VYSOKÉ UČENÍ TECHNICKÉ V BRNĚ
BRNO UNIVERSITY OF TECHNOLOGY

FAKULTA CHEMICKÁ
FACULTY OF CHEMISTRY

ÚSTAV CHEMIE POTRAVIN A BIOTECHNOLOGIÍ
INSTITUTE OF FOOD SCIENCE AND BIOTECHNOLOGY

PROFIL TĚKAVÝCH LÁTEK NETRADIČNÍHO DRUHU OVOCE (ASIMINA TRILOBA)
VOLATILE PROFILE OF UNUSUAL TYPE OF FRUIT (ASIMINA TRILOBA)

BAKALÁŘSKÁ PRÁCE
BACHELOR'S THESIS

AUTOR PRÁCE
AUTHOR
Jana Pallová

VEDOUCÍ PRÁCE
SUPERVISOR
doc. Ing. Eva Vítová, Ph.D.

BRNO 2019

VYSOKÉ UČENÍ TECHNICKÉ V BRNĚ
FAKULTA CHEMICKÁ

Zadání bakalářské práce

Číslo práce:	FCH-BAK1442/2018	Akademický rok:	2018/19
Ústav:	Ústav chemie potravin a biotechnologií		
Studentka:	**Jana Pallová**		
Studijní program:	Chemie a technologie potravin		
Studijní obor:	Potravinářská chemie		
Vedoucí práce:	**doc. Ing. Eva Vítová, Ph.D.**		

Název bakalářské práce:

Profil těkavých látek netradičního druhu ovoce (Asimina triloba)

Zadání bakalářské práce:

1. Zpracujte literární přehled dané problematiky:
– muďoul trojlaločný (Asimina triloba) – charakteristika, složení, vlastnosti
– aromaticky aktivní látky – charakteristika, těkavé (aromatické) látky muďoulu
– mikroextrakce pevnou fází, plynová chromatografie s hmotnostní detekcí (GC–MS) – princip, popis, instrumentace
2. Pomocí metody HS–SPME–GC–MS identifikujte a kvantifikujte těkavé látky ve vzorcích muďoulu
3. Porovnejte těkavý profil jednotlivých vzorků

Termín odevzdání bakalářské práce: 24.5.2019:

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

Jana Pallová student(ka)	doc. Ing. Eva Vítová, Ph.D. vedoucí práce	prof. RNDr. Ivana Márová, CSc. vedoucí ústavu

prof. Ing. Martin Weiter, Ph.D.
děkan

V Brně dne 31.1.2019

ABSTRAKT

Cieľom bakalárskej práce je stanovenie aromaticky aktívnych látok v netradičnom duhu ovocia – v muďoule trojlaločnom (Asimina triloba),

Teoretická časť pozostáva zo všeobecného popisu rastliny a charakterizácií jej vlastnosti, zloženia a využitia. Ďalej je spracovaná problematika aromaticky aktívnych látok ako aj metóda ich stanovenia pomocou mikroextrakcie tuhou fázou v spojení s plynovou chromatografiou a hmotnostnou spektrometriou.

Experimentálna časť sa zaoberá identifikáciou a kvantifikáciou aromaticky aktívnych látok pomocou vybranej metódy HS-SPME-GC-MS v troch odrodách – PA-Golden, Rebecca´s Gold a NC-1.

Medzi odrodami boli zistené rozdiely v počte i obsahu prchavých látok. Najmenšie hodnoty dosahovala odroda PA-Golden. Celkovo bolo identifikovaných 105 zlúčenín, z toho 7 aldehydov, 15 alkoholov, 58 esterov, 6 ketónov, 4 laktóny, 1 dusíkatá zlúčenina, 1 alkán, 4 kyseliny, 2 fenoly, 1 alkénov, 4 terpenoidy a 2 ostatné zlúčeniny.

ABSTRACT

The purpose of this bachelor thesis is to determine aroma active substances in an unusual fruit - pawpaw (Asimina triloba).

The theoretical part consists of a general description of the plant and characterization of its characteristics, composition and use. Furthermore, the issue of aroma active substances are processed as well as the method of their determination by solid-phase microextraction in connection with gas chromatography and mass spectrometry.

The experimental part deals with the identification and quantification of aroma active substances using the selected method HS-SPME-GC-MS in three varieties - PA-Golden, Rebecca's Gold and NC-1.

Differences in the number and content of volatile substances were found among the varieties. The lowest values were PA-Golden. In total, 105 compounds have been identified, including 7 aldehydes, 15 alcohols, 58 esters, 6 ketones, 4 lactones, 1 nitrogen compound, 1 alkane, 4 acids, 2 phenols, 1 alkenes, 4 terpenoids, and 2 other compounds.

KĽÚČOVÉ SLOVÁ

prchavé látky, muďoul trojlaločný, SPME, GC-MS

KEY WORDS

volatile compounds, Asimina triloba, SPME, GC-MS

PALLOVÁ, Jana. *Profil těkavých látek netradičního druhu ovoce (Asimina triloba)*. Brno, 2019. Dostupné také z: https://www.vutbr.cz/studenti/zav-prace/detail/115794. Bakalářská práce. Vysoké učení technické v Brně, Fakulta chemická, Ústav chemie potravin a biotechnologií. Vedoucí práce Eva Vítová.

PREHLÁSENIE

Prehlasujem, že som bakalársku prácu vypracovala samostatne a že všetky použité literárne zdroje som citovala správne a úplne. Bakalárska práca je z hľadiska obsahu majetkom Fakuly chemickej VUT v Brne a môže byť využitá ku komerčným účelom len so súhlasom vedúceho bakalárskej práce a dekana FCH VUT.

.....

Podpis študenta

Poďakovanie:

Rada by som touto cestou poďakovala Ing. Eve Vítovej, Ph.D. za odborné vedenie, cenné rady, pripomienky, ochotu a čas, ktorý mi venovala pri spracovávaní tejto bakalárskej práce.

OBSAH

1 ÚVOD 7
2 TEORETICKÁ ČASŤ 8
2.1 Muďoul trojlaločný (Asimina triloba) 8
2.1.1 História a pôvod 8
2.1.2 Taxonómia 8
2.1.3 Výskyt 9
2.1.4 Popis rastliny 9
2.1.4.1 Kvet 10
2.1.4.2 Listy 11
2.1.4.3 Plody 12
2.1.5 Senzorické vlastnosti 14
2.1.6 Odrody 14
2.1.6.1 PA-Golden 15
2.1.6.2 NC-1 15
2.1.6.3 Rebecca´s Gold 15
2.1.7 Muďoul v bežnom živote 15
2.1.7.1 Muďoul v potravinárstve 15
2.1.7.2 Muďoul v medicíne 16
2.1.8 Chemické zloženie 17
2.1.8.1 Sacharidy 18
2.1.8.2 Mastné kyseliny 18
2.1.8.3 Aminokyseliny 19
2.1.8.4 Minerálne látky 19
2.1.8.5 Vitamíny 19
2.1.8.6 Antioxidanty 19
2.1.8.7 Acetogeníny 21
2.2 Aromaticky aktívne látky 22
2.2.1 Uhľovodíky 22
2.2.2 Alkoholy 23
2.2.3 Étery 23
2.2.4 Karbonylové zlúčeniny 23

2.2.5 Aldehydy 23
2.2.6 Ketóny 24
2.2.7 Karboxylové zlúčeniny 24
2.2.8 Estery 24
2.2.9 Aromatické aktívne látky muďoulu 24
2.3 Použité metódy a inštrumentálne techniky 25
2.3.1 Mikroektrakcia pevnou fázou 25
2.3.2 Plynová chromatografia 26
2.3.3 Plynový chromatograf spojený s hmotnostným spektrometrom 26
3 EXPERIMENTÁLNA ČASŤ 28
3.1 Laboratórne vybavenie 28
3.1.1 Prístroje 28
3.1.2 Plyny 28
3.1.3 Pracovné pomôcky 28
3.2 Metoda HS-SPME-GC-MS 28
3.2.1 Podmienky SPME extrakcie 29
3.2.2 Podmienky GC-MS analýzy 29
3.3 Analyzované vzorky 29
3.3.1 Príprava vzoriek pre stanovenie aromaticky aktívnych látok 30
3.4 Vyhodnotenie a štatistické spracovanie výsledkov analýzy 31
4 VÝSLEDKY A DISKUSIA 32
4.1 Identifikácia aromatických aktívnych látok vo vzorkách 32
4.2 Porovnanie počtu identifikovaných zlúčenín vo vzorkách 38
4.3 Porovnanie obsahu identifikovaných zlúčenín 39
5 ZÁVER 41
6 ZOZNAM POUŽITÝCH ZDROJOV 42
7 PRÍLOHY 45

1 ÚVOD

Banán severu, indiánsky banán, pawpaw alebo muďoul, sú pomenovania, ktoré behom storočí získal špecifický druh ovocia – Asimina triloba. Muďoul trojlaločný je exotické ovocie, ktoré nepatrí k veľmi populárnym a známym druhom v našich končinách, ale v oblasti svojho prirodzeného výskytu má dlhú a bohatú históriu a je súčasťou tradícií, tancov či piesní.

Muďoul býva najčastejšie zamieňaný s papájou kvôli rovnakému pomenovaniu – pawpaw, ale žiadna iná podobnosť medzi týmito ovociami nie je. Plody tohto ovocného stromu sú ako jediné z rodu Asimina požívateľné. V skutočnosti sú to najväčšie jedlé plody pochádzajúce pôvodom z USA.

Z nutričného hľadiska je muďoul bohatým zdrojom veľkého množstva významných látok ako minerálov, aminokyselín a vitamínov. V dnešnej dobe nachádza svoje uplatnenie predovšetkým v medicíne, kvôli obsahu významných látok – acetogenínov, ktoré sa využívajú v boji proti rakovine.

Ľudské zmysly sú subjektívne orgány vnímania a sú to faktory, ktoré ovplyvňujú konzumáciu potravín. Senzorickú akosť potravín ovplyvňujú senzoricky aktívne látky a z nich najmä látky vonné (aromatické). V muďoule vznikajú aromaticky aktívne látky vo vysokom množstve hlavne behom zrenia. Vďaka nim majú plody muďoulu „tropickú“ chuť, krémovú textúru a prenikavú arómu.

Cieľom tejto bakalárskej práce bolo vypracovanie literárnej rešerš o muďoulu trojlaločnom, v ktorej sú zhrnuté doterajšie poznatky o pôvode a charakteristike rastliny, o jej chemickom zložení a praktickom využití. Experimentálna časť sa zaoberá identifikáciou a stanovením aromaticky aktívnych látok v troch vybraných odrodách muďoulu pomocou metódy HS-SPME-GC-MS.

2 TEORETICKÁ ČASŤ

2.1 Muďoul trojlaločný (Asimina triloba)

2.1.1 História a pôvod

Muďoul je ovocná drevina pochádzajúca zo Severnej Ameriky. História muďoul na merickom kontinente je pomerne dlhá. Archeologické nálezy fosílii plodov a iných častí tohto ovocia v lokalitách Mississippi a New Jersey dokazujú existenciu muďoulu v Severnej Amerike už pred 50–60 miliónmi rokov. Prvá písomná zmienka pochádza z roku 1541. Jej autorom je člen expedície španielskeho prieskumníka Hernanda de Sota, ktorý si všimol Indiánov, ktorý jedli a pestovali muďoul. Pre Indiánov predstavoval tento strom dôležitú súčasť života, a to nie-len ako potravina. Z kôry stromov vyrábali tkaninu, siete a laná, ktoré sa používali pri love rýb. Indiáni zužitkovali i liečiteľské účinky tejto plodiny. Semená rozdrvili na prášok, ktorý aplikovali na pokožku hlavy, čím sa odstraňovali vši z vlasov. Postupne sa objavovali viaceré opisy a publikácie, napríklad v knihe od Johna Lawsona, či v zápisníku expedície Lewis a Clark. Svoje zaľúbenie si v tomto ovocí našli i dvaja americkí prezidenti George Washington a Thomas Jefferson, ktorí ho pestovali vo svojich domoch vo Virgínii. Popularita stromu sa začala zväčšovať začiatkom 20. storočia, ale z dôvodu krátkej trvanlivosti nedosiahol takého záujmu ako iné ovocie. V roku 1988 bola založená The Pawpaw Foundation, ako nezisková organizácia zaoberajúca sa výskumom a vývojom muďoulu. Plný výskum muďoulu bol zahájený začiatkom 90. rokov v Kentucky (Kentucky State University). V súčasnosti sa v Ohiou uskutočňuje v polovici septembra aj festival „The Pawpaw Festival“, ktorý oslavuje muďoul prostredníctvom delikátnych jedál, koncertov a súťaží. [1–3]

2.1.2 Taxonómia

Muďoul trojlaločný (latinsky Asimina triloba Dunal) patrí do čeľade anonovité (latinsky Annonaceae), ktorá je najväčšia skupina kvitnúcich rastlín zahrňujúca 130 rodov a viac ako 2400 druhov. Táto čeľaď pozostáva prevažne z tropických a subtropických plodín. Jedným z najznámejších rodov patriacich sem je rod Annona, z ktorého sa viaceré druhy pestujú pre chutné a jedlé plody, napr. cherimoya (*Annona cherimola*), anona šupinatá (*Annona squamosa*),graviola (*Annona muricata*), Anona sieťovaná (*Annona reticulata*), anona horská (*Annona montana*), atď [1, 3].

Rod Asimina je jediným zástupcom čeľade, ktorý sa vyskytuje v miernom podnebí. Pozostáva z 9 druhov a to *Asimina triloba, Asimina obovata, Asimina pygmaea, Asimina reticulata, Asimina tetramera, Asimina incana, Asimina longifolia, Asimina parviflora, Asimina X nashii*. Celé botanické zaradenie muďoulu je zobrazené v Tabuľke 1 [1, 3].

Tabuľka 1 Taxonomické zaradenie muďolu [4]

Ríša	Rastliny (*Plantae*)
Podríša	Cievnaté rastlhiny (*Tracheophyta*)
Nadoddelenie	Semenné rastliny (*Spermatophyta*)
Trieda	Dvojklíčnolistové rastliny (*Magnoliopsida*)
Podtrieda	Magnoliové (*Magnoliidae*)
Rad	Magnoliotvaré (*Magnoliales*)

Čeľaď	Anonovité (*Annonaceae*)
Rod	(*Asimina*)
Druh	Trojlaločný (*Triloba*)

2.1.3 Výskyt

Pôvodná oblasť výskytu muďoulu je východné pobrežie Severnej Ameriky (Obrázok 1). Divoké stromy muďoulu rastú naprieč 26 štátmi USA, od severu Floridy až po južné Ontario v Kanade, v okolí Veľkých kanadských jazier. Do vnútrozemia zasahujú až k východnej Nebraske. V súčasnosti sa pestujú aj v ovocných sadoch v Taliansku, Číne, Rumunsku, Portugalsku, Belgicku, Japonsku, Kórei či v Izraeli [1, 3, 5].

Muďoul je prispôsobený pre rast v rôznych podmienkach a podnebiach. Darí sa mu v miernom i v tropickejšom podnebí. Je schopný prežiť mrazy dosahujúce teplotu – 35 °C [1, 2, 5].

Prirodzene sa vyskytuje pozdĺž prameňov riek, brehov potokov, riečok i veľkých riek ako Mississippi, Missouri. Preferuje úrodnú, vlhkú pôdu, ktorá je mierne kyslá, s pohybujúcim sa pH od 5,4 do 7. Avšak neprospievajú mu pravidelné zaplavenia alebo ťažká, zamokrená pôda. Je možné ho pestovať na slnku alebo v tieni, ale v pobrežných oblastiach si nevedie dobre, keďže je citlivý na sucho. Vďaka svojej tolerantnosti k tieňu tvorí charakteristickú časť podrastu alebo húštiny v lesoch [1, 2, 5].

Obrázok 1 Výskyt muďoulu v Severnej Amerike [6]

2.1.4 Popis rastliny

Muďoul je ker alebo nižší listnatý strom s rovným kmeňom o priemere 20–30 cm, ktorý vo svojom prirodzenom prostredí môže dosahovať výšky okolo 5–10 metrov i viac. V našich podmienkach je menší, vysoký iba okolo 3–4 metrov. V slnečných lokalitách sa vyznačuje typickým pyramídovým rastom koruny stromu (Obrázok 2). A zvyčajne sa objavuje

v prítomnosti húfe svojich koreňových výhonkov (Obrázok 3). Veľkou výhodou je, že môže byť pestovaný bez použitia pesticídov, pretože je bakteriocídny [1, 3, 5].

Dožíva sa okolo 20 rokov. Klíčiaca rastlina sa pestuje v tieni, pretože nie je tolerantná voči priamemu slnku. Starším rastlinám už slnko nevadí. Po dosiahnutí približne 1,8 m, cca po roku, začínajú sadenice kvitnúť, ale ovocie sa objavuje na stromoch za 5 až 8 rokov. Stromy muďoulu neprodukujú veľké množstvo plodov [3].

Obrázok 2 Pyramídová koruna muďoulu [2]

Obrázok 3 Koreňové výhonky muďoulu [4]

2.1.4.1 Kvet

Kvety sa začínajú objavovať približne na prelome apríla a mája ešte pred listami a bežná doba kvitnutia môže trvať 3 až 5 týždňov. Dosahujú veľkosti okolo 2–5 cm, avšak závisí to

od jednotlivých odrôd a klimatických podmienok. Kalich má zvonovitý tvar a skladá sa celkovo zo šiestich okvetných lístkov, z troch vonkajších a troch menších vnútorných. Vo vnútri sa nachádza piestik, okolo ktorého je množstvo tyčiniek. Tieto unikátne kvety sa vyznačujú dichogamiou, teda obsahujú samičie i samčie orgány dozrievajúce v rôznych časoch, pričom najskôr sa vyvíjajú samičie orgány. Tento fakt zamedzuje samoopeleniu. Hoci je známe i malé percento odrôd, ktoré sú uvádzané ako samoopelivé, napr. odroda „Sunflower“. Ostatné odrody sú cudzoopelivé. V tomto prípade ich prirodzenými opeľovačmi nie sú včely, ale muchy, chrobáky či pavúky. Opeľovačov lákajú svojou tmavo bordovou alebo gaštanovou farbou (Obrázok 4) a špecifickou, zapáchajúcou vôňou, ktorá je často popisovaná ako vôňa hnijúceho mäsa. Kvety nenadobúdajú farbu ihneď, najskôr sú zelené [1–3].

Obrázok 4 Rozkvitnuté kvety muďoulu [2]

2.1.4.2 Listy

Tento opadavý strom má veľké, striedavé listy, ktoré sú dlhé 10-30 cm. Listy ovísajú smerom nadol. Majú hladké okraje a špicaté hroty (Obrázok 5). Mladé listy môžu byť pokryté jemnými belavými chĺpkami na vrchnej strane a na spodnej hrdzavými. Začínajú sa objavovať až v neskorej jari po kvetoch. Zo začiatku majú tmavozelenú farbu, ktorá sa pred opadaním listov mení na žltú [7, 2].

Choroby a škodcovia napádajú listy len v malom množstve. „Zebra swallowtail“ (Protographium marcellus) je čierno-biely pruhovaný motýľ (Obrázok 6). Jeho húsenice sa výhradne živia listami Asiminy kvôli prítomným špecifickým látkam – acetogenínom. Tie sú odpudzujúce pre väčšinu vtákov a hmyz, takže si ich húsenica hromadí pre ochranu, ale narušenie listov je zanedbateľné. Poškodenie môžu spôsobiť na mladých listoch napr. japonské chrobáky [1, 3, 8].

Obrázok 5 Listy muďoulu [1]

Obrázok 6 Motýľ „zebra swallowtail“ [2]

2.1.4.3 Plody

Z botanického hľadiska je ovocie muďoul definované ako bobuľa. Plod má podlhovastý, valcovitý tvar s typickou 3–15 cm dĺžkou. Šírka je v rozmedzí 3–10 cm. Váha sa pohybuje od 100 do 1000 g, no vo väčšine prípadoch dosahuje okolo 150–200 g. Na povrchu sa nachádza tenká vrstva zeleno-žltej šupky. Vo vnútri plodov sú v dvoch radoch usporiadané tmavohnedé semená v žltej dužine (Obrázok 8). Celkový počet semien môže byť 12 až 20 a ich dĺžka môže dosahovať až 3 cm [1–3, 7].

Dozrievanie plodov sa odlišuje od jednotlivých klimatických podmienok, v ktorých muďoul rastie. Na juhu USA začína zber koncom júla až začiatkom augusta, no v severných oblastiach je zber úrody posunutý na koniec septembra až do polovice októbra. Stromy produkujú ovocie okolo 30 dní. Muďoul sa môže vyvíjať samostatne alebo v zväzku, podobne ako banány. Ako bolo už spomenuté, muďoul neprodukuje veľké množstvo plodov. Je to spôsobené pravdepodobne tým, že muďoul je slabo opeľovaný [2, 3, 9].

Nezrelé plody sú zelené (Obrázok 7). Zrelé plody sa vyznačujú zmäknutím dužiny, takže je možné ich jemne stlačiť a tento pokles pevnosti je najzrejmejším indikátorom zrelosti. Zníženie tvrdosti plodu súvisí hlavne so zvýšenou enzymatickou aktivitou, na ktorej sa podieľajú najmä tieto 4 enzýmy – celuláza, polygalakturonáza, endo-manáza, a pektinmethylesteráza. Ďalej sa zvyšuje produkcia prchavých aromatických látok, koncentrácia rozpustných tuhých látok a mení sa farba šupky zo zelenej na hnedo-čiernu. Je možné, aby plod spadol zo stromu, ešte kým je zelený a tvrdý, ale takýto plod nie je vhodný na konzumáciu [2, 3, 7, 10].

Obrázok 7 Nezrelé plody muďoulu [2]

Obrázok 8 Plod odrody Sunflower [11]

2.1.5 Senzorické vlastnosti

Ovocie sa vyznačuje intenzívnou a komplexnou chuťou, ktorá sa medzi jednotlivými odrodami líši a môže ešte viac zosilnieť po odtrhnutí. Chuť muďoul pripomína chuť tropického ovocia – predovšetkým mango a banány, ale aj napríklad ananás alebo broskyňa. Taktiež je chuť popisovaná ako sladká, kyslá a často i horká [12, 13].

Muďoul sa vyznačuje silnou, fermentovanou arómou a je popisovaná ako kombinácia jemne sladkej, ovocnej a zatuchnutej. Hoci muďoul rastie v miernom podnebí, jeho intenzívna aróma je podobná vôni tropického ovocia [12, 14].

Farba dužiny je rozdielna u jednotlivých odrôd. Môže byť krémovo biela až sýtožltá a dokonca môže dosahovať až odtiene oranžovej [12].

2.1.6 Odrody

Snaha zdomácniť muďoul začala začiatkom 20.storočia. Nadšenci a vedci zhromaždili vo svojich zbierkach množstvo elitných muďoulov. Do roku 1960 bolo vyčlenených a pomenovaných 56 odrôd muďoulu, avšak v dôsledku straty záznamov či zanedbania zostalo z nich menej ako 20. V nasledujúcich rokoch boli pomenované ďalšie voľné rastúce alebo vyšľachtené odrody a v súčasnosti je známych viac ako 40 odrôd. Niektoré odrody sú patentované a chránené ochrannou známkou, iné sú voľne predávané. Z hľadiska kvality ovocia tieto odrody patria medzi najlepšie: Davis, Mary Foos Johnson, Mitchell, Overleese, Prolific, Sunflower, Sweet Alice, Taylor, Taytwo [2, 3, 15].

V experimentálnej časti tejto práce boli analyzované tri odrody PA-Golden, NC-1, Rebecca´s Gold, ktoré sú presnejšie definované.

2.1.6.1 PA-Golden

Ako PA-Golden je najčastejšie označovaná odroda PA-Golden 1. Celkovo existujú štyri odrody PA-Golden označené číslami. Každá z nich bola získaná zo sadeníc semien pôvodom zo štátu Georgia. Plody sú strednej veľkosti so zlatistou dužinou a chuťovo sú priemerné, niekedy horké. Dozrievajú zvyčajne v polovici septembra. Po dozretí sa môže rozvinúť veľké žltnutie šupky. Z týchto štyroch odrôd je najlepšia odroda PA-Golden 3, ktorá býva väčšia a vzhľadovo najlepšia [2, 3].

2.1.6.2 NC-1

Táto odroda je hybrid získaný krížením odrôd Davis a Overleese a radí sa k najviac okrasným stromom zo všetkých odrôd. Je vhodný pre pestovanie v chladnejších klimatických podmienkach so skorým zberom, už v polovici septembra. Má veľké tmavé, takmer modro-zelené listy. Plod je veľký, priemerne 180 g s menším počtom semien, ale produktivita stromu môže byť nižšia v porovnaní s inými odrodami [2, 3].

2.1.6.3 Rebecca´s Gold

Rebecca´s Gold je odroda, ktorá bola vyšľachtená zo semien Corwin Davis v Michigane a to J.M. Rileym. Plody majú žltú dužinu a tenkú šupku. Po dozretí a dopade na zem sú zvyčajne kašovité. Chuť je príjemná a sladká. Podľa Kentucky State University sú stredne veľké a tvarovo sa podobajú fazuli [2, 3].

2.1.7 Muďoul v bežnom živote

2.1.7.1 Muďoul v potravinárstve

Plod je vhodný ku konzumácii po zhnednutí šupky a zmäknutí dužiny. Avšak problémom je, že sa ľahko otlčie a veľmi rýchlo sa kazí, čo je čiastočne spôsobené tenkou šupkou. Preto je obmedzená možnosť spracovania ovocia a dostupnosti na trhu pre potravinárske využitie. Ďalším problém je veľký počet pomerne veľkých semien [12, 13].

Už za tri dni pri teplote okolia môže šupka očernieť a dužina zmäknúť. Do 3–5 dní po zbere sa stáva muďoul príliš mäkké na manipuláciu. Trvanlivosť sa dá predĺžiť za vhodných chladiacich podmienok až na tri týždne [10].

Šupka ani semená nie sú požívateľné. Konzumuje sa iba dužina a to buď v čerstvom stave alebo spracovaná rôznymi spôsobmi. Môže sa sušiť alebo zamraziť, poprípade sa môže používať na prípravu zmrzliny, gelato (Obrázok 9), koláčov, pudingov, džúsov, džemov, vína a pyré. Výskumy naznačujú, že dužina muďoulu má potenciál byť využívaná ako prídavok do potravinárskych produktov na zvýšenie výživovej hodnoty alebo na zintenzívnenie chuti [7, 12, 16].

Obrázok 9 Gelato z muďoulu [2]

2.1.7.2 Muďoul v medicíne

Široké využitie nachádzajú takmer všetky časti stromu muďoulu a to v rôznych oblastiach. Veľké využitie nachádza predovšetkým v medicínskom odvetví. Korene, konáre a semená obsahujú vysoké množstvo acetogenínov. V súčasnosti je dostupný extrakt získaný z konárov (Obrázok 10), ktorý sa využíva ako komerčný produkt na prevenciu proti rakovine. Acetogeníny pôsobia proti ďalším chronickým ochoreniam, ako sú kardiovaskulárne ochorenia, hypertenzia, a diabetes typu 2. Esenciálny olej získaný z listov vykazuje protirakovinovú aktivitu a to predovšetkým proti bunkám rakoviny prsníkov a pľúc. Bylinné šampónové prípravky účinne pôsobia proti všiam [2, 10, 17].

Obrázok 10 Tabletky s extraktom z konárov muďoulu [18]

2.1.8 Chemické zloženie

Muďoul je vynikajúcim zdrojom viacerých chemických látok a to predovšetkým vitamínov, aminokyselín a minerálov. Taktiež má vysoký obsah bielkovín, mastných kyselín, vlákniny a sacharidov. Obsahuje okolo 75 % vody. Okrem toho sú listy muďoulu bohaté na flavonoidy a fenolové kyseliny a v plodoch sa nachádzajú prokyanidíny. Tieto bioaktívne látky sú označované ako farebné pigmenty a taktiež majú antioxidačnú aktivitu. K ďalším bioaktívnym látkam v muďoule patria acetogeníny, ktoré vykazujú protirakovinovú, antivírusovú, antimikrobiálnu, antimalarickú a antiparazitnú aktivitu. Taktiež boli izolované taníny a alkaloidy [7, 10, 17, 19].

V porovnaní s inými druhmi ovocia (Tabuľka 2), ako banány, jablká či pomaranče, ktoré sú oveľa viac známe a využívané, vykazuje muďoul veľmi podobné alebo dokonca vyššie hodnoty nutrične cenných látok. Banán je zložením najbližší muďoulovi, keďže má podobný obsah vlákniny, draslíka a esenciálnych aminokyselín [3, 7].

Antioxidačná aktivita i celkový obsah polyfenolov muďoulu, v porovnaní s inými plodmi, je v niekoľkých prípadoch rovnaký alebo dokonca vyšší. Množstvo chemických látok závisí na odrode, klimatických podmienkach a od prostredia, v ktorom rastú [10].

Tabuľka 2 Porovnanie zloženia muďoulu s inými druhmi ovocia [3]

	Jednotky	**Muďoul**	**Banán**	**Jablko**	**Pomaranč**
Vitamíny					
Vitamín A	mg	87	81	53	205
Vitamín C	mg	18,3	9,1	5,7	53,2
Tiamín	mg	0,01	0,045	0,017	0,087
Riboflavín	mg	0,09	0,1	0,014	0,04
Niacín	mg	1,1	0,54	0,077	0,282
Minerály					
Draslík	mg	345	396	115	181
Vápnik	mg	63	6	7	40
Fosfor	mg	47	20	7	14
Horčík	mg	113	29	5	10
Železo	mg	7	0,31	0,18	0,1
Zinok	mg	0,9	0,16	0,04	0,07
Meď	mg	0,5	0,104	0,041	0,045
Mangán	mg	2,6	0,152	0,045	0,025
Esenciálne aminokyseliny					
Histidín	mg	21	81	3	18
Izoleucín	mg	70	33	8	25
Leucín	mg	81	71	12	23
Lysín	mg	60	48	12	47
Metionín	mg	15	11	2	20
Cysteín	mg	4	17	3	10

Fenylalanin	mg	51	38	5	31
Tyrosín	mg	25	24	4	16
Treonín	mg	46	34	7	15
Tryptofán	mg	9	12	2	9
Valín	mg	58	47	9	40

2.1.8.1 Sacharidy

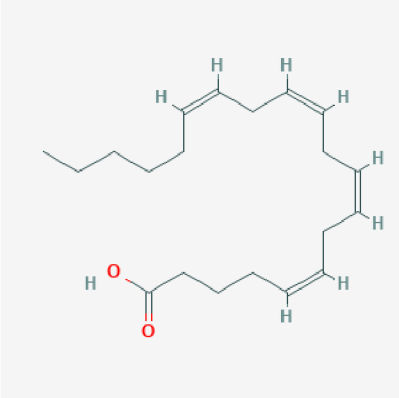
Najvýznamnejším zdrojom energie pre organizmus sú sacharidy. Na množstve a zložení voľných sacharidov závisí intenzita sladkej chuti ovocia. Sú to značne reaktívne zložky potravín. Pri skladovaní alebo spracovaní potravín sacharidy reagujú s aminokyselinami – neenzymatické hnednutie [17, 20].

Základnými sacharidmi, ktoré sa nachádzajú v muďouli, sú glukóza, fruktóza a sacharóza. Množstvo týchto zložiek je rozdielne medzi jednotlivými časťami rastliny Najvyššie hodnoty dosahujú sacharidy v plode, a to až 2–16krát viac ako v ostatných častiach. Sacharóza, na rozdiel od ostatných dvoch sacharidov, nie je detegovaná v koreňoch, konároch a listoch, a jej obsah je najvyšší spomedzi sacharidov a tvorí asi 9% hmotnosti ovocia [17].

2.1.8.2 Mastné kyseliny

Mastné kyseliny sú najdôležitejšou a najvýznamnejšou zložkou biologicky významných látok – lipidov. Vyššie esenciálne mastné kyseliny majú veľkú, nezastupiteľnú úlohu v organizmoch živočíchov. Sú prekurzormi biologicky aktívnych látok a podieľajú sa na formovaní biologických membrán [20].

Mastné kyseliny sú významnou zložkou muďoulu, pričom obsah nenasýtených mastných kyselín je vyšší ako obsah nasýtených mastných kyselín vo všetkých častiach muďoula. Pravdepodobným dôvodom je, že sú prekurzormi pre tvorbu prchavých esterov. Jediný zanedbateľný rozdiel medzi ich množstvami je v plode. Plod sa odlišuje od ostatných častí prítomnosťou kyseliny kapronovej, kyseliny kaprylovej a kyseliny lauronovej. Primárne mastné kyseliny, ako kyselina palmitová, kyselina stearová, kyselina olejová a kyselina linolová, sa nachádzajú vo významne vyššom množstve v semenách. Práve semená sú najbohatšie na celkový obsah mastných kyselín z jednotlivých častí plodiny. Kyselina linolenová je prítomná vo všetkých častiach, avšak najvyššie zastúpenie má v listoch, v ktorých ako jediných je kyselina arachidonová (Obrázok 11) [9, 17].



Obrázok 11 Kyselina arachidonová [21]

2.1.8.3 Aminokyseliny

Výskyt aminokyselín v potravinách nemusí byť len ako súčasť bielkovín, ale tiež môžu byť viazané vo forme peptidov alebo prítomné ako voľné látky. Človek nie je schopný niektoré aminokyseliny syntetizovať, a preto ich prijíma potravou. V potravinách ovplyvňujú vo veľkom ich organoleptické vlastnosti, najmä chuť. Tak isto produkty ich reakcií sú často významnými vonnými a chuťovými látkami [22, 20].

Bielkoviny v muďoule sú zastúpené hlavne vo forme voľných aminokyselín. Obsah aminokyselín a ich zloženie sa líši v jednotlivých častiach stromu, ale nie sú to zásadné rozdiely. Plod je výborným zdrojom skoro všetkých aminokyselín a jednu z najväčších hodnôt dosahuje prolín. Kyselina asparágová a kyselina glutámová patria k najviac zastúpeným látkam v ostatných častiach rastliny [3, 17].

2.1.8.4 Minerálne látky

Minerálne látky sú neodmysliteľnou súčasťou celej rady životných procesov a chemických zlúčenín. Obvykle sa definujú ako prvky obsiahnuté v popole potravín. Podľa množstva sa minerálne látky delia na majoritné (Na, K, Mg, Ca, Cl, P a S) a minoritné (Fe a Zn) minerálne prvky a mikroelementy (Al, As, B, Cd, Co. Cr, Cu, F, Hg, I, Mn, Mo, Ni, Pb, Se, Sn) [20].

Z minerálnych látok je najviac zastúpeným prvkom v muďoule draslík. Jeho hodnoty patria k najvyšším vo všetkých častiach muďoulu. K ďalším minerálom s vyšším obsahom sa zaraďujú horčík, sodík a zinok. Pre rastliny je typické, že najvyššie množstvo týchto prvkov je v koreňoch. Plod je taktiež bohatým zdrojom týchto látok a ešte aj železa, mangánu, fosforu či medi [3, 17].

2.1.8.5 Vitamíny

Vitamíny sú biologicky aktívne látky, ktoré sú syntetizované autotrofnými organizmami. Ľudský organizmus nie je schopný sám syntetizovať a preto ich musí prijímať potravou. Jednotlivé vitamíny sa odlišujú chemickými štruktúrami a funkciami v organizme [20, 22].

Vitamín C dosahuje najvyšší obsah z vitamínov. Okrem neho je v muďouli vo významnom množstve β-karotén, vitamín A, a z B vitamínov sú to tiamín, riboflavín a niacín. Bohatým zdrojom β-karoténu a vitamínu C sú listy [3, 17].

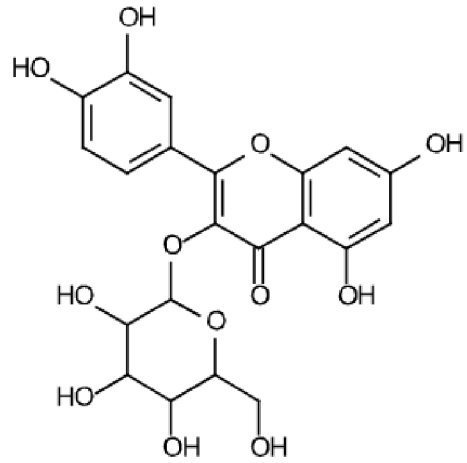
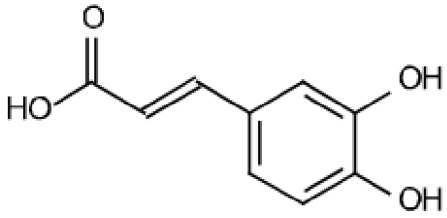
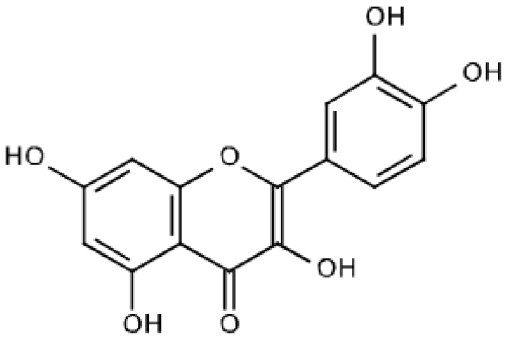
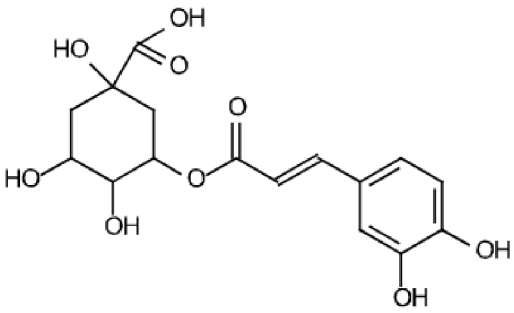
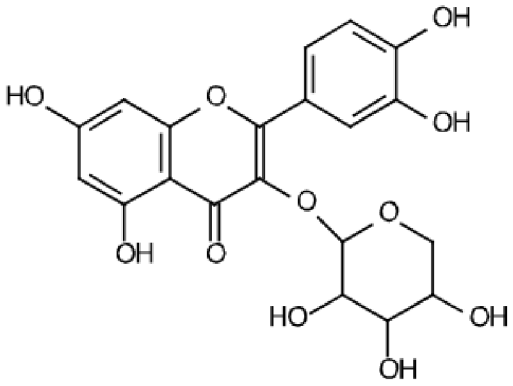
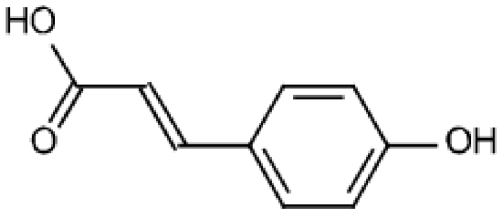
2.1.8.6 Antioxidanty

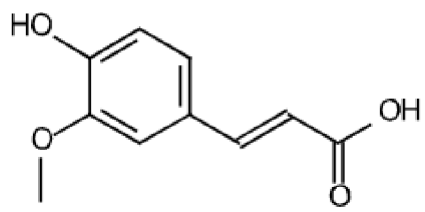
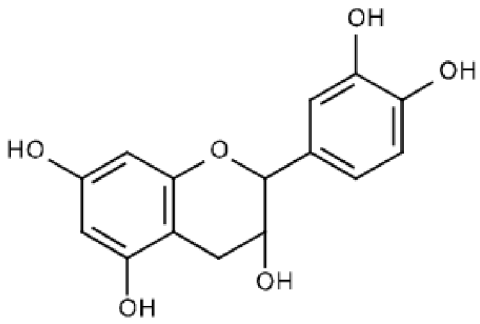
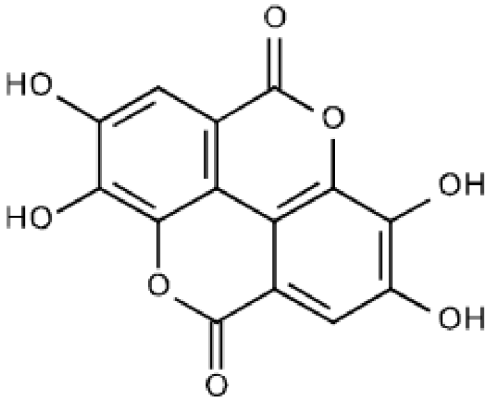
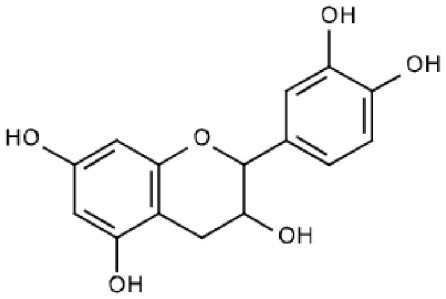
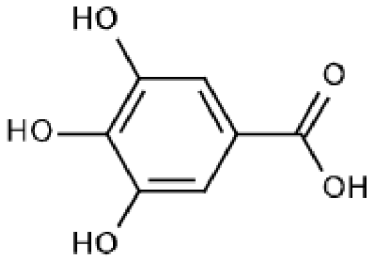
Látky, ktoré chránia potraviny pred znehodnotením a predlžujú tak ich trvanlivosť, sa nazývajú antioxidanty. Okrem toho majú pozitívne účinky na ľudské zdravie. Rozoznávajú sa prírodné antioxidanty (napr. tokoferoly) a syntetické (napr. kyselina askorbová). Môžu sa pohybovať od jednoduchých molekúl ako sú fenolové kyseliny až po vysoko polymerizované zlúčeniny [10, 16, 23].

Na antioxidačnej aktivite muďoulu sa významne podieľajú predovšetkým flavonoidy. Hlavnými triedami flavonoidov nachádzajúcich sa v ovocí sú flavonoly a katechíny. V menšom množstve boli identifikované aj deriváty kyseliny škoricovej a benzoovej. V Tabuľka 3 sú zobrazené vzorce niektorých z nich. K ďalším zlúčeninám prispievajúcim k antioxidačnej aktivite patria vitamín C a prokyanidiny. Počas dozrievania dochádza k znižovaniu aktivity

a medzi jednotlivými časťami rastliny sú značné rozdiely v aktivite i zložení. Hladinou antioxidačných zlúčenín sa podobajú iným tropickým ovociam ako guava, papája, banán alebo ananás [10, 17].

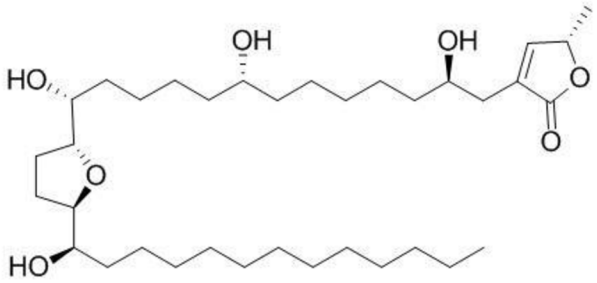
Tabuľka 3 Antioxidačné zlúčeniny v muďouli [10]

Flavonoly	**Deriváty kyseliny škoricovej**
 Isokvercetin	 Kyselina kávová
 Kvercetin	 Kyselina chlorogenová
 Kvercitrin	 Kyselina kumarová

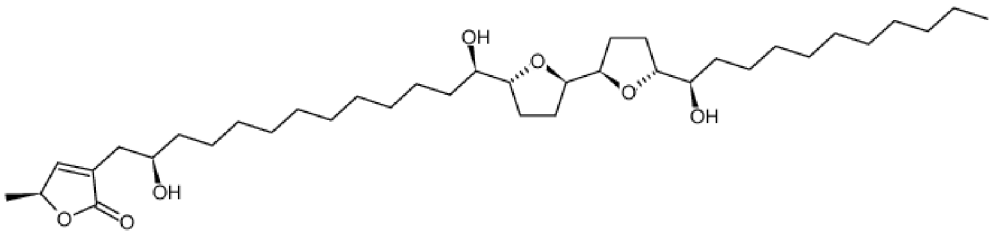
	 Kyselina ferulová
Katechíny	**Deriváty kyseliny benzoovej**
 Katechín	 Kyselina ellagová
 Epikatechín	 Kyselina gallová

2.1.8.7 Acetogeníny

„Anonovité acetogeníny“ sú prírodnými zlúčeninami, ktoré je možné nájsť len v rode anonovitých. Sú to deriváty mastných kyselín s dlhým reťazcom. Tieto látky sú silné inhibítory rakovinových buniek, no uplatniť sa môžu napr. ako insekticídy. Anonacín (Obrázok 12) patrí k hlavným zástupcom tejto skupiny. Ďalšími sú napr. asimicín (Obrázok 13), bulatacín a trilobacín. Zvýšené hodnoty acetogenínov vykazujú najmä semená, korene, konáre, ale nie všetky odrody obsahujú rovnaké množstvá acetogenínov. Avšak acetogeníny sú aj neurotoxické Môžu inhibovať kritické biologické funkcie a spôsobovať napr. atypickú formu Parkinsonovej choroby [17, 19].



Obrázok 12 Anonacín [25]



Obrázok 13 Asimicín [26]

2.2 Aromaticky aktívne látky

Na základe zamerania tejto práce sú v nasledujúcich kapitolách stručne popísané hlavné skupiny aromaticky aktívnych látok a to predovšetkým tých, ktoré už boli identifikované v muďoule.

Senzorické látky sú látky, ktoré pôsobia na zmyslové receptory a určujú senzorickú akosť potravín. Tieto látky sú buď prirodzenou zložkou potravín alebo vznikajú v priebehu skladovania, či spracovania. Podľa spôsobu vzniku sa rozdeľujú na primárne a sekundárne senzoricky aktívne látky. Za komplexný vnem je zodpovedná prevažne/väčšinou celá rada zmesí desiatok i viac zlúčenín. Patria tu vonné látky, chuťové látky, farbivá a látky určujúce textúru [23].

Aromatické aktívne látky sú všetky vonné a chuťové látky. Je možné ich vnímať chuťovými a čuchovými receptormi. Niektoré chuťové látky môžu vyvolávať súčasne dojem vône i chuti a dnes sa často toto vnímanie označuje anglickým termínom flavour [23, 27].

Vonné látky je v podstate možné nájsť v každej skupine organických zlúčenín. Patria tu niektoré uhľovodíky a hlavne kyslíkaté (alkoholy, ethery, aldehydy,...), dusíkaté (aminy, dusíkaté heterocykly) a sírne (thioly, sulfidy, sírne heterocykly) deriváty aromatických látok. Terpény patria k primárnym vonným látkam a ich základnou stavebnou jednotkou je isopren. Sekundárne vonné látky vznikajú najmä pri fermentačných a termických procesoch [23, 27].

2.2.1 Uhľovodíky

Uhľovodíky sú bežnou zložkou mnohých potravín a predovšetkým sú to sekundárne produkty oxidácie lipidov, ale i mnohých ďalších zložiek potravín. Samozrejme môžu byť i prirodzenou zložkou potravinárskych surovín a materiálov. Pre aromatizáciu potravín sa využívajú pomerne málo, no využitie nachádzajú ako východiskové látky pre syntézu iných

vonných látok. Na základe štruktúry sa delia na alifatické, alicyklické a aromatické. Najväčší význam ako vonné a chuťové látky a farbivá majú terpénové uhľovodíky. Ako zložky arómy sa môžu uplatňovať monoterpény a seskviterpeny. Vyššie terpény sú už ako aromatické látky bezvýznamné [23].

2.2.2 Alkoholy

Alkoholy sú primárne i sekundárne aromatické látky potravín rastlinného i živočíšneho pôvodu. Ako aromatické látky sa uplatňujú hlavne voľné primárne alkoholy a ich estery a to najmä u ovocia a alkoholických nápojov. Medzi prírodné vonné látky patria nižšie alifatické nasýtené a nenasýtené alkoholy. Významnými chuťovými látkami sú cukerné alkoholy, ktoré vykazujú sladkú chuť, hydroxykyseliny, ktoré majú kyslú chuť, ale i ďalšie látky, ako napr. glycerol. Alkoholy s 15 až 18 atómami uhlíka v molekule sú využívané pre aromatizáciu potravín. Nižšie alkoholy slúžia k výrobe príslušných esterov, acetálov a iných zlúčenín [23].

Bežnou zložkou arómy viacerých potravín je etanol viazaný v rôznych esteroch, ale iba v malých množstvách. V podstate nie je považovaný za významnú vonnú látku. Avšak má podstatný vplyv na vôňu, chuť a energetickú hodnotu nápojov. Vzniká ako hlavný produkt pri alkoholovom kvasení [23].

Niektoré nenasýtené alifatické alkoholy sú významnými aromatickými látkami u ovocia, zeleniny a húb a ich prekurzormi sú esenciálne mastné kyseliny. Štiepením predovšetkým kyseliny α-linolenovej hydroperoxidlyasami vzniká rada aldehydov prospievajúcich k čerstvej, bylinnej, tzv. zelenej vôni ovocia a zeleniny [23].

Jednou z charakteristických zložiek silíc kvetov a ďalších častí rastliny sú monoterpénové alkoholy. Tieto látky vykazujú väčšinou sladkú, ťažkú, kvetinovú arómu a k bežným acyklickým monoterpenovým alkoholom patria citronellol, linalool, geraniol alebo hotrienol [23].

Aromatické alkoholy bývajú prirodzenou zložkou silíc. Najjednoduchší alkohol z tejto skupiny je benzylalkohol. Redukciou kyseliny škoricovej vzniká trans-izomér škoricového alkoholu, ktorý je zložkou napr. škoricovej silice [23].

2.2.3 Étery

Étery odvodené od mono- a seskviterpenov a aromatické étery sa uplatňujú ako vonné a chuťové látky. Primárnou zložkou arómy potravín sú epoxidy terpénov – oxirany, furany, pyrany a ďalšie [23].

2.2.4 Karbonylové zlúčeniny

Karbonylové zlúčeniny obsahujú vo svojej molekule aldehydovú skupinu alebo ketoskupinu. Prchavé aldehydy i ketony sú veľakrát žiadúcimi zložkami arómy potravín a zaraďujú sa k najdôležitejším vonným a chuťovým látkam. Môžu spôsobovať aj nežiadúcu chuť a vôňu a v takom prípade slúžia ako indikátory zníženia hodnoty potravín [23].

2.2.5 Aldehydy

Takmer všetky nasýtené alifatické aldehydy sú významné vonné látky. Z nenasýtených alifatických aldehydov sú dôležité najmä monoterpénové aldehydy. Vo väčšine prípadov sú

ich prekurzormi bežné nenasýtené mastné kyseliny prítomné v lipidoch, alebo aminokyseliny, z ktorých vznikajú ako sekundárne produkty mliečneho a alkoholového kvasenia alebo Streckerovou degradáciou pri termických procesoch [23].

Aromatické aldehydy sú veľmi často súčasťou silíc či arómy rôznych potravín. K rozšíreným aromatickým aldehydom patrí benzaldehyd, ktorý býva prítomný buď voľný alebo viazaný. Je zložkou horko-mandľovej silice alebo aj škoricovej silice [23].

2.2.6 Ketóny

Veľa ketónov sa vyznačuje charakteristickým pachom. Sú významnými žiadúcimi zložkami arómy potravín, ale hrajú aj úlohu nežiadúcich látok v niektorých tukoch, kde sú dôsledkom žltnutia. V potravinách sa vyskytujú hlavne nasýtené a nenasýtené alifatické ketóny s 3 až 17 atómami uhlíku v molekule [23, 27].

2.2.7 Karboxylové zlúčeniny

Karboxylové kyseliny sú významné látky rastlinného pôvodu, ktoré v potravinách tvoria dôležitú senzorickú zložku a preto sa často používajú ako prídavné látky, ktoré ovplyvňujú senzorické vlastnosti potravín. Technologický význam nachádzajú i ako bakteriostatické látky, ktoré znižujú pH a ovplyvňujú trvanlivosť potravín [17, 23, 27].

Podľa počtu karboxylových skupín v molekule sa delia na monokarboxylové alebo polykarboxylové kyseliny. Vonné a chuťové látky sú predovšetkým nižšie karboxylové kyseliny a aromatické kyseliny. Kyselina octová a mliečna poskytujú kyslú chuť [23].

Vo všeobecnosti sa hydroxykyseliny neuplatňujú ako vonné látky, ale niektoré z nich patria k najdôležitejším nositeľom kyslej chuti. Najvýznamnejším zástupcom trikarboxylových hydroxykyselín je kyselina citrónová [23].

2.2.8 Estery

Estery patria k najrozšírenejším zlúčeninám v potravinách a vznikajú reakciou kyselín s alkoholmi. Prchavé estery aromatických kyselín sa podieľajú významne na vôni kvetov, korenín, ovocia a zeleniny. Okrem nich sú prítomné i neprchavé estery, ktoré sú odvodené od kyseliny škoricovej. Estery nižších alifatických kyselín s nižšími alifatickými a aromatickými alkoholmi sú obvykle významnými vonnými látkami, ktoré patria k zložkám primárnej arómy ovocia [23].

Estery vyšších mastných kyselín sa radia medzi lipidy a doprovodné látky lipidov a vplývajú väčšinou iba na chuťové vlastnosti potravín, poprípade sú farebnými látkami. Uplatnenie môžu nájsť i ako vonné látky (napr. ethylestery v alkoholických nápojoch) [23].

Laktóny sú vnútorné estery hydroxykyselín, pričom sa rozoznávajú α-laktóny, β-laktóny, γ-laktóny. Z nich sa v potravinách ako vonné látky vyskytujú β-laktóny a γ-laktóny [23].

2.2.9 Aromatické aktívne látky muďoulu

Na celkovej aróme plodu muďoulu sa podieľa veľa aromaticky aktívnych látok, ktorých koncentrácia sa odlišuje od stupňa zrelosti. Najvyššie celkové množstvo prchavých látok je v úplne zrelom ovocí, pričom medzi hlavné zložky patria predovšetkým etylestery

a metylestery. V najväčšom množstve sa vyskytuje ethylhexanoat v rozsahu 31,4–65,9 % a predstavuje cca 50 % ovocnej arómy. Z ethylesterov sú prítomné vo väčšom množstve oktanoáty, butanoáty a dekanoáty, ktoré tiež prispievajú k ovocnej aróme. K zlúčeninám detegovaným v muďouli patria i 3-hydroxybutan-2-on (acetoin) a butan-2,3-diol a obidva sú zvlášť dôležité pre vôňu muďoulu. Medzi významné látky muďoulu, vyskytujúce sa najmä v alkoholických nápojoch (napr. brandy alebo pivo), patria ethylester kyseliny sorbovej a kyseliny nikotinovej. Menej početné látky v muďoule sú laktonové zlúčeniny, ktoré dodávajú krémovú a ovocnú príchuť. Z tejto skupiny zlúčenín je γ-hexalacton [9, 14].

Z organických kyselín v muďoule prevládajú kyselina jablčná a kyselina citrónová, ktoré nachádzajú sa vo všetkých častiach plodiny. Plody sú najrozmanitejšie, čo sa týka zastúpenia druhu, a obsahujú kyselinu jablčnú, kyselinu citrónovú, kyselinu šťaveľovú, kyselinu octovú a kyselinu mravčiu. Za zmienku stojí vyšší obsah kyseliny citrónovej v semenách [17].

2.3 Použité metódy a inštrumentálne techniky

Pre stanovenie prchavých látok vo vzorkách muďoulu bola použitá metóda mikroextrakcie pevnou fázou v spojení s plynovou chromatografiou a hmotnostným spektrometrom ako detektorom (HS-SPME-GC-MS).

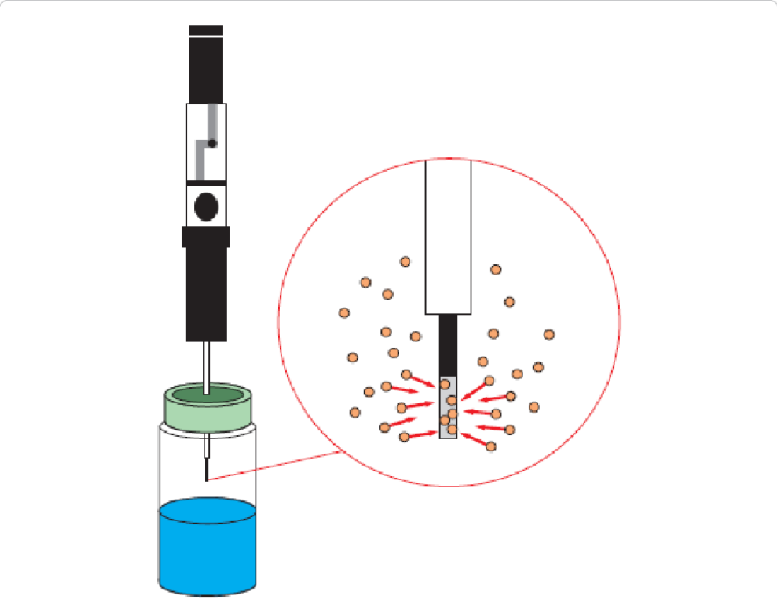
2.3.1 Mikroextrakcia pevnou fázou

Mikroextrakcia pevnou fázou (SPME) je sorpčne-desorpčná technika zakoncetrovania analytu, pri ktorej nie je potrebné použiť rozpúšťadlá. Táto metóda sa zaraďuje k jednoduchým a rýchlym metódam, s využitím i malej koncentrácie analytu. Aplikuje sa v kombinácií s plynovou alebo kvapalinovou chromatografiou [28, 29].

Metóda je založená na extrakcií sledovaných látok zo vzorky, ktorá je určitú dobu inkubovaná, na fázu stacionárnu, ktorá je umiestnená na povrchu tenkého kremenného vlákna. Ihla s vláknom sa zasunie do vialky so vzorkou a vlákno sa pri procese sorpcie vysunie. Po dosiahnutí rovnovážneho stavu sa vlákno znova zasunie a nasleduje presun k desorpčnému stupňu. Ten prebieha v nástrekovom priestore plynového chromatografu, kde sa analyt tepelne desorbuje a je unášaný na kolónu [28, 29].

Existujú dva typy SPME techník, ktoré je možné využiť pre extrakciu analytu:

- priama (DI-SPME) extrakcia nastáva priamou sorpciou z roztoku a teda je vlákno ponorené do kvapalnej vzorky
- „headspace“ (HS-SPME) je extrakcia, pri ktorej je vlákno umiestnené v priestore nad vzorkou (Obrázok 14)



Obrázok 14 Princíp extrakcie (HS-SPME) [28]

2.3.2 Plynová chromatografia

Plynová chromatografia je analytická separačná metóda, ktorá je určená k deleniu a stanovovaniu prchavých látok obsiahnutých vo vzorke. Použitie je obmedzené pre plyny a niektoré kvapaliny s nízkou molekulovou hmotnosťou. Táto metóda je založená na rozdeľovaní zložiek medzi dve fázy – fázu pohyblivú (mobilnú) a fázu nepohyblivú (stacionárnu). K rozdeleniu látok dochádza na základe odlišných interakcií s fázami. Mobilnou fázou je nosný plyn, najčastejšie N_2, H_2 alebo He. Stacionárna fáza je umiestnená v chromatografickej kolóne. U náplňových kolón môže byť stacionárnou fázou pevná látka alebo kvapalina nanesená v tenkej vrstve na pevnom, inertnom nosiči. Kapilárne kolóny majú stacionárnu fázu nanesenú v tenkej vrstve priamo na vnútorné steny [30–32].

Princíp plynovej chromatografie: Vzorka je nanesená do vyhrievanej nástrekovej komory (injektoru), kde dochádza k odpareniu. Vo forme par je odnášaná nosným plynom, ktorý neustále prechádza kolónou so stacionárnou fázou. Následne sa zložky zo vzorky sorbujú na začiatku kolóny v stacionárnej fázy a potom desorbujú čerstvým nosným plynom. Ten ich unáša postupne ku koncu kolóny a tento proces sa neustále opakuje. Zložky, ktoré vychádzajú z kolóny, sú indikované detektorom. Chromatogram je výsledný grafický záznam závislosti signálu detektoru na čase [30, 31].

Medzi hlavné časti plynového chromatografu patrí injektor, regulátor prietoku, zásobník nosného plynu, termostat, kolóna, detektor a vyhodnocovacie zariadenie (PC) [30].

2.3.3 Plynový chromatograf spojený s hmotnostným spektrometrom

Plynová chromatografia s hmotnostnou detekciou (GC-MS) je široko používaná analytická metóda, ktorá umožňuje identifikovať a kvantifikovať jednotlivé látky zložitých zmesí. Táto technika spája vysoké separačné schopnosti plynovej chromatografie s identifikačnými možnosťami hmotnostnej spektrometrie [30, 32].

Princípom je, že vzorka v plynnom skupenstve je privedená do hmotnostného spektrometra, kde je ionizovaná a vzniknuté ióny sú separované podľa hodnoty podielu ich hmotnosti a náboja. Hmotnostný spektrometer sa skladá zo vstupu, iónového zdroja, separátoru, detektoru so zosilňovačom a záznamovým zariadením a vákuového systému. Delič umiestnený na výstupu z kolóny je dôležitý, pretože delí prúd nosného plynu do dvoch vetiev a nedochádza tak k porušeniu vákua v hmotnostnom spektrometri [30, 32].

3 EXPERIMENTÁLNA ČASŤ

3.1 Laboratórne vybavenie

3.1.1 Prístroje

- Plynový chromatograf TraceTM 1310 so split/splitless injektorom (Thermo Fisher Scientific Inc., Waltham, MA, USA)
- Hmotnostný detektor ISQTM LT Single Quadrupole (Thermo Fisher Scientific Inc., Waltham, MA, USA)
- Knihovňa spektier NIST/EPA/NIH, Verzia 2.0 (Gaithersburg, Maryland, USA)
- Analytické digitálne váhy HELAGO, GR‑202–EC, Taliansko
- Počítač PC

3.1.2 Plyny

- Hélium čistota 4.8, v tlakovej nádobe s redukčným ventilom (SIAD, Česká republika)

3.1.3 Pracovné pomôcky

- SPME-vlákno DVB/CAR/PDMS 50/30 µm (Supelco, Bellefonte, Pennsylvania, USA)
- Vialky o objeme 10 ml so šróbovacím magnetickým uzáverom
- Bežné laboratórne sklo a pomôcky
- Nôž, lopárik

3.2 Metoda HS-SPME-GC-MS

Pre identifikáciu aromatických látok vo vzorkách bola použitá metóda HS-SPME-GC-MS (Obrázok 15).

Obrázok 15 Plynový chromatograf Trace™ 1310 s hmmotnostným detektorom ISQ™ LT

3.2.1 Podmienky SPME extrakcie

- Doba inkubácie (temperovanie): 10 minút
- Doba extrakcie: 20 minút
- Teplota extrakcie a inkubácie (teplota agitátora): 40 °C
- Agitátor: zapnutý 5 s, vypnutý 60 s
- Množstvo vzorky: 3 g
- Hĺbka ponorenia vlákna do vialky: 20 mm

3.2.2 Podmienky GC-MS analýzy

- Kapilárna kolóna TG-WaxMS (30 m × 0,25 mm × 0,5 μm)
- Teplota injektoru (desorpcia): 240 °C
- Doba desorpcie: 40 minút
- Dávkovanie: splitless, ventil uzavretý 10 minút
- Hlbka ponorenia vlákna do injektoru: 40 mm
- Nosný plyn: Hélium
- Prietok nosného plynu: 1 $ml \cdot min^{-1}$
- Teplotný program: 40 °C s výdržou 2 minút, vzostupný gradient 3 °C/min do 130 °C s výdržou 0 minút, vzostupný gradient 5 $°C \cdot min^{-1}$ do 200 °C s výdržou 0 minút, celková doba analýzy 50 minút
- Hmotnostný detektor v móde EI
  - energia ionizačných elektrónov: 70 eV
  - teplota iónového zdroja 200 °C
  - skenovací rozsah m/z 30–370 amu
  - rýchlosť skenovania 0,2 s

3.3 Analyzované vzorky

V rámci tejto práce boli analyzované tri odrody muďoulu – PA-Golden, Rebeca´s Gold a NC-1, ktoré boli získané od súkromného pestovateľa. Vzorky boli skladované v mrazničke až do doby stanovenia aromaticky aktívnych látok (Obrázok 16).

Obrázok 16 Mrazené plody odrody PA-Golden

3.3.1 Príprava vzoriek pre stanovenie aromaticky aktívnych látok

Deň pred analýzou boli vzorky rozmrazené a uložené do chladničky do doby samotnej analýzy. Každá vzorka bola najskôr prekrojená na polovicu a z dužiny boli vybraté semená pre jej ľahší zisk. Následné boli kúsky dužiny umiestnené do vialky pomocou malej lyžičky (Obrázok 17). Zo vzoriek boli odobrané vždy 3 g. Vialka bola uzavretá nepriepustným uzáverom, aby nedošlo k úniku prchavých látok. a umiestnená do autosampleru pre analýzu.

Obrázok 17 Pripravené vzorky pre analýzu

3.4 Vyhodnotenie a štatistické spracovanie výsledkov analýzy

Získané aromatické aktívne látky boli identifikované na základe porovnania hmotnostných spektier s knihovňou spektier.

Výsledky boli spracované a vyhodnotené pomocou programu MS Excel 2010. Pre namerané dáta bol vypočítaný priemerný retenčný čas ako aritmetický priemer retenčných časov analyzovaných vzoriek. Obsah jednotlivých skupín aromatických látok bol vyjadrený semikvantitatívne pomocou plôch príslušných píkov. Každá vzorka bola analyzovaná dvakrát (n = 2).

4 VÝSLEDKY A DISKUSIA

Táto bakalárska práca sa zaoberá charakterizáciou prchavých (aromatických) látok špecifického druhu ovocia – muďoulu trojlaločného. Celkom boli analyzované tri vybrané odrody muďoulu – PA-Golden, NC-1 a Rebeca´s Gold, získané od súkromného pestovateľa.

Hlavným cieľom bolo identifikovať a kvantifikovať prchavé látky vo vzorkách a posúdiť rozdiely medzi jednotlivými odrodami ako z hľadiska počtu, tak obsahu identifikovaných zlúčenín.

Pre stanovenie prchavých látok bola použitá metóda HS-SPME-GC-MS. Táto metóda bola optimalizovaná a validovaná v rámci predchádzajúcich bakalárskych a diplomových prácach, aplikované parametre metódy sú uvedené v kapitole 3.2.

4.1 Identifikácia aromatických aktívnych látok vo vzorkách

Aromatické látky boli identifikované na základe porovnania hmotnostných spektier s dostupnou knihovňou spektier. V Tabuľke 4 je uvedený prehľad všetkých identifikovaných prchavých látok vo vzorcoch. Vzhľadom k miernym odchýlkam, je retenčný čas uvedený ako priemer (n = 6).

Celkovo bolo vo všetkých vzorkách bolo identifikovaných 105 prchavých zlúčenín, z toho 7 aldehydov, 15 alkoholov, 58 esterov, 6 ketónov, 4 laktóny, 1 dusíkatá zlúčenina, 1 alkán, 4 kyseliny, 2 fenoly, 1 alkénov, 4 terpenoidy a 2 ďalšie zlúčeniny, ktoré sa nedali zaradiť do žiadnej z týchto kategórií.

Identifikované látky boli porovnané s niektorými dostupnými publikáciami, ktoré sa zaoberali aromatickými aktívnymi látkami muďoulu [9, 13, 14]. Celkovo sa s publikáciami zhodovalo 29 zlúčenín, z toho 6 látok sa vyskytovalo v každej z troch publikácií.

Získané chromatogramy sú uvedené v Prílohe 1–3.

Tabuľka 4 Prehľad identifikovaných prchavých látok vo vzorkách

Zlúčeniny	R_t [min]	K_1	K_2	L_1	L_2	V_1	V_2	Funkčná skupina	Odkaz v publikáciách
Ethanol	4,09	x	x	x	x	x	x	alkohol	
Methylbutyrát	4,99	x	x	x	x			ester	
Trichlormetán	5,73	x	x	x	x	x	x	ostatné	
Ethylbutyrát	6,01	x	x	x	x	x	x	ester	[9, 13, 14]
2-butenal	6,24	x	x	x	x			aldehyd	
N-ethyl-N-methyl-3-buten-1-amin	8,06			x	x			dusíkatá zlúčenina	
Ethylpentanoát	8,31	x	x					ester	
Butanol	8,66	x	x	x	x			alkohol	
Ethylbut-2-enoát	9,16	x	x	x	x			ester	[13, 14]
Methylhexanoát	9,71	x	x	x	x	x	x	ester	[9, 13, 14]
Limonen	9,92	x	x		x	x	x	monoterpen	[13]
3-methylbutanol	10,27	x	x	x	x	x	x	alkohol	
Butylester kyseliny maslovej	10,51	x	x	x	x			ester	
Ethylhexanoát	10,96	x	x	x	x	x	x	ester	[9, 13, 14]
Isopentylbutyrát	11,78			x	x			ester	
Acetoin	12,57	x	x	x	x	x	x	ketón	[9, 13, 14]
Ethylhex-3-enoát	12,89	x	x					ester	
Ethylester kyseliny hex-4-enovej	12,93	x	x	x	x			ester	[13]
Propylhexanoát	13,22	x	x	x	x			ester	
4-Nonanon	13,47	x	x					ketón	
6-methyl-5-hepten-2-on	13,85	x	x	x	x			ketón	
Ethylhex-2-enoát	14,01	x	x	x	x			ester	[13]
Hexanol	14,15	x	x	x	x	x	x	alkohol	

Tabuľka 4 Prehľad identifikovaných prchavých látok vo vzorkách - pokračovanie

Zlúčeniny	R_t [min]	K_1	K_2	L_1	L_2	V_1	V_2	Funkčná skupina	Odkaz v publikáciách
Butylester kyseliny 2-butenovej	14,21	x	x	x	x			ester	[9]
Allylisothiokyanát	14,57	x	x					ostatné	
(E)-hex-3-enol	15,02	x	x					alkohol	[13]
Methyloktanoát	15,15	x	x	x	x	x	x	ester	[9, 13, 14]
Nonanal	15,31	x	x	x	x		x	aldehyd	
Isopentylcyklopropankarboxylát	15,51	x	x	x	x			ester	
Butylhexanoát	15,71	x	x	x	x			ester	
n-butyltiglát	16,03		x	x	x			ester	
Ethyloktanoát	16,29	x	x	x	x	x	x	ester	[9, 13]
Methylesterhexa-2,4-dienoát	16,40	x	x	x		x		ester	
2-Methylallylmethakrylát	16,74		x	x	x			ester	
Kyselina octová	17,27			x	x	x		kyseliny	
Ethyltrans-4-oktenoát	17,40	x	x					ester	[13]
Ethylhexa-2,4-dienoát	17,67	x	x	x	x			ester	
2-ethylhexan-1-ol	17,69					x	x	alkohol	[13]
Ethyl-(Z)-oct-3-enoát	17,85			x	x			ester	
Methylokt-2-enoát	18,07	x	x			x	x	ester	
Ethan-1,2-diyldibutyrát	18,47	x	x	x	x			ester	
Ethyl-3-hydroxybutyrát	18,54	x	x	x	x			ester	[9, 14]
Benzaldehyd	18,90	x	x	x	x	x	x	aldehyd	
2,3-butandiol	19,03	x	x	x	x	x		alkohol	
Linalool	19,14	x	x	x	x	x	x	terpenový alkohol	
Ethyl-2-oktenoát	19,36			x	x			ester	[13]

Tabuľka 4 Prehľad identifikovaných prchavých látok vo vzorkách - pokračovanie

Zlúčeniny	R_t [min]	K_1	K_2	L_1	L_2	V_1	V_2	Funkčná skupinah	Odkaz v publikáciách
Pentylcyklopropán	19,39					x	x	alkán	
Hexyl-2-butenoát	19,43	x	x	x	x			ester	
Methyl citronellát	19,58	x	x			x	x	ester	
Methylester kyseliny dekanovej	20,32		x	x	x			ester	
Hexylhexanoát	20,64	x	x					ester	
Butylkaprylát	20,72	x	x	x	x			ester	[13]
Oktylbutyrát	20,81	x	x					ester	
Ethyltetrahydrofuran-2-acetát	20,91			x	x			ester	[14]
Methylbenzoát	21,23	x	x			x	x	ester	
Ethyldekanoát	21,32	x	x	x	x		x	ester	[14]
Kyselina maslová	21,56	x	x					kyselina	
Fenylacetaldehyd	21,76	x				x	x	aldehyd	[13]
Ethylendimetakrylát	21,82			x	x			ester	
Ethylbenzoát	22,25	x	x	x	x			ester	
Ethyl-3-hydroxyhexanoát	22,41	x	x	x	x	x		ester	[13]
Methylgeranát	22,76	x	x	x	x	x	x	ester	[13, 14]
Ethylisobutyrát	22,95	x	x	x	x	x		ester	
γ-hexalakton	23,19		x	x	x			laktón	[9, 13, 14]
α-citral	23,70					x	x	aldehyd	
α-farnesen	23,88			x	x			alkén	
Citronellol	24,27	x	x	x	x			monoterpenoid	[13]
3-ethyl-4-heptanon	24,75			x	x			ketón	
Citronellylbutanoát	25,01			x	x			ester	

Tabuľka 4 Prehľad identifikovaných prchavých látok vo vzorkách - pokračovanie

Zlúčeniny	Rt [min]	K_1	K_2	L_1	L_2	V_1	V_2	Funkčná skupina	Odkaz v publikáciách
Methyldodekanoát	25,05	x	x					ester	
Hexyloktanoát	25,19	x	x					ester	
2-tridekanon	25,25	x	x	x	x	x		ketón	
Ethyldodekanoát	25,92	x	x	x	x			ester	[13]
Geraniol	26,08	x	x			x	x	monoterpenoid	
Ethyl-methakrylát	26,21		x	x	x			ester	
6,10-dimethyl-5,9-undekadien-2-on	26,29					x	x	ketón	
Kyselina hexanová	26,33	x	x	x	x	x	x	kyselina	
2,2,4-trimethyl-1,3-pentanedioldiisobutyrát	26,65	x	x		x	x		ester	
Benzylalkohol	26,90	x	x	x	x	x	x	alkohol	
Ethyl-3-hydroxyhexadecanoát	27,02	x	x					ester	
2-ethoxyethylester kyseliny hexanovej	27,07		x	x	x			ester	
2-fenylethanol	27,63	x	x	x	x	x	x	alkohol	
γ-oktalaktón	27,84	x	x		x	x	x	laktón	
1-dodekanol	28,52	x	x		x	x		alkohol	[13]
Methyltetradekanoát	29,38	x	x					ester	
Ethyltetradekanoát	30,13	x	x	x	x			ester	[13]
Methyl-(6E)-3,7,11-trimethyl-6,10-dodekadienoát	30,47	x	x					ester	
Kyselina oktanová	30,69	x	x	x	x	x	x	kyselina	
3-fenyl-methylester kyseliny 2-propenovej	31,04	x	x			x	x	ester	
Geranyltiglát	31,57	x	x					ester	
2-fenoxy-ethanol	32,23	x	x					alkohol	
γ-dekalaktón	32,34					x	x	laktón	

Tabuľka 4 Prehľad identifikovaných prchavých látok vo vzorkách - pokračovanie

Zlúčeniny	R_T [min]	K_1	K_2	L_1	L_2	V_1	Vh_2	Funkčná skupina	Odkaz v publikáciách
1-hexadekanol	32,51	x	x					alkohol	[13]
Eugenol	32,69	x	x					fenol	
(2E,6E)-Methyl-10,11-dihydroxy-3,7,11-trimethyldodeca-2,6-dienoát	33,29	x	x			x	x	ester	
2-(dodecyloxy)-ethanol	33,85	x	x					alkohol	
Ethylhexadekanoát	33,99	x	x					ester	[13]
3,7,11-trimethyl-6,10-dodecadien-1-ol	34,28	x	x	x	x			alkohol	
Cinnamylalkohol	34,85	x	x		x	x	x	alkohol	
Hexylcinnamal	36,14	x	x	x	x		x	aldehyd	
Kumarín	38,10	x	x	x	x	x	x	laktón	
Vanillin lactosid	40,29	x	x					aldehyd	
Benzylcinnamoát	41,66	x	x	x	x	x	x	ester	
2-Methoxy-4-([(1-methyl-2-fenylethyl)amino]methyl)fenol	42,47	x	x					fenol	
Benzylsalicilát	46,68					x	x	ester	

Použité značenie: RT - retenčný čas; V - PA-Golden; L - Rebecca´s Gold; K – NC-1

4.2 Porovnanie počtu identifikovaných zlúčenín vo vzorkách

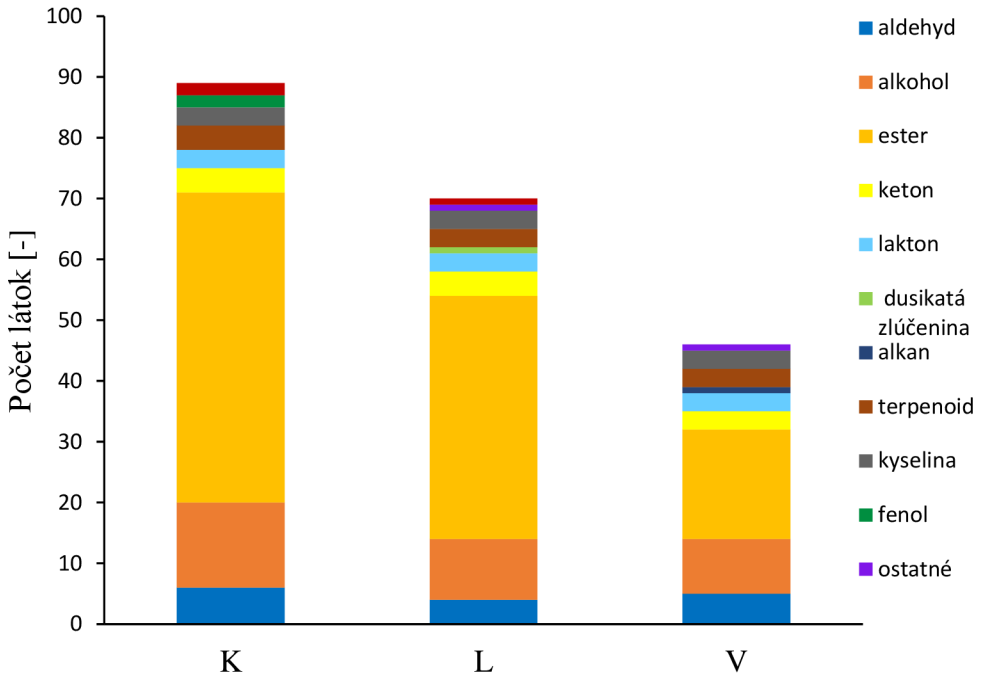
V Tabuľke 5 je uvedené podrobné zastúpenie jednotlivých funkčných skupín v analyzovaných vzorkách. V Grafe 1 je zobrazené porovnanie počtu identifikovaných zlúčenín v jednotlivých vzorkách rozdelených podľa chemických skupín.

Na základe porovnania počtu identifikovaných zlúčenín v odrodách sú pomerne malé rozdiely medzi odrodami NC-1 a Rebecca´s Gold. Najväčší rozdiel bol v počte identifikovaných esterov. V odrode NC-1 bol zistený najväčší počet prchavých látok z analyzovaných vzoriek (89). Odroda PA-Golden sa odlišuje predovšetkým najmenším počtom identifikovaných esterov, takže z analyzovaných vzoriek obsahuje najmenej prchavých látok (46). Estery sú najviac zastúpenými prchavými látkami v každej vzorke. Ďalšími skupinami vo vyššom počte sú alkoholy a aldehydy.

Tabuľka 5 Porovnanie jednotlivých chemických skupín zlúčenín (celkový počet)

	K	L	V
Aldehydy	6	4	5
Alkoholy	14	10	9
Estery	51	40	18
Ketóny	4	4	3
Laktóny	3	3	3
Dusíkaté zlúčeniny	0	1	0
Alkány	0	0	1
Kyseliny	3	3	3
Fenoly	2	0	0
Alkény	2	1	0
Ostatné	0	1	1
Monoterpenoidy	2	1	1
Monoterpény	1	1	1
Terpénové alkoholy	1	1	1
Celkom	89	70	46

Použité značenie: K – NC-1; L - Rebecca´s Gold; V – PA-Golden

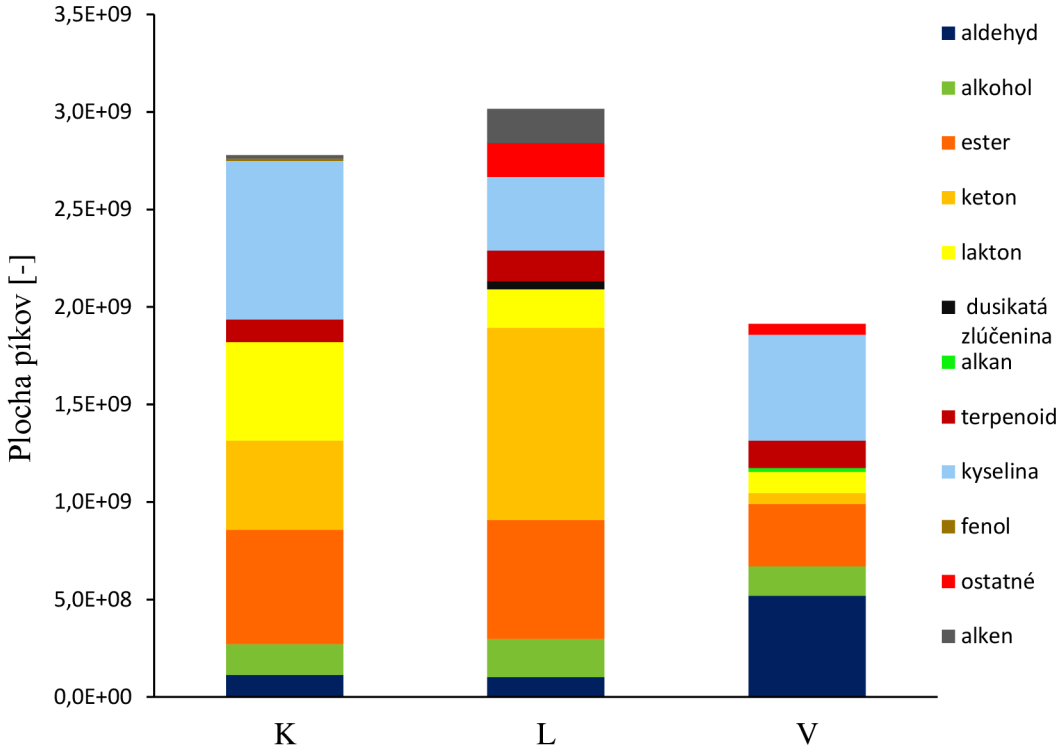


Graf 1 Porovnanie jednotlivých chemických skupín zlúčenín identifikovaných vo vzorkách (celkový počet); použité značenie: V - PA-Golden; L – Rebecca´s Gold; K – NC-1

4.3 Porovnanie obsahu identifikovaných zlúčenín

V Grafe 2 je uvedené porovnanie obsahu identifikovaných zlúčenín v jednotlivých vzorkách rozdelených podľa chemických skupín. Obsah identifikovaných zlúčenín je vyjadrený semikvantitatívne na základe plôch píkov.

Najväčší obsah prchavých látok bol zistený v odrode Rebecca´s Gold, ktorá sa vyznačuje najväčším obsahom ketónov z analyzovaných vzoriek. Obsah esterov v tejto odrode je podobný ako pri odrode NC-1. V porovnaní s ostatnými odrodami bol v NC-1 zistený významný obsah kyselín a laktónov. Najmenší obsah prchavých látok bol zistený v odrode PA-Golden, ktorá má najväčší obsah aldehydov z analyzovaných vzoriek. Vzorky sú pomerne zhodné v obsahu alkoholov a terpenoidov.



Graf 2 Porovnanie celkového obsahu jednotlivých chemických zlúčenín identifikovaných vo vzorkách; použité značenie: V - PA-Golden; L – Rebecca´s Gold; K – NC-1

5 ZÁVER

Táto bakalárska práca bola zameraná na charakterizáciu muďoulu trojlaločného ako málo známeho ovocného stromu. Muďoul trojlaločný je plodina, ktorú je možné pestovať aj v našich klimatických podmienkach, ale jej dostupnosť a využitie v potravinárstve je obmedzené krátkou trvanlivosťou plodov. Avšak vďaka vysokému obsahu nutrične hodnotných látok a bioaktívnych látok je ich významným zdrojom. Taktiež je veľmi cenný v medicínskom a kozmetickom odvetví.

Cieľom práce bolo identifikovať a kvantifikovať prchavé látky nachádzajúce sa v plodoch troch odrôd muďoulu, konkrétne PA-Golden, Rebecca´s Gold a NC-1.

Pre stanovenie aromaticky aktívnych látok bola použitá metóda HS-SPME-GC-MS.

V analyzovaných vzorkách bolo spolu zistených 105 prchavých zlúčenín, z toho 7 aldehydov, 15 alkoholov, 58 esterov, 6 ketónov, 4 laktóny, 1 dusíkatá zlúčenina, 1 alkán, 4 kyseliny, 2 fenoly, 1 alkénov, 4 terpenoidy a 2 ďalšie zlúčeniny, ktoré neboli zaradené do žiadnej z týchto kategórií.

Podľa získaných výsledkov analýz sú medzi odrodami prekvapivo značné odlišnosti. Najväčší rozdiel je najmä v počte esterov, ktoré zároveň patria medzi najpočetnejšie vo všetkých vzorkách. Z analyzovaných odrôd sa najviac odlišuje v počte i v celkovom obsahu prchavých látok odroda PA-Golden. V oboch prípadoch dosahuje najmenšie hodnoty, takže sa dá predpokladať, že je najmenej aromatická. Medzi odrodami Rebecca´s Gold a NC-1 rozdiely sú menšie. Rebecca´s Gold má aj najvyššiu hodnotu celkového obsahu prchavých látok. Na celkovej aróme odrody sa značne podieľajú predovšetkým ketóny, ktoré sú vo významne vyššom obsahu. V odrode NC-1 bol zistený najväčší počet prchavých látok a líši sa od ostatných odrôd hlavne obsahom laktónov a kyselín.

Keďže muďoul je zaujímavá drevina s veľkým počtom látok a širokým možným využitím, je potreba rozšíriť znalosti o jeho zložení a vlastnostiach. Na túto prácu budú nadväzovať ďalšie experimenty, v ktorých budú stanované ďalšie významné látky v muďoule (napr. mastné kyseliny).

6 ZOZNAM POUŽITÝCH ZDROJOV

[1] HORMAZA, José i. The Pawpaw, a Forgotten North American Fruit Tree. *Arnoldia* [online]. Arnold Arboretum of Harvard University, 2014, 72(1), 13-23 [cit. 2019-04-10]. ISSN 00042633.

[2] MOORE, Andrew. *Pawpaw: in search of America's forgotten fruit*. White River Junction, Vermont: Chelsea Green Publishing, 2015. ISBN 978-160-3585-965.

[3] POMPER, Kirk W. a Desmond R. LAYNE. The North American Pawpaw: Botany and Horticulture. JANICK, Jules, ed. *Horticultural Reviews* [online]. Oxford, UK: John Wiley, 2004, 2010-06-28, s. 349-382 [cit. 2019-03-10]. DOI: 10.1002/9780470650882.ch7. ISBN 9780470650882. Dostupné z: http://doi.wiley.com/10.1002/9780470650882.ch7

[4] In: *Integrated Taxonomic Information System* [online]. [cit. 2019-03-10]. Dostupné z: https://www.itis.gov/servlet/SingleRpt/SingleRpt?search_topic=TSN&search_value=18117#null

[5] SMALL, Ernest. *North American Cornucopia: Top 100 Indigenous Food Plants*. Boca Raton: CRC Press, 2013. ISBN 9781466585942.

[6] Pawpaw. In: *Foraging Texas* [online]. [cit. 2019-04-10]. Dostupné z: https://www.foragingtexas.com/2005/09/pawpaw.html

[7] TULL, Delena, Michael EARNEY a George Oxford MILLER. Edible and useful plants of the Southwest: Texas, New Mexico, and Arizona : including recipes, teas and spices, natural dyes, medicinal uses, poisonous plants, fibers, basketry, and industrial uses. Rev. ed. Austin: University of Texas Press, 2013. ISBN 978-0-292-74827-9

[8] *Growables - Pawpaw* [online]. In: . [cit. 2019-03-10]. Dostupné z: https://www.growables.org/information/TropicalFruit/documents/PawpawGuideUSDA.pdf

[9] MCGRATH, Marilyn j. a Carol KARAHADIAN. Evaluation of headspace volatiles and sensory characteristics of ripe pawpaws (Asimina triloba) from selected cultivars. *Food Chemistry* [online]. Elsevier, 1994, 51(3), 255-262 [cit. 2019-02-25]. DOI: 10.1016/0308-8146(94)90024-8. ISSN 0308-8146.

[10] DONNO, D., G.l. BECCARO, M.g. MELLANO, A.k. CERUTTI a G. BOUNOUS. Chemical fingerprinting as nutraceutical quality differentiation tool in Asimina triloba L. fruit pulp at different ripening stages: An old species for new health needs. *Journal of Food and Nutrition Research* [online]. Food Reseach Institute, 2014, 53(1), 81-95 [cit. 2019-03-10]. ISSN 13368672.

[11] SUNFLOWER Pawpaw. In: *Horticulture Limbach* [online]. [cit. 2019-03-29]. Dostupné z: http://www.shop.zahradnictvolimbach.sk/en/sunflower-pawpaw-trees

[12] BRANNAN, Robert G., Dane E. SALABAK a David H. HOLBEN. Sensory Analysis of Pawpaw (Asimina triloba) Pulp Puree: Consumer Appraisal and Descriptive Lexicon. *Journal of Food Research* [online]. 2012, 1(1) [cit. 2019-03-15]. DOI:

10.5539/jfr.v1n1p179. ISSN 1927-0895. Dostupné z: http://www.ccsenet.org/journal/index.php/jfr/article/view/13510

[13] SHIOTA, H. Volatile components of pawpaw fruit (Asimina triloba Dunal.). *Journal of agricultural and food chemistry* [online]. 1991, (9), 1631-1635 [cit. 2019-02-25]. ISSN 0021-8561

[14] MCGRATH, M.j. a C. KARAHADIAN. Evaluation of physical, chemical, and sensory properties of pawpaw fruit (Asimina triloba) as indicators of ripeness. *Journal of agricultural and food chemistry* [online]. 1994, (4), 968-974 [cit. 2019-02-25]. ISSN 0021-8561.

[15] POMPER, Kirk, Sheri CRABTREE, Desmond LAYNE, R PETERSON, Joseph MASABNI a Dwight WOLFE. The Kentucky Pawpaw Regional Variety Trial. *Journal of the American Pomological Society* [online]. University Park: American Pomological Society, 2008, 62(2), 58-69 [cit. 2019-03-10]. ISSN 15273741. Dostupné z: http://search.proquest.com/docview/209764011/

[16] NAM, Jin-Sik, Seo-Yeon PARK, Hye-Jun OH, Hye-Lim JANG a Young Ha RHEE. Phenolic Profiles, Antioxidant and Antimicrobial Activities of Pawpaw Pulp (Asimina triloba [L.] Dunal) at Different Ripening Stages. *Journal of Food Science* [online]. 2019, 84(1), 174-182 [cit. 2019-03-29]. DOI: 10.1111/1750-3841.14414. ISSN 00221147. Dostupné z: http://doi.wiley.com/10.1111/1750-3841.14414

[17] NAM, Jin-sik a Hye-lim JANG. Nutritional compositions in roots, twigs, leaves, fruit pulp, and seeds from pawpaw (Asimina triloba [L.] Dunal) grown in Korea. *Journal of Applied Botany and Food Quality* [online]. Section Applied Botany of the German Botanical Society, German Society for Quality Research on Plant Foods (DGQ), 2018, 91, 47-55 [cit. 2019-02-25]. DOI: 10.5073/JABFQ.2018.091.007. ISSN 1613-9216. Dostupné z: https://doaj.org/article/4ba2342cc895438bad249fb73599577d

[18] Nature's Sunshine Paw Paw Cell-Reg. In: *HealthPost* [online]. [cit. 2019-03-10]. Dostupné z: https://www.healthpost.com.au/natures-sunshine-paw-paw-cell-reg-nspp.html

[19] POMPER, Kirk W., Jeremiah D. LOWE, Sheri B. CRABTREE a William KELLER. Identification of Annonaceous Acetogenins in the Ripe Fruit of the North American Pawpaw (Asimina triloba). *Journal of Agricultural and Food Chemistry* [online]. 2009, 57(18), 8339-8343 [cit. 2019-03-10]. DOI: 10.1021/jf9018239. ISSN 0021-8561. Dostupné z: https://pubs.acs.org/doi/10.1021/jf9018239

[20] VELÍŠEK, Jan a Jana HAJŠLOVÁ. *Chemie potravin I*. Rozš. a přeprac. 3. vyd. Tábor: OSSIS, 2009. ISBN 9788086659152.

[21] *National Center for Biotechnology Information, PubChem Database, Arachidonic acid* [online]. In: . [cit. 2019-04-09]. Dostupné z: https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/444899

[22] PÁNEK, Jan, Jan POKORNÝ a Jana DOSTÁLOVÁ. *Základy výživy a výživová politika*. Praha: Vysoká škola chemicko-technologická, 2002. ISBN 8070804688.

[23] VELÍŠEK, Jan a Jana HAJŠLOVÁ. *Chemie potravin II*. Rozš. a přeprac. 3. vyd. Tábor: OSSIS, 2009. ISBN 978-80-86659-16-9.

[24] LEVINE, Robert A., Kristy M. RICHARDS, Kevin TRAN, Rensheng LUO, Andrew L. THOMAS a Robert E. SMITH. Determination of Neurotoxic Acetogenins in Pawpaw (Asimina triloba) Fruit by LC-HRMS. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* [online]. 2015, 63(4), 1053-1056 [cit. 2019-02-25]. DOI: 10.1021/jf504500g. ISSN 0021-8561. Dostupné z: http://pubs.acs.org/doi/10.1021/jf504500g

[25] ALBTechnology. In: *Annonacin* [online]. [cit. 2019-03-10]. Dostupné z: https://www.albtechnology.com/annonacin-cas-111035-65-5.html

[26] ChemSrc. In: *(+)-asimicin* [online]. [cit. 2019-04-10]. Dostupné z: https://www.chemsrc.com/en/cas/102989-24-2_648653.html

[27] HÁLKOVÁ, Jana, Marie RUMÍŠKOVÁ a Jana RIEGLOVÁ. *Analýza potravin*. 2. vyd. Újezd u Brna: I. Straka, 2001. ISBN 8086494020.

[28] SCHMIDT, Kamila a Ian PODMORE. Solid Phase Microextraction (SPME) Method Development in Analysis of Volatile Organic Compounds (VOCS) as Potential Biomarkers of Cancer. *Journal of Molecular Biomarkers & Diagnosis* [online]. 2015, 06(06) [cit. 2019-03-10]. DOI: 10.4172/2155-9929.1000253. ISSN 21559929. Dostupné z: https://www.omicsonline.org/open-access/solid-phase-microextraction-spme-method-development-in-analysis-ofvolatile-organic-compounds-vocs-as-potential-biomarkers-of-cancer-2155-9929-1000253.php?aid=64169

[29] CHARVÁTOVÁ, Michaela. Multimediální pomůcka pro předmět Chemie potravních řetězců: VYUŽITÍ METODY SPME PŘI ANALÝZE LÁTEK POCHÁZEJÍCÍCH Z POLYMERŮ KONTAMINUJÍCÍCH POTRAVNÍ ŘETĚZCE (SOP) [online]. [cit. 2019-03-10]. Dostupné z: https://fvhe.vfu.cz/static/informace-o-fakulte/sekce-ustavy/uvozp/metoda-spme/index.html

[30] VOLKA, Karel. *Analytická chemie II*. Praha: VŠCHT, 1997. ISBN 9788070802274.

[31] KLOUDA, Pavel. *Moderní analytické metody*. 2., upr. a dopl. vyd. Ostrava: Pavel Klouda, 2003. ISBN 80-863-6907-2.

[32] HÜBSCHMANN, Hans-Joachim. *Handbook of GC/MS* [online]. Weinheim, Germany: Wiley-VCH Verlag GmbH & Co., 2008 [cit. 2019-03-10]. DOI: 10.1002/9783527625215. ISBN 9783527625215.

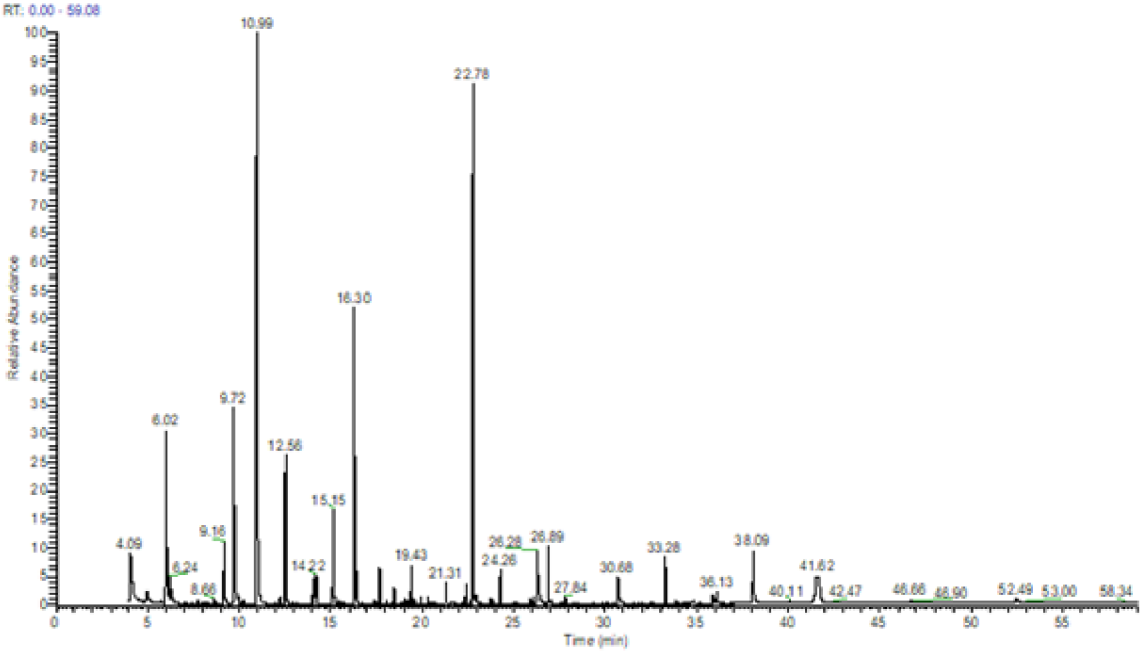
7 ZOZNAM PRÍLOH

Príloha 1 Chromatogram prchavých látok vo vzorke odrody NC-1

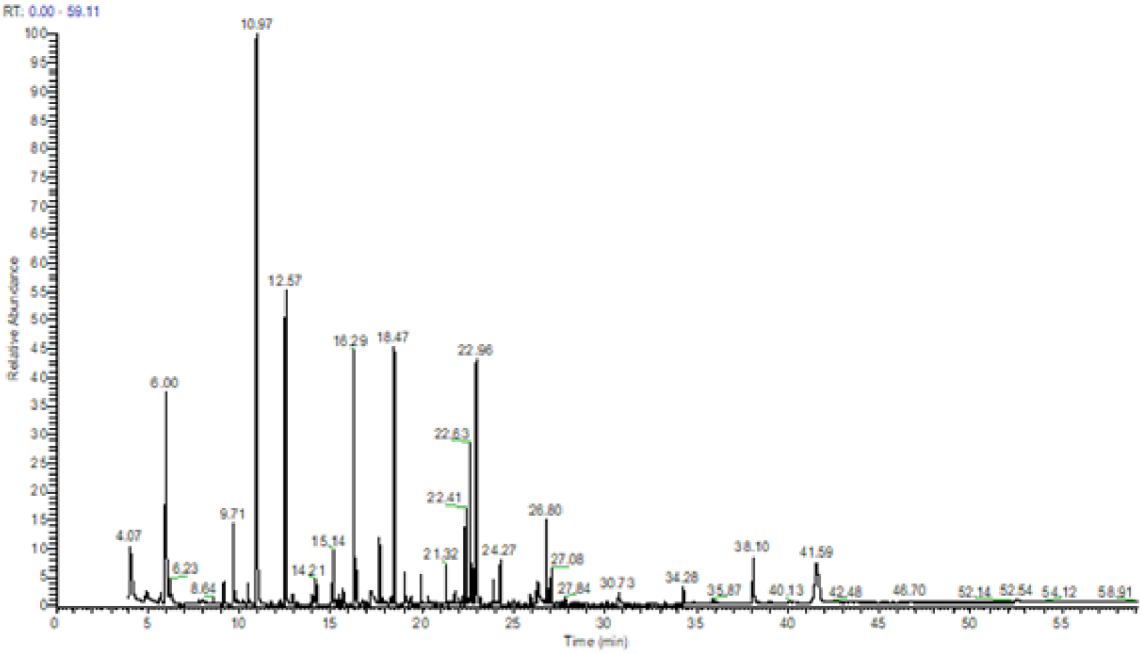
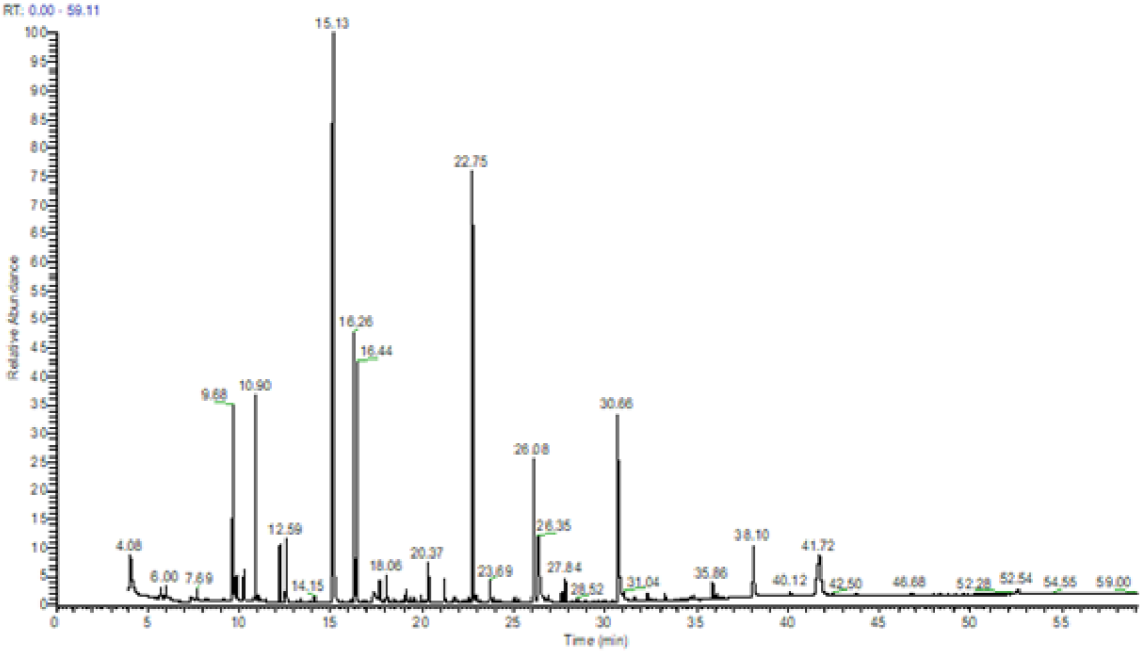
Príloha 2 Chromatogram prchavých látok vo vzorke odrody Rebecca´s Gold

Príloha 3 Chromatogram prchavých látok vo vzorke odrody PA-Golden

Príloha 1 Chromatogram prchavých látok vo vzorke odrody NC-1



Príloha 2 Chromatogram prchavých látok vo vzorke odrody Rebecca´s Gold



Príloha 3 Chromatogram prchavých látok vo vzorke odrody PA-Golden