Následně v tabulce č. 2 jsou znázorněny všechny identifikované látky.



OBRÁZEK 19 - CHROMATOGRAMY JEDNOTLIVÝCH DRUHŮ

Zdroj: GC-MS analýza



OBRÁZEK 18 - SPEKTRUM LÁTKY HENTRIACONTANE

Zdroj: GC-MS analýza

TABULKA 2 - IDENTIFIKACE BIOAKTIVNÍCH SLOŽEK

Zdroj: autorka práce

Sloučenina	KI cal	KI lit	Area % (průměr)		
			<i>Aloe candelabrun</i>	<i>Aloe chinensis</i>	<i>Aloe barbadensis</i>
Nonanal	1131	1098	×	×	4,43
Decanal	1208	1204	×	0,21	0,1
Nonanoic acid	1274	1280	×	×	1,24
Olivetol	1540		0,05	0,16	0,17
Dihydroactinidiolide	1559	1539	0,03	0,2	0,1
Octyl propylphosphonofluoridoate	1581		0,06	0,32	0,22
Methyl tetradecanoate	1727	1726	×	1,25	×
Tetradecanoic acid	1764	1768	×	1,3	0,14
Loliolide	1796		0,04	0,79	0,61
Neophytadiene	1843	1827	0,09	1,04	0,61
Phytone	1850	1849	0,08	0,23	0,21
Nonadecane	1900	1900	0,11	×	×
Methyl hexadecanoate	1929	1927	×	1,62	×
Hexadecanoic acid	1972	1984	×	0,39	1,47
Ethyl hexadecanoate	1996	1978	×	0,38	×
Eicosane	2000	2000	0,1	0,28	0,37
Octadecan-1-ol	2089		1,04	2,87	2,93
Heneicosane	2100	2100	0,21	0,72	0,47
Methyl octadecenoate	2108		×	2,41	×
Phytol	2123	1949	3,72	0,5	3,98
Octadecenoic acid	2153	2161	×	×	0,7
Ethyl octadecadienoate	2169		×	0,2	×
Ethyl octadecatrienoate	2177		×	0,82	×
Docosane	2201	2200	0,31	0,54	0,62
Tricosene	2294	2287	×	0,27	0,28
Tricosane	2301	2300	0,37	0,79	0,86
Chrysarobin	2362		0,4	×	×
4,8,12,16-Tetramethylheptadecan-4-olide	2371		×	×	0,45
Chrysophanol	2389		0,93	×	×
Tetracosane	2400	2400	0,58	0,7	0,67
Pentacosane	2500	2500	0,48	0,97	1,46
Rhodomycin	2510		1,03	×	×
Otobain	2576		×	36,19	1,47
Hexacosane	2600	2600	0,29	0,24	0,3
Machilin A	2629		×	2,33	×

Pokračování tabulky:

Macelignan	2666	2200	×	0,56	×
Heptacosane	2700	2700	0,53	0,67	0,75
Licarin A	2745		×	2,54	×
Myrisfragransin	2762		×	1,3	×
Octacosane	2799	2800	0,32	0,22	0,33
Squalene	2844	2790	0,8	1,07	7,46
Nonacosane	2902	2900	0,73	0,95	0,69
Triacontane	3001	3000	0,74	0,83	×
Octacosanal	3050		×	0,85	7,43
β Tocopherol	3067	3076	×	0,38	0,58
γ-Tocopherol	3067		2,05	×	×
Octacosanol	3115		×	0,91	7,54
Hentriacontane	3124	3100	60,14	×	×
α-Tocopherol	3169		8,99	4,44	14,93
Dotriacontane	3204	3200	1,68	×	×
Triacontanal	3253		×	×	3,44
Tritriacontane	3304	3300	2,24	×	×
Sitosterol	3374	3408	5,61	13,05	16,79
Lupeol	3454		3,96	×	×

6. Diskuze

Po identifikaci byly látky dále porovnány se třemi vědeckými články. První článek k porovnání (Arunkumar S. & Muthuselvam M. 2009) disponoval vzorkem *Aloe Vera* (více neupřesněno) z Indie. Metodika výzkumu byla téměř totožná s metodikou práce. Byla použita Soxhletova extrakce a GC–MS analýza. Identifikace látek se velmi shoduje s identifikací látek *Aloe chinensis* a *Aloe barbadensis*. Největší zastoupení zde bylo kyseliny palmitové (14 %) (hexadecanoic acid), sitosterolu (13 %), phytolu (10 %) a kyseliny olejové (11,74 %) (oleic acid). Procentuální zastoupení všech látek je vyšší než u námi zkoumaných látek. Můžeme odhadovat, že to je větším množstvím vzorku k extrakci (20 g).

V dalším článku (Magwa M.L. et al. 2006) je popsán výzkum *Aloe ferox*. Zde je identifikace látek odlišná od všech našich vzorků. Přesto mnoho z těkavých sloučenin identifikovaných v této studii jsou známy využitím v přírodním lékařství a jsou uváděny na trh po celém světě. Nejvíce zastoupený 1, 3, 6-octatriene (23,87 %), který se ve velkém množství vyskytuje v esenciálních olejích. Dále byly identifikovány látky, které se hojně vyskytují v různých druzích ovoce, bornylene (5,24 %) a theaspirane A (5,64 %) (Magwa M.L. et al. 2006).

Třetím vzorkem je *Aloe Vera* z Íránu (Saljooghianpour M. & Jaravan T.A. 2012). Zde nalezneme velké množství stejných látek, ale rozdílného procentuálního zastoupení. V tomto druhu se identifikovalo velké zastoupení kyselin, kyselina palmitová (22 %) a kyselina olejná (14,49 %). Ve všech našich zkoumaných vzorcích nebyla nalezena kyselina olejná a jen velmi malé procento kyseliny palmitové.

Zde se nám potvrzuje, že každý druh *Aloe* je zastoupením látek zcela či docela odlišný. Určitě může nastat mnoho faktorů, které by zastoupení látek mohly ovlivnit, půda, podnebí, množství zkoumaného vzorku, výběr extrakční metody aj. Mnoho dalších studií se zabývá spíše výzkumem gelu z *Aloe*, ale je pravděpodobné, že je velký potenciál právě v extraktu této velmi pozoruhodné rostliny.

7. Závěr

Cílem této bakalářské práce byla chemická analýza extraktů ze tří druhů *Aloe* a jejich následná identifikace účinných látek. V literární rešerši byla popsána *Aloe Vera*, její využití a základní účinné látky α - tokoferol a β - sitosterol. V metodické části práce, která byla postavena na vlastním výzkumu, bylo pomocí plynové chromatografie s hmotnostní spektrometrií identifikováno a určeno procentuální zastoupení látek. Praktická část potvrdila přítomnost α - tokoferolu a β - sitosterolu. Celkově se identifikovalo 55 aktivních složek. Tím byl splněn hlavní cíl.

Specifickým cílem bylo porovnat případné rozdíly v chemickém složení vzorků. GC – MS analýza prokázala zásadní odlišnosti v látkách obsažených v jednotlivých extraktech. Je tedy jisté, že každý druh disponuje rozdílným zastoupením látek můžeme tedy říct, že pro konkrétní léčbu je potřeba zvolit také vhodný druh této léčivé rostliny.

Druhým a zároveň posledním cílem bylo porovnání analýzy s vybranými vědeckými články. Zde se potvrdily rozdíly v druzích. Některá byla naprosto odlišná a některá byla téměř totožná, lišila se jen například větším procentuálním zastoupením. Tímto tedy byly všechny cíle splněny.

8. Reference

1. Albanes D. et al. 1996. α -Tocopherol and β -Carotene Supplements and Lung Cancer Incidence in the Alpha-Tocopherol, Beta-Carotene Cancer Prevention Study: Effects of Base-line Characteristics and Study Compliance. *Journal of the National Cancer Institute*. DOI:10.1093/jnci.88.21.1560.
2. Arndt T. 2008. Výživové doplňky-sitosterol. Celostní medicína. www.celostnimediceina.cz
3. Arunkumar S. & Muthuselvam M. 2009. Analysis of phytochemical constituents and antimicrobial activities of Aloe vera L. against clinical pathogens. *World Journal of Agricultural Sciences*. ISSN: 1817-3047.
4. Baruah A. et. al. 2016. Aloe Vera: A multipurpose industrial crop. *Industrial crop and products*. DOI: 10.1016/j.indcrop.2016.08.034.
5. Borkovcová I. & Kostrhounová R. 2013. *Extrakční metody*, Brno.
6. Boudreau M.D. & Beland F.A. 2006. An evaluation of the biological and toxicological properties of Aloe barbadensis (Miller), Aloe Vera. *Journal of Environmental Science Health*. DOI: 10.1080/10590500600614303.
7. Cervantes J.L. et al. 2018. Antioxidant capacity, proximate composition, and lipid constituents of Aloe vera flowers. *Journal of Applied research on medicinal and aromatic plants*. DOI: 10.1016/j.jarmap.2018.02.004.

8. Dajeong L. et al. 2018. Polysaccharide isolated from Aloe vera gel suppresses ovalbumin – induced food allergy through inhibition of Th2 immunity in mice. *Biomedicine & Pharmacotherapy*. DOI:10-1016/j.biopha.2018.02.061.
9. De Hoffmann E. & Stroobant V. 2007. *Mass spectrometry, principles and applications*. Third edition. ISBN: 978-0-470-03310-4.
10. Dostál H. 2004. *Kvantitativní analýza - separační metody*. Vyšší odborná škola zdravotnická a Střední zdravotnická škola Hradec Králové.
11. Fiehn O. 2016. *Metabolics by gas chromatography – mass spektrometry: the combination of targeted and untargeted profiling*. National Center for Biotechnology Information. DOI: 10.1002/0471142727.mb3004s114.
12. Friedecký D. & Lemr K. 2012. Úvod do hmotnostní spektrometrie. *Klinická biochemie a metabolismus*. p. 152 – 157.
13. Gupta M.B. et al. 2008. Anti - inflammatory and antipyretic activities of β - Sitosterol. *Thieme planta medica*. DOI:10.1055/s-2008-1074919.
14. Javed S. & Rahman A. 2014. Aloe vera gel in food, health products and cosmetics industry. *Studies in Natural Products Chemistry*. DOI: 10.1016/B978-0-444-63294-4-00009-7.
15. Klippel K.F. et al. 2003. A multicentric, placebo - controlled, double - blind clinical trial of β - sitosterol (phytosterol) for the treatment of benign prostatic hyperplasia. *Wiley online library*. DOI:10.1046/j.1464-410X.1997.t01-1-00362.

16. Lobine D. et al. 2018. Medicinal Mascarene Aloes: An audit of their phytotherapeutic potential. *Fitoterapia*. DOI: 10.1016/j.filote.2017.10.010.
17. Maan A. et al. 2018. The therapeutic properties and applications of aloe vera: a review. *Journal of herbal medicine*. DOI:10.1016/j.hermed.2018.01.002.
18. Magwa M.L. et al. 2006. Chemical composition of volatile constituents from the leaves of *Aloe ferox*. *African journal of Biotechnology*. ISSN: 1684-5315.
19. Manvitha K. & Bidya Bhushan 2013. Aloe Vera: a wonder plant its history, cultivation and medicinal uses. *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*. ISSN: 2278-4136.
20. Nilanjana D. & Chattopadhyay R. N. 2004. Commercial cultivation of Aloe. *Green page*. Indian Institute of Technology. IPC code: A01G7/00.
21. Phuong D. et al. 2018. Fatty Acid, Tocopherol, Sterol Compositions and Antioxidant Activity of Three Garcinia Seed Oils. *Records of Natural Products*. DOI: 10.25135/rnp.32.17.09.051054.
22. Ramachandra C.T. & Srinivasa Rao P. 2008. Processing of Aloe vera gel: A review. *American journal of agricultural and biological sciences* 3. ISSN: 1557-4989.
23. Rao N. & Thammanna K. 1987. Medicinal plants of ritual hills. Department of garden, Tirupati.

24. Saleem M. 2009. Lupeol, a novel anti – inflammatory and anti – cancer dietary triterpene. National Center for Biotechnology Information. DOI: 10.1016/j.canlet.2009.04.033.
25. Saljooghianpour M. & Javaran T.A. 2012. Identification of phyto chemical components of Aloe plantlets by gas chromatography – mass spektrometry. African Journal of Biotechnology. DOI: 10.5897/AJB11.4307.
26. Sánchez – Machado D. et al.2017. Aloe Vera: Ancient knowledge with new frontiers. Trends in food science and technology. DOI: 10.1016/j.tifs.2016.12.005.
27. Sano M. et al. 1997. A controlled trial od selegiline, alpha - tocoherol, or both as treatment for Alzheimer's disease. The New England journal of medecine. DOI: 10.1056/nejm199904243361704.
28. Shelton R.M. 1991. Aloe Vera. Its chemical and therapeutic properties. International Journal of Dermatology. DOI: 10.1111/j.1365-4362.1991.tb02607.
29. Subhashis P. et al. 2014. Anti-inflammatory and protective properties of aloe vera leaf crude gel in carrageenan induced acute inflammatory rat models. International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical sciences. ISSN: 0975-1491.
30. Sui Chin S., Han lyn F. & Nur Hanani Z.A. 2018. Effect of Aloe vera (Aloe barbadensis Miller) gel on the physical and functional properties of fish gelatin films as active packaging. Food packaging and shelf life. DOI:10.1016/j.fpsl.2017.04.008.

31. Tabatabaei S.R.F. et al. 2017. Aloe vera gel improves behavioral deficits and oxidative status in streptozotocin – induced diabetic rats. *Biomedicine & Pharmacotherapy*. DOI: 10.1016/j.biopha.2017.09.146.
32. Ubik K. 2000. *Fyzikálně – chemické metody, část 2. ÚOCHB*. ISBN: 80-86241-05-X.
33. Vásquez B. et al. 1996. Antiinflammatory activity of extracts from Aloe vera gel. *Journal of Ethnopharmacology*. DOI: 10.1016/S0378-8741(96)01476-6.
34. Virtamo J. et al. 2003. Incidence of cancer and mortality following alpha - tocopherol and beta - carotene supplementation: a postintervention follow - up. *Europe PMC*. DOI: 10.1001/jama.290.4.476.
35. Zhongzhou Li et al. 2016. Design, synthesis and anticancer activities of novel otobain derivatives. *Organic & Biomolecular chemistry*. DOI: 10.1039/C5OB02176F.