VYSOKÉ UČENÍ TECHNICKÉ V BRNĚ
BRNO UNIVERSITY OF TECHNOLOGY

FAKULTA CHEMICKÁ
FACULTY OF CHEMISTRY

ÚSTAV CHEMIE POTRAVIN A BIOTECHNOLOGIÍ
INSTITUTE OF FOOD SCIENCE AND BIOTECHNOLOGY

PŘÍPRAVA A CHARAKTERIZACE ROSTLINNÝCH EXTRAKTŮ PRO APLIKACI DO SIRUPŮ
PREPARATION AND CHARACTERIZATION OF PLANT EXTRACTS FOR APPLICATION TO SYRUPS

DIPLOMOVÁ PRÁCE
MASTER'S THESIS

AUTOR PRÁCE Bc. Lucie Šandová
AUTHOR

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

BRNO 2022

VYSOKÉ UČENÍ TECHNICKÉ V BRNĚ
FAKULTA CHEMICKÁ

Zadání diplomové práce

Číslo práce:	FCH-DIP1727/2021	Akademický rok: 2021/22
Ústav:	Ústav chemie potravin a biotechnologií	
Studentka:	**Bc. Lucie Šandová**	
Studijní program:	Chemie a technologie potravin	
Studijní obor:	Potravinářská chemie a biotechnologie	
Vedoucí práce:	**doc. Ing. Eva Vítová, Ph.D.**	

Název diplomové práce:

Příprava a charakterizace rostlinných extraktů pro aplikaci do sirupů

Zadání diplomové práce:

1. Zpracujte literární přehled dané problematiky:
– bylinné sirupy – technologie výroby
– vybrané rostlinné materiály – obsažené těkavé (aromatické) látky, účinné látky s antimikrobiálním a antioxidačním potenciálem a možnosti jejich stanovení
2. Připravte extrakty vybraných rostlinných materiálů a charakterizujte je z hlediska obsahu těkavých látek a antioxidační aktivity.
3. Připravené extrakty použijte na výrobu bylinných sirupů.
4. Posuďte profil těkavých látek a celkovou senzorickou kvalitu vyrobených sirupů, porovnejte je mezi sebou.

Termín odevzdání diplomové práce: 13.5.2022:

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

Bc. Lucie Šandová studentka	doc. Ing. Eva Vítová, Ph.D. vedoucí práce	prof. RNDr. Ivana Márová, CSc. vedoucí ústavu

V Brně dne 1.2.2022

prof. Ing. Michal Veselý, CSc.
děkan

ABSTRAKT

Cílem této diplomové práce bylo vyrobit bylinné sirupy ze tří vybraných bylin rodu *Lamiaceae* - z šalvěje lékařské (*Salvia officinalis*), meduňky lékařské (*Melissa officinalis*) a máty peprné (*Mentha piperita*).

Nejprve byly z uvedených bylin připraveny extrakty macerací v 25% ethanolu (60°C, 90 min.).

Z připravených bylinných extraktů byly vyrobeny bylinné sirupy smícháním se sirupovým základem (65% roztok sacharózy + kyselina mléčná 2 $g.l^{-1}$) v různých poměrech (2:1, 1:1, 1:2 – extrakt:sirupovému základu). Na základě senzorického hodnocení byl jako optimální vybrán poměr 1:1.

Extrakty i vyrobené sirupy byly charakterizovány z hlediska profilu těkavých látek, obsahu fenolických látek, antioxidační aktivity a antimikrobiální aktivity. Vyrobené sirupy byly hodnoceny také senzoricky pomocí stupnic, profilového a pořadového testu, a porovnány s obdobnými komerčními vzorky (Baťkovy sirupy s.r.o.). Pro stanovení těkavých látek byla použita metoda HS-SPME-GC-MS, celkového obsahu fenolických látek Folin-Cicalteuova metoda, antioxidační aktivity metoda TEAC a antimikrobiální aktivity jamková a disková difúzní metoda.

V modelovém šalvějovém sirupu bylo nalezeno 36 těkavých látek, v komerčním 29; v modelovém meduňkovém sirupu bylo nalezeno 20 těkavých látek, v komerčním 32; v modelovém mátovém sirupu 25 těkavých látek, v komerčním 41. Kvantitativní zastoupení nejvýznamnějších sloučenin v komerčních a vyrobených sirupech se lišilo, ve všech vzorcích převažovaly terpeny.

Obsah fenolických sloučenin v sirupech klesal v pořadí šalvěj (570,1 $mg.l^{-1}$) > meduňka (378,9 mg $.l^{-1}$) > máta (96,5 $mg.l^{-1}$), antioxidační aktivita v pořadí meduňka (332,0 $\mu g.ml^{-1}$) > šalvěj (185,6 $\mu g.ml^{-1}$) > máta (115,8 $\mu g.ml^{-1}$). Komerční sirupy vykazovaly výrazně vyšší obsah fenolických sloučenin i antioxidační aktivitu, než sirupy vyrobené, a to u všech tří bylin.

Z hlediska senzorického byl jako nejchutnější označen sirup mátový a nejméně chutný sirup šalvějový (máta > meduňka > šalvěj); pouze v případě meduňky byl vyrobený sirup označen jako lepší, chutnější než vzorek komerční. Byl přiměřeně tekutý, čirý, příjemné barvy, měl výrazně sladkou, jemně bylinkovou chuť a příjemnou vůni.

ABSTRACT

The aim of the diploma thesis was to produce herbal syrups from three selected herbs of the *Lamiaceae* family - *Salvia officinalis, Melissa officinalis* and *Mentha piperita*.

First, extracts were prepared from these herbs by maceration in 25% of ethanol (60°C, 90 min).

From the prepared herbal extracts, herbal syrups were made by mixing with syrup base (65% sucrose solution + lactic acid 2 $g.l^{-1}$) in different ratios (2:1, 1:1, 1:2 - extract: base of the syrup). On the basis of sensory evaluation, a ratio of 1:1 was selected as optimal.

The extracts and syrups produced were characterized in terms of volatile profile, phenolic content, antioxidant activity and antimicrobial activity. The produced syrups were also evaluated sensorially using scales, profile, and order test, and compared with similar commercial samples (Baťkovy sirupy s.r.o.). The HS-SPME-GC-MS method was used for the determination of volatile substances, the Folin-Cicalteu method for total phenolics, the TEAC method for antioxidant activity and the well and disc diffusion method for antimicrobial activity.

36 volatiles were found in model sage syrup, 29 in commercial syrup; 20 volatiles were found in model lemon balm syrup, 32 in commercial syrup; 25 volatiles were found in model mint syrup, 41 in commercial syrup. The quantitative distribution of the most important compounds in the commercial and manufactured syrups differed, with terpenes predominating in all samples.

The content of phenolic compounds in syrups decreased in the order sage (570.1 $mg.l^{-1}$) > lemon balm (378.9 $mg.l^{-1}$) > mint (96.5 $mg.l^{-1}$), antioxidant activity in the order lemon balm (332.0 $\mu g.ml^{-1}$) > sage (185.6 $\mu g.ml^{-1}$) > mint (115.8 $\mu g.ml^{-1}$). Commercial syrups showed significantly higher phenolic compound content and antioxidant activity than manufactured syrups for all three herbs.

In terms of sensory quality, mint syrup was considered the most palatable and sage syrup the least palatable (mint > lemon balm > sage); only in the case of lemon balm was the manufactured syrup considered better, more palatable than the commercial sample. It was reasonably liquid, clear of a pleasant colour, with a distinctly sweet, slightly herbaceous taste and a pleasant aroma.

KLÍČOVÁ SLOVA

Šalvěj lékařská, meduňka lékařská, máta peprná, aromaticky aktivní látky, antioxidanty, výroba sirupů, SPME, GC-MS, senzorická analýza.

KEYWORDS

Salvia officinalis, *Melissa officinalis*, *Mentha piperita*, aromatic active compounds, antioxidants, syrup production, SPME, GC-MS, sensory analysis.

ŠANDOVÁ, Lucie. *Příprava a charakterizace rostlinných extraktů pro aplikaci do sirupů.* Brno, 2022. Dostupné také z: https://www.vutbr.cz/studenti/zav-prace/detail/138885. Diplomová práce. Vysoké učení technické v Brně, Fakulta chemická, Ústav chemie potravin a biotechnologií. Vedoucí práce Eva Vítová.

PROHLÁŠENÍ

Prohlašuji, že jsem tuto diplomovou práci vypracovala samostatně a že všechny použité literární zdroje jsem úplně a správně citovala. Diplomová práce je z hlediska obsahu majetkem Fakulty chemické VUT v Brně a může být využita ke komerčním účelům jen se souhlasem vedoucího diplomové práce a děkana FCH VUT.

……

podpis studentky

PODĚKOVÁNÍ

Velké poděkování patří mé vedoucí diplomové práce doc. Ing. Evě Vítové, Ph.D. za odborné vedení, velkou pomoc a přátelský přístup, poskytnutí cenných rad a za čas, který mi věnovala při zpracování téhle práce. Dále bych ráda poděkovala Ing. Michalu Grossovi a paní laborantce za ochotu a pomoc v laboratoři. Poděkování patří i mé spolužačce Bc. Phí Lan Anh, za psychickou podporu, spolupráci v laboratoři a při řešení problémů. Na závěr bych chtěla poděkovat celé své rodině a blízkým za podporu během celého studia.

OBSAH

1. ÚVOD 8
2. TEORETICKÁ ČÁST 9
2.1. Biologicky a aromaticky aktivní látky bylin 9
2.1.1. Polyfenoly 9
2.1.2. Terpeny, terpenoidy 11
2.1.3. Alkaloidy 12
2.1.4. Saponiny 12
2.1.5. Polyacetyleny 12
2.1.6. Organické sloučeniny síry 12
2.2. Šalvěj lékařská (*Salvia officinalis*) 12
2.2.1. Bioaktivní látky – účinné látky šalvěje 13
2.2.2. Antimikrobiální aktivita šalvěje 15
2.2.3. Antioxidační aktivita šalvěje 16
2.3. Meduňka lékařská (*Melissa officinalis*) 16
2.3.1. Bioaktivní látky meduňky 18
2.3.2. Antimikrobiální aktivita meduňky 20
2.3.3. Antioxidační aktivita 20
2.4. Máta peprná (*Mentha piperita*) 21
2.4.1. Bioaktivní látky máty 23
2.4.2. Antimikrobiální aktivita máty 24
2.4.3. Antioxidační aktivita máty 25
2.5. Technologie výroby sirupů 26
2.6. Možnosti stanovení a získávání vybraných účinných látek bylin 27
2.6.1. Metody stanovení aromaticky aktivních látek 27
2.6.2. Metody získávání účinných látek z rostlinných materiálů 28
2.7. Antimikrobiální aktivita 30
2.7.1. Metody pro stanovení antimikrobiální aktivity 31
2.8. Antioxidační aktivita 32
2.8.1. Metody stanovení antioxidační aktivity 33
2.8.2. Stanovení celkových fenolů – Folin-Ciocalteu metoda 35
2.9. Senzorická analýza 35
2.9.1. Pořadová zkouška 35
2.9.2. Párová porovnávací zkouška 35
2.9.3. Senzorické hodnocení profilovými metodami 35
3. EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST 36
3.1. Seznam použitých chemikálií 36
3.2. Seznam použitých pomůcek a přístrojů 36
3.3. Seznam použitých mikroorganismů 36
3.4. Kultivační média a jejich příprava 37
3.4.1. Masopeptonový bujon 37
3.4.2. Sladinový bujon 37
3.4.3. Nutrient Agar No. 2 (masopeptonový agar - MPA) 37

3.4.4. Malt Extract Agar Base (sladinový agar) ... 37
3.5. Analyzované vzorky ... 37
3.5.1. Baťkův komerční sirup – šalvěj ... 38
3.5.2. Baťkův komerční sirup – meduňka ... 38
3.5.3. Baťkův komerční sirup – máta ... 38
3.5.4. Příprava bylinných extraktů ... 38
3.5.5. Příprava bylinných sirupů ... 39
3.6. Použité metody a experimentální postupy ... 41
3.6.1. Stanovení aromatických látek ... 41
3.6.2. Spektrofotometrické stanovení celkových fenolů ... 41
3.6.3. Stanovení antioxidační aktivity pomocí metody $ABTS^{\bullet+}$ radikálu ... 42
3.6.4. Antimikrobiální aktivita ... 44
3.7. Senzorická analýza vyrobených a komerčních sirupů ... 44
4. VÝSLEDKY A DISKUZE ... 47
4.1. Charakterizace bylinných extraktů ... 47
4.1.1. Obsah aromaticky aktivních látek v extraktech ... 47
4.1.2. Celkový obsah polyfenolů v bylinných extraktech ... 54
4.1.3. Antioxidační aktivita bylinných extraktů ... 54
4.1.4. Antimikrobiální aktivita bylinných extraktů ... 55
4.2. Charakterizace bylinných sirupů ... 57
4.2.1. Obsah aromaticky aktivních látek v sirupech ... 57
4.2.2. Celkový obsah fenolů v bylinných sirupech ... 72
4.2.3. Antioxidační aktivita bylinných sirupů ... 74
4.3. Senzorická analýza ... 76
4.3.1. Vyrobené sirupy z šalvěje lékařské ... 76
4.3.2. Vyrobené sirupy z meduňky lékařské ... 80
4.3.3. Vyrobené sirupy z máty peprné ... 83
4.4. Senzorická analýza – srovnání vyrobených vs. komerčních sirupů ... 87
4.4.1. Sirupy z šalvěje lékařské ... 87
4.4.2. Sirupy z meduňky lékařské ... 90
4.4.3. Sirupy z máty peprné ... 92
4.4.4. Hodnocení celkové přijatelnosti výrobených sirupů ... 94
4.4.5. Hodnocení celkové přijatelnosti komerčních sirupů ... 95
5. ZÁVĚR ... 96
6. SEZNAM POUŽITÝCH ZDROJŮ ... 98
7. SEZNAM POUŽITÝCH ZKRATEK ... 107
8. SEZNAM PŘÍLOH ... 108
9. PŘÍLOHY ... 109

1. ÚVOD

V posledních letech se zvýšil zájem o přírodní látky, které by mohly v budoucnu nahradit používání synteticky připravených konzervantů v potravinářstí i v kosmetice. Tyto přírodní látky jsou produkovány rostlinami jako sekundární metabolity. Rostliny je syntetizují jako obranu proti býložravcům, hmyzu a dalším škůdcům. Jedná se o látky, které mají intenzivní vůni a chuť. Tyto látky vykazují různé druhy aktivit, jako třeba antimikrobiální, antioxidační, antifungální a další.

Zastoupení aromaticky aktivních látek (AAL) a s nimi spojenou antioxidační a antimikrobiální aktivitu nelze z přesností určit pro danou bylinu, jelikož jejich obsah závisí na mnoha faktorech. Záleží na množství slunečního záření, teplotě a vlhkosti, na dostupnosti vody, na složení půdy a dalších vnějších faktorech. Ovšem záleží i na vnitřních faktorech, když se nebude mít rostlina před kým bránit, nebude vytvářet tolik AAL a její extrakt nebude tak účinný pro aplikaci do potravin.

Pro použití přírodních látek jako konzervantů je třeba charakterizovat jejich extrakty a nastavit správné množství při použití. Tak aby účinně inhibovalo různé mikroorganismy, či zabránilo chemickým změnám v potravinách, ale zároveň je třeba brát ohled na alergické reakce, které mohou tyto látky způsobovat.

Zvýšený zájem o přírodní látky pomohl k rozvoji metod pro jejich získávání, identifikaci a následnou aplikaci do produktu nebo do obalu.

Do čeledi *Lamiaceae*, neboli hluchavkovité, se řadí spousta známých dvouděložných rostlin, které se hojně využívají i v lidovém léčitelství nebo jako přísady do potravin, jako je šalvěj lékařská, meduňka lékařská, máta peprná, mateřídouška, bazalka, levandule a další. Jedná se o rostliny, které jsou rozšířeny po celém světě. Rostliny z této čeledi obsahují velké množství biologicky aktivních látek, díky nimž vykazují velkou antioxidační a antimikrobiální aktivitu, proto získaly velkou vědeckou pozornost.

Cílem práce bylo vyrobit bylinný extrakt ze tří bylin, šalvěje lékařské, meduňky lékařské a máty peprné. Vyrobené extraky charakterizovat z hlediska obsahu AAL, antioxidační aktivity, obsahu celkových fenolických látek a antimikrobiální aktivity. Následně byly z bylinných extraktů vyrobeny bylinné sirupy, které byly opět charakterizovány z hlediska zastoupení AAL, obsahu celkových fenolických látek a antioxidační aktivity. Vyrobené bylinné sirupy byly porovnány s komerčními sirupy. Záměrem bylo vyrobit chuťově atraktivní produkt s vysokým obsahem zdraví prospěšných látek.

2. TEORETICKÁ ČÁST

2.1. Biologicky a aromaticky aktivní látky bylin

Fytochemikálie jsou významnou skupinou sloučenin, které patří k sekundárním metabolitům rostlin a zahrnují rozmanitou škálu chemických skupin, jako jsou polyfenoly, flavonoidy, steroidní saponiny, organické sloučeniny síry a vitaminy. Syntéza sekundárních metabolitů může být zvýšena za stresových podmínek [1].

Metabolismus je soubor chemických reakcí prováděných buňkami za účelem syntézy složitějších látek z jednodušších nebo naopak degradace komplexů a získání jednodušších látek. Rostliny, autotrofní organismy, mají dva metabolismy. Primární metabolismus je přítomen u všech živých organismů a zajišťuje základní životní funkce. Sekundární metabolismus rostlina využívá, jako ochranu před predátory, patogeny nebo environmentálním stresem. Dále je rostlina může vytvářet i pro přitahování hmyzu a podporu opylení [2].

Vznikající metabolity jsou vesměs malé molekuly. Primární metabolity jsou známy jako životně důležité sloučeniny podílející se na průměrném růstu, vývoji a reprodukci rostlin. Řadíme sem buněčné složky, jako sacharidy, polysacharidy, aminokyseliny, cukry, bílkoviny a lipidy, dále produkty fermentace. Rostlina je využívá převážně během svého růstu a vývojové fáze. Sekundární metabolity nejsou přímo zapojeny do těchto procesů. Rostliny je využívají převážně ke zvýšení schopnosti přežít a překonat místní problémy [3]. Jelikož jednou z úloh sekundárních metabolitů je odstrašení býložravců, jsou tyto látky často hořké nebo toxické pro potenciální býložravce, kdy dochází k rozšíření přímou interakcí s centrálním a periferním nervovým systémem [4].

Bioaktivní sloučeniny mají různé biologické účinky (antimikrobiální, antioxidační, antimutagenní, antimalarické, protizánětlivé a protivředové) [1]. Energie potřebná k syntéze sekundárních metabolitů často převyšuje energii potřebnou k syntéze primárních metabolitů [4].

Níže jsou uvedeny hlavní skupiny biologicky aktivních látek v rostlinách.

2.1.1. Polyfenoly

Polyfenoly jsou přirozeně se vyskytující se látky napříč celou rostlinou říší. Jedná se o sekundární metabolity, které rostlinu ochraňují před ultrafialovým zářením a agresi patogenů [5].

Doposud bylo identifikováno téměř 10 000 struktur. Až na několik výjimek jsou syntetizovány z prekurzorů produkovaných fenylpropanoidovou cestou. Struktura je tvořena alespoň jedním aromatickým uhlovodíkovým kruhem s jednou nebo více hydroxylovými skupinami. Do této skupiny patří jak jednodušší nízkomolekulární sloučeniny (např. fenylpropanoidy, kumariny, deriváty kyseliny benzoové), tak i složitější struktury (např. flavanoidy, stilbeny a taniny). Fenolické látky mají ochranné, symbiotické a atraktantní nebo odstrašující účinky, dále rostlinu antioxidačně chrání a absorbují UV světlo. Rostlinám poskytují vůni, barvu a chuť [4].

Distribuce polyfenolických látek se liší podle toho, kde se daná látka nachází, či v tkáňové, buněčné nebo subcelulární úrovni rostlin. Polyfenoly se v rostlinách většinou nenachází v jednoduchých strukturách, ale ve složité směsi různých polyfenolů. Vnější části rostliny obsahují vyšší množství polyfenolů, které jim poskytuje obranu proti býložravcům a dalším vnějším faktorům. Ve vnitřních částech rostlin není potřeba vysoké množství sekundárních metabolitů, a proto se zde nachází mnohem méně účinných látek. Na obsah polyfenolů v rostlinách má vliv mnoho faktorů [5].

2.1.1.1. Jednoduché fenoly

Fenolové kyseliny jsou mezi rostlinami všudypřítomné. Fenolové sloučeniny rozlišujeme dle jejich funkční skupiny. Mohou mít hydroxylovou, aldehyhovou, karboxylovou skupinu. Nejznámějšími zástupci jsou kyselina gallová, kyselina salycilová, kyselina ferulová, kyselina kávová, vanilin a eugenol [6].

Fenolové kyseliny se dělí do dvou tříd, a to deriváty kyseliny benzoové a deriváty kyseliny skořicové. Fenolové kyseliny se podílí na mnoha reakcích rostlin při reakci na různé typy stresu, přispívají k hojení poškozených tkání, mají antimikrobiální vlastnosti. Při infekci se jejich koncentrace zvyšuje [5].

2.1.1.2. Flavonoidy

Flavonoidy se řadí mezi nejběžnější polyfenolové sloučeniny, které se vyskytují ve všech rostlinách. Jsou zodpovědné za vlastnosti chuti, barvy [3]. Rozlišujeme flavonoly, flavony, flavanony, isoflavony a anthokyany [1]. Flavony a jejich deriváty jsou rozšířeny ve vyšších rostlinách a v mladých pletivech, kde se vyskytují v buněčné šťávě a poskytují rostlině žluté zbarvení [6]. Jsou to látky vyskytující se ve všech částech rostlin, v květech, plodech a listech [5].

2.1.1.3. Třísloviny

Třísloviny neboli taniny jsou polyfenoly. Mají schopnost srážet bílkoviny, pro tuto schopnost se využívají při přeměně surových zvířecích kůží na kůži. Rozlišujeme dva typy taninů, a to hydrolyzované a kondenzované taniny. Hydrolyzované taniny jsou tvořeny několika molekulami fenolových kyselin, jako je kyselina gallová, hexahydroxydifenová. Jsou spojeny esterovými vazbami s centrální molekulou glukózy. Hydrolyzované taniny dělíme na gallotaniny a ellagitaniny. Skládají se z jednotek kyseliny gallové a kyseliny ellagové. Kondenzované taniny nebo proanthokyanidiny se skládají z oligomerních prekurzorů flavonoidů. Liší se typem vazeb mezi jednotkami flavonoidů [5].

2.1.1.4. Kumariny

Kumariny jsou přirozeně produkovány mnoha rostlinami a mikroorganismy. Vykazují mnoho biologických účinků, jako estrogenní, antikoagulační, analgetické, protizánětlivé, sedativní, hypnotické, hypotermické, antioxidační [7]. Jedná se o deriváty benzo-α-pyronu, laktonu kyseliny hydroxyskořicové, kumarinu [6].

2.1.1.5. Lignany

Jedná se o dimerní sloučeniny tvořené spojením dvou molekul fenylpropenového derivátu. Vyskytují se čtyři hlavní podskupiny, kterými jsou deriváty dibenzylbutanu, dibenzylbutryolaktonu, monoepoxy lignanu a deriváty terahydrofuranu a bisepoxylignanu [6].

2.1.1.6. Stilbeny

Tyto polyfenolické sloučeniny obsahují dvě fenylové skupiny spojené dvouuhlíkovým methylenovým můstkem. Stilbeny zastupují roli antifungálních fytoalexinů. Což jsou látky syntetizované pouze v reakci na infekci nebo poranění [5].

2.1.2. Terpeny, terpenoidy

Terpeny tvoří různorodou skupinu více než 30 000 sloučenin rozpustných v tucích. Vykazují rozmanité vlastnosti od smrtících až po zcela jedlé. Účastní se na vzduchem přenášených chemických signálech a vůních, a dále i chuti. Skládají se z jedné nebo více 5-uhlíkových izoprenových jednotek. Tyto jednotky jsou syntetizovány všemi organismy prostřednictvím dvou potenciálních drah, a to mevalonátové a deoxy-d-xylulózové dráhy. Terpeny dělíme dle počtu jednotek, na hemiterpeny, monoterpeny, diterpeny, seskviterpeny, triterpeny, tetraterpeny, atd. [4]. Triterpenová skupina sloučenin zahrnuje steroly a triterpeny, které se akumulují jako glykosidy (saponiny) v rostlinách. Saponiny jsou glykosylované sekundární metabolity s povrchově aktivními vlastnostmi [7].

Terpeny se účastní na primární struktuře buněk (cholesterol a steroidy v buněčných membránách), přispívají k buněčným funkcím (podpora sítnice, karotenoidy ve fotosyntéze). Ve vysoké koncentraci se vyskytují v reprodukčních orgánech a listech rostlin během a bezprostředně po odkvětu. Jsou hlavními složkami pryskyřic [8].

Antimikrobiální mechanismus terpenů je úzce spojen s jejich lipofilními vlastnostmi. Např. monoterepeny ovlivňují struktury membrány tím, že zvyšují její fluiditu a permeabilitu, mění topologii jejích proteinů a způsobují poruchy v celém dýchacím řetězci. Obecně jsou účinnější proti grampozitivním oproti gramnegativním bakeriím [8].

2.1.2.1. Karotenoidy

Jedná se o široce rozšířené pigmenty žluté, oranžové a červené barvy. Karotenoidy patří mezi uhlovodíky se 40 uhlíkovým atomovým skeletem z 8 izoprenových jednotek. Jedná se tedy o tetraterpeny. Mohou být cyklické a mít různý počet atomů vodíků nebo mít funkční skupiny obsahující kyslík (což jsou xanthofyly). Nejznámějšími karotenoidy jsou β-karoten, α-karoten a lykopen. Mezi xanthofyly řadíme např. lutein a kryptoxanthin. Hlavními aktivními karotenoidy provitaminu A jsou β-karoten, α-karoten a kryptoxanthin [7].

Karotenoidy jsou snadno dostupné kvůli jejich velkému výskytu v ovoci a zelenině, jejich antioxidační aktivita je založena na vychytávání peroxidových radikálů. Počet konjugovaných dvojných vazeb těchto molekul souvisí s účinností zhášení. α-karoten, β-karoten, zeaxanthin, kryptoxanthin patří do skupiny vysoce aktivních zhášečů singletového kyslíku. Lykopen, což je meziprodukt v biosyntetické dráze karotenoidů, působí jako lapač ROS, lipidových peroxylových radikálů a oxidu dusnatého [1].

2.1.3. Alkaloidy

Alkaloidy jsou heterocyklické dusíkaté sloučeniny, které obsahují extrémně variabilní chemické struktury [7]. Jedná se o strukturně různorodou skupinu více než 12 000 cyklických sloučenin. Jsou známy jako jedy, neurotoxiny a tradiční psychedelika (např. atropin, skopolamin) a sociální drogy (např. nikotin, kofein, metamfetamin, kokain a opiáty). Alkaloidy primárně působí jako odstrašující prostředky a toxiny proti hmyzu a dalším býložravcům. Klasifikace alkaloidů je nejednotná. Lze je dělit dle strukturní podobnosti nebo společného prekurzoru [4]. Jejich definice je problematická, jelikož nepředstavují homogenní skupinu sloučenin z jakéhokoli hlediska (chemického, biochemického nebo fyziologického) [6].

2.1.4. Saponiny

Jedná se o sloučeniny, které mají polycyklickou aglykonovou část se steroidem (steroidní saponiny) nebo triterpenoidem (triterpenoidní saponiny) připojeným k sacharidové jednotce. Cukerné jednotky se skládají z pentóz, hexóz nebo uronových kyselin. Tyto sloučeniny mají hydrofóbně-hydrofilní asymetrii, což znamená, že mají schopnost snižovat povrchové napětí a vykazují podobné vlastnosti jako mýdlo. Jsou izolovány ze všech částí rostlin, jako listů, stonků, kořenů, cibulek, květů a plodů [6].

2.1.5. Polyacetyleny

Polyacetyleny jsou skupinou bioaktivních sloučenin sestávajících z trojné vazby uhlík-uhlík nebo alkynylové funkční skupiny [8].

2.1.6. Organické sloučeniny síry

Sloučeniny obsahující síru získané z rostlin vykazují antibakteriální a antifungální aktivitu. Do této skupiny řadíme allicin, ajoen, dialkenyl, dialkylsulfidy a isothiokyanáty. Tyto sloučeniny vykazují antibakteriální aktivitu proti grampozitivním i gramnegativním bakteriím [7].

2.2. Šalvěj lékařská (*Salvia officinalis*)

Šalvěj lékařská (***Obrázek 1***) se řadí do čeledi *Lamiaceae*. Rod *Salvia* je největším zástupcem této čeledi. Pochází z oblastí Středního východu a středomoří, ale dnes se s ní můžeme setkat po celém světě [9].

V lidovém léčitelství je šalvěj lékařská, neboli *Salvia officinalis*, využívána k léčbě různých druhů poruch, jako jsou záchvaty, vředy, dna, revmatismus, záněty, třes, paralýza, průjem a hyperglykémie, pálení žáhy a nadýmaní, dále při nadměrném pocení a zánětech krku [10], [11].

Obrázek 1: *Šalvěj lékařská – Salvia officinalis* [12]

Díky aromatickým a kořenícím vlastnostem je tato bylina hojně využívána při přípravě různých jídel a nápojů [10]. Šalvěj lékařská a její esenciální olej se hojně využívá zvláště pro její antimikrobiální, antioxidační, cytotoxické, antimutagenní a protizánětlivé účinky. Pozitivní účinky této byliny jsou připisovány hlavně vysokému zastoupení fenolických sloučenin [13], [14].

2.2.1. Bioaktivní látky – účinné látky šalvěje

Šalvěj je přírodním zdrojem flavonoidů a polyfenolických sloučenin, které mají silné antioxidační a radikálové účinky. Většina fenolových kyselin nacházejících se v této rostlině jsou deriváty kyseliny kávové, která je derivátem celé řady rostlinných metabolitů. Kyselina kávová se v čeledi *Lamiaceae* vyskytuje v dimerní formě jako kyselina rozmarýnová [9].

Hlavní bioaktivní látky se nacházejí převážně v nadzemních částech rostliny, v květech, listech a stoncích. Zde se nachází široká škála složek, která zahrnuje alkaloidy, sacharidy, mastné kyseliny, glykosidické deriváty, fenolické sloučeniny (kumariny, flavonoidy, taniny), polyacetyleny, steroidy, terpeny a vosky. Mezi hlavní složky šalvějového esenciálního oleje patří borneol, kafr, karyofylen, cineol, elemen, humulen, leden, pipen a thujon. Z flavonoidů jsou bohatě zastoupeny kyselina rozmarýnová, luteolin-7-glukosid a z fenolových kyselin kyselina kávová. Linalool je nejhojněji zastoupený ve stonku, na rozdíl od α-pipenu a cineolu, které jsou nejčastěji v květech. V listech jsou nejvíce zastoupeny bornylacetát, kamfen, kafr,

humulen, limonen a thujon. Zastoupení jednotlivých bioaktivních látek se liší v závislosti na místě pěstování, klima, dostupnosti vody i nadmořské výšce [10].

V ***Tabulce 1*** je uvedeno shrnutí tří publikovaných studií. A to konkrétně studie zabývající se chemií, farmakologií a léčivými vlastnostmi šalvěje k prevenci a léčbě nemocí, jako je obezita, cukrovka, deprese, demence, lupus, autismus, srdeční choroby a rakovina. V rámci této studie byla šalvěj sbírána v oblasti 100 m. n. m. a 500 m. n. m. [9]. Dále studie zabývající se šalvějí lékařskou z Itálie, která srovnává chemické a biologické vlastnosti esenciálního oleje v kontextu Středomoří (Itálie) [13]. Třetí studie se zabývá chemickým složením esenciálního oleje z šalvěje z Brazílie (Rio de Janeiro) [15].

Tabulka 1: *Shrnutí aromaticky aktivních látek identifikovaných v esenciálním oleji z šalvěje lékařské*

Název sloučeniny	**Procentuální zastoupení hlavních složek esenciálního oleje [%]**	**RI**	**Zdroj**
(*Z*)-Salven	0,3	856	[15]
Tricyklrn	0,6	926	[15]
Thujen	0,2	926 - 931	[13], [15]
α-Pinen	3,7 - 5,9	938	[9], [13], [15]
Kamfen	2,6 - 5,0	953	[9], [13], [15]
Sabinen	0,3		[9], [13]
β-Pinen	0,7 - 6,0	979 - 980	[9], [13], [15]
Myrcen	1,0 - 3,5	992 - 993	[9], [13], [15]
α-Felandren	0,1	1005	[13], [15]
α-Terpinen	0,2 - 0,4	1012 - 1018	[9], [13], [15]
p-Cymen	0,2 - 0,6	1025 - 1026	[9], [13], [15]
Limonen	1,9	1030	[9], [13], [15]
Eukalyptol	1,9 - 62,0	1032 - 1034	[9], [13], [15]
(*Z*)-*β*-Ocimen	0,1	1038 - 1041	[13], [15]
(*E*)-*β*-Ocimen	0,1	1041 - 1049	[13], [15]
γ-Terpinen	0,3 - 0,5	1057 - 1061	[9], [13], [15]
Terpinolen	0,2 - 0,5	1086 - 1088	[9], [13], [15]
Linalool	0,8	1098	[9], [13]
α-Thujon	1,4 - 40,9	1102 - 1106	[9], [13], [15]
β-Thujon	0,7 - 5,6	1116	[9], [13]
Kafr	8,0 - 26,1	1142 - 1145	[9], [13], [15]
Borneol	1,1 - 5,0	1165 - 1167	[9], [13], [15]
Terpinen-4-ol	0,5	1176	[13]
α-Terpineol	0,1 - 0,2	1188 - 1189	[9], [13], [15]
Myrtenol	0,1	1193	[15]
(-)-Bornyl acetát	0,5	1285 - 1286	[13], [15]
Thymol	0,1 - 0,8	1291	[9]
α-Kubeben		1352	[13]
α-Ylangen		1373	[13]
α-Kopeen		1377	[13]

Tabulka 1: *Shrnutí aromaticky aktivních látek identifikovaných v esenciálním oleji z šalvěje lékařské - pokračování*

Název sloučeniny	Procentuální zastoupení hlavních složek esenciálního oleje [%]	RI	Zdroj
β-Kubeben		1382	[13]
β-Bourbonen	< 0,1	1384 - 1385	[13], [15]
α-Bergamoten		1403	[13]
α-Gurjunen	< 0,1	1407 - 1409	[13], [15]
trans-Karyofylen	0,8 - 2,0	1418	[9], [13], [15]
Aromadendren		1437	[13]
β-Farnesen		1441	[13]
α-Humulen	1,4	1454 - 1455	[13], [15]
allo-Aromadendren	< 0,1	1461 - 1463	[13], [15]
β-Selinen		1475	[13]
Germacren D		1477	[13]
γ-Muurolen		1478	[13]
γ-Kadinen		1515	[13]
δ-Kadinen	< 0,1	1524 - 1526	[13], [15]
Spatulenol		1578	[13]
Karyofylen oxid		1580	[13]
Viridiflorol		1591	[13]
Kalaren		1629	[13]
Manoyl oxid		1989	[13]
Manool		2055	[13]
Sklareol		2226	[13]
Linalyl acetát	0,3 - 0,6		[9]
(+)-Menthol			[9]
Geranyl acetát	0,3		[9]
Geraniol	0,1 - 0,3		[9]
Fytol	0,2		[9]
Karvakrol	0,2 - 0,4		[9]
Farnesol	0,2		[9]

RI – retenční index

2.2.2. Antimikrobiální aktivita šalvěje

Extrakt z šalvěje lékařské vykazoval antimikrobiální aktivitu proti grampozitivním i gramnegativním patogenním bakteriím ve studii antimikrobiální aktivity šalvěje lékařské proti patogenním bakteriím. V rámci této studie byly připraveny acetonové a ethnanolové extrakty. Ethanolové extrakty byly připraveny ze 70% roztoku ethanolu. Antimikrobiální aktivita byla zkoumána pomocí diskové difúzní metody a bylo zjištěno, že tyto extrakty narozdíl od vodných extraktů, vytvořily inhibiční zóny. Inhibiční zóny se liší v závislosti na typu extraktu a rostlinném orgánu. Výsledky této studie jsou uvedeny v ***Tabulce 2*** [16].

Tabulka 2: *Antimikrobiální aktivita extraktů z šalvěje lékařské (velikost inhibičních zón uvedena v mm)* [16]

	Aceton		Ethanol		Voda	
Mikroorganismy	**Listy**	**Stonky**	**Listy**	**Stonky**	**Listy**	**Stonky**
Escherichia coli	11	11	9	7	-	-
Staphylococcus aureus	17	12	10	7	-	-
Bacillus anthracis	25	21	17	12	-	-
Bacillus cereus	14	12	8	7	-	-

Další studie potvrdily účinnost extraktu z šalvěje lékařské proti grampozitivním a gramnegativním bakteriím. V rámci studie antimikrobiální aktivity esenciálního oleje z šalvěje lékařské sbírané v Sýrii byla zkoumána i kvasinka *Candida albicans*. Antimikrobiální aktivita tohoto extraktu byla prokázána proti kvasince *Candida albicans* a dále bakteriím *Staphylococcus aureus*. Dále byl prokázán dočasný bakteriostatický účinek na *Escherichia coli*, *Salmonella typhi* a *Pseudomonas aeruginosa*. V této studii došli k závěru, že ve srovnání s většinou známých antibiotik byla účinnější silice z šalvěje lékařské zejména proti bakteriím rezistentním na antibiotika [17].

2.2.3. Antioxidační aktivita šalvěje

Antioxidanty hrají důležitou roli v ochraně těla před oxidačním stresem a poškozením způsobeným volnými radikály. Velké množství volných radikálů je příčinou různých onemocnění, jako je cukrovka, srdeční choroby, rakovina, mozková dysfunkce, oslabený imunitní systém a další. Antioxidační vlastnosti šalvěje lékařské souvisí s přítomnosti kyseliny rozmarýnové a kyseliny karnosové, dále s kyselinou salvianolovou, což je dimer kyseliny rozmarýnové, vykazující silnou antioxidační aktivitu. Dalšími antioxidačními látkami obsaženými v šalvěji lékařské jsou fenolové sloučeniny, jako karnosol, kyselina karnosová, rosmadial, rosmanol, epirosmanol [9].

Antioxidační aktivita byla měřena v rámci studie šalvěje různého původu. Rostlinný materiál byl sbírán v různých ročních obdobích, konkrétně v létě a v zimě a různých oblastech. V rámci této studie byl měřen i obsah celkových polyfenolů. Dle výsledků této studie je patrné, že extrakt, jehož bylinný materiál byl sbírán v létě, prokazuje největší množství polyfenolů a prokazuje i největší antioxidační aktivitu. Výsledky této studie jsou uvedeny v ***Tabulce 3*** [18].

Tabulka 3: *Antioxidační aktivita měřená metodou TEAC, obsah celkových fenolických látek a výtěžek extrakce* [18]

		Výtěžek extraktů [%]	**TPC [mg_{GAE}/g]**	**ABTS [mg_{AAE}/g]**
Lokalita	Pleš	2,5 ± 1,6	98,8 ± 38,1	1,1 ± 0,5
	Luštica	2,0 ± 0,6	96,4 ± 38,9	1,0 ± 0,5
Období	Zima	2,2 ± 0,4	84,9 ± 46,1	0,9 ± 0,6
	Léto	2,3 ± 1,7	110,3 ± 22,6	1,2 ± 0,3

2.3. Meduňka lékařská (*Melissa officinalis*)

Meduňka lékařská (***Obrázek 2***), též známá jako lemon balm, patří do čeledi *Lamiaceae*. Latinský název „*Melissa*“ pochází z řeckého slova „*meliteia*“ (z „*meli*“, „*melitos*“),

což znamená med. Tento název odkazuje na velkou přitažlivost rostliny pro včely. Meduňka lékařská je aromatická vytrvalá bylina pěstovaná v oblasti Středozemního moře, západní Asie, jihozápadní Sibiře a severní Afriky [19]. Je široce pěstována v mírném podnebí jako kulinářská a léčivá bylina a jako okrasná zahradní rostlina. Ve starověku se meduňka pěstovala jako potrava pro včely [20].

Za její charakteristickou vůni jsou zodpovědné mikroskopické olejové žlázy, které obsahují esenciální oleje [21].

Obrázek 2: *Meduňka lékařské – Melissa officinalis* [22]

Z listů meduňky lékařské se připravuje čaj, který podporuje trávení. Dále se meduňka používá k potírání hlavy při bolesti, migréně. K potírání břicha při plynatosti a křečích. Podporuje klidnou menstruaci a tvorbu žluči. Meduňka díky svému citrusovému aroma je vhodná k relaxaci [23].

Meduňka se tradičně používá pro různé lékařské účely, jako je tonikum, antispasmodikum, farmakologické. protinádorové, antibakteriální, antimikrobiální, antihistaminické, antispasmodické, antioxidační, antivirové účinky. V současnosti se meduňka používá i proti bolestem hlavy vyvolaným stresem. Jako antivirotikum se používá ke zlepšení hojení oparů [24].

V potravinářském průmyslu se meduňka nejčastěji používá jako přírodní antioxidant do šťáv, nálevů, cukrovinek. Dále se využívá při výrobě jedlých antimikrobiálních obalových materiálů. Často se s ní můžeme setkat i při výrobě zmrzliny a bylinných čajů [25].

2.3.1. Bioaktivní látky meduňky

Obsah bioaktivních látek v extraktech nebo esenciálních olejích se liší v závislosti na různých faktorech, jak vnitřních, tak i vnějších. Mezi tyto faktory patří metoda extrakce, teplota sušení, geografické rozdíly, teplota, doba sklizně, sezónnost, délka dne, intenzita a kvalita světla, množství vody a živin dostupných ve vodě a nadmořská výška [23].

Meduňka lékařská obsahuje mnoho bioaktivních látek. Mezi hlavní složky patří citronellal, linalool, geranylacetát, β-karyofylen. Dále obsahuje mnoho flavonoidů, jako kvercentin, luteolin, rhamnocitrin a další [25].

V ***Tabulce 4*** je uvedeno shrnutí tří publikovaných studií. A to konkrétně studie zabývající se chemickým složením a antioxidační aktivitou esenciálního oleje meduňky lékařské z Boa Vista, Brazílie [19]. Dále studie zabývající se minerálním hnojením a chemickým složením esenciálního oleje [23]. Třetí studie se zabývá studiem antioxidačních vlastností esenciálního oleje meduňky lékařské [26].

Tabulka 4: *Shrnutí aromaticky aktivních látek identifikovaných v esenciálním oleji z meduňky lékařské*

Název sloučeniny	**Procentuální zastoupení hlavních složek esenciálního oleje [%]**	**RI**	**Zdroj**
1-Ethylbutyl-hydroperoxid	0,1	925	[26]
1-Methylbutyl-hydroperoxid	0,1	934	[26]
Pentylpropanoát	0,2 - 0,3	973	[23]
Okten-3-on	0,4 - 0,6	979	[23]
Myrcen	0,1 - 0,2	988	[23]
Sulcaton	0,9	1002	[19]
p-Cymen	0,1	1005	[26]
Sabinen	3,6	1013	[19]
β-Pinen	5,3	1014	[19]
β-trans-Ocimen	0,1	1017	[26]
β-cis-Ocimen	0,3 - 0,5	1029 - 1044	[23], [26]
γ-Terpinen	0,1	1042	[26]
β-Ocimen	1,8	1054	[19]
Nonanal	0,2	1092	[26]
Perylen	0,1 - 0,2	1094	[23]
Linalool	1,5	1098	[19]
Citronellal	0,2 - 7,5	1129 - 1147	[19], [23]
Kafr	0,3	1139	[19]
(*R*)-(+)-Citronellal	0,3	1145	[26]
Borneol	0,2	1147	[19]
Pinokarvon	0,4	1158	[19]

Tabulka 4: *Shrnutí aromaticky aktivních látek identifikovaných v esenciálním oleji z meduňky lékařské - pokračování*

Název sloučeniny	**Procentuální zastoupení hlavních složek esenciálního oleje [%]**	**RI**	**Zdroj**
Terpinen-4-ol	0,3	1165	[19]
α-Terpineol	0,7	1176	[19]
Isomenthol	1,4 - 1,6	1176	[23]
Dekanal	0,1	1206	[26]
Oktyl acetát	0,1	1211	[26]
Citronellol	0,1 - 0,2	1227	[23]
Neral	26,0 - 33,8	1236	[19], [23]
β-Citral	1,2	1241	[26]
Geraniol	0,2 - 0,8	1251	[23]
Methyl citronelát	0,4 - 0,7	1257 - 1264	[23], [26]
Geranial	34,6 - 50,5	1267	[19], [23]
α-Citral	2,1	1275	[26]
Karvakrol	0,2	1309	[26]
Methyl geraniát	0,2 - 0,3	1319 - 1333	[23], [26]
Isopulegol hydrát	2,1	1352	[26]
Geranyl acetát	0,9 - 2,2	1379 - 1385	[19], [23]
α-Kopeen	2,8	1394	[26]
β-Bourbonen	1,2	1402	[26]
β-Elemen	2,7	1408	[26]
β-Karyofylen	0,3 - 27,4	1408 - 1442	[19], [23], [26]
α-Bisabolen	0,7	1443	[19]
α-Cubeben	0,4	1450	[26]
Humulen	0,3	1460	[19]
α-Karyofylen	3,4	1476	[26]
β-Selinen	2,6	1476	[19]
allo-Aromadendren	0,9 - 1,8	1481 - 1495	[19], [26]
γ-Gurjunen	0,8	1486	[19]
β-Cubeben	27,7	1504	[26]
α-Selinen	0,4	1507	[19]
(*Z*,*E*)-*α*-Farnesen	1,4	1512	[26]
α-Muurolen	1,0	1520	[26]
α-Farnesen	0,7	1526	[26]
γ-Kadinen	1,4	1534	[26]
α-Kadinen	4,7	1540	[26]
Karyofylen oxid	4,1 - 5,3	1572 - 1601	[19], [26]
Germacrene D-4-ol	2,0	1596	[26]
α-Kadinol	4,1	1669	[26]
iso-Aromadendren epoxid	1,0	1819	[26]
Platambin	2,1	1849	[26]
Murolan-3,9-diene-10-peroxy	1,2	1884	[26]

Tabulka 4: *Shrnutí aromaticky aktivních látek identifikovaných v esenciálním oleji z meduňky lékařské - pokračování*

Název sloučeniny	Procentuální zastoupení hlavních složek esenciálního oleje [%]	RI	Zdroj
Aromadendren oxid	0,9	1891	[26]

RI – retenční index

2.3.2. Antimikrobiální aktivita meduňky

Meduňka lékařská je zdrojem biologicky aktivních látek a je široce používána v tradiční medicíně, kosmetice a kulinářství. Vzhledem k poptávce spotřebitelů po přirozenějších a bezpečnějších alternativách ke konzervaci potravin by mohla být právě meduňka a další podobné byliny považovány za potenciální přírodní konzervační látku potravin. Různé studie prokazují antimikrobiální aktivitu proti široké škále mikroorganismů, včetně důležitých patogenů přenášených potravinami [27].

Antimikrobiální aktivita byla zkoumána v rámci studie antibakteriální levandule a meduňky proti některým lidským patogenním bakteriím. Rostlinný materiál pro tuto studii byl sbírán v Íránu a následně z něj byly připraveny bylinné extrakty. Antimikrobiální aktivita byla zkoumána diskovou difúzní metodou. Výsledky této studie jsou uvedeny v ***Tabulce 5*** [28].

Tabulka 5: *Antimikrobiální aktivita extraktů z meduňky lékařské (velikost inhibičních zón uvedena v mm)* [28]

	Mikroorganismy	Extrakt meduňky lékařské
Grampozitivní	*Staphylococcus aureus*	35
	Bacillus cereus	32
	Bacillus megaterium	30
	Bacillus subtilis	30
	Sarcina lutea	25
	Streptococcus β-haemolyticus	25
Gramnegativní	*Salmonella typhi*	22
	Shigella dysenteriae	21
	Shigella shiga	20
	Shigella sonnei	21
	Shigella boydii	20
	Escherichia coli	22
	Klebsiella spp.	22
	Pseudomonas aeruginosa	20
	Proteus spp.	20

2.3.3. Antioxidační aktivita

V rámci studie, která zkoumala fytochemické, antioxidační a antibakteriální vlastnosti esenciálních olejů meduňky a *Dracocephalum moldavica,* neboli včelník moldavský, byla

změřena antioxidační aktivita metodou TEAC a porovnána s kyselinou askorbovou a BHT, neboli butylhydroxytoluenem. Výsledky této studie jsou uvedeny v ***Tabulce 6*** [29].

Tabulka 6: *Antioxidační aktivita měřená metodou TEAC pro meduňku lékařskou, včelník moldavský, kyselinu askorbovou a BHT* [29]

	Koncentrace [mg.ml^{-1}]			
Koncentrace extraktů	**1,0 mg.ml^{-1}**	**2,5 mg.ml^{-1}**	**5,0 mg.ml^{-1}**	**10,0 mg.ml^{-1}**
Meduňka lékařská	15,1 ± 0,4	29,8 ± 0,9	47,3 ± 2,2	65,5 ± 1,5
Včelník moldavský	14,2 ± 1,2	27,6 ± 3,3	43,3 ± 3,8	60,8 ± 3,5
Kyselina askorbová	98,4 ± 0,1	98,8 ± 0,0	99,2 ± 0,0	99,7 ± 0,1
BHT	98,2 ± 0,2	98,7 ± 0,1	99,4 ± 0,1	99,7 ± 0,2

BHT - butylhydroxytoluen

V této studii došli k závěru, že zkoumané antioxidační vlastnosti esenciálních olejů byly nižší než kyseliny askorbové a BHT. Byly porovnány i další studie a došly k závěru, že antioxidační vlastnosti ovlivňují různé faktory, jako je klima, sezónní a geografické podmínky. Díky těmto faktorům dochází k odlišnostem ve složení esenciálních olejů a extraktů, což má za následek různé antioxidační vlastnosti [29].

2.4. Máta peprná (*Mentha piperita*)

Máta peprná (***Obrázek 3***) je silně aromatická trvalá bylina z čeledi *Lamiaceae*. Jedná se o rostlinu evropského původu. Je velmi ceněnou rostlinou pro Řeky a Římany. Mátu používají k provonění domovů, jako přísadu do koupelí k posílení a provonění těla. Původ této byliny je připisován Anglii. Z britských ostrovů byla exportována do Ameriky. V Evropě jsou hlavními producenty této byliny Francie, Německo a Itálie [30].

Máta peprná vznikla původně z křížení máty klasnaté a máty vodní. Její rodové jméno *Mentha* je odvozeno z řeckého *Mintha*, což je jméno bájné nymfy, která se proměnila v tuto rostlinu. Druhové jméno je odvozeno z latinského *piper*, což znamená pepř. Toto jméno dostala kvůli aromatické a štiplavé chuti [31].

Obrázek 3: *Máta peprná – Mentha piperita* [32]

Máta peprná je jedním z nejstarších rostlinných léků na světě. Sběr sušené máty peprné sahá až do roku 1000 př. n. l. a její použití je doloženo ve starověkém Egyptě, Řecku a Římě. Kromě kulinářského použití se máta hojně využívá v tradiční medicíně, slouží především k léčbě gastrointestinálních poruch. Máta se dříve používala při bolestech břicha a hrudi, jako čaj se používá k povzbuzení trávení, zmírnění bolesti žaludku. Pomocí ní se léčily poruchy žlučových cest, dyspepsiie, enteritida, flatulence, gastritida, acidita žaludku, střevní kolika a křeče žlučníku, žlučovodu. Máta napomáhá trávení tuků [33].

Máta peprná je hojně využívána pro své účinky, jako jsou tvorba antibiofilmu, antivirové, antifungální, antimikrobiální, analgetické a antioxidační. Využívá se pro balení potravin a tvorbu biologicky odbouratelného filmu [34].

Je využívána v různých formách, jako je olej, listy, extrakty z listů. Esenciální olej je hojně využívaný v kosmetických produktech, produktech osobní hygieny, potravinách a farmacii. Využívá se v aromaterapii, pro své terapeutické vlastnosti, koupelových přípravcích, ústních vodách, zubních pastách. Dále je používána pro zklidnění svědění a zmírnění podráždění a zánětu, s ohledem na možné alergické reakce [35].

2.4.1. Bioaktivní látky máty

Esenciální oleje jsou přírodní a těkavé sekundární metabolity vyznačující se silnou vůní a komplexním složením. Obvykle se získávají parní nebo hydrodestilací z různých aromatických rostlin [36].

Extrakt z máty peprné obsahuje mnoho bioaktivních látek, jako je menthol, menthon, menthofuran, eukalyptol [38]. V listech máty peprné je nejvíce zastoupena třída terpenů, dále jsou tyto rostliny bohaté na flavonoidy, mastné kyseliny, xanthofyly, karoteny, vitaminy, jako jsou α-tokoferoly a kyselina askorbová [37].

V ***Tabulce 7*** je uvedeno shrnutí tří publikovaných studií. A to konkrétně studie zabývající se chemickým složením, antibakteriální a antifungální aktivitou esenciálních olejů z máty peprné [34]. Dále studie zabývající se množstvím a chemickým složením esenciálního oleje z listů máty peprné při různých metodách sušení [36]. Třetí studie se zabývá mátou peprnou z Maroka, jejím chemickým složením a antimikrobiální aktivitou esenciálního oleje [37].

Tabulka 7: *Shrnutí aromaticky aktivních látek identifikovaných v esenciálním oleji z máty peprné*

Název sloučeniny	**Procentuální zastoupení hlavních složek esenciálního oleje [%]**	**RI**	**Zdroj**
α-Thujen	0,0 - 0,3	925 - 931	[36], [37]
α-Pinen	0,3 - 0,4	933 - 939	[36], [37]
Verbenen	< 0,1	967	[36]
Sabinen	0,4 - 1,4	973 - 979	[36], [37]
β-Pinen	0,5 - 2,1	977 - 980	[34], [36], [37]
β-Myrcen	1,2	993	[34]
Myrcen	0,1	989	[36]
Oktan-3-ol	0,1	994	[36]
α-Felandren	< 0,1	1005	[37]
α-Terpinen	0,1	1017	[36]
p-Cymen	0,0 - 0,1	1024 - 1026	[36], [37]
Limonen	1,9 - 3,0	1028 - 1033	[36], [37]
Eukalyptol	5,1 - 6,1	1025 - 1033	[34], [36], [37]
β-Felandren	1,5	1031	[34]
cis-*p*-Ocimen	0,1	1035	[34]
γ-Terpinen	0,2	1058	[34]
cis-Sabinen hydrát	0,2 - 1,0	1067 - 1070	[36], [37]
Linalool	0,1 - 0,4	1082 - 1100	[34], [36], [37]
α-Terpinolen	0,1 - 2,0	1083 - 1088	[34], [36]
Chrysanthenon	0,4	1123	[37]
iso-Pulegol	0,1	1146	[36]
Menthon	7,4 - 24,6	1152 - 1156	[34], [36], [37]
Menthofuran	6,9 - 13,2	1156 - 1165	[34], [36], [37]
Neomenthol	2,4 - 4,8	1165 - 1166	[36], [37]
Menthol	36,0 - 46,3	1171 - 1178	[36], [37]

Tabulka 7: *Shrnutí aromaticky aktivních látek identifikovaných v esenciálním oleji z máty peprné - pokračování*

Název sloučeniny	Procentuální zastoupení hlavních složek esenciálního oleje [%]	RI	Zdroj
Terpinen-4-ol	0,0 - 0,9	1177 - 1180	[36], [37]
α-Terpinoel	0,0 - 0,2	1189 - 1192	[36], [37]
cis-Karveol	3,5	1203	[34]
Pulegon	0,5 - 1,4	1212 - 1240	[34], [36]
trans-Karveol	1,7	1220	[34]
Karvon	1,0 - 2,3	1243 - 1254	[34], [37]
Piperiton	0,4	1255	[36]
Neomenthyl acetát	0,4	1273	[37]
Menthol acetát	0,2	1275	[36]
Menthyl acetát	4,8 - 12,1	1294 - 1295	[34], [36], [37]
Isomenthyl acetát	0,8	1305	[37]
α-Terpinyl acetát	< 0,1	1352	[37]
β-Elemen	0,0 - 1,3	1373 - 1393	[34], [36]
β-Bourbonen	0,1 - 0,4	1387 - 1388	[34], [37]
Eugenol	0,3	1392	[34]
α-Gurjunen	< 0,1	1409	[37]
β-Karyofylen	0,6 - 0,9	1418 - 1422	[36], [37]
trans-p-Farnesen	0,1	1457	[36]
α-Humulen	< 0,1	1460	[37]
Germacrene-D	1,0	1484	[36]
δ-Kadinen	< 0,1	1526	[36]
Spatulenol	0,1	1576	[34]
Karyofylenoxid	< 0,1	1587	[36]
Viridiflorol	0,3	1595	[36]
τ-Kadinol	0,1	1632	[34]
Kubenol	0,6	1645	[34]

RI – retenční index

2.4.2. Antimikrobiální aktivita máty

Esenciální oleje jsou produkovány různými částmi rostlin jako sekundární metabolity, jsou komplexem přírodních lipofilních látek a skládají se ze dvou frakcí, a to těkavých a netěkavých. Mechanismy, kterými jsou různé esenciální oleje schopny poškodit bakterie, závisí na jejich složení. Obecně je antimikrobiální aktivita odvozena z kaskády reakcí, které zahrnují celou bakteriální buňku. Obecně platí, že grampozitivní bakterie jsou náchylnější na působení esenciálního oleje, než gramnegativní. Tento rozdíl se připisuje strukturálním rozdílům v buněčné stěně. Struktura grampozitivních bakterií usnadňuje průnik hydrofobních molekul

do buňky, kde může působit na bakteriální stěnu, cytoplazmatickou membránu nebo cytoplazmu [38].

Antimikrobiální aktivita byla zkoumána v rámci studie chemického složení, antibakteriální a antifungální aktivity esenciálních olejů máty peprné. Rostlinný materiál byl zakoupen na trhu v Jazanu v Saúdské Arábii. Esenciální olej byl připraven hydrodestilací po dobu 4 hodin. Antimikrobiální aktivita byla zkoumána diskovou difúzní metodou. Výsledky této studie jsou uvedeny v ***Tabulce 8*** [34].

Tabulka 8: *Antimikrobiální aktivita extraktů z máty peprné (velikost inhibičních zón uvedena v mm)* [34]

Mikroorganismy	Extrakt máty peprné
Bacillus cereus	32
Bacillus macerans	24
Bacillus maegaterium	10
Bacillus subtilis	38
Bacillus abortus	23
Bacillus cepacia	8
Enterobacter cloacae	16
Enterococcus faecalis	30
Listeria monocytogenes	17
Staphylococcus aureus	42
Micrococcus flavus	40
Staphylococcus epidermidis	35
Clavibacter michiganense	15
Streptococcus pyogenes	13
Acinetobacter baumannii	12
Escherichia coli	27
Klebsiella pneumoniae	14
Proteus mirabilis	12
Salmonella typhi	20
Citrobacter freundii	6
Enterobacter aerogenes	12
Salmonella enteritidis	30
Proteus vulgaris	4
Pseudomonsa syringae	3
Xanthomonas campestris	3

2.4.3. Antioxidační aktivita máty

Rostliny obsahují biologicky aktivní složky, které vykazují antioxidační aktivitu. Jejich antioxidační aktivita je způsobená obsahem fenolických látek. To jsou látky, které jsou syntetizovány jako obranné metabolity v rostlinách [39].

V rámci studie, která srovnává celkový obsah polyfenolických látek a antioxidační kapacitu v genotypech máty, která se používá jako koření, byly posuzovány tři druhy máty. Byla zkoumána *Mentha piperita*, *Mentha villoso-nervata* a *Mentha spicata*. Výsledky této studie jsou uvedeny v ***Tabulce 9*** [39].

Tabulka 9: *Celkový obsah polyfenolů a antioxidační aktivita měřená metodou TEAC pro Mentha piperita, Mentha villoso-narvata a Mentha spicata* [39]

Druh rostliny	Původ	TPC [$\mu g_{GAE}/g$]	ABTS [$\mu mol_{Trolox\ equiv}/g$]
Mentha piperita	Elazığ	24,0 ± 4,3	800,0 ± 1,1
	Gaziantep	21,6 ± 1,6	21,6 ± 1,6
Mentha villoso-nervata	Amasya	9,9 ± 1,6	550,2 ± 42,6
	Antalya	15,8 ± 3,5	561,7 ± 56,1
	Osmaniye	17,9 ± 2,7	551,5 ± 70,3
	Amasya	21,2 ± 3,8	593,9 ± 6,6
Mentha spicata	Çorum	20,0 ± 2,3	664,6 ± 24,3
	Manisa	23,0 ± 3,8	705,1 ± 16,1
	Adana	19,4 ± 2,9	603,4 ± 16,8
	Karaman	14,6 ± 2,9	490,6 ± 10,7
	Amasya	17,6 ± 2,0	549,7 ± 17,3
	Tokat	28,3 ± 4,0	697,3 ± 10,6
	Nevşehir	9,4 ± 1,4	375,2 ± 18,2

2.5. Technologie výroby sirupů

Bylinný sirup je definován jako kombinovaný a koncentrovaný odvar s medovým cukrem nebo jiným cukrem. Základem takového sirupu je silný bylinný odvar. Bylinný odvar se poté smíchá s cukerným základem, který odvar zahustí a zakonzervuje. Bylinné sirupy se používají proti kašli a dalším onemocněním [40].

Bylinné sirupy lze rozdělit na [40]:

- Ochucené
- Léčivé
- Umělé

Výhodou bylinných sirupů, na rozdíl od umělých je, že nemají vedlejší účinky, jsou neškodné a snadno dostupné, zároveň obsahují mnoho antioxidačních látek a díky tomu vykazují konzervační účinky. Nevýhodou může být obsah rostlinného materiálu, při kolísání skladovací teploty může docházet ke krystalizaci sacharózy [40].

Pro přípravu odvaru z bylin je potřeba rostliný materiál, jako jsou listy, kůra, kořeny, plody, květy. Odvar se může vyrábět z čerstvých nebo sušených rostlinných materiálů. Rostlinný materiál musí být předpřipraven mletím, sušením, rozdrcením. Připravený materiál je smíchán s vodou nebo ethanolovým roztokem a směs je vařena zhruba 3 hodiny. Záleží na druhu rostlinného materiálu a použité extrakční kapalině. Následně je odvar ochlazen a zfiltrován [40].

V posledních letech jsou produkty rostlinného původu stále častěji vyhledávány jako léčivý přípravek, nutraceutika a kosmetické přípravky. Dále jsou bylinné přípravky využívány jako účinné terapeutické prostředky pro diabetiky, artritidy, jaterní nemoci, léky proti kašli a prostředky na zlepšení paměti [41].

2.6. Možnosti stanovení a získávání vybraných účinných látek bylin

2.6.1. Metody stanovení aromaticky aktivních látek

Identifikace a kvantifikace AAL vytvářených rostlinami přitahuje stále více vědecké pozornosti. Jedná se o látky, které jsou běžně používány v chemickém, farmaceutickém, potravinářském a kosmetickém průmyslu a aromaterapii. Za aroma těchto látek je zodpovědná chemická struktura a jejich koncentrace v rostlinném materiálu [42].

Stanovení AAL lze provádět analytickými technikami, jako jsou plynová chromatografie, která může být kombinována s hmotnostní spektrometrií nebo olfaktometrií, zpravidla po jejich extrakci a zakoncentrování [42].

2.6.1.1. Mikroextrakce tuhou fází

Mikroextrakce tuhou fází (SPME) byla představena na počátku 90. let 20. století Pawliszynem a spolupracovníky. SPME lze aplikovat umístěním SPME vlákna do příslušného headspace nebo ponořením do kapalného vzorku [43].

Jedná se o relativně novou extrakční techniku, která zahrnuje tyčinku nebo vlákno potažené sorbentem, které se umístí do lahvičky se vzorkem. Sloučeniny z kapalných nebo plynných vzorků se adsorbují na vlákno. Po dokončení extrakce se vlákno SPME vloží do vyhřívaného injektoru GC-MS, kde se analyty tepelně desorbují z vlákna a vstupují do analytické kolony. Vlákna jsou složena z 1 – 2 cm dlouhého taveného oxidu křemičitého potaženého polárními a nepolárními sorbenty [44].

SPME se nejčastěji používá pro extrakci a analýzu těkavých analytů při monitorování potravin a životního prostředí [44].

Jedná se o přímou, jednoduchou techniku, bez rozpouštědel. Velkou výhodou je, že vlákno lze přímo analyzovat termickou desorpcí a plynovou chromatografií nebo rozpouštědlovou desorpcí a kapalinovou chromatografií [45].

2.6.1.2. Plynová chromatografie

Plynová chromatografie je separační metoda, založená na distribuci složek analyzovaného vzorku mezi dvě fáze, a to plynnou (mobilní fáze) a kapalnou nebo pevnou fázi (stacionární fáze). Analyzované složky musí být v plynné fázi, následně se vždy separují v plynné fázi neboli nosném plynu. Nosný plyn transportuje kolonou složky analyzovaného vzorku a přitom se sám neúčastní separačního procesu. Jako nosný plyn se používají permanentní plyny, jako jsou helium, dusík, vodík, argon. Nosný plyn musí splňovat určité požadavky, jako je vysoká čistota, bez vlhkosti, nesmí obsahovat kyslík [46].

Mezi základní části plynového chromatografu patří zdroj nosného plynu, zařízení pro regulaci a měření průtoku nosného plynu, injektor, chromatografická kolona, termostat, detektor a zařízení pro zesílení, záznam a vyhodnocení signálu detektoru [46].

2.6.1.3. Hmotnostní spektrometrie

Pomocí hmotnostní spektrometrie určujeme hmotnost atomů, molekul a jejich částí po převedení na kladné nebo záporné ionty. Spojením MS s chromatografickými metodami se zvyšuje selektivita a umožňuje identifikaci komponent vzorku ve složité matrici [47].

Mezi základní části hmotnostního spektrometru patří vstup, iontový zdroj, hmotnostní systém, detektor, vakuový čerpací systém a vyhodnocovací zařízení. Iontový zdroj slouží k převedení analyzované látky do iontového stavu, dochází zde k většině fragmentačních reakcí. V rámci hmotnostního analyzátoru dochází k rozdělení iontů v poměru hmotnosti ku náboji (m/z). Rozdělené ionty poté dopadají na detektor, kde dochází k přeměně na měřitelný signál úměrný počtu dopadajících iontů. Tento signál je poté převeden do počítače, kde je převeden do formy hmotnostních spekter [47].

2.6.2. Metody získávání účinných látek z rostlinných materiálů

Rostlinné materiály lze extrahovat různými konvenčními a nekonvenčními metodami. Rozdíly v extrakčních postupech obvykle závisí na klíčových faktorech, kterými jsou doba extrakce, použitá teplota, velikost částic, poměr rozpouštědla ke vzorku, pH rozpouštědla [3].

2.6.2.1. Macerace

Macerace je jednoduchý způsob jak získat účinné látky z rostlinného materiálu. Nevýhodou této metody je dlouhá doba a nízká účinnost extrakce [48]. Rostlinný materiál se rozmělní na hrubý prášek, aby došlo k rozbití buněčných stěn rostliny a došlo tak k uvolnění účinných látek. Takto připravený materiál se převede do skleněné uzavíratelné nádoby. Do nádoby nalijeme rozpouštědlo, tak aby byl materiál ponořen, a nádoba je uzavřena. Nádoba se nechá stát 2-3 dny při pokojové teplotě za častého míchání [3].

Na konci macerace se zbytky rostlinného materiálu oddělí pomocí filtrace a rozpouštědlo se odpaří. Tato metoda je vhodná pro termolabilní látky [49].

2.6.2.2. Digesce

Jedná se o druh macerace. Během tohoto procesu se aplikuje mírné teplo. Používá se tehdy, když mírně zvýšená teplota není na závadu a díky použitému teplu se zvyšuje rozpouštěcí účinnost. Nejpoužívanější teploty jsou mezi 35-40°C, maximálně až 50°C. Část rostliny, ze které chceme extrahovat účinné látky je umístěna do nádoby s předehřátou kapalinou. Teplota se udržuje po celou dobu. Doba se pohybuje v širokém rozmezí od 0,5-24 hodin. S nádobou je pravidelně protřepáváno. Tento způsob se používá pro části rostlin, které obsahuje špatně rozpustné látky nebo polyfenolické sloučeniny [3].

2.6.2.3. Infuze

Jedná se o druh macerace, princip je stejný, ale proces trvá kratší dobu. Rostlinný materiál se rozemele a umístí se do čisté nádoby, následně je zalit extrakčním rozpouštědlem, které může být buď horké, nebo studené. Tento způsob je vhodný pro dobře rozpustné bioaktivní látky [49].

2.6.2.4. Dekokce

Extrakt obsahuje velké množství ve vodě rozpustných nečistot. Odvar nelze použít k extrakci termolabilních nebo těkavých látek [48].

Jedná se o extrakční metodu za horka při použití specifického objemu vody a rozpouštědla. Vysušený, rozemletý rostlinný materiál se umístí do čisté nádoby a zalije se extrakčním rozpouštědlem a promíchá se. Během celého procesu je nádoba zahřívána, aby se extrakce

urychlila. Tato metoda se používá pro extrakci ve vodě rozpustného a tepelně stabilního rostlinného materiálu [49].

2.6.2.5. Perkolace

Perkolace je účinnější než macerace, protože jde o kontinuální proces, při kterém je nasycené rozpouštědlo neustále nahrazováno čerstvým rozpouštědlem [48].

Při této metodě se používá perkolátor, což je skleněná nádoba s tvarem úzkého kužele a otvorem na obou koncích. Vysušený a rozemletý rostlinný materiál se zvlhčí extrakčním rozpouštědlem v čisté nádobě. Následně se přidá další množství rozpouštědla. Směs se udržuje po dobu 4 hodin. Poté je obsah přenesen do perkolátoru s uzavřeným spodním koncem a nechá se stát po dobu 24 hodin. Extrakční rozpouštědlo se pak nalévá shora, dokud není rostlinný materiál zcela nasycen. Poté se otevře spodní část perkolátoru a kapalina se nechává pomalu odkapat. Nepřetržitě se přilévá rozpouštědlo, aby extrakce mohla probíhat gravitační silou. Extrakt se oddělí filtrací a následnou dekantací [49].

2.6.2.6. Refluxní extrakce

Tento typ extrakce je účinnější než perlokace nebo macerace a vyžaduje kratší dobu extrakce a méně rozpouštědla. Refluxní extrakci nelze použít pro extrakci termolabilních látek [48].

2.6.2.7. Soxhletova extrakce

Soxhletova extrakční metoda spojuje výhody refluxní extrakce a perkolace. Jedná se o automatickou kontinuální extrakční metodu s vysokou účinností, která vyžaduje méně času a spotřeby rozpouštědla než macerace nebo perkolace [48].

Jedná se o kontinuální extrakci za tepla. Vysušený a rozemletý rostlinný materiál se vloží do extrakční patrony, rozpouštědlo se nalije do baňky Soxhletova přístroje. Rozpouštědlo se zahřívá a dochází k jeho odpaření. V chladiči potom rozpouštědlo kondenzuje a stéká dolů do extrakční komory, kde se dostane do kontaktu s rostlinným materiálem a dochází k extrakci. Tato metoda není vhodná pro termolabilní rostlinné materiály. Pomocí této metody můžeme extrahovat velké množství účinných látek za pomoci malého množství rozpouštědla [49].

2.6.2.8. Extrakce za pomoci mikrovln

Mikrovlny vytvářejí teplo interakcí s polárními sloučeninami, jako jsou voda, některé organické složky v rostlinném materiálu. Tato extrakce má mnoho výhod, jako je zvýšení výtěžnosti extraktu, snížení tepelné degradace, selektivní ohřev rostlinného materiálu. Jedná se o zelenou technologii, protože snižuje spotřebu organických rozpouštědel [48].

Jedná se o aplikaci elektromagnetického záření o frekvencích mezi 300 MHz a 300 GHz. Dochází k mikrovlnnému bombardování objektu, který může absorbovat elektromagnetickou energii a přeměnit ji na teplo. Vytvořené teplo usnadňuje pohyb rozpouštědla do rostlinného materiálu. Při použití polárního rozpouštědla dochází k rotaci dipólu a migraci iontů, což zvyšuje penetraci rozpouštědla a napomáhá procesu extrakce. Při použití nepolárního rozpouštědla, se bude uvolňovat pouze malé množství tepla a následná extrakce nebude probíhat tak účinně. Tato metoda je vhodná pouze pro fenolické sloučeniny a flavonoidy [49].

2.6.2.9. Extrakce za pomoci ultrazvuku

Ultrazvuková extrakce, neboli sonikace, využívá energii ultrazvukových vln. Pomocí ultrazvuku v rozpouštědle dochází k urychlení rozpouštění a difúzi rozpuštěné látky. Dochází k přenosu tepla, což zlepšuje účinnost extrakce. Výhodou této extrakce je nízká spotřeba rozpouštědel, energie a snížení extrakční teploty a doby [48].

Při tomto způsobu extrakce se aplikuje zvuková energie o vyšší frekvenci, než 20 kHz Dochází k narušení plochy rostlinného materiálu a jeho plocha povrchu se zvětšuje [49].

2.6.2.10. Další metody extrakce

Mezi další metody patří např. vysokotlaká extrakce, extrakce superkritickou tekutinou, pulzním elektrickým polem, extrakce za pomoci enzymu a destilace vodní parou [48].

Extrakty získané výše uvedenými metodami jsou složité komplexní směsi a vyžadují další separaci a čištění, aby se získala aktivní frakce nebo čisté přírodní produkty. Je možné použít různé metody separace na základě adsorpčních vlastností, rozdělovacího koeficientu, velikosti molekul (membránová filtrace, gelová filtrační chromatografie) nebo iontové síly. Chromatografie, zejména sloupcová, je hlavní metodou používanou k získání čistých přírodních látek ze směsi [48].

2.7. Antimikrobiální aktivita

Přírodní antimikrobiální látky lze získat z různého zdroje, jako z rostlin, zvířat, bakterií, řas a hub. Sloučeniny rostlinného původu jsou většinou sekundární metabolity. Nejzastoupenějšími sekundárními metabolity jsou fenolické látky nebo jejich kyslíkem substituované deriváty. Tyto sekundární metabolity mají různé výhody včetně antimikrobiálních vlastností proti patogenům, resp. obecně mikroorganismům. Hlavní sloučeniny, odpovědné za antimikrobiální aktivitu rostlin, jsou fenoly, fenolové kyseliny, chinony, saponiny, flavonoidy, třísloviny, kumariny, terpenoidy a alkaloidy. Variace ve struktuře a chemickém složení těchto sloučenin má za následek rozdíly v jejich antimikrobiálním působení [50].

Mechanismy účinku antimikrobiálních látek jsou velice rozmanité, od inhibice syntézy proteinů, inhibice metabolických drah, interference se syntézou buněčné stěny, inhibice DNA, až po zničení bakteriální membrány [51].

Rozlišujeme dva typy antimikrobiálních látek, a to fytoanticipiny a fytoalexiny. Fytoanticipiny působí jako základní chemická bariéra proti mikrobiálnímu napadení. Jsou to látky, které jsou syntetizovány ještě před napadením patogenem. To znamená, že existují ve zdravých rostlinách ve svých biologicky aktivních formách. Fytoalexiny jsou antimikrobiální sloučeniny produkované rostlinami v reakci na biotické a abiotické stresy. Jsou syntetizovány z prekurzorů jako odpověď na napadení patogenem [52].

Pro zjištění antimikrobiální aktivity se nejčastěji stanovuje minimální inhibiční koncentrace a minimální baktericidní koncentrace. Minimální inhibiční koncentrace (MIC) je nejnižší koncentrace, která je vyjádřena v $mg.l^{-1}$. Tato koncentrace za definovaných podmínek *in vitro* zabraňuje růstu bakterií v definovaném čase. Minimální baktericidní koncentrace (MBC) je nejnižší koncentrace antimikrobiální látky, vyjádřená v $mg.l^{-1}$, která za definovaných podmínek

in vitro snižuje o 99,9% počet organismů v médiu obsahujícím definované inokulum bakterií ve stanoveném čase [53].

2.7.1. Metody pro stanovení antimikrobiální aktivity

2.7.1.1. Jamková difuzní metoda

Na připravenou agarovou plotnu se nanese určitý objem mikrobiálního inokula. Pečlivě se rozetře po celém povrchu. Poté se sterilním korkovrtem prorazí otvor do agarové plotny. Do jamky se zavede určitý objem roztoku antimikrobiální látky nebo rostlinného extraktu v požadované koncentraci. Agarové plotny jsou inkubovány za vhodných podmínek v závislosti na testovaném mikroorganismu. Antimikrobiální látka difunduje agarovým médiem a inhibuje růst testovaného mikroorganismu [54].

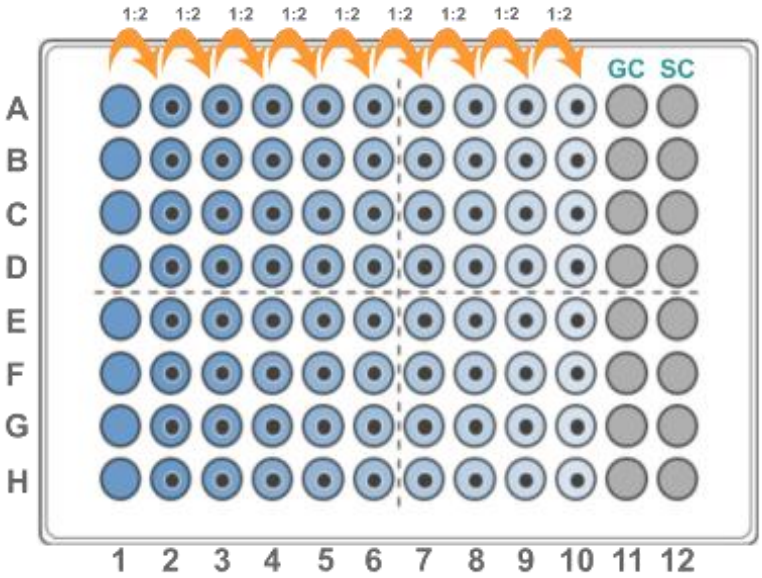
2.7.1.2. Disková difuzní metoda

Při této metodě se agarové plotny naočkují standardizovaným inokulem testovaného mikroorganismu. Na ztuhlý povrch agaru se umístí disky z filtračního papíru o průměru asi 6 mm. Tyto disky obsahují testovanou sloučeninu (rostlinný výtažek, esenciální olej, aj.) v požadované koncentraci. Počet disků na agarové plotně se nejčastěji pohybuje v rozmezí tři až šest, ale je možné použít i více disků. Využívá se tzv. kontrolního disku, se kterým srovnáváme účinek testované látky. Petriho misky s agarovými plotnami se inkubují za vhodných podmínek. Dochází k difuzi antimikrobiální (testované) látky do agaru. Tato látka následně inhibuje růst a množení mikroorganismu. Vyhodnocení této metody se provádí měřením inhibičních růstových zón [54].

Průměr inhibiční zóny souvisí s MIC pro konkrétní kombinaci bakterie a antimikrobiální látka. Inhibiční zóna nepřímo koreluje s hodnotami MIC, neboli čím větší je zóna inhibice růstu, tím nižší je potřebná koncentrace antimikrobiální látky k inhibici růstu [55].

2.7.1.3. Bujónová diluční metoda

Při bujónové diluční metodě dochází k dvojnásobnému sériovému ředění antimikrobiální látky v kapalném růstovém médiu. Médium je předem naočkováno definovaným množstvím testovaného mikroorganismu. Dříve se tato metoda prováděla ve zkumavkách, ale dnes se běžně využívají 96ti jamkové destičky (***Obrázek 4***). Destičky se inkubují a následně jsou změřeny pomocí čtečky mikrodestiček. Pomocí této metody určíme nejnižší účinnou koncentraci antimikrobiální látky [56].



Obrázek 4: *Schématické znázornění 10x dvojnásobného sériového ředění, GC - kontrola růstu, SC – kontrola sterility, A-H – zkoumané látky* [57]

2.7.1.4. Agarová diluční metoda

Do agarového média jsou přidány různé koncentrace antimikrobiální látky. Agar se nalije do Petriho misek. Jakmile agar ztuhne a vysuší se, můžete na jednu misku nanést až 60 mikrobiálních inokul. Po inkubaci misek se MIC určí identifikací nejnižší antimikrobiální koncentrace, která zcela inhibuje viditelný mikrobiální růst. Touto metodou lze testovat více mikrobiálních patogenů proti jedné sloučenině [56].

2.7.1.5. Antimikrobiální gradientová metoda – E-test

Tato metoda kombinuje princip dilučních a difúzních metod za účelem stanovení MIC. Jedná se o proužek se zvyšujícím koncentračním gradientem antimikrobiální látky. Tento proužek se položí na povrch agaru, který byl předem naočkován testovacím mikroorganismem [54]Na agarovou plotnu je možné položit až pět nebo šest proužků v radiálním uspořádání [56].

Během inkubace antimikrobiální látka difunduje do média a vytvoří se elipsa inhibice růstu. Hodnota MIC odpovídá hodnotě na stupnici koncentrace, která se nachází v místě, kde se elipsa a proužek protínají [56].

Jedná se o rychlý a snadno použitelný test. Nevýhoda této metody je cena, pokud je testováno větší množství vzorků. Pomocí této metody můžeme stanovit antibakteriální, antimykotické a antimykobakteriální účinky zkoumaných látek [58], [59].

2.8. Antioxidační aktivita

Stárnutí u mnohobuněčných organismů je biologický proces charakterizovaný úpadkem buněčných funkcí a sníženou schopností obnovy tkání, což vede ke snížení schopnosti působit proti environmentálním stresorům. Druhy reaktivního kyslíku (ROS), uvolňované několika endogenními a exogenními procesy, mohou způsobit důležité oxidační poškození DNA, proteinů a lipidů, což vede k důležitým buněčným dysfunkcím. Nerovnováha mezi produkcí ROS a antioxidační obranou způsobuje stavy oxidačního stresu [1].

Nadměrná tvorba (ROS) v těle způsobuje oxidační stres. Oxidační stres je škodlivý proces vedoucí k oxidaci biomolekul, jako jsou proteiny, lipidy, sacharidy a DNA. Oxidační stres způsobuje řadu onemocnění, jako kardiovaskulární onemocnění, artritida, diabetes 2. typu a také různé typy rakoviny, autoimunitní onemocnění a neurodegenerativní onemocnění. Lidské tělo se proti ROS umí bránit pomocí endogenních antioxidačních obranných mechanismů, pomocí různých enzymů (kataláza, superoxiddismutáza, glutathionreduktáza, glutathionperoxidáza), nízkomolekulárních antioxidantů (kyselina močová, glutathion, albumin, bilirubin), některých vitamínů (kyselina askorbová, α-tokoferol) a také karotenoidů. Jakmile jsou endogenní antioxidační systémy v lidském těle vystaveny nadměrné produkci volných radikálů a ROS, je potřeba přijímat i externí zdroje antioxidantů. Antioxidační sloučeniny jsou produkovány v rostlinných materiálech, živočišných tkáních a mikroorganismech [7].

Antioxidanty jsou schopny inhibovat nebo zpomalovat oxidaci jiných molekul v potravinách a biologických systémech prostřednictvím různých mechanismů. Mohou působit kooperativně prostřednictvím několika mechanismů. Tyto způsoby zahrnují vychytávání volných radikálů, zhášení singletového kyslíku, inaktivaci peroxidů a jiných ROS, chelataci kovových iontů, zhášení sekundárních oxidačních produktů a inhibici prooxidačních enzymů [7].

Účinnost antioxidantů je obecně ovlivněna řadou faktorů, včetně jejich strukturních vlastností, koncentrace, teploty, typu oxidačního substrátu a fyzikálního stavu systému. Chemická struktura antioxidantů určuje jejich vnitřní reaktivitu vůči volným radikálům a tím i antioxidační aktivitu. Účinnost antioxidačních látek závisí také na jejich koncentraci a umístění v systému. Stejně tak i reakční kinetika hraje důležitou roli v jejich krátkodobé nebo dlouhodobé ochraně před oxidací [60].

2.8.1. Metody stanovení antioxidační aktivity

Metody stanovení antioxidační aktivity lze dělit dle dvou způsobů mechanismu antioxidační reakce. Rozlišujeme techniky přenosu atomů vodíku (HAT) a přenosu jednoho elektronu (ET). Metody založené na HAT měří schopnost antioxidační látky zachycovat volné radikály darováním vodíku. Metody ET spoléhají na redukční schopnost antioxidační látky přenosem jednoho elektronu [61].

Metody založené na přenosu atomů vodíku (HAT): ORAC, TRAP, chemiluminiscence

Metody založené na přenosu jednoho elektronu (ET): FRAP, CUPRAC

Metody založené na kombinaci obou technik: DPPH, TEAC, aktivita vychytávání hydroxylových radikálů, fosfomolybdenová metoda [61].

2.8.1.1. Trolox Equivalent Antioxidant Capacity – TEAC test

Při této metodě se používá kyselina 2,2'-azinobis(3-ethylbenzthiazolin-6-sulfonová), která při kontaktu s peroxodisíranem sodným/draselným nebo MnO_2 poskytuje modrozelený radikálový kation. Radikálový kation se redukuje v přítomnosti antioxidantů poskytujících vodík. Radikálový kation $ABTS^{\bullet+}$ má modrou barvu a absorbuje světlo při 734 nm. Jako standard se používá trolox, neboli kyselina 2,2'-azinobis(3-ethylbenzthiazolin-6-sulfonová). Radikálový kation $ABTS^{\bullet+}$ je reaktivní vůči většině antioxidantů včetně fenolů,

thiolů i vitaminu C. Během této reakce se modrý radikálový kation přemění zpět na svou bezbarvou neutrální formu [62].

Radikál ABTS je rozpustný ve vodném i organickém rozpouštědle, díky čemuž můžeme stanovit jak hydrofilní tak i lipofilní antioxidanty. Jedná se o poměrně jednoduchou metodu, ale může trvat dlouho, než radikál dosáhne koncového bodu [63].

2.8.1.2. DPPH (2,2-difenyl-1-pikrylhydrazyl) test

Jedná se o jednu z nejčastěji používaných metod založenou na přenosu jednoho elektronu s mechanismem založeným na přenosu atomu vodíku. DPPH je stabilní chromogenní radikál tmavě fialové barvy, který je komerčně dostupný. Při testu vychytávání DPPH antioxidant daruje elektron DPPH k jeho neutralizaci. Tato reakce je doprovázena změnou barvy, která je měřena při 517 nm. Změna barvy působí jako indikátor antioxidační aktivity [60].

Hodnocení výsledků této metody je uváděno jako parametr EC_{50}, tj. je definováno jako účinná koncentrace antioxidantu potřebná ke snížení počáteční koncentrace DPPH o 50%. Jedná se o jednoduchou techniku, která vyžaduje pouze UV spektrofotometr [60].

Molekula DPPH je charakterizována jako stabilní volný radikál díky delokalizaci náhradního elektronu přes molekulu jako celek. Což má za následek, že molekula nedimerizuje. Když se roztok DPPH smíchá s roztokem substrátu, který daruje atom vodíku, dochází ke vzniku redukované formy DPPH a fialová barva se postupně ztrácí [64].

2.8.1.3. Oxygen Radical Absorption Capacity – ORAC test

Metoda ORAC měří schopnost antioxidantů přerušit radikálový řetězec inhibicí oxidace peroxylových radikálů. Peroxylové radikály jsou převládajícími volnými radikály, které se vyskytují při oxidaci lipidů v potravinách a biologických systémech. Jako standardní antioxidant se používá trolox. Tato metoda měří schopnost antioxidantu darovat atom vodíku [60].

Tento test měří ztrátu fluorescence fluoresceinu v čase v důsledku tvorby peroxylových radikálů. Snížení fluorescence je sledováno opticky a antioxidační aktivita je stanovena zpomalením ztráty fluorescence v přítomnosti antioxidantu. Peroxylový radikál může oxidovat fluorescein, aniž by fluoreskoval. Antioxidanty tuto reakci potlačují mechanismem přenosu atomů vodíku a tak potlačují oxidační degradaci fluoresceinového signálu. Fluorescence se měří po dobu 30 minut při 485 nm, kdy dochází k excitaci a emisi při 538 nm [62].

2.8.1.4. Ferric Reducing Antioxidant Potencial – FRAP test

Metoda FRAP plazmy je založena na principu redukce železitého tripyridyltriazinového komplexu na železnatý tripyridyltriazinový komplex. K redukci dochází vlivem přítomnosti antioxidantů ve vzorku při nízkém pH. Železnatý tripyridyltriazinový komplex má modrou barvu s absorpčním maximem při 593 nm [63].

Výhodou této metody je, že je rychlá a jednoduchá, činidla pro její provedení jsou levná a není potřeba předúprava vzorku [63].

2.8.2. Stanovení celkových fenolů – Folin-Ciocalteu metoda

Folin-Ciocalteuová metoda byla vyvinuta v roce 1927 pro měření Tyrosinu. Činidlo se skládá ze směsi molybdenanu sodného, wolframanu sodného a dalších činidel. Reakci s fenoly vytváří modré zbarvení, které absorbuje při 765 nm. Tato metoda je hojně využívána v potravinářství a zemědělství pro stanovení obsahu polyfenolických sloučenin v rostlinných produktech [65].

Princip této metody spočívá v reakci mezi oxidačním činidlem a polyfenolickými látkami, jejímž výsledkem je tvorba modrého zbarvení úměrného koncentraci těchto látek. Ze složek činidla se snadněji redukují molybdenany než wolframany a tak dochází při většině reakcí k přenosu elektronu mezi molybdenany a polyfenolickými látkami. Během této metody probíhá reakce při pH 10, kterého se dosáhne přidáním uhličitanu sodného. Přesnost tohoto testu může být ovlivněna interferujícími látkami obsaženými v rostlinném materiálu, jako jsou kyselina dehydroaskorbová, redukující cukry, jako glukóza, frukóza [66].

2.9. Senzorická analýza

Senzorická analýza se využívá pro posouzení senzorické kvality vyrobeného produktu. Pro hodnocení je nutné odstranit rušivé vlivy prostředí, aby hodnotitel mohl lépe a přesněji hodnotit. Tyto podmínky jsou určeny mezinárodními normami ISO, kde nalezneme vybavení místnosti, způsob přípravy nebo předkládání vzorků. Místnost by měla být čistá, dobře větratelná a bez jakýchkoliv pachů, dostatečně prostorná. Stěny by měly být bílé barvy a podlaha a stoly z lehce umyvatelného materiálu. Teplota by neměla v místnosti kolísat, aby nedocházelo ke strukturálním změnám produktu. Nádobí, na kterém je produkt podáván by mělo být zdravotně nezávadné, bez chutě a vůně [67].

2.9.1. Pořadová zkouška

Pořadová zkouška je vhodná pro určení rozdílů mezi více než dvěma vzorky. Hodnotitel obdrží řadu vzorků, které seřadí dle sledovaného znaku [68].

2.9.2. Párová porovnávací zkouška

Jedná se o jednoduchou zkoušku, která je vhodná pro hodnotitele s malými zkušenostmi. Hodnotitel obdrží dva vzorky a má za úkol odpovědět na otázku zda se tyto dva vzorky liší. Pokud se tyto vzorky liší, musí hodnotitel odpovědět na další otázku, např., který vzorek má větší intenzitu sledovaného znaku [68].

2.9.3. Senzorické hodnocení profilovými metodami

Malé odlišnosti v chuti a vůni se nejčastěji hodnotí profilovými metodami. Hodnotitel si při této zkoušce rozděluje celkový vjem chuti nebo vůně na dílčí vjemy. Dílčí vjemy zaznamenává pomocí bodové nebo grafické stupnice [68].

3. EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST

3.1. Seznam použitých chemikálií

- Ethanol 96% p.a. - Penta s.r.o., ČR
- Kyselina gallová - Sigma-Aldrich, USA
- Follin-Ciocaltauovo činidlo - VWR Chemicals, ČR)
- Uhličitan sodný bezvodý - Centralchem s.r.o., SK
- ABTS - Sigma-Aldrich, USA)
- Trolox - Sigma-Aldrich, USA
- Peroxosíran draselný - Lach-Ner s.r.o., ČR
- Masopeptonový bujón - HiMedia Laboratories, ČR
- Sladinový bujón - HiMedia Laboratories, ČR)
- Masopeptonový agar - Nutrient Agar No. 2, HiMedia Laboratories, ČR
- Sladinový agar - Malt Extract Agar Base, HiMedia Laboratories, ČR

3.2. Seznam použitých pomůcek a přístrojů

- Předvážky - AND, EK-1200i, USA
- Analytické digitální váhy - GR-202-EC, HELAGO, Itálie
- UV-VIS spektrofotometr - Helios Gamma and Delta Spectronic Unicam, USA
- SPME vláknou DVB/CAR/PDMS 50/30 μm - Supelco, Bellefonte, Pennsylvania, USA
- Plynový chromatograf Trace^{TM} 1310 se split/splitless injektorem - Thermo Fisher Scientific INc., Waltham, MA, USA
- Hmotnostní detektor ISQTM LT Single Quadrupole - Thermo Fisher Scientific INc., Waltham, MA, USA
- Knihovna spekter - NIST/EPA/NIH, Gaithersburg, Maryland, USA
- Vyhodnocovací systém Xcalibur 2.2 - Thermo Scientific Inc., Waltham, MA, USA
- Vakuová rotační odparka RV06-ML - KIKA_WERKE, Německo
- Spektrofotometr Specord 50 plus - Analytik Jena, Německo
- Autokláv - Vaposteri, BMT, ČR
- Inkubátor - IP-100, Biotech, ČR
- Inkubátor - Binder BD 115, Německo
- Vortex - Heidolph, Reax top, USA
- Sušárna - Memmert, Německo
- Běžné laboratorní sklo a další vybavení

3.3. Seznam použitých mikroorganismů

Použité mikroorganismy pocházely z České sbírky mikroorganismů v Brně. Byly použity tři mikroorganismy *Bacillus cereus*, *Candida glabrata* a *Escherichia coli*. *Bacillus cereus* a *Candida glabrata* byly uchovávány v termostatu při laboratorní teplotě a *Escherichia coli* v lednici při 5°C. Kultivace *Bacillus cereus* a *Candida glabrata* probíhala na šikmém agaru v uzavřené zkumavce v termostatu. *Escherichia coli* byla uchovávána ve formě disků, následně byla kultivována v masopeptonovém bujonu a uložena do termostatu při 35°C.

3.4. Kultivační média a jejich příprava

Veškerá používaná média byla připravena podle návodu (viz dále). Jejich sterilace probíhala v autoklávu při teplotě 121,1°C a tlaku 101,3 kPa po dobu 30 minut.

3.4.1. Masopeptonový bujon

Bujon obsahuje pepton z živočišných tkání 10,0 $g.l^{-1}$, hovězí extrakt 10,0 $g.l^{-1}$, a chlorid sodný 5,0 $g.l^{-1}$.

Příprava: Do Erlenmeyerovy baňky bylo naváženo 25,0 g přípravku a přidáno 1000 ml destilované vody. Roztok byl zahříván do úplného rozpuštění a poté byl sterilizován v autoklávu při teplotě 121°C.

Toto kultivační médium bylo použito pro bakterie *Bacillus cereus* a *Escherichia coli*.

3.4.2. Sladinový bujon

Sladinový bujon obsahuje sladinový extrakt 13,0 $g \cdot l^{-1}$, želatinový pepton 5,5 $g \cdot l^{-1}$ a kvasinkový extrakt 0,5 $g \cdot l^{-1}$.

Příprava: Do Erlenmeyerovy baňky bylo naváženo 19,2 g přípravku a bylo přidáno 1000 ml destilované vody. Roztok byl zahříván do úplného rozpuštění a poté byl sterilizován v autoklávu při teplotě 121°C.

Toto kultivační médium bylo použito pro kvasinku *Candida glabrata*.

3.4.3. Nutrient Agar No. 2 (masopeptonový agar - MPA)

Nutrient Agar No. 2 se skládá z masového peptonu 10,0 $g \cdot l^{-1}$, hovězího extraktu 10,0 $g \cdot l^{-1}$, chloridu sodného 5,0 $g \cdot l^{-1}$ a agaru 15,0 $g \cdot l^{-1}$.

Příprava: Do Erlenmeyerovy baňky bylo naváženo 8,0 g přípravku a bylo přidáno 200 ml destilované vody. Roztok byl zahříván do úplného rozpuštění a poté byl sterilizován v autoklávu při teplotě 121°C.

Tento agar byl použit pro bakterie *Bacillus cereus* a *Escherichia coli*.

3.4.4. Malt Extract Agar Base (sladinový agar)

Malt Extract Agar Base obsahuje sladový extrakt 30,0 $g \cdot l^{-1}$, mykologický pepton 5,0 $g \cdot l^{-1}$ a agar 15,0 $g \cdot l^{-1}$.

Příprava: Do Erlenmeyerovy baňky bylo naváženo 10,0 g přípravku a bylo přidáno 200 ml destilované vody. Roztok byl ponechán 15 minut v klidu, aby nabobtnal a poté byl sterilizován v autoklávu při teplotě 121°C.

Tento agar byl použit pro kvasinku *Candida glabrata*.

3.5. Analyzované vzorky

V experimentální části diplomové práce byly analyzovány extrakty z šalvěje lékařské (*Salvia officinalis*), meduňky lékařské (*Melissa officinalis*) a máty peprné (*Mentha piperita*). Pro přípravu extraktů byly použity čerstvé byliny, pěstované za laboratorních podmínek (cca 23°C). Z extraktů byly následně připraveny bylinné sirupy, které byly taktéž analyzovány. Pro srovnání byly využity komerční bylinné sirupy z firmy Báťkovy sirupy s.r.o. (***Obrázek 5***).

Obrázek 5: *Komerční Báťkovy bylinné sirupy*

3.5.1. Báťkův komerční sirup – šalvěj

Složení: bylinný extrakt min. 55% (filtrovaná voda, bio šalvěj lékařská), sacharóza, kyselina citronová.

Skladování: chraňte před přímým slunečním zářením. Po otevření uchovávejte v chladu při teplotě 4 – 8°C a spotřebujte během 4 týdnů.

3.5.2. Báťkův komerční sirup – meduňka

Složení: bylinný extrakt min. 55% (filtrovaná voda, bio meduňka lékařská), sacharóza, kyselina citronová.

Skladování: chraňte před přímým slunečním zářením. Po otevření uchovávejte v chladu při teplotě 4 – 8°C a spotřebujte během 4 týdnů.

3.5.3. Báťkův komerční sirup – máta

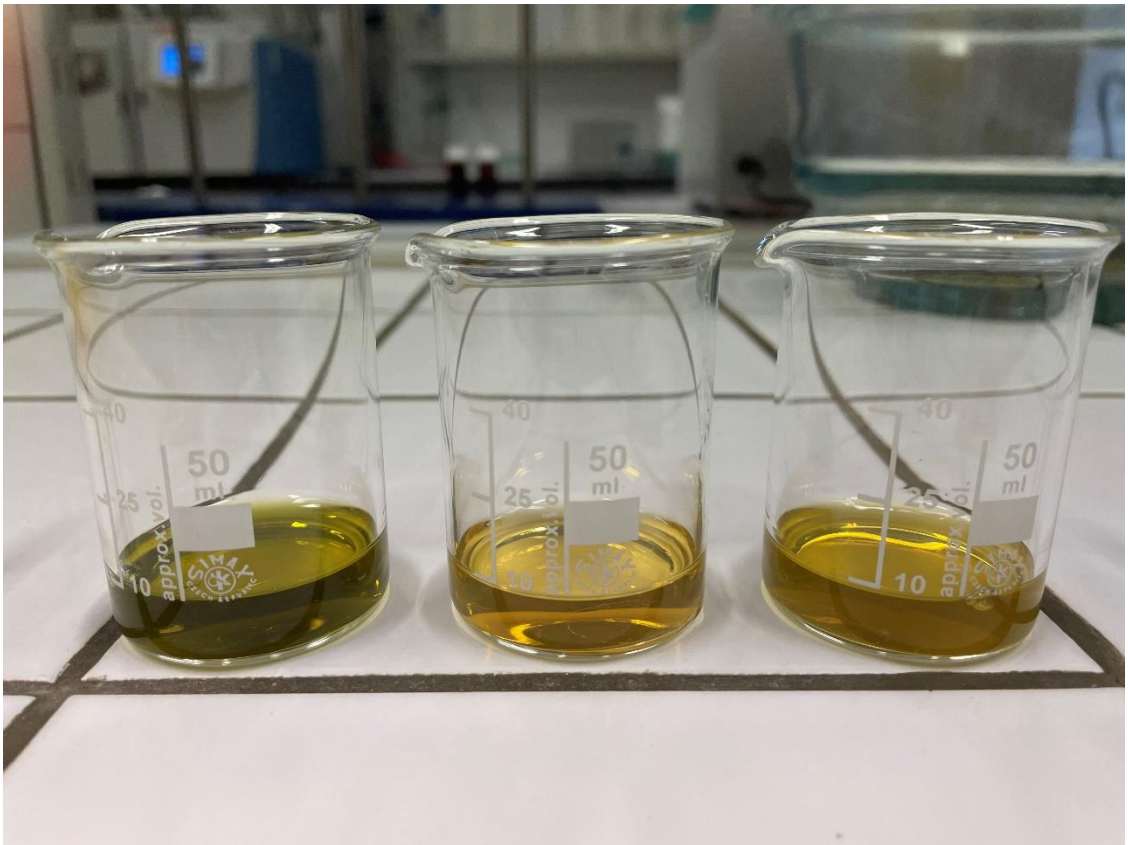
Složení: bylinný extrakt min. 55% (filtrovaná voda, bio máta), sacharóza, kyselina citronová.

Skladování: chraňte před přímým slunečním zářením. Po otevření uchovávejte v chladu při teplotě 4 – 8°C a spotřebujte během 4 týdnů.

3.5.4. Příprava bylinných extraktů

Postup přípravy extraktů byl převzat z disertační práce Lenky Burdějové [72].

Bylinné extrakty (***Obrázek 6***) byly připraveny metodou macerace. Navážené byliny (150 g) byly přeneseny do Erlenmeyerových baněk. Do připravených baněk byl nalit 25% vodný roztok ethanolu (1500 ml). Připravená suspenze byla promíchána tyčinkou a následně bylo hrdlo Erlenmeyerových baněk zakryto alobalem. Připravené vzorky byly vloženy do vodní lázně, kde byly zahřívány na teplotu 60°C po dobu 90 minut. Poté byly vyjmuty a ponechány v klidu, aby vychladly na laboratorní teplotu. Vzorky byly zfiltrovány a extrakt byl uložen k dalšímu zpracování [72].

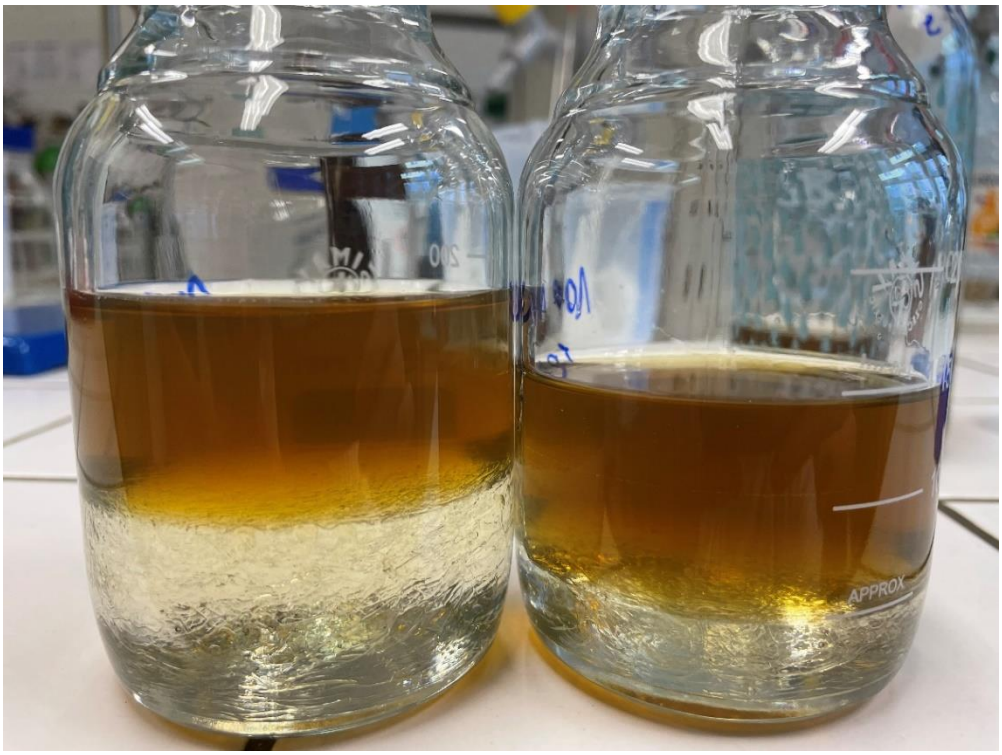


Obrázek 6: *Bylinné extrakty (zleva – máta peprná, meduňka lékařská, šalvěj lékařská)*

3.5.5. Příprava bylinných sirupů

Postup přípravy extraktů byl převzat z disertační práce Lenky Burdějové [72].

Pro přípravu bylinných sirupů (**Obrázek 7**) bylo nutné vyrobit sirupový základ. Sirupový základ byl tvořen 65% roztokem sacharosy, který byl okyselen kyselinou mléčnou. Kyselina mléčná byla vybrána, aby nepřekrývala chuť použitých bylin, protože má jemnější kyselou chuť. Na rozdíl od kyseliny citronové, která se využívá častěji. Kyselina mléčná byla do roztoku sacharosy přidána v koncentraci 2 $g.l^{-1}$. Roztok sacharosy s kyselinou mléčnou byl zahříván na mírném plamenu do úplného rozpuštění a vyčeření po dobu 4 hodin. Následně byl sirupový základ přelit do vysterilizovaných lahví a lahve byly uzavřeny. Po vychladnutí byl k sirupovému základu přidán bylinný extrakt. Od každé byliny byly vyrobeny tři sirupy v různých poměrech extraktu a sirupového základu. Sirupy byly pečlivě protřepány tak, aby vznikl homogenní sirup [72].



Obrázek 7: *Mísení bylinného extraktu meduňky lékařské a sirupového základu*

Pro snadnější orientaci byly jednotlivé vzorky sirupů označeny kódy a každý sirup nebo extrakt má přiřazenou barvu, pod kterou lze ve výsledcích hledat graf daného produktu (***Tabulka 10***).

Tabulka 10: *Seznam použitých bylinných extraktů a sirupů, jejich kódy a barevné označení*

Bylina	Extrakt/Sirup	Označení	Barva grafů - Excel
Šalvěj lékařská	Extrakt	-	
	Komerční sirup	ŠL-KS	
	Sirup 2:1	ŠL- 2:1	
	Sirup 1:1	ŠL- 1:1	
	Sirup 1:2	ŠL- 1:2	
Meduňka lékařská	Extrakt	-	
	Komerční sirup	ML-KS	
	Sirup 2:1	ML-2:1	
	Sirup 1:1	ML-1:1	
	Sirup 1:2	ML-1:2	
Máta peprná	Extrakt	-	
	Komerční sirup	MP-KS	
	Sirup 2:1	MP-2:1	
	Sirup 1:1	MP-1:1	
	Sirup 1:2	MP-1:2	

3.6. Použité metody a experimentální postupy

3.6.1. Stanovení aromatických látek

AAL v bylinných extraktech a sirupech byly stanoveny pomocí metody HS-SPME-GC-MS. Do vialky byly napipetovány 3 ml daného extraktu nebo sirupu. Vialky byly uzavřeny šroubovacím závitem s vzduchotěsným septem. Vzorky byly umístěny na autosampler a byla spuštěna analýza pomocí programu Xcalibur 2.2. AAL byly identifikovány pomocí hmotnostních spekter a retenčních indexů. Získaná hmotnostní spektra byly porovnány s knihovnou spekter NIST/EPA/NIH. Podmínky metody jsou uvedeny v ***Tabulce 11***, ***Tabulce 12*** a ***Tabulce 13***. Obsah těchto látek ve vzorcích byl vyjádřen na základě plochy píků.

Tabulka 11: *Podmínky SPME extrakce*

Podmínky SPME extrakce	
Doba inkubace (temperace)	10 minut
Teplota extrakce a inkubace (teplota agitátoru)	40°C
Doba extrakce	20 minut
Agitátor zapnutý	5 sekund
Agitátor vypnutý	60 sekund
Množství vzorku	3 ml
Hloubka ponoření vlákna do vialky	20 mm

Tabulka 12: *Podmínky GC-MS analýzy*

Podmínky GC-MS analýzy	
Kapilární kolona	TG-WaxMS (30 m x 0,25 mm x 0,5 µm)
Teplota injektoru (desorpce)	240°C
Doba desorpce	20 minut
Dávkování	Splitless, ventil uzavřený 10 minut
Hloubka ponoření vlákna	40 mm
Nosný plyn	Helium
Průtok nosného plynu	1 $ml.min^{-1}$
Teplotní program	40°C s výdrží 1 min., vzestupný gradient 5°$C.min^{-1}$ do 220°C s výdrží 22 minut
Celková doba analýzy	60 minut

Tabulka 13: *Hmotnostní detektor v módu EI*

Hmotnostní detektor v módu EI	
Energie ionizačních elektronů	70 eV
Teplota iontového zdroje	200°C
Skenovací rozsah $m \cdot z^{-1}$	30-370 amu
Rychlost skenovaní	0,2 sekund

3.6.2. Spektrofotometrické stanovení celkových fenolů

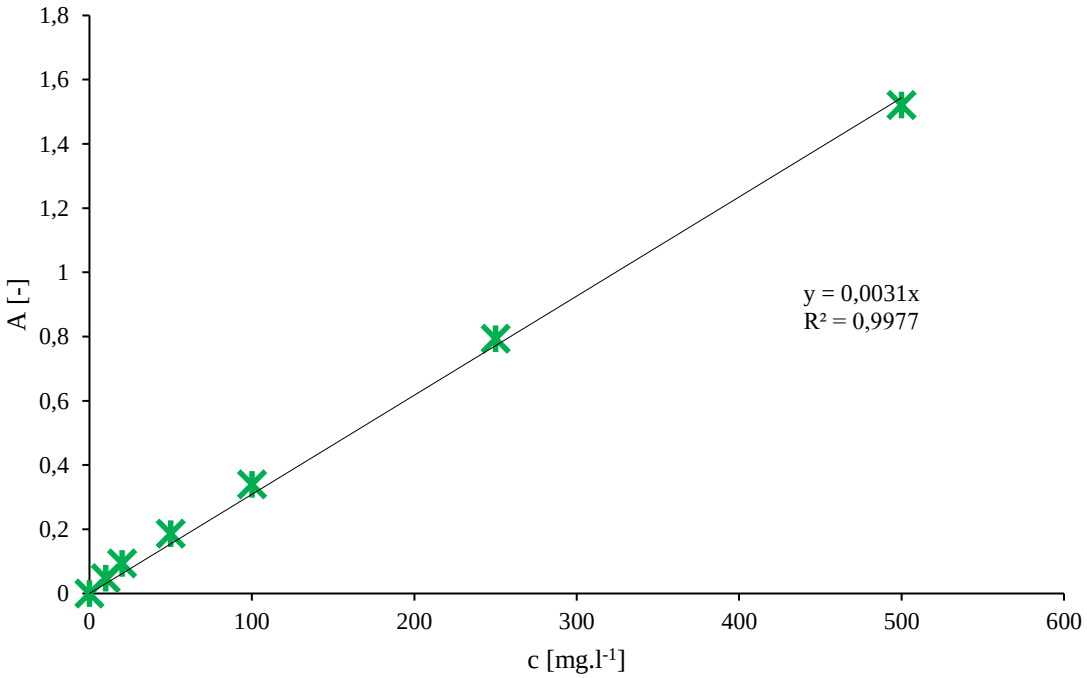
Celkový obsah fenolických látek byl stanoven spektofotomerticky pomocí metody Folin-Ciocalteau. Folin-Ciocalteauovo činidlo bylo zředěno destilovanou vodou v poměru 1:9. Dále byl připraven nasycený roztok Na_2CO_3. Bylo naváženo 7,5 g Na_2CO_3 a bylo přidáno 95 ml vody.

Do zkumavek bylo napipetováno 100 µl vzorku, 1 ml destilované vody a 1 ml Folin-Ciocalteauova činidla. Roztok ve zkumavce byl promíchán a uložen do temna na 5 minut. Zároveň byl i slepý vzorek, kde bylo místo vzorku přidáno 100 µl destilované vody. Po 5 minutách byl do roztoku přidán 1 ml Na_2CO_3 a vzorek byl opět promíchán a vložen zpět do temna na 30 minut. Po 30 minutách byl vzorek vyjmut a byla změřena jeho absorbance při 765 nm.

3.6.2.1. Sestrojení kalibrační křivky pro stanovení celkových fenolů

Pro sestrojení kalibrační křivky byl připraven roztok kyseliny gallové v koncentraci 1 $g.l^{-1}$. Postupným ředěním bylo připraveno šest roztoků o koncentracích 10, 20, 50, 100, 250 a 500 $mg.l^{-1}$.

Do zkumavek bylo napipetováno 1 ml Folin-Ciocalteauova činidla, 1 ml destilované vody a 100 µl jednotlivých roztoků připraveného standardu. Obsah zkumavek byl promíchán a po dobu 5 minut ponechán v temnu. Po 5 minutách byl přidán 1 ml roztoku uhličitanu sodného. Roztok ve zkumavce byl opět promíchán a uložen do temna na 30 minut. Po uplynutí doby byla zkumavka vyjmuta a roztok byl přelit do kyvety. Kyveta byla uložena do spektrofotometru a byla změřena absorbance při vlnové délce 765 nm.



Obrázek 8: *Graf kalibrační závislosti pro výpočet koncentrace vzorku*

3.6.2.2. Vyhodnocení výsledků

Pro výpočet koncentrace celkových polyfenolů v extraktech a sirupech byla použita rovnice kalibrační křivky kyseliny gallové (***Obrázek 8***).

3.6.3. Stanovení antioxidační aktivity pomocí metody $ABTS^{\bullet+}$ radikálu

Antioxidační aktivita byla stanovena pomocí metody TEAC, která využívá radikál kation $ABTS^{\bullet+}$. Metoda je založena na schopnosti vzorku zhášet radikál kation $ABTS^{\bullet+}$.

Byl připraven roztok ABTS o koncentraci 7 mmol.l^{-1}. Navážené množství ABTS bylo přeneseno do odměrné baňky o objemu 10 ml a doplněno destilovanou vodou. Následně byl do tohoto roztoku přidán peroxodisíran draselný o koncentraci 2,45 mmol.l^{-1}. Takto připravený roztok byl ponechán v temnu a chladu po dobu nejméně 12 hodin.

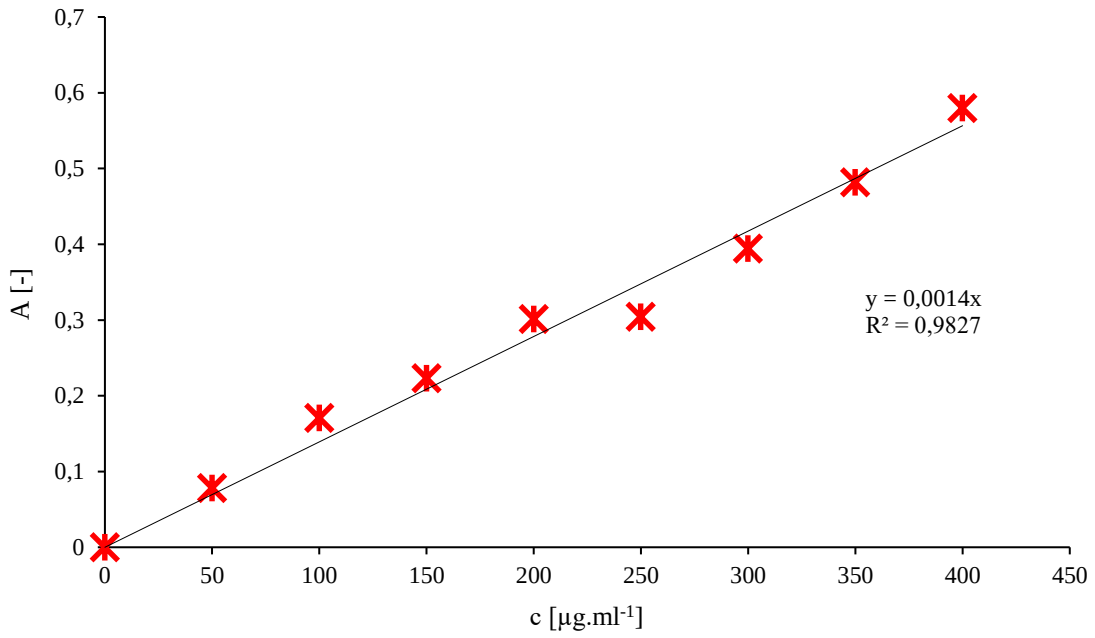
Pro měření byl připraven 60% roztok ethanolu, který byl použit jako slepý vzorek. Připravený roztok ABTS byl zředěn připraveným roztokem ethanolu, tak aby jeho absorbance byla 0,7 ± 0,05 při vlnové délce 734 nm. Na další měření byl použit naředěný roztok ABTS.

Do kyvety bylo napipetováno 2 ml připraveného roztoku ABTS a 20 µl vzorku. Roztok byl promíchán a vložen do přístroje, kde byl ponechán 10 minut. Vzorky byly proměřeny při vlnové délce 734 nm.

3.6.3.1. Sestrojení kalibrační křivky pro stanovení celkové antioxidační aktivity

Pro sestrojení kalibrační křivky byl připraven roztok troloxu o koncentraci 1 g.l^{-1}. Postupným ředění byly připraveny roztoky do odměrných baněk o koncentracích 0, 50, 100, 150, 200, 250, 300, 350 a 400 µg.ml^{-1}.

Do kyvety bylo napipetováno 2 ml připraveného roztoku ABTS a 20 µl připraveného roztoku troloxu. Roztok byl promíchán a vložen do přístroje, kde byl ponechán 10 minut. Vzorky byly proměřeny při vlnové délce 734 nm.



Obrázek 9: *Graf kalibrační závislosti pro výpočet koncentrace vzorku.*

3.6.3.2. Vyhodnocení výsledků

Výsledná absorbance vzorků byla vypočtena pomocí rovnice (1). Dále bylo vypočteno také procento zhášení radikálu pomocí rovnice (2). Pro výpočet koncentrace aktivních látek v extraktech a sirupech byla použita rovnice kalibrační křivky Troloxu (***Obrázek 9***). Koncentrace byla vztažena na ekvivalentní množství Troloxu a vyjádřena v µgTEAC.ml^{-1}.

$$A = A_0 - A_{10} \qquad (1)$$

$$zhášení\ radikálu\ (\%) = 100 \cdot \frac{A_0 - A_{10}}{A_0} \qquad (2)$$

3.6.4. Antimikrobiální aktivita

Pro stanovení antimikrobiální aktivity byly použity dvě metody – jamková a disková difúzní. Stanovení antimikrobiální aktivity bylo provedenou pouze u extraktů. Byli použity tři mikroorganismy, *Bacillus cereus*, *Escherichia coli* a kvasinka *Candida glabrata*.

Pro bakterie *Bacillus cereus* a *Escherichia coli* byl použit masopeptonový bujon a masopeptonový agar. Pro kvasinku *Candida glabrata* byl použit sladinový bujon a agar. Příprava médií viz kap. 3.4.

3.6.4.1. Přeočkování a kultivace mikroorganismů, příprava agarových ploten

Mikroorganismy byly přeočkovány ze šikmého agaru do tekutého živného média, kde byly 24 hodin kultivovány. Mezitím byly připraveny agarové plotny z masopeptonového a sladinového agaru (viz kap. 3.4.) s přídavkem 2 ml suspenze tekutého živného média s kultivovaným mikroorganismem.

3.6.4.2. Jamková difúzní metoda

Do agarových ploten byly vytvořeny 4 jamky pomocí korkovrtu. Do tři jamek bylo napipetováno 100 µl testovaného extraktu. Do poslední jamky bylo napipetováno taktéž 100 µl 25% vodného roztoku ethanolu. Petriho misky byly vloženy do termostatu, kde probíhala kultivace při 25°C. Tvorba inhibičních zón byla pozorována v časových intervalech. Inhibiční zóny byly měřeny pomocí pravítka s přesností na 1 mm.

3.6.4.3. Disková difúzní metoda

Na agarové plotny byly vloženy disky z filtračního papíru o průměru 6 mm pomocí sterilní pinzety. Pomocí mikropipety byl na tři disky nanesen testovaný extrakt. Na poslední disk byl nanesen 25% vodný roztok ethanolu. Petriho misky byly vloženy do termostatu, kde probíhala kultivace při 25°C. Tvorba inhibičních zón byla pozorována v časových intervalech. Inhibiční zóny byly měřeny pomocí pravítka s přesností na 1 mm.

3.6.4.4. Statistické vyhodnocení výsledků měření

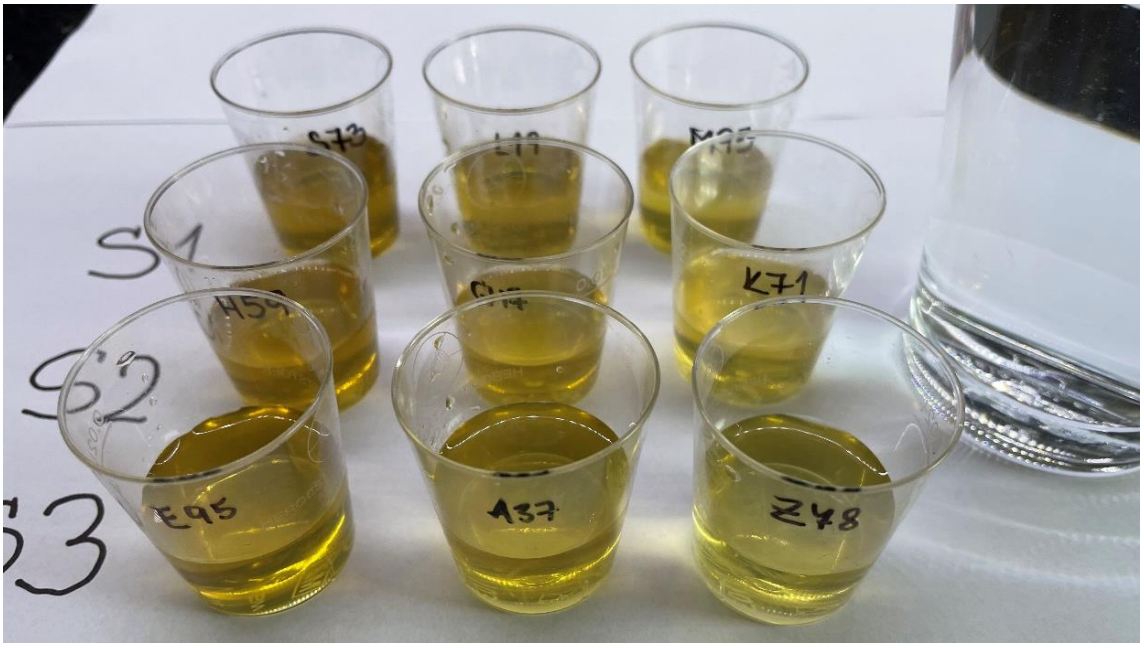
Každé měření bylo provedeno paralelně pro dvě Petriho misky se stejným mikroorganismem a stejným extraktem, při totožných podmínkách kultivace. Výsledky byly zpracovány pomocí programu MS Excel a následně vyjádřeny jako průměr (n = 2).

3.7. Senzorická analýza vyrobených a komerčních sirupů

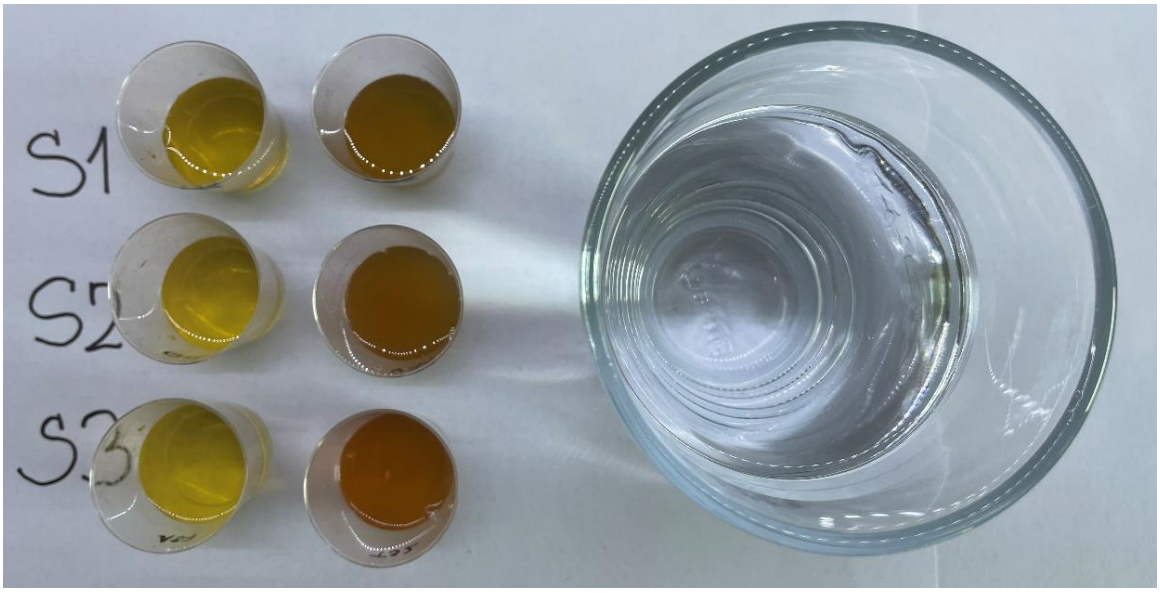
Senzorická analýza byla rozdělena na dvě části. V první části hodnotitelé hodnotili vyrobené sirupy, konkrétně tři sirupy od každé byliny (různý poměr sirupového základu a extraktu). Byl vždy vybrán jeden sirup od každé byliny, který nejvíce vyhovoval hodnotitelům a ten byl poté porovnán s obdobnými komerčními sirupy ve druhé části senzorické analýzy. Pro senzorickou analýzu byly použity stejné vzorky, jaké byly využity pro chemickou analýzu.

Panel hodnotitelů se skládal ze studentů 5. ročníku a doktorského studia Fakulty chemické VUT. Tito studenti absolvovali seminář senzorické analýzy. První části hodnocení se zúčastnilo 12 respondentů a druhé části 15.

Sirupy byly podávány v plastových kelímcích o objemu 20 ml. Pro neutralizaci chuti byla podávána pitná voda. Na ***Obrázku 10*** hodnocení první části senzorické analýzy a na ***Obrázku 11*** druhá část senzorické analýzy.



Obrázek 10: *Ukázka vzorků sirupů připravených pro senzorické hodnocení*



Obrázek 11: *Senzorická analýza – srovnání vyrobených vs. komerčních sirupů*

Hlavním cílem první části senzorické analýzy byl výběr optimálního poměru sirupového základu a bylinného extraktu. Zaměřovala se na konzistenci, na intenzitu a příjemnost vůně, hodnocené pomocí grafických stupnic. Dále zahrnovala profilový test vybraných chutí, a to konkrétně sladké, kyselé, hořké, bylinkové a jiné (pachutě). Poslední část zahrnovala hodnocení celkové přijatelnosti vzorku pomocí pořadového testu.

Druhá část senzorické analýzy se zaměřovala na rozdíly mezi vyrobenými a komerčními sirupy. Hodnotitelé posuzovali intenzitu a příjemnost vůně, barvu, následoval profilový test

vybraných chutí, konkrétně sladké, bylinkové a jiné (pachutě). Dále hodnotitelé porovnávali dva vzorky v rámci párové porovnávací zkoušky (vždy vyrobený vs. komerční sirup). V poslední části hodnotitelé pomocí pořadového testu porovnali vyrobené sirupy a komerční sirupy mezi sebou v rámci hodnocení celkové přijatelnosti vzorku.

Dotazníky pro senzorickou analýzu jsou uvedeny v ***Příloze 7*** a ***Příloze 8***.

K hodnocení byly použity nestrukturované grafické stupnice (10 cm).

3.7.1.1. Statistické vyhodnocení výsledků

Data byla zpracována vyhodnocena pomocí program MS Excel 2020. Výsledky senzorické analýzy jsou vyjádřeny graficky jako průměr ± směrodatná odchylka. Hodnoty odečtené ze stupnic jsou uvedené v cm.

4. VÝSLEDKY A DISKUZE

Podstatou diplomové práce bylo připravit a charakterizovat extrakt ze tří vybraných bylin čeledi *Lamiaceae*, šalvěje lékařské, meduňky lékařské a máty peprné. Jedná se o významné byliny, které jsou hojně využívány v lidovém léčitelství. Jsou to velmi aromatické byliny, které bylinným sirupům dodávají chuť a vůni.

Extrakt byl připraven tak, aby se docílilo co největšího možného zisku bioaktivních sloučenin a zároveň mohl být tento extrakt aplikován do bylinných sirupů. Proto byl vybrán extrakt, který byl macerován v 25% roztoku ethanolu.

U extraktů byla stanovena antioxidační aktivita, celkový obsah polyfenolů, antimikrobiální aktivita a profil AAL. Připravené a charakterizované extrakty byly použity pro výrobu sirupů, které byly následně charakterizovány obdobně jako extrakty. U sirupů byly stanoveny všechny výše uvedené parametry, kromě antimikrobiální aktivity. Sirupy byly podrobeny senzorické analýze, která se skládala ze dvou částí. V první části hodnotitelé vybrali nejlepší vyrobený sirup a v druhé části tento sirup porovnávali s komerčním.

4.1. Charakterizace bylinných extraktů

Připravené extrakty testovaných bylin (viz kap. 3.5.4.)byly charakterizovány z pohledu AAL, celkových polyfenolických sloučenin, antioxidační aktivity a antimikrobiální aktivity.

4.1.1. Obsah aromaticky aktivních látek v extraktech

AAL jsou sekundární metabolity, které slouží rostlinám pro obranu proti hmyzu a býložravcům. Tyto látky lze z rostlin izolovat pro další využití, ať už pro jejich chuťové a vonné vlastnosti, nebo pro jejich potenciální antioxidační a antimikrobiální vlastnosti.

AAL byly stanoveny pomocí metody HS-SPME-GC-MS. Následně byly identifikovány pomocí knihoven spekter a pomocí RI srovnáním s dostupnou literaturou [69]. U některých látek se vypočítány RI mírně lišil od rozmezí daného v literatuře, v tom případě je sloučenina označena hvězdičkou (*). Jednotlivé identifikované sloučeniny jsou zaznamenány v tabulkách. V ***Příloze 1*** pro šalvěj lékařskou, v ***Příloze 2*** pro meduňku lékařskou a v ***Příloze 3*** pro mátu peprnou. V tabulkách je přehled identifikovaných sloučenin, retenční čas a vypočítaný RI, zařazení do příslušné chemické skupiny, procentuální zastoupení dané látky ve vzorku a popis jejich vůně/aroma dle FEMA profilu (Flavour and Extract Manufacturers Association).

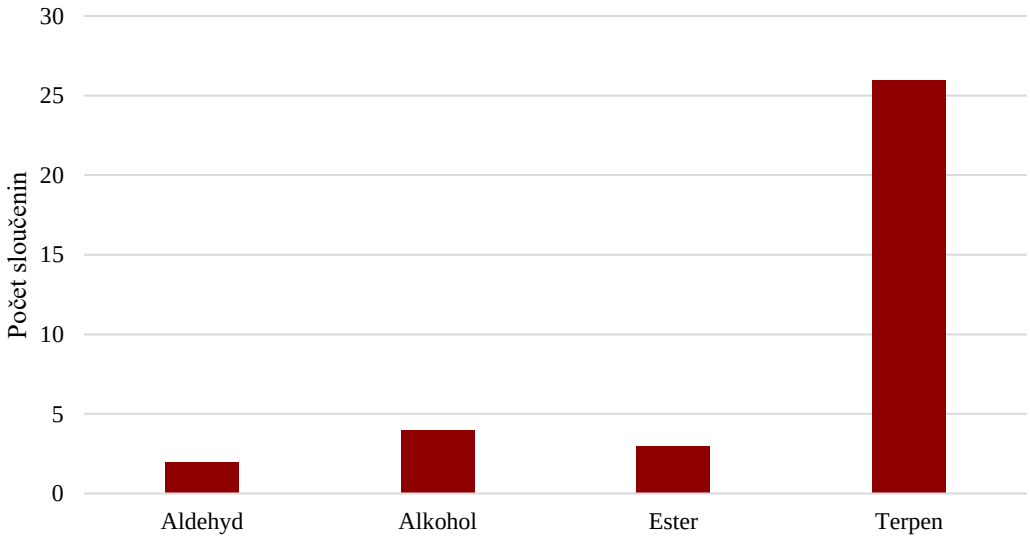
4.1.1.1. Aromaticky aktivní látky v extraktu šalvěje lékařské

Z celkového počtu 35 identifikovaných látek byly nejvíce zastoupeny terpeny (monoterpeny, seskviterpeny, terpenoidy). Identifikované látky jsou zaznamenány v ***Příloze 1***.

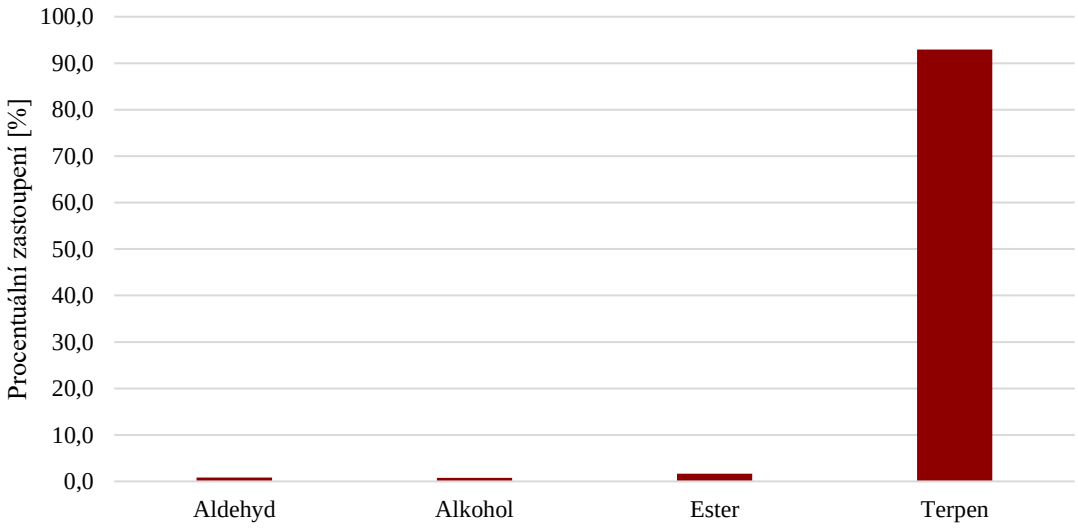
Zastoupení jednotlivých skupin je vyobrazeno na ***Obrázku 12***. Z grafu je patrné, že nejvíce zastoupenou skupinou jsou terpeny, pak aldehydy a alkoholy. Na ***Obrázku 13*** je vyobrazeno procentuální zastoupení jednotlivých skupin z hlediska jejich obsahu. Nejvíce zastoupenou skupinou jsou terpeny (92,9%), dále estery (1,4%), aldehydy (0,8%) a alkoholy (0,8%).

Na ***Obrázku 14*** jsou vyobrazeny identifikované látky a jejich procentuální zastoupení v extraktu. Nejvíce zastoupenými látkami v extraktu šalvěje lékařské byly kafr (19,5%), ledol (9,6%), eukalyptol (9,4%), viridiflorol (9,4%), palustrol (7,8%), α-thujon (7,4%) a β-thujon (5,4%).

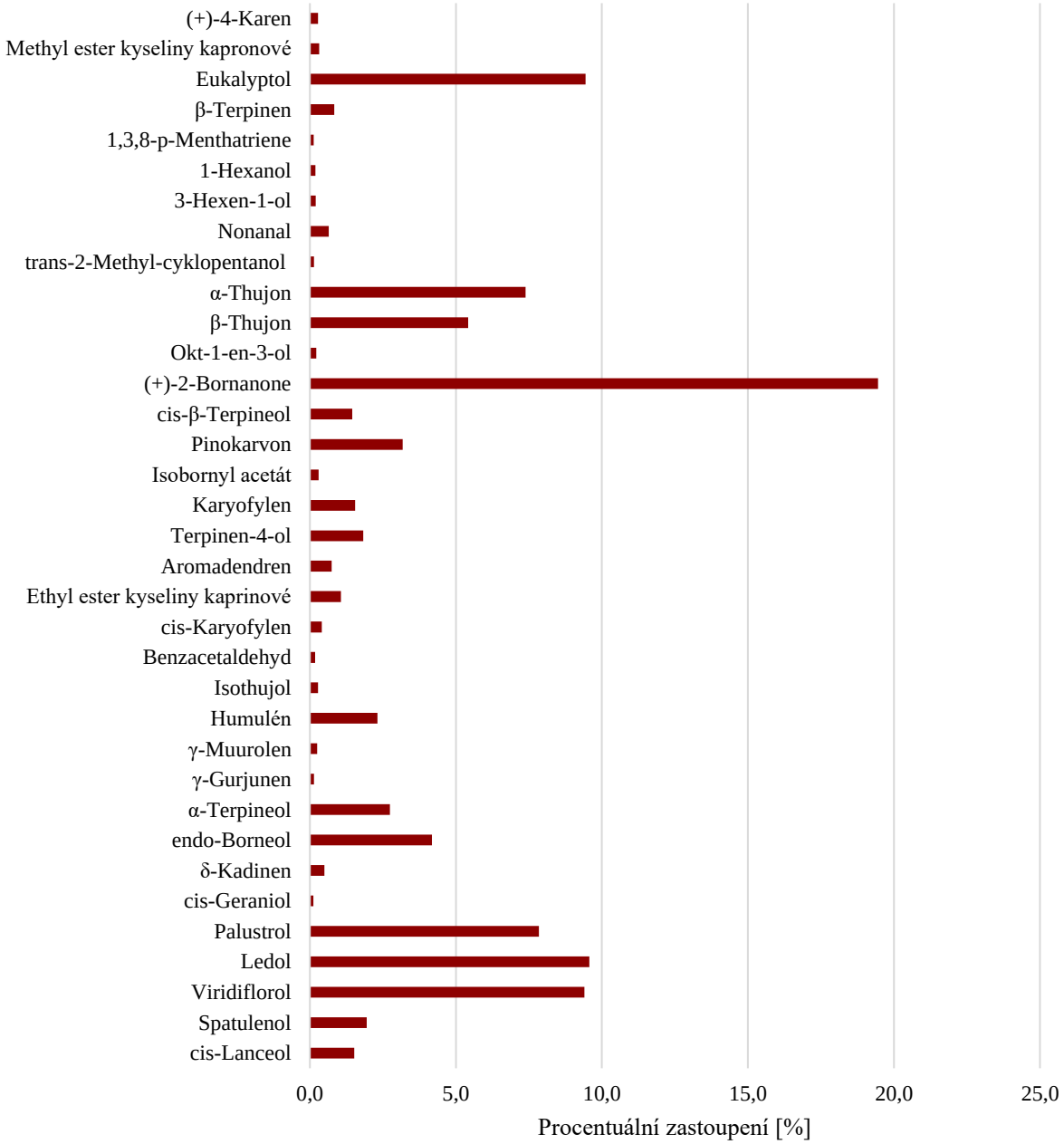
Všechny výše zmíněné látky, kromě Palustrolu byly stanoveny pomocí GC-MS v rámci studie vlivu různých extrakčních technik na kvalitu silice šalvěje lékařské. Ve vysokém množství se v silici nacházel kafr, eukalyptol, *α*-thujon a *β*-thujon a borneol [73]. Ve studii, která srovnávala AAL v destilátu a extraktu z šalvěje lékařské, byl identifikován kafr, eukalyptol (neboli 1,8-cineol), *cis*-thujon a *trans*-thujon, viridiflorol. Všechny tyto látky byly zastoupeny ve velkém množství. V rámci této studie také nebyl identifikován palustrol [74]. Výše zmíněné látky byly identifikovány i ve studii bioaktivních látek šalvěje lékařské. Extrakty byly v této studii připraveny hydrodestilací, Soxhletovou extrakcí, infuzí a dalšími metodami [75].



Obrázek 12: *Zastoupení jednotlivých skupin aromatických látek v extraktu šalvěje lékařské*



Obrázek 13: *Procentuální zastoupení jednotlivých skupin aromatických látek v extraktu šalvěje lékařské*



Obrázek 14: *Graf procentuálního zastoupení identifikovaných látek v extraktu šalvěje lékařské*

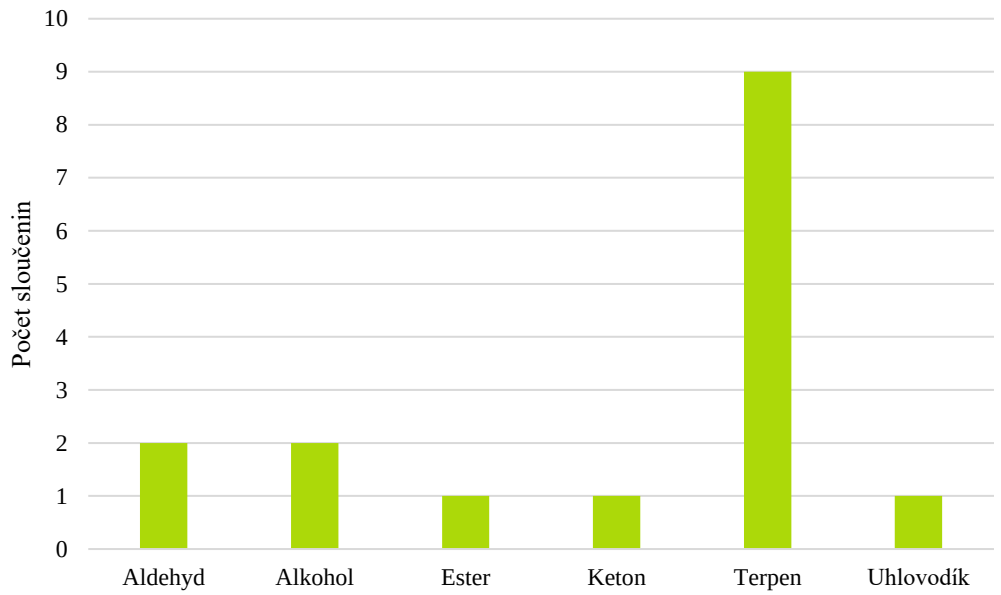
4.1.1.2. Aromaticky aktivní látky v extraktu meduňky lékařské

Z celkového počtu 16 identifikovaných látek byly opět nejvíce zastoupeny terpeny. Identifikované látky jsou zaznamenány v ***Příloze 2***.

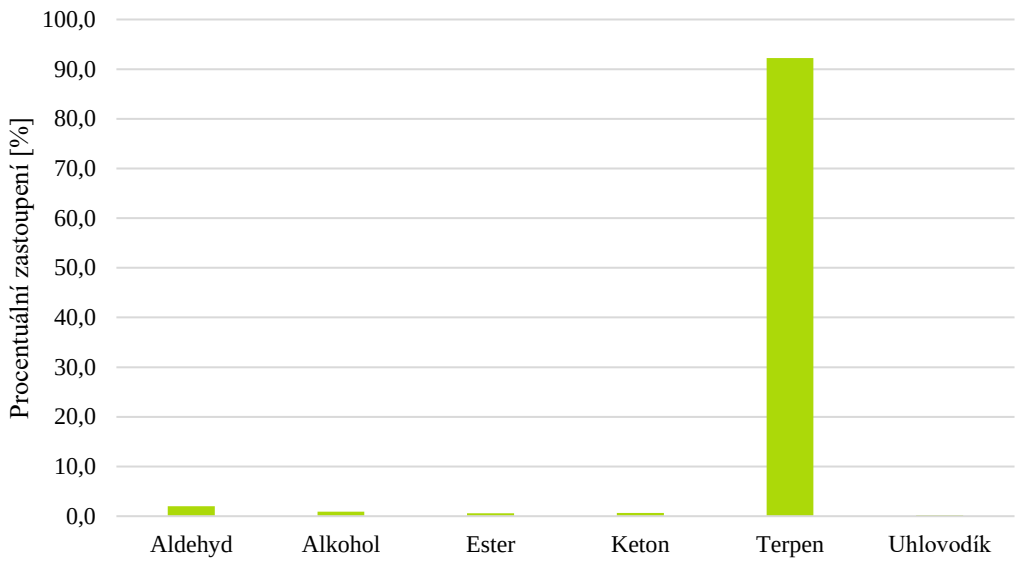
Zastoupení jednotlivých skupin je vyobrazeno na ***Obrázku 15***. Z grafu je patrné, že nejvíce zastoupenou skupinou jsou terpeny, pak aldehydy a alkoholy. Na ***Obrázku 16*** je vyobrazeno procentuální zastoupení jednotlivých skupin. Vidíme, že nejvíce zastoupenou skupinou jsou terpeny (92,2%), dále aldehydy (2,0%), alkoholy (0,9%), ketony (0,7%), estery (0,6%) a uhlovodík (0,2%).

Na ***Obrázkzu 17*** jsou vyobrazeny identifikované látky a jejich procentuální zastoupení v extraktu. Nejvíce zastoupenými látkami v extraktu meduňky lékařské byly *α*-citral (34,9%), *β*-citral (25,7%), geraniol (22,4%), citronellol (4,6%), citronellal (2,5%), nonanal (1,4%) a karvon (1,1%).

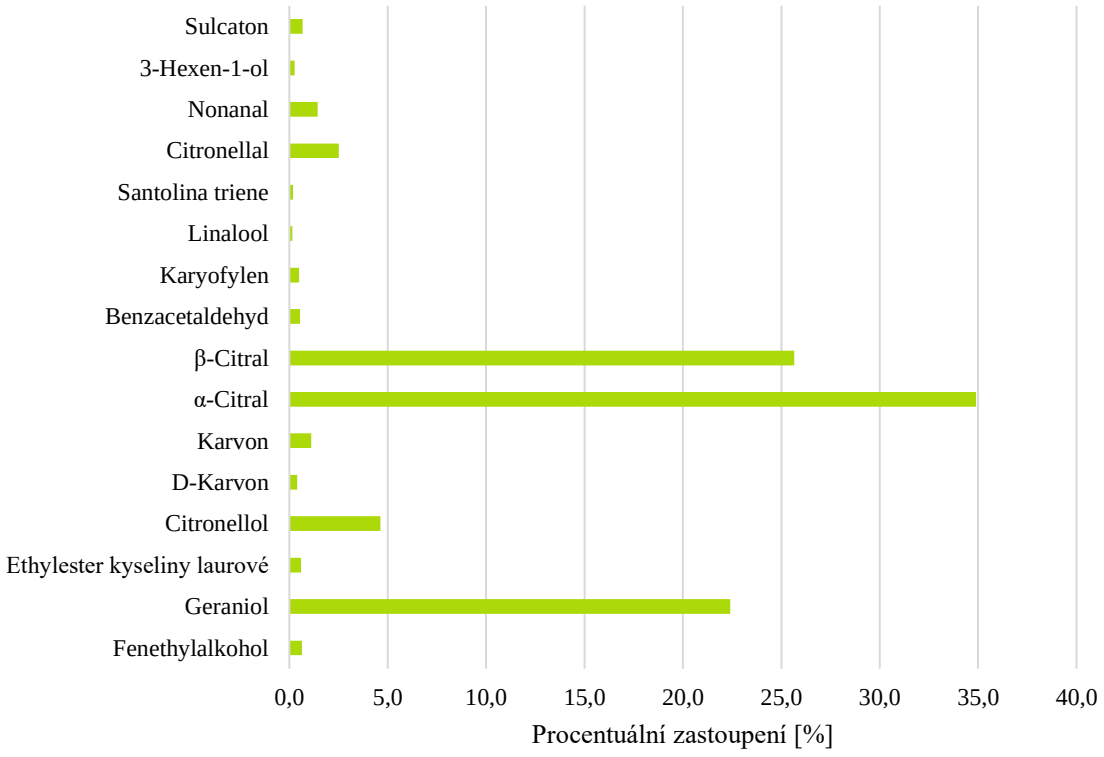
V rámci studie, která zkoumala složení, farmakologický efekt meduňky byly identifikovány ve větším množství karyofylen, karyofylen oxid, citronellal, geranyl acetát, *α*-citral a *β*-citral. V menším množství i citronellol, linalool a n-nonanal [76]. V rámci studie, která se zabývala meduňkou jako nutriční stretegií pro kardioprotekci, byly identifikovány AAL. Jako hlavní složky esenciálního oleje z Íránu a Turecka byly zastoupeny citronellal, thymol, citral a *β*-karyofylen. Dohromady bylo identifikováno 20 různých složek tohoto esenciálního oleje. Esenciální olej ze Srbska obsahoval velké množství α-citralu a *β*-citralu, citronelallu, limonenu, geraniolu, *β*-karyofylenu a germacrenu D [77]. Lze vidět, že složení AAL z extraktů z meduňky je hodně odlišné. Velmi se to odvíjí od místa pěstování a způsobu získání extraktu a dalších vnějších vlivů, jako je třeba množství slunečního světla a složení půdy.



Obrázek 15: *Zastoupení jednotlivých skupin aromatických látek v extraktu meduňky lékařské*



Obrázek 16: *Procentuální zastoupení jednotlivých skupin aromatických látek v extraktu meduňky lékařské*



Obrázek 17: *Graf procentuálního zastoupení identifikovaných látek v extraktu meduňky lékařské*

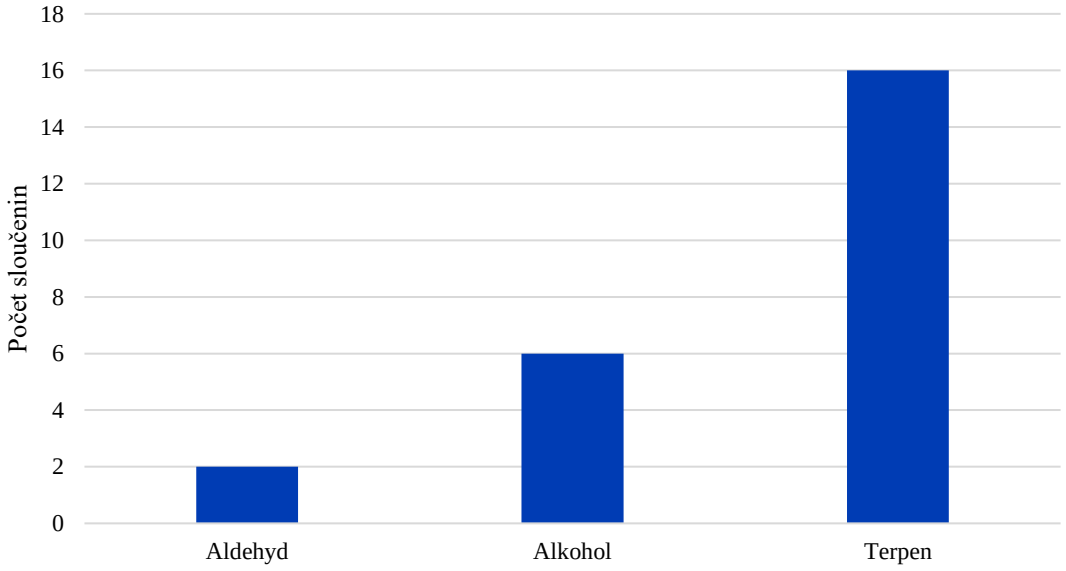
4.1.1.3. Aromaticky aktivní látky v extraktu máty peprné

Z celkového počtu 24 identifikovaných látek byly opět nejvíce zastoupeny terpeny. Identifikované látky jsou zaznamenány v ***Příloze 3***.

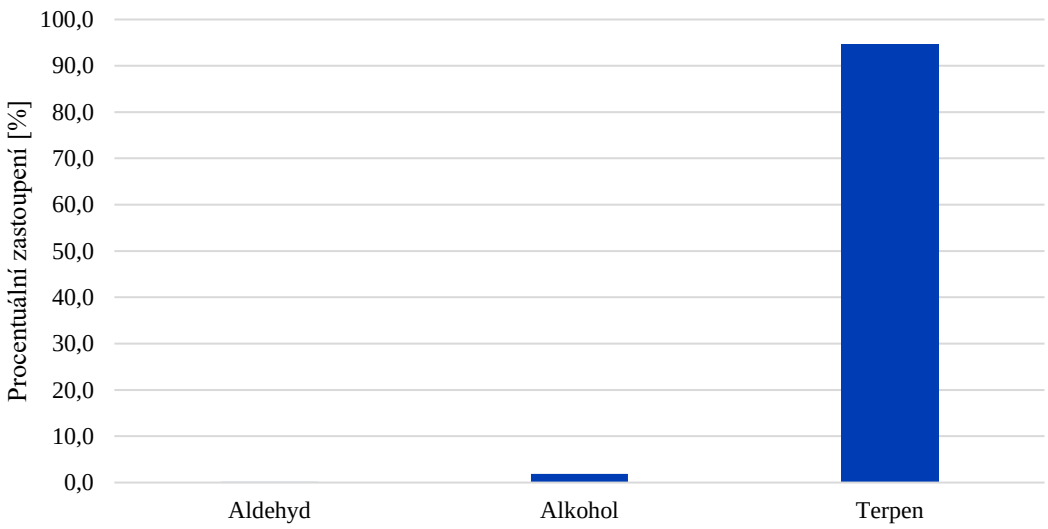
Zastoupení jednotlivých skupin je vyobrazeno na ***Obrázku 18***. Z grafu je patrné, že nejvíce početnou skupinou jsou terpeny, pak aldehydy a alkoholy. Na ***Obrázku 19*** je vyobrazeno procentuální zastoupení jednotlivých skupin Nejvíce zastoupenou skupinou jsou terpeny (94,8%), dále aldehydy (1,9%), alkoholy (0,2%).

Na ***Obrázku 20*** jsou vyobrazeny identifikované látky a jejich procentuální zastoupení v extraktu. Nejvíce zastoupenými látkami v extraktu máty byly (-)-karvon (47,5%), neodihydrokarveol (29,1%), *trans*-dihydrokarvon (7,8%), dihydrokarveol (4,3%), *cis*-karveol (2,7%), linalool (1,2%) a oktan-3-ol (1,0%).

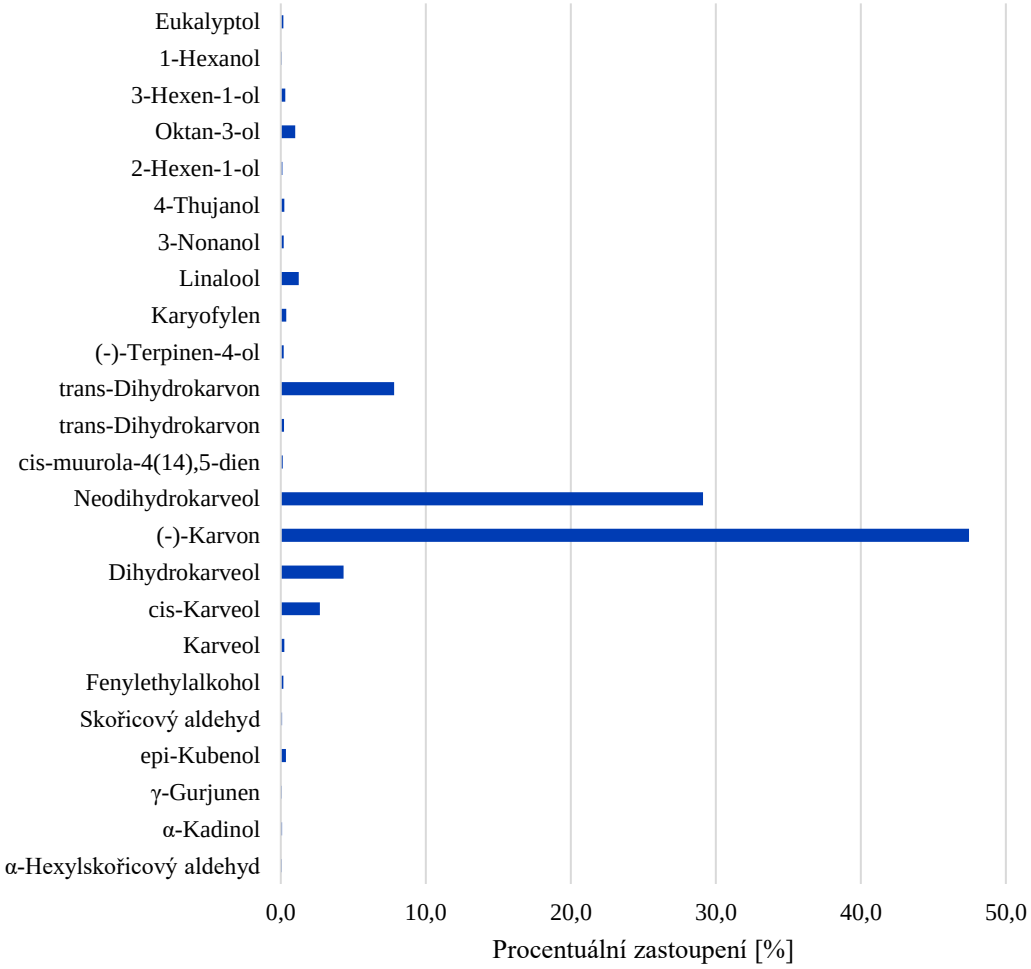
V rámci studie chemického složení a antioxidačních vlastností esenciálního oleje z máty peprné, máty klasnaté a skotské máty klasnaté, máta peprná obsahovala velké množství mentholu, menthonu, eukalyptolu, neomentholu. U máty klasnaté byly nejhojněji zastoupeny karvon, limonen [78]. Chemická studie esenciálních olejů máty pěstované v oblasti Settat v Maroku se zabývá analýzou *Mentha piperita*, *Mentha pulegium* a *Mentha spicata*. V *Mentha piperita* byl nejhojněji zastoupen menthon, menthol, tumeron, *cis*-karveol a isomenthon. V *Mentha pulegium* byl nejhojněji zastoupen piperiton, piperitenon, menthon, pulegon a piperiton oxid. V *Mentha pulegium* byl nejhojněji zastoupen karvon, *trans*-karveol, karvon oxid, *cis*-karveol a *β*-karyofylen a linalool [79]. Z těchto studijí bychom mohli usuzovat, že náš extrakt nebyl připraven z máty peprné, ale z máty klasnaté (*Mentha spicata*). I přesto, že byl rostlinný materiál označen jako máta peprná. Zároveň je známo, že máta peprná vznikla kombinací dvou druhů mát, a to máty klasnaté a máty vodní. Samozřejmě je nutné vzít v potaz všechny vnější a vnitřní faktory na rostlinu, díky čemuž se složení a zastoupení látek mění.



Obrázek 18: *Zastoupení jednotlivých skupin aromatických látek v extraktu máty peprné*



Obrázek 19: *Procentuální zastoupení jednotlivých skupin aromatických látek v extraktu máty peprné*



Obrázek 20: *Graf procentuálního zastoupení identifikovaných látek v extraktu máty peprné*

4.1.2. Celkový obsah polyfenolů v bylinných extraktech

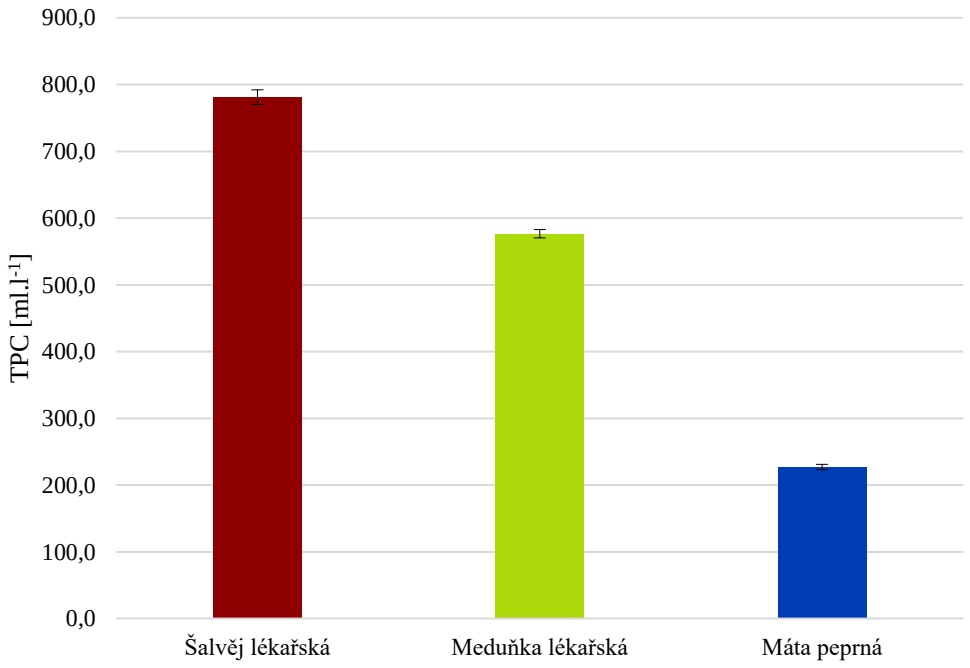
Celkový obsah polyfenolů byl stanoven spektrofotometricky Folin-Ciocalteu metodou. Všechny bylinné extrakty byly proměřeny ve třech opakováních (n = 3). Výsledky jsou zobrazeny v ***Tabulce 14***. Z tabulky je patrné, že největší obsah polyfenolických látek obsahuje extrakt ze šalvěje lékařské, pak meduňky lékařské a nakonec máty peprné. Obsah polyfenolických látek byl přepočítán na gram rostliny.

Na ***Obrázek 21*** je vyobrazeno srovnání celkového obsahů fenolů v bylinných extraktech.

Tabulka 14: *Celkový obsah fenolických látek v bylinných extraktech*

Extrakt	A_{734} [-]	TPC [mg.l-1] ± SD	TPC [$mg_{GEA}.g^{-1}$] ± SD
Šalvěj lékařská	0,983	781,2 ± 11,0	7811,8 ± 109,5
	0,967		
	0,956		
Meduňka lékařská	0,883	576,6 ± 6,3	5765,6 ± 62,7
	0,902		
	0,896		
Máta peprná	0,349	227,1 ± 3,9	2271,0 ± 39,2
	0,348		
	0,359		

TPC – celkový obsah fenolických látek



Obrázek 21: *Graf srovnání celkového obsahu fenolických látek (TPC) v extraktech*

4.1.3. Antioxidační aktivita bylinných extraktů

V extraktech byla stanovena antioxidační aktivita metodou TEAC. Výsledky jsou vyjádřeny jako ekvivalentní množství Troloxu. Platí, čím větší je hodnota TEAC, tím více antioxidačních látek bylo obsažených v extraktu. Každé měření bylo opakováno třikrát pro každý extrakt. Výsledky jsou zobrazeny v ***Tabulce 15***.

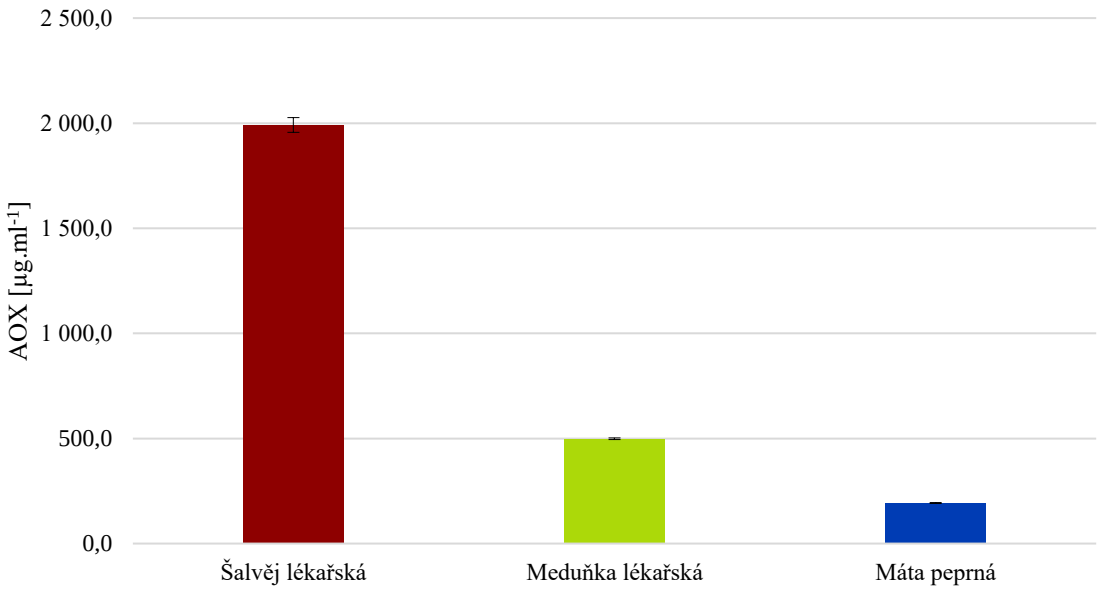
Nejvyšší antioxidační aktivitu prokázal extrakt šalvěje, potom meduňky a nakonec máty. Stejně tak odpovídá i procento zhášení radikálu $ABTS^{\bullet+}$. Z této a předchozí metody můžeme usoudit, že čím vyšší obsah celkových polyfenolů, tím vyšší antioxidační aktivita.

Na ***Obrázku 22*** je vyobrazeno srovnání antioxidační aktivity extraktů.

Tabulka 15: *Antioxidační aktivita a procento zhášení radikálu $ABTS^{\bullet+}$ pro bylinné extrakty*

Extrakt	A_{734} [-]	A [-]	AOX [$\mu g.ml^{-1}$] ± SD	zhášení radikálu $ABTS^{\bullet+}$ [%]	AOX [$\mu g_{TEAC}.g^{-1}$] ± SD
Šalvěj lékařská	0,453	0,284	1991,4 ± 35,1	100,0	19914,3 ± 350,9
	0,463	0,274			
	0,459	0,278			
Meduňka lékařská	0,044	0,693	498,8 ± 3,9	94,7	4987,9 ± 39,3
	0,033	0,704			
	0,039	0,698			
Máta peprná	0,466	0,271	192,9 ± 0,6	36,6	1929,1 ± 6,2
	0,467	0,270			
	0,468	0,269			

A_{734} – naměřená absorbance, A – vypočtená absorbance dle Rovnice 1 (viz kap. 3.6.3.2.), AOX – antioxidační aktivita



Obrázek 22: *Graf srovnání antioxidační aktivity v extraktech*

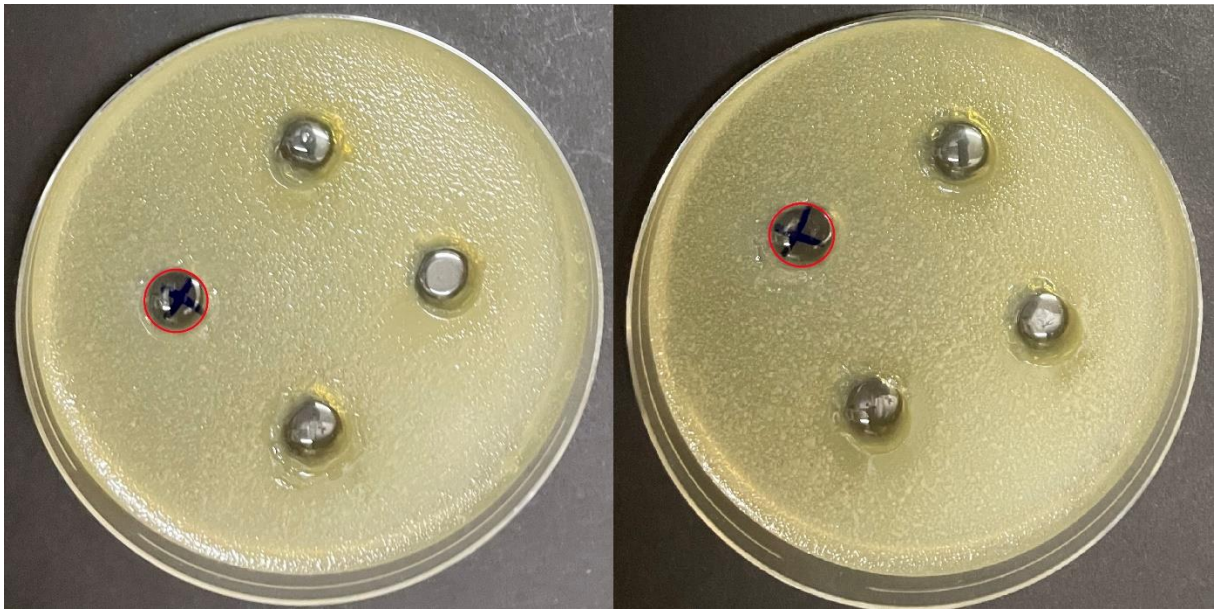
4.1.4. Antimikrobiální aktivita bylinných extraktů

Antimikrobiální aktivita extraktů proti dvěma bakteriím (*Bacillus cereus*, *Escherichia coli*) a jedné kvasince (*Candida glabrata*) byla testována jamkovou (***Tabulka 16***) a diskovou difúzní metodou (***Tabulka 17***).

Antimikrobiální aktivitu prokázal pouze extrakt z šalvěje proti *Bacillus cereus* (***Obrázek 23*** a ***Obrázek 24***), a to u obou použitých metod. Tento extrakt obsahoval nejvíce AAL, nejvyšší hodnotu celkových polyfenolů i největší antioxidační aktivitu (viz kap. 4.1.1., 4.1.2., a 4.1.3.).

Tabulka 16: *Velikost naměřených inhibičních zón – jamková difúzní metoda*

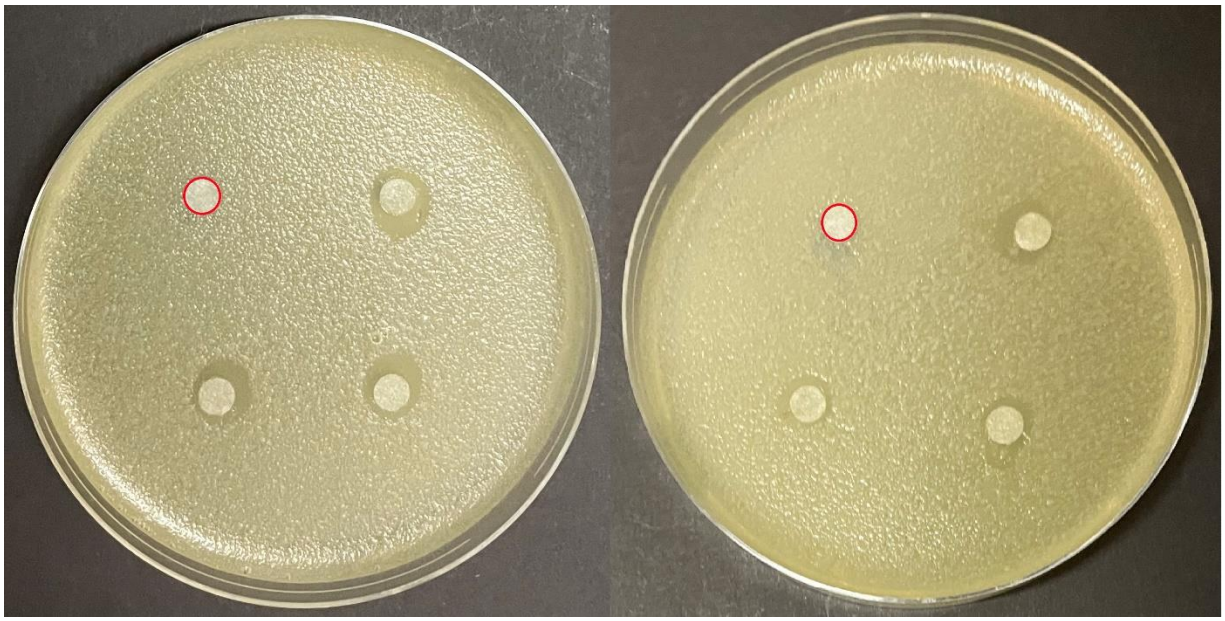
Jamková difúzní metoda	**Inhibiční zóna [mm]**		
	Bacillus cereus	***Escherichia coli***	***Candida glabrata***
Šalvěj lékařská	3	-	-
Meduňka lékařská	-	-	-
Máta peprná	-	-	-



Obrázek 23: *Dvě paralelní stanovené antimikrobiální aktivity šalvějového extraktu proti Bacillus cereus, zkoumané jamkovou difúzní metodou. Kontrolní jamka označena červeným kroužkem*

Tabulka 17: *Velikost naměřených inhibičních zón – disková difúzní metoda*

Disková difúzní metoda	**Inhibiční zóna [mm]**		
	Bacillus cereus	***Escherichia coli***	***Candida glabrata***
Šalvěj lékařská	2	-	-
Meduňka lékařská	-	-	-
Máta peprná	-	-	-



Obrázek 24: *Dvě paralelní stanovené antimikrobiální aktivity šalvějového extraktu proti Bacillus cereus, zkoumané diskovou difúzní metodou. Kontrolní jamka označena červeným kroužkem*

4.2. Charakterizace bylinných sirupů

Z připravených extraktů byly vyrobeny sirupy (viz kap. 3.5.5.). Bylinné sirupy byly vyrobeny ve třech poměrech, a to v poměru 2:1, 1:1 a 1:2 (bylinný extrakt:sirupový základ). Tyto sirupy byly charakterizovány z hlediska obsahu celkových polyfenolů, antioxidační aktivity, profilu AAL a v neposlední řadě byly hodnoceny senzoricky.

Pro porovnání vyrobených bylinných sirupů s komerčními, byly vybrány Báťkovy bylinné sirupy. Tento výrobce nabízí šalvějový, meduňkový i mátový sirup, vyrobené z bio rostlinného materiálu, mohou tak být považovány za dobrý standard nutriční i senzorické kvality. Komerční sirupy byly podrobeny stejným analýzám jako sirupy vyrobené.

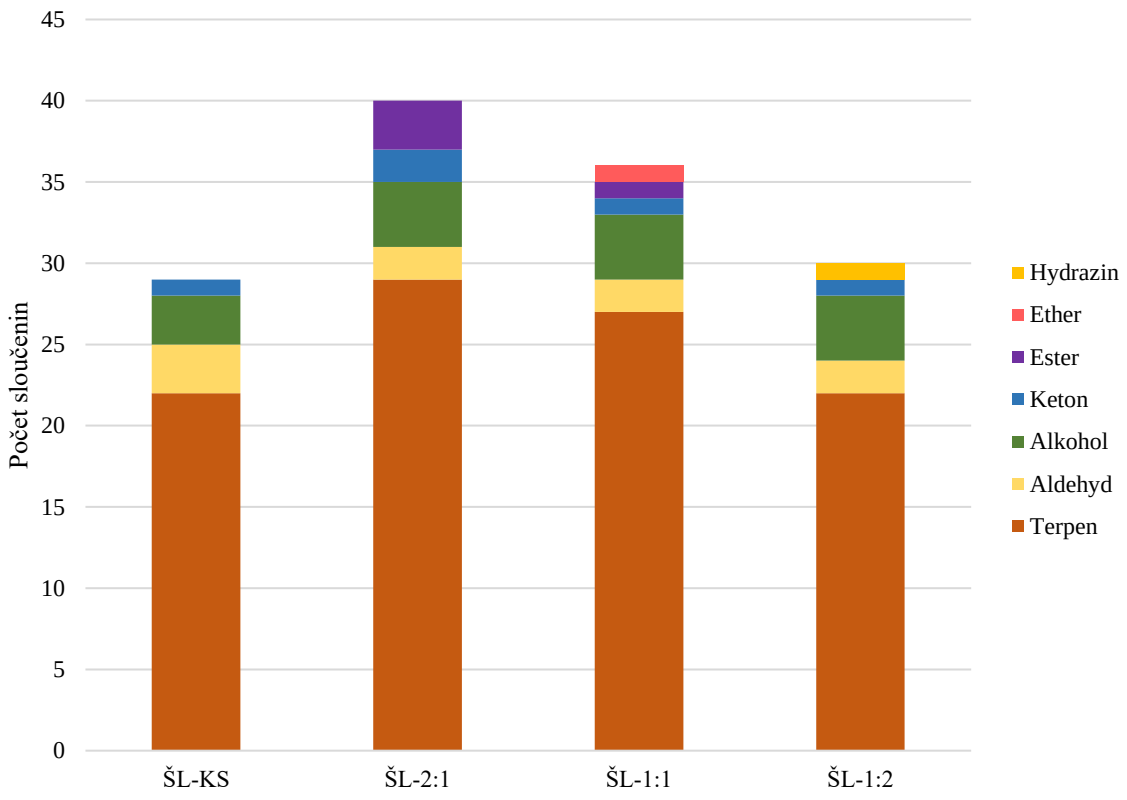
4.2.1. Obsah aromaticky aktivních látek v sirupech

AAL byly stanoveny pomocí metody HS-SPME-GC-MS obdobně jako v případě extraktů. Jednotlivé identifikované sloučeniny jsou zaznamenány v tabulkách. V ***Příloze 4*** pro sirupy z šalvěje, v ***Příloze 5*** pro sirupy z meduňky a v ***Příloze 6*** pro sirupy z máty.

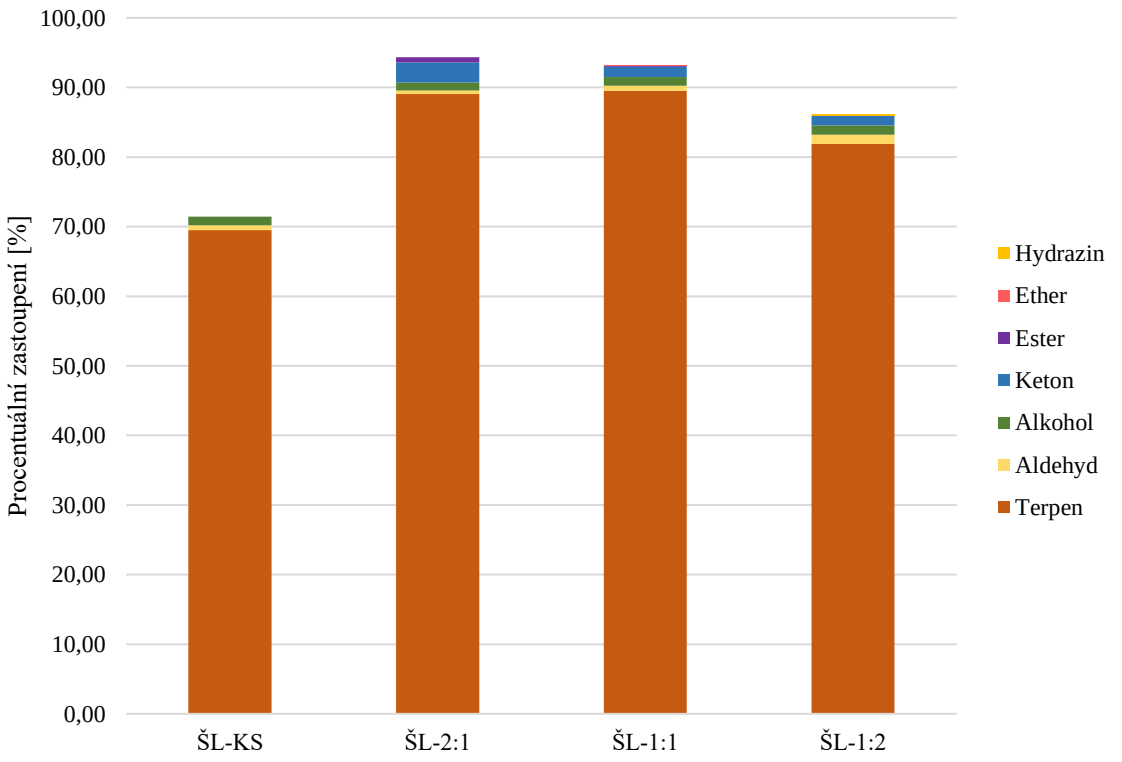
4.2.1.1. Aromaticky aktivní látky v sirupech z šalvěje lékařské

Z celkového počtu 63 identifikovaných látek byly nejvíce zastoupeny, podobně jako v případě extraktů, terpeny (monoterpeny, seskviterpeny, terpenoidy). Identifikované látky jsou zaznamenány v ***Příloze 4***. V jednotlivých sirupech bylo nalezeno odlišné množství. V komerčním sirupu bylo identifikováno 29 látek, ve vyrobeném sirupu v poměru 2:1 40 látek, dále v sirupu v poměru 1:1 36 a v posledním sirupu 30 látek.

Zastoupení jednotlivých skupin je vyobrazeno na ***Obrázku 25***. Z grafu je patrné, že nejvíce zastoupenou skupinou jsou terpeny, pak alkoholy a aldehydy. Na ***Obrázku 26*** je vyobrazeno procentuální zastoupení jednotlivých skupin.



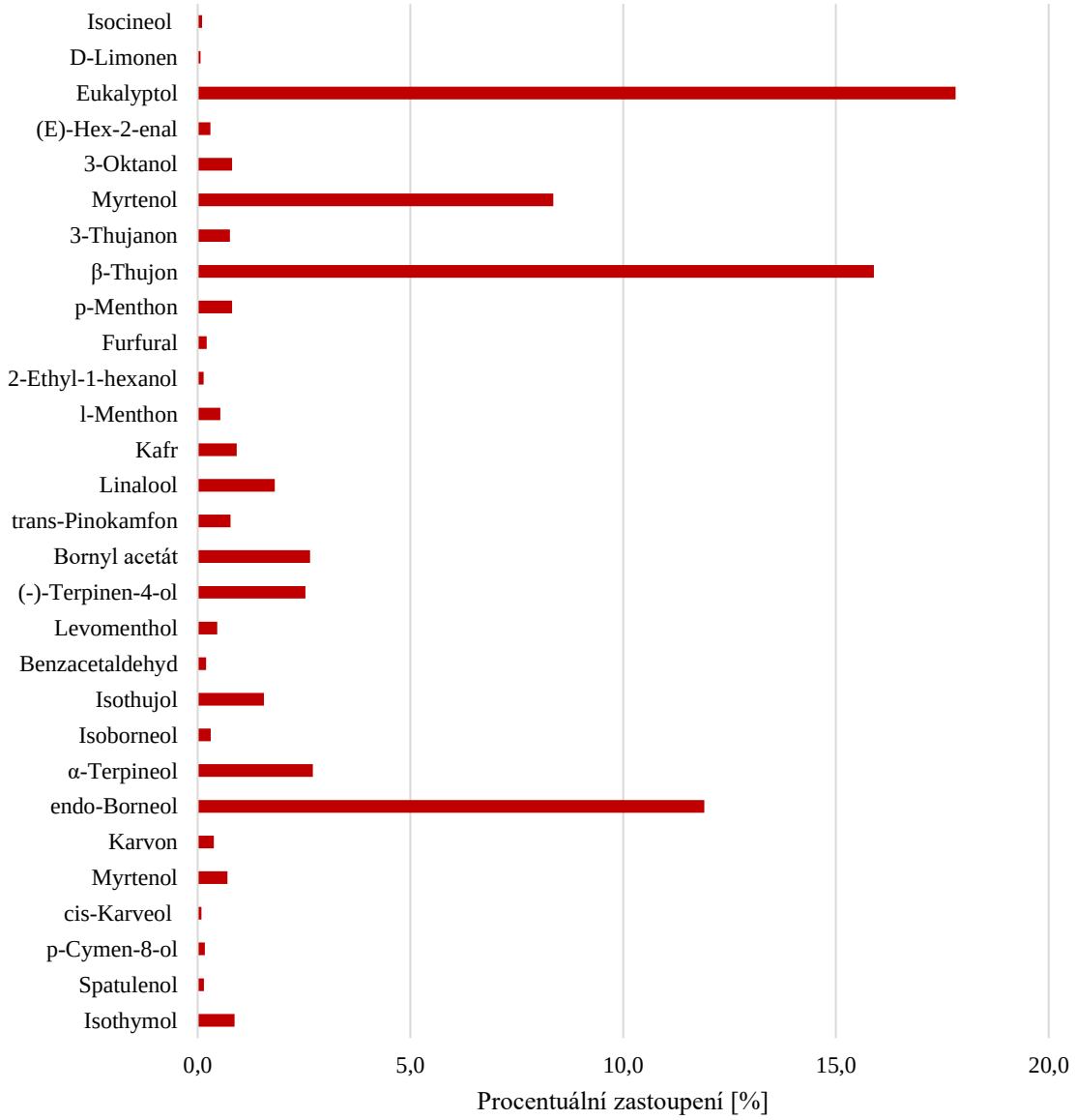
Obrázek 25: *Zastoupení jednotlivých skupin aromatických látek v sirupech z šalvěje lékařské, kódy vzorku viz Tabulka 10*



Obrázek 26: *Procentuální zastoupení jednotlivých skupin aromatickcýh látek v sirupech z šalvěje lékařské, kódy vzorku viz Tabulka 10*

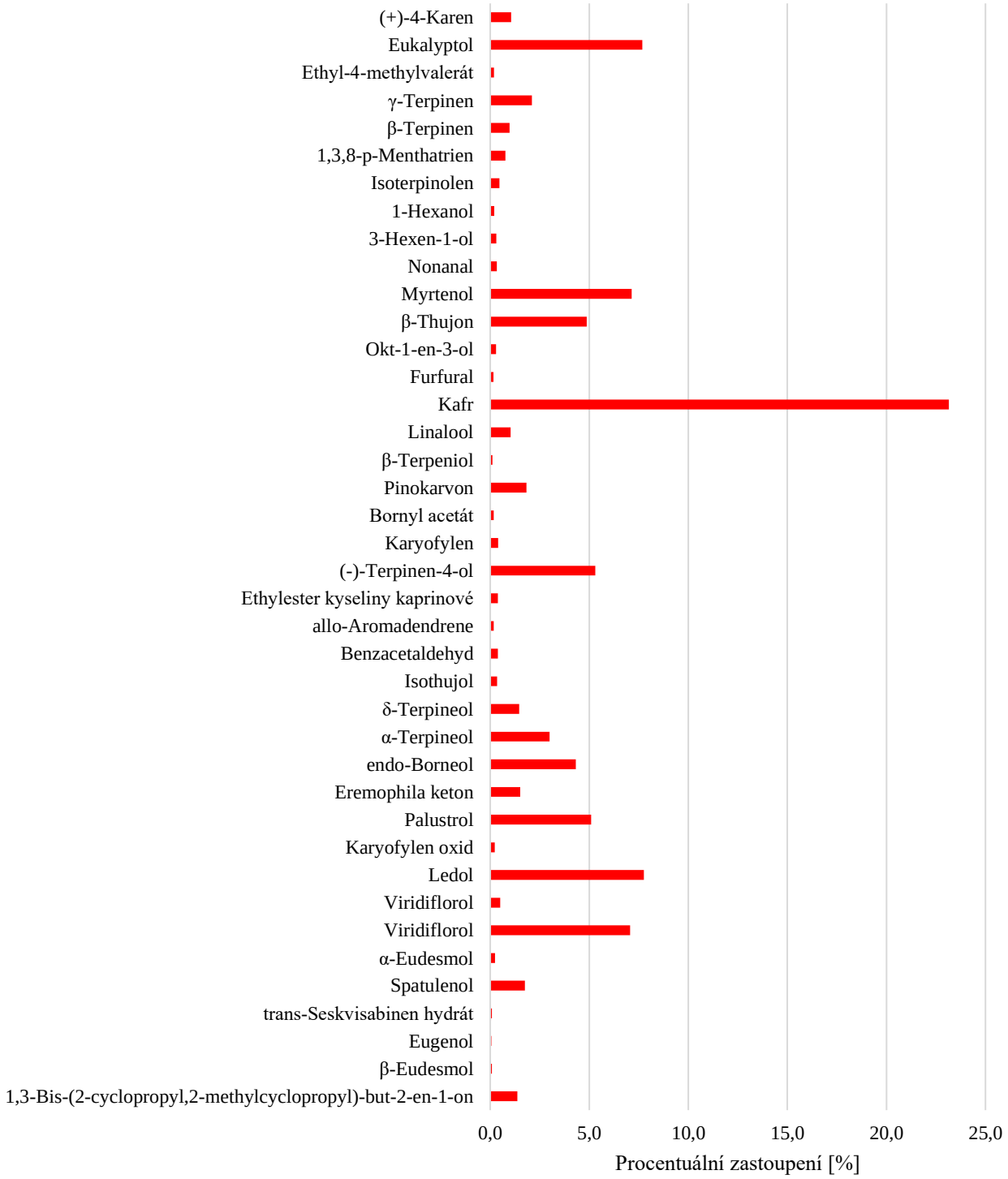
V následujících grafech je uvedeno procentuální zastoupení jednotlivých AAL ve vzrocích.

Na ***Obrázku 27*** komerční sirup. Nejvíce zastoupenými v šalvějovém sirupu látkami jsou eukalyptol (17,8%), *β*-thujon (15,9%), *endo*-borneol (11,9%), myrtenol (8,4%) a *α*-terpeniol (2,7%).



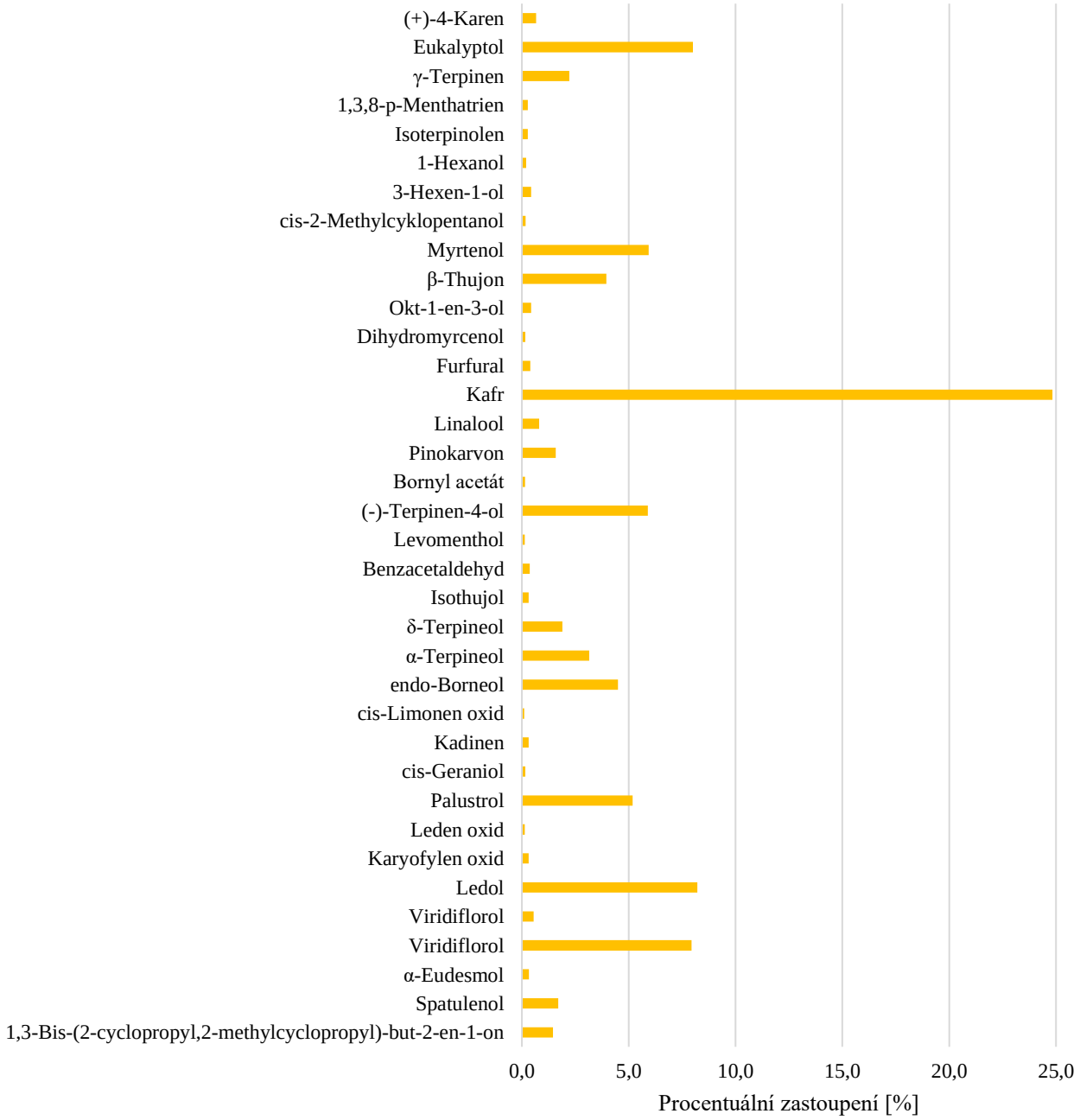
Obrázek 27: *Graf procentuálního zastoupení identifikovaných látek v komerčním sirupu z šalvěje lékařské*

Na ***Obrázku 28*** vyrobený sirup v poměru 2:1. Nejvíce zastoupenými látkami jsou kafr (23,2%), ledol (7,8%), eukalyptol (7,7%), myrtenol (7,1%) a viridiflorol (7,1%).



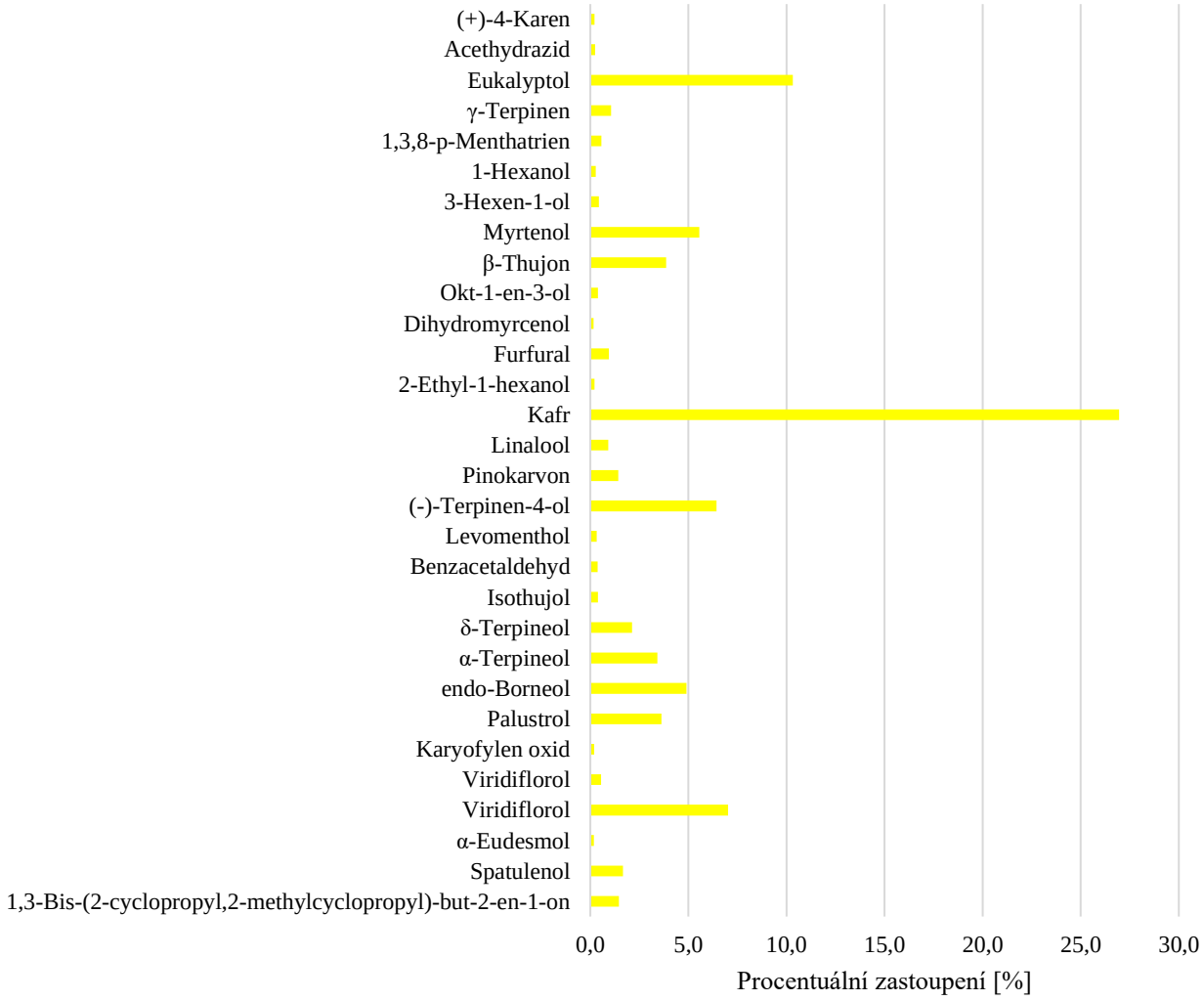
Obrázek 28: *Graf procentuálního zastoupení identifikovaných látek v sirupu z šalvěje lékařské v poměru 2:1*

Na ***Obrázku 29*** vyrobený sirup v poměru 1:1. Nejvíce zastoupenými látkami jsou kafr (24,8%), ledol (8,2%), eukalyptol (8,0%), viridiflorol (7,9%) a myrtenol (5,9%).



Obrázek 29: *Graf procentuálního zastoupení identifikovaných látek v sirupu z šalvěje lékařské v poměru 1:1*

Na ***Obrázku 30*** vyrobený sirup v poměru 1:2. Nejvíce zastoupenými látkami jsou kafr (27,0%), eukalyptol (10,3%), viridiflorol (7,0%), (-)-terpinen-4-ol (6,4%) a myrtenol (5,6%).



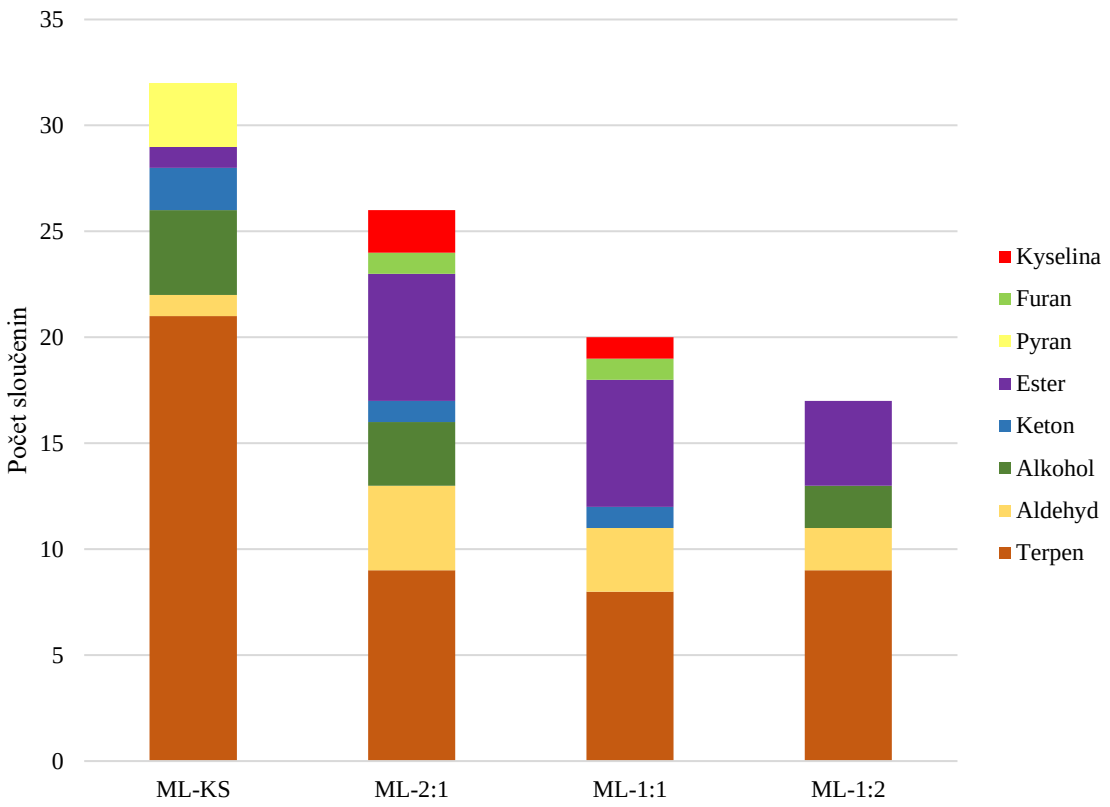
Obrázek 30: *Graf procentuálního zastoupení identifikovaných látek v sirupu z šalvěje lékařské v poměru 1:2*

Ve vyrobených sirupech převládal kafr, dále eukalyptol, ledol, myrtenol a viridiflorol. Nejvíce AAL bylo nalezeno ve vyrobeném sirupu v poměru 2:1 (extrak:sirupovému základu). Při snižování množství extraktu u dalších sirupů byl podle očekávání pozorován sestupný trend. Ve vyrobeném sirupu v poměru 1:2 bylo AAL nejméně

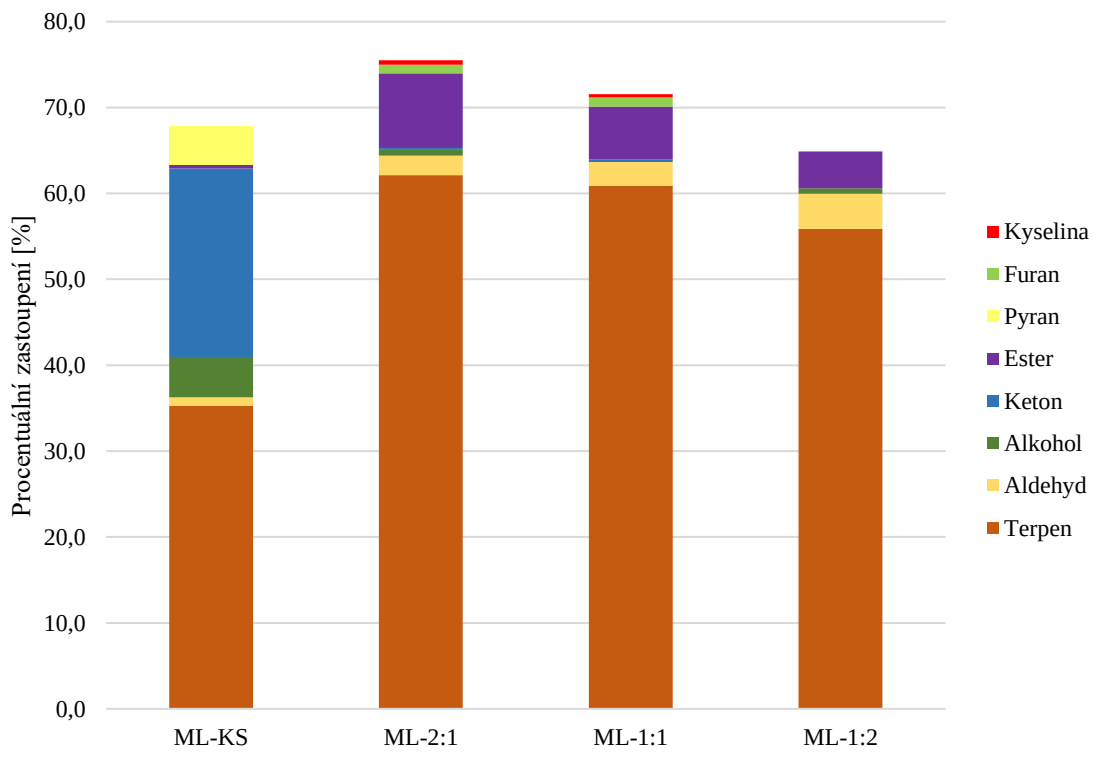
4.2.1.2. Aromaticky aktivní látky v sirupech z meduňky lékařské

Z celkového počtu 55 identifikovaných látek byly opět nejvíce zastoupeny terpeny. Identifikované látky jsou zaznamenány v ***Příloze 5***. V jednotlivých sirupech bylo zastoupeno odlišné množství látek. V komerčním sirupu bylo identifikováno 32 látek, ve vyrobeném sirupu v poměru 2:1 26 látek, dále v sirupu v poměru 1:1 20 a v posledním sirupu 17 látek.

Zastoupení jednotlivých skupin je vyobrazeno na ***Obrázku 31***. Z grafu je patrné, že nejvíce zastoupenou skupinou jsou terpeny, pak alkoholy a estery. Na ***Obrázku 32*** je vyobrazeno procentuální zastoupení jednotlivých skupin.



Obrázek 31: *Zastoupení jednotlivých skupin aromatických látek v sirupech z meduňky lékařské, kódy vzorků viz Tabulka 10*



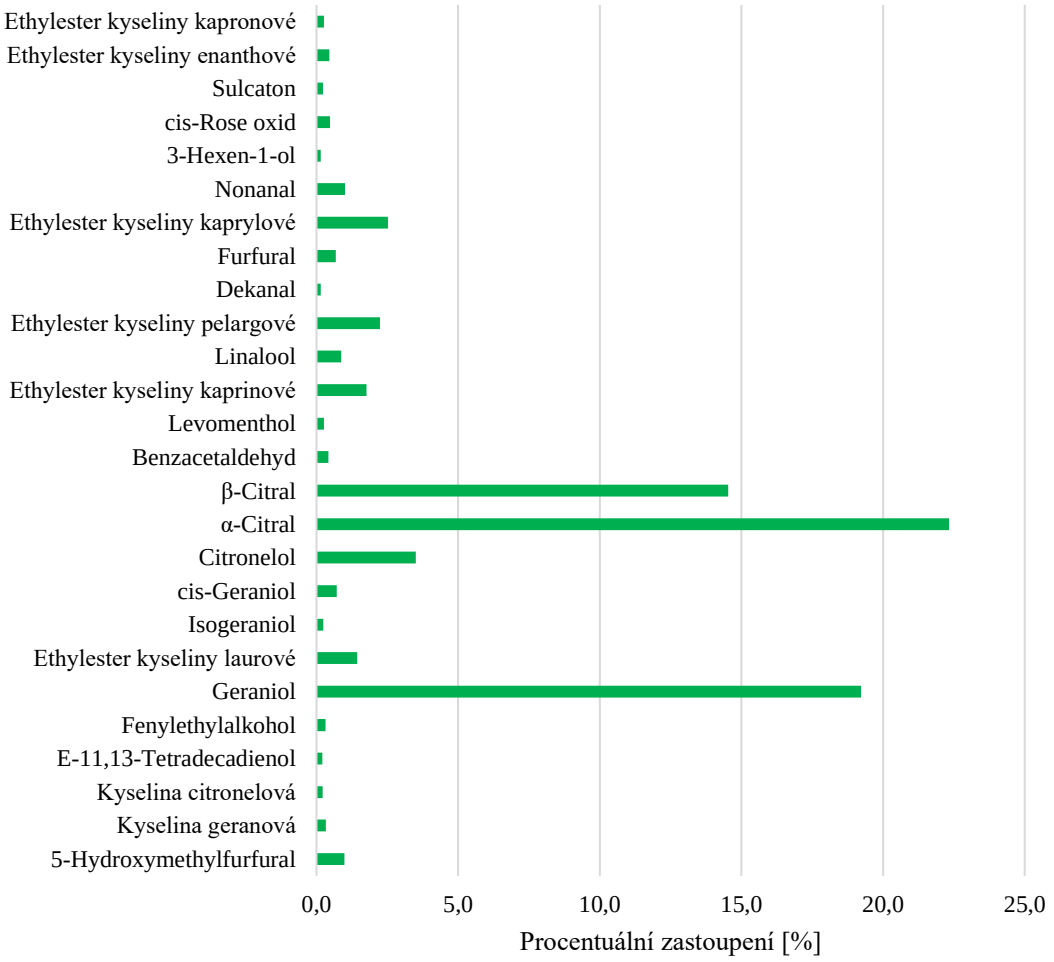
Obrázek 32: *Procentuální zastoupení jednotlivých skupin aromatických látek v sirupech z meduňky lékařské, kódy vzorků viz Tabulka 10*

V následujících grafech je uvedeno procentuální zastoupení jednotlivých AAL ve vzorcích.

Na ***Obrázku 33*** komerční sirup. Nejvíce zastoupenými látkami jsou sulcaton (21,7%), neoisopulegol (8,1%), rose oxid (5,4%), α-terpeniol (4,8%) a linalool (4,7%).

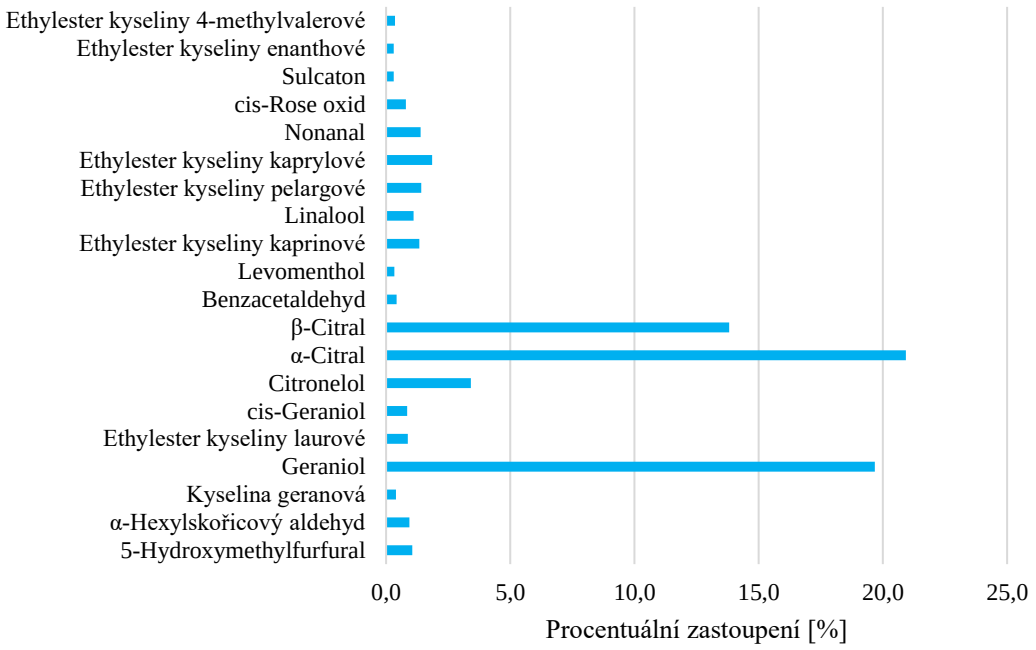
Obrázek 33: *Graf procentuálního zastoupení identifikovaných látek v komerčním sirupu z meduňky lékařské*

Na ***Obrázku 34*** vyrobený sirup v poměru 2:1. Nejvíce zastoupenými látkami jsou *α*-citral (22,3%), geraniol (19,2%), *β*-citral (13,8%), citronelol (3,4%) a ethylester kyseliny kaprylové (1,9%).



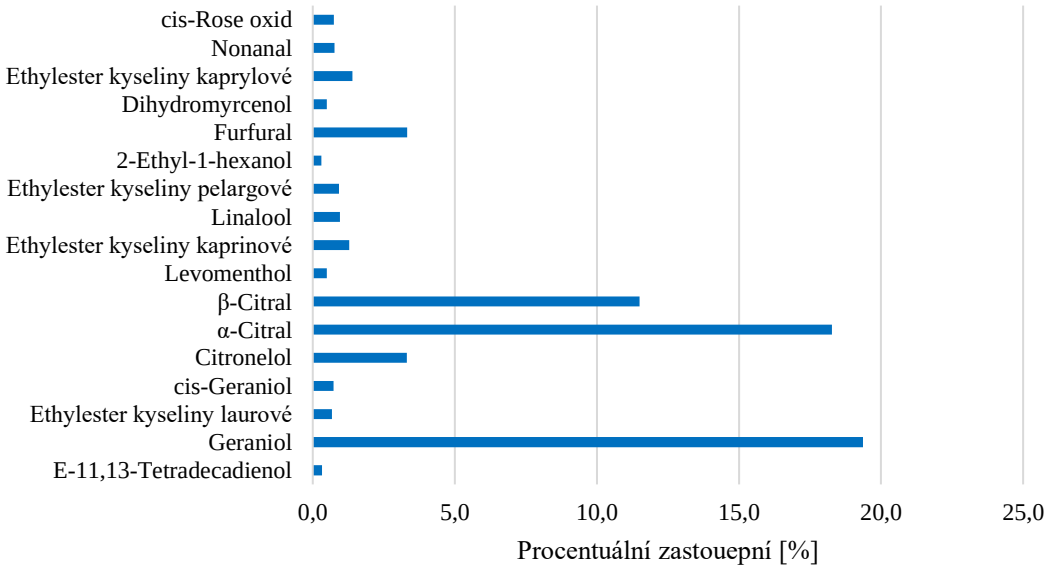
Obrázek 34: *Graf procentuálního zastoupení identifikovaných látek v sirupu z meduňky lékařské v poměru 2:1*

Na ***Obrázku 35*** vyrobený sirup v poměru 1:1. Nejvíce zastoupenými látkami jsou *α*-citral (20,9%), geraniol (19,7%), *β*-citral (14,5%), citronelol (3,5%) a ethylester kyseliny kaprylové (2,5%).



Obrázek 35: *Graf procentuálního zastoupení identifikovaných látek v sirupu z meduňky lékařské v poměru 1:1*

Na ***Obrázku 36*** vyrobený sirup v poměru 1:2. Nejvíce zastoupenými látkami jsou geraniol (19,4%), *α*-citral (18,3%), *β*-citral (11,5%), citronelol (3,3%) a ethylester kyseliny kaprylové (1,4%).



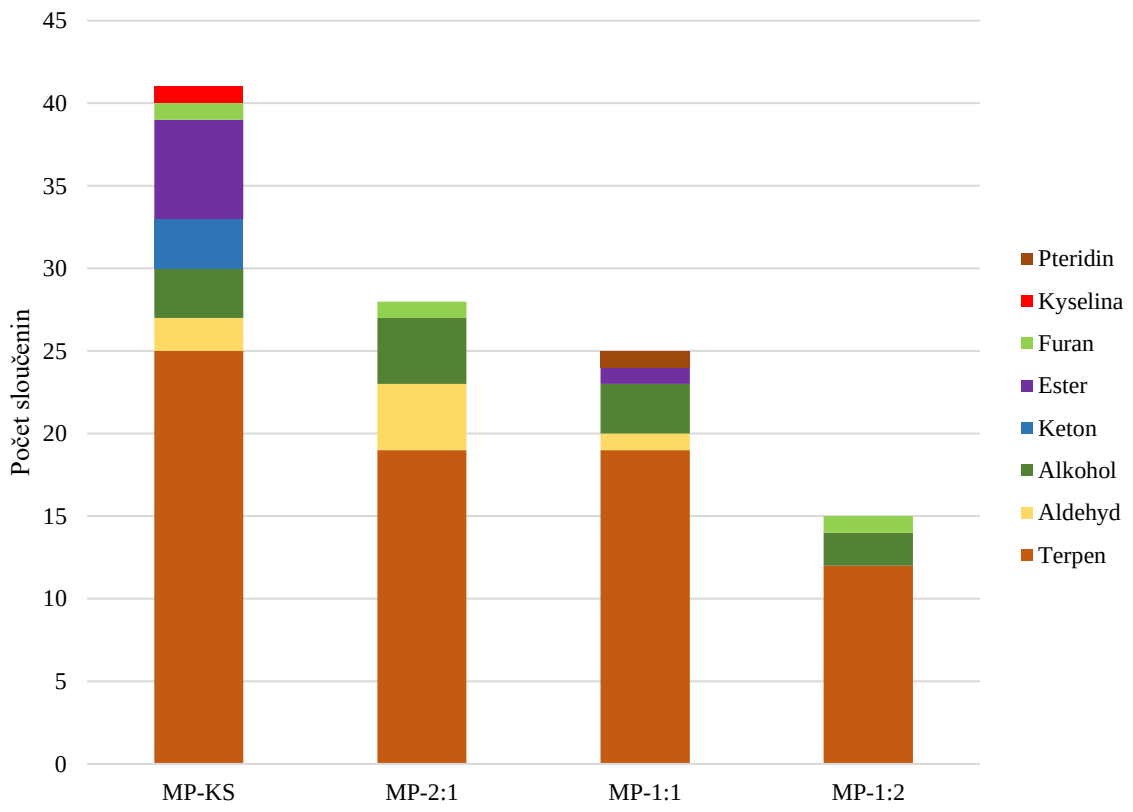
Obrázek 36: *Graf procentuálního zastoupení identifikovaných látek v sirupu z meduňky lékařské v poměru 1:2*

Ve vyrobených sirupech převládal α-citral, dále geraniol, β-citral, citronelol a ethylester kyseliny kaprylové. Nejvíce látek bylo nalezeno ve vyrobeném sirupu v poměru 2:1 (extrak:sirupovému základu). Při snižování množství extraktu u dalších sirupů byl opět pozorován sestupný trend.

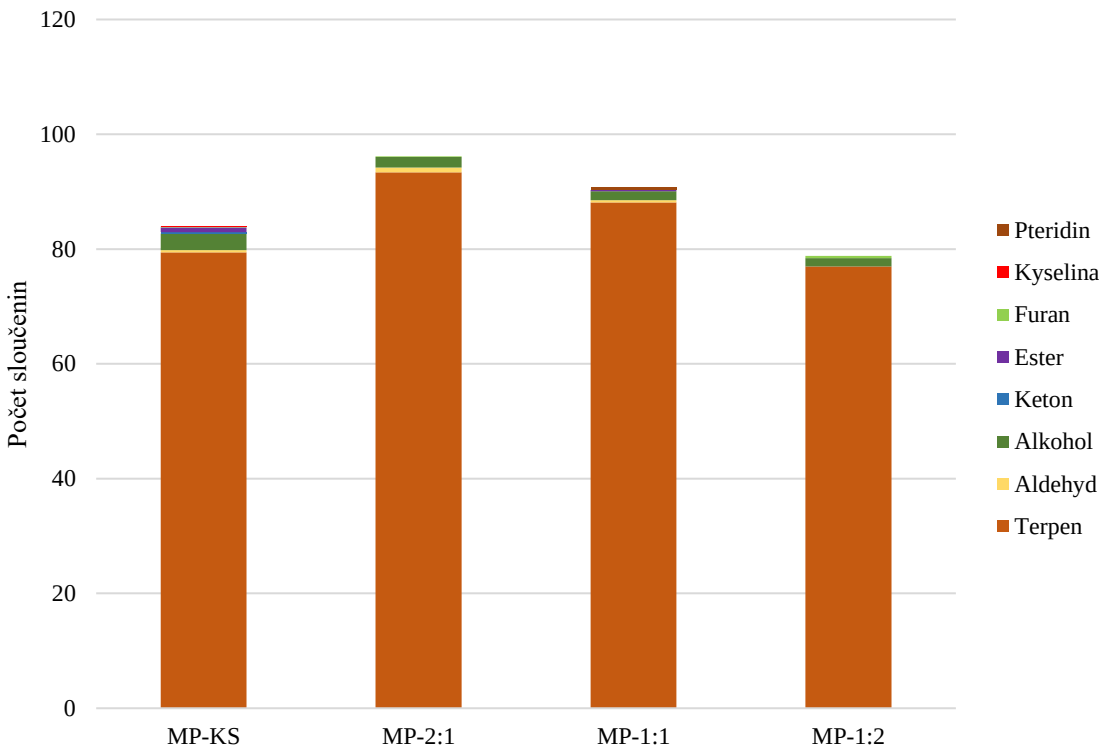
4.2.1.3. Aromatické aktivní látky v sirupech z máty peprné

Z celkového počtu 66 identifikovaných látek byly i zde nejvíce zastoupeny terpeny. Identifikované látky jsou zaznamenány v ***Příloze 6***. V jednotlivých sirupech bylo zastoupeno odlišné množství AAL. V komerčním sirupu bylo identifikováno 41 látek, ve vyrobeném sirupu v poměru 2:1 28 látek, dále v sirupu v poměru 1:1 25 a v posledním sirupu 15 látek.

Zastoupení jednotlivých skupin je vyobrazeno na ***Obrázku 37***. Z grafu je patrné, že nejvíce zastoupenou skupinou jsou terpeny, pak alkoholy a aldehydy. Na ***Obrázku 38*** vyobrazeno procentuální zastoupení jednotlivých skupin.



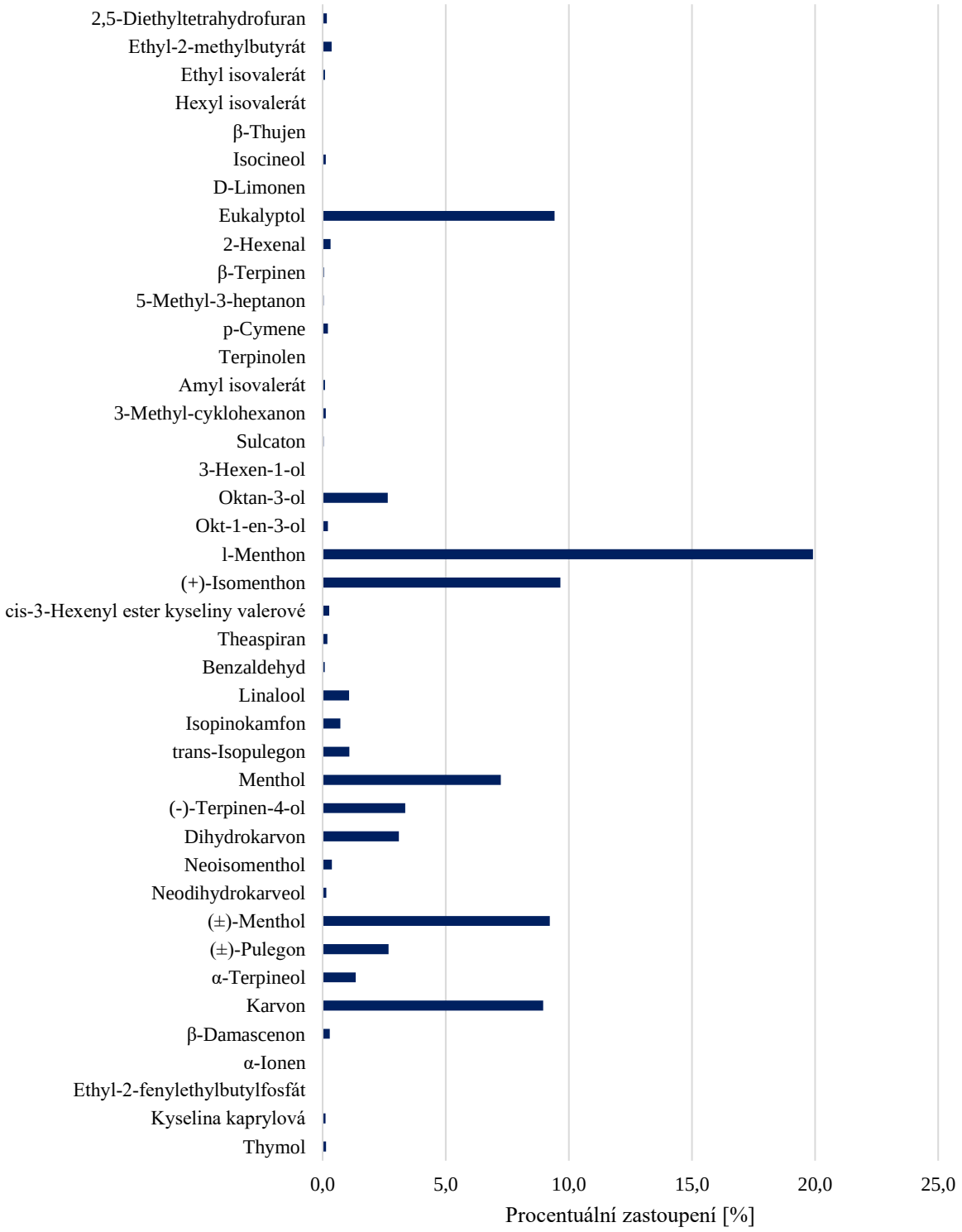
Obrázek 37: *Zastoupení jednotlivých skupin aromatických látek v sirupech z máty peprné, kódy vzorků viz Tabulka 10*



Obrázek 38: *Procentuální zastoupení jednotlivých skupin aromatických látek v sirupech z máty peprné, kódy vzorků viz Tabulka 10*

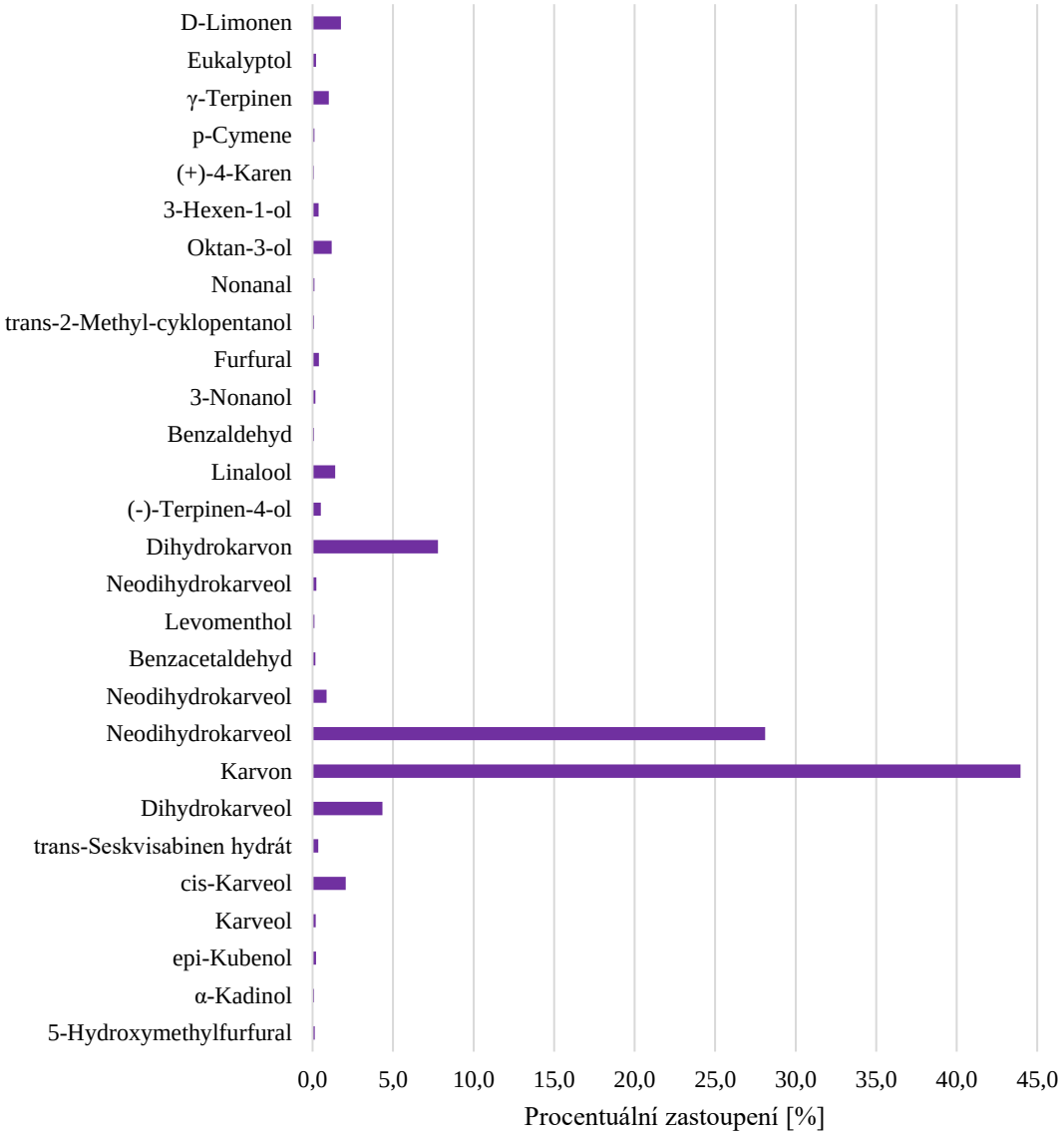
V následujících grafech je uvedeno procentuální zastoupení jednotlivých AAL ve vzorcích.

Na ***Obrázku 39*** komerční sirup. Nejvíce zastoupenými látkami jsou *l*-menthon (19,9%), (+)-isomenthon (9,7%), eukalyptol (9,4%), (±)-menthol (9,2%) a karvon (9,0%).



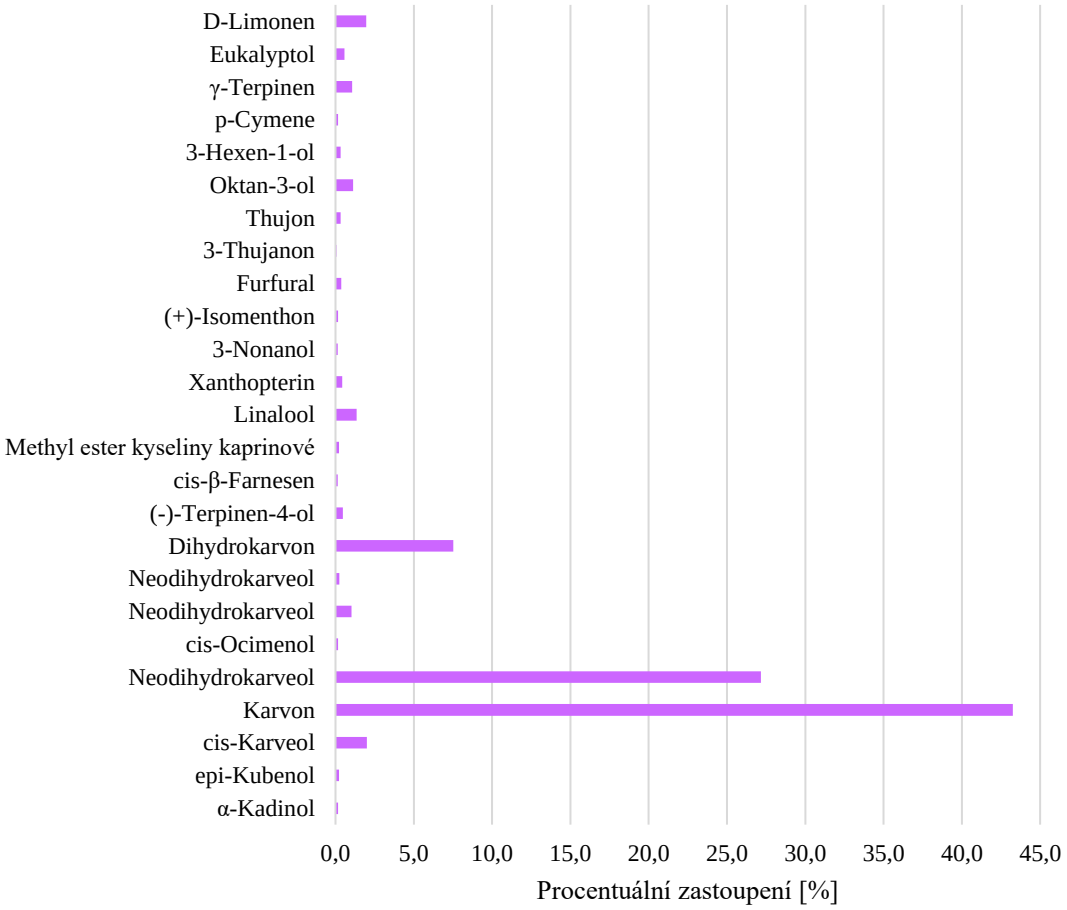
Obrázek 39: *Graf procentuálního zastoupení identifikovaných látek v komerčním sirupu z máty peprné*

Na ***Obrázku 40*** vyrobený sirup v poměru 2:1. Nejvíce zastoupenými látkami jsou karvon (44,0%), neodihydrokarveol (28,1%), dihydrokarvon (7,8%) a (43%) a *cis*-karveol (2,1%).



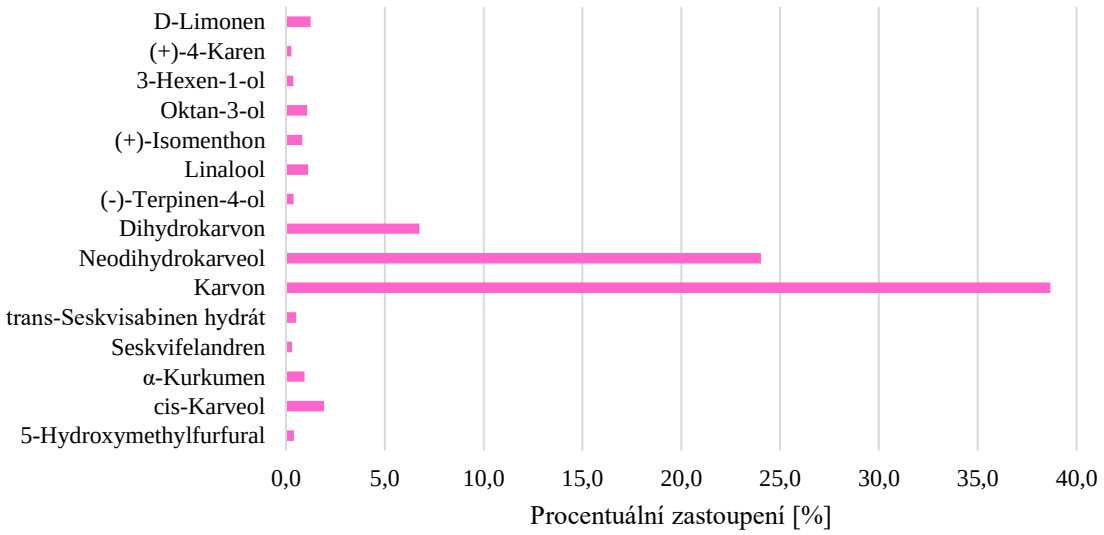
Obrázek 40: *Graf procentuálního zastoupení identifikovaných látek v sirupu máty peprné v poměru 2:1*

Na ***Obrázku 41*** vyrobený sirup v poměru 1:1. Nejvíce zastoupenými látkami jsou karvon (43,26%), neodihydrokarveol (27,2%), dihydrokarvon (7,5%), *D*-limonen (2,0%) a *cis*-karveol (2,0%).



Obrázek 41: *Graf procentuálního zastoupení identifikovaných látek v sirupu z máty peprné v poměru 1:2*

Na ***Obrázku 42*** vyrobený sirup v poměru 1:2. Nejvíce zastoupenými látkami jsou karvon (38,7%), neodihydrokarveol (24,0%), dihydrokarvon (6,8%), *cis*-karveol (1,9%) a *D*-limonen (1,2%).



Obrázek 42: *Graf procentuálního zastoupení identifikovaných látek v sirupu máty peprné v poměru 1:1*

Ve vyrobených sirupech převládal karvon, neodihydrokarveol, dihydrokarvon, cis-karveol a D-limonen. Nejvíce látek bylo nalezeno ve vyrobeném sirupu v poměru 2:1 (extrak:sirupovému základu), stejně jako v předchozích kapitolách se snižováním množství bylinného extraktu.

4.2.2. Celkový obsah fenolů v bylinných sirupech

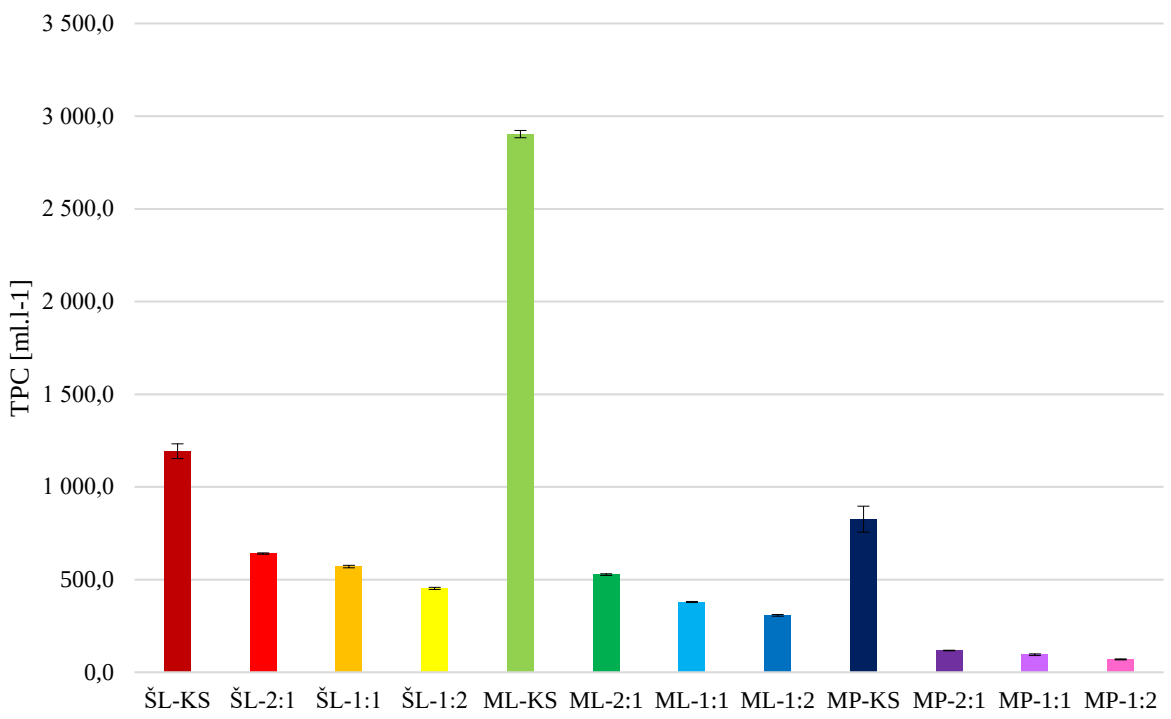
Celkový obsah fenolů byl stanoven spektrofotometricky Folin-Ciocalteu metodou. Všechny bylinné sirupy byly proměřeny ve třech opakováních (n = 3). Výsledky jsou zobrazeny v ***Tabulce 18***. Z tabulky je patrné, že největší obsah polyfenolických látek obsahují komerční sirupy. Největší množství polyfenolických látek obsahoval komerční sirup z meduňky, pak ze šalvěje a nakonec z máty. U vyrobených sirupů největší množství obsahovali sirupy ze šalvěje, následně meduňky a nakonec máty. Obsah celkových polyfenolických látek ve vyrobených sirupech se odvíjí od samotných extraktů, jejichž pořadí bylo totožné. V rámci každé byliny lze pozorovat sestupný trend obsahu polyfenolických látek závislý na množství použitého extraktu a sirupového základu.

Obsah polyfenolických látek u vyrobených sirupů byl přepočítán na gram rostliny. U komerčních sirupů bohužel nebyly dostupné informace o množství použité byliny a rozpouštědla. Hodnoty obsahu celkových polyfenolů jsou vyobrazeny na ***Obrázku 43***.

Tabulka 18: *Celkový obsah fenolických látek v bylinných sirupech*

Šalvěj lékařská	A_{734} [-]	TPC [mg.l^{-1}] ± SD	TPC [µg$_{GEA}$.g^{-1}] ± SD
ŠL-KS	0,356	1192,5 ± 39,8	-
	0,380		
	0,373		
ŠL-2:1	0,986	640,2 ± 3,7	6402,2 ± 36,7
	0,997		
	0,994		
ŠL-1:1	0,872	570,1 ± 6,7	5701,1 ± 67,2
	0,892		
	0,887		
ŠL-1:2	0,692	452,5 ± 5,6	4524,7 ± 55,6
	0,709		
	0,703		
Meduňka lékařská	**A_{734} [-]**	**TPC [mg.l^{-1}] ± SD**	**TPC [µg$_{GEA}$.g^{-1}] ± SD**
ML-KS	0,903	2903,2 ± 19,6	-
	0,893		
	0,904		
ML-2:1	0,809	526,7 ± 4,5	5266,7 ± 45,3
	0,823		
	0,817		
ML-1:1	0,592	378,9 ± 2,9	3789,3 ± 29,1
	0,583		
	0,587		
ML-1:2	0,469	306,9 ± 4,5	3068,8 ± 45,3
	0,483		
	0,475		
Máta peprná	**A_{734} [-]**	**TPC [mg.l^{-1}] ± SD**	**TPC [µg$_{GEA}$.g^{-1}] ± SD**
MP-KS	0,231	825,8 ± 70,0	-
	0,270		
	0,267		
MP-2:1	0,367	117,2 ± 1,5	1172,0 ± 15,2
	0,365		
	0,358		
MP-1:1	0,284	96,5 ± 4,6	964,5 ± 45,5
	0,301		
	0,312		
MP-1:2	0,223	69,4 ± 2,6	693,6 ± 25,8
	0,207		
	0,215		

TPC – celkový obsah fenolických látek, kódy vzorků viz Tabulka 10



Obrázek 43: *Graf srovnání celkového obsahu fenolických látek (TPC) v komerčních a vyrobených sirupech, kódy vzorků viz Tabulka 10*

4.2.3. Antioxidační aktivita bylinných sirupů

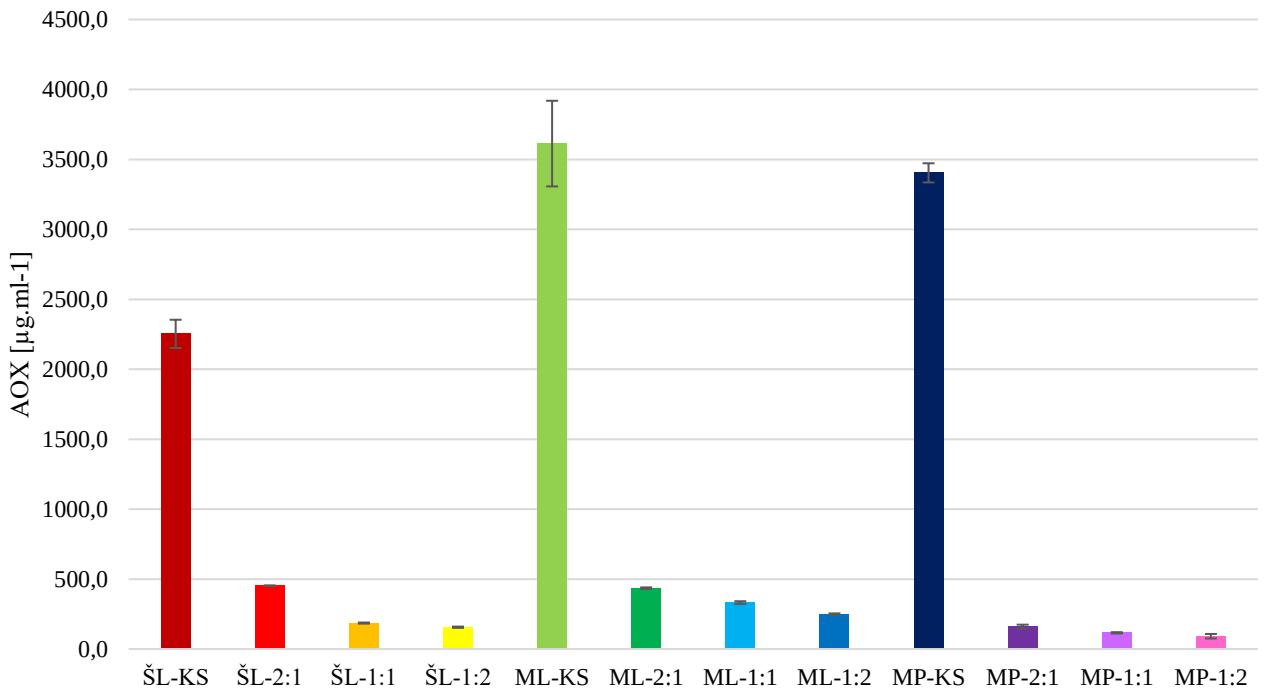
Antioxidační aktivita sirupů byla stanovena pomocí metody TEACstejně jako v případě extraktů. Výsledky jsou vyjádřeny jako ekvivaletní množství Troloxu. Každé měření bylo opakováno dvakrát (n = 2). Výsledky jsou zobrazeny v ***Tabulce 19***. V tabulce je zahrnuto i % zhášení radikálu $ABTS^{\bullet+}$. U komerčních bylinných sirupů tato hodnota dosáhla 100%, z důvodu velké antioxidační aktivity, kvůli které musely být vzorky naředěny, aby bylo možné ji změřit. Hodnoty antioxidační aktivity jsou vyobrazeny na ***Obrázku 44***.

Nejvyšší antioxidační aktivitu prokázaly komerční Báťkovy sirupy. Nejvíce antioxidačních látek obsahoval komerční sirup z meduňky, pak šalvěje. U vyrobených sirupů lze pozorovat u všech bylin sestupný trend. Nejvyšší koncentraci antioxidační látek obsahovaly vždy sirupy, které byly míchány v poměru 2:1, pak 1:1 a nakonec 1:2 (extrakt:sirupovému základu). Koncentrace antioxidačních látek se v tomto případě odvíjí od množství použitého extraktu a naředěním sirupovým základem. Lze i vidět, že rozdíly antioxidační aktivity u bylinných sirupů v poměru 1:1 a 1:2 není tak velký, jak mezi 2:1 a 1:1 nebo 1:2.

Tabulka 19: *Antioxidační aktivita a procento zhášení radikálu $ABTS^{\bullet+}$ pro bylinné sirupy*

Šalvěj lékařská	**A_{734} [-]**	**A [-]**	**AOX [$\mu g.ml^{-1}$] ± SD**	**zhášení radikálu $ABTS^{\bullet+}$ [%]**	**AOX [$\mu g_{TEAC}.g^{-1}$] ± SD**
ŠL-KS	0,432	0,305	2252,9 ± 101,0	100,0	-
	0,412	0,325			
ŠL-2:1	0,110	0,634	452,8 ± 0,3	85,3	4528,2 ± 2,5
	0,110	0,634			
ŠL-1:1	0,480	0,264	185,6 ± 3,9	35,0	1856,4 ± 39,4
	0,488	0,256			
ŠL-1:2	0,521	0,223	155,9 ± 4,6	29,3	1558,6 ± 45,5
	0,530	0,214			
Meduňka lékařská	**A_{734} [-]**	**A [-]**	**AOX [$\mu g.ml^{-1}$] ± SD**	**zhášení radikálu $ABTS^{\bullet+}$ [%]**	**AOX [$\mu g_{TEAC}.g^{-1}$] ± SD**
ML-KS	0,262	0,476	3612,9 ± 306,1	100,0	-
	0,201	0,536			
ML-2:1	0,123	0,615	435,0 ± 5,6	82,6	4350,0 ± 55,6
	0,134	0,604			
ML-1:1	0,263	0,474	332,0 ± 9,6	63,1	3320,4 ± 95,5
	0,282	0,455			
ML-1:2	0,383	0,354	248,8 ± 5,9	47,3	2487,9 ± 58,6
	0,395	0,343			
Máta peprná	**A_{734} [-]**	**A [-]**	**AOX [$\mu g.ml^{-1}$] ± SD**	**zhášení radikálu $ABTS^{\bullet+}$ [%]**	**AOX [$\mu g_{TEAC}.g^{-1}$] ± SD**
MP-KS	0,268	0,470	3403,6 ± 68,7	100,0	-
	0,254	0,483			
MP-2:1	0,528	0,209	159,6 ± 14,6	30,3	1596,4 ± 145,5
	0,499	0,238			
MP-1:1	0,580	0,158	115,8 ± 4,7	22,0	1158,2 ± 47,0
	0,570	0,167			
MP-1:2	0,625	0,112	91,5 ± 16,2	17,4	914,6 ± 162,1
	0,593	0,144			

A_{734} – naměřená absorbance, A – vypočtená absorbance dle Rovnice 1 (viz kap. 3.6.2.2.), AOX – antioxidační aktivita, kódy vzorků viz Tabulka 10



Obrázek 44: *Graf srovnání antioxidační aktivity v komerčních a vyrobených sirupech, kódy vzorků viz Tabulka 10*

4.3. Senzorická analýza

Senzorická analýza byla rozdělena na dvě části. V první části hodnotitelé srovnávali vyrobené sirupy. Jednalo se vždy o tři sirupy od každé byliny v poměrech 2:1, 1:1 a 1:2 (extrakt:sirupovému základu).

V první části senzorické analýzy dotazník obsahovat tři sety (set 1 – Šalvěj, set 2 – Meduňka a set 3 – Máta). V každého setu byla hodnocena konzistence sirupu, která zahrnovala tekutost (viskózní → tekuté) a zakalenost (zakalené → čiré). Dále intenzitu (nejméně → nejvíce intenzivní) a příjemnost (nejméně → nejvíce příjemná) vůně. Byl proveden profilový test vybraných chutí, konkrétně sladké, kyselé, hořké, bylinkové a jiné (pachuť) (neznatelná → velmi výrazná). Jako poslední hodnotitelé hodnotili celkovou přijatelnost vzorku. Dotazník je uveden v ***Příloze 7***.

4.3.1. Vyrobené sirupy z šalvěje lékařské

Výsledky vyhodnocení sirupů z šalvěje jsou zaznamenány v ***Tabulce 20***. Získaná data byla podrobena Shapiro-Wilkově testu normality. Z analýzy bylo zjištěno, že všechna data vykazují normální distribuci, kromě zakalenosti u sirupu ŠL-1:2. Tyto data nejsou normálně distribuována (zvýrazněna tučně), proto u těchto dat nebyl počítán průměr a směrodatná odchylka, ale byl použit medián a interkvartilový rozptyl dat.

Na ***Obrázku 45*** jsou vyobrazeny hodnoty tekutosti pro jednotlivé sirupy, na ***Obrázku 46*** zakalenost.

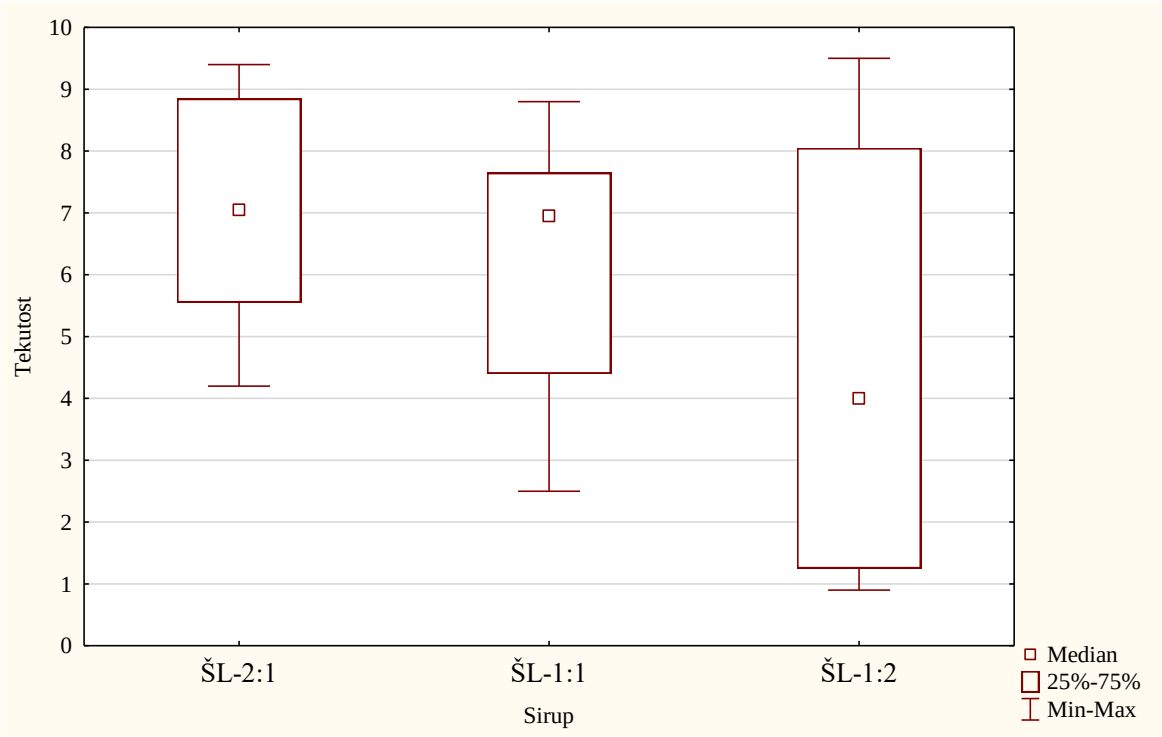
Sirup, ve kterém bylo nejvíce bylinného extraktu, byl zároveň nejvíce tekutý. Hodnotitelům se zdál nejvíce zakalený sirup, který obsahoval nejvíce bylinného extraktu. Přesně naopak tomu

bylo u sirupu v poměru 1:2, kde bylo větší množství sirupového základu, který byl čirý a měl nažloutlou barvu.

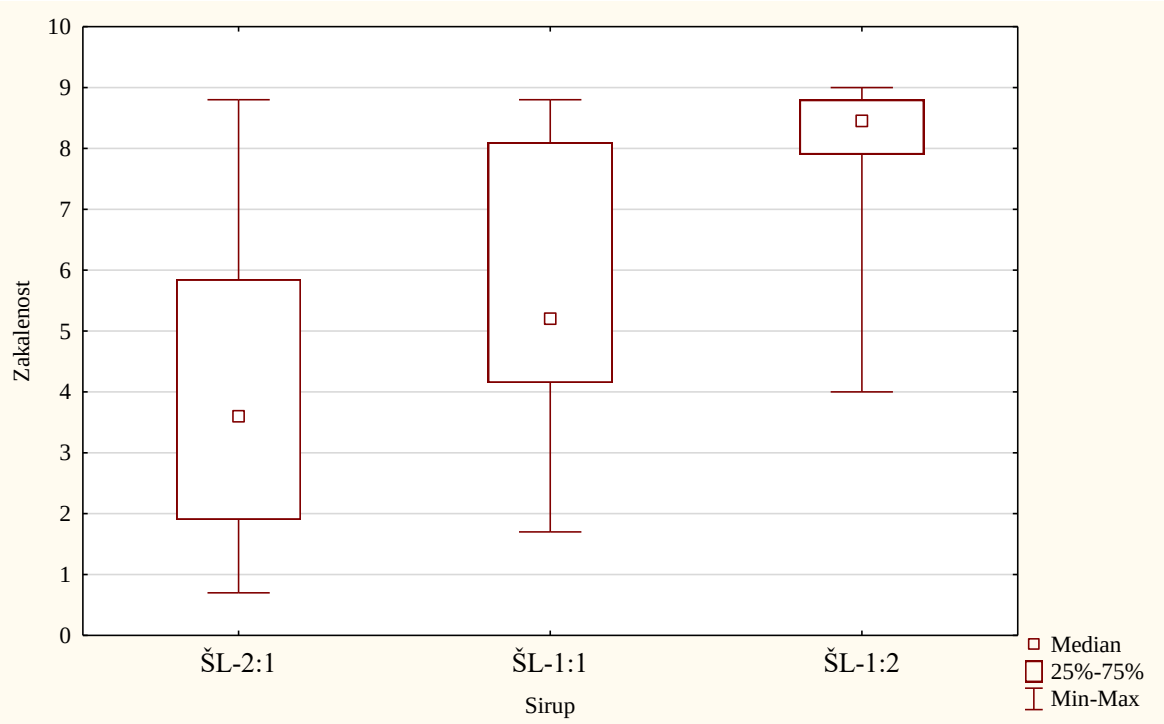
Při hodnocení vůně byla zkoumána její intenzita a příjemnost, rozdíly mezi vzorky nebyly výrazné. U intenzity nepozorujeme žádný trend. Hodnotitelům nejintenzivněji voněl sirup v poměru 2:1. Jako nejvíce příjemná vůně byla označena vůně sirupu s největším množstvím bylinného extraktu.

Tabulka 20: *Senzorické hodnocení sirupů z šalvěje lékařské s různým poměrem extraktu:sirupovému základu (výsledky z grafických stupnic jsou uvedeny v cm), kódy vzorku viz Tabulka 10*

	Konzistence		**Vůně**	
	Tekutost	**Zakalenost**	**Intenzita**	**Příjemnost**
ŠL-2:1	7,09 ± 2,21	3,93 ± 2,56	6,69 ± 1,68	8,09 ± 0,90
ŠL-1:1	6,19 ± 2,21	5,78 ± 2,42	5,59 ± 2,31	7,25 ± 2,06
ŠL-1:2	4,63 ± 3,21	**8,45 ± 0,90**	6,38 ± 1,91	6,97 ± 1,78



Obrázek 45: *Vliv množství přidaného extraktu na tekutost sirupů z šalvěje lékařské, kódy vzorků viz Tabulka 10*



Obrázek 46: *Vliv množství přidaného extraktu na zakalenost sirupů z šalvěje lékařské, kódy vzorků viz Tabulka 10*

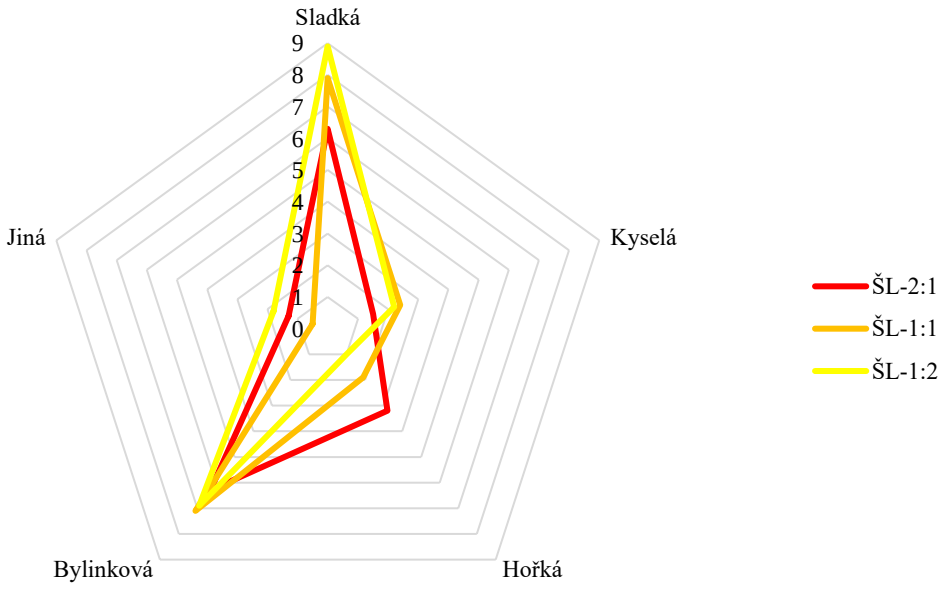
4.3.1.1. Profilový test vybraných chutí

Další část se skládala z profilového testu vybraných chutí. Zkoumala se sladká, kyselá, hořká, bylinková a jiná chuť. Vyobrazení výsledků je uvedeno na ***Obrázku 47***.

U sirupu ŠL-2:1, což je sirup, ve kterém bylo největší množství bylinného extraktu, byla nejslabší sladká chuť v porovnání s ostatními sirupy. Hořká chuť, zde byla velmi výrazná a to hlavně z důvodu použití většího množství extraktu. Bylinková chuť byla cítit ve všech bylinných sirupech z šalvěje lékařské. Jiné chutě u sirupů nebyly téměř detekovány.

U sirupu ŠL-1:1, což je sirup, který obsahoval stejné množství bylinného extraktu i sirupového základu, byla pozorována sladší a kyselejší chuť než u sirupu ŠL-2:1. Tyto chuti více vynikly, protože bylo přidáno méně bylinného extraktu, tím pádem vynikla chuť sirupového základu, který se skládal z roztoku sacharózy okyseleného kyselinou mléčnou.

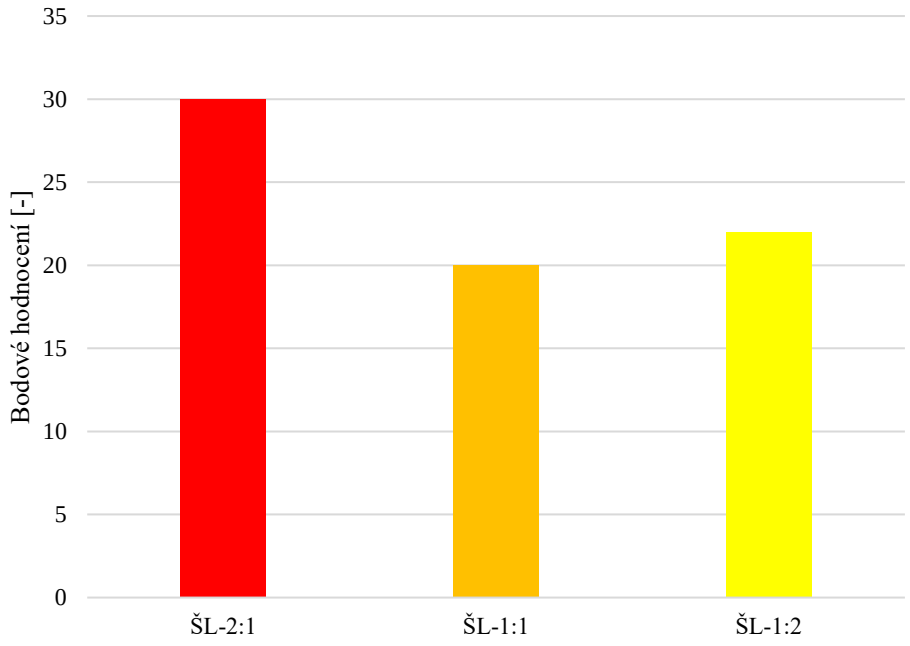
U sirupu ŠL-1:2, což je sirup, ve kterém bylo největší množství sirupového základu, byla pozorována nejsladší chuť s náznakem kyselé chuti.



Obrázek 47: *Profilový test vybraných chutí sirupů z šalvěje lékařské, kódy vzorků viz Tabulka 10*

4.3.1.2. Hodnocení celkové přijatelnosti vzorku

Na ***Obrázku 48*** vidíme hodnocení celkové přijatelnosti vzorku. Je patrné, že nejvíce přijatelný sirup byl ŠL-1:1. Tento sirup obsahoval stejné množství bylinného extraktu a sirupového základu. Tento sirup z celkového počtu 12 hodnotitelů, označilo 5 hodnotitelů jako nejlepší sirup, dalších 5 hodnotitelů ho umístilo na druhé místo. Sirup ŠL-1:2 byl vyhodnocen jako druhý nejlepší, i přesto, že hodnotitelům tento sirup chutnal.



Obrázek 48: *Graf celkové přijatelnosti sirupů z šalvěje lékařské (nejlepší → nejhorší vzorek), kódy vzorků viz Tabulka 10*

Z výsledků senzorické části šalvějových sirupů byl vybrán sirup ŠL-1:1, jako nejlepší sirup. Tento sirup byl hodnotiteli označen, jako přiměřeně tekutý a čirý. Měl nejméně intenzivní, ale přesto příjemnou vůni. V profilovém testu chutí u tohoto sirupu hodnotitelé pozorovali přiměřeně sladkou chuť, výraznější kyselou a bylikovou chuť. Tento sirup byl následně podroben druhé části senzorické analýzy.

4.3.2. Vyrobené sirupy z meduňky lékařské

Výsledky hodnocení sirupů z meduňky jsou zaznamenány v ***Tabulce 21***. Získaná data byla podrobena Shapiro-Wilkově testu normality. Z analýzy bylo zjištěno, že všechna data vykazují normální distribuci, kromě tekutosti u sirupu ML-1:1 a intenzitě vůně u sirupu ML-2:1. Tato data nejsou normálně distribuována (zvýrazněny tučně), proto u těchto dat nebyl počítán průměr a směrodatná odchylka, ale byl použit medián a interkvartilový rozptyl dat.

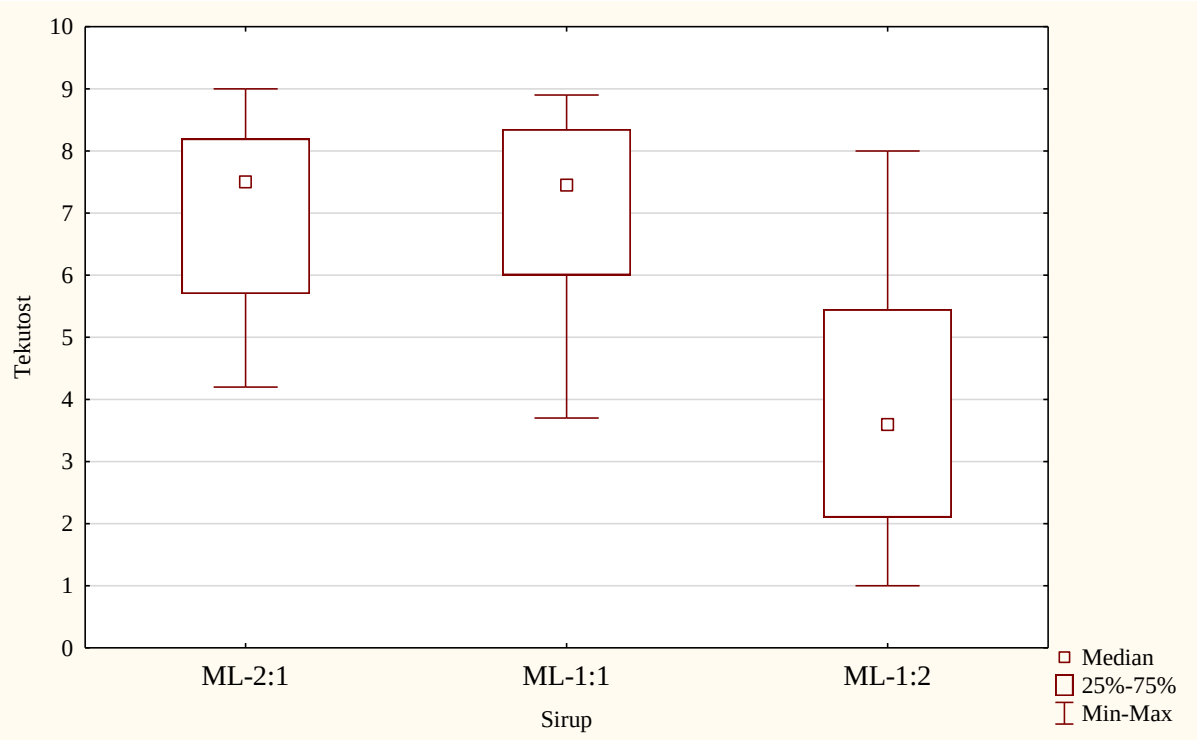
Na ***Obrázku 49*** jsou vyobrazeny hodnoty tekutosti pro jednotlivé sirupy, na ***Obrázku 50*** zakalenost.

Hodnotitelům se zdál nejvíce zakalený sirup, který obsahoval nejvíce bylinného extraktu.

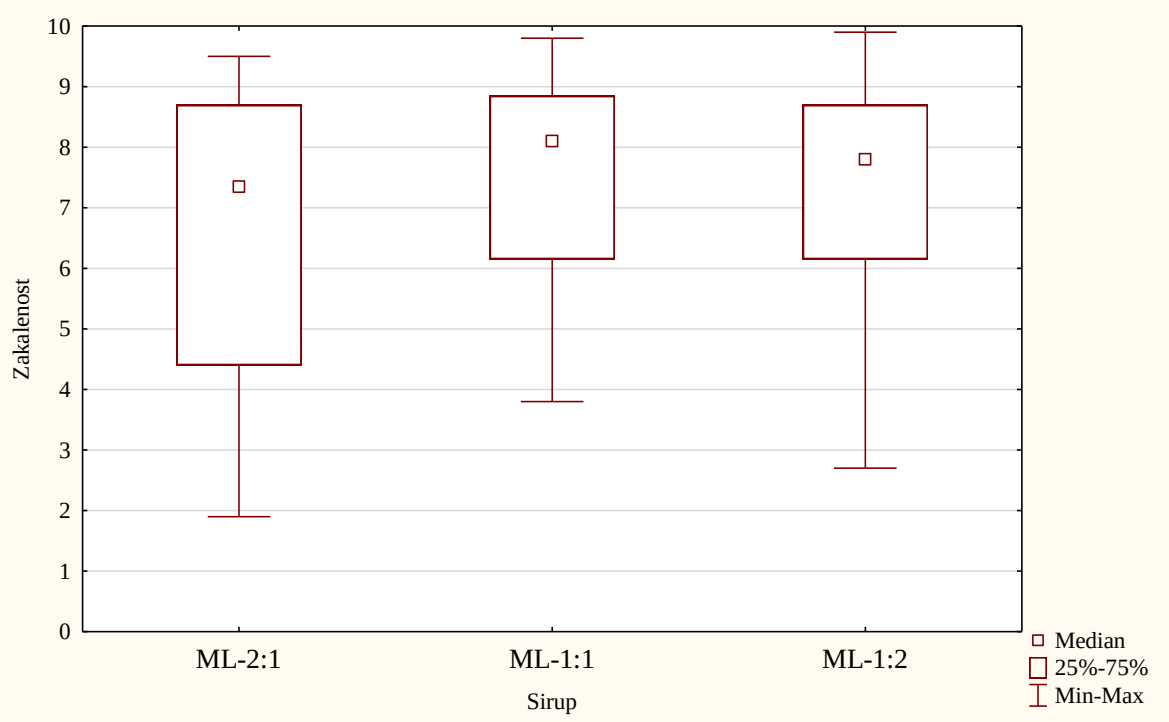
Nejvyšší intenzita vůně byla i sirupu, který obsahoval největší množství bylinného extraktu. Jako nejvíce příjemná byla označena vůně sirupu s nejmenším množstvím bylinného extraktu. Rozdíly mezi vzorky byly opět nevýznamné, takže můžeme říci, že všechny sirupy měly příjemnou vůni.

Tabulka 21: *Senzorické hodnocení sirupů z meduňky lékařské s různým poměrem extraktu:sirupovému základu (výsledky z grafických stupnic jsou uvedeny v cm), kódy vzorků viz Tabulka 10*

	Konzistence		**Vůně**	
	Tekutost	**Zakalenost**	**Intenzita**	**Příjemnost**
ML-2:1	7,03 ± 1,58	6,60 ± 2,62	**7,90 ± 1,90**	7,00 ± 2,26
ML-1:1	**7,45 ± 2,88**	7,48 ± 1,81	6,32 ± 2,19	6,88 ± 1,97
ML-1:2	3,88 ± 2,24	7,34 ± 2,14	6,52 ± 2,26	7,48 ± 1,82



Obrázek 49: *Vliv množství přidaného extraktu na tekutost sirupů z meduňky lékařské, kódy vzorků viz Tabulka 10*



Obrázek 50: *Vliv množství přidaného extraktu na zakalenost sirupů z meduňky lékařské, kódy vzorků viz Tabulka 10*

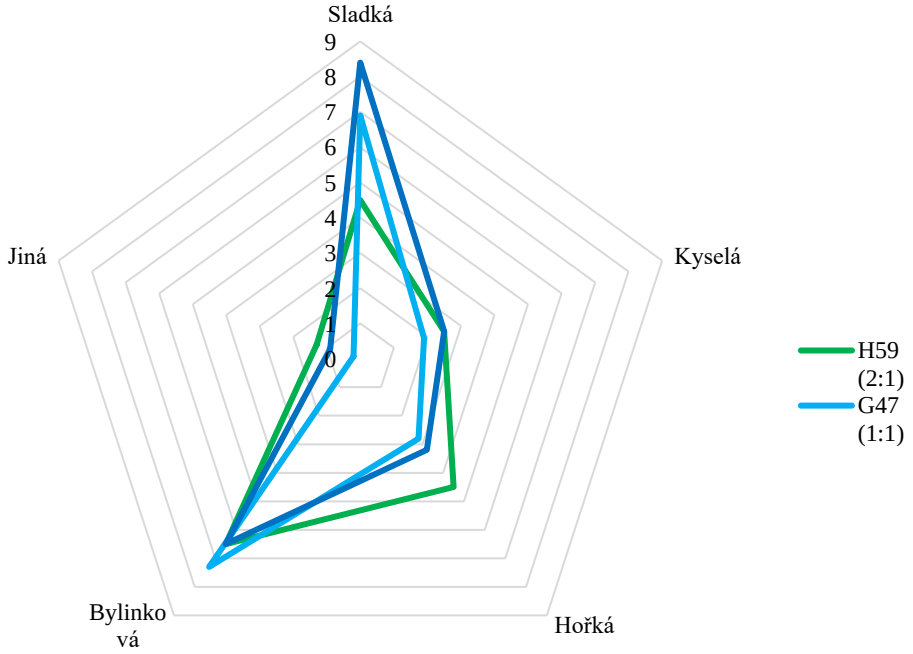
4.3.2.1. Profilový test vybraných chutí

Další část se skládala z profilového testu vybraných chutí. Zkoumala se sladká, kyselá, hořká, bylinková a jiná chuť. Vyobrazení výsledků z tohoto testu je uvedeno na ***Obrázku 51***.

U sirupu ML-2:1, což je sirup, ve kterém bylo největší množství bylinného extraktu, byla nejslabší sladká chuť v porovnání s ostatními sirupy. Hořká chuť, zde byla velmi výrazná a to hlavně z důvodu použití většího množství extraktu. Bylinková chuť byla cítit ve všech bylinných sirupech z meduňky lékařské. Jiné chutě u sirupů nebyly téměř pozorovány. U tohoto sirupu hodnotitelé označili kyselou chuť za výraznou.

U sirupu ML-1:1, což je sirup, který obsahoval stejné množství bylinného extraktu i sirupového základu, byla pozorována sladší a kyselejší chuť než u sirupu H59. Tato chuť více vynikla, protože bylo přidáno méně bylinného extraktu, tím pádem vynikla chuť sirupového základu. Kyselá chuť u tohoto sirupu nebyla téměř pozorována.

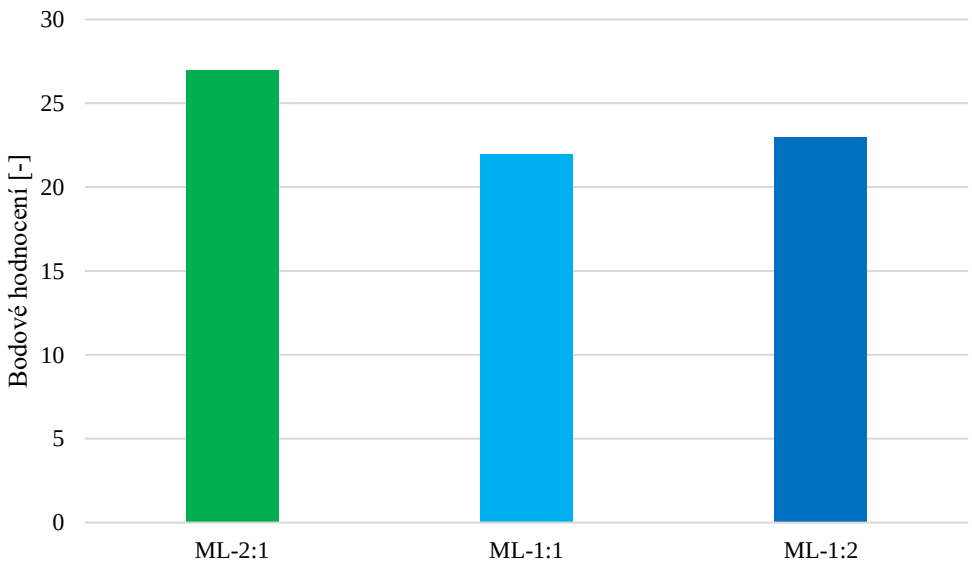
U sirupu ML-1:2, což je sirup, ve kterém bylo největší množství sirupového základu, byla pozorována nejsladší chuť ze všech sirupů. Kyselá chuť byla hodnotiteli také pozorována.



Obrázek 51: *Profilový test vybraných chutí sirupů z meduňnky lékařské, kódy vzorků viz Tabulka 10*

4.3.2.2. Hodnocení celkové přijatelnosti vzorku

Na ***Obrázku 52*** vidíme hodnocení celkové přijatelnosti vzorku. Je patrné, že nejvíce přijatelný sirup byl ML-1:1. Tento sirup obsahoval stejné množství bylinného extraktu a sirupového základu. Tento sirup z celkového počtu 12 hodnotitelů, označilo 5 hodnotitelů jako nejlepší sirup, dalších 4 hodnotitelé ho umístili na druhé místo.



Obrázek 52: *Graf celkové přijatelnosti sirupů z meduňky lékařské (nejlepší → nejhorší vzorek), kódy vzorků viz Tabulka 10*

Z výsledků senzorické části meduňkových sirupů byl vybrán sirup ML-1:1, jako nejlepší. Tento sirup byl hodnotiteli označen, jako nejvíce tekutý a čirý. Měl nejméně intenzivní a příjemnou vůni. V profilovém testu chutí u tohoto sirupu hodnotitelé pozorovali přiměřeně sladkou, nejméně hořkou a výraznější bylinkovou chuť. Tento sirup byl následně podroben druhé části senzorické analýzy.

4.3.3. Vyrobené sirupy z máty peprné

Výsledky hodnocení sirupů z máty jsou zaznamenány v ***Tabulce 22***. Získaná data byla podrobena Shapiro-Wilkově testu normality. Z analýzy bylo zjištěno, že vetší část dat vykazuje normální distribuci, kromě tekutosti u sirpu MP-2:1, zakalenosti u sirupu MP-1:2, intenzitě vůně u sirupu MP-2:1 a příjemnosti vůně u sirupu MP-1:2. Tato data nejsou normálně distribuována (zvýrazněny tučně), proto u těchto dat nebyl počítán průměr a směrodatná odchylka, ale byl použit medián a interkvartilový rozptyl dat.

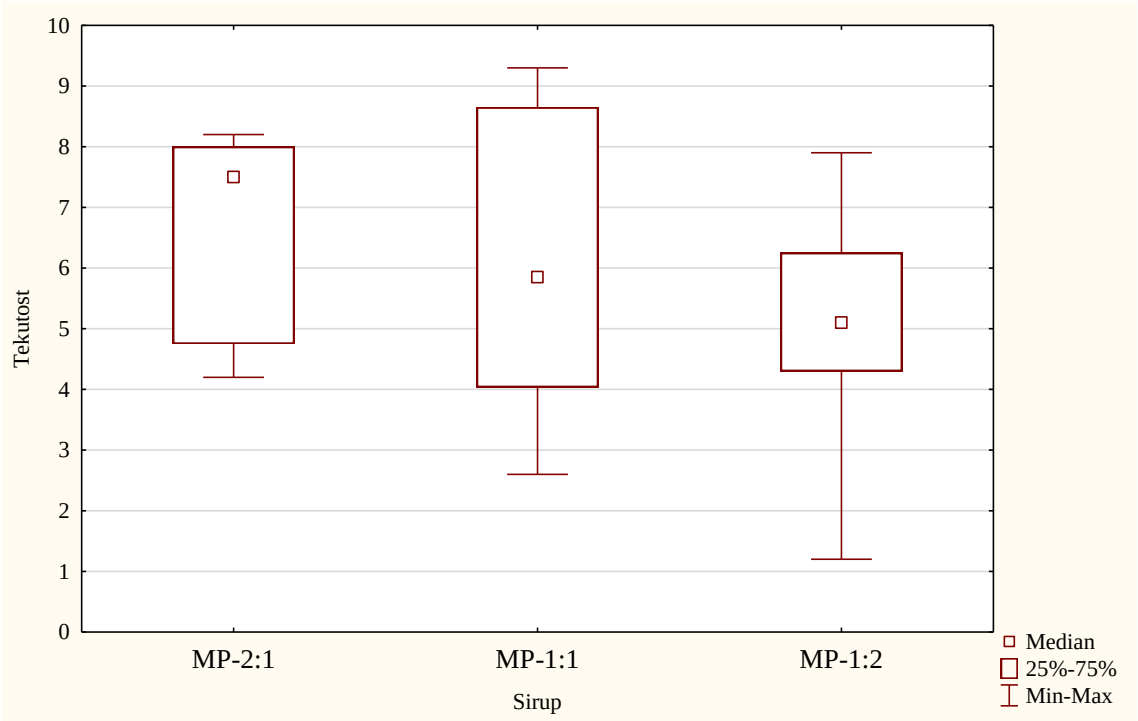
Na ***Obrázku 53*** jsou vyobrazeny hodnoty tekutosti pro jednotlivé sirupy, na ***Obrázku 54*** zakalenost.

Sirup, který obsahoval největší množství bylinného extraktu, byl zároveň i nejtekutější. Hodnotitelům se zdál nejvíce zakalený sirup, který obsahoval nejvíce bylinného extraktu.

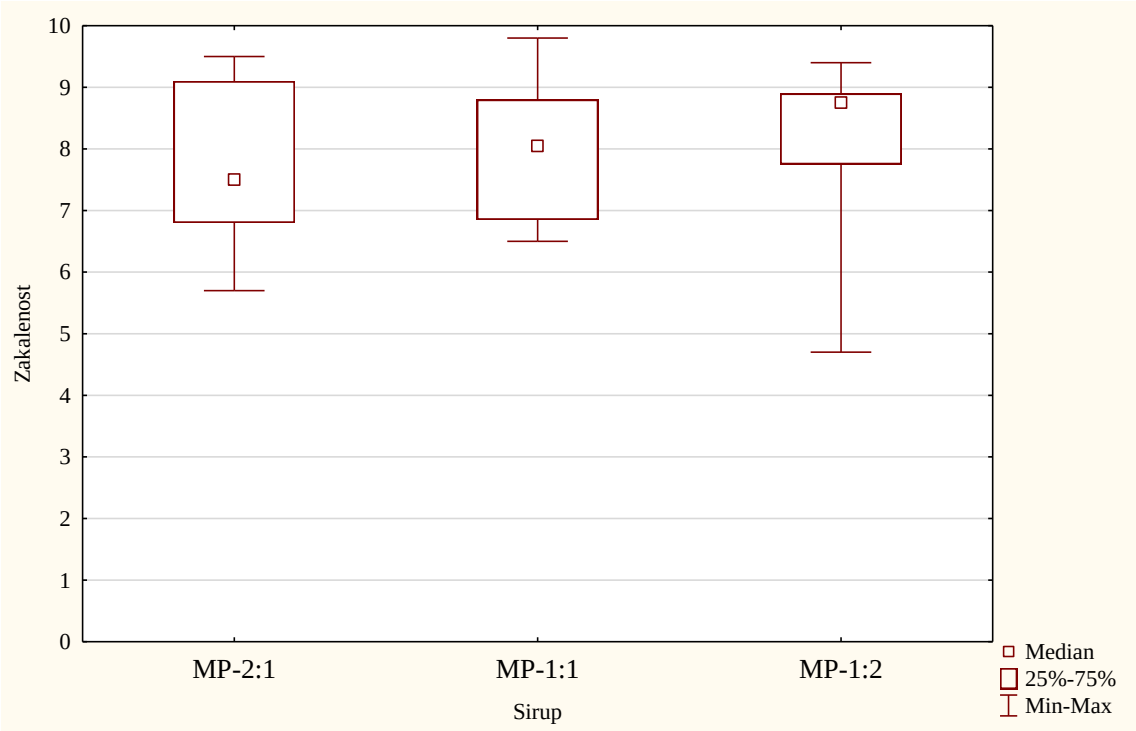
Při hodnocení vůně byla zkoumána její intenzita a příjemnost, rozdíly mezi vzorky byly opět velmi malé. Nejpříjemnější vůně byla u sirupu, který obsahoval největší množství bylinného extraktu. Jako nejvíce příjmená vůně byla označena vůně sirupu s nejmenším množstvím bylinného extraktu.

Tabulka 22: *Senzorické hodnocení sirupů z máty peprné s různým poměrem extraktu:sirupovému základu (výsledky z grafických stupnic jsou uvedeny v cm), kódy vzorků viz Tabulka 10*

	Konzistence		Vůně	
	Tekutost	**Zakalenost**	**Intenzita**	**Příjemnost**
E95 (2:1)	**7,50 ± 3,18**	7,73 ± 1,37	**7,95 ± 1,65**	6,99 ± 2,35
A37 (1:1)	6,13 ± 2,38	8,08 ± 1,17	6,65 ± 2,03	6,77 ± 2,17
Z78 (1:2)	4,94 ± 2,08	**8,75 ± 0,98**	5,63 ± 2,11	**8,35 ± 2,33**



Obrázek 53: *Vliv množství přidaného extraktu na tekutost sirupů z máty peprné, kódy vzorků viz Tabulka 10*



Obrázek 54: *Vliv množství přidaného extraktu na zakalenost sirupů z mát peprné, kódy vzorků viz Tabulka 10*

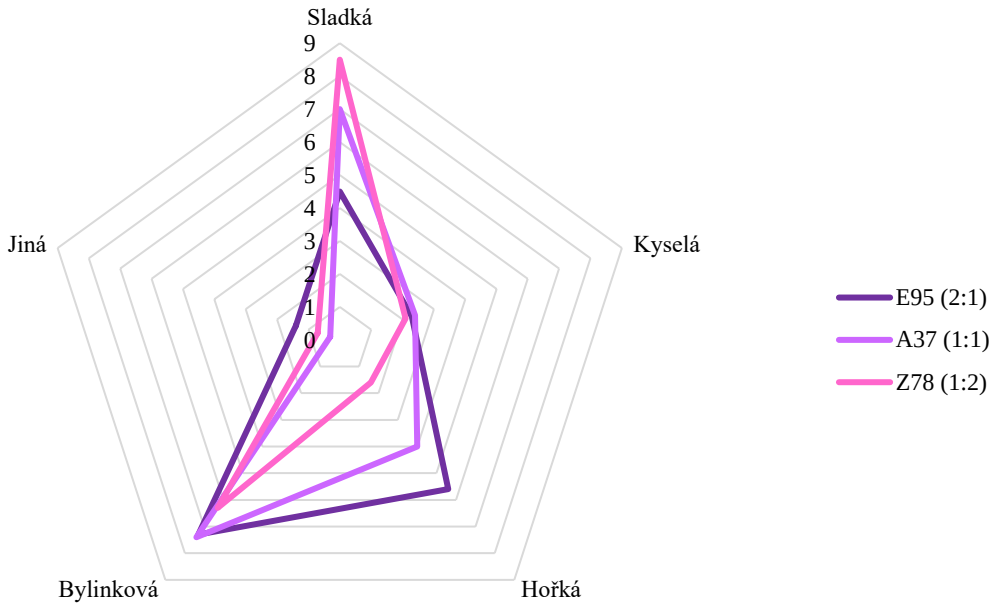
4.3.3.1. Profilový test vybraných chutí

Vyobrazení výsledků pofilového testu je uvedeno v ***Obrázku 55***.

U sirupu MP-2:1, což je sirup, ve kterém bylo největší množství bylinného extraktu, byla nejslabší sladká chuť v porovnání s ostatními sirupy. Hořká chuť, zde byla velmi výrazná a to hlavně z důvodu použití většího množství extraktu. Bylinková chuť byla cítit ve všech sirupech z máty. Jiné chutě u sirupů nebyly téměř pozorovány. U tohoto sirupu hodnotitelé označili kyselou chuť za výraznější, ale stejně tak ji označili i u jiných sirupů.

U sirupu MP-1:1, což je sirup, který obsahoval stejné množství bylinného extraktu i sirupového základu, byla pozorována sladší chuť než u sirupu E95. Tato chuť více vynikla, protože bylo přidáno méně bylinného extraktu, tím pádem vynikla chuť sirupového základu. Kyselá chuť u tohoto sirupu byla srovnatelná s ostatními sirupy z máty.

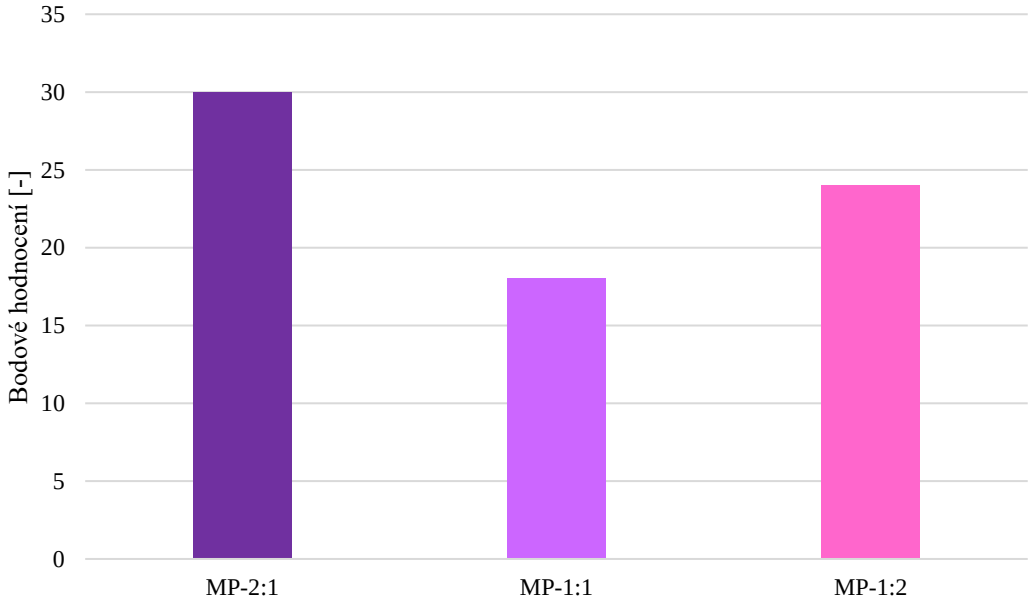
U sirupu MP-1:2, což je sirup, ve kterém bylo největší množství sirupového základu, byla pozorována nejsladší chuť ze všech sirupů. Kyselá chuť byla hodnotiteli také pozorována. V tomto sirupu byla pozorována nejslabší hořká chuť v porovnání s ostaními sirupy, díky použití menšího množství bylinného extraktu.



Obrázek 55: *Profilový test vybraných chutí sirupů z máty peprné, kódy vzorků viz Tabulka 10*

4.3.3.2. Hodnocení celkové přijatelnosti vzorku

Na ***Obrázku 56*** vidíme hodnocení celkové přijatelnosti vzorku. Je patrné, že nejvíce přijatelný sirup byl MP-1:1. Tento sirup obsahoval stejné množství bylinného extraktu a sirupového základu. Tento sirup z celkového počtu 12 hodnotitelů, označilo 6 hodnotitelů jako nejlepší, dalších 6 hodnotitelů ho umístilo na druhé místo. Žádný z hodnotitelů tento sirup neumístil na třetí místo.



Obrázek 56: *Graf celkové přijatelnosti sirupů z máty peprné, (nejlepší → nejhorší vzorek), kódy vzorků viz Tabulka 10*

Z výsledků senzorické části mátových sirupů byl vybrán sirup MP-2:1, jako nejlepší sirup. Tento sirup byl hodnotiteli označen, jako nejvíce tekutý a zakalený. Měl přiměřeně intenzivní a příjemnou vůni. V profilovém testu chutí u tohoto sirupu hodnotitelé pozorovali přiměřeně sladkou, hořkou a výraznější bylinkovou chuť. Tento sirup byl podroben druhé části senzorické analýzy.

4.4. Senzorická analýza – srovnání vyrobených vs. komerčních sirupů

Ve druhé části hodnotitelé porovnávali mezi sebou vždy komerční sirup a vyrobený sirup, který byl hodnotiteli v předchozí analýze označený za nejlepší. V případě všech tří druhů bylinných sirupů se jednalo o poměr 1:1 (extrakt:sirupovému základu). Dotazník pro senzorické hodnocení je uvedný v ***Příloze 8***.

4.4.1. Sirupy z šalvěje lékařské

Výsledky hodnocení sirupů z šalvěje jsou zaznamenány v ***Tabulce 23***. Získaná data byla podrobena Shapiro-Wilkově testu normality. Z analýzy bylo zjištěno, že všechny data vykazují normální distribuci. Tato data jsou vyhodnocena jako průměr ± směrodatná odchylka.

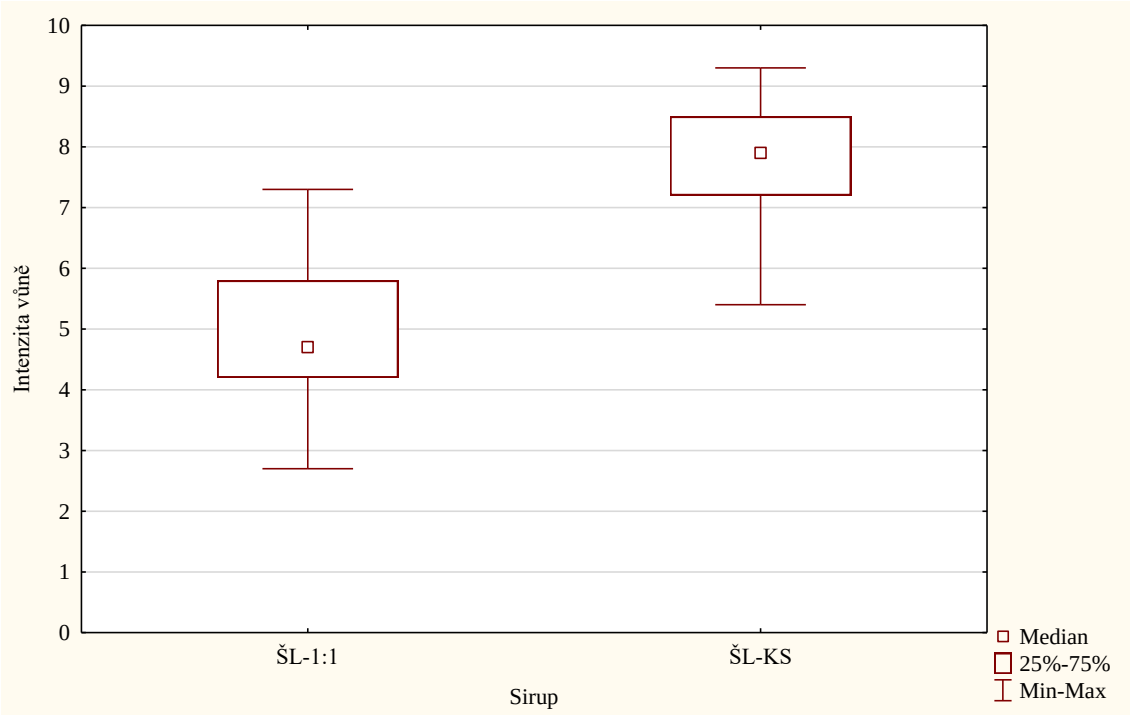
Na ***Obrázku 57*** jsou vyobrazeny hodnoty intenzity vůně pro jednotlivé sirupy, na ***Obrázku 58*** příjemnost vůně.

V této části hodnotitelé hodnotili vůni a barvu. U vůně hodnotili intenzitu a příjemnost. U barvy hodnotili pouze příjemnost barvy. Hodnotitelé uvedli, že intenzivnější vůni měl komerční sirup ŠL-KS. Stejně tomu bylo i u příjemnosti vůně.

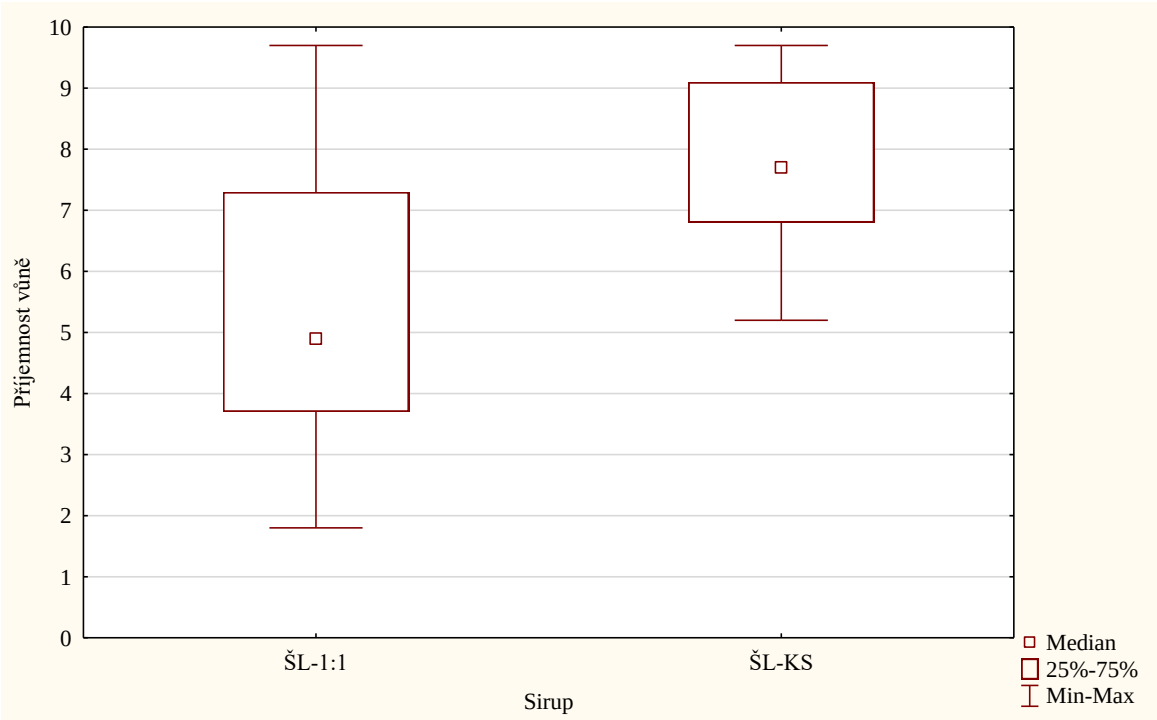
Dále byla hodnocena barva sirupů, konkrétně příjemnost barvy. Hodnotitelé zvolili příjemnější barvu u vyrobeného sirupu ŠL-1:1, ale dá se říci, že i komerční sirup měl příjemnou barvu. Rozdíly mezi hodnoceními nejsou velké.

Tabulka 23: *Senzorické hodnocení vyrobeného sirupu (ŠL-1:1) a komerčního sirupu z šalvěje lékařské (výsledky z grafických stupnic jsou uvedeny v cm), kódy vzorků viz Tabulka 10*

	Vůně		**Barva**
	Intenzita	**Příjemnost**	**Příjemnost**
ŠL-1:1	4,93 ± 1,32	5,25 ± 2,28	6,29 ± 1,48
ŠL-KS	7,81 ± 1,02	7,72 ± 1,38	6,02 ± 1,33



Obrázek 57: *Srovnání intenzity vůně vyrobeného a komerčního sirupu z šalvěje lékařské, kódy vzorků viz Tabulka 10*



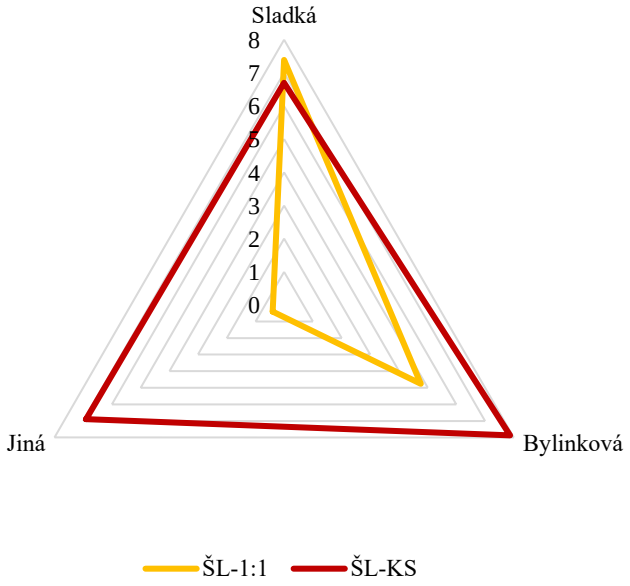
Obrázek 58: *Srovnání příjemnosti vůně vyrobeného a komerčního sirupu z šalvěje lékařské, kódy vzorků viz Tabulka 10*

4.4.1.1. *Profilový test vybraných chutí*

Další část se skládala z profilového testu vybraných chutí. Zkoumala se sladká, bylinková a jiná chuť. Vyobrazení výsledků je uvedeno na ***Obrázku 59***.

U sirupu ŠL-1:1, což je sirup vyrobený v poměru 1:1, pozorujeme výraznější sladkou chuť a méně výraznou bylinkovou chuť. Hodnotitelé neuvedli žádnou zřetelnou pachuť.

U sirupu ŠL-KS, což je sirup komerční, pozorujeme velmi výraznou bylinkovou chuť a jinou (pachuť) chuť. Jako jinou chuť hodnotitelé označili kyselou chuť. Při výrobě komerčního sirupu byla použita kyselina citrónová, na rozdíl od vyrobených sirupů, kde se přidávala kyselina mléčná, která má jemnější a méně výraznou kyselou chuť. Tento sirup hodnotitelé označili za méně sladký, což mohlo být způsobeno přídavkem výraznější kyseliny citronové.



Obrázek 59: *Profilový test vybraných chutí pro sirupy z šalvěje lékařské, kódy vzorků viz Tabulka 10*

4.4.1.2. *Párová porovnávací zkouška*

Při tomto testu hodnotitelé hodnotili, který sirup je lepší z hlediska chutnosti a celkové přijatelnosti. Vyhodnocená data jsou uvedena v ***Tabulce 24***. Z tabulky je patrné, že hodnotitelé označili jako chutnější a celkově přijatelnější komerční sirup z šalvěje.

Tabulka 24: *Vyhodnocení párové porovnávací zkoušky*

	Počet preferenčních hlasů
A37 (1:1)	5
T32 (KS)	10

kódy vzorků viz Tabulka 10

4.4.2. Sirupy z meduňky lékařské

Výsledky hodnocení sirupů z meduňky jsou zaznamenány v ***Tabulce 25***. Získaná data byla podrobena Shapiro-Wilkově testu normality. Z analýzy bylo zjištěno, že všechna data vykazují normální distribuci. Tato data jsou vyhodnocena jako průměr ± směrodatná odchylka.

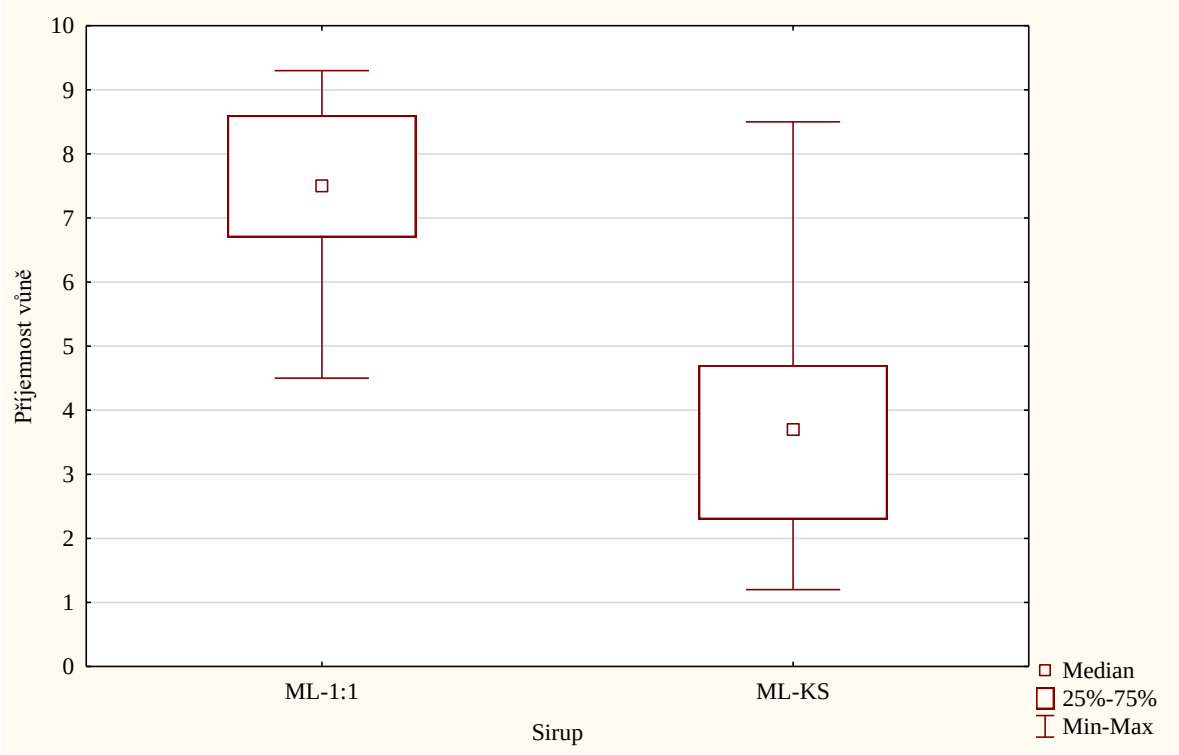
Na ***Obrázku 60*** jsou vyobrazeny hodnoty příjemnosti vůně pro jednotlivé sirupy, na ***Obrázku 61*** příjemnost barvy.

V této části hodnotitelé hodnotili vůni a barvu. U vůně hodnotili intenzitu a příjemnost. U barvy hodnotili pouze příjemnost barvy. Z hlediska intenzity mezi vzorky nebyly výrazné rozdíly. Mírně intenzivnější vůni měl komerční sirup ML-KS. V tomto hodnocení hodnotitelé označili vyrobený sirup ML-1:1 jako sirup s příjemnější vůní.

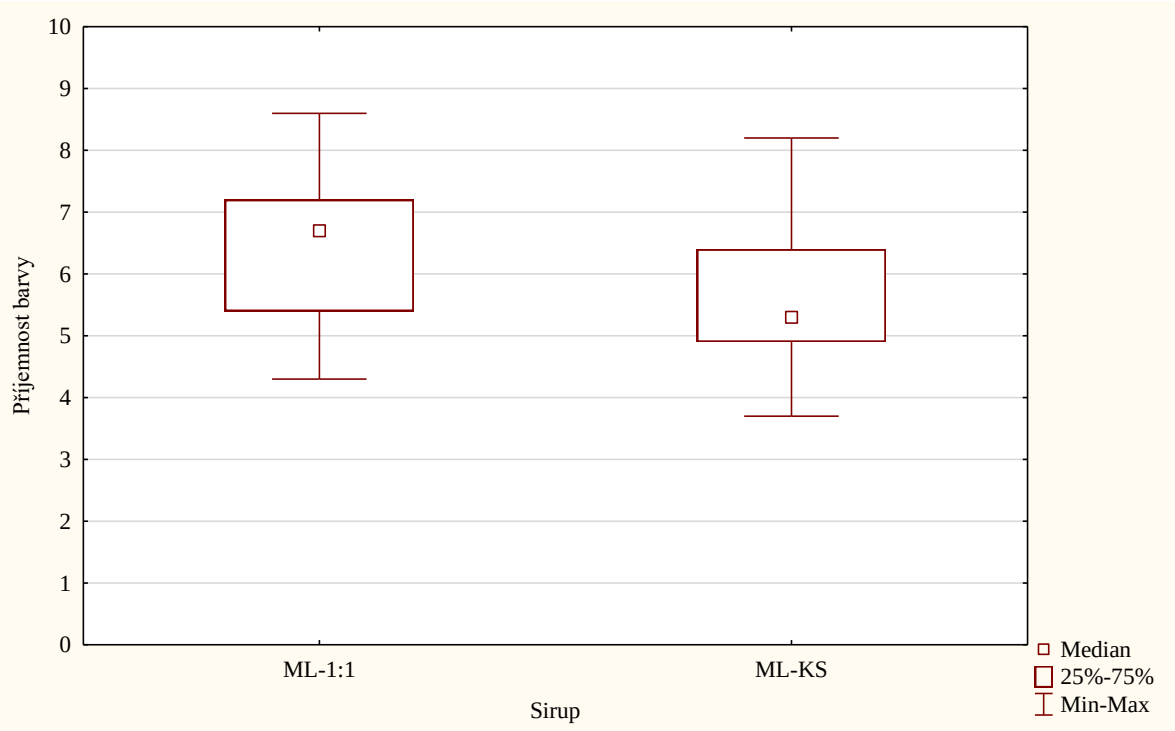
Dále byla hodnocena barva sirupů, konkrétně příjemnost barvy. Hodnotitelé zvolili příjemnější barvu u vyrobeného sirupu ML-1:1.

Tabulka 25: *Senzorické hodnocení vyrobeného sirupu (ML-1:1) a komerčního sirupu z meduňky lékařské (výsledky z grafických stupnic jsou uvedeny v cm), kódy vzorků viz Tabulka 10*

	Vůně		**Barva**
	Intenzita	**Příjemnost**	**Příjemnost**
ML-1:1	6,28 ± 1,64	7,51 ± 1,32	6,48 ± 1,14
ML-KS	6,95 ± 1,78	3,75 ± 1,92	5,66 ± 1,29



Obrázek 60: *Srovnání příjemnosti vůně vyrobeného a komerčního sirupu z meduňky lékařské, kódy vzorků viz Tabulka 10*



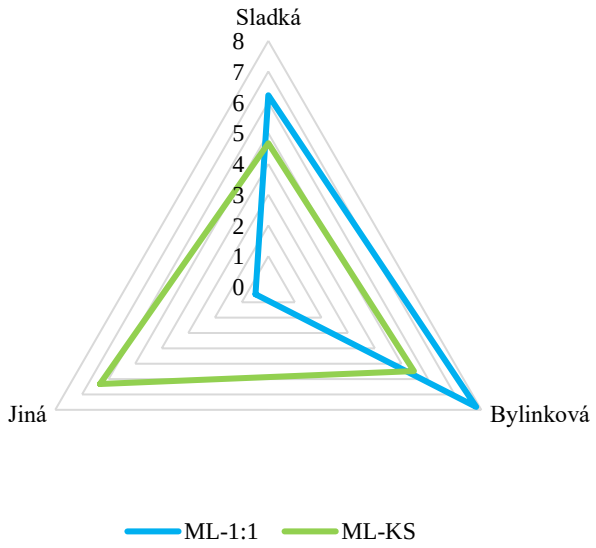
Obrázek 61: *Srovnání příjemnosti barvy vyrobeného a komerčního sirupu z meduňky lékařské, kódy vzorků viz Tabulka 10*

4.4.2.1. Profilový test vybraných chutí

Další část se skládala z profilového testu vybraných chutí. Zkoumala se sladká, bylinková a jiná chuť. Vyobrazení výsledků je uvedeno na ***Obrázku 62***.

U sirupu ML1:1, což je sirup vyrobený v poměru 1:1, pozorujeme výraznější sladkou chuť a méně výraznou bylinkovou chuť. Hodnotitelé neuvedli žádnou zřetelnou pachuť.

U sirupu ML-KS, což je sirup komerční, pozorujeme velmi výraznou bylinkovou chuť a jinou (pachuť) chuť. Jako jinou chuť hodnotitelé označili kyselou, což bylo opět pravděpodobně způsobeno přídavkem kyseliny citrónové. Vzorek zároveň označili za méně sladký.



Obrázek 62: *Profilový test vybraných chutí pro sirupy z meduňky lékařské, kódy vzorků viz Tabulka 10*

4.4.2.2. Párová porovnávací zkouška

Při tomto testu hodnotitelé hodnotili, který sirup je lepší z hlediska chutnosti a celkové přijatelnosti. Vyhodnocená data jsou uvedena v ***Tabulce 26***. Z tabulky je patrné, že hodnotitelé označili jako chutnější a celkově přijatelnější vyrobený sirup z meduňky.

Tabulka 26: *Vyhodnocení párové porovnávací zkoušky.*

	Počet preferenčních hlasů
ML-1:1	10
ML-KS	5

kódy vzorků viz Tabulka 10

4.4.3. Sirupy z máty peprné

Výsledky hodnocení sirupů z máty jsou zaznamenány v ***Tabulce 27***. Získaná data byla podrobena Shapiro-Wilkově testu normality. Z analýzy bylo zjištěno, že všechna data vykazují normální distribuci. Tato data jsou vyhodnocena jako průměr ± směrodatná odchylka.

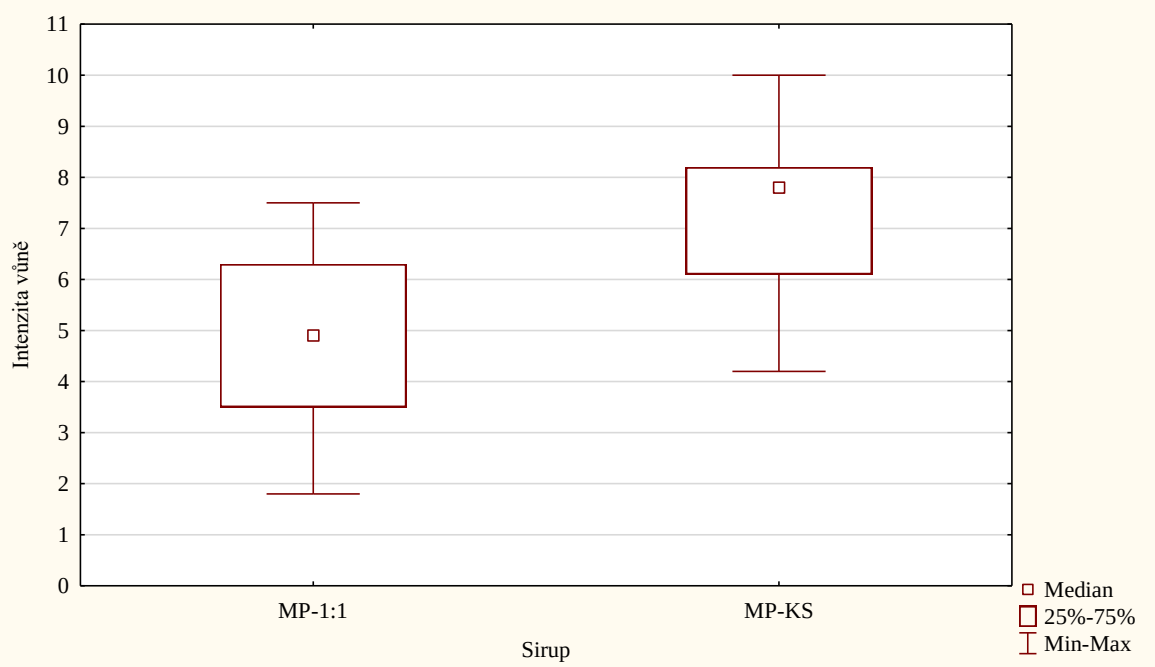
Na ***Obrázku 63*** jsou vyobrazeny hodnoty intenzity vůně pro jednotlivé sirupy, na ***Obrázku 64*** příjemnost vůně.

V této části hodnotitelé hodnotili vůni a barvu. U vůně hodnotili intenzitu a příjemnost. U barvy hodnotili pouze příjemnost barvy. Hodnotitelé uvedli, že intenzivnější vůni měl komerční sirup MP-KS. Stejně tomu bylo i u příjemnosti vůně.

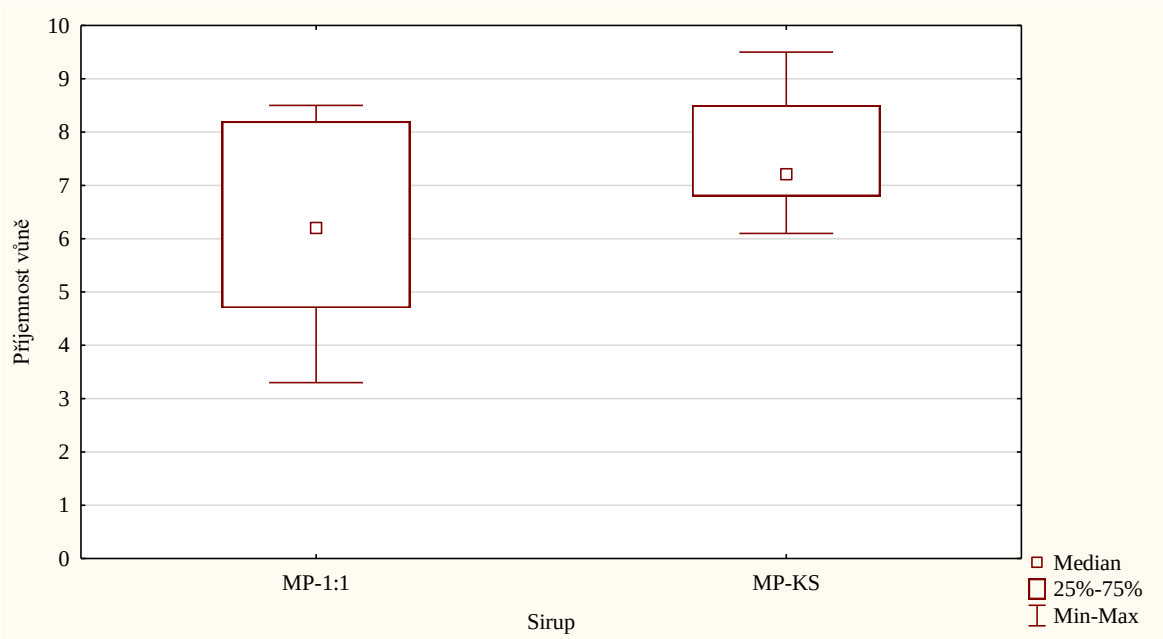
Dále byla hodnocena barva sirupů, konkrétně příjemnost barvy. Mezi vzorky nebyly výrazné rozdíly, mírně příjemnější barvu měl vyrobený sirup MP-1:1.

Tabulka 27: *Senzorické hodnocení vyrobeného sirupu (MP-1:1) a komerčního sirupu z máty peprné (výsledky z grafických stupnic jsou uvedeny v cm), kódy vzorků viz Tabulka 10*

	Vůně		**Barva**
	Intenzita	**Příjemnost**	**Příjemnost**
MP-1:1	4,98 ± 1,79	6,42 ± 1,67	5,78 ± 1,30
MP-KS	7,37 ± 1,69	7,47 ± 1,03	5,29 ± 1,15



Obrázek 63: *Srovnání intenzity vůně vyrobeného a komerčního sirupu z máty peprné, kódy vzorků viz Tabulka 10*



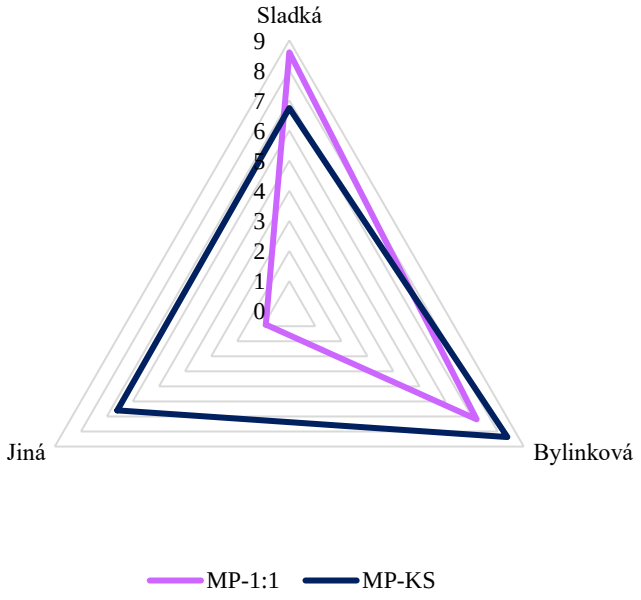
Obrázek 64: *Srovnání příjemnosti vůně vyrobeného a komerčního sirupu z máty peprné, kódy vzorků viz Tabulka 10*

4.4.3.1. *Profilový test vybraných chutí*

Další část se skládala z profilového testu vybraných chutí. Zkoumala se sladká, bylinková a jiná chuť. Vyobrazení výsledků je uvedeno na ***Obrázku 65***.

U sirupu MP-1:1, což je sirup vyrobený v poměru 1:1, pozorujeme výraznější sladkou chuť a méně výraznou bylinkovou chuť. Hodnotitelé neuvedli žádnou zřetelnou pachuť.

U sirupu MP-KS, což je sirup komerční, pozorujeme velmi výraznou bylinkovou chuť a jinou (pachuť) chuť. Jako jinou chuť hodnotitelé označili kyselou chuť, způsobenou přídavkem kyseliny citronové. Zároveň byl označen za méně sladký.



Obrázek 65: *Profilový test vybraných chutí pro sirupy z máty peprné, kódy vzorků viz Tabulka 10*

4.4.3.2. *Párová porovnávací zkouška*

Při tomto testu hodnotitelé hodnotili, který sirup je lepší z hlediska chutnosti a celkové přijatelnosti. Vyhodnocená data jsou uvedena v ***Tabulce 28***. Z tabulky je patrné, že hodnotitelé označili jako chutnější a celkově přijatelnější komerční sirup z máty.

Tabulka 28: *Vyhodnocení párové porovnávací zkoušky*

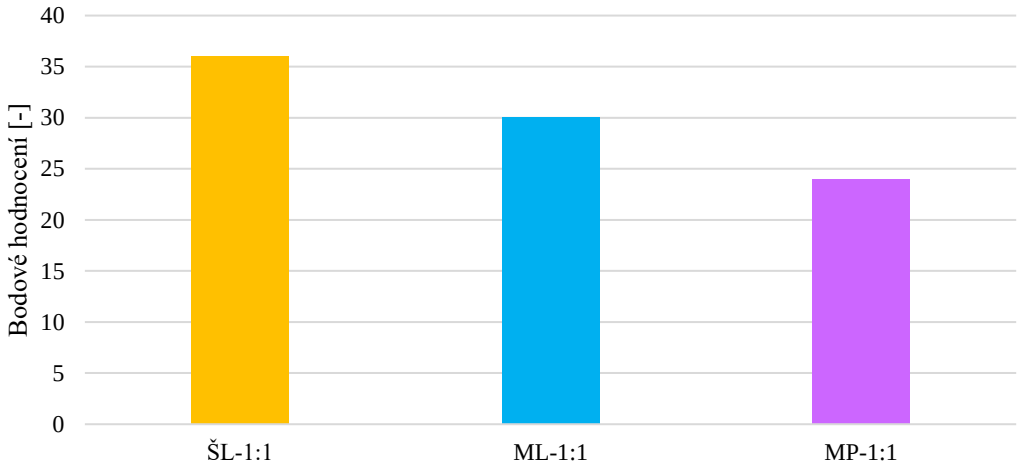
	Počet preferenčních hlasů
MP-1:1	4
MP-KS	11

kódy vzorků viz Tabulka 10

4.4.4. Hodnocení celkové přijatelnosti výrobených sirupů

Na závěr byly pomocí pořadové zkoušky srovnány vždy tři testované sirupy (šalvěj vs. meduňka vs. máta) z hlediska celkové přijatelnosti (zvlášť komerční a zvlášť vyrobené) pro zjištění, která bylinná příchuť hodnotitelům chutná nejvíce.

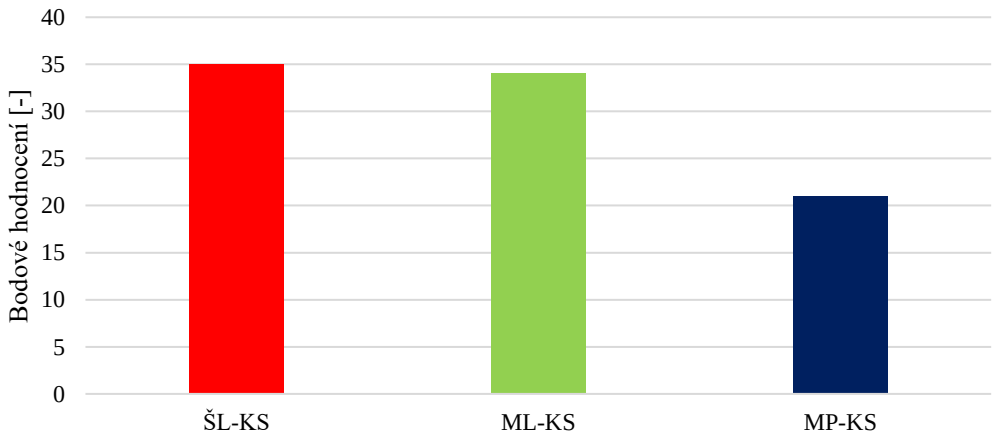
Na ***Obrázku 66*** vidíme hodnocení celkové přijatelnosti vyrobených sirupů. Je patrné, že nejvíce přijatelný byl sirup mátový (MP-1:1). Z celkových 15 hodnotitelů, ho 8 hodnotitelů označilo jako nejlepší sirup a dalších 5 jako druhý nejlepší. Nejméně přijatelným sirupem je sirup šalvějový (ŠL-1:1), nejspíše kvůli specifické chuti šalvěje.



Obrázek 66: *Graf celkové přijatelnosti vyrobených sirupů, (nejlepší → nejhorší vzorek), kódy vzorků viz Tabulka 10*

4.4.5. Hodnocení celkové přijatelnosti komerčních sirupů

Na ***Obrázku 67*** vidíme hodnocení celkové přijatelnosti komerčních sirupů. Je patrné, že nejvíce přijatelný byl opět sirup mátový (MP-KS). Z celkových 15 hodnotitelů, ho 10 hodnotitelů označilo jako nejlepší sirup a dalších 4 jako druhý nejlepší. Nejméně přijatelným byl opět sirup šalvějový (ŠL-KS), nicméně jak je patrné z ***Obrázku 67***, rozdíl mezi sirupem šalvějovým a meduňkovým je v tomto případě velmi malý.



Obrázek 67: *Graf celkové přijatelnosti komerčních sirupů, (nejlepší → nejhorší vzorek), kódy vzorků viz Tabulka 10*

5. ZÁVĚR

Tato práce se zabývá získáváním extraktů tří vybraných bylin, konkrétně šalvěje lékařské *(Salvia officinalis)*, meduňky lékařské (*Melissa officinalis)* a máty peprné *(Mentha piperita)*, a jejich následnou aplikací do bylinných sirupů.

Pro získání bylinného extraktu byly čerstvé listy a stonky macerovány v 25% ethanolu (60°C, 90 min.). Z připravených extraktů byly vyrobeny bylinné sirupy smícháním se sirupovým základem (65% roztok sacharózy + kyselina mléčná) v optimálním poměru 1:1.

Extrakty i vyrobené sirupy byly charakterizovány z hlediska profilu těkavých látek, obsahu fenolických látek, antioxidační aktivity a antimikrobiální aktivity. Vyrobené sirupy byly hodnoceny také senzoricky a porovnány s obdobnými komerčními vzorky (Baťkovy sirupy s.r.o.). Hlavním záměrem bylo zjistit, zda budou vyrobené sirupy chutnější a nutričně zajímavější než obdobné vzorky komerční, a která z bylinných příchutí bude nejchutnější/ senzoricky nejvíce přijatelná.

V připravených extraktech byly podle očekávání detekovány těkavé aromaticky aktivní látky, fenolické sloučeniny i antioxidační aktivita, tyto se následně promítly do naměřených hodnot vyrobených sirupů. Velmi slabou antimikrobiální aktivitu vykazoval pouze extrakt z šalvěje proti bakterii *Bacillus cereus*.

V sirupu z šalvěje bylo identifikováno 36 těkavých látek, nejvíce zastoupeny byly kafr (24,8%), ledol (8,2%), eukalyptol (8,0%), viridiflorol (7,9%) a myrtenol (5,9%).

V sirupu z meduňky bylo identifikováno 20 těkavých látek, nejvíce zastoupeny byly látky α-citral (20,9%), geraniol (19,7%), β-citral (14,5%), citronelol (3,5%) a ethylester kyseliny kaprylové (2,5%).

V sirupu z máty bylo identifikováno 25 těkavých látek, nejvíce zastoupeny byly karvon (43,26%), neodihydrokarveol (27,2%), dihydrokarvon (7,5%), *cis*-karveol (2,0%) a limonen (2,0%).

Kvantitativní zastoupení nejvýznamnějších sloučenin se lišilo (komerční vs. vyrobené), ve všech vzorcích jednoznačně převažovaly, z hlediska počtu i obsahu, terpeny.

Komerční sirupy vykazovaly výrazně vyšší obsah fenolických sloučenin i antioxidační aktivitu, než sirupy vyrobené, a to u všech tří bylin. Co se týče jednotlivých bylin, obsah fenolických sloučenin klesal v pořadí šalvěj > meduňka > máta, zatímco antioxidační aktivita v pořadí meduňka > šalvěj > máta. To by mohlo naznačovat, že k antiooxidační aktivitě těchto bylin přispívají i jiné než fenolické látky.

Co se týče senzorické kvality a přijatelnosti, pouze v případě meduňky byl vyrobený sirup označen jako lepší, chutnější než vzorek komerční. Byl přiměřeně tekutý, čirý, příjemné barvy, měl výrazně sladkou, jemně bylinkovou chuť. Jeho vůně nebyla příliš intenzivní, ale přesto byla dle hodnotitelů přijemná.

Pokud však srovnáme jednotlivé byliny/příchutě mezi sebou, jako nejchutnější byl označen sirup mátový a nejméně chutný sirup šalvějový (máta > meduňka > šalvěj) a to v případě komerčních i vyrobených vzorků.

Z výsledků práce vyplývá, že vybrané byliny (jejich extrakty) mají senzorický i nutriční potenciál (antioxidační aktivitu, obsah fenolických a AAL), je však obtížné vybrat optimální poměr jednotlivých složek pro přípravu sirupu, protože vyšší obsah bylinného extraktu zvyšuje nutriční hodnotu, ale snižuje hodnotu senzorickou (chutnost, přijatelnost). Kompromisní poměr 1:1 (bylinný extrakt:sirupový základ), který byl vybrán jako optimální, nedosahoval kvalit sirupů komerčních. Je vidět, že komerční Báťkovy sirupy jsou opravdu kvalitní, bohatší z hlediska nutričního, a hodnotitelé označili dva z těchto sirupů (šalvějový, mátový) jako lepší/přijatelnější, než modelové vzorky vyrobené v této práci. Vzhledem k tomu, že postup přípravy komerčních sirupů není přesně znám, je však obtížné vzorky porovnávat.

6. SEZNAM POUŽITÝCH ZDROJŮ

[1] FORNI, Cinzia, Francesco FACCHIANO, Manuela BARTOLI, et al., 2019. Beneficial Role of Phytochemicals on Oxidative Stress and Age-Related Diseases. *BioMed Research International* [online]. **2019**, 1-16 [cit. 2022-02-14]. ISSN 2314-6133. Dostupné z: doi:10.1155/2019/8748253

[2] MENDOZA, Nadia a Eleazar M. Escamilla SILVA, 2018. Introduction to Phytochemicals: Secondary Metabolites from Plants with Active Principles for Pharmacological Importance. *Phytochemicals - Source of Antioxidants and Role in Disease Prevention* [online]. InTech, 2018-11-07 [cit. 2022-02-13]. ISBN 978-1-78984-377-4. Dostupné z: doi:10.5772/intechopen.78226

[3] FOTSING YANNICK STÉPHANE, Fongang, Bankeu KEZETAS JEAN JULES, Gaber EL-SABER BATIHA, Iftikhar ALI a Lenta NDJAKOU BRUNO, 2021. Extraction of Bioactive Compounds from Medicinal Plants and Herbs: Bioactive compounds and their role in disease risk reduction - A review. *Pharmacognosy - Medicinal Plants [Working Title]* [online]. IntechOpen, 2021-8-27, **8**(4), 451-458 [cit. 2022-02-13]. ISSN 22254110. Dostupné z: doi:10.5772/intechopen.98602

[4] KENNEDY, David O., Emma L. WIGHTMAN, Gaber EL-SABER BATIHA, Iftikhar ALI a Lenta NDJAKOU BRUNO, 2011. Herbal Extracts and Phytochemicals: Plant Secondary Metabolites and the Enhancement of Human Brain function. *Advances in Nutrition* [online]. IntechOpen, 2021-8-27, **2**(1), 32-50 [cit. 2022-02-13]. ISSN 2156-5376. Dostupné z: doi:10.3945/an.110.000117

[5] PANDEY, Kanti Bhooshan a Syed Ibrahim RIZVI, 2009. Plant Polyphenols as Dietary Antioxidants in Human Health and Disease. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity* [online]. **2**(5), 270-278 [cit. 2022-03-23]. ISSN 1942-0900. Dostupné z: doi:10.4161/oxim.2.5.9498

[6] A. HUSSEIN, Rehab, Amira A. EL-ANSSARY a Saad Koraichi IBNSOUDA, 2019. Plants Secondary Metabolites: The Key Drivers of the Pharmacological Actions of Medicinal Plants. *Herbal Medicine* [online]. IntechOpen, 2019-1-30, **6**(2), 71-79 [cit. 2022-02-21]. ISBN 978-1-78984-782-6. ISSN 20951779. Dostupné z: doi:10.5772/intechopen.76139

[7] KHAMENEH, Bahman, Milad IRANSHAHY, Vahid SOHEILI a Bibi Sedigheh FAZLY BAZZAZ, 2019. Review on plant antimicrobials: a mechanistic viewpoint. *Food Control* [online]. **8**(1), 412-429 [cit. 2022-02-16]. ISSN 2047-2994. Dostupné z: doi:10.1186/s13756-019-0559-6

[8] CHANDRASEKARA, Anoma, Fereidoon SHAHIDI, Raffaella BOGGIA, Maddalena GUIDO, Giovanni GAMBA, Maria Gabriella MELLANO, Isidoro RIONDATO a Gabriele L. BECCARO, 2018. Herbal beverages: Bioactive compounds and their role in disease risk reduction - A review. Journal of Traditional and Complementary Medicine [online]. IntechOpen, 2021-8-27, 8(4), 451-458 [cit. 2022-02-13]. ISSN 22254110. Dostupné z: doi:10.1016/j.jtcme.2017.08.006

[9] HAMIDPOUR, Mohsen, Rafie HAMIDPOUR, Soheila HAMIDPOUR a Mina SHAHLARI, 2014. Chemistry, Pharmacology, and Medicinal Property of Sage (Salvia) to Prevent and Cure Illnesses such as Obesity, Diabetes, Depression, Dementia, Lupus, Autism, Heart Disease, and Cancer. *Journal of Traditional and Complementary Medicine* [online]. **4**(2), 82-88 [cit. 2022-03-25]. ISSN 22254110. Dostupné z: doi:10.4103/2225-4110.130373

[10] GHORBANI, Ahmad a Mahdi ESMAEILIZADEH, 2017. Pharmacological properties of Salvia officinalis and its components. *Journal of Traditional and Complementary Medicine* [online]. 7(4), 433-440 [cit. 2022-02-12]. ISSN 22254110. Dostupné z: doi:10.1016/j.jtcme.2016.12.014

[11] OZKAN, Mustafa a Erhan SOY, 2007. Morphology, Anatomy, Hair and Karyotype Structure of Salvia blepharoclaena Hedge and Hub.-Mor. (Lamiaceae), Endemic to Turkey. *Pakistan Journal of Biological Sciences* [online]. **10**(6), 893-898 [cit. 2022-03-20]. ISSN 10288880. Dostupné z: doi:10.3923/pjbs.2007.893.898

[12] Salvia Officinalis (Šalvěj lékařská): Charakteristika:. In: *Twín Lotus: Thajská bylinná kosmetika* [online]. [cit. 2022-03-25]. Dostupné z: https://www.twinlotus.bio/rubriky/herbar/salvia-officinalis--salvej-lekarska/

[13] TUNDIS, Rosa, Mariarosaria LEPORINI, Marco BONESI, Simone ROVITO a Nicodemo G. PASSALACQUA, 2020. Salvia officinalis L. from Italy: A Comparative Chemical and Biological Study of Its Essential Oil in the Mediterranean Context. *Molecules* [online]. **25**(24) [cit. 2022-03-20]. ISSN 1420-3049. Dostupné z: doi:10.3390/molecules25245826

[14] FARHAT, Mouna Ben, Rym CHAOUCH-HAMADA, Jose A. SOTOMAYOR, Ahmed LANDOULSI a María J. JORDÁN, 2014. Antioxidant potential of Salvia officinalis L. residues as affected by the harvesting time. *Industrial Crops and Products* [online]. 54, 78-85 [cit. 2022-02-12]. ISSN 09266690. Dostupné z: doi:10.1016/j.indcrop.2014.01.001

[15] PORTE, A., R.L.O. GODOY a L.H. MAIA-PORTE, 2013. Chemical composition of sage (Salvia officinalis L.) essential oil from the Rio de Janeiro State (Brazil). Revista Brasileira de Plantas Medicinais [online]. 15(3), 438-441 [cit. 2022-03-25]. ISSN 1516-0572. Dostupné z: doi:10.1590/S1516-05722013000300018

[16] GHEZELBASH, Gholam Reza, Mohammad Reza PARISHANI a Mohammad Hassan FOANI, 2015. Antimicrobial activity of Salvia officinalis acetone extract against pathogenic isolates. Journal of Herbal Drugs [online]. 2015, (Vol. 5, 4: 215-218) [cit. 2022-04-18]. Dostupné z: https://www.researchgate.net/publication/328135262_Antimicrobial_activity_of_Salvia_officinalis_acetone_extract_against_pathogenic_isolates

[17] RAMI, Khalil a Li ZHENG GUO, 2011. Antimicrobial activity of essential oil of Salvia officinalis L. collected in Syria. African Journal of Biotechnology [online]. 10(42), 8397-8402 [cit. 2022-04-18]. ISSN 1684-5315. Dostupné z: doi:10.5897/AJB10.2615

[18] DULETIĆ-LAUŠEVIĆ, SONJA, ANA ALIMPIĆ, DANICA PAVLOVIĆ, PETAR D. MARIN a DMITAR LAKUŠIĆ, January/February 2016. Salvia officinalis of different origins: Antioxidant activity, phenolic and flavonoid content of extracts. Agro FOOD Industry Hi Tech [online]. 2016, (vol. 27(1) [cit. 2022-04-18]. Dostupné z: https://www.researchgate.net/publication/299238633_Salvia_officinalis_of_different_origins_Antioxidant_activity_phenolic_and_flavonoid_content_of_extracts

[19] ISMAEL, Montero Fernández, Rômulo Estevam Ribeiro PEDRO, Antonio Saravia Maldonado SELVIN, Perpetua Ferraz VANY, Santos Alemán RICARDO, Abrahan Marcia Fuentes JHUNIOR a Antonio Beltrán Alemán LUIS, 2020. Chemical composition of essential oil of Melissa officinalis L. and antioxidant activity from Boa Vista-RR, Brazil. *African Journal of Pharmacy and Pharmacology* [online]. **14**(3), 41-45 [cit. 2022-03-25]. ISSN 1996-0816. Dostupné z: doi:10.5897/AJPP2020.5121

[20] Lemon balm: herb, Melissa officinalis. Encyclopedia Britannica [online]. [cit. 2022-04-19]. Dostupné z: https://www.britannica.com/plant/lemon-balm

[21] Lemon balm – characteristics, cultivation, use and curative effects. Live-native.com: original native down-to-earth indigenous natural genuine local green [online]. 2019-03-07 [cit. 2022-04-19]. Dostupné z: https://www.live-native.com/lemon-balm/

[22] Medovka lekárska: Melissa officinalis. In: *FUMEE* [online]. [cit. 2022-03-25]. Dostupné z: https://myfumee.com/herbar/medovka-lekarska

[23] SODRÉ, Ana Carolina B., José Magno Q. LUZ, Lenita L. HABER, et al., 2012. Organic and mineral fertilization and chemical composition of lemon balm (Melissa officinalis) essential oil. *Revista Brasileira de Farmacognosia* [online]. **22**(1), 40-44 [cit. 2022-03-25]. ISSN 0102-695X. Dostupné z: doi:10.1590/S0102-695X2011005000186

[24] TAHERPOUR, Avat (Arman), Hossein MAROOFI, Zeinab RAFIE, et al., 2012. Chemical composition analysis of the essential oil of Melissa officinalis L. from Kurdistan, Iran by HS/SPME method and calculation of the biophysicochemical coefficients of the components. *Natural Product Research* [online]. **26**(2), 152-160 [cit. 2022-03-25]. ISSN 1478-6419. Dostupné z: doi:10.1080/14786419.2010.534733

[25] DOĞAN, Hülya, Tansu USKUTOĞLU, Hatice BAŞ, et al., 2020. Phytochemical composition of wild lemon balm (Melissa officinalis L.) from the flora of Bulgaria. *Anatolian Journal of Botany* [online]. **14**(3), 41-45 [cit. 2022-03-25]. ISSN 2602-2818. Dostupné z: doi:10.30616/ajb.959040

[26] RĂDULESCU, Matilda, Călin JIANU, Alexandra Teodora LUKINICH-GRUIA, Marius MIOC, Alexandra MIOC, Codruța ȘOICA a Loredana Gabriela STANA, 2021. Chemical Composition, In Vitro and In Silico Antioxidant Potential of Melissa officinalis subsp. officinalis Essential Oil. Antioxidants [online]. 10(7) [cit. 2022-04-18]. ISSN 2076-3921. Dostupné z: doi:10.3390/antiox10071081

[27] CARVALHO, Filomena, Ana P. DUARTE a Susana FERREIRA, 2021. Antimicrobial activity of Melissa officinalis and its potential use in food preservation. Food

Bioscience [online]. 44 [cit. 2022-04-19]. ISSN 22124292. Dostupné z: doi:10.1016/j.fbio.2021.101437

[28] ROSTAMI, H., M. KAZEMI a S. SHAFIEI, 2012. Antibacterial Activity of Lavandula officinalis and Melissa officinalis Against Some Human Pathogenic Bacteria. Asian Journal of Biochemistry [online]. 7(3), 133-142 [cit. 2022-04-19]. ISSN 18159923. Dostupné z: doi:10.3923/ajb.2012.133.142

[29] EHSANI, Ali, Omar ALIZADEH, Mohammad HASHEMI, Asma AFSHARI a Majid AMINZARE. Phytochemical, antioxidant and antibacterial properties of Melissa officinalis and Dracocephalum moldavica essential oils [online]. 2017 Sep 15 [cit. 2022-04-19]. 29085610. Dostupné z: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5653886/

[30] CHARAKTERISTICS OF PEPPERMINT PLANT. Botanical online [online]. 2 July, 2021 [cit. 2022-04-19]. Dostupné z: https://www.botanical-online.com/en/botany/peppermint-characteristics

[31] PUSHPANGADAN, P. a S.K. TEWARI, 2006. Peppermint. *Handbook of Herbs and Spices* [online]. Elsevier, 2006, 460-481 [cit. 2022-04-20]. ISBN 9781845690175. Dostupné z: doi:10.1533/9781845691717.3.460

[32] Peppermint (Mentha piperita L.). In: *Alpinola* [online]. [cit. 2022-04-20]. Dostupné z: https://alpinola.com/peppermint.html

[33] FATIH, Brahmi, Khodir MADANI, Mohamed CHIBANE a Pierre DUEZ, 2017. Chemical Composition and Biological Activities of Mentha Species. *Aromatic and Medicinal Plants - Back to Nature* [online]. InTech, 2017-03-15, 460-481 [cit. 2022-04-20]. ISBN 978-953-51-2977-6. Dostupné z: doi:10.5772/67291

[34] DESAM, Nagarjuna Reddy, Abdul Jabbar AL-RAJAB, Mukul SHARMA, Mary Moses MYLABATHULA, Ramachandra Reddy GOWKANAPALLI a Mohammed ALBRATTY, 2019. Chemical constituents, in vitro antibacterial and antifungal activity of Mentha×Piperita L. (peppermint) essential oils. Journal of King Saud University - Science [online]. 31(4), 528-533 [cit. 2022-04-20]. ISSN 10183647. Dostupné z: doi:10.1016/j.jksus.2017.07.013

[35] HERRO, Elise a Sharon E. JACOB. Mentha piperita (peppermint). National Library of Medicine: National Center for Biotechnology Information [online]. Nov-Dec 2010, (21(6):327-9) [cit. 2022-04-20]. 21144345. Dostupné z: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/21144345/

[36] BEIGI, Mohsen, Mehdi TORKI-HARCHEGANI, Abdollah GHASEMI PIRBALOUTI, Mary Moses MYLABATHULA, Ramachandra Reddy GOWKANAPALLI a Mohammed ALBRATTY, 2018. Quantity and chemical composition of essential oil of peppermint (Mentha × piperita L.) leaves under different drying methods. *International Journal of Food Properties* [online]. **21**(1), 267-276 [cit. 2022-04-20]. ISSN 1094-2912. Dostupné z: doi:10.1080/10942912.2018.1453839

[37] MARWA, Chraibi, Kawtar FIKRI-BENBRAHIM, Douae OU-YAHIA a Abdellah FARAH, 2017 Jul-Sep. African peppermint (Mentha piperita) from Morocco: Chemical composition and antimicrobial properties of essential oil. *Journal od Advanced Pharmaceutical Technology & Research: An official Publication of Society of Pharmaceutical Education & Research* [online]. 2017 Jul-Sep, (8(3): 86–90) [cit. 2022-04-20]. Dostupné z: doi:10.4103/japtr.JAPTR_11_17

[38] MANCUSO, Monique, 2020. The Antibacterial Activity of Mentha. Herbs and Spices [online]. IntechOpen, 2020-10-7 [cit. 2022-04-20]. ISBN 978-1-83962-935-8. Dostupné z: doi:10.5772/intechopen.92425

[39] ELMASTAŞ, Mahfuz, İsa TELCI, Hüseyin AKŞIT a Ramazan ERENLER. Comparison of total phenolic contents and antioxidant capacities in mint genotypes used as spices: Baharat olarak kullanılan nane genotiplerinin toplam fenolik içerikleri ve antioksidan kapasitelerinin karşılaştırılması. Turkish Journal of Biochemistry: Turkish Journal of Biochemistry – [online]. 2015;, (0(6): 456–462) [cit. 2022-04-21].

[40] MOHAN J, Devkar, Shaikh Shahrukh S. M SHAHRUKH S. M, Amol G. JADHAO, Miss. JAYSHRI SANAP a Prashant A. PATIL, 2021. Formulation and Evaluation of Herbal Syrup. Asian Journal of Pharmaceutical Research and Development [online]. 9(3), 16-22 [cit. 2022-04-21]. ISSN 2320-4850. Dostupné z: doi:10.22270/ajprd.v9i3.955

[41] SHARMA, Vikash, Saurabh SINGH, Arushi DIXIT, Alka SAXENA a Prashant A. PATIL, 2020. FORMULATION AND EVALUATION OF HERBAL COUGH SYRUP FROM SEEDS EXTRACT OF HEDGE MUSTARD. International Journal of Research in Pharmacy and Chemistry [online]. 10(1), 16-22 [cit. 2022-04-21]. ISSN 2231-2781. Dostupné z: doi:10.33289/IJRPC.10.1.2020.10(3)

[42] BINIECKA, Małgorzata, Sergio CAROLI, M. DE LA GUARDIA, Roman JARAMILLO a Frank L. DORMAN, 2011. Analytical methods for the quantification of volatile aromatic compounds: GCMS. TrAC Trends in Analytical Chemistry [online]. Elsevier, 2012, 30(11), 1756-1770 [cit. 2022-04-21]. Separation Science and Technology. ISBN 9780123813749. ISSN 01659936. Dostupné z: doi:10.1016/j.trac.2011.06.015

[43] WEGGLER, Benedikt A., Beate GRUBER, Paige TEEHAN, Roman JARAMILLO a Frank L. DORMAN, 2020. Inlets and sampling. Basic Multidimensional Gas Chromatography [online]. Elsevier, 2020, 141-203 [cit. 2022-04-21]. Separation Science and Technology. ISBN 9780128137451. Dostupné z: doi:10.1016/B978-0-12-813745-1.00005-2

[44] KYLE, P.B., Beate GRUBER, Paige TEEHAN, Roman JARAMILLO a Frank L. DORMAN, 2017. Toxicology: GCMS. Mass Spectrometry for the Clinical Laboratory [online]. Elsevier, 2017, 131-163 [cit. 2022-04-21]. Separation Science and Technology. ISBN 9780128008713. Dostupné z: doi:10.1016/B978-0-12-800871-3.00007-9

[45] ESTEVE-TURRILLAS, F.A., A. PASTOR, M. DE LA GUARDIA, Roman JARAMILLO a Frank L. DORMAN, 2012. Passive Sampling of Atmospheric Organic Contaminants: GCMS. Comprehensive Sampling and Sample Preparation [online]. Elsevier, 2012, 201-222 [cit. 2022-04-21]. Separation Science and Technology. ISBN 9780123813749. Dostupné z: doi:10.1016/B978-0-12-381373-2.00011-9

[46] VOLKA, Karel, 1995. *Analytická chemie*. Praha: Vysoká škola chemicko-technologická. ISBN 80-708-0227-8.

[47] ŠTULÍK, Karel, 2004. *Analytické separační metody*. Praha: Karolinum. ISBN 80-246-0852-9.

[48] ZHANG, Qing-Wen, Li-Gen LIN a Wen-Cai YE, 2018. Techniques for extraction and isolation of natural products: a comprehensive review. *Chinese Medicine* [online]. **13**(1), 893-898 [cit. 2022-03-20]. ISSN 1749-8546. Dostupné z: doi:10.1186/s13020-018-0177-x

[49] ABUBAKAR, AbdullahiR, Mainul HAQUE, Gaber EL-SABER BATIHA, Iftikhar ALI a Lenta NDJAKOU BRUNO, 2020. Preparation of medicinal plants: Basic extraction and fractionation procedures for experimental purposes. *Journal of Pharmacy And Bioallied Sciences* [online]. IntechOpen, 2021-8-27, **12**(1), 893-898 [cit. 2022-03-20]. ISSN 0975-7406. Dostupné z: doi:10.4103/jpbs.JPBS_175_19

[50] GYAWALI, Rabin a Salam A. IBRAHIM, 2014. Natural products as antimicrobial agents. *Food Control* [online]. **46**, 412-429 [cit. 2022-02-16]. ISSN 09567135. Dostupné z: doi:10.1016/j.foodcont.2014.05.047

[51] ÁLVAREZ-MARTÍNEZ, F.J., E. BARRAJÓN-CATALÁN, M. HERRANZ-LÓPEZ a V. MICOL, 2021. Antibacterial plant compounds, extracts and essential oils: An updated review on their effects and putative mechanisms of action. *Phytomedicine* [online]. **90**(1), 412-429 [cit. 2022-02-16]. ISSN 09447113. Dostupné z: doi:10.1016/j.phymed.2021.153626

[52] TIKU, Anupama Razdan, E. BARRAJÓN-CATALÁN, M. HERRANZ-LÓPEZ a V. MICOL, 2020. Antimicrobial Compounds (Phytoanticipins and Phytoalexins) and Their Role in Plant Defense: An updated review on their effects and putative mechanisms of action. *Co-Evolution of Secondary Metabolites* [online]. Cham: Springer International Publishing, 2020-02-23, **90**(1), 845-868 [cit. 2022-02-16]. Reference Series in Phytochemistry. ISBN 978-3-319-96396-9. ISSN 09447113. Dostupné z: doi:10.1007/978-3-319-96397-6_63

[53] TIKU, Anupama Razdan, E. BARRAJÓN-CATALÁN, M. HERRANZ-LÓPEZ a V. MICOL, 1998. Methods for the determination of susceptibility of bacteria to antimicrobial agents. Terminology: An updated review on their effects and putative mechanisms of action. *Clinical Microbiology and Infection* [online]. Cham: Springer International Publishing, 2020-02-23, **4**(5), 291-296 [cit. 2022-02-16]. Reference Series in

Phytochemistry. ISBN 978-3-319-96396-9. ISSN 1198743X. Dostupné z: doi:10.1111/j.1469-0691.1998.tb00061.x

[54] BALOUIRI, Mounyr, Moulay SADIKI, Saad Koraichi IBNSOUDA, Michelle J. COLE a Magnus UNEMO, 2016. Methods for in vitro evaluating antimicrobial activity: A review. *Journal of Pharmaceutical Analysis* [online]. **6**(2), 71-79 [cit. 2022-03-03]. ISSN 20951779. Dostupné z: doi:10.1016/j.jpha.2015.11.005

[55] BRUIN, Jacob P., Bram M.W. DIEDEREN, Ed P.F. IJZERMAN, Jeroen W. DEN BOER a Johan W. MOUTON, 2013. Correlation of MIC value and disk inhibition zone diameters in clinical Legionella pneumophila serogroup 1 isolates. *Diagnostic Microbiology and Infectious Disease* [online]. **76**(3), 339-342 [cit. 2022-03-03]. ISSN 07328893. Dostupné z: doi:10.1016/j.diagmicrobio.2013.03.001

[56] Antimicrobial susceptibility testing: A comprehensive review of the most commonly used methods. *INTEGRA* [online]. 13. August 2021 [cit. 2022-03-03]. Dostupné z: https://www.integra-biosciences.com/china/en/blog/article/antimicrobial-susceptibility-testing-comprehensive-review-most-commonly-used-methods

[57] Schematic representation of the 10x twofold serial dilution (GC: growth control, SC: sterility control). In: *INTEGRA* [online]. 05.08.2021 [cit. 2022-03-03]. Dostupné z: https://www.integra-biosciences.com/china/en/applications/automated-minimum-inhibitory-concentration-testing

[58] BENKOVA, M., O. SOUKUP, J. MAREK, Michelle J. COLE a Magnus UNEMO, 2020. Antimicrobial susceptibility testing: currently used methods and devices and the near future in clinical practice. *Journal of Applied Microbiology* [online]. **129**(4), 806-822 [cit. 2022-03-03]. ISSN 1364-5072. Dostupné z: doi:10.1111/jam.14704

[59] JÖNSSON, Agnez, Susanne JACOBSSON, Sunniva FOERSTER, Michelle J. COLE a Magnus UNEMO, 2018. Performance characteristics of newer MIC gradient strip tests compared with the Etest for antimicrobial susceptibility testing of Neisseria gonorrhoeae. *APMIS* [online]. **126**(10), 822-827 [cit. 2022-03-03]. ISSN 09034641. Dostupné z: doi:10.1111/apm.12887

[60] SHAHIDI, Fereidoon a Ying ZHONG, 2015. Measurement of antioxidant activity. *Journal of Functional Foods* [online]. **18**, 757-781 [cit. 2022-03-25]. ISSN 17564646. Dostupné z: doi:10.1016/j.jff.2015.01.047

[61] PISOSCHI, Aurelia Magdalena, Aneta POP, Carmen CIMPEANU, Gabriel PREDOI a Magnus UNEMO, 2016. Antioxidant Capacity Determination in Plants and Plant-Derived Products: A Review. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity* [online]. **2016**(2), 1-36 [cit. 2022-03-03]. ISSN 1942-0900. Dostupné z: doi:10.1155/2016/9130976

[62] GUPTA D: Methods for Determination of Antioxidant Capacity: A Review. Int J Pharm Sci Res 2015-2-1 [cit. 2022-03-03]. Dostupné z: doi:10.13040/IJPSR.0975-8232.6(2).546-66

[63] RUBIO, Camila Peres, Josefa HERNÁNDEZ-RUIZ, Silvia MARTINEZ-SUBIELA, Asta TVARIJONAVICIUTE a José Joaquin CERON, 2016. Spectrophotometric assays for total antioxidant capacity (TAC) in dog serum: an update. *BMC Veterinary Research* [online]. **12**(1) [cit. 2022-03-25]. ISSN 1746-6148. Dostupné z: doi:10.1186/s12917-016-0792-7

[64] ALAM, Md. Nur, Nusrat Jahan BRISTI a Md. RAFIQUZZAMAN, 2013. Review on in vivo and in vitro methods evaluation of antioxidant activity. *Saudi Pharmaceutical Journal* [online]. **21**(2), 143-152 [cit. 2022-03-25]. ISSN 13190164. Dostupné z: doi:10.1016/j.jsps.2012.05.002

[65] EVERETTE, Jace D., Quinton M. BRYANT, Ashlee M. GREEN, Yvonne A. ABBEY, Grant W. WANGILA a Richard B. WALKER, 2010. Thorough Study of Reactivity of Various Compound Classes toward the Folin−Ciocalteu Reagent. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* [online]. **58**(14), 8139-8144 [cit. 2022-04-19]. ISSN 0021-8561. Dostupné z: doi:10.1021/jf1005935

[66] SÁNCHEZ-RANGEL, Juan Carlos, Jorge BENAVIDES, J. Basilio HEREDIA, Luis CISNEROS-ZEVALLOS, Daniel A. JACOBO-VELÁZQUEZ a Richard B. WALKER, 2013. The Folin–Ciocalteu assay revisited: improvement of its specificity for total phenolic content determination. *Analytical Methods* [online]. **5**(21), 8139-8144 [cit. 2022-04-19]. ISSN 1759-9660. Dostupné z: doi:10.1039/c3ay41125g

[67] POKORNÝ, Jan, Zdeňka PANOVSKÁ a Helena VALENTOVÁ, 1998. Sensorická analýza potravin. Praha: Vysoká škola chemicko-technologická. ISBN 80-708-0329-0.

[68] POKORNÝ, Jan, Helena VALENTOVÁ a František PUDIL, 1997. Sensorická analýza potravin: laboratorní cvičení. Praha: Vysoká škola chemicko-technologická. ISBN 80-708-0278-2.

[69] BABUSHOK, V. I., P. J. LINSTROM a I. G. ZENKEVICH, 2011. Retention Indices for Frequently Reported Compounds of Plant Essential Oils. Journal of Physical and Chemical Reference Data [online]. 40(4) [cit. 2022-04-21]. ISSN 0047-2689. Dostupné z: doi:10.1063/1.3653552

[70] Explory Chemistry: Quickly find chemical information from authoritative sources. PubChem [online]. [cit. 2022-04-21]. Dostupné z: https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/

[71] FEMA: Flavour your world [online]. [cit. 2022-04-29]. Dostupné z: https://www.femaflavor.org/

[72] BURDĚJOVÁ, L. Komplexní analýza léčivých rostlin a jejich potenciál při využití v potravinářském průmyslu. Brno: Vysoké učení technické v Brně, Fakulta chemická, 2018. 199 s. Vedoucí dizertační práce Ing. Martin Polovka, Ph.D.

[73] ĐUROVIĆ, Saša, Darko MICIĆ, Lato PEZO, Danka RADIĆ, Julia G. BAZARNOVA, Yulia A. SMYATSKAYA a Stevan BLAGOJEVIĆ, 2022. The effect of various extraction

techniques on the quality of sage (Salvia officinalis L.) essential oil, expressed by chemical composition, thermal properties and biological activity. *Food Chemistry: X* [online]. **13** [cit. 2022-04-29]. ISSN 25901575. Dostupné z: doi:10.1016/j.fochx.2022.100213

[74] BAYDAR, Hasan, M. Kemal SANGUN, Sabri ERBAS, Nimet KARA, Julia G. BAZARNOVA, Yulia A. SMYATSKAYA a Stevan BLAGOJEVIĆ, 2013. Comparison of Aroma Compounds in Distilled and Extracted Products of Sage (salvia officinalis L.). Journal of Essential Oil Bearing Plants [online]. 16(1), 39-44 [cit. 2022-04-29]. ISSN 0972-060X. Dostupné z: doi:10.1080/0972060X.2013.764175

[75] JAKOVLJEVIĆ, Martina, Stela JOKIĆ, Maja MOLNAR, Midhat JAŠIĆ, Jurislav BABIĆ, Huska JUKIĆ a Ines BANJARI, 2019. Bioactive Profile of Various Salvia officinalis L. Preparations. *Plants* [online]. **8**(3), 39-44 [cit. 2022-04-29]. ISSN 2223-7747. Dostupné z: doi:10.3390/plants8030055

[76] PETRISOR, Gabriela, Ludmila MOTELICA, Luminita Narcisa CRACIUN, Ovidiu Cristian OPREA, Denisa FICAI a Anton FICAI, 2022. Melissa officinalis: Composition, Pharmacological Effects and Derived Release Systems—A Review. International Journal of Molecular Sciences [online]. 23(7) [cit. 2022-04-29]. ISSN 1422-0067. Dostupné z: doi:10.3390/ijms23073591

[77] DRAGINIC, Nevena, Vladimir JAKOVLJEVIC, Marijana ANDJIC, et al., 2021. Melissa officinalis L. as a Nutritional Strategy for Cardioprotection: Composition, Pharmacological Effects and Derived Release Systems—A Review. Frontiers in Physiology [online]. 12(7) [cit. 2022-04-29]. ISSN 1664-042X. Dostupné z: doi:10.3389/fphys.2021.661778

[78] WU, Zhaohai, Bie TAN, Yanhong LIU, James DUNN, Patricia MARTORELL GUEROLA, Marta TORTAJADA, Zhijun CAO a Peng JI, 2019. Chemical Composition and Antioxidant Properties of Essential Oils from Peppermint, Native Spearmint and Scotch Spearmint. Molecules [online]. 24(15) [cit. 2022-05-02]. ISSN 1420-3049. Dostupné z: doi:10.3390/molecules24152825

[79] AINANE, Ayoub, Bie TAN, Yanhong LIU, James DUNN, Patricia MARTORELL GUEROLA, Marta TORTAJADA, Zhijun CAO a Peng JI, 2018. Chemical Study by GC-MS of the Essential Oils of Certain Mints Grown In the Region of Settat (Morocco): Mentha Piperita, Mentha Pulegium and Mentha Spicata. Molecules [online]. 1(4) [cit. 2022-05-02]. ISSN 26374706. Dostupné z: doi:10.32474/DDIPIJ.2018.01.000120

7. SEZNAM POUŽITÝCH ZKRATEK

AAL – aromaticky aktivní látka

UV – ultrafialové

ROS – reaktivní formy kyslíku (Reactive oxygen species)

MIC – minimální inhibiční koncentrace (Minimum inhibition concentration)

TEAC – ekvivalnetní antioxidančí kapacita Troloxu (Trolox equivalent antioxidant capacity)

BHT – butylhydroxytoluen

TPC – celkový obsah polyfenolických látek (Total polyphenols content)

SPME – mikroextrakce tuhou fází (Microextraciton solid phase)

GC-MS – plynový chromatografie s hmotnostním spektrometram jako detektorem

HAT – přenos atomu vodíku (Hydrogen atom transport)

ET – přenos jednoho elektronu (Electron transport)

DPPH – 1,1-difenyl-2-(2,4,6-trinitrofenyl)hydrazyl

ORAC – absorpční kapacita kyslíkových radikálů (Oxygen radical absorption capacity)

FRAP – antioxidační potencial železité redukční síly (Ferric reducing antioxidation potencial)

8. SEZNAM PŘÍLOH

Příloha 1: *Aromaticky aktivní látky identifikované v extraktu šalvěje lékařské, jejich klasifikace a procentuální zastoupení*

Příloha 2: *Aromaticky aktivní látky identifikované v extraktu meduňky lékařské, jejich klasifikace a procentuální zastoupení*

Příloha 3: *Aromaticky aktivní látky identifikované v extraktu máty peprné, jejich klasifikace a procentuální zastoupení*

Příloha 4: *Aromaticky aktivní látky identifikované v sirupech z šalvěje lékařské, jejich klasifikace a procentuální zastoupení*

Příloha 5: *Aromaticky aktivní látky identifikované v sirupech z meduňky lékařské, jejich klasifikace a procentuální zastoupení*

Příloha 6: *Aromaticky aktivní látky identifikované v sirupech z máty peprné, jejich klasifikace a procentuální zastoupení*

Příloha 7: *Dotazník pro senzorické hodnocení bylinných sirupů – 1. část.*

Příloha 8: *Dotazník pro senzorické hodnocení bylinných sirupů – 2. část.*

Příloha 9: *Chromatogram pro extrakt z šalvěje lékařské*

Příloha 10: *Chromatogram pro komerční sirup z šalvěje lékařské*

Příloha 11: *Chromatogram pro vyrobený sirup v poměru 2:1 z šalvěje lékařské*

Příloha 12: *Chromatogram pro vyrobený sirup v poměru 1:1 z šalvěje lékařské*

Příloha 13: *Chromatogram pro vyrobený sirup v poměru 1:2 z šalvěje lékařské*

Příloha 14: *Chromatogram pro extrakt z meduňky lékařské*

Příloha 15: *Chromatogram pro komerční sirup z meduňky lékařské*

Příloha 16: *Chromatogram pro vyrobený sirup v poměru 2:1 z meduňky lékařské*

Příloha 17: *Chromatogram pro vyrobený sirup v poměru 1:1 z meduňky lékařské*

Příloha 18: *Chromatogram pro vyrobený sirup v poměru 1:2 z meduňky lékařské*

Příloha 19: *Chromatogram pro extrakt z máty peprné*

Příloha 20: *Chromatogram pro komerční sirup z máty peprné*

Příloha 21: *Chromatogram pro vyrobený sirup v poměru 2:1 z máty peprné*

Příloha 22: *Chromatogram pro vyrobený sirup v poměru 1:1 z máty peprné*

Příloha 23: *Chromatogram pro vyrobený sirup v poměru 1:2 z máty peprné*

9. PŘÍLOHY

Příloha 1: *Aromaticky aktivní látky identifikované v extraktu šalvěje lékařské, jejich klasifikace a procentuální zastoupení*

Sloučenina	RT [min]	RI	Klasifikace	Procentuální zastoupení [%]	FEMA	Reference
(+)-4-Karen	9,40	1181	Terpen	0,3		[70]
Methyl ester kyseliny kapronové	9,76	1195	Ester	0,3		[70]
Eukalyptol	10,20	1213	Terpen	9,4	Kafr, chlad, eukalyptol, máta	[69], [70], [71]
β-Terpinen	11,34	1254	Terpen	0,8		[70]
1,3,8-*p*-Menthatrien	12,00	1278	Terpen	0,1		[69]*, [70]
1-Hexanol	14,20	1361	Alkohol	0,2	Banán, květina, tráva, bylina	[69], [70], [71]
3-Hexen-1-ol	15,09	1394	Alkohol	0,2		[69], [70]
Nonanal	15,33	1404	Aldehyd	0,7	Tučná, květinová, zelená, citronová	[69], [70], [71]
trans-2-Methyl-cyklopentanol	15,64	1416	Alkohol	0,1		[70]
α-Thujon	16,11	1434	Terpen	7,4		[69], [70]
β-Thujon	16,62	1454	Terpen	5,4		[69]*, [70]
Okt-1-en-3-ol	16,75	1459	Alkohol	0,2	Květinové	[70]
Kafr	18,59	1532	Terpen	19,5		[69], [70]
cis-*β*-Terpineol	19,24	1558	Terpen	1,5	Mošt	[69], [71]
Pinokarvon	19,82	1582	Terpen	3,2		[69], [70]
Isobornyl acetát	20,09	1593	Ester	0,3	Zelená	[69]*, [70], [71]
Karyofylen	20,48	1609	Terpen	1,6	Smažené, koření, dřevo	[[69], [70], [71]
Terpinen-4-ol	20,62	1615	Terpen	1,8		[69], [70]
Aromadendren	20,71	1619	Terpen	0,8		[69], [70]
Ethyl ester kyseliny kaprinové	21,36	1646	Ester	1,1		[70]
cis-Karyofylen	21,65	1659	Terpen	0,4		[69], [70]
Benzacetaldehyd	21,80	1665	Aldehyd	0,2	Bobule, pelargónie, med, ořech, štiplavá	[69], [70], [71]
Isothujol	22,00	1673	Terpen	0,3	Máta, svěží	[69], [70], [71]

Příloha 1: *Aromaticky aktivní látky identifikované v extraktu šalvěje lékařské, jejich klasifikace a procentuální zastoupení – pokračování*

Sloučenina	**RT [min]**	**RI**	**Klasifikace**	**Procentuální zastoupení [%]**	**FEMA**	**Reference**
Humulén	22,22	1683	Terpen	2,3		[69], [70]
γ-Muurolen	22,64	1700	Terpen	0,6		[69], [70]
γ-Gurjunen	22,72	1704	Terpen	0,1		[69]*, [70]
α-Terpineol	22,85	1710	Terpen	2,7	Anýz, čerstvá, máta, olej	[69], [70], [71]
endo-Borneol	22,99	1716	Terpen	4,2	Kafr, voňavý, zelený	[69], [70], [71]
δ-Kadinen	24,21	1770	Terpen	0,5		[69], [70]
cis-Geraniol	26,13	1858	Terpen	0,1	Květinová, ovocná	[69], [70], [71]
Palustrol	27,93	1944	Terpen	7,8		[69], [70]
Ledol	29,98	2030	Terpen	9,6		[69], [70]
Viridiflorol	31,05	2066	Terpen	9,4		[69], [70]
Spatulenol	31,80	2091	Terpen	2,0		[69], [70]
cis-Lanceol	37,88	2338	Terpen	1,5		[70]

*RT – retenční čas, RI – retenční index, * - mimo publikované rozmezí RI*

Příloha 2: *Aromaticky aktivní látky identifikované v extraktu meduňky lékařské, jejich klasifikace a procentuální zastoupení*

Sloučenina	RT [min]	RI	Klasifikace	Procentuální zastoupení [%]	FEMA	Reference
Sulcaton	13,91	1350	Keton	0,7		[70]
3-Hexen-1-ol	15,11	1395	Alkohol	0,3		[69], [70]
Nonanal	15,36	1405	Aldehyd	1,4	Tučná, květinová, zelená, citronová	[69], [70], [71]
Citronellal	17,61	1492	Terpen	2,5	Citrus, tuk, list	[69], [70], [71]
Santolina triene	17,84	1501	Uhlovodík	0,2		[69]*, [70]
Linalool	19,23	1558	Terpen	0,2	Koriandr, květina, levandule, citron, růže	[69], [70], [71]
Karyofylen	20,50	1610	Terpen	0,5	Smažené, koření, dřevo	[69], [70], [71]
Benzacetaldehyd	21,81	1665	Aldehyd	0,6	Bobule, pelargónie, med, ořech, štiplavá	[69], [70], [71]
β-Citral	22,56	1697	Terpen	25,7	Citrón	[70], [71]
α-Citral	23,72	1748	Terpen	34,9	Citrón	[70], [71]
Karvon	23,83	1754	Terpen	1,1	Bazalka, hořká, kmín, fenykl, máta	[69]*, [70], [71]
D-Karvon	24,09	1765	Terpen	0,4	Bazalka, hořká, kmín, fenykl, máta	[69]*, [70], [71]
Citronellol	24,35	1776	Terpen	4,6	Citrus, zelená, růže	[69], [70], [71]
Ethylester kyseliny laurové	25,98	1851	Ester	0,6	Květinová, ovocná, listy	[70], [71]
Geraniol	26,16	1860	Terpen	22,4	Geranium, citronová kůra, mučenka, broskev, růže	[69], [70], [71]
Fenethylalkohol	27,70	1933	Alkohol	0,6	Koření	[69], [70], [71]

*RT – retenční čas, RI – retenční index, * - mimo publikované rozemzí RI*

Příloha 3: *Aromaticky aktivní látky identifikované v extraktu máty peprné, jejich klasifikace a procentuální zastoupení*

Sloučenina	RT [min]	RI	Klasifikace	Procentuální zastoupení [%]	FEMA	Reference
Eukalyptol	10,21	1212	Terpen	0,2	Kafr, chlad, eukalyptol, máta	[69], [70], [71]
1-Hexanol	14,21	1361	Alkohol	0,1	Banán, květina, tráva, bylina	[69], [70], [71]
3-Hexen-1-ol	15,10	1395	Alkohol	0,3		[69], [70]
Oktan-3-ol	15,24	1400	Alkohol	1,0	Citrus, mech, houba, ořech, olej	[69], [70], [71]
2-Hexen-1-ol	15,66	1416	Alkohol	0,1	Modrý sýr, zelenina	[69], [70], [71]
4-Thujanol	17,13	1474	Terpen	0,3	Máta, svěží	[69], [70], [71]
3-Nonanol	17,80	1500	Alkohol	0,2		[70]
Linalool	19,21	1557	Terpen	1,2	Koriandr, květina, levandule, citron, růže	[69], [70], [71]
Karyofylen	20,48	1609	Terpen	0,4	Smažená, koření, dřevo	[69], [70], [71]
(-)-Terpinen-4-ol	20,63	1615	Terpen	0,2		[69], [70]
trans-Dihydrokarvon	20,85	1625	Terpen	7,8		[69], [70]
trans-Dihydrokarvon	21,31	1644	Terpen	0,2		[69], [70]
cis-muurola-4(14),5-dien	21,48	1651	Terpen	0,1		[69]*, [70]
Neodihydrokarveol	23,55	1741	Terpen	29,1		[70]
(-)-Karvon	23,87	1755	Terpen	47,5	Bazalka, hořká, kmín, fenykl, máta	[69]*, [70], [71]
Dihydrokarveol	24,07	1764	Terpen	4,3		[69]*, [70]
cis-Karveol	25,94	1850	Terpen	2,7		[69], [70]
Karveol	26,61	1881	Terpen	0,2	Kmín, tučný, čerstvý, máta klasnatá	[69], [70], [71]
Fenylethylalkohol	27,68	1932	Alkohol	0,2	Ovoce, med, šeřík, růže, víno	[69], [70], [71]
Skořicový aldehyd	30,36	2043	Aldehyd	0,1	Koření	[69], [70], [71]
epi-Kubenol	30,55	2049	Terpen	0,4		[69], [70]
γ-Gurjunen	31,04	2066	Terpen	0,1		[69]*, [70]
α-Kadinol	33,81	2171	Terpen	0,1		[69]*, [70]
α-Hexylskořicový aldehyd	36,12	2266	Aldehyd	0,1	Květinová	[70], [71]

*RT – retenční čas, RI – retenční index, * - mimo publikované rozmezí RI*

Příloha 4: *Aromaticky aktivní látky identifikované v sirupech z šalvěje lékařské, jejich klasifikace a procentuální zastoupení*

Sloučenina	RT [min]	RI	Klasifikace	Procentuální zastoupení [%]				FEMA	Reference
				ŠL-KS	ŠL-2:1	ŠL-1:1	ŠL-1:2		
Isocineol	9,40	1181	Terpen	0,1				Svěží, koření	[69], [70], [71]
(+)-4-Karen	9,46	1183	Terpen		1,0	0,7	0,2		[70]
Acethydrazid	9,80	1196	Hydrazin				0,3		[70]
D-Limonen	9,97	1203	Terpen	< 0,1				Citrus, máta	[69], [70], [71]
Eukalyptol	10,27	1215	Terpen	17,8	7,7	8,0	10,3	Kafr, chlad, eukalyptol, máta	[69], [70], [71]
(*E*)-Hex-2-enal	10,72	1231	Aldehyd	0,3				Ovocná, zelená, zeleninová	[69], [70], [71]
Isocineol	9,40	1181	Terpen	0,1				Svěží, koření	[69], [70], [71]
γ-Terpinen	11,32	1253	Terpen		2,1	2,2	1,1	Hořká, citrusová	[69], [70], [71]
β-Terpinen	11,39	1256	Terpen		1,0				[70]
1,3,8-*p*-Menthatrien	12,09	1282	Terpen		0,8	0,3	0,6		[69]*, [70]
Isoterpinolen	12,36	1292	Terpen		0,5	0,3			[70]
1-Hexanol	14,20	1361	Alkohol		0,2	0,2	0,3	Banán, květina, tráva, bylina	[69], [70], [71]
3-Hexen-1-ol	15,08	1394	Alkohol		0,3	0,4	0,4		[70]
3-Oktanol	15,33	1404	Alkohol	0,8				Citrus, mech, houba, ořech, olej	[69], [70], [71]
Nonanal	15,34	1404	Alkohol		0,3			Tučná, květinová, zelená, citronová	[69], [70], [71]
cis-2-Methylcyklopentanol	15,65	1416	Alkohol			0,2			[70]
Myrtenol	16,12	1434	Terpen	8,4	7,1	5,9	5,6		[69], [70]
3-Thujanon	16,36	1444	Terpen	0,8					[70]
β-Thujon	16,63	1454	Terpen	15,9	4,9	4,0	3,9		[69]*, [70]
Okt-1-en-3-ol	16,76	1459	Alkohol		0,3	0,4	0,4	Okurka, země, tuk, květina, houba	[69], [70], [71]
Dihydromyrcenol	17,18	1476	Terpen			0,1	0,2		[70]
p-Menthon	17,23	1477	Terpen	0,8				Zelená, čerstvá, mátová	[69], [70], [71]
Furfural	17,40	1484	Aldehyd	0,2	0,2	0,4	0,9	Mandle, pečené brambory, chléb, pálenka, koření	[69], [70], [71]
2-Ethyl-1-hexanol	17,75	1498	Alkohol	0,1			0,2	Zelená, růže	[69], [70], [71]
l-Menthon	17,97	1507	Terpen	0,5				Zelená, čerstvá, mátová	[69]*, [70], [71]

Příloha 4: *Aromaticky aktivní látky identifikované v sirupech z šalvěje lékařské, jejich klasifikace a procentuální zastoupení - pokračování*

Sloučenina	RT [min]	RI	Klasifikace	Procentuální zastoupení [%]				FEMA	Reference
				ŠL-KS	ŠL-2:1	ŠL-1:1	ŠL-1:2		
Kafr	18,64	1534	Terpen	0,9	23,2	24,8	27,0	Máta, svěží	[69], [70], [71]
Linalool	19,22	1557	Terpen	1,8	1,0	0,8	0,9	Koriandr, květina, levandule, citron, růže	[69], [70], [71]
trans-Pinokamfon	19,36	1563	Terpen	0,8				Květinová	[69], [70], [71]
β-Terpeniol	19,64	1574	Terpen		0,1				[70]
Pinokarvon	19,83	1582	Terpen		1,8	1,6	1,4		[69], [70]
Bornyl acetát	20,10	1593	Ester	2,6	0,2	0,2		Bylina, Borovice	[69], [70], [71]
Karyofylen	20,49	1609	Terpen		0,4			Smažená, koření, dřevo	[69], [70], [71]
(-)-Terpinen-4-ol	20,64	1616	Terpen	2,5	5,3	5,9	6,4		[69], [70]
Ethylester kyseliny kaprinové	21,37	1647	Ester		0,4			Brandy, hroznová, hruška	[70]
Levomenthol	21,48	1651	Terpen	0,5		0,1	0,3	Máta, svěží	[69], [70], [71]
allo-Aromadendrene	21,65	1659	Terpen		0,2				[69], [70]
Benzacetaldehyd	21,80	1665	Aldehyd	0,2	0,4	0,4	0,4	Bobule, pelargónie, med, ořech, štiplavý	[69], [70], [71]
Isothujol	22,00	1673	Terpen	1,6	0,4	0,3	0,4	Máta, svěží	[70]
Isoborneol	22,24	1684	Terpen	0,3				Kafr, mošt	[69]*, [70], [71]
δ-Terpineol	22,27	1685	Terpen		1,5	1,9	2,1		[69], [70]
α-Terpineol	22,86	1710	Terpen	2,7	3,0	3,2	3,4	Anýz, čerstvý, máta, olej	[69], [70], [71]
endo-Borneol	23,00	1716	Terpen	11,9	4,3	4,5	4,9	Kafr, voňavý, zelený	[69], [70], [71]
Karvon	23,82	1753	Terpen	0,4				Bazalka, hořká, kmín, fenykl, máta	[69]*, [70], [71]
cis-Limonen oxid	23,94	1758	Ether			0,1			[69]*, [70]
Kadinen	24,21	1770	Terpen			0,3			[70]
Myrtenol	25,06	1808	Terpen	0,7				Máta, svěží	[69], [70], [71]
cis-Karveol	25,96	1851	Terpen	0,1					[69], [70]
cis-Geraniol	26,15	1859	Terpen			0,2		Geranium, citronová kůra, mučenka, broskev, růže	[69], [70], [71]

Příloha 4: *Aromaticky aktivní látky identifikované v sirupech z šalvěje lékařské, jejich klasifikace a procentuální zastoupení - pokračování*

Sloučenina	RT [min]	RI	Klasifikace	Procentuální zastoupení [%]				FEMA	Reference
				ŠL-KS	ŠL-2:1	ŠL-1:1	ŠL-1:2		
p-Cymen-8-ol	26,30	1866	Alkohol	0,2				Zelená, aromatická	[69]*, [70], [71]
Eremophila keton	27,69	1933	Keton		1,5				[70]
Palustrol	27,93	1944	Terpen		5,1	5,2	3,6		[69], [70]
Leden oxid	28,04	1950	Terpen			0,1			[70]
Karyofylen oxid	29,10	2001	Terpen		0,2	0,3	0,2	Bylina, mošt, koření, dřevo	[69], [70], [71]
Ledol	29,98	2030	Terpen		7,8	8,2			[69], [70]
Viridiflorol	30,86	2060	Terpen		0,5	0,6	0,6		[69], [70]
Viridiflorol	31,05	2066	Terpen		7,1	7,9	7,0		[69], [70]
α-Eudesmol	31,47	2080	Terpen		0,2	0,3	0,2		[69]*, [70]
Spatulenol	31,80	2089	Terpen	0,2	1,8	1,7	1,7		[69], [70]
trans-Seskvisabinen hydrát	32,22	2106	Terpen		0,1				[69]*, [70]
Eugenol	32,74	2127	Terpen		0,1			Pálení, hřebíček, koření	[69], [70], [71]
Isothymol	33,59	2162	Terpen	0,9				Koření, dřevo	[69], [70], [71]
β-Eudesmol	33,81	2171	Terpen		0,1				[69]*, [70]
1,3-*Bis*-(2-cyclopropyl,2-methylcyclopropyl)-but-2-en-1-on	37,88	2338	Keton		1,4	1,5	1,5		[70]

*RT – retenční čas, RI – retenční index, * - mimo publikované rozmezí RI, kódy vzorku viz Tabulka 10*

Příloha 5: *Aromaticky aktivní látky identifikované v sirupech z meduňky lékařské, jejich klasifikace a procentuální zastoupení*

Sloučenina	RT [min]	RI	Klasifikace	Procentuální zastoupení [%]				FEMA	Reference
				ML-KS	ML-2:1	ML-1:1	ML-1:2		
Linaloyl oxid	7,61	1111	Pyran	0,5				Květinová	[70], [71]
Dehydrocineol	9,80	1196	Pyran	0,8					[69], [70]
Eucalyptol	10,23	1212	Terpen	0,4				Kafr, chlad, eukalyptol, máta	[69], [70], [71]
cis-Dehydroxylinalool oxid	10,38	1218	Terpen	0,3					[70]
(*E*)-Hex-2-enal	10,72	1231	Aldehyd	1,0				Ovocná, zelená, zeleninová	[69], [70], [71]
Ethylester kyseliny 4-methylvalerové	10,99	1241	Ester			0,4			[70]
Ethylester kyseliny kapronové	11,00	1241	Ester		0,3			Jablečná kůra, brandy, ovocná žvýkačka, přezrálé ovoce, ananas	[70], [71]
p-Cymen	12,04	1280	Terpen	0,4				Citrusové, čerstvé, rozpouštědlové	[69], [70], [71]
Ethylester kyseliny enanthové	13,69	1342	Ester		0,4	0,3		Brandy, ovoce, víno	[70], [71]
Sulcaton	13,90	1350	Keton	21,7	0,2	0,3		Citrus, houba, pepř, kaučuk, jahoda	[69]*, [70], [71]
cis-Rose oxid	14,22	1362	Terpen	1,0	0,4	0,8	0,7		[69], [70]
Rose oxid	14,24	1362	Terpen	5,4				Zelená	[69], [70], [71]
3-Hexen-1-ol	15,10	1395	Alkohol	0,8	0,2				[69], [70]
Nonanal	15,34	1404	Aldehyd		1,0	1,4	0,8	Tučná, květinová, zelená, citronová	[69], [70], [71]
Cyklohexanol	15,67	1417	Alkohol	0,4					[70]
Ethylester kyseliny kaprylové	16,34	1443	Ester		2,5	1,9	1,4	Meruňka, brandy, tuk, květina, ananas	[70], [71]
Dihydromyrcenol	17,17	1475	Terpen				0,5		[70]
Menthon	17,21	1477	Terpen	1,8				Zelená, svěží, mátová	[69], [70], [71]
Nerol oxid	17,36	1483	Pyran	3,0				Květinová, olej	[69], [70], [71]
Furfural	17,38	1483	Aldehyd		0,7		3,3	Mandle, pečené brambory, chléb, pálenka, koření	[69], [70], [71]

Příloha 5: *Aromaticky aktivní látky identifikované v sirupech z meduňky lékařské, jejich klasifikace a procentuální zastoupení – pokračování*

Sloučenina	RT [min]	RI	Klasifikace	Procentuální zastoupení [%]				FEMA	Reference
				ML-KS	ML-2:1	ML-1:1	ML-1:2		
2-Ethyl-1-hexanol	17,74	1497	Alkohol				0,3	Zelená, růže	[69], [70], [71]
p-Menthanon	17,94	1505	Terpen	1,0				Zelená, svěží, mátová	[69], [70], [71]
Dekanal	18,05	1510	Aldehyd		0,2			Květinová, smažená, pomerančová kůra, lůj	[69], [70], [71]
α-Cyklogeraniol	18,39	1524	Terpen	0,7					[70]
Kafr	18,61	1533	Terpen	0,1				Máta, svěží	[69], [70], [71]
Ethylester kyseliny pelargové	18,90	1544	Ester		2,2	1,4	0,9	Květinová	[70], [71]
Linalool	19,21	1557	Terpen	4,7	0,9	1,1	1,0	Koriandr, květina, levandule, citron, růže	[69], [70], [71]
Neoisopulegol	19,82	1582	Terpen	8,1				Máta, svěží	[70], [71]
1-(1-cyklohexen-1-yl)-1-Propanon	20,48	1609	Keton	0,3					[70]
(-)-Terpinen-4-ol	20,65	1616	Terpen	0,3					[69], [70]
Dioktylchlormethyl-fosfonát	20,80	1623	Ester	0,5					[70]
Neoisoisopulegol	21,25	1642	Terpen	0,3					[70]
Ethylester kyseliny kaprinové	21,36	1646	Ester		1,8	1,3	1,3	Brandy, hroznová, hruška	[70], [71]
Levomenthol	21,47	1651	Terpen		0,3	0,3	0,5	Máta, svěží	[69], [70], [71]
(±)-Menthol	21,49	1652	Terpen	0,8				Máta, svěží	[69], [70], [71]
Benzacetaldehyd	21,78	1664	Aldehyd		0,4	0,4		Bobule, pelargónie, med, ořech, štiplavá	[69], [70], [71]
β-Citral	22,53	1696	Terpen		14,5	13,8	11,5	Citrón	[70], [71]
Karveol	22,73	1704	Terpen	1,2				Kmín, tučná, čerstvá, máta klasnatá	[69]*, [70], [71]
α-Terpineol	22,87	1711	Terpen	4,8				Anýz, čerstvý, máta, olej	[69], [70], [71]

Příloha 5: *Aromaticky aktivní látky identifikované v sirupech z meduňky lékařské, jejich klasifikace a procentuální zastoupení – pokračování*

Sloučenina	RT [min]	RI	Klasifikace	Procentuální zastoupení [%]				FEMA	Reference
				ML-KS	ML-2:1	ML-1:1	ML-1:2		
α-Felandren-8-ol	23,56	1741	Terpen	1,9					[69]*, [70]
α-Citral	23,69	1747	Terpen	0,4	22,3	20,9	18,3	Citrón	[70], [71]
Karvon	23,82	1753	Terpen	1,0				Bazalka, hořká, kmín, fenykl, máta	[69]*, [70], [71]
Citronellol	24,33	1776	Terpen	0,3	3,5	3,4	3,3	Citrus, zelená, růže	[69], [70], [71]
cis-Geraniol	25,13	1812	Terpen		0,7	0,9	0,7	Květinová, Ovocná	[69]*, [70], [71]
Isogeraniol	25,39	1824	Terpen		0,2			Květinová	[70]
β-Damascenone	25,71	1839	Terpen	1,3					[69], [70]
Ethylester kyseliny laurové	25,95	1850	Ester		1,4	0,9	0,7	Květinová, ovocná, listy	[70], [71]
Geraniol	26,13	1858	Terpen		19,2	19,7	19,4	Geranium, citronová kůra, mučenka, broskev, růže	[69], [70], [71]
p-Cymen-8-ol	26,30	1866	Alkohol	2,9				Ovoce, med, šeřík, růže, víno	[69]*, [70], [71]
Fenylethylalkohol	27,68	1932	Alkohol	0,2	0,3				[69], [70]
E-11,13-Tetradecadien-1-ol	28,55	1975	Alkohol		0,2		0,3		[70]
Kyselina citronelová	34,22	2188	Kyselina		0,2			Květinová	[70], [71]
Kyselina geranová	35,85	2255	Kyselina		0,3	0,4		Zelená	[70], [71]
α-Hexylskořicový aldehyd	36,12	2266	Aldehyd			0,9		Květinová	[70], [71]
5-Hydroxymethyl-furfural	38,82	2377	Furan		1,0	1,1			[70]

*RT – retenční čas, RI – retenční index, * - mimo publikované rozemzí RI, kódy vzorků viz Tabulka 10*

Příloha 6: *Aromaticky aktivní látky identifikované v sirupech z máty peprné, jejich klasifikace a procentuální zastoupení*

Sloučenina	RT [min]	RI	Klasifikace	Procentuální zastoupení [%]				FEMA	Reference
				MP-KS	MP-2:1	MP-1:1	MP-1:2		
2,5-Diethyltetrahydro-furan	6,12	1047	Furan	0,2				Pikantní	[70], [71]
Ethyl-2-methylbutyrát	6,41	1056	Ester	0,1				Jablko, ester, zelené jablko, kiwi, jahoda	[70], [71]
Ethyl isovalerát	6,75	1073	Ester	0,1				Jablko, ovoce, ananas, kyselá	[69], [70], [71]
Hexyl isovalerát	8,87	1160	Ester	< 0,1				Ovocná	[70], [71]
β-Thujen	9,04	1167	Terpen	< 0,1					[70]
Isocineol	9,44	1182	Terpen	0,1				Chadná, kořeněná	[69], [70], [71]
D-Limonen	9,98	1203	Terpen	< 0,1	1,8	2,0	1,2	Citrus máta	[69], [70], [71]
Eukalyptol	10,24	1213	Terpen	9,4	0,2	0,6		Kafr, chlad, eukalyptol, máta	[69], [70], [71]
2-Hexenal	10,73	1231	Aldehyd	0,3				Silná ovocná, zelená, zeleninová vůně	[69], [70], [71]
γ-Terpinen	11,30	1252	Terpen		1,0	1,1		Hořká citrusová	[69], [70], [71]
β-Terpinen	11,40	1256	Terpen	0,1					[70]
5-Methyl-3-heptanon	11,60	1263	Keton	< 0,1					[70]
p-Cymene	12,04	1280	Terpen	0,2	0,1	0,2		Citrusové, čerstvé, rozpouštědlové	[69], [70], [71]
Terpinolen	12,34	1291	Terpen	< 0,1				Borovice	[69], [70], [71]
(+)-4-Karen	12,35	1291	Terpen		0,1		0,3		[70]
Amyl isovalerát	12,64	1302	Ester	0,1				Zelená	[70], [71]
3-Methyl-cyklohexanon	13,67	1341	Keton	0,1				Máta, svěží	[70], [71]
Sulcaton	13,91	1350	Keton	< 0,1				Citrus, houba, pepř, kaučuk, jahoda	[70], [71]
3-Hexen-1-ol	15,09	1394	Alkohol	< 0,1	0,4	0,3	0,4		[69], [70]
Oktan-3-ol	15,25	1400	Alkohol	2,6	1,2	1,1	1,1	Citrus, mech, houba, ořech, olej	[69], [70], [71]
Nonanal	15,35	1404	Aldehyd		0,1			Tučná, květinová, zelená, citronová	[69], [70], [71]

Příloha 6: *Aromaticky aktivní látky identifikované v sirupech z máty peprné, jejich klasifikace a procentuální zastoupení – pokračování*

Sloučenina	RT [min]	RI	Klasifikace	Procentuální zastoupení [%]				FEMA	Reference
				MP-KS	MP-2:1	MP-1:1	MP-1:2		
trans-2-Methyl-cyklopentanol	15,64	1416	Alkohol		0,1				[70]
Thujon	16,12	1434	Terpen			0,3			[69], [70]
3-Thujanon	16,62	1454	Terpen			0,1			[70]
Okt-1-en-3-ol	16,92	1465	Alkohol	0,2				Okurka, země, tuk, květina, houba	[69], [70], [71]
Furfural	17,39	1484	Aldehyd		0,4	0,4		Mandle, pečené brambory, chléb, pálenka, koření	[69], [70], [71]
l-Menthon	17,27	1479	Terpen	19,9				Zelená, čerstvá, mátová	[69], [70], [71]
(+)-Isomenthon	17,49	1488	Terpen	9,7		0,2	0,		[69], [70]
3-Nonanol	17,79	1499	Alkohol		0,2	0,2			[70]
cis-3-Hexenyl ester kyseliny valerové	17,87	1502	Ester	0,3				Ovocná	[70], [71]
Theaspiran	18,27	1519	Terpen	0,2					[70]
Xanthopterin	18,59	1532	Pteridin			0,4			[70]
Benzaldehyd	18,89	1544	Aldehyd	0,1	0,1			Hořké mandle, pálený cukr, třešně, slad, pečená paprika	[69], [70], [71]
Linalool	19,22	1557	Terpen	1,1	1,4	1,4	1,1	Koriandr, květina, levandule, citron, růže	[69], [70], [71]
Isopinokamfon	19,38	1564	Terpen	0,7				Cedrový kafr	[69]*, [70], [71]
trans-Isopulegon	20,18	1596	Terpen	1,1				Máta, svěží	[69], [70], [71]
Methyl ester kyseliny kaprinové	20,37	1604	Ester			0,2			[70]
cis-β-Farnesen	20,48	1609	Terpen			0,1			[69]*, [70]
Menthol	20,54	1611	Terpen	7,2				Máta, svěží	[69], [70]
(-)-Terpinen-4-ol	20,65	1616	Terpen	3,4	0,5	0,5	0,4		[69], [70]
Dihydrokarvon	20,86	1625	Terpen	3,1	7,8	7,5	6,8	Koření	[69], [70], [71]
Neoisomenthol	21,29	1643	Terpen	0,4				Máta, svěží	[70], [71]

Příloha 6: *Aromaticky aktivní látky identifikované v sirupech z máty peprné, jejich klasifikace a procentuální zastoupení – pokračování*

Sloučenina	RT [min]	RI	Klasifikace	Procentuální zastoupení [%]				FEMA	Reference
				MP-KS	MP-2:1	MP-1:1	MP-1:2		
Neodihydrokarveol	21,32	1644	Terpen	0,2	0,2	0,2			[70]
Levomenthol	21,47	1650	Terpen		0,1			Máta, svěží	[70], [71]
(±)-Menthol	21,56	1655	Terpen	9,2				Máta, svěží	[69]*, [70], [71]
(±)-Pulegon	21,82	1666	Terpen	2,7				Máta, svěží	[69]*, [70], [71]
Benzacetaldehyd	21,79	1664	Aldehyd		0,2			Bobule, pelargónie, med, ořech, štiplavá	[69], [70], [71]
Neodihydrokarveol	22,23	1683	Terpen		0,9	1,0			[70]
cis-Ocimenol	22,86	1710	Terpen			0,2			[70]
α-Terpineol	22,92	1713	Terpen	1,3				Anýz, čerstvý, máta, olej	[69], [70], [71]
Neodihydrokarveol	23,54	1740	Terpen		28,1	27,2	24,0		[70]
Karvon	23,92	1757	Terpen	9,0	44,0	43,7	38,7	Bazalka, hořká, kmín, fenykl, máta	[69]*, [70], [71]
Dihydrokarveol	24,07	1764	Terpen		4,3			Máta, svěží	[69]*, [70], [71]
trans-Seskvisabinen hydrát	24,22	1771	Terpen		0,4		0,5		[70]
Seskvifelandren	24,45	1781	Terpen				0,3		[69], [70]
α-Kurkumen	24,58	1787	Terpen				0,9		[69], [70]
β-Damascenon	25,71	1839	Terpen	0,3					[69], [70]
cis-Karveol	25,94	1850	Terpen		2,1	2,0	1,9		[69], [70]
Karveol	26,60	1880	Terpen		0,2			Kmín, tučný, čerstvý, máta klasnatá	[69], [70], [71]
α-Ionen	29,14	2002	Terpen	< 0,1				Fialka, dřevo	[70], [71]
Ethyl-2-fenylethylbutylfosfát	29,22	2005	Ester	< 0,1					[70]
epi-Kubenol	30,56	2050	Terpen		0,2	0,2			[69], [70]
Kyselina kaprylová	30,72	2055	Kyselina	0,1				Sýr, tuk, tráva, olej	[69], [70], [71]
Thymol	33,04	2140	Terpen	0,1				Koření, dřevo	[69], [70], [71]
α-Kadinol	33,82	2172	Terpen		0,1	0,2			[69]*, [70]

Příloha 6: *Aromaticky aktivní látky identifikované v sirupech z máty peprné, jejich klasifikace a procentuální zastoupení – pokračování*

Sloučenina	RT [min]	RI	Klasifikace	Procentuální zastoupení [%]				FEMA	Reference
				MP-KS	MP-2:1	MP-1:1	MP-1:2		
5-Hydroxymethyl-furfural	38,82	2377	Furan		0,1		0,4		[70]

*RT – retenční čas, RI – retenční index, * - mimo publikované rozemzí RI, kódy vzorků viz Tabulka 10*

Příloha 7: *Dotazník pro senzorické hodnocení bylinných sirupů – 1. část.*

DOTAZNÍK PRO SENZORICKÉ HODNOCENÍ BYLINNÝCH SIRUPŮ – 1. ČÁST

Vážení hodnotitelé,

zhodnoťte, prosím předložené vzorky bylinných sirupů. Dotazník je rozdělen na tři části dle druhu bylin – šalvěj ***(set 1)***, meduňka ***(set 2)*** a máta ***(set 3)***.

Datum: _____

Zde vyberte jednu z možností:

- Žena/muž
- Kuřák/nekuřák

Jaké je Vaše stanovisko před ochutnáním?

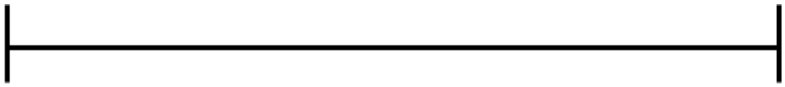
- Bylinné sirupy mám velmi rád/a.
- Bylinné sirupy nemám příliš rád/a.
- Bylinné sirupy nemám vůbec rád/a, nekonzumuji je.

SET 1 – ŠALVĚJ

Zhodnoťte předložené vzorky označené jako <u>set 1</u> v následujících znacích. Na uvedených grafických stupnicích zapište vaše hodnocení s kódem vzorku.

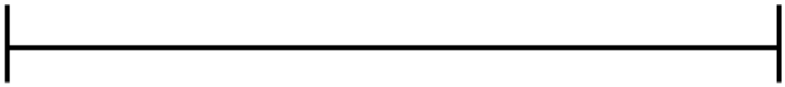
1. **Konzistence**

Tekutost



Viskózní Tekuté

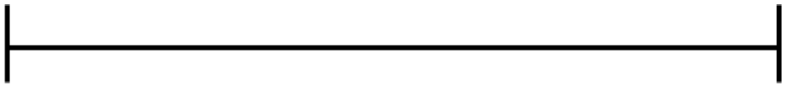
Zakalenost



Zakalené Čiré

2. **Vůně**

Intenzita vůně



Nejméně intenzivní Nejvíce intenzivní

Příjemnost vůně

Nejméně příjemná — Nejvíce příjemná

3. **Profilový test vybraných chutí**

Sladká

Neznatelná — Velmi výrazná

Kyselá

Neznatelná — Velmi výrazná

Hořká

Neznatelná — Velmi výrazná

Bylinková

Neznatelná — Velmi výrazná

Jiná (pachuť)

Neznatelná — Velmi výrazná

Popište pachuť, kterou cítíte:

4. **Hodnocení celkové přijatelnosti vzorku**

Seřaďte vzorky podle celkové přijatelnosti, berte v úvahu všechny výše zmíněné vlastnosti. (1 – nejvíce přijatelný, 3 – nejméně přijatelný)

1	**2**	**3**

SET 2 – MEDUŇKA

Zhodnoťte předložené vzorky označené jako <u>set 2</u> v následujících znacích. Na uvedených grafických stupnicích zapište vaše hodnocení s kódem vzorku.

1. **Konzistence**

Tekutost

Viskózní — Tekuté

Zakalenost

Zakalené — Čiré

2. **Vůně**

Intenzita vůně

Nejméně intenzivní — Nejvíce intenzivní

Příjemnost vůně

Nejméně příjemná — Nejvíce příjemná

3. **Profilový test vybraných chutí**

Sladká

Neznatelná — Velmi výrazná

Kyselá

Neznatelná — Velmi výrazná

Hořká

Neznatelná Velmi výrazná

Bylinková

Neznatelná Velmi výrazná

Jiná (pachuť)

Neznatelná Velmi výrazná

Popište pachuť, kterou cítíte:

4. **Hodnocení celkové přijatelnosti vzorku**

Seřaďte vzorky podle celkové přijatelnosti, berte v úvahu všechny výše zmíněné vlastnosti. (1 – nejvíce přijatelný, 3 – nejméně přijatelný)

1	**2**	**3**

SET 3 – MÁTA

Zhodnoťte předložené vzorky označené jako <u>set 3</u> v následujících znacích. Na uvedených grafických stupnicích zapište vaše hodnocení s kódem vzorku.

1. **Konzistence**

Tekutost

Viskózní Tekuté

Zakalenost

Zakalené Čiré

2. Vůně

Intenzita vůně

Nejméně intenzivní — Nejvíce intenzivní

Příjemnost vůně

Nejméně příjemná — Nejvíce příjemná

3. Profilový test vybraných chutí

Sladká

Neznatelná — Velmi výrazná

Kyselá

Neznatelná — Velmi výrazná

Hořká

Neznatelná — Velmi výrazná

Bylinková

Neznatelná — Velmi výrazná

Jiná (pachuť)

Neznatelná — Velmi výrazná

Popište pachuť, kterou cítíte:

4. Hodnocení celkové přijatelnosti vzorku

Seřaďte vzorky podle celkové přijatelnosti, berte v úvahu všechny výše zmíněné vlastnosti. (1 – nejvíce přijatelný, 3 – nejméně přijatelný)

1	**2**	**3**

Příloha 8: *Dotazník pro senzorické hodnocení bylinných sirupů – 2. část.*

DOTAZNÍK PRO SENZORICKÉ HODNOCENÍ BYLINNÝCH SIRUPŮ – 2. ČÁST

Vážení hodnotitelé,

zhodnoťte, prosím předložené vzorky bylinných sirupů. Dotazník je rozdělen na čtyři části dle druhu bylin – šalvěj ***(set 1)***, meduňka ***(set 2)***, máta ***(set 3)***. V posledním setu (***set 4***) zhodnoťte mezi sebou vybrané sirupy

Zde vyberte jednu z možností:

- Žena/muž
- Kuřák/nekuřák

Jaké je Vaše stanovisko před ochutnáním?

- Bylinné sirupy mám velmi rád/a.
- Bylinné sirupy nemám příliš rád/a.
- Bylinné sirupy nemám vůbec rád/a, nekonzumuji je.

SET 1 – ŠALVĚJ

Zhodnoťte předložené vzorky označené jako <u>set 1</u> v následujících znacích. Na uvedených grafických stupnicích zapište vaše hodnocení s kódem vzorku.

1. **Vůně**

Intenzita vůně

Nejméně intenzivní — Nejvíce intenzivní

Příjemnost vůně

Nejméně příjemná — Nejvíce příjemná

2. **Barva**

Příjemnost barvy

Nejméně příjemná — Nejvíce příjemná

3. **Profilový test vybraných chutí**

Sladká

Neznatelná Velmi výrazná

Bylinková

Neznatelná Velmi výrazná

Jiná (pachuť)

Neznatelná Velmi výrazná

Popište pachuť, kterou cítíte:

4. **Párová porovnávací zkouška**

Porovnejte předložené vzorky, berte v úvahu všechny výše zmíněné vlastnosti.
(1 – lepší, 2 – horší)

1	**2**

SET 2 – MEDUŇKA

Zhodnoťte předložené vzorky označené jako set 2 v následujících znacích. Na uvedených grafických stupnicích zapište vaše hodnocení s kódem vzorku.

1. **Vůně**

Intenzita vůně

Nejméně intenzivní Nejvíce intenzivní

Příjemnost vůně

Nejméně příjemná Nejvíce příjemná

2. **Barva**

Příjemnost barvy

Nejméně příjemná

Nejvíce příjemná

3. **Profilový test vybraných chutí**

Sladká

Neznatelná Velmi výrazná

Bylinková

Neznatelná Velmi výrazná

Jiná (pachuť)

Neznatelná Velmi výrazná

Popište pachuť, kterou cítíte:

4. **Párová porovnávací zkouška**

Porovnejte předložené vzorky, berte v úvahu všechny výše zmíněné vlastnosti.
(1 – lepší, 2 – horší)

1	**2**

SET 3 – MÁTA

Zhodnoťte předložené vzorky označené jako <u>set 3</u> v následujících znacích. Na uvedených grafických stupnicích zapište vaše hodnocení s kódem vzorku.

1. **Vůně**

Intenzita vůně

Nejméně intenzivní — Nejvíce intenzivní

Příjemnost vůně

Nejméně příjemná — Nejvíce příjemná

2. **Barva**

Příjemnost barvy

Nejméně příjemná

Nejvíce příjemná

3. **Profilový test vybraných chutí**

Sladká

Neznatelná — Velmi výrazná

Bylinková

Neznatelná — Velmi výrazná

Jiná (pachuť)

Neznatelná — Velmi výrazná

Popište pachuť, kterou cítíte:

4. **Párová porovnávací zkouška**

Porovnejte předložené vzorky, berte v úvahu všechny výše zmíněné vlastnosti.
(1 – lepší, 2 – horší)

1	**2**

SET 4

1. **Hodnocení celkové přijatelnosti sirupů – L19, G47, A37**

Seřaďte vzorky podle celkové přijatelnosti, berte v úvahu všechny výše zmíněné vlastnosti. (1 – nejvíce přijatelný, 3 – nejméně přijatelný)

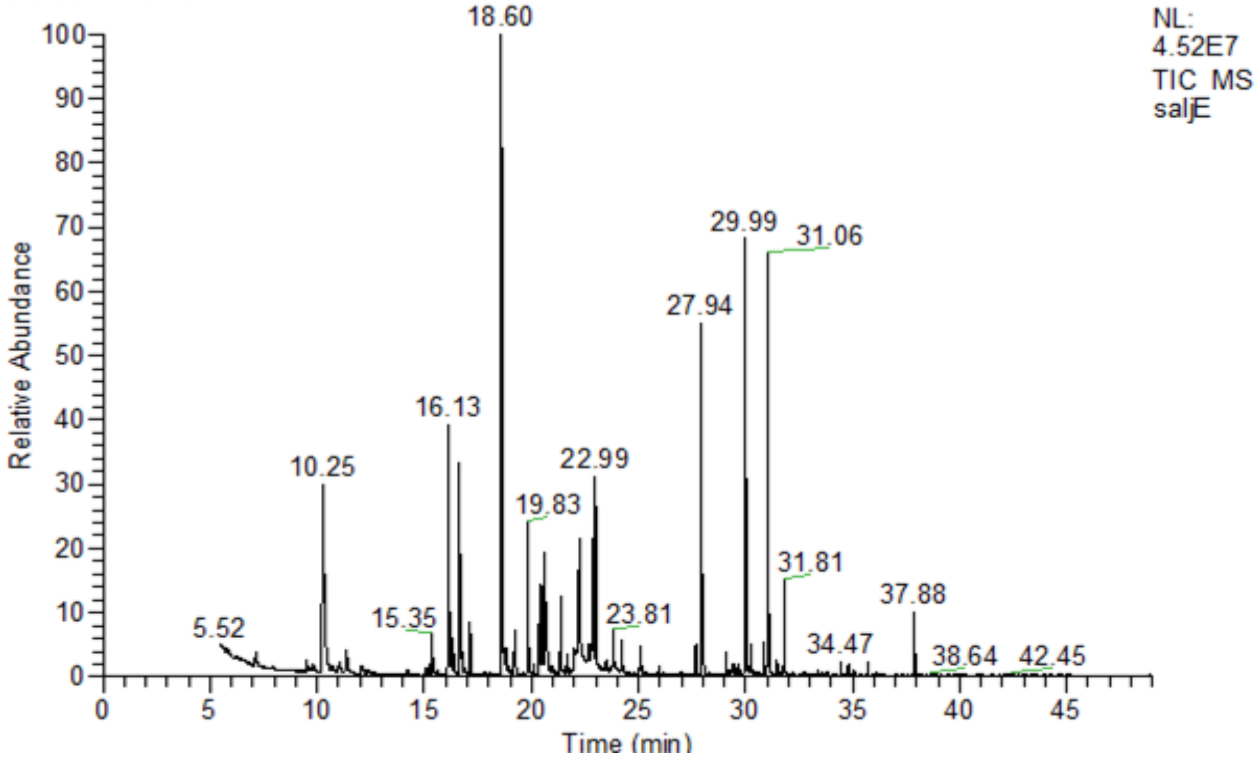
1	**2**	**3**

2. **Hodnocení celkové přijatelnosti sirupů – F29, V71, T32**

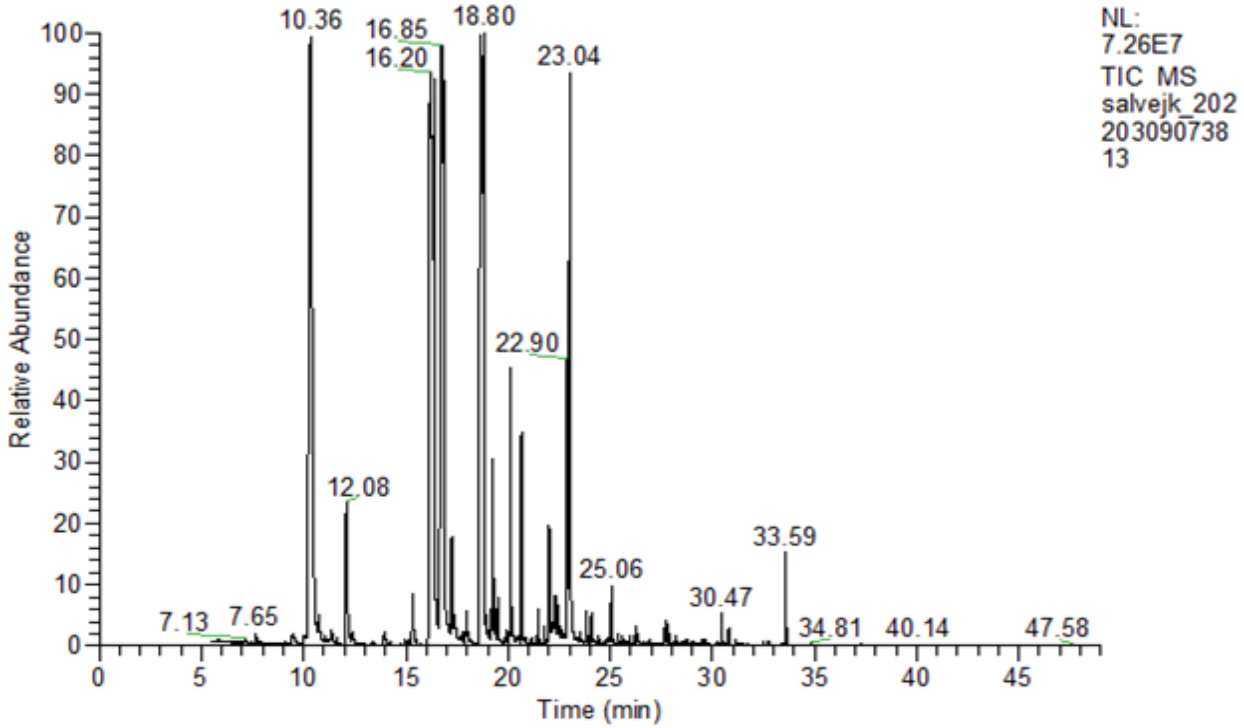
Seřaďte vzorky podle celkové přijatelnosti, berte v úvahu všechny výše zmíněné vlastnosti. (1 – nejvíce přijatelný, 3 – nejméně přijatelný)

1	**2**	**3**

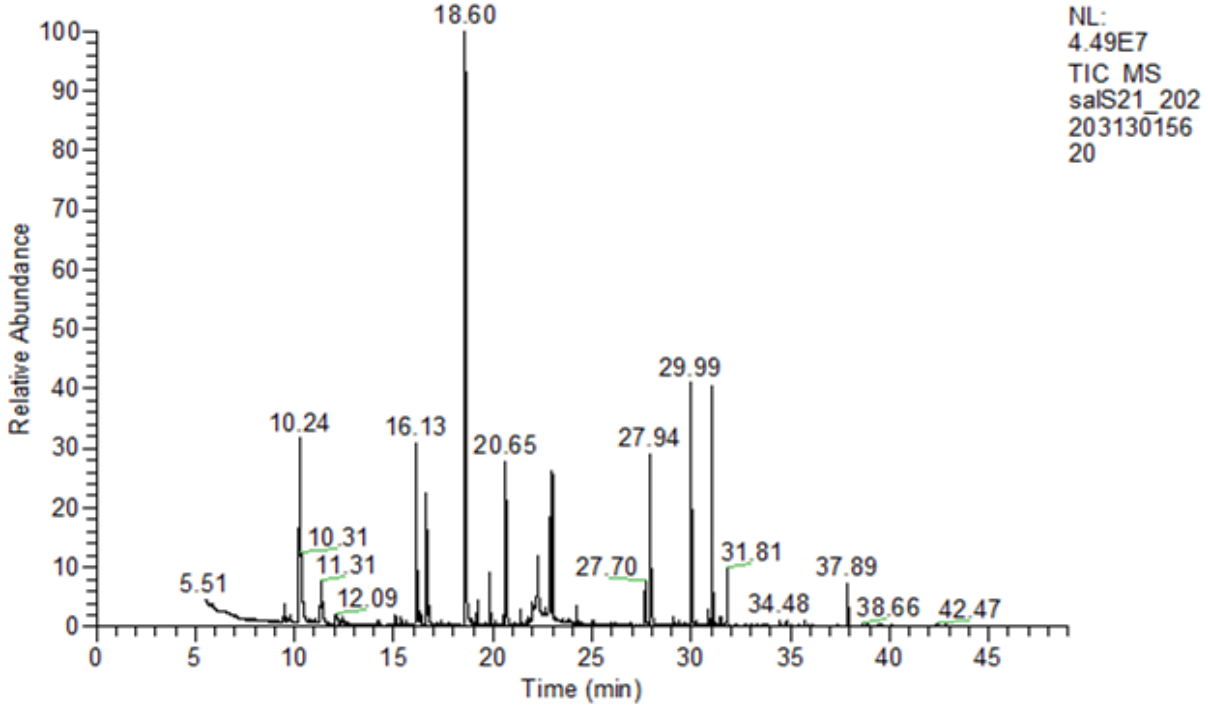
Příloha 9: *Chromatogram pro extrakt z šalvěje lékařské*



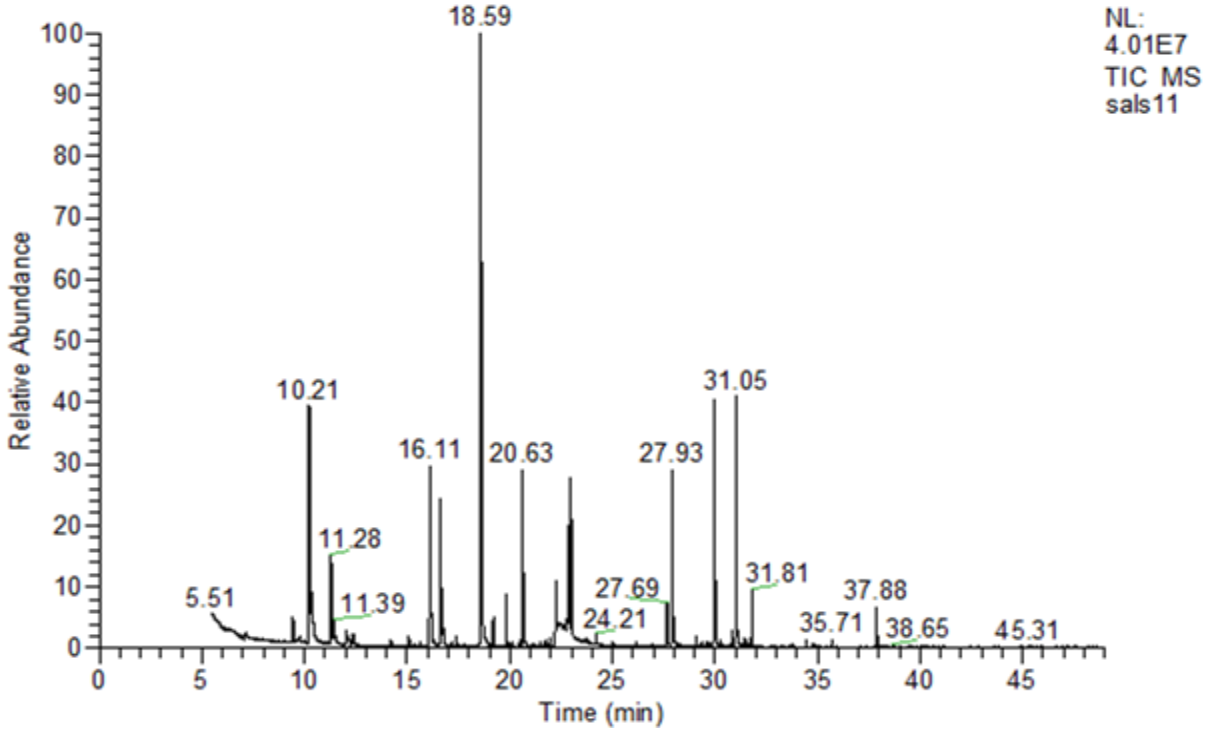
Příloha 10: *Chromatogram pro komerční sirup z šalvěje lékařské*



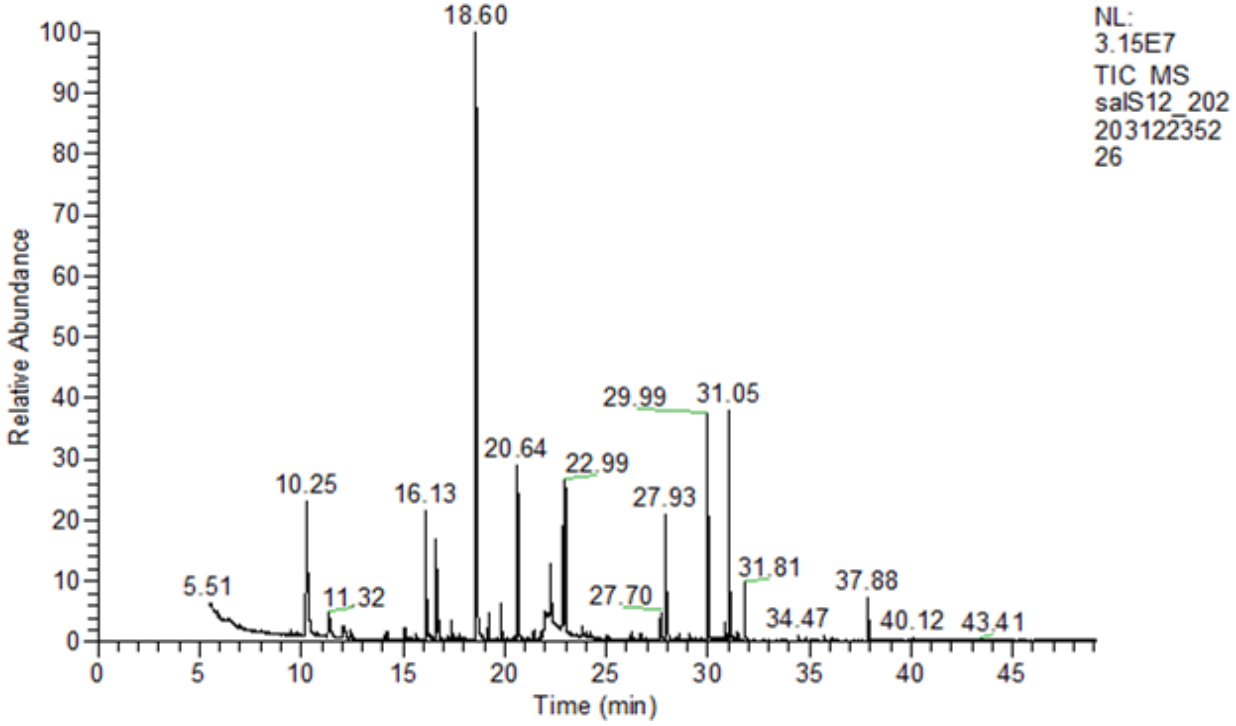
Příloha 11: *Chromatogram pro vyrobený sirup v poměru 2:1 z šalvěje lékařské*



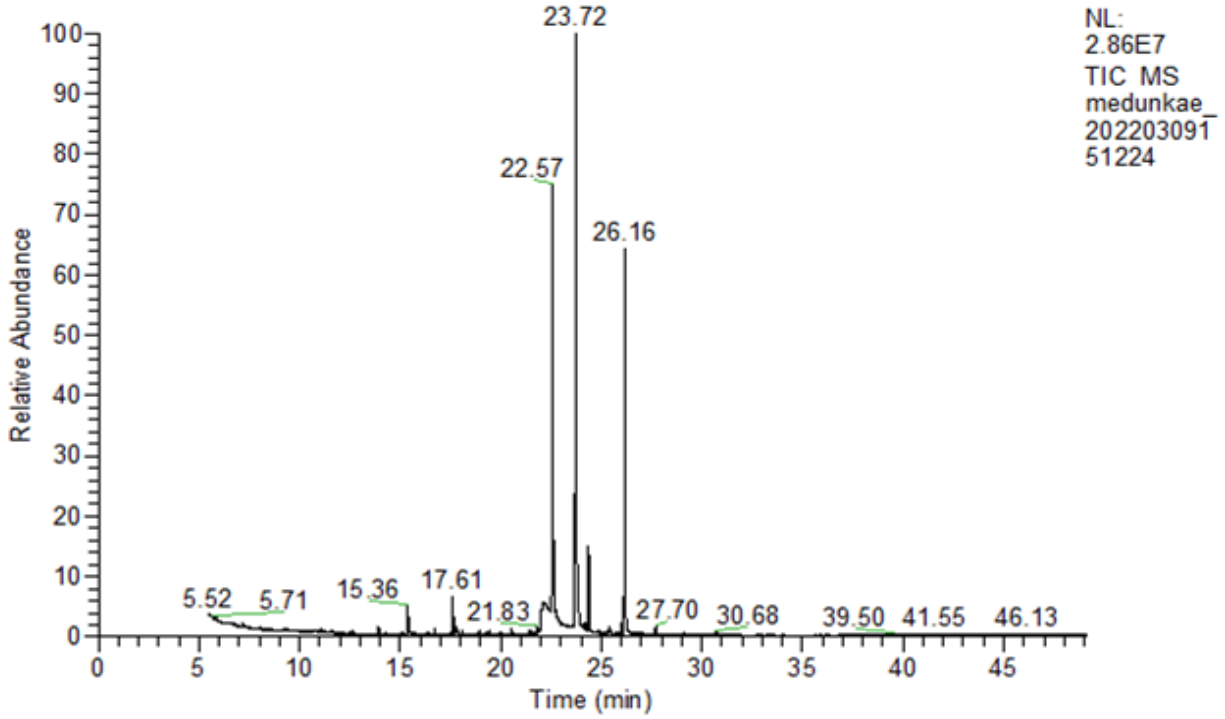
Příloha 12: *Chromatogram pro vyrobený sirup v poměru 1:1 z šalvěje lékařské*



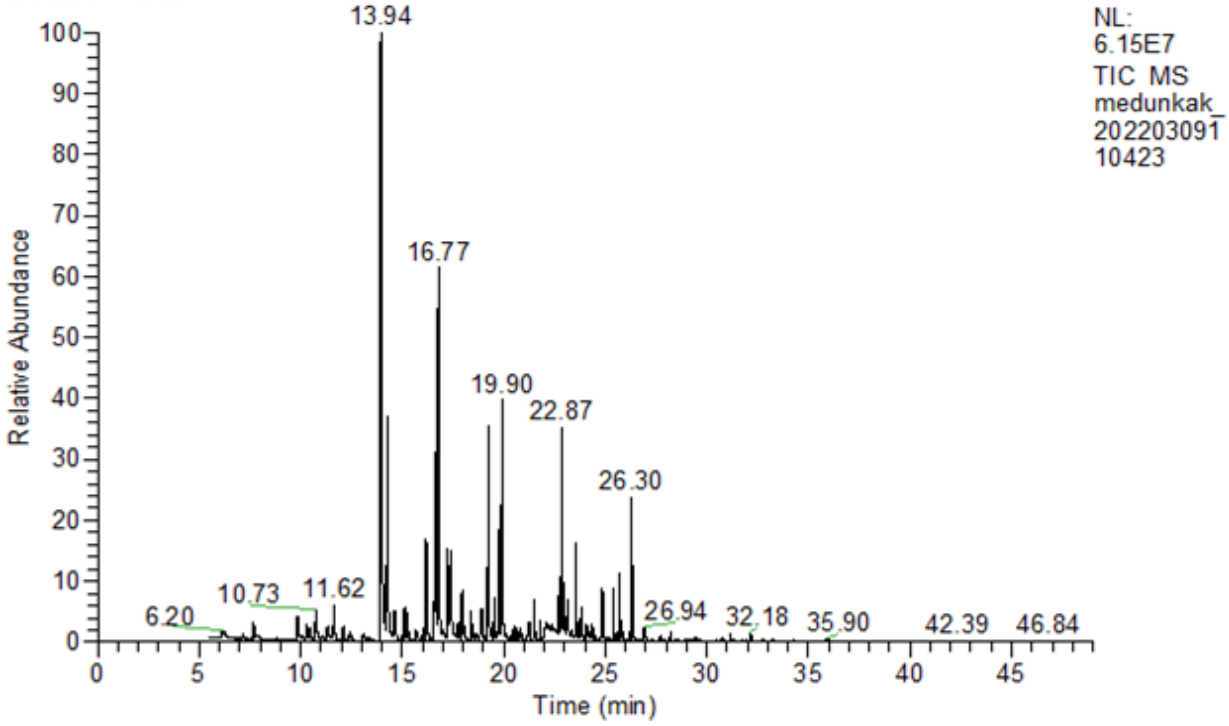
Příloha 13: *Chromatogram pro vyrobený sirup v poměru 1:2 z šalvěje lékařské*



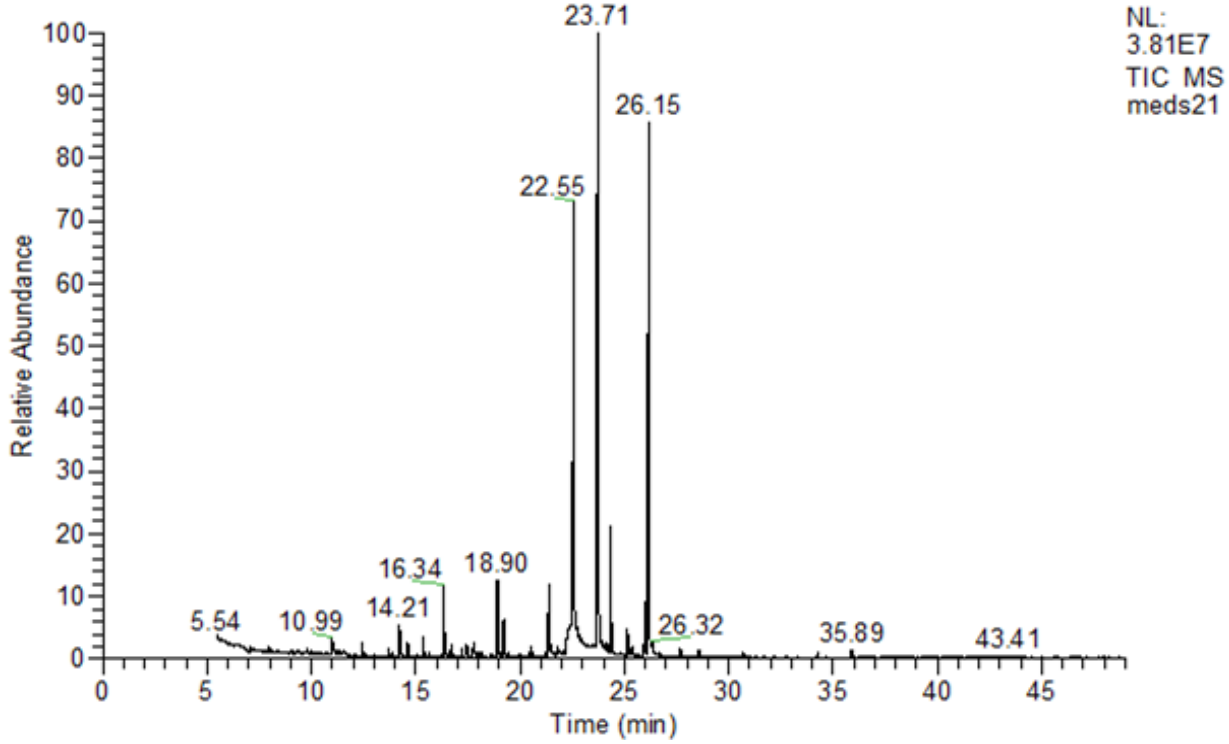
Příloha 14: *Chromatogram pro extrakt z meduňky lékařské*



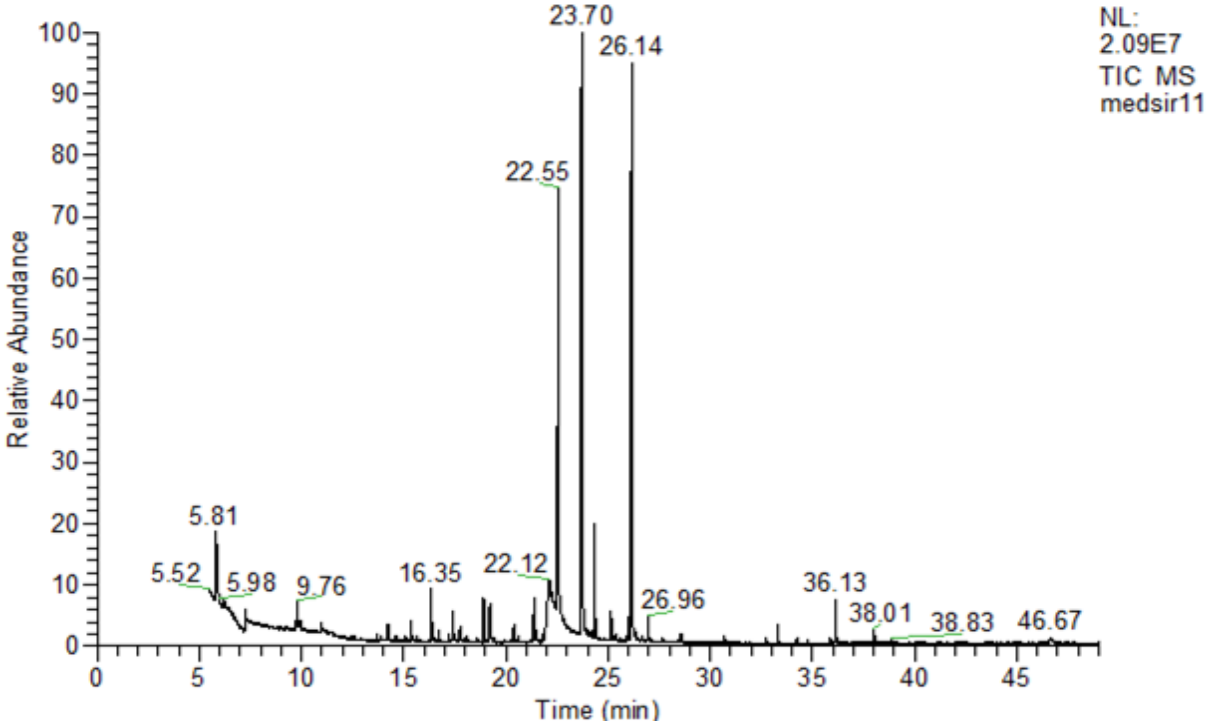
Příloha 15: *Chromatogram pro komerní sirup z meduňky lékařské*



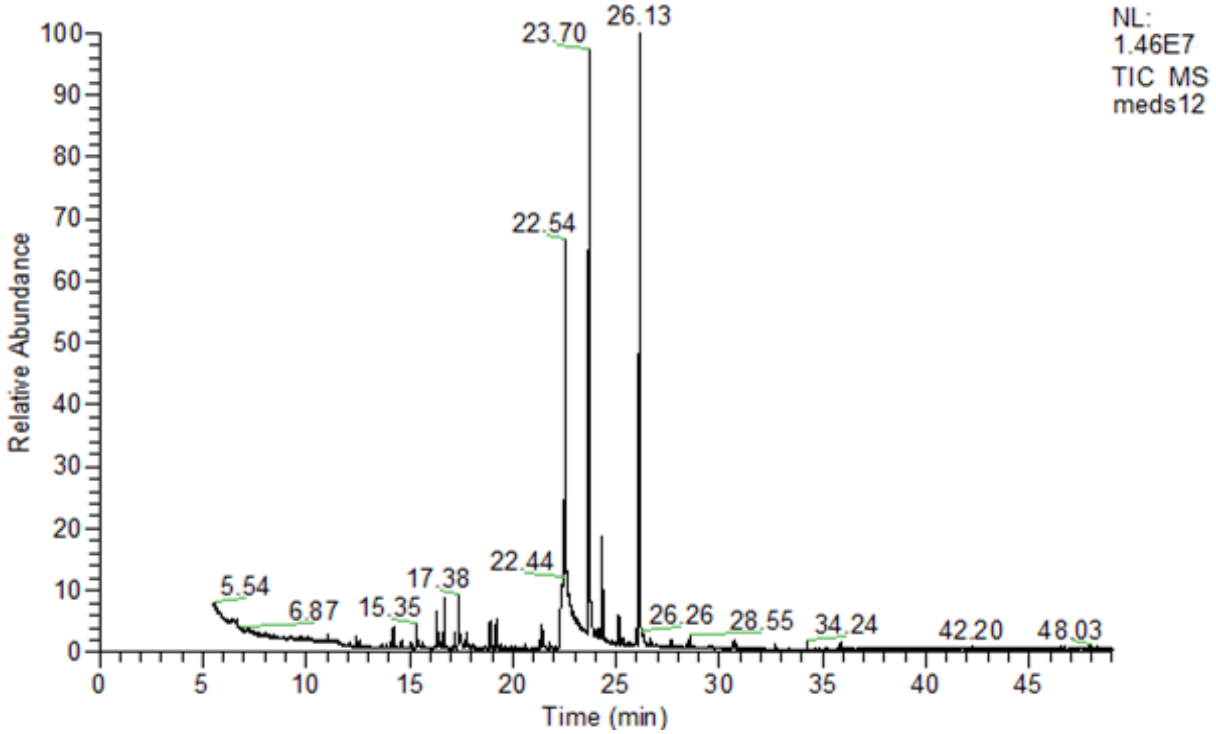
Příloha 16: *Chromatogram pro vyrobený sirup v poměru 2:1 z meduňky lékařské*



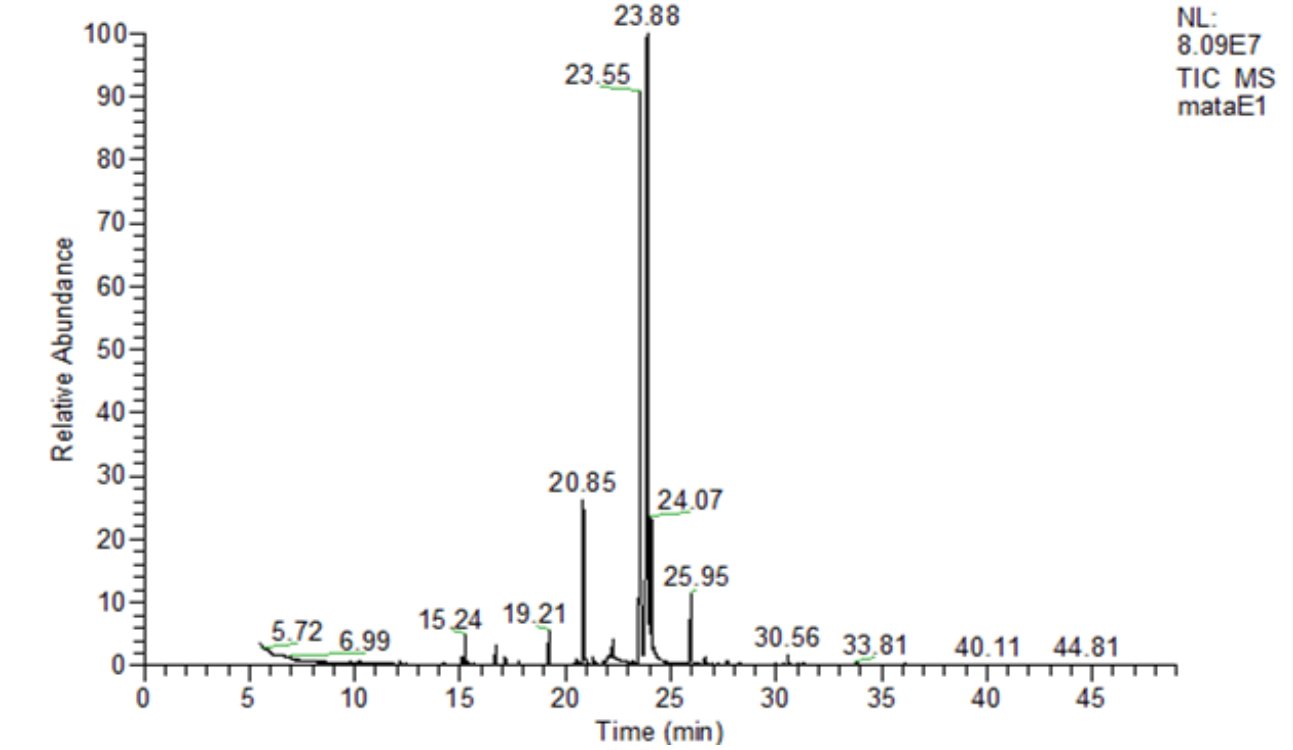
Příloha 17: *Chromatogram pro vyrobený sirup v poměru 1:1 z meduňky lékařské*



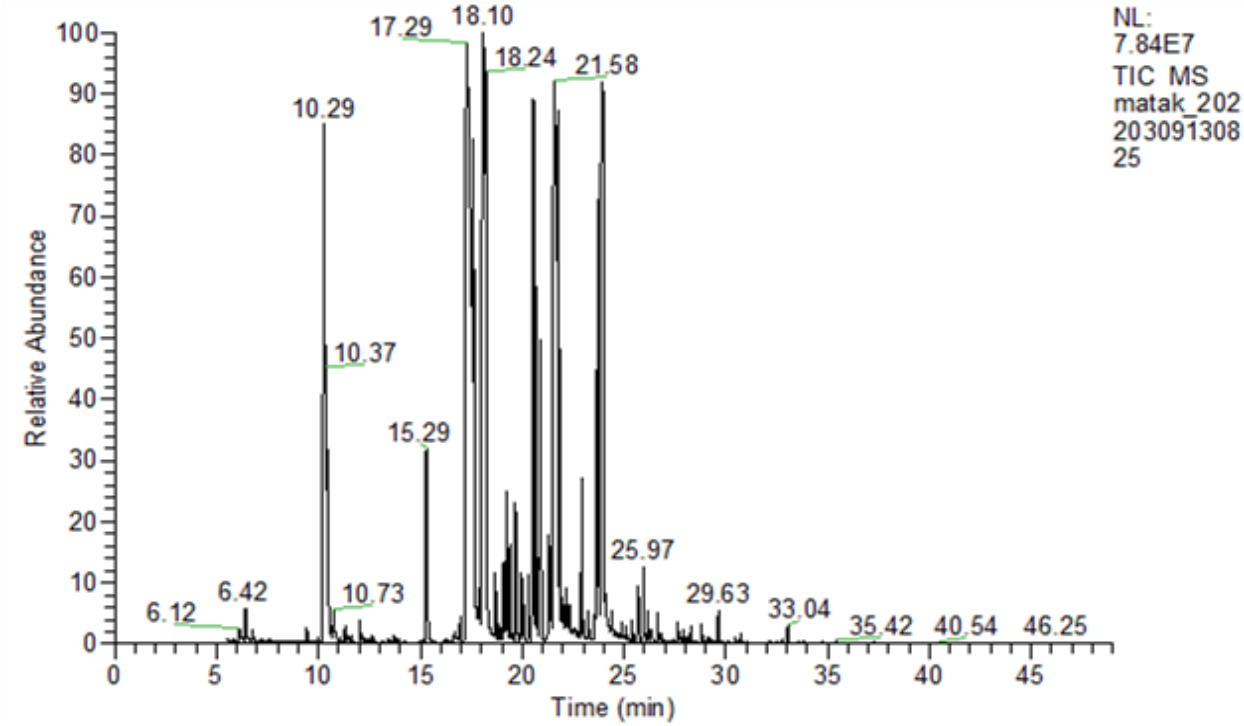
Příloha 18: *Chromatogram pro vyrobený sirup v poměru 1:2 z meduňky lékařské*



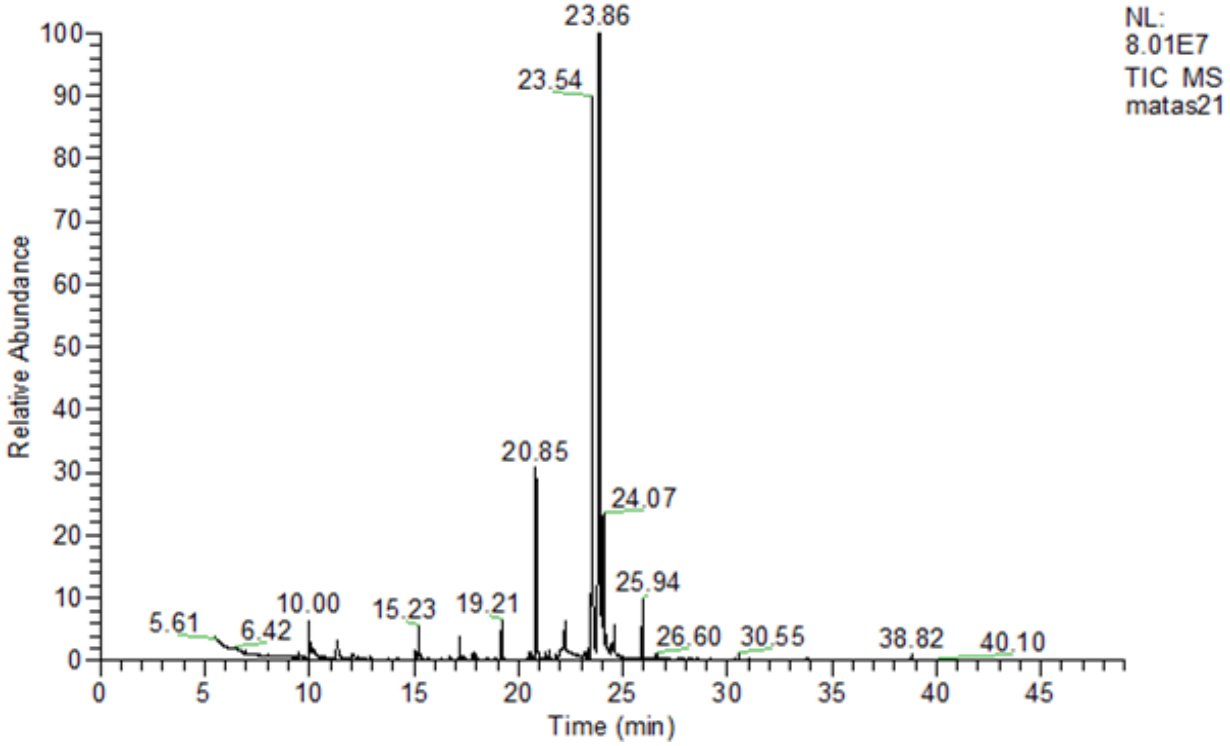
Příloha 19: *Chromatogram pro extrakt z máty peprné*



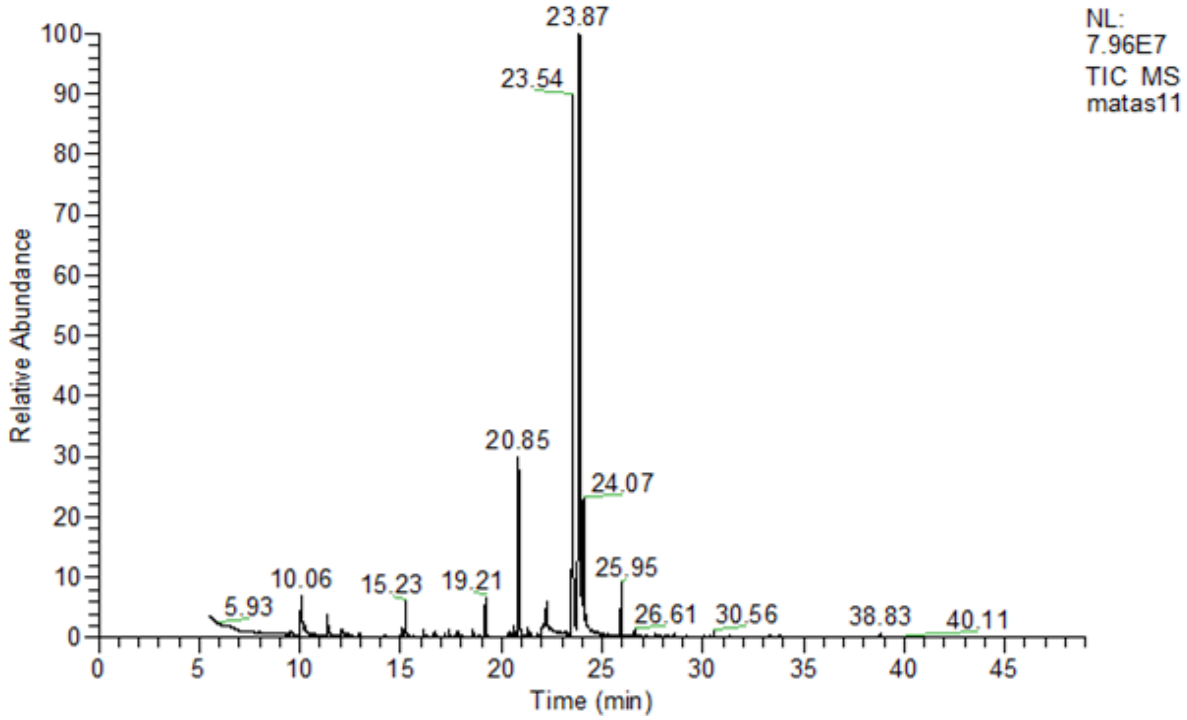
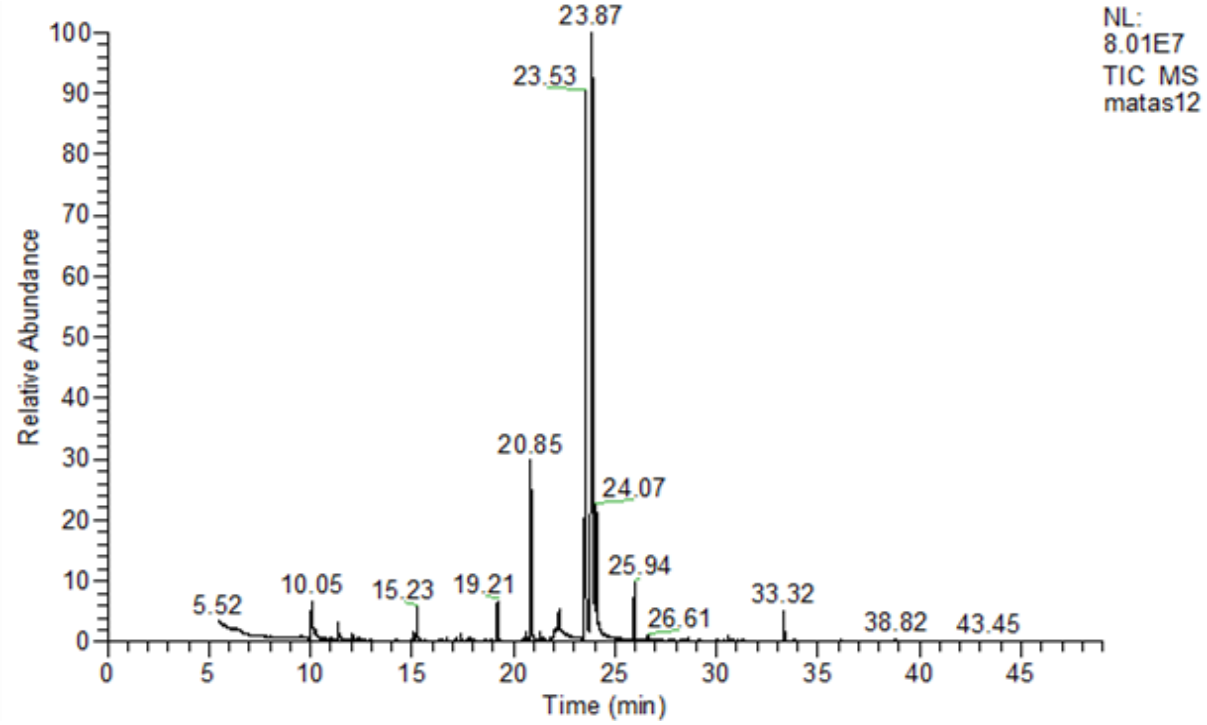
Příloha 20: *Chromatogram pro komerční sirup u máty peprné*



Příloha 21: *Chromatogram pro vyrobený sirup v poměru 2:1 z máty peprné*



Příloha 22: *Chromatogram pro vyrobený sirup v poměru 1:1 z máty peprné*



Příloha 23: *Chromatogram pro vyrobený sirup v poměru 1:2 z máty peprné*