

**Mendelova univerzita v Brně
Zahradnická fakulta v Lednici**

**AROMATICKÉ SLOUČENINY OBSAŽENÉ V MÁTĚ ZAJIŠTĚNÉ METODOU
PLYNOVÉ CHROMATOGRAFIE**

Diplomová práce

Vedoucí diplomové práce:
Prof. Ing. Jan Goliáš, DrSc.

Vypracovala:
Bc. Gajdošová Petra

Lednice 2015

Čestné prohlášení

Prohlašuji, že jsem práci na téma **Aromatické sloučeniny obsažené v mátě zajištěné metodou plynové chromatografie** vypracovala samostatně a veškeré použité prameny a informace uvádím v seznamu použité literatury. Souhlasím, aby moje práce byla zveřejněna v souladu s § 47b zákona č. 111/1998 Sb., o vysokých školách ve znění pozdějších předpisů a v souladu s platnou Směrnicí o zveřejňování vysokoškolských závěrečných prací.

Jsem si vědoma, že se na moji práci vztahuje zákon č. 121/2000 Sb., autorský zákon, a že Mendelova univerzita v Brně má právo na uzavření licenční smlouvy a užití této práce jako školního díla podle § 60 odst. 1 autorského zákona.

Dále se zavazuji, že před sepsáním licenční smlouvy o využití díla jinou osobou (subjektem) si vyžádám písemné stanovisko univerzity, že předmětná licenční smlouva není v rozporu s oprávněnými zájmy univerzity, a zavazuji se uhradit případný příspěvek na úhradu nákladů spojených se vznikem díla, a to až do jejich skutečné výše.

V Lednici, dne:

.....

podpis

Poděkování

Ráda bych poděkovala svému vedoucímu prof. Ing. Janu Goliášovi, DrSc. za odborné vedení, věnovaný čas, cenné rady a připomínky, které mi poskytl při konzultacích mé diplomové práci.

Obsah

1. Úvod	9
2. Cíl práce	10
3. Literární část	11
3.1. Charakteristika rodu <i>Mentha</i> L.	11
3.3. Historie rodu <i>Mentha</i>	11
3.4. Popis vybraných druhů rodu <i>Mentha</i>	12
3.4.1. <i>Mentha x piperita</i> – máta peprná	12
3.4.2. <i>Mentha longifolia</i> L. – máta dlouholistá	13
3.4.3. <i>Mentha spicata</i> L. – máta klasnatá	14
3.5. Agrotechnika pěstování máty	15
3.5.1. Technologie pěstování máty	15
3.5.2. Způsoby rozmnožování máty	16
3.5.3. Způsoby sklizně máty	17
3.5.4. Technologie sušení máty	17
3.5.5. Zhodnocení výnosnosti máty peprné	17
3.6. Možnosti využití máty	18
3.7. Charakteristika aromatických látek v mátě	18
3.7.1. Aromatické látky jako součást silic	19
3.7.2. Chemická charakteristika aromatických sloučenin v mátě	21
3.8. Popis majoritních aromatických sloučeniny v mátě	26
3.9. Analýza aromatických sloučenin	32
3.9.1. Plynová chromatografie – GC	32
3.9.2. Extrakce pevnou fází – SPE	33
3.9.3. Mikroextrakce pevnou fází – SPEM	33
4. Materiál a metodika	34
4.1. Morfologické pozorování	35
4.2. Sklizeň a úprava materiálu	35
4.3. Analýza aromatických látek pomocí metody SPME	36
5. Výsledky a diskuse	37
5.1. Hodnocení morfologie	37
5.1.1 Morfologický popis vybraných druhů	39

5.2. Hodnocení aromatických sloučenin metodou SPEM-GC/MS	40
6. Souhrn získaných výsledků.....	63
7. Závěr	65
8. Souhrn a Resume.....	66
9. Seznam použité literatury	68

Seznam grafů a tabulek

Tabulka č. 1: Termíny rašení

Tabulka č. 2: Vývoj růstu u druhu *Mentha x piperita*

Tabulka č. 3: Vývoj růstu u druhu *Mentha spicata*

Tabulka č. 4: Vývoj růstu u druhu *Mentha longifolia*

Graf č. 1: Intenzita růstu u vybraných druhů rodu *Mentha*

Graf č. 2: Koncentrace terpenů - *Mentha x piperita*

Graf č. 3: Koncentrace aldehydů - *Mentha x piperita*

Graf č. 4: Koncentrace alkoholů – *Mentha x piperita*

Graf č. 5: Koncentrace esterů - *Mentha x piperita*

Graf č. 6: Koncentrace ketonů – *Mentha x piperita*

Graf č. 7: Koncentrace laktonů – *Mentha x piperita*

Graf č. 8: Koncentrace terpenů – *Mentha spicata*

Graf č. 9: Koncentrace aldehydů – *Mentha spicata*

Graf č. 10: Koncentrace alkoholů - *Mentha spicata*

Graf č. 11: Koncentrace esterů – *Mentha spicata*

Graf č. 12: Koncentrace ketonů – *Mentha spicata*

Graf č. 13: Koncentrace laktonů – *Mentha spicata*

Graf č. 14: Porovnání koncentrace mentholu u druhů *Mentha x piperita* a *Mentha spicata*

Graf č. 15: Porovnání koncentrace z-citralu u druhů *Mentha x piperita* a *mentha spicata*

Graf č. 16: Porovnání koncentrace linaloolu u druhů *Mentha x piperita* a *Mentha spicata*

- Graf č. 17: Porovnání koncentrace thujonu u druhů *Mentha x piperita* a *Mentha spicata*
- Graf č. 18: Porovnání koncentrace nerolidolu u druhů *Mentha x piperita* a *Mentha spicata*
- Graf č. 19: Porovnání koncentrace limonenu u druhů *Mentha x piperita* a *Mentha spicata*
- Graf č. 20: Porovnání koncentrace á-pinenu u druhů *Mentha x piperita* a *Mentha spicata*
- Graf č. 21: Porovnání koncentrace á-farnesenu u druhů *Mentha x piperita* a *Mentha spicata*
- Graf č. 22: Porovnání koncentrace 3-octanonu u druhů *Mentha x piperita* a *Mentha spicata*
- Graf č. 23: Porovnání koncentrace methyl acetatu u druhů *Mentha x piperita* a *Mentha spicata*
- Graf č. 24: Porovnání koncentrace eugenolu u druhů *Mentha x piperita* a *Mentha spicata*
- Graf č. 25: Porovnání koncentrace á-citronellolu u druhů *Mentha x piperita* a *Mentha Spicata*

1. Úvod

Máta je jednou z nejpoužívanějších léčivých rostlin na světě díky jejím léčivým vlastnostem a použití její silice ve farmaceutickém průmyslu. Toto potvrzuje skutečnost, že se stala rostlinou roku 2014.

Její užívání je zaznamenáno už ve starém Egyptě. Máta peprná byla popsána v 17. století v Anglii biologem Johnem Rayem. Od 18. století se máta začala rozšiřovat, jako kulturní rostlina.

Rod *Mentha L.* zahrnuje více než 25 druhů. Nejznámějším druhem je máta peprná. Rod *Mentha L.* je široce rozšířeným druhem ve všech kontinentech (s výjimkou Jižní Ameriky a Antarktidy). Centra toho to rodu jsou v Evropě, Austrálii, Střední Asie a Severní Afrika.

Máta je využívána především ve farmaceutickém, potravinářském a kosmetickém průmyslu. Je také ale vyhledávána a pěstována pro svůj estetický potenciál. Důležitou složkou jsou její aromatické látky, které jsou součástí éterických olejů neboli silic. Silice máty peprné je používána v nejrůznějších odvětvích. V potravinářském průmyslu se využívají jako aromata, v kosmetice a ve farmaceutickém průmyslu mají využití jako doplňkové látky. Mátová silice je také důležitou složkou v aromaterapii a má značný antimikrobiální potenciál.

2. Cíl práce

- Prostudovat literaturu o obsahových látkách v mátě a chemicky popsat hlavní sloučeniny.
- Morfologické pozorování u vybraných druhů máty. Zjištění výnosů.
- Odběr biologického vzorku z rostliny. Izolace látkových složek pomocí SPEM.
- Rozbor látkových složek v analytickém vzorku podle chemických skupin.
- Výsledky zpracovat do tabulek a grafů.

3. Literární část

3.1. Charakteristika rodu *Mentha* L.

Podle Štěpánka (2000) je máta vytrvalá aromatická bylina s podzemními či plazivými oddenky a výběžky s jednoduchými nebo parohovitě větvenými chlupy. Lodyha je nejčastěji větvená, přímá nebo na bázi vystoupavá, pravidelně olistěná. Listy jsou přisedlé nebo řapíkaté, čepel celistvá, nejčastěji kopinatá až vejčitá, někdy kadeřavá. Květenství jsou husté, prodloužené nebo značně zkrácené lichoklasy složené z lichopřeslenů s listeny nenápadnými, kopinatými až čárkovitými. Květy jsou drobné, kalich je pravidelný, do 1/5-1/2 členěný v trojúhelníkovitý, stejnotvárné cipy. Trubka kališní je 10-13 žilná, v ústí lysá nebo chlupatá. Koruna je mírně souměrná, trubkovitá se 4 obvejčitými laloky a s trubkou pod ústím pozvolna se zužující. Přední lalok je obvykle nejdelší. Nejkratší je postranní a zadní lalok. Okraje laloků jsou celistvé. Plodem jsou vejcovité až elipsoidní tvrdky s hladkou nebo síťnatou skulpturou. Základní počet chromozomů $x=12$.

Většina druhů se vyznačuje vysokou morfologickou rozmanitostí, která se odráží ve vysokém počtu taxonomických kategorií. Také časté hybridizace přispívají k větší variabilitě. U divoké máty je vysoká chemická rozmanitost na rozdíl od máty pěstované, kde je obsah éterických olejů stabilní.

Původ: 12-15 druhů původně v mimotropických oblastech Euroasie, Afrike, Severní Americe, Austrálii a na Novém Zélandu. (ŠTĚPÁNEK, 2000)

Rozšíření: Máta je rozšířena v Evropě na sever až do jihovýchodní Skandinávie, západní a jihozápadní Asii a severní Afrike. Původnost výskytu v jižní Africe je nejistá. Byla také zavlečena do Severní a Jižní Ameriky a do Austrálie.

Lawrence (2007) uvádí, že rod obsahuje 18 druhů a z toho přibližně 11 hybridů: *Mentha aquatica*, *M. arvensis*, *M. australis*, *M. canadensis*, *M. cervina*, *M. dahurica*, *M. diemenica*, *M. gattefousei*, *M. grandiflora*, *M. japonica*, *M. laxiflora*, *M. longifolia*, *M. pulegium*, *M. repens*, *M. requienii*, *M. sautureioides*, *M. spicata*, *M. suaveolens*.

3.3. Historie rodu *Mentha*

Castleman (2004) říká, že již v nejstarším dochovaném lékařském listu (Ebersově papyru), byla máta zmiňována pro své uklidňující účinky na žaludek.

Z Egypta se máta rozšířila do Palestiny, kde se používal jako platidlo daní. Ze svaté země se potom máta rozšířila do Řecka, kde se stala součástí mytologie.

Řekové a Římané přidávali mátu do mléka, aby zabránili jeho zkysnutí, a podávali ji po jídle jako prostředek k lepšímu trávení. (Castleman, 2004)

Čínští a ajurvédští lékaři používali mátu po staletí jako tonikum a prostředek uklidňující zažívání, dále při léčbě nachlazení, kašle a horečky.

Německá abatyše a bylinkářka 12. století doporučovala mátu na trávicí ústrojí a dnu. Raní kolonisté si všimli, že indiáni používají severoamerický druh máty k léčbě kašle, otoků a zápalu plic. Máta peprná i klasnatá, které kolonisté přivezli s sebou, se brzy rozšířily. Na konci 19. století předepisovali předchůdci dnešních přírodních léčitelů, mátu peprnou proti bolesti hlavy, na kašel, bronchitidu, žaludeční neurózu a menstruační potíže.

Chemikům se podařilo oddělit destilací mentol ze silice máty peprné na začátku 80. let 19. století. Přírodní léčitelé používali mentolovou páru k inhalaci a k potírání plic, což zlepšovalo průběh astmatu, senné rýmy a ranní nevolnosti.

Podle Lawrence (2007) byli první nomenklatury pro rod *Mentha* zveřejněny od roku 1753.

3.4. Popis vybraných druhů rodu *Mentha*

3.4.1. *Mentha x piperita* – máta peprná

Máta peprná je vytrvalá bylina, vytváří oddenek s podzemními až 0,8 m dlouhými výběžky. Lodyha je přímá, v horní části větvená, 40-80 cm vysoká, lysá (Neugebauerová, 2006). Štěpánek (2000) uvádí, že střední a horní lodyžní listy jsou řapíkaté. Čepel je kopinatá, vejčité kopinatá až vejčitá, 45-80(-90) mm dlouhá, 20-35(-45) mm široká, ostře špičatá, na bázi zúžená nebo uťatá. Na okraji je čepel pilovitá, obvykle řídce oděná až téměř lysá. Žilnatina je na rubu mírně vniklá. Řapík je 8-15(-20) mm dlouhý. Květenstvím je lichoklas. Listeny jsou malé a čárkovité. Květní stopky jsou obvykle 1-2 mm dlouhé, hustě oděné drobnými papilami. Kalich je úzce trubkovitý, členěný v úzce trojúhelníkovité, řídce ale dlouze chlupaté cípy. Koruna je světle růžová až světle fialová. Prašníky jsou zakrnělé, pokud se vyvinou, není pyl životaschopný. Plodem je tvrdka, které se téměř nevyvíjejí.

Výskyt a rozšíření

Podle Štěpánka (2000) je v ČR pěstována a zplaňuje pouze *Mentha x piperita* nothosubsp. *piperita*. Pěstována je v termofytiku a v teplejších oblastech mezofytika, především na vlhkých a těžkých půdách. Na lehčích a sušších půdách často vymrzá. Roztroušeně zplaňuje na vlhkých místech uvnitř obcí nebo v jejich blízkosti.

3.4.2. *Mentha longifolia* L. – máta dlouholistá

Štěpánek (2000) uvádí, že máta dlouholistá má oddenek s podzemními, 5-20 cm dlouhými a 3-5 mm širokými lysými výběžky. Lodyha je přímá nebo na bázi vystoupavá, zpravidla v horní části větvená (30-)80-100(-150) cm vysoká ve střední a horní části šedochlupatá s hustými, jednoduchými, obloukem dolů zatočenými chlupy. Lodyha je v dolní části lysá nebo oděná pouze na hranách. Střední a horní lodyžní listy jsou přisedlé nebo krátce řapíkaté. Čepel je podlouhlá až kopinatá, (35-)60-90(-120) mm dlouhá, 15-30(-40) mm široká, špičatá, na bázi uťatá nebo vykrojená, pilovitá s jednoduchými chlupy nebo téměř lysá, světle šedozelená, na rubu šedochlupatá až běloplstnatá. Žilnatina je na rubu mírně vyniklá. Řapík je 0-3(-5) mm dlouhý. Květenství je hustý lichoklas. Listeny jsou drobné a čárkovité. Kalich je krátce trubkovitý, (1,4-)1,8-2,3(-2,5) mm dlouhý, do (1/3-)1/2 členěný v úzce trojúhelníkovité cipy. Koruna je světle fialová až bělavě růžová. Prašníky 0,3-0,4 mm dlouhé. Plodem je tmavě hnědá až černohnědá tvrdka s výraznou síťnatou skulpturou.

Výskyt a rozšíření

Vyskytuje se na březích a náplavách vodních toků, podmáčených depresích, prameništích, vlhkých loukách, zamokřených příkopech podél komunikací. Dále se vyskytuje na vlhkých či střídavě vlhkých půdách, živinami bohatých a často zásaditých, nejčastěji jílovitých, místy se silnou příměsí skeletu.

Štěpánek (2000) uvádí, že druh je udáván z velké části Evropy, z pohoří Asie až po Himaláje a jižní Afriku. V jednotlivých částech areálu se vyvinuly morfologicky vyhraněné typy. V Evropě se vyskytuje především nominální subspecie, pouze do východní části Středozeří proniká asijská *M. longifolia* subsp. *Typhoides*. Výskyt *M.*

longifolia subsp. *Longifolia* je vázán na středohoří a horské oblasti a jejich širší okolí ve střední a jižní Evropě. Přesnější vymezení areálu není známo.

V ČR se máta dlouholistá vyskytuje téměř na celém území. Zejména v termofytiku a mezofytiku, v oreofytiku jen v nižších polohách. Vzácně se vyskytuje pouze v jihozápadních a v nejsevernějších Čechách.

3.4.3. *Mentha spicata* L. – máta klasnatá

Podle Štěpánka (2000) má máta klasnatá oddenek s podzemními, 5-15(-30) cm dlouhými 3-5 mm širokými, lysými výběžky. Lodyha je přímá nebo na bázi vystoupavá, zpravidla v horní polovině větvená, (30-)45-110(-130) cm vysoká, šedochlupatá s hustými převážně dolů zahnutými jednoduchými chlupy nebo je lodyha zdánlivě lysá. Střední a horní lodyžní listy jsou přisedlé nebo krátce řapíkaté. Čepel je kopinatá, podlouhlá nebo eliptická až vejčitě kopinatá, 35-60(-70) mm dlouhá, (10-)15-25(-30) mm široká, špičatá až ostře špičatá, na bázi uťatá až vykrojená, obvykle řídce ostře pilovitá. Na líci jsou listy hustě chlupaté jednoduchými, odstálými, zahnutými chlupy. Na rubu jsou listy hustě šedochlupaté s propletenými, neuspořádaně odstálými, jednoduchými chlupy nebo jsou listy zdánlivě lysé, s drobnými papilami. Žilnatina je na rubu mírně vniklá. Řapík je 0-3(-5) mm dlouhý.

Květenstvím je ne příliš hustý lichoklas na bázi někdy přetrhovaný. Listeny jsou drobné a čárkovité. Květní stopky jsou 0,1-0,2 mm dlouhé se zprohýbanými chlupy nebo zdánlivě lysé. Kalich je úzce zvonkovitý až trubkovitý, 1,7-2,3(-2,6) mm dlouhý, členěný v úzce trojúhelníkovité cípy, oděné jednoduchými chlupy. Koruna je světle růžová až růžově fialová. Plodem jsou tmavě hnědé až černohnědé tvrdky s naznačenou nebo výraznou síťnatou skulpturou.

Výskyt a rozšíření

Štěpánek (2000) uvádí, že máta klasnatá je neobyčejně proměnlivý tetraploidní druh, na jehož pravděpodobném hybridogenním vzniku se podílejí diploidní typy z okruhu *M. longifolia* a *M. suaveolens*. Z území ČR je v minulosti doloženo pěstování několika klonů. Jediný z nich, který byl u nás častěji pěstován a lze jej nalézt zplaněný

je v současnosti, je typ s kadeřavými listy, hustým výrazným oděním a příjemnou vůní karvonového typu. Tento typ se vyskytuje vzácně na celém území Čech.

Původní areál *M. spicata* zahrnuje celé Středozezemí a přilehlé oblasti. K severu zasahuje nejdále v západní Evropě až do jižní části Britského souostroví a do jižních okrajů střední Evropy. Přesněji však výskyt planých typů vzhledem k záměnám s *M. longifolia* známo není.

Pěstována je v mírných pásech celého světa, zejména v anglicky mluvících zemích. V ČR je pěstována ve venkovských zahrádkách jako aromatická bylina. Silice tuzemských klonů má často nevhodné složení.

3.5. Agrotechnika pěstování máty

Máta je dlouhodobní rostlina. Pěstuje se jako víceletá kultura – na jednom stanovišti 3 roky. Optimální růstové podmínky jsou pro mátu oblasti s průměrem ročních srážek 700 – 800 mm a teplotou nad 24 °C. Optimálními pěstitelskými oblastmi jsou jižní Morava a střední Čechy, řepařský a kukuřičný výrobní typ. Vhodnou předplodinou jsou okopaniny a zelenina. Máta je sama také vhodnou předplodinou – potlačuje výskyt *Plasmodiophora brassicae*.

3.5.1. Technologie pěstování máty

Mátu pěstujeme jako víceletou plodinu. K pěstování jsou nevhodné extrémně těžké a lehké půdy. Vyžaduje půdy výhřevné, bohaté humusem s pH 6,2-7, chráněné polohy, bez trvalých plevelů. Máta nemá velké nároky na předplodinu. Nevhodnou předplodinou je cukrovka a plodiny, které odčerpávají z půdy vodu. Po sobě je nesnášenlivá a potřebuje pěti až sedmiletý odstup.

Sadbu máty tvoří nadzemní a podzemní stolony, které musí být 0,10 m dlouhé a musí mít nejméně sedm zdravých oček. Výsadba se provádí do brázd hlubokých 0,13 – 0,15 m, vzdálených 0,45 – 0,60 m. Při použití čtyřřádkového hrobkovače se sázecí plošinou se sadba pokládá těsně za sebou nebo na 0,20 m. Musí se okamžitě přihrnout. Na 1 ha je třeba asi 170 tisíc kusů sadby. Sadba se vysazuje na produkční plochu nejlépe v říjnu. Vysazovat lze výjimečně i na jaře, při dostatku vláhy. Během vegetace se pozemek udržuje v bezplevelném stavu plečkováním, případně ruční okopávkou.

Podle Achleitnera (2013) řadíme mátu mezi náročné rostliny na živiny. K docílení vysokých výnosů vyžaduje máta velké množství živin. Doporučená dávka hnojiva před výsadbou je 80 kg P₂ O₅/ha a 220 kg K₂ O/ha. Před rašením je dobré aplikovat 60 kg/ha ledku amonného s vápencem. Důležitá je také dávka dusíku. V prvním roce pěstování se průměrná dávka dusíku pohybuje okolo 120-160 kg/ha. První dvě třetiny dusíky aplikujeme na jaře. Zbytek dusíku je aplikován ihned po první sklizni. Podle Černé (1986) se kultura na podzim přihnojí základní dávkou hnojiv: 60kg P₂O₅/ha a 100 kg K₂O/ha. V druhém a třetím roce pěstování se přihnojuje dusíkem stejně jako v roce prvním.

3.5.2. Způsoby rozmnožování máty

Máta se množí většinou pouze vegetativně. Některé máty, jako *M. arvensis* L., *M. pulegium* L. a *M. spicata* L., jsou množeny i generativně.

První způsob vegetativního množení je pomocí stolonů. Stolony jsou oddenky – podzemní prýty, šlahouny – nadzemní prýty dlouhé minimálně 0,10 m, s nejméně třemi zdravými očky, z jednoletých nebo dvouletých porostů. Optimální dobou pro odběr stolonů je říjen až listopad. K rozmnožení sadby, potřebné na 1 ha, je potřeba počítat s 0,25 – 0,30 ha množitelské plochy. Hmotnost 1000 kusů upravené sadby je asi 4 – 5 kg. Z 1 m² lze získat asi 200 ks sadby.

Druhým způsobem vegetativního množení je řízkování vrcholovými řízků. Řízkování provádíme v období od dubna do května. Řízky by měly být dlouhé 80-120 mm se 3-4 páry listů. Řízky jsou umístěny do pařeniště, kde je směs rašeliny a písku, ve kterém zakoření za 2-4 týdny. V průběhu zakořeňování je nutné vzduchování. Po zakořeňování se vysazují do sponu 0,60 – 0,50 x 0,30 m, na 1 ha asi 60 – 70 000 sazenic. Používá se při zakládání menších ploch.

Třetí způsob vegetativního množení je neupravená sadba. Dochází k vyorání rušeného porostu a celé drny se shazují do vyoraných brázd 200 mm hlubokých, ty se potom přihrnou a uválí.

3.5.3. Způsoby sklizně máty

Máta může zůstat na pozemku podle stavu porostu až tři roky. Achleitner (2013) uvádí, že s ohledem na variabilitu obsahových látek a tvorbu výnosů v průběhu ontogeneze, je optimální doba sklizně těsně před začátkem kvetení. V průběhu roku při optimálních podmínkách můžeme sklízet dvakrát až třikrát do roka. První sklizeň je prováděna v období od druhé poloviny července až do konce září. Druhá sklizeň probíhá od konce července do konce srpna až poloviny září. První sklizeň tvoří 40 %, druhá sklizeň 60 %. Na menších plochách se sklízí ručně kosou a pro mechanizovanou sklizeň se používají sklízeče špenátu nebo jiné naťové zeleniny. Přitom je třeba respektovat křehkost sklizeného materiálu.

3.5.4. Technologie sušení máty

Sušení, je jednou z nejdůležitějších operací, které se podílejí na kvalitě drogy. Podle Felklové (2003) rozeznáváme sušení přirozeným zdrojem tepla nebo umělým zdrojem tepla. Sušení přirozeným teplem využívá slunečního tepla a přirozeného proudění vzduchu. Sušárny využívající umělých tepelných zdrojů je celá řada. Nejpoužívanější jsou sušárny pásové. Využívají se také sušárny bubnové komorové, roštové, tunelové a vakuové. Sesýchací poměr se pohybuje mezi 4:1 a 6:1.

3.5.5. Zhodnocení výnosnosti máty peprné

Kóňa (2013) uvádí, že z 1 ha sklídíme 20 - 40 tun čerstvé hmoty. Po usušení získáme asi 2-3 t/ha. Podle Neugebauerové (2006) je výnos syrové natě 12-15 t/ha. Výnos suché natě je 3-4 t/ha a výnos suchých listů je 1,2 – 2 t/ha. Pelzmann (1989) uvádí, že výnos syrové natě se pohybuje mezi 30 – 50 t/ha a výnos syrových listů je přibližně 17-30 t/ha. Výnos suché natě se pohybuje okolo 2,5 – 5 t/ha. Podle Černé (1986) je výnos syrové natě je 12-15 t/ha a výnos suché natě je 3-4 t/ha.

3.6. Možnosti využití máty

Máta má široké využití především v potravinářském, kosmetickém a farmaceutickém průmyslu. Svoje široké využití má především díky vysokému obsahu terpenů. Máta je využívána v podobě drogy. Podle Českého lékopisu (2005) je možné využívat list nebo nať máty peprné (*Menthae piperitae herba (folium)*) nebo silice máty peprné (*Menthae piperitae etheroleum*). List nebo nať máty peprné je podle Českého lékopisu (2005) celý nebo řezaný usušený list nebo nať druhu *Mentha x piperita*. Neřezaná droga obsahuje nejméně 12 ml silic v kilogramu drogy. Řezaná droga obsahuje nejméně 9 ml silic v kilogramu drogy. Silice máty peprné je podle Českého lékopisu (2005) silice získána z čerstvě kvetoucí natě druhu *Mentha x piperita* destilací s vodní parou.

Dvořáková a kol. (2011) ve své práci uvádějí, že monoterpen mentol působí proti nachlazení, uvolňuje dýchací cesty a tlumí kašel. Podle Chana (2001) se mentol používá díky svému aroma a farmakologickým účinkům, jako přísada do drogistických výrobků či cigaret. Mátová silice nebo čaj působí také proti nadýmání (Dvořáková a kol.). Yeruva (2007) uvádí, že mnoho monoterpenů vykazuje protinádorovou aktivitu. Například limonen, který je součástí mátové silice inhibuje vývoj rakoviny prsu, jater a slinivky. Fuchs (2004) uvádí, že mentol ale i flavonoidy a třísloviny obsažené v silici máty peprné příznivě ovlivňují křeče a nadýmání. Čaj z této rostliny se hodí k léčení křečových stavů v oblasti žaludku a střev (Fuchs, 2004). Působí také jako dezinfekční, antimikrobiální, antivirální a antimykotická látka, tlumí nervové bolesti, má anestetický účinek na žaludeční sliznici, a je tedy vhodný jako lék proti nevolnostem a zvracení (Fuchs, 2004). Podle Fuchse (2004), není známo nic o vedlejších účincích nežádoucího charakteru.

Mathur et al (2011) ve své studii uvádí, že mentolový extrakt má vysoký antimikrobiální účinek.

3.7. Charakteristika aromatických látek v mátě

Vůně potravin je velmi často komplexním vjemem vyvolaným velkým počtem vonných látek. Celkový počet vonných látek identifikovaných v potravinách se odhaduje

na 10000. Na charakteristické vůni potravin se z různých důvodů řada z nich nepodílí vůbec, jiné velmi málo, některé látky však mají zásadní význam. Intenzita a kvalita vůně i chuti závisí nejen na přítomných vonných látkách, ale také na dalších složkách potravin, jako jsou bílkoviny, sacharidy a lipidy, se kterými vonné látky interagují (Valiček, 2006).

3.7.1. Aromatické látky jako součást silic

Silice jsou intenzivně vonící těkavě směsí olejovité konzistence obsažená v různých částech rostlin. Většinou jsou silice bezbarvé, rozkladnými reakcemi během zpracování a skladování tmavnou a pryskyřičnatí. Za normální teploty bývají tekuté konzistence s hustotou většinou menší než 1g/cm^3 . Jsou těkavé a rozpouštějí se v alkoholu, benzenu, etheru, chloroformu a v tucích. Silice je pestrá směsí látek, kde nejčastějšími složkami jsou terpeny a fenylypropany. Látek těchto typů bylo až dosud identifikováno více než 1000, přičemž jeden druh silice jich může obsahovat až několik desítek. Nejvíce jsou zastoupeny terpeny nízkomolekulárními těkavými látkami, především monoterpeny, seskviterpeny a diterpeny. Kromě terpenických uhlovodíků jsou zastoupeny hlavně jejich deriváty, jako jsou alkoholy a jejich estery, aldehydy, ketony aj. Část obsahových látek silice nemá terpenoidní charakter, ale odvozuje se od fenylypropanu.

Podle Veliška (1999) se silice vyskytují v kořenech a oddencích, v oplodí a semenech rostlin, kůře, listech, buňkách korunních lístků. Zpravidla jsou uloženy v nádržkách nebo kanálcích rostlinných pletiv. Čeleď *Lamiaceae* tvoří trichomy. Bílek (2013) ve své práci uvádí, že silice se tvoří v protoplastech nebo rozpadem buněčných blan nebo hydrolysou určitých glykosidů. Mohou prostupovat všechna pletiva, nebo se koncentrují v určitých orgánech.

3.7.1.1. Metody izolace silic

Moravcová (2006) ve své studii uvádí, že způsobů izolace silic je hned několik a podle toho, který se použije, se mění částečně i složení silic.

Nejstarší a doposud používaný způsob izolace silic je extrakce tuky. Používá se běžně i v domácnosti. Vhodný je tam, kde je obsah silic velmi nízký například pro

zpracování květů. Čerstvé květy se rozloží na tenkou vrstvu tuku umístěnou na skleněné desce a nechají se extrahovat 1 až 3 dny. Silice se extrahuje z tuku ethanolem, ethanol se pak odpaří. Druhou možností je extrakce za horka roztaveným tukem.

Dalším způsobem izolace je lisování. Tímto způsobem se získávají silice, které nelze bez rozkladu destilovat.

Nejběžnějším způsobem izolace silic je destilace. Díky destilaci dosáhneme největší výtěžnosti s vysokou kapacitou, ale díky vyšší teplotě dochází ke změnám složení silice. Destilaci je nutno provádět co nejrychleji. Podle provedení lze destilace přiřadit ke třem způsobům. Destilace z vody znamená, že suchá droga je rozmíchána s vodou a destilována. Destilace s vodní parou se používá hlavně tam, kde je var s vodou nežádoucí. Rozmělněná droga se rozmíchá s vodou a směs se prohání horká vodní pára, nebo se droga umístí na rošt, kterým se opět žene vodní pára. Těkavé složky i výše vroucí jsou strhávány s sebou do chladiče, po kondenzaci se silice oddělují od vodné vrstvy. Třetím způsobem je tzv. suchá neboli destruktivní destilace. Zahříváním dřeva nebo pryskyřice bez přístupu vzduchu nastává tepelný rozklad. Některé produkty rozkladu těkají a po kondenzaci se oddělí jako vodná vrstva (s methanolem, kyselinou octovou a další) a dehet (guajakol, kresoly, xyleny a jiné). Dehet zvaný též empyreumatický olej je různý podle destilované suroviny, používá se hlavně v dermatologii.

3.7.1.2. Biosyntéza silic

Baser a kol. (2010) uvádí, že silice jsou produkty sekundárního metabolismu rostlin a jsou vytvářeny při degradaci vysokomolekulárních produktů primárního metabolismu. Hlavní mi obsahovými látkami jsou terpeny a fenylpropany.

Biosyntéza terpenů

Zulak et al (2011) ve své studii uvádí, že biosyntéza terpenů probíhá dvěma cestami, které se od sebe liší způsobem vzniku základních prekurzorů terpenů – isopentenylidifosfátu (IPP) a dimethylallyldifosfátu (DMAPP).

Jedním ze způsobů biosyntézy terpenů je tzv. mevalonátová cesta. K té dochází v cytosolu buněk a vznikají tak prekurzory seskviterpenů a triterpenů. IPP vzniká

z acetyl-CoA přes kyselinu mevalonovou. DMAPP vzniká izomerací IPP. (Dvořáková a kol., 2011)

Dalším ze způsobů biosyntézy terpenů je tzv. pyruvátová cesta. Prekurzory monoterpenů, diterpenů a tetraterpenů jsou touto cestou syntetizovány přes 1-deoxy-D-xyluloso-5-fosfát v plastidech buněk. IPP a DMAPP vznikají odděleně.

Rozdělení způsobu vzniku prekurzorů jednotlivých skupin terpenů není striktní. Bylo zjištěno, že v rostlinách může docházet k propojení obou biochemických cest. Prekurzory vzniklé v plastidech pyruvátovou cestou mohou být poskytovány pro syntézu seskviterpenů a triterpenů v cytosolu (Dudareva et al, 2005).

3.7.2. Chemická charakteristika aromatických sloučenin v mátě

3.7.2.1. Terpeny

Terpeny řadíme k významným primárním vonným látkám. Je známo více než 22 000 rozmanitých terpenoidů s velkou strukturální variabilitou. Podle Velíška a Hajšlové (2009) do této skupiny řadíme sloučeniny acyklické i cyklické, uhlovodíky i sloučeniny obsahující atomy kyslíku. Přes značnou strukturální rozmanitost jsou všechny terpenoidy navzájem příbuzné. Základní stavební jednotkou všech terpenů je isopren (2-methylbuta-1,3-dien). Molekuly isoprenu jsou nejčastěji uspořádány pravidelně za sebou tak, že konec jedné molekuly je spojen se začátkem druhé molekuly tzv. podle izoprenového pravidla navrženého Leopoldem Ruzickou.

Terpenové uhlovodíky tvoří složky aroma prakticky všech druhů ovoce zeleniny a koření. Jako složky aroma se mohou uplatňovat monoterpeny, seskviterpeny a vyšší terpenové uhlovodíky, počínaje diterpeny.

Klasifikace terpenů je založena na počtu pětiuhlíkatých izoprenových jednotek, ze kterých se skládají.

Podle počtu izoprenových jednotek se rozeznávají:

- Monoterpeny
- Seskviterpeny
- Diterpeny
- Triterpeny

- Tetraterpeny
- Polyterpeny

Monoterpeny (obecný vzorec $C_{10}H_{16}$)

Podle Dvořáka a kol. (2011) jsou monoterpeny terpeny skládající se ze dvou isoprenových jednotek. Mohou být lineární (acyklické), monocyklické, bicyklické a tricyklické. Jsou to přírodní produkty charakteristické vůně uplatňující se v regulaci růstu, reprodukčním cyklu, obranných mechanismech a přenosu signálu různých organismů. Přestože se nachází ve všech organismech, syntetizovat je dokážou jen rostliny, bakterie a hmyz (Dvořáková a kol., 2011).

McMurry (2007) uvádí, že nejvýznamnější sloučeniny jsou od *p*-methanu odvozené menthadieny lišící se polohou dvojných vazeb. Běžným uhlovodíkem je limonen a také thujon, který je složkou silic různých druhů máty.

Seskviterpeny (obecný vzorec $C_{15}H_{24}$)

Jsou terpeny, skládající se ze tří isoprenových jednotek. Stejně jako monoterpeny mohou mít acyklickou i cyklickou strukturu. Biochemickou modifikací (např. oxidace či změna molekulového uspořádání) mohou vzniknout deriváty seskviterpenoidy. Nejběžnějšími isomery jsou (3E,6E)- α -farnesen a (3Z,6E)- α -farnesen, které se také nacházejí v mátové silici, ale také v povrchovém vosku jablek a dalších druzích ovoce.

Diterpeny (obecný vzorec $C_{20}H_{32}$)

Diterpeny jsou terpeny, skládající se ze čtyř isoprenových jednotek. Hlavně se vyskytují jako složky pryskyřice jehličnatých stromů a šťáv hvězdnicovitých a pryšcovitých rostlin. Jsou také prekurzory mnoha diterpenoidů. Často se jedná o biologicky aktivní látky. Podobně jako monoterpeny a seskviterpeny jsou i diterpeny většinou cyklické sloučeniny (Velíšek, Hajšlová, 2009).

McMurry (2007) uvádí, že terpenové uhlovodíky jsou za nepřítomnosti vzduchu stálé. Na vzduchu snadno oxidují, především za vyšších teplot. Autooxidace probíhá podobnými mechanismy jako autooxidace nenasycených mastných kyselin. Primárními produkty autooxidace vznikají hydroperoxy. Finálními produkty jsou zpravidla příslušné epoxidy, alkoholy a ketony.

3.7.2.2. *Alkoholy*

Velíšek (1999) uvádí, že alkoholy a také fenoly lze formálně považovat za první stupeň oxidační řady uhlovodíků. Alkoholy bývají primárními i sekundárními vonnými látkami rostlinného i živočišného původu. Běžně se vyskytují alifatické, alicyklické, aromatické a heterocyklické alkoholy, alkoholy primární, sekundární a terciární a alkoholy obsahující více hydroxyskupin. Jako aromatické látky se uplatňují hlavně volné primární alkoholy a jejich estery.

Přírodními vonnými látkami jsou především nižší alifatické nasycené a nenasycené alkoholy, zvláště pak monoterpenové a seskviterpenové alkoholy. Jako vonné látky se uplatňují nepatrně nebo se vůbec neuplatňují málo těkavé vyšší alifatické alkoholy, polární alifatické a alicyklické dioly, trioly, ostatní polyoly, diterpenové alkoholy, triterpenové alkoholy a steroly, které jsou doprovodnými látkami lipidů. Neuplatňují se také aminoalkoholy.

Alkoholy jsou velmi rozšířeny v přírodě a mají rozsáhlé průmyslové a farmaceutické využití. Mezi nejdůležitější průmyslové chemické suroviny patří methanol a ethanol. Dříve než se rozvinul chemický průmysl, byl methanol získáván zahříváním dřeva v nepřítomnosti vzduchu. Dnes se ročně vyrábí katalytickou redukcí oxidu uhelnatého jenom v USA více než 5 miliónů tun methanolu.

Ethanol je jedna z prvních připravených a čištěných organických sloučenin. Po tisíciletí se vyrábí kvašením obilnin a sacharidů a jeho čištění destilací je doloženo již ve 12. století př. n. l. V USA se ročně vyrobí více než 300 000 tun ethanolu. Aromatické alkoholy bývají přirozenými složkami silic. Vznikají také jako sekundární látky při fermentačních a termických procesech. Nejjednodušším alkoholem této skupiny je benzylalkohol. (Velíšek, Hajšlová 2009)

Fenoly jsou v přírodě také velmi zastoupeny a jsou využívány jako meziprodukty v průmyslové výrobě širokého spektra látek, od dezinfekčních prostředků až po lepidla. Podle McMurryho (2007) je fenol sám dezinfekční prostředek a je obsažen v černouhelném dehtu.

Slovo fenol však označuje jak sloučeninu, tak třídu sloučenin (methyl-salicylát, urushioly). Methyl-salicylát je vonná látka, která je součástí silice z libavky položené (*Gaultheria procumbens*), a urushioly jsou alergenní látky škumpovníku zákeřného (*Rhus toxicodendron*).

3.7.2.3. Aldehydy

Aldehydy jsou organické sloučeniny, které obsahují aldehydickou funkční skupinu (-CHO) na konci uhlovodíkového řetězce. Podle Veliška (1999) mají jako vonné látky význam téměř všechny nasycené alifatické aldehydy. Složkou silic bývají nejčastěji terpenové a aromatické aldehydy.

Z terpenových aldehydů mají praktický význam především monoterpenové aldehydy. K nejčastěji se vyskytujícím náleží alifatický nenasycený aldehyd citral. Jedním ze dvou isomerů je citral *a* nazývaný geranial a citral *b* neboli neral (Velišek 1999). Citral je vonnou složkou mnoha silic, především silic citrusových plodů, ale také zázvoru, pepře aj.

Podle Veliška (1999) bývají složkou silic také velmi často aromatické aldehydy. Velmi rozšířeným aromatickým aldehydem je benzaldehyd, který bývá přítomen volný nebo vázaný. Je význačnou složkou hořkomandlové silice, přítomen je také v silici skořicové a je významnou složkou aromatu všech destilátů získávaných kvašením peckového ovoce. Z homologu benzaldehydu má jistý význam kuminaldehyd, který je složkou silice skořicové, bazalkové aj. Běžnou složkou mnoha silic je také vyšší homolog benzaldehydu fenylacetaldehyd.

3.7.2.4. Ketony

Ketony jsou organické sloučeniny, které obsahují karbonylovou skupinu (C=O) uprostřed uhlovodíkového řetězce. Ketony se mohou vyskytovat jako primární složky potravin a potravinářských surovin nebo mohou vznikat sekundárně při různých procesech (Velišek, Hajšlová, 2009). Mnohé ketony se vyznačují charakteristickým pachem.

Podle Veliška (1999) bývají v potravinách přítomny především nasycené a nenasycené alifatické ketony s 3-17 atomy uhlíku v molekule, které vznikají několika různými mechanismy.

Významné jako aromatické látky jsou většinou monoterpenové ketony. Například typickou vonnou složkou kmínové silice a silice kopru je monocyklický

keton karvon. Dihydrokarvon je složkou kmínové a mátové silice, s ním isomerní pulegon a menthon se vyskytují v mátových silicích.

Velíšek a Hajšlová uvádějí, že významnou složkou silic, jsou také aromatické ketony. Základní látkou je acetofenon vyskytující se v malém množství v některých silicích. Složkou silic fenyklu a badyánu je anisketon.

3.7.2.5. Estery

Estery patří mezi nejrozšířenější přírodní látky. Těkavé estery aromatických kyselin jsou často významnými složkami květů rostlin, koření, ovoce a zeleniny. Identifikováno bylo více než 1000 různých sloučenin. Například methyl-butanoát byl izolován z ananasové silice, isopentyl-acetát je obsažen v silici banánové. V chemickém průmyslu našly estery mnohostranné využití. Například ethyl-acetát je běžně používané rozpouštědlo, dialkyl-ftaláty se používají jako plastifikátory pro změkčování plastů.

V potravinách patří estery k nejrozšířenějším sloučeninám. Často doprovázejí příslušné karboxylové kyseliny a alkoholy. Nejběžnějšími jsou estery jednosytných kyselin. Estery vícesytných kyselin jsou méně běžné. Estery nižších alifatických kyselin s nižšími alifatickými a aromatickými alkoholy bývají významnými vonnými látkami. Jsou důležitou složkou primárního aromatu ovoce, zeleniny, nápojů a koření. Estery nízkomolekulárních kyselin a alkoholů mají obvykle ovocnou vůni, estery terpenových alkoholů a nízkomolekulárními kyselinami voní obvykle po květinách. Estery aromatických kyselin a aromatických alkoholů mají zpravidla těžké balzámové vůně. V alkoholických nápojích je nejběžnějším esterem ethylacetát. Z dalších esterů se ve vysokých koncentracích vyskytují isoamylacetát a isobutylacetát. Estery patří také k nejvýznamnějším aromatickým a buketním látkám vín.

3.7.2.6. Laktony

Laktony jsou vnitřní estery hydroxykyselin. Dělí se podle počtu atomů uhlíků přítomných mezi karboxylovou skupinou a uhlíkem, na který je vázána hydroxylová skupina. Rozeznáváme β -laktony, γ -laktony a δ -laktony.

V potravinách se jako vonné látky vyskytují především γ -laktony a δ -laktony odvozené od alifatických nasycených a nenasycených γ -hydroxykyselin a δ -hydroxykyselin. Běžné jsou také laktony odvozené od aromatických hydroxykyselin. Nejvýznamnějšími zástupci těchto sloučenin jsou ftalidy a kumariny.

Ftalidy jsou klíčovými vonnými látkami některých druhů zelenin čeledi mrkvovitých. V malém množství se také vyskytují jako složky aromatu petržele zahradní, kopru vonného a koriandru setého.

Ve skupině kumarinu je významnou vonnou látkou základní člen homologické řady kumarin. Vůni připomíná seno a vzdáleně vanilku. Vyskytuje se v mnoha rostlinných pletivech.

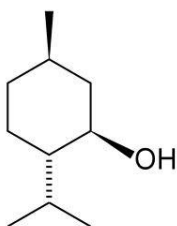
Laktony jsou poměrně stálé v kyselém prostředí, kde také vznikají spontánně dehydratací příslušných hydroxykyselin. Ve vodných roztocích se laktonový kruh otevírá a vzniká sůl příslušné hydroxykyseliny, okyselením se může tvořit znovu původní lakton, zvláště při záhřevu. Reagují s alkoholy za tvorby esterů. Obecně jsou však laktony s pětičlenným a šestičlenným kruhem málo reaktivní. (Velíšek, Hajšlová, 2009)

3.8. Popis majoritních aromatických sloučeniny v mátě

Menthol

Systematický název - 2-isopropyl-5-methylcyklohexan-1-ol

Sumární vzorec: $C_{10}H_{20}O$



Baser et al (2010) uvádí, že menthol je průhledná za pokojové teploty krystalická látka s hustotou $0,890 \text{ kg/dm}^3$. Není zcela rozpustný ve vodě, ale je dobře rozpustný v alkoholu. Řadíme jej mezi monoterpeny. Jeho základem jsou 2 izoprenové jednotky.

Menthol je hlavní složkou mátové silice. V mátové silici je obsažen z 50-58 %. Mentol dává mátě její silně aromatickou chuť a vůni a působí jako stimulant. Při

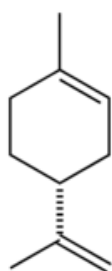
konzumaci, vdechnutí či nanesení na pokožku působí chladivým dojmem. Je používán k dochucování některých potravin, do ústních přípravků a je také součástí léků proti běžnému nachlazení. V těle je rychle metabolizován. Může být oxidován na menthon.

Mentol je vyráběn především přírodní cestou, je získáván z mátové silice a to pomocí destilace. V roce 2007 byla světová produkce mentholu 19 000 tun (Baser et al, 2010).

Limonen

Systematický název - 1-methyl-4-prop-1-en-2-yl-cyklohexen

Sumární vzorec: $C_{10}H_{16}$



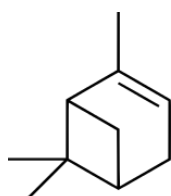
Limonen je monocyklický monotерpen. Při pokojové teplotě jde o bezbarvou kapalinu, silně vonící po pomerančích. Limonen se ve velkém množství vyskytuje především v kůře citrusových plodů. V rostlinách je hojně přítomna především izomerní forma (+) – limonen. Limonen je poměrně stabilní terpen, lze ho destilovat bez rozkladu. Limonen vzniká z geranylpyrofosfátu přes cyklizaci nerylových karbokationů nebo jejich ekvivalentů.

Běžně se využívá v kosmetickém průmyslu, při výrobě potravin a některých léků. Lze ho také použít jako insekticid. Přidává se do čisticích prostředků, jako citronovo-pomerančové aroma. Limonen se také čím dál více používá jako rozpouštědlo pro čištění, například pro odstraňování oleje ze strojních součástí.

Pinen

Systematický název -

Sumární vzorec -

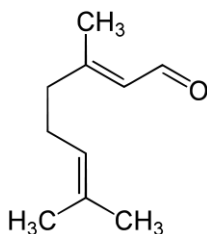


Pinen je bicyklický monoterpen. V přírodě se nacházejí dvě strukturální izomerní formy α a β -pinen. Jak již název napovídá obě dvě izomerní formy, jsou důležité složky pryskyřice borovice. Je zajímavé, že α -pinen je častější v pryskyřici evropských borovic, zatímco β -pinen je častější v pryskyřici borovic v Severní Americe. Pinen je obsažen také v pryskyřici mnoha jiných jehličnanů a v hojném množství je také obsažen v dalších rostlinách. V nejvyšší koncentraci je α a β -pinen obsažen v plodech jalovce (*Juniperis communis*), s celkovým obsahem více než 80%. V potravinářském průmyslu se α a β -pinen využívá při výrobě alkoholických nápojů, jako je gin.

Citral

Systematický název - 3,7-dimethylocta-2,6-dienal

Sumární vzorec - $C_{10}H_{16}O$



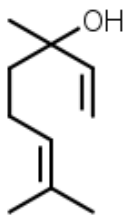
Citral řadíme mezi monoterpeny. Podle Basera (2010) je složen z isomerní směsi geraniolu (*E*-3,7-dimethyl- 2,6-octadienal) a nerolu (*Z*-3,7-dimethyl-2,6-octadienal). Ve směsi izomerů je převládající geraniol. Přirozeně se vyskytuje, především v silicích citrusových plodů, ale je také součástí silic různých bylin, jako je například *Metha x piperita*, *Melissa officinalis* a Eucalyptus. Díky svojí intenzivní citronové vůni a chuti je značně využíván už od 19. století v potravinářském a kosmetickém průmyslu a je, také součástí čisticích prostředků.

Studie na krysách ukázaly, že citral je rychle metabolizován na několik kyselin a žlučové glukuronidy. Z více než 50 % se vylučuje močí.

Linalool

Systematický název - 3,7-dimethylocta-1,6-dien-3-ol

Sumární vzorec - $C_{10}H_{18}O$



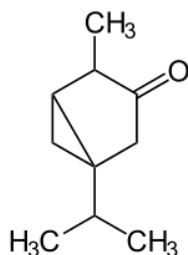
Linalool je přirozeně se vyskytující terpenový alkohol. Je produkován více než 200 rostlinnými druhy, hlavně z čeledi *Lamiaceae*, *Lauraceae* a *Rutaceae*. Podle Basera (2010) se největší koncentrace linaloolu nachází v silici bazalky vonné (*Ocimum basilicum*) až 75%. Čistý linalool má čerstvě jemnou, lehkou, květinovou vůni s lehkým citrusovým dojmem. Je velmi často používán ve výrobcích, jako jsou mýdla, šampóny, krémy a čisticí prostředky. Využívá se také jako insekticid proti blechám a švábům.

Ačkoliv se linalool hojně používá v kosmetickém průmyslu, nejsou k dispozici žádné údaje o jeho biotransformaci u lidí. U potkanů je linalool metabolizován cytochromem P450, izoenzymy na dihydrotestosteron linalool a tetrahydrolinalool a 8-hydroxylinalool, který je dále oxidován na 8-karboxy linalool.

Thujon

Systematický název - 1-isopropyl-4-methylbicyklohexan-3-on

Sumární vzorec – $C_{10}H_{16}O$

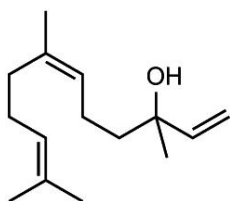


Thujon řadíme do skupiny bicyklických monoterpenů. Je to bezbarvá aromatická sloučenina vůni podobná metholu. Za normálních podmínek je to kapalina s bodem varu $200^{\circ}C$. V přírodě se vyskytuje jako směs α -thujonu a β -thujonu. Thujon patří mezi toxické látky vyskytující se převážně v rostlinách z čeledi *Asteraceae*, *Cupressaceae* a *Lamiaceae*.

Nerolidol

Systematický název - 3,7,11-trimethyl-1,6,10-dodecatrien-3-ol

Sumární vzorec – C₁₅H₂₆O



Nerolidol je terpen, který řadíme do skupiny seskviterpenů. Surburg (2006) uvádí, že vzhledem k dvojné vazbě v poloze 6, jsou přítomny cis a trans isomery. Každý z těchto isomerů se může vyskytovat jako enantiomerní pár, protože atom uhlíku v poloze 3 je asymetrický.

Nerolidol je součástí mnoha éterických olejů. (+)-trans-nerolidol se například vyskytuje v Cabreuvě oleji, který se získává z třísek a dřevního odpadu stromu *Myrocarpus fastigiatus*. (-) – nerolidol byl izolován ze dřeva stromu *Dalbergia parviflora* (Surburg, 2006).

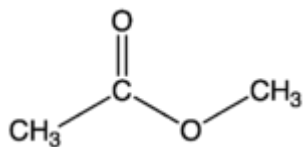
Syntetický nerolidol sestává ze směsi (±)-cis- a (±)-trans-nerolidolu. Je to bezbarvá kapalina se slabou květinovou vůní.

Podle Surburga (2006) je nerolidol základní složkou květinových vůní v parfumerii. Je to také meziprodukt při výrobě vitamínu E a K₁.

Methyl acetat

Systematický název – methyl etanoate

Sumární vzorec – C₃H₆O₂

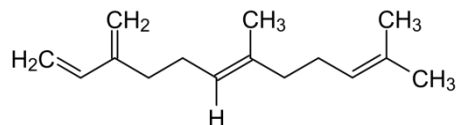


Methyl acetat je ester, který má příjemnou vůni lepidla. Je to bezbarvá, čirá a hořlavá kapalina. Je rozpustný ve většině organických rozpouštědel, ale částečně rozpustný ve vodě (www2). Je to dobré organické rozpouštědlo, které rozpouští řadu pryskyřic, jako je acetát celulózy, polyvinylacetát, akryláty, epoxidy, polyestery, atd. Průmyslově se vyrábí esterifikací kyseliny octové s methanolem (www2).

á-Farnesen

Systematický název - 3,7,11-trimethyl-1,3,6,10-dodecatetraene

Sumární vzorec – C₁₅H₂₄

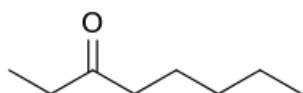


á-farnesen řadíme mezi seskviterpeny. Za standardních podmínek je to bezbarvá ve vodě nerozpustná kapalina (www1). Je přítomný v mnoha esenciálních olejích. Využívá se především v parfumerii, kde zdůrazňuje květinové vůně.

3- octanon

Systematický název - 3-octanone

Sumární vzorec – C₈H₁₆O

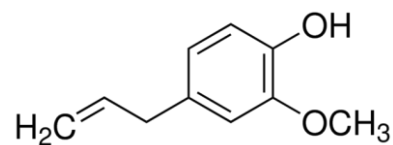


Sloučeninu 3-octanon řadíme do skupiny ketonů. Je to přírodní chemická sloučenina, která se běžně vyskytuje v rostlinách a ovoci. Je to čirá a bezbarvá kapalina s štiplavým zápachem. Je nerozpustný ve vodě a částečně rozpustný v alkoholu (www1). Používá se při výrobě parfémů a jako rozpouštědlo pro nitrocelulózy a vinylové pryskyřice (www1).

Eugenol

Systematický název - 4-allyl-2-methoxyfenol

Sumární vzorec – C₁₀H₁₂O₂



Je jednou z hlavních komponent několika éterických olejů. Surburg (2006) uvádí, že v silicích hřebíčku a skořice může být obsažen až z 90 %. Je to bezbarvá až jemně nažloutlá kapalina s pikantní, hřebíčkovou vůní.

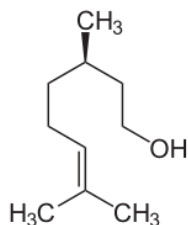
Katalytickou hydrogenací (např. v přítomnosti katalyzátorů na bázi vzácných kovů) se získá dihydroeugenol. Isoeugenol se získá z eugenolu posunutím dvojné vazby (Surburg, 2006). Jelikož je eugenol ve velkém množství přítomen v silicích skořice a hřebíčku, není syntéza průmyslově důležitá. Eugenol je stále přednostně izolován pomocí destilace z listu hřebíčku a silice skořice.

Podle Surburga (2006) se eugenol běžně používá v parfumerii pro orientální a kořeněné tóny a je běžnou součástí mnoha dalších vonných směsí. V zubním lékařství se používá také jako antiseptikum.

Citronellol

Systematický název - 3,7-Dimethyloct-6-en-1-ol

Sumární vzorec – C₁₀H₂₀O



Baser (2010) uvádí, že citronellol je monocyklický monoterpen s největší koncentrací v silicích meduňky lékařské (*Melissa officinalis*). Ačkoliv citronellol není běžně používán v potravinářském průmyslu, je hlavní složkou v mnoha farmaceutických přípravcích, jako mírné sedativum nebo stomachikum. I když je značně využíván ve farmaceutickém průmyslu, je velmi málo údajů o jeho metabolismu. Pouze jedna studie popsala biotransformaci citronellolu u králíků. Ishida a kol. izolovali tři neutrální metabolity (+) - citronellal v moči králíků a to (-) - trans-menthan-3,8-diol, (+) - cis-menthan-3,8-diolu, a (-) – isopulegol.

3. 9. Analýza aromatických sloučenin

3.9.1. Plynová chromatografie – GC

Plynová chromatografie je separační metoda, založená na separaci (oddělování) jednotlivých složek vzorku v koloně. Kolony mohou být náplňové s vnitřním průměrem 2-3 mm a délkou 1-3m nebo kapilární s vnitřním průměrem 0,1 – 0,6 mm o délce 15 – 60 m. Výhodou této metody je jednoduché a rychlé provedení analýzy, účinná separace

látek a malé množství vzorku potřebné k analýze. Klouda (2003) uvádí, že v chromatografii se vzorek vnáší mezi dvě vzájemně nemísitelné fáze, a to mezi stacionární a mobilní fázi. Stacionární fáze je nepohyblivá. Mobilní fáze je pohyblivá. Pohybem mobilní fáze přes stacionární je vzorek unášen. Složky vzorku mohou být stacionární fázi zachycovány. Více se zdržují složky, které jsou stacionární fázi zachycovány silněji. Tím se složky postupně od sebe separují a na konec stacionární fáze se dostávají dříve složky méně zadržované.

Mobilní fázi tvoří nosný plyn. Zdrojem nosného plynu je tlaková láhev obsahující helium, vodík, dusík nebo argon. Vzorek se nastříkne do nástřikové komory (injektoru), kde se odpaří a pomocí par je unášen nosným plynem. Nosný plyn unáší vzorky postupně ke konci kolony a dělicí proces se neustále opakuje. Složky opouštějící kolony indikuje detektor. Signál z detektoru se vyhodnocuje a z časového průběhu intenzity signálu se určí druh a kvantitativní zastoupení složek.

3.9.2. Extrakce pevnou fází – SPE

SPE je v současné době nejvýkonnější metoda dostupná pro rychlou a selektivní přípravu vzorku. Klouda (2003) udává, že podstatou této metody je zachycení molekul látky na tuhém sorbentu, přes který protéká vzorek. Při extrakci se využívá chemických vlastností molekul, které v důsledku mezimolekulových interakcí ulpívají na sorbentu (Klouda, 2003). Základem této techniky jsou nepřiliš drahé extrakční kolonky na jedno použití o nejrůznějších velikostech a náplňové sorbenty. Sorbenty jsou nejčastěji na bázi chemicky modifikovaných částic silikagelu.

U této techniky je kapalný vzorek veden přes SPE kolonku a sloučeniny jsou ze vzorku zachyceny materiálem sorbentu v koloně. Nežádoucí příměsi mohou být z kolonky selektivně odstraněny promytím rozpouštědly. Závěrečným stupněm v SPE extrakci je znovuzískání analytu z kolonky. Analyt je znovuzískán promytím kolonky rozpouštědlem, které eluuje analyty z vázaných fází do vhodné jímací nádoby.

3.9.3. Mikroextrakce pevnou fází – SPEM

SPME je jedna z modifikací extrakce pevnou fází. Tato metoda byla vyvinuta J. Pawliszynem v roce 1989. Krykorková a kol. (2008) ve své studii uvádí, že SPEM je

progresivní metoda přípravy vzorků, která je rychlá, ekonomická a univerzální pro mnoho aplikací. V současnosti patří SPEM mezi standartní metody přípravy vzorku pro plynovou chromatografii. Jelikož pro přípravu a odebírání vzorku není potřeba použití rozpouštědel, šetří SPEM čas a náklady pro preparaci a zvyšuje citlivost analýz.

Charvátová uvádí, že hlavní součástí celého zařízení je 1 cm dlouhé křemenné vlákno, které je pokryté stacionární fází. Vlákno je spojeno s ocelovým pístem umístěným v duté ocelové jehle, která ho chrání před mechanickým poškozením. Před začátkem manipulace a po ukončení extrakce je vlákno zataženo dovnitř jehly; posunutím pístu se vlákno vysune do vzorku a dochází k sorpci.

Podle Charvátové (rok neuveden) umožňuje metoda SPEM provádět dva způsoby extrakce. Prvním způsobem je extrakce označována zkratkou DI-SPME (Direct Immersing SPME), při které dochází k přímému ponoření vlákna do vzorku. Druhým způsobem je headspace SPEM, označována zkratkou HS-SPEM. U tohoto způsobu se využívá extrakce analytu z prostoru nad vzorkem v uzavřené nádobě. DI-SPEM se využívá především pro látky v kapalném skupenství. HS-SPEM se využívá pro extrakci těkavých látek.

Tato metoda má řadu využití. Používá se v oblasti znečištění životního prostředí, v potravinářství, ve farmaceutickém průmyslu, v léčebné kosmetice, ve forenzní analýze a v mnoha jiných oborech (www3).

4. Materiál a metodika

Sortiment rodu *Mentha* se nachází na pozemcích Zahradnické fakulty v Lednici na Moravě. Sortiment byl na pozemcích založen v roce 2003. Průměrná roční teplota je 9°C

a nadmořská výška pozemku je 164 m n. m. Aromatické látky byly stanovovány na vzorcích sklizených v listopadu roku 2014 a v létě roku 2015. Fenologické pozorování rostlin probíhalo od března do srpna roku 2015.

4.1. Morfologické pozorování

V období od 10. 3. do 13. 8. 2015 byly pozorovány morfologické znaky u vybraných druhů rodu *Mentha*. Z každého druhu bylo vybráno 10 rostlin, na kterých se hodnotily tyto fenologické fáze:

- doba rašení
- výška rostliny (měřená co 14 dní od počátku rašení až po plné kvetení)
- délka listu
- šířka listu
- barva listu (podle RHS mini colour chart)
- barva květu (podle RHS mini colour chart)

4.2. Sklizeň a úprava materiálu

Celkem byly sklizeny vždy 4 rostliny z každého druhu. Tyto vzorky byly homogenizovány pomocí mixéru. Z homogenizovaných rostlin byla získána šťáva, která byla převedena do plastových lahviček. Z jedné rostliny byla odebrána šťáva na 4 vzorky. Vzorky byly uskladněny v mrazáku při teplotě -18°C. Před stanovením bylo odebráno 2 ml z každého vzorku a převedeno do 4 ml vialek uzavřených zátkou se septem.

4.3. Analýza aromatických látek pomocí metody SPME

Pro analýzu aromatických látek pomocí metody SPME (solid phase microextraction) byly vybrány 2 druhy z rodu *Mentha* a to *Mentha x piperita* a *Mentha spicata*. Analýza proběhla ve čtyřech opakováních u každého vzorku.

Vzorek umístěný ve vialkách byl zahřát na 50 °C a probíhala ekvilibrace plynnou a kapalnou fází po dobu 30 minut. Extrakce aromatických látek byla provedena na analytické vlákno potažené 100 µm vrstvou polydimethylsiloxanu (PDMS), zakoupené od firmy Supelco (Bellefonte, USA). Vlákno bylo před použitím stabilizováno při teplotě 250 °C po dobu 30 minut. Před začátkem manipulace a po ukončení extrakce bylo vlákno zataženo dovnitř jehly; posunutím pístu se vlákno vysune do vzorku a dochází k sorpci. Extrakce ve vzorku probíhal při 50 °C po dobu 30 minut. Poté byla jehla ze vzorku vytažena a ručně vložena do injektoru plynového chromatografu. K analýzám byl použit plynový chromatograf Agilent, 7890A propojen s kvadrupólovým hmotnostním spektrometrem (Agilent MSD GC 597). Analyty byly odděleny pomocí kapilární kolony DW WAX z taveného křemene (30 m x 0,25 mm s tloušťkou fáze 0,25 µm od J & W Scientific, Santa Clara, USA). Sloučeniny byly poté převážně identifikovány pomocí hmotnostního spektra s vyhledáváním v NIST knihovně, a identita většiny z těchto sloučenin byla potvrzena porovnáním jejich hmotnostním spektrem a retenčních časů s výsledky získanými pro standardy.

5. Výsledky a diskuse

5.1. Hodnocení morfologie

Morfologické pozorování probíhalo od jara roku 2014 až do srpna roku 2014. Prvním pozorovacím znakem byl počátek rašení. Termíny rašení jsou uvedeny v tabulce číslo 1. Dále byla zaznamenávána výška rostlin, délka a šířka listu, barva listu a květů.

Tabulka č. 1 : Termíny rašení

Taxon	Původ a rok výsadby	Rašení
1. Mentha x piperita	Planta Naturalis 2003	18. 3. 2014
2. Mentha longifolia	BZ Praha 2003	18. 3. 2014
3. Mentha spicata	BZ Praha 2003	18. 3. 2014

Výška rostlin byla hodnocena od počátku rašení až po fázi plného kvetení. Měření výšky probíhalo vždy přibližně ve 14 denních intervalech. U každého druhu bylo měřeno vždy deset rostlin. Výška jednotlivých druhů je uvedena v tabulce č. 2,3,4. Intenzita růstu je znázorněna v grafu č. 1.

Tabulka č. 2: Vývoj růstu u druhu Mentha x piperita.

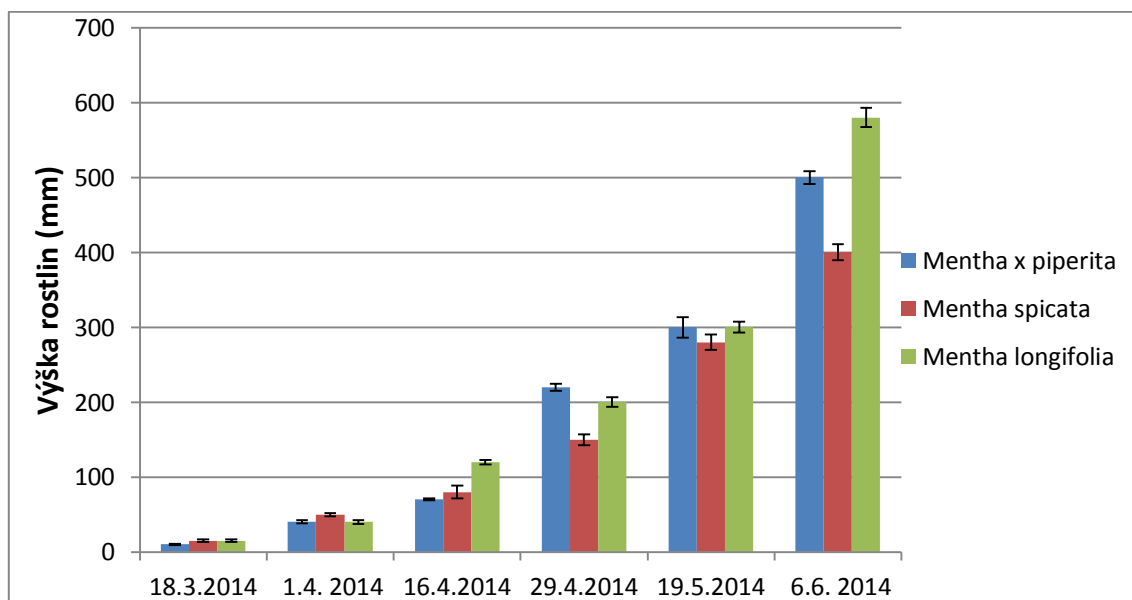
Výška (mm)						
1. Mentha x piperita	18. 3.2014	1. 4.2014	16. 4.2014	29. 4.2014	19. 5.2014	6. 6.2014
1	10	39	71	221	290	510
2	10	42	72	219	330	500
3	11	40	70	220	310	510
4	9	39	68	219	300	510
5	10	43	69	210	296	490
6	11	38	72	220	280	496
7	8	40	71	220	310	488
8	10	37	71	219	300	500
9	10	39	69	220	290	504
10	10	43	70	229	297	490
sm. odch.	0,8882	2,0576	1,2526	4,5228	13,8408	8,6641
Průměr	10	40	70	220	300	500

Tabulka č. 3: Vývoj růstu u druhu *Mentha spicata*.

Výška (mm)						
3. <i>Mentha spicata</i>	18. 3.2014	1. 4.2014	16. 4.2014	29. 4.2014	19. 5.2014	6. 6.2014
1	15	49	86	160	287	390
2	12	50	79	150	280	410
3	13	53	80	159	286	400
4	15	49	81	140	268	380
5	16	50	78	149	280	410
6	14	48	80	152	276	408
7	15	56	86	150	278	398
8	17	47	78	140	283	416
9	15	52	77	149	290	410
10	13	50	79	150	268	380
sm. odch.	1,5092	2,6331	3,1693	6,5566	7,4565	13,0111
Průměr	15	50	80	150	280	400

Tabulka č. 4: Vývoj růstu u druhu *Mentha longifolia*.

Výška (mm)						
2. <i>Mentha longifolia</i>	18. 3.2014	1. 4.2014	16. 4.2014	29. 4.2014	19. 5.2014	6. 6.2014
1	11	39	122	200	290	570
2	16	40	120	196	310	580
3	18	42	110	190	300	590
4	13	43	130	190	299	592
5	15	44	120	210	308	584
6	14	38	127	198	320	570
7	15	40	121	206	286	590
8	17	41	126	200	300	560
9	15	37	100	210	290	589
10	16	40	120	200	300	576
sm. odch.	2	2,1705	8,7458	7,1181	10,3285	10,8367
Průměr	15	40	120	200	300	580



Graf č. 1: Intenzita růstu u vybraných druhů rodu *Mentha*

5.1.1 Morfologický popis vybraných druhů

5.1.1.1 *Mentha x piperita*

Tato máta pochází z vegetativního množení od firmy Planta Naturalis.

Lodyha tohoto druhu byla vystoupavá v horní části větvená, výrazně antokyanově zbarvená. Listy máty peprné byly kopinaté, dlouhé 58 mm a široké 24 mm. Okraje listu byly výrazně pilovité. Listy měly zelenou barvu, na rubu nebo po okrajích opět antokyanově zbarvené. Květenstvím byl lichoklas. Koruna byla zbarvená do světle modrofialové barvy. Celá rostlina silně voněla po mentolu.

Podle Neugebauerové (2006) je lodyha fialově zbarvená, v horní části bohatě větvená. Listy jsou kopinaté až vejčité s výrazně nafialovělou žilnatinou. Květenstvím je lichoklas s růzovofialovými květy. Štěpánek (2000) uvádí, že listy jsou dlouhé 45-80(-90) mm a široké 20-35(-45) mm.

5.1.1.2. *Mentha spicata*

Máta klasnatá pochází z vegetativního množení BZ Praha.

Tento druh měl lodyhu přímou, pevnou, v horní části větvenou s tmavě červeným zbarvením. Listy byly kopinaté, kadeřavé s ostře pilovými okraji. Byly dlouhé 39 mm a široké 12 mm. Měly svěže zelenou barvu. Květenstvím byl ne moc hustý lichoklas. Koruna měla světle modrofialovou barvu.

Štěpánek (2000) uvádí, že lodyha je přímá, v horní části větvená, šedochlupatá nebo lysá. Listy jsou kopinaté, eliptické až vejčité, ostře pilovité. Dlouhé 35-60(-70) mm a široké (10-)15-25(-30) mm. Květenstvím je lichoklas se světle růžovou až fialově růžovou korunou.

5.1.1.3. *Mentha longifolia*

Tento druh pochází z vegetativního množení od firmy BZ Praha.

Máta dlouholistá měla lodyhu přímou, pevnou v horní části větvenou, šedě plstnatou. Listy byly kopinaté, šedě plstnaté se špičatými konci. Délka listu byla 39 mm a šířka 26 mm. Listy měly matně zelenou barvu. Květenstvím byl hustý lichoklas. Koruna byla zbarvená do světle fialova.

Podle Štěpánka (2000) je lodyha přímá, v horní části větvená, hustě šedochlupatá. Listy jsou podlouhlé, kopinaté, (35-)60-90(-120) mm dlouhé a 15-30 (-40) mm široké, na rubu šedochlupaté až bělostněplstnaté. Květenstvím je hustý lichoklas. Koruna je světle fialová až bělavě růžová.

5.2. Hodnocení aromatických sloučenin metodou SPEM-GC/MS

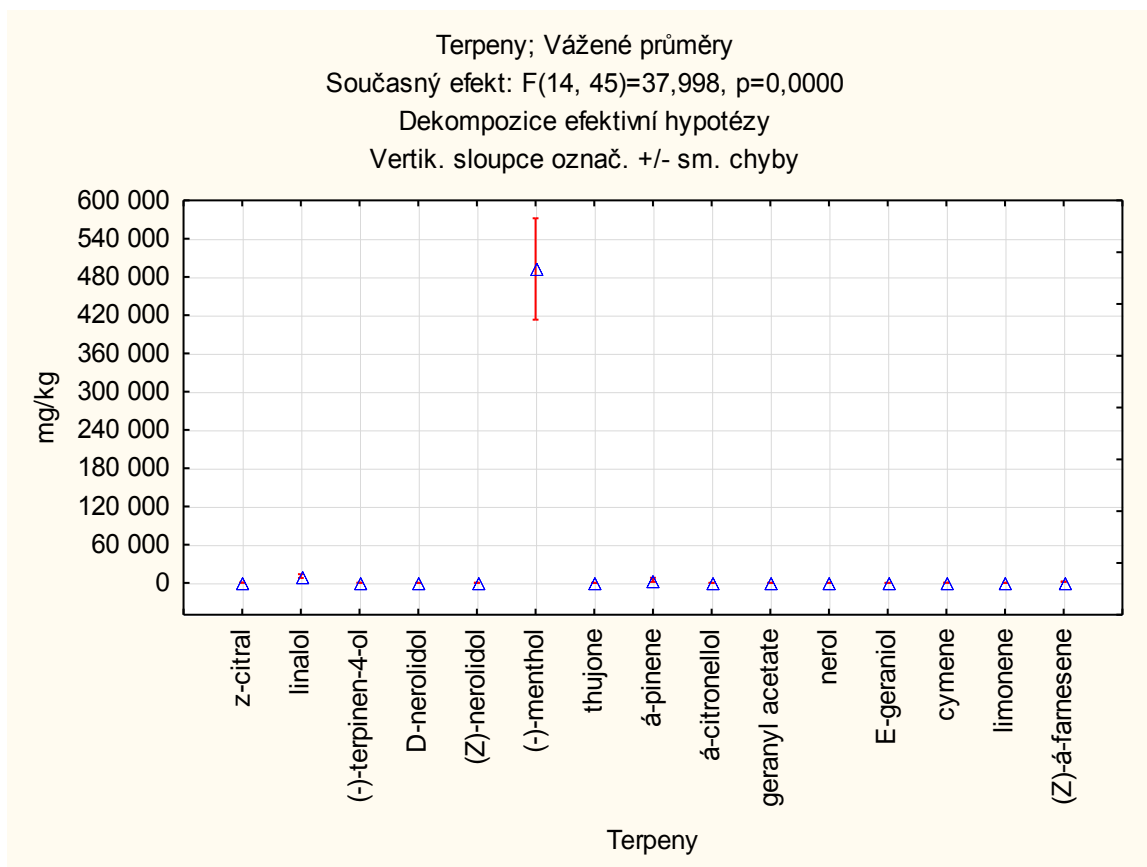
V mátě byl obsah aromatických sloučenin stanoven pomocí metody SPEM-GC/MS. Aromatické sloučeniny byly stanoveny u druhu *Mentha x piperita* a *Mentha spicata*. Ve výtlačku z máty bylo celkem identifikováno 115 aromatických sloučenin z toho 42 esterů, 23 alkoholů, 18 aldehydů, 16 terpenů, 12 ketonů a 4 laktony.

V nejvyšších koncentracích u obou druhů byla zastoupena skupina terpenů. Ze všech identifikovaných aromatických látek byl nejvíce v rostlinných druzích zastoupen alkoholický monotepren (-)-menthol.

Iscan et al (2002) ve své studii uvádí, že v silici máty peprné byly identifikovány pomocí metody GC/MS tyto hlavní sloučeniny: menthol, methone, limonene, pulegone, 1,8-cineoloe, methofuran a isomenthone. Podle Orava et al (2013), kteří zkoumali obsah éterických olejů u rodu *Mentha* byly v silicích u druhu *Mentha x piperita* nejvíce obsaženy tyto aromatické sloučeniny: menthol, menthone, á-pinene, limonene, 1,8-cineole a methyl acetate. U druhu *Mentha spicata* byly nejvíce zastoupeny tyto sloučeniny: carvon, myrcene, limonene, 1,8 cineole, á-pinene. Rita et al (2011) ve své studii uvádí, že v silici máty peprné jsou zastoupeny tyto sloučeniny: methol, methyl acetate, menthone, pulegone, methofuran a limonen.

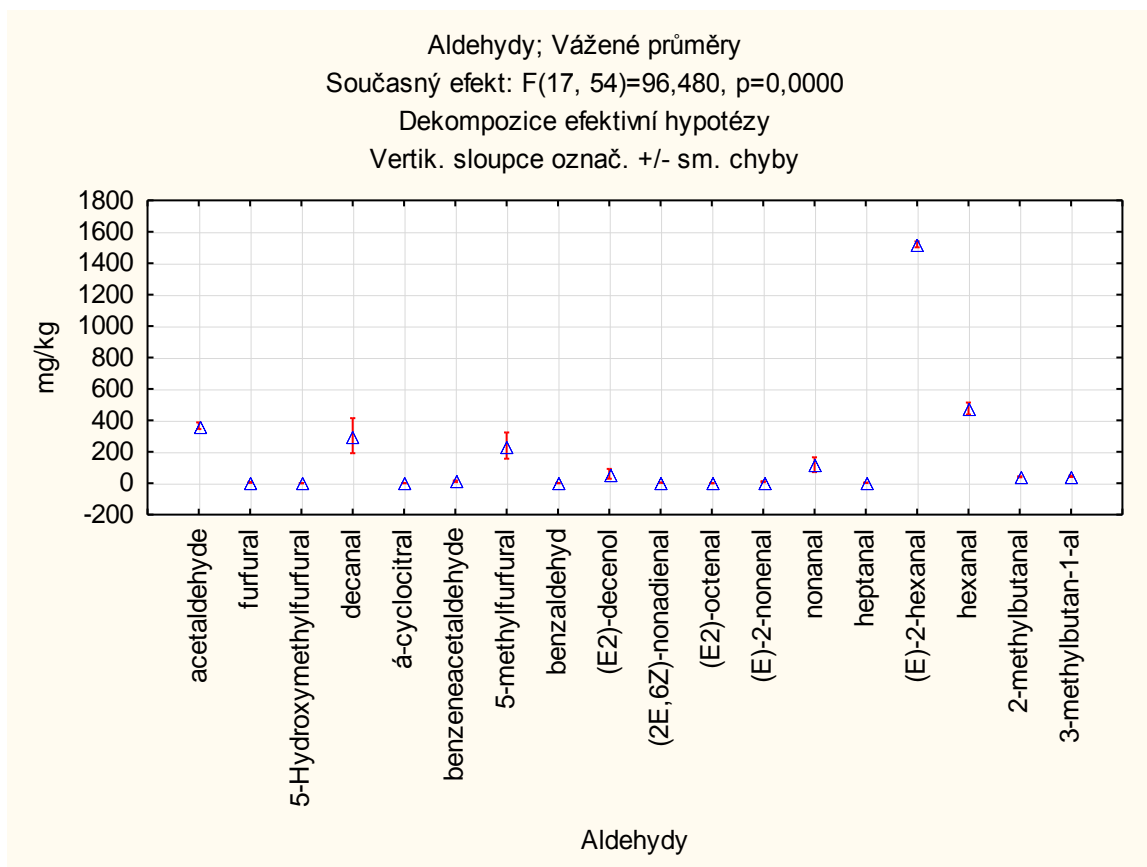
V následujících 12 grafech je možné pozorovat koncentraci a variabilitu jednotlivých aromatických sloučenin u druhů *Mentha x piperita* a *Mentha spicata*.

Koncentrace terpenů u druhu *Mentha x piperita* je znázorněna v grafu č. 2. Nejvyšší koncentrace byla zjištěna u terpenu (-)-menthol. Koncentrace tohoto terpenu byla 492 469 mg/kg. Vysoká koncentrace byla také stanovena u terpenů linalol (10 690 mg/kg), á-pinene (4 770 mg/kg) a (Z)-á-farnesene (1 948 mg/kg). Nejnižší obsah byl stanoven u terpenu E-geraniol. Obsah tohoto terpenu byl 285 mg/kg.



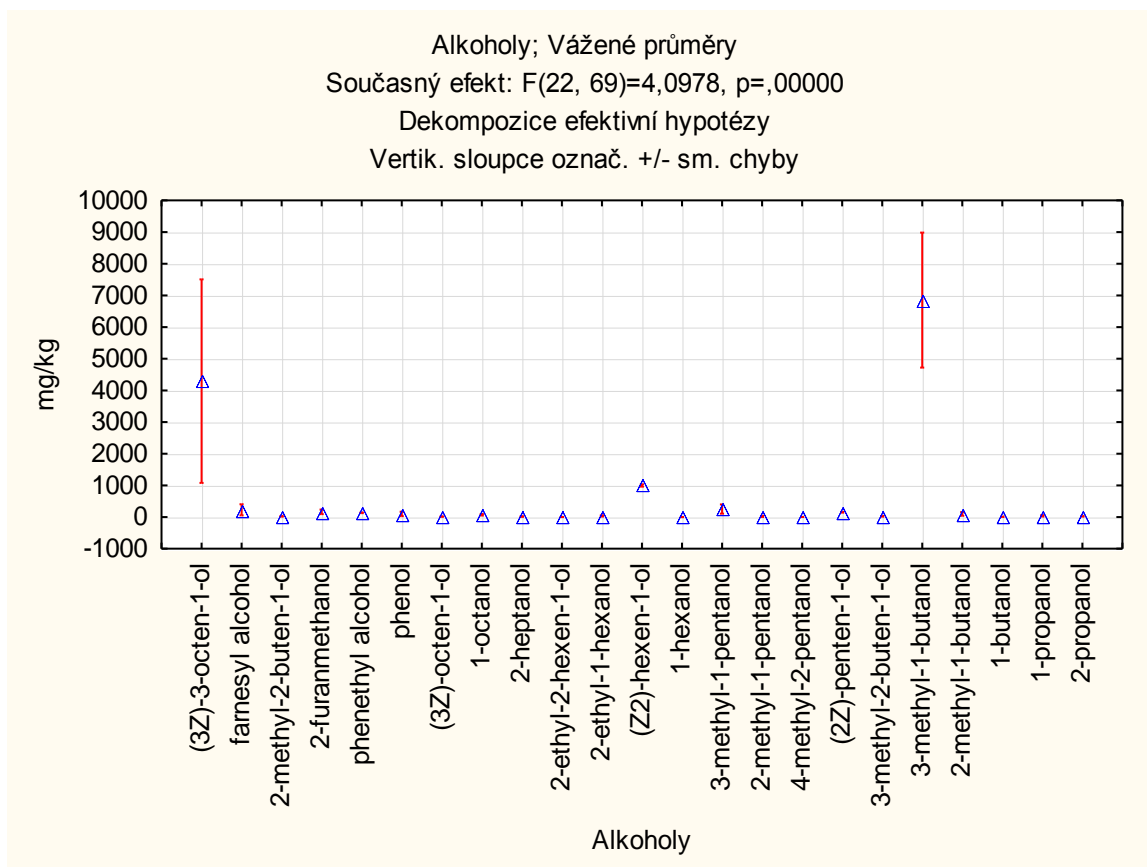
Graf č. 2: Koncentrace terpenů - *Mentha x piperita*

U grafu č. 3 můžeme vidět koncentraci jednotlivých aldehydů u druhu *Mentha x piperita*. Nejvyšší obsah byl zjištěn u aldehydu (E)-2-hexanal. Obsah tohoto aldehydu byl 1 520 mg/kg. Nejnižší koncentrace byla stanovena u aldehydu (E2)-octenal. Koncentrace tohoto aldehydu byla 0,005 mg/kg.



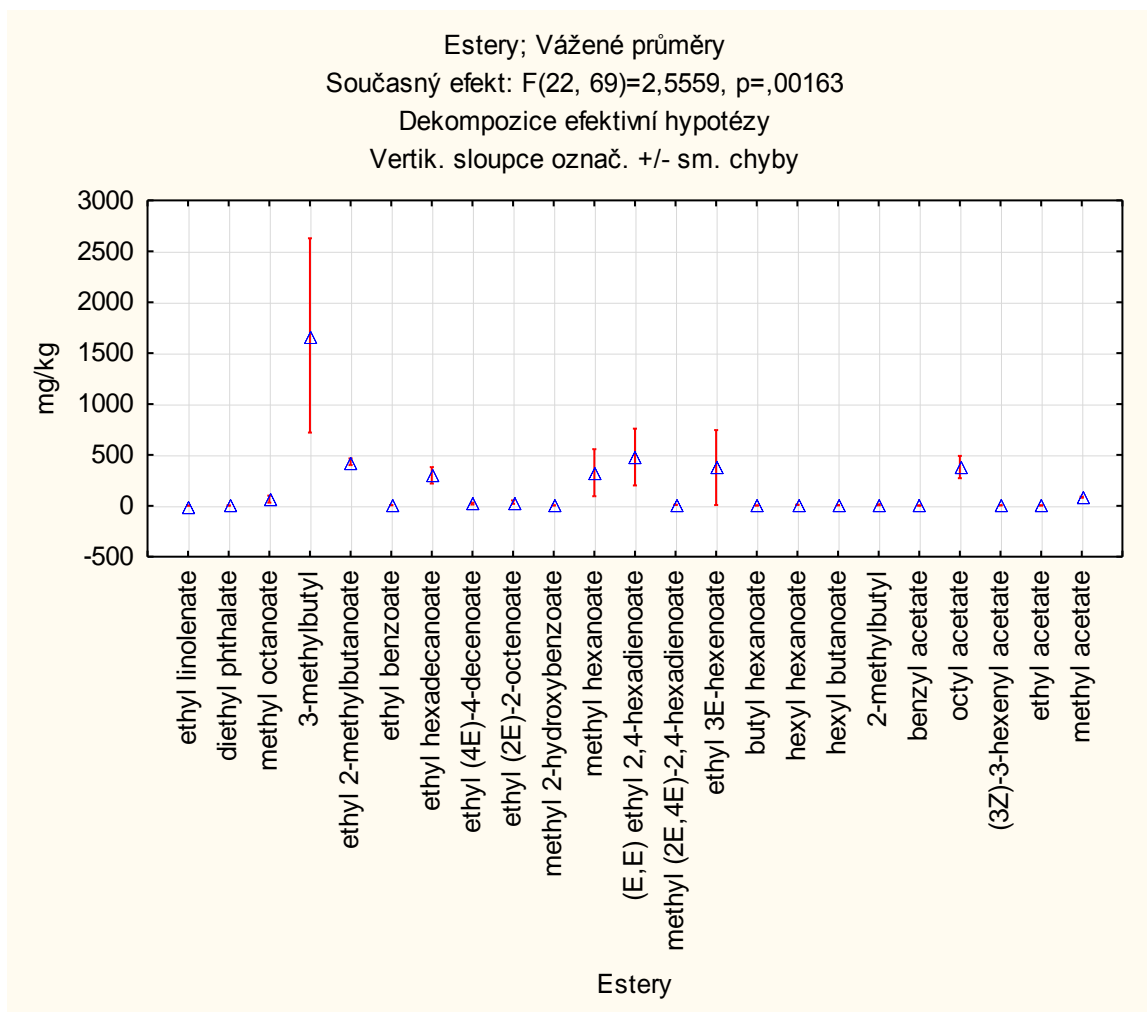
Graf č. 3: Koncentrace aldehydů - *Mentha x piperita*

Koncentrace alkoholů u druhu *Mentha x piperita* je znázorněna v grafu č. 4. Nejvyšší koncentrace byla stanovena u alkoholu 3-methyl-1-butanol. Koncentrace tohoto alkoholu, byla 6 852 mg/kg. Druhá nejvyšší koncentrace 4 293 mg/kg byla také zjištěna u alkoholu (3Z)-3-octen-1-ol. Nejnižší koncentrace byla stanovena u alkoholu 1-hexanol. Koncentrace tohoto alkoholu byla 0,029 mg/kg.



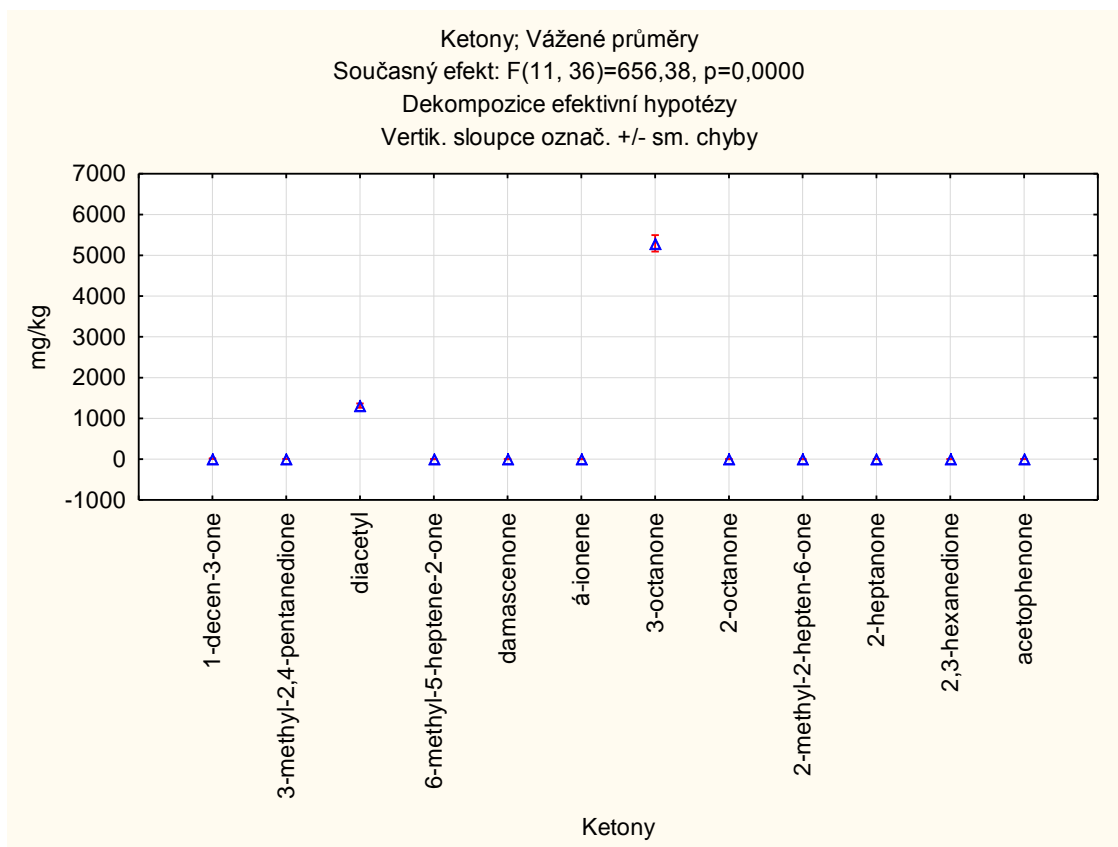
Graf č. 4: Koncentrace alkoholů – *Mentha x piperita*

U grafu č. 5. můžeme pozorovat koncentraci jednotlivých esterů u druhu *Mentha x piperita*. Nejvyšší koncentrace byla zjištěna u esteru 3-methylbutyl. Obsah tohoto esteru byl 1 673 mg/kg. Nejnižší koncentrace 0,003 mg/kg byla zjištěna u esteru butyl hexanoate.



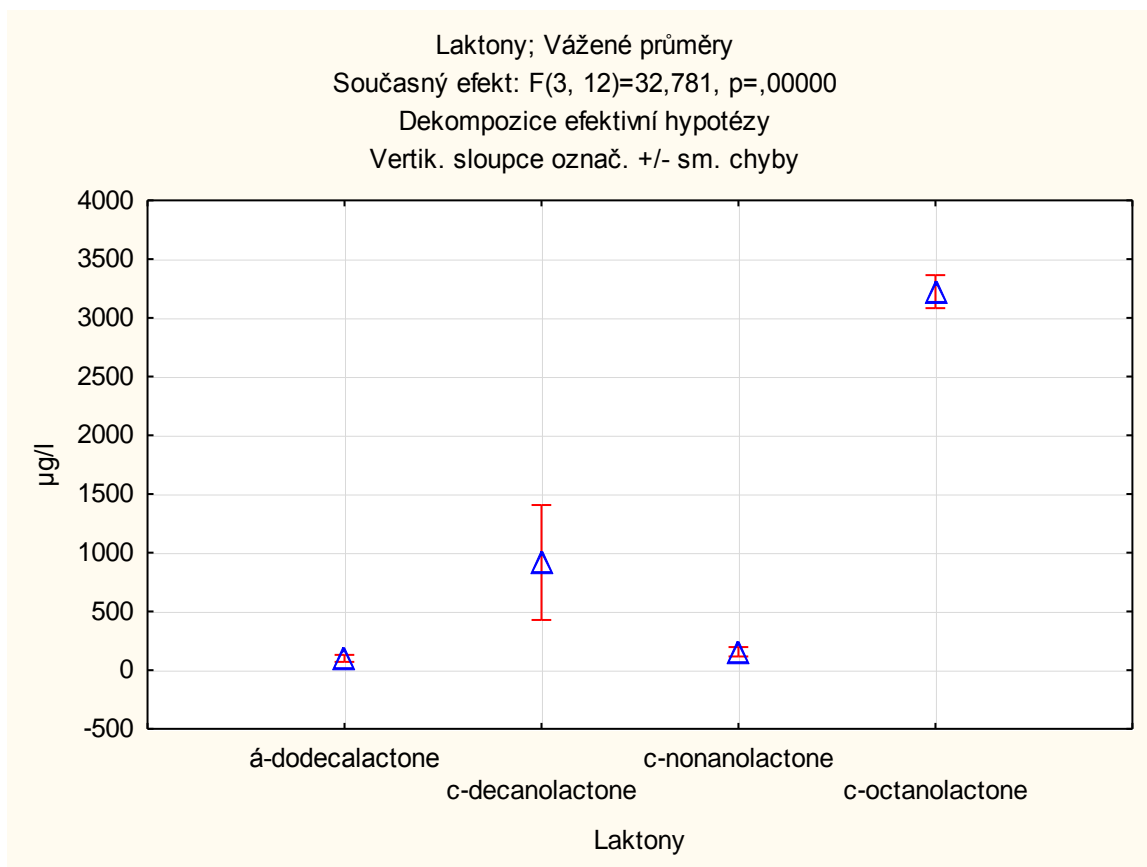
Graf č. 5: Koncentrace esterů - *Mentha x piperita*

Koncentrace ketonů u druhu *Mentha x piperita* je znázorněna v grafu č. 6. Nejvyšší koncentrace 5 292 mg/kg byla stanovena u ketonu 3-octanone. Vysoká koncentrace byla také zjištěna u ketonu diacetyl, a to 1 313 mg/kg. Nejnižší koncentrace 0,17 mg/kg byla stanovena u ketonu 6-methyl-5-heptene-2-one.



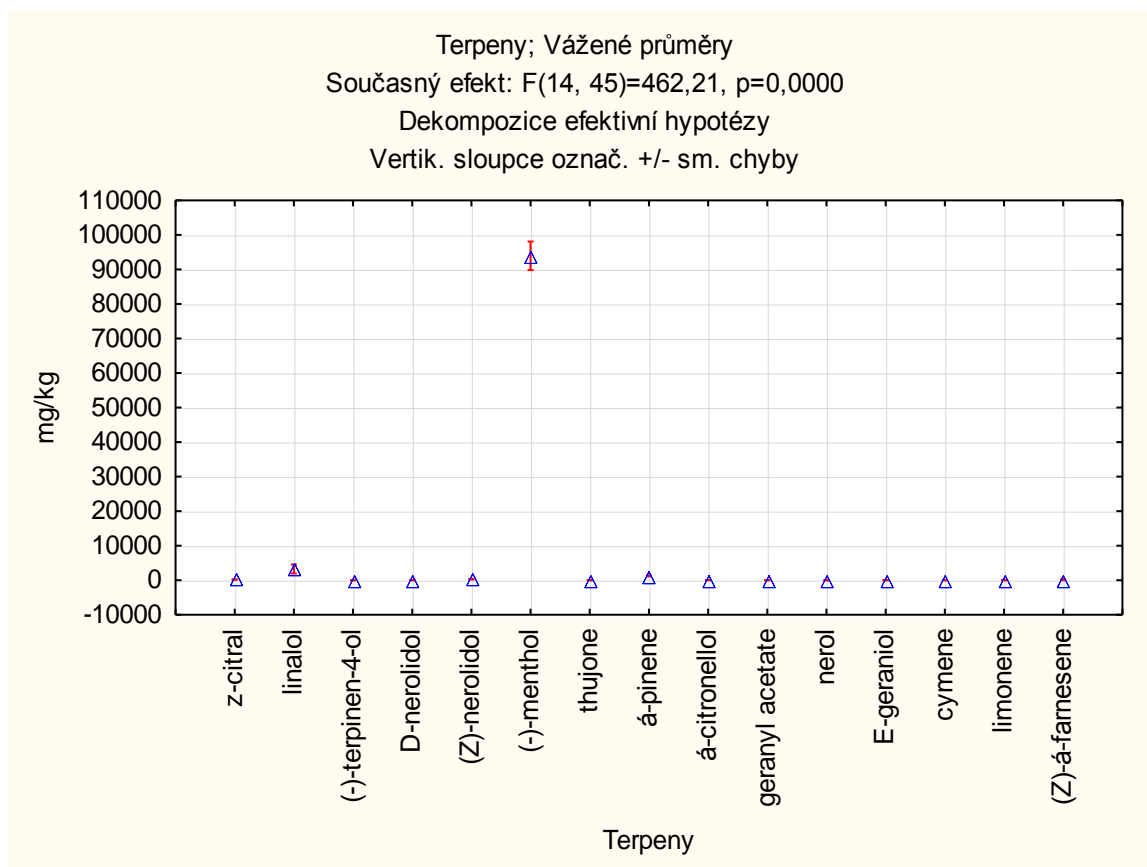
Graf č. 6: Koncentrace ketonů – *Mentha x piperita*

Koncentrace laktonů u druhu *Mentha x piperita* je znázorněna v grafu č. 7. Nejvyšší koncentrace byla zjištěna u laktonu c-octanolactone. Koncentrace tohoto laktonu byla 4 529 $\mu\text{g/l}$. Vysoká koncentrace 1 623 $\mu\text{g/l}$ byla také zjištěna u laktonu c-decanolactone. Nejnižší koncentrace 79 $\mu\text{g/l}$ byla stanovena u laktonu á-dodecalactone.



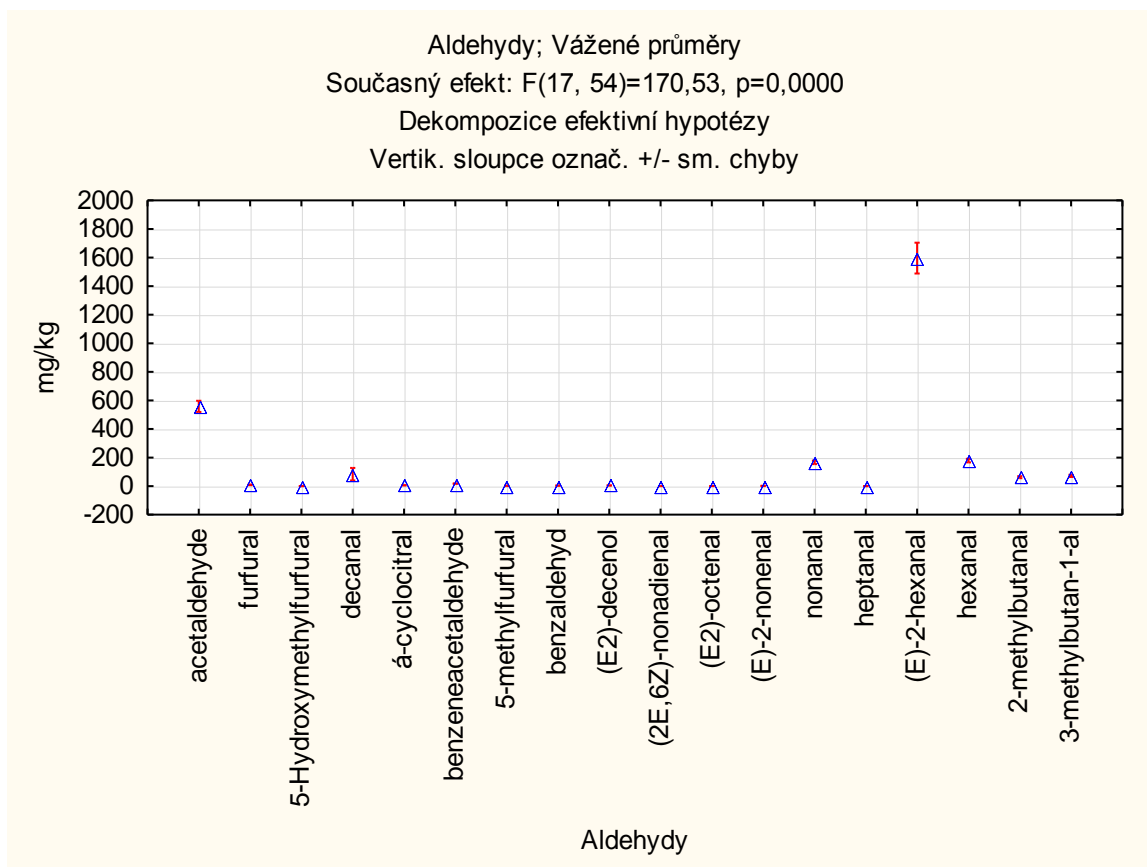
Graf č. 7: Koncentrace laktonů – *Mentha x piperita*

U grafu č. 8 můžeme vidět koncentraci jednotlivých terpenů u druhu *Mentha spicata*. Nejvyšší koncentrace 93 947 mg/kg byla zjištěna u terpenu (-)-menthol. Vysoká koncentrace byla také zjištěna u terpenu linalol (3 248 mg/kg) a α-pinene (1 287 mg/kg). Nejnižší koncentrace byla stanovena u terpenu E-geraniol v množství 0,089 mg/kg.



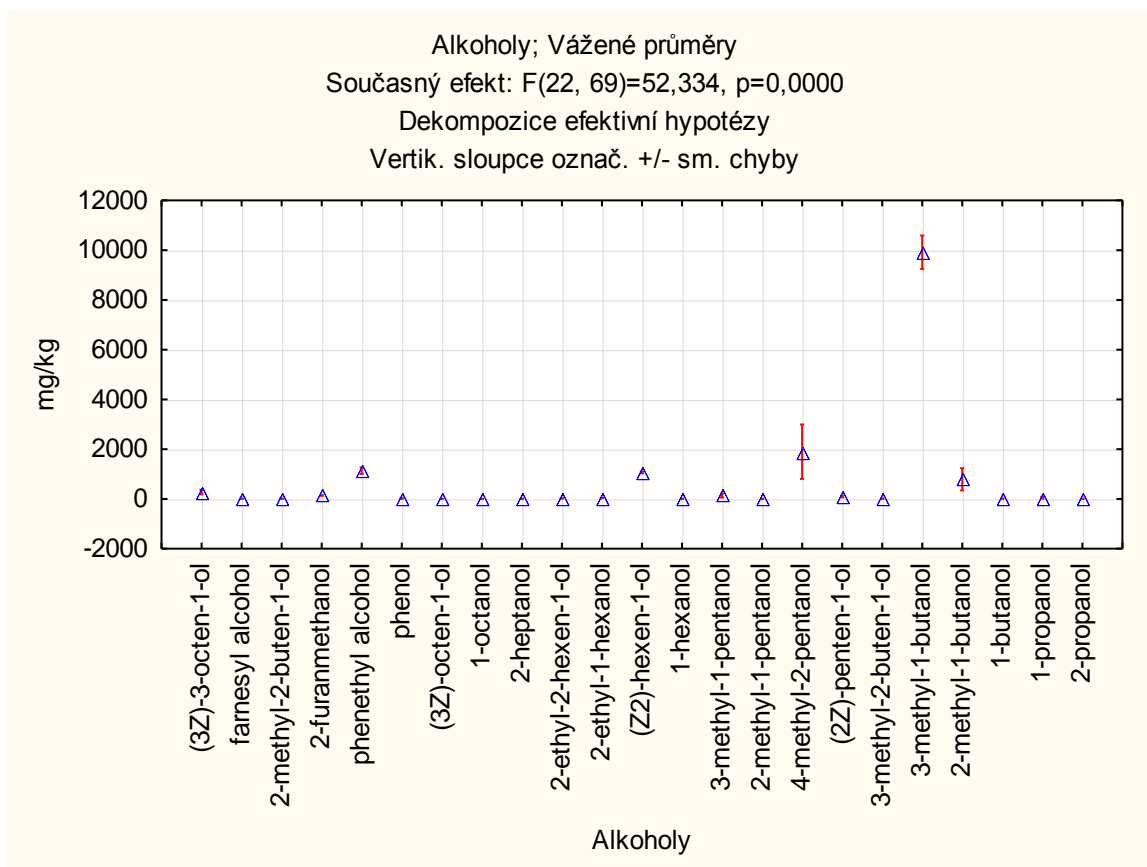
Graf č. 8: Koncentrace terpenů – *Mentha spicata*

Koncentrace aldehydů u druhu *Mentha spicata* je znázorněna v grafu č. 9. Nejvyšší obsah byl stanoven u aldehydu (E)-2-hexanal. Obsah tohoto aldehydu byl 1 595 mg/kg. Vysoká koncentrace byla, také zjištěna, u aldehydu acetaldehyde. Nejnižší obsah 0,074 mg/kg byl stanoven u aldehydu heptanal.



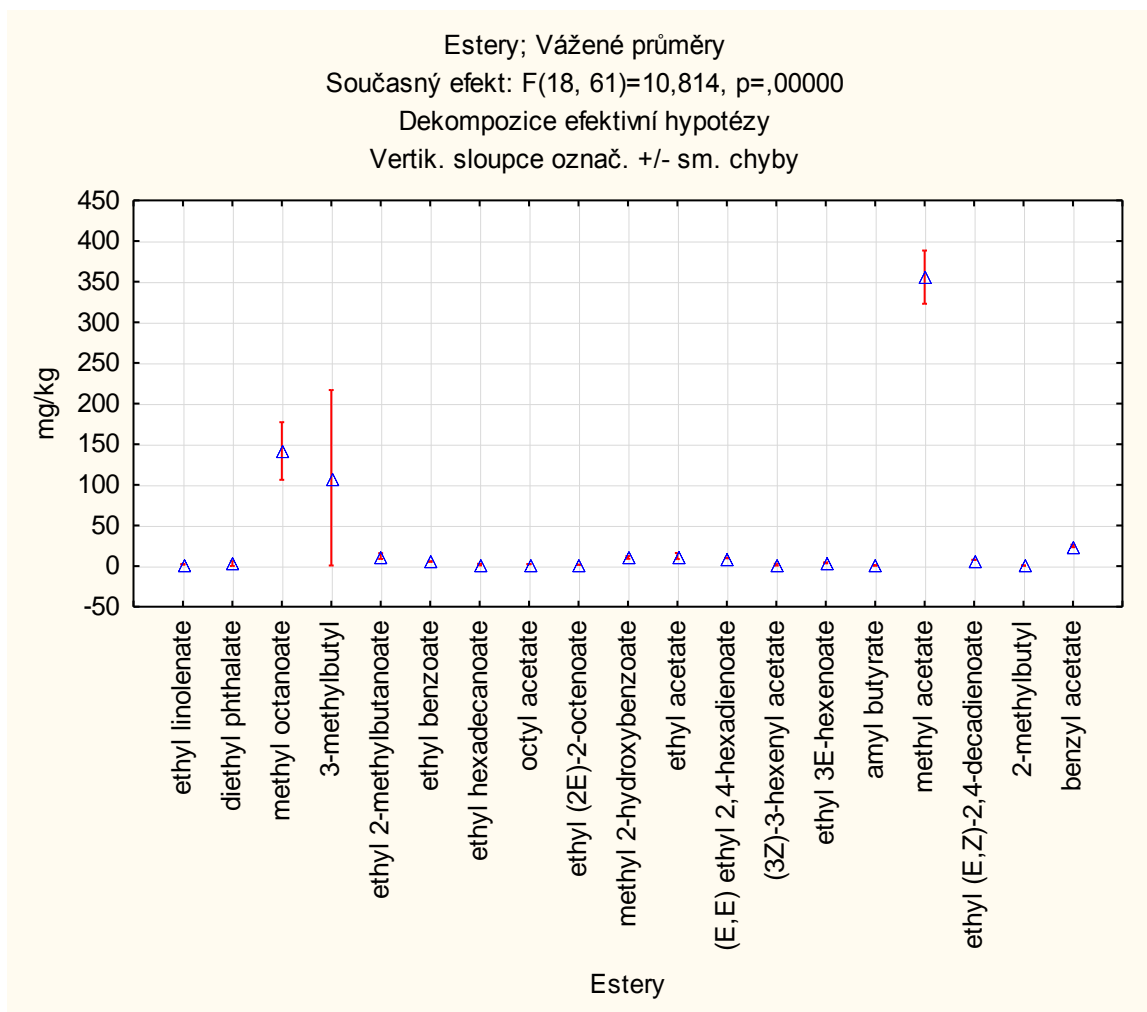
Graf č. 9: Koncentrace aldehydů – *Mentha spicata*

U grafu č. 10 můžeme pozorovat jednotlivé koncentrace alkoholů u druhu *Mentha spicata*. Nejvyšší množství bylo stanoveno u alkoholu 3-methyl-1-butanol. Koncentrace tohoto alkoholu byla 9 918 mg/kg. Nejnižší koncentrace 0,9 mg/kg byla stanovena u alkoholu 2-methyl-1-pentanol.



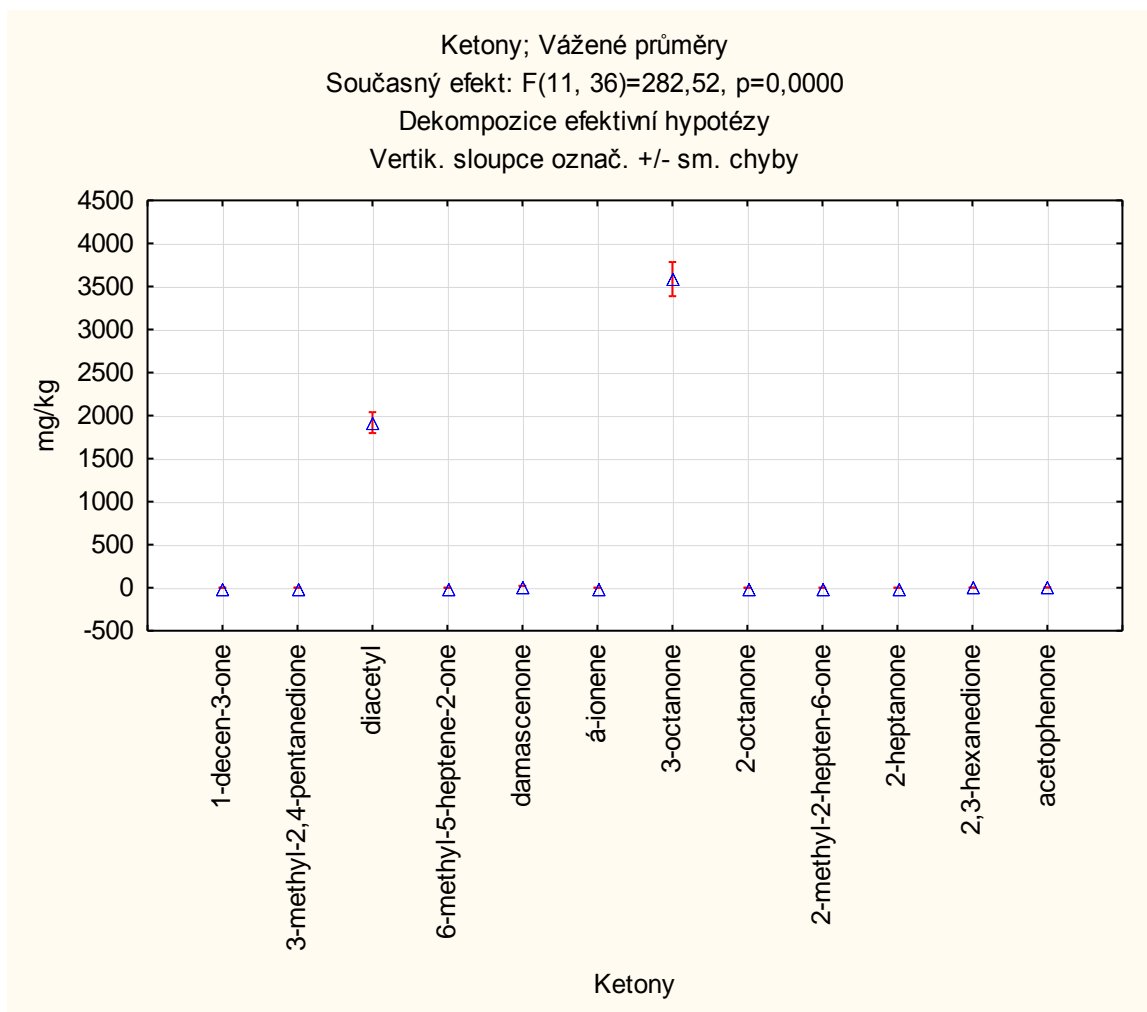
Graf č. 10: Koncentrace alkoholů – *Mentha spicata*

Koncentraci esterů u druhu *Mentha spicata* můžeme vidět v grafu č. 11. Nejvyšší koncentrace byla stanovena u esteru methyl acetate. Koncentrace tohoto esteru byla 356 mg/kg. Vyšší koncentrace byly také stanoveny, u esterů methyl octanoate a 3-methylbutyl. Nejnižší koncentrace byla zjištěna u esteru 2-methylbutyl a to 0,6 mg/kg.



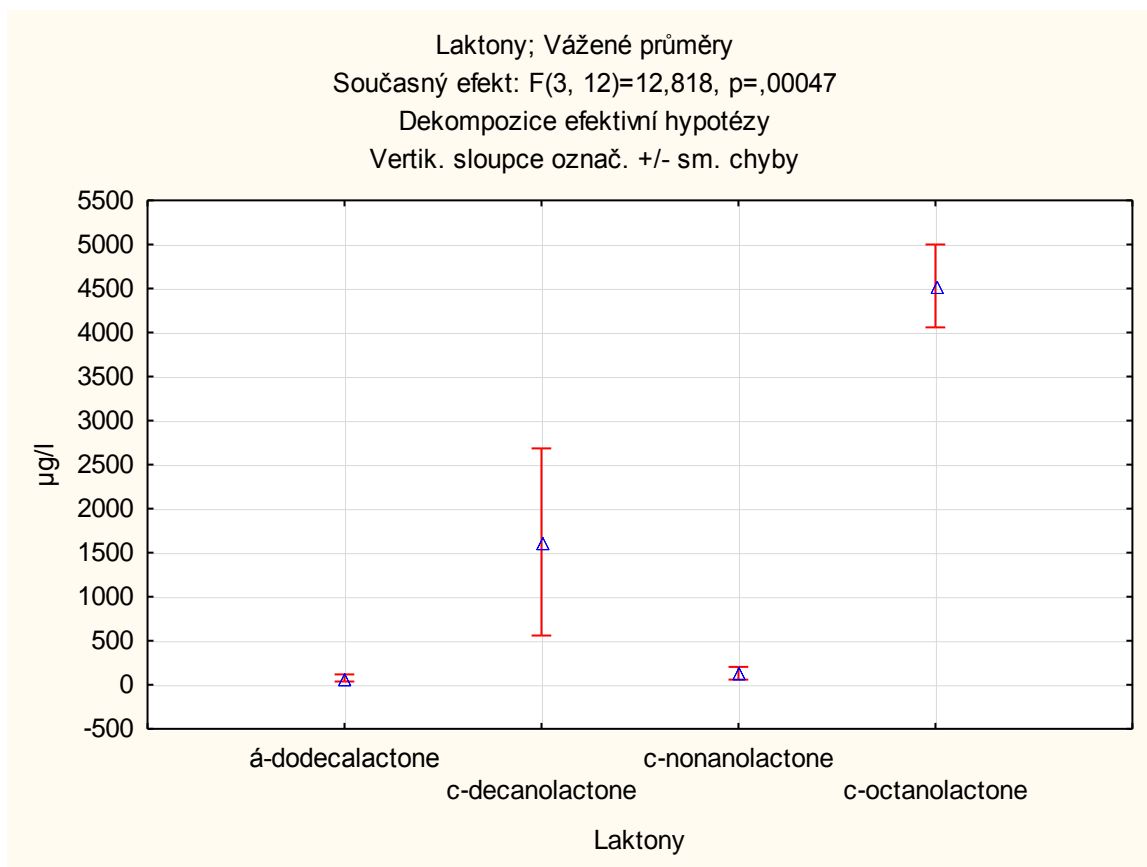
Graf č. 11: Koncentrace esterů – *Mentha spicata*

Koncentrace ketonů u druhu *Mentha spicata* je znázorněna v grafu č. 12. Nejvyšší koncentrace 3 586 mg/kg byla stanovena u ketonu 3-octanone. Vyšší koncentrace byla také zjištěna u ketonu diacetyl, a to 1 919 mg/kg. Nejnižší koncentrace 0,014 mg/kg byla stanovena u ketonu 2-heptanone.



Graf č. 12: Koncentrace ketonů – *Mentha spicata*

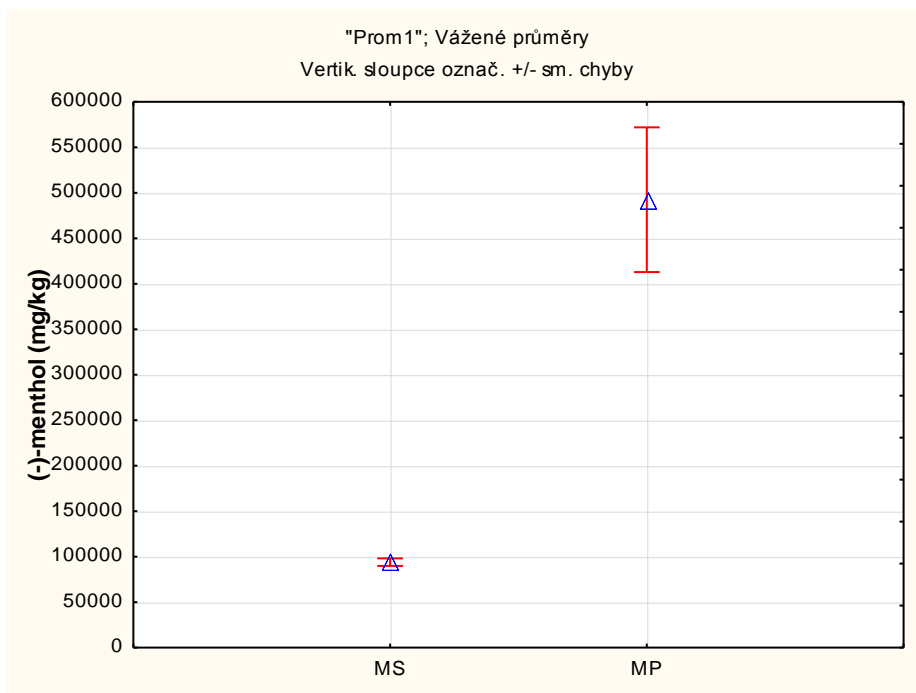
U grafu č. 13 můžeme pozorovat koncentraci jednotlivých laktonů u druhu *Mentha spicata*. V nejvyšším množství byl zastoupen lakton c-octanolactone. Obsah tohoto laktonu byl 4 529 $\mu\text{g/l}$. Vysoká koncentrace byla také zjištěna u laktonu c-decanolactone. Koncentrace tohoto laktonu byla 1 623 $\mu\text{g/l}$. Nejnižší obsah byl zjištěn u laktonu á-dodecalactone o koncentraci 79 $\mu\text{g/l}$.



Graf č. 13: Koncentrace laktonů – *Mentha spicata*

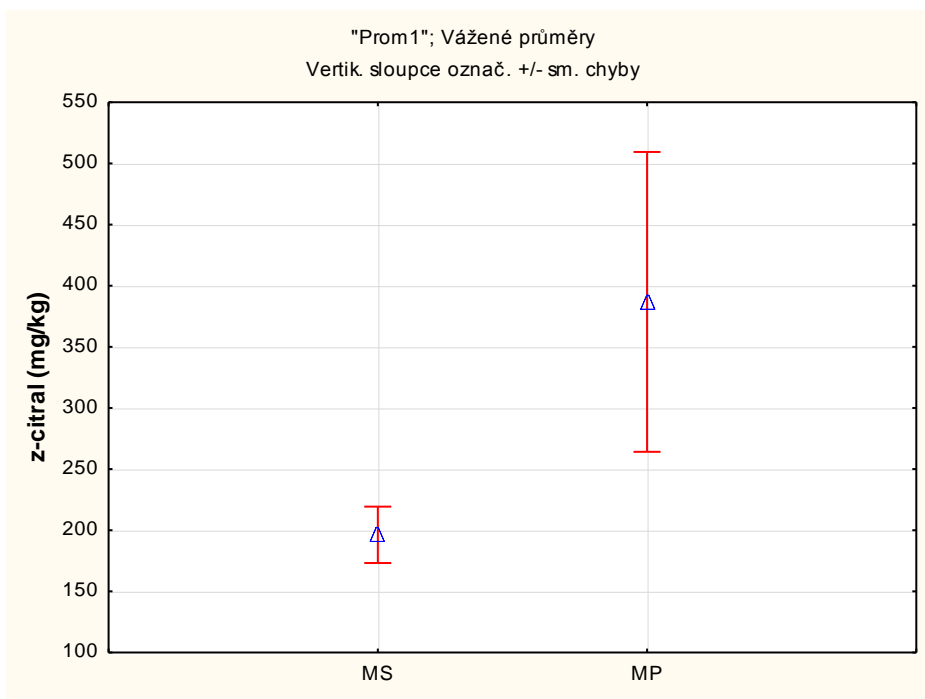
V následujících 12 grafech můžeme vidět porovnání koncentrací vybraných aromatických sloučeniny u druhů *Mentha x piperita* a *Mentha spicata*.

V grafu č. 14 můžeme pozorovat rozdíl mezi koncentrací alkoholického monoterpenu methol u druhu *Mentha x piperita* a *Mentha spicata*. Vyšší koncentrace mentholu byla zjištěna u druhu *Mentha x poiperita*. Rozdíl v koncentraci mezi druhy byl značný.



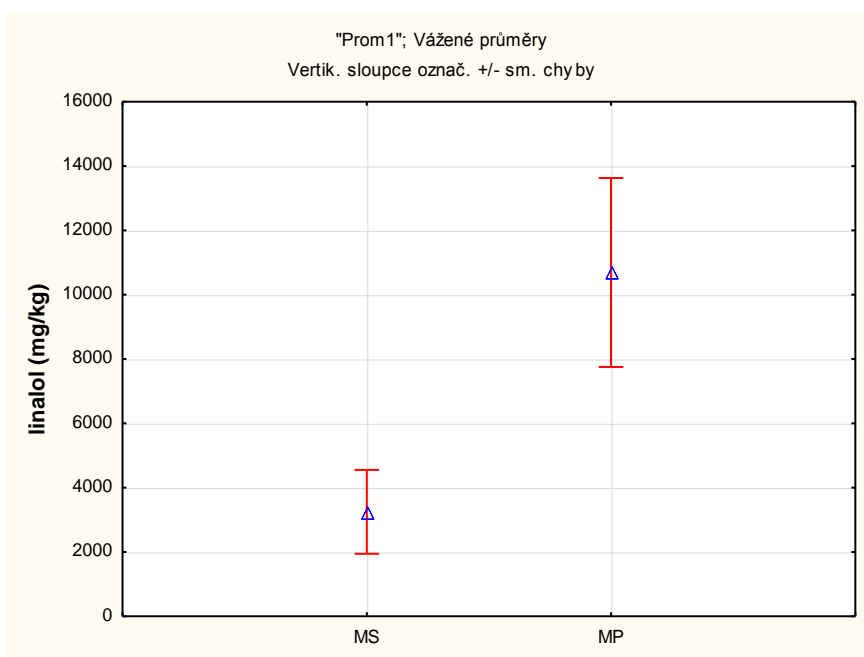
Graf č. 14: Porovnání koncentrace mentholu u druhů *Mentha x piperita* a *Mentha spicata*

Rozdíl v koncentraci monoterpenu z-citral u druhu *Mentha x piperita* a *Mentha spicata* je znázorněn v grafu č. 15. Vyšší obsah byl stanoven u druhu *Mentha x piperita*. Rozdíl koncentrace monoterpenu z-citral činil 191 mg/kg.



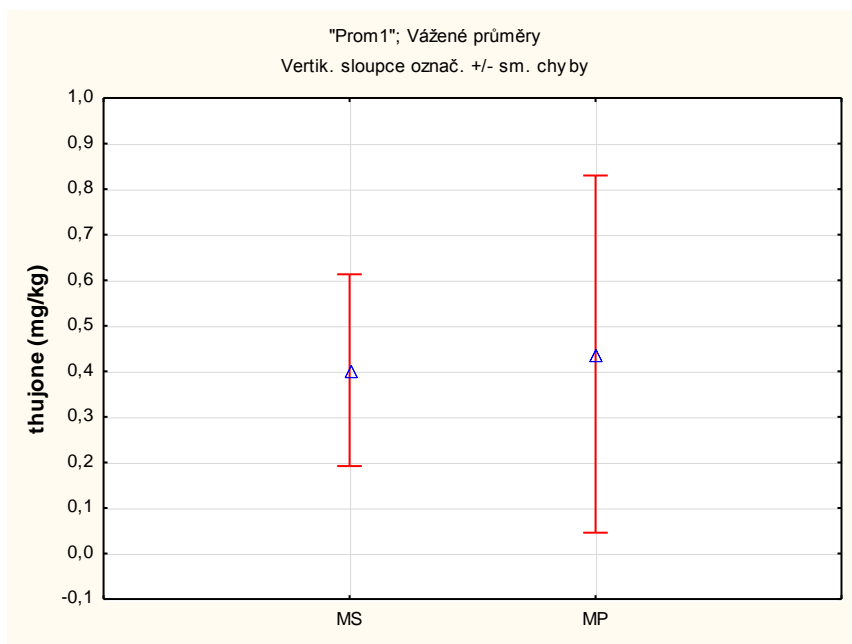
Graf č. 15: Porovnání koncentrace z-citralu u druhů *Mentha x piperita* a *mentha spicata*

V grafu č. 16 můžeme vidět srovnání koncentrace monotrepnového alkoholu linalol u druhu *Mentha x piperita* a *Mentha spicata*. U druhu *Mentha x piperita* bylo stanoveno vyšší obsah toho monoterpenu. Rozdíl v koncentraci byl 7 445 mg/kg.



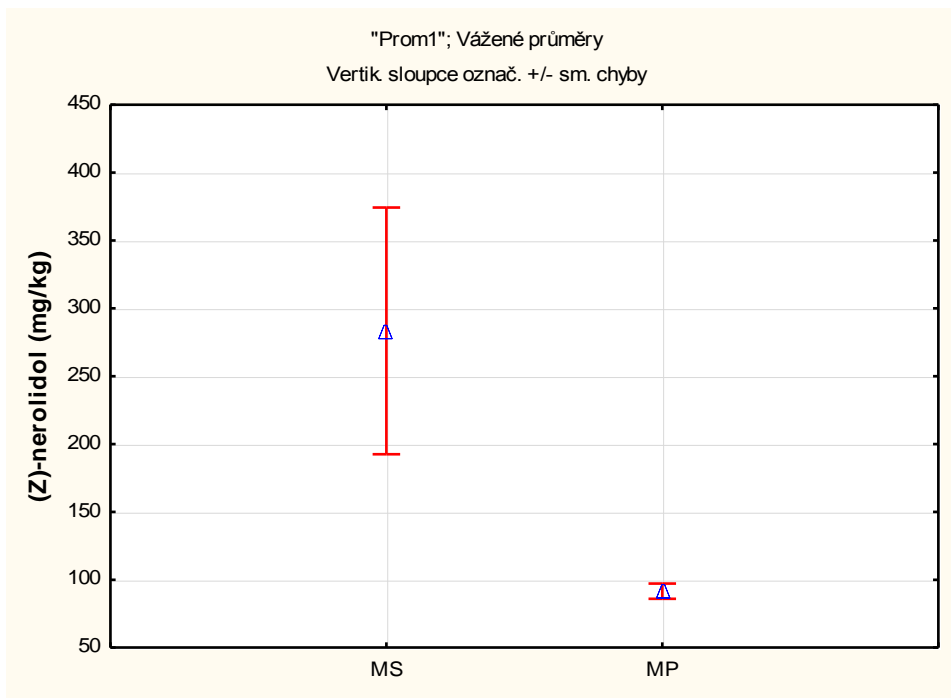
Graf č. 16: Porovnání koncentrace linaloolu u druhů *Mentha x piperita* a *Mentha spicata*

V následujícím grafu č. 17 můžeme pozorovat rozdíl, v koncentraci monoterpenu thujone u druhů *Metha x piperita* a *Mentha spicata*. Při srovnání koncentrací monoterpenu thujone, byl zjištěn jen velmi malý rozdíl. Vyšší koncentrace byla stanovena u druhu *Mentha x piperita*. Rozdíl mezi druhy činil 139 mg/kg.



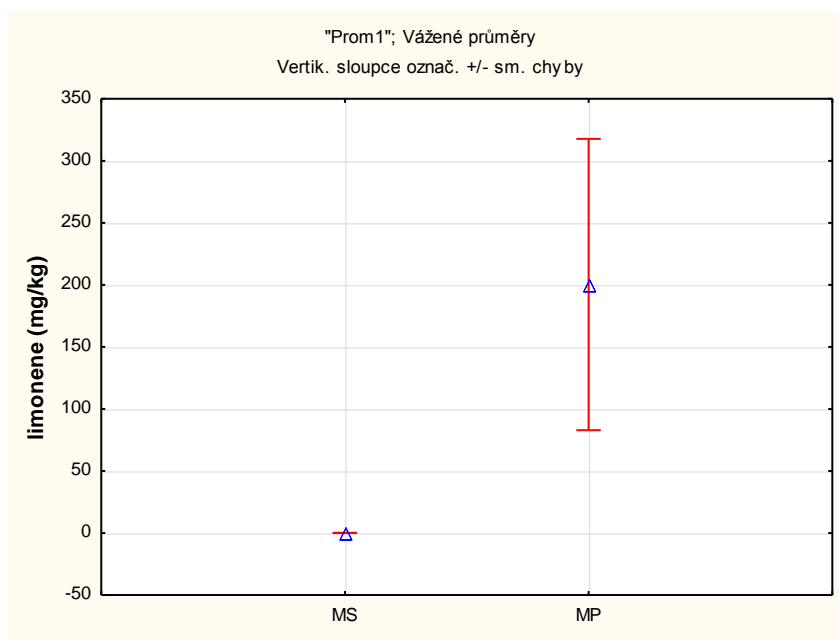
Graf č. 17: Porovnání koncentrace thujonu u druhů *Mentha x piperita* a *Mentha spicata*

V grafu č. 18 je znázorněn rozdíl koncentrace seskviterpenu (Z)-nerolidol u druhu *Mentha x piperita* a *Mentha spicata*. Zde byla zjištěna vyšší koncentrace u druhu *Mentha spicata*.



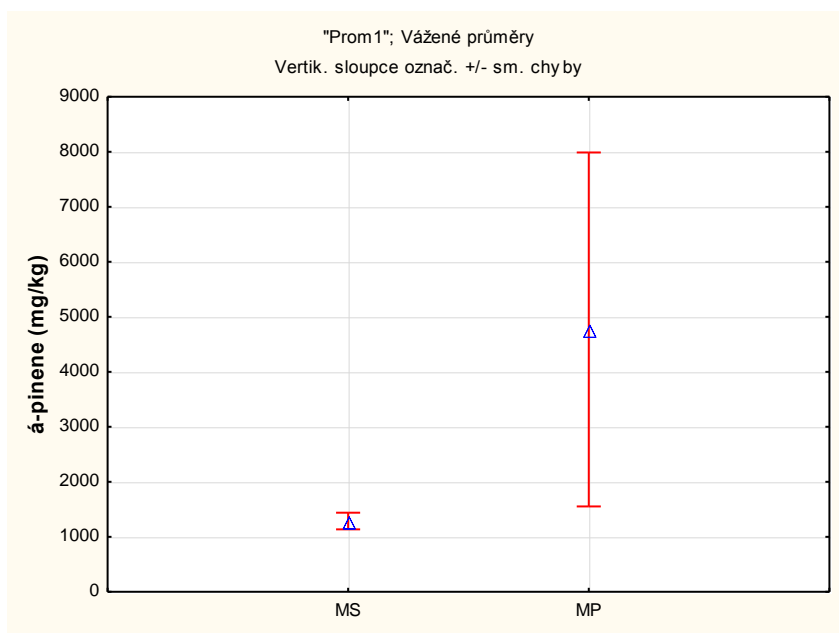
Graf č. 18: Porovnání koncentrace nerolidolu u druhů *Mentha x piperita* a *Mentha spicata*

V následujícím grafu č. 19 můžeme vidět porovnání koncentrace monoteprenu limonene. Z grafu je patrné, že vyšší koncentrace byla stanovena u druhu *Mentha x piperita*.



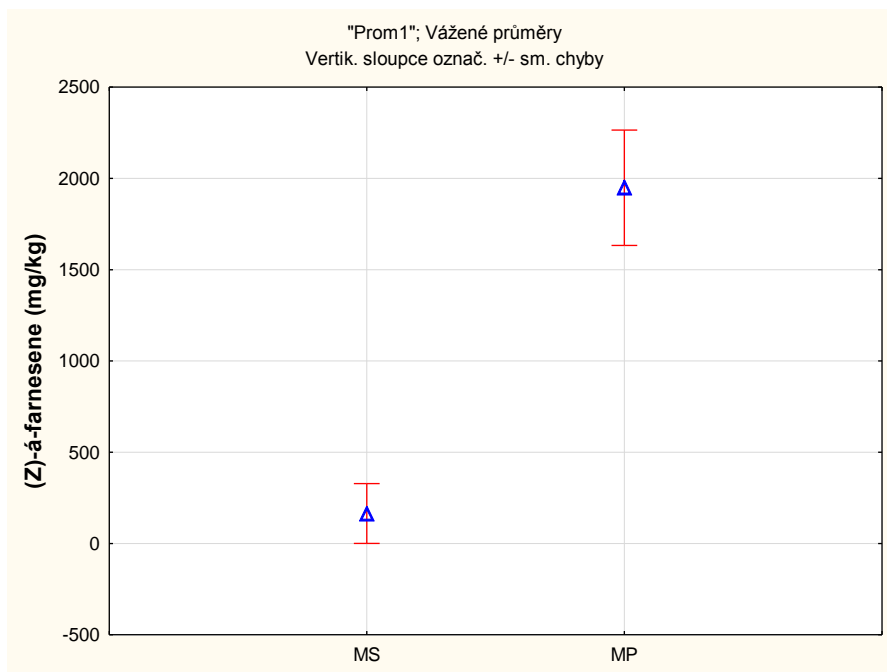
Graf č. 19: Porovnání koncentrace limonenu u druhů *Mentha x piperita* a *Mentha spicata*

V grafu č. 20 můžeme pozorovat srovnání koncentrací monoterpenů α -pinenu u druhů *Mentha x piperita* a *Mentha spicata*. Vyšší koncentrace byla zjištěna u druhu *Mentha x piperita*. Rozdíl monoterpenů α -pinenu mezi druhy činil 3 483 mg/kg.



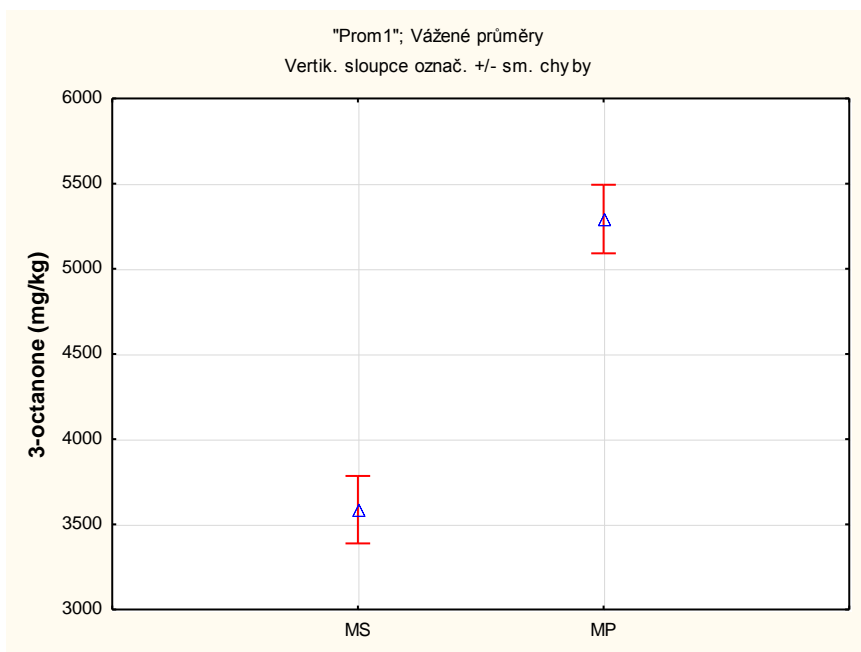
Graf č. 20: Porovnání koncentrace α -pinenu u druhů *Mentha x piperita* a *Mentha spicata*

V následujícím grafu č. 21 je znázorněn rozdíl koncentrace monoterpenů (Z)- α -farnesenu. Z grafu je jasně viditelné, že vyšší koncentrace byla stanovena u druhu *Mentha x piperita*. Rozdíl farnesenu mezi druhy byl 1 802 mg/kg.



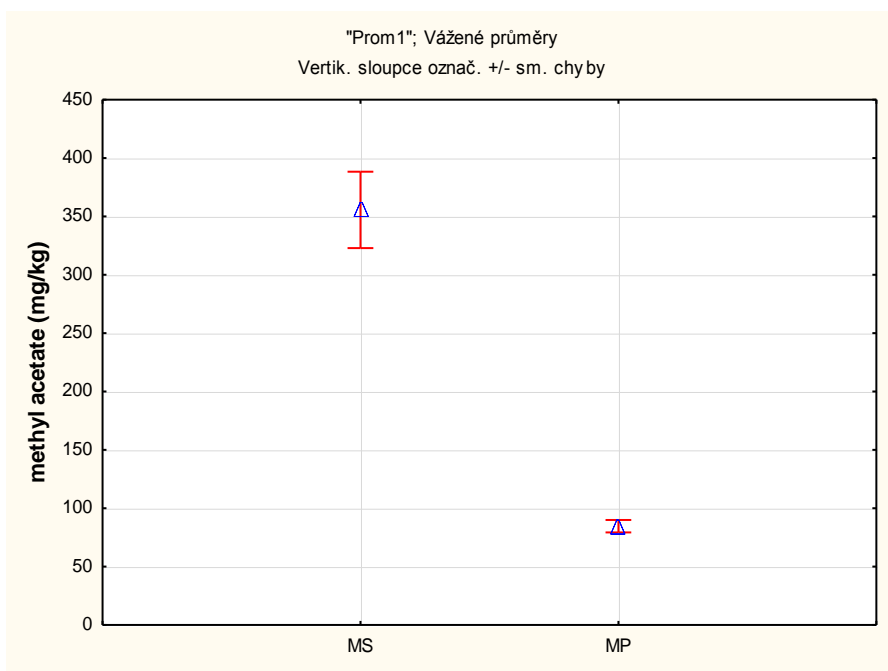
Graf č. 21: Porovnání koncentrace α -farnesenu u druhů *Mentha x piperita* a *Mentha spicata*

Rozdíl koncentrace ketonu 3-octanone u druhu *Mentha x piperita* a *Mentha spicata*, je znázorněn v grafu č. 22. Vyšší hodnoty byly opět stanoveny u druhu *Mentha x piperita*. Zde byl rozdíl koncentrace 1 707 mg/kg.



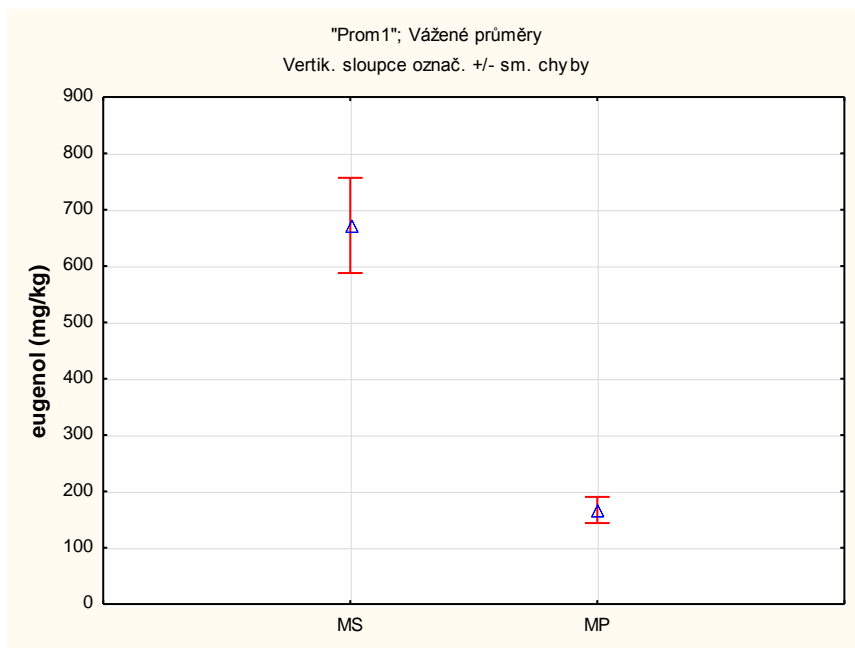
Graf č. 22: Porovnání koncentrace 3-octanonu u druhů *Mentha x piperita* a *Mentha spicata*

U grafu č. 23 můžeme vidět srovnání koncentrací esteru methyl acetate. Vyšší koncentrace tohoto esteru byla zjištěna u druhu *Mentha spicata*. Rozdíl v koncentraci tohoto esteru činil 271 mg/kg.



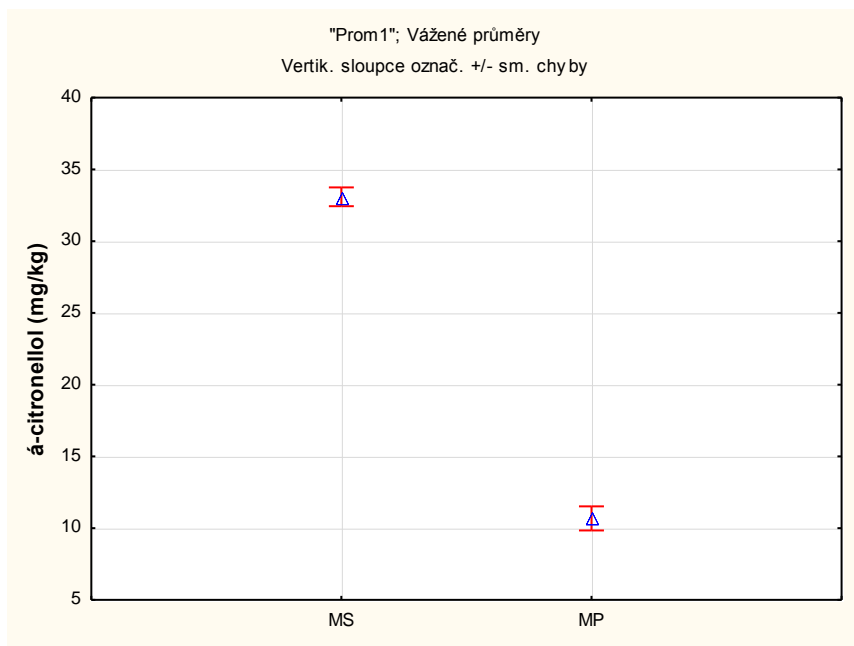
Graf č. 23: Porovnání koncentrace methyl acetatu u druhů *Mentha x piperita* a *Mentha spicata*

Porovnání koncentrací monoterpenového alkoholu eugenol u druhů *Mentha x piperita* a *Mentha spicata*, můžeme vidět v grafu č. 24. Z grafu je jasně viditelné, že vyšší koncentrace eugenolu byla naměřena u druhu *Mentha spicata*.



Graf č. 24: Porovnání koncentrace eugenolu u druhů *Mentha x piperita* a *Mentha spicata*

U grafu č. 25 můžeme pozorovat srovnání obsahu monocyklického monotepenu α -citronellol u druhů *Mentha x piperita* a *Mentha spicata*. Vyšší obsah tohoto monotepenu byl stanoven u druhu *Mentha spicata*. Rozdíl v koncentraci činil 23 mg/kg.



Graf č. 25: Porovnání koncentrace α -citronellolu u druhů *Mentha x piperita* a *Mentha spicata*

6. Souhrn získaných výsledků

V průběhu roku byla hodnocena morfoloická stavba u druhu *Mentha x piperit*, *Mentha spicata* a *Mentha longifolia* a obsah aromatických sloučenin u druhu *Mentha x piperita* a *Mentha spicata*.

Při hodnocení morfologie byly u jednotlivých druhů hodnoceny tyto morfoloické znaky: doba rašení, výška rostlin, délka a šířka listu, barva listu a barva květů. U všech druhů byl zaznamenán stejný počátek rašení a to 18. 3. 2015. Největší přírůstek měly všechny druhy v období od 19. 5. do 6. 6. 2015. Největší přírůstek v tomto období byl u druh *Mentha longifolia*. Všechny druhy se viditelně lišily velikostí a stavbou listu. Květenstvím byl u všech druhů lichoklas, který se u jednotlivých druhů lišil především svou hustotou a barvou květů.

Pro hodnocení aromatických sloučenin byla použita metoda SPEM-GC/MS. Celkem bylo ve vzorcích identifikováno 115 sloučenin z toho 42 esterů, 23 alkoholů, 18 aldehydů, 16 terpenů, 12 ketonů a 4 laktony. Ze skupiny esterů u druhu *Mentha x piperita* byla nejvyšší koncentrace 1 673 mg/kg zjištěna u esteru 3-methylbutyl. U druhu *Mentha spicata* byla nejvyšší koncentrace 355 mg/kg stanovena u esteru methyl acetate. Ze skupiny alkoholů byl u obou druhů nejvíce zastoupen alkohol 3-methyl-1butanol. U druhu *Mentha x piperita* činila koncentrace tohoto alkoholu 6 852 mg/kg a u druhu *Mentha spicata* byla stanovena koncentrace 9 919 mg/kg. Z aldehydů byl nejvíce zastoupen u obou druhů aldehyd (E)-2-hexanal. U *Mentha x piperita* byl obsah tohoto aldehydu 1 521 mg/kg. U *Mentha spicata* byl obsah tohoto aldehydu 1 596 mg/kg. Nejvýznamnější zastoupení aromatických látek měla skupina terpenů. Z této skupiny byl v nejvyšší koncentraci zastoupen u obou druhů alkoholický monoterpen menthol. Tento monoterpen byl nejvíce zastoupenou látkou vůbec. U druhu *Mentha x piperita* činila koncentrace mentholu 492 469 mg/kg. U druhu *Mentha spicata* byl obsah mentholu 93 947 mg/kg. Ze skupiny ketonů byl nejvyšší obsah u obou druhů jednoznačně stanoven u ketonu 3-octanone u druhu *Mentha x piperita* se stanovenou koncentrací 5 292 mg/kg, u druhu *Mentha spicata* se stanovenou koncentrací 3 585 mg/kg. Ze skupiny laktónů, byl nejvíce zastoupen u obou druhů laktón c-octanolactone u druhu *Mentha x piperita* s koncentrací 3 223 µg/l, u druhu *Mentha spicata* s koncentrací 4 520 µg/l.

Mentha x piperita a *Mentha spicata* pěstované na pozemku Zahradnické fakulty v Lednici na Moravě se při porovnání výrazně lišily obsahovými látkami, z nichž

nejvýznamnější jsou: menthol, z-citral, linalool, limonene, α -pinene, α -farnesene, 3-octanone, α -citronellol, eugenol, methyl acetate, thujone, (z)-nerolidol. Při porovnání koncentrace mentholu byl zjištěn výrazný rozdíl mezi druhy. Vyšší koncentrace byla stanovena u druhu *Mentha x piperita* s průměrnou koncentrací 492 469 mg/kg. Terpen z-citral, byl více zastoupen u druhu *Mentha x piperita* s průměrnou koncentrací 387 mg/kg. Při porovnání koncentrace terpenu linalool byla vyšší koncentrace zjištěna u druhu *Mentha x piperita* s průměrnou koncentrací 10 690. Terpen limonene, byl z větší části zastoupen u druhu *Mentha x piperita* s průměrnou koncentrací 200 mg/kg. Vyšší koncentrace terpenu α -pinene byla naměřena u druhu *Mentha x piperita* s průměrnou koncentrací 4 770 mg/kg. Při porovnání koncentrace terpenu α -farnesene byl vyšší obsah stanoven u druhu *Mentha x piperita* s průměrnou koncentrací 1 948 mg/kg. Keton 3-octanone byl více zastoupen u druhu *Mentha x piperita* s průměrnou koncentrací 5 292 mg/kg. Vyšší koncentrace terpenu α -citronellol byla stanovena u druhu *Mentha spicata* s průměrnou koncentrací 33 mg/kg . Terpen eugenol byl více zastoupen u druhu *Mentha spicata* s průměrnou koncentrací 672 mg/kg. Vyšší koncentrace esteru methyl acetate byla stanovena u druhu *Mentha spicata* s průměrnou koncentrací 355 mg/kg. U terpenu thujone, byl zjištěn nejmenší rozdíl mezi druhy. Vyšší koncentrace byla naměřena u druhu *Mentha x piperita* s průměrnou koncentrací 0,438 mg/kg. Terpen (z)-nerolidol, byl více zastoupen u druhu *Mentha spicata* s průměrnou koncentrací 283 mg/kg.

7. Závěr

U druhů *Mentha x piperita*, *Mentha spicata* a *Mentha longifolia* pěstovaných na pozemcích Mendelovi univerzity v Lednici na Moravě, byla hodnocena morfologická stavba a obsah aromatických látek u druhu *Mentha x piperita* a *Mentha spicata*.

Při hodnocení vybraných druhů z rodu *Mentha* z hlediska morfologických znaků, byly nalezeny velké rozdíly mezi druhy. Během pozorování morfologických znaků byly zjištěny u jednotlivých druhů rozdíly. Potvrdilo se, že rod *Mentha* je velmi variabilní druh.

U druhu *Mentha x piperita* a *Mentha spicata* byly z výtlačku rostlin stanoveny aromatické sloučeniny. Pro analýzu aromatických sloučenin byla použita metoda SPEM-GC/MS. Celkem bylo ve vzorcích identifikováno 115 sloučenin z toho 42 esterů, 23 alkoholů, 18 aldehydů, 16 terpenů, 12 ketonů a 4 laktony. Nejvýznamnější zastoupení aromatických látek měla skupina terpenů.

Oba zkoumané druhy se výrazně lišily svými obsahovými látkami, z nichž nejvýznamnější jsou: menthol, z-citral, linalool, limonene, á-pinene, á-farnesene, 3-octanone, á-citronellol, eugenol, methyl acetate, thujone, (z)-nerolidol. Z této skupiny byl v nejvyšší koncentraci zastoupen u obou druhů alkoholický monoterpen menthol. Menthol byl dominantní sloučeninou u druhu *Mentha x piperita*. Jeho koncentrace se výrazně lišila od koncentrace *Mentha spicata*. Vyšší koncentrace byla ve většině případů stanovena u druhu *Mentha x piperita*.

8. Souhrn a Resume

U druhů *Mentha x piperita*, *Mentha spicata* a *Mentha longifolia* pěstovaných na pozemcích Mendelovi univerzity v Lednici na Moravě, byla hodnocena morfologická stavba a obsah aromatických látek u druhu *Mentha x piperita* a *Mentha spicata*.

Při hodnocení morfologických znaků byly nalezeny velké rozdíly mezi druhy, a také byly zjištěny rozdíly v rámci druhu. Potvrdilo se, že rod *Mentha* je velmi variabilní druh.

Obsah a složení aromatických látek ve výtlačku z rostlin *Mentha x piperita* a *Mentha spicata* byly zkoumány pomocí metody SPEM-GC/MS. Hlavními složkami u druhu *Mentha x piperita* byly: (-)-menthol, linalol, (Z)-á-farnesene, eugenol, á-pinene, (z)-citral, limonene, linalool, (E)-2-hexanal, 3-octanone, 3-methyl-1-butanol, methyl acetate. U druhu *Mentha spicata* měly nejvyšší obsah látky: (-)-menthol, linalol, (Z)-á-farnesene, (z)-citral, á-pinene, eugenol, á-citronellool, (E)-2-hexanal, 3-octanone, 3-methyl-1-butanol, methyl acetate. Nejvýznamnější a nejvíce dominantní aromatickou sloučeninou byl menthol.

Klíčová slova: aromatické látky, *Mentha x piperita*, terpeny,

Resume

For species *Mentha x piperita*, *Mentha spicata* and *Mentha longifolia* grown on land Mendel University in Lednice, was evaluated morphological structure and content of aromatics in the species *Mentha x piperita* and *Mentha spicata*.

They were found large differences between species in the evaluation of morphological characteristics and they were found differences within species too. It was confirmed that the genus *Mentha* is a very variable species.

The content and composition of the aromatics in the extrudate from the plant *Mentha x piperita* and *Mentha spicata* were researched by the method SPEM-GC/MS. The main components of the species *Mentha x piperita* were: (-) - menthol, linalool, (Z) -a-farnesene, eugenol, alpha-pinene, (z) -citral, limonene, linalool, (E) -2-hexanal, 3-octanone, 3-methyl-1-butanol, methyl acetate. The type of *Mentha spicata* had the highest content of substances: (-) - menthol, linalool, (Z) -a-farnesene, (z) -citral, alpha pinene, eugenol, alpha-citronellool, (E) -2-hexanal, 3 -octanone, 3-methyl-1-butanol,

methyl acetate. The most important and most dominant aromatic compound was menthol.

Keywords: flavoring substances , *Mentha x piperita*, terpenes,

9. Seznam použité literatury

1. ACHLEITNER, A. Handbuch des Arznei- und Gewürzpflanzenbaus. Bernburg: Verein für Arznei- und Gewürzpflanzen SALUPLANTA, 2013, 800 s. ISBN 978-3-935971-64-5.
2. BAŞER, K a BUCHBAUER, G. *Handbook of essential oils: science, technology, and applications*. Boca Raton, FL: CRC Press/Taylor & Francis, 2010, 948 p. ISBN 978-1-4200-6316-5.
3. CASTLEMAN, M. a ČERNÁ, J. *Velká kniha léčivých rostlin: klasický průvodce nejlepšími přírodními léčivy představující ty nejlepší - časem i vědou prověřené - léčivé rostliny*. 1. vyd. Praha: Columbus, 2004, 635 s. ISBN 80-7249-177-6.
4. *Český lékopis 2005: (čl. 2005)*. 1. vyd. Praha: Grada Publishing, 2005, s. 2028-3249. ISBN 80-247-1532-5.
5. DUDAREVA N., ANDERSSON S., ORLOVA I., GATTO N., REICHELT M., RHODES D., BOLAND W., GERSHENZON J.: Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 102, 933 (2005).
6. FELKLOVÁ, M. a KOCOURKOVÁ, B. *Pěstování léčivých rostlin: (pro farmaceuty)*. Vyd. 1. Brno: Veterinární a farmaceutická univerzita, 2003, 100 s. ISBN 80-7305-458-2.
7. FUCHS, B. Máta peprná - rostlina roku 2004 *Liečivé rastliny*, Bratislava: Herba 2005, číslo 5. Str. 179.
8. CHAN K. K.: *J. Chromatogr.*, A 936, 47 (2001)
9. İŞCAN, G., KİRİMER, N., KÜRKCÜOĞLU, M., BAŞER, H., DEMİRCİ, F., AZIMOVA, S. a GLUSHENKOVA. I. A. Antimicrobial Screening of Mentha piperita Essential Oils. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 2002, vol. 50, issue 14, s. 434-435. DOI: 10.1007/978-0-85729-323-7_1377.
10. JANČA, J. a ZENTRICH, J. *Herbář léčivých rostlin 3.díl*. 1.vyd. Praha: Eminent, 1995, 287 s. ISBN 80-85876-14-0.
11. KLOUDA, P. *Moderní analytické metody*. 2., upr. a dopl. vyd. Ostrava: Pavel Klouda, 2003, 132 s. ISBN 80-86369-07-2.
12. LAWRENCE, B. M. *Mint: the genus Mentha*. Boca Raton, FL: CRC Press, c2007, 556 p., [2] p. of plates. ISBN 0-8493-0779-1.

13. MATHUR, A., PUROHIT, R., MATHUR, D., PRASAD a DUA, K. V. Pharmacological investigation of methanol extract of *Mentha piperita* L. roots on the basis of antimicrobial, antioxidant and anti-inflammatory properties. *Der Pharmacia Sinica*, 2011, 2 (1): 208-216. ISSN 0976-8688
14. MCMURRY, J. *Organická chemie*. Vyd. 1. Brno: VUTIUM, c2007, 1 sv. (různé stránkování). ISBN 978-80-214-3291-8.
15. MORAVCOVÁ J.: *Biologicky aktivní přírodní látky*, Vysoká škola chemicko-technologická v Praze, Fakulta potravinářské a biochemické technologie. 2006, 108 s.
16. NEUGEBAUEROVÁ, J. *Pěstování léčivých a kořenových rostlin*. 1. vyd. Brno: Mendelova zemědělská a lesnická univerzita v Brně, 2006, 122 s. ISBN 80-7157-997-1.
17. ORAV, A., KAPP, K., RAAL, A., BAŞER, H., DEMİRCİ, F., AZIMOVA, S. a GLUSHENKOVA. I. A. Chemosystematic markers for the essential oils in leaves of *Mentha* species cultivated or growing naturally in Estonia. *Proceedings of the Estonian Academy of Sciences*. 2013, vol. 62, issue 3, s. 434-435. DOI: 10.3176/proc.2013.3.03.
18. ORAV, A., KAPP, K., RAAL, A., BAŞER, H., DEMİRCİ, F., AZIMOVA, S. a GLUSHENKOVA. I. A. Retention of aroma compounds from *Mentha piperita* essential oil by cyclodextrins and crosslinked cyclodextrin polymers. *Proceedings of the Estonian Academy of Sciences*. 2013, vol. 62, issue 3, s. 434-435. DOI: 10.3176/proc.2013.3.03.
19. RAETSCH, Ch. *Léčivé rostliny antiky*. 1.vyd. Praha: Volvox Globator, 2001, 287 s. ISBN 80-7207-350-8.
20. RITA, P., ANIMESH, K., D. An updated overview on peppermint. *International research journal of pharmacy IRJP* et al 2, (8),1-10, (2011).
21. SURBURG, H., PANTEN, J. a BAUER, K. *Common fragrance and flavor materials: preparation, properties and uses*. 5th completely rev. and enl. ed. /. Weinheim: Wiley-VCH, c2006, xii, 318 p. ISBN 352731315x.
22. URUTCHET, A., DELLACASSA, E., RINGUELET, A. J., CHAVES, R. A., VIÑA, Z. S., CROTEAU R. a GLUSHENKOVA, I. A. Nutritional and sensory quality during refrigerated storage of fresh-cut mints (*Mentha*×*piperita* and *M. spicata*). *Food Chemistry*. 2014, vol. 143, issue 3, s. 231-238. DOI: 10.2172/6984924.

23. VALÍČEK, P. *Technické a siličnaté rostliny*. 1. vyd. Brno: Mendelova zemědělská a lesnická univerzita, 2006, 95 s. ISBN 80-7157-936-x.
24. VELÍŠEK, J a HAJŠLOVÁ, J. *Chemie potravin 2: Rozš. a přeprac.* 3. vyd. Tábor: OSSIS, 2009, xx, 623 s. ISBN 978-80-86659-17-6.
25. VELÍŠEK, J. *Chemie potravin*. 1.vyd. Tábor: OSSIS, 1999, xv, 304 s. ISBN 80-902391-4-5.
26. YERUVA L, P. K., ELEGBEDE A., WANG R. C., CARPER S. W.: *Cancer Lett.* 257, 216 (2007).
27. ZULAK K. G., BOHLMANN J.: *J. Integr. Plant Biol.* 52, 86 (2010).

Internetové zdroje

www1- http://www.chemicalbook.com/ChemicalProductProperty_EN_CB7727704.htm

www2 - <http://methylacetate.net/methyl-acetate-overview/>

www3 - https://fvhe.vfu.cz/informace-o-fakulte/sekce-ustavy/uvozp/teorie_spme.pdf

www4 - <http://soubory.vfu.cz/fvhe/metoda-spme/>