



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

MOŽNOSTI VYUŽITÍ HOUBOVÉHO MYCELIA JAKO NOSIČE VYBRANÝCH AROMATICKÝ LÁTEK

POSSIBILITIES OF USING FUNGAL MYCELIUM AS A CARRIER OF SELECTED AROMATIC SUBSTANCES

BAKALÁŘSKÁ PRÁCE

BACHELOR'S THESIS

AUTOR PRÁCE

AUTHOR

Karolína Petržalová

VEDOUCÍ PRÁCE

SUPERVISOR

Ing. Helena Hudečková, Ph.D.

BRNO 2024

Zadání bakalářské práce

Číslo práce: FCH-BAK1962/2023 Akademický rok: 2023/24
Ústav: Ústav chemie potravin a biotechnologií
Studentka: **Karolína Petržalová**
Studijní program: Chemie a technologie potravin
Studijní obor: Biochemická technologie
Vedoucí práce: **Ing. Helena Hudečková, Ph.D.**

Název bakalářské práce:

Možnosti využití houbového mycelia jako nosiče vybraných aromatických látek

Zadání bakalářské práce:

V rámci práce budou řešeny následující dílčí úkoly:

1. Zpracování literární rešerše k dané problematice (popis producenta houbového mycelia – Korálovce ježatého, charakterizace vybraných aromatických látek, jejich využití, možnosti jejich stanovení)
2. Nanesení vybraných látek na pelety vyrobené z houbového mycelia
3. Stanovení doby účinku a vyprcháání metodou plynové chromatografie.
4. Statistické vyhodnocení výsledků, jejich diskuze a závěr práce

Termín odevzdání bakalářské práce: 20.5.2024:

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

Karolína Petržalová
studentka

Ing. Helena Hudečková, Ph.D.
vedoucí práce

prof. RNDr. Ivana Márová, CSc.
vedoucí ústavu

V Brně dne 1.2.2024

prof. Ing. Michal Veselý, CSc.
děkan

ABSTRAKT

Tato bakalářská práce se zabývá možností využití pelet vyrobených z houbového mycelia korálovce ježatého jako nosiče aromatických látek. Jako aromatická látka byl zvolen odpuzovače zvěře používaný při aplikaci na pachové ohradníky. Cílem práce bylo zjistit účinnost houbové pelety jako nosiče pro účinnou látku v odpuzovači zvěře, dobu účinku aromatické látky a vliv prostředí na vyprchání aromatické látky. Jako metoda pro stanovení vyprchání aromatické látky byla zvolena plynová chromatografie s hmotnostní detekcí. Pro zjištění doby účinku byly vzorky houbových pelet odebírány v daných časových intervalech. Z výsledků měření je patrné, že houbové pelety jsou vhodným nosičem pro aromatické látky.

ABSTRACT

This bachelor thesis focuses on the possibility of using fungal pellets made from the mycelium of *Hericium erinaceus* as carriers of aromatic substances. The chosen aromatic substance was wildlife repellent used in the application of scent deterrents. The aim of the work was to determine the effectiveness of fungal pellets as a carrier for the active substance in wildlife repellent, the duration of the effect of the aromatic substance and the impact of the environment on the volatility of the aromatic substance. The chosen method for the determination of volatility was gas chromatography with mass detection. To determine the time of effectiveness, samples of fungal pellets were tested at given time intervals. From the results, it is evident that the fungal pellets are a suitable carrier for aromatic substances.

KLÍČOVÁ SLOVA

Korálovec ježatý, aromatické látky, geraniol, pachový ohradník, houbové mycelium, GC-MS

KEY WORDS

Hericium erinaceus, aromatic substances, geraniol, scent deterrent, fungal mycelium, GC-MS

PETRŽALOVÁ, Karolína. *Možnosti využití houbového mycelia jako nosiče vybraných aromatických látek* [online]. Brno, 2024 [cit. 2024-05-18]. Dostupné z: <https://www.vut.cz/studenti/zav-prace/detail/155359>. Bakalářská práce. Vysoké učení technické v Brně, Fakulta chemická, Ústav chemie potravin a biotechnologií. Vedoucí práce Helena Hudečková.

PROHLÁŠENÍ

Prohlašuji, že jsem bakalářskou práci vypracoval samostatně a že všechny použité literární zdroje jsem správně a úplně citoval. Bakalářská práce je z hlediska obsahu majetkem Fakulty chemické VUT v Brně a může být využita ke komerčním účelům jen se souhlasem vedoucího bakalářské práce a děkana FCH VUT.

.....
podpis studenta

PODĚKOVÁNÍ

Tímto bych chtěla poděkovat mé vedoucí Ing. Heleně Hudečkové, Ph.D. za odborné vedení, cenné rady a připomínky při zpracování mé bakalářské práce. Dále bych chtěla poděkovat paní doc. RNDr. Renatě Mikulíkové, Ph.D. za pomoc při řešení problematiky experimentální části bakalářské práce.

OBSAH

| | |
|---|-----------|
| 1 ÚVOD | 7 |
| 2 TEORETICKÁ ČÁST | 8 |
| 2.1 Korálovec ježatý | 8 |
| 2.1.1 Morfologie | 8 |
| 2.1.2 Kultivace | 9 |
| 2.1.3 Chemické složení | 10 |
| 2.1.4 Toxicita | 11 |
| 2.1.5 Možnosti využití | 11 |
| 2.1.6 Materiály na bázi houbového mycelia | 12 |
| 2.1.7 Výroba | 13 |
| 2.1.8 Prorůstání mycelia substrátem | 13 |
| 2.1.9 Vlastnosti | 14 |
| 2.2 Odpuzovače zvěře | 14 |
| 2.2.1 Pachové ohradníky | 15 |
| 2.3 Aromatické látky | 16 |
| 2.3.1 Přírodní aromatické látky | 17 |
| 2.3.2 Syntetické aromatické látky | 17 |
| 2.3.3 Geraniol | 18 |
| 2.4 Metody analýzy aromatických látek | 19 |
| 2.4.1 Plynová chromatografie (GC) | 19 |
| 2.4.2 Plynová chromatografie s hmotnostní detekcí (GC/MS) | 20 |
| 2.4.3 Olfaktometrie | 21 |
| 3 EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST | 23 |
| 3.1 Cíl práce | 23 |
| 3.2 Seznam použitých chemikálií | 23 |
| 3.3 Seznam použitých přístrojů a pomůcek | 23 |
| 3.3.1 Použitý software | 23 |
| 3.3.2 Použité přístroje a laboratorní pomůcky | 23 |
| 3.4 Použitý materiál | 23 |
| 3.4.1 Příprava pachového nosiče | 24 |
| 3.5 Podmínky a průběh experimentu | 24 |
| 3.5.1 Referenční vzorky | 25 |
| 3.5.2 Vzorky otevřené ve venkovním prostředí | 25 |
| 3.5.3 Vzorky otevřené v laboratoři | 25 |
| 3.6 Příprava vzorků na analýzu | 25 |
| 3.7 Příprava kalibrační křivky geraniolu | 26 |
| 3.8 GC-MS analýza | 26 |
| 3.9 Statistické zpracování výsledků | 26 |
| 4 VÝSLEDKY A DISKUZE | 27 |
| 4.1 Kalibrační křivka | 28 |

| | |
|---------------------------------------|-----------|
| 4.2 Analýza vzorků..... | 29 |
| 5 ZÁVĚR..... | 31 |
| 6 SEZNAM POUŽITÝCH ZDROJŮ..... | 32 |
| 7 SEZNAM ZKRATEK..... | 43 |
| 8 SEZNAM OBRÁZKŮ | 44 |
| 9 SEZNAM GRAFŮ | 45 |
| 10 SEZNAM TABULEK..... | 46 |
| 11 SEZNAM PŘÍLOH | 47 |
| 12 PŘÍLOHY | 48 |

1 ÚVOD

Při pěstování zemědělských plodin je častým problémem ochrana před býložravou zvěří. Zvěř jako jsou srny, divočáci nebo jeleni, požírají tyto plodiny a tím způsobují škody na úrodě. Tradiční způsoby, kterými se snažíme chránit zemědělské plodiny jsou např. oplocení, instalace elektrických ohradníků nebo postřik rostlin repelentem. Tyto metody však mohou být nákladné, neúčinné nebo škodlivé pro životní prostředí. Ekologicky šetrným a účinným způsobem ochrany plodin je použití pachových ohradníků [1].

Pachové ohradníky obsahují účinnou látku, která simuluje pach predátora a tím působí na smysly zvěře. Ohradníky ohraničují vymezenou oblast a zvěř se jí tak snaží vyhnout. Pachový ohradník se skládá z kapalného koncentrátu a jeho nosiče. Běžně se jako nosiče používají syntetické nosiče, které po vyčerpání účinné látky odpuzovače zůstávají v přírodě, kde tak tvoří nově vznikající odpad a při jejich rozkladu dochází k uvolňování mikroplastů. Ekologickou alternativou k běžně dostupným nosičům jsou nosiče vyrobené z houbového mycelia. Tyto nosiče jsou vyrobené z materiálu, který se po zanechání v přírodě rozkládá a nezanechává za sebou mikroplasty ani žádné jiné škodlivé látky [2,3].

Houbové nosiče jsou vyráběny z odpadního organického materiálu, který je spojen prorůstáním houbového mycelia. Pro prorůstání odpadního materiálu se volí dřevokazné houby, právě díky jejich dobré schopnosti prorůstat dřevem. Typickým zástupcem těchto hub je korálovec ježatý. Další výhodou je, že výroba tohoto materiálu je levná a jednoduchá. Díky schopnosti houbového materiálu adsorbovat kapaliny je možné ho využít nejenom jako nosič odpuzovače zvěře, ale i jako nosič aromatických látek např. při výrobě difuzérů [2,4].

2 TEORETICKÁ ČÁST

2.1 Korálovec ježatý

Korálovec ježatý (*Hericium erinaceus*) je stopkovýtrusná houba patřící do čeledi korálovcovitých (*Hericiaceae*), třídy rouškatých (*Agaricomycetes*) a řádu holubinkotvarých (*Russulales*) hub [5]. Přezdívá se mu též „Yamabushitake“, „opičí hlava“ nebo „lvi hřívá“ podle tvaru plodnice [6].



Obrázek 1: Korálovec ježatý, převzato [7]

Pochází ze Severní Ameriky a často se vyskytuje v jižní Asii a Indii [8]. V Evropě se vyskytuje vzácně a v některých evropských zemích je zařazen na seznam chráněných druhů kvůli úbytku jeho přirozeného prostředí [6]. U nás lze najít příbuzné druhy jako je korálovec bukový (*Hericium clathroides*) a korálovec jedlový (*Hericium flagellum*) [9]. Na severní polokouli korálovec ježatý přežívá ve všech podnebních kromě tropických a polárních oblastí [10].

Korálovec ježatý je považován za parazitickou nebo saprofytickou houbu vyrůstající z mrtvého dřeva nebo z prasklin živých stromů. Nejčastěji se vyskytuje na bucích, dubech jilmech nebo ořešácích [6,8]. Ve volné přírodě roste od začátku léta až do pozdního podzimu, přičemž optimální teplota pro jeho růst je mezi 18 °C a 24 °C [10].

2.1.1 Morfologie

Tvarem korálovec ježatý připomíná mořský korál. Jeho plodnice má v průměru 5 až 30 cm. Není rozlišena na klobouk a třeň, jak tomu bývá u vyšších hub. Tvar plodnice je korálovitě

rozvětvený, často kulovitý, občas je plodnice členěna do několika okrouhlých laloků. V období zralosti je plodnice bílá a postupně žlutne až hnědne. Dužnina je měkká, bělavá a vyplněná nebo obsahuje minimum dutinek [11,12]. Na povrchu plodnice se nachází ostny, které jsou dlouhé 3 až 6 cm. Ostny nesou hymenium s bazidiiemi a bazidiosporami a na jejich povrchu se nachází rouško. Různé druhy korálovce se od sebe odlišují morfologií těchto ostnů, které mohou být rozvětvené nebo nerozvětvené a vyskytovat se samostatně nebo ve shlucích. Nicméně větvení ostnů je často také ovlivněno stářím houby [6,9].

2.1.2 Kultivace

S kultivací korálovce ježatého se začalo v 70. letech minulého století. Je poměrně jednoduchá a lze ji provádět celoročně. Dnes se pěstuje nejvíce v Číně, Japonsku a Koreji [11,12].

Kultivace se provádí nejčastěji v sáčcích nebo v plastových kontejnerech, které jsou opatřeny malými otvory. Plodnice pak vyrůstají těmito otvory a lze je snadno sklízet, aniž by došlo k jejich znečištění substrátem [11]. Také je možné pro kultivaci využít dlouhé dřevěné špalky, do nichž jsou navrtány otvory, do kterých je následně houba zaočkována [9].

Při kultivaci v obalu se jako substráty využívají lignocelulózní odpady např. piliny, odpad po zpracování bavlníku, drcená kukuřičná větvena, sekaná rýžová sláma nebo substrát z pšeničné slámy. Tyto substráty se vždy míchají s malým přídatkem rýžových nebo pšeničných otrub, které slouží jako zdroj snadno zpracovatelného uhlíku. Dále se přidává sacharóza a sádra nebo vápenec, jakožto stabilizátory pH. Nejlepším substrátem jsou bukové nebo smrkové piliny zbavené pryskyřice s 20–30 % přídatkem pšeničných otrub nebo s 20 % přídatkem kukuřičné mouky. Prorůstání substrátem je také urychleno, pokud už je substrát myceliem prorosten [9,11,13].

Při pěstování korálovce na dřevěných špalcích je kultivace podobná kultivaci houby shiitake. Nejvhodnější dřevo pro kultivaci je dřevo z ořešáku. Nevhodné je dřevo stromů s tenkou borkou jako je bříza nebo olše. Do dřevěných špalků jsou navrtány otvory a houba, která již vyrostla na pilinách nebo na jiných dřevěných špalcích je do nich zaočkována. Špalky jsou po zaočkování umístěny třetinou své délky do vlhké půdy. Jakmile dojde dostatečnému prorostení dřeva podhoubím, je možné nasadit plodnice, pro které jsou vytvořeny ideální podmínky. Aby bylo možné nasadit plodnice je potřeba špalky pravidelně kropit, aby došlo k vytvoření podmínek jako ve volné přírodě [9].

Po zaočkování substrátu prorůstá mycelium substrátem při teplotě 25-28 °C po dobu 20-70 dní. Láhve nebo sáčky s prorostlým substrátem se poté přemísťují do prostor s nižší teplotou (15-24 °C). Následně jsou lahve položeny do vodorovné polohy a sáčky propíchnuty, aby i malým otvorem mohlo dojít k vyrůstání plodnice. Plodnice vyrůstající otvory se pak dají snadno sklízet. Ideální je sklízet bílé plodnice [9].

Při kultivaci je potřeba udržovat vlhkost mezi 85-90 %. Nároky na osvětlení jsou nízké, stačí mírné osvětlení, příliš intenzivní osvětlení brání správnému vývoji plodnic [9].



Obrázek 2: Kultivace korálovce ježatého v plastových lahvích, převzato [14]

2.1.3 Chemické složení

Plodnice a mycelium korálovce ježatého obsahují velké množství bioaktivních látek. Jsou to především polysacharidy a sekundární metabolity. Samotný korálovec ježatý dokáže syntetizovat až 70 různých druhů sekundárních metabolitů [7]. Obsah těchto látek v těle korálovce je ovlivněn jeho stářím. Se stářím vzrůstá obsah polysacharidů v plodnicích, zatímco obsah bílkovin klesá. To je způsobeno tím, že dochází ke štěpení proteinů na aminokyseliny, které jsou následně metabolicky přeměněny na polysacharidy [15].

2.1.3.1 Sacharidy

Hlavní stavební složkou korálovce jsou polysacharidy. Ty jsou nejvíce zastoupeny v buněčných stěnách plodnice (asi 20 %) a v menším množství v myceliu [6,16]. Nejvíce jsou zastoupeny ve vodě rozpustné glukany, tvořené molekulami glukózy. Vyskytují se v α nebo β formě nebo ve formě glukán-proteinových komplexů. Polysacharidy korálovce mohou také obsahovat jiné molekuly monosacharidů jako jsou arabinóza, xylóza nebo galaktóza a tvořit tak heteroglykany. Bylo prokázáno, že některé z polysacharidů korálovce ježatého mají schopnost modifikovat biologické reakce. S tím souvisí možnost jejich aplikace ve farmacii nebo jako funkční potraviny [6,12,17]. Z jednoduchých cukrů se nejvíce vyskytuje glukóza a pro houby typická trehalóza [18].

2.1.3.2 Glykoproteiny

Glykoproteiny v korálovci se vyskytují v poměru 10:1 protein : polysacharid. Polysacharidy v glykoproteinech jsou tvořeny glukózou, ramnózou, galaktózou nebo manózou. Proteiny jsou s polysacharidy spojeny 1 \rightarrow 4 vazbami. Terciální struktura má tvar β skládaného listu. U glykoproteinů izolovaných z mycelia byla potvrzena schopnost inhibovat růst rakovinových buněk [7].

2.1.3.3 Sekundární metabolity

Z mycelia a plodnic korálovce ježatého je možné izolovat řadu nízkomolekulárních sekundárních metabolitů. Nejčastěji se jedná o terpenoidy, aromatické sloučeniny, steroidy, alkaloidy a laktony. Pro tyto metabolity platí, že jsou špatně rozpustné ve vodě a lze je extrahovat pouze za použití organických rozpouštědel (např. methanol, ethylacetát, aj.) [7,19].

Nejvíce zastoupenými terpenoidy jsou hericenony a erinaciny. Hericenony jsou aromatické sloučeniny, které lze izolovat pouze z bazidiomů nacházejících se na ostnech korálovce ježatého. Erinaciny jsou diterpenoidy cyathanového typu s vysokou biologickou aktivitou. Nacházejí se převážně v myceliu a v menším množství v plodnicích [6,20,21]. U hericenonů a erinacinů byl potvrzen pozitivní vliv při léčbě úzkostí a depresí [22].

2.1.4 Toxicita

Bylo provedeno několik testů (na potkanech) pro stanovení toxicity metabolitů korálovce ježatého a jeho vodných extraktů. Z provedených testů nebyly zjištěny žádné toxikologické účinky [6].

2.1.5 Možnosti využití

2.1.5.1 Využití ve zdravotnictví

Korálovec ježatý se tradičně využívá v čínské medicíně. Dnes se používá při léčbě řady onemocnění nebo k jejich prevenci. U některých polysacharidů a sekundárních metabolitů obsažených v korálovci, jako jsou např. erinacin I a H, byla prokázána protinádorová aktivita. Tyto látky zvyšují aktivitu protirakovinových buněk a tím se zabraňuje růstu nádoru. Pozitivní výsledky byly hlášeny při léčbě rakoviny jícnu, střev, slinivky nebo žaludku, kdy se u pacientů objevovalo méně nežádoucích účinků po chemoterapii a radioterapii a docházelo k zmenšování nádoru. Tyto látky také vykazují antioxidační aktivitu. Pomáhají zachytávat volné radikály, které mohou způsobovat řadu onemocnění včetně rakoviny. Obecně bioaktivní látky z korálovce ježatého zlepšují obranyschopnost těla a stimulují nespecifické rezistence vůči infekcím [6,12,23].

Látky obsažené v korálovci ježatém mají také pozitivní účinky při léčbě kardiovaskulárních onemocnění a vykazují antihyperglykemické účinky. Studie prováděné s extrakty korálovce na potkanech prokázaly významně nižší úroveň glukózy v krvi a docházelo ke zvýšení hladiny inzulínu. Tyto studie naznačují velký potenciál využití při léčbě cukrovky, nicméně je potřeba provést další klinické studie [24,25].

Některé obsažené bioaktivní látky mají neuroprotektivní vlastnosti. Toho je možné využít při léčbě Alzheimerovy a Parkinsonovy choroby. S Alzheimerovou chorobou je spojován nedostatkem funkčního nervového růstového faktoru, což je protein, který zabraňuje odumírání neuronů, podporuje jejich růst a je nezbytný pro jejich správnou funkci a organizaci. Z provedených studií vyplývá, že etanolové extrakty korálovce ježatého mohou stimulovat syntézu nervového růstového faktoru a tím zmírňovat příznaky Alzheimerovy a Parkinsonovy choroby [6,26,27].

Dlouhodobě nachází využití k léčbě nemocí trávicího traktu jako jsou bolesti žaludku, nechutenství, žaludeční vředy, gastritida, zánět jícnu. Studie ukazují, že pravděpodobně potlačuje bakterii *Helicobacter pylori*, která je původcem mnoha žaludečních potíží. Také zmírňuje příznaky a předchází Crohnově chorobě, která se projevuje zánětem střev [6,12].

2.1.5.2 Využití v potravinářství

Korálovec ježatý má využití především v japonské a čínské kuchyni. Výrazná chuť je ovlivněna stupněm zralosti plodnic, jejich vlhkostí a způsobem přípravy. Mladé plodnice jsou dostatečně měkké a využívají se k přípravě steaků. Svou mírně nahořklou chutí připomínají lilek nebo humra. Starší plodnice bývají tužší. Také je možné využít korálovce ježatého při přípravě chleba, fermentovaného houbového vína, octu a nealkoholických nápojů. V evropských kuchyních se korálovec ježatý používá spíše výjimečně [7,9,12].

2.1.5.3 Výroba enzymů

Korálovec ježatý je považován za vhodný zdroj karboxymethylcelulázy, enzymu rozkládajícího lignocelulózu. Toho by bylo možné využít při zpracování odpadních materiálů na bázi lignocelulózy [28].

2.1.6 Materiály na bázi houbového mycelia

Materiály na bázi mycelia jsou biologicky odbouratelné materiály, které jsou alternativou k tradičním materiálům z neobnovitelných zdrojů. Tyto materiály vznikají prorůstáním houbového mycelia organickým substrátem, zejména průmyslovými odpadními materiály jako jsou piliny, sláma, vlákna, dřevěné štěpky nebo odpad z pěstování zemědělských plodin. Mohou být využity v různých odvětvích, včetně stavebnictví, při výrobě jednorázových obalů nebo nábytku [4]. Díky své biologické odbouratelnosti jsou ideálním prvkem cirkulární ekonomiky, jelikož vstupní surovinou pro výrobu jsou odpadní materiály a po jejich použití je možné je kompostovat, využít jako krmný nebo topný materiál nebo je začlenit do výroby nového produktu z houbového mycelia [29].



Obrázek 3: Deska z materiálu na bázi houbového mycelia, převzato [2]

2.1.7 Výroba

Při výrobě houbových materiálů jsou vlastnosti finálního produktu ovlivněny mnoha faktory. Jedním z nich je výběr vhodného druhu houby, který umožní účinné prorůstání substrátem. Jako nejvhodnější se jeví saprofytické nebo parazitické stopkovýtrusné houby. Jejich výhodou je schopnost dobře růst na velkém množství lignocelulózové biomasy včetně substrátů s nízkou kvalitou. Také mají schopnost vytvářet nekonečné sítě hyf, které jsou limitovány pouze dostupností substrátu [4,30].

Před zaočkováním houby na substrát je nutné substrát vysterylizován, aby nedocházelo ke znehodnocení materiálu nežádoucími mikroby, plísněmi a jinými druhy hub [31]. Sterilizace se provádí chemicky peroxidem vodíku nebo antimikrobiálními činidly nebo tepelně pomocí autoklávu [32].

Po sterilizaci substrátu se provádí zaočkování houbového mycelia na malé množství substrátu, aby se stimuloval vznik pevnějších hyf a usnadnil se jejich růst [33]. Následně se provádí samotná inkubace. Zaočkováný substrát se ručně přidá do formy, která má požadovaný tvar a obsahuje sterilizovaný substrát. Forma je uzavřena do nádoby s krytem, která propouští vzduch, aby se uvnitř udrželo mikroklima. Prorůstání mycelia substrátem je prováděno ve dvou fázích. V první fázi se provádí prorůstání v samotné formě, aby došlo k propojení substrátu s houbovým myceliem. Ve druhé fázi se provádí prorůstání mimo formu, aby došlo ke zpevnění vnější části výrobku [34].

Optimální podmínky pro růst se liší podle použitého druhu houby a substrátu, nicméně obecně se teplota pohybuje mezi 21 °C až 30 °C. Při inkubaci je nutné udržovat vysokou vlhkost substrátu okolo 66 % [35]. Materiál je možné pěstovat při nízké koncentraci CO₂ v nepřítomnosti světla nebo při vysoké koncentraci CO₂ v přítomnosti světla, nicméně při nízké koncentraci CO₂ může docházet k tvorbě plodnic, což je při výrobě nežádoucí. Samotná doba inkubace se může velmi lišit. V závislosti od velikosti výsledného produktu se může pohybovat od 5 až po 42 dní [34,36,37].

Po dostatečném propojení substrátu je materiál vystaven teplu, aby došlo k odstranění vlhkosti a usmrcení houby, a tím se zabránilo dalšímu prorůstání, což by mohlo znehodnotit nově vzniklý produkt. Možných způsobů použitelných k vysušení materiálu je mnoho. Nejčastěji se využívá mikrovlnný ohřev, ohřev v troubě, ohřev pomocí solárních sušiček nebo sušení vzduchem [34].

Konečný produkt je možné upravovat různými nátěry kvůli vylepšení estetických a mechanických vlastností. Aby se zachovala biodegradabilita materiálu používají se přírodní nátěry jako je pryskyřice, lněný olej, šelak, kokosový olej nebo včelí vosk [4].

2.1.8 Prorůstání mycelia substrátem

Při prorůstání houby substrátem vytváří mycelium propletenou trojrozměrnou síť hyf, které vyztužují substrát a spojují ho dohromady. Prorůstání je možné díky vysokému obsahu celulózy, hemicelulózy a ligninu v substrátu [4]. Houba na substrát působí enzymaticky, převážně laktázami a peroxidázami, a tím dochází k degradaci lignocelulózy, ze které čerpá živiny. Lignin mění svou strukturu a tvoří se ligninové radikály, které jsou po zoxidování zesíťovány a slouží jako pojivo substrátu [38].

2.1.9 Vlastnosti

Materiály z houbového mycelia se svými vlastnostmi podobají polystyrenu a polyuretanu. Na rozdíl od nich jsou jejich výrobní náklady nižší, samotný proces výroby je jednoduchý, technologicky nenáročný a šetrný k životnímu prostředí. Houbové materiály jsou pevné a mají nízkou hustotu, která se pohybuje mezi 110 kg/m^3 a 330 kg/m^3 . Jejich porézní struktura jim umožňuje udržovat v pórech vzduch, což se projevuje nízkou tepelnou vodivostí a dobrými izolačními vlastnostmi. Schopnost absorbovat vodu se liší podle použitého substrátu, ale obecně je vyšší než u běžných materiálů. Také se u nich projevuje schopnost dobře pohlcovat zvukové vlny a díky tomu mohou sloužit jako zvukové izolanty [4,32].

2.2 Odpuzovače zvěře

Odpuzovače zvěře se využívají hlavně k prevenci střetu auta s divokou zvěří a ke snížení škod na zemědělských plodinách a lesních porostech. Nejčastěji používané metody jsou mechanické, optické, akustické, biotechnické, chemické, případně jejich kombinace [1,39].

Mezi mechanické metody ochrany patří oplocení, mechanické zábrany, nadchody, podchody a elektrické ohradníky. Tyto metody se ukázaly jako neúčinnější, ale nelze je vždy aplikovat. Přestože elektrické ohradníky jsou účinné, mohou také představovat riziko poranění zvěře [1].

Mezi optické a akustické metody patří použití světla, zrcadel (optická, zvuková, dotyková) případně praporky z alobalu, sklíčka nebo zavěšené plechovky, které mohou při vhodných povětrnostních podmínkách vydávat zvukové efekty. Vhodné je kombinovat zrcadla se zvukovými nebo světelnými efekty nebo s repelenty. Nevýhodou těchto metod je, že si na ně zvěř brzo zvykne a tím přestávají být účinné [1,40].

Chemické metody zahrnují použití různých druhů zavěšovaných nebo nátěrových a odpařovacích repelentů, které mají za úkol zabránit zvěři v konzumaci rostliny nebo přímo zabraňují pronikání zvěře do vybrané oblasti. Jako chemické odpuzovače se využívají přírodní i syntetické látky, které odpuzují zvěř nepříjemnou chutí nebo zápachem. Používají se samostatně nebo ve směsi s jinými plnidly v emulzních nebo suspenzních formách. Nejčastěji se aplikují nátěrem, postřikem nebo specifickým způsobem daným pro konkrétní odpuzovač. Při výběru chemických odpuzovačů je potřeba dodržovat určité požadavky. Pokud se jedná o repelent určený pro nástřik nebo nátěr na rostliny, musí být neškodný jednak pro rostlinu, tak i pro zvěř. Je také důležité, aby byl repelent dostatečně účinný, dostatečně odpuzoval zvěř a dlouhodobě na ni působil. S tím souvisí nutnost vhodných fyzikálních a chemických vlastností odpuzovače jako je viskozita, přilnavost nebo odolnost proti dešti a mrazu. Repelent by měl být snadno aplikovatelný a ekonomicky efektivní. Hlavním kritériem při výběru repelentu je účinnost a dostatečná odpudivost, jelikož zvěř si může snadno zvyknout na působení repelentních látek. Obecně jsou, ale chemické odpuzovače po mechanických metodách nejvíce účinné, a oproti nim jsou i finančně dostupné. Mezi tyto metody se řadí i pachové ohradníky [1,41,42].

2.2.1 Pachové ohradníky

Pachové ohradníky jsou chemické prostředky obsahující pachový repelent, který imituje zápach predátora po určitou dobu a odrazuje zvěř od vstupu do prostoru ohradníku. Na zvěř působí

senzoricky a zvyšuje její pozornost, čímž se docílí efektu, že zvěř považuje pachový ohradník za překážku. Pachový ohradník sice nevytváří zcela neprostupnou bariéru, ale zvířata se mu snaží vyhnout nebo ho překonávají s větší opatrností a rychlostí [3].

Pachové ohradníky spolehlivě fungují proti srnčí a jelení zvěři a omezeně i proti drobné zvěři jako jsou zajíci a bažanti. U prasete divokého účinnost klesá s vysokou atraktivitou polních plodin [43]. Celkově je účinnost ohradníků při ochraně zemědělských plodin snížena, jelikož zvěř je stimulována potenciální potravou. Proto je vhodné kombinovat pachové ohradníky s optickými a akustickými metodami. Při aplikaci ohradníků proti srážce zvěře s vozidlem je jejich účinnost poměrně vysoká [44].

Pachové ohradníky se aplikují bodově na tyče, nejčastěji ze dřeva, železa nebo plastu, nebo na konkrétní vegetaci. Více pachových ohradníků tvoří tzv. pachový plot [3,43].

2.2.1.1 Stavba pachového ohradníku

Pachový ohradník se skládá z nosného materiálu a pachového koncentrátu. Pachový koncentrát obsahuje senzoricky účinnou látku, která simuluje pach člověka nebo predátora (vlk, rys, medvěd, aj.). Pachy predátorů jsou obsaženy v kůži, srsti, výkalech a žlázách [45]. Pachový koncentrát proto obsahuje chemické látky, které se zde nachází nebo látky, které vyvolávají na zvěř stejný senzorický vjem. Genetický kód zvířat obsahuje informace o pachu predátora, což znamená, že tento mechanismus funguje i u zvířat, která se s šelmami po generace nesetkala [43].

Jako nosný materiál se používá pěnový nosič, nejčastěji polyuretanová pěna ve formě sprejů, která se podobá montážní stavební pěně. V tomto případě je repelent součástí pěny [40,47]. Životnost pěny je několik let, nicméně pachový koncentrát má životnost pouze několik měsíců, proto je potřeba aplikaci pěny opakovat. Pěna je z počátku světle žlutá, postupem času tmavne a rozpadá se. Dokud nedojde k rozpadání, pěna by neměla nijak ovlivňovat životní prostředí [3]. Nicméně při jejím rozpadání dochází k uvolňování mikroplastů do přírody, které kontaminují vodu a půdu [48,49].

Další metodou je nanášení kapalných koncentrátů na kus látky nebo houbičku, která je následně upevněna na tyč, nebo uzavřena do mikrotenového sáčku s otvory [50]. Jako účinný nosič pachového koncentrátu byly také vyvinuty aluminiové roletky s filcovými terčíky, které se nasatí pachovým repelentem a na smysly zvířete působí pachově i opticky. U těchto nosičů nastává problém, že materiály, ze kterých jsou vyrobeny nejsou v přírodě rozložitelné, proto pokud po použití nedojde k jejich odstranění zůstávají volně v přírodě [44].

Aby se zabránilo poškozování životního prostředí jsou vyvíjeny nové ekologické nosiče, které zanechávají minimální či žádnou ekologickou stopu. Jako ekologické nosiče pachového koncentrátu je možné využít nosiče vyrobené z materiálu z houbového mycelia. Do těchto nosičů je napuštěn kapalný pachový koncentrát a nosiče jsou následně umístěny pomocí kovových háčků do určené oblasti. Na rozdíl od běžných nosičů jsou kompletně rozložitelné a nezanechávají v přírodě mikroplasty ani žádnou jinou stopu [2].

2.2.1.2 Komerčně dostupné pachové ohradníky

V současnosti se na trhu vyskytuje mnoho typů pachových odpuzovačů. Liší se účinnou látkou a tím na jaký typ zvěře cílí. Nejčastěji pachové odpuzovače cílí na černou zvěř a vysokou zvěř zahrnující divoká prasata, srny, jeleny, daňky a muflony. Tyto odpuzovače, ale často také působí na drobnou zvěř jako jsou zajáci a lasicovitá zvěř. Mimo to se na trhu vyskytují i pachové odpuzovače proti myším a hlodavcům, ptákům a krtkům. Na českém trhu se nejvíce vyskytují pachové ohradníky proti černé a vysoké zvěři od firem Hagopur, Ekoplant, AgroBio Opava a Antifer.

Pachový ohradník Duftzaun od firmy Hagopur je nabízen ve formě polyuretanové pěny. Účinné látky v tomto odpuzovači jsou geraniol a kyselina isovalerová. Tyto látky by měly imitovat pachové složky vlka, ryse, medvěda a člověka. Firma garantuje účinnost ohradníku po dobu 4 až 6 týdnů [51,52].

Česká firma Ekoplant nabízí pachový odpuzovač Pacho-lek ve formě kapalného koncentrátu jehož účinnými látkami jsou kyselina isovalerová, kyselina olejová, aceton a levandulový olej. Tento pachový koncentrát je třeba aplikovat na nosič s otevřenými póry. Účinnost tohoto pachového ohradníku by měla být maximálně 3 měsíce [53].

Odpuzovač ATAK od firmy AgroBio Opava obsahuje jako účinnou látku geraniol a kyselinu isovalerovou jako látku pomocnou. Opět se jedná o kapalný koncentrát, který je potřeba nanést na příslušný nosič. Účinnost tohoto odpuzovače je až 3 týdny [54].

Pachový odpuzovač od firmy Antifer obsahuje pouze kyselinu isovalerovou. Účinnost tohoto přípravku je mezi 2 až 3 týdny [55].

2.3 Aromatické látky

Aromatické látky jsou chemické sloučeniny s charakteristickou vůní. Vůně může být příjemná nebo naopak může být nepříjemná a zapáchající. Aromatické látky se nacházejí v potravinách, koření, parfémeh, vonných a éterických olejích. Využívají se v chemickém a farmaceutickém průmyslu, v potravinářském průmyslu, při výrobě kosmetiky, parfémů a čistících prostředků nebo i v zemědělství při výrobě pesticidů [56,57,58].

Aroma aromatických látek je vyvoláno jednou nebo více těkavými sloučeninami, které jsou přítomny v koncentracích nad prahem detekce [59]. Intenzitu aroma ovlivňuje chemická struktura a koncentrace. Těkavost aromatických látek závisí na chemických a fyzikálních vlastnostech, především na molekulové hmotnosti. Čím vyšší je molekulová hmotnost, tím pomaleji látka uniká. Těkavost také ovlivňuje přítomnost a počet funkčních skupin, které působí především na sílu interakce s maticí, dále polarita, která řídí schopnost látky uvolňovat se z matrice a difundovat do prostředí nebo přítomnost dvojných vazeb [57].

Existuje mnoho faktorů, podle kterých lze rozdělit aromatické látky. Mohou se rozdělovat podle fyzikálních, chemických nebo sensorických vlastností. Podle chemických vlastností je lze rozdělit do různých skupin. Vonné aromatické látky často obsahují izoprenovou jednotku a řadí se tak mezi terpeny. Mohou se tedy rozdělovat na monoterpeny, seskviterpeny, alkoholy, monoterpenové alkoholy, terpenaldehydy, ketony, terpenketony, laktony, estery, terpenové estery a oxidy. Aromatické látky je možné rozdělit také podle jejich původu na přírodní a syntetické [56].

2.3.1 Přírodní aromatické látky

Přírodní aromatické látky se získávají z rostlin nebo zvířat. Jedná se o extrakty nebo esenciální oleje. Při extrakci aromatických látek z rostlin se látky získávají z květů (růže, jasmín) plodů (citrón, pomeranč), kořenů (zázvor), listů (máta, rozmarýn), kůry (skořice, cedr), pryskyřice (myrha), semen (kmín, anýz) nebo z celé rostliny (levandule). V případě aromatických látek ze zvířat se získávají ze žláz nebo orgánů [56,60].

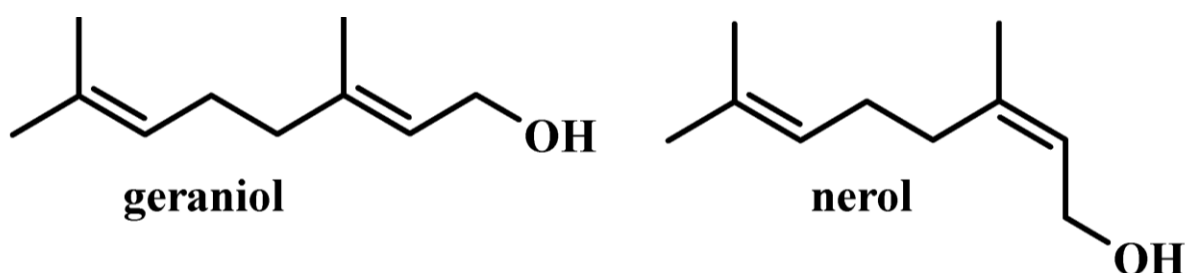
Přírodní aromatické látky jsou nejčastěji vyráběny extrakcí, která zahrnuje metody jako je extrakce rozpouštědlem, destilace, macerace, perkolace, extrakce za studena nebo extrakce za zvýšeného nebo sníženého tlaku. Obecně při extrakci bývá výtěžek nízký a je limitována nízkou koncentrací produktu. Přírodní aromatické látky také lze získávat pomocí biotechnologií. Biotechnologická produkce zahrnuje dva možné přístupy výroby: fermentaci a biotransformaci. Při fermentaci organismy zpracovávají jednoduché výchozí látky, které jsou metabolicky zpracovány na produkty s odlišnou strukturou. Pro tyto účely se často používají geneticky upravené mikroorganismy. Využívají se k výrobě velkých objemů konvenčních nebo nových aromatických sloučenin [61,62]. Při biotransformacích dochází k stereoselektivním a regioselektivním modifikacím výchozích látek na produkty. Jsou založené na jedno nebo více stupňových reakcích, které jsou katalyzované organismy nebo enzymy. Při výrobě aromatických látek závisí výběr metody na vlastnostech výchozí látky, a na kvalitě výsledného produktu. Při výběru vhodné metody mohou pomoci analytické metody k identifikaci vlastností výchozí látky [63].

2.3.2 Syntetické aromatické látky

Syntetické aromatické látky jsou vyráběny, aby imitovaly vůně přírodních aromatických látek. Jejich hlavní výhodou je snížení nákladů při výrobě. Lze je vyrábět i při nedostatku či špatné kvalitě výchozích surovin pro výrobu přírodní aromatické látky. Další výhodou je i možnost syntetizovat nové látky a tím vyvíjet nové vůně, které se v přírodě nevyskytují. Nevýhodou je, že při reprodukování přírodních aromatických látek, může původní látka obsahovat několik stovek i tisíce vonných komponentů, tím pádem je její reprodukce velmi obtížná. Další nevýhodou je skutečnost, že pouhé smíchání jednotlivých syntetických složek může vést k vytvoření nového aroma, a ne k reprodukování původní vůně. Také může docházet ke vzniku izomerních forem, které mají odlišný vonný efekt nebo zapáchají, např. D-linalool má květinovou vůni s dřevnatým tónem, zatímco L-linalool má sladkou květinovou vůni [56].

2.3.3 Geraniol

Mezi přírodní aromatické látky se řadí geraniol. Geraniol je acyklický isoprenoidní monoterpen, který je syntetizován aromatickými rostlinami. Jeho systematický název je (3,7-dimethylokta-trans-2,6-dien-1-ol) [64,65]. Čistý geraniol je čirá nebo světle žlutá olejovitá látka, která se rozpouští ve většině organických rozpouštědlech a je nerozpustná ve vodě. Nachází se ve více než 250 esenciálních olejích, včetně růžového, palmarosového nebo citronelového oleje. Často koexistuje se svým stereoizomerem nerolem a svými oxidačními produkty geranalem a neralem [66]. Jeho vůně je popisována jako sladká, květinová, růžová s nádechem citrusových plodů [67].



Obrázek 4: Chemická struktura geraniolu a jeho stereoizomeru nerolu, převzato [68]

Komerčně se geraniol využívá jako vonná složka parfémů, v kosmetice a ve farmacii [68]. Kromě toho geraniol vykazuje různé biochemické a farmakologické vlastnosti [69]. Díky jeho vlastnostem se také využívá jako antimikrobiální činidlo, rostlinný repelent proti hmyzu nebo protizánětlivé činidlo. Také se využívá při syntéze vitamínu A a E [68].

2.3.3.1 Biosyntéza

Geraniol vzniká transformací z geranyldifosfát pomocí enzymu geranyldifosfátsyntázy. Geranyldifosfát vzniká kondenzací isopentenylidifosfátu s dimethallyldifosfátem, které jsou prekurzory pro velké množství isoprenoidů. Isopentenylidifosfát je syntetizován z mevalonátu tzv. melovátovou cestou nebo prostřednictvím methylyerytritol fosfátové dráhy [70].

2.3.3.2 Insekticidní, repelentní a antimikrobiální účinky

Esenciální oleje a jejich hlavní složky vykazují insekticidní a repelentní vlastnosti proti škůdcům [64]. Projevují se u nich také antimikrobiální účinky proti širokému spektru bakterií a plísní, které jsou způsobeny jejich rozpustností ve fosfolipidové dvojvrstvě buněčných membrán. To je způsobeno nepolárním charakterem látek, který umožňuje narušení lipidové struktury a tím je membrána propustnější pro další sloučeniny (např. antibiotika). Geraniol a nerol neobsahují ve své struktuře fenol, což způsobuje, že vykazují menší antimikrobiální účinnost než právě alkoholy fenolové [71,72].

Geraniol je toxický vůči švábům, červům a tzv. skladištním škůdcům, mezi které patří např. moli nebo roztoči. Oproti syntetickým insekticidům se jedná o účinnou, ekologickou a ekonomickou variantu. Repelentní účinky má vůči komárům, kdy je přidáván do přírodních repelentů a svíček. Účinnost geraniolu je pravděpodobně způsobena jeho těkavostí a schopností pronikat do různých matric [64,70]. Geraniol také bývá součástí repelentních přípravků, které

jsou označovány jako repelenty typu 19. Jsou to přípravky používané pro regulaci škodlivých organismů, které od sebe odpuzují nebo je vábí. Do této skupiny patří i pachové koncentráty, které jsou součástí pachových ohradníků [73].

Mnoho složek esenciálních olejů vykazuje antimikrobiální aktivitu proti řadě bakterií a hub. Antimikrobiální aktivita geraniolu je široce zkoumána pro jeho komerční použití. Dosud bylo zjištěno, že geraniol vykazuje antimikrobiální aktivitu až proti 78 druhům mikroorganismů včetně *E.Coli*, sedmi druhům rodu *Candida* nebo plísním rodu *Aspergillus*. Nicméně vysoká těkavost geraniolu může být v některých případech překážkou při komerčním využití, jelikož brání trvalému vystavení patogenu. Také hydrofobní vlastnosti geraniolu mohou negativně ovlivňovat jeho případné použití v potravinářství [70].

2.4 Metody analýzy aromatických látek

Jednou z nejvíce využívaných metod při analýze aromatických látek je plynová chromatografie (GC). Plynovou chromatografií lze spojit s jinými analytickými metodami např. s hmotnostním spektrometrem (GC/MS) nebo s plamenově ionizační detekcí (GC/FID). K analýze aromatických látek je používána i senzorická metoda tzv. olfaktometrie, která může být propojena s plynovou chromatografií (GC/O) [74,75].

2.4.1 Plynová chromatografie (GC)

Plynová chromatografie je analytická metoda, při které dochází k rozdělení látek mezi 2 nemísitelné fáze – mobilní a stacionární. Obecně se jedná o jednoduchou, rychlou, spolehlivou metodu, která je vhodná pro analýzu těkavých látek stabilních do 350 °C až 400 °C. Metoda je často využívána díky možnosti analyzovat látky i při velmi nízkých koncentracích [76].

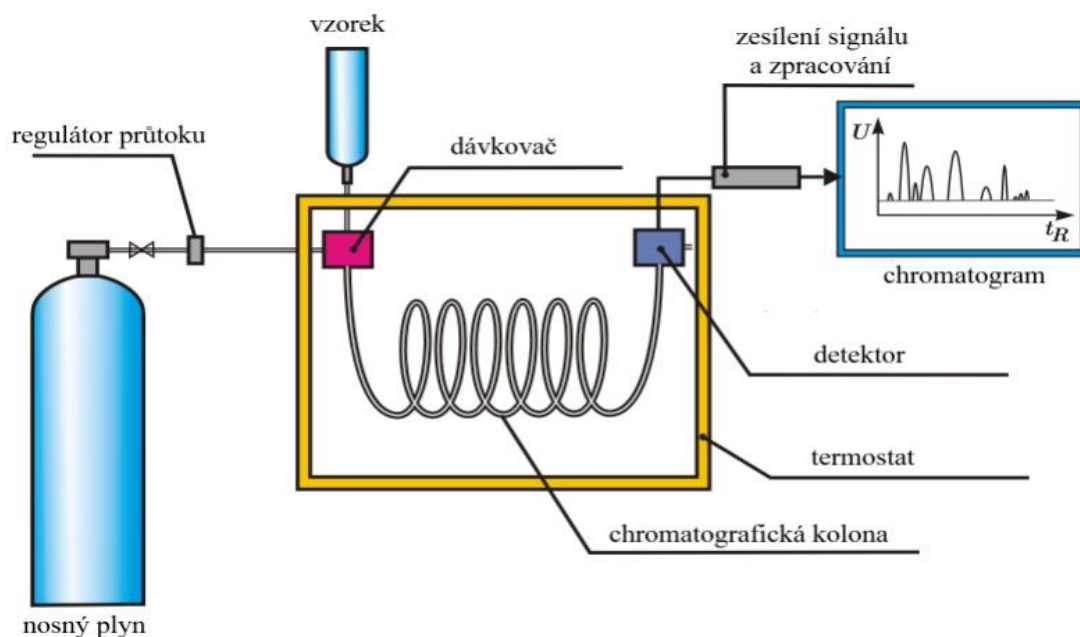
2.4.1.1 Instrumentace plynové chromatografie

Jako mobilní fáze se používá nosný plyn, nejčastěji helium, dusík, vodík nebo argon. Důležitým požadavkem na mobilní fázi je extrémně vysoká čistota plynu, proto se používají plyny o vysoké čistotě, případně je možné připojit za tlakovou láhev s nosným plynem čistící zařízení tzv. trapy. K udržení konstantního průtoku nosného plynu se využívá regulační systém [76].

Pro přenesení vzorku do proudu nosného plynu se využívá injektor. Dávkování vzorku může být provedeno ručně, ale častěji se využívá automatického dávkování tzv. autosampleru. Analyzovaný vzorek je vstříknut do injektoru, kde se odpaří a pomocí nosného plynu je unášen do chromatografické kolony, kde se nachází stacionární fáze. Zařízení, které udržuje vzorek v plynném skupenství se nazývá termostat. Při separaci látek s rozdílnými body varu umožňuje měnit teplotu separace v rozmezí 50 °C až 400 °C [76].

Mezi nejdůležitější část plynového chromatografu patří chromatografická kolona, jelikož uvnitř dochází k separaci složek obsažených ve vzorku na základě jejich fyzikálních a chemických vlastností. Chromatografické kolony můžeme rozdělit na dva druhy – náplňové a kapilární. Po opuštění kolony protéká nosný plyn detektorem, který vysílá signál a zaznamenává ho v závislosti na čase. Detektor převádí fyzikální a chemické vlastnosti do měřitelné podoby. Čas od nástřiku po vrchol zaznamenaného píku se nazývá retenční čas,

což je analytická vlastnost specifická pro jednotlivé látky a koncentrace. Výsledkem plynové chromatografie je chromatogram [76].



Obrázek 5: Schéma plynového chromatografu, převzato [77]

2.4.2 Plynová chromatografie s hmotnostní detekcí (GC/MS)

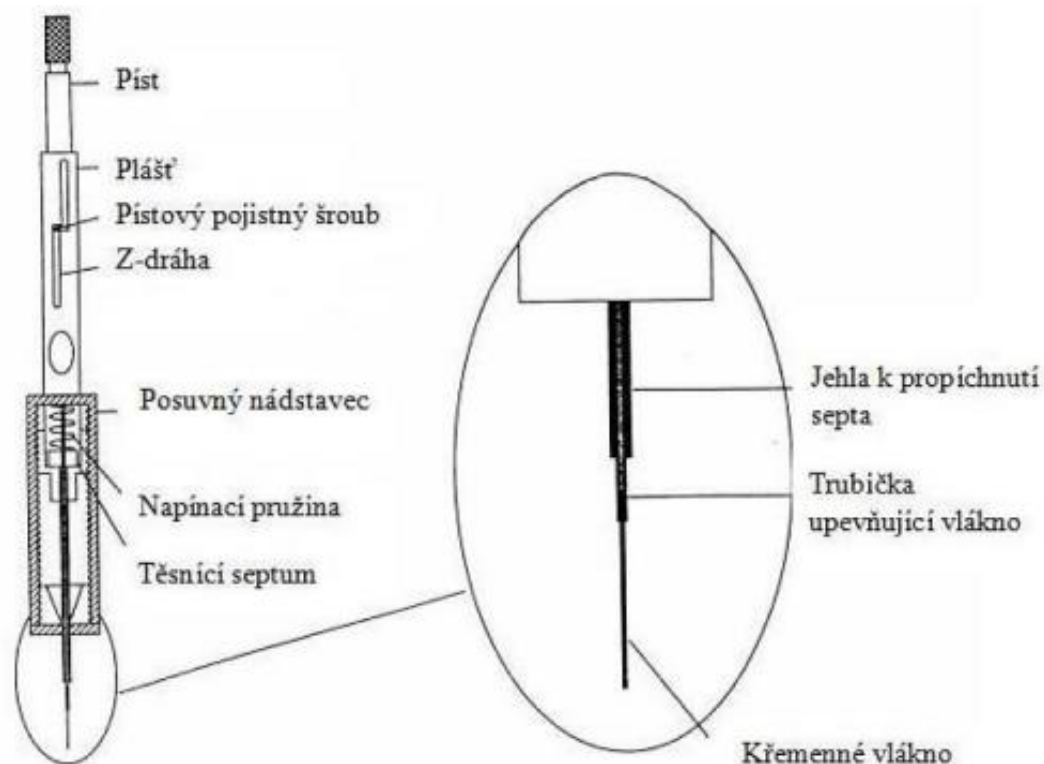
Při analýze aromatických těkavých látek je plynová chromatografie s hmotnostní detekcí jedna z nejběžnějších metod. Tato metoda kombinuje separaci složek pomocí chromatografie se selektivní a citlivou hmotnostní detekcí. Hmotnostní spektrometr navíc poskytuje informaci o kvantitě detekované sloučeniny a její struktuře včetně molekulové hmotnosti. Eluát z chromatografické kolony vstupuje do hmotnostního spektrometru, kde jsou separované molekuly ionizovány a vzniklé ionty jsou následně detekovány podle podílu hmotnosti a náboje (m/z). Detekce je prováděna srovnáváním naměřených spekter se spektry sloučenin v knihovně. Úplná charakterizace je dokončena porovnáním retenčních indexů [74,78].

Při analýze aromatických látek může být hlavním limitem této metody složitost sloučeniny, jejíž aroma může být tvořeno kombinací stovek i tisíců sloučenin. Ve srovnání se sensorickými metodami jako je např. GC/O neposkytuje GC/MS informaci o sensorickém vnímání aroma a přímou souvislost mezi stanovovanou látkou a čichovým podmíněním. Nicméně aroma lze poměrně přesně popsat, i když nelze definovat pachové vnímání stanovované látky a výsledky by měly korelovat se sensorickou intenzitou aroma [75].

2.4.2.1 Mikroextrakce tuhou fází (SPME)

Mikroextrakce tuhou fází (Solid phase micro extraction – SPME) je technika odběru vzorků, kdy dochází ke sjednocení procesu vzorkování a extrakce. Používá se ke vzorkování těkavých i netěkavých látek pro GC. Manipulace s SPME je jednoduchá a podobná manipulaci s injekční stříkačkou. SPME zařízení se skládá z křemenného vlákna, které je potaženo stacionární fází. Vlákno je spojeno s pružinovým pístem a je umístěno v duté jehle. Principem je sorpce složky

ve vzorku na stacionární fázi pokrývající vlákno. Stacionární fáze extrahuje analyzovanou sloučeninu ze vzorku, vlákno se zatáhne zpět do jehly a je přeneseno do plynového chromatografu [79,80].



Obrázek 6: SPME vlákno, převzato [81]

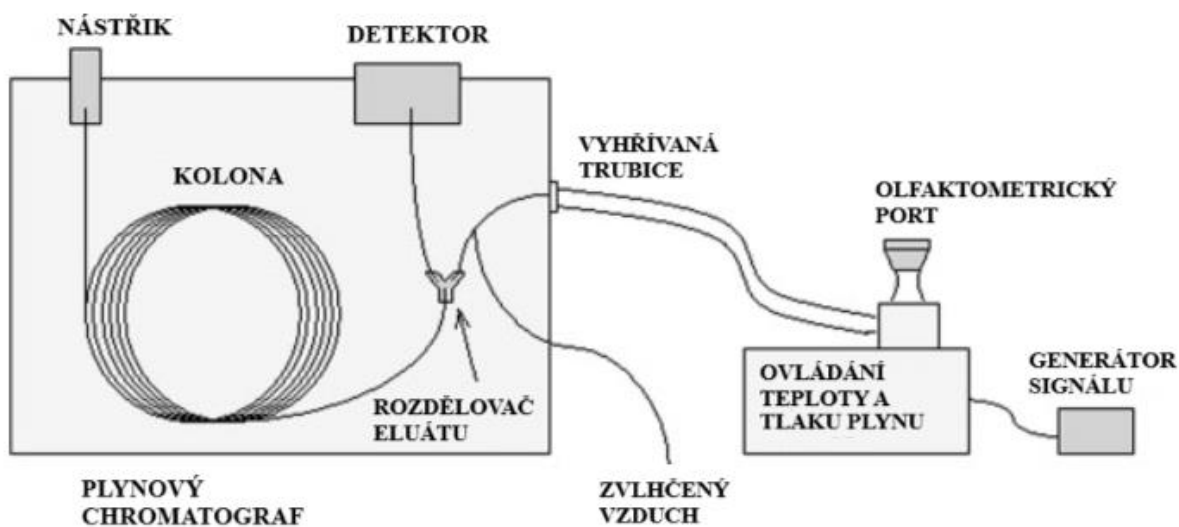
2.4.3 Olfaktometrie

Olfaktometrie je senzorická metoda hodnocení intenzity aroma, kde detektorem je lidský nos. Metoda využívá přístroj olfaktometr, ve kterém se nachází pachový vzorek zředěný vzduchem. Aroma je hodnoceno skupinou vyškolených hodnotitelů. Intenzita aroma se udává v jednotkách zápachu OU (odour units). 1 OU je nejmenší množství aromatické látky, která je schopná vyvolat pachový vjem, který je rozptýlen v 1 m³ vzduchu. Výsledné množství zápachu je udáváno jednotkou OU/m³. Při analýze vzorků je potřeba zvolit vhodné pořadí vzorků. Nejvhodnější je postupovat od nejméně koncentrovaného po nejvíce, jelikož slabé aroma se hůře identifikuje po vystavení silného aroma. Zároveň by se vzorky neměly vyskytovat v pevně daném pořadí, jelikož hodnotitelé pak mohou očekávat pořadí vzorků. Při senzorické analýze aroma olfaktometrem se využívají 2 metody: metoda volby a metoda ano/ne. Při výběrové metodě se používají 2 nebo více čichacích portů olfaktometru. Vzorek je přítomen jenom na jednom a na ostatních je čistý vzduch. Při metodě ano/ne hodnotitel čichá z jednoho portu a hlásí, zda aroma detekuje nebo ne [75,82]

2.4.3.1 Plynová chromatografie s olfaktometrickou detekcí (GC/O)

Olfaktometrii je možné spojit s plynovou chromatografií. Při spojení těchto dvou metod dochází k analýze senzorické i instrumentální. Cílem metody je určit pachovou aktivitu těkavé sloučeniny ve vzorku a přiřadit jí relativní důležitost. Sensoricky je hodnocen eluát vycházející

z chromatografické kolony. Hodnotí se aroma každého analytu opouštějící chromatografickou kolonu, což umožňuje identifikovat, zda je daná sloučenina sensoricky aktivní při dané koncentraci, o jaký pach se jedná a také jak dlouho na smyslové ústrojí působí. Toto stanovení je možné díky speciálnímu nastavení tzv. olfaktometrickému portu, který je paralelně spojen s konvenčním detektorem plynového chromatografu (např. plamenový ionizační detektor, hmotnostní spektrometr). Eluát je rovnoměrně rozdělen mezi oba detektory, aby bylo možné porovnávat oba signály současně. Kvalitu analýzy ovlivňuje metoda extrakce analyzovaného vzorku, podmínky provozu plynového chromatografu a pachového portu, metoda zaznamenávání dat GC/O i zkreslení hodnotitele. Metoda se používá převážně k identifikaci aroma z potravin nebo při analýze vůní a éterických olejů [59,83,84].



Obrázek 7: Schéma plynového chromatografu s olfaktometrickým detektorem, převzato [84]

3 EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST

3.1 Cíl práce

Cílem experimentální části bylo nanesení odpuzovače divoké zvěře ATAK na pelety z houbového mycelia a provedení odběrů v časových intervalech za účelem stanovení doby účinku a vyprchání geraniolu, jakožto účinné látky v tomto odpuzovači, pomocí metody plynové chromatografie.

3.2 Seznam použitých chemikálií

- ATAK – Odpuzovač divoké zvěře (AgroBio Opava)
- Standart: geraniol (CAS: 106-24-1, SIGMA ALDRICH)
- Nosný plyn helium

3.3 Seznam použitých přístrojů a pomůcek

3.3.1 Použitý software

- Microsoft Office Word
- Microsoft Office Excel
- Xcalibur (ThermoFisher Scientific Inc., USA)

3.3.2 Použité přístroje a laboratorní pomůcky

- Plynový chromatograf Trace 1310 s hmotnostním detektorem ISQLT (ThermoFisher Scientific Inc., USA)
- Autosampler TRI PLUS PSH – (Thermo Scientific Inc., USA)
- SPME vlákno: 50/30 μm DVB/CAR/PDMS (1 cm) (Supelco, USA)
- Kapilární kolona LN-WAX Plus (30 m x 0,25 mm; I.D. 0,50 μm)
- Analytické váhy (Mettler Toledo, USA)
- Elektrický sekáček potravin
- Skleněné vialky o obsahu 10 ml s magnetickými víčky se septem
- Krimpovací kleště
- Běžné laboratorní sklo a náčiní

3.4 Použitý materiál

Jako nosiče z houbového mycelia byly použity pelety od firmy Myco, které jsou vyrobeny z houbového mycelia korálovce ježatého a odpadních dřevěných pilin. Jako odpuzovač divoké zvěře byl použit odpuzovač ATAK od firmy AgroBio Opava, který obsahuje geraniol jako účinnou látku a kyselinu isovalerovou jako látku pomocnou.



Obrázek 8: Houbové pelety s aplikovaným odpuzovačem divoké zvěře

3.4.1 Příprava pachového nosiče

Pachový nosič byl připraven postupem určeným pro přípravu při komerční použití. Houbová peleta byla vložena do sáčku pro aplikaci odpuzovače zvěře. Množství odpuzovače zvěře v rozmezí 4,5-5 ml bylo aplikováno na houbovou peletu umístěnou v sáčku a sáček byl uzavřen. Houbová peleta byla v sáčku ponechána 12 hodin, aby došlo k absorpci odpuzovače zvěře. Následně byla peleta s absorbovaným odpuzovačem zvěře uzavřena do odběrové nádoby.

3.5 Podmínky a průběh experimentu

Vzorky byly umístěny do různých prostředí tak, aby bylo možné pozorovat vliv prostředí, na uvolňování aktivní látky. Následně byly vzorky měřeny v časových intervalech uvedených v Tabulce 1. Celková doba experimentu činila 90 dní.

Tabulka 1: Schéma odběru a umístění vzorků

| Pořadí vzorku | Čas odběru [den] | Podmínky |
|---------------|------------------|-----------------------|
| 1 | 0 | Začátek testu |
| 2 | 3 | Otevřené v laboratoři |
| 3 | 3 | Vnější podmínky |
| 4 | 3 | Referenční vzorek |
| 5 | 7 | Otevřené v laboratoři |
| 6 | 7 | Vnější podmínky |
| 7 | 7 | Referenční vzorek |
| 8 | 14 | Otevřené v laboratoři |
| 9 | 14 | Vnější podmínky |
| 10 | 14 | Referenční vzorek |
| 11 | 21 | Otevřené v laboratoři |
| 12 | 21 | Vnější podmínky |
| 13 | 21 | Referenční vzorek |
| 14 | 30 | Otevřené v laboratoři |
| 15 | 30 | Vnější podmínky |
| 16 | 30 | Referenční vzorek |
| 17 | 60 | Otevřené v laboratoři |
| 18 | 60 | Vnější podmínky |
| 19 | 60 | Referenční vzorek |
| 20 | 90 | Otevřené v laboratoři |
| 21 | 90 | Vnější podmínky |
| 22 | 90 | Referenční vzorek |

3.5.1 Referenční vzorky

Tyto vzorky byly ponechány uzavřené v laboratoři, aby sloužily jako referenční vzorky, a aby uvolňování aktivní látky nebylo ovlivněno vnějším prostředím

3.5.2 Vzorky otevřené ve venkovním prostředí

Vzorky označené jako „Vnější podmínky“ byly umístěny do venkovního prostředí, aby na ně mohl působit vliv teploty, vzdušné vlhkosti a povětrnostních podmínek. Zároveň byly umístěny, tak aby do nich nemohlo napršet.

3.5.3 Vzorky otevřené v laboratoři

Vzorky označené jako „Otevřené v laboratoři“, byly ponechány volně v laboratoři, aby docházelo k uvolňování aktivní látky, ale zároveň aby na ně nepůsobily jiné vlivy.

3.6 Příprava vzorků na analýzu

Vzorek byl rozdrcen pomocí elektrického sekáčku na potraviny. Na analytických váhách bylo naváženo 0,5 g rozemletého vzorku a převedeno do 10 ml vialky pro GC-MS. Každý vzorek byl vždy připraven v triplicátech.

3.7 Příprava kalibrační křivky geraniolu

Pro sestavení kalibrační křivky byl použit standardní roztok geraniolu, který byl naředěn vodou na 6 roztoků o rostoucí koncentraci, dle Tabulky 2. Celkový objem roztoků byl 5 ml. Kalibrační křivka byla následně stanovena pomocí GC-MS.

Tabulka 2: Kalibrační řada geraniolu

| | c [ng/ml] | | | | | |
|----------|-----------|------|------|------|------|------|
| geraniol | 0,00 | 0,14 | 0,35 | 0,70 | 1,40 | 3,50 |

3.8 GC-MS analýza

Pro analýzu byl použit plynový chromatograf Trace 1310 s hmotnostním detektorem ISQLT. Podmínky chromatografické analýzy jsou uvedeny v Tabulce 3.

Tabulka 3: Podmínky chromatografické analýzy

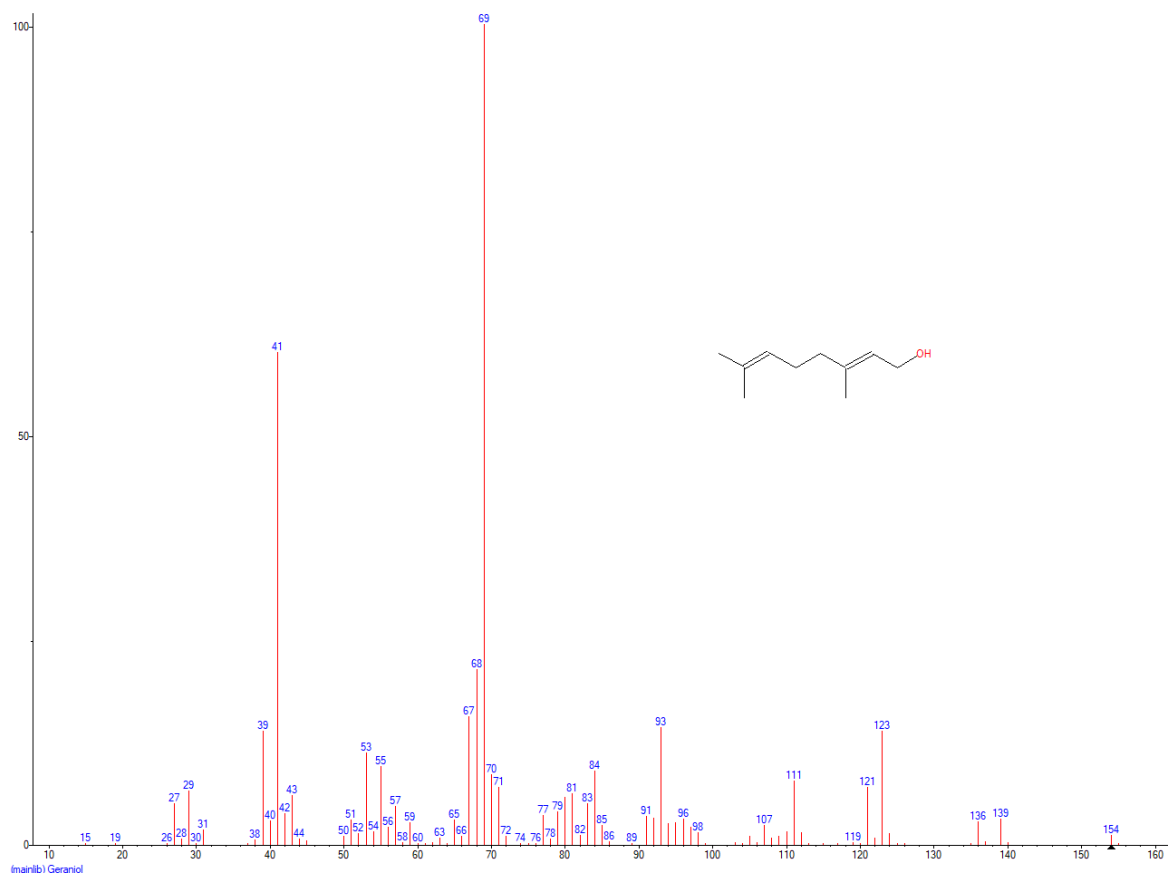
| | |
|---------------------------------|---|
| Plynový chromatograf | Trace 1310 (Thermo Scientific Inc.) |
| Kapilární kolona | LN-WAX Plus (30 m x 0,25 mm; I.D. 0,50 µm) |
| Nosný plyn | helium (čistota 5,5); průtok 1,2 ml/min |
| Teplotní program | 50 °C (2 min), nárůst 10 °C/min do 180 °C (1 min), nárůst 20 °C/min do 200 °C (5 min) |
| Teplota injektoru | 250 °C; SSL: 3,0 min |
| Hmotnost vzorku | 0,5 g |
| Detektor MS | ISQ LT |
| Sken m/z | full scan m/z 40-350, sim m/z 69, 93 |
| Teplota detektoru | 200 °C |
| Teplota transfer line | 200 °C |
| Teplota vzorku při kondicionaci | 60 °C |
| Doba kondicionace | 10 min |
| Čas extrakce | 20 min |
| Čas desorpce vlákna v injektoru | 3 min |
| Čas kondicionace vlákna | 5 min při 220 °C |

3.9 Statistické zpracování výsledků

Veškerá stanovení byla proměřena třikrát. Z těchto hodnot byl vypočítán průměr pomocí funkce PRŮMĚR, vždy pro tři měření, a hodnota směrodatné odchylky pomocí funkce SMODCH v programu Microsoft Excel 365.

4 VÝSLEDKY A DISKUZE

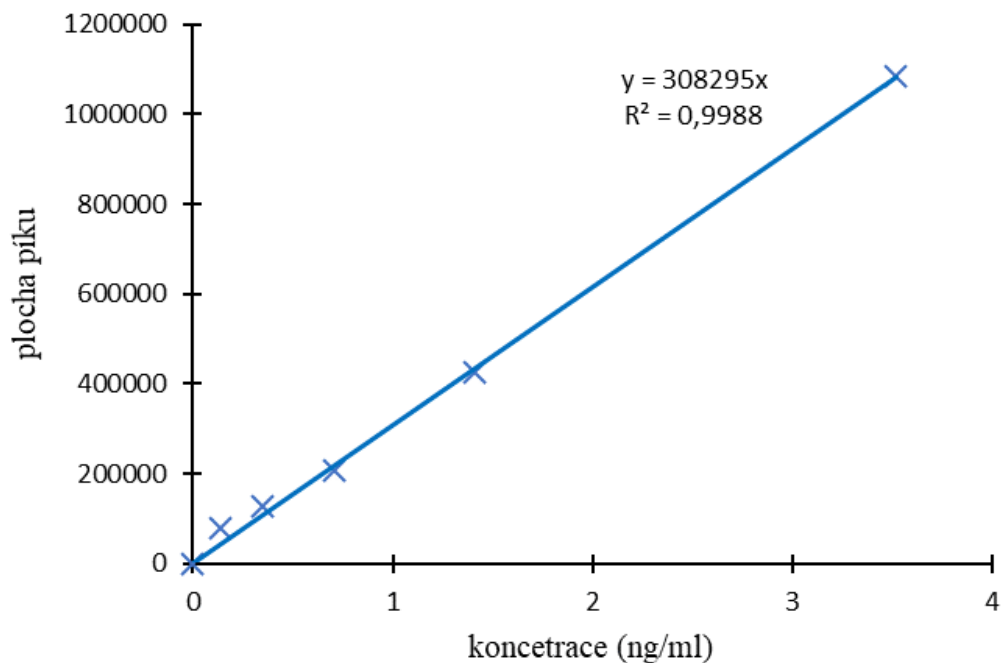
V experimentální části byly v daných časových intervalech odebírány vzorky houbových pelet a pomocí metody GC-MS byl průběžně stanovován obsah geraniolu, jakožto účinné látky v odpuzovači zvěře ATAK.



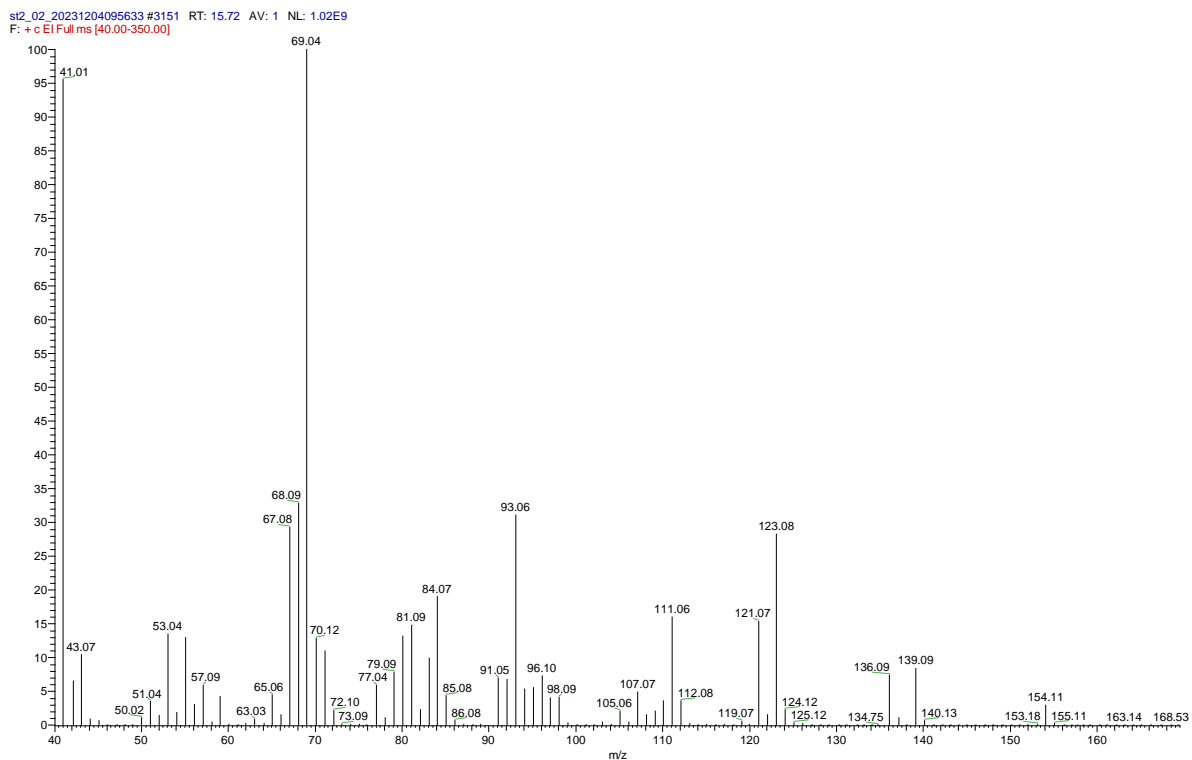
Obrázek 9: Hmotnostní spektrum geraniolu – knihovna NIST

4.1 Kalibrační křivka

Podle postupu uvedeného v kapitole 3.7 byla sestrojena kalibrační křivka standardního roztoku geraniolu. Kalibrační křivka byla sestrojena za účelem ověření linearitity metody a je zobrazena na Grafu 1.



Graf 1: Kalibrační křivka standardu geraniolu

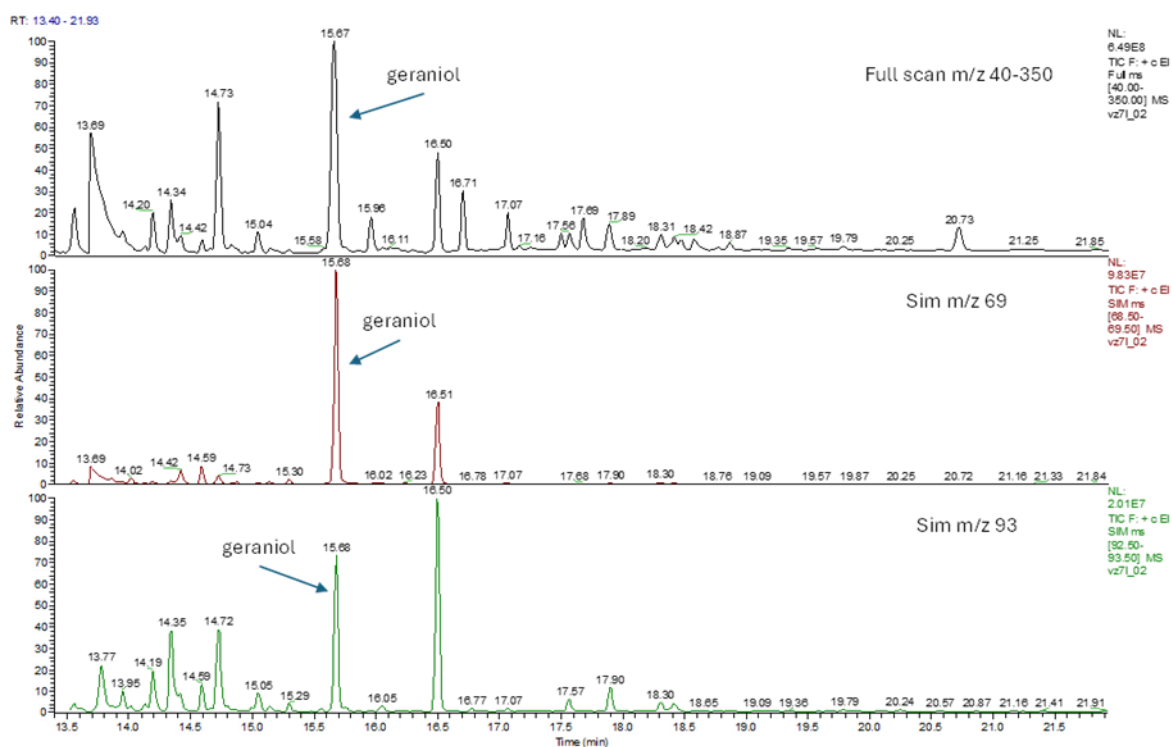


Obrázek 10: Naměřené hmotnostní spektrum standardu roztoku geraniolu

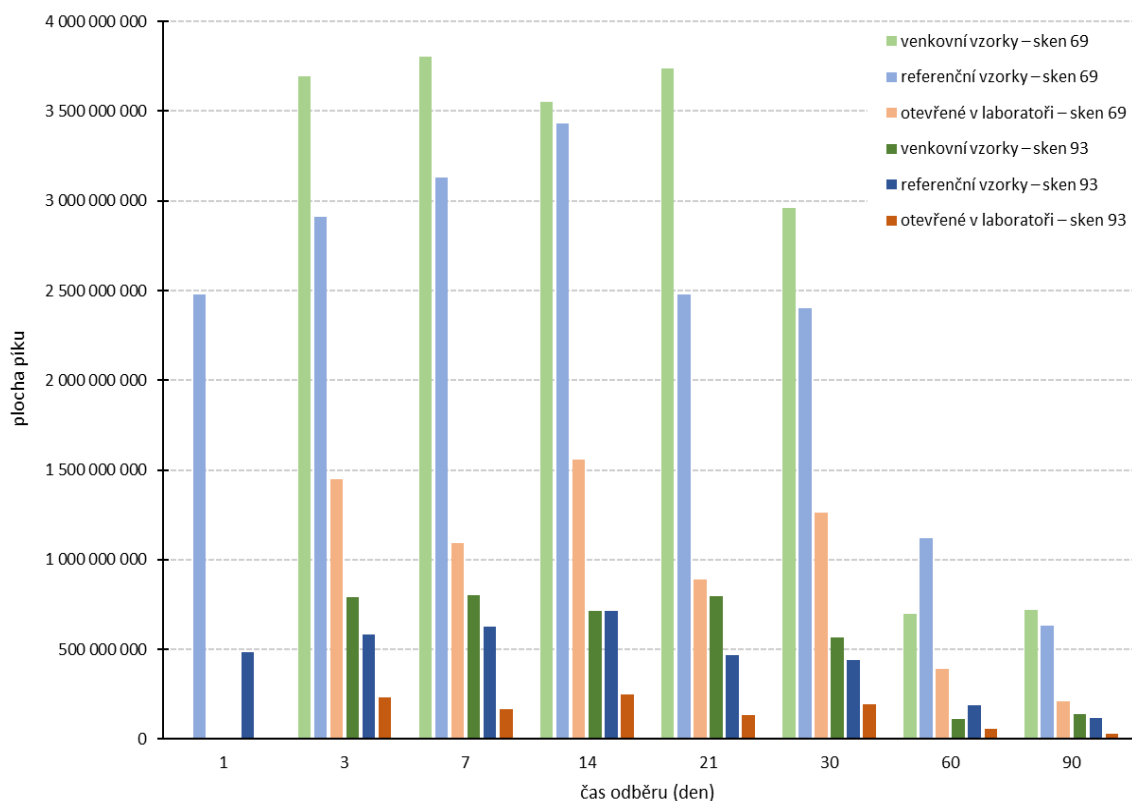
4.2 Analýza vzorků

Pomocí plynové chromatografie s hmotnostní detekcí byla provedena analýza vzorků umístěných do různých prostředí a odebíraných v pravidelných intervalech, jak je uvedeno v kapitole 3.5. Vzorky pro jednotlivé analýzy byly připraveny podle postupu uvedeného v kapitole 3.6.

Prostřednictvím provedených měření byl zjištěn úbytek geraniolu v jednotlivých vzorcích v závislosti na čase a podmínkách prostředí. Úbytek geraniolu byl stanoven z m/z 69 a 93. Na obrázku 11 je ukázka chromatogramu získaného z měření jednoho ze vzorků. Závislost vyprcháání geraniolu z houbových pelet na čase byla vynesena do grafu (Graf 2), za účelem pozorování úbytku stanovované látky (geraniolu) v závislosti na vlivu prostředí a možnosti určit přítomnost, a tedy předpokládat i účinnost vytvořeného pachového ohradníku. Pro lepší přehlednost jsou uvedeny odchylky měření s naměřenými hodnotami ploch píků v Příloze 1.



Obrázek 11: Ukázka chromatogramu analyzovaného vzorku pro vzorek č.17



Graf 2: Závislost vyprchání geraniolu na čase odběru

Z naměřených dat je patrné, že k výraznějšímu úbytku geraniolu došlo až při odběru po 60 dnech. Žádné z vybraných prostředí nijak výrazně neovlivňovalo úbytek účinné látky, jelikož ani v jednom ze vzorků nedošlo k výraznému poklesu dříve než právě před odběrovým dnem 60. Pro bližší porovnání vlivu prostředí by bylo potřeba udělat týdenní odběry vzorků mezi dnem 30 a 60.

I přesto, že pro analýzu na GC/MS bylo vždy naváženo stejné množství, byl u některých vzorků naměřen nárůst obsahu účinné látky. To je pravděpodobně zapříčiněno způsobem aplikace odpuzovače zvěře. Při doporučeném způsobu aplikace výrobcem nelze zajistit, aby ve všech vzorcích byla stejná koncentrace účinné látky. Nicméně aplikace stejného množství přípravku na odpuzování zvěře do všech houbových nosičů je pro účel použití jako pachového ohradníku zbytečná.

5 ZÁVĚR

Cílem této bakalářské práce bylo studium možnosti využití houbových pelet z mycelia korálovce ježatého jako nosiče aromatických látek. Jako aromatická látka byl pro tuto práci vybrán odpuzovač zvěře ATAK. Jedná se o přípravek založený na přírodním složení a je tedy vhodný pro účel vytvoření ekologického pachového ohradníku aplikací na houbové pelety. Aby bylo zjištěna doba působení pachového ohradníku, byla stanovována přítomnost geraniolu, jelikož tato látka byla výrobcem odpuzovače uváděna jako účinná. Přítomnost přípravku aplikovaného na jednotlivé pelety byla měřena po dobu 90 dní. Kromě doby účinku vytvořených pachových ohradníků byl studován i vliv prostředí na dobu vyprchání odpuzovače z houbové pelety.

Jako metoda pro stanovení přítomnosti geraniolu byla zvolena plynová chromatografie s hmotnostní detekcí (GC-MS). Na základě povahy a vlastností analyzovaných vzorků byla tato metoda vyhodnocena jako nejvhodnější.

Z naměřených dat bylo zjištěno, že obsah geraniolu jakožto účinné látky v odpuzovači zvěře, výrazněji klesl až při odběru 60. den. Tento pokles nastal ve všech vzorcích, nezávisle na tom, v jakém prostředí byly umístěny.

Výrobce odpuzovače zvěře ATAK uvádí, že účinnost pachové látky v koncentrátu je až 3 týdny. Z našich výsledků vyplývá, že účinnost tohoto odpuzovače naneseného na houbovou peletu by mohla být 1 až 2 měsíce. Pro přesnější stanovení doby vyprchání účinné látky, by bylo potřeba provést týdenní odběry mezi 30. a 60. dnem. Z naměřených výsledků lze usoudit, že houbové pelety jsou díky svým vlastnostem vhodným nosičem pro aromatické látky a těkavost těchto látek nebyla ovlivněna prostředím, ani vnějšími podmínkami, ve kterém byla peleta umístěna. Pro zjištění funkčnosti takto vytvořeného pachového ohradníku by bylo potřeba provést další experiment, a to již prakticky v terénu se zvířaty.

6 SEZNAM POUŽITÝCH ZDROJŮ

- [1] JELÍNEK, Roman. Škody zvěří – část II. –předcházení škod na zemědělských plodinách a lesních porostech. *Myslivost: Stráž myslivosti*. 2007, roč. 85, č. 3, s. 5. ISSN 0323-214X.
- [2] *Myco.cz*. online. 2024. Dostupné z: <https://www.myco.cz/>. [cit. 2024-03-18].
- [3] LIŠKUTÍN, Ivo. *Zařízení odrazující zvěř od vstupu na pozemní komunikaci. Technické podmínky*. Ministerstvo dopravy, Odbor pozemních komunikací, 2013.
- [4] ALANEME, Kenneth; ANAELE, Justus; OKE, Tolulope; KAREEM, Sodiq; ADEDIRAN, Michael et al. Mycelium based composites: A review of their bio-fabrication procedures, material properties and potential for green building and construction applications. online. *Alexandria Engineering Journal*. 2023, roč. 83, s. 234-250. ISSN 11100168. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.aej.2023.10.012>. [cit. 2023-12-02].
- [5] KIRK, Paul; CANNON, Paul a STALPERS, Joost. *Dictionary of the fungi*. 10. CAB International, 2008. ISBN 9780851998268.
- [6] THONGBAI, Benjarong; RAPIOR, Sylvie; HYDE, Kevin; WITTSTEIN, Kathrin a STADLER, Marc. *Hericium erinaceus*, an amazing medicinal mushroom. online. *Mycological Progress*. 2015, roč. 14, č. 10. ISSN 1617-416X. Dostupné z: <https://doi.org/10.1007/s11557-015-1105-4>. [cit. 2023-11-11].
- [7] FRIEDMAN, Mendel. Chemistry, Nutrition, and Health-Promoting Properties of *Hericium erinaceus* (Lion's Mane) Mushroom Fruiting Bodies and Mycelia and Their Bioactive Compounds. online. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 2015, roč. 63, č. 32, s. 7108-7123. ISSN 0021-8561. Dostupné z: <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.5b02914>. [cit. 2023-11-18].
- [8] DAS, Kanad; STALPERS, Joost a EBERHARDT, Ursula. A New Species of *Hericium* from Sikkim Himalaya (India). online. *Cryptogamie, Mycologie*. 2011, roč. 32, č. 3, s. 285-293. ISSN 0181-1584. Dostupné z: <https://doi.org/10.7872/crym.v32.iss3.2011.285>. [cit. 2023-11-11].
- [9] JABLONSKÝ, Ivan a ŠAŠEK, Václav. *Jedlé a léčivé houby: pěstování a využití*. Vyd. 1. Praha: Brázda, 2006. ISBN 80-209-0341-0.
- [10] OUALI, Zouhour; SBISSI, Imed; BOUDAGGA, Soumaya; RHAJEM, Azza; HAMDÍ, Chadlia et al. First report of the rare tooth fungus *Hericium erinaceus* in

- North African temperate forests. online. *Plant Biosystems - An International Journal Dealing with all Aspects of Plant Biology*. 2020, roč. 154, č. 1, s. 24-28. ISSN 1126-3504. Dostupné z: <https://doi.org/10.1080/11263504.2018.1549604>. [cit. 2023-11-11].
- [11] JABLONSKÝ, Ivan; ŠAŠEK, Václav a KOUDELA, Martin. *Jedlé a léčivé houby a jak je pěstovat*. 1. vydání. Praha: Profi Press, 2019. ISBN 978-80-88306-03-0.
- [12] VALÍČEK, Pavel. *Houby a jejich léčivé účinky*. 1. vyd. Benešov: Start, 2011. ISBN 978-80-86231-54-9.
- [13] TLUSTOŠ, Pavel. *Zhodnocení fyzikálně-chemických a biologických vlastností substrátů založených na bázi separátů upravených fermentací: certifikovaná metodika*. Vydání první. V Praze: Česká zemědělská univerzita, 2016. ISBN 978-80-213-2677-4.
- [14] SOKÓŁ, Sławomir; GOLAK-SIWULSKA, Iwona; SOBIERALSKI, Krzysztof; SIWULSKI, Marek a GÓRKA, Katarzyna. Biology, cultivation, and medicinal functions of the mushroom *Hericium erinaceum*. online. *Acta Mycologica*. 2016, roč. 50, č. 2. ISSN 2353-074X. Dostupné z: <https://doi.org/10.5586/am.1069>. [cit. 2024-03-21].
- [15] RODRIGUES, Dina; FREITAS, Ana; ROCHA-SANTOS, Teresa; VASCONCELOS, Marta; RORIZ, Mariana et al. Chemical composition and nutritive value of *Pleurotus citrinopileatus* var *cornucopiae*, *P. eryngii*, *P. salmoneo stramineus*, *Pholiota nameko* and *Hericium erinaceus*. online. *Journal of Food Science and Technology*. 2015, roč. 52, č. 11, s. 6927-6939. ISSN 0022-1155. Dostupné z: <https://doi.org/10.1007/s13197-015-1826-z>. [cit. 2023-11-18].
- [16] DONG, Qun; JIA, Lian-meng a FANG, Ji-nian. A β -d-glucan isolated from the fruiting bodies of *Hericium erinaceus* and its aqueous conformation. online. *Carbohydrate Research*. 2006, roč. 341, č. 6, s. 791-795. ISSN 00086215. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.carres.2006.01.022>. [cit. 2023-11-18].
- [17] WANG, Xiao-Yin; ZHANG, Duo-duo; YIN, Jun-Yi; NIE, Shao-Ping a XIE, Ming-Yong. Recent developments in *Hericium erinaceus* polysaccharides: extraction, purification, structural characteristics and biological activities. online. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*. 2019, roč. 59, č. 1, s. 96-115. ISSN 1040-8398. Dostupné z: <https://doi.org/10.1080/10408398.2018.1521370>. [cit. 2023-11-18].

- [18] KALAČ, Pavel. *Houby: víme, co jíme?*. České Budějovice: Dona, 2008. ISBN 978-80-7322-112-6.
- [19] YAOITA, Yasunori; DANBARA, Kuniko a KIKUCHI, Masao. Two New Aromatic Compounds from *Herichium erinaceum* (BULL: FR.) PERS. online. *Chemical and Pharmaceutical Bulletin*. 2005, roč. 53, č. 9, s. 1202-1203. ISSN 0009-2363. Dostupné z: <https://doi.org/10.1248/cpb.53.1202>. [cit. 2024-02-06].
- [20] BHANDARI, Dhaka; SHEN, Tian; RÖMPP, Andreas; ZORN, Holger a SPENGLER, Bernhard. Analysis of cyathane-type diterpenoids from *Cyathus striatus* and *Herichium erinaceus* by high-resolution MALDI MS imaging. online. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*. 2014, roč. 406, č. 3, s. 695-704. ISSN 1618-2642. Dostupné z: <https://doi.org/10.1007/s00216-013-7496-7>. [cit. 2024-02-06].
- [21] MA, Bing-Ji; SHEN, Jin-Wen; YU, Hai-You; RUAN, Yuan; WU, Ting-Ting et al. Hericenones and erinacines: stimulators of nerve growth factor (NGF) biosynthesis in *Herichium erinaceus*. online. *Mycology*. 2010, roč. 1, č. 2, s. 92-98. ISSN 2150-1203. Dostupné z: <https://doi.org/10.1080/21501201003735556>. [cit. 2023-12-22].
- [22] NAGANO, Mayumi; SHIMIZU, Kuniyoshi; KONDO, Ryuichiro; HAYASHI, Chickako; SATO, Daigo et al. Reduction of depression and anxiety by 4 weeks *Herichium erinaceus* intake. online. *Biomedical Research*. 2010, roč. 31, č. 4, s. 231-237. ISSN 1880-313X. Dostupné z: <https://doi.org/10.2220/biomedres.31.231>. [cit. 2024-02-12].
- [23] WANG, J.; HU, S.; SU, C. a LEE, T. Antitumor and Immunoenhancing Activities of Polysaccharide from Culture Broth of *Herichium* Spp. online. *The Kaohsiung journal of medical sciences*. 2001, roč. 17, č. 9, s. 461-467. Dostupné z: <https://doi.org/10.6452/KJMS.200109.0461>. [cit. 2024-02-13].
- [24] HIWATASHI, Kazuyuki; KOSAKA, Yasuyuki; SUZUKI, Nao; HATA, Keishi; MUKAIYAMA, Toshiyuki et al. Yamabushitake Mushroom (*Herichium erinaceus*) Improved Lipid Metabolism in Mice Fed a High-Fat Diet. online. *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry*. 2014, roč. 74, č. 7, s. 1447-1451. ISSN 0916-8451. Dostupné z: <https://doi.org/10.1271/bbb.100130>. [cit. 2024-02-13].
- [25] YANG, Byung-Keun; PARK, Jun-Bo a SONG, Chi-Hyun. Hypolipidemic Effect of an Exo-biopolymer Produced from a Submerged Mycelial Culture of *Herichium erinaceus*. online. *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry*. 2014, roč. 67, č. 6,

- s. 1292-1298. ISSN 0916-8451. Dostupné z: <https://doi.org/10.1271/bbb.67.1292>. [cit. 2024-02-13].
- [26] OBARA, Y. a NAKAHATA, N. The signaling pathway of neurotrophic factor biosynthesis. online. *Drug News & Perspectives*. 2002, roč. 15, č. 5, s. 290-298. ISSN 0214-0934. Dostupné z: <https://doi.org/10.1358/dnp.2002.15.5.840042>. [cit. 2024-02-13].
- [27] MORI, Koichiro; OBARA, Yutaro; HIROTA, Mitsuru; AZUMI, Yoshihito; KINUGASA, Satomi et al. Nerve Growth Factor-Inducing Activity of *Hericium erinaceus* in 1321N1 Human Astrocytoma Cells. online. *Biological and Pharmaceutical Bulletin*. 2008, roč. 31, č. 9, s. 1727-1732. ISSN 0918-6158. Dostupné z: <https://doi.org/10.1248/bpb.31.1727>. [cit. 2024-02-13].
- [28] FEN, Li; XUWEI, Zhu; NANYI, Li; PUYU, Zhang; SHUANG, Zhang et al. Screening of Lignocellulose-Degrading Superior Mushroom Strains and Determination of Their CMCase and Laccase Activity. online. *The Scientific World Journal*. 2014, roč. 2014, s. 1-6. ISSN 2356-6140. Dostupné z: <https://doi.org/10.1155/2014/763108>. [cit. 2024-02-06].
- [29] GRIMM, Daniel a WÖSTEN, Han. Mushroom cultivation in the circular economy. online. *Applied Microbiology and Biotechnology*. 2018, roč. 102, č. 18, s. 7795-7803. ISSN 0175-7598. Dostupné z: <https://doi.org/10.1007/s00253-018-9226-8>. [cit. 2024-03-18].
- [30] MARTIN, F.; CULLEN, D.; HIBBETT, D.; PISABARRO, A.; SPATAFORA, J. et al. Sequencing the fungal tree of life. online. *New Phytologist*. 2011, roč. 190, č. 4, s. 818-821. ISSN 0028-646X. Dostupné z: <https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.2011.03688.x>. [cit. 2024-03-15].
- [31] SCHAAK, Damen a LUCHT, Matthew (US). *Biofilm treatment of composite materials containing mycelium*. Příhl.: 19.6.2015. Uděl.: 18.10.2016. US9469838B2.
- [32] JONES, Mitchell; MAUTNER, Andreas; LUENCO, Stefano; BISMARCK, Alexander a JOHN, Sabu. Engineered mycelium composite construction materials from fungal biorefineries: A critical review. online. *Materials & Design*. 2020, roč. 187. ISSN 02641275. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.matdes.2019.108397>. [cit. 2024-03-12].
- [33] JIANG, Lai; WALCZYK, Daniel; MCINTYRE, Gavin; BUCINELL, Ronald a TUDRYN, Gregory. Manufacturing of biocomposite sandwich structures using

- mycelium-bound cores and preforms. online. *Journal of Manufacturing Processes*. 2017, roč. 28, s. 50-59. ISSN 15266125. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.jmapro.2017.04.029>. [cit. 2024-03-12].
- [34] ELSACKER, Elise; VANDELOOK, Simon; VAN WYLICK, Aurélie; RUYTINX, Joske; DE LAET, Lars et al. A comprehensive framework for the production of mycelium-based lignocellulosic composites. online. *Science of The Total Environment*. 2020, roč. 725. ISSN 00489697. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.138431>. [cit. 2023-12-02].
- [35] ROSS, Philip (US). *Method for producing fungus structures*. Přihl.: 28. 11. 2011. Uděl.: 9. 8. 2016. US 9410116 B2. Dostupné také z: <https://patentimages.storage.googleapis.com/73/6d/1b/062e43ed32a63e/US9410116.pdf>.
- [36] LELIVELT, R.; LINDNER, G; TEUFFEL, P a LAMERS, H. The production process and compressive strength of mycelium-based materials. online. In: *First International Conference on Bio-based Building Materials*. France: Clermont-Ferrand, 2015, s. 1-6. Dostupné z: <https://pure.tue.nl/ws/portalfiles/portal/15138585/leliproduct2015.pdf>. [cit. 2024-03-12].
- [37] APPELS, Freek; DIJKSTERHUIS, Jan; LUKASIEWICZ, Catherine; JANSEN, Kaspar; WÖSTEN, Han et al. Hydrophobin gene deletion and environmental growth conditions impact mechanical properties of mycelium by affecting the density of the material. online. *Scientific Reports*. 2018, roč. 8, č. 1. ISSN 2045-2322. Dostupné z: <https://doi.org/10.1038/s41598-018-23171-2>. [cit. 2024-03-15].
- [38] WIDSTEN, Petri a KANDELBAUER, Andreas. Adhesion improvement of lignocellulosic products by enzymatic pre-treatment. online. *Biotechnology Advances*. 2008, roč. 26, č. 4, s. 379-386. ISSN 07349750. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2008.04.003>. [cit. 2024-03-11].
- [39] RYTWINSKI, Trina; SOANES, Kylie; JAEGER, Jochen; FAHRIG, Lenore; FINDLAY, C. et al. How Effective Is Road Mitigation at Reducing Road-Kill? A Meta-Analysis. online. *PLOS ONE*. 2016, roč. 11, č. 11. ISSN 1932-6203. Dostupné z: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0166941>. [cit. 2024-02-07].
- [40] VÍT, Alexandr. *Omezování škod působených černou a jelení zvěří*. 1. vydání. Praha: Státní zemědělské nakladatelství, 1987.

- [41] MASON, J. , Russell. Mammal repellents: options and considerations for development. online. *Proceedings of the Vertebrate Pest Conference*. 1998, roč. 18. ISSN 2641-273X. Dostupné z: <https://doi.org/10.5070/V418110271>. [cit. 2024-02-07].
- [42] ŠVARC, Jaroslav. *Ochrana proti škodám působeným zvěří*. 1. vyd. Lesnictví, myslivost a vodní hospodářství. Praha: SZN, 1981
- [43] MARTOLOS, Jan. *Metodika optimalizace návrhu opatření k usměrnění pohybu živočichů přes pozemní komunikace*. 1. vyd. Plzeň: EDIP, 2014. ISBN 978-80-87394-10-6.
- [44] HAVRÁNEK, František. Snižování počtu úhynů zvěře na silnicích a ochrana zemědělských a lesních kultur pachovými repelenty a dalšími zařízeními. In: *Myslivecká konference 2012*. Ostrava: Moravskoslezský kraj, 2012, s. 18-28. ISBN 978-80-87503-25-6.
- [45] APFELBACH, Raimund; BLANCHARD, Caroline; BLANCHARD, Robert; HAYES, R. a MCGREGOR, Iain. The effects of predator odors in mammalian prey species: A review of field and laboratory studies. online. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews*. 2005, roč. 29, č. 8, s. 1123-1144. ISSN 01497634. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.neubiorev.2005.05.005>. [cit. 2024-03-18].
- [46] HAVRÁNEK, František; KURČA, Josef a NĚMEC, Vladimír. Pachové repelenty u nás a v zahraničí. *Myslivost: Stráž myslivosti*. 2011, roč. 89, č. 10, s. 16. ISSN 0323-214X.
- [47] PLÍŠEK, Kamil a HROUZEK, Karel. Doprava a zvěř. *Myslivost: Stráž myslivosti*. 2009, roč. 87, č. 12, s. 42. ISSN 0323-214X.
- [48] PFOHL, Patrizia; BAHL, Daniel; RÜCKEL, Markus; WAGNER, Marion; MEYER, Lars et al. Effect of Polymer Properties on the Biodegradation of Polyurethane Microplastics. online. *Environmental Science & Technology*. 2022, roč. 56, č. 23, s. 16873-16884. ISSN 0013-936X. Dostupné z: <https://doi.org/10.1021/acs.est.2c05602>. [cit. 2024-03-18].
- [49] VOJTOVÁ, L.; VÁVROVÁ, M.; BEBNAŘÍK, K.; ŠUCMAN, E.; DAVID, J. et al. Preparation and ecotoxicity assessment of new biodegradable polyurethane foams. online. *Journal of Environmental Science and Health, Part A*. 2007, roč. 42, č. 5, s. 677-683. ISSN 1093-4529. Dostupné z: <https://doi.org/10.1080/10934520701244482>. [cit. 2024-03-18].

- [50] PAČES, Dalibor. Hukinol, Kornitol a Armacol – osvědčené přípravky v ochraně polních plodin proti škodám působícím zvěř. *Svět myslivosti*. 2008, roč. 9, č. 3, s. 29. ISSN 1212-8422.
- [51] Pachová pěna Hagopur. online. In: *Pasti.cz*. 2024. Dostupné z: <https://www.pasti.cz/pachova-pena-hagopur-675ml/>. [cit. 2024-05-09].
- [52] HAGOPUR AG. *Hagopur scent fence® pěna, Vario*. online. In: HAGOPUR AG. Hagopur. Dostupné z: <https://www.hagopur-shop.de/hagopur-duftzaun-schaum,-vario-675ml/>. [cit. 2024-05-09].
- [53] EKOPLANT, S.R.O. Pachový ohradník - vysoká zvěř PACHO-LEK®. online. In: EKOPLANT, S.R.O. *PACHO-LEK®*. 2021. Dostupné z: <https://www.pacholek.cz/13/pachovy-ohradnik-vysoka-zver/>. [cit. 2024-05-09].
- [54] AGROBIO OPAVA, S.R.O. ATAK Odpuzovač divoké zvěře. online. In: AGROBIO OPAVA, S.R.O. *AgroBio Opava*. Dostupné z: <https://agrobio.cz/atak-odpuzovac-divoke-zvere/28569/>. [cit. 2024-05-09].
- [55] PEST TRADE SOLUTIONS S.R.O. Pachový ohradník Antifer C. online. In: PEST TRADE SOLUTIONS S.R.O. *Pasti.cz*. 2024. Dostupné z: <https://www.pasti.cz/antifer-roztok-c-modry-750-ml/>. [cit. 2024-05-09].
- [56] CHISVERT, Alberto a SALVADOR, Amparo (ed.). *Analysis of Cosmetic Products*. Elsevier, 2007. ISBN 978-0-444-52260-3.
- [57] BINIECKA, Małgorzata a CAROLI, Sergio. Analytical methods for the quantification of volatile aromatic compounds. online. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*. 2011, roč. 30, č. 11, s. 1756-1770. ISSN 01659936. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.trac.2011.06.015>. [cit. 2024-02-25].
- [58] BELITZ, H.-D.; GROSCH, W. a SCHIEBERLE, P. Aroma Compounds. online. In: BELITZ, H.-D.; GROSCH, W. a SCHIEBERLE, P. *Food Chemistry*. Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg, 2004, s. 342-408. ISBN 978-3-540-40818-5. Dostupné z: https://doi.org/10.1007/978-3-662-07279-0_6. [cit. 2024-02-25].
- [59] DELAHUNTY, Conor; EYRES, Graham a DUFOUR, Jean-Pierre. Gas chromatography-olfactometry. online. *Journal of Separation Science*. 2006, roč. 29, č. 14, s. 2107-2125. ISSN 1615-9306. Dostupné z: <https://doi.org/10.1002/jssc.200500509>. [cit. 2024-03-05].

- [60] CHISVERT, Alberto; LÓPEZ-NOGUEROLES, Marina; MIRALLES, Pablo a SALVADOR, Amparo. Perfumes in Cosmetics. online. In: *Analysis of Cosmetic Products*. 2. Elsevier, 2018, s. 225-248. ISBN 9780444635082. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/B978-0-444-63508-2.00010-2>. [cit. 2024-02-19].
- [61] BICAS, Juliano; MOLINA, Gustavo; CAVALCANTE BARROS, Francisco a PASTORE, Gláucia. Production of Aroma Compounds by White Biotechnology. online. In: COELHO, Maria Alice a RIBEIRO, Bernardo D (ed.); COELHO, Maria; RIBEIRO, Bernardo. *White Biotechnology for Sustainable Chemistry*. The Royal Society of Chemistry, 2015, s. 310-332. ISBN 978-1-84973-816-3. Dostupné z: <https://doi.org/10.1039/9781782624080-00310>. [cit. 2024-02-20].
- [62] BUTION, Murillo; MOLINA, Gustavo; ABRAHÃO, Meissa a PASTORE, Gláucia. Genetic and metabolic engineering of microorganisms for the development of new flavor compounds from terpenic substrates. online. *Critical Reviews in Biotechnology*. 2013, roč. 35, č. 3, s. 313-325. ISSN 0738-8551. Dostupné z: <https://doi.org/10.3109/07388551.2013.855161>. [cit. 2024-02-20].
- [63] SALES, Adones; PAULINO, Bruno; PASTORE, Gláucia a BICAS, Juliano. Biogenesis of aroma compounds. online. *Current Opinion in Food Science*. 2018, roč. 19, s. 77-84. ISSN 22147993. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.cofs.2018.03.005>. [cit. 2024-02-20].
- [64] CHEN, W. a VILJOEN, A.M. Geraniol — A review of a commercially important fragrance material. online. *South African Journal of Botany*. 2010, roč. 76, č. 4, s. 643-651. ISSN 02546299. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.sajb.2010.05.008>. [cit. 2023-12-23].
- [65] HEIJDEN, Robert; JACOBS, Denise; SNOEIJER, Wim; HALLARD, Didier a VERPOORTE, Robert. The Catharanthus Alkaloids: Pharmacognosy and Biotechnology. online. *Current Medicinal Chemistry*. 2004, roč. 11, č. 5, s. 607-628. ISSN 09298673. Dostupné z: <https://doi.org/10.2174/0929867043455846>. [cit. 2024-02-05].
- [66] REGEV, S. a CONE, Wyatt. Analyses of Pharate Female Twospotted Spider Mites 1 for Nerolidol and Geraniol: Evaluation for Sex 2 Attraction of Males. online. *Environmental Entomology*. 1976, roč. 5, č. 1, s. 133-138. ISSN 1938-2936. Dostupné z: <https://doi.org/10.1093/ee/5.1.133>. [cit. 2023-12-23].
- [67] HAGVALL, Lina; KARLBERG, Ann-Therese a BRÅRED CHRISTENSSON, Johanna. Contact allergy to air-exposed geraniol: clinical observations and report

- of 14 cases. online. *Contact Dermatitis*. 2012, roč. 67, č. 1, s. 20-27. ISSN 0105-1873. Dostupné z: <https://doi.org/10.1111/j.1600-0536.2012.02079.x>. [cit. 2023-12-23].
- [68] MaCZKA, Wanda; WIńska, Katarzyna a GRABARCZYK, Małgorzata. One Hundred Faces of Geraniol. online. *Molecules*. 2020, roč. 25, č. 14. ISSN 1420-3049. Dostupné z: <https://doi.org/10.3390/molecules25143303>. [cit. 2023-12-23].
- [69] BARNARD, Donald a XUE, Rui-De. Laboratory Evaluation of Mosquito Repellents Against *Aedes albopictus*, *Culex nigripalpus*, and *Ochlerotatus triseriatus* (Diptera: Culicidae). online. *Journal of Medical Entomology*. 2004, roč. 41, č. 4, s. 726-730. ISSN 0022-2585. Dostupné z: <https://doi.org/10.1603/0022-2585-41.4.726>. [cit. 2024-02-05].
- [70] CHEN, Weiyang a VILJOEN, Alvaro. Geraniol – A review update. online. *South African Journal of Botany*. 2022, roč. 150, s. 1205-1219. ISSN 02546299. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.sajb.2022.09.012>. [cit. 2023-12-23].
- [71] KNOBLOCH, Karl; PAULI, Alexander; IBERL, Bernard; WEIGAND, Hildegunde a WEIS, Norbert. Antibacterial and Antifungal Properties of Essential Oil Components. online. *Journal of Essential Oil Research*. 2011, roč. 1, č. 3, s. 119-128. ISSN 1041-2905. Dostupné z: <https://doi.org/10.1080/10412905.1989.9697767>. [cit. 2024-02-07].
- [72] LIRA, Maria; ANDRADE JÚNIOR, Francisco; MORAES, Gustavo; MACENA, Gírlene; PEREIRA, Fillipe et al. Antimicrobial activity of geraniol: an integrative review. online. *Journal of Essential Oil Research*. 2020, roč. 32, č. 3, s. 187-197. ISSN 1041-2905. Dostupné z: <https://doi.org/10.1080/10412905.2020.1745697>. [cit. 2024-02-07].
- [73] SEMMLER, Margit; ABDEL-GHAFFAR, Fathy; SCHMIDT, Jürgen a MEHLHORN, Heinz. Evaluation of biological and chemical insect repellents and their potential adverse effects. online. *Parasitology Research*. 2014, roč. 113, č. 1, s. 185-188. ISSN 0932-0113. Dostupné z: <https://doi.org/10.1007/s00436-013-3641-7>. [cit. 2024-03-25].
- [74] LOUW, Stefan. Recent trends in the chromatographic analysis of volatile flavor and fragrance compounds: Annual review 2020. online. *Analytical Science Advances*. 2021, roč. 2, č. 3-4, s. 157-170. ISSN 2628-5452. Dostupné z: <https://doi.org/10.1002/ansa.202000158>. [cit. 2024-03-19].

- [75] BRATTOLI, Magda; DE GENNARO, Gianluigi; DE PINTO, Valentina; DEMARINIS LOIOTILE, Annamaria; LOVASCIO, Sara et al. Odour Detection Methods: Olfactometry and Chemical Sensors. online. *Sensors*. 2011, roč. 11, č. 5, s. 5290-5322. ISSN 1424-8220. Dostupné z: <https://doi.org/10.3390/s110505290>. [cit. 2024-02-25].
- [76] POOLE, C. F. *Gas chromatography*. 1st ed. Amsterdam: Elsevier, 2012. ISBN 978-0-12-385540-4.
- [77] RAMYA, R.; ADUR ALAKNANDA, J.; RAAJASUBRAMANIAN, D.; SRINIVASAN, S.; NARENDRA, K. et al. Weed—An Alternate Energy Source. Online. In: RAMANUJAM, Praveen Kumar; PARAMESWARAN, Binod; BHARATHIRAJA, B. a MAGESH, A. (ed.). *Bioenergy. Energy, Environment, and Sustainability*. Singapore: Springer Nature Singapore, 2023, s. 165-193. ISBN 978-981-99-3001-2. Dostupné z: https://doi.org/10.1007/978-981-99-3002-9_10. [cit. 2024-05-19].
- [78] CAN BASER, K. a ÖZEK, Temel. Analysis of Essential Oils and Fragrances by Gas Chromatography. online. In: *Gas Chromatography*. Elsevier, 2012, s. 519-527. ISBN 9780123855404. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-385540-4.00022-5>. [cit. 2024-03-22].
- [79] BALASUBRAMANIAN, Sundar a PANIGRAHI, Suranjan. Solid-Phase Microextraction (SPME) Techniques for Quality Characterization of Food Products: A Review. online. *Food and Bioprocess Technology*. 2011, roč. 4, č. 1, s. 1-26. ISSN 1935-5130. Dostupné z: <https://doi.org/10.1007/s11947-009-0299-3>. [cit. 2024-03-22].
- [80] LUBES, Giuseppe a GOODARZI, Mohammad. Analysis of Volatile Compounds by Advanced Analytical Techniques and Multivariate Chemometrics. online. *Chemical Reviews*. 2017, roč. 117, č. 9, s. 6399-6422. ISSN 0009-2665. Dostupné z: <https://doi.org/10.1021/acs.chemrev.6b00698>. [cit. 2024-03-22].
- [81] THEODORIDIS, G; KOSTER, E.H.M a DE JONG, G.J. Solid-phase microextraction for the analysis of biological samples. online. *Journal of Chromatography B: Biomedical Sciences and Applications*. 2000, roč. 745, č. 1, s. 49-82. ISSN 03784347. Dostupné z: [https://doi.org/10.1016/S0378-4347\(00\)00203-6](https://doi.org/10.1016/S0378-4347(00)00203-6). [cit. 2024-03-24].
- [82] GOSTELOW, P.; PARSONS, S.A. a STUETZ, R.M. Odour measurements for sewage treatment works. online. *Water Research*. 2001, roč. 35, č. 3, s. 579-597.

ISSN 00431354. Dostupné z: [https://doi.org/10.1016/S0043-1354\(00\)00313-4](https://doi.org/10.1016/S0043-1354(00)00313-4).
[cit. 2024-03-03].

[83] BRATTOLI, Magda; DE GENNARO, Gianluigi; DE PINTO, Valentina;
DEMARINIS LOIOTILE, Annamaria; LOVASCIO, Sara et al. Odour Detection
Methods: Olfactometry and Chemical Sensors. online. *Sensors*. 2011, roč. 11, č. 5,
s. 5290-5322. ISSN 1424-8220. Dostupné z: <https://doi.org/10.3390/s110505290>.
[cit. 2024-03-03].

[84] PLUTOWSKA, Beata a WARDENCKI, Waldemar. Application of gas
chromatography–olfactometry (GC–O) in analysis and quality assessment of
alcoholic beverages – A review. online. *Food Chemistry*. 2008, roč. 107, č. 1, s.
449-463. ISSN 03088146. Dostupné z:
<https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2007.08.058>. [cit. 2024-02-25].

7 SEZNAM ZKRATEK

GC – plynová chromatografie

GC/MS – plynová chromatografie s hmotnostní detekcí

GC/FID – plynová chromatografie s plamenově ionizační detekcí

GC/O – plynová chromatografie s olfaktometrickou detekcí

SPME – mikroextrakce tuhou fází (solid phase micro extraction)

OU – jednotky zápachu (odour units)

m/z – poměr hmotnosti a náboje

ISQLT – označení použitého systému GC/MS pracujícího v módu jednoduchého kvadrupólu

8 SEZNAM OBRÁZKŮ

| | |
|--|----|
| Obrázek 1: Korálovec ježatý [3] | 7 |
| Obrázek 2: Kultivace korálovce ježatého v plastových lahvích [10]..... | 8 |
| Obrázek 3: Deska z materiálu na bázi houbového mycelia [27]..... | 11 |
| Obrázek 4: Chemická struktura geraniolu a jeho stereoizomeru nerolu [68] | 15 |
| Obrázek 5: Schéma plynového chromatografu [78] | 17 |
| Obrázek 6: SPME vlákno [82] | 18 |
| Obrázek 7: Schéma plynového chromatografu s olfaktometrickým detektorem [85] | 19 |
| Obrázek 8: Houbové pelety s aplikovaným odpuzovačem divoké zvěře..... | 20 |
| Obrázek 9: Hmotnostní spektrum geraniolu – knihovna NIST..... | 23 |
| Obrázek 10: Naměřené hmotnostní spektrum standardu roztoku geraniolu | 24 |
| Obrázek 11: Ukázka chromatogramu analyzovaného vzorku v módu scan m/z 40-350 a sim 69,93 pro vzorek č.17..... | 24 |

SEZNAM GRAFŮ

| | |
|---|----|
| Graf 1: Kalibrační křivka standardu geraniolu | 23 |
| Graf 2: Závislost vyprcháání geraniolu na čase odběru | 25 |

SEZNAM TABULEK

| | |
|--|----|
| Tabulka 1: Schéma odběru a umístění vzorků..... | 24 |
| Tabulka 2: Kalibrační řada geraniolu | 25 |
| Tabulka 3: Podmínky chromatografické analýzy | 25 |

SEZNAM PŘÍLOH

Příloha I: Tabulky s naměřenými plochami píků včetně odchylek měření

PŘÍLOHY

Příloha I: Tabulky s naměřenými plochami píků včetně odchylek měření

Příloha I – tabulka 1: Průměrné hodnoty naměřených ploch píků a směrodatné odchylky pro jednotlivé vzorky při skenu m/z 69

| Vzorek | Den odběru | Prostředí | Průměrná hodnota naměřených ploch píků |
|--------|------------|-----------------------|--|
| 1 | 1 | referenční vzorek | $2,48 \cdot 10^9 \pm 5,85 \cdot 10^7$ |
| 2 | 3 | otevřený v laboratoři | $1,45 \cdot 10^9 \pm 2,67 \cdot 10^7$ |
| 3 | | venkovní vzorek | $3,69 \cdot 10^9 \pm 4,44 \cdot 10^7$ |
| 4 | | referenční vzorek | $2,91 \cdot 10^9 \pm 6,39 \cdot 10^7$ |
| 5 | 7 | otevřený v laboratoři | $1,09 \cdot 10^9 \pm 5,80 \cdot 10^7$ |
| 6 | | venkovní vzorek | $3,80 \cdot 10^9 \pm 1,16 \cdot 10^8$ |
| 7 | | referenční vzorek | $3,13 \cdot 10^9 \pm 2,40 \cdot 10^7$ |
| 8 | 14 | otevřený v laboratoři | $1,56 \cdot 10^9 \pm 7,76 \cdot 10^7$ |
| 9 | | venkovní vzorek | $3,55 \cdot 10^9 \pm 1,10 \cdot 10^8$ |
| 10 | | referenční vzorek | $3,43 \cdot 10^9 \pm 8,67 \cdot 10^7$ |
| 11 | 21 | otevřený v laboratoři | $8,91 \cdot 10^8 \pm 5,73 \cdot 10^7$ |
| 12 | | venkovní vzorek | $3,74 \cdot 10^9 \pm 1,24 \cdot 10^8$ |
| 13 | | referenční vzorek | $2,48 \cdot 10^9 \pm 1,64 \cdot 10^7$ |
| 14 | 30 | otevřený v laboratoři | $1,26 \cdot 10^9 \pm 4,25 \cdot 10^7$ |
| 15 | | venkovní vzorek | $2,96 \cdot 10^9 \pm 1,34 \cdot 10^8$ |
| 16 | | referenční vzorek | $2,40 \cdot 10^9 \pm 9,33 \cdot 10^7$ |
| 17 | 60 | otevřený v laboratoři | $3,92 \cdot 10^8 \pm 9,70 \cdot 10^6$ |
| 18 | | venkovní vzorek | $6,99 \cdot 10^8 \pm 1,50 \cdot 10^7$ |
| 19 | | referenční vzorek | $1,12 \cdot 10^9 \pm 4,11 \cdot 10^7$ |
| 20 | 90 | otevřený v laboratoři | $2,08 \cdot 10^8 \pm 2,68 \cdot 10^6$ |
| 21 | | venkovní vzorek | $7,21 \cdot 10^8 \pm 2,23 \cdot 10^7$ |
| 22 | | referenční vzorek | $6,32 \cdot 10^8 \pm 6,66 \cdot 10^6$ |

Příloha I – tabulka 2: Průměrné hodnoty naměřených ploch píků a směrodatné odchylky pro jednotlivé vzorky při skenu m/z 93

| Vzorek | Den odběru | Prostředí | Průměrná hodnota naměřených ploch píků |
|---------------|-------------------|-----------------------|---|
| 1 | 1 | referenční vzorek | $4,85 \cdot 10^8 \pm 1,58 \cdot 10^7$ |
| 2 | 3 | otevřený v laboratoři | $2,34 \cdot 10^8 \pm 5,98 \cdot 10^6$ |
| 3 | | venkovní vzorek | $7,88 \cdot 10^8 \pm 1,57 \cdot 10^7$ |
| 4 | | referenční vzorek | $5,80 \cdot 10^8 \pm 2,85 \cdot 10^7$ |
| 5 | 7 | otevřený v laboratoři | $1,68 \cdot 10^8 \pm 4,72 \cdot 10^6$ |
| 6 | | venkovní vzorek | $8,00 \cdot 10^8 \pm 1,53 \cdot 10^7$ |
| 7 | | referenční vzorek | $6,28 \cdot 10^8 \pm 1,66 \cdot 10^7$ |
| 8 | 14 | otevřený v laboratoři | $2,51 \cdot 10^8 \pm 1,76 \cdot 10^7$ |
| 9 | | venkovní vzorek | $7,15 \cdot 10^8 \pm 1,43 \cdot 10^7$ |
| 10 | | referenční vzorek | $7,16 \cdot 10^8 \pm 2,92 \cdot 10^7$ |
| 11 | 21 | otevřený v laboratoři | $1,35 \cdot 10^8 \pm 8,97 \cdot 10^6$ |
| 12 | | venkovní vzorek | $7,97 \cdot 10^8 \pm 1,90 \cdot 10^7$ |
| 13 | | referenční vzorek | $4,66 \cdot 10^8 \pm 8,93 \cdot 10^6$ |
| 14 | 30 | otevřený v laboratoři | $1,93 \cdot 10^8 \pm 6,91 \cdot 10^6$ |
| 15 | | venkovní vzorek | $5,64 \cdot 10^8 \pm 1,84 \cdot 10^7$ |
| 16 | | referenční vzorek | $4,43 \cdot 10^8 \pm 1,88 \cdot 10^7$ |
| 17 | 60 | otevřený v laboratoři | $5,93 \cdot 10^7 \pm 3,19 \cdot 10^6$ |
| 18 | | venkovní vzorek | $1,09 \cdot 10^8 \pm 4,08 \cdot 10^6$ |
| 19 | | referenční vzorek | $1,91 \cdot 10^8 \pm 1,06 \cdot 10^7$ |
| 20 | 90 | otevřený v laboratoři | $3,10 \cdot 10^7 \pm 1,95 \cdot 10^5$ |
| 21 | | venkovní vzorek | $1,37 \cdot 10^8 \pm 9,87 \cdot 10^5$ |
| 22 | | referenční vzorek | $1,19 \cdot 10^8 \pm 6,66 \cdot 10^6$ |