

Česká zemědělská univerzita v Praze  
Fakulta agrobiologie, potravinových a přírodních zdrojů  
Katedra kvality zemědělských produktů



Antioxidační aktivita léčivých, aromatických a kořeninových rostlin  
pěstovaných ekologickým a konvenčním způsobem  
Antioxidant activity of medicinal, aromatic and culinary herbs from  
organic and conventional farming

Diplomová práce

Autor práce: Monika Sabolová

Vedoucí práce: doc. Ing. Lenka Kouřimská, Ph.D.

2012

## **Prohlášení**

Prohlašuji, že jsem diplomovou práci na téme „Antioxidační aktivita léčivých, aromatických a kořeninových rostlin pěstovaných ekologickým a konvenčním způsobem“ vypracovala samostatně a použila jen pramenů, které cituji a uvádím v seznamu literatury.

V Praze dne: .....

## **Poděkování**

Ráda bych poděkovala doc. Ing. Lence Kouřomské, Ph.D. za odborné vedení a cenné rady při zpracovávání diplomové práce a za její trpělivost kterou mně a mé práci věnovala.

Dále můj dík patří paní Blance Dvořákové, Marku Kubíčkoví, Ing. Ivě Roubičkové, Ing. Martinu Koudelovi, Ph.D., Ing. Janovi Táborskému a Ing. Pavlu Kloučkovi, Ph.D. za jejich ochotu a pomoc při pěstování bylin a rady v průběhu jejich analýzy v laboratoři.

## Souhrn

Snaha návratu k přírodě má svůj dopad i v potravinářském průmyslu a v zemědělství. Lidé dávají přednost přirozeným antioxidantům, které vnímají jako méně nebezpečné pro zdraví než syntetické antioxidanty. Byliny jsou jako přirozené antioxidanty velice vhodné díky produkci látek (sekundárních metabolitů), které mají antioxidační účinek a lze je snadno použít jako antioxidanty potravin. Umocněním snahy o přirozenost může být i preference produktů ekologického zemědělství. Kromě toho mohou rostliny v ekologickém zemědělství být ve větším stresu (nesmí se používat pesticidy, jsou minimálně hnojeny a pouze organickými hnojivy, aj.) a mohly by produkovat více sekundárních metabolitů pro svoji ochranu.

Antioxidační aktivita vodných extraktů dobromysli, oregana a máty, které pocházely z ekologického a konvenčního způsobu pěstování byla stanovena za použití metody zhášení DPPH radikálu a zároveň byl stanoven celkový obsah fenolů, které patří mezi sekundární metabolity rostlin s významnou antioxidační aktivitou. Pro stanovení účinnosti bylin v tuku byl použit Schaalův test. Stanovovaly se čerstvé i sušené byliny ze dvou sklizní. Jelikož se na antioxidační aktivitě významně podílí i složky silic byla provedena jejich chromatografická analýza.

Žádná z bylin pocházející z ekologického zemědělství neměla statisticky významně větší antioxidační aktivitu než její konvenční forma. Narušení pletiv rostlinného materiálu, ke kterému dochází při sušení, způsobilo lepší uvolnění účinných látek, a tím i vyšší antioxidační aktivitu vodných extraktů sušených bylin. Extrakty bylin měly odlišné chování v hydrofilním a lipofilním prostředí. Nejlepším antioxidantem ve vodném prostředí byla máta a pro substrát obsahující tuk bylo ideální oregano. Chování bylin v jednotlivých typech substrátu významně závisí na jejich stavu tzn., jestli se jedná o čerstvou nebo sušenou bylinu. Vzhledem k tomuto faktu je pro hydrofilní substrát nejvhodnější čerstvá dobromysl, která je ale celkově nejslabším antioxidantem. Významný antioxidační účinek především sušeného oregana je dán vysokým obsahem karvakrolu a thymolu v jeho silici.

**Klíčová slova:** antioxidační aktivita, ekologické zemědělství, dobromysl obecná, řecké oregano, máta klasnatá

## Summary

The constant attempting of a comeback to the nature has its impact in food industry and agriculture. People prefer natural antioxidants that are considered as less dangerous to health than synthetic antioxidants. Herbs are very suitable as natural antioxidants due to the production of substances (secondary metabolites) that have antioxidant effect and can be easily used as food antioxidants. The reason for strengthening of nature may be the rising preferences of products in ecological agriculture. Apart from this, plants cultured in the ecological agriculture are more stressed (pesticide free, minimal fertilization, only with organic manure etc.) so they could produce more secondary metabolites for their protection.

Antioxidant activity of aqueous extract of two cultivars of oregano (*Origanum vulgare* L. and *Origanum heracleoticum* L.) and mint (*Metha spicata* L.) that came from ecological and conventional farming was measured by using DPPH radical scavenging method. Content of phenols, which belong to the group of secondary metabolites with significant antioxidant function, was measured as well. The effect of the herbs stored in fat under the Schaal test conditions was monitored. Both fresh and dried herbs of two harvests were monitored and tested. Essential oils components play an important role in antioxidant activity of herbs and therefore – their chromatographic analysis was carried out.

None of the herbs produced by ecological agriculture had statistically higher antioxidant activity than its conventional form. Dislocation of plant tissue, which occurs during drying process, caused a greater release of active substances and therefore higher antioxidant activity of aqueous extract of dried herbs. The herb extracts behaved differently in hydrophilic and lipidophilic matrices. Mint was the best antioxidant in an aqueous medium and *O. heracleoticum* L. was ideal for medium containing fat. Behaviour of plants strongly depends on their state, which means that it is important whether they are fresh or dried. Based upon this, fresh *O. vulgare* L. acts as the best substrate for hydrophilic substrate, but it is the weakest antioxidant from the group of samples. The considerable antioxidant effect of dried *O. heracleoticum* is caused by high content of carvacrol and thymol in its essential oils.

**Keywords:** antioxidant activity, ecological agriculture, oregano, Greek oregano, mint

## Obsah

1. Úvod	7
2. Cíl práce	8
3. Přehled literatury	9
3.1. Antioxidanty a antioxidační aktivita	9
3.1.1. Oxidační reakce	9
3.1.1.1. Fáze oxidačních reakcí	9
3.1.1.2. Oxidační stabilita tuků	9
3.1.1.3. Inhibice oxidace	10
3.1.2. Volné radikály a oxidační stres	10
3.1.2.1. Původ volných radikálů	10
3.1.2.2. Působení volných radikálů na lidský organismus	11
3.1.2.3. Jaké volné radikály známe	11
3.1.3. Oxidační stres	11
3.1.4. Antioxidanty	12
3.1.4.1. Použití antioxidantů	12
3.1.4.2. Rozdělení antioxidantů	13
3.1.4.3. Antioxidační aktivita	15
3.1.5. Metody stanovení antioxidantů	16
3.1.5.1. Extrakce	16
3.1.5.2. Stanovení celkové antioxidační aktivity	17
3.1.5.3. Stanovení oxidace lipidů	18
3.1.5.4. Další metody	19
3.2. Léčivé, aromatické a kořeninové rostliny	20
3.2.1. Co je bylinka a co je koření	20
3.2.2. Význam léčivých, aromatických a kořeninových rostlin	20
3.2.3. Významné obsahové látky rostlin	21
3.2.3.1. Rozdělení obsahových látek	21
3.2.3.1.1. Primární metabolity	21
3.2.3.1.2. Sekundární metabolity	22
3.2.4. Aromatické, vonné a chuťové látky	26
3.2.5. Využití bylin a koření v kuchyni a dalších oblastech	26

3.2.6. Sběr	27
3.2.7. Konzervace	28
3.2.7.1. Sušení	28
3.2.7.2. Mražení	28
3.2.7.3. Další možnosti konzervace	29
3.2.8. Antioxidační aktivita bylin a koření	29
3.2.9. Vybrané byliny čeledi hluchavkovitých ( <i>Lamiaceae</i> L.)	30
3.3. Ekologické a konvenční zemědělství	34
3.3.1. Ekologické zemědělství	34
3.3.1.1. Léčivé, aromatické a kořeninové rostliny v ekologickém zemědělství	35
3.3.2. Ekologické verus konvenční zemědělství	37
3.3.2.1. Hnojení	39
3.3.2.2. Choroby a škůdci	40
3.3.3. Bioprodukty a biopotraviny	40
4. Experimentální část	42
4.1. Materiál	42
4.2. Metody	43
4.2.1. Sušina	43
4.2.2. Příprava extraktů	43
4.2.3. Metody stanovení antioxidační aktivity	44
4.2.4. Stanovení silic	46
5. Výsledky	49
5.1. Sušina	49
5.2. Antioxidační aktivita a celkový obsah fenolů	49
5.3. Antioxidační účinnost bylin ve vepřovém sádle	51
5.4. Statistické hodnocení	57
5.5. Silice	59
6. Diskuse	64
7. Závěr	69
8. Seznam literatury	70

## 1. Úvod

„Necht' potrava je vaším lékem a lék potravou.“ Hippokratés

Antioxidantům přijímaným v potravinách je v posledních letech věnována velká pozornost odborníků na výživu i výrobců potravin, Kvasnička a Ševčík (2009). Podle Hřebíčkové (2009) látky s antioxidačním působením uplatňují svoje protektivní účinky při zpomalování či úplné inhibici oxidačních reakcí, které jsou navozeny působením volných radikálů. Antioxidanty mají také schopnost opravit molekuly, které již byly napadeny radikály. Ochucovadla a koření jsou nejčastěji přidávané ke zlepšení nejen chuti, ale také pro trvanlivost, protože mnohé z nich jsou účinné jako antioxidanty. Použití syntetických antioxidantů bude pravděpodobně v budoucnu zredukována a budou nahrazeny přírodními nebo přírodně - identickými antioxidanty (Pokorný et al., 2001).

Léčivými, aromatickými a kořeninovými rostlinami se v posledních letech intenzivně zabývá řada lidí, a to na všech možných úrovních (farmaceuti, lékaři a léčitelé, milovníci čaje, kuchaři, dekoratéři, obyčejní lidé se zájmem o přírodu a zdravý životní styl). Nejde s jistotou jen o dočasný módní trend, ale podprahovou touhu po něčem přirozeném, co člověka provází po celé věky a bylo mu vždy k užitku (Mitáček a kol., 2010). Pěstování aromatických bylinek vysoce ceněných pro jejich kulinářské i léčivé účinky má prastarou tradici a dodnes si ji velice vážíme (Gradwell et al., 2008). Moderní kuchaři přidávají byliny do pokrmů spíše pro příchut' než jako léčebný či konzervační prostředek, avšak dřívější generace je používaly z nutnosti. V dobách, kdy neexistovaly mrazničky, se uskladněné potraviny postupně kazily a silná aromata, která se snadno získávala z bylin, byla zapotřebí k zamaskování „prošlých“ složek pokrmu. Vedle těchto historických důvodů sloužily byliny také pro některé další účely: povzbuzovaly chuť, napomáhaly zažívání nebo chránily potraviny před zkažením (Clevely, 2001). Stonky a listy různých druhů rostlin jsou používány pro přípravu výluhů, extraktů, apod. Mnoho druhů této skupiny přísad do potravin jsou aktivními antioxidanty, hlavně proto, že obsahují fenolové sloučeniny (Zeuthen and Bogh-Sorensen, 2003).

Podle Fallera and Fialho (2010) - jsou za organické potraviny považovány potraviny s vyšší antioxidační kapacitou, protože tato forma zemědělského hospodaření může vyvolat syntézu sekundárních látek, jako jsou například polyfenoly. Pokorný et al. (2001) taky uvádí, že produkty ekologického zemědělství z důvodu méně příznivých podmínek, obvykle obsahují více fenolických a podobných stresových faktorů a méně tuku než konvenční běžné produkty.



## 2. Cíl práce

Některé sekundární metabolity zejména flavonoidy, fenolové sloučeniny, éterické oleje aj., produkované léčivými, aromatickými a kořeninovými rostlinami mají antioxidační účinek. Jejich množství závisí na různých faktorech. Nejedná se jen o genetický základ rostliny, ale produkce sekundárních metabolitů může být ovlivněna i lokalitou, klimatem, hnojením, používáním ochranných prostředků, aj. Způsob pěstování může rovněž ovlivnit produkci látek s antioxidačním účinkem. Vzhledem k těmto poznatkům je vědeckou hypotézou práce předpoklad, že ekologický způsob pěstování rostlin zvyšuje produkci sekundárních metabolitů, které jsou odpovědné za větší antioxidační aktivitu takto pěstovaných rostlin.

Na základě vědecké hypotézy byl stanoven cíl diplomové práce.

V teoretické části šlo o zpracování současných poznatků o antioxidační aktivitě vybraných bylin a metodách, kterými ji lze stanovit; o sloučeninách s antioxidační aktivitou a jejich výskytu, obsahu, účincích, použití a o vlivu ekologického způsobu pěstování na antioxidační aktivitu bylin.

V experimentální části byla srovnávána antioxidační aktivita vybraných rostlin z čeledi *Lamiaceae* a sledován vliv ekologického způsobu pěstování na její hodnoty. K tomu byla použita metoda zhášení volných radikálů DPPH, byl stanoven celkový obsah fenolů a Schaalovým testem se sledovala stabilita tuků vůči oxidaci. V silicích pěstovaných rostlin byly sledovány změny složení látek s antioxidačními účinky.

### **3. Přehled literatury**

#### **3.1. Antioxidanty a antioxidační aktivita**

##### **3.1.1. Oxidační reakce**

Oxidace je obecně považována za nejčastěji se vyskytující reakci zhoršující tuky, vede k žluknutí, vzniku off-flavour, polymeraci a dalším reakcím způsobujícím snížení trvanlivosti a výživové hodnoty potravin (Pokorný et al., 2001). Mnoho potravin rostlinného původu obsahuje lipidy které jsou vysoce nenasycené (Aruoma and Halliwell, 1991). Míra autooxidace roste s rostoucí nenasyceností mastných kyselin (MK). Při procesu žluknutí dochází k oxidaci násobných vazeb nenasycených MK kyslíkem. Žluknutí tuků je rozklad tuků způsobený atmosférickým kyslíkem, mikroorganismy, katalyzovaný např. kovy, světlem, teplem, enzymy nebo volnými radikály. Nežádoucími produkty oxidace jsou zejména aldehydy a ketony (Štěrbová, 2009). Prooxidanty snižují stabilitu tuků během skladování (Zeuthen and Bogh-Sorensen, 2003).

##### **3.1.1.1. Fáze oxidačních reakcí**

Oxidační reakce probíhají ve třech fázích: iniciační (vysoce reaktivní molekuly mastných kyselin obsahující nespářený elektron, volné radikály), propagační (atmosferický kyslík reaguje z nespářeným elektronem a vzniká peroxidový radikál, vysoce reaktivní, reaguje s dalšími nenasycenými mastnými kyselinami a vznikají hydroperoxy, dochází k řetězovým reakcím a roste množství volných radikálů, které se akumulují v tuku) a terminační (Coultate, 2009). Vznik oxidovaných polyenových MK je jednou ze základních reakcí v lipidových změn v přírodě (Velíšek and Cejpek, 2008).

##### **3.1.1.2. Oxidační stabilita tuků**

Potravininy obsahují tuky a další lipidy, terpeny a větvené uhlovodíky, které jsou nestabilní při dlouhém skladování a intenzivním tepelném zpracování. Nenasycené a zvláště pak polynenasycené MK vázané v lipidech jsou následně oxidovány různými mechanismy a vznikají volné radikály, které jsou převedeny na hydroperoxy, z kterých mohou vznikat alkoholy, ketony a další sloučeniny (Zeuthen and Bogh-Sorensen, 2003). Důležitými vlastnostmi pokrmových tuků na smažení je stálost aroma a oxidační stabilita. Na rychlost autooxidace má rozhodující vliv složení tuku, resp. druh triacylglycerolů. Oxidační stabilita slouží také k posouzení probíhajících procesů během výroby a skladování olejů. Faktorem

ovlivňující oxidační stabilitu je i vlhkost prostředí. Oxidace tuků probíhá rychleji v závislosti na světle než na teplotě (Štěbrová, 2009).

### **3.1.1.3. Inhibice oxidace**

Oxidaci můžeme inhibovat (omezit) různými metodami zahrnujícími ochranu před kyslíkem, použití nižší teploty, inaktivaci enzymů katalyzujících oxidaci, redukci oxidačního tlaku a použití vhodného obalu. Další možnosti ochrany je použití specifických přídatných látek (aditiv) – antioxidantů (Pokorný et al., 2001). Odolnost tuků vůči autooxidaci závisí na druhu a koncentraci antioxidantu (Štěbrová, 2009).

### **3.1.2. Volné radikály a oxidační stres**

Kvasnička a Ševčík (2009) definují volné radikály jako látky s nepárovými elektrony, které jsou přirozenou složkou lidského organismu. Podle Hřebíčkové (2009) jsou volné radikály vysoce reaktivní látky – mohou to být atomy i molekuly. Vysoká reaktivita je dána nepárovým elektronem ve valenční vrstvě. Volné radikály mají vysokou snahu si chybějící elektron doplnit na elektronový pár a tak napadají jiné, dosud „zdravé“ molekuly. Pokud normální částice reaguje s volným radikálem odstartuje se řetězec reakcí, na jehož konci je vznik sloučenin, které nemají formu radikálu. Podle Anonym (2010) nejsnažší způsob, jak s volnými radikály bojovat, spočívá v konzumaci přirozených antioxidantů. Ty dokážou zastavit vznik nových volných radikálů, které už vznikly.

#### **3.1.2.1. Původ volných radikálů**

Původ volných radikálů může být vnitřní (endogenní), kdy je jejich produkce spjata například s vyšší hladinou krevního cukru nebo svalovou námahou. Mezi vnější faktory jejich vzniku se řadí především kouření, konzumace alkoholu a nevhodná tepelná úprava potravin, vysoký příjem kalorií, UV záření, znečištěné životní prostředí a mnohé další (Hřebíčková, 2009). Volné radikály mohou v organismu vznikat také reakcemi pro – oxidačních látek přijímaných potravou, případně mohou být stabilní volné radikály přítomné již v potravinách (ozařované potraviny – produkty radiolýzy, žluklé tuky apod.) (Kvasnička a Ševčík, 2009).

### **3.1.2.2. Působení volných radikálů na lidský organismus**

Volné radikály v organismu plní nezbytnou funkci, ale pokud dojde k jejich nadprodukcí, může to mít až fatální následky (Hřebíčková, 2009). Jejich působení je na jedné straně pozitivní (např. hubení mikroorganismů, ničení nádorových buněk). Na druhé straně volné radikály poškozují biomolekuly, tvoří z mastných kyselin vázaných zejména v lipoproteinech biologických membrán hydroperoxydy, oxidují bílkoviny, poškozují DNA. Volné radikály jsou pokládány za spolupůvodce řady onemocnění, např. vzniku diabetu, neurodegenerativních chorob (Parkinsonovy a Alzheimerovy choroby), poruch imunity, podporují stárnutí a virové infekce. Velmi významnou roli hrají volné radikály zejména v případech aterosklerózy a při vzniku rakovinných onemocnění aj. (Kvasnička a Ševčík, 2009).

### **3.1.2.3. Jaké volné radikály známe**

Biologický poločas rozpadu volných radikálů je  $10^{-5}$  až  $10^{-9}$  sekundy, ale vytvářejí stabilní metabolické produkty: reaktivní kyslíkové částice (ROS, např. singletový kyslík, peroxid vodíku, hydroxylový aniont, hydroxylový radikál, superoxidový aniont), reaktivní dusíkaté částice (RNS, např. oxidy či peroxidy dusíku), reaktivní halogenové částice (RHS, např. chlór, chlornan) nebo reaktivní sírné částice (RSS, např. thioly, thiolové radikály) (Kvasnička a Ševčík, 2009). Pro detekci volných radikálů se užívá různých metod, hlavně se jedná o spektrofotometrii, ERS spektroskopie (electron spin resonance) (Aruoma and Halliwell, 1991).

### **3.1.3. Oxidační stres**

Oxidační stres nastává podle Kvasničky a Ševčíka (2009) v případě porušení rovnováhy mezi množstvím vytvářených nebo přijímaných volných radikálů a antioxidant, kdy převládnu v organismu radikály. Hřebíčková (2009) uvádí, že oxidační stres je spojován s řadou chorob. Na molekulární úrovni dochází i k oxidačnímu poškození lipidů, sacharidů, proteinů a DNA. Mohou mít karcinogenní a mutagenní účinky. Vyšší hladiny radikálů byly nalezeny u pacientů s psychickým onemocněním (např. deprese) a také u pooperačních stavů a při úrazech. Ideální poměr volných radikálů a antioxidantů je 1:3. Kvasnička a Ševčík (2009) doplňují, že zdravý organismus si za normálních okolností dokáže udržovat rovnováhu mezi oxidačními (prooxidanty) a antioxidačními (antioxidanty) procesy sám.

### 3.1.4. Antioxidanty

Antioxidant je jakákoliv látka, která je přítomná v nízkých koncentracích ve srovnání s oxidovatelným substrátem a významně oddaluje nebo zamezuje oxidaci tohoto substrátu. Oxidovatelným substrátem může být téměř vše obsažené v potravinách a živých organismech, např. proteiny, lipidy, sacharidy a DNA (Kvasnička a Ševčík, 2009). Pavlíkova a kol. (2008) uvádí, že některé antioxidanty působí jako prevence před útoky volných radikálů, jiné mají za úkol přerušovat řetězové reakce volných radikálů tím, že je přeměňují ve stabilní prvky. Antioxidanty mají podle Hřebíčkové (2009) také schopnost opravit molekuly, které již byly napadeny radikály. Podle Velíška a Hajšlové (2009) jsou antioxidanty látky, které prodlužují údržnost potravin tak, že je chrání před znehodnocením způsobeném oxidací, jejímž projevem je žluknutí přítomných tuků a dalších, snadno se oxidujících složek potravin (např. vonných látek). Pokorný et al. (2001) uvádí, že látky, které chrání potraviny před autooxidací, mohou být nazývány inhibitory oxidace a jenom látky které brání oxidačním reakcím s volnými radikály, bývají nazývány antioxidanty.

Antioxidanty zpomalují rozvoji off – flavour prodloužením indukční periody. Antioxidant po skončení této periody má tendenci být neúčinný ve zpomalování rozvoje žluknutí (Pokorný et al., 2001). Velíšek a Hajšlová (2009) uvádí, že antioxidanty interferují s procesem oxidace lipidů a jiných oxilabilních sloučenin tak, že:

- reagují s volnými radikály (pak jsou to antioxidanty primární) nebo redukují vzniklé hydroperoxydy (antioxidanty sekundární)
- váží do komplexů katalytický působící kovy
- eliminují přítomný kyslík.

#### 3.1.4.1. Použití antioxidantů

Antioxidanty jsou látky používané jako aditiva potravin (Coultrate, 2009). Hlavním důvodem používání antioxidantů pochází hlavně ze vzniku příchutí rozkladu během skladování potravin. Nejelegantnějším způsobem, jak zabránit oxidaci je odejmout všechny kyslík z potravin během výrobního procesu a z obalového materiálu. To je však možné jenom v omezené míře (Aruoma and Halliwell, 1991). Antioxidanty jsou používány v široké škále potravinových produktů a jejich aktivita závisí na teplotě, složení potravin, struktuře potravin a přístupu kyslíku. Bylo zjištěno, že více polární antioxidanty jsou více aktivní v čistých tucích a nepolární antioxidanty neaktivnější v polárním substrátu (emulze olej ve vodě) pro které byl zaveden pojem “polární paradox”. Tím lze alespoň částečně vysvětlit

variaci antioxidační aktivity pro různé bylinky a koření v různých potravinách. Obecně stabilizační faktory získané z koření v emulzi byly několikrát větší než v sádle (Pokorný et al., 2001). Podle Gramaza–Michalowské et al. (2011) rancimat a Oxidograph testy ukázaly, že antioxidační potenciál etanolového extraktu bylinek (česnek, majoránka, máta peprná, rozmarýna a tymián) na sádle byl vyšší než v slunečnicovém oleji. Kvasnička a Ševčík (2009) uvádí, že určitý antioxidant může chránit před oxidačním poškozením v jednom systému, ale ne v jiném, nebo může dokonce v jiném systému sám působit jako prooxidant.

#### 3.1.4.2. Rozdělení antioxidantů

Skupina antioxidantů zahrnuje poměrně širokou škálu látek, které jsou odlišné nejen chemickou strukturou, ale i původem a konečně i samotným působením v organismu. Látky s antioxidačním potenciálem můžeme dělit z hlediska jejich rozpustnosti na lipofilní - rozpustné v tucích (např. vitamin E) a hydrofilní - rozpustné ve vodě (např. vitamin C) (Hřebíčková, 2009). Antioxidační enzymový systém (kataláza, superoxiddismutáza – SOD, glutathionperoxidáza – GSH) hraje důležitou úlohu při obraně buněk proti oxidativnímu poškození (Volf a Andrs, 2008). Hung – bo et al. (2008) uvádí, že vyšší rostliny tvoří enzymatické i neenzymatické antioxidanty. Poskytují základní informace o redoxním stavu buňky a regulují expresi genu spojeného s biotickými a abiotickými stresovými reakcemi na optimalizaci obrany a přežití.

Podle struktury rozlišujeme antioxidanty fenolové (tokoferoly, fenolové antioxidanty a galláty, ale také řada dalších sloučenin přítomných v potravinách, koření a v jiných přírodních materiálech), endioly (askorbová a erythorbová kyselina, jejich soli a jiné deriváty) aj. Velíšek (2002b).

Podle funkce dělíme antioxidanty na **primární**, které ukončují řetězovou reakci volných radikálů a působí rovněž v reakci s radikály lipidů. Jsou účinné ve velmi nízkých koncentracích. Ve vyšších koncentracích se mohou stát prooxidanty (Kvasnička a Ševčík, 2009). K primárním antioxidantům náleží všechny legislativou povolené látky (askorbová a erythorbová kyselina a jejich deriváty, tokoferoly, fenolové antioxidanty, galláty) a také fenolové kyseliny (skořicové kyseliny, jejich estery, glykosidy a amidy). Primárními antioxidanty jsou i mnohé flavonoidní látky např. velmi účinné jsou chalkony (Velíšek a Hajšlová, 2009). Synergické antioxidanty působí různými mechanismy. Fenolové

antioxidanty lze použít v nižších koncentracích, pokud se do potraviny současně přidá synergista. Synergisté rovněž vytvářejí kyselé prostředí, které zvyšuje stabilitu primárních antioxidantů. **Sekundární** neboli preventivní antioxidanty fungují tak, že rozkládají peroxidy lipidů na stabilní konečné produkty (Kvasnička a Ševčík, 2009). K sekundárním antioxidantům se řadí např. peptidy obsahující cystein (např. glutathion), methionin, lipová kyselina a další přirozeně se vyskytující sloučeniny. Ze syntetických sloučenin se jako sekundární antioxidant používal dilaurylester 3,3'-thiodopropionové kyseliny (Velíšek a Hajšlová, 2009).

Rozdělení antioxidantů podle zdroje: **Syntetické** antioxidanty: monofenolové antioxidanty BHA, BHT a difenol TBHQ jsou málo polární antioxidanty. Polárnější antioxidanty jsou estery gallové kyseliny a také estery askorbové kyseliny. Polárními antioxidanty jsou askorbová a erythorbová kyselina a jejich soli (Velíšek a Hajšlová, 2009). Daleko méně často se v některých zemích používají antioxidanty s dusíkatým heterocyklem (např. dihydropyridinové nebo dihydrochinolinové sloučeniny), hlavně pro vyšší toxicitu (Velíšek, 2002b). Syntetické antioxidanty mají oproti přirozeným řadu výhod. Méně ovlivňují organoleptické vlastnosti potraviny, mají vyrovnanou účinnost, jsou obvykle levnější a často je známa jejich bezpečnost (nezávadnost). Většina **přírodních** antioxidantů je rostlinného původu. Přírodní antioxidanty se vyskytují ve všech částech rostliny – dřevo, kůra, stonky, listy, plody, kořeny, plody, květy, pyl a semena. K jejich nevýhodám patří: jsou obvykle dražší; jsou méně účinné; pokud se nečistí jsou vlastnosti různých přípravků proměnlivé; bezpečnost (nezávadnost) není často známa, mohou ovlivňovat barvu, chuť a vůni výrobků, do kterých se přidávají (Kvasnička a Ševčík, 2009). Existuje všeobecný trend nahrazovat používání syntetických antioxidantů při zpracování potravin přírodních oxidačních inhibitorů nebo přednostní používání složek, které přirozeně disponují antioxidační aktivitou (Pokorný, 1991). Například podle výsledků Hosseinimehra et al. (2007) má kvercetin silnou antioxidační aktivitu srovnatelnou se syntetickým BHT. Konzumenti mají se syntetických chemikálií obavy a preferují přírodní antioxidanty jako víc přijatelné pro lidské tělo (Zeuthen and Bogh-Sorensen, 2003). Přírodní antioxidanty nejsou samy o sobě toxikologicky bezpečnější jako ten samý typ syntetického antioxidantu, ale u přírodních antioxidantů, které byly nedílnou součástí lidské stravy v průběhu mnoha staletí, se předpokládá, že riziko při výrobě potravin je sníženo dlouholetou praxí (Aruoma and Halliwell, 1991). Důležitými skupinami přírodních antioxidantů jsou polyfenoly, flavonoidy, tokoferoly a tokotrienoly (Zeuthen and Bogh-Sorensen, 2003). Běžná západní denní strava obsahuje asi 1 g přírodních

antioxidantů, i když nebyly do potravin přidány žádné přírodní antioxidanty pro stabilizaci tuků. Jejich hlavními zdroji jsou obiloviny, ovoce, zelenina a nápoje (Pokorný, 2007). Po staletí se k prodloužení trvanlivosti potravin používají převážně různé byliny a koření. Zvláště účinné jsou rozmarýna a šalvěj, ale i další, např. oregano, tymián, hřebíček, kurkuma, aj. (Velíšek a Hajšlová, 2009). Přidání antioxidantní frakce rozmarýny a šalvěje mělo například pozitivní účinky na zpomalení oxidace lipidů v slunečnicovém oleji (Babovič, 2010).

### **3.1.4.3. Antioxidační aktivita**

Pavlíková a kol. (2008) uvádí, že antioxidační aktivita (AA) je míra, jakou jsou antioxidanty schopné eliminovat volné radikály.

Antioxidační aktivita závisí na mnohých faktorech jako je složení lipidů, teplota, tlak kyslíku, přítomnost jiných antioxidantů a dalších složek potravin aj. (Pokorný et al., 2001). Také podle Zeuthen and Bogh–Sorensen (2003) závisí antioxidační aktivita na složení potravin a dalších nelipidových složkách potravin.

V některých případech není nutné sledovat koncentraci jednotlivých antioxidantů, ale relevantní je teprve až jejich vzájemný protioxidační potenciál – celková síla všech antioxidačních látek (Hřebíčková, 2009). Celková antioxidační kapacita je termín charakterizující souhrnnou koncentraci všech látek s antioxidačními účinky ve vzorku (Macuchová, 2010). Martinec a Zloch (2009) antioxidační kapacitu definují jako souhrnou fyzikálně chemickou vlastnost extraktů, která je podmíněná oxidačně-redukčními aktivitami všech přírodních látek v nich přítomných a projevuje se ve svém výsledku a za přesně definovaných podmínek redukčním (antioxidačním) účinkem. Podle Brewera (2011) se na antioxidační aktivitě nejčastěji podílejí fenolové kyseliny (gallová, kávová, rosmarýnová), fenolové diterpeny (rosmarol, karnosol), flavonoidy (kvercetin, katechin, narigin) a éterické oleje (eugenol, karvakrol, thymol, mentol).

Míra antioxidační kapacity je závislá na řadě faktorů. Jednotlivé antioxidanty jsou totiž rozdílně stabilní vůči vnějším podmínkám (teplota, vzdušná oxidace, délka skladování) (Hřebíčková, 2009).



### 3.1.5. Metody stanovení antioxidantů

Ke stanovení antioxidantů se používají nejčastěji metody spektrofotometrické (optická metoda), HPLC a plynová chromatografie (GC). Chromatografické metody: GC–FID (plynová chromatografie s plamenovým ionizačním detektorem) např. pro analýzu antioxidantů tuků. MEKC (micelární elektrokinetická chromatografie) možno aplikovat při analýze antioxidantů ve víně (určení zemědělského původu vín). Vysoce účinná separační metoda je kapilární zónová elektroforéza (CZE) použitelná například pro stanovení antioxidantů v kakau (Čížková, 2009). Podle Davidka (1992) se pro stanovení BHA a BHT používá spektrofotometrické stanovení. Pro stanovení propylgallátu se využívá titrační metoda.

#### 3.1.5.1. Extrakce

Před stanovením antioxidantů se musí nejprve vhodným způsobem antioxidanty izolovat z původního obvykle tuhého vzorku. K izolaci se nejčastěji používají různé metody extrakce (např. extrakce v Soxhletově extraktoru, vysokotlaká extrakce rozpouštědlem, extrakce s využitím ultrazvuku nebo extrakce nadkritickou tekutinou) (Čížková, 2009). Extrakce je separační metoda využívaná k izolování (separaci) dokazované nebo stanovované složky z analyzované směsi a k odstranění interferujících komponent analyzovaného roztoku (Pavlíková a kol., 2008). Extrakcí se získávají materiály pro aromatizaci potravin, kterými jsou různé extrakty, výluhy a výtahy (Velíšek, 2002a).

Pavlíková a kol. (2008) použili různé metody extrakce při stanovení antioxidantních aktivit bylin: metody ultrazvukové lázně, ultrazvukové sondy a vysokotlaká extrakce rozpouštědlem, která byla optimalizována. Všechny použité extrakční techniky poskytly vysoké hodnoty antioxidantních aktivit analyzovaných bylin, z nichž nepatrně vyšší procento inhibice volného radikálu vykazovala vysokotlaká extrakce rozpouštědlem. Výsledky Mandana et al. (2011) ukázaly, že použití superkritické extrakce oxidem uhličitým je perspektivní postup získávání extraktu s vysokou antioxidantní aktivitou s listů *M. spicata*. Yanishlieva and Marinova (2006) zkoumaly kinetiku akumulaci peroxidů při oxidaci triacylglycerolů slunečnicového oleje při 100 °C v přítomnosti různých koncentrací hexanových, ethylacetátových a etanolových extraktů z *Melissa officinalis* L., *Mentha piperita* L., *Mentha spicata* L., *Ocimum basilicum* L., *Origanum vulgare* L. a *Satureja hortensis* L. Etanolové extrakty byly nejaktivnější v inhibici autoxidace. Serrano et al. (2011) posuzovali antioxidantní a antimikrobiální aktivitu extraktů (vodný, etanolový) *Satureja montana*. Nejsilnější antioxidantní kapacitu vykazoval vodný extrakt. Podle Kaurovic et al.

(2011) obecně platí, že etylacetátové, n- butanolové a vodné extrakty z bazalky i oregana mají silnou antioxidační aktivitu. Antioxidační účinek metanolových extraktů lze obecně přičíst přítomnosti rosmarýnové a kávové kyseliny. Rababah et al. (2010) zkoumali vliv teploty při extrakci a zjistili, že pro extrakci fenolových sloučenin je nejvhodnější metanol o teplotě 60 °C a pro extrakci antokyanů je vhodné použít destilovanou vodu o teplotě 60 °C. Khalil et al. (2007); Upadhyaya et al. (2011) uvádí, že antioxidační aktivita roste spolu se stoupající koncentrací extraktu.

### **3.1.5.2. Stanovení celkové antioxidační aktivity**

Antioxidační kapacita je významným faktorem v jakostním hodnocení potravin z hlediska jejich pozitivního působení na lidské zdraví. Byla proto vypracována škála laboratorních metod pro stanovení antioxidační kapacity (Hřebíčková, 2009). Jsou principiálně odlišné a postupně se vyvíjí jejich modifikace. Jejich základním smyslem je charakterizovat antioxidační aktivitu v podmínkách blízkých fyziologickému prostředí (Sochor a kol., 2010).

Měly by se rozlišovat dva pojmy – antioxidační kapacita a reaktivita. Antioxidační kapacita poskytuje informaci o délce trvání antioxidačního účinku, reaktivita charakterizuje počáteční dynamiku průběhu antioxidačního procesu při určité koncentraci antioxidantu. Pro vzájemné porovnávání antioxidačních účinků, byl v souvislosti s analýzou potravinových vzorků zaveden pojem celková antioxidační aktivita (*total antioxidant activity/capacity – TAA/TAC*) (Kubištová, 2010). Pro stanovení TAA lze použít fyzikálně chemické metody (elektronová spinová rezonance, stanovení redox potenciálu, chemoluminiscence) a chemické metody (ABTS metoda, DPPH metoda, ORAC metoda, FRAP metoda, metoda s Folin–Ciocalteovým činidlem) (Čížková, 2009). Všeobecně jsou metody rozděleny do dvou základních skupin, protože antioxidanty mají schopnost působit různými mechanismy: metody založené na likvidaci kyslíkových a syntetických radikálů a metody založené na likvidaci hydroxylových radikálů (Macuchová, 2010). Chemické metody spočívají v použití činidel, která poskytují s volnými radikály barevné produkty, jejichž vzniku brání ve vzorku obsažené antioxidanty. Intenzita zbarvení se měří nejčastěji spektrofotometricky a rozdíl v hodnotách absorbcí měřeného a slepého vzorku pak udává obsah látek s antioxidačními účinky. TAA vzorků se hodnotí parametrem TEAC (The Trolox Equivalent Antioxidant Capacity). Představuje antioxidační kapacitu vzorku ekvivalentní definovanému množství syntetického derivátu Troloxu (6-hydroxy-2,5,7,8,-tetramethylchroman-2-

karboxylová kyselina). Pro čisté látky je TEAC definována jako milimolární koncentrace Troloxu vykazující stejnou antioxidační aktivitu jako testovaná látka při koncentraci  $\text{mmol}\cdot\text{l}^{-1}$ . Pro směsi TEAC udává koncentraci Troloxu ( $\text{mmol}\cdot\text{l}^{-1}$ ), která je rovna antioxidační aktivitě vzorku (Kubištová, 2010).

Při použití metody ORAC (Oxygen Radical Absorbance Capacity) se v testovaném systému generují kyslíkové radikály a hodnotí se schopnost testované látky zpomalit nebo zastavit radikálovou reakci. Detekce je založena na sledování úbytku fluorescence  $\beta$ -fykoerytrinu ( $\beta$ -PE). Na principu redoxní reakce je založena i metoda FRAP (Ferric Reducing Antioxidant Power), kde se využívá schopnosti antioxidantů redukovat železité komplexy (např.  $\text{Fe}^{\text{III}}$ -TPTZ (2,4,6-tri(2-pyridyl)-1,3,5-triazin), které jsou téměř bezbarvé a po redukci vytváří barevné produkty; základem metody ABTS je generování radikálu kationu  $\text{ABTS}^{\cdot+}$  a jeho následné zhášení antioxidanty, které se chovají jako donory vodíku. Sleduje se spektrofotometricky na základě změn absorpčního spektra  $\text{ABTS}^{\cdot+}$ . Metoda využívající zhášení stabilního volného radikálu DPPH (1,1-difenyl-2-(2,4,6-trinitrofenyl)hydrazyl) je považována za jednu ze základních metodik pro posouzení antiradikálové aktivity čistých látek ale i různých směsných vzorků. Je technicky velmi jednoduchá, protože v podstatě vyžaduje pouze použití UV/VIS spektrofotometru. U směsných vzorků se radikálová aktivita někdy vyjadřuje v ekvivalentech askorbové kyseliny nebo s využitím kalibrační řady v jednotkách standardu Troloxu. DPPH (difenylpikrylhydrazyl) je stabilní syntetický volný radikál, který se vyznačuje svým typickým intenzivně fialovým zbarvením, které je způsobeno nepárovým elektronem na dusíku hydrazylu, a maximální měřitelnou absorbancí v rozmezí 515 – 520 nm (Kubištová, 2010).

### 3.1.5.3. Stanovení oxidace lipidů

Metody stanovení oxidace potravin se dle stanovované substance dělí do pěti skupin:

- absorpce kyslíku
- spotřeba počátečního substrátu
- tvorba volných radikálů
- tvorba primárních produktů oxidace
- tvorba sekundárních produktů oxidace.

Metody měření oxidace potravin zahrnují stanovení změny hmotnosti tuku, různé metody pro měření absorpce kyslíku, chromatografické metody, metody infračervené spektrometrie, jodometrické titrační metody, metody stanovení peroxidového čísla a anisidinového čísla, spektrometrie konjugovaných dienů a stanovení thiobarbiturového čísla. Dalšími technikami sledování oxidace tuků jsou kolorimetrie, nukleární magnetická rezonance (NMR) a Rancimat test. K vyhodnocení žluklosti potravin se využívá i senzorická analýza (Štěbrová, 2009).

Metoda nárůstu hmotnosti je jedna z nejstarších metod testování oxidace tuků. Je jednoduchá a nevyžaduje náročné vybavení laboratoře. Metodou nárůstu hmotnosti je možné testovat účinnost antioxidantu (Štěbrová, 2009). Metoda podle Schaala spočívá v tom, že se lipidy skladují při zvýšené teplotě za přítomnosti vzduchu a stanoví se ve vhodných intervalech stupeň oxidace (Davídek, 1992). Metoda je vhodná pro jedlé tuky a oleje neobsahující vodu nebo jiné nelipidické složky. Stanovení stability tuku proti autooxidaci metodou aktivního kyslíku je založena na zahřívání tuku na konstantní teplotu a oxidaci proudem vzduchu. Stanoví se doba potřebná k dosažení určeného stupně oxidace (Davídek a kol., 1981). Rancimat test je moderní, počítačově řízený analytický přístroj pro stanovení oxidační stability tuků, uváděné jako index stability oleje (Oil Stability Index, OSI), potravin a kosmetiky. Výhodami jsou spolehlivost, jednoduché operace, odhad skladovatelnosti produktů a široká databáze systému. Principem měření je oxidace vzorku procházejícím vzduchem ve vyhřívaném reaktoru (Štěbrová, 2009).

#### **3.1.5.4. Další metody**

Některé metody mohou být použity k hodnocení současného stavu vzorku oleje nebo potravin: senzorická analýza; plynová chromatografie GC; SPME mikroextrakce na tenké vrstvě. Peroxidové číslo (PV) – koncentrace peroxidů, stanovení konjugovaných dienů (měření absorpce 233 – 234 nm), koncentrace anisidinu (měří se absorpce při 350 nm), koncentrace kyseliny thiobarbiturové (TBA), stanovení konjugovaných oxidačních produktů, infračervená spektroskopie (FTIR – fourier transform infrared spectroscopy). Prediktivní metody (vzorky jsou pravidelně sledovány za podmínek urychlené oxidace): diferenční skenovací kalorimetrie (DSC – differential scanning calorimetry), Oxipres<sup>TM</sup> (metoda pro zkoušení oxidační stability různých produktů, např. brambůrky, majonéza aj.), Oxidograph<sup>TM</sup> (Pokorný et al., 2001).

### **3.2. Léčivé, aromatické a kořeninové rostliny**

Podle Hardingové (2005) se odhaduje, že lidé používali bylinky už před 60 000 lety. Valíček (2005) uvádí, že naše i cizokrajné koření bylo od pravěku až do konce 19. století především významným léčivým prostředkem. Koření má význam v životě člověka především proto, že sama nutriční hodnota stravy nestačí k zajištění dobré výživy. Čerstvé, sušené nebo jinak upravené části rostlin vyznačující se intenzivní charakteristickou vůní a chutí našly použití jako koření pro ochucování pokrmů (Velíšek, 2009).

#### **3.2.1. Co je bylinka a co je koření**

Již od dávných dob dělili lidé rostliny na dvě skupiny: užitečné a neužitečné, přičemž označení užitečná rostlina představuje nejvšeobecnější definici bylinek (Bremnessová, 2004). Podle Hardingové (2005) se bylinka obvykle definuje jako rostlina, která může být užitečná, buď přímo jako potrava, nebo k ochucování pokrmů či léčivým účinkem. Vermeulen (2004) uvádí, že nelze vytýčit hranici mezi bylinkami a kořením jelikož je koření definováno jako části rostlin, které se v malých množstvích přidávají do pokrmu, aby se zvýraznila jeho chuť a vůně, což platí i pro mnoho bylin. Když se řekne koření, vzpomeneme si v první řadě na kuchyňské koření, které dává vůni a chuť pokrmům. Podle Smalla (2006) rostou byliny v mírném klimatu, zatímco koření je tropického původu. Jiný způsob rozlišuje koření jako pronikavější a více aromatické. Podle vyhlášky 331/1997 Sb., ve znění pozdějších předpisů se kořením rozumí části rostlin jako kořeny, oddenky, kůra, listy, nať, květy, plody, semena nebo jejich části, v nezbytné míře zpracované a užívané k ovlivňování chutě a vůně potravin. Podle Valíčka (2005) koření patří do skupiny pochutin. Jako koření se využívá přes 200 druhů rostlin z různých částí světa.

#### **3.2.2. Význam léčivých, aromatických a kořeninových rostlin**

Mimořádný význam bylin v průběhu historie má několik vysvětlení. Především rostliny obsahují množství látek účinných v medicíně, čehož lidstvo využívalo a využívá odedávna. Druhý důvod, proč byly bylinky v minulosti tak vysoce ceněny, souvisel s nedostatkem chladicích zařízení. Bylinky skýtaly možnost, jak zamaskovat nežádoucí projevy zkažené potravy (Small, 2006). Nejrůznější aromatické bylinky, používané při vaření, mají v čerstvém stavu vysoký obsah minerálních solí a vitamínů, a jsou proto vynikající nejen k dochucení a provonění pokrmů, ale mají též výborné výživné a terapeutické vlastnosti (Anonym, 2010). V současné době význam a spotřeba koření relativně poklesly. V některých případech se setkáváme se syntetickými výrobky (vanilka) (Valíček, 2005).

### **3.2.3. Významné obsahové látky rostlin**

Za své aroma a léčivé vlastnosti vděčí byliny chemickým látkám v rostlině obsaženým (Small, 2006). Skupina koření, je velmi specifická mimo jiné i tím, že ve většině případů obsahuje aktivní látky, které mají i léčivé účinky (Valíček, 2005). Účinné látky bývají jen zřídka zastoupeny zcela rovnoměrně ve všech částech rostliny (Rubcov a Beneš, 1990). Bulánková (2005) uvádí, že složení komplexu obsahových látek a jejich celkový obsah se mění během vývoje rostliny i v průběhu vegetace. Vermeulen (2004), uvádí, že látky které z rostlin využíváme, jsou téměř vždy určeny k její ochraně. Mnoho rostlin tvoří látky, které hmyz odpuzují. Obsahují bezpočet látek, které vznikly kdysi jako obrana. Podle Allardice et al. (2009) je pravděpodobné, že v mnohých bylinkách působí více aktivních složek najednou, tím dochází k synergickému efektu, který je mnohem účinnější než individuální působení kterékoli samostatné složky. Podle Bremnessové (2004) představuje list nejčastěji využívanou část bylinky. Díky chemickému složení je možno z listů připravit množství kulinárních aromatických přísad, parfémů i léčiv.

Vermeulen (2004) upozorňuje, že byliny obsahují látky, které nás mohou uzdravit, nebo z nich můžeme onemocnět. Small (2006) řadí mezi nebezpečné látky v rostlinách např. toxiny, karcinogeny (alkaloidy), teratogeny (nikotin, kofein), aj.

#### **3.2.3.1. Rozdělení obsahových látek**

Pletiva rostlinného organismu se skládají z vody a sušiny. Sušinu tvoří organické a minerální (anorganické) látky. Organické látky vznikající metabolismem rostlin se běžně klasifikují jako primární nebo sekundární produkty metabolismu (Bulánková, 2005).

##### **3.2.3.1.1. Primární metabolity**

Primární metabolity jsou vysokomolekulární látky přítomné ve všech rostlinách. Jsou podmínkou zachování jejich života a proto se s nimi setkáváme vždy (Valíček, 2005). Jsou považovány za nezbytné pro zajištění základních životních funkcí rostliny a slouží jako potravina nebo stavební látka (Bulánková, 2005). Tvoří převážnou část těla rostlin. Pro člověka jsou významné především jako nezbytné součásti potravy (bílkoviny, cukry, tuky) a zdroj látek důležitých k životu (minerální látky, vitamíny) (Rubcov a Beneš, 1990). Patří sem i vláknina (soubor vedlejších neboli balastních látek) (Valíček, 2005); enzymy (organické katalyzátory nevyhnutelné při biochemických funkcích) (Bremnessová, 2004), organické kyseliny (účastní se metabolismu buňky) (Bulánková, 2005), které způsobují

kyselou chuť bylin (např. kyselina jablečná, citronová, šťavelová a vinná (Small, 2006), vitaminy a minerály, které jsou obsažené ve všech bylinách a zvyšují jejich vitalitu (Hardingová, 2009). Vitaminy jsou součástí enzymů a regulačních bílkovin, účastní se energetických pochodů v buňce (Bulánková, 2005). Podle Valíčka (2005) je obsah různých vitaminů v jednotlivých druzích rostlin značně rozdílný. Minerální látky obsažené v rostlinách jsou zapotřebí pro tvorbu podpůrných tkání, syntézu enzymů a činnost nervového systému člověka (Kothe, 2007).

### **3.2.3.1.2. Sekundární metabolity**

Sekundární metabolity jsou látky nízkomolekulárního charakteru. Nenacházejí se u všech rostlin a vznikají v různých částech. Jejich množství a kvalita kolísají, nejen v závislosti na genetickém základu rostliny (druhu a odrůdě), ale také na podmínkách prostředí, v němž rostlina roste, sklízí se a uchovává. Právě tyto sloučeniny ovlivňují chuť, vůni, barvu a kvalitu koření (Valíček, 2005). Podle současných vědeckých poznatků nejsou sekundární metabolity pro existenci rostlin nezbytné (Mitáček a kol., 2010). Jsou odvozeny z metabolismu primárních látek. (Bulánková, 2005). Mnohé mají antibiotické účinky (Small, 2006). Z hlediska účinků na lidský organismus jsou mnohem významnější než produkty primárního metabolismu (Rubcov a Beneš, 1990). Mohou intenzivně ovlivňovat naše tělesné funkce (Bulánková, 2005). Taxonomická různorodost rostlin se projevuje v obrovské chemické různorodosti sekundárních metabolitů, kterých je známo přes 50 000 chemických struktur (Smirnoff, 2005).

**Alkaloidy** jsou dusíkaté látky. Patří mezi ně vůbec nejsilnější rostlinné jedy (např. kurarové alkaloidy, námelové alkaloidy, opiové alkaloidy, atropin, nikotin aj.) (Rubcov a Beneš, 1990). Obecně jsou alkaloidy hořké (Small, 2006). Jsou velmi v celé rostlinné říši, zvláště u čeledi *Liliaceae*, *Papaveraceae*, *Solanaceae*. Účastní se metabolických procesů, zvláště oxidoredukčních reakcí (Bulánková, 2005). Jsou neúčinnější ze všech rostlinných látek, které působí na nervovou soustavu (Hardingová, 2005). Z alkaloidů se vyrábí řada důležitých léků (Bremnessová, 2004). Obecně jsou alkaloidy hořké (Small, 2006).

**Glykosidy** jsou látky, které možno specifickými enzymy rozložit na cukr a terapeuticky aktivní, často toxický „aglykol“ (Bremnessová, 2004). Obsah glykosidů v droze je značně závislý na správné době sklizně a vhodném způsobu sušení. Podle necukerné složky se dělí

na řadu typů. Nejdůležitější jsou srdeční glykosidy, fenolické glykosidy (např. arbutin v brusnice), antrachinonové glykosidy, thioglykosidy, flavonoidy, kumariny aj. (Rubcov a Beneš, 1990). Jsou obsaženy v mnohých bylinách, jako je například heřmánek pravý a bazalka pravá (Hardingová, 2009). V rostlině mají ochrannou funkci, některé mají bakteriocidní a mykocidní účinky (antibiotika, fytoncidy), jiné jsou barvivy (anthokyany). Většinou jsou hořké chuti nebo specifické vůně. Nacházejí uplatnění v potravinářství. Některé jsou velmi jedovaté (Bulánková, 2005). Podporují proces vstřebávání potravy, zklidňují dýchání a regulují srdeční činnost (Valíček, 2005).

**Saponiny** jsou emulgační, často dráždivé nebo toxické glykosidy podobné mýdlu a chemicky blízké steroidům, které jsou základem pohlavních hormonů (Bremnessová, 2004). Při smíchání s vodou vytvářejí pěnu. Jsou rozlišovány dvě různé skupiny saponinů: triterpenové a steroidní saponiny (Kothe, 2007). Jsou přítomny v pískavici, tymiánu, aj. (Valíček, 2005).

**Hořčiny** jsou rozmanité složky, které jsou hořké a podporují chuť k jídlu (Bremnessová, 2004). Patří převážně do skupiny glykosidů. Jsou zastoupeny například v zázvoru, routě, majoránce a puškvorci (Valíček, 2005).

**Pryskyřice** jsou lepkavé substance, nerozpustné v organických rozpouštědlech (Bremnessová, 2004). Jsou to exkrety, konečné produkty metabolismu, vylučují se do pryskyřičných kanálků a dutin. Pryskyřice se vyskytují u čeledí *Apiaceae*, *Fabaceae* a *Pineaceae* (Bulánková, 2005).

**Sliz** je viskózní hmota, z které se ve vodě vytvoří gel (Bremnessová, 2004). Slizy snižují citlivost chuťových nervů, a proto se přidávají k lékům s nepříjemnou chutí (Kothe, 2007).

**Fytoncidy** je souborný název pro látky, jež vytváří vyšší rostliny jako obranu vůči cizím organismům. Mají antibiotické účinky na bakterie, viry a plísně. Fytoncidní účinky mají také silice, třísloviny, glukokininy a steroidy (Rubcov a Beneš, 1990). Jsou obsaženy hlavně v cibuli, česneku a křenu, ale také v koriandru, rozmarýně, tymiánu a dalších druzích (Valíček, 2005).



**Barviva** (např. anthokyaniny, karoten, lykopen, xantofyl, chlorofyl) jsou chemicky velmi rozdílné látky, z nichž některé mají i antimikrobiální, dezodorační a léčebné účinky. Kromě chuťových a aromatických látek jsou to rovněž barviva, která zlepšují vzhled potravin, a tím podporují i chuť k jídlu (Valíček, 2005). Barviva v rostlinách mají i antioxidační potenciál a to velice významný (Hřebíčková, 2009).

**Fenoly.** Fenolové sloučeniny jsou charakteristické přítomností alespoň jednoho aromatického kruhu s připojenou jednou nebo více hydroxylovými skupinami (Velíšek and Cejpek, 2008). Fenoly jsou součástí prakticky všech potravin. Jsou velice heterogenní skupinou sloučenin, z nichž se některé uplatňují jako vonné látky (jednoduché fenoly); chuťové látky (jednoduché fenoly i tzv. polyfenoly); přírodní barviva (chinony, flavonoidy, xanthony aj.). Fenoly, které se v potravinách uplatňují jako vonné a chuťové látky, jsou buď primárními složkami některých silic nebo vznikají jako sekundární aromatické látky při zpracování potravin. Z jednoduchých alkylfenolů, vyskytujících se jako složky silic, jsou významné např. karvakrol a thymol. Vyskytují se například v tymiánové silici. Nejvýznamnější reakcí přirozených fenolů v potravinách je oxidace. Některé fenoly vykazují výrazné biologické účinky. Oceňují se zejména jejich antimikrobní a antioxidační vlastnosti. Závažná je jejich fototoxicita a především jejich estrogenní a karcinogenní účinky (Velíšek, 2009).

**Třísloviny** jsou fenolické látky, rozpustné ve vodě a srážející bílkoviny, alkaloidy a těžké kovy. Mají svíravé a antibakteriální účinky (Rubcov a Beneš, 1990). Do této skupiny patří i takzvané polyfenoly, příbuzné přírodním barvivům flavonoidům. Mají antioxidační a antimutagenní účinky a jsou zastoupeny například katechinem nebo resveratolem. Obsahuje je dobromysl, bazalka, tymián, rozmarýna, aj. (Valíček, 2005). Dělí se na hydrolyzovatelné (polygalloylestery) a kondenzované (flavolany). Vyskytují se ale i jejich kombinace (komplexní třísloviny) (Velíšek, 2002b). Třísloviny se ve větším množství obvykle vyskytují v určitých rostlinných orgánech – listech, plodech, kůře nebo kmenu (Bulánková, 2005). Vyznačují se výraznými ochrannými účinky na pokožku, kterou chrání před infekcemi a pomáhají zmírňovat záněty (Hardingová, 2009). Už od předhistorie byly používány k činění zvířecích usní, kde reagovaly s proteiny na povrchu (Small, 2006).

**Flavonoidy** jsou rostlinná barviva, která se nacházejí hlavně v rostlinných pletivech se žlutým nebo bílým zbarvením (Hardingová, 2005). Vyskytují se hlavně ve formě glykosidů. Jsou špatně rozpustné ve vodě a mají významné biologické účinky, proto jsou též známy jako bioflavonoidy. Mezi nejrozšířenější patří kvercetin, kemferol, rutin a hesperidin (Valíček, 2005). Podle Allardice et al. (2009) mají antioxidační vlastnosti. Volf a Andrs (2008) uvádí, že flavonoidy mohou vykazovat antioxidační efekt nejenom přímým zhášením radikálů, ale také nepřímo, to je interakci s různými enzymy a induktivním ovlivněním jejich činnosti nebo i kombinaci obou způsobů, resp. i ovlivněním transdukčních pochodů v buňce. Velíšek (2002b) uvádí, že reakce flavonoidů s kovovými ionty souvisí s antioxidační aktivitou fenolů.

**Silice (éterické oleje).** Společnou vlastností všech éterických olejů je charakteristická vůně, kapalně skupenství a snadná těkavost při nízkých teplotách. Ve vodě jsou nerozpustné, zato se dobře rozpouští v tucích (Kybal a Kaplická, 1988). Éterické oleje jsou tak často zodpovědné za léčivé účinky rostlin Small (2006). Koření dodávají charakteristickou vůni a chuť. Vytvářejí se v protoplazmě buněk a hromadí se ve zvláštních buňkách, kanálcích nebo i chlupcích. V současnosti známe přes 3 000 silic, které se skládají z více než 1 000 látek. U koření jde o nejrozšířenější obsahovou látku, a to především u čeledi hluchavkovitých (*Lamiaceae*), zázvorovitých (*Zingiberaceae*) a miříkovitých (*Apiaceae*) (Valíček, 2005). Hardingová (2009) uvádí, že éterické oleje jsou obsaženy v listech, kořenech, dřevu, slupkách plodů a v bobulích. Podle Saneckiové (1998) jsou listy nejčastějším a nejbohatším zdrojem éterických olejů. Jsou nejjemnější a nejsladší, když je rostlina mladá tzn. až do doby květu. Složení silic se periodicky mění během vegetace a často i během dne. Mitáček a kol. (2010) uvádí, že obsah silice je dán geneticky – je ovlivněn druhem rostliny, odrůdou, stanovištěm, nadmořskou výškou, půdním typem, vydatností srážek, úhrnem slunečního svitu, denní hodinou, vegetační fází rostliny anebo teplotou. Sibley (2008) uvádí, levandule rostoucí v jižní Francii obsahuje mnoho esterů, levandule rostoucí v Bulharsku obsahuje hodně alkoholu, levandule rostoucí v Anglii voní sladčeji. Podle Saneckiové (1998) význam silic pro rostlinu spočívá v jejich ochranné funkci proti chorobám a škůdcům, v jejich vábící funkci pro hmyzí opylovače aj. Podle Rubcova a Beneše (1990) mají rostliny obsahující silice žlučopudný, protinadýmavý a protikřečový účinek a také dezinfikují trávicí trakt, močové cesty, dýchací cest mají uklidňující účinek. Silice se nejvíce používají v potravinářství, kosmetice a farmacii (Bulánková, 2005). Silice aromatických rostlin jsou schopny bránit kažení potravin obsahujících tuk, ke kterému dochází v průběhu jejich skladování

(Viuda–Martos et al., 2010). Podle Bozina et al. (2007) byla pozorována silná inhibice oxidace u silice rozmarýny. Teplo a světlo zrychluje oxidaci, proto je nutné skladovat esenciální oleje v temnu a chladu, v lahvičce s dobře těsnícím uzávěrem (Sibley, 2008).

Podle části rostliny, z které je olej získáván a jakou má kvalitu, se určí metoda extrakce (Bremnessová, 2004). Nejběžnější je parní destilace, lisování nebo macerace (Sibley, 2008). Nověji se využívá tzv. superkritická extrakce a dnes již méně často se k extrakci používají tuky (anfleráž) (Velíšek, 2002a). Pro monoterpeny (při destilaci s vodní parou náchylné na chemické přeměny) nebo k zabránění ztrátám těkavých organických složek (zejména při odstraňování extrakčního činidla) je možno použít mikroextrakci tuhou fází (SPME, Solid Phase Microextraction), která redukuje použití organických rozpouštědel a zkracuje dobu extrakce (Mlejová a kol. 2010).

#### **3.2.4. Aromatické, vonné a chuťové látky**

Éterické oleje (silice), třísloviny a hořčiny, jakož i jiné obsahové látky činí kuchyňské bylinky a koření nepostradatelnými (Braunová–Berharthová, 2005). Podle původu lze sensoricky aktivní látky rozdělit do dvou skupin na primární - ty, které jsou již přítomny v potravinách (potravinářských surovinách) jako produkty sekundárního metabolismu a sekundární – prvotně sensoricky inaktivní, z nichž se sensoricky aktivní látky uvolňují např. působením enzymů nebo vznikají během skladování a zpracování (Velíšek a Hajšlová, 2009).

Vonnými aromatickými sloučeninami jsou obvykle ty s menší molekulou (obsaženy např. v petrželi a celeru). Velké netěkavé aromatické sloučeniny mají obvykle antioxidační vlastnosti. Pálivé látky jsou obsaženy především v pryskyřičných olejích (olejoresinech). Pryskyřičné oleje mohou obsahovat jak siličné látky, tak třísloviny (Small, 2006). Hořké látky, jako jsou alkaloidy, kyanogenní glykosidy, saponiny, produkty degradace glukosinolátů a rostlinné fenoly se řadí mezi přirozeně toxické látky. Primární příčinou trpké, svíravé nebo také adstringentní chuti jsou interakce proteinů slin s některými polymerními fenolovými sloučeninami přítomnými v potravinách rostlinného původu (Velíšek, 2002b).

#### **3.2.5. Využití bylin a koření v kuchyni a dalších oblastech**

Koření dodává jídlu barvu i chuť. Jednou z velkých výhod používání bylinek je nový poznatek, že jídlo můžeme méně solit (Allardice et al., 2009). Intenzita a kvalita vůně a chuti

nezávisí jenom na přítomných vonných látkách, ale také na dalších složkách potravin, především bílkovinách, sacharidech a lipidech, se kterými vonné látky interagují (Velíšek, 2002a). Některé se konzumují v syrovém stavu (v nápojích, v salátech). Bylinky jemné chuti (petržel), se přidávají na konci vaření. Bylinky a kořeniny výraznější chuti (česnek) se přidávají do jídla na začátku vaření (Bremnessová, 2004). Podle Clevelyho (2001) mají čerstvé bylinky ve většině případů lepší chuť i vůni. Allardice et al. (2009) ale uvádí, že v řecké kuchyni se například sušené oregano používá mnohem častěji než čerstvé. Zlaté pravidlo Hayersové (2009) pro nahrazování čerstvých bylinek sušenými praví, že na 1 část sušených bylin dáváme 3 části čerstvé nati. Thomas et al. (2010) uvádí, že marinování a vaření může výrazně snížit antioxidační aktivitu bylinkových omáček, a tím snížit množství antioxidantů dostupné pro spotřebitele z tohoto zdroje.

Léčivé, aromatické a kořeninové rostliny se využívají prakticky ve všech odvětvích potravinářského průmyslu, zejména při úpravě a konzervaci masa a uzenin, v cukrařství, při konzervování zeleniny a ovoce i v likérnictví. Nezastupitelný význam však mají ve farmaceutickém průmyslu, v parfumerii a kosmetice (Valíček, 2005). Druhy obsahující silice, jako anýz, fenykl, hřebíček a máta, jsou tradičně využívány k tomu, aby zamaskovaly nepříjemnou chuť nebo vůni léků (Small, 2006).

### 3.2.6. Sběr

Podle starých bylinářů se určité bylinky musí sbírat v magických okamžicích. Obsah účinných látek se v různých dnech, a dokonce i v různých denních dobách odlišuje (Vermeulen, 2004). Horeličanová (2009) uvádí, že bylinky se sbírají v čase, kdy se v listech nachází nejvíce éterických olejů a silic. Jejich největší obsah je těsně před kvetením nebo na jeho začátku. Později se všechna síla bylinek jako i většina výživných látek soustředí na tvorbu plodů a semen, proto se kvalita listů snižuje. Podle Smalla (2006) je silice z druhé sklizně obecně považována za méně vyzrálou a tím i nižší kvality. Jerkovič et al. (2001) analyzoval kvalitativní a kvantitativní složení éterického oleje *Origanum vulgare* ssp. *hirtum* v závislosti na sezóně sběru. Nejpůsobivější byl nárůst obsahu p-cymenu v srpnu. Za nejvhodnější dobu pro sklizeň Braunová-Bernhartová (2005) doporučuje dopoledne po oschnutí ranní rosy. Podle Wojtowitcze (2004) se při sběru bylinek vyvarujeme přímému styku s kovy, které mohou zásadním způsobem poškodit některé účinné léčivé látky a vitamíny obsažené v rostlinách.

### 3.2.7. Konzervace

Především v místech pěstování se často užívá koření v čerstvém stavu. Toto koření je většinou cennější, neboť obsahuje daleko více biologicky aktivních látek (Valíček, 2005).

#### 3.2.7.1. Sušení

Nejpoužívanějším způsobem konzervace koření je, až na několik výjimek, sušení (Kybal a Kaplická, 1988). Každá rostlina vyžaduje jiný postup a teplotu při sušení, aby se zachovalo co nejvíce účinných látek (Rubcov a Beneš, 1990). Při sušení se mohou ztratit až 2/3 cenných látek (Mitáček a kol. 2010). Rostliny při sušení ztrácí hmotnost, mění se jejich vůně, tvar, vzhled i barva (Viteková, 2008). Celková doba sušení závisí na obsahu vody a na teplotě. Sušíme na tmavém místě, abychom co nejvíce zachovali barvu listů (Hayesová, 2009). Rostliny s jemnými listy, jako jsou máta, bazalka, libeček vyžadují šetrné sušení. Především těkavé éterické oleje se ztrácejí při sušení příliš vysokou teplotou (Grosser, 2004). Jerkovič et al. (2001) uvádí, že všechny vzorky *Origanum vulgare* spp. *hirtum* vykázaly po sušení pokles výnosu éterického oleje ve srovnání s čerstvými rostlinami. Sušení při pokojové teplotě nemělo vliv na kvalitativní složení éterického oleje. Podle Saneckiové (1998) je lepší se sušením začít co nejdříve. Mnoho bylinek si sušením podrží svou chuť, u některých z nich se dokonce jejich chuť i zlepší. Hohenberger (1998) uvádí, že svou vůni sušením ztrácí především nat' okoličnatých rostlin (kopr, petržel) zatímco například dobromysl, majoránka, tymián a máta si vůni zachová. Klimánková et al. (2008) zjistila, že relativní obsah některých seskviterpenů, uhlovodíků a monoterpenových uhlovodíků byl nižší u sušených a mražených listů ve srovnání s čerstvými listy bazalky. Wojtowicz (2004) doporučuje dobře usušené bylinky uskladňovat tak, aby byly chráněné před přímým slunečním světlem, hmyzem a zvlhnutím. Např. i při usušení máty se její charakteristické aroma dobře uchová (Brunsová a Brunsová, 2010).

#### 3.2.7.2. Mražení

Mražení je nejšetrnější způsob domácího i průmyslového konzervování (Valíček, 2005). Horeličanová (2009) uvádí, že bylinky je možno nasekat a vložit do nádoby na výrobu ledu, zalít vodou a zmrazit nebo mladé výhonky vložit do mikrotenového sáčku a dát do mrazáku. Sušením se chuť bylinek zvýrazní zatím co mražením se částečně ztrácí. Díky účinku mrazu se mírně sníží výrazné aroma a chuť, ale barva a obsah vitamínů zůstanou zachovány.

### 3.2.7.3. Další možnosti konzervace

Hodně kuchyňských přísad je schopno absorbovat příchutě rostlin (olej, ocet, med) (Bremenessová, 2004). Podle Braunové-Bernhartové (2005) se k nakládání do oleje hodí například bazalka, oregano, máta, rozmarýna, tymián aj. Hohenberger (1998) popisuje i další možnosti konzervace: konzervace v soli (zachování vůně), tuku, alkoholické výtažky, aj.

### 3.2.8. Antioxidační aktivita bylin a koření

Častá představa veřejnosti, že antioxidanty jsou dostupné jen v tabletkách multivitaminů či ovoci a zelenině, je naštěstí zcela mylná. Zdroje antioxidačních látek jsou různorodé (Hřebíčková, 2009). Yanishlieva et al. (2006) uvádí, že roste zájem o přírodní antioxidanty, které jsou v rostlinách, v důsledku celosvětového trendu směrem k využívání přírodních přísad v potravinách a kosmetice. Moderní výzkumy ukazují, že mnoho kořeninových rostlin je bohatým zdrojem antioxidantů (Coultate, 2009). Podle Plumbo et al. (2007) jsou výtažky z bylin a koření předmětem zájmu v potravinářském průmyslu, protože zpomalují oxidační degradaci lipidů. Antioxidační aktivita koření a kořeninových extraktů je často spojena s antimikrobní aktivitou. Éterické oleje tymiánu a jiných druhů koření účinkují jako ochrana proti oxidaci i mikroorganismům. (Zeuthen and Bogh–Sorensen, 2003).

Srovnání antioxidační aktivity koření je ovlivněno několika faktory. Antioxidační aktivita závisí na krajině, oblasti kde rostlina rostla, substrátu použitým pro hodnocení (Pokorný et al., 2001). Chrpová et al. (2010) uvádí, že srovnání publikovaných výsledků antioxidační aktivity je složité, protože data jsou významně ovlivněna metodou extrakce a analytickou metodou stanovení (např. dobromysl a řecké oregano vykazují nejvyšší aktivitu při použití metody DPPH, ale jejich hodnoty při Schaalově testu jsou blízko průměru. Na druhé straně majoránka a šalvěj se střední aktivitou při použití DPPH byly velice efektivní v sádle). Podle Brewera (2011) ovlivňují extrakční postupy silně složení extraktů, a proto i výsledky antioxidační aktivity. Navíc účinek antioxidantů v potravinářské matici může být výrazně jiný než účinnost čistého extraktu.

Viuda–Martos et al. (2010) sledovali antioxidační aktivitu oregana, hřebíčku, šalvěje, tymiánu a rozmarýnu pomocí více metod. Nejvyšší antioxidační aktivitou disponoval hřebíček. Všechny testované druhy koření jsou pro potravinářství vhodné jako přírodní konzervační činidla. Albano et al. (2012) zkoumali antioxidační aktivitu vodných extraktů

a éterických olejů osmi aromatických bylinek (*Dittrichia viscosa*, *Fenýkl vulgare*, *Salvia officinalis*, *Thymbra capitata*, *Thymus camphoratus*, *Thymus carnosus*, *Thymus mastichina* a *Origanum vulgare*). Vodný extrakt *O. Vulgare* měl nejvyšší obsah fenolů ( $45 \pm 3$  mg GAE / ml) a rovněž nejlepší antioxidační aktivitu ( $IC_{50} = 3 \pm 0$  g / ml). Cioroi and Domitriu (2009) analyzovali vodné extrakty *Ocimum basilicum*, *Origanum vulgare* a *Salvia officinalis*. Extrakt *O. vulgare* vykazoval nejvyšší obsah polyfenolů. Antioxidační aktivita korelovala s celkovým obsahem polyfenolů (Kiselova et al., 2006; Gramza–Michalowska et al., 2011; Albano et al., 2012). Guimarães et al. (2011) poukazují i na synergické efekty, kdy při zkoumání antioxidační aktivity nejvyšších hodnot dosahovaly směsi bylin. Choe and Min (2009) poukazují na závislost aktivity fenolových kyselin (např. kávové) na pH. Fletcher et al. (2005) zjistili, že teplotní stres (30 °C, 4 týdny) výrazně snížil antioxidační aktivitu vysokofenolické *Mentha spicata* (21 – 60 % po jednom týdnu, po 4 týdnech až o 95 %); celkový počet fenolických kyselin (71 – 78 %) a rozpustných fenolů (75 – 78 %). Teplotní stres negativně reguluje biosyntézu kyseliny rosmarýnové a DPPH testy tepelně namáhaných a rostlin bez tepelného stresu ukáží, že kyselina rosmarýnová se významně podílí na antioxidační aktivitě *Mentha spicata*.

Živočišné tuky samy neobsahují přírodní antioxidanty nebo jenom stopy, a proto je použití antioxidantů v nich velmi úspěšné. Byla pozorována velmi dobrá antioxidační aktivita v sádle v případě šalvěže, rozmarýny (Zeuthen and Bogh–Sorensen, 2003). Oxidaci sádla zpomalují i dobromysl, tymián aj. (Pokorný et al., 2001). Chrpová et al. (2010), sledovali vysokou antioxidační kapacitu během autooxidace sádla u šalvěže, majoránky a řeckého oregana. Pizzala et al. (2002) zjistili, že antioxidační aktivita metanolového extraktu *Salvia (officinalis, fruticosa)* je v průměru vyšší než *Origanum (onitum, irdenscendens)*. Některé vzorky šalvěže měly velmi vysokou antioxidační aktivitu, s indukční periodou 10 krát vyšší než u vepřového sádla použitého jako referenční vzorek.

### **3.2.9. Vybrané byliny čeledi hluchavkovitých (*Lamiaceae* L.)**

#### **Máta klasnatá (*Mentha spicata* L.)**

Hardingová (2009) uvádí, že místem jejího původního výskytu je Středomoří. Máta klasnatá má sladší, jemnější chuť než máta peprná a má také jemnější účinek. Podle Smalla (2006) je mátu možné považovat za třetí (po vanilce a citrusech) komerčně nejdůležitější aromatickou rostlinu na světě. Je obecně považována za druhý komerčně nejvýznamnější druh máty (po mátě peprné).

**Popis, rozmnožování a pěstování:** Hardingová (2009) ji popisuje jako vzpřímenou rozvětvenou bylinu se čtyřhrannými lodyhami. Dorůstá do výšky 60 cm. V červenci kvete malými růžovobílými květy. Potřebuje hodně vláhy a polostín nebo stín. Podle Hayersové (2009) se máta rychle rozrůstá, takže je třeba ji buď omezovat, nebo pěstovat v nádobě. Podle Braunové–Bernhartové (2005) mátu umístíme do písčito-humózní až písčito-hlinité půdy, slabě kyselá až neutrální. Sklízíme mladé listy a vrcholky výhonků po celou vegetační sezonu. Podle Smalla (2006) se šíří oddenky i semeny. Její listy jsou vždy lysé, mírně zvlněné s citronově mátovým aroma a hořkou, štiplavou kafrovou chutí. Podle Hardingové (2009) jsou listy vzhledem k obsahu éterického oleje velmi aromatické. Kliková (2000) uvedla, že máta se nesnáší s heřmánkem, naopak v sousedství kopřivy produkuje více éterických olejů.

**Aktivní složky:** Mátová silice je produkována žlaznatými chloupky na listech a stoncích. Ročně je na celém světě vyprodukováno 880 t silice izolované z máty klasnaté (Small, 2006). Podle Saneckiové (1998) jsou chemické rozdíly mezi různými druhy mát ovlivněny ročním obdobím, půdou nebo podnebím. Small (2006) uvádí, že výtěžek silice destilované parou z listů a stonků činí 0,6 %. V silici je obsažen zejména karvon (okolo 56 %). Sloučeniny, které odpovídají za charakteristické aroma, jsou dihydrokumylacetát, dihydrokumylvalerát a dihydrokarvylacetát. Podle Chauhana et al. (2009) GC-MS analýza ukazuje, že karvon (49,62 % -76,65 %) je hlavní součástí silice *Mentha spica* L., následován limonenem (9,57 % -22,31 %), 1,8- cineolem (1,32% -2,62 %), karveol (0,3% -1,52 %). Velíšek (2009) uvádí, že obsahuje i další monoterpeny: dihydrokarvon (3 %), sabinen hydrát (2 %), (-)-menthon. Choudhury et al. (2006) zjistili, že máta klasnatá je antioxidantem, na základě schopnosti dietyleterového extraktu zhášet DPPH radikál.

**Použití jako léčivka:** Podle Smalla (2006) byly listy používány jako lék na dětské choroby, při zvracení během těhotenství, hysterii, horečce a zánětu průdušek. Nálev z listů býval užíván vnitřně k zastavení škytavky, uvolnění plynů při nadýmání, při nechutenství. Vůně máty klasnaté byla považována za uklidňující. Účinky máty pepřné na zažívání jsou přisuzovány zejména mentolu, který není obsažen v mátě klasnaté. **V kuchyni:** Podle Clevelyho (2001) se jedná o nejméně štiplavý, jemně vonící druh; jeden z hlavních druhů používaných často pro kulinářské účely. Hardingová (2005) uvádí, že smíchá-li se s bílým jogurtem, vznikne „riata“, indická přísada k ochlazení úst po pálivém kari. Máta klasnatá



se podle Gradwella (2008) používá na ochucení tabbouleh - libanonského salátu s rajčat, petržele, cibule, máty a pšenice. Saneckiová (1998) doplňuje, že se používá na dochucení tradičních anglických mátových omáček a k jehněčímu masu. Podle Small (2006) je nejoblíbenější mátou v mírné klimatické oblasti, kde je používána pro zdobení nápojů, ovocných pohárů, zeleniny, pro kořenění polévek. **Komerčně:** Některé formy této máty jsou pěstovány komerčně pro silici a to především v USA. Prodávána je sušená rozmělněná nať a extrakty (Small, 2006). Olej z máty klasnaté snášejí lépe ti, kdo jsou citliví na olej z máty peprné, a proto se také častěji zpracovává průmyslově jako dochucovadlo do různých potravin a sladkostí (Vermeulen, 2004). Používá se hlavně do aromat pro žvýkačky, cukrovinky, dále v kosmetice a parfumerii (Bulánková, 2005). Mentol je široce používán v kapkách proti kašli, zdravotních pastilkách a inhalačních směsích určených pro léčení nachlazení a škrábání v krku (Small, 2006).

### **Dobromysl obecná (*Origanum vulgare*)**

Oblastí výskytu dobromysli obecné je jižní Středomoří (Hardingová, 2009). Pro silnou vůni se ve středověku přidávala do slámy, kterou se v té době pokrývaly podlahy (Hardingová, 2005). Podle Kybala a Kaplické (1988) je sice dobromysl typickým kořením italské kuchyně, ale mezi nejpoužívanější koření patří v Mexiku snad proto, že i tam planě roste. Snad je to i proto, že i tam planě roste. Hardingová (2005) uvádí, že listy mají více tymolu než příbuzná majoránka (*Majorana hortensis*), a proto mají výraznější a ostřejší vůni, zvláště z dobromysli pěstované na plném slunci.

**Popis, rozmnožování a pěstování:** Hustě rostoucí vytrvalá bylina dorůstá do výšky 60 cm. Koncem léta vykvétá drobnými růžově nachovými kvítky (Hardingová, 2009). Má dřevnatý podzemek, tmavozelené aromatické listy (Bremnessová, 2004). Podle Bulánkové (2005), kvete v červenci až září. Podle Grossere (2004) pokud je stanoviště chráněné a příliš je nehojíme, přetrvá na něm dobromysl mnoho let. Protože i v přírodě roste na chudých půdách a vyhřátých horských svazích, je odolná a spokojí se s malým množstvím živin. Podle Smalla (2006) se většina odrůd dobromysli obecné množí vegetativně, zachovají se tak aromatické a chuťové vlastnosti rodičovských rostlin. Starší rostliny poskytují chuťově chudší sklizeň. Braunová-Bernhartová (2005) uvádí, že sklízíme mladé výhonky na jaře, nať během doby kvetení (od července do září).

**Aktivní složky:** Dobromysl obsahuje deriváty fenolové kyseliny, flavonoidy, tokoferoly (Pokorný et al., 2001). Silice se nachází v slizničních žlázkách lístků (Hardingová, 2005). Mezi silicemi izolovanými z různých kultivarů dobromysli obecné jsou jisté rozdíly. Největší množství silice se vyrábí z poddruhu *hirtum* (řecké oregano), obsahuje 60 – 80 % karvakrolu. Poddruh *viride* je typický vyšším obsahem thymolu – víc než 50 % (Small, 2006). Podle Norman (2004) je nejvyšší úroveň karvakrolu i u některých mexických oregan. Hlavní složky silice: karvakrol, thymol, p-cymen, karvakryl(methyl)ether, linalool,  $\alpha$  - pinen, bornyl-acetát, kafr (Velíšek, 2009). Mockute et al. (2001) zjistili, že terpenické uhlovodíky tvoří 52,8 – 80,6 % éterických olejů *Origanum vulgare* L. ssp. *vulgare* z 8 lokalit v okolí Vilniusu (Litva). Norman (2004) uvádí, že na relativní koncentraci karvakrolu a thymolu závisí chuť dobromysli obecné. Podle Politeo (2006) všechny „fenolické“ silice obsahující thymol a karvakrol jako hlavní součást a vykazují silnou antioxidační aktivitu. Antivirové účinky dobromysli se podle Anonym (2008) také přičítají působení thymolu a karvakrolu obsažených v silici. Asentio et al. (2011) uvádí, že silice *Origanum vulgare* spp. *vulgare* zpomaluje proces oxidace lipidů v olivovém oleji. Podle Kaurovic et al. (2011) patří extrakt dobromysli nejúčinnější antioxidanty mezi aromatickými rostlinami pokud jde o netěkavé složky. Azizi et al. (2009) zjistili, že v souladu s nedostatkem vody byl nalezen nižší obsah sušiny, ale ne zásadně nižší obsah silic u dobromysli (*O. vulgare* var. *Creticum*, *O. vulgare* ssp. *Hirtum*, *O. vulgare* var. 'Samothrake'). Vyšší hladina dusíku způsobila nárůst produkce sušiny. Z výsledků Dambolena et al. (2010) vyplývá, že složení éterických olejů z populace oregana (*Origanum vulgare* spp. *virens*, *Origanum x applii*, *Origanum x majoricum* a *O. vulgare* spp. *vulgare*) nezávisí na kultivačních podmínkách. Nejvýznamnějším klimatickým faktorem ovlivňujícím celkový obsah fenolů je teplota, přičemž vliv klimatických faktorů na celkový obsah fenolů je 70 %. Celkem bylo v éterickém oleji identifikováno 39 sloučenin (nejvýznamnějším byl thymol).

**Použití jako léčivka:** Ve středověku bývala dobromysl obecná používaná k léčbě onemocnění žaludku a horních cest dýchacích. Dobromysl podporuje chuť k jídlu, upravuje činnost zažívacího ústrojí, tiší křeče, usnadňuje odkašlávání a má mírně povzbuzující účinky (Anonym, 2008). Zevně se listy jako antiseptický obklad aplikují na otoky, ztuhlou šíji a při reumatismu (Bremnessová, 2004). **V kuchyni:** Listy mají pikantní chuť, která se cení především v rajčatových salátech, na pizzách a v omáčkách na těstoviny. Peče se s masem, dokořeňuje pokrmy z hub; přidává se do bylinkových octů, piv a silných nápojů (Vermeulen, 2004). Hayersová (2009) uvádí, že je jednou z bylinek, která při sušení svou

chut' až tak neztrácí. Podle Grosser (2004) se aroma a chuť dobromysli plně rozvinou teprve při zahřátí nebo při vaření. Jelikož je její chuť velmi intenzivní, měla by se přidávat pouze v malých dávkách. **Komerčně:** Dobromysl obecná je i oblíbenou okrasnou trvalkou (Kybal a Kaplická, 1988). Kvetoucí nať je zdrojem červeného barviva (Bremnessová, 2004). Je medonosnou rostlinou (Bulánková, 2005). Olej z dobromysli se zpracovává do parfémů a do kosmetických přípravků (Vermeulen, 2004).

### **Řecké oregano (*Origanum heracleoticum*)**

Je známá jako „řecká dobromysl“ (nebo „turecká dobromysl“, zimní „sladká majoránka“, „černé oregano“). Na světě se ročně vyprodukuje 7,8 t silice z řecké dobromysli. Řecké dobromysli se daří v bohatších půdách než ostatním druhům dobromysli (Small, 2006). Jeho kořenisté listy mají sladkastou vůni. Je to husto olistěná kompaktní rostlina, používaná jako koření, Bremnessová (2004).

## **3.3. Ekologické a konvenční zemědělství**

Ekologické zemědělství je jedno ze širokého spektra metod, které podporují životní prostředí. Systém ekologické produkce je založen na specifických a přísných standardech produkce, kterých cílem je dosažení optimálního agroekosystému, který je sociálně, ekologicky a ekonomicky setrvalý (FAO and WHO, 2007). Podle Komprdy (2007) s myšlenkou ekologického zemědělství ve smyslu šetrného přístupu k životnímu prostředí, včetně přirozených systému chovu nelze než souhlasit.

### **3.3.1. Ekologické zemědělství**

Podmínky hospodaření v ekologickém zemědělství a k němu se vztahující osvědčování a označování bioproduktů, biopotravin a ostatních bioproduktů a výkon kontroly a dozoru nad dodržováním povinností s tím spojených upravuje zákon č. 242/2000 Sb. o ekologickém ve znění pozdějších předpisů.

Mezi povinnosti pěstitelů rostlin v ekologickém patří: obdělávat půdu šetrným způsobem (přímá ochrana rostlin se provádí fyzikálními, biotechnologickými a biologickými metodami jako je pletí, vláčení, plečkování či podryvání. V osevních postupech se střídají plodiny odolnější vůči plevelům s plodinami méně odolnými. Mělce kořenící rostliny se střídají s hluboce kořenícími. Plodiny trpící stejnými škodlivými činiteli se zařazují v dostatečném časovém odstupu podle druhu škodlivého činitele). Smí se používat pouze

hnojiva a další látky povolené pro ekologické zemědělství (v ekologickém zemědělství se přednostně používají statková hnojiva pocházející z ekologického zemědělství; minerální hnojiva se mohou použít pouze v případě, že agronomické zkoušení půd prokáže pokles obsahu živin pod stanovenou hranici; je zakázáno používat hnojiva z klecového chovu drůběže nebo králíků, čistírenské kaly a odpadní vody). Musí se používat pouze rozmnožovací materiál určený pro ekozemědělství, používat pouze stanovené přípravky a ostatní prostředky na ochranu rostlin. Ekologický podnikatel nesmí souběžně s produkcí bioproduktů produkovat stejné suroviny rostlinného nebo živočišného původu jinou zemědělskou výrobou. Veškeré zemědělské stroje a dopravní prostředky musí být udržovány čisté a v dobrém technickém stavu, aby neobsahovaly látky, které by mohly kontaminovat bioprodukty. Každoročně musí ekologický podnikatel oznámit kontrolnímu orgánu (ÚKZUZ) svůj plán pěstování rostlin s rozvržením na jednotlivé pozemky (Michálková, 2006).

Kontrolní a certifikační společnosti vykonávají každoroční pravidelné kontroly u všech subjektů, které jsou zahrnuty do režimu ekologického zemědělství. Vydání certifikátu je podmíněno splněním podmínek na základě bezchybné kontroly. Certifikát může mít platnost až 15 měsíců a je na něm specifikováno, pro co je konkrétní podnik certifikován. Úřední kontroly z pověření Ministerstva zemědělství ČR státním orgánem – ÚKZUZ jsou prováděny nezávisle na kontrolách kontrolních a certifikačních společností (Mitáček a kol., 2010).

### **3.3.1.1. Léčivé, aromatické a kořeninové rostliny v ekologickém zemědělství**

Poptávka spotřebitelů na trhu bioproduktů naznačuje potenciál pro rozšíření organických kulinářských bylinek na trhu. Překážky ekologické produkce se odvíjí od nedostatku dostupných technických informací a nízkého počtu výrobců se zkušenostmi v této oblasti (Treadwell et al, 2007). Současný téměř 10 % podíl ekologicky obhospodařované půdy z celkové zemědělské půdy řadí ČR mezi státy s největší výměrou takto obhospodařované půdy na světě. Léčivé, aromatické a kořeninové rostliny (LAKR) se v ČR pěstují zhruba na 270 ha orné půdy zařazené do systému ekologického zemědělství. I když je podíl výměry léčivých rostlin z ploch obhospodařovaných v systému ekologického zemědělství nepatrný, má přesto své nezastupitelné funkce. Pěstování léčivých rostlin je velmi vhodnou součástí organizmu ekologické farmy s ohledem na minimum škůdců a patogenů, které tuto skupinu rostlin vyhledávají. V ekologickém zemědělství je pro pěstování plodin na orné půdě stanoveno dvouleté přechodné období. Po uplynutí tohoto období je možno získat certifikát na produkci BIO. Pěstování LAKR je finančně podpořeno

v dotačním titulu ekologické zemědělství v rámci Programu rozvoje venkova (Mitáček a kol., 2010).

Všeobecné podmínky pěstování. Vysoce náročné na intenzitu slunečního světla jsou rody čeledi hluchavkovitých; mezi fotoperiodicky citlivé, dlouhodobí patří, např. máta peprná. Pro většinu pěstovaných LAKR jsou vhodné půdy hlinité, hlinitopísčité až písčitohlinité. Většina druhů vyžaduje neutrální půdní reakci (pH). Dávky organických hnojiv volíme podle požadavků rostlin s přihlédnutím k obsahu živin v půdě zjištěnému půdním rozbořem. Mezi rostliny náročné na živiny patří máta. Rostliny vylučují skupiny látek (nejčastěji silice), které výrazně ovlivňují růst a vývoj rostlin v jejich bezprostředním okolí (alelopatie). Působení může být inhibiční nebo stimulační (přítomnost kopřivy ve smíšené kultuře zvyšuje obsah silic u máty o 40 %, u majoránky o 20 %. Bazalka podporuje růst okurek a rajčat). LAKR patří ke speciálním kulturám z hlediska nároků na úroveň agrotechniky (rozmanitá životnost rostlin, sklizená část apod.). Hnojení ovlivňuje výnos hmoty, částečně i když zřetelně méně, množství obsahových látek a jejich kvalitu. Důležitou úlohu hrají faktory vnějšího prostředí a genetický základ rostliny (Mitáček a kol., 2010).

K zajištění optimálního průběhu sklizně je třeba najít optimální poměr mezi maximální výší výnosu a zachováním maximální kvality sklizené hmoty z pohledu odběratele, tj. obsahu specifických látek a požadované vlhkosti suroviny. Sklizeň probíhá v závislosti na druhu ručně nebo pomocí mechanizace. Po oddělení listů od stonků a také minerálních nečistot i organických příměsí, se používá jednoduchého principu tzv. fukarování. Tento proces platí jak pro čerstvé tak i pro suché rostliny. Výrazný rozdíl s sebou nese zpracování čerstvých rostlin, kdy je třeba velké opatrnosti při vlastním zpracování (poškození zejména listů otlakem, a tím k barevné změně anebo až k úplnému zčernání) (Mitáček a kol., 2010).

Podmínkou úspěšného sušení je čistota použitých prostor a zajištění nepřístupu světla. Při sušení je nutné brát ohled na druh léčivých rostlin a charakter jejich obsahových látek. K sušení je možno využít dva základní typy sušáren: sušárny využívající přirozeného odparu vody z rostlin (lískové sušárny); sušárny s umělým zdrojem tepla (roštová, pásová, zásobníková, kondenzační) (Mitáček a kol., 2010).

S ohledem na specifické vlastnosti LAKR a jejich další použití jako suroviny pro potravinářství a farmacii je velmi důležité zajistit odpovídající skladovací prostory.

LAKR jsou svou povahou velkým lákadlem pro mnoho skladištních škůdců. Proto je naprosto nezbytné, aby skladovací prostory byly suché, čisté, stinné a pokud možno chladné. Při skladování LAKR pocházejících z kontrolovaného ekologického zemědělství a obecně všech bioproduktů nelze provádět plošné zaplynování celého prostoru insekticidním aerosolem, tak jako je tomu u konvenčních produktů. Proto je naprosto nejvýznamnějším prvkem celého konceptu skladování prevence (precizní prohlídka suroviny před její skladováním, čistota skladu a prostor pro zpracování, prostředek biologické ochrany – dravá vosička *Trichogramma melanogaster* (Mitáček a kol., 2010).

LAKR mají svá specifika. Usušené LAKR bývají nejčastěji baleny v papírových pytlích, papírových kartonech, jutových žocích nebo v žocích či baleních z jiných netkaných materiálů označovaných jako big – bag. Na obalech musí být volné místo pro nalepení identifikačních údajů. Každé jednotlivé balení musí obsahovat následující údaje: název léčivé rostliny a její část a přídomek bio, popř. jakostní třída, rok sklizně, jméno a adresa dodavatele (pěstitele), země původu, netto hmotnost, kód kontrolní organizace, která produkt certifikovala (Mitáček a kol., 2010). Komise Codex Alimentarius pro označování potravin vyvinula směrnice pro výrobu, zpracování, označování a uvádění ekologicky pěstovaných potravin do oběhu, vzhledem k nárůstu produkce a mezinárodního obchodu produktů ekologického zemědělství se zaměřením na usnadnění obchodu a zavedení preventivních opatření. Produkty ekologického zemědělství by měly být označeny ve shodě s Codex General Standard (Základními standardy kodexu) pro označování balených potravin (FAO and WHO, 2007).

Systém HACCP je mechanismus zajišťující produkci bezpečných potravin, LAKR nevyjímaje. LAKR jsou dále používány zejména jako suroviny v potravinářství a ve farmacii. LAKR pěstované v systému ekologického zemědělství nesou ještě jedno specifikum, je to analýza na obsah možných reziduí pesticidů, byť to vzhledem k zákazu používání těchto látek v ekologickém zemědělství zní paradoxně. Rezidua pesticidů nalézána v biopotravínách mohou pocházet ze dvou zdrojů: dálkový přenos pesticidního aerosolu i na několik kilometrů nebo staré zátěže (Mitáček a kol., 2010).

### **3.3.2. Ekologické versus konvenční zemědělství**

Jak uvádí Hardingová (2005), způsoby zemědělské výroby jsou často intenzivní, což znamená obrovské plochy s jednou plodinou, bez mezí a remízků a s nadměrným

používáním chemických přípravků a umělých hnojiv. Podle Clevelyho (1998) většina rostlin pěstovaných v zahradách je co do kondice, velikosti a produkce na tom často lépe než jejich příbuzní ve volné přírodě. Yi and Wetzstein (2010) zjistili, že listy tymiánu, šalvěže, máty klasnaté a máty peprné pěstované v skleníku ukazují významně vyšší celkový obsah polyfenolu než ty pěstované v polních podmínkách. Podle Allardice et al. (2009), pokud pěstujeme určité bylinky spolu, aby se ochraňovaly, a jiné, aby lákaly užitečný hmyz, podpoříme jejich silný a zdravý růst přirozenou cestou bez chemikálií. Podle Benbrooka (2005) může organický způsob hospodaření zvýšit koncentrace antioxidantů v zelenině, ovoci, obilovinách a mléčných produktech, a tím pomoci lidem zvýšit jejich denní příjem antioxidantů. Treadwell et al. (2007) uvádí, že i přes variabilitu uvnitř a mezi experimentálními studiemi, výnosy a kvalita ekologicky pěstovaných plodin jsou často podobné, a občas lepší než konvenčně pěstované plodiny. Podle Hubera et al. (2011) jsou rozdíly ve výsledcích srovnávacích studií velmi vysoké, v závislosti na hnojení rostlin, fázi zrání, stáří rostliny při sklizni a povětrnostních podmínkách. Některé in vitro studie týkající se zdravotních účinků organických a konvenčních potravin ukázaly vyšší antioxidační a antimutagenní aktivitu, stejně jako lepší inhibici proliferace nádorových buněk ekologicky vyráběných potravin. Martinec a Zloch (2009) zjistili, že celkový obsah fenolových látek a vyšší obsah vitamínu C byl (ve srovnání se standardní potravinou) větší u bioheřmánku. U biomeduňky byl naopak nižší. Celková antioxidační aktivita byla u standardních potravin spíše vyšší než u příslušných bioproduktů, i když zde jsou rozdíly většinou méně výrazné. Po týdenním skladování nedocházelo v případě antioxidační aktivity k příliš významným výkyvům. Edris et al. (2003) zjistili, že vyšší úroveň organického hnojení negativně ovlivnila obsah éterického oleje v čerstvé majoránce, ale celkový výnos oleje zůstal srovnatelný s nižší úrovní hnojení (ekologického i chemického). Chemické složení silice nebylo vzhledem k typu a úrovni ovlivněno. Obecně majoránka pozitivně reagovala na zvýšení hladiny buď organických nebo chemických hnojiv. Seidler-Lozykowska et al. (2009a, 2009b, 2009c, 2009d) se zaměřili na srovnání kvality (např. obsahu éterického oleje, makro a mikroelementů) a výnosu bazalky, tymiánu, saturejky a majoránky ze 6 ekologických a 1 konvenční farmy. Pouze u majoránky byl výnos silice z ekologického a konvenčního zemědělství stejný. Jinak byl vyšší výnos silice u bazalky, tymiánu a saturejky, které pocházely z ekologického zemědělství. U ekologické bazalky a saturejky byl zvýšený obsah makro – a mikronutrientů. Khalil et al. (2007) zkoumali růst, obsah fenolů a antioxidační aktivitu bylinek pěstovaných ekologickým způsobem. K hnojení byl použit organický kompost. Pomocí HPLC bylo identifikováno 14 fenolových sloučenin u extraktů

bylin. Kyselina salicylová byla nejvíce zastoupenou fenolickou sloučeninou. Velmi silnou antioxidační aktivitu vykazovala šalvěj. Faller and Fialho (2010) uvádí, že organické plody mívají vyšší obsah hydrolyzovaných polyfenolů než konvenční (zejména vnější rostlinná pletiva). Obecně platí, že organické zemědělství vede u potravinářských výrobků k podobnému nebo o něco vyššímu obsahu polyfenolů a antioxidační kapacitě. Bavec et al. (2010), zkoumali celkový obsah fenolů a antioxidační aktivitu červené řepy z konvenčního (CON), integrovaného (INT), organického (ORG), biodynamického (BD) zemědělství. Zjistili významné rozdíly celkového obsahu fenolových (TPC) a celkové antioxidační aktivity. Nejvyšší TPC byl naměřen v BD a nejnižší v CON. Heimler et al. (2012) se zabývali salátem hlávkovým *Lactuca sativa* L. ssp. *acephala* pěstovaným intenzivním konvenčním, ekologickým a biodynamickým zemědělstvím a analyzovali obsah polyfenolů a antioxidační činnost. Výnos rostlin z konvenčního zemědělství byl nejvyšší zatímco obsah polyfenolů byl nižší než u rostlin z organického a biodynamického zemědělství.

### 3.3.2.1. Hnojení

Intenzivní systémy obdělávání půdy s plodinami, které spoléhají na vysokou spotřebou anorganických hnojiv, představují vážnou hrozbu pro zdraví půdy. Aplikace organických zdrojů živin si rychle získává oblibu (Anwar et al., 2005).

Bylinky, které jsou přehnojené, neobsahují skoro žádné éterické oleje a jsou méně aromatické. Rostliny hnojené snadno rozpustnými minerálními hnojivy obsahují vyšší množství škodlivých látek jako jsou volná šťavelová kyselina, volné sloučeniny solaninu (zvláště u brambor), velké množství dusičnanů. Při hnojení zeleniny organickým materiálem, rostliny obsahují podstatně méně zdraví škodlivých látek, naproti tomu větší množství zdravích prospěšných látek: o 23 % více sušiny (tzn. obecně vyšší nutriční hodnota), o 18 % více bílkovin, o 28 % více vitamínu C, o 19 % více cukrů, o 23 % více aminokyselin vytvářejících hodnotnou bílkovinu (Brunsová a Brunsová, 2010). Allardice et al. (2009) uvádí, že přidáním organického materiálu zlepšíme kvalitu půdy a zabezpečíme zdravější růst rostlin. Grosser (2004) upozorňuje, že přehnojení negativně ovlivňuje jak chuť, tak obsažené účinné látky a obranyschopnost rostliny. Kompost obsahuje širokou škálu živin, minerálů a stopových prvků. Při správném dávkování představuje kompost pro rostliny ideální hnojivo. Minerální hnojiva obsahují většinou příliš mnoho dusíkatých látek, což má za následek, že rostliny nadměrně „vyhánějí“. Kromě kompostu se jako hnojivo nejlépe hodí rohovinové piliny nebo rohovinokostní moučka. Podle Brunsové a Brunsové (2010) zelené hnojení slouží



jako stínění půdy, ovlivňuje hospodaření půdy s vodou, pomáhá k aktivaci života v půdě a ke zkyprění podornicové vrstvy. Napomáhá také přísunu humusu, zásobování vyživujícími látkami a k potlačení plevelu. Allardice et al. (2009) řadí mezi přírodní hnojiva kostní moučku, která je založená na ingrediencích, ke kterým patří živočišné zbytky a hnůj, mořské řasy, minerály i ryby. Tato hnojiva pomalu vyživují rostlinu i několik měsíců. Podle Kavina et al. (2009) aplikace hormonů růstu rostlin je slibným přínosem pro zvýšení výnosů z vegetativních částí, které produkují sekundární metabolity.

### **3.3.2.2. Choroby a škůdci**

V zásadě se vyskytují dva vážnější problémy, které můžeme vyřešit pomocí chemikálií, a to je škodlivý hmyz (insekticidy) a houbové choroby (fungicidy). Nevýhodou používání insekticidů je vysoká pravděpodobnost, že zahubí i užitečný hmyz, nejenom škůdce. Ekologickou alternativou pesticidů je využívání přirozených nepřátel škůdců. K užitečným druhům patří například někteří draví roztoči. Škodlivý hmyz zneškodníme přírodními prostředky připravenými na bázi mýdla. S housenkami motýlů pomůže bakterie *Bacillus thuringiensis*. Větší škůdce posbíráme ručně (Allardice et al., 2009). Na odpuzení živočišných škůdců je možno použít postřeky z bylin (Horeličanová, 2008).

### **3.3.3. Bioprodukty a biopotraviny**

V západních zemích vzrůstá nedůvěra k chemickým ochucovadlům a konzervačním činidlům a také k používání pesticidů, herbicidů a hnojiv, jejichž rezidua přecházejí do potravy. Tato nedůvěra vyvolává touhu po „přírodních“ a „organických“ potravinách (Small, 2006). Bioprodukty jsou suroviny rostlinného nebo živočišného původu, získané v ekologickém zemědělství, které jsou ale teprve na základě příslušného osvědčení určeny k výrobě biopotravin. Pravděpodobně nelze předpokládat zásadní rozdíly mezi biopotravinami a běžnými potravinami v obsahu látek přirozeně se vyskytujících (možnou výjimkou jsou mykotoxiny) a kontaminujících. U reziduí lze připustit vyšší obsah dusitanů a dusičnanů u běžných potravin. Obsah reziduí pesticidů by měl být u biopotravin nižší. Podstatnější rozdíl mezi biopotravinami a potravinami z běžné produkce v obsahu chemických látek by se tedy mohl pravděpodobně týkat látek přídatných a určených k aromatizaci. Obsah aditivních látek v potravinách je striktně limitován legislativně. Nelze vyloučit vyšší míru ohrožení konzumenta patogenními mikroorganismy, resp. produkty jejich metabolismu v případě biopotravin, které neobsahují chemické konzervanty (Komprda, 2007). Při zpracování primárních produktů je také zakázané umělé prodlužování trvanlivosti

a chemické zlepšování sensorických vlastností biopotravin. Biopotraviny, které jsou zdravotně nezávadné a jejichž surovinové zdroje jsou pěstovány za optimálních podmínek, by měly mít vysokou nutriční hodnotu včetně obsahu antioxidantů a fenolových látek. Biopotraviny nezaručují v každém případě větší stabilitu nutričních hodnot během jejich skladování (Martinec a Zloch, 2009).

## **4. Experimentální část**

### **4.1 Materiál**

#### **Byliny a jejich pěstování**

Experimentálně byly sledovány dobromysl obecná (*Origanum vulgare* L.), řecké oregano (*Origanum heracleoticum* L.), máta klasnatá (*Mentha spicata* L.). Vytrvalé rostliny byly pěstovány na pokusné stanici v Praze Troji na dvou pokusných polích. Na jednom poli byly pěstovány podle zásad ekologického zemědělství, toto pole splňuje požadavky zákona o ekologickém zemědělství a je kontrolováno pověřenými orgány. Na druhém poli byly pěstovány konvenčním způsobem. Stáří dobromysli obecné a řeckého oregana je 1 rok a byly přesazeny z demonstračního pole ČZU dne 14. 4. 2011. Máta klasnatá je na poli 4 roky. Byla přihnojena 9. 6. 2011. Dobromysl a řecké oregano byly přihnojeny 4. 7. 2011. Na konvenční pole se aplikovalo minerální hnojivo YaraMila<sup>TM</sup> COMPLEX (výrobce: Yara International ASA, Oslo, Norsko) v množství 8,3 g/m<sup>2</sup>. Na ekologické pole bylo použito organické hnojivo Organica N (výrobce: McMon B. V., Arnhem, Holandsko) v množství 8,3 g/m<sup>2</sup>. Pro analýzu byly použity čerstvé i sušené listy ze dvou sklizní. První sklizeň listů proběhla koncem července před květem. Druhá sklizeň pak začátkem září. Listy byly sušeny volně ložené ve větrané místnosti při pokojové teplotě.

#### **Chemikálie**

Demineralizovaná voda

Methanol p.a., Lachner, ČR

Uhličitan sodný bezvodý p.a., ČR

DPPH 2,2 - Diphenyl -1 – picrylhydrazyl, freie Radikal, Sigma – Aldrich, USA

Folin – Ciocalteuovo fenolové činidlo, Merck, Germany

#### **Standardy antioxidantů**

Askorbová kyselina p.a., Penta, ČR

Kyselina gallová, Sigma - Aldrich, USA

#### **Vepřové sádlo**

Výrobce: Masokombinát Plzeň s.r.o., Americká 68, 301 50 Plzeň. Hmotnost: 250 g. Datum spotřeby do: 31. 8. 2011 při použití u čerstvých bylinek z první sklizně, 1. 11. 2011 při použití

u sušených bylinek z první sklizně; 16. 11. 2011 při použití u čerstvých bylinek z druhé sklizně, 11. 1. 2012 při použití u čerstvých bylinek z druhé sklizně.

### **Přístroje a programové vybavení**

Spectrophotometer UV – 2900PC, Tsingtao Unicom – Optics Instruments Co., Ltd., China

Analytické váhy AND, ER – 180A, Max 180g, d = 0,1 mg

Infračervené sušicí váhy Precisa HA 300, Precisa Instruments, Švýcarsko

Termostat Memmert 54853 a Pol – eko aparatura ST, Germany

MS Excel

Statistica 10

## **4.2 Metody**

### **4.2.1 Sušina**

Pro stanovení sušiny byly použity infračervené váhy, nastaveny na program sušení ovoce a zeleniny. Na hliníkovou fólii, která byla předem zvážena, bylo rovnoměrně rozprostřeno 0,5 g nadrobno natrhaného vzorku. Následně byl vzorek podroben procesu sušení. Vzorky byly sušeny při teplotě 105 °C. Proces sušení byl zastaven, když se váha vzorku nezměnila o více než 1 mg za 60 sekund.

### **4.2.2 Příprava extraktů**

Navážka bylin: na přípravu vodného extraktu se použilo 6 g čerstvých bylin pro sušené byliny 1,6 g.

Extrakce bylin: Pro přípravu vodného extraktu byl vzorek navážen v kádince přelit 50 ml vroucí demineralizované vody a za občasného míchání byl ponechán ve vodní lázni při teplotě 70 °C. Po 10 minutách byl vzorek přefiltrován do 100 ml odměrné baňky. Bezprostředně po první extrakci následovala druhá extrakce a zfiltrovaný extrakt v odměrné baňce se po zchladnutí doplnil po rysku demineralizovanou vodou. Postup extrakce byl stejný pro čerstvé i sušené byliny. Takto připravený extrakt byl v tentýž den použit pro stanovení antioxidační aktivity metodou DPPH a pro stanovení celkového obsahu fenolů.

### 4.2.3 Metody stanovení antioxidační aktivity

#### Metoda zhášení radikálu DPPH

Princip metody: Princip metody je založen na spektrofotometrickém měření intenzity odbarvování fialového roztoku radikálu DPPH (2,2'- difenyl – 1 – pikrylhydrazyl) působením antioxidantu při vlnové délce 522 nm, kde byla při proměření roztoku DPPH zjištěna jeho maximální absorbance. Metoda je kalibrována na kyselinu askorbovou. Výsledky jsou vyjádřeny jako ekvivalenty askorbové kyseliny na jednotku hmotnosti vzorku, v našem případě na 100 g čerstvých resp. sušených bylin. Metoda byla převzata z prací Buřičová (2011), Buričová et al. (2011), Chrpová et al. (2010) a Kolesárová (2010) a upravena.

Roztoku radikálu: Zásobní roztok radikálu byl připraven rozpuštěním 0,05 g DPPH metanolem v 100 ml odměrné baňce (při uchovávání v mrazáku je možné ho skladovat 3 týdny). Pro měření byl zásobní roztok naředěn metanolem v poměru 1:9. Do 50 ml odměrné baňky bylo napipetováno 5 ml zásobního roztoku a doplněno po rysku metanolem.

Roztok kyseliny askorbové pro kalibraci: Do 100 ml odměrné baňky bylo naváženo 0,0215 g kyseliny askorbové a doplněno po rysku demineralizovanou vodou. Následně byly z roztoku odebrány 3; 2; 1 a 0,7 ml do 50 ml odměrných baněk a doplněny po rysku demineralizovanou vodou. Tak byly získány čtyři koncentrace kyseliny askorbové pro zhotovení kalibrační křivky.

Vodný extrakt vzorků: Pro měření bylo nutné extrakty bylin naředit. U extraktu z čerstvých bylin se odebralo 500  $\mu$ l do 50 ml odměrné baňky a objem se doplnil po rysku demineralizovanou vodou. U sušených bylin se odebíralo 150  $\mu$ l. Ředění bylo voleno tak, aby byla absorbance vzorku v rozsahu kalibrace.

Měření absorbance ( $\lambda = 522$  nm): V první kyvetě byl metanol, proti kterému byly vzorky proměřovány. Slepý vzorek tvořily 2 ml radikálu a 1 ml demi vody (odečítá se od všech naměřených hodnot). Čtyři kyvety obsahovaly po 1 ml kyseliny askorbové čtyř koncentrací pro kalibraci a 2 ml radikálu. V dalších kyvetách bylo po 1 ml naředěných extraktů bylin (každý vzorek byl proměřen dvakrát) a 2 ml radikálu. Kyvety byly uloženy ve tmě (reakce musí probíhat bez přístupu světla) a měření se provádělo po 1, 2 a 3 hodinách.

### **Stanovení celkového obsahu fenolů (TPC – Total Phenolic Compounds)**

Princip metody: Spektrofotometrické stanovení ( $\lambda = 760 \text{ nm}$ ) obsahu veškerých fenolů s použitím Folinova – Ciocalteuova činidla. Výsledky bývají obvykle vyjadřovány jako obsah gallové kyseliny na jednotku hmotnosti. V našem případě stejně jako u metody DPPH na 100 g čerstvých resp. sušených bylin. Metodu popsala Dorman et al. (2003) a také Stratil et al. (2008), od kterých byla převzata a upravena.

Roztok uhličitanu sodného: 20 % roztok uhličitanu sodného byl připraven rozpuštěním 20 g uhličitanu sodného v 100 ml odměrné baňce demineralizovanou vodou. Pro úplné rozpuštění byla použita ultrazvuková lázeň.

Slepý vzorek: Do 10 ml odměrné baňky se pipetovalo 0,5 ml Folinova činidla a 1,5 ml 20 % roztoku uhličitanu sodného. Objem se doplnil demi vodou po rysku.

Roztok kyseliny gallové pro kalibraci: V 100 ml odměrné baňce bylo v 20 ml metanolu rozpuštěno 0,01 g kyseliny gallové a doplněno po rysku demineralizovanou vodou. Do 10 ml odměrných baňek se pipetovalo 100, 200, 400 a 600  $\mu\text{l}$  zásobního roztoku kyseliny gallové; 0,5 ml Folinova činidla a 1,5 ml 20 % roztoku uhličitanu sodného. Objem se doplnil po rysku demineralizovanou vodou.

Vodný extrakt vzorků: Pro měření se používal neředěný vodný extrakt bylin. Použilo se 50  $\mu\text{l}$  neředěného vzorku z čerstvých bylin z první a druhé sklizně. Při použití 25  $\mu\text{l}$  byly hodnoty mimo kalibraci. U sušených bylin s první sklizně se rovněž použilo 50  $\mu\text{l}$  vodního extraktu bylin. Experimentálně zjištěné množství extraktu (pro každý vzorek dvě paralelní stanovení) se napipetovalo do 10 ml odměrné baňky, přidalo se 0,5 ml Folinova a 1,5 ml 20 % roztoku uhličitanu sodného. Objem byl doplněn po rysku demineralizovanou vodou, stejně jako u slepého pokusu a kalibračních roztoků. Důkladně promíchané vzorky se nechaly stát ve tmě. Po hodině se přelily do kyvet a měřily při 760 nm proti slepému pokusu.

### **Antioxidační účinnost bylin podle Schaala**

Princip metody: Metoda je založena na sledování průběhu oxidace tuků měřením přírůstků oxidativních produktů vzniklých za volného přístupu kyslíku v temnu při teplotě 60 °C. Přírůstek hmotnosti udává množství kyslíku, který byl absorbován do tuku. Změny hmotnosti jsou sledovány v sádle samotném a v sádle, do kterého je přidána bylina. Relativní

změna hmotnosti se vypočte podle vzorce:  $m_x - m_p / m_p$ , kde  $m_x$  je hmotnost bylin se sádlem v jednotlivých dnech vážení a  $m_p$  je hmotnost bylin se sádlem na začátku experimentu. Stanoví se délka indukční periody (IP), která je měřítkem stability tuku při skladování. Podle vzorce:  $PF = IP_{inh} / IP_0$ , kde  $IP_{inh}$  je indukční perioda vzorku s inhibítorem,  $IP_0$  je indukční perioda vzorku bez inhibítora; se vypočte protekční faktor (PF), který je měřítkem aktivity inhibítora (antioxidantu, byliny).

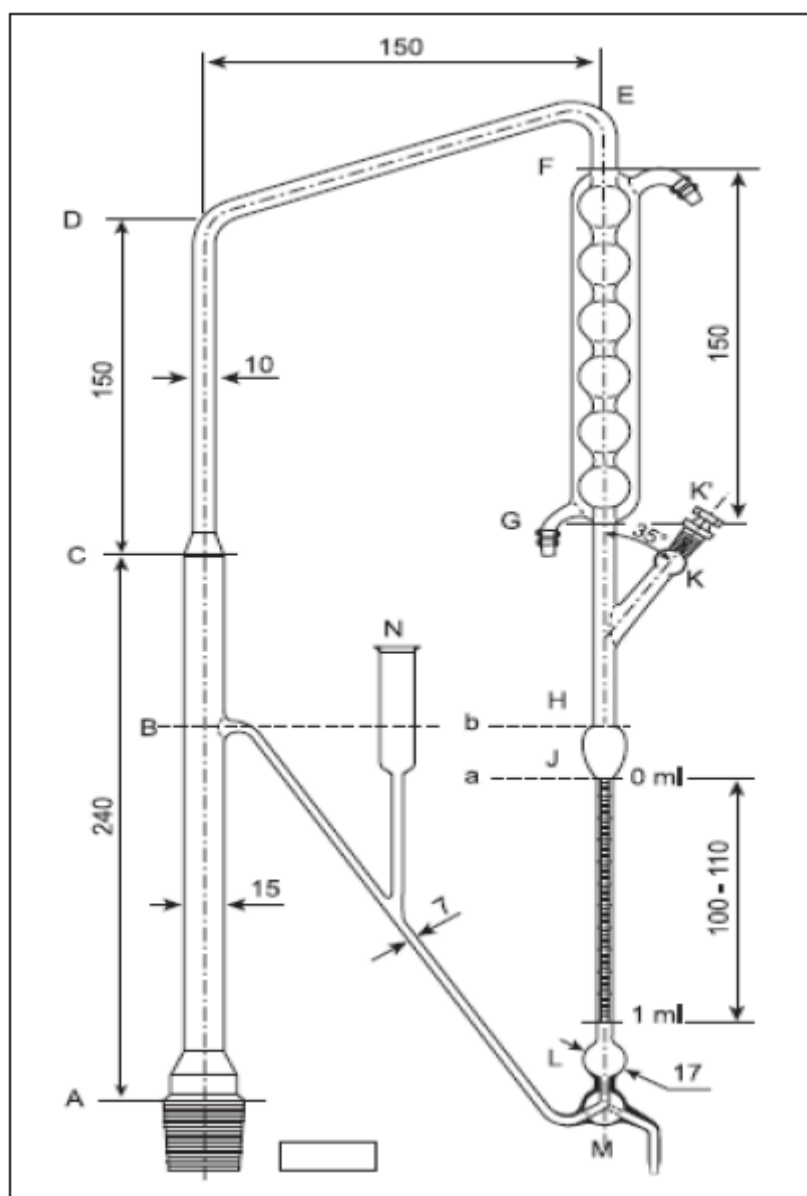
Postup: Postup byl převzat z prací Davídek a kol. (1981) a Kolesárová (2010) a upraven. Do předem zvážené kádinky se navázilo 2 g čerstvých bylinek nebo 0,4 g sušených bylinek a 25 g sádla. Vzorky byly umístěny do termostatu, ve kterém byla udržována teplota 60 °C. Změny hmotnosti se sledovaly průměrně jednou týdně. Vážení bylo ukončeno u čerstvých bylin po 122 dnech (1. sklizeň), 102 dnech (2. sklizeň). U sušených bylin, které vykazovaly kratší indukční periodu bylo vážení ukončeno po 92 dnech (1. sklizeň), 89 dnech (2. sklizeň).

#### 4.2.4 Stanovení silice

##### Destilace s vodní parou (hydrodestilace)

Princip metody: Silice se z analyzovaného materiálu vydestiluje s vodní parou (Clevengerův aparát viz Obr. 1) a kondenzát se stanoví volumetricky nebo vážkově. Destilát se jímá v kalibrované trubici a vodní fáze se automaticky vrací zpět do destilační baňky. K hodnocení kvality silice se pak nejčastěji užívá plynová chromatografie (Davídek, 1981; Český lékopis, 2009). Objem silice se vypočítal podle vzorce:  $1000 * V_E / m_0$ , kde  $V_E$  je objem silice odečítané z kalibrované trubice (ml) a  $m_0$  je navážka vzorku (g).

Postup: Postup byl převzat z Českého lékopisu (2009); Bernik (2010); Progar 2010); Prah (2011) a upraven. Do 1000 ml odměrné baňky bylo naváženo 10 g sušeného vzorku u dobromysli musela být navážka dvojnásobná, aby bylo získáno dostatečné množství silice pro kvalitativní analýzu. Do baňky se vložilo několik varných kamínků a zalilo se 500 ml demineralizované vody. Baňka se připojila ke Clevengerovu aparátu. Nálevkou N se nalila demineralizovaná voda tak, aby její hladina dosahovala bodu R (viz Obr. 1). Kapalína v baňce se zahřála k varu a nastavila se teplota varného hnízda (130 °C) tak, aby destilační rychlost byla 2 – 3 ml/min. Po 4 hodinách destilace bylo ohřívání vypnuto a 10 minut byl vzorek ponechán v baňce na vychladnutí. Trojcestným ventilem byla odpuštěna voda do kádinky a byl odečítán objem silice, která byla následně vypuštěna do lahvičky z tmavého skla.



**Obr. 1** Clevengerův aparát je skleněná aparatura určena k destilaci éterických olejů (Český lékopis, 2009)

Popis: Aparatura se skládá z kondenzační části, která přiléhá k destilační baňce, chladiče, zátky K' (odvětrávací), hruškovitě rozšířené části J (objem 3 ml), trubice JL (dělené po 0,01 ml), kulovité části L (objem 2 ml), trojcestného kohoutu M a ústí trubice B.



## **Plynová chromatografie**

Vzorek silice byl rozpuštěn ve 2 ml diethyletheru (p. a.) a přesušen bezvodým síranem sodným. Plynový chromatograf Agilent 6890N (Agilent Technologies, Palo Alto, CA, USA) s kvadrupolovým hmotnostním detektorem Agilent 5973 (Network Mass Selective Detector), který byl vybaven kapilární kolonou HP Innowax (Agilent Technologies, Santa Clara, CA, USA), která měla délku 30 metrů, vnitřní průměr 0,25 mm a tloušťku filmu 0,25  $\mu\text{m}$ . Nastříkovan byl 1  $\mu\text{l}$  vzorku pomocí autosampleru Agilent 7683 v režimu split. Na začátku analýzy byla pec vyhřátá na 40 °C po dobu 3 minuty, následně byla teplota zvyšována rychlostí 5 °C/min až na teplotu 150 °C. Od teploty 150 °C do 240 °C se zvyšovala rychlostí 10 °C/min, kde poté byla držena po dobu 30 minut. Injektor měl teplotu 220 °C. Jako mobilní fáze se používali helium o průtoku 0,6 ml/min. Doba analýzy trvala 45 minut.

## 5. Výsledky

### 5.1 Sušina

Výsledky stanovení sušiny dobromysli, oregana a máty na infravahách jsou uvedeny v Tabulce 1. Čerstvé byliny z 1. sklizně měly vyšší obsah sušiny než rostliny získané z 2. sklizně. Naopak po usušení měly vyšší procento sušiny rostliny z 2. sklizně. Rozdíly v obsahu sušiny u ekologicky a konvenčně pěstovaných bylin jsou nepatrné.

**Tabulka 1** Obsah sušiny bylin (%)

	čerstvé		sušené	
	1. sklizeň	2. sklizeň	1. sklizeň	2. sklizeň
Dobromysl	28,3	24,0	80,6	87,2
Eko dobromysl	27,5	23,8	79,1	87,0
Oregano	24,7	20,0	78,7	86,0
Eko oregano	25,7	22,2	79,0	85,8
Máta	16,1	15,6	77,7	83,8
Eko máta	19,0	17,4	80,5	85,0

### 5.2 Antioxidační aktivita a celkový obsah fenolů

Při spektrofotometrickém stanovení antioxidační aktivity dobromysli, oregana a máty metodou DPPH byly použity pro každý extrakt dvě květy a byla provedena 3 měření po 1, 2 a 3 hodinách. Z naměřených hodnot byly vypočítány průměry. Výsledky jsou uvedeny v miligramech askorbové kyseliny na 100 g čerstvých respektive na 100 g sušených bylin a jsou uvedeny i výsledky přepočtené na obsah sušiny (Tabulka 2).

Z paralelního spektrofotometrického stanovení TPC (760 nm) po 1 hodině reagování činidel a vodného extraktu bylin ve tmě byly získány hodnoty, ze kterých se stanovil průměr. Výsledky uvedené v Tabulce 3 jsou vyjádřeny v miligramech gallové kyseliny na 100 g čerstvých respektive sušených bylin a jsou také přepočtené na obsah sušiny vzorků.

Z výsledků, které ukazují Tabulka 2 a Tabulka 3, je zřejmé, že dobromysl, oregano a máta vykazují značnou schopnost zhaset volný radikál DPPH a rovněž obsahují velké množství fenolových sloučenin.

**Tabulka 2** Výsledky DPPH bylin, výsledky přepočteny na sušinu vzorku

Bylina (latinsky)	Sklizeň	Stav byliny	DPPH (mg AA/100 g)			
			ekologická		konvenční	
				na sušinu		na sušinu
Dobromysl obecná ( <i>Origanum vulgare</i> L.)	1.	čerstvá	1190	4310	810	2860
		sušená	5140	6500	3690	4580
	2.	čerstvá	1980	8330	1160	4830
		sušená	3760	4320	15560	17840
Řecké oregano ( <i>Origanum heracleoticum</i> L.)	1.	čerstvá	510	1970	540	2190
		sušená	13160	16660	10420	13240
	2.	čerstvá	1240	5560	1550	7740
		sušená	11560	13470	4920	5720
Máta klasnatá ( <i>Mentha spicata</i> L.)	1.	čerstvá	290	1510	650	4010
		sušená	17570	21820	9230	11880
	2.	čerstvá	970	5590	1170	7530
		sušená	14800	17410	6400	7640

Tabulka 2 ukazuje, že nejvyšší antioxidační aktivitu z čerstvých bylin měla ekologická dobromysl pocházející z 2. sklizně i po přepočtu na obsah sušiny. Ekologicky vypěstována čerstvá máta z 1. sklizně naopak vykazuje nejnižší schopnost zhášet DPPH radikál. Pouze dobromysl pěstována ekologicky má vyšší antioxidační aktivitu než konvenčně pěstována a to jak u 1. tak i u 2. sklizně. Výsledky DPPH pro sušené bylinky ukazují, že zde je situace zcela opačná. Nejvyšší potenciál zhášet volné radikály DPPH má ekologicky vypěstována máta z 1. sklizně. Nejnižší pak konvenční dobromysl rovněž z 1. sklizně. Sušené byliny pěstovane ekologickým způsobem mají vyšší antioxidační aktivitu než konvenční byliny. Výjimku představuje pouze dobromysl z 2. sklizně.

**Tabulka 3** Výsledky TPC bylin, výsledky přepočteny na sušinu vzorku

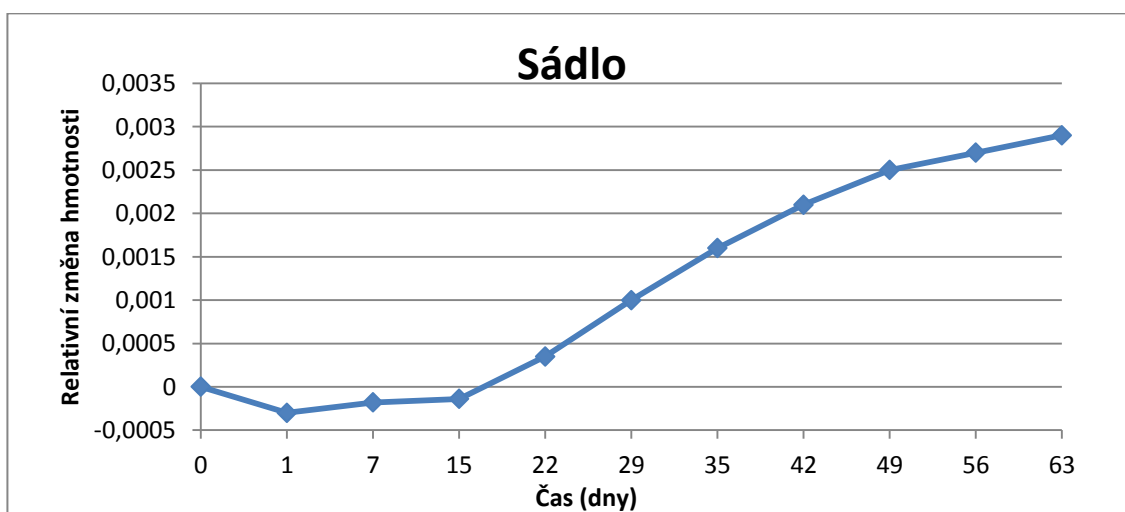
Bylina (latinsky)	Sklizeň	Stav byliny	TPC (mg GA/ 100 g)			
			ekolocciká		konvenční	
				na sušinu		na sušinu
Dobromysl obecná ( <i>Origanum vulgare</i> L.)	1.	čerstvá	530	1930	580	2050
		sušená	3310	4190	3390	4210
	2.	čerstvá	920	3870	740	3080
		sušená	3530	4050	2790	3200
Řecké oregano ( <i>Origanum heracleoticum</i> L.)	1.	čerstvá	460	1790	380	1520
		sušená	4590	5810	2900	3680
	2.	čerstvá	700	3510	590	2960
		sušená	3400	3970	3480	4050
Máta klasnatá ( <i>Mentha spicata</i> L.)	1.	čerstvá	670	3540	420	2580
		sušená	5790	7190	4320	5560
	2.	čerstvá	400	2280	340	2190
		sušená	3030	3560	3010	3590

Celkový obsah fenolů, jak je uvedeno v Tabulce 3, je u čerstvých bylin vyšší u eko produkce. Kromě dobromysli z 1. sklizně. Nejvíc fenolů má dobromysl získaná z 2. sklizně, což koreluje s její nejvyšší antioxidační aktivitou. U máty z konvenčního zemědělství z 2. sklizně je obsah fenolových sloučenin nejnižší, ale vzhledem k obsahu sušiny je nejméně fenolových sloučenin obsaženo v konvenčním oreganu z 1. sklizně. Vyšší celkový obsah fenolů je u sušených bylin obdobně jako u čerstvých nalezen u ekologické formy. Opět kromě dobromysli z 1. sklizně a tady i oregana z 2. sklizně. Nejvyšší obsah fenolů je v pozitivní korelaci s nejvyšší antioxidační aktivitou eko máty z 1. sklizně. Nejméně fenolových sloučenin ze sušených bylin má konvenční oregano z 1. sklizně.

### 5.3 Antioxidační účinnost bylin ve vepřovém sádle

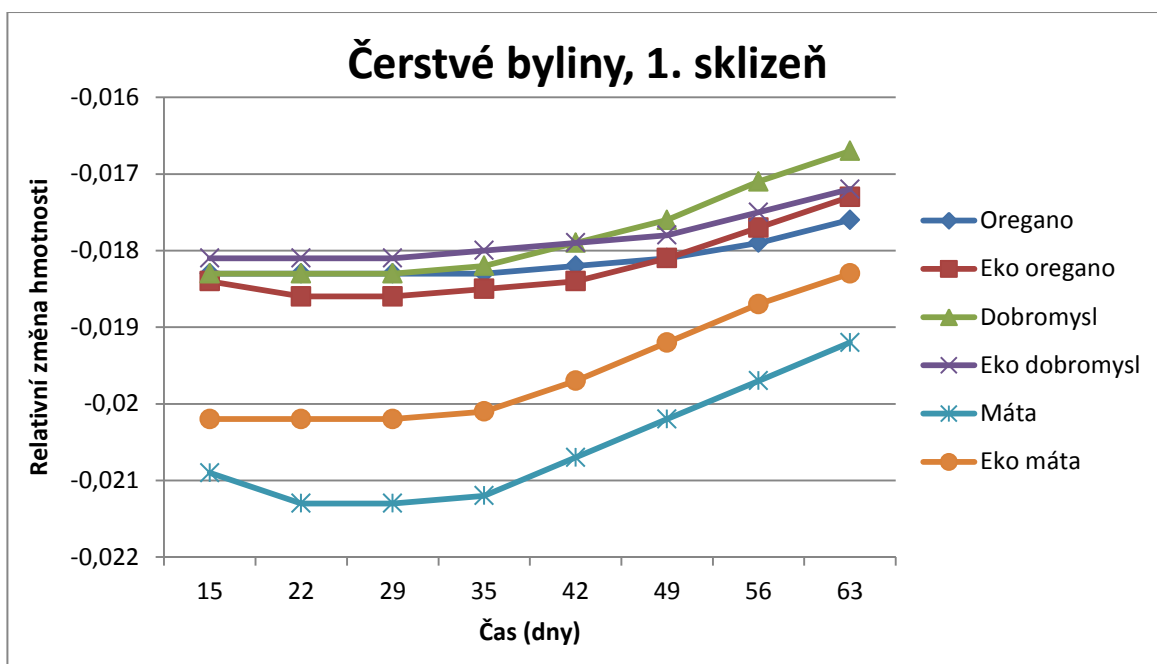
Vepřové sádlo neobsahuje přirozené antioxidanty a pro analýzu bylo vybráno sádlo, které neobsahovalo ani žádné přidané přirozené nebo syntetické antioxidanty, které by mohly zkreslit výsledek Schaalova testu. Z grafů znázorňujících relativní změny hmotnosti vzorků v čase (průběh oxidace sádla) byla odečtena indukční perioda, která byla přepočítána na protekční faktor, tj. o kolik daná bylina prodlouží stabilitu tuku a oddálí oxidační procesy. Výsledky byly přepočteny na 1 g sušiny byliny v 25 g sádla. Stejně standardní podmínky Schaalova testu byly použity pro všechny byliny. Inhibiční efekt na autooxidaci sádla byl zjištěn u všech bylin.

**Graf 1** Časový průběh oxidace sádla (čerstvé byliny, 1. sklizeň)



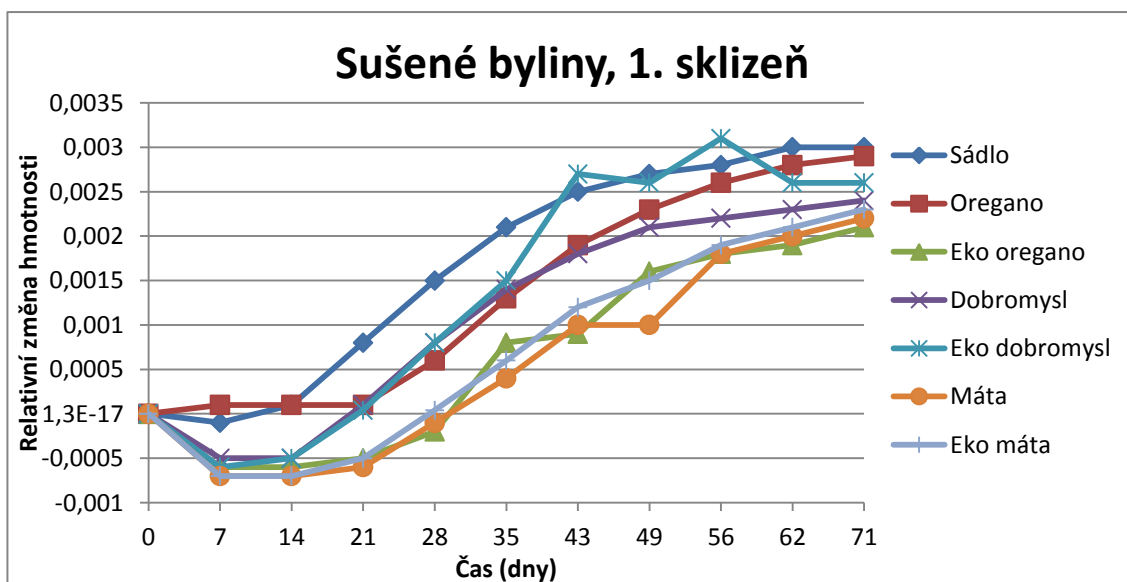
Graf 1 ukazuje, že ve vepřovém sádle se začaly produkty oxidace zvyšovat kolem 10. dne.

**Graf 2** Časový průběh oxidace sádla s čersvými bylinami (1. sklizeň)



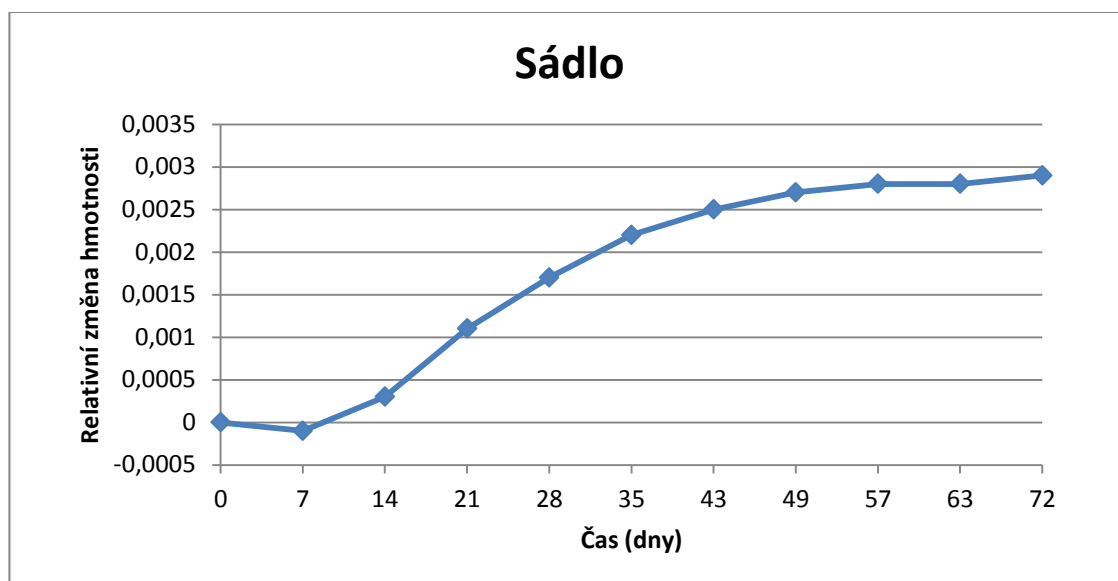
U sádla s přídavkem bylin to bylo 45 dnů, jak ukazuje Graf 2.

**Graf 3** Časový průběh oxidace sádla a sádla s přídavkem sušených bylin (1. sklizeň)



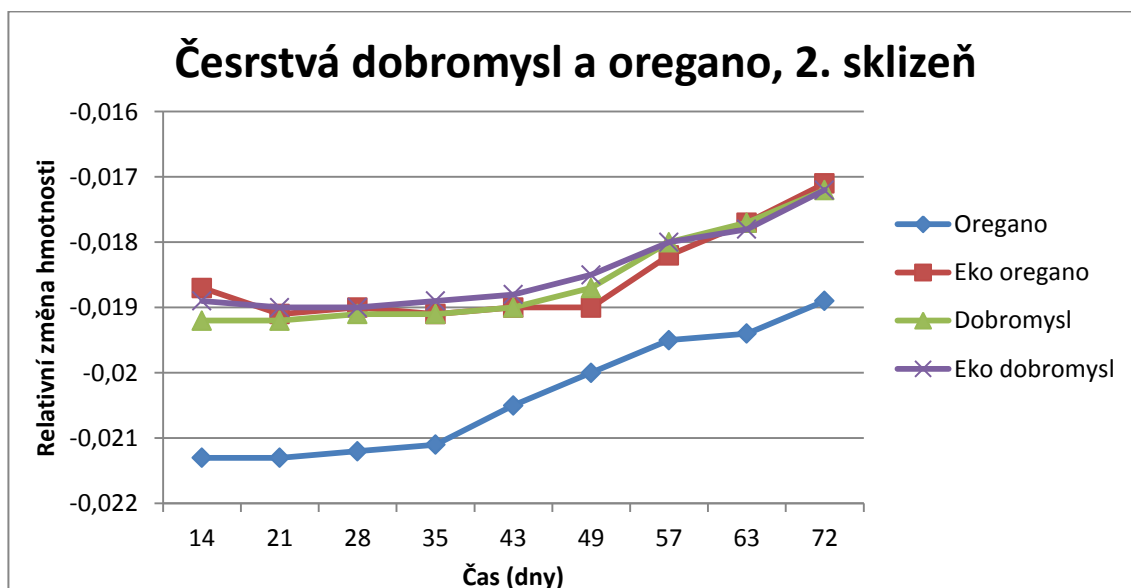
U sušených bylin začala oxidace sádla s bylinami kolem 25. dne viz Graf 3.

**Graf 4** Časový průběh oxidace sádla (čerstvé byliny, 2. sklizeň)



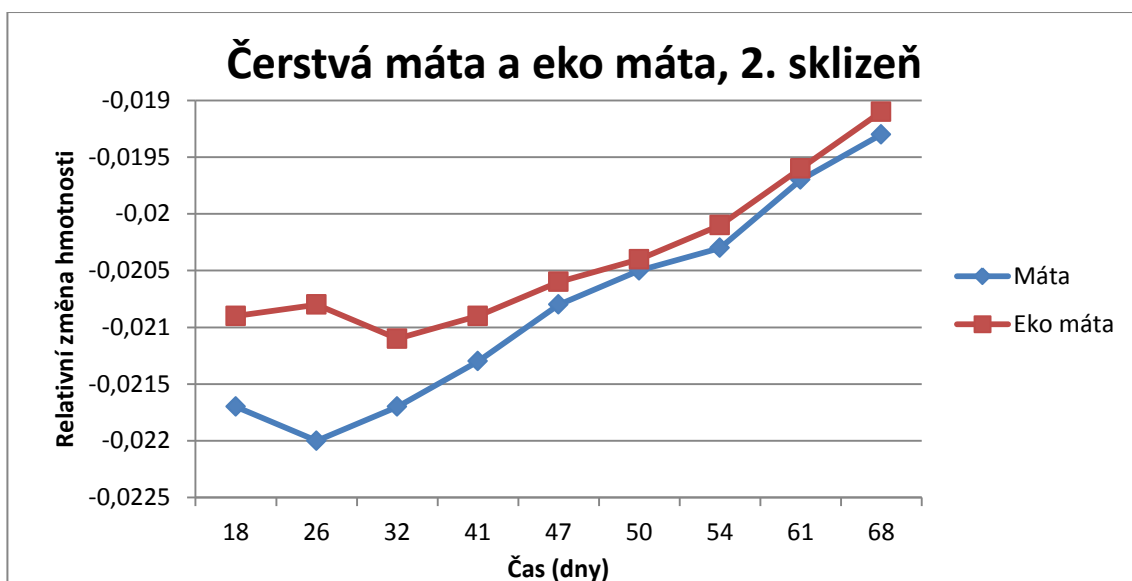
Podle Grafu 4 vepřové sádlo bez přídavku byliny (antioxidantu) začalo oxidovat kolem 9. dne.

**Graf 5** Časový průběh oxidace sádla s přídavkem čerstvé dobromysli a oregana (2. sklizeň)



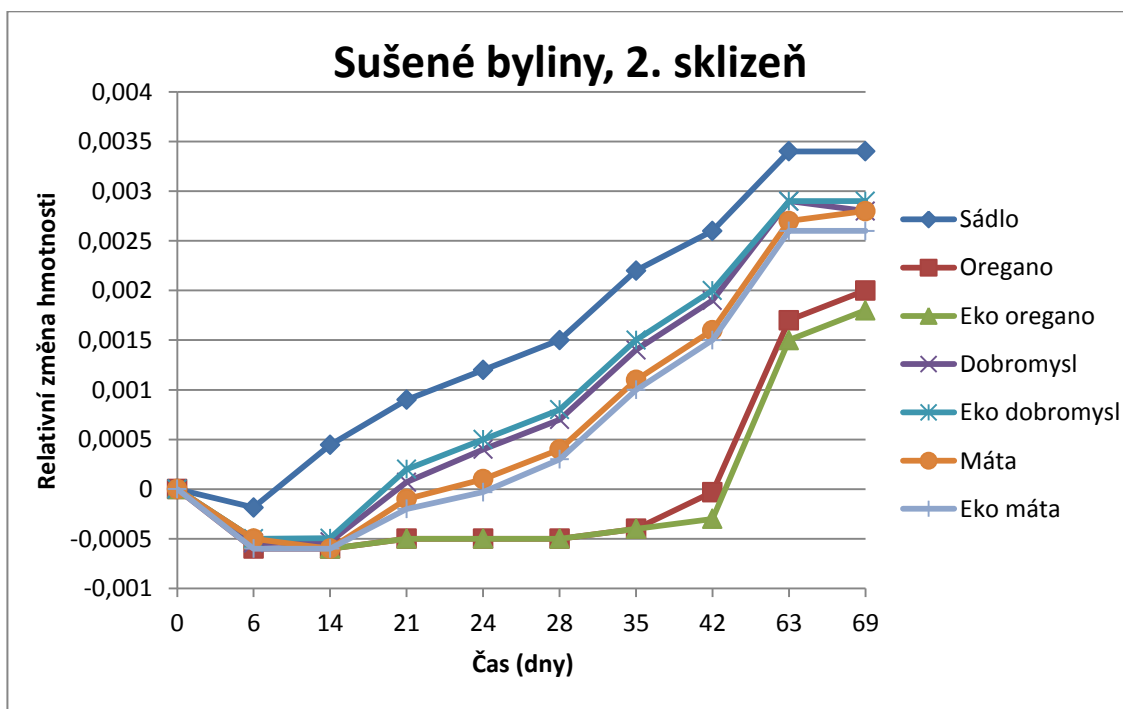
U čerstvých bylin z druhé sklizně se voda odpařila do 15. dne. Oregano i dobromysl z ekologického i konvenčního zemědělství se ve vepřovém sádle chovaly podobně, jak ukazují křivky v Grafu 5.

**Graf 6** Průběh oxidace sádla s přidavkem čerstvé máty (2. sklizeň)



Podle Grafu 6 (po odpaření vody 15. den po začátku měření) byla schopnost ekologické i konvenční máty prodloužit indukční periodu (stabilitu tuku vůči oxidaci) podobná. Ekologická máta prodlužuje indukční periodu nepatrně více (41 dní) než konvenční máta (35 dní).

**Graf 7** Průběh oxidace sádla a sádla s přidavkem sušených bylin (2. sklizeň)



Křivky v Grafu 7 ukazují, že sušené oregano z druhé sklizně výrazně více prodlužuje indukční periodu sádla než dobromysl a oregano, a to jak ekologická (32 dní) tak konvenční forma (31 dní). Sušené oregano z 2. sklizně dokonce prodlužuje indukční periodu více než sušené oregano z 1. sklizně. Indukční perioda má obdobný průběh a není výrazně ovlivněna způsobem pěstování dobromysly, oregana a máty.

**Tabulka 4** Indukční perioda sádla bez přídavku bylin a sádla s bylinou

	Sklizeň	Způsob pěstování	Indukční perioda	
			čerstvé	sušené
Sádlo	1.		10	9
	2.		8	6
Dobromysl obecná ( <i>Origanum vulgare</i> L.)	1.	Ekologický	51	12
		Konvenční	60	15
	2.	Ekologický	41	15
		Konvenční	46	17
Řecké oregano ( <i>Origanum heracleoticum</i> L.)	1.	Ekologický	56	23
		Konvenční	56	24
	2.	Ekologický	53	32
		Konvenční	40	31
Máta klasnatá ( <i>Mentha spicata</i> L.)	1.	Ekologický	38	18
		Konvenční	53	20
	2.	Ekologický	41	18
		Konvenční	35	16

Všechny byliny oddalovaly oxidaci sádla viz Tabulka 4. Indukční perioda se u ekologicky pěstovaných bylin pohybovala v rozmezí 38 až 56 dní pro čerstvé byliny a 12 až 32 dní pro byliny sušené. U konvenčních bylin došlo k vyčerpání antioxidantu po 35 až 60 dnech u čerstvých bylin. Při použití sušené dobromysli, oregana a máty byla indukční perioda kratší (15 – 24 dnů).

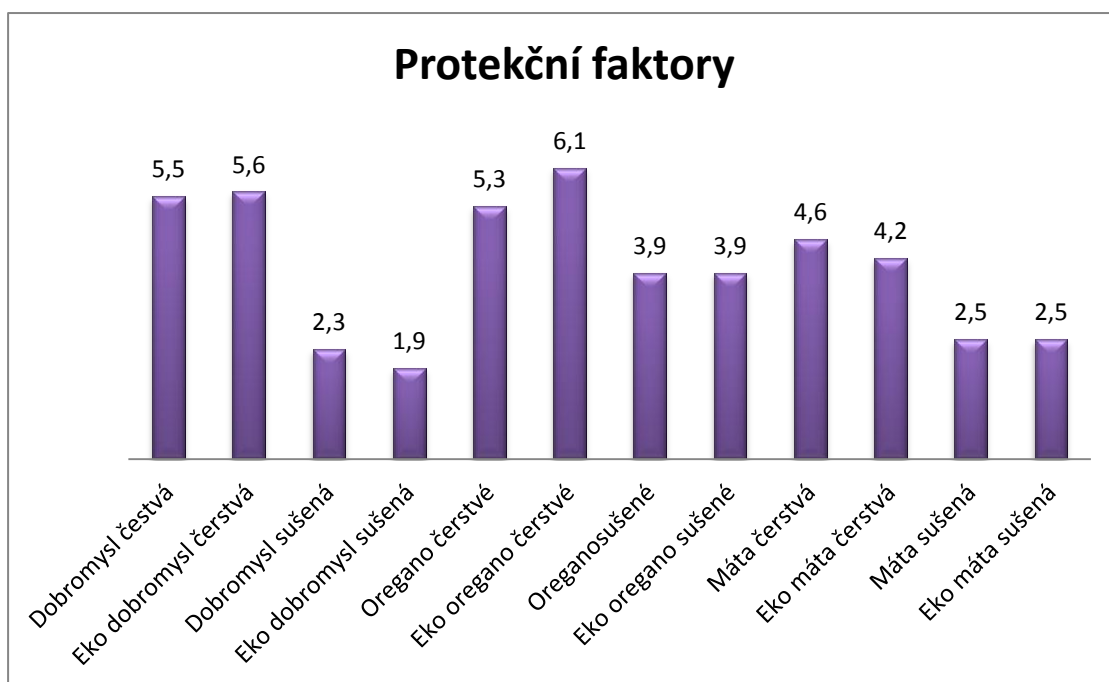


**Tabulka 5** Protekční faktory bylin

Bylina (latinsky)	Sklizeň	Způsob pěstování	PF			
			čerstvé		sušené	
				na 1 g sušiny		na 1 g sušiny
Dobromysl obecná ( <i>Origanum vulgare</i> L.)	1.	Ekologický	6,0	10,9	1,3	4,1
		Konvenční	5,1	9,0	1,7	5,3
	2.	Ekologický	5,1	10,7	2,5	7,2
		Konvenční	5,8	12,1	2,8	8,0
Řecké oregano ( <i>Origanum heracleoticum</i> L.)	1.	Ekologický	5,6	10,9	2,5	7,9
		Konvenční	5,6	11,3	2,7	8,6
	2.	Ekologický	6,6	14,9	5,3	15,4
		Konvenční	5,0	12,5	5,1	14,8
Máta klasnatá ( <i>Mentha spicata</i> L.)	1.	Ekologický	3,8	10,0	2,0	6,2
		Konvenční	5,3	16,5	2,2	7,1
	2.	Ekologický	4,6	13,2	3,0	8,8
		Konvenční	3,9	12,5	2,7	8,1

Tabulka 5 ukazuje, že nejvyšší PF byl nalezen u čerstvého oregana pěstovaného ekologicky, které bylo získáno z 2. sklizně bylin. Pro mátu a oregano platí, že 2. sklizeň ekologický pěstovaných bylin vykazovala vyšší PF. U dobromysli tomu tak bylo pouze u čerstvé pocházející z 1. sklizně. Po přepočtu na 1 g sušiny mělo sušené oregano z 2. sklizně větší protekční faktor.

**Graf 8** Protekční faktory bylin průměrné hodnoty z 1. a 2. sklizně



V Grafu 8 jsou uvedeny zprůměrované hodnoty PF za 1. a 2. sklizeň. Byl zohledněn pouze způsob pěstování a stav byliny (čerstvá, sušená). Mezi ekologicky a konvenčně pěstovanými bylinami nebyly velké rozdíly v hodnotách PF. Sušené oregano a máta měly dokonce u obou forem pěstování stejnou schopnost stabilizovat vepřové sádlo. Nejvýraznější rozdíl se projevil u čerstvého oregana, kde jeho ekologicky pěstována forma inhibuje oxidační reakce více než konvenční. Sušené byliny měly obecně nižší protekční faktor než čerstvé byliny. Sušením se výrazně snížila hodnota PF u všech bylin. Nejvíce to bylo patrné u dobromysli.

#### **5.4 Statistické zhodnocení**

Na základě statistického zhodnocení výsledků analýzy (párový t-test, hladina pravděpodobnosti  $p < 0,05$ ) neexistuje statisticky významný rozdíl mezi antioxidační aktivitou (stanovenou DPPH metodou) dobromysli, oregana a máty pěstovaných ekologickým a konvenčním způsobem. Rovněž nebyl nalezen významný rozdíl u bylin pocházejících z 1. a 2. sklizně. Srovnání čerstvých a sušených bylin se jeví jako statisticky významné ( $p = 0,0001/0,0075$  u hodnot přepočtených na sušinu). Podobně je tomu i u celkového obsahu fenolů. Stav byliny (čerstvá, sušená) se projevil v celkovém obsahu fenolů velice významně ( $p = 0,0000/0,0005$  na sušinu). Pořadí sklizně se na množství fenolových sloučenin

výrazně neprojevilo. Při srovnání TPC bylin z ekologického a konvenčního zemědělství byl významný rozdíl nalezen až po přepočtu hodnot na sušinu ( $p = 0,0173$ ).

Statistické hodnocení (párový t-test, hladina pravděpodobnosti  $p < 0,05$ ) ukázalo, že vliv ekologického pěstování na schopnost inhibice oxidace není významný. Pořadí sklizně rovněž nemělo na oddálení oxidace tuků statistický význam. Jako významné se ukázalo až po přepočtu hodnot PF na 1 g sušiny ( $p = 0,0126$ ). Pokud se jedná o formu bylinky (čerstvá, sušená) rozdíl statisticky rozdíl je významný ( $p = 0,0005/0,0016$  po přepočtu na 1 g sušiny).

**Tabulka 6** Korelační závislosti (na hladině  $p < 0,05$ ) mezi jednotlivými metodami použitými při analýze antioxidační aktivity bylin

Metoda	DPPH	TPC	SCHAAL test
DPPH	1,0000	0,8208	-0,5906
TPC	0,8208	1,0000	-0,7522
SCHAAL test	-0,5906	-0,7522	1,0000

**Tabulka 7** Korelační závislosti (na hladině  $p < 0,05$ ) mezi jednotlivými metodami použitými při analýze antioxidační aktivity bylin z hodnot přepočtených na sušinu vzorku

Metoda	DPPH	TPC	SCHAAL test
DPPH	1,0000	0,6671	-0,3049
TPC	0,6671	1,0000	-0,4693
SCHAAL test	-0,3049	-0,4693	1,0000

Z Tabulky 6 a 7 je patrné, že byla nalezena silná korelační závislost mezi hodnotami antioxidační aktivity získanými metodou DPPH a TPC. Mezi hodnotami protekčního faktoru zjištěných pomocí Schaalova testu a DPPH i TPC byla prokázána slabá nepřímá závislost.

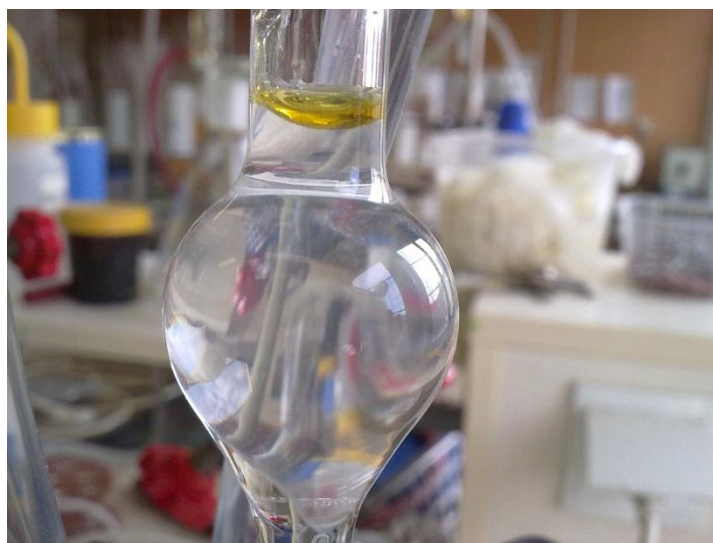
## 5.5 Silice

**Tabulka 8** Vydestilovaný objem silic (ml/kg sušené byliny)

Bylina	Skližeň	Způsob pěstování	Objem silice
Dobromysl obecná ( <i>Origanum vulgare</i> L.)	2.	konvenční	6
	2.	ekologický	5
Řecké oregano ( <i>Origanum heracleoticum</i> L.)	1.	konvenční	33
	1.	ekologický	31
Máta klasnatá ( <i>Metha spicata</i> L.)	1.	konvenční	34
	1.	ekologický	31
	2.	ekologický	30

V Tabulce 8 jsou prezentovány výsledky objemů silic získaných destilací s vodní parou. Dobromysl obecná jak ekologická tak konvenční obsahovala pouze málo silice. Objem silic u oregana a máty z ekologického a konvenčního zemědělství je srovnatelný.

**Obr. 2** Vydestilovaná silice máty klasnaté



V Tabulce 9 jsou prezentovány výsledky kvalitativního a kvantitativního stanovení obsahových složek hydrodestilací získaných silic bylin metodou plynové chromatografie. Eukalyptol, který je vyznačen v chromatogramech (viz Příloha 1 - 2 a Příloha 5 - 7) je spíše známý jako 1,8-cineol, jak je uvedeno v Tabulce 9.

**Tabulka 9** Kvalitativní a kvantitativní zhodnocení silic

Sloučenina	Obsah (%)						
	O	EO	D	OD	M	EM 1	EM 2
myrcen	3,0	3,8	2,9	3,0	1,3	1,1	0,8
( <i>E</i> )- $\beta$ -ocimen	-	-	18,3	21,2	-	-	-
<i>p</i> -cymen	8,7	8,2	-	-	-	-	-
(+)-limonen	-	-	-	-	11,0	10,6	7,1
$\alpha$ -terpinen	2,7	3,4	-	-	-	-	-
$\gamma$ -terpinen	15,3	15,7	-	-	-	-	-
(-)- $\beta$ -fellandren	-	-	25,0	21,0	1,0	0,9	0,7
$\alpha$ -pinen	1,5	1,9	0,7	0,5	1,9	1,7	1,4
$\beta$ -pinen	-	-	0,5	0,7	1,8	1,7	1,4
<i>p</i> -cymen	-	-	2,0	1,8	-	-	-
ocimen	-	-	8,0	7,2	-	-	-
2-thujen	1,4	1,5	0,3	0,4	-	-	-
(3 <i>Z</i> ,6 <i>E</i> )- $\alpha$ -farnesen	-	-	1,9	3,5	-	-	-
(-)- $\beta$ -bisabolen	1,6	1,6	-	-	-	-	-
(-)-germacren D	-	-	11,2	16,2	-	-	-
(-)- $\beta$ -karyophyllen	3,5	4,4	5,9	9,3	3,9	2,9	4,1
$\beta$ -bourbonen	-	-	-	-	5,0	3,9	4,3
(+)-linalool	-	-	4,4	2,1			
1,8-cineol	-	-	2,0	1,5	4,8	4,9	3,6
(+)-terpinen-4-ol	1,1	1,6	-	-	-	-	-
(+)- <i>trans</i> -karveol	-	-	-	-	-	-	5,9
(-)-karvon	-	-	-	-	52,0	54,8	42,3
dihydrokarvon	-	-	-	-	12,7	13,4	25,0
3-oktanol	-	-	-	-	2,5	2,3	2,1
1-okten-3-ol	-	-	2,5	2,0	-	-	-
karvakrol	59,8	54,2	-	-	-	-	-
thymol	1,5	3,8	-	-	-	-	-
elixen	-	-	2,9	-	-	-	-
<i>cis</i> -jasmon	-	-	-	-	2,1	1,9	1,2
$\delta$ -kadinen	-	-	1,1	1,6	-	-	-
karyophyllen oxid	-	-	3,4	2,3	-	-	-
germacren-4-ol	-	-	1,4	1,3	-	-	-
(-)-spathulenol	-	-	3,9	2,3	-	-	-
$\alpha$ -kadinol	-	-	1,8	2,4	-	-	-

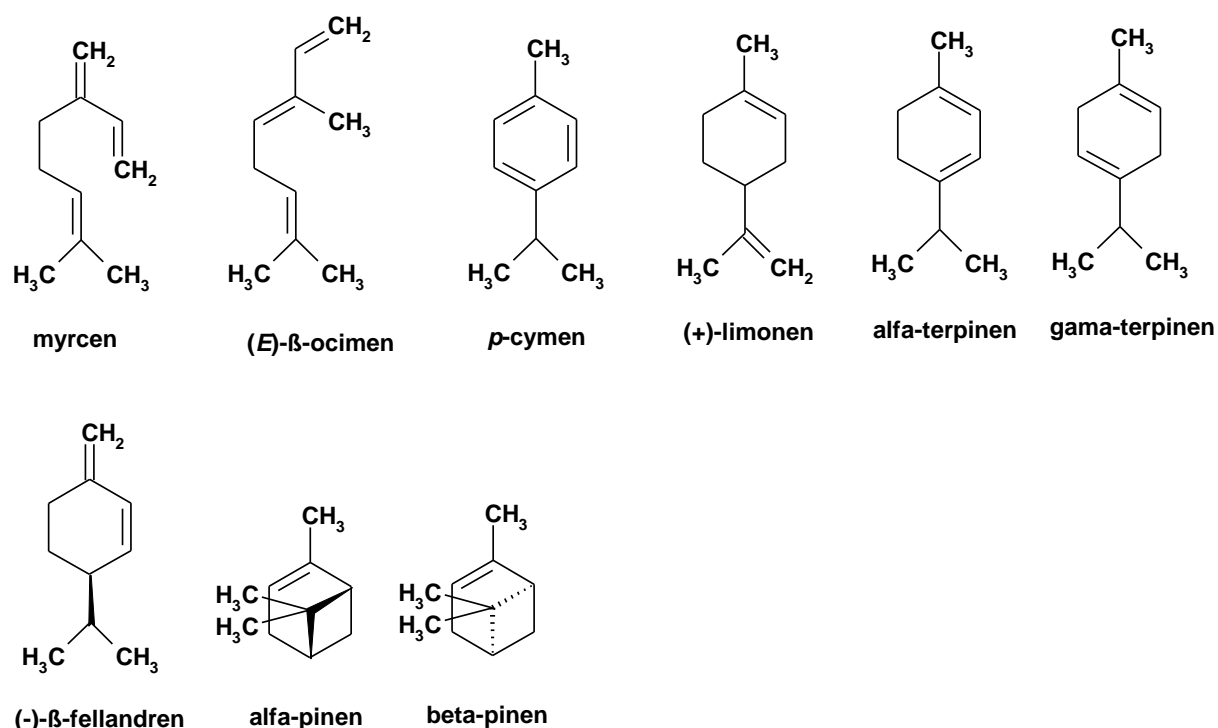
(O – oregano, EO – ekologické oregano, D – dobromysl, ED – ekologická dobromysl, M – máta, EM 1 - ekologická máta 1. sklizeň, EM 2 – ekologická máta 2. sklizeň)

V Tabulce 9 je možno sledovat různé poměry mezi linaloolem a karyophylenem u eko a neeko varianty dobromysli. Podobně i mezi poměry  $\beta$ -fellandrenu a (*E*)- $\beta$ -ocimenu (který je sloučeninou typickou pro bazalku). Byl by zjevně i mezi a farnesenem a elixenem, ale u EKO dobromysli byla jeho koncentrace pod mezí detekce.

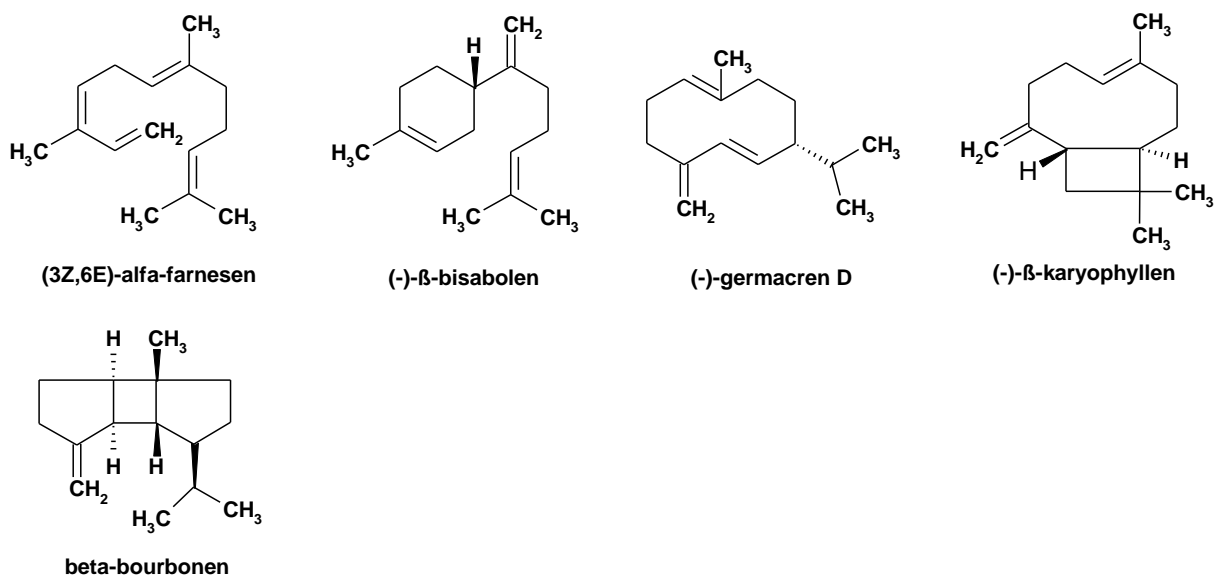
Složení silice ekologicky a konvenčně pěstovaného oregana se významně lišilo v poměru karvakrol : thymol (u EKO oregana 14 : 1, u konvenčního oregana 40 : 1).

Mezi ekologicky a konvenčně pěstovanou mátou nelze najít rozdíl v obsahu a složení silic. Rozdíl byl v obsahu i složení silic mezi 1. a 2. sklizní ekologické máty. V 2. sklizni byl patrný nárůst dihydrokarvonu ((-)-menthonu), nově se objevuje (+)-*trans*-karveol, poklesl obsah (-)-karvonu.

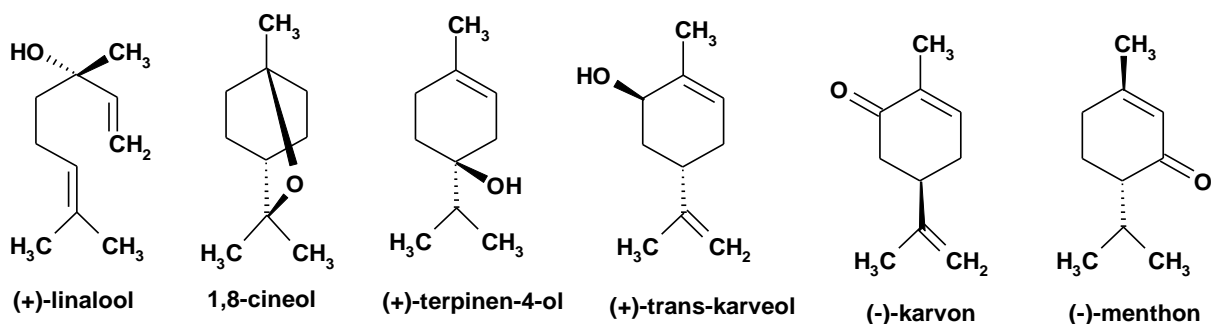
Retenční časy jednotlivých sloučenin u jednotlivých bylin jsou uvedeny v Příloze 8 - 10. Na Obr. 3 až 7 jsou vzorce sloučenin přítomných v sledovaných silicích rozděleny do skupin na základě jejich chemické struktury.



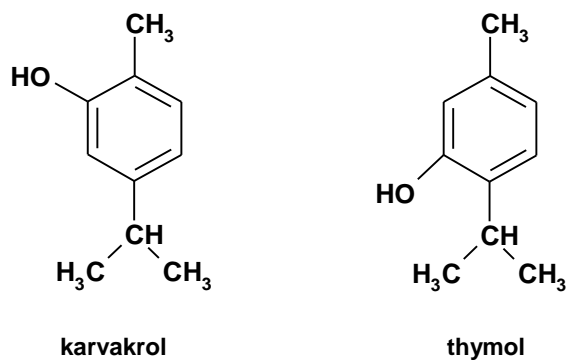
**Obr. 3** Monoterpenové uhlovodíky přítomné ve sledovaných silicích



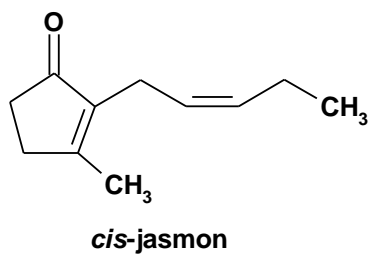
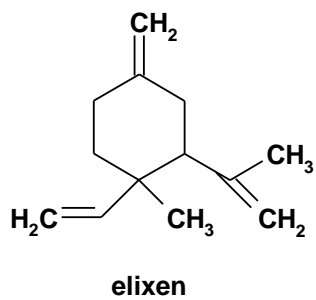
**Obr. 4** Seskviterpenové uhlovodíky přítomné ve sledovaných silicích



**Obr. 5** Terpenové alkoholy a ketony přítomné ve sledovaných silicích



**Obr. 6** Terpenové fenoly přítomné ve sledovaných silicích



**Obr. 7** Alicyklické sloučeniny přítomné ve sledovaných silicích



## 6. Diskuse

Lidé mají v současnosti tendenci vracet se k přirozenému a přírodnímu. Ekologické zemědělství, bioprodukty a biopotraviny zažívají v dnešní době velký boom. Syntetické látky a konvenční produkty jsou brány jako „chemikálie“, které negativně ovlivňují zdraví. Konvenční produkty a potraviny jsou v obecném povědomí jako ty méně zdravé oproti produktům ekologického zemědělství. Ekologické zemědělství je ale založeno na jiných principech a ekologické nebo BIO nemusí automaticky znamenat „zdravější“, i když tomu tak v některých aspektech být může (méně dusitanů a dusičnanů, reziduí pesticidů). Na druhé straně je u nich například větší riziko výskytu mykotoxinů.

Byliny čeledi *Lamiaceae* vykazují významnou antioxidační aktivitu, která je připisována obsahu fenolových sloučenin (viz kapitola 3.2.8). Obsah těchto sloučenin v rostlinách je ovlivněn endogenními (genetickými) i exogenními faktory jako je lokalita, klimatické podmínky, nadmořská výška, délka slunečního svitu, aj. Rostliny, které jsou vystaveny stresovým faktorům prostředí (např. nedostatek živin, škůdci, aj.) mají tendenci vytvářet více sekundárních metabolitů, mezi které patří i fenolové sloučeniny, flavonoidy či silice, které vykazují antioxidační aktivitu. Byliny rostoucí ve volné přírodě by z tohoto hlediska měly obsahovat maximum sekundárních produktů a mít velkou antioxidační aktivitu. V ekologickém zemědělství je používáno minimum hnojení, a pokud je použito, tak se jedná o organická hnojiva. Použití přípravků na ochranu rostlin, jako jsou pesticidy, je zcela zakázáno. To by u rostlin mělo vyvolat vyšší produkci fenolových sloučenin a biobyliny by měly mít větší antioxidační aktivitu. Obecně platí, že organické zemědělství vede u potravinářských výrobků k podobnému nebo o něco vyššímu obsahu polyfenolů a vyšší antioxidační kapacitě Faller and Fialho (2010), více viz kapitola 3.2.2. Dobromysl, oregano i máta pěstované ekologickým způsobem skutečně obsahovaly vyšší množství fenolů a to jak v čerstvém tak v sušeném stavu až na čerstvou a sušenou dobromysl z 1. a sušené oregano z 2. sklizně, kde se tento poměr vyměnil a více fenolů měla konvenční forma. Větší antioxidační aktivitu měly čerstvé oregano a máta z konvenčního zemědělství. U sušených bylin se tento poměr vyměnil a ekologické byliny se jeví jako silnější antioxidanty. Dobromysl z ekologické produkce má v čerstvém i sušeném stavu (až na 2. sklizeň) větší schopnost zhášet DPPH radikál.

Rozdíly mezi jednotlivými bylinami z čeledi *Lamiaceae*, konkrétně dobromysli, oregana a máty, v obsahu fenolů a antioxidační aktivitě nebyly statisticky významné. To znamená, že všechny byliny jsou významnými antioxidanty, i když se čerstvá máta jeví jako slabší antioxidant s nižším obsahem fenolů než dobromysl a oregano. Sušená máta získaná z 1. ekologické sklizně dokonce obsahuje naopak nejvíce fenolů a i její antioxidační aktivita je vysoká. Čerstvá dobromysl je nejsilnějším antioxidantem mezi zkoumanými bylinami a to její ekologická i konvenční forma. Sušená dobromysl má naopak nejnižší hodnoty antioxidační aktivity.

Statistické zhodnocení ukázalo významný rozdíl mezi čerstvými a sušenými bylinami a to i po přepočtu hodnot na obsah sušiny vzorků bylin. Antioxidační aktivita při použití metody DPPH a obdobně i metoda stanovení celkového množství fenolů pomocí Folinova – Ciocalteuova činidla TPC byly přepočítávány na 100 g čerstvých respektive 100 g sušených bylin. Protekční faktor bylin byl přepočítán na 1g sušiny v 25 g vepřového sádla. Při stanoveních byla používána vyšší navážka čerstvých bylin (pro přípravu extraktů k stanovení antioxidační aktivity a celkového obsahu fenolů 6 g; pro Schaalův test 2 g) než sušených (pro přípravu extraktů k stanovení antioxidační aktivity a celkového obsahu fenolů 1,6 g; pro Schaalův test 0,4 g). I při použití bylin v kuchyni se čerstvé a sušené byliny používají v poměru 3:1, jelikož u sušených bylin dojde k zmenšení hmotnosti, změně vzhledu (barva, tvar) a snižuje se obsah účinných látek. Dobromysl, majoránka, tymián a máta si při sušení vůni zachovávají Hohenberger (1998). U některých bylin se dokonce sušením zlepši jejich chuť (více viz kapitola 3.2.7.1). U sušených bylin jsou více narušeny jejich pletiva než u čerstvých, proto byly u čerstvých bylin nižší hodnoty DPPH, TPC po přepočtu na sušinu. Pro požadovaný příjem termolabilních vitamínů (např. vitamin C) je lepší konzumovat byliny v čerstvém stavu, ale příjem a dostupnost antioxidantů z bylin se zvýší při narušení pletiv sušením.

Při srovnávání výsledků antioxidační aktivity a celkového obsahu fenolů je potřeba zohledňovat použitý způsob extrakce, který ovlivňuje výsledné hodnoty (viz kapitola 3.1.5.1). Rovněž je pro stanovení antioxidační aktivity i TPC možno použít řadu různých metod (viz kapitola 3.1.5). Výsledky různých studií antioxidační aktivity léčivých, aromatických a kořeninových rostlin poukazují na významnou korelaci mezi obsahem fenolů a antioxidační aktivitou, což se potvrdilo i u dobromysli, oregana a máty pěstované v ekologických a konvenčních podmínkách.

Léčivé, kořeninové a aromatické rostliny čeledi *Lamiaceae*, ke kterým patří i dobromysl, oregano a máta, mají schopnost inhibovat oxidační reakce probíhající v potravinách obsahujících tuk. Proto je tu možnost jejich použití jako přirozených antioxidantů tuků. Důvodem použití vepřového sádla i naproti tomu, že se jedná o poměrně stabilní tuk díky svému složení (obsahuje převážně stabilní nasycené mastné kyseliny) bylo, že na rozdíl od rostlinných olejů neobsahuje přirozené antioxidanty (např. vitamin E), které by mohly ovlivnit výsledek.

Všechny byliny jak z ekologického tak i z konvenčního způsobu pěstování mají výraznou schopnost oddalovat oxidaci tuků prodloužením indukční periody. Výraznější je tato schopnost u čerstvých bylin. Jako nejvhodnější bylinný antioxidant tuků se ukazuje čerstvé oregano (i když je běžně používáno v sušené formě). Dobromysl, ale vykazuje podobné výsledky. Způsob pěstování (ekologický, konvenční) se u jednotlivých bylin projevuje různě a výsledky nejsou jednoznačné. Pokud zanedbáme pořadí sklizně, pak čerstvá dobromysl a čerstvé oregano, které byly pěstovány ekologickým způsobem, jsou výraznějšími antioxidanty tuků. Na druhou stranu sušená dobromysl a čerstvá máta lépe stabilizovaly tuk vůči oxidaci, pokud byly pěstované konvenčně. Rozdíly, které se projevily ve výsledcích s ohledem na způsob pěstování, nebyly statisticky významné.

Při sušení mohou byliny ztratit až 2/3 cenných látek (např. termolabilní kyselina askorbová), a proto je nutné pro jejich uchování volit co nejšetrnější způsob (vhodná teplota a postup) sušení. Sušení výrazně zkrátilo indukční periodu u všech bylin (dobromysly, oregana i máty). Protekční faktor sušených bylin byl oproti čerstvým také výrazně nižší. Použitý způsob sušení nejméně ovlivnil schopnost inhibovat oxidační reakce tuků u oregana získaného z 2. sklizně, a to u jeho ekologické i konvenční formy. Když byly výsledky přepočteny na 1 g sušiny, sušené oregano se dokonce jeví jako lepší antioxidant než čerstvé.

Slabá respektive střední korelace při použití různých metod tj. DPPH, TPC a Schaalova testu je projevem různého chování antioxidantů v hydrofilním (DPPH, TPC) a lipofilním (Schaalův test) prostředí. Z toho je vidět, že účinek látek s antioxidační aktivitou (antioxidantů) je nejlépe zkoumat na reálném materiálu. Politeo et al. (2006) došli k závěru, že na určení antioxidační aktivity éterických olejů není postačující použití jedné metody, protože výsledky, které získali pomocí metod DPPH, FRAP a TBARS se velice odlišovaly

od výsledků RANCIMAT testu. Na pozitivní korelaci mezi celkovým obsahem fenolů a antioxidační aktivitou, která byla nalezena poukazuje i Chrprová et al. (2010) a další autoři.

V hydrofilním prostředí byla z čerstvých bylin nejúčinnější dobromysl (DPPH: dobromysl > máta > oregano, TPC: dobromysl > oregano > máta). Sušená dobromysl ve vodě naopak vykazovala nejmenší hodnoty (DPPH, TPC: máta > oregano > dobromysl). Sušená máta se pro hydrofilní substrát jeví jako ideální bylina. Pro substrát obsahující tuk byla naopak nejlepší čerstvá máta (SCHAAL: máta > oregano > dobromysl). Čerstvá dobromysl byla v hydrofilním prostředí na rozdíl od lipofilního nejméně účinná. I po usušení byla v tuku nejméně účinnou bylinou. Nejvhodnější bylinou pro hydrofilní substrát bylo v sušeném stavu oregano (SCHAAL: oregano > máta > dobromysl). Celkově vykazuje ve vodném prostředí nejlepší antioxidační aktivitu máta (máta > oregano > dobromysl) a v lipofilním prostředí oregano (oregano > máta > dobromysl). Dobromysl je bylina, která je ze zkoumaných bylin nejméně aktivní.

Typickou složkou silice máty klasnaté je (-)-karvon, který byl nalezen v převažující koncentraci u všech vzorků máty klasnaté. Máta klasnatá na rozdíl od máty peprné neobsahuje menthol, který má významnou antioxidační aktivitu. U silice máty klasnaté byl pomocí GC identifikován dihydrokarvon. Nicméně dihydrokarvon se v její silici podle literatury nevyskytuje a pravděpodobně se jedná o (-)-menthon. Dost výrazně se měnily poměry karyophyllenu a dihydrokarvonu ((-)-menthonu) u silice máty (viz Příloha 5 - 7). Pomocí hmotnostní spektrometrie (MS) byl ve 2. sklizni máty na rozdíl od 1. sklizně identifikován 3-karen, ale jedná se pravděpodobně o  $\alpha$ -pinen. Ve 2. sklizni eko máty byl zjištěn (+)-*trans*-karveol, který je meziproduktem biosyntézy (-)-karvonu z (-)-limonenu podle Veliška a Hajšlové (2009). (+)-*trans*-karveol spolu s (-)-menthonem jsou tedy prekurzory (-)-karvonu, což znamená, že v období 2. sklizně už biosyntéza karvonu probíhá pomaleji.

Hlavní složkou silice řeckého oregana byl karvakrol, kterému se spolu s thymolem, jenž byl v silici rovněž obsažen, přisuzuje antioxidační (i antivirový) účinek. Dalšími významnými sloučeninami obsaženými v silici oregana byly  $\gamma$ -terpinen a *p*-cymen (viz Příloha 3 – 4). V silici dobromysli byly nalezeny oxidační produkty karyophyllen oxid, germacren-4-ol, (-)-spathulenol a  $\alpha$ -kadinol, které již mohly být přítomny v rostlině, nebo vznikly v průběhu manipulace s bylinou – sušení, destilace (viz Příloha 1- 2). Složení silice dobromysli obecně

a řeckého oregana je odlišné, i když oba patří do stejného rodu *Origanum* L. V silici dobromysli nebyly nalezeny karvakrol a thymol, které jsou považovány za složky silic s významným antioxidačním účinkem. Pravděpodobně proto se sušené oregano jeví jako lepší antioxidant a lepší inhibitor oxidačních reakcí než sušená dobromysl.

## 7. Závěr

Vliv ekologického způsobu pěstování rostlin čeledi *Lamiaceae* na jejich antioxidační aktivitu byl hodnocen na základě schopnosti vodného extraktu bylin zhaset volný radikál DPPH. U stejného extraktu byl sledován celkový obsah fenolových látek. Účinnost dobromysli, oregana a máty jako přirozených antioxidantů tuků díky jejich schopnosti prodloužit indukční periodu, tzn. oddálit oxidační reakce a hromadění jejich produktů, byla hodnocena Schaalovým testem. Bylo provedeno i zhodnocení silic obsažených v sušených bylinách.

1. Stanovení antioxidační aktivity pomocí metody DPPH, TPC a Schaalova testu ukázalo, že ekologicky pěstované rostliny nemají statisticky významně větší antioxidační schopnost než rostliny z konvenčního zemědělství.
2. Významně nižší hodnoty DPPH a TPC u čerstvých rostlin byly způsobeny větším narušením pletiv sušeného rostlinného materiálu. To převážilo i nad faktem, že termolabilní složky obsažené v rostlinách mohou být po usušení inaktivní.
3. Extrakty bylin měly různé chování v lipofilním a hydrofilním prostředí. Důležité bylo, jestli šlo o čerstvou nebo sušenou bylinu. Celkově vykazovala ve vodném prostředí nejvyšší aktivitu máta (máta > oregano > dobromysl) a v lipofilním prostředí oregano (oregano > máta > dobromysl).
4. Účinnost bylin jako přirozených antioxidantů je dána i složením silic, které jsou v nich obsaženy a patří mezi sekundární metabolity, stejně jako fenolové sloučeniny. Silice dobromysli, oregana a máty měly odlišné složení. Výrazná antioxidační účinnost sušeného oregana zejména v hydrofilním prostředí je dána obsahem karvakrolu a thymolu, které jsou považovány za sloučeniny s významnou antioxidační aktivitou.

## 8. Seznam literatury

Albano, S. M., Lima, A. S., Miguel, M. G., Pedro, L. G., Barroso, J. G., Figueiredo, A. C. 2012. Antioxidant, Anti – 5 – lipoxygenase and Antiacetylcholinesterase Activities of Essential Oils and Decoction Waters of Some Aromatic Plants. *Record of Natural Products*, 6 (1), 35 – 48.

Allardice, P., Barrett, K., Bitcon, G., Flew, J., Lewis, L., McLeod, J.A. 2009. Veľká kniha bylín, Readers Digest Výber, Bratislava, 399 s. ISBN: 97880970437

Anonym. 2008. Léčivé bylinky a esence Zdraví a harmonie z přírody, Svojtka & Co., Praha, 96 s. ISBN: 9788073528867

Anonym. 2010. Antioxidanty zpomalte čas dietou. Nakladatelství Sun, Praha, 111 s. ISBN: 97888073713447

Anwar, M., Patra, D. D., Chand, S., Alpesh, K., Naqvi, A. A., Khanuja, S. P. S. 2005. Effect of Organic Manures and Inorganic Fertilizer on Growth, Herb and oil Yield, Nutrient Accumulation, and Oil Quality of French Basil. *Communication in Soil Science and Plant Analysis*, 36 (13 – 14), 1737 – 1746.

Aruoma, O. I., Halliwell, B. 1991. Free Radicals and Food Additives, Taylor & Francis, London New York Philadelphia, 201 p. ISBN: 0850667666

Asensio, C. M., Nepote, V., Grosso, N. R. 2011. Oil. *Journal of Food Science*, 76 (7), 445 – 450.

Azizi, A., Yan, F., Honermeier, B. 2009. Herbage yield, essential oil content and composition of three oregano (*Origanum vulgare* L.) population as affected by soil moisture regimes and nitrogen supply. *Industrial Crops and Products*, 29 (2 – 3), 554 – 561.

Babović, N., Žižović, I., Saičić, S., Ivanović, J., Petrović, S. 2010. Oxidative stabilisation of sunflower oil by antioxidant fractions from selected lamiaceae herbs. *Chemical Industry & Chemical Engineering Quarterly*, 16 (4), 287 – 293.

Bavec, M., Turinek, M., Grobelnik – Mlakar, S., Slatnar, A., Bavec, F. 2010. Influence of industrial and alternative farming system on contents of sugars, organic acids, total phenolic content, and the antioxidant activity of red beet (*Beta vulgaris* L. ssp. *vulgaris* Rote Kugel). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 58 (22), 11825 – 11831.

Benbrook, Ch. M. 2005. Elevating Antioxidant Level in Food through Organic farming and Food Processing. The Organic center for Education & Promotion, An Organic Center State of Science Review

Bernik, J. 2010. Vrednotenje pridelka in eteričnik olj v listih bazilike (*Ocimum basilicum* L.) pri dveh tehnologijah gojenja, diplomsko delo, Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, 51 s.

Bozin, B., Mimica – Ddukic, N., Samojlik, I., Jovin, E. 2007. Antimicrobial and Antioxidant Properties of Rosemary and Sage (*Rosmarinus officinalis* L. and *Salvia officinalis* L., Lamiaceae) Essential Oils. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 55 (19), 7879 – 7885.

Braunová – Bernhartová, U. 2005. Bylinky a koření, Jan Vašut, Praha, 138 s. ISBN: 8072363980

Bremnessová, L. 2004. Bylinky, Ikar, Bratislava, 304 s. ISBN: 8055108803

Brewer, M. S. 2011. Natural Antioxidants: Sources, Compunds, Mechanisms of Action, and Potential Applications. *Comprehensive reviews in Fppd Science and Food Safety*, 10 (4).

Brunsová, A., Brunsová, S. 2010. Biozahrada – Praktická příručka, Nakladatelství PLOT, Praha, 180 s. ISBN: 9788074280269

Bulánková, I. 2005. Léčivé rostliny na naší zahradě, Grada Publishing, Praha, 83 s. ISBN: 8024712741

Buřičová, L. 2011. Antioxidant capacity of selected medicinal plants, dissertation, Institute of Chemical Technology, Faculty of Food and Biochemical Technology, Prague, 120 s.

Buřičová, L., Andjelkovic, M., Čermáková, A., Réblová, Z., Jurček, O., Kolehmainen, E., Verhé, R., Kvasnička, F. 2011. Antioxidant Capacity and Antioxidants of Strawberry, Blackberry, and Raspberry Leaves. *Czech Journal of Food Sciences*, 29 (2), 181 – 189.

Cioroi, M., Dumitriu, D. 2009. Studies on total polyphenols content and antioxidant activity of aqueous extracts from selected Lamiaceae species. *Food Technology*, 34 (1).

Clevely, A. 1998. Velká kniha bylinek, Svojtka&Co, Praha, 255 s. ISBN: 8072371320

Clevely, A. 2001. Obrazová encyklopedie BYLINKY, Svojtka & Co., Praha, 131 s. ISBN: 8072374494

Coultate, T. P. 2009. Food The Chemistry of its Componets 5th Edition, RSC Publishing, Cambridge, 501 p. ISBN: 9780854041114

Couladis, M., Tzakou, O., Verykokidou, E., Harvala, C. 2003. Screening of some Greek aromatic plants for antioxidant activity. *Phytotherapy Research*, 17 (2), 194 – 195.

Čížková, A. 2009. Metody analýzy antioxidantů v potravinách, bakalářská práce, Univerzita Pardubice, Fakulta chemicko – technologická, Pardubice, 35 s.



Dambolena, J. S., Zunino, M. P., Lucini, E. I., Olmedo, R., Bima, P. J., Zygadlo, J. A. 2010. Total phenolic content, radical scavenging properties, and essential oil composition of *Origanum* species from different populations. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 58 (2), 1115 – 1120.

Davídek, J., Hrdlička, J., Karvánek, M., Pokorný, J., Seifert, J., Velíček, J. 1981. *Laboratorní příručka analýzy potravin*, SNTL - Nakladatelství technické literatury, Praha, 508 s. ISBN: 0481481

Davídek, J. 1992. *Analýza potravin*, Ediční středisko VŠCHT, Praha, 122 s. ISBN: 8070801638

Doman, H. J. D., Peltoketo, A., Hiltunen, R., Tikkanen, M. J. 2003. Characterisation of the antioxidant properties of de – odourised aqueous extract from selected Lamiaceae herbs. *Food Chemistry*, 83, 255 – 262.

Edris, A.E., Shalaby, A., Fadel, H. M. 2003. Effect of organic agriculture practices on the volatile aroma components of some essential oil plants growing in Egypt II: sweet Majoram (*Origanum marjorana* L.) essential oil. *Flavour and Fragrance Journal*, 18 (4), 345 – 351.

Faller, A. L. K., Fialho, E. 2010. Polyphenol content and antioxidant capacity in organic and conventional plant foods. *Journal of Food Composition and Analysis*, 23 (6), 561 – 568.

FAO and WHO. 2007. *Organically produced Foods Codex Alimentarius*, FAO and WHO, Roma, 49 p. ISBN: 9789251058350

Fletcher, R. S., Slimmon, T., McAuley, C. Y., Kott, L. S. 2005. Heat stress reduces the accumulation of rosmarinic acid and the total antioxidant capacity in spearmint (*Mentha spicata* L.). *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 85 (14), 2429 – 2436.

Gradwell, V., Gurney, K., Maguire, K., Patton, P., Segall, B., Vernon, J., Westhorpe, T. 2008. *Tajomstvá starého záhradníka, Reader's Digest Výber Slovensko*, s. r. o., Bratislava, 320 s. ISBN: 9788080970123

Gramza – Michalowska, A., Sidor, A., Hes, M. 2011. Herb Extract Influence on the Oxidative Stability of Selected Lipids. *Journal of Food Biochemistry*, 35 (6), 1723 – 1736.

Grosser, W. 2004. *Bylinky na zahradě*, Grada, Praha, 64 s. ISBN: 8024705931

Guimarães, R., Barros, L., Crvalho, A. M., Ferreira, I. C. F. R. 2011. Herbs used in Folk Medicine: Synergism in Antioxidant Potential. *Phytotherapy Research*, 25 (8), 1209 – 1214.

- Hardingová, J. 2005. Tajemný svět bylin: užitečný rádce pro pěstování a používání bylinek, Slovart, Praha, 256 s. ISBN: 8072097075
- Hardingová, J. 2009. Byliny. Obrazový průvodce bylinami a rostlinnými léčivy, Svojtka & Co., Praha, 320 s. ISBN: 9788025600504
- Hayersová, V. 2009. Labužníková zahrada, Perfekt, Bratislava, 144 s. ISBN: 9788080464509
- Heimler, D., Vignolini, P., Arfaioli, P., Iisolani, L., Romani, A. 2012. Conventional, organic and biodynamic farming: differences in polyphenol content and antioxidant activity of *Batavia lettuce*. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 92 (3), 551 – 556.
- Hohenberger, E. 1998. Léčivé byliny a koření, EuromediaGroup, Praha, 96 s. ISBN: 80717677085
- Horeličanová, L. 2008. Myslite ekologicky. *Záhradkár*. XLIV (11), 32 – 33.
- Horeličanová, L. 2009. Bylinky do zásoby. *Záhradkár*. XLV (7), 68 – 70.
- Hosseimehr, S. J., Pourmorad, F., Shahabimajd, N., Shahrbandy, K., Hosseizadeh, R. 2007. *In vitro* Antioxidant Activity of *Polygonium hyrcanicum*, *Centaurea depressa*, *Sambucus ebulus*, *Mentha spicata* and *Phytolacca americana*. *Pakistan Journal of Biological Science*, 10 (4), 637 – 640.
- Hřebíčková, Š. 2009. Antioxidanty a volné radikály: rozdělení, jejich kapacita a aktivita. *Výživa a potraviny*. 64 (2), 30 – 32.
- Huber, M., Remnialkowska, E., Średnicka, D., Bügel, S., van de Vijver, L. P. L. 2011. Organic food and impact on human health: Assessing the *status quo* and prospects of research. *NJAS – Wageningen Journal of Life Sciences*, 58 (3 – 4), 103 – 109.
- Hung – bo, S., Chu, L., Shao, M., Jaleel, CH. A., Hongmei, M. 2008. Higher plant antioxidants and redox signaling under environmental stresses. *Comptes Rendus Biologies*, 331 (6), 433 – 441.
- Chauhan, R. S., Kaul, M. K., Shahi, A. K., Kumar, A., R Ram, G., Tawa, A. 2009. Chemical composition of essential oils in *Mentha spicata* L. accession [IIIM(J)26] from North – West Himalayan region, India. *Industrial Crops and Products*, 29 (2 – 3), 654 – 656.
- Choe, E., Min, D. B. 2009. Mechanism of Antioxidants in the Oxidation of Foods. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 8, 345 – 358.
- Choudhury, R. P., Kumar, A., Garg, A. N. 2006. Analysis of Indian mint (*mentha spicata*) for essential, trace and toxic elements and its antioxidant behaviour. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 41 (3), 825 – 832.

Chrpová, D., Kouřimská, L., Gordon M. H., Heřmánková, V., Roubíčková, O., Pánek, J., 2010. Antioxidant Activity of Selected Phenol and Herbs Used in Diets for Medical Condition. Czech Journal of Food sciences, 28 (4), 317 – 325.

Jerković, I., Mastelić, J., Miloš, M. 2001. The impact of both the season of collection and drying on the volatile constituents of *Origanum vulgare* L. spp. *hirtum* grown wild in Croatia. International Journal of Food Science & Technology, 36 (6), 649 – 654.

Kaurinovic, B., Popovic, M., Vlaisavljevic, S., Trivic, S. 2011. Antioxidant Capacity of *Ocimum basilicum* L. and *Origanum vulgare* L. Extract. Molecules, 16, 7401 – 7414.

Kavina, J., Gopi, R., Panneerselvam, R. 2011. Influence of Growth regulators and Fungicides on Antioxidant Potential of *Mentha piperita* Linn. Journal of Pharmacy Research, 4 (8), 2596 – 2601.

Khalil, M. Y., Moustafa, A. A., Naguib, N. Y. 2007. Growth, Phenolic Compounds and Antioxidant Activity of Some Medicinal Plants Grown under Organic Farming Condition. World Journal of Agricultural Science, 3 (4), 451 – 457.

Kiselova, Y., Ivanova, D., Chervenkov, T., Gerova, D., Galunska, B., Yankova, T. 2006. Correlation between the *In Vitro* antioxidant activity and polyphenol content of aqueous extracts from bulgarian herbs. Phytotherapy Research, 20 (11), 961 – 965.

Kliková, G., Pavelková Z. 2000. Pěstujeme bylinky, Grada, Praha, 89 s. ISBN: 8071698393

Klimánková, E., Holadová, K., Hajšlová, J., Čajka, T., Poustka, J., Koudela, M. 2008. Aroma profiles of five basil (*Ocimum basilicum* L.) cultivars grown under conventional and organic condition. Food Chemistry, 107 (1), 464 – 472.

Kolesárová, L. 2010. Sledování antioxidační aktivity vybraných druhů bylin, diplomová práce, Česká zemědělská univerzita v Praze, Fakulta agrobiologie, potravinových a přírodních zdrojů, Praha, 74 s.

Komprda, T. 2007. Některé aspekty srovnání jakosti biopotravin a běžných potravin. Výživa a potraviny. 62 (2), 52 – 54.

Kothe, H. W. 2007. 1000 bylin. Svojtka & Co, Praha, 336 s. ISBN: 9788073526672

Krusat, M., Emre, I., Yilmaz, Ö., Erecevit, P. 2011. Antioxidant and antimicrobial activity in seeds of *Origanum vulgare* L. subsp. *gracile* (C. Koch) letsvaart and *Origanum acutidens* (Hand. – Mazz.) letsvaart from Turkey. Grasas Y Aceites, 62 (4), 410 – 417.

Kubištová, V. 2010. Spektrofotometrické studium antioxidační aktivity, bakalářská práce, Univerzita Palackého v Olomouci, Fakulta přírodovědecká, Olomouc, 47 s.

- Kvasnička, F., Ševčík, R. 2009. Antioxidanty potravin. *Výživa a potraviny*. 64 (5), 136 – 138.
- Kybal, J., Kaplická, J. 1988. Naše a cizí koření, Státní zemědělské nakladatelství, Praha, 232 s. ISBN: 070278804/11
- Macuchová, S., 2010. Studium aktivity enzymatických a nízkomolekulárních antioxidačních systémů, disertační práce, Vysoké učení technické v Brně, Fakulta chemická, Brno, 147 s.
- Mandana, B., Russly, A. R., Ali, G., Farah, S. T. 2011. Antioxidant activity od spearmint (*Mentha spicata* L.) leaves extract by Supercritical Carbon Dioxide (SC – CO<sub>2</sub>) extraction. *International Food Research Journal*, 18, 543 – 547.
- Martinec, M., Zloch, Z. 2009. Nutriční hodnoty a antioxidační kapacita biopotravin a standardních potravin. Jejich změny po jednotýdenním skladování. *Výživa a potraviny*, 64 (2), 43 – 46.
- Matsingou, T. Ch., Petrakis, N., Kapsokefalou, M., Salifoglou, A. 2003. Antioxidant Activity of Organic Extracts from Aqueous Infusion of Sage. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51 (23), 6696 – 6701.
- Michálková, I. 2006. Průvodce spotřebitele, svazek č. 6 - Značky a informace na potravinách. Sdružení českých spotřebitelů, Praha, 44 s. ISBN: 8023966529
- Ministerstvo zdravotnictví ČR. 2009. Český lékopis, Grada, Praha, 3968 s. ISBN: 9788024729947
- Mitáček, T., Neugebauerová, J., Prášil, J. Zdražilová, I. 2010. Pěstování léčivých a kořeninových rostlin v ekologickém zemědělství, Bioinstitut, Olomouc, 48 s. ISBN: 9788087371053
- Mlejová, V., Pavlíková, P., Dobiáš, P., Ventura, A., Ventura, K. 2010. Aplikace mikroextrakce tuhou fází pro analýzu bylinných silic. *Chemické Listy*, 104, 166 – 171.
- Mockute, D., Bernotiene, G., Judzentiene, A. 2001. The essential oil of *Origanum vulgare* L. ssp. *vulgare* growing wild in Vilnius district (Lithuania). *Phytochemistry*, 57 (1), 65 – 69.
- Norman, J. 2004. Herb & Spice the cook's essential companion. Dorling Kindersley Limited, London, 336 s. ISBN: 1405306971
- Pavlíková, P., Dobiáš, P., Adam, M., Ventura, K. 2008. Analýza antioxidantů v rostlinách a jejich antioxidační aktivita. Sborník přednášek ze semináře Analýza organických látek v životním prostředí, 2 THETA – Ing. Václav Helán, Český Těšín, 252 s. ISBN: 9788086380452

Pizzale, L., Bortolomeazzi, R., Vichi, S., Überegger, E., Conte, L. S. 2002. Antioxidant activity of sage (*Salvia officinalis* and *S. fruticosa*) and oregano (*Origanum onites* and *O. onites*) extract related to their phenolic compound content. Journal of the Science of Food and Agriculture, 82 (14), 1645 – 1651.

Plumb, G. W., Chambers, S. J., Lambert, N., Bartolome, B., Heaney, R., Wanigatunga, S., Arouma, O. I., Halliwell, B., Williamson, G. 2007. Antioxidant Actions of Fruit, Herb and Spice Extracts. Journal of Food Lipids, 3 (3), 171 – 188.

Pokorný, J. 1991. Natural antioxidants for food use. Trends in Food Science & Technology, 2, 223 – 227.

Pokorný, J. 2007. Are natural antioxidants better – and safer – than synthetic antioxidants? European Journal of Lipid Science and Technology, 109 (6), 629 – 642.

Pokorný, J., Yanishlieva, N., Gordon, M. 2001. Antioxidants in food, Woodhead Publishing Limited, Cambridge England, 369 p. ISBN: 185573463X

Politeo, O., Jukić, M., Mladen, M. 2006. Chemical Composition and Antioxidant Activity of Essential Oils of Twelve Spice Plants. Croatia Chemia Acta, 79 (4), 545 – 552

Prah, U., 2011. Vrednotenje kakovosti pravega pelina (*Artemisia absinthum* L.), diplomsko delo, Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, 51 s.

Progar, V. 2010. Vrednotenje kakovosti žajblja (*Salvia officinalis* L.) iz naravnih rastišč, diplomsko delo, Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, 54 s.

Rababah, T. M., Banat, F., Rababah, A., Ereifej, K., Yang, W. 2010. Optimization of Extraction Condition of Total Phenolics, Antioxidant Activities, and Anthocyanin of Oregano, Thyme, Terebinth and Pomegranate. Journal of Food Science, 75 (7), 626 - 632

Rubcov, V. G., Beneš, K. 1990. Zelená lékarna, Lidové nakladatelství, Praha, 308 s. ISBN: 807022004X

Saneckiová, K. N. 1998. Bylinky, Svojtka & Co., Praha, 124 s. ISBN: 8072370782

Seidler – Lozykowska, K., Mordalski, R., Kuchrski, W., Golcz, A., Kozik, E., Wójcik, J. 2009a. Economic and Qualitative Value of The Raw Material of Chosen Species of Medicinal Plants from Organic farming Part I. Yield and Quality of Garden Thyme Herb (*Thymus vulgaris* L.). Acta Scientiarum Polonorum, 8 (3), 23 -28.

Seidler – Lozykowska, K., Mordalski, R., Kuchrski, W., Golcz, A., Kozik, E., Wójcik, J. 2009b. Economic and Qualitative Value of The Raw Material of Chosen Species of Medicinal Plants from Organic farming Part II: Yield and Quality of Sweet Basil Herb (*Ocimum basilicum* L.). Acta Scientiarum Polonorum, 8 (3), 29 – 35.

Seidler – Lozykowska, K., Mordalski, R., Kuchrski, W., Golcz, A., Kozik, E., Wójcik, J. 2009c. Economic and Qualitative Value of The Raw Material of Chosen Species of Medicinal Plants from Organic farming Part III. Yield and Quality of Sweet Basil Herb and Seed yield of Summer Savoy (*Satureja hortensis* L.). Acta Scientiarum Polonorum, 8 (4), 47 – 53.

Seidler – Lozykowska, K., Mordalski, R., Kuchrski, W., Golcz, A., Kozik, E., Wójcik, J. 2009d. Economic and Qualitative Value of The Raw Material of Chosen Species of Medicinal Plants from Organic Farming Part IV. Yield and Quality of Herb and Seed Yield of Sweet Majoram (*Origanum majorana* L.). Acta Scientiarum Polonorum, 8 (4), 55 – 61.

Serrano, C., Matos, O., Teixeira, B., Ramos, C., Neng, N., Nogueira, M. L., Marques, A. 2011. Antioxidant and antimicrobial activity of *Satureja montana* L. extracts. Journal of the Science of Food and Agriculture, 91 (9), 1554 – 1560.

Sibley, V. 2008. Aromaterapie pro každého. Esenciální oleje pro povzbuzení mysli, těla a duše, Svojtka & Co., Praha, 128 s. ISBN: 9788073527792

Small, E. 2006. Velká kniha koření, bylin a aromatických rostlin, Volvox Globator, Praha, 688 s. ISBN: 8072074628

Sochor, J., Saôaš, J., Krška, B., Adam, V., Havel, L., Kizek, R. 2010. Protokol pro fotometrické stanovení antioxidační aktivity v biologickém vzorku. Listy cukrovatnické a řepářské, 126 (11), 416.

Smirnoff, N. 2005. Antioxidants and Reactive Oxygen Species in Plants, Blackwell Publishing, Oxford, 320 p. ISBN: 139781405125291

Stratil, P., Kubáň, V., Fojtová, J. 2008. Comparison of the phenolic content and total antioxidant activity in wines as determined by spectrophotometric methods. Czech Journal of Food Sciences, 26, 242 – 253.

Štěbrová, A. 2009. Charakterizace margarínů pro pečení. diplomová práce, Vysoké učení technické v Brně, Fakulta chemická, Brno, 73 s.

Thomas, R. H., Bernards, M. A., Drake, E. E., Guglielmo, Ch. G. 2010. Changes in the antioxidant activities of seven herb – and spice – based marinating sauces after cooking. Journal of Food Composition and Analysis, 23 (3), 244 – 252.

Treadwell, D. D., Hochmuth, G. J., Hochmuth, R. C., Simonne, E. H., Davis, L. L., Laughlin, W. L., Li, Y., Olczyk, T., Sprengel, R. K., Osborne, L. S. 2007. Nutrient Management in Organic Greenhouse Herb Production: Where Are We Now? Hort Technology, 17 (4), 461 – 466.

Upadhyaya, S., Majanta, J. J., Saikia, L. R. 2011. Antioxidant activity, phenol and flavonoid content of a medicinal herb *Andrographis paniculata* (Burm.F.) Ness grown using different organic manures. *Journal of Pharmacy Research*, 4 (3), 614 – 616.

Valíček, P. 2005. Koření a jeho léčivé účinky, START, Benešov, s. ISBN: 8086231348

Velišek, J. 2002a. *Chemie potravin 2*, OSSIS, Tábor, 320 s. ISBN: 8086659011

Velišek, J. 2002b. *Chemie potravin 3*, OSSIS, Tábor, 368 s. ISBN: 8086659038

Velišek, J., Cejpek, K. 2008. *Biosynthesis of Food Components*, OSSIS, Tábor, 512 p. ISBN: 9788086659121

Velišek, J., Hajšlová, J. 2009. *Chemie potravin 2*, OSSIS, Tábor, 644 s. ISBN: 9788086659169

Vermeulen, N. 2004. *Encyklopedie bylin a koření*, Rebo Productions CZ s.r.o., Praha, 319 s. ISBN: 8072341693

Viteková, A. 2008. Sezóna byliniek. *Záhradkár*. XLIV(9), 38 – 39.

Viuda – Martos, M., Navajas, Y. R., Zapata, E. S., Fernández – López, J., Pérez – Álvarez, A. 2010. Antioxidant activity of essential oils of five spice plants widely used in a Mediterranean diet. *Flavour and Fragrance Journal*, 25 (1), 13 – 19.

Volf, K., Andrs, F. 2008. *Flavonoidy a jejich biologické působení*, JuWital s. r. o., Praha, 174 s.

Wojtowicz, D. 2004. *Bylinky z vlastnej záhrady*, Computer Press, Bratislava, 72 s. ISBN: 8025104192

Yanishlieva, N., Marinova, E. M. 2006. Antioxidant activity of selected species of the family Lamiaceae grown in Bulgaria. *Food/Nahrung*, 39 (5 – 6), 458 – 464.

Yanishlieva, N. V., Marinova, E., Pokorný, J. 2006. Natural antioxidants from herbs and spices. *European Journal of Lipid Science and Technology*, 108 (9), 776 – 793.

Yi, W., Wetzstein, H. Y. 2010. Biochemical, biological and histological evaluation of some culinary and medicinal herbs grown under greenhouse and field conditions. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 90 (6), 1063 – 1070.

Zeuthen, P., Bogh-Sorensen, L. 2003. *Food preservation techniques*. Woodhead Publishing Limited, Cambridge England, 581 p. ISBN: 0849317576

Česko. Vyhláška č. 331 ze dne 11. prosince 1997 pro koření, jedlou sůl, dehydratované výrobky a ochucovadla a hořčici. In *Sbírka zákonů České republiky*. 1997, částka 110, s. 66724. Dostupná také z www: < <http://aplikace.mvcr.cz/archiv2008/sbirka/1997/sb110-97.pdf>>.

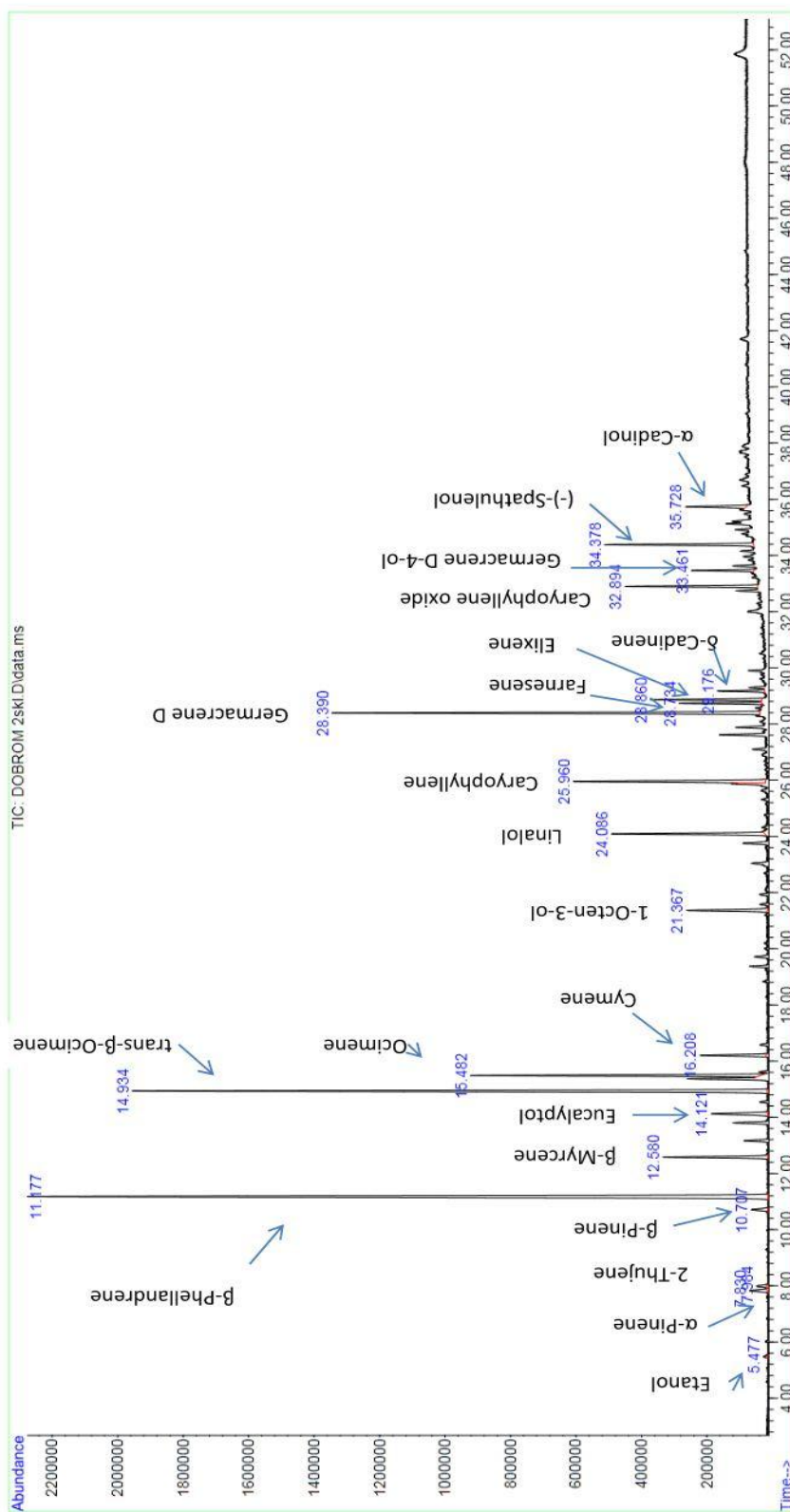
Česko. Zákon č. 242 ze dne 29. června 2000 o ekologickém zemědělství. In Sbírnka zákonů České republiky. 2000, částka 73, s. 3499. Dostupný také z www: <<http://aplikace.mvcr.cz/archiv2008/sbirka/2000/sb073-00.pdf>>.



# Samostatné přílohy

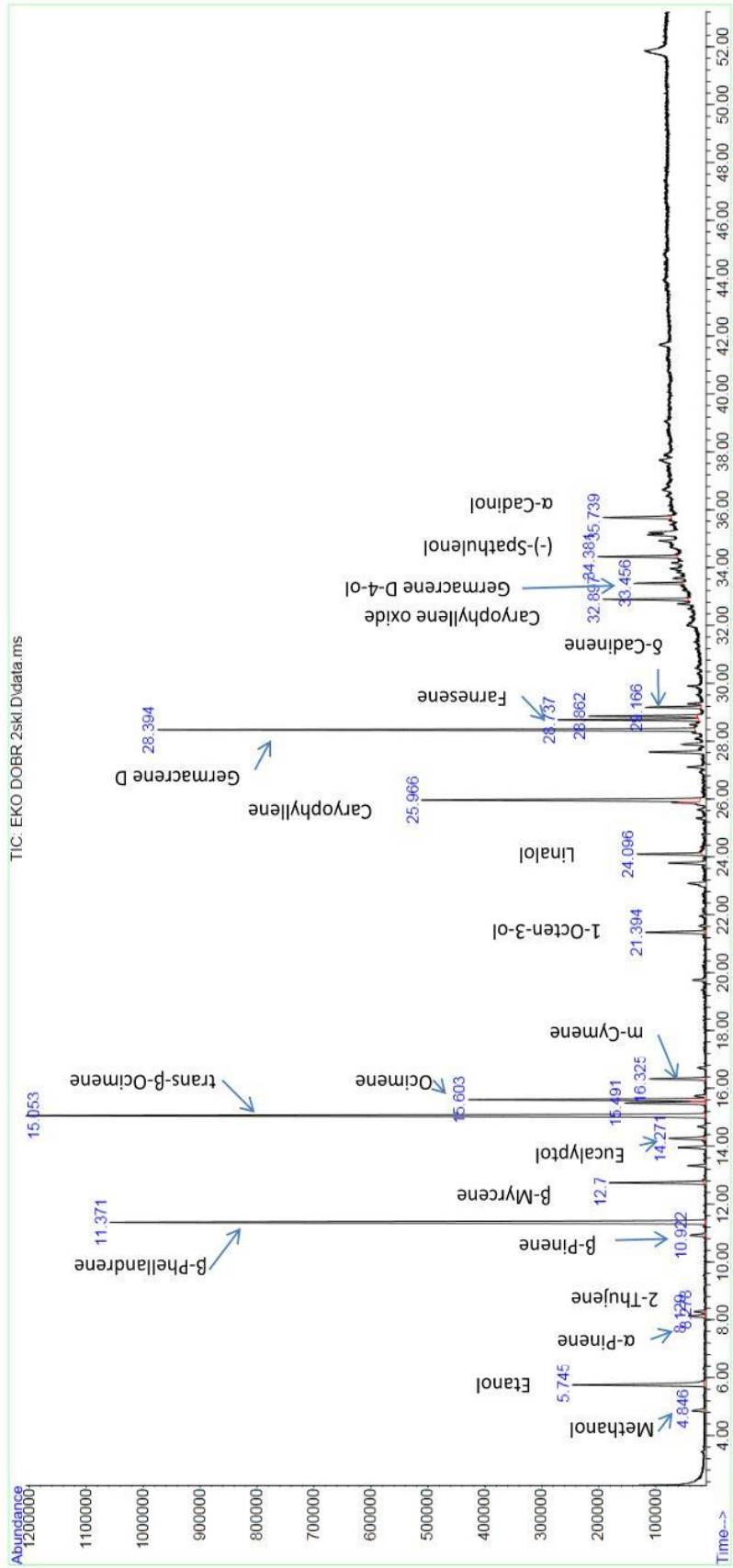
## Příloha 1 Chromatogram dobromysl obecná, 2. sklizeň

File : G:\Panek\DOBROM 2ski.D  
Operator :  
Acquired : 12 Mar 2012 4:00 using AcqMethod MATA.M  
Instrument : Instrument #1  
Sample Name : DOBROM 2ski  
Misc Info : 20.3.2012  
Vial Number: 2



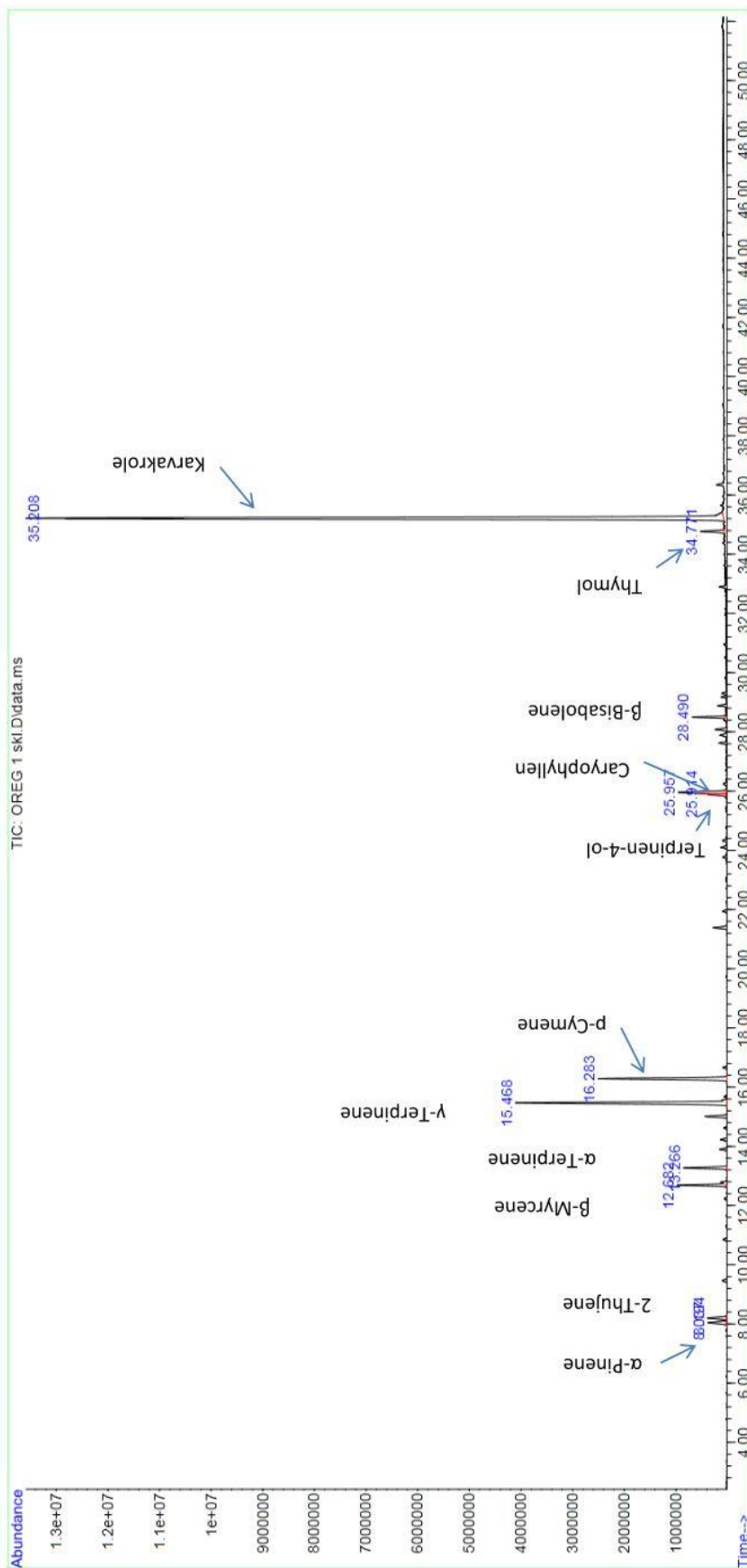
**Příloha 2** Chromatogram EKO dobromysl obecná, 2. sklizeň

File :G:\Panek\EKO DOBR 2skl.D  
 Operator :  
 Acquired : 12 Mar 2012 2:29 using AcqMethod MATA.M  
 Instrument : Instrument #1  
 Sample Name: EKO DOBR 2skl  
 Misc Info : 20.3.2012  
 Vial Number: 1



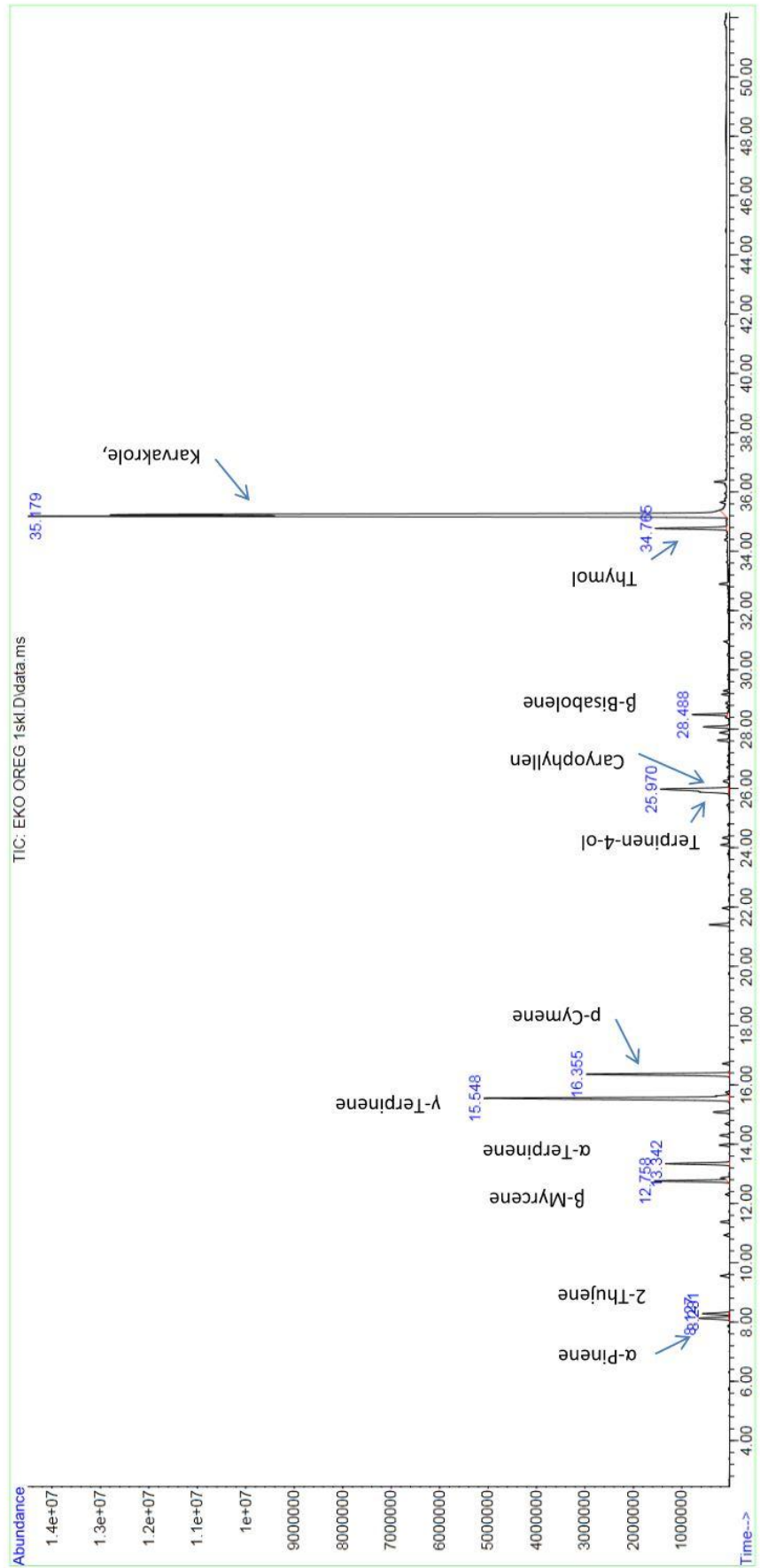
### Příloha 3 Chromatogram řecké oregano, 1. sklizeň

File : G:\Panek\OREG 1 skl.D  
Operator :  
Acquired : 12 Mar 2012 6:34 using AcqMethod MATA.M  
Instrument : Instrument #1  
Sample Name: OREG 1 skl  
Misc Info :  
Vial Number: 1



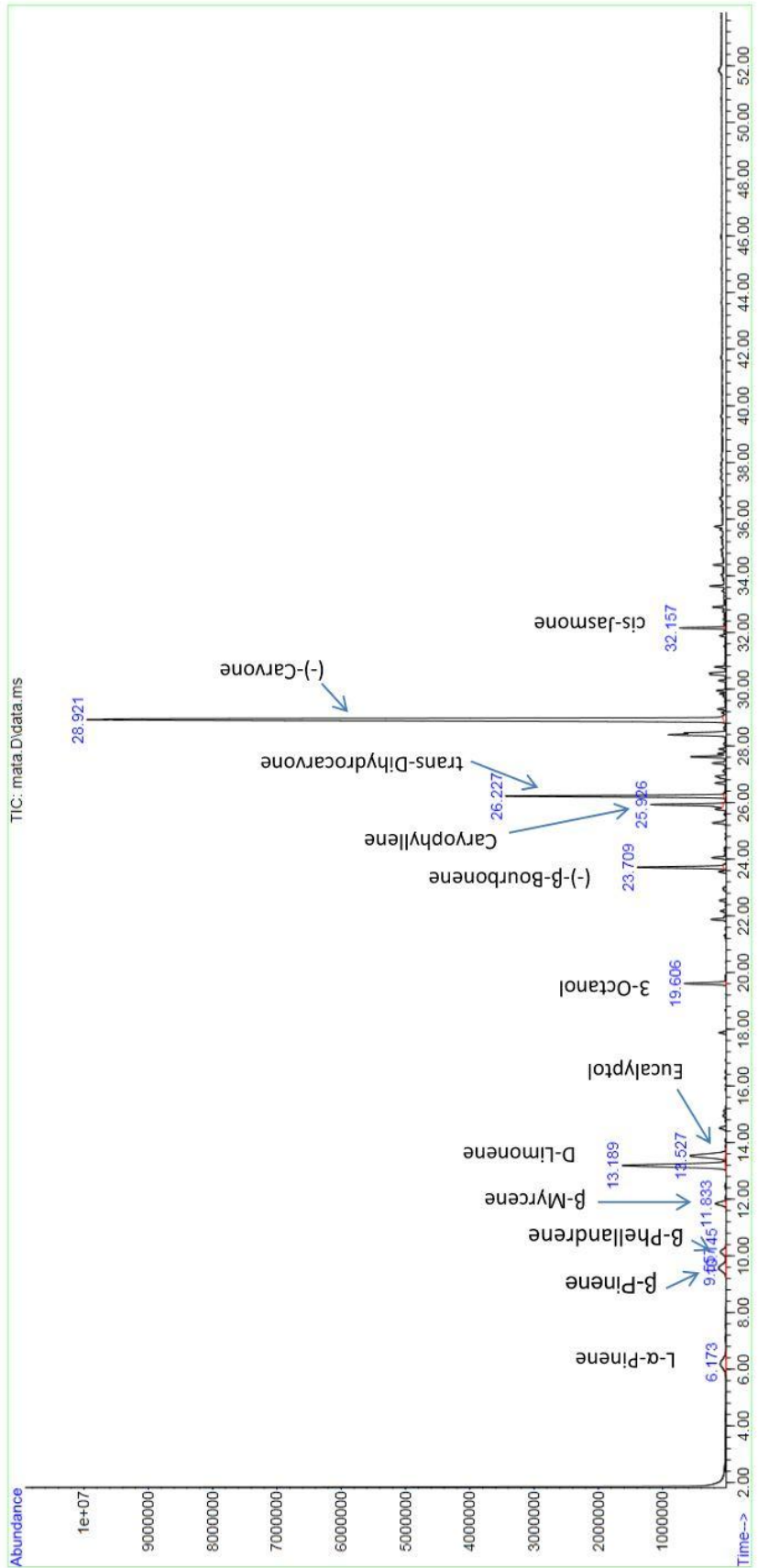
**Příloha 4** Chromatogram EKO řecké oregano, 1. sklizeň

File :G:\Panek\EKO OREG 1skl.D  
Operator :  
Acquired : 12 Mar 2012 8:30 using AcqMethod MATA.M  
Instrument : Instrument #1  
Sample Name: EKO OREG 1skl  
Misc Info :  
Vial Number: 2



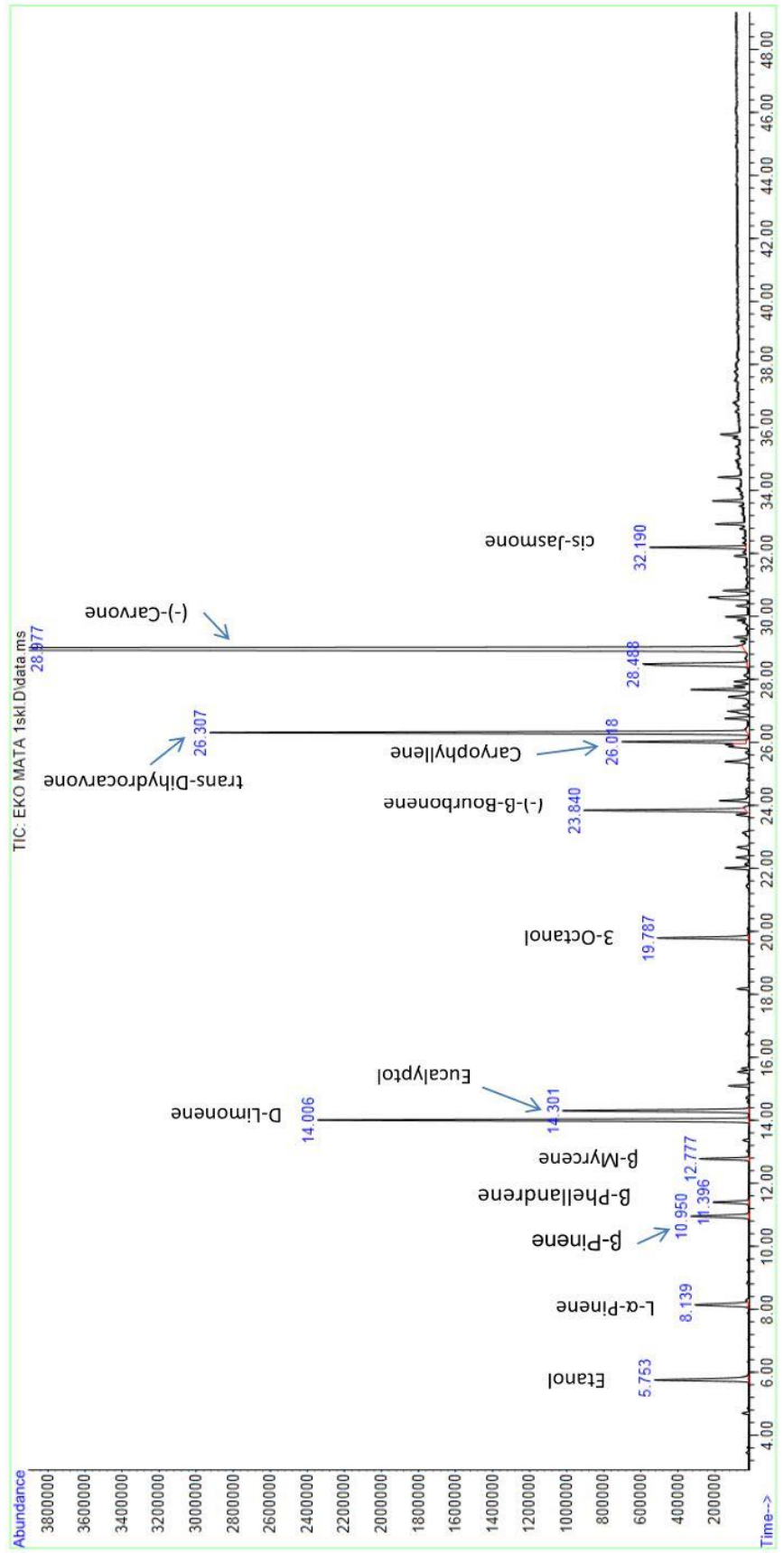
**Příloha 5** Chromatogram máta klasnatá, 1. sklizeň

File :G:\Panek\mata.D  
Operator :  
Acquired : 7 Mar 2012 00:25 using AcqMethod MATA.M  
Instrument : Instrument #1  
Sample Name: mata  
Misc Info :  
Vial Number: 1



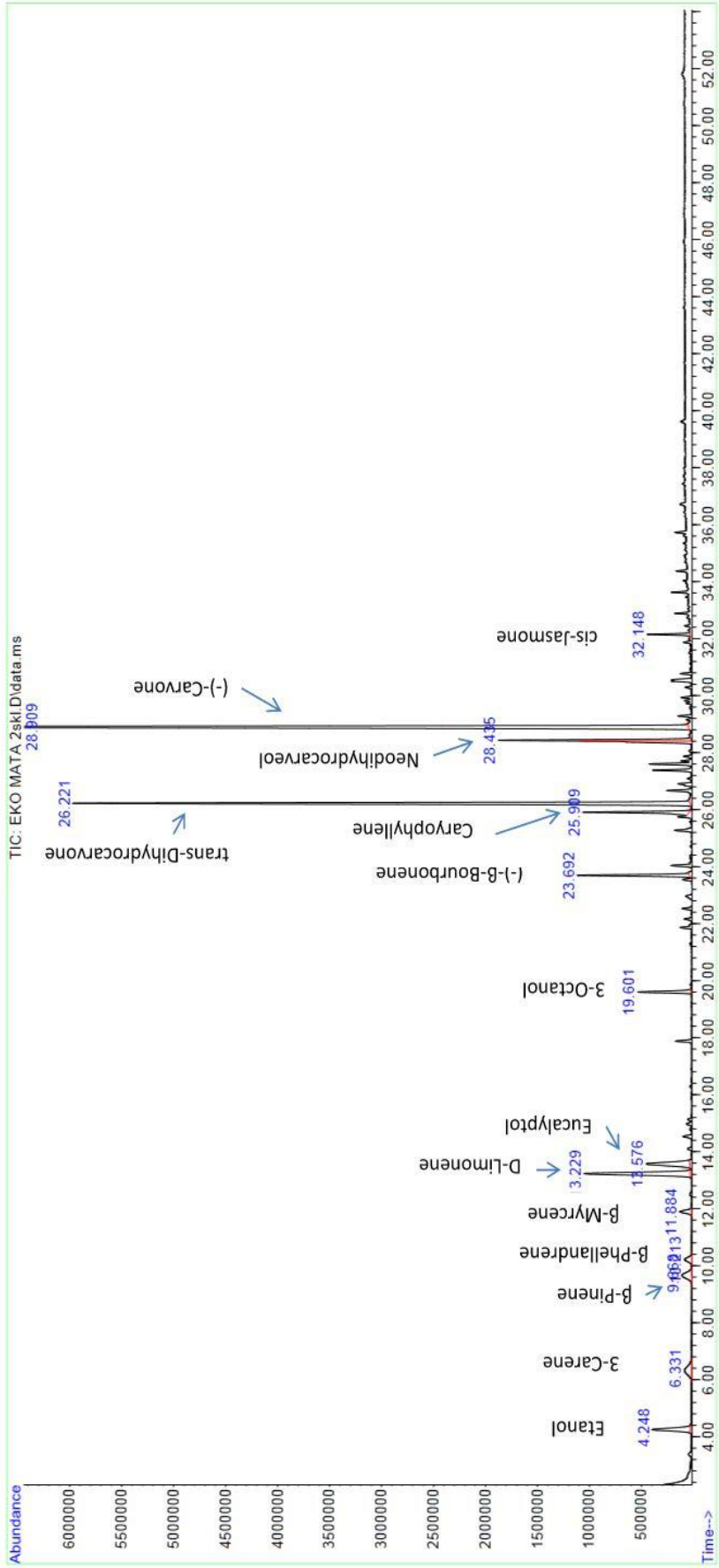
**Příloha 6** Chromatogram EKO máta klasnatá, 1. sklizeň

File :G:\Panek\EKO MATA 1ski.D  
 Operator :  
 Acquired : 8 Mar 2012 00:54 using AcqMethod MATA.M  
 Instrument : Instrument #1  
 Sample Name: EKO MATA 1ski  
 Misc Info :  
 Vial Number: 1



**Příloha 7** Chromatogram EKO máta klasnatá, 2.sklizeň

File : G:\Panek\EKO MATA 2skl.D  
 Operator :  
 Acquired : 12 Mar 2012 00:00 using AcqMethod MATA.M  
 Instrument : Instrument #1  
 Sample Name: EKO MATA 2skl  
 Misc Info :  
 Vial Number: 2



**Příloha 8** Kvalitativní a kvantitativní zhodnocení silice – dobromysl

Sloučenina	Dobromysl		EKO dobromysl	
	Retenční čas	Obsah (%)	Retenční čas	Obsah (%)
$\alpha$ -pinen	7,830	0,7	8,129	0,7
2-thujen	7,984	0,3	8,278	0,4
$\beta$ -pinen	10,707	0,5	10,922	0,5
(-)- $\beta$ -fellandren	11,177	25,0	11,371	21,0
myrcen	12,580	2,9	12,737	3,0
1,8-cineol	14,121	2,0	14,271	1,5
( <i>E</i> )- $\beta$ -ocimen	14,934	18,3	15,053	21,2
ocimen	15,482	8,0	15,603	7,2
<i>p</i> -cymen	16,208	2,0	16,325	1,8
1-okten-3-ol	21,367	2,5	21,394	2,0
(+)-linalool	24,086	4,4	24,096	2,1
(-)- $\beta$ -karyophyllen	25,960	5,9	25,966	9,3
(-)-germacren D	28,390	11,2	28,394	16,2
(3 <i>Z</i> ,6 <i>E</i> )- $\alpha$ -farnesen	28,734	1,9	28,737	3,5
elixen	28,861	2,9	-	-
$\delta$ -kadinen	29,176	1,1	29,166	1,6
karyophyllen oxid	32,894	3,4	32,897	2,3
germacren-4-ol	33,461	1,4	33,456	1,3
(-)-spathulenol	34,378	3,9	34,381	2,3
$\alpha$ -kadinol	35,728	1,8	35,739	2,4

**Příloha 9** Kvalitativní a kvantitativní zhodnocení silice - oregano

Sloučenina	Oregano		EKO oregano	
	Retenční čas	Obsah (%)	Retenční čas	Obsah (%)
$\alpha$ -pinen	8,037	1,5	8,127	1,9
2-thujen	8,194	1,4	8,281	1,5
myrcen	12,682	3,0	12,758	3,8
$\alpha$ -terpinen	13,266	2,7	13,342	3,4
$\gamma$ -terpinen	15,468	15,3	15,548	15,7
<i>p</i> -cymen	16,283	8,7	16,355	8,2
(+)-terpinen-4-ol	25,905	1,1	25,903	1,6
(-)- $\beta$ -karyophyllen	25,957	3,5	25,970	4,4
(-)- $\beta$ -bisabolen	28,490	1,6	28,488	1,6
thymol	34,771	1,5	34,756	3,8
karvakrol	35,208	59,8	35,179	54,2



**Příloha 10** Tabulka - kvalitativní a kvantitativní zhodnocení silice – máta

Sloučenina	Máta		EKO máta 1. sklizeň		EKO máta 2.sklizeň	
	Retenční čas	Obsah (%)	Retenční čas	Obsah (%)	Retenční čas	Obsah (%)
$\alpha$ -pinen	6,173	1,9	8,139	1,7	6,331	1,4
$\beta$ -pinen	9,557	1,8	10,95	1,7	9,668	1,4
(-)- $\beta$ -felandren	10,145	1,0	11,396	0,9	10,213	0,7
myrcen	11,833	1,3	12,777	1,1	11,884	0,8
(+)-limonen	13,189	1,3	14,006	10,6	13,229	7,1
1,8-cineol	13,527	4,8	14,301	4,9	13,576	3,6
3-oktanol	19,606	2,5	19,787	2,3	19,601	2,1
$\beta$ -bourbonen	23,709	5,0	23,84	3,9	23,692	4,3
(-)- $\beta$ -karyophyllen	25,926	3,9	26,018	2,9	25,909	4,1
dihydrokarvon	26,227	12,7	26,307	13,4	26,222	25,0
(-)-karvon	28,921	52,0	28,977	54,8	28,909	42,3
<i>cis</i> -jasmon	32,157	2,1	32,19	1,9	-	-
(+)- <i>trans</i> -karveol	-	-	-	-	28,435	5,9

## **Seznam příloh**

**Příloha 1** Chromatogram dobromysl obecná, 2. sklizeň

**Příloha 2** Chromatogram EKO dobromysl obecná, 2. sklizeň

**Příloha 3** Chromatogram řecké oregano, 1. sklizeň

**Příloha 4** Chromatogram EKO řecké oregano, 1. sklizeň

**Příloha 5** Chromatogram máta klasnatá, 1. sklizeň

**Příloha 6** Chromatogram EKO máta klasnatá, 1. sklizeň

**Příloha 7** Chromatogram EKO máta klasnatá, 2. Sklizeň

**Příloha 8** Tabulka - kvalitativní a kvantitativní zhodnocení silice – dobromysl

**Příloha 9** Tabulka - kvalitativní a kvantitativní zhodnocení silice - oregano

**Příloha 10** Tabulka - kvalitativní a kvantitativní zhodnocení silice – máta