

UNIVERZA V LJUBLJANI  
FAKULTETA ZA FARMACIJO

KARMEN ŠTIH

**MAGISTRSKA NALOGA**  
**ENOVITI MAGISTRSKI ŠTUDIJSKI PROGRAM FARMACIJA**

Ljubljana, 2014

UNIVERZA V LJUBLJANI  
FAKULTETA ZA FARMACIJO

KARMEN ŠTIH

**RAZVOJ METODE ZA PREPOZNAVANJE RASTLINSKIH DROG Z  
INFRARDEČO SPEKTROSKOPIJO**

**THE DEVELOPMENT OF A METHOD FOR IDENTIFYING  
HERBAL DRUGS USING INFRARED SPECTROSCOPY**

Ljubljana, 2014

Diplomsko delo sem opravljala na Fakulteti za farmacijo, na Katedri za farmacevtsko biologijo, pod mentorstvom prof. dr. Sama Krefta, mag. farm. in somentorstvom asistentke dr. Mete Kokalj, mag. farm.

### **Zahvala**

Najprej bi se rada zahvalila prof. dr. Samu Kreftu, mag. farm., za vse nasvete in strokovno pomoč pri opravljanju eksperimentalnega dela v laboratoriju. Še posebej bi se zahvalila asistentki dr. Meti Kokalj, mag. farm. za dosegljivost, prijaznost in odlično usmerjanje tekom opravljanja eksperimentalnega dela v laboratoriju, ter nadalje izredno potrpežljivost in strokovne nasvete pri pisanju magistrskega dela.

Prav tako bi se rada zahvalila staršem in sestri, ki ste mi tekom študija vedno stali ob strani. Tomi, hvala ker si verjel vame.

Hvala tudi Minoritskemu samostanu Olimje, ki je v raziskovalne namene daroval vzorce rastlinskih drog uporabljene pri mojem eksperimentalnem delu.

In na koncu se zahvaljujem vsem sošolkam in sošolcem, ki ste bili ob meni tako v zabavnih kot tudi napornih in stresnih trenutkih študija.

### **Izjava**

Izjavljam, da sem diplomsko delo samostojno izdelala pod vodstvom mentorja prof. dr. Sama Krefta, mag. farm. in somentorice asistentke dr. Mete Kokalj, mag. farm.

Karmen Štih

Predsednik komisije: prof. dr. Albin Kristl, mag. farm.

Član komisije: doc. dr. Jožko Cesar, mag. farm.

# KAZALO VSEBINE

POVZETEK .....	vii
ABSTRACT .....	viii
SEZNAM OKRAJŠAV .....	ix
1 UVOD.....	1
1.1 PRAVA KAMILICA ( <i>MATRICARIA RECUTITA</i> ) .....	1
1.1.1 OPIS RASTLINE .....	1
1.1.2 UČINKOVINE .....	1
1.1.3 DELOVANJE IN UPORABA .....	1
1.2 VELIKA KOPRIVA ( <i>URTICA DIOICA</i> ).....	2
1.2.1 OPIS RASTLINE .....	2
1.2.2 UČINKOVINE .....	2
1.2.3 DELOVANJE IN UPORABA .....	2
1.3 NAVADNA LIPA ( <i>TILIA PLATYPHYLLOS, TILIA CORDATA</i> ) .....	3
1.3.1 OPIS RASTLINE .....	3
1.3.2 UČINKOVINE .....	3
1.3.3 DELOVANJE IN UPORABA .....	3
1.4 VRTNA MATERINA DUŠICA ( <i>THYMUS VULGARIS, THYMUS SERPYLLUM</i> ) 4	4
1.4.1 OPIS RASTLINE .....	4
1.4.2 UČINKOVINE .....	4
1.4.3 DELOVANJE IN UPORABA .....	5
1.5 NAVADNA MELISA ( <i>MELISSA OFFICINALIS</i> ) .....	5
1.5.1 OPIS RASTLINE .....	5
1.5.2 UČINKOVINE .....	5
1.5.3 DELOVANJE IN UPORABA .....	5
1.6 POPROVA META ( <i>MENTHA X PIPERITA</i> ) .....	6
1.6.1 OPIS RASTLINE .....	6
1.6.2 UČINKOVINE .....	6
1.6.3 DELOVANJE IN UPORABA .....	6

1.7	NJIVSKA PRESLICA ( <i>EQUISETUM ARVENSE</i> ).....	6
1.7.1	OPIS RASTLINE .....	7
1.7.2	UČINKOVINE .....	7
1.7.3	DELOVANJE IN UPORABA .....	7
1.8	VRTNI OGNJIČ ( <i>CALENDULA OFFICINALIS</i> ).....	7
1.8.1	OPIS RASTLINE .....	7
1.8.2	UČINKOVINE .....	8
1.8.3	DELOVANJE IN UPORABA .....	8
1.9	NAVADNI ŠIPEK ( <i>ROSA CANINA</i> ).....	8
1.9.1	OPIS RASTLINE .....	8
1.9.2	UČINKOVINE .....	9
1.9.3	DELOVANJE IN UPORABA .....	9
1.10	ŽAJBELJ ( <i>SALVIA OFFICINALIS</i> ).....	9
1.10.1	OPIS RASTLINE .....	9
1.10.2	UČINKOVINE .....	9
1.10.3	DELOVANJE IN UPORABA .....	10
1.11	IR SPEKTROSKOPIJA .....	10
1.11.1	OSNOVE IR SPEKTROSKOPIJE.....	10
1.11.2	SPEKTROSKOPSKE TEHNIKE .....	12
1.12	STATISTIČNE METODE .....	14
1.12.1	ANALIZA VARIANCE (ANOVA).....	14
1.12.2	METODA GLAVNIH KOMPONENT (PCA) .....	14
1.12.3	DISKRIMINANTNA ANALIZA (DA).....	15
2	NAČRT ZA DELO ALI DELOVNA HIPOTEZA .....	17
3	MATERIALI IN METODE .....	18
3.1	VZORCI.....	18
3.1.1	CVET PRAVE KAMILICE ( <i>Chamomillae flos</i> ).....	18
3.1.2	LIST KOPRIVE ( <i>Urticae folium</i> ) .....	18
3.1.3	CVET LIPE ( <i>Tiliae flos</i> ) .....	19
3.1.4	ZEL MATERINE DUŠICE ( <i>Thymi herba</i> ).....	20
3.1.5	LIST MELISE ( <i>Melissae folium</i> ) .....	21

3.1.6	LIST POPROVE METE ( <i>Menthae piperitae folium</i> ) .....	22
3.1.7	CVET OGNJIČA ( <i>Calendulae flos</i> ).....	23
3.1.8	ZEL NJIVSKE PRESLICE ( <i>Equiseti herba</i> ) .....	24
3.1.9	PLOD NAVADNEGA ŠIPKA ( <i>Rosae pseudo-fructus</i> ) .....	25
3.1.10	LISTI ŽAJBLJA ( <i>Salviae folium</i> ) .....	26
3.1.11	ČAJNE MEŠANICE .....	27
3.2	APARATURE IN PRIPOMOČKI.....	28
3.3	NASTAVITVE PRI MERJENJU.....	29
3.4	PRIPRAVA VZORCA IN POTEK MERITEV .....	29
3.4.1	PRIPRAVA VZORCEV .....	29
3.4.2	ATR IR SPEKTROMETER .....	30
3.4.3	SPEKTROMETER PERKIN ELMER FTIR 1600 .....	32
3.4.4	PREDOBDELAVA SPEKTROV .....	34
3.5	STATISTIČNA OBDELAVA PODATKOV.....	35
3.6	VALIDACIJA.....	36
4	REZULTATI IN RAZPRAVA .....	37
4.1	ENOKOMPONENTNI ČAJI .....	37
4.2	ČAJNE MEŠANICE.....	45
5	SKLEP.....	55
	LITERATURA .....	56
	PRILOGE .....	59

## KAZALO SLIK

Slika 1:	Posušena droga cvetov prave kamilice.....	1
Slika 2:	Posušena droga zeli koprive.....	2
Slika 3:	Posušena droga cvetov lipe .....	3
Slika 4:	Posušena droga zeli materine dušice (samo listi).....	4
Slika 5:	Posušena droga zeli materine dušice (listi, steblo, cvetovi). .....	4
Slika 6:	Posušena droga listov navadne melise. ....	5
Slika 7:	Posušena droga listov poprove mete .....	6
Slika 8:	Posušena droga zeli njivske preslice .....	6

Slika 9: Posušena droga cvetov vrtnega ognjiča .....	7
Slika 10: Posušena droga plodov šipka .....	8
Slika 11: Posušena droga listov žajblja .....	9
Slika 12: Valovna števila svetlobe, ki jo absorbirajo določene funkcionalne skupine.....	11
Slika 13: Oblika in intenziteta signalov določenih funkcionalnih skupin. ....	11
Slika 14: ATR IR spektroskopija (prirejeno po) .....	14
Slika 15: ATR IR spektrometer. ....	29
Slika 16: Spektrometer Perkin Elmer FTIR 1600 .....	32
Slika 17: Oprema za izdelavo tabletk .....	34
Slika 18: Ročna stiskalnica Graseby Specas pod visokim tlakom .....	34

## **KAZALO PREGLEDNIC**

Preglednica I: IR območja .....	12
Preglednica II: Vzorci cvetov prave kamilice .....	18
Preglednica III: Vzorci listov koprive .....	19
Preglednica IV: Vzorci cvetov lipe .....	20
Preglednica V: Vzorci zeli materine dušice .....	21
Preglednica VI: Vzorci listov melise.....	22
Preglednica VII: Vzorci listov porove mete .....	22
Preglednica VIII: Vzorci cvetov ognjiča .....	23
Preglednica IX: Vzorci zeli njivske preslice .....	25
Preglednica X: Vzorci plodov navadnega šipka.....	26
Preglednica XI: Vzorci listov žajblja.....	27
Preglednica XII: Čajne mešanice .....	27
Preglednica XIII: Merilne nastavitve ATR IR spektrometra in spektrometra Perkin Elmer FTIR 1600. ....	29
Preglednica XIV: Različne predobdelave spektrov in enačbe za izračun .....	35
Preglednica XV: Procenti pravilno uvrščenih vzorcev posamezne rastlinske droge v ustrezne skupine glede na različno pripravo vzorcev in predobdelavo spektrov za program 1. ....	38

Preglednica XVI: Procenti pravilno uvrščenih vzorcev posamezne rastlinske droge v ustrezne skupine glede na različno pripravo vzorcev in predobdelavo spektrov za program 2. ....	38
Preglednica XVII: Procenti pravilno uvrščenih sušenih praškastih vzorcev (KBr) v ustrezne skupine glede na različno predobdelavo spektrov za program 1 in program 2 po optimizaciji podatkov za KBr tabletko .....	40
Preglednica XVIII: Procenti pravilno uvrščenih vzorcev v skupine in število spremenljivk, ki smo jih ob tem vključili v analizo pri različnih pripravah vzorcev in predobdelavah spektrov za program 1 po optimizaciji podatkov .....	40
Preglednica XIX: Procenti pravilno uvrščenih vzorcev v skupine in število spremenljivk, ki smo jih ob tem vključili v analizo pri različnih pripravah vzorcev in predobdelavah spektrov za program 2 po optimizaciji podatkov .....	41
Preglednica XX: Prikaz uvrstitve neobdelanih vzorcev rastlinskih drog izoliranih iz čajnih mešanic v pravilne skupine.....	46
Preglednica XXI: Prikaz uvrstitve mletih vzorcev rastlinskih drog izoliranih iz čajnih mešanic v pravilne skupine.....	47
Preglednica XXII: Prikaz uvrstitve sušenih praškastih vzorcev rastlinskih drog izoliranih iz čajnih mešanic v pravilne skupine.....	49
Preglednica XXIII: Prikaz uvrstitve vzorcev rastlinskih drog izoliranih iz čajnih mešanic v pravilne skupine za tabletko s KBr. ....	51
Preglednica XXIV: Prikaz uvrstitve povprečnih spektrov treh oziroma štirih meritev neobdelanih in mletih vzorcev rastlinskih drog izoliranih iz čajnih mešanic v pravilne skupine.....	52
Preglednica XXV: Prikaz uvrstitve povprečnih spektrov treh oziroma štirih meritev rastlinskih drog izoliranih iz čajnih mešanic za sušene praškaste vzorce in tabletko s KBr v pravilne skupine.....	53
Preglednica XXVI: Prikaz uvrstitve mletih praškastih vzorcev za osnovni spekter - Os. Sp, prvi odvod spektra - 1.O in normaliziran spekter – N. ....	59
Preglednica XXVII: Prikaz uvrstitve mletih vzorcev za osnovni spekter - Os. Sp, prvi odvod spektra - 1.O in normaliziran spekter – N. ....	61
Preglednica XXVIII: Prikaz uvrstitve neobdelanih vzorcev za osnovni spekter - Os. Sp, prvi odvod spektra - 1.O in normaliziran spekter – N. ....	63
Preglednica XXIX: Prikaz uvrstitve tabletk s KBr vzorcev za osnovni spekter - Os. Sp, prvi odvod spektra - 1.O in normaliziran spekter – N. ....	66



## KAZALO GRAFOV

Graf 1: Odvisnost procenta pravilne uvrstitve od števila spremenljivk, ki so vstopale v metodo .....	42
Graf 2: Povprečni IR spektri desetih različnih vzorcev rastlinskih drog iz družine ustnatic: materina dušica, melisa, meta in žajbelj. ....	42
Graf 3: Povprečna IR spektra desetih različnih vzorcev rastlinskih drog iz družine nebinovk: kamilica in ognjič .....	43
Graf 4: Povprečni IR spekter desetih različnih vzorcev rastlinskih drog iz ostalih družin: kopriva, lipa, njivska preslica, šipek.....	43

## POVZETEK

Infrardeča spektroskopija je že uveljavljena analitska metoda za identifikacijo spojin. Vedno več študij pa dokazuje, da je primerna tudi kot tehnika za nadzor kakovosti rastlinskega materiala v farmacevtski industriji. Pri zdravilih rastlinskega izvora je namreč izrednega pomena ovrednotenje primernosti rastlinskega materiala, ki se uporablja za nadaljnjo proizvodnjo. Z razvojem metode, pri kateri smo uporabili infrardečo spektroskopijo z namenom nadzora kakovosti rastlinskega materiala, smo želeli dokazati, da s to analitsko metodo lahko ločujemo med vzorci različnih rastlinskih drog.

Pri razvoju te metode nas je tako zanimalo, kako bo na uspešnost analize vplivala obdelava vzorcev, predobdelava spektrov ter tehnika snemanja infrardečih spektrov. V ta namen smo v analizo vključili po deset vzorcev desetih različnih enokomponentnih čajev, ter jih obdelali na štiri različne načine. Vzorce smo zmleli, ter s temi praški izvedli prvi set meritev, za drug set pa smo vzorce pred mletjem še dodatno sušili, ter tako ugotavljali vpliv sušenja na uspešnost analize. Tretji set meritev je bil izveden z neobdelanimi vzorci, četrti pa na tabletkah iz KBr, ki so vsebovale sušene praškaste vzorce enokomponentnih čajev. Vzorcem s katerimi smo izdelali tabletko iz KBr smo nadalje posneli infrardeče spektre s transmisijsko tehniko, ostalim trem setom vzorcev pa smo spektre posneli z odbojno ATR tehniko. Spektre smo obdelali z dvema različnima predobdelavama spektrov s prvim odvodom in normalizacijo ter jih statistično ovrednotili s pomočjo analize variance, metode glavnih komponent in diskriminantne analize. Na podlagi navzkrižne validacije smo ugotavljali točnost uvrščanja vzorcev v posamezne vrste rastlinskih drog. Izkazalo se je, da je sušenje ugodno vplivalo na uspešnost analize, saj smo s sušenimi praškastimi vzorci z odbojno ATR tehniko v 98 % pravilno uvrstili vzorce rastlinskih drog, z mletimi nesušeni vzorci pa v 96 %. S celimi vzorci smo z 81 % pravilno uvrščenimi osnovnimi spektri dosegli najslabši rezultat. Pri preučitvi vpliva tehnike snemanja infrardečih spektrov smo ugotovili, da odbojna ATR tehnika daje boljše rezultate kot transmisijska KBr tehnika.

V zadnjem koraku smo točnost metode, opravljene na podlagi stotih vzorcev, preverili s trinajstimi vzorci rastlinskih drog izoliranih iz sedmih čajnih mešanic. S prvim odvodom in normalizacijo spektrov sušenih praškastih vzorcev ter s prvim odvodom transmisijske KBr tehnike smo dosegli 100 % pravilno uvrstitev izoliranih vzorcev v ustrezno skupino.

## **ABSTRACT**

Infrared spectroscopy is a well-established analytical method for identifying chemical compounds. However, an increasing number of studies prove that it is also an appropriate technique for quality control of pharmaceutical plant material. The suitability assessment of plant material for the production is extremely important in the case of herbal medicinal products. Our objective was to prove with the developed method that infrared spectroscopy can be used for the discrimination of samples of different herbal drugs.

We examined the effect of sample preparation, spectra pre-treatment and the infrared spectra scanning on the analysis. Ten samples of ten different one-component teas were included and prepared in four different ways in the analysis. First, the samples were properly homogenized. Then, one set of the samples were additionally dried to establish the impact of drying on the results of the analysis. The third method of sample preparation included the untreated samples while in the fourth method we made the tablets from KBr, containing dried powder samples of one-component teas. The infrared spectra of samples made from KBr were scanned with the transmission technique, while the attenuated total reflectance technique was used for other three sets of samples. The spectra were pre-treated with the first derivative and normalization. They were statistically evaluated with the analysis of variance, principal component analysis and discriminant analysis. Cross-validation was used to determine the accuracy of the samples classification in the individual categories of herbal drugs. It was determined that drying positively affected on the results of the analysis. The samples of dried powders of herbal drugs were correctly classified in 98 % using the ATR technique and the samples of undried herbal powders were correctly classified in 96 % using the ATR technique. 81 % was the lowest percentage of the correct classification obtained by the original spectrum of the untreated samples. The examination of the impact of the infrared spectra scanning technique, showed that ATR provides better results than KBr transmission technique. Finally, the accuracy of the method based on a hundred samples was tested with thirteen samples of herbal drugs isolated from seven tea blends. Using the first derivative and normalization of the spectra of the dried powders of herbal drugs and the first derivative of the KBr transmission technique, we accurately classified the samples in 100 %.

## SEZNAM OKRAJŠAV

OKRAJŠAVA	POMEN
<b>ANOVA</b>	Analiza variance ( <i>ang. analysis of variance</i> )
<b>ATR</b>	Tehnika oslabiljenega popolnega odboja ( <i>ang. attenuated total reflectance</i> )
<b>DA</b>	Diskiriminantna analiza ( <i>ang. diskirinant analysis</i> )
<b>IR spektroskopija</b>	Infrardeča sprektroskopija ( <i>ang. infrared spectroscopy</i> )
<b>PCA</b>	Metoda glavnih komponent ( <i>ang. principal component analysis</i> )

# 1 UVOD

## 1.1 PRAVA KAMILICA (*MATRICARIA RECUTITA*)

**Kraljestvo:** Plantae (rastline)

**Deblo:** Magnoliophyta (kritosemenke)

**Razred:** Magnoliopsida (dvokaličnice)

**Red:** Asterales (košarnice)

**Družina:** Asteraceae (nebinovke)

**Rod:** Matricaria

**Vrsta:** *Matricaria recutita* (1).



**Slika 1:** Posušena droga cvetov prave kamilice.

### 1.1.1 OPIS RASTLINE

Kamilica je enoletna rastlina, ki cveti od maja do avgusta. Ima kratko korenino in 20 do 50 cm visoko razraslo steblo. Na njem so dvojno in trojno pernato deljeni narezani listi. Na končnih delih stebelnih poganjkov je po eno koškasto socvetje, v sredini katerega je štiristo do petsto majhnih rumenih cevastih cvetov ob robu pa je venec jezičastih cvetov. Po oploditvi se iz cvetov razvijejo drobni plodovi (Slika 1) (1,2,3,4,5).

### 1.1.2 UČINKOVINE

Kamilica vsebuje 0,3 do 1,5 % eteričnega olja, ki je zaradi hamazulena temnomodre barve. Vsebuje še (-)- $\alpha$ -bisababol, bisabololokside A, B in C, bisabolonoksid, trans- $\beta$ -farnezen, spatulenol, hamaviolin in apigenin. Droga hamazulena ne vsebuje ampak nastane pri destilaciji z vodno paro iz matricina (3,5).

### 1.1.3 DELOVANJE IN UPORABA

Kamilica je verjetno najbolj znana zdravilna rastlina, ki se uporablja na več različnih načinov. Pitje poparka blaži gastrointestinalne krče in pomaga pri želodčno črevesnih težavah, saj kamilica deluje spazmolitično. Poparek se uporablja tudi za izpiranje in grgranje pri vnetjih in bakterijskih okužbah ustne sluznice in dlesni, zunanje pa se uporablja za izpiranje opečenih in drugače poškodovanih delov kože. Poleg tega je kamilica primerna za zeliščne obkladke in kot dodatek kopeli (1,2,3,4,5).

## 1.2 VELIKA KOPRIVA (*URTICA DIOICA*)

**Kraljestvo:** Plantae (rastline)

**Deblo:** Magnoliophyta (kritosemenke)

**Razred:** Magnoliopsida (dvokaličnice)

**Red:** Rosales (šipkovci)

**Družina:** Urticaceae (koprivovke)

**Rod:** *Urtica* (kopriva)

**Vrsta:** *Urtica dioica* (6).



**Slika 2:** Posušena droga zeli koprive.

### 1.2.1 OPIS RASTLINE

Kopriva je do 150 cm visoka zelnata trajnica, ki cveti v juniju in juliju. Steblo je pokončno, listi so jajčasto suličasti s srčastim dnom in zoženi v konico ter nasprotno nameščeni. Robovi listov so grobo nazobčani. Vsi nadzemni deli so porasli z žgalnimi lasi, ki se končajo s trdo, krhko in votlo konico v kateri je več spojin, ki povzročajo lokalno vnetje. Oprahuje jo veter. Plodovi so koničasto jajčasti enosemnski oreščki (Slika 2) (1,2,3,5,6).

### 1.2.2 UČINKOVINE

Korenina koprive vsebuje 0,1 % lektinov, ki jih imenujemo aglutini koprive, polisaharide (glukane, glukogalakturonane in arabinogalaktan),  $\beta$ -sitosterol, skopoletin, fenilpropanske derivate, ceramide, maščobne kisline ter monoterpenske diole in njihove glikozide. Zel in list vsebujeta derivate kavne in klorogenske kisline, flavonoide in njihove glikozide, antociane, 13-hidroksioktadekatrienojsko kislino, diastereoizomerne 3-hidroksi- $\alpha$ -ionolne glukozide, skopoletin, sitosterol in njegov 3-glukozid, proste aminokisline, klorofil, vodotopne silikate ter do 20 % mineralnih snovi (3,5).

### 1.2.3 DELOVANJE IN UPORABA

Etanolni ali metanolni izvlečki korenine koprive se uporabljajo za zdravljenje in lajšanje simptomov benigne hiperplazije prostate, saj izvleček zavira encima 5- $\alpha$ - reduktazo in aromatazo v prostati. Lektini iz koprive zavirajo rast prostatičnega tkiva, medtem ko vezavo spolnih hormonov v prostati zavirajo lignani. Ima tudi protivnetno delovanje. Vodni izvleček listov in zeli deluje diuretično in posledično zmanjšuje oteklost telesa ter pomaga pri revmatičnih težavah kot sta artritis in artroza (1,2,3,5,6).

### 1.3 NAVADNA LIPA (*TILIA PLATYPHYLLOS*, *TILIA CORDATA*)

**Kraljestvo:** Plantae (rastline)

**Deblo:** Magnoliophyta (krito semenke)

**Razred:** Magnoliopsida (dvokaličnice)

**Družina:** Tiliaceae (lipovke)

**Vrsta:** *Tilia platyphyllos* Scop, *Tilia cordata* Mill. (7).



**Slika 3:** Posušena droga cvetov lipa.

#### 1.3.1 OPIS RASTLINE

Lipa je do 40 m visoko listopadno drevo, ki cveti junija.

Ima nesimetrično srčaste liste, ki so nameščeni premenjalno, le ti na spodnji strani vsebujejo bele šope dlačic med žilami. V socvetju ima dva do pet cvetov. Plod je robato žlebičast in je obdan z debelo steno. Pecelj soplodja je skoraj povsem zaraščen s širokim podpornim listom (Slika 3) (1,2,5).

#### 1.3.2 UČINKOVINE

Lipovo cvetje vsebuje eterično olje z glavno sestavino farnezolom, pa tudi flavonoide, sluzi in čreslovine (1,5).

#### 1.3.3 DELOVANJE IN UPORABA

V zdravstvene namene se uporabljata dve različni vrsti lipovk: navadna lipa in lipovec. Lipov čaj se uporablja za pospešeno potenje pri prehladnih obolenjih saj tako učinkovito znižuje povišano telesno temperaturo, poleg tega pa spodbuja delovanje telesnih obrambnih sistemov. V ljudski medicini se uporablja kot blago pomirjevalno sredstvo, ki blaži krče. Lubje v obliki prahu ali čaja deluje holeretično. Iz lipovega lesa se pripravlja lipovo oglje. Le to je sposobno vezati 50 do 90 kratno količino drugih snovi kot je njegova prostornina. Jemlje se ga z vodo pri akutnih zastrupitvah, pri bruhanju, zaprtju, proti driski ter pri želodčnih in črevesnih težavah, vendar pa je nujna takojšnja odstranitev oglja iz črevesja z blagimi odvajali. Zunanje je oglje učinkovito zdravilo za odprte, gnojne rane. Oglje z vezavo strupov, ki sestavljajo gnoj, omogoči, da se rane normalno zacelijo. Tudi pri tem je pomembno, da oglje po vezavi strupov, to je približno po desetih minutah, odstranimo iz rane s spiranjem (1,2,8).

## 1.4 VRTNA MATERINA DUŠICA (*THYMUS VULGARIS*, *THYMUS SERPYLLUM*)

**Kraljestvo:** Plantae (rastline)

**Deblo:** Magnoliophyta (kritosemenke)

**Razred:** Magnoliopsida (dvokaličnice)

**Red:** Lamiales (ustnatičevci)

**Družina:** Lamiaceae (ustnatice)

**Rod:** Thymus

**Vrsta:** *Thymus vulgaris*, *Thymus serpyllum* (9).



**Slika 5:** Posušena droga zeli materine dušice (listi, steblo, cvetovi).



**Slika 4:** Posušena droga zeli materine dušice (samo listi).

### 1.4.1 OPIS RASTLINE

Vrtna materina dušica je zimzelen pritlikav grm, ki lahko zraste do 50 cm visoko. Cveti v juniju in juliju. Pokončni štiroboji poganjki so rahlo dlakavi. Sivozeleni listi so ob robu zavihani, majhni, ozki in dlakavi. Majhni cvetovi, rožnate ali vijoličaste barve so pecljati in nakopičeni v zalistju. Vsa rastlina je aromatična in nekoliko ostrejšega grenkega okusa (Sliki 5, 6) (1,2,3,5).

### 1.4.2 UČINKOVINE

Zel vrtna materine dušice vsebuje 0,3 do 2,5 % eteričnega olja v katerem sta glavni sestavini fenola timol in karvakrol, vsebuje pa še borneol, geraniol, p-cimen, linalool,  $\alpha$ -pinen, bornilacetat in menten. Vsebuje še čreslovine, grenčine, saponine, smole, pentozan, vitamin B<sub>1</sub> ter kavno, klorogensko, oleanolno in ursolno kislino (3,5).



### **1.4.3 DELOVANJE IN UPORABA**

Vrtna materina dušica se uporablja pri produktivnem kašlju, saj deluje kot ekspektorans in bronhospazmolitik. V dihalnih poteh redči sluz in pospeši izkašljevanje. Uporablja se pri vnetih glasilkah in grlu, vnetju ustne sluznice in slabem ustnem zadahu. Blago pomirja in deluje diuretično. Izboljša prebavo in prepreči nastajanje vetrov. Timol, ki se izloča skozi dihala deluje antiseptično, saj zavira rast številnih bakterij in virusov. Zunanje pomaga pri različnih kožnih boleznih (mozolji, vnetja) (1,2,3,5).

## **1.5 NAVADNA MELISA (*MELISSA OFFICINALIS*)**

**Kraljestvo:** Plantae (rastline)

**Deblo:** Magnoliophyta (kritosemenke)

**Razred:** Magnoliopsida (dvokaličnice)

**Red:** Lamiales (ustnatičevci)

**Družina:** Lamiaceae (ustnatice)

**Rod:** Melissa (melisa)

**Vrsta:** *Melissa officinalis* (10).



**Slika 6:** Posušena droga listov navadne melise.

### **1.5.1 OPIS RASTLINE**

Navadna melisa je trajnica, ki zraste do 70 cm visoko. Na razvejanem štirobem stebelu so jajčasti, nasprotno razporejeni listi. Cvetovi so belorumeni, razporejeni v navideznih vretencih v zalistjih zgornjih listov (Slika 6) (1,2,3,5).

### **1.5.2 UČINKOVINE**

List melise vsebuje najmanj 0,05 % eteričnega olja, ki ima vonj po limoni. Eterično olje vsebuje (+)-citronelal, geranial in neral. Droga vsebuje tudi 4 do 5 % čreslovin, triterpenske kisline, fenilkarboksilne kisline in njihove glikozide, flavone in flavonole (3,5).

### **1.5.3 DELOVANJE IN UPORABA**

Melisa deluje blago pomirjevalno, uporablja se za lajšanje motenj spanja, ki so posledica nemira in nervoze. Blaži črevesne krče, lajša blage prebavne motnje, odganja vetrove, izboljšuje tek, deluje ugodno pri migreni. Zunanje deluje ugodno tudi proti virusom herpesa (1,2,3,5).

## 1.6 POPROVA META (*MENTHA X PIPERITA*)

**Kraljestvo:** Plantae (rastline)

**Deblo:** Magnoliophyta (krito semenke)

**Razred:** Magnoliopsida (dvokaličnice)

**Red:** Lamiales (ustnatičevci)

**Družina:** Lamiaceae (ustnatice)

**Rod:** Mentha (meta)

**Vrsta:** *Mentha x piperita* (11).



**Slika 7:** Posušena droga listov poprove mete.

### 1.6.1 OPIS RASTLINE

Poprova meta je zelnata trajnica, ki zraste do 70 cm visoko. Steblo ima golo, pokončno, razvejano, liste pa pecljate, nasprotno nameščene z nazobčanim robom in na vrhu koničaste. Cvetovi so v dolgem klasastem socvetju na stranskih poganjkih, če jih zmečkamo zelo aromatično dišijo (Slika 7) (1,2,3,5).

### 1.6.2 UČINKOVINE

Meta vsebuje 0,5 do 4 % eteričnega olja, katerega glavne spojine so (-)-mentol, (-)-mentilacetat, (-)-menton, (+) - mentofuran, 1,8-cineol in limonen. Vsebuje tudi 3,5 do 4,5 % grenčin, predvsem rožmarinsko kislino, ter nekaj flavonoidov in triterpenov (3,5).

### 1.6.3 DELOVANJE IN UPORABA

Poparek pomaga pri sproščanju krčev, blaži napenjanje v trebuhu ter spodbuja telesno presnovo pri neješčnosti in prebavnih težavah. Deluje tudi kot holeretik. Eterično olje se uporablja kot korigens okusa ter zunanje kot dodatek kopelim, za inhalacije, celjenje ranic in proti glavobolom (1,2,3,5).

## 1.7 NJIVSKA PRESLICA (*EQUISETUM ARVENSE*)

**Kraljestvo:** Plantae (rastline)

**Deblo:** Pteridophyta (praprotnice)

**Razred:** Equisetopsida (presličnice)

**Red:** Equisetales (presličevci)

**Družina:** Equisetaceae (presličevke)

**Rod:** Equisetum (preslica)



**Slika 8:** Posušena droga zeli njivske preslice.

**Vrsta:** *Equisetum arvense* (12).

### **1.7.1 OPIS RASTLINE**

Njivska preslica je zelnata trajnica, ki zraste do 50 cm visoko. Sestavljajo jo zeleni sterilni in svetlo rjavi fertilni poganjki, ki nosijo spore. Slednji poganjki rastejo le spomladi, saj odmrejo, ko spore dozori. Stebelni členki so brazdati. Kot zel se uporabljajo posušeni sterilni poganjki (Slika 8) (1,2,3,5).

### **1.7.2 UČINKOVINE**

Njivska preslica vsebuje približno 10 % mineralnih snovi, 50 do 60 % kremenčeve kisline oziroma silikatov, od tega je 5 do 6 % vodotopnih. V drogi je veliko aluminijevega in kalijevega klorida ter mangana. Vsebuje tudi različne flavonske glikozide, onitin, polienske in dikarboksilne kisline,  $\beta$ -sitosterol ter vitamin C (3,5).

### **1.7.3 DELOVANJE IN UPORABA**

Čaj njivske preslice se uporablja kot diuretik pri boleznih ledvic in mehurja. Zunanje se uporablja kot adstringent za ustavljanje krvavenja in pospeševanje celjenja ran. V ljudski medicini so preslico uporabljali za zdravljenje tuberkuloze (1,2,3,5).

## **1.8 VRTNI OGNJIČ (*CALENDULA OFFICINALIS*)**

**Kraljestvo:** Plantae (rastline)

**Deblo:** Magnoliophyta (kritosemenke)

**Razred:** Magnoliopsida (dvokaličnice)

**Red:** Asterales (košarnice)

**Družina:** Asteraceae (nebinovke)

**Rod:** *Calendula* (ognjič)

**Vrsta:** *Calendula officinalis* (13).



**Slika 9:** Posušena droga cvetov vrtnega ognjiča.

### **1.8.1 OPIS RASTLINE**

Vrtni ognjič je enoletna rastlina, ki zraste do 50 cm visoko. Steblo je pokončno, razvejano, dlakavo in oglati na njem so nameščeni sedeči, 5 do 12 cm dolgi, podolgovati in dlakavi listi. Na koncu vsake veje je 3 do 8 cm veliko koškasto socvetje, ki ga obdajata dve vrsti na vrhu zaostrenih ovršnih listov z dlačicami. Koškasto socvetje tvorijo jezičasti cvetovi na

obrobju in cevasti cvetovi v sredini. Le ti so navadno bolj temne oranžnorumene barve kot jezičasti cvetovi (Slika 9) (1,2,3,5).

### **1.8.2 UČINKOVINE**

Cvetovi ali socvetja vsebujejo flavonoide, karotene in ksantofil. Droga vsebuje 2 do 3 mL/kg eteričnega olja z oksigeniranimi seskviterpenskimi derivati (kardinoli) in polisaharidi. Veliko je triterpenskih spojin, med katere spadajo  $\alpha$  in  $\beta$ -amirin, arnidiol, faradiol, ursadiol, kalenduladiol in heliantrioli. Vsebuje tudi različne saponine, kot so saponozidi (kalendulozidi) A do D, D<sub>2</sub> in F (3,5).

### **1.8.3 DELOVANJE IN UPORABA**

Zdravilni vrtni ognjič blago miri krče prebavil in vnetje ustne sluznice in sluznice žrela. Topikalno se uporabljajo infuzi, tinkture in tekoči izvlečki ognjiča v obliki mazil ali omočenih oblog za zdravljenje prask, ran, kožnih razjed, vreznin, zmečkanin, podplutb, opeklin in pikov žuželk, saj deluje lokalno protivnetno. Zmanjša verjetnost nastanka akutnega ali kontaktnega dermatitisa (1,2,3,5).

## **1.9 NAVADNI ŠIPEK (*ROSA CANINA*)**

**Kraljestvo:** Plantae (rastline)

**Deblo:** Magnoliophyta (kritosemenke)

**Razred:** Magnoliopsida (dvokaličnice)

**Red:** Rosales (šipkovci)

**Družina:** Rosaceae (rožnice)

**Rod:** Rosa (šipek)

**Vrsta:** *Rosa canina* (14).



**Slika 10:** Posušena droga plodov šipka.

### **1.9.1 OPIS RASTLINE**

Navadni šipek je listopadni grm, ki zraste do treh metrov visoko. Veje ima lokasto povešene, porasle s trdimi bodicami. Listi so liho pernato deljeni, lističi z nazobčanim robom so jajčasti. Cvetov je v latastih socvetjih lahko po več skupaj ali pa cveti posamično. Plodovi (šipki) so podolgovati, moknato mehki in so pravzaprav birni plodovi (Slika 10) (1,2,5).

### **1.9.2 UČINKOVINE**

Najpomembnejša sestavina plodov šipka je vitamin C, z vsebnostjo tudi do 1,7 % v svežem plodu. Le ti vsebujejo tudi pektine, čreslovine, sladkor, rastlinske kisline in provitamin A, zelo malo flavonoidov in antocianov ter jantarjevo, fosforno, jabolčno in citronsko kislino (2,5).

### **1.9.3 DELOVANJE IN UPORABA**

Šipkov čaj zaradi vitamina C, ki ga vsebuje, pomaga pri prehladnih obolenjih, prepreči in zdravi gripo ter druge bolezni z vročico, saj poveča odpornost organizma. Čaj pomaga tudi pri krvavečih dlesnih, koristi slabokrvnim nosečnicam in doječim materam ter odpravlja utrujenost ter splošno oslabeledost. Plodovi delujejo blago diuretično, a je diuretični učinek sporen, imeli naj bi ga tudi plodiči oziroma poparek zdrobljene oreškove droge. Ker se ne ve, kaj naj bi v rastlinski drogi diuretično učinkovalo, se za to indikacijo čaj ne uporablja (1,2,5).

## **1.10 ŽAJBELJ (*SALVIA OFFICINALIS*)**

**Kraljestvo:** Plantae (rastline)

**Deblo:** Magnoliophyta (kritosemenke)

**Razred:** Magnoliopsida (dvokaličnice)

**Red:** Lamiales (ustnatičevci)

**Družina:** Lamiaceae (ustnatice)

**Rod:** *Salvia* (kadulja)

**Vrsta:** *Salvia officinalis* (15).



**Slika 11:** Posušena droga listov žajblja.

### **1.10.1 OPIS RASTLINE**

Žajbelj je polgram, ki zraste od 30 do 80 cm visoko. Listi so debeli, hrapavi, podolgovato jajčasti in na robu drobno nazobčani. Steblo je robato, pokončno in kvišku rastoče. Cvetovi imajo svetlo vijoličast venec, cvetna čaša je rjavkasto rdeče barve (Slika 11) (1,2,3,5).

### **1.10.2 UČINKOVINE**

Listi vsebujejo 1 do 2,5 % eteričnega olja, ki ima visoko vsebnost tujona. Vsebuje še druge monoterpene, sekviterpene, tanine in rožmarinsko kislino. Med grenčinami prevladujejo diterpenoidi kot so karnozol, karnozolna kislina in rožmanol (3,5).

### ***1.10.3 DELOVANJE IN UPORABA***

Zunanje deluje protivnetno in blago fungicidno in sicer zaradi eteričnega olja, ki ga vsebuje. Uporablja se v ustih za grgranje ali izpiranje ust. Žajbljev čaj povzroči zmanjšano nastajanje slin in zmanjšano delovanje žlez znojnic. Lajša tudi prebavne motnje (vetrove, drisko, vnetje črevesne in želodčne sluznice). Žajbelj je odlična začimba zlasti za mastno hrano, ker pospeši prebavo in izločanje žolča (1,2,3,5).

## **1.11 IR SPEKTROSKOPIJA**

Infrardeča spektroskopija (IR) velja za eno izmed pomembnejših farmakopejskih analitskih metod saj je hitra, cenovno ugodna in enostavna za uporabo. Zanj velja, da za pripravo vzorcev ne potrebuje uporabe organskih topil. V kemiji je uporabna predvsem za kvalitativno analitiko medtem, ko je v kvantitativne namene manj uporabna zaradi relativno nizke občutljivosti. Najpogosteje se uporablja za identifikacijo spojin oziroma funkcionalnih skupin in s tem tudi za spremljanje poteka kemijske reakcije. Metoda velja za visoko selektivno, ker omogoča razlikovanje med izomeri, polimorfnimi modifikacijami, različnimi vrstami povezav med makromolekulami in različnimi sekundarnimi strukturami. Prednost te metode je, da omogoča analizo trdnih, tekočih in plinastih vzorcev. Vse več raziskav pa potrjuje tudi njeno uporabnost v kontroli kakovosti rastlinskega materiala (16,17,18,19,20,21).

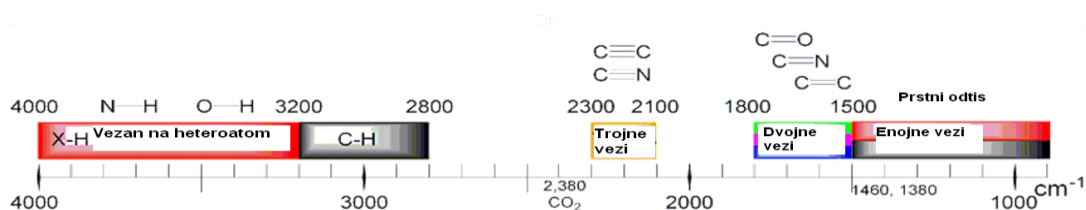
### ***1.11.1 OSNOVE IR SPEKTROSKOPIJE***

IR spektroskopija temelji na merjenju absorpcije elektromagnetnega valovanja ob prehodu molekul v višja rotacijska in vibracijska energetska stanja, saj absorpcija povzroči vzbujanje molekulskih nihanj. Verjetnosti in energije prehodov so zaradi različnih kemijskih struktur molekul in njihove medsebojne orientiranosti zelo različne. Iz tega sledi, da ima vsaka molekula drugačen spekter, prav tako pa imajo različne kristalne strukture iste spojine različne spektre. IR spektroskopija je torej uporabna tudi za identifikacijo različnih kristalnih struktur iste spojine (17).

Molekula absorbira IR svetlobo tedaj, ko se pri nihanju ali rotaciji spremeni njen dipolni moment. Le tako lahko elektromagnetno valovanje vstopi v interakcijo z molekulo in povzroči spremembe v amplitudi njenega gibanja. Dvoatomske molekule z enakimi atomi ( $H_2$ ,  $O_2$ ,  $Cl_2$ ) so simetrične zato do sprememb dipolnega momenta ne prihaja. Pri asimetričnih molekulah prihaja pri nihanju atomov do spreminjanja dipolnega momenta,

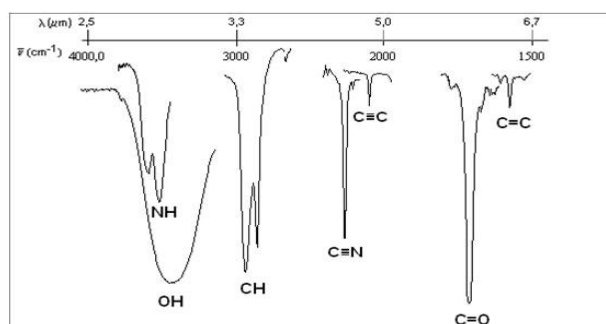
kar povzroči nastanek električnega polja, ki lahko vstopi v interakcijo z električnim poljem IR sevanja (22).

Ko obsevamo molekulo s svetlobo se absorbira le tista frekvenca, ki ustreza frekvenci vibracij. Ker vsaka frekvenca, ki jo molekula absorbira, ustreza specifičnemu nihanju dela molekule, lahko z interpretacijo IR spektra ugotovimo, katere funkcionalne skupine so prisotne. Običajno ne interpretiramo celotnega spektra, ampak le območje med 1600 in 4000  $\text{cm}^{-1}$ , v katerem imajo posamezne funkcionalne skupine karakteristične absorpcije (Slika 12). Pod 1600  $\text{cm}^{-1}$  imamo tako imenovano območje prstnega odtisa (ang. *finger print*), ki nam tako kot prstni odtis omogoča nedvoumno identifikacijo spojine (23).



**Slika 12:** Valovna števila svetlobe, ki jo absorbirajo določene funkcionalne skupine.

Prisotnost določenih funkcionalnih skupin ne določamo samo iz položaja traku, ampak tudi iz oblike in intenzitete signalov (Slika 13) (23).



**Slika 13:** Oblika in intenziteta signalov določenih funkcionalnih skupin.

## OBMOČJE IR SPEKTROSKOPIJE

Spekter elektromagnetnega valovanja razdelimo na področje gama žarkov, rentgenskih žarkov, ultravijoličnih žarkov, vidne svetlobe, infrardečih žarkov, mikrovalov in radijskih valov. Infrardeče območje elektromagnetnega spektra se prične pri vrednosti valovnega števila 12800  $\text{cm}^{-1}$  in sega do vrednosti 10  $\text{cm}^{-1}$  v primeru, da ga izrazimo s pomočjo valovnih dolžin pa se prične pri 700 nm in sega do 1 mm. Znotraj elektromagnetnega

spektra delimo IR območje na bližnje (near), srednje (mid) in daljno (far) IR območje (Preglednica I).

**Preglednica I:** IR območja

	Valovna dolžina ( $\mu\text{m}$ )	Valovno število ( $\text{cm}^{-1}$ )	Frekvenca ( $\text{s}^{-1}$ )
<b>Bližnje</b>	0,78 - 2,5	12800 – 4000	$3,8 \times 10^{14}$ - $1,2 \times 10^{14}$
<b>Srednje</b>	2,5 – 50	4000 – 200	$1,2 \times 10^{14}$ - $6,0 \times 10^{12}$
<b>Daljno</b>	50 – 1000	200 – 10	$6,0 \times 10^{12}$ - $3,0 \times 10^{11}$

Srednje IR območje z valovnimi števili med  $4000$  in  $670 \text{ cm}^{-1}$  se v analitiki organskih spojin največ uporablja. Z valovno dolžino absorbirane svetlobe izrazimo položaj absorpcijskega traku v IR spektru. Pogosteje kot valovna dolžina se v IR spektroskopiji uporablja valovno število  $\tilde{\nu}$  [ $\text{cm}^{-1}$ ], ki je definirano kot recipročna vrednost valovne dolžine. Izračun valovnega števila podaja enačba [1].

$$\tilde{\nu} = \frac{1}{\lambda} = \frac{nv}{c} = \frac{nE}{ch} \quad [1]$$

Kjer je  $\tilde{\nu}$  valovno število,  $\lambda$  valovna dolžina,  $v$  frekvenca absorbirane svetlobe,  $E$  energija,  $n$  lomni količnik zraka,  $c$  hitrost svetlobe v vakuumu in  $h$  Planckova konstanta. Iz enačbe je razvidno, da je valovno število sorazmerno s frekvenco absorbiranega sevanja in s tem tudi z energijo (21).

### 1.11.2 SPEKTROSKOPSKE TEHNIKE

Tehnike snemanja IR spektrov delimo na odbojne, pri katerih se svetloba od vzorca odbije in na transmissijske, pri katerih IR sevanje potuje skozi vzorec. Pri snemanju moramo paziti na to, da vstavimo vzorec v spektrometer tako, da žarek pade v celoti nanj (22).

#### **Transmissijska tehnika**

Transmissijska tehnika velja za najstarejšo in najenostavnejšo IR spektroskopsko tehniko. Ob prehodu žarka skozi vzorec, ki ga testiramo, pride do absorpcije IR sevanja pri specifičnih valovnih dolžinah. Rezultat merjenja je transmissijski spekter, ki podaja odvisnost transmitance od valovnega števila. Omenjeni spekter lahko pretvorimo v absorpcijski, kjer je podana odvisnost absorbance od valovnega števila. Transmitanca



(prepustnost) je definirana kot razmerje med intenziteto prepuščene ( $I$ ) in vpadne svetlobe ( $I_0$ ) (enačba [2]). Absorbanco ( $A$ ) in transmitanco ( $T$ ) pa povezuje enačba [3]:

$$T = \frac{I}{I_0}, \quad [2]$$

$$A = -\log_{10} T = \log_{10} \frac{1}{T} = \log_{10} \frac{I_0}{I} \quad [3]$$

S pomočjo te tehnike lahko analiziramo vzorce v vseh treh agregatnih stanjih (23).

### **Odbojne tehnike**

Odbojne tehnike IR spektroskopije delimo na tri skupine:

- tehnike, ki temeljijo na merjenju interne refleksije (ATR-IR),
- tehnike, ki temeljijo na merjenju eksterne refleksije,
- tehnike, ki temeljijo na merjenju difuzne refleksije.

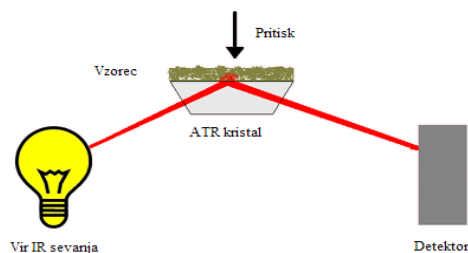
Difuzna refleksija se uporablja v bližnjem in srednjem območju, medtem ko se prvi dve tehniki uporabljata večinoma le v srednjem IR območju (23).

### **ATR IR spektroskopija**

Tehnika oslabiljenega popolnega odboja (*ang. attenuated total reflection*) temelji na pojavu popolnega odboja. Pri prehodu valovanja iz medija z večjo optično gostoto (kristal - diamant) v medij z manjšo optično gostoto (vzorec) lahko pride do popolnega odboja (refleksije) valovanja. Do popolnega odboja lahko pride, kadar je vpadni kot valovanja večji od kritičnega kota. Slednji kot ( $\alpha_c$ ) je definiran kot funkcija lomnih količnikov dveh različnih medijev.

$$\alpha_c = \arcsin(n_1/n_2), \quad [4]$$

Osnova tehnike je v tem, da kljub popolnemu odboju na meji dveh medijev (vzorca in kristala - diamanta) valovanje v manjši meri prehaja pod površino redkejšega medija do globine nekaj mikrometrov (vzorca). Tam posledično pride do absorpcije, saj pride do interakcije z organskimi molekulami, kar povzroči oslabitev odbitega valovanja. Izjemno pomembno je, da sta vzorec in kristal v zelo tesnem stiku. Kot rezultat izmerimo razmerje jakosti vpadnega in odbitega valovanja v odvisnosti od valovne dolžine. Metoda je primerna za analizo številnih snovi. Prednosti sta enostavna priprava vzorca in čiščenje merilnega instrumenta. Za samo analizo so potrebne majhne količine vzorca (23, 24).



**Slika 14:** ATR IR spektroskopija (prirejeno po)

## 1.12 STATISTIČNE METODE

### 1.12.1 ANALIZA VARIANCE (ANOVA)

Analiza variance (ANOVA) je statistična metoda, ki temelji na dejstvu, da lahko celotno varianco vseh enot iz vseh vzorcev, razcepimo na posamezne komponente, na varianco enot znotraj posamezne skupine in na varianco med temi skupinami. Na ta način preverimo ali obstajajo razlike med skupinami. Najprej za vsako valovno število izračunamo statistični parameter F-vrednost, ki podaja razmerje med pojasnjeno varianco v števcu in nepojasnjeno varianco v imenovalcu oziroma razmerje med variabilnostjo med skupinami v števcu in variabilnostjo znotraj skupine v imenovalcu. Višja kot je F-vrednost spremenljivke, bolje ta ločuje med skupinami, oziroma nižja kot je F-vrednost spremenljivke, slabše ta ločuje med skupinami (25, 26).

### 1.12.2 METODA GLAVNIH KOMPONENT (PCA)

Metodo glavnih komponent (*ang. principal component analysis*) uvrščamo med eno izmed najpogosteje uporabljenih multivariantnih metod. Statistična metoda temelji na opisu razpršenosti  $n$  enot v  $m$  razsežnem prostoru, ki je določen z  $m$  merjenimi spremenljivkami. Metoda analizira medsebojno soodvisnost spremenljivk s ciljem, da se število spremenljivk zmanjša. Gre za to, da osnovni nabor spremenljivk preslikamo v množico novih spremenljivk, ki jih poimenujemo glavne komponente, le te pa morajo pojasniti čim večji del razpršenosti analiziranih podatkov. Nove spremenljivke, komponente, so urejene od najpomembnejše (to je tiste, ki pojasnjuje kar največ razpršenosti osnovnih podatkov) do najmanj pomembne (tiste, ki pojasnjuje najmanjši del razpršenosti osnovnih podatkov). Glavnih komponent, ki so med sabo neodvisne, je toliko kolikor je osnovnih spremenljivk. Prva glavna komponenta je določena tako, da pojasni čim večji del celotne variance osnovnih spremenljivk. Druga glavna komponenta je določena tako, da je neodvisna od prve in pojasni velik del še nepojasnjene variance. Tretja glavna komponenta je določena

tako, da je neodvisna od prve in druge in pojasni velik del še nepojasnjene variance, itd. Metoda zmanjša razsežnost podatkov, pri tem pa skuša obdržati čim več informacij (27, 28).

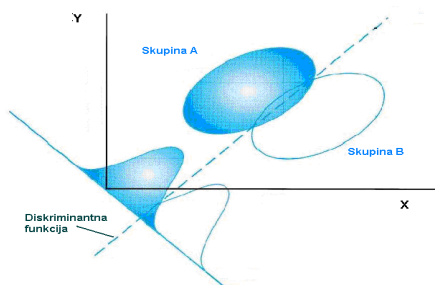
### 1.12.3 DISKRIMINANTNA ANALIZA (DA)

Diskriminantna analiza (*ang. discriminant analysis*) je statistična metoda, kjer s pomočjo linearne kombinacije merjenih spremenljivk poskušamo čim bolj razlikovati med vnaprej določenimi skupinami. Na ta način dosežemo najmanjšo napako pri uvrščanju v skupine. DA torej omogoča napovedovanje, saj je eden izmed ciljev metode tudi ta, da nove enote čim bolj prireja vnaprej danim skupinam (29).

Metoda poišče diskriminantno funkcijo ( $f$ ), ki je linearna kombinacija spremenljivk ( $s_n$ ), katere omogočajo najboljše razlikovanje med skupinami, kar je zapisano z enačbo [5], (slika 15).

$$f = k_1 \times s_1 + k_2 \times s_2 + \dots + k_n \times s_n, \quad [5]$$

kjer so  $k_1, k_2, \dots, k_n$  koeficienti funkcije in  $s_1, s_2, \dots, s_n$  spremenljivke.



**Slika 15:** S posameznima spremenljivkama X in Y ne moremo medsebojno ločiti skupin z zadovoljivo natančnostjo, z njuno linearno kombinacijo (diskriminantno funkcijo) pa lahko.

Pri uvrščanju osebkov v več skupin je diskriminantnih funkcij več, kjer vsaka naslednja funkcija k razvrščanju prispeva manj od prejšnje. Koeficienti funkcije se izračunajo tako, da so si vrednosti diskriminantnih funkcij za primere iz iste skupine čim bolj podobne, nasprotno morajo biti vrednosti za primere, ki pripadajo različnim skupinam čim bolj različne.

Pri DA lahko za izračun diskriminantne funkcije uporabimo vse spremenljivke, ali pa uporabimo metodo, ki izbere le tiste spremenljivke, ki k razlikovanju med skupinami prispevajo največ. Funkcije se izračunajo na podlagi učnega seta meritev, za katere je že

znano v katero skupino spadajo. S funkcijami izračunanimi na tak način nato v skupine uvrščamo nove osebkke. Izračunani model navadno bolj ustreza vzorcu iz katerega smo ga izpeljali, kot pa drugim vzorcem iz iste populacije. Točnost lahko ocenimo na več načinov:

- navzkrižna validacija z izpuščanjem posameznih objektov (*ang. leave one out*), kjer vsak vzorec posebej izvzamemo iz populacije vzorcev, da izračunamo diskriminantno funkcijo. Tako dobljeno funkcijo uporabimo za uvrstitev izveztega vzorca. Procent pravilno uvrščenih vzorcev je pokazatelj zanesljivosti metode.
- v primeru dovolj velike populacije vzorcev, le to lahko razdelimo na dva dela. En del uporabimo za izračun koeficientov funkcije, z uvrščanjem vzorcev iz drugega dela pa lahko ocenimo točnost uvrščanja (29, 30).

## 2 NAČRT ZA DELO ALI DELOVNA HIPOTEZA

Namen magistrske naloge je razvoj metode za identifikacijo rastlinskih drog z IR spektroskopijo. Želimo namreč dokazati, da lahko s pomočjo IR spektroskopije uspešno razločujemo med različnimi enokomponentnimi čaji.

Naš načrt bo obsegal nabavo naslednjih desetih enokomponentnih čajev: cvet kamilice, list koprive, cvet lipe, zel materine dušice, list melise ter mete, cvet ognjiča, zel njivske preslice, plod šipka in list žajblja, znotraj vsake vrste rastlinske droge bo deset različnih vzorcev, torej bo končna množica sestavljena iz stotih različnih vzorcev. Nato bo sledila obdelava vzorcev, kjer bomo vzorce obdelali na naslednje štiri načine. Rastlinske droge bomo s pomočjo mlinčka ustrezno homogenizirali, tako bomo dobili prvo skupino vzorcev, drugo skupino vzorcev bomo najprej posušili v eksikatorju in jih nato s pomočjo mlinčka ustrezno homogenizirali. Tretji način obravnave vzorcev bo obsegal neobdelane vzorce, četrti način pa pripravljene tabletko iz KBr katere bodo poleg pomožne snovi KBr vsebovale točno določen del sušenih praškastih vzorcev enokomponentnih čajev. Slednjim vzorcem bomo posneli spektre s transmisijsko KBr tehniko, medtem ko bomo ostalim trem setom vzorcev posneli spektre z odbojno ATR tehniko. Nadalje bomo spektre obdelali z dvema različnima predobdelavama spektrov s prvim odvodom in normalizacijo. Spektre bomo statistično ovrednotili s pomočjo DA, s katero bomo preverili, s kakšno zanesljivostjo lahko vzorce na podlagi podobnosti spektrov uvrščamo v vrste rastlinskih drog. Ker DA sprejme le določeno število spremenljivk, bomo na različne načine zmanjšali število spremenljivk. Pri tem bomo uporabili metodi analizo variance in metodo PCA. S pomočjo navzkrižne validacije bomo ugotavljali točnost uvrščanja vzorcev posamezne vrste rastlinske droge v pravilne skupine. Zanimalo nas bo pri katerem načinu priprave vzorcev, tehniki snemanja IR spektrov oziroma predobdelavi spektrov, bomo dobili največji procent pravilne uvrstitve vzorcev posamezne vrste rastlinske droge v skupine.

V zadnjem koraku bomo točnost metode izdelane na podlagi stotih vzorcev preverili s pomočjo trinajstih vzorcev rastlinskih drog izoliranih iz sedmih čajnih mešanic. Zelene vzorce rastlinskih drog bomo najprej izolirali iz čajnih mešanic, jih obdelali po enakem postopku kot pri razvoju metode, ter ugotavljali kateri rastlinski drogi pripada vzorec izoliran iz čajne mešanice. S tem bomo ugotavljali, ali s to metodo dovolj uspešno razlikujemo med posameznimi vrstami rastlinskih drog ali ne.

## 3 MATERIALI IN METODE

### 3.1 VZORCI

#### 3.1.1 CVET PRAVE KAMILICE (*Chamomillae flos*)

Za analizo smo uporabili deset različnih vzorcev cvetov prave kamilice, kupili smo jih pri dobaviteljnih predstavljenih v preglednici II. Vsi vzorci so vsebovali cele cvetove rastline, le vzorec KamilicaHE je vseboval mlete cvetove rastline.

**Preglednica II:** Vzorci cvetov prave kamilice

Ime vzorca	Dobavitelj	Opis vzorca	Serijska številka	Rok uporabnosti
<b>KamilicaCE</b>	Celjske lekarne, Galenski laboratorij, Vodnikova 1, 3000 Celje	Cel cvet	5370512	08/2013
<b>KamilicaD</b>	Dolenjske lekarne Novo mesto, Kandijska cesta 1, 8000 Novo mesto	Cel cvet	02910312	03/2013
<b>KamilicaF</b>	Flora d.o.o., Trg 1, 3252 Rogatec; Pridelano: Hrvaška	Cel cvet	P11309404-6	01/2014
<b>KamilicaGA</b>	Galex, proizvodnja in promet s farmacevtskimi in drugimi proizvodi, d.d., Tršinska ulica 29g, 9000 Murska Sobota	Cel cvet	04270512	01/2014
<b>KamilicaHE</b>	Herba Medica d.o.o., Preserska cesta 5, Zg. Jarše, 1235 Radomlje	Filter vrečka, zdrobljeni vzorec	L:1208212	09/2014
<b>KamilicaH</b>	Hiša začimb, Kotnikova 5, 1000 Ljubljana; Poreklo: Egipt	Cel cvet	/	30.12.2013
<b>KamilicaO</b>	Minoritski samostan, Olimje 82, 3254 Podčetrtek	Cel cvet	/	/
<b>KamilicaP</b>	Papaja d.o.o., Grabersko 12, 1420 Trbovlje	Cel cvet	L5593	01.01.2014
<b>KamilicaS</b>	Sonnentor GMBH, A 3910 Sprognitz; Poreklo: Madžarska	Cel cvet	/	15.05.2014
<b>KamilicaZ</b>	Žito d.d, Šmartinska cesta 154, 1529 Ljubljana	Cel cvet	/	09.01.2014

#### 3.1.2 LIST KOPRIVE (*Urticae folium*)

Za analizo smo uporabili deset različnih vzorcev listov koprive, kupili smo jih pri dobaviteljnih predstavljenih v preglednici III. Vsi vzorci rastlinske droge so vsebovali liste in stebila rastline, razlika med njimi je bila le v velikosti delcev droge. Vzorca KoprivaGA

in KoprivaP sta bila bolj drobno mleta, vzorec KoprivaMA pa smo pridobili iz filter vrečke. Vzorec KoprivaO je vseboval v večjem obsegu le liste droge, medtem ko je vzorec KoprivaT vseboval skoraj celo posušeno rastlino.

**Preglednica III:** Vzorci listov koprive

Ime vzorca	Dobavitelj	Opis vzorca	Serijska številka	Rok uporabnosti
<b>KoprivaCE</b>	Celjske lekarne, Galenski laboratorij, Vodnikova 1, 3000 Celje	List in steblo	3500412	02/2015
<b>KoprivaD</b>	Dolenjske lekarne Novo mesto, Kandijska cesta 1, 8000 Novo mesto	List in steblo	03020312	03/2013
<b>KoprivaF</b>	Flora d.o.o., Trg 1, 3252 Rogatec; Pridelano: Hrvaška	List in steblo	P12301680-6	04/2014
<b>KoprivaGA</b>	Galex, proizvodnja in promet s farmacevtskimi in drugimi proizvodi, d.d., Tršinska ulica 29g, 9000 Murska Sobota	List in steblo, bolj drobno mleto	L:05670712	01/2014
<b>KoprivaH</b>	Hiša začimb, Kotnikova 5, 1000 Ljubljana; Poreklo: BiH	List in steblo	/	30.12.2013
<b>KoprivaMA</b>	MATIK d.o.o., Smrekarjeva 3, 1000 Ljubljana	Filter vrečka	104172	03.08.2014
<b>KoprivaM</b>	Merkator IP, d.o.o., Dunajska cesta 110, 1000 Ljubljana, PE: Dvorec Trebnik	List in steblo	/	26.08.2013
<b>KoprivaO</b>	Minoritski samostan, Olimje 82, 3254 Podčetrtek	List in steblo, vendar listi prevladujejo	/	/
<b>KoprivaP</b>	Papaja d.o.o., Grabersko 12, 1420 Trbovlje	List in steblo, bolj drobno mlet vzorec	L5635	01.01.2014
<b>KoprivaT</b>	Čaji dobre misli, Blatna brezovica 42, 1360 Vrhnika	List in steblo, skoraj cela suha rastlina	/	/

### 3.1.3 CVET LIPE (*Tiliae flos*)

Za analizo smo uporabili deset različnih vzorcev cvetov lipe, kupili smo jih pri dobaviteljih predstavljenih v preglednici IV. Vsi vzorci rastlinske droge so vsebovali socvetje z ovršnim listom rastline, razlika med njimi je bila le v velikosti delcev droge. Vzorci LipaM, LipaP in LipaT so vsebovali večje delce socvetja droge, vzorca LipaW in LipaZ pa sta vsebovala mleto socvetje rastline, saj smo vsebino vzorcev pridobili iz filter vrečke.

**Preglednica IV:** Vzorci cvetov lipa

Ime vzorca	Dobavitelj	Opis vzorca	Serijska številka	Rok uporabnosti
<b>LipaCE</b>	Celjske lekarne, Galenski laboratorij, Vodnikova 1, 3000 Celje	Socvetje z ovršnim listom	300112	12/2013
<b>LipaD</b>	Dolenjske lekarne Novo mesto, Kandijska cesta 1, 8000 Novo mesto	Socvetje z ovršnim listom	10831111	11/2012
<b>LipaF</b>	Flora d.o.o., Trg 1, 3252 Rogatec; Pridelano: Ukrajina	Socvetje z ovršnim listom	W11202293-6	05/2014
<b>LipaG</b>	Gorenjske lekarne, Gosposvetska ulica 12, Kranj, enota Galenski laboratorij, Bleiweisova cesta 8, 4000 Kranj	Socvetje z ovršnim listom	02000212	02/2013
<b>LipaM</b>	Merkator IP, d.o.o., Dunajska cesta 110, 1000 Ljubljana, PE: Dvorec Trebnik	Socvetje z ovršnim listom, rastlinska droga je grobo mleta	/	06/2013
<b>LipaO</b>	Minoritski samostan, Olimje 82, 3254 Podčetrtek	Socvetje z ovršnim listom	/	/
<b>LipaP</b>	Papaja d.o.o., Grabersko 12, 1420 Trbovlje	Socvetje z ovršnim listom, rastlinska droga je grobo mleta	L5401	01.01.2013
<b>LipaT</b>	Čaji dobre misli, Blatna brezovica 42, 1360 Vrhnika	List in steblo, vendar listi prevladujejo	/	/
<b>LipaW</b>	Tee Markenhandels Ges.m.b.H. Leo Mathauser-Grasse 71/5 A-1230 Wien	Filter vrečka	L:401120931	04.04.2015
<b>LipaZ</b>	Žito d.d, Šmartinska cesta 154, 1529 Ljubljana	Filter vrečka	L422	14.03.2014

### 3.1.4 ZEL MATERINE DUŠICE (*Thymi herba*)

Za analizo smo uporabili deset različnih vzorcev zeli materine dušice, kupili smo jih pri dobaviteljih predstavljenih v preglednici V. Vsi vzorci rastlinske droge so vsebovali liste in stebela zeli, sedem vzorcev je vsebovalo še cvetove. Pet vzorcev je poleg listov, stebel in cvetov vsebovalo še večje listke. Dva vzorca MaDuH in MaDuT sta vsebovala celo zel, vzorec MaDuZ pa je vseboval mleto zel skupaj s cvetovi, saj smo vsebino vzorca pridobili iz filter vrečke. V vzorcu MaDuM so bile prisotne nečistote.



**Preglednica V:** Vzorci zeli materine dušice

Ime vzorca	Dobavitelj	Opis vzorca	Serijska številka	Rok uporabnosti
<b>MaDuCE</b>	Celjske lekarne, Galenski laboratorij, Vodnikova 1, 3000 Celje	List in steblo	3650412	12/2012
<b>MaDuD</b>	Dolenjske lekarne Novo mesto, Kandijska cesta 1, 8000 Novo mesto	List in steblo (zel)	12711211	12/2012
<b>MaDuF</b>	Flora d.o.o., Trg 1, 3252 Rogatec; Pridelano: Albanija	List, steblo, cvet, večji listki, zdrobljeno	W12202817-6	04/2014
<b>MaDuG</b>	Gorenjske lekarne, Gosposvetska ulica 12, Kranj, enota Galenski laboratorij, Bleiweisova cesta 8, 4000 Kranj	List in steblo (zel)	02370212	02/2013
<b>MaDuH</b>	Hiša začimb, Kotnikova 5, 1000 Ljubljana; Poreklo: BiH	List, steblo, cvet	/	20.09.2013
<b>MaDuM</b>	Merkator IP, d.o.o., Dunajska cesta 110, 1000 Ljubljana, PE: Dvorec Trebnik	Večji listki in malo cvetov, prisotne nečistote	/	4.11.2014
<b>MaDuO</b>	Minoritski samostan, Olimje 82, 3254 Podčetrtek	Večji listki, veliko cvetov	/	/
<b>MaDuP</b>	Papaja d.o.o., Grabersko 12, 1420 Trbovlje	Večji listki, cvetovi	/	08/2013
<b>MaDuT</b>	Čaji dobre misli, Blatna brezovica 42, 1360 Vrhnika	Cela zel, večji listki, prisotni tudi cvetovi	/	/
<b>MaDuZ</b>	Žito d.d, Šmartinska cesta 154, 1529 Ljubljana	Filter vrečka, vsebuje tudi cvetove	L410	11.03.2014

### 3.1.5 LIST MELISE (*Melissae folium*)

Za analizo smo uporabili deset različnih vzorcev listov melise, kupili smo jih pri dobaviteljih predstavljenih v preglednici VI. Vsi vzorci rastlinske droge so vsebovali liste in stebila, razlika med njimi je bila le v velikosti delcev droge. Vzorca MelisaHE in MelisaMO sta vsebovala mlete dele rastline, saj smo vsebino vzorcev pridobili iz filter vrečke, od tega je vzorec MelisaHE vseboval še drobne okrogle delce svetlejše barve. V vzorcu MelisaP so bile prisotne nečistote. Vzorec MelisaT je predstavljala cela suha rastlina.

**Preglednica VI:** Vzorci listov melise

Ime vzorca	Dobavitelj	Opis vzorca	Serijska številka	Rok uporabnosti
<b>MelisaCE</b>	Celjske lekarne, Galenski laboratorij, Vodnikova 1, 3000 Celje	List in steblo	1360211	11/2012
<b>MelisaD</b>	Dolenjske lekarne Novo mesto, Kandijska cesta 1, 8000 Novo mesto	List in steblo	06010612	06/2013
<b>MelisaF</b>	Flora d.o.o., Trg 1, 3252 Rogatec; Pridelano: EU	List in steblo	W10201210	01/2014
<b>MelisaHE</b>	Herba Medica d.o.o., Preserska cesta 5, Zg. Jarše, 1235 Radomlje	Filter vrečka, vsebuje tudi drobne kroglice svetlejše barve	L:1142812	06/2014
<b>MelisaH</b>	Hiša začimb, Kotnikova 5, 1000 Ljubljana; Poreklo: Italija	List in steblo, bolj drobno mleta rastlina, prisotne primesi	/	20.09.2013
<b>MelisaM</b>	Merkator IP, d.o.o., Dunajska cesta 110, 1000 Ljubljana, PE: Dvorec Trebnik	List in steblo	/	19.07.2013
<b>MelisaMO</b>	Mogota d.o.o., Cesta v Trnovlje 7, 3000 Celje	Filter vrečka	323	06/2014
<b>MelisaO</b>	Minoritski samostan, Olimje 82, 3254 Podčetrtek	List in steblo	/	/
<b>MelisaP</b>	Papaja d.o.o., Grabersko 12, 1420 Trbovlje	List in steblo, prisotne tudi nečistote	L5529	01.01.2014
<b>MelisaT</b>	Čaji dobre misli, Blatna brezovica 42, 1360 Vrhnika	List in steblo, skoraj cela suha rastlina	/	/

### 3.1.6 LIST POPROVE METE (*Menthae piperitae folium*)

Za analizo smo uporabili deset različnih vzorcev listov poprove mete, kupili smo jih pri dobaviteljih predstavljenih v preglednici VII. Vsi vzorci rastlinske droge so vsebovali liste in stebela rastline, razlika med njimi je bila le v velikosti delcev droge. Vzorca MetaHE in MetaMO sta vsebovala mlete dele rastline, saj smo vsebino vzorcev pridobili iz filter vrečke, poleg tega sta oba vzorca vsebovala še drobne kroglice svetlejše barve. V vzorcih MetaH in MetaM so bile prisotne nečistote, v vzorcu MetaP so bili poleg stebela in listov prisotni cvetovi. Vzorec MetaT je predstavljala cela suha rastlina.

**Preglednica VII:** Vzorci listov porove mete

Ime vzorca	Dobavitelj	Opis vzorca	Serijska številka	Rok uporabnosti
<b>MetaCE</b>	Celjske lekarne, Galenski laboratorij, Vodnikova 1, 3000 Celje	List in steblo	2310212	07/2013
<b>MetaD</b>	Dolenjske lekarne Novo mesto, Kandijska cesta 1, 8000 Novo mesto	List in steblo	06530712	07/2013
<b>MetaF</b>	Flora d.o.o., Trg 1, 3252 Rogatec; Pridelano: Rusija	List in steblo	11201990-6	10/2013
<b>MetaHE</b>	Herba Medica d.o.o., Preserska cesta 5, Zg. Jarše, 1235 Radomlje	Filter vrečka, vsebuje tudi drobne kroglice svetlejšje barve	1199212	09/2014
<b>MetaH</b>	Hiša začimb, Kotnikova 5, 1000 Ljubljana; Poreklo: BiH	List in steblo, bolj drobno mleta rastlina, prisotne primesi	/	30.09.2013
<b>MetaM</b>	Merkator IP, d.o.o., Dunajska cesta 110, 1000 Ljubljana, PE: Dvorec Trebnik	List in steblo, prisotne primesi	/	14.06.2014
<b>MetaMO</b>	Mogota d.o.o., Cesta v Trnovlje 7, 3000 Celje	Filter vrečka, vsebuje tudi drobne kroglice svetlejšje barve	L:79	06/2014
<b>MetaO</b>	Minoritski samostan, Olimje 82, 3254 Podčetrtek	List in steblo	/	/
<b>MetaP</b>	Papaja d.o.o., Grabersko 12, 1420 Trbovlje	List in steblo, prisotni tudi cvetovi	L53484	01.01.2014
<b>MetaT</b>	Čaji dobre misli, Blatna brezovica 42, 1360 Vrhnika	List in steblo, skoraj cela suha rastlina	/	/

### 3.1.7 CVET OGNJIČA (*Calendulae flos*)

Za analizo smo uporabili deset različnih vzorcev cvetov ognjiča, kupili smo jih pri dobaviteljih predstavljenih v preglednici VIII. Vsi vzorci rastlinske droge so vsebovali cvetove rastline, razlika med njimi je bila le v velikosti delcev droge. Vzorec OgnjicH so predstavljali celi suhi cvetovi rastline, ostali vzorci so bili srednje drobno mleti.

**Preglednica VIII:** Vzorci cvetov ognjiča

Ime vzorca	Dobavitelj	Opis vzorca	Serijska številka	Rok uporabnosti
<b>OgnjicCE</b>	Celjske lekarne, Galenski laboratorij, Vodnikova 1, 3000 Celje	Socvetje, srednje drobno mleto in plodovi	2530312	12/2014
<b>OgnjicD</b>	Dolenjske lekarne Novo mesto, Kandijska cesta 1, 8000 Novo mesto	Socvetje, srednje drobno mleto in plodovi	04310412	04/2013
<b>OgnjicF</b>	Flora d.o.o., Trg 1, 3252 Rogatec; Pridelano: Egipt	Socvetje, srednje drobno mleto, plodov je manj	11201611	02/2014
<b>OgnjicG</b>	Gorenjske lekarne, Gosposvetska ulica 12, Kranj, enota Galenski laboratorij, Bleiweisova cesta 8, 4000 Kranj	Socvetje, srednje drobno mleto, plodov je manj	07970812	08/2013
<b>OgnjicH</b>	Hiša začimb, Kotnikova 5, 1000 Ljubljana; Poreklo: Egipt	Veliki delci socvetja, prisotni plodovi	/	30.09.2013
<b>OgnjicMA</b>	MATIK d.o.o., Smrekarjeva 3, 1000 Ljubljana	Socvetje, plodovi drobno mleti	L:100882	21.10.2014
<b>OgnjicM</b>	Merkator IP, d.o.o., Dunajska cesta 110, 1000 Ljubljana, PE: Dvorec Trebnik	Socvetje, srednje drobno mleto in plodovi	/	19.08.2015
<b>OgnjicO</b>	Minoritski samostan, Olimje 82, 3254 Podčetrtek	Socvetje, srednje drobno mleto, plodov je manj	/	/
<b>OgnjicP</b>	Papaja d.o.o., Grabersko 12, 1420 Trbovlje	Socvetje, srednje drobno mleto, plodov je manj	L5543	01.01.2014
<b>OgnjicT</b>	Čaji dobre misli, Blatna brezovica 42, 1360 Vrhnika	Socvetje, srednje drobno mleto, plodov je manj	/	/

### 3.1.8 ZEL NJIVSKE PRESLICE (*Equiseti herba*)

Za analizo smo uporabili deset različnih vzorcev zeli njivske preslice, kupili smo jih pri dobaviteljih predstavljenih v preglednici v IX. Razlika med vzorci rastlinske droge je bila le v velikosti delcev droge. Vzorca PreslicaH in PreslicaT sta vsebovala grobo mleto dele rastline. Vzorec PreslicaMA je vseboval fino mleto zel saj smo vsebino vzorca pridobili iz filter vrečke. Ostali vzorci droge so bili srednje mleti.

**Preglednica IX:** Vzorci zeli njivske preslice

Ime vzorca	Dobavitelj	Opis vzorca	Serijska številka	Rok uporabnosti
<b>PreslicaCE</b>	Celjske lekarne, Galenski laboratorij, Vodnikova 1, 3000 Celje	Cela zel, srednje mlet vzorec	4670512	01/2014
<b>PreslicaD</b>	Dolenjske lekarne Novo mesto, Kandijška cesta 1, 8000 Novo mesto	Cela zel, srednje mlet vzorec	04310412	04/2013
<b>PreslicaF</b>	Flora d.o.o., Trg 1, 3252 Rogatec; Pridelano: Egipt	Cela zel, srednje mlet vzorec	11201611	02/2014
<b>PreslicaGA</b>	Galex, proizvodnja in promet s farmacevtskimi in drugimi proizvodi, d.d., Tršinska ulica 29g, 9000 Murska Sobota	Cela zel, srednje mlet vzorec	07970812	08/2013
<b>PreslicaH</b>	Hiša začimb, Kotnikova 5, 1000 Ljubljana; Poreklo: BiH	Cela zel, grobo mlet vzorec	/	30.09.2013
<b>PreslicaMA</b>	MATIK d.o.o., Smrekarjeva 3, 1000 Ljubljana	Filter vrečka, drobno mlet vzorec	102902	09.05.2014
<b>PreslicaM</b>	Merkator IP, d.o.o., Dunajska cesta 110, 1000 Ljubljana, PE: Dvorec Trebnik	Cela zel, srednje mlet vzorec	/	17.08.2014
<b>PreslicaO</b>	Minoritski samostan, Olimje 82, 3254 Podčetrtek	Cela zel, srednje mlet vzorec	/	/
<b>PreslicaP</b>	Papaja d.o.o., Grabersko 12, 1420 Trbovlje	Cela zel, srednje mlet vzorec	/	08/2013
<b>PreslicaT</b>	Čaji dobre misli, Blatna brezovica 42, 1360 Vrhnika	Cela zel, grobo mlet vzorec	/	/

### 3.1.9 PLOD NAVADNEGA ŠIPKA (*Rosae pseudo-fructus*)

Za analizo smo uporabili deset različnih vzorcev plodov navadnega šipka, kupili smo jih pri dobaviteljih predstavljenih v preglednici X. Vsi vzorci rastlinske droge so vsebovali plodove droge, razlikovali pa so se po razmerju vsebnosti oplodja in pešk. Vzorec SipekH je vseboval cele plodove. Vzorec SipekC je vseboval malo oplodja in veliko pešk, v vzorcih SipekF in SipekG je bilo razmerje med oplodjem in pečkami približno enako, vzorci SipekMA, SipekO in SipekP pa so v večji meri vsebovali samo oplodje.

Preglednica X: Vzorci plodov navadnega šipka

Ime vzorca	Dobavitelj	Opis vzorca	Serijska številka	Rok uporabnosti
<b>SipekCE</b>	Celjske lekarne, Galenski laboratorij, Vodnikova 1, 3000 Celje	Veliko oplodja, manj pešk	3950412	03/2015
<b>SipekC</b>	Citius d.o.o Sarajevo, G. Zovik 5 Hadžići, BiH	Malo oplodja in veliko pešk	/	05/06/2013
<b>SipekD</b>	Dolenjske lekarne Novo mesto, Kandijska cesta 1, 8000 Novo mesto	Veliko oplodja, manj pešk	09911012	10/2013
<b>SipekF</b>	Flora d.o.o., Trg 1, 3252 Rogatec; Pridelano: Južna Amerika	Polovico vzorca sestavlja oplodje in polovico peške	W11202289	03/2014
<b>SipekG</b>	Gorenjske lekarne, Gosposvetska ulica 12, Kranj, enota Galenski laboratorij, Bleiweisova cesta 8, 4000 Kranj	Polovico vzorca sestavlja oplodje (večji delci) in polovico peške	07170712	07/2013
<b>SipekH</b>	Hiša začimb, Kotnikova 5, 1000 Ljubljana; Poreklo: BiH	Celi plodovi	/	30.11.2013
<b>SipekMA</b>	MATIK d.o.o., Smrekarjeva 3, 1000 Ljubljana	Oplodje (večji delčki)	L:100532	25.01.2014
<b>SipekO</b>	Minoritski samostan, Olimje 82, 3254 Podčetrtek	Oplodje (večji delčki), pečk je malo	/	/
<b>SipekP</b>	Papaja d.o.o., Grabersko 12, 1420 Trbovlje	Oplodje (večji delčki), pečk je malo	/	08/2013
<b>SipekZ</b>	Žito d.d, Šmartinska cesta 154, 1529 Ljubljana	Veliko oplodja, manj pečk	/	03.03.2014

### 3.1.10 LISTI ŽAJBLJA (*Salviae folium*)

Za analizo smo uporabili deset različnih vzorcev listov žajblja, kupili smo jih pri dobaviteljih predstavljenih v preglednici XI. Vsi vzorci rastlinske droge so vsebovali liste in stebila, razlika med njimi je bila v velikosti delcev droge. Vzorci ZajbeljD, ZajbeljF, ZajbeljGA, ZajbeljH in ZajbeljO so bili bolj grobo mleti, medtem ko je bil vzorec ZajbeljCE srednje grobo mlet. Vzorca ZajbeljC in ZajbeljT sta vsebovala cele liste. Vzorec ZajbeljD so predstavljali bolj drobno mleti delci droge.

**Preglednica XI:** Vzorci listov žajblja

Ime vzorca	Dobavitelj	Opis vzorca	Serijska številka	Rok uporabnosti
<b>ZajbeljCE</b>	Celjske lekarne, Galenski laboratorij, Vodnikova 1, 3000 Celje	Listi in stebila, srednje mlet vzorec	7250712	05/2014
<b>ZajbeljC</b>	Citius d.o.o Sarajevo, G. Zovik 5 Hadžići, BiH	Listi (celi) in stebila	/	15/06/2013
<b>ZajbeljD</b>	Dolenjske lekarne Novo mesto, Kandijska cesta 1, 8000 Novo mesto	Listi in stebila, bolj grobo mlet vzorec	07890812	08/2013
<b>ZajbeljF</b>	Flora d.o.o., Trg 1, 3252 Rogatec; Pridelano: Albanija	Listi in stebila, bolj grobo mlet vzorec	W11202349-6	11/2013
<b>ZajbeljGA</b>	Galex, proizvodnja in promet s farmacevtskimi in drugimi proizvodi, d.d., Tršinska ulica 29g, 9000 Murska Sobota	Listi in stebila, bolj grobo mlet vzorec	L:05830812	08/2013
<b>ZajbeljH</b>	Hiša začimb, Kotnikova 5, 1000 Ljubljana; Poreklo: Egipt	Listi in stebila, bolj grobo mlet vzorec	/	30.09.2013
<b>ZajbeljO</b>	Minoritski samostan, Olimje 82, 3254 Podčetrtek	Listi in stebila, bolj grobo mlet vzorec	/	/
<b>ZajbeljP</b>	Papaja d.o.o., Grabersko 12, 1420 Trbovlje	Listi in stebila, bolj drobno mlet vzorec	/	08/2013
<b>ZajbeljT</b>	Čaji dobre misli, Blatna brezovica 42, 1360 Vrhnika	Listi (celi) in stebila	/	/
<b>ZajbeljZ</b>	Žito d.d, Šmartinska cesta 154, 1529 Ljubljana	Listi in stebila, bolj drobno mlet vzorec	/	07.11.2013

### 3.1.11 ČAJNE MEŠANICE

Za analizo smo uporabili sedem različnih čajnih mešanic, kupili smo jih pri dobaviteljih predstavljenih v preglednici XII.

**Preglednica XII:** Čajne mešanice

Ime čajne mešanice	Dobavitelj	Opis vzorca	Serijska številka	Rok uporabnosti
<b>Galexov prsni čaj</b>	Galex, proizvodnja in promet s farmacevtskimi in drugimi proizvodi, d.d., Tršinska ulica 29g, 9000 Murska Sobota	Vsebuje zel ozkolistnega trpotca, korenino golostebelnega sladkega korena, plod grenkega navadnega komarčka, zel vrtno materine dušice, korenino jegliča in cvet lipe	L:06640912	07/2013

<b>Domači čaj patra Simona Ašiča</b>	SITIK d.o.o. Cistercijanska opatija Stična Stična 17, 1295 Ivančna Gorica	Vsebuje plod šipka, cvet hibiskusa, plod borovnice, liste robide in liste poprove mete	L:R 550	02/2013
<b>Čaj za srce in krvni obtok</b>	Galex, proizvodnja in promet s farmacevtskimi in drugimi proizvodi, d.d., Tršinska ulica 29g, 9000 Murska Sobota	Vsebuje list in cvet gloğa, zel bele omele, zel njivske preslice, list navadne melise in korenino zdravilne špajke	06980911	03/2013
<b>Otroški čaj</b>	Galex, proizvodnja in promet s farmacevtskimi in drugimi proizvodi, d.d., Tršinska ulica 29g, 9000 Murska Sobota	Vsebuje cvet prave kamilice, plod grenkega navadnega komarčka, plod vrtnega janeža, zel majarona, list poprove mete in list navadne melise	7820908	03/2013
<b>Čaj za čiščenje</b>	Merkator IP, d.o.o., Dunajska cesta 110, 1000 Ljubljana, PE: Dvorec Trebnik	Vsebuje zel njivske preslice, cvet ognjiča in list koprive	/	26.08.2013
<b>Galexov čaj s pegastim badljem</b>	Galex, proizvodnja in promet s farmacevtskimi in drugimi proizvodi, d.d., Tršinska ulica 29g, 9000 Murska Sobota	Vsebuje plod pegastega badlja, korenino regrata, list poprove mete in plod navadne kumine	08391008	04/2010
<b>Domači čaj za hladne dni</b>	Galex, proizvodnja in promet s farmacevtskimi in drugimi proizvodi, d.d., Tršinska ulica 29g, 9000 Murska Sobota	Vsebuje cvet črnega bezga, cvet lipe in cvet prave kamilice	10131007	04/2009

### 3.2 APARATURE IN PRIPOMOČKI

Spektre smo posneli z dvema različnima spektrometroma. Za snemanje s tehniko oslabiljenega popolnega odboja (ATR) v srednjem infrardečem (MID) območju smo uporabili FTIR Nexus spektrometer proizvajalca NICOLET z merilnim nastavkom »Smart Dura Sampl IR« (v nadaljevanju ATR-IR spektrometer). Nastavek vsebuje diamantni kristal, na katerega položimo vzorec. Vzorec ob kristal privijemo z vijakom, ki zagotavlja enakomeren pritisk vzorca na kristal. Za snemanje spektrov po principu transmisijske tehnike v MID območju smo uporabili spektrometer Perkin Elmer FTIR 1600.





**Slika 15:** ATR IR spektrometer.

Podatke smo obdelali s pomočjo programov Microsoft Office Excel 2007 in Matlab 2007b.

Vzorce smo zmleli z mlinčkom Janke & Kunkel IKA Labortechnik tip A 10, saj je bil ta najbolj ustrezen, glede na majhne količine vzorcev.

Vzorce smo posušili v steklenem eksikatorju s silikagelom.

### 3.3 NASTAVITVE PRI MERJENJU

V preglednici XIII so predstavljene merilne nastavitve obeh spektrometrov.

**Preglednica XIII:** Merilne nastavitve ATR IR spektrometra in spektrometra Perkin Elmer FTIR 1600.

	ATR IR spektrometer	Spektrometer Perkin Elmer FTIR 1600
Ozadje	Zrak	Zrak
Število ponovitev snemanja	50	10
Ločljivost	1,928 cm <sup>-1</sup>	0,50 cm <sup>-1</sup>
Število podatkovnih točk	1764	7101
Končni format	Reflektanca	Transmitanca
Delilec žarka	ZnSe	KBr
Detektor	DTGS KBr	DTGS KBr
Območje snemanja	600 cm <sup>-1</sup> – 4000 cm <sup>-1</sup>	450 – 4000 cm <sup>-1</sup>
Apodizacija	Happ-Genzel	/
Fazna korekcija	Mertz	/

### 3.4 PRIPRAVA VZORCA IN POTEK MERITEV

#### 3.4.1 PRIPRAVA VZORCEV

##### Mleti vzorci

Vzorci mletih nesušenih rastlinskih drog smo pripravili s pomočjo mlinčka Janke & Kunkel IKA Labortechnik tip A 10. Vse vzorce smo mleli tri krat po deset sekund. Po vsakih pretečenih desetih sekundah smo najbolj fino mlet del vzorca shranili za nadaljnjo meritve. Postopek smo še dvakrat ponovili. Najbolj fini deli vzorca so se zbirali na stropu mlinčka. V primeru da tri ponovitve deset sekundnega mletja niso zagotovile dovolj fino mletega vzorca za nadaljnje meritve, smo vzorec mleli še nadaljnjih deset sekund.

### **Sušeni praškasti vzorci**

Vzorci rastlinskih drog smo najprej posušili v eksikatorju nad silikagelom (2,5 mm z oranžnim indikatorjem brez težkih kovin). Sušenje je potekalo 24 ur v eksikatorju na sobni temperaturi. Silikagel je amorfni silicijev dioksid, ki nase veže vodo, zato smo ga predhodno sušili štiri ure v pečici na 100 °C. V primeru spremembe barve indikatorja vlažnosti v zrnih iz rdeče-oranžne barve v prozorno smo ga ponovno posušili. Vzorce rastlinskih drog smo nato z mlinčkom Janke & Kunkel IKA Labortechnik tip A 10 zmleli. Nadalje smo postopali enako kot je opisano v poglavju 3.4.1 Mleti vzorci.

### **Čajne mešanice**

Iz vsake čajne mešanice posebej smo s pomočjo pincete ločili zeleno rastlinsko drogo od ostale mešanice rastlinskih drog. Iz Galexovega prsnega čaja smo ločili zel materine dušice in cvetove lipe, iz domačega čaja patra Simona Ašiča smo ločili plodove šipka in liste poprove mete, iz čaja za srce in krvni obtok smo ločili zel njivske preslice in liste melise, iz Galexovega otroškega čaja smo ločili cvetove kamilice, iz čaja za čiščenje smo ločili zel njivske preslice, cvetove ognjiča in liste poprove mete, iz Galexovega čaja s pegastim badljem smo ločili liste poprove mete ter iz Galexovega domačega čaja cvetove lipe in cvetove kamilice. Nadaljnja priprava vzorca je obsegala mletje oziroma sušenje in nato mletje vzorca kot je opisano v poglavju 3.4.1 Mleti in Sušeni praškasti vzorci.

### **3.4.2 ATR IR SPEKTROMETER**

Potek meritve z ATR IR spektrometrom je zelo enostaven, saj ni potrebna nobena predpriprava vzorca.

### **Neobdelani vzorci**

Najprej smo kristal in vijak očistili z etanolom in tesno privili vijak ter nato sprožili meritve ozadja brez vzorca. Ozadje predstavljajo absorpcijski vrhovi, ki so predvsem

posledica prisotnega ogljikovega dioksida in vode v zraku in jih je vedno potrebno odšteti od spektra, da dobimo spekter vzorca. Pri cvetu kamilice smo pomerili spektre treh različnih jezičastih cvetov, prav tako smo postopali pri cvetovih ognjiča. Izbrali smo dovolj široke jezičaste vence, da so le ti v celoti prekrili kristal. Spektre njivske preslice smo pomerili tako, da smo za meritev uporabili tri različne dele stebela, ki so v celoti prekrila kristal. Pri poprovi meti, navadni melisi, žajblju, koprivi, lipi in materini dušici smo za meritve uporabili tri različne liste rastlinskih drog. Meritve smo izvajali na delih listov, kjer ni potekala nobena večja žila. Spektre šipka smo pomerili tako, da smo uporabili tri različne koščke oplodja. V primeru vzorca iz filter vrečke smo del vsebine vrečke nasuli na kristal predhodno očiščen z etanolom in izvedli meritev. V primeru ko so se trije zaporedni spektri enega vzorca precej razlikovali, smo z vzorcem posneli še četrti spekter, zato smo skupno opravili 349 meritev neobdelanih delov rastlinskih drog in ne le 300 meritev. V primeru ko je ena izmed štirih meritev zelo odstopala, smo le to izbrisali. Nato smo na podlagi treh oziroma štirih meritev posameznega vzorca rastlinske droge izračunali povprečje meritev za osnovni spekter. Za slednji spekter smo nato izračunali prvi odvod in izvedli normalizacijo. Tako smo dobili sto povprečnih osnovnih spektrov, spektrov prvega odvoda in normaliziranih spektrov vzorcev rastlinske droge. Le te povprečne spektre smo vključili v statistično analizo vse do navzkrižne validacije, kjer smo ugotavljali točnost uvrščanja vzorcev rastlinske droge v pravilne skupine. Vzorce s katerimi smo posneli štiri spektre, smo nadalje še dodatno vizualno pregledali, saj nas je zanimal vzrok odstopanj.

### **Mleti vzorci ter sušeni praškasti vzorci**

Najprej smo posneli meritev ozadja na enak način, kot je opisano v zgornjem poglavju Neobdelani vzorci. Spektre mletih vzorcev rastlinskih drog oziroma sušenih praškastih vzorcev rastlinskih drog smo nato pomerili tako, da smo na kristal predhodno očiščen z etanolom nasuli majhno količino mletega vzorca ter tesno privili vijak. Meritev enega vzorca rastlinske droge smo ponovili tri krat, pred vsako naslednjo meritvijo smo vzorec rastlinske droge ponovno premešali ter se tako izognili podvajanju meritev. V primeru ko so se trije zaporedni spektri enakega vzorca precej razlikovali, smo z vzorcem posneli še četrti spekter, zato smo skupno opravili 316 meritev sušenih praškastih vzorcev rastlinskih drog in 328 meritev mletih vzorcev. V primeru ko je ena izmed štirih meritev zelo odstopala, smo le to izbrisali. Nato smo na podlagi treh oziroma štirih meritev posameznega vzorca rastlinske droge izračunali povprečje meritev za osnovni spekter. Za

slednji spekter smo nato izračunali prvi odvod in izvedli normalizacijo. Tako smo dobili sto povprečnih osnovnih spektrov, spektrov prvega odvoda in normaliziranih spektrov vzorcev rastlinske droge. Le te povprečne spektre smo nadalje vključili v statistično analizo vse do navzkrižne validacije, kjer smo ugotavljali točnost uvrščanja vzorcev rastlinske droge v pravilne skupine. Vzorce s katerimi smo posneli štiri meritve, smo nadalje še dodatno vizualno pregledali, saj nas je zanimal vzrok odstopanj.

### **Izvoz podatkov**

Dobljene spektre smo shranili v obliki datoteke CSV (ang. *comma separated values*). Nato smo vsak spekter te oblike uvozili najprej v program Microsoft Office Excel 2007 ter nato v program Matlab 2007b, v katerem smo opravili vse nadaljnje statistične analize. Vsak spekter smo posneli od  $600\text{ cm}^{-1}$  do  $4000\text{ cm}^{-1}$  valovne dolžine. Vsaka točka spektra predstavlja eno spremenljivko.

### **3.4.3 SPEKTROMETER PERKIN ELMER FTIR 1600**

S pomočjo Spektrometra Perkin Elmer FTIR 1600 smo izvedli četrti sklop meritev, ta je vključeval tehniko izdelave tabletk s KBr. Pred snemanjem vzorca smo posneli spekter ozadja, ki ga je računalnik samodejno odšteli pri snemanju vzorca. Ozadje predstavljajo absorpcijski vrhovi, ki so predvsem posledica prisotnega ogljikovega dioksida in vode v zraku in jih je vedno potrebno odšteti od spektra, da dobimo spekter vzorca.



**Slika 16:** Spektrometer Perkin Elmer FTIR 1600.

### **Tabletka s KBr**

#### **Optimizacija izdelave tabletk**

Pri optimizaciji načina merjenja smo izdelali tabletko iz  $160 \pm 5\text{ mg}$  oziroma  $300 \pm 5\text{ mg}$  pomožne snovi (KBr) in  $2,0\text{ mg} \pm 0,5\text{ mg}$  vzorca rastlinske droge. Pri vsaki količini

pomožne snovi smo izdelali po dve tabletki in nato za vsako tabletko posneli tri meritve spektrov. Na osnovi vizualne primerjave dobljenih spektrov v programu Matlab in glede na to, da je bila lomljivost tabletk približno enaka, smo se odločili za izdelavo tabletk iz 160 mg pomožne snovi, saj je bila v tem primeru vsebnost deleža vzorca rastlinske droge glede na delež pomožne snovi večja. Ob tem smo se tudi odločili, da bomo za vsak vzorec rastlinske droge izdelali po eno tabletko in posneli spekter na treh različnih mestih, saj so bili spektri različnih tabletk iste rastlinske vrste podobni.

### **Izdelava tabletk**

Za izdelavo tabletk s KBr smo uporabili sušene praškaste vzorce rastlinskih drog (opisano v 3.4.2). Določeno maso vzorca ( $2,0 \text{ mg} \pm 0,5 \text{ mg}$ ) smo natehtali v terilnico ter dodali ( $160 \text{ mg} \pm 5 \text{ mg}$ ) KBr. Z mešanjem smo pripravili homogeno zmes, ki smo jo nato stisnili v tabletko z ročno stiskalnico Graseby Specas pod visokim tlakom. S tehtanjem KBr in vzorca smo zagotovili izdelavo tabletk enake debeline, s čimer smo preprečili vpliv debeline tabletk na jakost signalov transmisijskega spektra. Vsako tabletko smo pripravljali sproti pred merjenjem, KBr smo med snemanji hranili v eksikatorju. Tako smo omejili vpliv zračne vlage na potek meritev, saj je KBr izredno higroskopska snov in bi ob daljšem izpostavljanju zraku postal bolj vlažen, prisotna voda bi vplivala na spektre, otežena pa bi bila tudi izdelava homogene tabletk.

Na vsaki tabletki smo opravili vsaj tri meritve na različnih mestih, kar pomeni, da smo skupaj pripravili 100 tabletk in opravili 306 meritev, saj smo v primeru, ko so se trije zaporedni spektri ene tabletk precej razlikovali, posneli še četrti spekter. Na podlagi treh oziroma štirih meritev posameznega vzorca rastlinske droge smo izračunali povprečje meritev za osnovni spekter. Za slednji spekter smo nato izračunali prvi odvod in izvedli normalizacijo. Tako smo dobili sto povprečnih osnovnih spektrov, spektrov prvega odvoda in normaliziranih spektrov vzorcev rastlinske droge. Le te povprečne spektre smo nadalje vključili v statistično analizo vse do navzkrižne validacije, kjer smo ugotavljali točnost uvrščanja vzorcev rastlinske droge v pravilne skupine. Ker smo z metodo izdelave tabletk s KBr v analizo pridobili 7101 spremenljivk, torej za več kot štirikrat več spremenljivk kot v primerjavi z ostalimi tremi seti meritev opravljenih na ATR IR spektrometru, s katerimi smo v analizo vključili 1764 spremenljivk, smo pri metodi izdelave tabletk s KBr povprečili štiri sosednje spremenljivke (torej vrednosti spektra pri sosednjih štirih valovnih številih) in tako zmanjšali število spremenljivk na število enakovredno številu

spremenljivk dobljenih z ATR IR spektrometrom. Vzorce s katerimi smo posneli štiri meritve, smo nadalje še dodatno vizualno pregledali, saj nas je zanimal vzrok odstopanj.



Slika 17: Oprema za izdelavo tabletk



Slika 18: Ročna stiskalnica Graseby Specas pod visokim tlakom

## Čajne mešanice

Iz sedmih čajnih mešanic smo izolirali trinajst različnih vzorcev rastlinskih drog. Za vsaki vzorec smo izdelali tabletko s KBr in jo pomerili na treh različnih mestih kar pomeni, da smo izdelali 13 tabletk in opravili 39 meritev.

## Izvoz podatkov

Podatke osnovnih spektrov posameznih meritev, ki smo jih dobili s pomočjo spektrometra Perkin Elmer FTIR 1600, smo v obliki ASCII II formata prenesli v program Matlab 2007b. Vsak spekter smo posneli od  $450\text{ cm}^{-1}$  do  $4000\text{ cm}^{-1}$  valovne dolžine. Vsaka točka spektra predstavlja eno spremenljivko.

### 3.4.4 PREDOBDELAVA SPEKTROV

Za vse štiri sete meritev smo izvedli dve različni predobdelavi osnovnih spektrov: prvi odvod spektra in normalizacijo. S pomočjo prvega odvoda smo izboljšali ločljivost. Računali smo ga z namenom, da bi dobili ustrezno informacijo iz medsebojno prikritih signalov. Pri uporabi prvega odvoda moramo biti pazljivi, da ne povečamo šuma. Z min-max normalizacijo smo izvedli linearno transformacijo osnovnih podatkov. To smo naredili tako, da smo vse vrednosti spektra preračunali med vrednosti 0 ( $x = x_{min}$ ) in 1 ( $x = x_{max}$ ) s pomočjo enačbe v preglednici XIV. Za lažjo predstavbo sta v preglednici XIV zbrani

obe metodi predobdelave spektra in program, ki smo ga uporabili za njun izračun. Podane so tudi enačbe s katerimi smo računali.

**Preglednica XIV:** Različne predobdelave spektrov in enačbe za izračun

Metoda	Program	Enačba za izračun
Prvi odvod	Matlab 2007b	$x'_i = x_{i+1} - x_i$
Normalizacija	Matlab 2007b	$x_i^n = \frac{x_i - x_{min}}{x_{max} - x_{min}}$
Povprečje	Matlab 2007b	$x_i^p = \frac{x_{iI} + x_{iII} + x_{iIII}}{3}$

$x'_i$  – vrednost prvega odvoda spektra pri valovnem številu  $i$  po predobdelavi spektra,  $x_i$  – vrednost osnovnega spektra pri valovnem številu  $i$ ,  
 $x_{i+1}$  – vrednost osnovnega spektra pri valovnem številu  $i + 1$ ,  
 $x_i^n$  – vrednost normaliziranega spektra pri valovnem številu  $i$ ,  
 $x_{min}$  – najmanjša vrednost osnovnega spektra,  $x_{max}$  – največja vrednost osnovnega spektra,  
 $x_i^p$  – povprečna vrednost treh izmerjenih osnovnih spektrov pri valovnem številu  $i$ ,  
 $x_{iI}, x_{iII}, x_{iIII}$  – vrednost spektra pri valovnem številu  $i$  pri treh zaporednih meritvah spektra.

### 3.5 STATISTIČNA OBDELAVA PODATKOV

Pri uvrščanju posameznih vzorcev rastlinskih drog v vnaprej določene skupine smo iz množice točk osnovnega ali predhodno obdelanega spektra najprej izbrali določeno število informativnih spremenljivk (valovnih števil) z analizo variance (ANOVA). To smo bolj natančno izvedli tako, da smo za vsako valovno število izračunali F-vrednost, ki podaja razmerje med pojasnjeno varianco v števcu in nepojasnjeno varianco v imenovalcu oziroma razmerje med variabilnostjo med skupinami v števcu in variabilnostjo znotraj skupine v imenovalcu. Valovna števila smo nato razporedili po padajočih F-vrednostih in zaporedoma izbirali prvih 1, 2, 3,... ali 300 valovnih števil, katere smo nato vključili v nadaljnjo statistično analizo. V naslednjem koraku smo izvedli metodo glavnih komponent (PCA). S to metodo dobimo nov set spremenljivk, ki pa so med seboj popolnoma neodvisne. Na koncu smo spremenljivke, ki smo jih dobili s pomočjo metode glavnih komponent, uvrščali v skupine s pomočjo diskriminantne analize (DA). DA smo lahko izvedli na največ toliko spremenljivkah, kot je bilo število vzorcev rastlinskih drog, minus število skupin, minus ena.

### **3.6 VALIDACIJA**

Točnost metode smo določali z navzkrižno validacijo z izpuščanjem posameznih vzorcev. Kot že ime pove, statistična analiza temelji na izpuščanju enega vzorca iz skupine stotih vzorcev, zato smo pred statistično analizo vse vzorce razdelili v skupino z enim vzorcem in v skupino s preostalimi 99 vzorci. Na slednji skupini smo nato izračunali vse parametre modela in tako napovedali vrstno pripadnost izvzetega vzorca. Postopek smo ponovili stokrat, tolikokrat kot je bilo vzorcev. Večji kot je procent pravilno uvrščenih osebkov, večja je točnost metode. Le to smo v zadnjem koraku preverili s pomočjo vzorcev rastlinskih drog izoliranih iz čajnih mešanic, saj smo na podlagi metode izdelane s stotimi vzorci ugotavljali točnost uvrščanja vzorcev izoliranih iz čajnih mešanic, torej kateri rastlinski drogi pripada določen vzorec izoliran iz čajnih mešanic.



## 4 REZULTATI IN RAZPRAVA

### 4.1 ENOKOMPONENTNI ČAJI

Vrednotenje rezultatov smo izvedli glede na pravilno uvrstitev vzorcev rastlinske droge v skupine. To smo izvedli s pomočjo navzkrižne validacije, z izpuščanjem posameznih objektov. Višji kot je procent pravilne uvrstitve vzorcev rastlinskih drog v ustrezne skupine, bolj zanesljiva je metoda. Rezultate smo primerjali glede na različno pripravo vzorcev, glede na različno tehniko snemanja spektrov, glede na različno predobdelavo spektrov ter na podlagi dveh različnih programov (program 1 in program 2), ki smo ju sestavili.

Najprej smo rezultate primerjali glede na različno pripravo vzorcev. Zanimal nas je vpliv sušenja na uspešnost metode, zato smo vzorce posušili in nato zmleli z mlinčkom. Tako smo dobili prvi set vzorcev. Drugi način obdelave vzorcev je obsegal mletje vzorcev brez sušenja, kot tretji set vzorcev smo uporabili neobdelane vzorce posamezne vrste rastlinske droge. Četrty način obdelave vzorcev je obsegal vgradnjo sušenega praškastega vzorca v tabletko s KBr. V preglednici XV so predstavljeni rezultati različne priprave vzorcev. Iz rezultatov je razvidno, da se je kot najuspešnejša tehnika priprave vzorca izkazalo sušenje in mletje vzorca, saj smo s temi vzorci dobili v 98 % pravilno uvrstitev v skupine rastlinskih drog. Kot najmanj zanesljiv način priprave vzorca posamezne vrste rastlinske droge se je izkazalo merjenje neobdelanih vzorcev rastlinske droge.

Snemanje spektrov smo izvedli z dvema različnima tehnikama. S pomočjo ATR IR spektrometra smo posneli spektre s pomočjo tehnike oslabiljenega popolnega odboja, ki spada med odbojne tehnike. Nasprotno spada tehnika, pri kateri smo uporabili Spektrometer Perkin Elmer FTIR 1600 med transmisijske tehnike. Z odbojno (ATR) tehniko smo dobili boljše rezultate v primerjavi s transmisijsko tehniko KBr, kar je prikazano v preglednici XV. Metoda izdelave tabletk s KBr je časovno zahtevnejša, pri izdelavi je potrebno paziti na ustrezno homogenost tabletk in preprečiti razpoke v tabletki.

Osnovni spekter smo obdelali z dvema različnima predobdelavama spektrov, s prvim odvodom in normalizacijo. V primerjavi s procenti pravilne uvrstitve vzorcev na podlagi osnovnega spektra, se je kot ustrežnejša predobdelava osnovnega spektra izkazal prvi odvod, saj smo s povprečjem vseh štirih načinov meritev dobili najvišji delež pravilno

uvršenih vzorcev v skupine in sicer v 89,75 %. Iz preglednice XV lahko razberemo, da se je kot manj uspešna metoda predobdelave osnovnega spektra izkazala normalizacija, saj je bil povprečen procent pravilne uvrstitve 79,25.

V naslednjem koraku smo uporabili dva različna programa statistične obdelave vzorcev. Program 1 temelji na uvrščanju posameznih vzorcev v vnaprej določene skupine z ANOVO, kjer smo iz množice točk osnovnega ali predhodno obdelanega spektra najprej izbrali določeno število informativnih spremenljivk (valovnih števil). To smo bolj natančno izvedli tako, da smo za vsako valovno število izračunali F-vrednost, valovna števila nato razporedili po padajočih F-vrednostih in zaporedoma izbirali prvih 1, 2, 3,... ali 300 valovnih števil z najvišjimi F-vrednostmi. Pri programu 2 pa smo v vsakem koraku izbire spremenljivk razdelili spekter na določeno število enako velikih območij, in nato iz vsakega območja izbrali spremenljivko z najvišjo F-vrednostjo (po ANOVI). Z razdelitvijo spektra na območja smo tako v nadaljnjo analizo vključili spremenljivke, ki na spektru niso bile blizu skupaj in je torej bilo manj verjetno, da so linearno odvisne med seboj, torej da nosijo podobne informacije. S programom 1 smo dobili višje procente pri vseh obdelavah vzorcev, kot tudi pri nadaljnjih predobdelavah osnovnega spektra, kar je razvidno iz preglednic XV in XVI. Pri programu 2 se je izkazalo, da so bile meritve s KBr tabletkami manj informativne, v primerjavi z odbojno ATR tehniko, pri slednji tehniki pa so bile najbolj informativne meritve na sušenih praškastih vzorcih.

**Preglednica XV:** Procenti pravilno uvršenih vzorcev posamezne rastlinske droge v ustrezne skupine glede na različno pripravo vzorcev in predobdelavo spektrov za program 1.

PROGRAM 1	Sušeni praškasti vzorci (KBr)	Sušeni praškasti vzorci (ATR)	Mleti vzorci (ATR)	Neobdelani vzorci (ATR)	Povprečje
Osnovni spekter	70	98	96	81	<b>86,25</b>
1. odvod	75	96	97	91	<b>89,75</b>
Normalizacija	62	94	88	73	<b>79,25</b>
Povprečje	<b>69</b>	<b>96</b>	<b>93,67</b>	<b>81,67</b>	

**Preglednica XVI:** Procenti pravilno uvršenih vzorcev posamezne rastlinske droge v ustrezne skupine glede na različno pripravo vzorcev in predobdelavo spektrov za program 2.

PROGRAM 2	Sušeni praškasti vzorci (KBr)	Sušeni praškasti vzorci (ATR)	Mleti vzorci (ATR)	Neobdelani vzorci (ATR)	Povprečje
Osnovni spekter	50	95	94	78	<b>79,25</b>

1. odvod	33	84	82	63	<b>65,5</b>
Normalizacija	52	91	89	79	<b>77,75</b>
Povprečje	<b>45</b>	<b>90</b>	<b>88,33</b>	<b>73,33</b>	

Iz preglednice XV je razvidno, da smo z izdelano metodo s programom 1 pri sušenih praškastih vzorcih (ATR) le 12 vzorcev napačno uvrstili. Osnovni spekter vzorca MetaH je bil identificiran kot navadna melisa medtem, ko je bil osnovni spekter vzorca ZajbeljP prepoznani kot materina dušica. Obe zamenjavi sta bili znotraj iste rastlinske družine (ustnatice). Prvi odvod spektra vzorca KamilicaHE iz filter vrečke je bil identificiran kot vrtni ognjič, medtem ko je bil prvi odvod spektra vzorca MaDuCE prepoznani kot žajbelj. Prvi odvod spektra vzorca MetaH je bil prepoznani kot materina dušica, vzorec OgnjičD pa je bil identificiran kot kamilica. Vse zamenjave prvega odvoda spektrov so bile znotraj iste družine (ustnatice in nebinovke). Normaliziran spekter vzorca MaDuH je bil identificiran kot kamilica, normaliziran spekter vzorca MaDuT kot ognjič, normaliziran spekter vzorca MetaH kot melisa, normaliziran spekter vzorca MetaM kot materina dušica, normaliziran spekter vzorca OgnjičCE kot šipek in normaliziran spekter vzorca OgnjičM kot melisa. Pri zamenjavah normaliziranih spektrov je prišlo do zamenjav tudi med vzorci iz različnih družin.

### **Optimizacija spektrov posnetih s KBr transmisijsko tehniko**

Ker so se rezultati pridobljeni s pomočjo izdelave tabletk s KBr izkazali kot nezadovoljivi, smo opravili optimizacijo podatkov. S tehniko izdelave tabletk s KBr smo v analizo vključili 7101 spremenljivk, toliko je bilo točk v spektrih pomerjenih na spektrometru Perkin Elmer FTIR 1600. To je v primerjavi z ostalimi tremi seti meritev pomerjenih na ATR IR spektrometru, s katerimi smo v analizo vključili 1764 spremenljivk za več kot štirikrat večja vrednost. Zato smo pri metodi izdelave tabletk s KBr povprečili štiri sosednje spremenljivke (torej vrednosti spektra pri štirih sosednjih valovnih številih) in tako zmanjšali število spremenljivk na število enakovredno številu spremenljivk dobljenih z ATR IR spektrometrom. Po optimizaciji podatkov pridobljenih s tehniko izdelave tabletk s KBr smo dobili boljše rezultate kot z ATR meritvijo neobdelanih vzorcev, vendar še vedno slabše kot pri ATR meritvi mletih vzorcev, kar je razvidno iz preglednice XV pred optimizacijo podatkov in preglednice XVII po optimizaciji podatkov. Z normalizacijo osnovnega spektra smo dobili slabše rezultate medtem, ko smo s prvim odvodom dobili boljše rezultate v primerjavi z osnovnim spektrom. Po optimizaciji podatkov smo s

programom 1 dosegli boljše rezultate, podobno kot pred optimizacijo podatkov, kar je razvidno iz preglednice XVII. Ker smo z optimizirani KBr spektri dobili boljše rezultate, smo vse nadaljnje analize izvedli s temi podatki.

**Preglednica XVII:** Procenti pravilno uvrščenih sušenih praškastih vzorcev (KBr) v ustrezne skupine glede na različno predobdelavo spektrov za program 1 in program 2 po optimizaciji podatkov za KBr tabletko.

Sušeni praškasti vzorci (KBr)	PROGRAM 1	PROGRAM 2
Osnovni spekter	91	54
1. odvod	94	40
Normalizacija	88	57
Povprečje	<b>91</b>	<b>50,33</b>

V preglednicah XVIII in XIX so v drugem stolpcu zapisani procenti pravilno uvrščenih vzorcev rastlinskih drog v skupine, v tretjem stolpcu pa je zapisano število spremenljivk, ki smo jih za doseg tega procenta vključili v analizo. Pri metodi sušeni praškasti vzorci – normalizacija je bilo število spremenljivk, ki smo jih vključili v analizo največje. S programom 1 smo dosegli boljše rezultate.

**Preglednica XVIII:** Procenti pravilno uvrščenih vzorcev v skupine in število spremenljivk, ki smo jih ob tem vključili v analizo pri različnih pripravah vzorcev in predobdelavah spektrov za program 1 po optimizaciji podatkov.

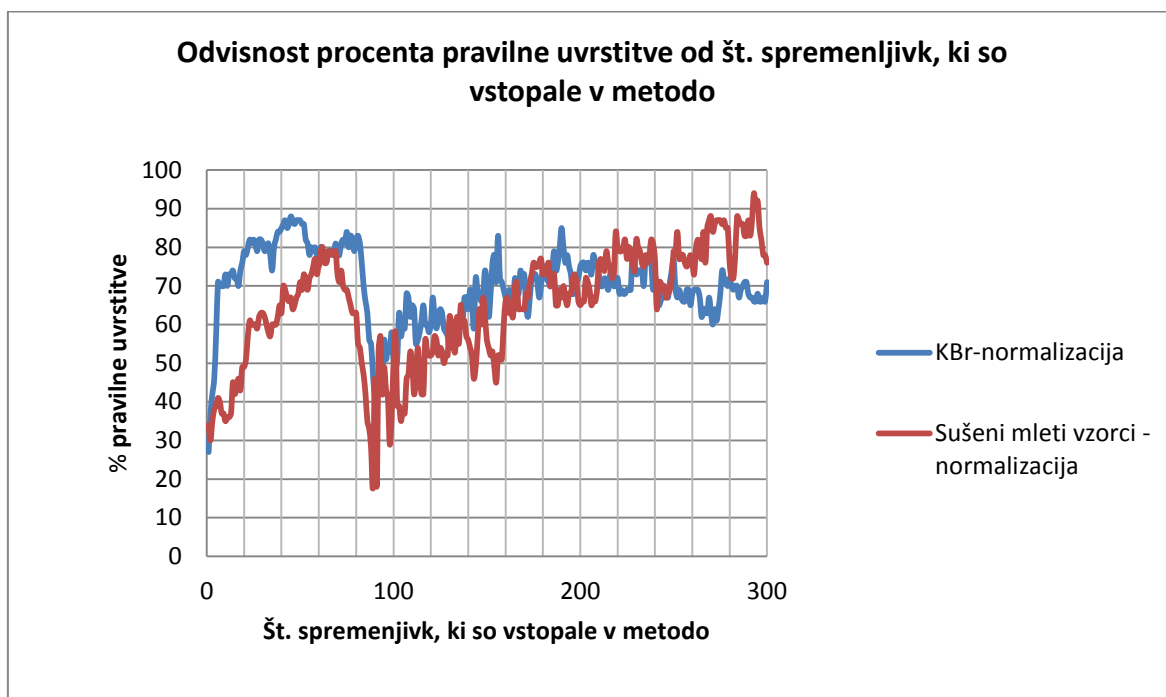
Metoda	% pravilno uvrščenih vzorcev	Število spremenljivk
KBr - osnovni spekter	91	56
KBr -1. odvod	94	48
KBr - normalizacija	88	45
Sušeni praškasti vzorci - osnovni spekter	98	50
Sušeni praškasti vzorci - 1. odvod	96	57
Sušeni praškasti vzorci – normalizacija	94	293
Mleti vzorci - osnovni spekter	96	52
Mleti vzorci -1. odvod	97	48
Mleti vzorci - normalizacija	88	232
Neobdelani vzorci - osnovni spekter	81	55
Neobdelani vzorci - 1. odvod	91	52
Neobdelani vzorci – normalizacija	73	14

**Preglednica XIX:** Procenti pravilno uvrščenih vzorcev v skupine in število spremenljivk, ki smo jih ob tem vključili v analizo pri različnih pripravah vzorcev in predobdelavah spektrov za program 2 po optimizaciji podatkov.

Metoda	% pravilno uvrščenih vzorcev	Število spremenljivk
KBr - osnovni spekter	54	7
KBr - 1. odvod	40	8
KBr - normalizacija	57	11
Mleti vzorci - osnovni spekter	95	13
Mleti vzorci -1. odvod	84	15
Mleti vzorci - normalizacija	91	14
Sušeni praškasti vzorci - osnovni spekter	94	14
Sušeni praškasti vzorci -1. odvod	82	11
Sušeni praškasti vzorci - normalizacija	89	12
Neobdelani vzorci - osnovni spekter	78	12
Neobdelani vzorci -1. odvod	63	13
Neobdelani vzorci - normalizacija	79	10

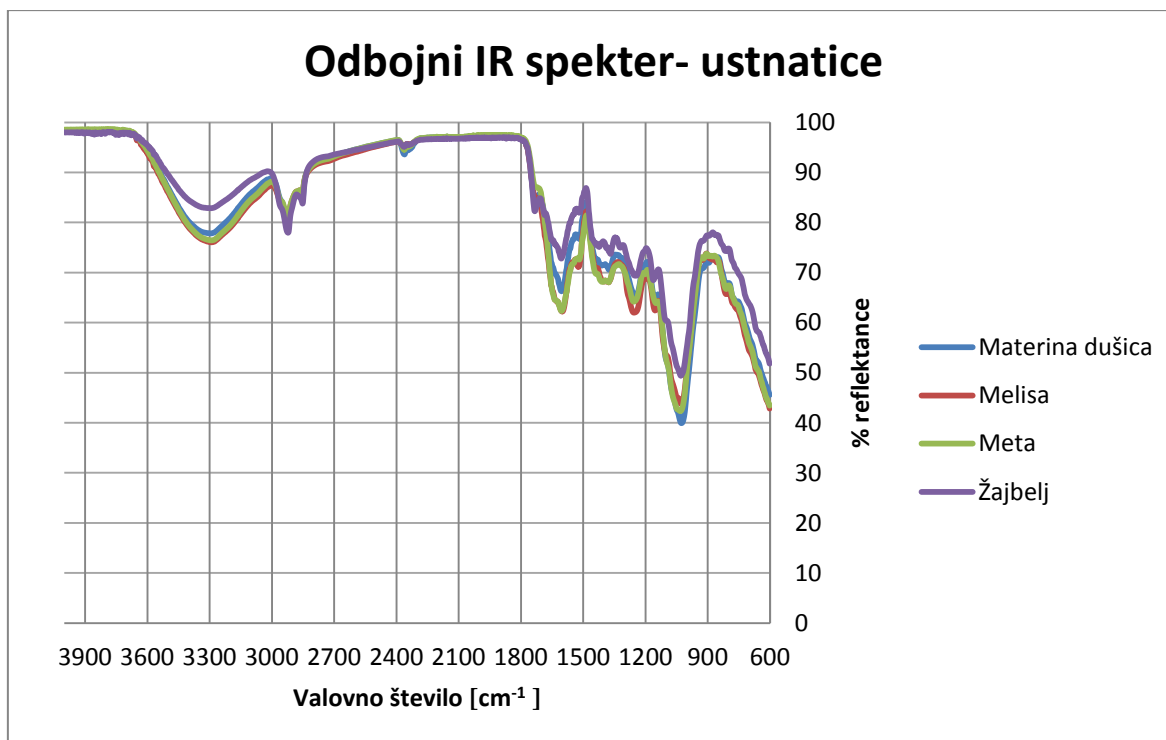
Na grafu 1 je prikazana odvisnost procenta pravilne uvrstitve vzorcev rastlinskih drog od števila spremenljivk, ki smo jih pri tem vključili v analizo. Odvisnost ima dva maksimuma, na sliki sta prikazana grafa za dva različna primera. Pri grafu s podatki KBr - normalizacija je bil prvi maksimum višji od drugega, najboljši rezultat smo dobili s 45 spremenljivkami. Pri grafu Sušeni praškasti vzorci - normalizacija je bil za razliko od prvega grafa drugi maksimum višji od prvega. V tem primeru smo dobili najboljši rezultat z 293 spremenljivkami.

**Graf 1:** Odvisnost procenta pravilne uvrstitve od števila spremenljivk, ki so vstopale v metodo

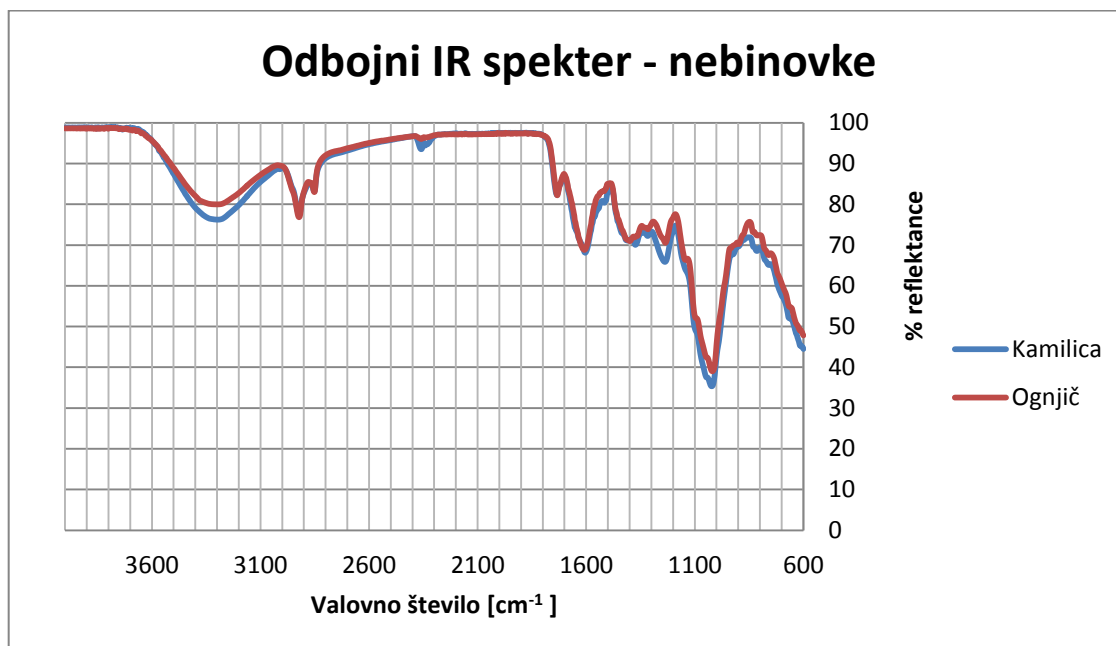


Na grafih 2, 3 in 4 so prikazani povprečni IR spektri desetih različnih rastlinskih vzorcev enokomponentnih čajev, katere smo posneli s pomočjo ATR IR spektrometra. Spektre smo posneli v območju od 600 do 4000  $\text{cm}^{-1}$ .

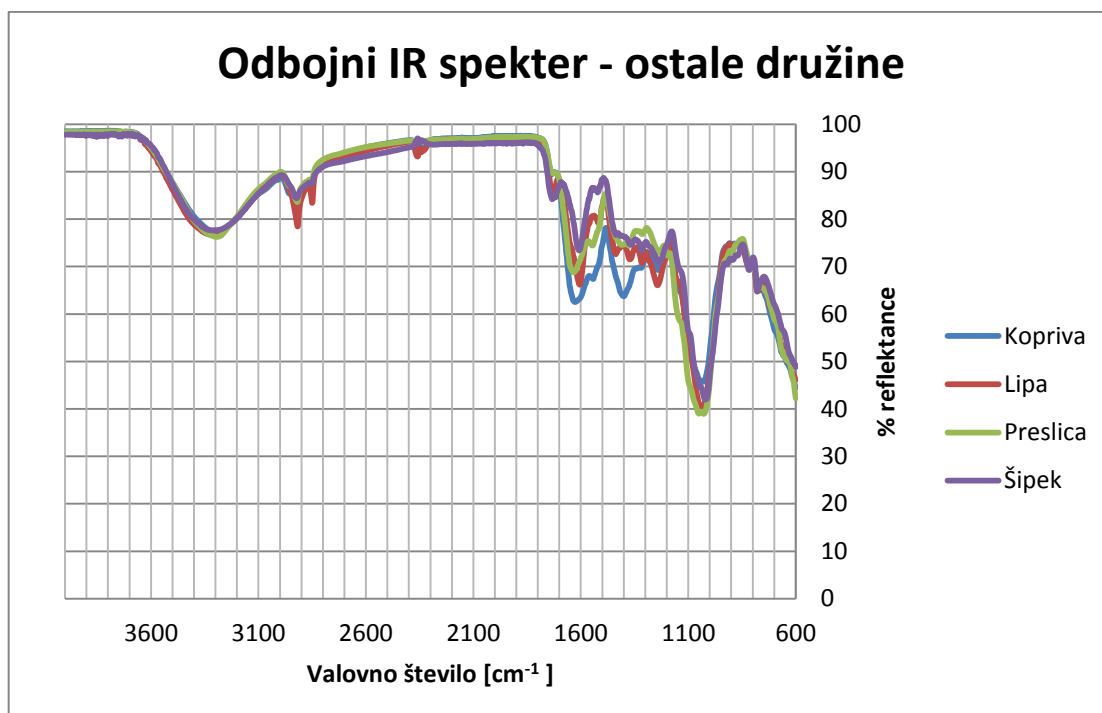
**Graf 2:** Povprečni IR spektri desetih različnih vzorcev rastlinskih drog iz družine ustnatic: materina dušica, melisa, meta in žajbelj.



**Graf 3:** Povprečna IR spektra desetih različnih vzorcev rastlinskih drog iz družine nebinovk: kamilica in ognjič.



**Graf 4:** Povprečni IR spekter desetih različnih vzorcev rastlinskih drog iz ostalih družin: kopriva, lipa, njivska preslica, šipek.



## **Zaključek**

Iz rezultatov podanih v preglednici XVIII lahko povzamemo, da je bila za uspešno identifikacijo drog s pomočjo IR spektroskopije, ključnega pomena že sama priprava vzorca. S sušeni praškasti vzorci smo z 98 % pravilno uvrstitvijo osnovnega spektra dobili najboljše rezultate. V drugem koraku nas je zanimalo, katera izmed tehnik snemanja IR spektrov torej odbojna ATR ali transmisijska KBr tehnika bo podala boljše rezultate. Kljub optimizaciji spektrov posnetih s KBr transmisijsko tehniko smo z odbojno ATR tehniko dobili boljše rezultate v primerjavi s transmisijsko KBr tehniko. Odbojna ATR tehnika snemanja spektrov je bila bistveno lažja za izvedbo in časovno manj potratna kot transmisijska KBr tehnika. V tretjem koraku smo primerjali rezultate različnih predobdelav spektrov z rezultati osnovnega spektra. S prvim odvodom smo dobili boljše rezultate medtem, ko smo z normalizacijo dobili slabše rezultate v primerjavi z osnovnim spektrom. Nadalje smo zasnovali dva različna programa za izbiro spremenljivk. Program 2 smo zasnovali z namenom, da bi izključili spremenljivke, ki bi bile med sabo odvisne, zato smo spekter razdelili na enako velika območja in izbrali po eno spremenljivko iz vsakega območja. Pri programu 1 spektra nismo delili na območja. Kljub temu smo s programom 1 dobili boljše rezultate, zato smo vso nadaljnjo analizo delali s pomočjo programa 1.

## **Zamenjave – razvoj metode**

Na podlagi metode izdelane s stotimi vzorci, kar je razvidno iz preglednice XXVI v prilogi je bil s programom 1 vzorec KamilicaHE med vsemi vzorci prave kamilice največkrat napačno identificiran, verjetno zato ker smo vzorec izolirali iz filter vrečke. Izmed vseh desetih vrst rastlinskih drog je bila vrtna materina dušica največkrat napačno identificirana. Težava je bila v tem, da so bili vzorci med seboj izjemno različni, saj so se razlikovali v razdrobljenosti droge in sestavi vzorca. Dva izmed desetih vzorcev sta vsebovala le majhne listke, ostali vzorci so poleg le teh vsebovali še primesi, cvetove oziroma večje listke. Prav tako je na uspešnost pravilne uvrstitve vzorcev rastlinskih drog vplivala čistost vzorca. Vzorce, ki so vsebovali nečistote, smo z metodo v večji meri uvrstili napačno. Do zamenjav je verjetno prišlo tudi zaradi tega, ker smo v analizo vključili dve različni vrsti materine dušice. Najbolj uspešno uvrščeni vrsti rastlinskih drog v pravilne skupine sta bili zel njivske preslice in plod navadnega šipka, kjer smo z metodo vseh dvajset sušenih praškastih vzorcev pravilno uvrstili. Oplodnja šipka in stebelca njivske preslice, ki smo jih



uporabili pri meritvah, se v veliki meri razlikujejo od vseh ostalih vzorcev, kjer smo za meritve neobdelanih vzorcev uporabili liste cvetov oziroma liste zeli.

Iz zgoraj opisanega lahko zaključimo, da je bila za uvrstitev posamezne vrste rastlinske droge v pravilno skupino pomembna že sama razdrobljenost droge, saj smo z vzorci iz filter vrečk dobili slabše rezultate. Prav tako so bile pomembne nečistote v vzorcih, ki so negativno vplivale na procent pravilne uvrstitve vzorcev rastlinskih drog. Bolj kot so si bili vzorci rastlinskih drog podobni v sestavi, boljše je bilo ujemanje.

## 4.2 ČAJNE MEŠANICE

V zadnjem koraku smo točnost metode, ki smo jo izdelali s stotimi vzorci, preverili še s pomočjo čajnih mešanic. V preglednici XX je prikazana uvrstitev trinajstih vzorcev rastlinskih drog izoliranih iz čajnih mešanic v pravilne skupine za neobdelane vzorce. Ker smo za vsak vzorec posneli tri oziroma štiri meritve je bilo skupno število posnetih spektrov 47 in ne le 39. Četrty spekter smo posneli v primeru, ko so se prvi trije spektri posameznega vzorca precej razlikovali. V nadaljnjo analizo smo vključili vse osnovne spektre in povprečno meritev za osnovni spekter, ki smo jo izračunali na podlagi treh oziroma štirih meritev posameznega vzorca rastlinske droge. Za vse spektre smo nato izračunali prvi odvod ter izvedli normalizacijo. Tako smo dobili 47 spektrov prvega odvoda in normalizacije in 13 povprečnih osnovnih spektrov, spektrov prvega odvoda ter normaliziranih spektrov vzorcev neobdelane droge izolirane iz čajnih mešanic. Program, ki smo ga zasnovali na podlagi stotih vzorcev, je prvi vzorec kamilice katerega smo izolirali iz Galexovega otroškega čaja na podlagi osnovnega spektra prepoznal kot meliso, medtem ko je na podlagi spektra obdelanega s prvim odvodom vzorec pravilno uvrstil. Podobno je program na podlagi spektra obdelanega z normalizacijo vzorec kamilice napačno prepoznal kot njivsko preslico. Procenti na dnu preglednice XX kažejo procent pravilno uvrščenih neobdelanih vzorcev rastlinskih drog v ustrezno skupino glede na različne predobdelave spektrov. Rezultati kažejo, da smo najvišji procent pravilne uvrstitve v skupino dosegli po predobdelavi spektrov z normalizacijo, vendar dobljeni rezultat 46,8 % ni zadosten. V primerjavi z ostalimi nadaljnjimi obdelavami vzorcev smo z meritvami na neobdelanih vzorcih dobili najnižjo vrednost pravilno uvrščenih vzorcev posamezne rastlinske droge v pravilne skupine.

**Preglednica XX:** Prikaz uvrstitve neobdelanih vzorcev rastlinskih drog izoliranih iz čajnih mešanic v pravilne skupine. 1sp pomeni prvi spekter, 2sp pomeni drugi spekter, itd.

Neobdelani vzorci	Osnovni spekter	Prvi odvod	Normalizacija
Kamilica: 1sp	Melisa	Kamilica	Preslica
Kamilica: 2sp	Kamilica	Kamilica	Kamilica
Kamilica: 3sp	Kamilica	Kamilica	Kamilica
Kamilica2: 1sp	Kamilica	Kamilica	Meta
Kamilica2: 2sp	Kamilica	Kamilica	Kamilica
Kamilica2: 3sp	Kamilica	Ognjič	Meta
Kopriva: 1sp	Meta	Lipa	Preslica
Kopriva: 2sp	Melisa	Melisa	Preslica
Kopriva: 3sp	Kopriva	Melisa	Preslica
Kopriva: 4sp	Materina dušica	Kopriva	Kopriva
Lipa: 1sp	Lipa	Materina dušica	Kopriva
Lipa: 2sp	Lipa	Preslica	Lipa
Lipa: 3sp	Meta	Lipa	Lipa
Lipa: 4sp	Lipa	Lipa	Lipa
Lipa2: 1sp	Kopriva	Meta	Preslica
Lipa2: 2sp	Lipa	Lipa	Lipa
Lipa2: 3sp	Lipa	Lipa	Lipa
Materina dušica: 1sp	Melisa	Materina dušica	Meta
Materina dušica: 2sp	Materina dušica	Materina dušica	Lipa
Materina dušica: 3sp	Materina dušica	Kopriva	Materina dušica
Materina dušica: 4sp	Materina dušica	Materina dušica	Meta
Melisa: 1sp	Materina dušica	Kopriva	Preslica
Melisa: 2sp	Melisa	Kopriva	Melisa
Melisa: 3sp	Melisa	Kopriva	Kopriva
Melisa: 4sp	Materina dušica	Kopriva	Meta
Meta: 1sp	Materina dušica	Materina dušica	Kamilica
Meta: 2sp	Materina dušica	Meta	Preslica
Meta: 3sp	Materina dušica	Kopriva	Kopriva
Meta2: 1sp	Melisa	Meta	Melisa
Meta2: 2sp	Materina dušica	Meta	Preslica
Meta2: 3sp	Melisa	Ognjič	Melisa
Meta2: 1sp	Melisa	Kamilica	Preslica
Ognjič: 2sp	Melisa	Melisa	Kamilica
Ognjič: 3sp	Ognjič	Melisa	Ognjič
Ognjič: 4sp	Materina dušica	Kamilica	Meta

Preslica: 1sp	Melisa	Kamilica	Preslica
Preslica: 2sp	Melisa	Preslica	Preslica
Preslica: 3sp	Materina dušica	Melisa	Preslica
Preslica: 4sp	Melisa	Preslica	Preslica
Preslica2: 1sp	Melisa	Kopriva	Preslica
Preslica2: 2sp	Preslica	Preslica	Preslica
Preslica2: 3sp	Preslica	Kopriva	Preslica
Preslica2: 4sp	Materina dušica	Kopriva	Preslica
Šipek: 1sp	Šipek	Melisa	Šipek
Šipek: 2sp	Melisa	Materina dušica	Preslica
Šipek: 3sp	Šipek	Melisa	Šipek
Šipek: 4sp	Melisa	Melisa	Šipek
<b>Procent</b>	<b>44,7</b>	<b>40,4</b>	<b>46,8</b>

Preglednica XXI prikazuje uvrstitev trinajstih vzorcev posameznih rastlinskih drog izoliranih iz čajnih mešanic v pravilne skupine za mlete vzorce. Ker smo za vsak vzorec posneli tri oziroma štiri meritve je bilo skupno število posnetih spektrov 41 in ne le 39. Četrty spekter smo posneli v primeru, ko so se prvi trije spektri posameznega vzorca precej razlikovali. V nadaljnjo analizo smo vključili vse osnovne spektre in povprečno meritev za osnovni spekter, ki smo jo izračunali na podlagi treh oziroma štirih meritev posameznega vzorca rastlinske droge. Za vse spektre smo nato izračunali prvi odvod ter izvedli normalizacijo. Tako smo dobili 41 spektrov prvega odvoda in normalizacije in 13 povprečnih osnovnih spektrov, spektrov prvega odvoda ter normaliziranih spektrov vzorcev mlete droge izolirane iz čajne mešanice. Procenti na dnu preglednice XXI kažejo boljše rezultate v primerjavi z rezultati za neobdelane vzorce. Na podlagi tega lahko sklenemo, da mletje kot priprava vzorca, prispeva k boljšemu uvrščanju vzorcev rastlinskih drog v pravilne skupine. Normalizacija se je v tem primeru izkazala kot najustreznejša predobdelava spektrov, saj smo z njo v 95,1 % uvrstili vzorce rastlinskih drog v pravilno skupino.

**Preglednica XXI:** Prikaz uvrstitve mletih vzorcev rastlinskih drog izoliranih iz čajnih mešanic v pravilne skupine. 1sp pomeni prvi spekter, 2sp pomeni drugi spekter, itd.

Mleti vzorci	Osnovni spekter	1. odvod	Normalizacija
Kamilica: 1sp	Kamilica	Kamilica	Kamilica
Kamilica: 2sp	Kamilica	Kamilica	Kamilica
Kamilica: 3sp	Kamilica	Kamilica	Kamilica
Kamilica2: 1sp	Ognjič	Kamilica	Kamilica

Kamilica2: 2sp	Žajbelj	Kamilica	Kamilica
Kamilica2: 3sp	Ognjič	Kamilica	Kamilica
Kopriva: 1sp	Preslica	Kopriva	Kopriva
Kopriva: 2sp	Kopriva	Preslica	Materina dušica
Kopriva: 3sp	Kopriva	Kopriva	Materina dušica
Lipa: 1sp	Žajbelj	Lipa	Lipa
Lipa: 2sp	Žajbelj	Lipa	Lipa
Lipa: 3sp	Lipa	Lipa	Lipa
Lipa2: 1sp	Šipek	Kamilica	Lipa
Lipa2: 2sp	Lipa	Materina dušica	Lipa
Lipa2: 3sp	Lipa	Kamilica	Lipa
Materina dušica: 1sp	Žajbelj	Materina dušica	Materina dušica
Materina dušica: 2sp	Materina dušica	Materina dušica	Materina dušica
Materina dušica: 3sp	Žajbelj	Materina dušica	Materina dušica
Materina dušica: 4sp	Preslica	Preslica	Melisa
Melisa: 1sp	Melisa	Melisa	Melisa
Melisa: 2sp	Materina dušica	Melisa	Melisa
Melisa: 3sp	Melisa	Melisa	Melisa
Melisa: 4sp	Melisa	Melisa	Melisa
Meta: 1sp	Meta	Meta	Meta
Meta: 2sp	Meta	Meta	Meta
Meta: 3sp	Meta	Meta	Meta
Meta2: 1sp	Materina dušica	Meta	Meta
Meta2: 2sp	Meta	Meta	Meta
Meta2: 3sp	Meta	Meta	Meta
Ognjič: 1sp	Ognjič	Ognjič	Ognjič
Ognjič: 2sp	Ognjič	Ognjič	Ognjič
Ognjič: 3sp	Ognjič	Ognjič	Ognjič
Preslica: 1sp	Preslica	Preslica	Preslica
Preslica: 2sp	Preslica	Preslica	Preslica
Preslica: 3sp	Preslica	Preslica	Preslica
Preslica2: 1sp	Preslica	Preslica	Preslica
Preslica2: 2sp	Preslica	Melisa	Preslica
Preslica2: 3sp	Preslica	Preslica	Preslica
Šipek: 1sp	Šipek	Šipek	Šipek
Šipek: 2sp	Šipek	Šipek	Šipek
Šipek: 3sp	Šipek	Šipek	Šipek
<b>Procent</b>	<b>75,6</b>	<b>85,4</b>	<b>95,1</b>

Preglednica XXII prikazuje uvrstitev trinajstih vzorcev rastlinskih drog izoliranih iz čajnih mešanic v pravilne skupine za sušene praškaste vzorce. Ker smo za vsak vzorec posneli tri oziroma štiri meritve je bilo skupno število posnetih spektrov 40 in ne le 39. Četrti spekter smo posneli v primeru, ko so se prvi trije spektri posameznega vzorca precej razlikovali. V nadaljnjo analizo smo vključili vse osnovne spektre in povprečno meritev za osnovni spekter, ki smo jo izračunali na podlagi treh oziroma štirih meritev posameznega vzorca rastlinske droge. Za vse spektre smo nato izračunali prvi odvod ter izvedli normalizacijo. Tako smo dobili 40 spektrov prvega odvoda in normalizacije in 13 povprečnih osnovnih spektrov, spektrov prvega odvoda ter normaliziranih spektrov vzorcev sušene praškaste droge izolirane iz čajnih mešanic. V primerjavi s celimi in mletimi vzorci se je sušenje izkazalo kot ustrezno, saj so procenti pravilne uvrstitve v skupine višji kot pri neobdelanih in mletih vzorcih. Izstopa le normalizacija kot predobdelava spektra saj smo z njo mlete vzorce bolje uvrstili v skupine kot pa sušene praškaste vzorce. S prvim odvodom spektra smo v 97,5 % uvrstili vzorce v pravilne skupine, kar kaže na visoko zanesljivost metode.

**Preglednica XXII:** Prikaz uvrstitve sušenih praškastih vzorcev rastlinskih drog izoliranih iz čajnih mešanic v pravilne skupine. 1sp pomeni prvi spekter, 2sp pomeni drugi spekter, itd.

Sušeni praškasti vzorci	Osnovni spekter	Prvi odvod	Normalizacija
Kamilica: 1sp	Kamilica	Kamilica	Kamilica
Kamilica: 2sp	Kamilica	Kamilica	Kamilica
Kamilica: 3sp	Kamilica	Kamilica	Ognjič
Kamilica2: 1sp	Kamilica	Kamilica	Kamilica
Kamilica2: 2sp	Kamilica	Kamilica	Kamilica
Kamilica2: 3sp	Kamilica	Kamilica	Kamilica
Kopriva: 1sp	Kopriva	Kopriva	Kopriva
Kopriva: 2sp	Kopriva	Kopriva	Kopriva
Kopriva: 3sp	Kopriva	Kopriva	Kopriva
Lipa: 1sp	Lipa	Lipa	Lipa
Lipa: 2sp	Lipa	Lipa	Lipa
Lipa: 3sp	Lipa	Lipa	Lipa
Lipa2: 1sp	Lipa	Lipa	Lipa
Lipa2: 2sp	Lipa	Lipa	Lipa
Lipa2: 3sp	Lipa	Lipa	Lipa
Materina dušica: 1sp	Kopriva	Meta	Žajbelj

Materina dušica: 2sp	Materina dušica	Materina dušica	Materina dušica
Materina dušica: 3sp	Materina dušica	Materina dušica	Materina dušica
Melisa: 1sp	Melisa	Melisa	Šipek
Melisa: 2sp	Melisa	Melisa	Melisa
Melisa: 3sp	Melisa	Melisa	Melisa
Melisa: 4sp	Melisa	Melisa	Melisa
Meta: 1sp	Melisa	Meta	Meta
Meta: 2sp	Meta	Meta	Meta
Meta: 3sp	Meta	Meta	Meta
Meta2: 1sp	Meta	Meta	Meta
Meta2: 2sp	Meta	Meta	Meta
Meta2: 3sp	Kopriva	Meta	Meta
Ognjič: 1sp	Šipek	Ognjič	Ognjič
Ognjič: 2sp	Šipek	Ognjič	Ognjič
Ognjič: 3sp	Kamilica	Ognjič	Ognjič
Preslica: 1sp	Preslica	Preslica	Preslica
Preslica: 2sp	Preslica	Preslica	Preslica
Preslica: 3sp	Preslica	Preslica	Preslica
Preslica2: 1sp	Lipa	Preslica	Preslica
Preslica2: 2sp	Preslica	Preslica	Preslica
Preslica2: 3sp	Lipa	Preslica	Preslica
Šipek: 1sp	Šipek	Šipek	Kopriva
Šipek: 2sp	Šipek	Šipek	Šipek
Šipek: 3sp	Šipek	Šipek	Melisa
<b>Procent</b>	<b>80</b>	<b>97,5</b>	<b>87,5</b>

Preglednica XXIII prikazuje uvrstitev trinajstih vzorcev rastlinskih drog izoliranih iz čajnih mešanic v pravilne skupine za tabletko s KBr. Posneli smo 39 spektrov. V nadaljnjo analizo smo vključili vse osnovne spektre in povprečno meritev za osnovni spekter, ki smo jo izračunali na podlagi treh meritev posameznega vzorca rastlinske droge. Za vse spektre smo nato izračunali prvi odvod in normalizacijo. Tako smo dobili 39 spektrov prvega odvoda in normalizacije in 13 povprečnih osnovnih spektrov, spektrov prvega odvoda ter normaliziranih spektrov. S predhodno pripravo vzorca v tabletko s KBr smo dobili višji delež pravilne uvrstitve vzorcev v skupine kot pri neobdelanih in mletih vzorcih in primerljivega s sušenimi praškastimi vzorci. Tako lahko zaključimo, da je tehnika

snemanja s Spektrometrom Perkin Elmer FTIR 1600, ki spada med transmisijske tehnike, primerljiva ATR tehniki, ki spada med odbojne tehnike. S prvim odvodom spektra smo v 97,4 % uvrstili vzorce v pravilne skupine, kar kaže na visoko zanesljivost metode.

**Preglednica XXIII:** Prikaz uvrstitve vzorcev rastlinskih drog izoliranih iz čajnih mešanic v pravilne skupine za tabletko s KBr. 1sp pomeni prvi spekter, 2sp pomeni drugi spekter, itd.

KBr	Osnovni spekter	Prvi odvod	Normalizacija
Kamilica: 1sp	Ognjič	Kamilica	Ognjič
Kamilica: 2sp	Kamilica	Kamilica	Kamilica
Kamilica: 3sp	Kamilica	Kamilica	Kamilica
Kamilica2: 1sp	Preslica	Kamilica	Kamilica
Kamilica2: 2sp	Ognjič	Kamilica	Kamilica
Kamilica2: 3sp	Ognjič	Kamilica	Kamilica
Kopriva: 1sp	Kopriva	Kopriva	Kopriva
Kopriva: 2sp	Kopriva	Kopriva	Kopriva
Kopriva: 3sp	Kopriva	Kopriva	Kopriva
Lipa: 1sp	Meta	Lipa	Lipa
Lipa: 2sp	Meta	Lipa	Lipa
Lipa: 3sp	Meta	Lipa	Lipa
Lipa2: 1sp	Lipa	Lipa	Lipa
Lipa2: 2sp	Lipa	Lipa	Lipa
Lipa2: 3sp	Lipa	Lipa	Lipa
Materina dušica: 1sp	Materina dušica	Materina dušica	Materina dušica
Materina dušica: 2sp	Žajbelj	Materina dušica	Žajbelj
Materina dušica: 3sp	Žajbelj	Materina dušica	Materina dušica
Melisa: 1sp	Melisa	Melisa	Melisa
Melisa: 2sp	Melisa	Melisa	Melisa
Melisa: 3sp	Melisa	Melisa	Melisa
Meta: 1sp	Meta	Meta	Meta
Meta: 2sp	Materina dušica	Meta	Kopriva
Meta: 3sp	Meta	Meta	Kopriva
Meta2: 1sp	Materina dušica	Meta	Meta
Meta2: 2sp	Meta	Meta	Meta
Meta2: 3sp	Meta	Meta	Meta
Ognjič: 1sp	Ognjič	Ognjič	Ognjič
Ognjič: 2sp	Ognjič	Ognjič	Ognjič
Ognjič: 3sp	Ognjič	Ognjič	Ognjič
Preslica: 1sp	Preslica	Preslica	Preslica

Preslica: 2sp	Preslica	Preslica	Preslica
Preslica: 3sp	Preslica	Preslica	Preslica
Preslica2: 1sp	Preslica	Preslica	Preslica
Preslica2: 2sp	Preslica	Preslica	Preslica
Preslica2: 3sp	Preslica	Kopriva	Preslica
Šipek: 1sp	Šipek	Šipek	Šipek
Šipek: 2sp	Šipek	Šipek	Šipek
Šipek: 3sp	Šipek	Šipek	Šipek
Procent	<b>71,8</b>	<b>97,4</b>	<b>89,7</b>

V preglednicah XXIV in XXV je prikaz uvrstitve povprečnih spektrov rastlinskih drog izoliranih iz čajnih mešanic. Ugotovimo lahko, da je bilo povprečenje uspešno v vseh primerih razen pri mletih vzorcih, kjer so bili procenti pravilne uvrstitve v skupine nižji kot pred povprečenjem podatkov. V vseh ostalih primerih so se procenti pravilne uvrstitve rastlinskih drog v skupine povišali. Neobdelane vzorce smo tudi v tem primeru najmanj uspešno uvrstili v skupine, medtem ko smo sušene praškaste vzorce rastlinskih drog najboljše uvrstili v skupine. Procent pravilno uvrščenih vzorcev rastlinskih drog v skupine pri sušenih praškastih vzorcih po predobdelavi spektrov s prvim odvodom in normalizacijo je bil 100 %, kar pomeni, da smo z metodo vse vzorce uvrstili v pravilno skupino. 100 % pravilno uvrstitev v skupine smo dosegli tudi po predobdelavi spektrov s prvim odvodom za vzorce z izdelavo tabletk s KBr.

**Preglednica XXIV:** Prikaz uvrstitve povprečnih spektrov treh oziroma štirih meritev neobdelanih in mletih vzorcev rastlinskih drog izoliranih iz čajnih mešanic v pravilne skupine, kjer Neobdelani vzorci-O pomeni Neobdelani vzorci - osnovni spekter, 1.O – prvi odvod spektra, N – normalizacija osnovnega spektra in Mleti vzorci-O pomeni Mleti vzorci – osnovni spekter.

	Neobdelani vzorci-O	1. O	N	Mleti vzorci-O	1. O	N
Kamilica1	Kamilica	Kamilica	Preslica	Kamilica	Kamilica	Kamilica
Kamilica2	Kamilica	Kamilica	Kamilica	Ognjič	Kamilica	Kamilica
Kopriva	Meta	Melisa	Preslica	Kopriva	Preslica	Materina dušica
Lipa1	Lipa	Lipa	Lipa	Kamilica	Lipa	Lipa
Lipa2	Lipa	Lipa	Lipa	Lipa	Materina dušica	Lipa
Materina Dušica	Materina dušica	Materina dušica	Materina dušica	Žajbelj	Materina dušica	Materina dušica



Melisa	Melisa	Kopriva	Kopriva	Melisa	Melisa	Melisa
Meta1	Materina dušica	Kopriva	Meta	Meta	Meta	Meta
Meta2	Melisa	Kamilica	Preslica	Materina dušica	Meta	Meta
Ognjič	Ognjič	Melisa	Kamilica	Ognjič	Ognjič	Ognjič
Preslica1	Melisa	Preslica	Preslica	Preslica	Preslica	Preslica
Preslica2	Preslica	Kopriva	Preslica	Preslica	Preslica	Preslica
Šipek	Melisa	Melisa	Lipa	Šipek	Šipek	Šipek
<b>Procent</b>	<b>61,5</b>	<b>46,2</b>	<b>53,8</b>	<b>69,2</b>	<b>84,6</b>	<b>92,3</b>

**Preglednica XXV:** Prikaz uvrstitve povprečnih spektrov treh oziroma štirih meritev rastlinskih drog izoliranih iz čajnih mešanic za sušene praškaste vzorce in tabletko s KBr v pravilne skupine, kjer Sušeni praškasti vzorci-O pomeni sušeni praškasti vzorci-osnovni spekter, 1.O – prvi odvod spektra, N – normalizacija osnovnega spektra in KBr-O pomeni KBr – osnovni spekter.

	Sušeni praškasti vzorci-O	1. O	N	KBr-O	1. O	N
Kamilica1	Kamilica	Kamilica	Kamilica	Kamilica	Kamilica	Lipa
Kamilica2	Kamilica	Kamilica	Kamilica	Meta	Kamilica	Kamilica
Kopriva	Kopriva	Kopriva	Kopriva	Kopriva	Kopriva	Kopriva
Lipa1	Lipa	Lipa	Lipa	Meta	Lipa	Lipa
Lipa2	Lipa	Lipa	Lipa	Lipa	Lipa	Lipa
Materina dušica	Materina dušica	Materina dušica	Materina dušica	Žajbelj	Materina dušica	Materina dušica
Melisa	Melisa	Melisa	Melisa	Melisa	Melisa	Melisa
Meta1	Meta	Meta	Meta	Meta	Meta	Meta
Meta2	Meta	Meta	Meta	Meta	Meta	Meta
Ognjič	Šipek	Ognjič	Ognjič	Ognjič	Ognjič	Ognjič
Preslica1	Preslica	Preslica	Preslica	Preslica	Preslica	Preslica
Preslica2	Preslica	Preslica	Preslica	Preslica	Preslica	Preslica
Šipek	Šipek	Šipek	Šipek	Šipek	Šipek	Šipek
<b>Procent</b>	<b>92,3</b>	<b>100</b>	<b>100</b>	<b>84,6</b>	<b>100</b>	<b>92,3</b>

## Zaključek

Tudi pri uvrščanju vzorcev rastlinskih drog izoliranih iz čajnih mešanic v pravilne skupine se je že v prvem koraku kot ključnega pomena izkazala sama priprava vzorca. S sušenimi praškastimi vzorci smo s pomočjo metode tudi v tem primeru v 97,5 % pred povprečenjem podatkov in nadalje v 100 % po povprečenju podatkov pravilno uvrstili vzorce rastlinskih drog v ustrezne skupine. Ta podatka le še potrjujeta naš sklep, da je za ta način obdelave

vzorcev IR spektroskopija primerna in zanesljiva metoda za razločevanje rastlinskih drog. Pravzaprav že samo mletje pripomore k boljšemu uvrščanju v skupine, kar je razvidno iz meritev opravljenih na neobdelanih vzorcih, saj smo z njimi dosegli najnižje procente pravilne uvrstitve v skupine. Z mletjem smo namreč povečali homogenost vzorca. Neobdelani vzorci so bili zahtevnejši za opravljanje meritev zaradi različne debeline in strukture listov znotraj posamezne rastlinske vrste, prav tako smo morali paziti na žile in razpoke listov. V primerjavi med odbojno ATR in transmisijsko KBr tehniko snemanja IR spektrov smo tudi v tem primeru ugotovili, da je bila transmisijska KBr tehnika primerljiva odbojni ATR tehniki, saj so bili procenti pravilne uvrstitve v skupine med obema tehnikama snemanja dokaj podobni. Predobdelava spektrov se je pri treh setih meritev izkazala kot uspešna, le v primeru mletih vzorcev so bili rezultati tako za prvi odvod kot normalizacijo po predobdelavi spektrov slabši. S pomočjo prvega odvoda in normalizacije sušenih praškastih vzorcev ter s prvim odvodom spektrov posnetih s transmisijsko KBr tehniko smo dobili 100 % pravilno uvrstitev rastlinskih drog v ustrezne skupine, kar le še potrjuje dejstvo, da je za te tri načine obdelave vzorcev in predobdelave spektrov IR spektroskopija primerna metoda za prepoznavanje rastlinskih vrst.

### **Zamenjave – čajne mešanice**

Na podlagi preglednic XXIV in XXV lahko vidimo, da je bil vzorec prave kamilice izoliran iz čajne mešanice enkrat identificiran kot vrtni ognjič, kar je verjetno posledica tega, da obe vrsti rastlinskih drog spadata v družino nebinovk. Prav tako so bile prisotne zamenjave vrst rastlinskih drog znotraj družine ustnatic, kjer so bili vzorci zeli vrtno materine dušice identificirani kot listi žajblja. Za vrtno materino dušico je bilo značilno, da so bili v vzorcu izoliranem iz čajne mešanice prisotni samo mladi listki sivkaste barve, medtem ko so bili pri metodi narejeni na stotih vzorcih listki različnih barvnih odtenkov. List poprove mete je bil enkrat identificiran kot list navadne melise, pogosteje pa je bil identificiran kot zel materine dušice, torej je šlo za zamenjavo znotraj družine ustnatic.

## 5 SKLEP

Pri razvoju metode, ki smo jo zasnovali v okviru magistrske naloge na podlagi infrardeče spektroskopije smo ugotovili, da je sušenje in mletje ugodno vplivalo na uspešnost analize, saj smo s sušenimi praškastimi vzorci v 98 % dosegli pravilno uvrstitev vzorcev rastlinskih drog v ustrezno skupino. Z neobdelani vzorci, torej brez dodatne obdelave smo v 81 % dosegli pravilno uvrstitev osnovnega spektra in s tem tudi dosegli najnižjo uvrstitev. Predobdelava spektrov v nadaljnjem koraku se je izkazala za smiselno, saj smo s prvim odvodom pri treh od štirih tehnik obdelave vzorcev izboljšali procent pravilne uvrstitve rastlinskih drog v ustrezne skupine. Normalizacija kot predobdelava spektrov se je izkazala za manj ustrezno, saj smo z njo v vseh štirih primerih procent pravilne uvrstitve v skupine poslabšali. Nadalje smo preučili vpliv tehnike snemanja IR spektrov, kjer smo ugotovili, da je odbojna ATR tehnika zanesljivejša od transmissijske KBr tehnike, so pa rezultati obeh tehnik dokaj primerljivi. S prvim odvodom transmissijske KBr tehnike smo v 94 % pravilno uvrstili vzorce v skupine, kar je primerljivo s prvim odvodom odbojne tehnike za sušene praškaste vzorce, kjer smo v 96 % pravilno uvrstili vzorce. V zadnjem koraku smo točnost metode izdelane na osnovi stotih vzorcev preverili s pomočjo trinajstih vzorcev rastlinskih drog izoliranih iz sedmih čajnih mešanic. Sušeni praškasti vzorci so se izkazali kot najuspešnejši, saj smo s pomočjo prvega odvoda in normalizacije osnovnega spektra dosegli 100 % uvrstitev izoliranih vzorcev v pravilno skupino. Prav tako smo s prvim odvodom spektrov posnetih s transmissijsko KBr tehniko dobili 100 % pravilno uvrstitev rastlinskih drog izoliranih iz čajnih mešanic v ustrezne skupine.

Iz dobljenih rezultatov lahko zaključimo, da je IR spektroskopija v obeh tehnikah snemanja primerna metoda za prepoznavanje rastlinskih drog. Z metodo lahko zanesljivo razločujemo med različnimi enokomponentnimi čaji, vendar le po primerni obdelavi vzorcev in predobdelavi spektrov s prvim odvodom. To smo potrdili tudi s pomočjo vzorcev izoliranih iz čajnih mešanic, zato bi metoda lahko bila primerna tudi v nadzoru kakovosti rastlinskega materiala v farmacevtski industriji.

Rezultati našega eksperimentalnega dela so bili sprejeti v objavo v članku Herbal tea identification using mid-infrared spectroscopy v reviji *Planta Medica*.

## LITERATURA

1. Kremer B. P: Zdravilne rastline, Didakta d.o.o., Radovljica, 2007; 59-205
2. Willfort R: Zdravilne rastline in njih uporaba, Obzorja, Maribor, 1997; 155-413
3. Kreft S: Sodobna fitoterapija: z dokazi podprta uporaba zdravilnih rastlin, Slovensko farmacevtsko društvo, Ljubljana, 2013; 44-489
4. Živko U: Enciklopedija rastlin, Chamomilla recutita, Kamilica:  
<http://www.avogel.si/enciklopedija-rastlin/Kamilica.php>, datum dostopa: 18.06.2014
5. Galle-Toplak K: Zdravilne rastline na Slovenskem, Mladinska knjiga, Ljubljana 2008;
6. Živko U: Enciklopedija rastlin, Urtica dioica, Velika kopriva:  
<http://www.avogel.si/enciklopedija-rastlin/velika-kopriva.php>, datum dostopa: 18.06.2014
7. Marinčič A, Wraber T, Jorgan N, Ravnik V, Podobnik A, Turk B, Vreš B: Mala flora Slovenije, Tehniška založba Slovenije, Ljubljana, 1999; 267-268
8. Vogel A: Ljudski zdravnik, Mladinska knjiga, Ljubljana, 1975; 25
9. Živko U: Enciklopedija rastlin, Thymus vulgaris, Pravi timijan:  
<http://www.avogel.si/enciklopedija-rastlin/timijan.php>, datum dostopa: 18.06.2014
10. Živko U: Enciklopedija rastlin, Melissa officinalis, Melisa:  
<http://www.avogel.si/enciklopedija-rastlin/melisa.php>, datum dostopa: 18.06.2014
11. Živko U: Enciklopedija rastlin, Mentha x piperita, Poprova meta:  
<http://www.avogel.si/enciklopedija-rastlin/poprova-meta.php>, datum dostopa 18.06.2014
12. Njivska preslica, Dvorec Trebnik: Njivska preslica:  
<http://www.trebnik.com/dvorec/zeliscarjev-vrticek/o-zeliscih/njivska-preslica/?L=0>, datum dostopa: 15.04.2014
13. Živko U: Enciklopedija rastlin, Calendula officinalis, Vrtni ognjič:  
<http://www.avogel.si/enciklopedija-rastlin/vrtni-ognjic.php>, datum dostopa: 18.06.2014
14. Živko U: Enciklopedija rastlin, Rosa Canina, Šipek:  
<http://www.avogel.si/enciklopedija-rastlin/sipek.php>, datum dostopa: 18.06. 2014
15. Živko U: Enciklopedija rastlin, Salvia officinalis, Žajbelj:  
<http://www.avogel.si/enciklopedija-rastlin/zajbelj.php>, datum dostopa: 18.06. 2014
16. Günzler H, Gremlich H: IR Spectroscopy, Wiley-VCH Verlag GmbH, Weinheim, 2002: 1-6, 81-142.

17. Kokalj M: Identifikacija rastlinskih vrst s pomočjo infrardeče spektroskopije. Doktorska disertacija, Fakulteta za farmacijo, 2012
18. Eu Ph. English edition 8.0, Volume I, 01/2014, 62-67
19. Singh SK, Jha SK, Chaudhary A, Yadava RD, Rai SB: Quality control of herbal medicines by using spectroscopic techniques and multivariate statistical analysis, Pharm Biol. 2010; 48(2): 134-141.
20. Sun S<sup>1</sup>, Chen J, Zhou Q, Lu G, Chan K: Application of mid-infrared spectroscopy in the quality control of traditional Chinese medicines, Planta Med. 2010 Dec;76(17): 1987-96.
21. Pavia D, Lampman G, Kriz G, Vyvyan J: Introduction to Spectroscopy, 4th Edition, Brooks/Cole, Cengage Learning, 2009: 15-31.
22. Skoog D, Holler J, Nieman T: Principles of Instrumental Analysis, 5th Edition, Harcourt Brace & Company, Florida, 1998, 380-428
23. Fakulteta za kemijo in kemijsko tehnologijo: Infrardeča spektroskopija: <http://www.fkkt.uni-lj.si/attachments/dsk6496/03-infra.pdf>, datum dostopa 29.08.2014
24. Stuart B: Infrared Spectroscopy: Fundamentals and Applications, Wiley, Chichester, 2004; 1-56
25. Adamič Š: Temelji biostatistike, Partizanska knjiga, TOZD, Ljubljana, 1980: 93-97, 118-122.
26. Sanford B: Pharmaceutical Statistics: practical and clinical applications, third edition, Marcel Dekker, Inc., New York, 1997: 265-325.
27. Batagelj V: Fakulteta za matematiko in fiziko: Metoda glavnih komponent: <http://vlado.fmf.uni-lj.si/vlado/podstat/Mva/PCA.pdf>, datum dostopa 07.04.2014
28. Kovačič M: On-line slovarček statističnih pojmov: Osnovna statistična analiza: <http://www.ljudmila.org/matej/statistika/mva.html>, datum dostopa 07.04.2014
29. McLachlan G: Discriminant Analysis and Statistical Pattern Recognition, Wiley Interscience, 2004.
30. Hair Jr J F, Anderson RE, Tatham RE: Multivariate Data Analysis with readings, Second Edition, ZDA, 1987, 295-336.
31. Vermaak I, Viljoen A, Lindström SW: Hyperspectral imaging in the quality control of herbal medicines - the case of neurotoxic Japanese star anise, J Pharm Biomed Anal. 2013 Mar 5;75:207-13.

32. Zhu J<sup>1</sup>, Fan X<sup>1</sup>, Cheng Y<sup>1</sup>, Agarwal R<sup>2</sup>, Moore CM<sup>2</sup>, Chen ST<sup>3</sup>, Tong W<sup>4</sup>:  
Chemometric analysis for identification of botanical raw materials for pharmaceutical use: a case study using *Panax notoginseng*, PLoS One. 2014 Jan 31;9(1):e87462. doi: 10.1371/journal.pone.0087462. eCollection 2014.
33. Omahen Bratuša J: Ugotavljanje vrstne pripadnosti vzorcev iz rodov *Hypericum* in *Epilobium* z infrardečo spektroskopijo. Diplomski naloga. Fakulteta za farmacijo, 2009.
34. Rihtarič M: Ugotavljanje vrstne pripadnosti vzorcev vrbovcev in krčnic s transmisijsko infrardečo spektroskopijo. Diplomski naloga. Fakulteta za farmacijo, 2010
35. Pišek L: Uporaba infrardeče spektroskopije za ugotavljanje fitokemijskih lastnosti lubja jelke in listov vinske trte. Diplomski naloga. Fakulteta za farmacijo, 2011
36. Kokalj M, Štih K, Kreft S: <http://dx.doi.org/10.1055/s-0034-1382904> *Planta Med* 2014; 80: 1–6

# PRILOGE

**Preglednica XXVI:** Prikaz uvrstitve mletih praškastih vzorcev za osnovni spekter - Os. Sp, prvi odvod spektra - 1.O in normaliziran spekter – N.

Mleti praškasti vzorci	Os.	Sp.	1.O	N	Os.	Sp.	1.O	N	Os.	Sp.	1.O	N	
KamilicaCE	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0
KamilicaD	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0
KamilicaF	1	1	1	1	1	1	1	0	6	1	1	1	1
KamilicaGA	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0
KamilicaHE	1	1	0	7	1	1	0	7	1	1	1	1	2
KamilicaH	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0
KamilicaO	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0
KamilicaP	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0
KamilicaS	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0
KamilicaZ	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0
KoprivaCE	1	2	1	2	1	2	1	2	1	2	1	2	0
KoprivaD	1	2	1	2	1	2	1	2	1	2	1	2	0
KoprivaF	1	2	1	2	1	2	1	2	1	2	1	2	0
KoprivaGA	1	2	1	2	1	2	1	2	1	2	1	2	0
KoprivaH	1	2	1	2	1	2	1	2	0	10	0	10	2
KoprivaMA	1	2	1	2	1	2	1	2	1	2	1	2	0
KoprivaM	1	2	1	2	1	2	1	2	1	2	1	2	0
KoprivaO	1	2	1	2	1	2	1	2	1	2	1	2	0
KoprivaP	1	2	1	2	1	2	1	2	1	2	1	2	0
KoprivaT	1	2	1	2	1	2	1	2	1	2	1	2	0
LipaCE	1	3	1	3	1	3	1	3	1	3	1	3	0
LipaD	1	3	1	3	1	3	1	3	0	7	1	3	1
LipaF	1	3	1	3	1	3	1	3	1	3	1	3	0
LipaG	1	3	1	3	1	3	1	3	1	3	1	3	0
LipaM	1	3	1	3	1	3	1	3	1	3	1	3	0
LipaO	1	3	1	3	1	3	1	3	1	3	1	3	0
LipaP	1	3	1	3	1	3	1	3	0	7	1	3	1
LipaT	1	3	1	3	1	3	1	3	1	3	1	3	0
LipaW	1	3	1	3	1	3	1	3	1	3	1	3	0
LipaZ	1	3	1	3	1	3	1	3	1	3	1	3	0
MaDuCE	1	4	0	10	1	4	1	4	1	4	1	4	1
MaDuD	1	4	1	4	1	4	1	4	1	4	1	4	0
MaDuF	1	4	1	4	1	4	1	4	1	4	1	4	0
MaDuG	1	4	1	4	1	4	1	4	1	4	1	4	0
MaDuH	1	4	1	4	0	1	0	6	0	5	1	4	3
MaDuM	1	4	1	4	1	4	1	4	0	1	1	4	1
MaDuO	1	4	1	4	1	4	0	6	0	5	0	5	3
MaDuP	1	4	1	4	1	4	1	4	1	4	1	4	0
MaDuT	1	4	1	4	0	7	1	4	0	7	0	7	3

MaDuZ	1	4	1	4	1	4	1	4	0	6	1	4	1
MelisaCE	1	5	1	5	1	5	1	5	1	5	1	5	0
MelisaD	1	5	1	5	1	5	1	5	1	5	1	5	0
MelisaF	1	5	1	5	1	5	1	5	1	5	1	5	0
MelisaHE	1	5	1	5	1	5	1	5	1	5	1	5	0
MelisaH	1	5	1	5	1	5	1	5	1	5	1	5	0
MelisaM	1	5	1	5	1	5	1	5	1	5	1	5	0
MelisaMO	1	5	1	5	1	5	0	6	1	5	0	4	2
MelisaO	1	5	1	5	1	5	1	5	1	5	1	5	0
MelisaP	1	5	1	5	1	5	1	5	1	5	1	5	0
MelisaT	1	5	1	5	1	5	1	5	1	5	1	5	0
MetaCE	1	6	1	6	1	6	1	6	1	6	1	6	0
MetaD	1	6	1	6	1	6	1	6	1	6	1	6	0
MetaF	1	6	1	6	1	6	1	6	1	6	1	6	0
MetaHE	1	6	1	6	1	6	1	6	1	6	1	6	0
MetaH	0	5	0	4	0	5	1	6	1	6	1	6	3
MetaM	1	6	1	6	0	4	1	6	1	6	1	6	1
MetaMO	1	6	1	6	1	6	1	6	0	10	0	10	2
MetaO	1	6	1	6	1	6	1	6	0	10	0	4	2
MetaP	1	6	1	6	1	6	1	6	0	1	1	6	1
MetaT	1	6	1	6	1	6	1	6	1	6	1	6	0
OgnjicCE	1	7	1	7	0	9	1	7	1	7	1	7	1
OgnjicD	1	7	0	1	1	7	1	7	0	4	1	7	2
OgnjicF	1	7	1	7	1	7	1	7	0	1	1	7	1
OgnjicG	1	7	1	7	1	7	1	7	1	7	1	7	0
OgnjicH	1	7	1	7	1	7	0	1	0	4	1	7	2
OgnjicMA	1	7	1	7	1	7	1	7	1	7	0	1	1
OgnjicM	1	7	1	7	0	5	1	7	1	7	0	1	2
OgnjicO	1	7	1	7	1	7	1	7	1	7	1	7	0
OgnjicP	1	7	1	7	1	7	1	7	1	7	1	7	0
OgnjicT	1	7	1	7	1	7	1	7	1	7	1	7	0
PreslicaCE	1	8	1	8	1	8	1	8	1	8	1	8	0
PreslicaD	1	8	1	8	1	8	1	8	1	8	1	8	0
PreslicaF	1	8	1	8	1	8	1	8	1	8	1	8	0
PreslicaGA	1	8	1	8	1	8	1	8	1	8	1	8	0
PreslicaH	1	8	1	8	1	8	1	8	1	8	1	8	0
PreslicaMA	1	8	1	8	1	8	1	8	1	8	1	8	0
PreslicaM	1	8	1	8	1	8	1	8	1	8	1	8	0
PreslicaO	1	8	1	8	1	8	1	8	1	8	1	8	0
PreslicaP	1	8	1	8	1	8	1	8	1	8	1	8	0
PreslicaT	1	8	1	8	1	8	1	8	1	8	1	8	0
SipekCE	1	9	1	9	1	9	1	9	1	9	1	9	0
SipekC	1	9	1	9	1	9	1	9	1	9	1	9	0
SipekD	1	9	1	9	1	9	1	9	1	9	1	9	0
SipekF	1	9	1	9	1	9	1	9	1	9	1	9	0
SipekG	1	9	1	9	1	9	1	9	1	9	1	9	0



SipekH	1	9	1	9	1	9	1	9	1	9	1	9	0
SipekMA	1	9	1	9	1	9	1	9	1	9	1	9	0
SipekO	1	9	1	9	1	9	1	9	1	9	1	9	0
SipekP	1	9	1	9	1	9	1	9	1	9	1	9	0
SipekZ	1	9	1	9	1	9	1	9	1	9	1	9	0
ZajbeljCE	1	10	1	10	1	10	1	10	1	10	1	10	0
ZajbeljC	1	10	1	10	1	10	1	10	1	10	1	10	0
ZajbeljD	1	10	1	10	1	10	1	10	1	10	0	3	1
ZajbeljF	1	10	1	10	1	10	1	10	1	10	1	10	0
ZajbeljGA	1	10	1	10	1	10	1	10	1	10	1	10	0
ZajbeljH	1	10	1	10	1	10	1	10	1	10	1	10	0
ZajbeljO	1	10	1	10	1	10	1	10	1	10	1	10	0
ZajbeljP	0	4	1	10	1	10	1	10	0	6	1	10	2
ZajbeljT	1	10	1	10	1	10	1	10	1	10	1	10	0
ZajbeljZ	1	10	1	10	1	10	1	10	1	10	1	10	0
	98		96		94		95		84		91		42

**Preglednica XXVII:** Prikaz uvrstitve mletih vzorcev za osnovni spekter - Os. Sp, prvi odvod spektra - 1.O in normaliziran spekter - N.

Mleti vzorci	Os.	Sp.	1.O	N	Os.	Sp.	1.O	N	Os.	Sp.	1.O	N	
KamilicaCE	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0
KamilicaD	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0
KamilicaF	1	1	1	1	0	4	1	1	1	1	1	1	1
KamilicaGA	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0
KamilicaHE	1	1	1	1	1	1	1	1	0	10	1	1	1
KamilicaH	1	1	1	1	1	1	1	1	0	10	1	1	1
KamilicaO	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0
KamilicaP	1	1	1	1	0	8	1	1	1	1	1	1	1
KamilicaS	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0
KamilicaZ	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0
KoprivaCE	1	2	1	2	1	2	1	2	0	4	0	4	2
KoprivaD	1	2	1	2	1	2	1	2	1	2	1	2	0
KoprivaF	1	2	1	2	1	2	1	2	1	2	1	2	0
KoprivaGA	1	2	1	2	1	2	1	2	1	2	0	5	1
KoprivaH	1	2	1	2	1	2	1	2	1	2	0	5	1
KoprivaMA	1	2	1	2	1	2	1	2	1	2	0	5	1
KoprivaM	1	2	1	2	1	2	1	2	1	2	1	2	0
KoprivaO	1	2	1	2	1	2	1	2	1	2	1	2	0
KoprivaP	1	2	1	2	1	2	1	2	1	2	1	2	0
KoprivaT	1	2	1	2	0	1	1	2	1	2	0	5	2
LipaCE	1	3	1	3	1	3	1	3	1	3	1	3	0
LipaD	1	3	1	3	0	4	1	3	1	3	1	3	1
LipaF	1	3	1	3	1	3	1	3	1	3	1	3	0
LipaG	1	3	1	3	1	3	1	3	1	3	1	3	0

LipaM	1	3	1	3	1	3	1	3	1	3	1	3	0
LipaO	1	3	1	3	1	3	1	3	1	3	1	3	0
LipaP	1	3	1	3	1	3	0	9	1	3	1	3	1
LipaT	1	3	1	3	1	3	1	3	1	3	1	3	0
LipaW	1	3	1	3	0	6	1	3	1	3	1	3	1
LipaZ	1	3	1	3	1	3	1	3	1	3	1	3	0
MaDuCE	0	10	1	4	1	4	1	4	0	9	1	4	2
MaDuD	1	4	1	4	1	4	1	4	0	5	1	4	1
MaDuF	1	4	1	4	1	4	1	4	1	4	1	4	0
MaDuG	1	4	1	4	1	4	1	4	1	4	1	4	0
MaDuH	1	4	1	4	1	4	1	4	0	9	1	4	1
MaDuM	1	4	1	4	0	3	1	4	1	4	0	6	2
MaDuO	0	5	1	4	1	4	0	5	0	9	1	4	3
MaDuP	1	4	1	4	0	6	0	2	1	4	1	4	2
MaDuT	0	8	1	4	0	10	0	10	0	2	0	3	5
MaDuZ	1	4	1	4	1	4	1	4	0	9	1	4	1
MelisaCE	1	5	1	5	1	5	1	5	1	5	1	5	0
MelisaD	1	5	1	5	1	5	1	5	1	5	1	5	0
MelisaF	1	5	1	5	1	5	1	5	1	5	1	5	0
MelisaHE	1	5	1	5	1	5	1	5	1	5	1	5	0
MelisaH	1	5	1	5	1	5	1	5	1	5	1	5	0
MelisaM	1	5	1	5	1	5	1	5	1	5	1	5	0
MelisaMO	1	5	1	5	1	5	1	5	1	5	1	5	0
MelisaO	1	5	1	5	1	5	1	5	1	5	1	5	0
MelisaP	1	5	1	5	1	5	1	5	1	5	1	5	0
MelisaT	1	5	0	4	1	5	1	5	0	6	1	5	2
MetaCE	1	6	1	6	1	6	1	6	1	6	1	6	0
MetaD	1	6	1	6	1	6	1	6	1	6	1	6	0
MetaF	1	6	1	6	1	6	1	6	1	6	1	6	0
MetaHE	1	6	1	6	1	6	0	1	1	6	1	6	1
MetaH	1	6	0	4	1	6	1	6	0	5	1	6	2
MetaM	1	6	1	6	1	6	1	6	1	6	1	6	0
MetaMO	1	6	1	6	1	6	1	6	1	6	1	6	0
MetaO	1	6	1	6	0	4	1	6	1	6	0	2	2
MetaP	1	6	1	6	1	6	1	6	1	6	1	6	0
MetaT	1	6	1	6	1	6	1	6	1	6	0	5	1
OgnjicCE	1	7	1	7	1	7	1	7	1	7	1	7	0
OgnjicD	1	7	1	7	1	7	1	7	1	7	1	7	0
OgnjicF	1	7	1	7	1	7	1	7	1	7	1	7	0
OgnjicG	1	7	1	7	1	7	1	7	1	7	1	7	0
OgnjicH	1	7	1	7	1	7	0	1	1	7	0	9	2
OgnjicMA	1	7	1	7	1	7	1	7	1	7	1	7	0
OgnjicM	1	7	1	7	0	4	1	7	0	9	1	7	2
OgnjicO	1	7	1	7	1	7	1	7	0	9	1	7	1
OgnjicP	1	7	1	7	1	7	1	7	1	7	1	7	0
OgnjicT	1	7	1	7	1	7	1	7	1	7	1	7	0

PreslicaCE	1	8	1	8	1	8	1	8	1	8	1	8	0
PreslicaD	1	8	1	8	1	8	1	8	1	8	1	8	0
PreslicaF	1	8	1	8	1	8	1	8	1	8	1	8	0
PreslicaGA	1	8	1	8	1	8	1	8	1	8	1	8	0
PreslicaH	1	8	1	8	1	8	1	8	1	8	1	8	0
PreslicaMA	1	8	1	8	1	8	1	8	1	8	1	8	0
PreslicaM	1	8	0	4	1	8	1	8	0	10	1	8	2
PreslicaO	1	8	1	8	1	8	1	8	1	8	1	8	0
PreslicaP	1	8	1	8	1	8	1	8	1	8	1	8	0
PreslicaT	1	8	1	8	1	8	1	8	1	8	1	8	0
SipekCE	1	9	1	9	1	9	1	9	0	1	1	9	1
SipekC	1	9	1	9	1	9	1	9	0	4	1	9	1
SipekD	1	9	1	9	1	9	1	9	0	10	1	9	1
SipekF	1	9	1	9	1	9	1	9	1	9	1	9	0
SipekG	1	9	1	9	1	9	1	9	1	9	1	9	0
SipekH	1	9	1	9	1	9	1	9	1	9	1	9	0
SipekMA	1	9	1	9	1	9	1	9	0	7	1	9	1
SipekO	1	9	1	9	1	9	1	9	1	9	1	9	0
SipekP	1	9	1	9	1	9	1	9	1	9	1	9	0
SipekZ	1	9	1	9	1	9	1	9	1	9	0	10	1
ZajbeljCE	1	10	1	10	0	4	1	10	1	10	1	10	1
ZajbeljC	0	4	1	10	1	10	1	10	1	10	1	10	1
ZajbeljD	1	10	1	10	1	10	1	10	1	10	1	10	0
ZajbeljF	1	10	1	10	1	10	1	10	1	10	1	10	0
ZajbeljGA	1	10	1	10	1	10	1	10	1	10	1	10	0
ZajbeljH	1	10	1	10	1	10	1	10	1	10	1	10	0
ZajbeljO	1	10	1	10	1	10	1	10	1	10	1	10	0
ZajbeljP	1	10	1	10	0	6	1	10	1	10	1	10	1
ZajbeljT	1	10	1	10	1	10	1	10	1	10	1	10	0
ZajbeljZ	1	10	1	10	1	10	1	10	1	10	1	10	0
	96		97		88		94		82		89		54

**Preglednica XXVIII:** Prikaz uvrstitve neobdelanih vzorcev za osnovni spekter - Os. Sp, prvi odvod spektra - 1.O in normaliziran spekter – N.

Neobdelan vzorec	Os. Sp.	1.O	N	Os. Sp.	1.O	N		
KamilicaCE	1	1	1	1	0	7	1	2
KamilicaD	1	1	1	1	0	7	0	3
KamilicaF	1	1	1	1	0	6	1	1
KamilicaGA	1	1	1	1	1	1	1	0
KamilicaHE	0	2	0	4	0	5	0	5
KamilicaH	1	1	1	1	0	6	1	1
KamilicaO	0	3	0	4	1	1	0	4
KamilicaP	1	1	1	1	1	1	0	1

KamilicaS	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	
KamilicaZ	1	1	1	1	1	1	1	0	5	0	5	2	
KoprivaCE	1	2	1	2	1	2	1	2	0	4	1	2	1
KoprivaD	1	2	1	2	1	2	1	2	0	8	1	2	1
KoprivaF	1	2	1	2	1	2	1	2	0	5	0	4	2
KoprivaGA	1	2	1	2	0	5	1	2	1	2	1	2	1
KoprivaH	1	2	1	2	1	2	0	5	0	5	1	2	2
KoprivaMA	1	2	1	2	0	5	0	5	1	2	0	5	3
KoprivaM	1	2	1	2	1	2	1	2	1	2	1	2	0
KoprivaO	0	3	1	2	1	2	1	2	0	6	1	2	2
KoprivaP	0	8	1	2	1	2	1	2	1	2	1	2	1
KoprivaT	0	7	1	2	1	2	1	2	0	4	0	5	3
LipaCE	1	3	1	3	1	3	0	2	1	3	1	3	1
LipaD	1	3	1	3	0	2	1	3	0	7	1	3	2
LipaF	1	3	1	3	1	3	1	3	0	8	1	3	1
LipaG	1	3	1	3	1	3	1	3	1	3	1	3	0
LipaM	1	3	1	3	1	3	1	3	1	3	1	3	0
LipaO	1	3	1	3	1	3	1	3	0	10	0	6	2
LipaP	1	3	1	3	1	3	0	2	1	3	1	3	1
LipaT	1	3	1	3	0	9	1	3	1	3	0	6	2
LipaW	1	3	1	3	0	6	0	6	0	2	1	3	3
LipaZ	0	8	1	3	0	2	0	2	0	5	0	2	5
MaDuCE	1	4	1	4	1	4	0	8	1	4	0	8	2
MaDuD	1	4	1	4	1	4	0	8	1	4	0	8	2
MaDuF	1	4	1	4	1	4	0	6	0	6	0	2	3
MaDuG	1	4	1	4	1	4	1	4	1	4	0	2	1
MaDuH	1	4	1	4	1	4	1	4	0	6	0	2	2
MaDuM	1	4	1	4	1	4	1	4	0	5	1	4	1
MaDuO	1	4	1	4	1	4	1	4	1	4	1	4	0
MaDuP	1	4	1	4	0	6	1	4	1	4	1	4	1
MaDuT	0	5	1	4	1	4	1	4	0	3	1	4	2
MaDuZ	0	5	0	5	0	6	0	6	0	2	0	6	6
MelisaCE	0	8	1	5	0	8	0	4	0	4	0	3	5
MelisaD	1	5	1	5	0	1	0	2	0	1	1	5	3
MelisaF	0	8	1	5	1	5	1	5	0	2	1	5	2
MelisaHEf	1	5	1	5	1	5	1	5	1	5	1	5	0
MelisaHf	1	5	1	5	1	5	1	5	1	5	1	5	0
MelisaM	1	5	1	5	0	4	1	5	0	4	1	5	2
MelisaMO	1	5	1	5	1	5	1	5	1	5	1	5	0
MelisaO	1	5	1	5	1	5	0	2	0	2	1	5	2
MelisaP	1	5	1	5	0	6	1	5	1	5	1	5	1
MelisaTlist	0	6	1	5	0	4	0	2	1	5	0	2	4
MetaCE	0	2	1	6	1	6	1	6	0	2	1	6	2
MetaD	1	6	1	6	0	4	1	6	1	6	1	6	1
MetaF	1	6	1	6	1	6	1	6	1	6	1	6	0

MetaHE	1	6	0	4	0	2	0	2	0	5	1	6	4
MetaHf	1	6	0	7	0	5	1	6	1	6	0	5	3
MetaM	0	2	0	2	0	2	0	2	0	4	0	2	6
MetaMO	1	6	1	6	0	5	1	6	1	6	1	6	1
MetaO	1	6	1	6	1	6	1	6	1	6	1	6	0
MetaP	0	2	1	6	0	4	1	6	0	4	0	2	4
MetaT	1	6	1	6	1	6	1	6	1	6	1	6	0
OgnjicCE	1	7	1	7	1	7	1	7	1	7	1	7	0
OgnjicD	1	7	1	7	1	7	1	7	1	7	1	7	0
OgnjicF	1	7	1	7	1	7	1	7	0	4	1	7	1
OgnjicG	0	8	1	7	1	7	1	7	0	10	1	7	2
OgnjicH	1	7	1	7	1	7	1	7	1	7	1	7	0
OgnjicMA	1	7	1	7	1	7	1	7	1	7	1	7	0
OgnjicM	1	7	1	7	1	7	1	7	1	7	1	7	0
OgnjicO	1	7	1	7	1	7	1	7	1	7	1	7	0
OgnjicP	1	7	1	7	1	7	1	7	1	7	1	7	0
OgnjicT	1	7	1	7	1	7	1	7	1	7	1	7	0
PreslicaCE	1	8	1	8	1	8	1	8	1	8	1	8	0
PreslicaD	1	8	0	3	0	2	0	3	0	3	1	8	4
PreslicaF	1	8	1	8	1	8	1	8	1	8	1	8	0
PreslicaGA	0	5	1	8	1	8	1	8	1	8	1	8	1
PreslicaH	0	5	1	8	1	8	1	8	1	8	1	8	1
PreslicaMA	1	8	0	3	0	2	1	8	0	5	0	4	4
PreslicaM	1	8	1	8	1	8	1	8	1	8	1	8	0
PreslicaO	1	8	1	8	1	8	1	8	1	8	1	8	0
PreslicaP	0	6	1	8	1	8	1	8	1	8	1	8	1
PreslicaT	1	8	1	8	1	8	1	8	1	8	1	8	0
SipekCE	1	9	0	5	1	9	1	9	1	9	1	9	1
SipekCf	1	9	1	9	1	9	1	9	1	9	1	9	0
SipekD	1	9	1	9	1	9	1	9	1	9	1	9	0
SipekF	1	9	1	9	1	9	1	9	1	9	1	9	0
SipekG	0	8	1	9	1	9	1	9	1	9	1	9	1
SipekH	1	9	1	9	1	9	1	9	1	9	1	9	0
SipekMA	1	9	1	9	1	9	1	9	1	9	1	9	0
SipekO	1	9	1	9	0	3	1	9	1	9	1	9	1
SipekP	1	9	1	9	1	9	1	9	1	9	1	9	0
SipekZ	1	9	1	9	1	9	0	7	1	9	1	9	1
ZajbeljCE	1	10	1	10	1	10	1	10	1	10	1	10	0
ZajbeljC	1	10	1	10	1	10	1	10	1	10	1	10	0
ZajbeljD	1	10	1	10	1	10	0	8	0	7	1	10	2
ZajbeljF	1	10	1	10	1	10	1	10	1	10	1	10	0
ZajbeljGA	1	10	1	10	1	10	1	10	1	10	1	10	0
ZajbeljH	1	10	1	10	1	10	1	10	1	10	1	10	0
ZajbeljO	1	10	1	10	1	10	1	10	0	6	1	10	1
ZajbeljP	1	10	1	10	1	10	1	10	0	1	0	6	2

ZajbeljT	1	10	1	10	1	10	1	10	1	10	1	10	0
ZajbeljZ	1	10	1	10	1	10	1	10	1	10	1	10	0
	81		91		73		78		63		79		135

**Preglednica XXIX:** Prikaz uvrstitve tabletk s KBr vzorcev za osnovni spekter - Os. Sp, prvi odvod spektra - 1.O in normaliziran spekter - N.

KBr	Os. Sp.	1.O	N	Os. Sp.	1.O	N	
KamilicaCE	1	1	1	1	1	0	1
KamilicaD	1	1	1	1	1	1	1
KamilicaF	1	1	1	1	1	0	2
KamilicaGA	1	1	1	1	1	1	1
KamilicaHE	0	6	1	1	1	1	2
KamilicaH	1	1	1	1	1	1	1
KamilicaO	1	1	1	1	1	1	1
KamilicaP	1	1	1	1	1	0	1
KamilicaS	1	1	1	1	1	1	1
KamilicaZ	1	1	1	1	1	0	1
KoprivaCE	1	2	1	2	1	2	2
KoprivaD	1	2	1	2	1	2	1
KoprivaF	1	2	0	5	1	2	2
KoprivaGA	1	2	0	1	0	8	3
KoprivaH	1	2	1	2	0	8	1
KoprivaMA	1	2	1	2	1	2	2
KoprivaM	1	2	1	2	1	2	2
KoprivaO	1	2	1	2	1	2	2
KoprivaP	1	2	1	2	1	2	1
KoprivaT	1	2	1	2	1	2	3
LipaCE	1	3	1	3	1	3	1
LipaD	1	3	1	3	1	3	1
LipaF	1	3	1	3	1	3	1
LipaG	1	3	1	3	1	3	2
LipaM	1	3	1	3	1	3	3
LipaO	1	3	1	3	1	3	3
LipaP	1	3	1	3	1	3	2
LipaT	1	3	1	3	1	3	2
LipaW	1	3	1	3	1	3	1
LipaZ	1	3	1	3	1	3	1
MaDuCE	0	10	1	4	0	10	5
MaDuD	1	4	1	4	0	6	2
MaDuF	1	4	1	4	0	5	4
MaDuG	0	6	1	4	1	4	1
MaDuH	1	4	1	4	1	4	2
MaDuM	1	4	1	4	0	10	4
MaDuO	0	10	1	4	1	4	4

MaDuP	1	4	1	4	1	4	0	3	0	3	0	10	3
MaDuT	0	10	1	4	1	4	0	3	0	6	0	3	4
MaDuZ	1	4	0	6	1	4	0	6	1	4	0	6	3
MelisaCE	1	5	1	5	1	5	1	5	1	5	0	6	1
MelisaD	1	5	1	5	1	5	1	5	1	5	1	5	0
MelisaF	1	5	0	6	1	5	1	5	1	5	1	5	1
MelisaHE	1	5	1	5	0	6	0	6	0	3	0	4	4
MelisaH	1	5	1	5	1	5	1	5	0	6	1	5	1
MelisaM	1	5	1	5	1	5	1	5	0	4	1	5	1
MelisaMO	1	5	0	10	1	5	0	3	0	4	0	6	4
MelisaO	1	5	1	5	1	5	1	5	1	5	0	3	1
MelisaP	1	5	1	5	1	5	1	5	1	5	1	5	0
MelisaT	1	5	1	5	1	5	0	3	0	2	0	3	3
MetaCE	1	6	1	6	1	6	0	10	0	5	1	6	2
MetaD	1	6	1	6	1	6	0	5	0	5	1	6	2
MetaF	1	6	1	6	1	6	1	6	0	5	1	6	1
MetaHE	1	6	1	6	1	6	0	5	1	6	0	5	2
MetaH	1	6	1	6	0	4	0	5	0	5	1	6	3
MetaM	0	5	1	6	1	6	0	5	0	5	0	5	4
MetaMO	1	6	1	6	1	6	1	6	1	6	1	6	0
MetaO	1	6	1	6	1	6	0	5	0	8	0	4	3
MetaP	1	6	1	6	1	6	1	6	0	3	0	5	2
MetaT	1	6	0	5	1	6	1	6	1	6	0	5	2
OgnjicCE	1	7	1	7	1	7	0	8	0	2	1	7	2
OgnjicD	1	7	1	7	1	7	0	4	0	3	1	7	2
OgnjicF	1	7	1	7	1	7	1	7	1	7	0	10	1
OgnjicG	1	7	1	7	1	7	0	8	1	7	1	7	1
OgnjicH	1	7	1	7	1	7	0	1	0	1	1	7	2
OgnjicMA	1	7	1	7	1	7	0	1	1	7	0	1	2
OgnjicM	1	7	1	7	1	7	0	1	0	3	0	2	3
OgnjicO	1	7	1	7	1	7	0	2	1	7	1	7	1
OgnjicP	1	7	1	7	1	7	0	2	0	8	0	8	3
OgnjicT	1	7	1	7	1	7	1	7	1	7	1	7	0
PreslicaCE	1	8	1	8	1	8	1	8	0	10	1	8	1
PreslicaD	1	8	1	8	1	8	1	8	0	2	0	2	2
PreslicaF	1	8	1	8	1	8	1	8	0	1	0	10	2
PreslicaGA	1	8	1	8	1	8	0	1	0	1	0	1	3
PreslicaH	1	8	1	8	1	8	1	8	1	8	0	2	1
PreslicaMA	1	8	1	8	1	8	0	3	0	3	0	3	3
PreslicaM	1	8	1	8	0	6	1	8	0	7	1	8	2
PreslicaO	1	8	1	8	1	8	1	8	0	9	1	8	1
PreslicaP	1	8	1	8	1	8	1	8	1	8	0	2	1
PreslicaT	1	8	1	8	1	8	0	2	0	9	0	2	3
SipekCE	1	9	1	9	1	9	1	9	1	9	1	9	0
SipekC	1	9	1	9	1	9	1	9	1	9	1	9	0

SipekD	1	9	1	9	1	9	1	9	1	9	1	9	0
SipekF	1	9	1	9	1	9	1	9	1	9	1	9	0
SipekG	1	9	1	9	1	9	1	9	1	9	1	9	0
SipekH	1	9	1	9	1	9	1	9	1	9	1	9	0
SipekMA	1	9	1	9	1	9	1	9	1	9	1	9	0
SipekO	1	9	1	9	1	9	1	9	1	9	1	9	0
SipekP	1	9	1	9	1	9	1	9	1	9	1	9	0
SipekZ	1	9	1	9	1	9	1	9	1	9	1	9	0
ZajbeljCE	1	10	1	10	1	10	0	7	1	10	0	1	2
ZajbeljC	0	4	1	10	1	10	1	10	0	4	0	4	3
ZajbeljD	1	10	1	10	1	10	0	4	1	10	1	10	1
ZajbeljF	1	10	1	10	1	10	0	7	0	7	0	4	3
ZajbeljGA	1	10	1	10	0	4	0	4	0	4	0	8	4
ZajbeljH	1	10	1	10	1	10	0	8	0	7	1	10	2
ZajbeljO	0	4	1	10	0	4	1	10	0	3	0	7	4
ZajbeljP	1	10	1	10	0	4	0	6	0	6	0	6	4
ZajbeljT	1	10	1	10	1	10	0	2	0	1	1	10	2
ZajbeljZ	0	4	1	10	1	10	0	6	0	6	1	10	3
	91		94		88		54		40		57		176