

**MENDELOVA UNIVERZITA V BRNĚ**  
**AGRONOMICKÁ FAKULTA**

**DIPLOMOVÁ PRÁCA**

**BRNO 2017**

**RASTISLAV BOŠKO**

**Mendelova univerzita v Brně**

**Agronomická fakulta**

**Ústav pěstování, šlechtění rostlin a rostlinolékařství**

---



**Agronomická  
fakulta**

**Mendelova  
univerzita  
v Brně**



## **Fenolické látky vo vybraných rastlinných druhoch**

Diplomová práca

*Vedúci práce:*

Ing. Helena Pluháčková, Ph.D.

*Vypracoval:*

Bc. Rastislav Boško

---

Brno 2017

## Čestné prehlásenie

Prehlasujem že som prácu „*Fenolické látky vo vybraných rastlinných druhoch*“ vypracoval samostatne a všetky použité pramene a informácie uvádzam v zozname použitej literatúry. Súhlasím, aby moje práce bola zverejnená v súlade s § 47b zákona č. 111/1998 Sb., o vysokých školách a o zmene a doplnení ďalších zákonov (zákon o vysokých školách), v znení neskorších predpisov, a v súlade s platnou *Směrnici o zveřejňování vysokoškolských závěrečných prací*.

Som si vedomý, že sa na moju prácu vzťahuje zákon č. 121/2000 Sb., autorský zákon, a že Mendelova univerzita v Brně má právo na uzatvorenie licenčnej zmluvy a použitie tejto práce ako školského diela podľa § 60 odst. 1 autorského zákona.

Ďalej sa zaväzujem, že pred spísaním licenčnej zmluvy o využití diela inou osobou (subjektom) si vyžiadam písomné stanovisko univerzity, že predmetná licenčná zmluva nie je v rozpore s oprávnenými záujmami univerzity a zaväzujem sa uhradiť prípadný príspevok na úhradu nákladov spojených so vznikom diela, a to až do ich skutočnej výšky.

Diplomová práca bola vypracovaná v rámci projektu TAČR TE02000177 „*Centrum pro inovativní využití a posílení konkurenceschopnosti českých pivovarských surovin a výrobků*“.

V Brne dňa 27.4.2017

.....

podpis

## **Pod'akovanie**

Touto cestou by som chcel poďakovať mojej vedúcej diplomovej práce Ing. Helene Pluháčkovej, Ph.D. a Ing. Blanke Kocourkovej, CSc. za rady, pomoc, cenné rady a odborné vedenie. Konzultantke Ing. Sylvii Bělákovej, Ph.D. by som chcel poďakovať za venovaný čas, ochotu, trpezlivosť, ústretovosť, cenné rady, tvorivé myšlienky vedúce k získaniu výsledkov a vypracovaniu tejto práce. Ďalej by som chcel poďakovať celému kolektívu pracovníkov Výskumného ústavu pivovarského a sladovníckeho, a.s. v Brne za poskytnutie priestorov a vybavenia nevyhnutného pre dokončenie tejto práce a zvlášť pánovi laborantovi Pavlovi Mezulánikovi za pomoc v laboratóriu. Poďakovať by som chcel, samozrejme, aj mojim rodičom za neutíchajúcu podporu počas celého štúdia.

## ABSTRAKT

Predkladaná diplomová práca sa zaoberá analýzou fenolických látok ako sú fenolické kyseliny a flavonoidy vo vybraných rastlinách, ako je skorocel kopijovitý (*Plantago lanceolata* L.), kde bol sledovaný obsah kyseliny chlorogénovej, kyseliny kávovej, verbaskozidu, kyseliny ferulovej, rutínu a kvercetínu. V lipa malolistej (*Tilia cordata* Mill.) bol sledovaný obsah kyseliny chlorogénovej, kyseliny kávovej, rutínu, hyperozidu, izokvercitrínu, tilirozidu, kvercetínu a kempferolu. V nechtíku lekárskom (*Calendula officinalis* L.) bol sledovaný obsah kyseliny chlorogénovej, kyseliny kávovej, kyseliny kumarovej, rutín, hyperozid, izokvercitrín, kvercetín a kempferol. V baze čiernej (*Sambucus nigra* L.) bol sledovaný obsah kyseliny chlorogénovej, kyseliny kávovej, rutínu, hyperozidu, izokvercitrínu, kvercetínu a kempferolu. Vo Výskumnom ústave pivovarskom a sladovníckom, a.s. (VÚPS) bola vykonaná extrakcia fenolických látok z uvedených rastlín a následne boli tieto látky podrobené chromatografickej analýze na kvapalinovom chromatografe UPLC s PDA detektorom.

**Kľúčové slová:** fenolické látky, fenolické kyseliny, flavonoidy, skorocel, lipa, nechtík, baza

## ABSTRACT

This diploma thesis deals with the analysis of phenolic compounds such as phenolic acids and flavonoids in selected plants, such as ribwort plantain (*Plantago lanceolata* L.) in which the content of chlorogenic acid, caffeic acid, verbascoside, ferulic acid, rutin and quercetin was monitored. The content of chlorogenic acid, caffeic acid, rutin, hyperoside, isoquercitrin, tiliroside, quercetin and kaempferol was monitored in small-leaved lime (*Tilia cordata* Mill.) In addition, the content of chlorogenic acid, caffeic acid, coumaric acid, rutin, hyperoside, isoquercitrin, quercetin and kaempferol was monitored in marigold (*Calendula officinalis* L.). Also the content of chlorogenic acid, caffeic acid, rutin, hyperoside, isoquercitrin, quercetin and kaempferol was monitored in elderberry (*Sambucus nigra* L.). Similarly the extraction of phenolic compounds from these plants was carried out and subsequently subjected to chromatographic analysis on a UPLC liquid chromatograph with a PDA detector at the Research Institute of Brewing and Malting, Plc.

**Key words:** phenolic compound, phenolic acids, flavonoids, ribwort plantain, small-leaved lime, marigold, elderberry

## OBSAH

1	ÚVOD .....	10
2	CIELE PRÁCE .....	11
3	LITERÁRNY PREHĽAD .....	12
3.1	Fenolické látky .....	12
3.2	Flavonoidy .....	12
3.2.1	Syntéza flavonoidov .....	16
3.2.2	Zdravotné účinky na ľudský organizmus .....	17
3.2.3	Vybrané fenolické látky .....	18
3.3	Neflavonoidné fenolické látky .....	20
3.3.1	Jednoduché fenoly a benzochinóny .....	20
3.3.2	Fenolické kyseliny .....	20
3.4	Vybrané druhy rastlín .....	22
3.4.1	Skorocel kopijovitý .....	22
3.4.2	Nechtík lekársky .....	24
3.4.3	Lipa malolistá .....	27
3.4.4	Baza čierna .....	29
3.5	Metódy stanovenia fenolických látok .....	32
3.5.1	Extrakčné metódy .....	32
3.5.2	Separáčne metódy .....	33
4	MATERIÁL A METODIKA .....	35
4.1	Experimentálna časť .....	35
4.1.1	Materiál .....	35

4.1.2	Príprava voľných a viazaných extraktov .....	35
4.1.3	Chromatografická analýza .....	37
4.2	Spracovanie výsledkov .....	38
5	VÝSLEDKY A DISKUSIA .....	39
5.1	Obsah fenolických látok v skoroceli kopijovitom ( <i>Plantago lanceolata</i> L.) ...	39
5.2	Obsah fenolických látok v nechtíku lekárskom ( <i>Calendula officinalis</i> L.) .....	47
5.3	Obsah fenolických látok v lipe malolistej ( <i>Tilia cordata</i> Mill.) .....	57
5.4	Obsah fenolických látok v baze čiernej ( <i>Sambucus nigra</i> L.) .....	67
6	ZÁVER .....	77
7	ZOZNAM POUŽITEJ LITERATÚRY .....	80
	ZOZNAM GRAFOV .....	88
	ZOZNAM TABULIEK .....	91



# 1 ÚVOD

V súčasnej dobe možno badať zvyšujúci záujem o liečivé rastliny a ich sekundárne metabolity, ktorý je umocnený i vzhľadom na ich mnohopočetné účinky na ľudský organizmus. Literatúra popisuje tisícky prírodných produktov s pridanou hodnotou, ktoré sú po stáročia ľudstvom využívané. Pre človeka, ktorý využíva terapeutický účinok rastlín a rastlinných výťažkov k samoliečbe sužujúcich chorôb, sa postupom času stali prirodzenou súčasťou života i mimo alternatívnej medicíny. Vďaka zdokonaleniu inštrumentálnych metód sa ľudstvu objasňujú rastlinné štruktúry, čo má za následok exaktnejšie využívanie ich potenciálu. Medzi najvýznamnejšie metabolity patria fenolické látky vyskytujúce sa takmer vo všetkých rastlinách, najmä tých zelených, ktoré sa tešia čoraz väčšej pozornosti vedeckého bádania. Týmto látkam sú opodstatnene pripisované liečivé účinky na ľudský organizmus so širokým spektrom použitia. Najmä flavonoidy sú, vďaka vysokej antioxidačnej aktivite, uplatniteľné pri prevencii kardiovaskulárnych chronických ochorení s vysokou antioxidačnou aktivitou. Existujú preukázateľné účinky voči zápalovým ochoreniam, rastu baktérií, či veľmi aktuálnym nádorovým ochoreniam. Predmetom nespočetných štúdií je skúmanie vzťahov medzi prijímanou potravou, či nápojmi ako je víno, pivo a prevencii týchto ochorení (RHODES, 1996; CHLOUPEK, 2008).

Fenolické kyseliny sú taktiež predmetom skúmania, nakoľko vo svojich štruktúrach obsahujú silne antioxidačne pôsobiacu hydroxylovú skupinu ( $\text{OH}^-$ ) účinne degradujúcu superoxidový aniónový radikál a inhibuje peroxidáciu lipidov, čo sa dá využiť vo fortifikácii v potravinárskom priemysle, či už potravín alebo nápojov. Potenciál bráneniu infekčným organizmom v ich rozmnožovaní sa, chráneniu buniek pred oxidačným stresom, či genotoxicite látok fenolickej povahy má, si myslím, v súčasnosti široké uplatnenie (SRINIVASAN & SUDHEER, 2007).

## 2 CIELE PRÁCE

Cieľom tejto diplomovej práce je štúdium a skúmanie flavonoidov a fenolických kyselín v skoroceli kopijovitom (*Plantago lanceolata* L.), nechtíku lekárskom (*Calendula officinalis* L.), lipě malolistej (*Tilia cordata* L.), baze čiernej (*Sambucus nigra* L.), kde sa sleduje i variabilita obsahových látok v priebehu rokov 2015 a 2016 za účelom fortifikácie nápojov. Cieľom je i optimalizácia metód stanovovania fenolických látok. Získané výsledky sú spracované základnými štatistickými metódami.

## 3 LITERÁRNY PREHĽAD

### 3.1 Fenolické látky

Látky fenolickej povahy je možné na základe chemickej štruktúry rozdeliť na 2 základné skupiny:

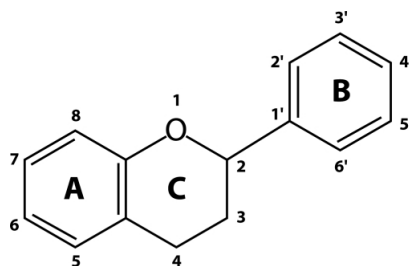
- flavonoidné
- neflavonoidné

### 3.2 Flavonoidy

Flavonoidné látky, alebo flavonoidy sú veľmi rozsiahlou a najdôležitejšou skupinou rastlinných fenolov obsahujúcich v molekule dve benzénové kruhy (kruh *A* a *C*) spojené trojuhlíkovým reťazcom. Objav flavonoidov je pripisovaný maďarskému biochemikovi Albertovi Szent-Györgyimu, ktorý v roku 1936 spolu s Istvánom Rusznyákom potvrdili, že v rastlinách hrajú dôležitú esenciálnu rolu a v ľudskom tele pôsobia podobne ako vitamíny. Flavonoidy pre všeobecné pôsobenie v organizme sú často označované ako bioflavonoidy, sa v rastlinách vyskytujú najmä glykozidovo viazané a rozpustné v bunkovej šťave vakuol a v organizmoch sú zrejme zapojené do redoxných procesov (TOMKO ET AL., 1999; VELÍŠEK & HAJŠLOVÁ, 2009, KOVÁCS, 2016).

#### Štruktúra flavonoidov

Množstvo všetkých flavonoidných látok sa dnes odhaduje na 5000 a stále sa v rôznych rastlinných zdrojov nachádzajú nové zlúčeniny. U väčšiny flavonoidov je  $C_3$  reťazec súčasťou heterocyklického kruhu odvodeného od *2H*-pyrónu (kruh *C*). Flavonoidy sú teda odvodené od kyslíkatej heterocyklickej zlúčeniny *2H*-chroménu, substituovaného v polohe C-2 fenylovou skupinou, ktorý sa nazýva *flaván*. Jedná sa o usporiadanie  $C_6-C_3-C_6$  a zlúčeniny tohto typu sa často nazývajú aj 1,3-diarylpropanoidy. Obvykle bývajú všetky kruhy tri kruhy substituované hydroxyskupinami alebo metoxyskupinami a jednotlivé deriváty sa líšia len stupňom substitúcie, či oxidácie. Vyskytujú sa ako voľné látky, no častejšie ako glykozidy, prípadne tiež ako polyméry. Atómy uhlíku v *C* a *A* pyrónových kruhoch sa číslujú od 2 do 8, v kruhu *B* od 2' do 6' (Obrázok 1)



**Obrázok 1:** Základná štruktúra flavonoidov

Zdroj: [https://www.researchgate.net/figure/259355504\\_fig2\\_Basic-chemical-structure-of-flavonoids](https://www.researchgate.net/figure/259355504_fig2_Basic-chemical-structure-of-flavonoids)

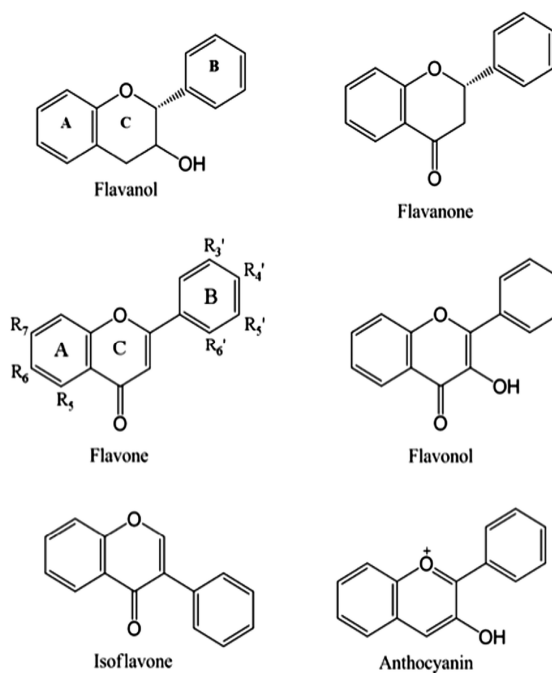
a táto štruktúra umožňuje substitučnú variabilitu vo všetkých kruhoch. (HOLLMAN & KATAN, 1998; VELÍŠEK & CEJPEK, 2008; VELÍŠEK & HAJŠLOVÁ, 2009).

VELÍŠEK & HAJŠLOVÁ (2009) rozoznávajú podľa stupňa oxidácie  $C_3$  reťazca a jeho substitúcie základné štruktúry flavonoidov:

- **katechíny**
- **leukoantokyanidíny**
- **flavanóny**
- **flavanonoly**
- **flavóny**
- **flavonoly**
- **antokyanidíny**

Najbežnejšími substituentmi bývajú hydroxyskupiny alebo metoxyskupiny, ktoré substituujú všetky tri kruhy a jednotlivé deriváty sa líšia stupňom oxidácie a substitúcie. Medzi najrozšírenejšiu štruktúru, vyskytujúcou sa v prírode, sú flavonoly. V niekoľkých prípadoch existuje šesťčlenný heterocyklický kruh *B* v izoméne otvorenej forme, prípadne je nahradený päťčlenným heterocyklickým kruhom. Zo štruktúrne podobných zlúčenín, u ktorých sú kruhy *A* a *C* spojené alifatickým  $C_3$  reťazcom, či reťazcom, ktorý je čiastočne súčasťou furánového cyklu VELÍŠEK & HAJŠLOVÁ (2009) rozoznávajú:

- **chalkóny a dihydrochalkóny**
- **auróny**



**Obrázok 2:** Štruktúra jednotlivých flavonoidov

Zdroj: [pubs.rsc.org/en/content/articlelanding/2014/fo/c3fo60263j/unauth#!divAbstract](https://pubs.rsc.org/en/content/articlelanding/2014/fo/c3fo60263j/unauth#!divAbstract)

Zlúčeniny, u ktorých sa spája kruh B s pyránovým kruhom C v polohe C-3, odvodené od izoflavónu, sa nazývajú *izoflavonoidy*. Pokiaľ je však toto spojenie v polohe C-4, nazývajú sa príslušné zlúčeniny, odvodené od neoflavánu, *neoflavonoidy*, tiež známe ako 4-fenylkumaríny, 5,6-benzo-2-pyróny, či 1,1-diarylpropány. Medzi najrozšírenejšie flavonoidy patria *flavonoly* kvercetín, kempferol a myricetín a *flavóny* luteolín a apigenín. Odlišnosť medzi flavonolmi a flavónmi je práve prítomnosť hydroxyskupiny v polohe C-3 u flavonolov. (HERGOT ET AL., 1999; VELÍŠEK & HAJŠLOVÁ, 2009).

Bežne vyskytujúce sa flavonoidy sú vo forme *O*-glykozidov obsahujúce vo svojej molekule *aglykón* – necukornú zložku a cukornú zložku viazanú najčastejšie v polohe C-3. Ako cukorná zložka sa obvykle vyskytuje D-glukóza, ale i D-galaktóza, D-xylóza či L-arabínóza, substituovaná najmä v polohe C-3. Voľný aglykón sa vyskytuje len zriedkavo (HOLLMAN ET AL., 1996; RHODES & PRICE, 1997; SLANINA & TÁBORSKÁ, 2004).

Ako prírodné rastlinné farbivá sú dôležité len niektoré flavonoidy. Iné sú významné pre svoju horkú či trpkú chuť, alebo majú významné biologické účinky. Všetky farebné flavonoidy sa dávnejšie delili na dve skupiny, na červené až modré *antokyány* a žlté *antoxantíny*. Tieto názvy pochádzali z gréckych slov kvet – *anthos*, modrý – *cyaneos* a žltý – *xanthos*. Názvy flavónov a ďalších žltých flavonoidov majú dodnes mená podľa

latinského slova *flavos*. Katechíny a leukoantokyanidíny sú zlúčeniny bezfarebnými, no hnedé pigmenty, ktoré z nich vznikajú v reakciách enzymatického hnednutia, sú farbivami rady potravín. Z bezfarebných leukoantokyanidínov tiež môžu pri spracovaní ovocia a zeleniny vznikajúť v kyslom prostredí príslušné farebné antokyanidíny. (ANDERSEN & MARKHAM, 2006; KUCHYŇKOVÁ, 2007; VELÍŠEK & HAJŠLOVÁ, 2009).

**Flavanoly** sú najpočetnejšou skupinou flavonoidov v potravinách rastlinného pôvodu, ku ktorým patrí kempferol, či kvercetín, vyskytujúcom sa v baze čierne, brusniciach, či brokolici. Kvercetín je aglykón a jeho glykozidy sú známe ako rutín, či kvercitrín. Najbohatšími zdrojmi sú cibuľa, kel, pór, čaj alebo červené víno (MANACH ET AL., 2004; VELÍŠEK & HAJŠLOVÁ, 2009).

**Flavóny** sú v potravinách zastúpené menej než flavány, no skladajú sa predovšetkým z glykozidov od luteolínu a apigenínu. Vyskytujú sa najmä v petržlene a zeleri (MANACH ET AL., 2004; COOKE ET AL., 2005).

**Flavanóny** sú tvorené rôznymi aglykónmi ako:

- hesperetín – glykozid hesperedín v pomarančoch,
- naringenín – glykozid naringín v grapefruitoch,
- eridicytol – glykozid eriocitrín v citrónoch.

Sú glykozylované v kruhu *A* v pozícii 7 (MANACH ET AL., 2004).

**Flavanoly** vyskytujúce sa v dvoch podobách:

- monoména – katechíny, ktoré sa nachádzajú v rôznych druhoch ovocia, no najmä v marhuliach, či čokoláde, zelenom čaji alebo červenom víne. Medzi najčastejšie flavanoly patrí katechín a epikatechín. Od flavonoidov sa rozlišujú tým, že sa nevyskytujú v glykozylovanej forme (MANACH ET AL., 2004; COOKE ET AL., 2005).
- polyména – proantokyanidíny, známejšie ako taníny, sa nachádzajú vo veľkom množstve v jablkách, škorici, kakau, arónii, brusniciach, čučoriedkach, čiernych ríbezliach, v semenách a šupke hrozna, no i samotnom v červenom víne (HAMMERSTONE ET AL., 2000; MANACH ET AL., 2004).

*Antokyaníny* sú farebné pigmenty rozpustené vo vakuolách epidermálnych častiach kvetov a plodov citlivé na hodnotu pH, ktorá mení chemickú štruktúru a s tým súvisiacu i farbu. Aglykóny antokyanínov sú značne nestabilné a preto musia byť chránené pred degradáciou glykozyláciou najčastejšie glukózou a esterifikáciou rôznych kyselín, ako napríklad citrónovou, jablčnou alebo priamo fenolickými kyselinami. Nachádzajú sa najmä v červeno zafarbenej zelenine ako je cibuľa a kapusta, či v ovocí ako jahody, maliny, čerešne, jablká alebo červené hrozno (MANACH ET AL., 2004; COOKE ET AL., 2005).

*Izoflavonoidy* sú zvláštnou skupinou flavonoidov, nakoľko majú podobnú štruktúru ako estrogény, čo im umožňuje väzbu na estrogénové receptory a podľa toho sa i často nazývajú fytoestrogénmi, vyskytujúcich sa v strukovinách (MANACH ET AL., 2004; COOKE ET AL., 2005).

### **3.2.1 Syntéza flavonoidov**

Flavonoidy sú v rastlinách syntetizované šikimátovou a fenypropanoidovou dráhou a obe patria medzi najsledovanejšie systémy v rastlinách. Východiskovou zlúčeninou oboch dráh je glukóza. Šikimátová dráha popisuje fixáciu uhlíku pri raste zelených rastlín a fenypropanoidovou dráhou sa flavonoidy syntetizujú v kruhu A karboxyláciou acetyl-CoA za účasti L-fenylalanínu, ktorý je produktom šikimátovej dráhy a je považovaná za hlavnú časť biosyntézy antokyaninových zlúčenín. Sériou metabolických premení následne vznikajú jednotlivé podskupiny ako chalkóny, auróny, flavonóny, izoflavonoidy, flavóny, flavonoly, leukoantokyanidíny, katechníny a antokyanidíny (WINKEL-SHIRLEY, 2001; CONN, 2003; DOWNEY, 2006).

Biosyntéza flavonoidov je započatá enzymatickou reakciou katalyzovanou chalkónsyntázou, čo vedie ku produkcii žltého sfarbeného chalkónu, ktorý však vo väčšine rastlín nie je konečným produktom a dochádza k ďalším enzymatickým reakciám, kedy vznikajú triedy flavonoidov – flavonóny, dihydroflavonoly alebo antokyány, z ktorých sa tvoria ďalšie triedy ako sú flavóny, proantokyanidíny, aziflavóny, flavonoly a auróny (SCHIJLEN ET AL., 2004).

### 3.2.2 Zdravotné účinky na ľudský organizmus

Využitie fenolických látok – flavonoidov – dôležitých nutraceutík, sa zakladá na schopnosti normalizovať permeabilitu kapilár, odstraňovať ich lámavosť, vykazovať antiemoragický a antiedematóznny účinok. Vykazujú antioxidantné, protizápalové účinky, ktoré môžu ovplyvniť proces aterosklerózy a zlepšujú prekrvenie. Sú inhibítormi hyaluronidázy, bránia rozširovaniu mikrobiálnych toxínov tkanivami. Môžu zohrávať úlohu pri predchádzaní osteoporózy, diabetu mellitu, kardiovaskulárnych, nádorových či neurodegeneračných ochorení. Niektoré pôsobia diureticky, cholereticky, cholagogicky či spazmolyticky, rozširujú cievy a znižujú krvný tlak S iónmi  $\text{Ca}^{2+}$  tvoria komplexné soli, čím bránia zrážaniu krvi. Zadržávajú v organizme vápnik a potencujú účinok vitamínu C. Redukujú symptómy retencie tekutín, ako sú opuchy končatín, prstov, či oblasti očí. Viaceré *in vitro* štúdie poukazujú na interakciu flavonoidov a antokyánov s rodopsínom a na priaznivé ovplyvnenie funkcie pigmentu. Dokázaný bol protektívny účinok antioxidantne účinných flavonoidov na bunky sietnice, ktoré sú veľmi citlivé na oxidačný stres a ľahko podliehajú poškodeniu (TOMKO ET AL, 1999; MANDELOVÁ, 2006; FIALOVÁ, 2013).

Pri zisťovaní prospešných účinkov fenolických látok, nachádzajúcich sa vo veľkom množstve v strave, nastáva problém s identifikáciou, ktorá látka je za daný efekt zodpovedná. Antioxidantná aktivita fenolických látok, predovšetkým flavonoidov, ktorá sa v ľudskom organizme prejavuje vychytávaním voľných radikálov  $\text{O}_2^*$  alebo reakciou flavonoidov s radikálmi hyperoxidov, či alkoxylovými radikálmi, ktorým poskytuje atóm vodíku, čím ukončí reťazovú reakciu lipidovej peroxidácie. Flavonoidné látky zabraňujú vzniku oxidatívneho stresu, poškodzujúceho tkanivo, práve odoberaním reaktívnych foriem kyslíku, kedy účinnosť stúpa v prítomnosti fenolických kyselín (ČOPÍKOVÁ, 2001; SCALBERT, 2005).

Schopnosť flavonoidov chelatovať železo je spojená s tlmením oxidatívneho stresu, nakoľko železo patrí medzi prechodné prvky a svoju valenčnú elektrónovú vrstvu nemajú zaplnenú elektrónmi, môžu okamžite reagovať s voľnými radikálmi (ŠTÍPEK ET AL., 2000).



### 3.2.3 Vybrané fenolické látky

#### ***Rutín***

Rutosid, kvercetín-3-O-rutinosid, soforín, či vitamín P je chemická zlúčenina patriaca medzi bioflavonoidné glykozidy, vykazujúca množstvo pozitívnych zdravotných účinkov. Významným zdrojom je aj pohanka (*Fagopyrum tataricum*), no množstvo rutínu v rastlinách je veľmi závislé na UV žiarení, kedy čím viac slnka svieti na dané stanovisko s rastlinami, tým viac rutínu rastlina obsahuje. Rutín sa používa pri problémoch s krehkosťou cievnych kapilár, hemoragii, hypertenzii, alergii, ako adjuvans pri infekčných ochoreniach a urýchľuje hojenie rán. Znižuje hladinu pečeneového cholesterolu, riedi krv a je významným antioxidantom chrániacim bunky, s čím súvisia i jeho protizápalové a antikarcinogénne, no najmä hepatoprotekívne účinky a schopnosť zhasínať voľné radikály. Prítomnosť rutínu v potrave značne zosilňuje účinok vitamínu C (TOMKO ET AL., 1999; YANG ET AL., 2005, PAVELA & BÁRNET, 2011).

#### ***Kvercetín***

3, 3', 4', 5, 7-pentahydroxyflavón, patrí medzi najčastejší flavonoid, ktorý je radený do skupiny flavonolov. Bol prvýkrát izolovaný z kôry druhu *Quercus tinctoria* a pôsobí preventívne proti rakovine, proti baktériám či vírom. Vo forme glykozidov sa nachádza v širokej škále ovocia, zeleniny, či nápojov. Konzumácia potravín s vyšším obsahom kvercetínu je spojovaná s protizápalovými a antioxidantnými účinkami na ľudský organizmus. Kardioprotektívna pôsobnosť je spôsobená inhibíciou lipoproteínov s nízkou densitou – LDL – čím ho chráni pred oxidačným poškodením. Obmedzuje schopnosť krvných doštičiek vytvárať krvné zrazeniny a zosilňuje koronálny krvný prietok. Zistilo sa i zlepšenie funkcie pľúc a zníženia rizika vzniku astmy alebo bronchitídy u ľudí jediacimi vyššie množstvo jabĺk. Isté štúdiá ukázali, že kvercetín môže byť užitočný i pri znižovaní hmotnosti, nakoľko potlačuje vstrebávanie sacharidov (HOLLMAN ET AL., 1996; ÜRGEROVÁ ET AL., 2010; RUSSO ET AL., 2012).

#### ***Hyperozid***

Kvercetín-3-O- $\beta$ -galaktozid pyranóza – chráni pred oxidačným starnutím buniek, posilňuje aktivitu antioxidantných enzýmov, najmä katalázu a glutatión peroxidázu.

Hyperozid môže byť použitý ako referenčná látka pre stanovenie flavonoidov metódou HPLC. Nachádza sa napríklad v rosičke, pohanke alebo túžobníku (SIGMAALDRICH.COM, HAGELS ET AL., 1995).

### ***Verbaskozid***

Fenyletanoidglykozid, niekedy nazývaný i akteozid je fenylpropánový flavonoid od kyseliny kávovej. Má, rovnako ako iné flavonoidy, antioxidačné, antimikrobiálne a antihypertenzné účinky a nachádza sa najmä v skoroceli a železníku (CHEMIE.DE; HÄNSEL & STICHER, 2010).

### ***Tilirozid***

Kempferol-3-*O*- $\beta$ -D-(6"-*O*-kumaroyl)-glukopyranozid nachádzajúci sa v lipovom kvete, malinách, ginku či magnólii, ktorá sa používa u sinusíd alebo rinitíd. Využíva sa v kozmetickom priemysle vzhľadom na jeho *anti-age* účinky. Pôsobí antioxidačne a znižuje zápal na koži (LAQCOSMETICS.DE, MEDON-SOLUTION.CZ, HÄNSEL & STICHER, 2010).

### ***Kempferol***

3, 4', 5, 7-tetrahydroxyflavón, či kaempferol je flavonol s antioxidačnými vlastnosťami vyskytujúcim sa v ovocí a zelenine, ako je pór, kel, brokolica alebo jahody. Inhibuje syntézu mastných kyselín, silný inhibítor resorpcie osteoklastov, bojuje s voľnými radikálmi podporujúcimi rozvoj rakoviny. Kempferol udržuje životaschopnosť buniek a v niektorých prípadoch ich aj ochraňuje (CHEN & CHEN, 2013).

### ***Izokvercitrín***

Kvercetín-3- $\beta$ -glukopyranozid, biokvercetín, sa nachádza v početnom množstve v rôznych potravinách a nápojoch, najmä v červenom víne a čaji. Má vyššiu biologickú dostupnosť, než kvercetín a vyznačuje sa chemoprotektívnymi a antiproliferačnými účinkami, bojuje proti oxidatívnejmu stresu, rakovine, kardiovaskulárnymi ochoreniami, diabetom a alergickým reakciám (VALENTOVÁ ET AL., 2014).

### **3.3 Neflavonoidné fenolické látky**

#### **3.3.1 Jednoduché fenoly a benzochinóny**

Podľa najjednoduchšej štruktúry rozoznávame skupinu na jednoduché fenoly a benzochinóny. Tieto fenolické látky sa uplatňujú v potravinárskom priemysle predovšetkým ako vonné látky vo forme silíc alebo sekundárnych aromatických látok vznikajúcich najmä pri pôsobení mikroorganizmov z fenolových kyselín a lignínu, popr. pri tepelnom záhreve. Medzi najznámejšieho zástupcu patrí guajakol vznikajúceho pri pyrolýze dreva počas údenia potravín, alebo je lúhovaný pôsobením etanolu z dubových sudov pri zrení whisky. Jednoduché benzochinóny tvoria plesne, vyššie huby a lišajníky, kde sú bežné glykozidy bezfarebných redukovaných foriem prekursorami farebných chinónov (VELÍŠEK & HAJŠLOVÁ, 2009).

#### **3.3.2 Fenolické kyseliny**

Medzi skupinu neflavonoidných látok patria fenolické kyseliny často nazývané i benzoové kyseliny, od ktorej sú odvodené. Podľa súčasných poznatkov tvoria približne jednu tretinu polyfenolov v potrave. Medzi najznámejšie deriváty kyseliny benzoovej patrí napr. kyselina gallová, ktorá tvorí základ hydrolyzovateľných trieslovín, ďalej deriváty hydroxyškoricových kyselín, ako sú kyseliny kávová, p-kumarová alebo ferulová. Vyskytujúce sa v obilninách, ovocí, zelenine alebo strukovinách. Tieto kyseliny vykazujú značné antioxidačné vlastnosti vzhľadom na prítomnosť aromatických fenolických cyklov stabilizujúcich a delokalizujúcich nepárový elektrón v aromatickom kruhu. Sú viazané kovalentnou väzbou na bunkové steny polymérov a môžu byť extrahované alkalickou i kyslou hydrolyzou. Konjugáciou s kyselinou vínou a chinónovou vzniká kyselina chlorogénová, ktorá je oxidovaná, pri mechanickom poškodení jablka, na chinón – hnedý polymér zafarbuje jablko (GALLARDO ET AL., 2006; FARDET ET AL., 2008; AMAKI & SAITO, 2011).

Fenolické kyseliny sú účinné proti oxidácii LDL cholesterolu v organizme, znemožňujú šíreniu rakovinových buniek vytvorením komplexu s karcinogénom, čím zabránia vstupu do DNA a vytvoreniu mutácie pri transkripcii (HAVLÍK & MAROUNEK, 2013; VOLF & ANDRS, 2008).

### ***Kyselina ferulová***

Kyselina ferulová (hydroxyškoricová) je fytochemická zlúčenina bežne sa vyskytujúca v ovocí, zelenine, či v obalových vrstvách obilnín vykazujúca široké možnosti použitia pri liečbe chorôb rôzneho druhu, napr. rakovina, diabetes, neurodegeneratívne či kardiovaskulárne ochorenia. Vykazuje silný antioxidačný efekt vďaka degradácii superoxidového aniónového radikálu (SRINIVASAN & SUDHEER, 2007).

### ***Kyselina p-kumarová***

Kyselina *p*-kumarová je hydroxyderivát kyseliny škoricovej. Bola nájdená vo viacerých druhoch ovocia a zeleniny. Táto kyselina sa vyskytuje v troch izoméroch: *o*-kumarová, *m*-kumarová a *p*-kumarová líšiace sa substituovanou hydroxylovou skupinou na benzénovom jadre. Najrozšírenejším izomérom vyskytujúcim sa v prírode je kyselina *p*-kumarová, patriaca medzi látky brániacim infekčným organizmom ich rozmnožovaniu. Je to prirodzene sa vyskytujúca inhibujúca popr. spomaľujúca oxidáciu látok a zabraňuje tak ich škodlivým účinkom na organizmus (PUBCHEM.COM<sup>b</sup>).

### ***Kyselina kávová***

Kyselina kávová sa v prírode vyskytuje či už vo voľnej forme alebo vo forme viazanej. Medzi deriváty obsahujúce len jednu jednotku kyseliny kávovej patrí napríklad fenyletylester kyseliny kávovej, či kyselina chlorogénová. Kondenzáciou dvoch molekúl kyseliny kávovej vzniká kyselina rozmarínová. Spojením troch molekúl tejto kyseliny vzniká kyselina litospermová. Jednotky sú viazané esterovými väzbami alebo glykozidmi. Ako väčšina metabolitov i kyselina kávová vykazuje radu biologických účinkov, medzi ktoré patria najmä účinky antioxidačné, protizápalové, protirakovinové alebo antimikrobiálne (VAN DER HEYDEN & DEFIZE, 2003; JANOŠEK ET AL., 2006; NOVAK ET AL., 2007).

### ***Kyselina chlorogénová***

Všeobecným názvom kyselina chlorogénová sa označujú prírodné estery kyseliny chinovej a kávovej. Kyselina chlorogénová je obsiahnutá v káve v 4-6 % a uplatňuje sa

ako súčasť oxidoreduktáz v reakciách enzymatického hnednutia. Podieľa sa na neutralizácii voľných radikálov prijímaných z okolia, či z potravy. Konzumácia kávy môže zabrániť viacerým chronickým ochoreniam, vrátane Parkinsonovej choroby, cirhóze pečene. Chlorogénová kyselina zvyšuje rozpustnosť kofeínu a je dôležitým modulátorom chuti. Okrem kávy sa vyskytuje i v zemiakoch, jablkách, marhuliach a významný obsah je v artičoke (VELÍŠEK & HAJŠLOVÁ, 2009; PUBCHEM.COM<sup>a</sup>).

### 3.4 Vybrané druhy rastlín

#### 3.4.1 Skorocel kopijovitý

Jitrocel kopinatý (*Plantago lanceolata* L.)

Skorocelovité – jitrocelovité – Plantaginaceae

#### Popis

Trváca rastlina s prízemnou ružicou. Nedelené žltozelené až hnedozelené listy až 30 cm dlhé a 4 cm široké, bez vedľajších listov. Listy majú na spodnej strane vyniknutú, belavo zelenú, takmer súbežnú žilnatinu. Čepeľ je kopijovitá, na báze zúžená v žliabkovitú listovú stopku. Okraj listu je nezreteľne zubatý a často i zvlnený. Chlpy môžu úplne chýbať, redšie sú roztrúsené alebo niekedy hojné, zvlášť na spodnej strane a na žilnatinе. Stvol je hnedozelený a dlhší než sú listy. Ten je o priemere 3–4 mm a je hlboko pozdĺžne ryhovaný s 5–7 nápadnými rebrami. Kvety pravidelne lúčovité so štvordielnymi zostávajúcimi kalichom, so zjednotenou kožovitou korunou na valcovitom klásku malých kvetov. Koruna so štyrmi priamymi výbežkami a so štyrmi dovnútra zahnutými púčikmi, neskôr z koruny rozvíjajúcimi sa kvetmi s nitkovitou čnelkou. Plodom je pukajúca tobolka s drobnými elipsovými semenami. Produkčnými oblasťami sú Bulharsko, Balkán, Rumunsko, Maďarsko, Poľsko, Nemecko alebo Holandsko (TOMKO ET AL., 1999; ČESKÝ LÉKOPIS, 2009; FIALOVÁ, 2015).

Podľa etymologického slovníka slovo skorocel vychádza zo slov *skoro*, vo význame rýchlo a *celit'*, vo význame hojiť rany. Pomenovanie súvisí s tým, že čerstvé listy skorocelu majú schopnosť hojiť menšie rany (KRÁLIK, 2015).

## **Pestovanie a zber**

Vo voľnej prírode sa hojne vyskytuje na lúkach, pastvinách, v medziach, v priekopách a ako burina na poliach. Napriek tomu, že sa rastlina vyskytuje hojne, ako liečivá rastlina sa i pestuje. Uznávanou odrodou je napr. skorocel *Libor* alebo *Svatojánský*. Zbieranou časťou rastliny sú listy – *Folium plantaginis*, ktoré sa zbierajú ručne v období od mája do septembra zrezávaním celých ružíc blízko pri zemi. Takto zožatý materiál sa suší v tenkej vrstve v tieni a za dobrého vetrania (ANDREJEV & BARINOV, 1990; TRAXL, 1992).

## **Použitie**

Skorocelové listy sa liečebne využívali už v minulosti, kedy ich účinky a použitie popisujú už Dioskorides, Plínius i Hildegarda z Bingenu. V súčasnosti sa listy skorocelu používajú ako antitusikum, mucilaginózum, pri nešpecifických respiračných ochoreniach s akútnymi respiračnými infekciami, akútnou bronchytídou a dráždivým kašľom. Schopnosť slizových polysacharidov mierniť dráždenie na kašeľ a adstringentné pôsobenie trieslovín dopĺňajú protizápalovo pôsobiaci akteozid a antibakteriálne účinný aukubín. Samotný aukubín vyvoláva interne gastroenteritídy, či centrálnu útlmu. Skorocelové listy sú zložkou čajovín – *Species pectorales*, skupiny antitusiká, expektoranciá a bronchospazmolytiká, extraktov, sirupov – *Sirupus plantaginis* a elixírov proti kašľu, pri prechladnutí, na vykašliavanie, pri bolestiach hrdla v kombinácii s inými rastlinami či extraktmi. Lokálne sa používa pri zápalových ochoreniach na koži a sliznice, pri mokvavých lišajoch, či vyrážkach (TOMKO ET AL., 1999; FIALOVÁ, 2015).

V homeopatii preukázala patogenetický pokus s materskou tinktúrou a nízkym riedením účinok na neuralgické bolesti trojklaného nervu, či na močové ústrojenstvo pri polyurii a vezikálnej inkontinencii. Niektorí autori odporúčajú fajčiarom vyplachovanie úst materskou tinktúrou *Plantago* k vyprovokovaniu odporu k tabaku (DEMARQUE ET AL., 2000).

## **Obsahové látky**

ČESKÝ LÉKOPIS (2009) definuje skorocelový list – *Plantaginis folium* ako usušený list a stvol, celý alebo častí, druhu *Plantago lanceolata* L. *sensu lato*. Musí obsahovať naj-

menej 1,5 % celkových derivátov kyseliny *o*-dihydroxyškoricovej, vyjadrených ako akteozid (C<sub>29</sub>H<sub>36</sub>O<sub>15</sub>), počítaných na vysušenú drogu.

Obsahuje do 6,5 % trieslovín, kyselinu kremičitú (1 %), iridoidné glykozidy aukubín (0,3-2,5 %) a katalpol (0,3-1 %), ktorých rozkladné polyméry spôsobujú hnednutie listov a sú prejavom nesprávneho spracovania a nízkou kvalitou drogy. Sliz hydrolyzuje na D-xylózu, L-arabínózu, kyselinu D-galakturonovú či D-galaktózu. Ďalej fenolkarboxylové kyseliny, kumarínový glykozid eskuletín, flavonoidy ako apigenín, verbaskozid (*syn.* akteozid), luteolín a saponíny s hemolyzujúcou a antimikrobiálnou aktivitou. Z amínových derivátov je to cholín a iné alkaloidy, ako noskapín (SUCHÝ, 1989; TOMKO ET AL., 1999; DEMARQUE ET AL., 2000).

### 3.4.2 Nechtík lekársky

Měsíček lékařský (*Calendula officinalis* L.)

Astrovité – hvězdnicovité – Asteraceae

Nechtík lekársky je bohato vetvená jednoročná bylina pochádzajúca zo Stredomoria dorastajúca do výšky 30-60 cm. Pestuje sa pre jazykové kvety bez kalicha – *Flos calendulae sine calyce*, alebo pre celé úbory – *Flos calendulae cum calyce*. Na farmaceutické účely sa pestuje v poľných kultúrach a vykupuje sa iba nechtík lekársky plnokvetý – *Calendula officinalis flore pleno* s oranžovou až ohnivočervenou farbou kvetu vyšľachtenej odrody *Plamen*, popr. *Plamen Plus*. Pomenovanie nechtíka vychádza z latinského *calendae* – prvý deň v mesiaci, čo naznačuje na dlhé obdobie kvitnutia, počas ktorého sa zberá. Podľa etymologického slovníka slovo *nechtík* vychádza z podobnosti ohnutých nažiek nechtíka a nechtov hovädzieho dobytká (BRABENEC, 1981, KRÁLIK, 2015).

### Popis

Nechtík je rastlina dorastajúca do výšky 30-50 cm. Páperistá stonka je dužinatá a bočné striedavé, drobno zúbkaté svetlozelené listy sú podlhovasté a páperisto ochlpené. Kvety sú v priemere 4-7 cm oranžovožlté úbory zložené z jazykových kvetov so žltým alebo oranžovo žltým trojzubým jazykom a v strednej časti mierne chlpatou,

s trochu kosákovou žltouhnedou trubkou s vyniknutou čnelkou a dvojklannou bliznou, niekedy s mierne ohnutým oranžovohnedým semenníkom. Zvýraznený terč žltých, oranžovočervených rúrkovitých kvetov, ktoré sú asi 5 mm dlhé so žltou, oranžovočervenou prípadne červenofialovou päťcípou korunou a oranžovohnedou trubkou. Plody sú hnedé skrútené nažky bez chocholca. Hmotnosť tisíc semien je 5,5 g (BRABENEC, 1981; ČESKÝ LÉKOPIS, 2009).

### **Pestovanie a zber**

Rastlina sa rozmnožuje zo semena, ktorých vytvára veľké množstvo. Seje sa iba plnohodnotné semeno z kontrolovaných šľachtiteľských plôch so zaručeným pôvodom v marci, či apríli do dobre pripravenej pôdy po hnojených okopaninách. Zberajú sa, podľa požiadaviek nákupne, jazykové kvety bez kalicha alebo s kalichom výhradne ručne v čase čerstvo rozkvitnutého kvetu každý druhý až tretí deň pred obedom od 10. do 11. hod. Najvýnosnejší zber je v mesiacoch jún až august. Odkvitnuté úbory, ktoré už opadávajú, sa pre bezcennosť drogy nezberajú. Výnos kvetov bez kalicha je 5-8 kg, s kalichom 20-25 kg drogy z jedného áru (BRABENEC, 1981; KRESÁNEK & KREJČA, 1988).

### **Použitie**

Droga obsahuje veľké množstvo karotenoidov, ktoré sa používajú v potravinárskom priemysle na prifarbovanie potravín, ako sú syry či maslo, k prichuteniu nealkoholických nápojov, zmrzliny, cukrovniiek a sladkého pečiva. V domácnosti sa používali okvetné listy na prifarbovanie oddávna, nakoľko sa nechtíku hovorilo ako o „šafráne chudobných“. Pridával sa do polievok, ryže, šalátov či duseného mäsa na dochutenie. Čerstvý kvet ma balzamický pach a korenisto-horkú a mierne slanú, aromatickú chuť, no sušením sa stráca. Vo fytoterapii i v medicíne sa používa pre svoje spazmolytické, choloretické a hypotenzné účinky. Lokálne pôsobí proti hadiemu jedu, účinkuje aj pri bodnutí blanokrídlovcov, či proti jedu mechúrníkov ako sú medúzy, či sasanky. Pre svoje hojivé a antiseptické účinky sa zaraďuje medzi vynikajúce zvláčňujúce prostriedky na ošetrovanie suchej pokožky a na popraskané pery (BRABENEC, 1981; DEMARQUE ET AL., 2000; BREMNESSOVÁ, 2008).



Kvety majú upokojujúce, hojivé a antiseptické vlastnosti. Tvoria zložku mastí, či mnohých kožných preparátov a sú využívané aj v aromaterapii. Upokojuje a hojí zapálenú kožu a omrzliny. Vo forme záparu podporujú trávenie a vylučovanie žlče. Nechtíkový olej sa získava z jazykovitých kvetov maceráciou (BREMNESSOVÁ, 2008).

### **Obsahové látky**

ČESKÝ LÉKOPIS (2009) definuje nechtíkový kvet – *Calendulae flos* – ako celé alebo rezané usušené celkom rozkvitnuté od lôžka oddelené kvety plnokvetých odrôd druhu *Calendula officinalis* L. Ďalej liekopis definuje minimálny obsah flavonoidov, ktorých by malo byť najmenej 0,4 %, vyjadrených ako hyperozid ( $C_{21}H_{20}O_{12}$ ) a počítaných na vysušenú drogu.

V kvetoch nechtíka sú obsiahnuté flavonoidy (jazykovité kvety do 0,9 %, lôžko do 0,3 % – najmä izorhamnetínové a kvercetinové glykozidy), rutín, hyperozid, izokvercitrín, saponíny odvodené od kyseliny olejovej a taníny s hypotenzným účinkom, organické kyseliny, najmä kyselinu salicylovú s antiagregačným účinkom na krvné doštičky, kyselinu jablčnú a askorbovú. V značnom množstve prítomné žlté a červené karotény a xantofyly, dobre rozpustné v tukoch, či mangán, majú pri vonkajšom použití protizápalové, antiseptické a antibiotické účinky. Triterpénové alkoholy ( $\beta$ -amyrín, taraxasterol, arnidiol, faradiol), horčiny (seskviterpénový laktón kalendín) s fungicídny, antivírusovým a protinádorovým účinkom. Tieto látky pôsobia aj antibioticky najmä voči rodu *Trichomonas*. Nezanedbateľné je i množstvo silice (jazykovité kvety asi do 0,12 %, kvetné lôžko aj do 0,4 % a obsahuje mentón, izomentón, terpinén alebo kadinén), či organických kyselín a polyacetylénov. V usušených okvetných plátkoch bola zaznamenaná prítomnosť stigmasterolu, sitosterolu, 2-8-izofucosterolu, kampesterolu, 2-4-metylencholesterolu a cholesterolu (TOMKO ET AL., 1999; DEMARQUE ET AL., 2000; SMALL, 2006).

### 3.4.3 Lipa malolistá

Lípa srdčitá (*Tilia cordata* Mill.)

Lipovité – Tiliaceae

Lípa malolistá, *lípa malolistá*, tiež *lípa srdčitá* je mohutný košatý strom dorastajúci až do výšky 50 metrov a je rozšírený po celej Európe s výnimkou severnej polovice Škandinávie a najjužnejších oblastí Európy s výskytom i v Malej Ázii a Číne. U nás je zvykom, že lipy sú chránené ako prírodné pamiatky. Pestuje sa pre charakteristicky aromatické súkvetie i s podporným listeňom – *Flos tiliae*. Pomenovanie lipy – *tilia*, pochádza zrejme z gréckeho *ptilon* – krídla, pre kožovité listene súkvetí, čo spomínajú starovekí autori ako Plinius, či Vergilius. O oficiálnom využívaní lipy v staroveku a stredoveku je len veľmi málo zmienok, no Hildegarda z Bingenu predpokladala v koreňoch a dreve lipy špeciálne liečivé vlastnosti (KRESÁNEK & KREJČA, 1988, BODLÁK, 2000; MAYER ET AL., 2004).

#### Popis

Lípa malolistá má dlhostopkaté srdcovité takmer lysé listy, no na spodnej strane pri žilnatinе sa vyskytujú hrdzavočervené chlpy. Kvetenstvo lipy je žltozelené a hlavná stopka kvetenstva nesie jazykovitý blanitý žltozelený takmer lysý listeň, ktorého hlavná žilka listeňu je dolnou polovicou dĺžky zrastená s hlavnou stopkou. Súkvetie je obvykle zložené z dvoch až siedmich, no niekedy až zo šestnástich voňajúcich kvetov. Kališné lístky sú opadavé, až 6 mm dlhé, na vnútornej strane lysé, na vonkajšej strane a okrajoch pýrité. Päť korunných lístkov je tenkých, kopistovitých, žltkasto bielych až 8 mm dlhých, s jemnou žilnatinou a pri okrajoch miestami jednotlivé chlpy. Voľné početné tyčinky sú obvykle usporiadané do piatich zväzkov. Semenník je vrchný a čnelka je s päťlaločnou bliznou. Plody sú guľaté kožovité nažky opadávajúce spolu s listeňom (KRESÁNEK & KREJČA, 1988; ČESKÝ LÉKOPIS, 2009).

#### Pestovanie a zber

Lípa rastie v nížinách aj vo vyšších nadmorských výškach v zmiešaných lesoch v plytkých kamenistých pôdach, či v parkoch a pri cestách, kde sa vysádzajú do alejí.

Pri zbere treba rozlišovať druhy lipy. Najmä lipu veľkolistú (*Tilia platyphyllos* Scop.), ktorá sa považuje za kultúrnu formu lipy malolistej (*Tilia cordata* Mill.) a spolu figurujú ako lipa európska (*Tilia × europea* L.), čo je ich prirodzene sa vyskytujúci hybrid. Pre zber sú prípustné aj krížence, či lipa zelenkastá (*Tilia × euchlora* C. Koch), s výnimkou lipy striebristej (*Tilia tomentosa* Moench.), ktorá je vysádzaná v parkoch pre svoju odolnosť, no nektár kvetov tejto lipy je známy svojou jedovatosťou najmä pre čmeliakov i včely. Druhy sa líšia najmä veľkosťou listov a najmä časom kvitnutia, kedy *T. cordata* kvitne približne o 14 dní skôr. Súkvetia kvitnúce 12 až 14 dní sa zbierajú na začiatku kvitnutia, kedy sú kvety s listeňmi priamo rozvíjajúce, čo býva v júni až v júli, bez prímiesí po rozkvitnutí asi polovice kvetov. Prítomnosť hrdzavých kvetov, či plodov kvalitu znehodnocuje. Stromy je potrebné pri zbere šetriť a nazbieraný materiál náchylný k zapareniu sa následne suší v tieni a prievane. Zosychací pomer je asi 5:1. Produkčnými oblasťami sú Turecko a Balkán (KRESÁNEK & KREJČA, 1988; TOMKO ET AL., 1999; KONARSKA, 2013).

### **Použitie**

Droga sa používa predovšetkým ako diaforetikum, no uplatnenie nájde i pri kataroch dýchacích ciest, žalúdočnej či črevnej kolike, horúčkovitých ochoreniach, pri chrípke, bronchitíde alebo angíne. Pri kašli a zahlienení k podpore potenia sa užíva najmä v kombinácii s kvetom čiernej bazy. Lipa je súčasťou laxatívnych, metabolických, diuretických čajovín. Pôsobí i ako antireumatikum, stomachikum, sedatívum, spazmolytikum, antiflogistikum a kozmetikum. Svojou príjemnou chuťou je lipa cenená aj ako korigens a pridáva sa aj do ústnych vôd alebo kúpeľov. Pre množstvo kvetov a veľkú medováciu schopnosť sú aj včelársky veľmi cenené. Droga je súčasťou aj niektorých čajových zmesí ako napr. *Species laxantes Planta*, či *Droseran* (KRESÁNEK & KREJČA, 1988; BODLÁK, 2000; KONARSKA, 2013).

### **Obsahové látky**

ČESKÝ LÉKOPIS (2009) definuje lipový kvet – *Flos tiliae* – ako celé usušené kvetenstvo druhov *Tilia cordata* Mill., *Tilia platyphyllos* Scop., *Tilia × vulgaris* Heyne, alebo ich

zmes, no nedefinuje minimálny obsah nijakej z látok. Droga musí byť však slabo aromatického pachu so sladkastou slizovitou chuťou.

Droga obsahuje veľké množstvo slizu, trieslovín (2 %), fytosterolov, flavonoidov (1 %), predovšetkým kvercetinové glykozidy – rutín, hesperidín, kvercetín, hyperozid, izokvercitrín a kempferolové glykozidy ako tilirozid, astragalín, myricetínové glykozidy – myricetín-3-*O*-glukozid, myricetín-3-*O*-ramnozid, kempferol, ďalej kyselinu kávovú, kyselinu *p*-kumarovú, kyselinu chlorogénovú a silice (0,02-0,2 %) s hlavnou zložkou farnazolom, geraniolom a eugenolom (TOMKO ET AL., 1999; BODLÁK, 2000; EUROPÄISCHES ARZNEIBUCH, 2005).

#### 3.4.4 Baza čierna

Bez černý (*Sambucus nigra* L.)

Pižkovkovité – Adoxaceae (zimolezovité – Loniceraceae)

#### Popis

Baza čierna je opadavý ker alebo menší tenkokmenný strom dorastajúci až do výšky 9 metrov. Listy sú rapíkaté, priame a nepárnosperené, na okraji pílovito zubaté a na rube chlpaté. Vetve stromu sú vyplnené bielou dreňou. Predmetom zberu je kvet – *Flos sambuci* a plod – *Fructus sambuci*. Od pradávna patri k najvýznamnejším liečivým rastlinám a k liečeniu sa využívali všetky jeho časti, mimo kvetu a plodu i list, kôra a koreň. Kvetenstvo je ploché a tvorí okolík s množstvom bieložltých kvetov s typickou prenikavou arómou, dorastajúce až do priemeru 25 cm. Kvitne v máji až v júli a tmavofialové plody, fialovočierne kôstkovice – bezinky, dozrievajú na konci leta. Baza čierna pochádza z Európy a severnej Afriky a rastie po celej Európe, v západnej Ázii a v Severnej Amerike. U nás sa vyskytuje v krovinách, na kraji svetlých lesov, pri okraji ciest a priekop. Rodový názov bazy – *sambucus* – zrejme pochádza z Grécka, kde sa z bazového dreva vyrábali lutny, zvané sambuky. Na farmaceutické účely sa droga vyváža z Balkánu, Maďarska, Rakúska alebo z Rumunska (KRESÁNEK & KREJČA, 1988; BODLÁK, 1999, TOMKO ET AL., 1999).

## **Pestovanie a zber**

Baza sa u nás zberá väčšinou vo voľnej prírode, v Rakúsku, či vo Švajčiarsku patrí baza k tržne pestovaným plodinám. V Českej republike sú registrované odrody *Matěj* a *Madeleine* a na Slovensku patria medzi najčastejšie registrované odrody *Bohatka*, *Haschberg*, či *Sambo*. Pestovanie nie je zložité, nakoľko rastlina je veľmi nenáročná a darí sa jej aj v miestach, kde sa iným rastlinám nedarí. Baza plodí na jednoročných výhonoch. Zber kvetu sa vykonáva ručne odstrihovaním celých kvetenstiev i s 1 cm dlhou stopkou v čase, kedy sú všetky kvety plne rozvinuté, no nie prekvitnuté. Suší sa na šnúrach, kde sa kvety vešajú, alebo na lieskach v tenkej vrstve. Správne usušená droga má jasne žltú farbu, prenikavo voňajúca a so slizovitou chuťou. Zosychací pomer je 6:1. Plody – *Fructus sambuci*, sa zbierajú v celých plodenstvách, najlepšie vo vise v tieni, alebo v sušiarňi, kde by teplota nemala prekročiť 40 °C. Po usušení sa plody drhnú zo stopiek a dočistia na sitách. Zosychací pomer je 8:1, no sú veľmi náchylné na plesnivenie. Dobře vyschnuté plody voňajú po sušenom ovocí, majú zvieravú sladkokyslú chuť a lepia sa (ANDREJEV & BARINOV, 1990; BODLÁK, 1999, HRIČOVSKÝ & VARGOVÁ, 2007, EAGRI.CZ) .

## **Použitie**

Použitie bazy v liečiteľstve pochádzajú už zo stredoveku, kedy podľa herbárov snáď neexistoval obor, v ktorom by baza nenašla terapeutické uplatnenie. Najvýznamnejšie použitie kvetu – *Flos sambuci* – je ako diaforetikum, či diuretikum. Používa sa pri všetkých ochoreniach dýchacích ciest, nachladnutí, kašli a angíne. Rozpúšťa hlien, upokojuje sliznice a podporuje vykašliavanie. Je univerzálnym liekom pri neuralgiách, vyplavuje z tela prebytočnú kyselinu močovú, lieči choroby zažívacieho traktu, užíva sa i pri ochoreniach obličiek alebo močového mechúra. Pre svoj obsah rutínu je cenený aj blahodárny vplyv na pružnosť a pevnosť ciev. Upravuje krvný tlak a používa sa i v dermatológii k obkladom pri kožných ochoreniach. Ako kloktadlo sa využíva pri zápaloch d'asien a mandlí. Použitie plodu bazy – *Fructus sambuci* – je podobné s tým, že pôsobia ako účinné analgetikum pri bolestiach a vykazujú protizápalové účinky. Plody sú miernym laxatívum a hypotenzívum. (JIRÁSEK & STARÝ, 1986; JANČA & ZENTRICH, 1994, BODLÁK, 1999).

Baza čierna môže znížiť riziko ochorenia diabetom zvýšením antioxidačnej ochrany organizmu, znížením koncentrácie fibrinogénu a oxidačných procesov lipidov. Baza taktiež môže zvýšiť metabolizmus príjmu svalovej glukózy a zvýšenie sekrécie inzulínu vďaka polyfenolickým zlúčeninám ako kempferol, kyseliny ferulová a kávová alebo naringenín (SIDOR & GRAMZA-MICHALOWSKA, 2015).

Droga je súčasťou expektoračných, redukčných, laxatívnych urologických čajovín. Sedatívny výťažok v roztoku a plody v redukčnej čajovine. V potravinárstve sa baza čierna využíva aj k aromatizácii alkoholických nápojov, octov či bieleho vína. Kvety a plody sa používajú ako náplň do koláčov. Čerstvé kvetenstvo sa zvykne aj obalovať palacinkovým cestom a vyprážať. Samotné plody sa požívajú aj na výrobu štiav, sirupov, kompótov, rôsolov alebo džemov (BODLÁK, 1999; TOMKO ET AL., 1999).

V stredoveku sa bazový kvet pridával i s ružovým kvetom do korenenej vínnej kaše z chleba a lekváru. Kvet sa používal i samostatne, kedy sa kaša varila v mlieku alebo v smotane s chlebom alebo vajcom. V rímskej kuchyni sa z čiernej bazy využívali najmä plody, z ktorých sa po uvarení prepaširovala šťava a po hojnom okorenení zmiešala s vajcom na hustú kašu. V Čechách sa z bazy červenej (*Sambucus racemosa*) varil olej (BERANOVÁ, 2011).

V homeopatii sa ako materiál využívajú čerstvé listy a kvet bazy a majú účinky na respiračné ochorenie, katarálne a spaztické podráždenie, pri suchej koryze, rozpúšťanie hlienov, strate hlasu a laryngitíde. Účinky homeopatika *Sambucus nigra* na astmatické problémy sú popisované príslovím, ktoré hovorí: „*Před heřmánkem smekni, před bezem klekni!*“ (DEMARQUE ET AL., 2000).

### **Obsahové látky**

ČESKÝ LÉKOPIS (2009) definuje bazu ako usušený kvet – *Flos sambuci* – druhu *Sambucus nigra* L., ktorý obsahuje najmenej 0,80 % flavonoidov, počítaných ako izokvercitrín (C<sub>21</sub>H<sub>20</sub>O<sub>12</sub>), na usušenú drogu.

Kvety bazy čiernej obsahujú skoro výhradne flavonoly – kvercetínové glykozidy (1,5-3 %), hlavne rutín (až 1,9 %), kvercetín, izokvercitrín, hyperozid, naringenín a astragalín. Silica (0,03-0,15 %) s vysokým obsahom voľných mastných kyselín. Obsiahnutá je aj kyselina chlorogénová (3 %), *p*-kumarová, kávová, ferulová a ich

$\beta$ -glukozylestery, stopy sambunigrínu, esterifikované triterpény, triterpénové kyseliny, sliz, triesloviny, steroly –  $\beta$ -sitosterol, kampesterol, stigmasterol. Ďalej taníny, mucilaginíny, pektín, cukry (glukóza a fruktóza). V zrelom plode sú obsiahnuté antokyanové farbivá, flavonoidy – hyperozid, izokvercitrín, rutín. Antokyanové glykozidy – sambucín, sambucyanín, chrysantermín. Kyanogénny glykozidy – prunazín, zierín, holokalin – spôsobujúce nevoľnosť a preto je dôležité, aby sa plody pred vnútorným užívaním upravili varom. Ďalej organické kyseliny, pektín, vitamíny A, B<sub>1</sub>, B<sub>2</sub>, B<sub>5</sub>, B<sub>6</sub>, B<sub>12</sub> a silica (TOMKO ET AL., 1999; BODLÁK, 2000).

### **3.5 Metódy stanovenia fenolických látok**

#### **3.5.1 Extrakčné metódy**

Extrakcia je difúzna operácia, pri ktorej je z tuhej alebo kvapalnej zmesi vhodným rozpúšťadlom oddeľovaná rozpustná látka. Extrakcia je zároveň i purifikačná operácia využívajúca na rozdeľovanie látok v zmesi deliaci efekt, pri ktorom dochádza k prechodu látky z jednej fázy do druhej cez fázové rozhranie. Zdieľanie aktívnej zložky je medzi dvomi obmedzene miešateľnými rozpúšťadlami. Tento proces býva označovaný aj ako lúhovanie (KADLEC ET AL., 2013).

#### ***Extrakcia z kvapaliny do kvapaliny – LLE***

Extrakcia látok v kvapalnom skupenstve patrí medzi najčastejšie, kedy sa využíva princíp difúzie rozpúšťanej látky z jednej kvapalnej fázy do druhej. Najpoužívanějšími rozpúšťadlami sú horúca voda, metanol, etanol, acetonitril, dietyléter a etylacetát (DVOŘÁKOVÁ ET AL., 2006; KADLEC ET AL., 2013).

#### ***Extrakcia tuhou fázou – SPE***

SPE je extrakčný postup, kedy je uplatňovaná rovnováha medzi tuhú a kvapalnou fázou. Cieľové analyty a interferujúce látky v kvapalnej fáze sú zadržované na tuhom sorbente uloženom v špeciálnych SPE kolónach. Metóda patrí medzi novšie techniky úpravy vzorky, kedy je extrahovaná žiadaná látka z kvapalnej vzorky, alebo je

oddelená látka od rušivej matrice, pričom získaný extrakt má vyššiu čistotu a koncentráciu žiadanej látky. Takto získaný extrakt je vhodný pre analýzu chromatografickou technikou (EUROLAMBDA.SK).

### ***Extrakcia plynom z kvapaliny – SLE***

SLE je extrakčný postup prchavých látok plynom z kvapaliny. Využitie nachádza v plynovej chromatografii pre nakoncentrovanie prchavých látok vo vzorke (KADLEC ET AL., 2013).

### ***Extrakcia podľa Českého lékopisu***

Extrakty sú koncentrované, tekuté, tuhé alebo polotuhé prípravky pripravované z usušených rastlinných drog alebo živočíšnych materiálov, pričom u niektorých môže byť extrahovaná látka vopred upravená, či už inaktíváciou enzýmov, rozdrobením alebo odtučnením. Extrakty sa pripravujú maceráciou, perkoláciou alebo inými vhodnými validovanými metódami za použitia liehu alebo iného rozpúšťadla. *Perkolácia* zahŕňa vhodnú úpravu drogy, premieša sa s časťou rozpúšťadla a nechá sa určitú dobu stáť. Následne sa prevedie do perkolátoru a pomaly sa perkoluje tak, aby bola droga dokonalo prekrytá rozpúšťadlom. Zvyšok drogy sa po extrakcii vylisuje a získaná tekutina sa spojí s perkolátom. *Macerácia* sa od perkolácie líši tým, že droga sa premieša s celým objemom rozpúšťadla a nechá sa stáť v uzatvorenej nádobe požadovanú dobu. Zvyšok drogy sa po extrakcii oddelí od rozpúšťadla a v prípade potreby sa vylisuje, kedy sa obe tekutiny spoja. Úpravou na požadovanú konzistenciu rozumieme metódy ako je odparovanie za zníženého tlaku a teploty, pri ktorej je nižšie nebezpečenstvo rozkladu účinných látok. Jednou zo šetrných metód extrakcie patrí i riadená extrakcia bylín za studena, kedy sa pri teplote 35 °C a vo vákuu uvoľní maximálne množstvo biologicky aktívnych látok, ktoré sa pri vyšších teplotách degradujú (ČESKÝ LÉKOPIS, 2009).

## **3.5.2 Separačné metódy**

### ***Ultra vysokoúčinná kvapalinová chromatografia (UPLC™)***

Chromatografia je jednou zo separačných metód založených na rozdielnej distribúcii delených látok v zmesi medzi dve navzájom nemiesiteľné fázy, pohyblivú – *mobilitnú fázu* a nepohyblivú – *stacionárnu fázu*. V kvapalinovej chromatografii, ako už názov



napovedá, je mobilnou fázou kvapalina a stacionárnou fázou je buď tuhá látka, alebo kvapalina ukotvená na tuhom nosiči. Mobilná fáza je privádzaná do systému pomocou binárneho čerpadla za vysokého tlaku. Toto čerpadlo má za úlohu zaistiť stabilný – bezpulzný – prietok mobilnej fázy, čo je dôležité pre presnosť výsledkov a stabilné retenčné časy. Autosampler – automatický dávkovač vstrekuje vzorku z vialiek do toku mobilnej fázy a unáša na kolónu, kde dochádza k opakovanej ústálenej rovnováhe medzi mobilnou a stacionárnou fázou a k separácii analytov podľa fyzikálno-chemických vlastností. K detekcii separovaných látok slúžia detektory umiestnené za chromatografickú kolónu. Pri analýze fenolických látok má uplatnenie najmä PDA detektor diódového poľa zaznamenávajúci UV spektrum v reálnom čase bez prerušenia chromatografickej separácie. Výstupom z detektoru je grafický záznam závislosti odozvy detektoru na retenčnom, zadržiavacom, čase – chromatogram, na ktorom sa hodnotí plocha a výška píku. Kvantitatívna analýza sa vykonáva na princípe odčítania výsledkov z plochy píku z chromatogramu (ACQUITY UPLC SYSTEM, 2006; NOVÁKOVA & DOUŠA, 2013).



**Obrázok 3:** Kvapalinový chromatograf Acuity UPLC od spoločnosti Waters

Zdroj: [waters.com/webassets/cms/category/media/snapshot/acquity\\_uplc\\_silo\\_web\\_950px.jpg](http://waters.com/webassets/cms/category/media/snapshot/acquity_uplc_silo_web_950px.jpg)

## 4 MATERIÁL A METODIKA

### 4.1 Experimentálna časť

#### 4.1.1 Materiál

Fenolické látky boli sledované vo vybraných rastlinných druhoch, ako je skorocel kopijovitý (*Plantago lanceolata* L.), nechtík lekársky (*Calendula officinalis* L.), lipa malolistá (*Tilia cordata* L.), baza čierna (*Sambucus nigra* L.) boli získané z pestovania na Poľnej pokusnej stanici v Žabčiciach a nakúpené z firmy Leros, s.r.o. Tieto rastliny boli podrobené extrakcii voľných fenolických látok, kyslej a alkalickej hydrolyze.

#### 4.1.2 Príprava voľných a viazaných extraktov

Stanovenie obsahu fenolických látok prebiehalo podľa modifikovanej metódy podľa KRYGIERA ET AL. (1982), ktorá bola pôvodne navrhnutá pre izoláciu fenolických kyselín z olejnatých semien. Metóda bola podrobnejšie popísaná v článku od KARABÍNA ET AL. (2013).

Príprava extraktov drogy a stanovenie prebiehalo nasledovne. Jednotlivé drogy v dvoch opakovaníach boli homogenizované a následne odvážený 1 g takto pripravenej vzorky. Vzorka bola kvantitatívne prevedená do plastovej centrifugačnej skúmavky o objeme 50 ml, kde bolo následne pridaných 5 ml hexánu a vzorka bola trepaná po dobu jednej minúty. Vzniknutá suspenzia bola oddelená na centrifúge, čím sa oddelil prebytočný hexán od vzorky a pomocou Pasteurovej pipety bol odstránený. Vzorky sa sušili počas noci a na druhý deň boli pripravené na extrakciu pomocou niekoľkostupňovej hydrolyzy.

#### ***Jednoduchá extrakcia – voľné fenolické látky***

Vysušená vzorka bola podrobená extrakcii 70% acetónom, ktorá sa opakovala  $3 \times$  s 10 ml acetónu, až pokiaľ sa nevymyla väčšina voľných fenolických látok. Vzniknutá suspenzia bola oddelená v centrifúge a vodná fáza bola po úprave pH preliata do 50ml centrifugačnej skúmavky. Extrahovaný pevný podiel bol vysušený a podrobený alkalickej hydrolyze.

Vodná organická fáza bola okyslená kyselinou chlorovodíkovou na hodnotu pH 2 a extrahovaná pomocou zmesi dietyléteru s etylacetátom v pomere 1:1. Extrakcia bola vykonávaná 3 × s 15 ml zmesi rozpúšťadiel. Takto zozbieraná organická vrstva bola zo srdcovej banky odparovaná vo vákuovej odparke a vysušená do sucha. Odparok bol rozpustený v 1 ml 20% metanole a prevedený cez nylonový filter o porézności 0,2 µm do pripravenej a označenej vialky.

### ***Alkalická hydrolýza***

Vodná a pevná frakcia získaná pri príprave vzoriek jednoduchkej extrakcie bola kvantitatívne prenesená do plastovej centrifugačnej skúmavky o objeme 50 ml, kam sa pridalo 10 ml hydroxidu sodného o koncentrácii 4 mol.l<sup>-1</sup> s prídavkom EDTA a kyseliny askorbovej, ktorý odporúča JIRÁSKOVÁ (2014) za účelom zabráneniu degradácii fenolických kyselín a výraznému zvýšeniu odozvy a tým aj k zlepšeniu účinnosti extrakcie. Takto pripravená zmes bola pretrepávaná na trepačke počas dvoch hodín. Po hydrolýze bolo vzorkám znížené pH pomocou kyseliny chlorovodíkovej na hodnotu pH 2 a následne prebiehala extrakcia zmesi pomocou dietyléteru a etylacetátu v pomere 1:1. Extrakcia bola vykonávaná 3 × s 15 ml zmesi týchto rozpúšťadiel. Organická vrstva bola vysatá, po prevedení do srdcovej banky bola odparená vo vákuovej odparke do sucha. Odparok bol rozpustený v 1 ml 20% metanolu a prevedený cez nylonový filter o porézności 0,2 µm do pripravenej a označenej vialky. Vodná fáza, ktorá sa získala tou cestou, bola podrobená kyslej hydrolýze.

### ***Kyslá hydrolýza***

K pevnej a vodnej frakcii získanej pri alkalickkej hydrolýze bolo pridaných 10 ml kyseliny chlorovodíkovej o koncentrácii 1 mol.l<sup>-1</sup>. Vodná fáza bola prevedená do plastovej centrifugačnej skúmavky o objeme 50 ml a následne bolo pridaných 10 ml kyseliny chlorovodíkovej o koncentrácii 1 mol.l<sup>-1</sup>. Otvorená skúmavka bola vložená do vodného kúpeľa o teplote 70 °C, kde sa počas 45minút udržovala pri tejto teplote. Po uplynutí času bola skúmavka ochladená na laboratórnu teplotu a následne bol obsah 3 × extrahovaný do zmesi dietyléteru a etylacetátu v pomere 1:1. Vyseparovaná organická vrstva bola prevedená do srdcovej banky, z ktorej bola táto vrstva odparená vo vákuovej odparke a odparok bol rozpustený v 1 ml 20% metanole a prevedený cez nylonový filter o porézności 0,2 µm do pripravenej a označenej vialky.

Pripravené vzorky v štyroch opakovaníach boli uchované vo vialkách a následne sa merali v ultra vysokoúčinnom kvapalinovom chromatografe UPLC s PDA detektorom pri vlnových dĺžkach 250 alebo 300 nm, podľa druhu analytu.

#### 4.1.3 Chromatografická analýza

Separácia fenolických látok bola vykonávaná v laboratóriu sladovníckeho ústavu Výskumného ústavu pivovarského a sladovníckeho, a.s. (VÚPS) v Brne na kvapalinovom chromatografe.

**Chromatograf:** Waters® Acquity Ultra Performance LC™ (UPLC) s PDA detektorom.

**Kolóna:** Phenomenex Luna Omega 1,6 µm C18, 100 Å, 100 × 2,1 mm

**Mobilná fáza:** Fáza A: deionizovaná voda + 2 % acetonitril + 0,3 % HCOOH, pH 2,3

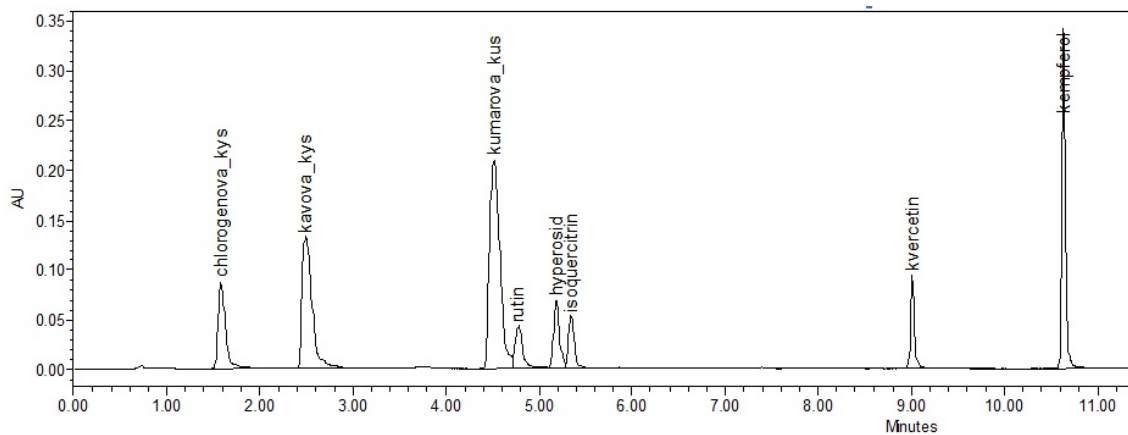
Fáza B: acetonitril + 0,3 % HCOOH

**Nástrek vzorky:** 1 µl

**Prietok:** 0,3 ml.min<sup>-1</sup>

Tabuľka 1: Gradient mobilnej fázy

čas [min]	tok [ml/min]	% A	% B
0	0,3	85	15
2	0,3	85	15
8	0,3	55	45
10	0,3	20	80
12	0,3	85	15



**Obrázok 4:** Výrez chromatogramu štandardov pre nechtík lekársky

## 4.2 Spracovanie výsledkov

Dosiahnuté výsledky boli štatisticky vyhodnotené pomocou štatistického programu STATISTICA (Data analysis software system), StatSoft, Inc. (2011), version 10. Získané dáta boli vyhodnotené dvojfaktorovou analýzou variancie s následným testovaním podľa Fischera (LSD test),  $p=0,05$ . Výsledky sú v práci spracované numericky i graficky.

## 5 VÝSLEDKY A DISKUSIA

### 5.1 Obsah fenolických látok v skoroceli kopijovitom (*Plantago lanceolata* L.)

Z analýzy variancie (tab. 2) vyplýva, že štatisticky vysoko preukázateľný vplyv mal ročník na kyselinu chlorogénovú. U ostatných sledovaných fenolických látok boli ročníkom ovplyvnené veľmi vysoko preukázateľne. Všetky sledované fenolické látky boli štatisticky veľmi vysoko preukázateľne ovplyvnené spôsobom extrakcie, rovnako ako pri vzájomnej interakcii oboch sledovaných faktorov.

**Tabuľka 2:** Analýza variancie pre obsah vybraných fenolických látok vo vzorkách skorocelu kopijovitého, odlišnými spôsobmi extrakcie sledovaných v rokoch 2015 a 2016

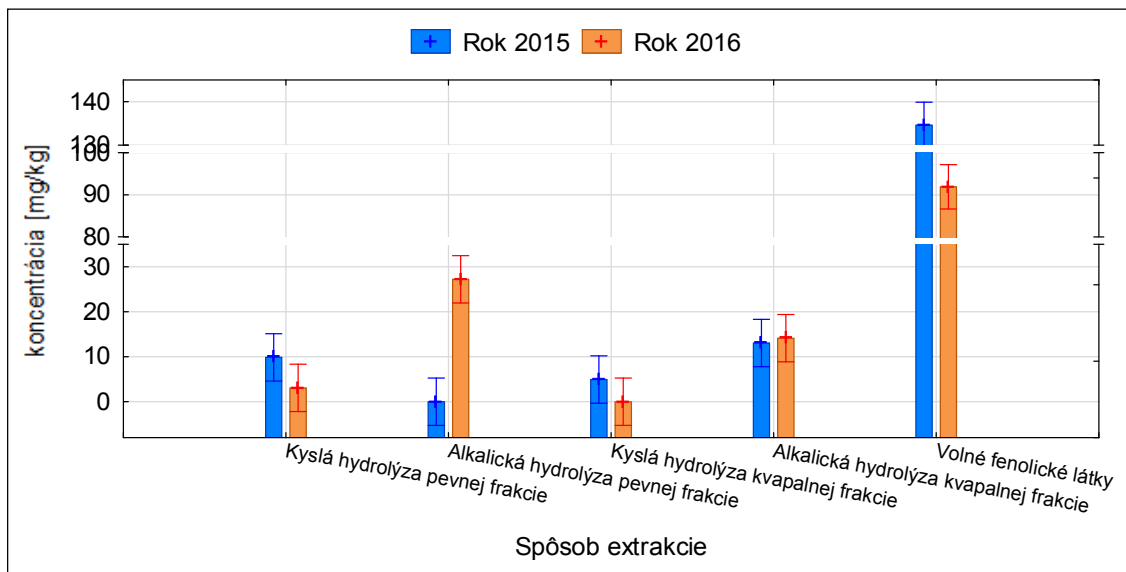
zdroj premenlivosti	n-1	kys. chlorogénová	kys. kávová	verbaskozid	kys. ferulová	rutín	kvercetín
		PČ					
rok	1	274,2**	2681751***	3400886,5***	688,9***	154710,9***	548,8***
spôsob extrakcie	4	17567,2***	1796524***	12899489,9***	71371,6***	119423,7***	196,0***
rok * spôsob extrakcie	4	1251,3***	1059514***	3463649,7***	2336***	67868,6***	151,6***
chyba	30	26,6	1179,6	23139,6	55,2	131,4	2,8

Pozn.: \* -  $p \leq 0,05$ ; \*\* -  $p \leq 0,01$ ; \*\*\* -  $p \leq 0,001$

**Tabuľka 3:** Priemerný obsah [mg/kg] vybraných fenolických látok vo vzorkách skorocelu kopijovitého odlišnými spôsobmi extrakcie v sledovaných rokoch 2015 a 2016

rok	spôsob extrakcie	kys. chlorogénová	kys. kávová	verbaskozid	kys. ferulová	rutín	kvercetin
2015	Kyslá hydrolýza pevnej frakcie	9,86 bc	28,70 a	21,06 a	17,01 bcd	21,93 ab	15,58 de
	Alkalická hydrolýza pevnej frakcie	0,00 a	284,90 c	0,00 a	225,26 g	509,42 e	31,48 g
	Kyslá hydrolýza kvapalnej frakcie	4,95 ab	11,00 a	9,43 a	8,47 ab	7,48 a	13,79 d
	Alkalická hydrolýza kvapalnej frakcie	13,06 c	34,49 a	0,00 a	133,42 f	24,28 b	15,41 de
	Voľné fenolické látky	134,64 f	13,08 a	4318,22 c	16,03 abc	189,32 d	17,80 e
2016	Kyslá hydrolýza pevnej frakcie	3,07 ab	129,95 b	8,29 a	27,51 d	8,97 ab	9,74 bc
	Alkalická hydrolýza pevnej frakcie	27,23 d	1949,09 e	28,10 a	238,35 h	82,39 c	10,85 c
	Kyslá hydrolýza kvapalnej frakcie	0,00 a	9,87 a	5,09 a	5,72 a	6,34 a	7,11 a
	Alkalická hydrolýza kvapalnej frakcie	14,13 c	859,18 d	10,27 a	64,94 e	18,23 ab	7,72 ab
	Voľné fenolické látky	91,91 e	13,36 a	1381,10 b	22,17 cd	14,58 ab	21,60 f

## Kyselina chlorogénová



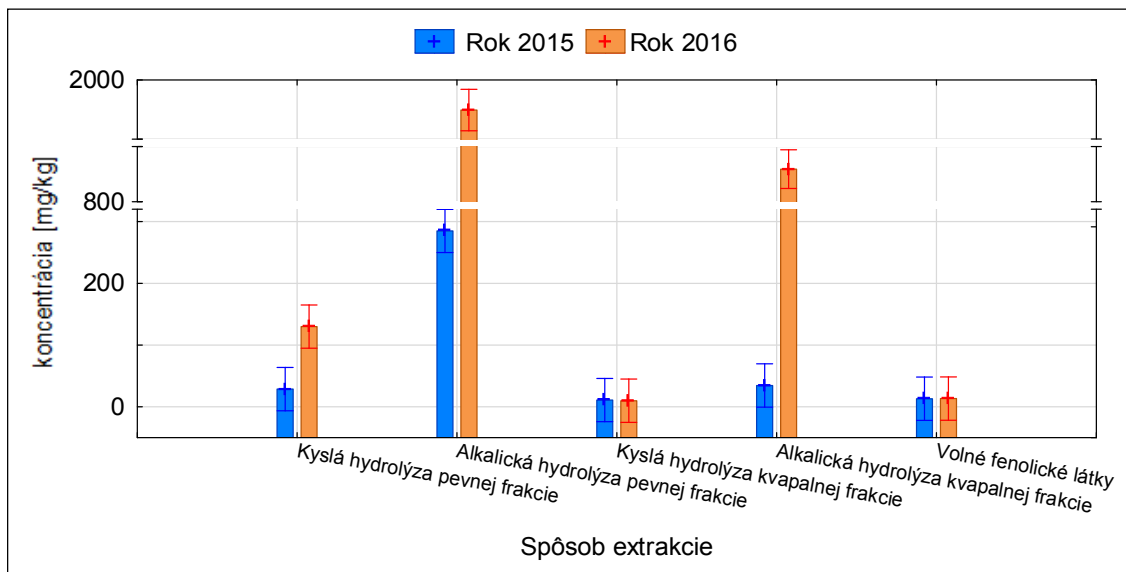
**Graf 1:** Priemerný obsah kyseliny chlorogénovej vo vzorkách skorocelu kopijovitého zistený rôznymi spôsobmi extrakcie v rokoch sledovania 2015 a 2016

Obsah kyseliny chlorogénovej v skoroceli kopijovitom (graf 1, tab. 3) bol zistený štatisticky preukázateľne najvyšší pri extrakcii voľných fenolických látok, v oboch sledovaných rokoch (2015, 2016). V roku 2015 bol obsah voľnej kyseliny chlorogénovej 134,64 mg/kg. Tieto hodnoty sa však štatisticky preukázateľne líšili od obsahu voľnej kyseliny chlorogénovej v roku 2016, kedy bolo získaných 91,91 mg/kg.

Celkový obsah kyseliny chlorogénovej v skoroceli v roku 2015 bol 162,51 mg/kg, z toho obsah voľnej kyseliny chlorogénovej činí 82,85 % a v roku 2016 bol celkový obsah 136,34 mg/kg, z toho obsah voľnej kyseliny chlorogénovej činí 67,41 %.



## Kyselina kávová

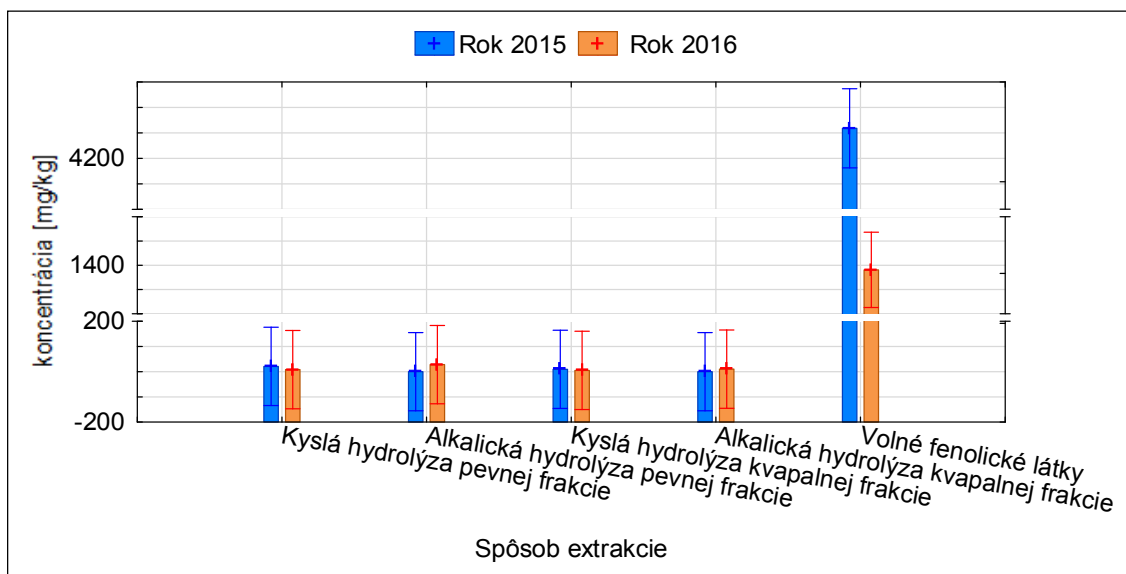


**Graf 2:** Priemerný obsah kyseliny kávovej vo vzorkách skorocelu kopijovitého zistený rôznymi spôsobmi extrakcie v rokoch sledovania 2015 a 2016

Obsah kyseliny kávovej, čo bola ďalšia sledovaná fenolická kyselina vo vzorku skorocelu kopijovitého, bol zistený v priemere vyšší v roku 2016, kedy sa ukázal ako najvhodnejší spôsob extrakcie v oboch sledovaných rokoch alkalická hydrolyza pevnej frakcie (graf 2, tab. 3). V roku 2015 bol obsah kyseliny kávovej, pomocou alkalické hydrolyzy pevnej frakcie, 284,90 mg/kg a v roku 2016 bol však obsah mnohonásobne vyšší, a to 1949,09 mg/kg.

Celkový obsah kyseliny kávovej v skoroceli v roku 2015 bol 372,17 mg/kg, z toho obsah kyseliny kávovej získanej pomocou alkalické hydrolyzy pevnej frakcie činí 76,55 % a v roku 2016 bol celkový obsah 2961,45 mg/kg, z toho obsah takto získanej kyseliny kávovej činí 65,81 %.

## Verbaskozid

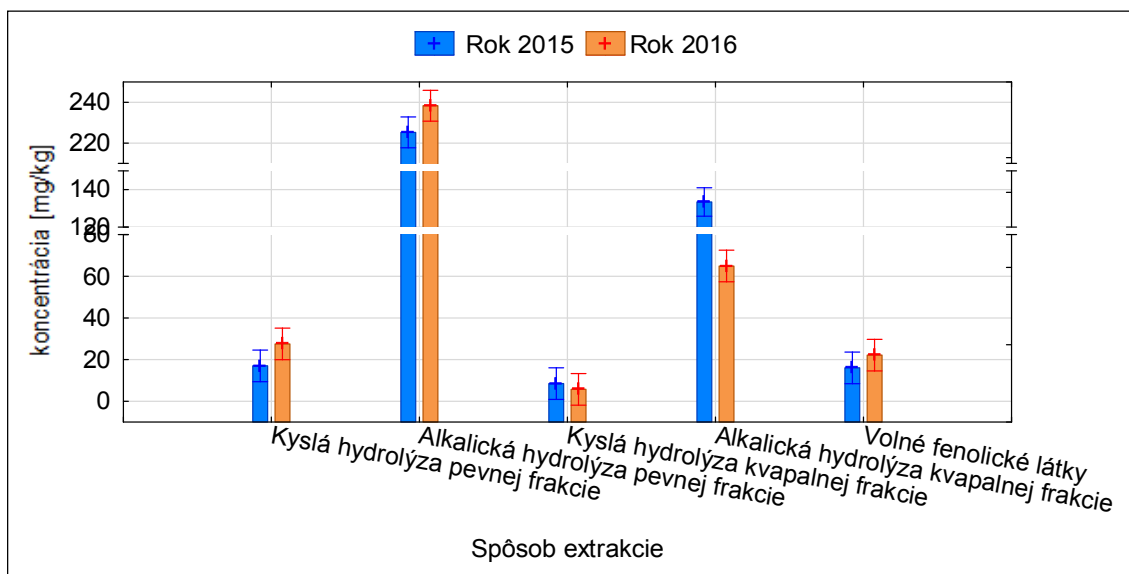


**Graf 3:** Priemerný obsah verbaskozidu vo vzorkách skorocelu kopijovitého zistený rôznymi spôsobmi extrakcie v rokoch sledovania 2015 a 2016

Z grafu 3 (tab. 3) vyplýva, že najvhodnejší spôsob extrakcie pre zložku skorocelu kopijovitého – verbaskozidu, bola podobne, ako u kyseliny chlorogénovej, extrakcia voľných fenolických látok, kedy v ročníku 2015 bolo získaných 4318,22 mg/kg a v ročníku 2016 bolo získaných 1381,10 mg/kg.

Celkový obsah verbaskozidu v skoroceli v roku 2015 bol 4348,71 mg/kg, z toho obsah voľného verbaskozidu činí 99,29 % a v roku 2016 bol celkový obsah 1432,85 mg/kg, z toho obsah voľného verbaskozidu činí 96,38 %.

## Kyselina ferulová

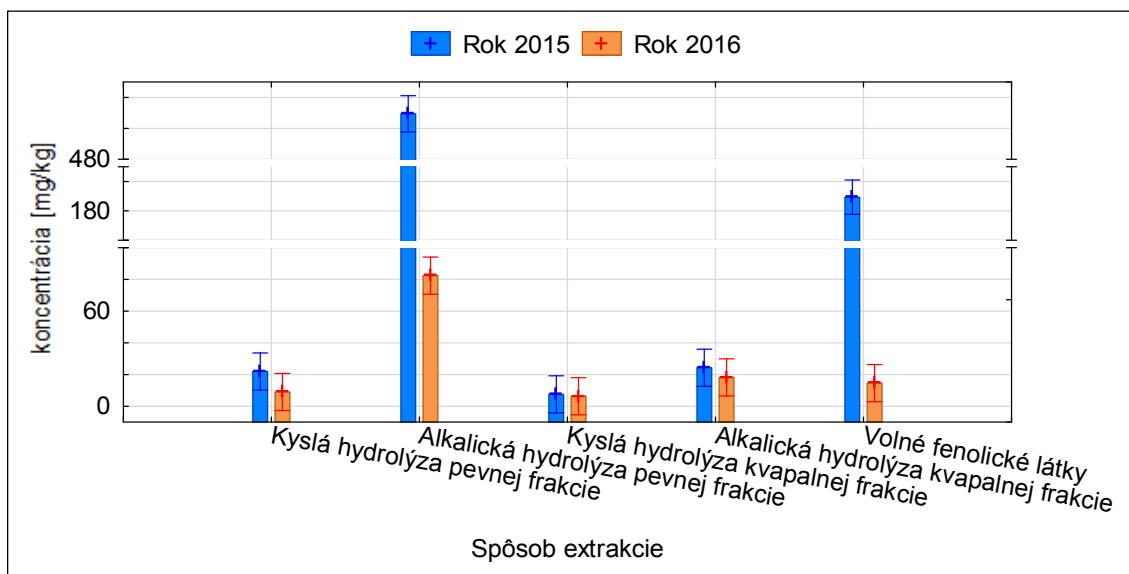


**Graf 4:** Priemerný obsah kyseliny ferulovej vo vzorkách skorocelu kopijovitého zistený rôznymi spôsobmi extrakcie v rokoch sledovania 2015 a 2016

Vo vzorkách skorocelu kopijovitého bol sledovaný tiež obsah kyseliny ferulovej, ktorá bola zistená štatisticky preukázateľne najvyššia v roku 2016 a vhodným spôsobom extrakcie bola zistená alkalická hydrolyza pevnej frakcie, kedy bolo získaných 238,35 mg/kg. Podobne tomu bolo i v roku 2015, u rovnakého spôsobu extrakcie, kedy bol obsah kyseliny ferulovej 225,26 mg/kg (graf 4, tab. 3).

Celkový obsah kyseliny ferulovej v skoroceli v roku 2015 bol 400,19 mg/kg, z toho obsah kyseliny ferulovej získanej pomocou alkalické hydrolyzy pevnej frakcie činí 56,28 % a v roku 2016 bol celkový obsah 358,69 mg/kg, z toho obsah takto získanej kyseliny ferulovej činí 66,45 %.

## Rutín

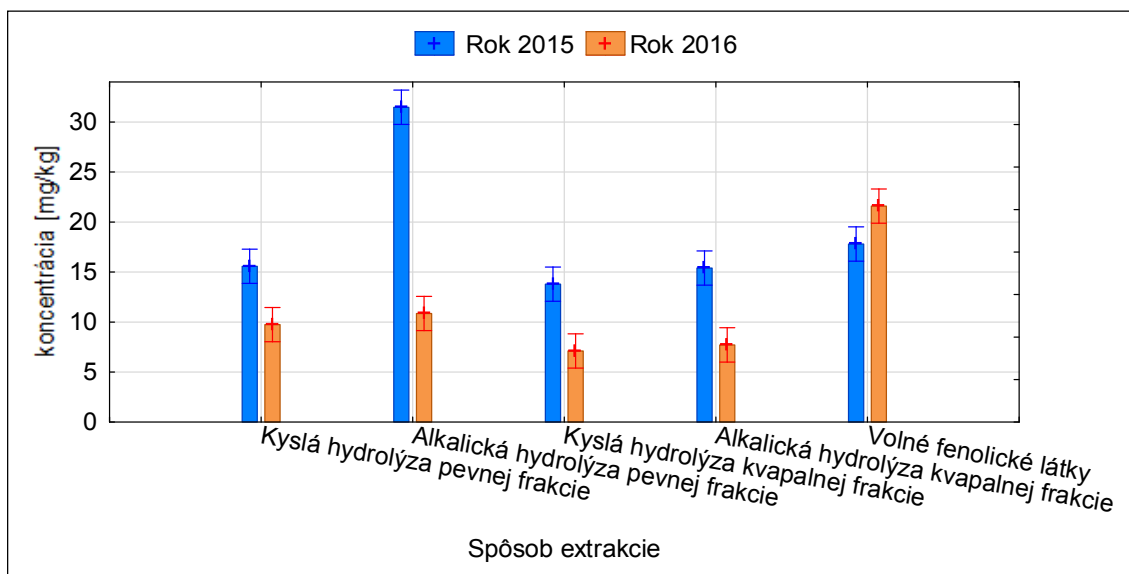


**Graf 5:** Priemerný obsah rutínu vo vzorkách skorocelu kopijovitého zistený rôznymi spôsobmi extrakcie v rokoch sledovania 2015 a 2016

V roku 2015 bol zistený obsah významnej zložky skorocelu kopijovitého – rutínu mnohonásobne vyšší, oproti roku 2016, kedy štatisticky preukázateľne najvyšší obsah rutínu bol zistený pomocou alkalickou hydrolyzou pevnej frakcie – 509,42 mg/kg. Vyšší obsah rutínu bol však zistený v roku 2015 pomocou extrakcie voľných fenolických látok – 189,32 mg/kg (graf 5, tab. 3).

Celkový obsah rutínu v skoroceli v roku 2015 bol 752,43 mg/kg, z toho obsah voľného rutínu činí 25,16 % a v roku 2016 bol celkový obsah 130,51 mg/kg, z toho obsah voľného rutínu činí 11,17 %.

## Kvercetín



**Graf 6:** Priemerný obsah kvercetínu vo vzorkách skorocelu kopijovitého zistený rôznymi spôsobmi extrakcie v rokoch sledovania 2015 a 2016

Z grafu 6 (tab. 3.) je zrejmé, že medzi rôznymi spôsobmi extrakcie neboli tak výrazné rozdiely, v porovnaní s ostatnými sledovanými látkami, avšak boli zistené štatisticky preukázateľné rozdiely. Najvyšší obsah kvercetínu bol zistený v roku 2015 pomocou alkalického hydrolyzy pevnej frakcie (31,48 mg/kg). V roku 2016 bol obsah kvercetínu štatisticky preukázateľne najvyšší pomocou extrakcie voľných fenolických látok (21,60 mg/kg).

Celkový obsah kvercetínu v skoroceli v roku 2015 bol 94,06 mg/kg, z toho obsah voľného kvercetínu činí 18,92 % a v roku 2016 bol celkový obsah 57,02 mg/kg, z toho obsah voľného kvercetínu činí 37,88 %.

## 5.2 Obsah fenolických látok v nechtíku lekárskom (*Calendula officinalis* L.)

Vo vzorkách nechtíka lekárskeho z rokov pestovania 2015 a 2016 je z analýzy variancie (tab. 4) zrejmé, že ročník ovplyvňoval zo sledovaných fenolických látok štatisticky veľmi vysoko preukázateľne obsah kyseliny kávovej a izokvercitrínu. Vysoko preukázateľný vplyv ročníku bol zistený na obsahu kyseliny chlorogénovej, kyseliny kumarovej, kvercetínu a kempferolu. Ostatné sledované fenolické látky neboli ročníkom štatisticky preukázateľne ovplyvnené. Z tabuľky 6 je tiež zrejmé, že spôsob extrakcie ovplyvnil vybrané fenolické látky veľmi vysoko preukázateľne, ako kyselinu chlorogénovú, kyselinu kávovú, kyselinu kumarovú, rutín, hyperozid a izokvercitrín. Obsah kvercetínu a kempferolu neboli spôsobom extrakcie štatisticky preukázateľne ovplyvnené. Vzájomná interakcia oboch sledovaných faktorov ovplyvnila veľmi vysoko preukázateľne obsah kyseliny chlorogénovej, kyseliny kávovej, rutínu a izokvercitrínu. Štatisticky vysoko preukázateľne ovplyvnila vzájomná interakcia oboch sledovaných faktorov obsah kyseliny kumarovej, preukázateľne obsah kempferolu a štatisticky preukázateľne neovplyvnila obsah hyperozidu a kvercetínu.

**Tabuľka 4:** Analýza variancie pre obsah vybraných fenolických látok vo vzorkách nechtíka lekárskeho, odlišnými spôsobmi extrakcie, sledovaných v rokoch 2015 a 2016.

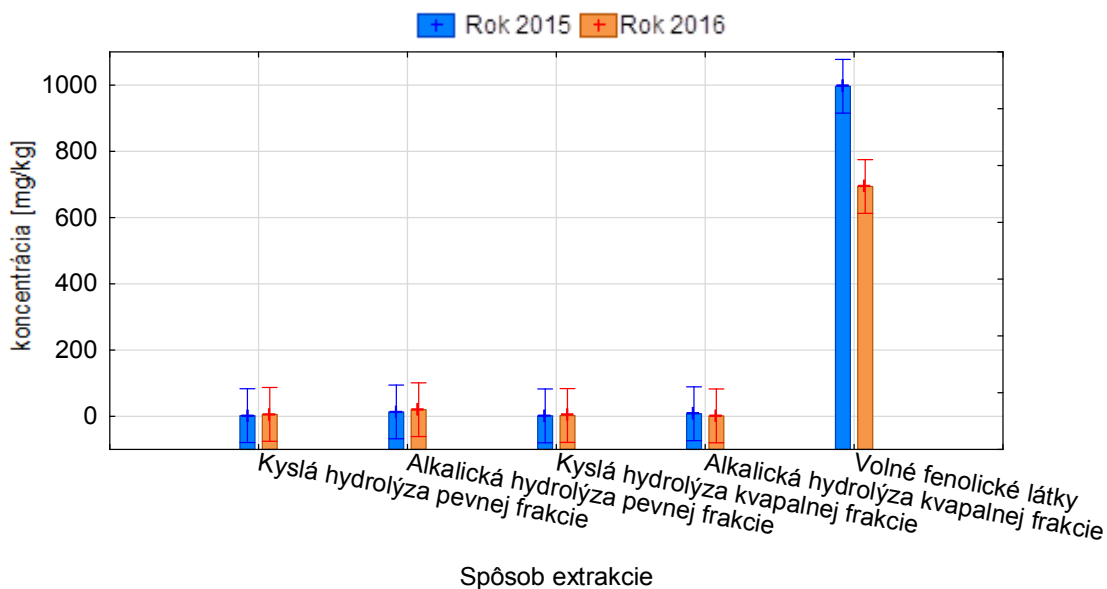
zdroj premenlivosti	n-1	kys. chlorogénová	kys. kávová	kys. kumarová	rutín	hyperozid	izokvercitrín	kvercetín	kempferol
		PČ							
rok	1	35423**	104251***	108,999**	21,16	271,0	1904,46***	157,04**	0,122103**
spôsob extrakcie	4	1124434***	1304859***	1494,375***	4510,94***	31800,1***	4466,78***	11,45	0,031311
rok * spôsob extrakcie	4	36982***	70879***	90,076**	55,02***	218,9	602,31***	6,70	0,032831*
chyba	30	6319	6575	16,623	7,88	190,2	20,11	14,8155	0,011678

Pozn.: \* -  $p \leq 0,05$ ; \*\* -  $p \leq 0,01$ ; \*\*\* -  $p \leq 0,001$

**Tabuľka 5:** Priemerný obsah [mg/kg] vybraných fenolických látok vo vzorkách nechtíku lekárskeho odlišnými spôsobmi extrakcie v sledovaných rokoch 2015 a 2016

rok	spôsob extrakcie	kys. chlorogeo- nová	kys. kávová	kys. kumarová	rutín	hyperozid	izokvercitrín	kvercetin	kempferol
2015	Kyslá hydrolýza pevnej frakcie	2,22 a	52,73 a	0,86 a	1,19 ab	18,61 a	11,62 b	7,58 c	0,10 ab
	Alkalická hydrolýza pevnej frakcie	13,43 a	774,04 c	24,55 b	17,20 d	58,65 b	34,20 d	4,08 abc	0,00 a
	Kyslá hydrolýza kvapalnej frakcie	1,56 a	2,18 a	0,00 a	2,54 abc	21,06 a	17,13 b	3,70 abc	0,26 c
	Alkalická hydrolýza kvapalnej frakcie	7,95 a	280,38 b	4,29 a	4,92 bc	60,30 b	11,03 b	3,56 abc	0,23 bc
	Voľné fenolické látky	996,44 c	22,32 a	0,00 a	52,37 e	184,10 d	50,88 e	5,78 bc	0,00 a
2016	Kyslá hydrolýza pevnej frakcie	6,02 a	173,89 b	4,25 a	0,71 a	27,18 a	35,37 d	0,44 ab	0,05 a
	Alkalická hydrolýza pevnej frakcie	20,21 a	1189,20 d	39,29 c	13,98 d	56,65 b	39,44 d	1,41 ab	0,00 a
	Kyslá hydrolýza kvapalnej frakcie	2,52 a	40,68 a	0,14 a	2,47 abc	17,77 a	25,77 c	0,01 a	0,00 a
	Alkalická hydrolýza kvapalnej frakcie	1,43 a	207,66 b	1,93 a	5,50 c	50,91 b	4,38 a	0,05 a	0,00 a
	Voľné fenolické látky	693,83 b	30,74 a	0,61 a	62,84 f	164,18 c	88,91 f	2,98 abc	0,00 a

## Kyselina chlorogénová



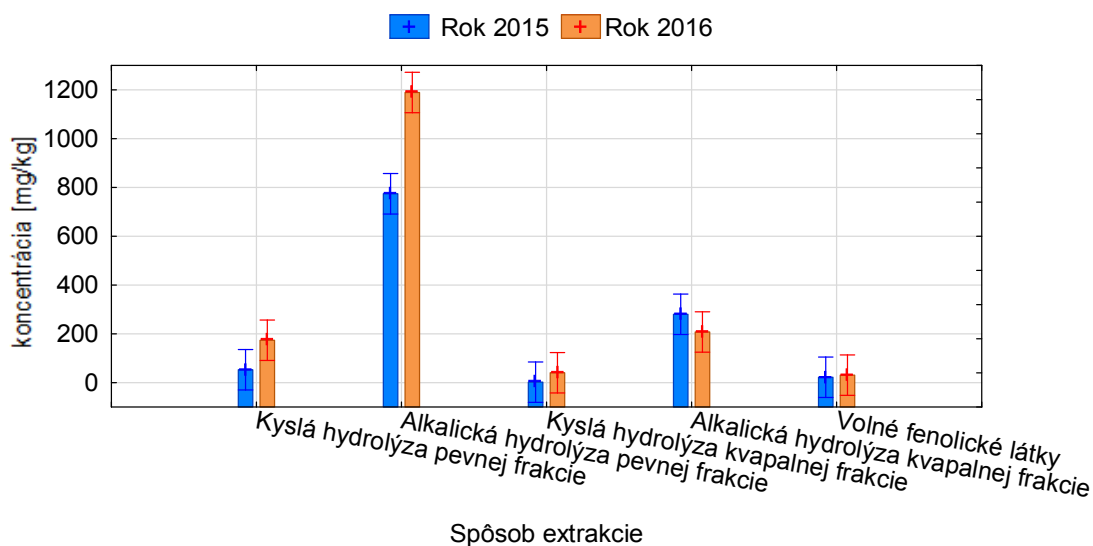
**Graf 7:** Priemerný obsah kyseliny chlorogénovej vo vzorkách nechtíku lekárskeho zistený rôznymi spôsobmi extrakcie v rokoch sledovania 2015 a 2016

Z grafu 7 (tab.5) vyplýva, že štatisticky preukázateľne najvýznamnejšou metódou získavania kyseliny chlorogénovej bola extrakcia voľných fenolických látok, kedy v ročníku 2015 bolo získaných 996,44 mg/kg a v roku 2016 bolo získaných 693,83 mg/kg sledovanej látky. Zvyšné metódy boli štatisticky nevýznamné, pretože sa vyextrahovalo minimálne množstvo.

Celkový obsah kyseliny chlorogénovej v nechtíku v roku 2015 bol 1021,6 mg/kg, z toho obsah voľnej kyseliny chlorogénovej činí 97,53 % a v roku 2016 bol celkový obsah 724,01 mg/kg, z toho obsah voľnej kyseliny chlorogénovej činí 95,83 %.



## Kyselina kávová

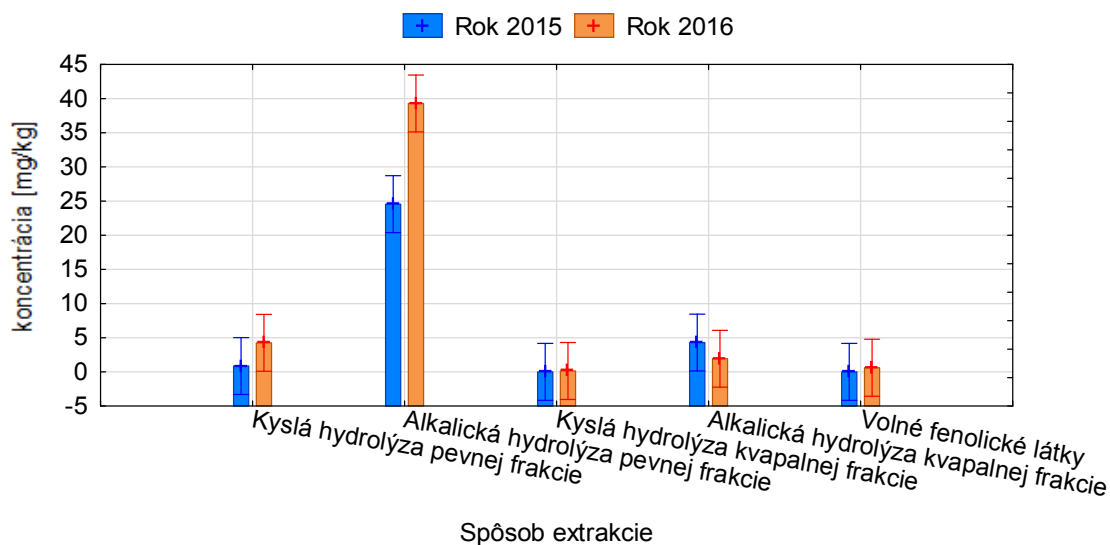


**Graf 8:** Priemerný obsah kyseliny kávovej vo vzorkách nechtíku lekárskeho zistený rôznymi spôsobmi extrakcie v rokoch sledovania 2015 a 2016

Z grafu 8 (tab. 5) je zrejmé, že štatisticky najpreukázateľnejšou metódou extrakcie je alkalická hydrolyza pevnej frakcie, kedy v roku 2016 bolo získaných 1189,20 mg/kg a v roku 2015 bolo získaných 774,04 mg/kg. Alkalickou hydrolyzou kvapalnej frakcie bolo získaných 280,38 mg/kg. Zvyšnými metódami bolo získané zanedbateľné množstvo kyseliny kávovej.

Celkový obsah kyseliny kávovej v nechtíku v roku 2015 bol 1131,65 mg/kg, z toho obsah kyseliny kávovej získanej pomocou alkalické hydrolyzy pevnej frakcie činí 68,39 % a v roku 2016 bol celkový obsah 1642,17 mg/kg, z toho obsah takto získanej kyseliny kávovej činí 72,41 %.

## Kyselina kumarová

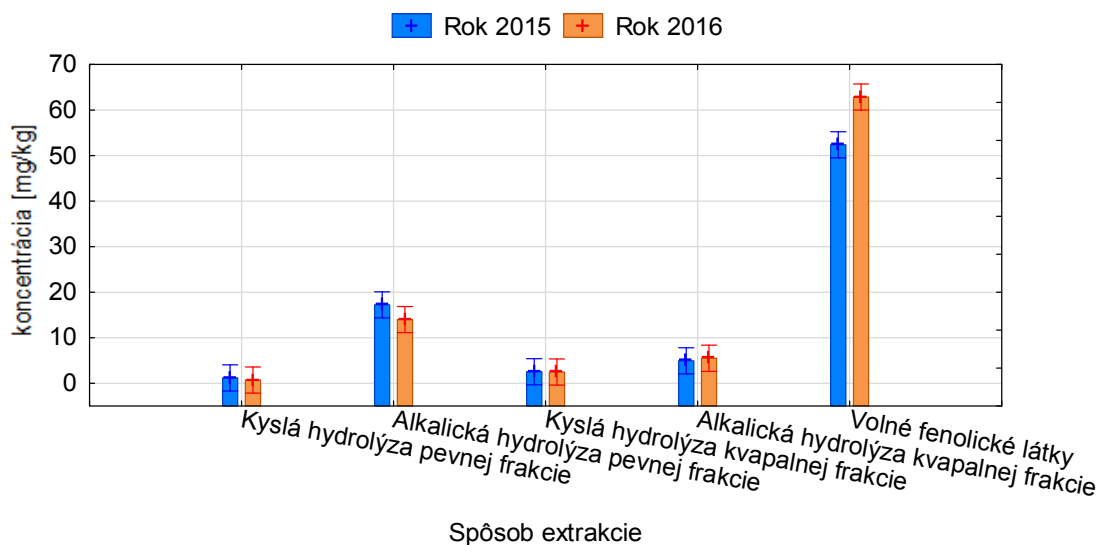


**Graf 9:** Priemerný obsah kyseliny kumarovej vo vzorkách nechtíku lekárskeho zistený rôznymi spôsobmi extrakcie v rokoch sledovania 2015 a 2016

Pre sledovaný analyt, kyselinu kumarovú, ako uvádza graf 9 (tab. 5), je štatisticky veľmi vysoko preukázateľne najvhodnejšou metódou získavania, podobne ako u kyseliny kávovej, alkalická hydrolýza pevnej frakcie, kedy v sledovaných rokoch 2016 bolo získaných 39,29 mg/kg a v 2015 to bolo 24,55 mg/kg.

Celkový obsah kyseliny kumarovej v nechtíku v roku 2015 bol 29,7 mg/kg, z toho obsah kyseliny kávovej získanej pomocou alkalickéj hydrolýzy pevnej frakcie činí 82,66 % a v roku 2016 bol celkový obsah 46,22 mg/kg, z toho obsah takto získanej kyseliny kumarovej činí 85,0 %.

## Rutín

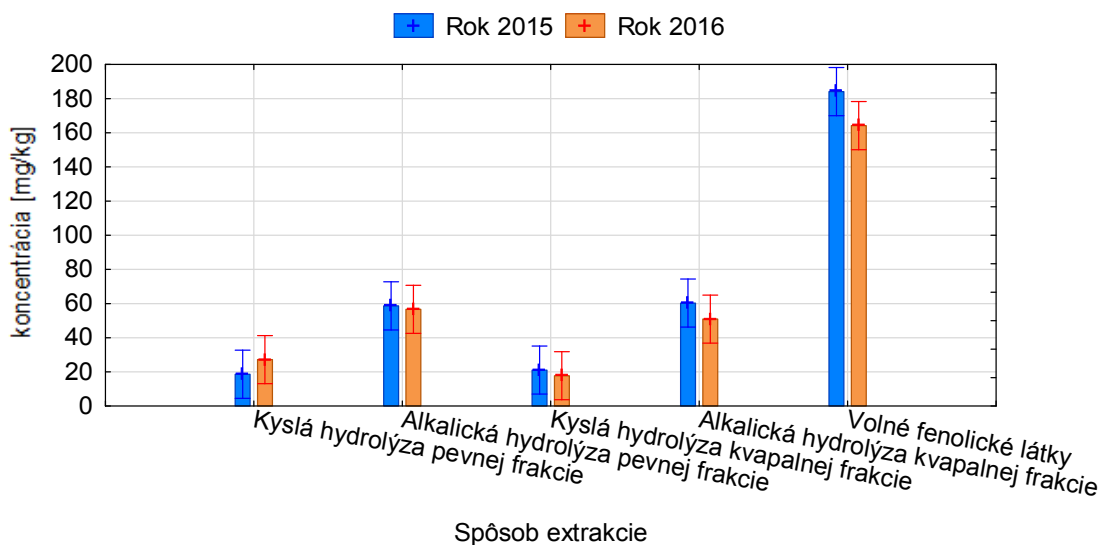


**Graf 10:** Priemerný obsah rutínu vo vzorkách nechtíku lekárskeho zistený rôznymi spôsobmi extrakcie v rokoch sledovania 2015 a 2016

Rutín bol sledovaný i u nechtíku lekárskeho, bol štatisticky najviac preukázateľne získaný metódou extrakcie voľných fenolických látok, kedy v roku 2016 bol jeho obsah 62,84 mg/kg a v roku 2015 bolo získaných 52,37 mg/kg (graf 10, tab. 5).

Celkový obsah rutínu v nechtíku v roku 2015 bol 78,22 mg/kg, z toho obsah voľného rutínu činí 66,95 % a v roku 2016 bol celkový obsah 85,5 mg/kg, z toho obsah voľného rutínu činí 73,49 %.

## Hyperozid

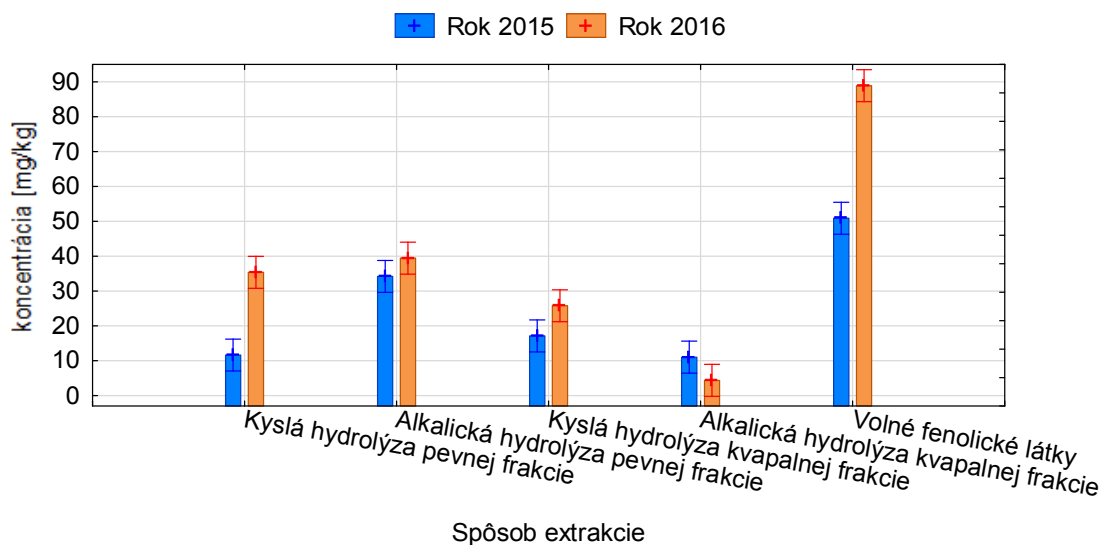


**Graf 11:** Priemerný obsah hyperozidu vo vzorkách nechtíku lekárskeho zistený rôznymi spôsobmi extrakcie v rokoch sledovania 2015 a 2016

Podobne ako u predchádzajúceho analytu rutínu, i ďalšia sledovaná látka – hyperozid, ktorého zistený obsah je štatisticky preukázateľne najvyšší v metóde získavania pomocou extrakcie voľných fenolických látok, kedy v roku 2015 bolo zistených 184,10 mg/kg a v roku 2016 bolo získaných 164,18 mg/kg (graf 11, tab. 5).

Celkový obsah hyperozidu v nechtíku v roku 2015 bol 342,72 mg/kg, z toho obsah voľného hyperozidu činí 53,72 % a v roku 2016 bol celkový obsah 316,69 mg/kg, z toho obsah voľného hyperozidu činí 51,84 %.

## Izokvercitrín

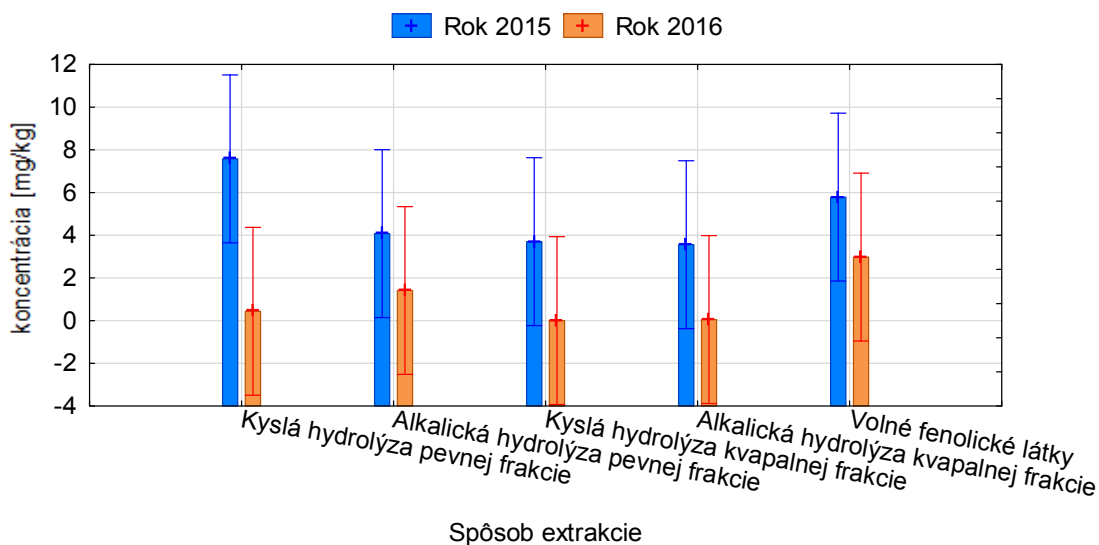


Graf 12: Priemerný obsah izokvercitrínu vo vzorkách nechtíku lekárskeho zistený rôznymi spôsobmi extrakcie v rokoch sledovania 2015 a 2016

Najvyšší obsah izokvercitrínu bol zistený v ročníku 2016, kedy sa pomocou metódy extrakcie voľných fenolických látok získalo 88,91 mg/kg a v roku 2015 sa získalo 50,88 mg/kg (graf 12, tab. 5).

Celkový obsah izokvercitrínu v nechtíku v roku 2015 bol 124,86 mg/kg, z toho obsah voľného izokvercitrínu činí 40,75 % a v roku 2016 bol celkový obsah 139,87 mg/kg, z toho obsah voľného izokvercitrínu činí 45,86 %.

## Kvercetín

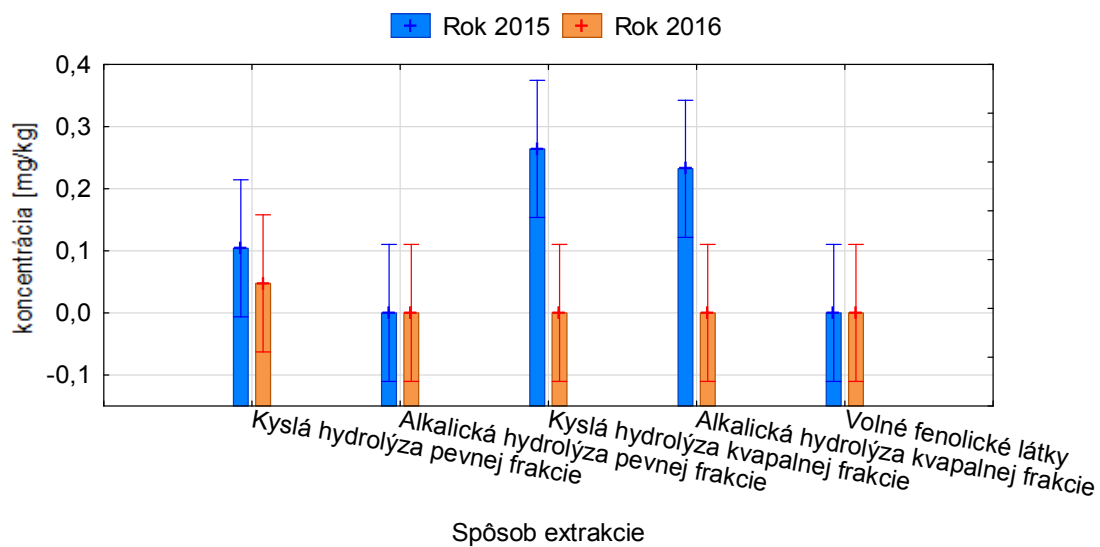


**Graf 13:** Priemerný obsah kvercetínu vo vzorkách nechtíku lekárskeho zistený rôznymi spôsobmi extrakcie v rokoch sledovania 2015 a 2016

Sledovaný analyt kvercetín je špecifický tým, že štatisticky nie je preukázateľný vplyv medzi spôsobom extrakcie a jeho obsahom, čo vyplýva i z grafu 13 (tab. 5). Z výsledkov extrakcie voľných fenolických látok, čo je metóda s najprístupnejšími fenolickými látkami, čo sa týka získavania fenolických látok z matrice, vyplýva, že v roku 2015 bolo získaných 5,78 mg/kg a v roku 2016 bolo získaných 2,98 mg/kg, avšak najvyšší obsah bol zistený pomocou kyslej hydrolýzy pevnej frakcie, kedy bolo získaných 7,58 mg/kg kvercetínu.

Celkový obsah kvercetínu v nechtíku v roku 2015 bol 24,7 mg/kg, z toho obsah voľného kvercetínu činí 23,40 % a v roku 2016 bol celkový obsah 4,89 mg/kg, z toho obsah voľného kvercetínu činí 60,94 %.

## Kempferol



**Graf 14:** Priemerný obsah kempferolu vo vzorkách nechtíka lekárskeho zistený rôznymi spôsobmi extrakcie v rokoch sledovania 2015 a 2016

Z grafu 14 (tab. 5) vyplýva, že v obsah získaného kempferolu v oboch ročníkoch je v množstve zanedbateľnom, nakoľko sa vo vzorkách nechtíku lekárskeho nachádza v stopových koncentráciách.

### 5.3 Obsah fenolických látok v lipe malolistej (*Tilia cordata* Mill.)

Vo vzorkách lipy malolistej bol zistený, podľa analýzy variancie (tab. 6) veľmi vysoko preukázateľný vplyv ročníku na obsah kyseliny chlorogénovej, rutínu, hyperozidu, tilirozidu a kempferolu. Ročníkom však štatisticky preukázateľné neboli ovplyvnené vybrané fenolické látky ako kyselina kávová, izokvercitrín alebo kvercetin. Štatisticky veľmi vysoko významný vplyv na všetky sledované fenolické látky lipy malolistej mal spôsob extrakcie. Podobne tomu bolo i u vzájomnej interakcii u oboch sledovaných faktorov, s výnimkou kyseliny kávovej a izokvercitrínu, ktoré boli interakciou ovplyvnené vysoko významne.

**Tabuľka 6:** Analýza variancie pre obsah vybraných fenolických látok vo vzorkách lipy malolistej, odlišnými spôsobmi extrakcie, sledovaných v rokoch 2015 a 2016.

zdroj premenlivosti	n-1	kys. chlorogénová	kys. kávová	rutin	hyperozid	izokvercitrín	tilirozid	kvercetin	kempferol
		PČ							
rok	1	6294,43***	38,37	205761,2***	41083,6***	894,0	10287,35***	87,56	39,40***
spôsob extrakcie	4	77472,75***	6016,80***	167257,8***	43916,8***	1046615***	59958,97***	5291,96***	65,11***
rok * spôsob extrakcie	4	7150,82***	155,41**	84817,5***	36247,3***	4951**	7202,79***	713,38***	67,83***
chyba	30	79,36	30,36	557,5	15,2	871,0	32,52	62,71	2,265

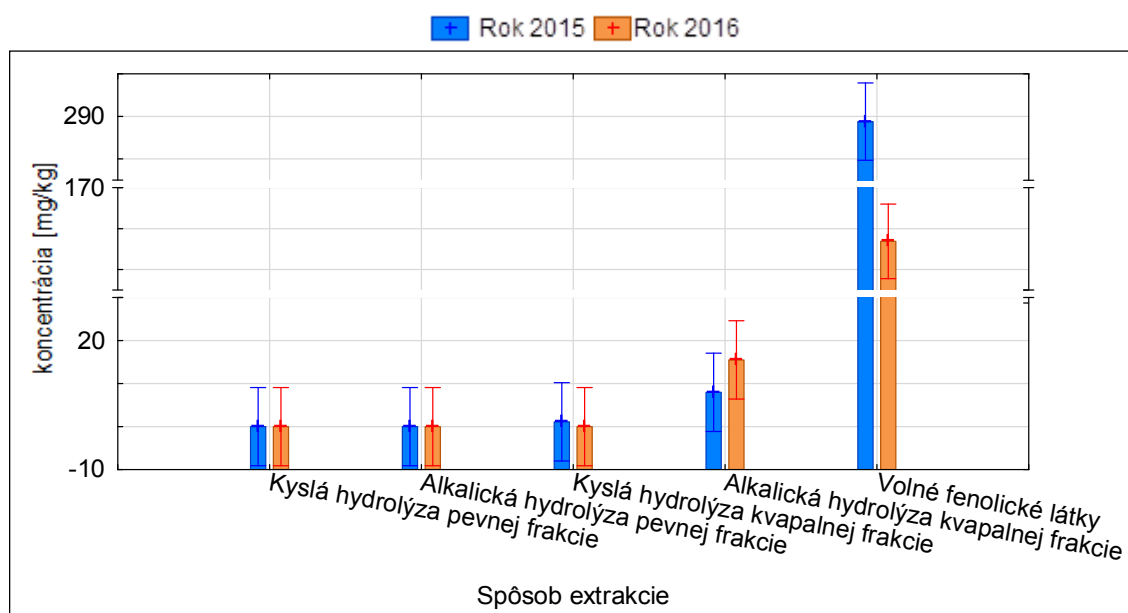
Pozn.: \* -  $p \leq 0,05$ ; \*\* -  $p \leq 0,01$ ; \*\*\* -  $p \leq 0,001$



**Tabuľka 7:** Priemerný obsah [mg/kg] vybraných fenolických látok vo vzorkách lipy malolistej odlišnými spôsobmi extrakcie v sledovaných rokoch 2015 a 2016

rok	spôsob extrakcie	kys. chlorogenová	kys. kávová	rutín	hyperozid	izokvercitrín	tilirozid	kvercetin	kempferol
2015	Kyslá hydrolýza pevnej frakcie	0,00 a	3,50 ab	3,32 a	2,87 a	17,54 a	0,00 a	7,81 a	3,92 b
	Alkalická hydrolýza pevnej frakcie	0,00 a	78,79 g	525,42 e	29,56 d	228,06 c	0,00 a	11,50 a	0,00 a
	Kyslá hydrolýza kvapalnej frakcie	1,11 a	2,87 a	8,35 a	3,33 a	22,30 a	0,00 a	14,30 a	7,19 c
	Alkalická hydrolýza kvapalnej frakcie	7,97 ab	15,95 cd	32,65 ab	11,73 b	90,45 b	0,00 a	6,45 a	4,44 b
	Voľné fenolické látky	288,77 d	25,24 e	386,73 d	72,43 f	920,96 e	126,82 c	86,70 d	10,04 e
2016	Kyslá hydrolýza pevnej frakcie	0,00 a	10,83 bc	30,26 ab	23,24 c	97,58 b	3,80 a	11,20 a	6,63 c
	Alkalická hydrolýza pevnej frakcie	0,00 a	63,39 f	122,68 c	333,30 g	234,73 c	17,97 b	26,53 b	11,31 e
	Kyslá hydrolýza kvapalnej frakcie	0,00 a	1,75 a	6,11 a	2,16 a	19,24 a	0,00 a	12,31 a	7,73 cd
	Alkalická hydrolýza kvapalnej frakcie	15,51 b	19,99 de	24,39 ab	23,81 c	112,43 b	0,00 a	10,09 a	0,00 a
	Voľné fenolické látky	156,90 c	20,59 de	55,81 b	57,89 e	862,59 d	265,43 d	51,83 c	9,84 de

## Kyselina chlorogénová

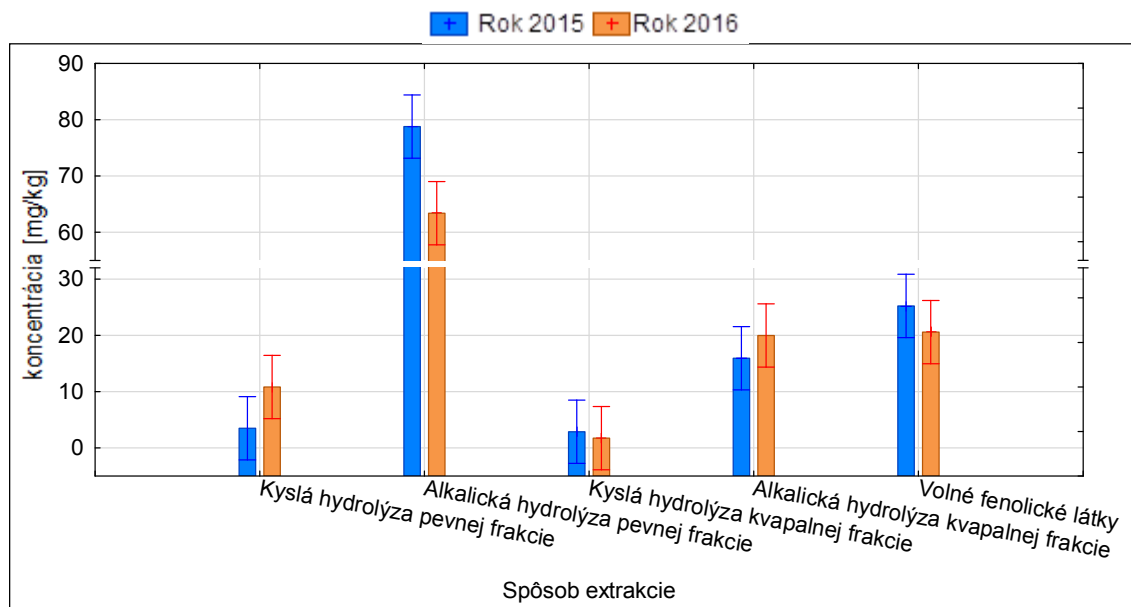


**Graf 15:** Priemerný obsah kyseliny chlorogénovej vo vzorkách lipy malolistej zistený rôznymi spôsobmi extrakcie v rokoch sledovania 2015 a 2016

Vo vzorkách lipy malolistej bol sledovaný obsah kyseliny chlorogénovej, ktorý bol štatisticky najvyššie preukázateľný v oboch rokoch sledovania pomocou extrakcie voľných fenolických látok, kedy v roku 2015 bolo získaných 288,77 mg/kg a v roku 2016, nižšie množstvo, 156,90 mg/kg (graf 15, tab. 7).

Celkový obsah kyseliny chlorogénovej v lipy v roku 2015 bol 297,85 mg/kg, z toho obsah voľnej kyseliny chlorogénovej činí 96,95 % a v roku 2016 bol celkový obsah 172,41 mg/kg, z toho obsah voľnej kyseliny chlorogénovej činí 91,00 %.

## Kyselina kávová

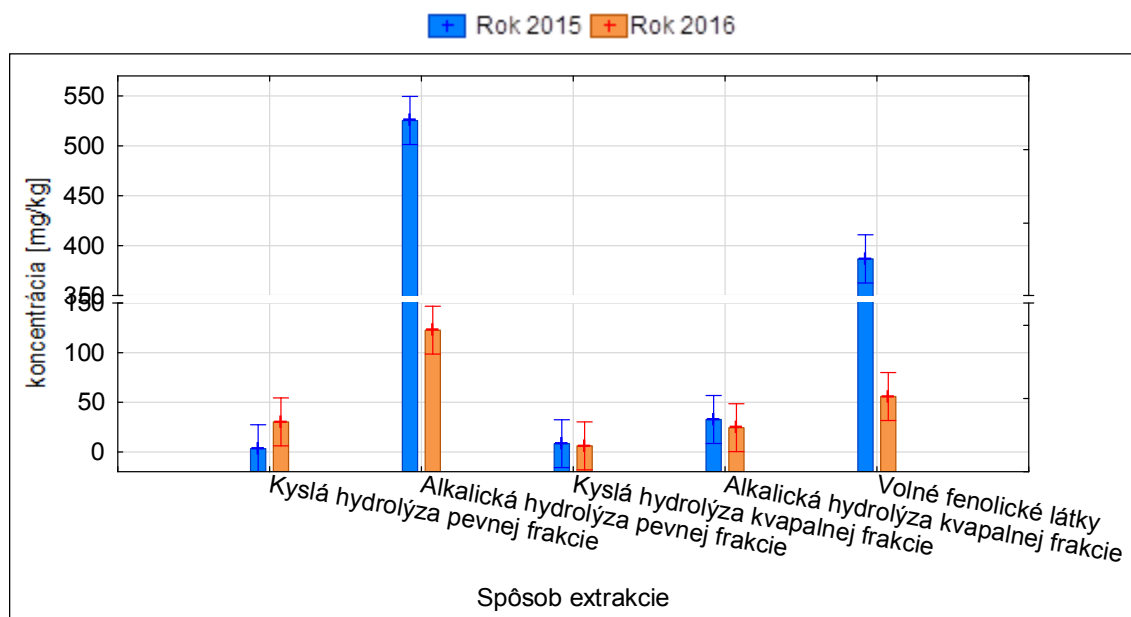


**Graf 16:** Priemerný obsah kyseliny kávovej vo vzorkách lipy malolistej zistený rôznymi spôsobmi extrakcie v rokoch sledovania 2015 a 2016

Z grafu 16 (tab. 7) je zrejmé, že obsah kyseliny kávovej bol zistený v oboch rokoch sledovania štatisticky preukázateľný najvyšší spôsob extrakcie alkalickou hydrolyzou pevnej frakcie, kedy v roku 2015 bolo získaných 78,79 mg/kg a v roku 2016 bolo získaných 63,39 mg/kg.

Celkový obsah kyseliny kávovej v lipy v roku 2015 bol 126,35 mg/kg, z toho obsah kyseliny kávovej získanej pomocou alkalického hydrolyzy pevnej frakcie činí 62,35 % a v roku 2016 bol celkový obsah 116,55 mg/kg, z toho obsah takto získanej kyseliny kávovej činí 54,38 %.

## Rutín

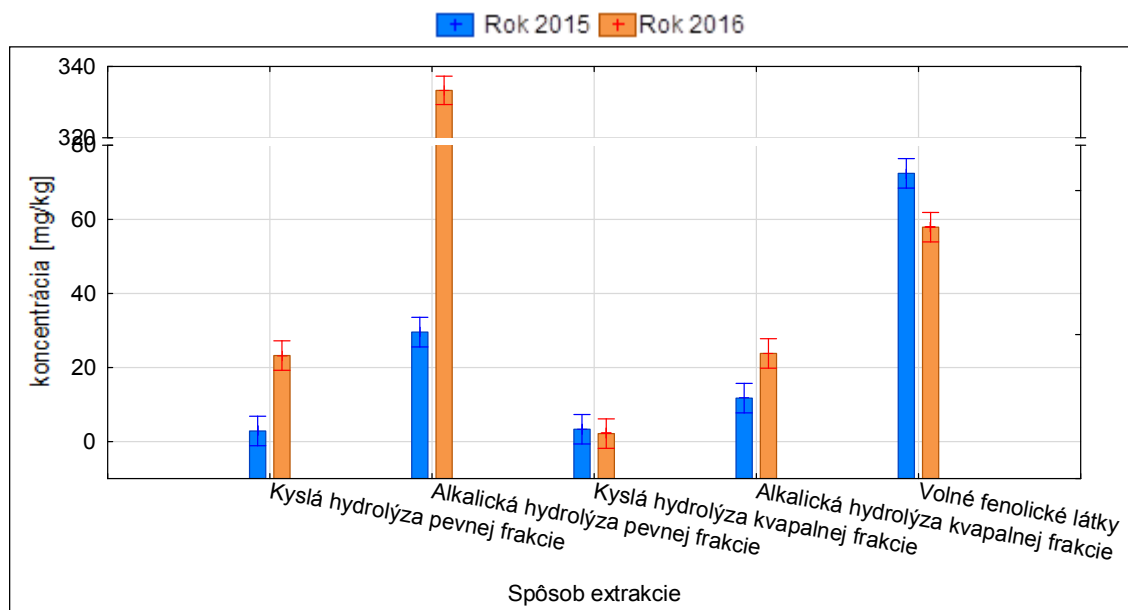


**Graf 17:** Priemerný obsah rutínu vo vzorkách lipy malolistej zistený rôznymi spôsobmi extrakcie v rokoch sledovania 2015 a 2016

Alkalická hydrolyza pevnej frakcie bola zistená ako štatisticky preukázateľne najlepší spôsob extrakcie pre stanovenie obsah rutínu, kedy v roku 2015 bolo získaných 525,42 mg/kg a v roku 2016 bol obsah rutínu zistený, v porovnaní s rokom 2015, vyšší i pomocou extrakcie voľných fenolických látok, kedy bolo získaných 386,73 mg/kg. Z grafu 17 (tab. 7) je zrejmé, že obsah rutínu v roku 2016 bol štatisticky preukázateľne nižší oproti roku 2015.

Celkový obsah rutínu v lipy v roku 2015 bol 956,47 mg/kg, z toho obsah voľného rutínu činí 40,43 % a v roku 2016 bol celkový obsah 239,25 mg/kg, z toho obsah voľného rutínu činí 23,32 %.

## Hyperozid

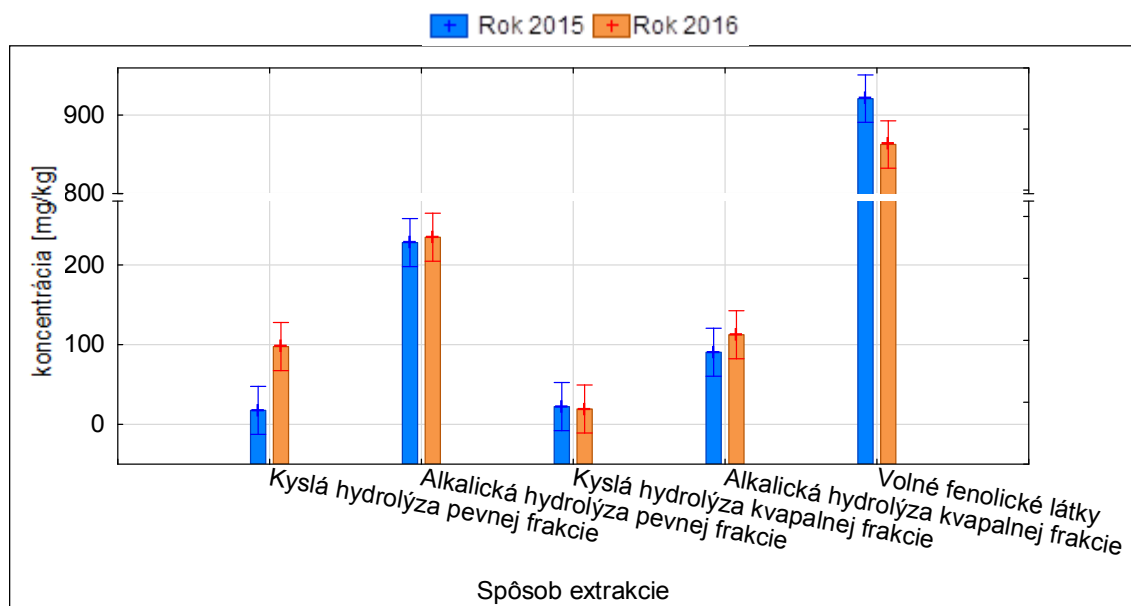


**Graf 18:** Priemerný obsah hyperozidu vo vzorkách lipy malolistej zistený rôznymi spôsobmi extrakcie v rokoch sledovania 2015 a 2016

Štatisticky preukázateľne najvyšší obsah hyperozidu bol zistený v roku 2016 metódou alkalického hydrolyzy pevnej frakcie, kedy bolo získaných 333,30 mg/kg, zatiaľ čo v roku 2015 bolo touto cestou získaných 29,56 mg/kg. Naopak v roku 2015 bol vyšší obsah hyperozidu získaný pomocou extrakcie voľných fenolických látok, kedy v roku 2015 bolo získaných 72,43 mg/kg a v roku 2016 to bolo 57,89 mg/kg (graf 18, tab. 7).

Celkový obsah hyperozidu v lipy v roku 2015 bol 119,92 mg/kg, z toho obsah voľného hyperozidu činí 60,39 % a v roku 2016 bol celkový obsah 440,4 mg/kg, z toho obsah voľného hyperozidu činí 13,14 %.

## Izokvercitrín

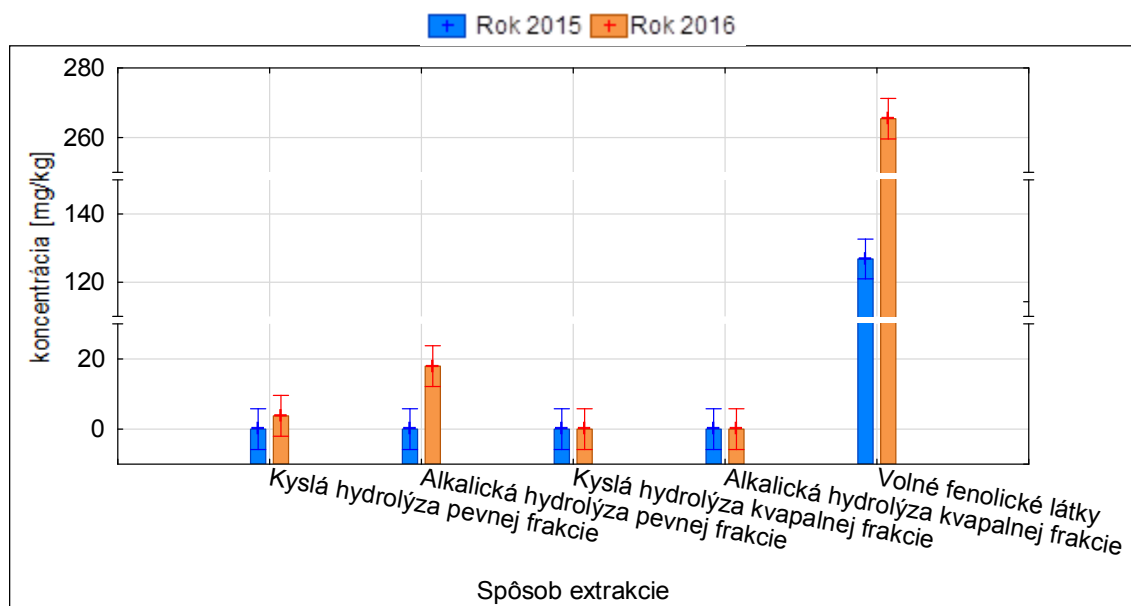


**Graf 19:** Priemerný obsah izokvercitrínu vo vzorkách lipy malolistej zistený rôznymi spôsobmi extrakcie v rokoch sledovania 2015 a 2016

Z grafu 19 (tab. 7) vyplýva, že štatisticky najvyšší obsah izokvercitrínu bol zistený v roku 2015, kedy bolo získaných 920,96 mg/kg, zatiaľ čo v roku 2016 bolo získaných 862,59 mg/kg, kedy sa ukázala ako najvhodnejšia metóda získania izokvercitrínu extrakcia voľných fenolických látok. Štatisticky vysoký obsah izokvercitrínu bol zistený i metódou extrakcie pomocou alkalického hydrolyzy pevnej frakcie, kedy bolo v roku 2015 získaných 228,06 mg/kg a v roku 2016 to bolo 234,73 mg/kg.

Celkový obsah izokvercitrínu v lipě v roku 2015 bol 1279,31 mg/kg, z toho obsah voľného izokvercitrínu činí 71,98 % a v roku 2016 bol celkový obsah 1326,57 mg/kg, z toho obsah voľného izokvercitrínu činí 65,02 %.

## Tilirozid

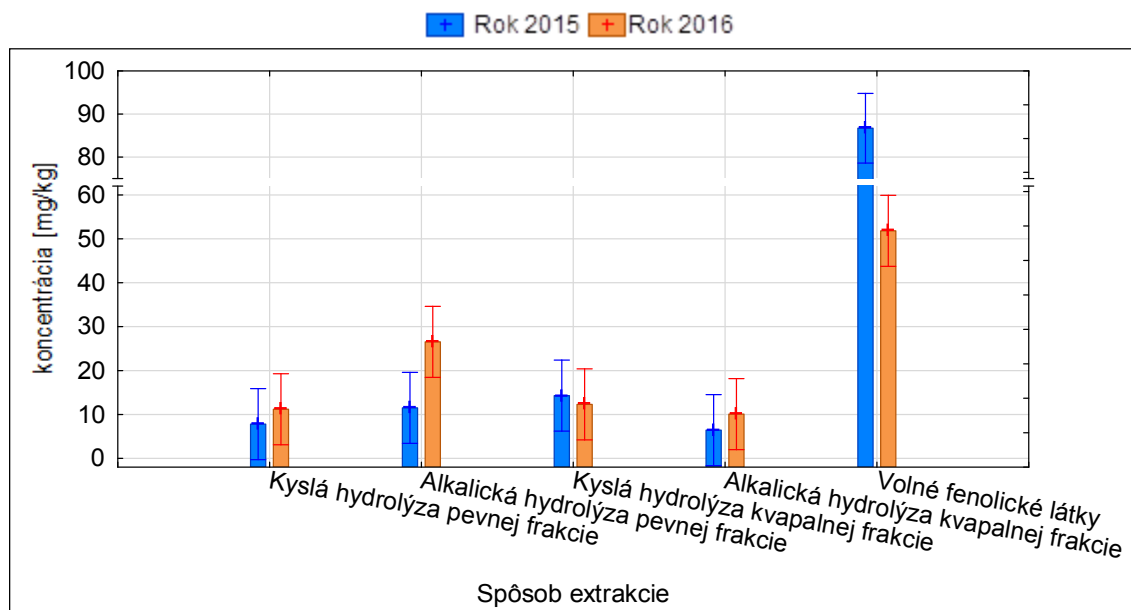


**Graf 20:** Priemerný obsah tilirozidu vo vzorkách lipy malolistej zistený rôznymi spôsobmi extrakcie v rokoch sledovania 2015 a 2016

Tilirozid, ako jedna z účinných látok lipy malolistej, ktorej obsah bol štatisticky veľmi vysoko významne preukázateľný pomocou extrakcie voľných fenolických látok, kedy v roku 2016 bolo zistených 265,43 mg/kg a v roku 2015 to bolo takmer polovičné množstvo, kedy bolo zistených 126,82 mg/kg (graf 20, tab. 7).

Celkový obsah tilirozidu v lipy v roku 2015 bol 126,82 mg/kg, z toho obsah voľného tilirozidu činí 100 % a v roku 2016 bol celkový obsah 287,2 mg/kg, z toho obsah voľného tilirozidu činí 92,42 %.

## Kvercetín



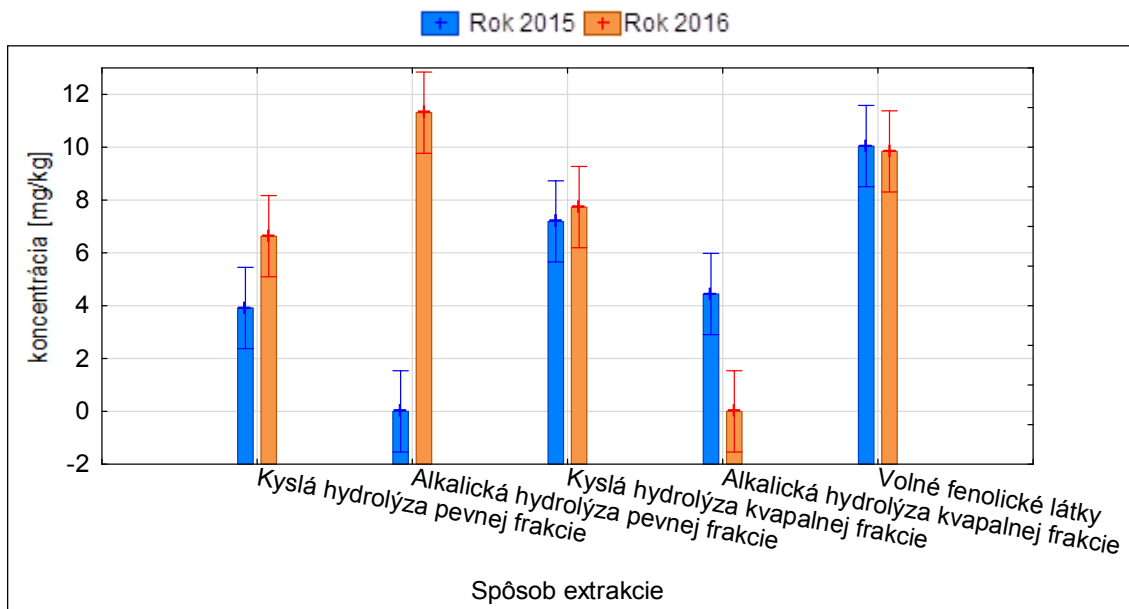
**Graf 21:** Priemerný obsah kvercetínu vo vzorkách lipy malolistej zistený rôznymi spôsobmi extrakcie v rokoch sledovania 2015 a 2016

Z grafu 21 (tab. 7) vyplýva, že štatisticky veľmi vysoko preukázateľný je typ extrakcie voľných fenolických látok na obsah kvercetínu. V roku 2015 bolo 86,70 mg/kg a v roku 2016 bolo získaných touto cestou 51,83 mg/kg.

Celkový obsah kvercetínu v lipy v roku 2015 bol 126,76 mg/kg, z toho obsah voľného kvercetínu činí 68,39 % a v roku 2016 bol celkový obsah 111,96 mg/kg, z toho obsah voľného kvercetínu činí 46,29 %.



## Kempferol



Graf 22: Priemerný obsah kempferolu vo vzorkách lipy malolistej zistený rôznymi spôsobmi extrakcie v rokoch sledovania 2015 a 2016

Z grafu 22 (tab. 7) je zrejmé, že v ročníku 2016 je štatisticky veľmi vysoko preukázateľný vplyv na obsah kempferolu metóda alkalické hydrolyzy pevnej frakcie, kedy bolo získaných 11,31 mg/kg. Extrakciou voľných fenolických látok bolo v oboch ročníkoch získané takmer identické množstvo sledovanej látky.

Celkový obsah kempferolu v lipe v roku 2015 bol 25,59 mg/kg, z toho obsah voľného kempferolu činí 39,23 % a v roku 2016 bol celkový obsah 35,51 mg/kg, z toho obsah voľného kempferolu činí 27,71 %.

## 5.4 Obsah fenolických látok v baze čiernej (*Sambucus nigra* L.)

Vo vzorkách bazy čiernej z rokov pestovania 2015 a 2016 je z analýzy variance (tab. 8) zrejmé, že ročník ovplyvňoval všetky sledované fenolické látky štatisticky veľmi vysoko preukázateľne. Spôsob extrakcie ovplyvnil taktiež všetky sledované fenolické látky štatisticky veľmi vysoko preukázateľne. Vzájomná interakcia oboch sledovaných faktorov ovplyvnila štatisticky veľmi vysoko preukázateľne všetky sledované fenolické látky.

**Tabuľka 8:** Analýza variance pre obsah vybraných fenolických látok vo vzorkách bazy čiernej, odlišnými spôsobmi extrakcie, sledovaných v rokoch 2015 a 2016.

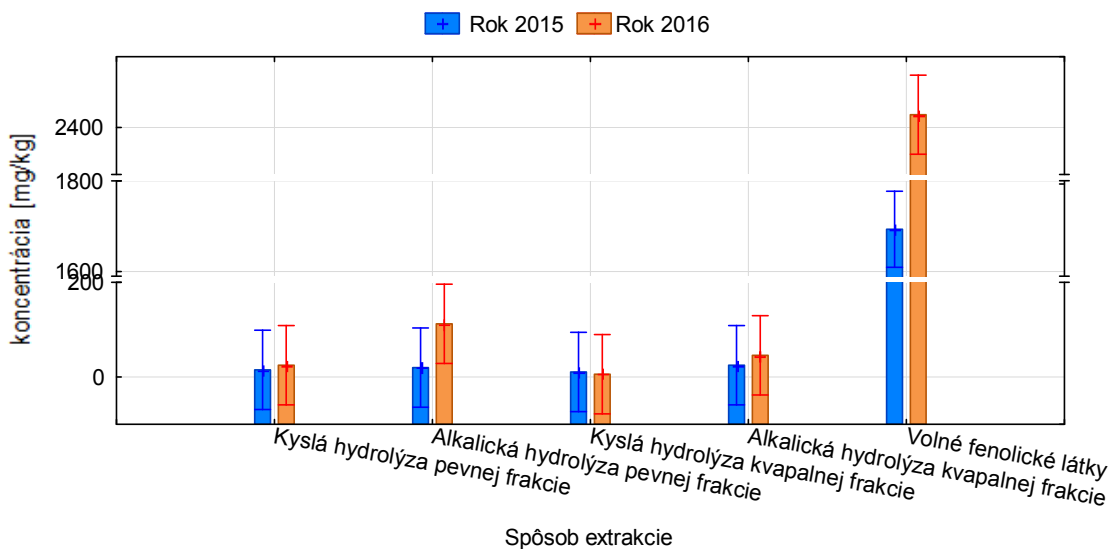
zdroj premenlivosti	n-1	kys. chlorogénová	kys. kávová	rutín	hyperozid	izokvercitrín	kvercetrín	kempferol
		PČ						
rok	1	290364***	222097***	249901***	2204,22***	108367,5***	234,740***	105,67***
spôsob extrakcie	4	6582076***	1437479***	1052070***	413,79***	79323,9***	24,653***	0,40***
rok * spôsob extrakcie	4	201083***	97306***	210115***	508,53***	25006,4***	41,235***	0,52***
chyba	30	6732	3166	5526	9,976	512,4	0,796	0,1080

Pozn.: \* -  $p \leq 0,05$ ; \*\* -  $p \leq 0,01$ ; \*\*\* -  $p \leq 0,001$

**Tabuľka 9:** Priemerný obsah [mg/kg] vybraných fenolických látok vo vzorkách nechtíka lekárskeho odlišnými spôsobmi extrakcie v sledovaných rokoch 2015 a 2016

rok	spôsob extrakcie	kys. chlorogénová	kys. kávová	rutín	hyperozid	izokvercitrín	kvercetin	kempferol
2015	Kyslá hydrolýza pevnej frakcie	15,11 a	63,34 a	55,52 a	8,56 b	34,55 ab	15,00 f	5,73 d
	Alkalická hydrolýza pevnej frakcie	19,92 a	784,84 d	106,27 ab	43,60 d	88,69 c	8,16 cde	5,79 d
	Kyslá hydrolýza kvapalnej frakcie	10,63 a	8,49 a	98,86 ab	9,62 b	16,70 a	8,95 e	5,79 d
	Alkalická hydrolýza kvapalnej frakcie	24,95 a	395,03 c	170,87 bc	16,99 c	56,32 bc	6,89 bc	5,80 d
	Voľné fenolické látky	1693,28 b	70,88 a	548,36 d	9,70 b	138,43 d	8,41 de	5,84 d
2016	Kyslá hydrolýza pevnej frakcie	24,91 a	258,69 b	51,65 a	1,57 a	69,23 c	2,60 a	3,05 c
	Alkalická hydrolýza pevnej frakcie	112,35 a	1293,05 e	103,40 ab	1,80 a	339,08 e	5,89 b	2,49 b
	Kyslá hydrolýza kvapalnej frakcie	5,93 a	35,37 a	83,66 ab	1,55 a	21,68 a	5,72 b	2,21 ab
	Alkalická hydrolýza kvapalnej frakcie	45,76 a	467,19 c	249,20 c	0,98 a	88,71 c	1,44 a	2,99 c
	Voľné fenolické látky	2426,94 c	13,43 a	1282,38 e	8,33 b	336,48 e	7,54 cd	1,96 a

## Kyselina chlorogénová

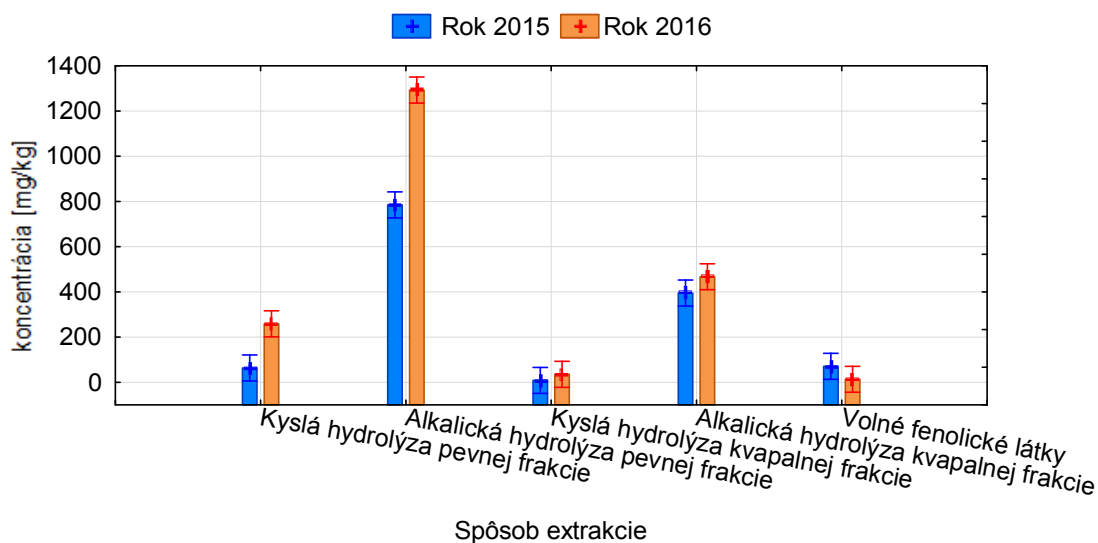


**Graf 23:** Priemerný obsah kyseliny chlorogénovej vo vzorkách bazy čiernej zistený rôznymi spôsobmi extrakcie v rokoch sledovania 2015 a 2016

Z grafu 23 (tab. 9) vyplýva, že štatisticky najviac preukázateľný je obsah kyseliny chlorogénovej získaný pomocou extrakcie voľných fenolických látok, kedy v ročníku 2016 bol zistený obsah 2426,94 mg/kg a v ročníku 2015 bol zistený obsah 1693,28 mg/kg.

Celkový obsah kyseliny chlorogénovej v baze v roku 2015 bol 1763,89 mg/kg, z toho obsah voľnej kyseliny chlorogénovej činí 95,99 % a v roku 2016 bol celkový obsah 2615,89 mg/kg, z toho obsah voľnej kyseliny chlorogénovej činí 92,77 %.

## Kyselina kávová

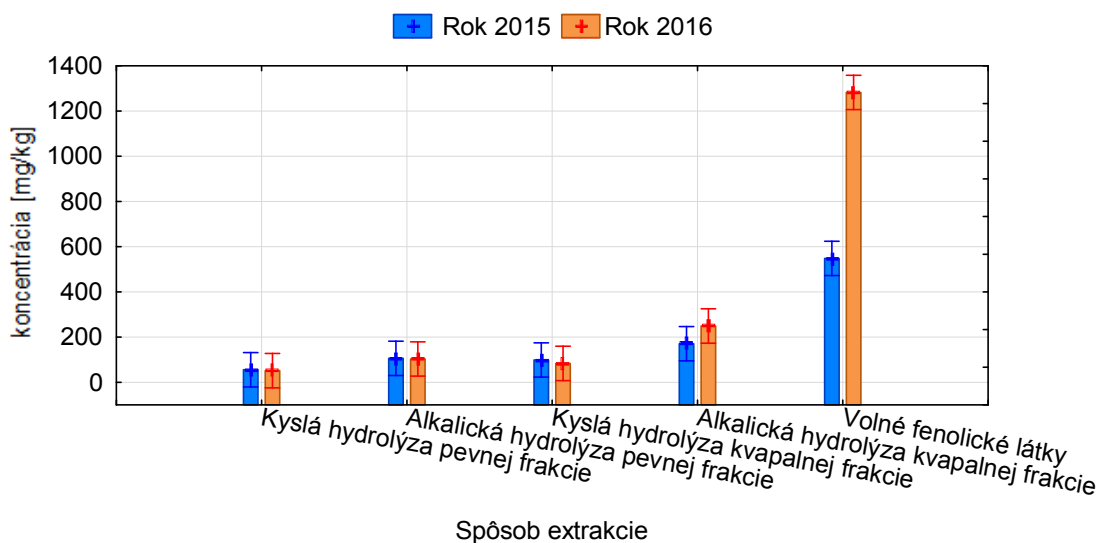


**Graf 24:** Priemerný obsah kyseliny kávovej vo vzorkách bazy čiernej zistený rôznymi spôsobmi extrakcie v rokoch sledovania 2015 a 2016

Pomocou metódy alkalickej hydrolyzy pevnej frakcie bol štatisticky preukázateľne najvyšší obsah kyseliny kávovej, kedy v ročníku 2016 bolo získaných 1293,05 mg/kg a v ročníku 2015 to bolo množstvo 784,84 mg/kg. V oboch ročníkoch sledovania bol štatisticky významný i obsah získaný pomocou alkalickej hydrolyzy kvapalnej frakcie, kedy sa obsah kyseliny kávovej v ročníkoch zásadne nemenil (graf 24, tab. 9).

Celkový obsah kyseliny kávovej v lipe v roku 2015 bol 1322,58 mg/kg, z toho obsah kyseliny kávovej získanej pomocou alkalickej hydrolyzy pevnej frakcie činí 59,34 % a v roku 2016 bol celkový obsah 2067,73 mg/kg, z toho obsah takto získanej kyseliny kávovej činí 62,53 %.

## Rutín

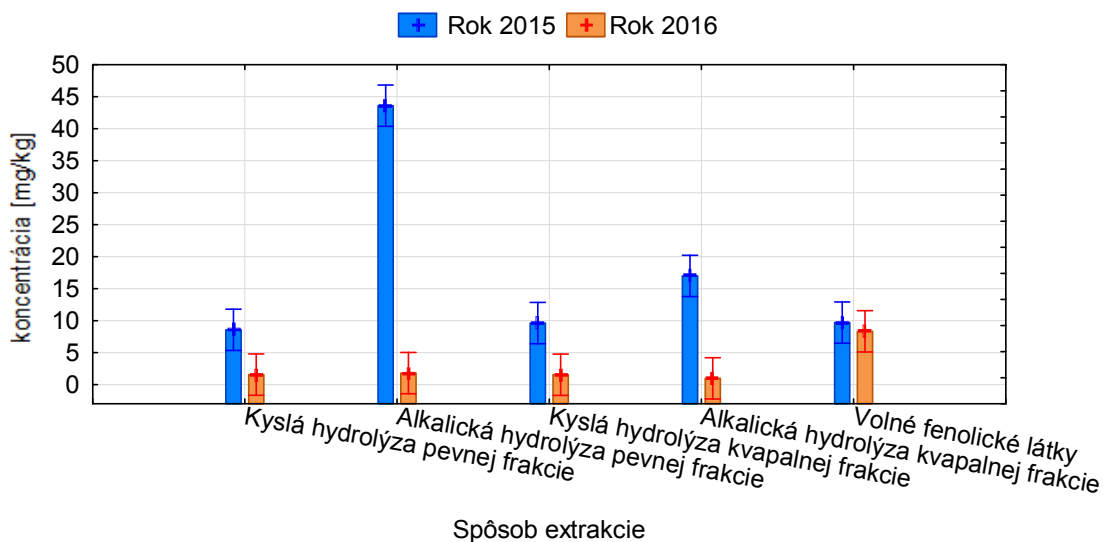


Graf 25: Priemerný obsah rutínu vo vzorkách bazy čiernej zistený rôznymi spôsobmi extrakcie v rokoch sledovania 2015 a 2016

Z grafu 25 (tab. 9) vyplýva, že sledovaný analyt rutín bol získaný pomocou štatisticky najvýznamnejšou metódou – extrakciou voľných fenolických látok, kedy v roku 2016 bolo získaných 1282,38 mg/kg, zatiaľ čo v roku 2015 to bolo 548,36 mg/kg. Ostatné metódy boli štatisticky nevýznamné.

Celkový obsah rutínu v baze v roku 2015 bol 979,88 mg/kg, z toho obsah voľného rutínu činí 55,96 % a v roku 2016 bol celkový obsah 1770,29 mg/kg, z toho obsah voľného rutínu činí 72,43 %.

## Hyperozid

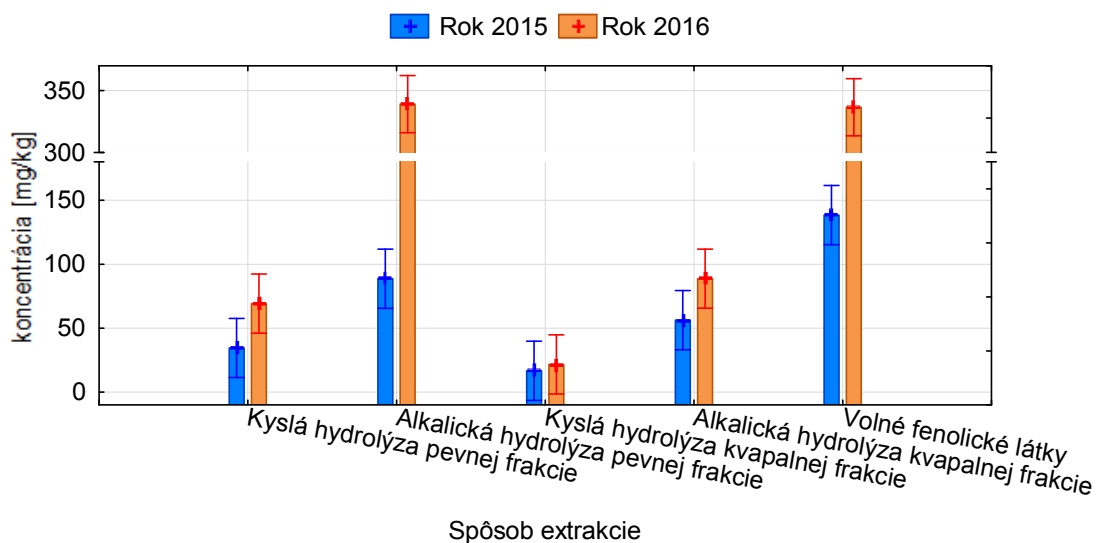


**Graf 26:** Priemerný obsah hyperozidu vo vzorkách bazy čiernej zistený rôznymi spôsobmi extrakcie v rokoch sledovania 2015 a 2016

Štatisticky najvýznamnejšou metódou získavania sledovaného hyperozidu je podľa grafu 26 (tab. 9), alkalická hydrolyza pevnej frakcie, ktorou sa v roku 2015 získalo 43,60 mg/kg a v roku 2016 to bolo 1,80 mg/kg. Alkalickou hydrolyzou kvapalnej frakcie sa v roku 2015 získalo 16,99 mg/kg. Extrakciou voľných fenolických látok bolo získané, v oboch ročníkoch, takmer identické množstvo hyperozidu.

Celkový obsah hyperozidu v baze v roku 2015 bol 88,47 mg/kg, z toho obsah voľného hyperozidu činí 10,96 % a v roku 2016 bol celkový obsah 14,23 mg/kg, z toho obsah voľného hyperozidu činí 58,53 %.

## Izokvercitrín



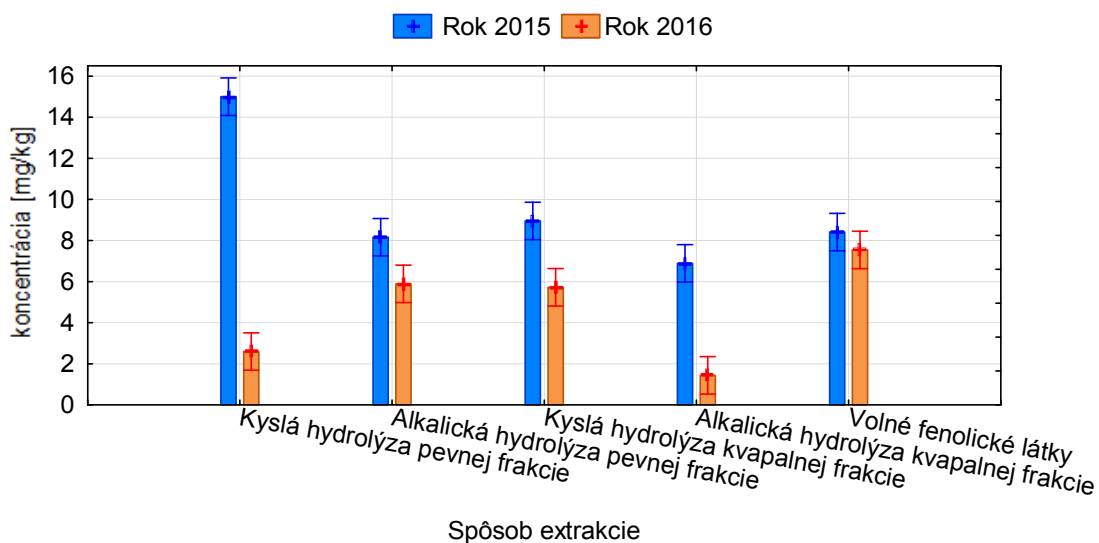
Graf 27: Priemerný obsah izokvercitrínu vo vzorkách bazy čiernej zistený rôznymi spôsobmi extrakcie v rokoch sledovania 2015 a 2016

Z grafu 27 (tab. 9) vyplýva, že štatisticky najvýznamnejšou metódou extrakcie izokvercitrínu je extrakcia voľných fenolických látok, kedy v roku 2016 bolo získaných 336,48 mg/kg a v roku 2015 138,43 mg/kg. Štatisticky významnou metódou sa javí i alkalická hydrolyza pevnej frakcie, kedy v roku 2016 bolo získaných 339,08 mg/kg.

Celkový obsah izokvercitrínu v baze v roku 2015 bol 334,69 mg/kg, z toho obsah voľného izokvercitrínu činí 41,36 % a v roku 2016 bol celkový obsah 855,18 mg/kg, z toho obsah voľného izokvercitrínu činí 39,34 %.



## Kvercetín

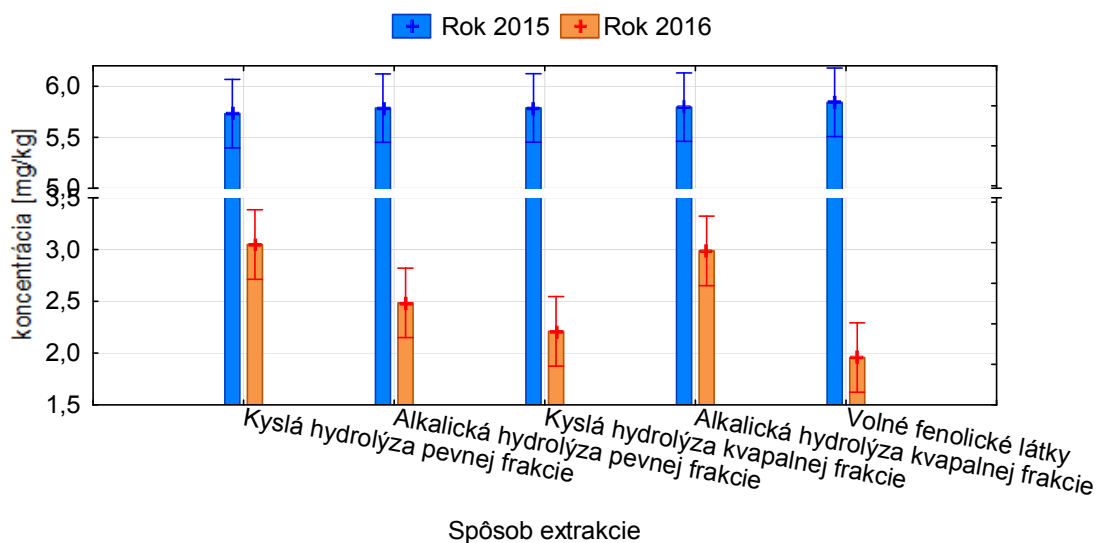


**Graf 28:** Priemerný obsah kvercetínu vo vzorkách bazy čiernej zistený rôznymi spôsobmi extrakcie v rokoch sledovania 2015 a 2016

Z grafu 28 (tab. 9) vyplýva, že štatisticky najvyšší obsah izokvercitrínu bol získaný v roku 2015 pomocou kyslej hydrolyzy pevnej frakcie, kedy bolo získaných 15,00 mg/kg. Extrakciou voľných fenolických látok sme získali v oboch rokoch podobné množstvo izokvercitrínu, kedy v roku 2015 to bolo 8,41 mg/kg a v roku 2016 7,54 mg/kg.

Celkový obsah kvercetínu v baze v roku 2015 bol 47,41 mg/kg, z toho obsah voľného kvercetínu činí 17,73 % a v roku 2016 bol celkový obsah 23,19 mg/kg, z toho obsah voľného kvercetínu činí 32,51 %.

## Kempferol



**Graf 29:** Priemerný obsah kempferolu vo vzorkách bazy čiernej zistený rôznymi spôsobmi extrakcie v rokoch sledovania 2015 a 2016

Z grafu 29 (tab. 9) vyplýva, že vplyv ročníka 2015 nemá na typ extrakcie štatisticky preukázateľný vplyv, pretože boli získané všetkými metódami takmer identické obsahy, no extrakciou voľných fenolických látok bolo získaných 5,84 mg/kg kempferolu. V porovnaní s ročníkom 2016, kde boli zistené štatisticky preukázateľné rozdiely v obsahu kempferolu získaného rôznymi metódami extrakcie.

Celkový obsah kempferolu v baze v roku 2015 bol 28,95 mg/kg, z toho obsah voľného kempferolu činí 20,17 % a v roku 2016 bol celkový obsah 12,7 mg/kg, z toho obsah voľného kempferolu činí 15,43 %.

Táto práca je špecifická optimalizáciou metód extrakcie fenolických látok vo vybraných druhoch liečivých rastlín. Fenolické látky sa v rastlinách nachádzajú vo forme voľnej, viazanej a esterovo viazanej, pričom jediné biologicky dostupné sú práve vo forme voľnej. V dostupnej odbornej literatúre zatiaľ neboli dohľadateľné výsledky, s ktorými by sa dali získané výsledky porovnať. Extrakcii voľných, viazaných a esterovo viazaných fenolických látok býva podrobovaný jačmeň a slad. Tejto problematike sa venovala BĚLÁKOVÁ ET AL. (2010), ktorá sledovala zmenu obsahu kyseliny ferulovej v pivovarských surovinách. Ďalej bakalárska práca, v ktorej sa sledovala zmena obsahu

fenolických kyselín počas sladovania (ŠTÝBLOVÁ, 2015) a diplomová práca zaoberajúca sa optimalizáciou extrakcie voľných a viazaných fenolických látok obsiahnutých v sladovníckom jačmeni (JIRÁSKOVÁ, 2014).

## 6 ZÁVER

V tejto práci boli sledované fenolické látky vo vybraných druhov liečivých rastlín a to v skoroceli kopijovitom (*Plantago lanceolata* L.), nechtíku lekárskom (*Calendula officinalis* L.), lipe malolistej (*Tilia cordata* L.) a baze čiernej (*Sambucus nigra* L.). Tieto rastliny boli podrobené extrakcii, vďaka ktorej sa získali fenolické látky voľné, viazané a esterovo viazané. Fenolické látky získané z týchto frakcií boli následne analyzované na kvapalinovom chromatografe UPLC s PDA detektorom a ich obsah štatisticky vyhodnotený.

Prvou sledovanou rastlinou bol list skorocelu kopijovitého, v ktorom bol sledovaný obsah biologicky aktívnych látok ako je kyselina chlorogénová, kyselina kávová, verbaskozid, kyselina ferulová, rutín a kvercetín. Z dosiahnutých výsledkov vyplýva, že v roku 2015 bolo získaných 134,64 mg/kg (82,78 % a v roku 2016 91,91 mg/kg kyseliny chlorogénovej, v roku 2015 189,32 mg/kg a v roku 2016 14,58 mg/kg rutínu, v roku 2015 4318,22 mg/kg a v roku 2016 1381,10 mg/kg verbaskozidu, v roku 2015 17,80 mg/kg a v roku 2016 21,60 mg/kg kvercetínu, ktorých obsah bol zistený extrakciou voľných fenolických látok a zasluhujú si ďalšiu pozornosť.

Ďalšou sledovanou rastlinou bol kvet nechtíku lekárskeho, v ktorom boli sledované biologicky aktívne látky, ako kyselina chlorogénová, kyselina kávová, kyselina kumarová, rutín, hyperozid, izokvercitrín, kvercetín a kempferol. Z dosiahnutých výsledkov vychádzajú ako veľmi významné nasledovné fenolické látky: kyselina chlorogénová, ktorej obsah bol v roku 2015 996,44 mg/kg a v roku 2016 693,83 mg/kg, rutínu bolo v roku 2015 52,37 mg/kg a v roku 2016 62,84 mg/kg, hyperozid, ktorého obsah bol v roku 2015 184,10 mg/kg a v roku 2016 164,18 mg/kg, izokvercitrínu bolo obsiahnutého v roku 2015 50,88 mg/kg a v roku 2016 88,91 mg/kg a kvercetín, ktorého bolo v roku 2015 získaných 5,78 mg/kg a v roku 2016 2,98 mg/kg. Tieto fenolické látky v uvedených množstvách boli získané extrakciou voľných fenolických látok v štatisticky vysoko významnom množstve, preto si zasluhujú ďalšie skúmanie.

Treťou skúmanou rastlinou bol kvet lipy malolistej, u ktorého boli sledované nasledovné biologicky aktívne látky – kyselina chlorogénová, kyselina kávová, rutín, hyperozid, izokvercitrín, tilirozid, kvercetín a kempferol. Z dosiahnutých výsledkov vychádzajú ako veľmi významné látky nasledovné zložky extrahovateľné metódou extrakcie voľ-

ných fenolických látok – kyselina chlorogénová bola zistená v roku 2015 v množstve 288,77 mg/kg a v roku 2016 156,90 mg/kg, rutín, ktorého obsah bol v roku 2015 386,73 mg/kg a v roku 2016 55,81 mg/kg, hyperozid bol v roku 2015 zistený v množstve 72,43 mg/kg a v roku 2016 57,89 mg/kg, izokvercitrín, ktorého množstvo bolo zistené v roku 2015 920,96 mg/kg a v roku 2016 862,59 mg/kg, tilirozid bol v roku 2015 zistený v množstve 126,82 mg/kg a v roku 2016 265,43 mg/kg, kvercetín, ktorého obsah bol v roku 2015 86,70 mg/kg a v roku 2016 51,83 mg/kg, kempferol bol v roku 2015 zastúpený v množstve 10,04 mg/kg a v roku 2016 9,84 mg/kg.

Poslednou skúmanou rastlinou bol kvet bazy čiernej, u ktorej boli sledované nasledovné biologicky aktívne látky – kyselina chlorogénová, kyselina kávová, rutín, hyperozid, izokvercitrín, kvercetín a kempferol. Z dosiahnutých výsledkov vychádzajú ako veľmi významné látky nasledovné zložky extrahovateľné metódou extrakcie voľných fenolických látok – kyselina chlorogénová, ktorej bolo v roku 2015 1693,28 mg/kg a v roku 2016 2426,94 mg/kg, rutín bol zastúpený v roku 2015 v množstve 548,36 mg/kg a v roku 2016 1282,38 mg/kg, hyperozid, ktorého bolo v roku 2015 9,70 mg/kg a v roku 2016 8,33 mg/kg, izokvercitrín, ktorého bolo v roku 2015 138,43 mg/kg a v roku 2016 336,48 mg/kg, kvercetín bol zastúpený v roku 2015 v množstve 8,41 mg/kg a v roku 2016 7,54 mg/kg a kempferol, ktorého bolo v roku 2015 5,84 mg/kg a v roku 2016 1,96 mg/kg.

Extrakciou voľných fenolických látok, kyslou a alkalickou hydrolyzou bol získaný prehľad fenolických látok obsiahnutých v konkrétnych liečivých rastlinách. Zo získaných výsledkov možno usudzovať, že predmetná extrakcia voľných fenolických látok sa javí ako najideálnejší spôsob získavania fenolických látok. Medzi dostupné a v potravinárstve využiteľné patria nasledovné fenolické látky – kyselina chlorogénová, rutín, verbaskozid, hyperozid, izokvercitrín, tilirozid, kvercetín a kempferol. Tieto analyty by bolo možné získať i maceráciou pomocou vhodného potravinárskeho rozpúšťadla, za účelom fortifikácie nápojov, napr. použitím 60% liehu, ktorým iné než voľné fenolické látky nezískame. Ostatné skúmané biologicky aktívne látky, ako je kyselina kávová, kyselina kumarová alebo kyselina ferulová sú extrakciou voľných fenolických látok značne nedostupné alebo dostupné v nízkych koncentráciách. Variabilita obsahu fenolických látok v priebehu ročníkov je zrejme spôsobená radom faktorov, ako je vplyv počasia, agrotechnika, umiestnenie stanovišťa apod. Z dosiahnutých výsledkov je zrej-

mé, že táto práca má potenciál k ďalšiemu skúmaniu extrahovania voľných fenolických látok a metódy naďalej optimalizovať.

## 7 ZOZNAM POUŽITEJ LITERATÚRY

ACQUITY UPLC SYSTEM, 2006: *Operator's Guide*. Databáza online [cit. 17.2.2017].  
Dostupné na: [www.ecs.umass.edu/eve/facilities/equipment/Acquity/Acquity%20Operators%20Manual.pdf](http://www.ecs.umass.edu/eve/facilities/equipment/Acquity/Acquity%20Operators%20Manual.pdf)

AMAKI K. & SAITO E., 2011: *Role of Chlorogenic Acid Quinone and Interaction of Chlorogenic Acid Quinone and Catechins in the Enzymatic Browning of Apple Bioscience*. *Biotechnology and Biochemistry*, 75(5): 829-832. ISSN 1470-8744.

ANDERSEN Ø.M. & MARKHAM K.R., 2005: *Flavonoids: Chemistry, Biochemistry and Applications*. New York: Taylor & Francis Group. 1256 s. ISBN 978-08-4932-021-7.

ANDREJEV S. & BARINOV V., 1990: *Lékárna na dosah ruky*. 2. vydanie. Praha: Lidové nakladatelství, 192 s.

BĚLÁKOVÁ S., BENEŠOVÁ K., MIKULÍKOVÁ R. & SVOBODA Z., 2010: *Sledování změn obsahu ferulové kyseliny v pivovarských surovinách metodou UPLC s PDA detekcí*. *Kvasný průmysl*, 56(6): 266-269. ISSN 0023-5830.

BERANOVÁ M., 2011: *Jídlo a pití v pravěku a ve středověku*. 2.vydanie. Praha: Academia, 512 s. ISBN 978-80-200-1991-2.

BODLÁK J., 2000: *Stromy a jejich léčivá moc*. Praha: Volvox Globator, 183 s. ISBN 80-7207-319-2.

BRABENEC M., 1981: *Pěstovanie liečivých rastlín na malých plochách*. Praha: Svěpomoc, 156 s.

BREMNESSOVÁ, L., 2008: *Byliny*. Bratislava: Fortuna Print, 284 s. ISBN 80-89144-12-8.

CONN S., 2003: *Anthocyanic vacuolar inclusions (AVIs) selectively bind acylated anthocyanins in Vitis vinifera L. (grapevine) suspension culture*. *Biotechnology Letters*. 25(11): 835-839. ISSN 0141-5492.

- COOKE D., STEWARD W.P., GESCHER A.J. & MARCZYLO T., 2005: *Anthocyanins from fruits and vegetable – does bright colour signal cancer chemopreventive activity?* European Journal of Cancer, 41(13): 1931-1940. ISSN 0959-8049
- ČESKÝ LÉKOPIS, 2009: *Pharmacopea Bohemica* (Ph. B. MMIX). 1. díl. Evropská část. Praha: Grada Publishing, a.s., 1176 s. ISBN 978-80-247-2994-7.
- ČOPIKOVÁ J., 2001: *Čokoláda a zdraví*. Chemické listy, 95(10): 610-615. ISSN 1213-7103.
- DEMARQUE D., JOUANNY J., POITEVIN B. & SAINT-JEAN Y., 2000: *Farmakologie a materia medica homeopatica*. Praha: Leonardo, 432 s. ISBN 2-85742-170-2.
- DVOŘÁKOVÁ, M., DOSTÁLEK P. & HULÍN P., 2006: *Analytické metody stanovení polyfenolů ve sladkách, mladinkách a pivech*. Kvasný průmysl, 52(4): 111-114. ISSN 0023-5830.
- EAGRI.CZ: *Věstník ÚKZUZ 2016*. Databáza online [cit. 17.11.2016]. Dostupné na: [www.eagri.cz/public/web/file/450271/\\_12016.pdf](http://www.eagri.cz/public/web/file/450271/_12016.pdf)
- EUROPÄISCHES ARZNEIBUCH, 2005: *Europäisches Arzneibuch* (Ph. Eur. 5.0). 5. vydanie. Stuttgart: Deutscher Apotheker Verlag. 3720 s. ISBN 978-37-6924-068-9.
- EUROLAMBDA.SK: *SPE teória*. Databáza online [cit. 17.1.2017]. Dostupné na: [www.eurolambda.sk/shared/files/SPE\\_teoria.doc](http://www.eurolambda.sk/shared/files/SPE_teoria.doc)
- FARDET A., ROCK E. & RÉMÉSY CH., 2008: *Is the in vitro antioxidant potential of whole-grain cereals and cereal products well reflected in vivo*. Journal of Cereal Science, 48(2): 258-276. ISSN 0733-5210.
- FIALOVÁ S., 2013: *Prírodné liečivá v prevencii a terapii makulárnej degenerácie*, Liečivé rastliny, 50(2): 40. ISSN 1335-9878



- FIALOVÁ S., 2015: *Liečivé listy, ich význam a použitie*. *Liečivé rastliny*, 52(3): 99. ISSN 1335-9878.
- GALLARDO C., JIMÉNEZ L. & GARCÍA-CONESA M., 2006: *Hydroxycinnamic acid composition and in vitro antioxidant activity of selected grain fractions*. *Food Chemistry* 99(3): 455-463. ISSN 0308-8146.
- HAGELS H., WAGENBRETH D. & SCHILCHER H., 1995: *Phenolic Compounds of Buckwheat Herb and Influence of Plant and Agricultural Factors (Fagopyrum esculentum Moench and Fagopyrum tataricum Gartner)*, s. 801-809. In: TOSHIKO M. & AKIO U.: *The 6th International Symposium on Buckwheat in Shinshu, 24.-29. August 1995*. Current Advances in Buckwheat Research. 974 s. ISBN 978-49-1586-003-4
- HAMMERSTONE J.F., LAZARUS S.A. & SCHMITZ H.H., 2000: *Procyanidin content and variation in some commonly consumed foods*. *Journal of Nutrition*. 130(8S Suppl): 2086-2092. ISSN 2381-8980.
- HAVLÍK J. & MAROUNEK M., 2013: *Živiny a živinové potreby človeka*. 2. vydanie. Vysokoškolské skriptum. Praha: Česká zemědělská univerzita v Praze, 131 s. ISBN 978-80-213-2374-2.
- HÄNSEL R. & STICHER O., 2010: *Pharmakognosie – Phytopharmazie*. 9. Auflage. Berlin: Springer. 1451 s. ISBN 978-3-642-00963-1
- HERGOT M.G.L., HOLLMAN P.C.H. & VEMENA D.P., 1999: *Optimization of a quantitative HPLC determination of potentially anticarcinogenic flavonoids in vegetables and fruits*. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 40(9): 1591-1598. ISSN 0021-8561.
- HOLLMAN P.C.H., HERGOT M.G.L. & KATAN M.B., 1996: *Analysis and health effects of flavonoids*. *Food Chemistry*. 57(1): 43-46. ISSN 0308-8146.

- HOLLMAN P.C.H. & KATAN M.B., 1998: *Bioavailability and health effects of dietary flavonols in man*. Archives of Toxicology, 20: 237-248. ISSN 0340-5761.
- HRIČOVSKÝ I. & VARGOVÁ H., 2007: *Možnosti uplatnenia menej rozšírených okrasno-úžitkových druhov v záhradách*. In: *Podnikanie na poľnohospodárskej pôde vo väzbe na rozvoj vidieka. Zborník príspevkov z medzinárodnej vedeckej konferencie, Račková dolina, 26.-27. apríl 2007*. SPÚ Nitra. ISBN 978-80-8069-872-0
- CHEMIE.DE: *Verbascosid*. Databáza online [cit. 10.1.2017]. Dostupné na: [www.chemie.de/lexikon/Verbascosid.html](http://www.chemie.de/lexikon/Verbascosid.html)
- CHEN A. Y. & CHEN Y. CH., 2013: *A review of the dietary flavonoid, kaempferol on human health and cancer chemoprevention*. Food Chemistry, 138(4): 2099-2107. ISSN 2071-2468.
- CHLOUPEK O., 2008: *Genetická diverzita, šlechtění a semenářství*. Praha: Academia, 312 s. ISBN 978-80-200-1566-2.
- JANČA J. & ZENTRICH J. A., 1994: *Herbář léčivých rostlin: 1. díl*. Praha: Eminent, 292 s. ISBN 80-85876-02-7.
- JANOŠEK J., HILSCEROVÁ K., BLÁHA L. & HOLOUBEK I., 2006: *Environmental xenobiotics and nuclear receptors – Interactions, effects and in vitro assessment*. Toxicology in vitro, 20(1): 18-37. ISSN 0887-2333.
- JIRÁSEK V. & STARÝ F., 1986: *Atlas léčivých rostlin*. Praha: SPN. 368 s.
- JIRÁSKOVÁ A., 2007: *Optimalizace extrakce volných a vázaných fenolických látek obsažených ve sladovníckem ječmeni*. Pardubice: Diplomová práce. Univerzita Pardubice, Fakulta chemicko-technologická, Katedra analytické chemie. Vedúci práce doc. Ing. Lenka Česlová, Ph.D.
- KADLEC P., MELZUCH K. & VOLDŘICH M., 2013: *Procesy a zařízení v potravinářství a biotechnologiích*. Ostrava: Key Publishing, 496 s. ISBN 978-80-7418-163-4.

- KONARSKA A., 2013: *Preliminary studies on the structure of sepals and trichomatous nectaries in flowers of Tilia cordata Mill.* Acta Scientiarum Polonorum Hortorum Cultus, 12(2): 63-74. ISSN 1644-0692.
- KOVÁSC Z., 2016: *Flavonoidy, antokyjanidíny.* Databáza online [cit. 2.12.2016]. Dostupné na: [www.flavin7.sk/dl/Dokumentumok/flavin7\\_antocianidiniiek\\_sk.pdf](http://www.flavin7.sk/dl/Dokumentumok/flavin7_antocianidiniiek_sk.pdf)
- KRÁLIK L., 2015: *Stručný etymologický slovník slovenčiny.* Bratislava: Veda, 704 s. ISBN 978-80-224-1493-7.
- KRESÁNEK J. & KREJČA J., 1988: *Atlas liečivých rastlín.* 3. vydanie. Martin: Osveta, 298 s.
- KUCHYŇKOVÁ Š., 2007: *Změny obsahových látek v brukvovité zelenině při různé kulturní úpravě.* Brno: Diplomová práce. Masarykova univerzita, Lékařská fakulta, Ústav preventivního lékařství. Vedúci práce RNDr. Jiří Totušek, CSc.
- LAQCOSMETICS.DE: *Die Wirkstoffe.* Databáza online [cit. 15.1.2017]. Dostupné na: [www.laqcosmetics.de/laq-face/die-wirkstoffe.html](http://www.laqcosmetics.de/laq-face/die-wirkstoffe.html)
- MANACH C., SCALBERT A., MORAND C., RÉMÉSY C. & JIMÉNEZ L., 2004: *Polyphenols: Food Sources and Bioavailability.* The American Journal of Clinical Nutrition 79(5): 727-747. ISSN 1938-3207.
- MANDELOVÁ L., 2006.: *Antimutagenní aktivita obsahových látek v zelenině a ovoci.* Brno: Dizertačná práce. Masarykova univerzita, Lékařská fakulta, Ústav preventivního lékařství. Vedúci práce RNDr. Jiří Totušek, CSc.
- MAYER J. G., UEHLEKE B. & SAUM K., 2004: *Tajomstvá kláštornej medicíny.* Bratislava: Ikar, 429 s. ISBN 80-551-0728-9.
- MEDON-SOLUTIO.CZ: *Imunomodulancia prírodného pôvodu.* Databáza online [cit. 12.1.2017]. Dostupné na: [www.medon-solutio.cz/online2005/index.php?linkID=txt2&page=8](http://www.medon-solutio.cz/online2005/index.php?linkID=txt2&page=8)

- NOVAK J., BENISEK M., PACHERNIK J., JANOSEK J., SIDLOVA T., KIVIRANTA H., VERTA M., GIESY J., BLAHA L. & HILSCHEROVA K., 2007: *Interference of contaminated sediment extracts and environmental pollutants with retinoid signaling*. Environmental Toxicology and Chemistry, 26(8): 1591-1599. ISSN 1552-8618.
- NOVÁKOVÁ L. & DOUŠA M., 2013: *Moderní HPLC separace v teorii a praxi I.* Praha: Europrint, 299 s. ISBN 978-80-260-4243-3.
- PUBCHEM<sup>a</sup>: *Chlorogenic acid*. Databáza online. [cit. 27.1.2017]. Dostupné na: [www.pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/chlorogenic\\_acid#section=Top](http://www.pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/chlorogenic_acid#section=Top)
- PUBCHEM<sup>b</sup>: *p-Coumaric acid*. Databáza online. [cit. 25.1.2017]. Dostupné na: [www.pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/637542#section=Top](http://www.pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/637542#section=Top)
- RHODES M.C.J., 1996: *Physiologically-active compounds in plant foods: an overview*. Proceedings of the Nutrition Society, 55(1B): 371-384, ISSN 0029-6651.
- RHODES M.C.J. & PRICE K.R., 1997: *Identification and analysis of plant phenolic antioxidants*. European Journal of Cancer Prevention., 6(6): 518-521. ISSN 0959-8278.
- SCALBERT A., JOHNSON I. T. & SALTMARSH M., 2005: *Polyphenols: antioxidants and beyond*. The American Journal of Clinical Nutrition, 81(suppl): 215-217. ISSN 1938-3207.
- SCHIJLEN E.G., RIC DE VOS C.H., VAN TUNEN A.J. & BOVY A.G., 2004: *Modification of flavonoid biosynthesis in crop plants*. Phytochemistry 65(19): 2631–2648. ISSN 1568-7767.
- SIDOR A. & GRAMZA-MICHALOWSKA A., 2015: *Advanced research on the antioxidant and health benefit of elderberry (Sambucus nigra L.) in food – a review*. Journal of functional food, 18(B): 941-958. ISSN 1756-4646.
- SIGMAALDRICH.COM: *Quercetin-3-D-galactoside*. Databáza online [cit. 15.1.2017]. Dostupné na: [www.sigmaaldrich.com/catalog/product/sigma/83388?lang=en](http://www.sigmaaldrich.com/catalog/product/sigma/83388?lang=en)

- SLANINA J. & TÁBORSKÁ E., 2004: *Příjem, biologická dostupnost a metabolismus rostlinných polyfenolů u člověka*. Chemické listy, 98(5): 239-245. ISSN 1213-7103.
- SRINIVASAN M. & SUDHEER A.R., 2007: *Ferulic Acid: Therapeutic Potential Through Its Antioxidant Property*. Journal of Clinical Biochemistry and Nutrition, 40(2): 92-100. ISSN 0912-0009.
- SUCHÝ V., 1989: *Farmakognosie – část speciální I*. Bratislava: Univerzita Komenského, 179 s.
- ŠTÝBLOVÁ R., 2015: *Změna obsahu fenolických kyselin během skladování ječmene jarního*. Brno: Bakalářská práce. Vysoké učení technické, Fakulta chemická, Ústav chemie potravin a biotechnologií. Vedúci práce Ing. Sylvie Běláková, Ph.D.
- ŠTÍPEK S., BOROVSANÁ J., ČEJKOVÁ J. & HOMOLKA J., 2000: *Antioxidanty a volné radikály ve zdraví a v nemoci*. Praha: Grada Publishing, 320 s. ISBN 80-7169-704-4.
- TOMKO J., KRESÁNEK J., HUBÍK J., SUCHÝ V., FELKLOVÁ M., SIKYTA B. & LIBICKÝ A., 1999: *Farmakognózia, učebnica pre farmaceutické fakulty*. Martin: Osveta, 424 s. ISBN 80-8063-014-3.
- TRAXL V. 1992. *Léčivé rostliny ze zahrady*. Praha: Květ, 143 s.
- VALENTOVÁ K., VRBA J., BANCÍŘOVÁ M., ULRICHOVÁ J. & KŘEN V., 2014: *Isoquercitrin: pharmacology, toxicology, and metabolism*. Food and Chemical Toxicology, 68: 267-282. ISSN 0278-6915.
- VAN DER HEYDEN M.A. & DEFIZE L.H., 2003: *Twenty one years of P19 cells: What an embryonal carcinoma cell linetaught us about cardiomyocyte differentiation*. Cardiovascular Research, 58: 292-302. ISSN 0008-6363.
- VELÍŠEK J. & CEJPEK K., 2008: *Biosynthesis of Food Components*. Tábor: Osis, 497 s. ISBN 978-80-86659-12-1.

VELÍŠEK J. & HAJŠLOVÁ J., 2009: *Chemie potravin 1 + 2*. 3. vydanie. Tábor: Osis, 320 s. ISBN 978-80-86659-17-6.

VOLF K. & ANDRS F., 2008: *Flavonoidy a jejich biologické působení*. Databáza online [cit. 1.12.2016]. Dostupné na: [www.docplayer.cz/1559862-Flavonoidy-a-jejich-biologicke-pusobeni.html](http://www.docplayer.cz/1559862-Flavonoidy-a-jejich-biologicke-pusobeni.html)

WATERS.COM: *ACQUITY Arc System*. Databáza online [cit. 15.2.2017]. Dostupné na: [www.waters.com/waters/en\\_US/ACQUITYArcSystem/nav.htm?cid=134844390&locale=en\\_US](http://www.waters.com/waters/en_US/ACQUITYArcSystem/nav.htm?cid=134844390&locale=en_US)

WINKEL-SHIRLEY B., 2001: *Flavonoid biosynthesis. A colorful model for genetics, biochemistry, cell biology and biotechnology*. *Plant Physiology*, 126(2): 485-493. ISSN 0176-1617.

## ZOZNAM GRAFOV

<b>Graf 1:</b> Priemerný obsah kyseliny chlorogénovej vo vzorkách skorocelu kopijovitého zistený rôznymi spôsobmi extrakcie v rokoch sledovania 2015 a 2016 .....	41
<b>Graf 2:</b> Priemerný obsah kyseliny kávovej vo vzorkách skorocelu kopijovitého zistený rôznymi spôsobmi extrakcie v rokoch sledovania 2015 a 2016 .....	42
<b>Graf 3:</b> Priemerný obsah vasbascosidu vo vzorkách skorocelu kopijovitého zistený rôznymi spôsobmi extrakcie v rokoch sledovania 2015 a 2016 .....	43
<b>Graf 4:</b> Priemerný obsah kyseliny ferulovej vo vzorkách skorocelu kopijovitého zistený rôznymi spôsobmi extrakcie v rokoch sledovania 2015 a 2016 .....	44
<b>Graf 5:</b> Priemerný obsah rutínu vo vzorkách skorocelu kopijovitého zistený rôznymi spôsobmi extrakcie v rokoch sledovania 2015 a 2016 .....	45
<b>Graf 6:</b> Priemerný obsah kvercetínu vo vzorkách skorocelu kopijovitého zistený rôznymi spôsobmi extrakcie v rokoch sledovania 2015 a 2016 .....	46
<b>Graf 7:</b> Priemerný obsah kyseliny chlorogénovej vo vzorkách nechtíku lekárskeho zistený rôznymi spôsobmi extrakcie v rokoch sledovania 2015 a 2016 .....	49
<b>Graf 8:</b> Priemerný obsah kyseliny kávovej vo vzorkách nechtíku lekárskeho zistený rôznymi spôsobmi extrakcie v rokoch sledovania 2015 a 2016 .....	50
<b>Graf 9:</b> Priemerný obsah kyseliny kumarovej vo vzorkách nechtíku lekárskeho zistený rôznymi spôsobmi extrakcie v rokoch sledovania 2015 a 2016 .....	51
<b>Graf 10:</b> Priemerný obsah rutínu vo vzorkách nechtíku lekárskeho zistený rôznymi spôsobmi extrakcie v rokoch sledovania 2015 a 2016 .....	52
<b>Graf 11:</b> Priemerný obsah hyperozidu vo vzorkách nechtíku lekárskeho zistený rôznymi spôsobmi extrakcie v rokoch sledovania 2015 a 2016 .....	53
<b>Graf 12:</b> Priemerný obsah izokvercitrínu vo vzorkách nechtíku lekárskeho zistený rôznymi spôsobmi extrakcie v rokoch sledovania 2015 a 2016 .....	54
<b>Graf 13:</b> Priemerný obsah kvercetínu vo vzorkách nechtíku lekárskeho zistený rôznymi spôsobmi extrakcie v rokoch sledovania 2015 a 2016 .....	55

<b>Graf 14:</b> Priemerný obsah kempferolu vo vzorkách nechtíka lekárskeho zistený rôznymi spôsobmi extrakcie v rokoch sledovania 2015 a 2016 .....	56
<b>Graf 15:</b> Priemerný obsah kyseliny chlorogénovej vo vzorkách lipy malolistej zistený rôznymi spôsobmi extrakcie v rokoch sledovania 2015 a 2016 .....	59
<b>Graf 16:</b> Priemerný obsah kyseliny kávovej vo vzorkách lipy malolistej zistený rôznymi spôsobmi extrakcie v rokoch sledovania 2015 a 2016 .....	60
<b>Graf 17:</b> Priemerný obsah rutínu vo vzorkách lipy malolistej zistený rôznymi spôsobmi extrakcie v rokoch sledovania 2015 a 2016.....	61
<b>Graf 18:</b> Priemerný obsah hyperozidu vo vzorkách lipy malolistej zistený rôznymi spôsobmi extrakcie v rokoch sledovania 2015 a 2016 .....	62
<b>Graf 19:</b> Priemerný obsah izokvercitrínu vo vzorkách lipy malolistej zistený rôznymi spôsobmi extrakcie v rokoch sledovania 2015 a 2016 .....	63
<b>Graf 20:</b> Priemerný obsah tilirozidu vo vzorkách lipy malolistej zistený rôznymi spôsobmi extrakcie v rokoch sledovania 2015 a 2016 .....	64
<b>Graf 21:</b> Priemerný obsah kvercetínu vo vzorkách lipy malolistej zistený rôznymi spôsobmi extrakcie v rokoch sledovania 2015 a 2016 .....	65
<b>Graf 22:</b> Priemerný obsah kempferolu vo vzorkách lipy malolistej zistený rôznymi spôsobmi extrakcie v rokoch sledovania 2015 a 2016 .....	66
<b>Graf 23:</b> Priemerný obsah kyseliny chlorogénovej vo vzorkách bazy čiernej zistený rôznymi spôsobmi extrakcie v rokoch sledovania 2015 a 2016 .....	69
<b>Graf 24:</b> Priemerný obsah kyseliny kávovej vo vzorkách bazy čiernej zistený rôznymi spôsobmi extrakcie v rokoch sledovania 2015 a 2016 .....	70
<b>Graf 25:</b> Priemerný obsah rutínu vo vzorkách bazy čiernej zistený rôznymi spôsobmi extrakcie v rokoch sledovania 2015 a 2016.....	71
<b>Graf 26:</b> Priemerný obsah hyperozidu vo vzorkách bazy čiernej zistený rôznymi spôsobmi extrakcie v rokoch sledovania 2015 a 2016 .....	72
<b>Graf 27:</b> Priemerný obsah izokvercitrínu vo vzorkách bazy čiernej zistený rôznymi spôsobmi extrakcie v rokoch sledovania 2015 a 2016 .....	73



**Graf 28:** Priemerný obsah kvercetínu vo vzorkách bazy čiernej zistený rôznymi spôsobmi extrakcie v rokoch sledovania 2015 a 2016 .....74

**Graf 29:** Priemerný obsah kempferolu vo vzorkách bazy čiernej zistený rôznymi spôsobmi extrakcie v rokoch sledovania 2015 a 2016 .....75

## ZOZNAM TABULIEK

<b>Tabuľka 1:</b> Gradient mobilnej fázy .....	37
<b>Tabuľka 2:</b> Analýza variancie pre obsah vybraných fenolických látok vo vzorkách skorocelu kopijovitého, odlišnými spôsobmi extrakcie sledovaných v rokoch 2015 a 2016 .....	39
<b>Tabuľka 3:</b> Priemerný obsah [mg/kg] vybraných fenolických látok vo vzorkách skorocelu kopijovitého odlišnými spôsobmi extrakcie v sledovaných rokoch 2015 a 2016 .....	40
<b>Tabuľka 4:</b> Analýza variancie pre obsah vybraných fenolických látok vo vzorkách nechtíku lekárskeho, odlišnými spôsobmi extrakcie, sledovaných v rokoch 2015 a 2016. ....	47
<b>Tabuľka 5:</b> Priemerný obsah [mg/kg] vybraných fenolických látok vo vzorkách nechtíku lekárskeho odlišnými spôsobmi extrakcie v sledovaných rokoch 2015 a 2016 .....	48
<b>Tabuľka 6:</b> Analýza variancie pre obsah vybraných fenolických látok vo vzorkách lipy malolistej, odlišnými spôsobmi extrakcie, sledovaných v rokoch 2015 a 2016. ....	57
<b>Tabuľka 7:</b> Priemerný obsah [mg/kg] vybraných fenolických látok vo vzorkách lipy malolistej odlišnými spôsobmi extrakcie v sledovaných rokoch 2015 a 2016.....	58
<b>Tabuľka 8:</b> Analýza variancie pre obsah vybraných fenolických látok vo vzorkách bazy čiernej, odlišnými spôsobmi extrakcie, sledovaných v rokoch 2015 a 2016. ....	67
<b>Tabuľka 9:</b> Priemerný obsah [mg/kg] vybraných fenolických látok vo vzorkách nechtíka lekárskeho odlišnými spôsobmi extrakcie v sledovaných rokoch 2015 a 2016 .....	68