

UNIVERZA V LJUBJANI
BIOTEHNIŠKA FAKULTETA
ODDELEK ZA AGRONOMIJO

Jan Jurij ERŽEN

**GOJENJE POPROVE METE (*Mentha piperita* L.) NA
KAMENI VOLNI IN V TLEH**

DIPLOMSKO DELO

Visokošolski strokovni študij - 1. stopnja

Ljubljana, 2016

UNIVERZA V LJUBLJANI
BIOTEHNIŠKA FAKULTETA
ODDELEK ZA AGRONOMIJO

Jan Jurij ERŽEN

**GOJENJE POPROVE METE (*Mentha piperita* L.) NA KAMENI VOLNI
IN V TLEH**

DIPLOMSKO DELO
Visokošolski strokovni študij - 1. stopnja

**CULTIVATION OF PEPPERMINT (*Mentha piperita* L.) ON
ROCKWOOL AND IN SOIL**

B. SC. THESIS
Professional Study Programmes

Ljubljana, 2016

Diplomsko delo je zaključek Visokošolskega strokovnega študija Kmetijstvo - agronomija in hortikultura – 1. stopnja. Delo je bilo opravljeno na Katedri za sadjarstvo, vinogradništvo in vrtnarstvo, Katedri za aplikativno botaniko, ekologijo, fiziologijo rastlin in informatiko in Katedri za pedologijo in varstvo okolja.

Študijska komisija Oddelka za agronomijo je za mentorico diplomskega dela imenovala izr. prof. dr. Nino KACJAN MARŠIĆ in somentorico prof. dr. Deo BARIČEVIČ.

Komisija za oceno in zagovor:

Predsednik: prof. dr. Gregor OSTERC
Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, oddelek za agronomijo

Članica: izr. prof. dr. Nina KACJAN MARŠIĆ
Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, oddelek za agronomijo

Članica: prof. dr. Dea BARIČEVIČ
Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, oddelek za agronomijo

Članica: doc. dr. Ana SLATNAR
Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, oddelek za agronomijo

Datum zagovora:

Podpisani izjavljam, da je naloga rezultat lastnega raziskovalnega dela. Izjavljam, da je elektronski izvod identičen tiskanemu. Na univerzo neodplačno, neizključno, prostorsko in časovno neomejeno prenašam pravici shranitve avtorskega dela v elektronski obliki in reproduciranja ter pravico omogočanja javnega dostopa do avtorskega dela na svetovnem spletu preko Digitalne knjižnice Biotehniške fakultete.

Jan Jurij Eržen

KLJUČNA DOKUMENTACIJSKA INFORMACIJA

- ŠD Dv1
- DK UDK 633.88:582.943:631.589:615.322
- KG poprova meta/*Mentha piperita*/hidroponsko gojenje/gojenje v tleh/eterično olje/destilacija/Evropska Farmakopeja/kakovostni standardi rastlinske droge
- AV ERŽEN, Jan Jurij
- SA KACJAN-MARŠIČ, Nina (mentor)/ BARIČEVIČ, Dea (somentor)
- KZ SI-1000 Ljubljana, Jamnikarjeva 101
- ZA Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Oddelek za agronomijo
- LI 2016
- IN PRIDELOVANJE POPROVE METE (*Mentha piperita* L.) NA KAMENI VOLNI IN V TLEH
- TD Diplomsko delo (Visokošolski strokovni študij - 1. stopnja)
- OP X, 37 str., 3 pregl., 10 sl., 26 vir.
- IJ sl
- JI sl/en
- AI V diplomskem poskusu smo gojili poprovo meto (*Mentha piperita* L.) na dveh sistemih v rastlinjaku - klasično gojenje v tleh (GR) in hidroponsko gojenje (HR) na ploščah kamene volne; za primerjavo vpliva rastnih razmer pa je bila tretja gredica posajena na prostem (GT). Poskus je potekal od 25. 3.-2. 8. 2016, na laboratorijskem polju Biotehniške fakultete v Ljubljani. Ugotavljali smo razlike med količino in kakovostjo pridelka poprove mete glede na način gojenja. Pri presajanju smo izenačili sadilni material z deljenjem koreninskih sistemov. Za hidroponsko gojenje smo sadike ukoreninili v kockah kamene volne in prekoreninjene kocke predstavili na plošče kamene volne, na gredico 1,5 m x 8 m. Sadilna razdalja med rastlinami je bila 0,5 m v vrsti, razdalja med vrstama je bila 1,3 m. Za hranilno raztopino smo uporabili mešanico Hoagland & Arnon (no.2). 70-ti dan po presajanju rastlin smo pridelek pobrali, stehali njegovo svežo maso in preračunali povprečje na posamezno rastlino. Največji pridelek sveže biomase na rastlino (173,6 g/rastlino) smo dobili pri gojenju na prostem, nekoliko manjši (122,2 g/rastlino) pri gojenju v rastlinjaku v tleh in najmanjši (95,0 g/rastlino) pri hidroponskem gojenju. Vzorce smo sušili pri temperaturi 40 °C 2 dni, nato smo stehali suho maso rastlin. Vzorce smo nato vrednotili glede na zahteve Evropske farmakopeje (8. izdaja). Opravili smo meritve celokupnega pepela in pepela, topnega v klorovodikovi kislini. Vsebnost eteričnega olja v rastlinski drogi smo določili z destilacijskim aparatom Clavenger. Ta je bila največja v GT (19,41 ml/kg), za tem v GR (19,05 ml/kg) in nato HR (17,79 ml/kg). Z metodo tankoplastne kromatografije smo določali prisotnost bistvenih spojin eteričnega olja in opazili večje vsebnosti v obeh gredicah v rastlinjaku (GT, HR), za razliko od gredice na prostem (GT).

KEY WORDS DOCUMENTATION

- ND Dv1
- DC UDC 633.88:582.943:631.589:615.322
- CX peppermint/*Mentha piperita*/hydroponic cultivation/soil cultivation/essential oil/destilation/European Pharmacopoeia/quality standards for plant drugs
- AU ERŽEN; Jan Jurij
- AA KACJAN-MARŠIČ, Nina (supervisor)/ BARIČEVIČ, Dea (co-advisor)
- PP SI-1000 Ljubljana, Jamnikarjeva 101
- PB University of Ljubljana, Biotechnical Faculty, Department of Agronomy
- PY 2016
- TI CULTIVATION OF PEPPERMINT (*Mentha piperita* L.) ON ROCKWOLL AND SOIL
- DT B. Sc. Thesis (Professional Study Programmes)
- NO X, 37 p., 3 tab., 10 fig., 26 ref.
- LA sl
- AL sl/en
- AB In our experiment we cultivated peppermint (*Mentha piperita* L.) in two systems; on rockwool slabs (HR) and standard cultivation in the soil (GR) inside a greenhouse. For comparison we planted a third plot in soil, outdoors (GT). The experiment was carried out from 25. 3.-2. 8. 2016 on the Laboratory field of Biotechnical Faculty in Ljubljana. We determined the differences between harvested crops from all three plots of cultivated peppermint. For the rockwool system we placed the plants in rockwool cubes, and afterwards the rooted plants were placed into rockwool slabs. The plot had dimensions of 1.5 m × 8 m. The planting space was 0.15 m in row and 1.3 m between rows. We used an advanced nutrient solution from Hogaland & Arnon (no. 2). On day 70 after transplanting the rooted plants we harvested the plants, determined their fresh mass and calculated the average per plant. The highest yield (173.6 g/rastlino) was obtained at cultivation outside, followed by the yield on the soil in greenhouse (122.2 g/plant) and the lowest yield was reached on rockwool slabs (95.0 g/plant). The fresh plants were dried at 40 °C, and then weighed. We determined the quality of the plant material with standards determined by the European Pharmacopoeia (8th ed.). We carried out tests of total ash, non-soluble ash in HCl and determined the essential oil content with distillation via Clavenger apparatus, which had the highest volume in GT (19.41 ml/kg), next was GR (19.05 ml/kg) and last was HR (17.79 ml/kg). With thin layer chromatography, we determined that the plots inside the greenhouse had a different chemical essential oil composition. The greenhouse peppermint essential oil of GR and HR had a higher amount detected chemical component, as compared to the outdoor plot (GT).

KAZALO VSEBINE

	Str.
KLJUČNA DOKUMENTACIJSKA INFORMACIJA	III
KEY WORDS DOCUMENTATION.....	IV
KAZALO VSEBINE	V
KAZALO PREGLEDNIC	VIII
OKRAJŠAVE IN SIMBOLI	X
1 UVOD	1
1.1 NAMEN RAZISKAVE	1
1.2 DELOVNE HIPOTEZE	2
2 PREGLED OBJAV	3
2.1 POPROVA META (<i>Mentha piperita</i> L.) - OPIS IN BOTANIČNA KLASIFIKACIJA.....	3
2.2 SPLOŠNI OPIS <i>Mentha piperita</i> L.	3
2.3 PRIDELOVANJE POPROVE METE.....	4
2.3.1 Rastne zahteve	4
2.3.2 Razmnoževanje in sadilna razdalja	4
2.3.3 Oskrba nasada	4
2.3.4 Čas spravila pridelka	5
2.3.5 Način sušenja in shranjevanja pridelka poprove mete	5
2.4 ZDRAVILNE UČINKOVINE IN AROMATIČNE SPOJINE V RASTLINAH POPROVE METE (<i>Mentha piperita</i> L.).....	5
2.4.1 Zdravilne učinkovine v rastlinah	5
2.4.2 Zdravilno učinkovanje poprove mete	6
2.4.3 Eterično olje poprove mete	6
2.4.4 Postopki pridobivanja eteričnega olja	7
2.4.5 Standardni testi za rastlinsko drogo poprove mete po Eur. Ph 8.0 (2013)	7
2.4.5.1 Količina vode v rastlinski drogi.....	7
2.4.5.2 Količina celokupnega pepela v rastlinski drogi.....	8
2.4.5.3 Količina pepela netopnega v HCl	8
2.4.5.4 Količina eteričnega olja v rastlinski drogi	8
2.4.5.5 Opis tankoplastne kromatografije (Thin Layer Chromatography - TLC) po standardih European Pharmacopoeia.....	8

2.4.5.6	Prednosti in slabosti TLC pri analizah biološko aktivnih spojin.....	8
2.5	HIDROPONSKO GOJENJE.....	9
2.5.1	Primerjava prednosti in slabosti agregatnega in tekočinskega hidroponskega sistema	9
2.5.2	Zahteve po strokovnem znanju pri gojenju na hidroponiki.....	10
2.5.3	Hidroponsko gojenje rastlin na kamni volni.....	10
2.5.4	Kamena volna	11
2.6	GOJENJE V RASTLINJAKU.....	11
3	MATERIALI IN METODE DELA	12
3.1	MATERIAL, UPORABLJEN V DIPLOMSKEM POSKUSU	12
3.2	METODE DELA.....	13
3.2.1	Postavitev poskusa.....	13
3.2.1.1	Priprava sadilnega materiala.....	13
3.2.1.2	Priprava gredice in urejanje namakanja in prehrane rastlin.....	14
3.2.2	Spravilo pridelka poprove mete	15
3.2.3	Količinska in kakovostna obravnava pridelka poprove mete	16
3.2.3.1	Priprava vzorcev za kemijske analize rastlinske droge	16
3.2.3.2	Določevanje vsebnosti vode v suhem vzorcu rastlin poprove mete.....	16
3.2.3.3	Določevanje celokupnega pepela in pepela netopnega v HCl.....	17
3.2.4	Določanje vsebnosti eteričnega olja v vzorcih poprove mete.....	17
3.2.5	Določanje vsebnosti snovi v eteričnem olju	18
3.2.5.1	Priprava testne raztopine.....	18
3.2.5.2	Priprava referenčne raztopine.....	18
3.2.5.3	Priprava mobilne faze	18
3.2.5.4	Razvijanje kromatografskih plošč	19
3.2.6	Detekcijske metode pri TLC.....	19
3.2.7	Ocenjevanje plošč in retencijskega faktorja	19
4	REZULTATI.....	21
4.1	BIOMASA PRIDELKA	21
4.1.1	Pridelek sveže biomase poprove mete.....	21
4.1.2	Odstotek suhe snovi v zračno suhih vzorcih poprove mete	22
4.2	MASA STEBEL, KI SO PRESEGALA PREMER 1,5 MM	24
4.3	PRIMERJAVA MASE STEBLA IN LISTA V SUŠENEM PRIDELKU.....	26

4.4	KOLIČINA CELOTNE SUHE SNOVI V PRIDELKU	27
4.5	KOLIČINA CELOKUPNEGA PEPELA IN PEPELA, NETOPNEGA V HCl.....	27
4.6	VSEBNOST ETERIČNEGA OLJA (ml/kg) V RASTLINAH POPROVE METE, GLEDE NA SISTEM GOJENJA.....	28
4.7	REZULTATI VREDNOTENJA TLC PLOŠČ	29
5	RAZPRAVA IN SKLEPI	31
5.1	RAZPRAVA.....	31
5.2	SKLEPI.....	34
6	POVZETEK	35
7	VIRI	36

KAZALO PREGLEDNIC

	Str.
Preglednica 1: Shema testne in referenčne plošče v Eur Ph 8.0	21
Preglednica 2: Pridelek (g/rastlino) sveže mase rastlin poprove mete, gojene v treh sistemih (hidroponski, tla – rastlinjak, tla – na prostem).	23
Preglednica 3: Shematski prikaz pogostosti pojavljanja tipičnih kemičnih spojin v obravnavah eteričnega olja	30

KAZALO SLIK

	Str.
Slika 1: Povprečna sveža biomasa rastlin (g/rastlino poprove mete)	21
Slika 2: Povprečna masa po sušenju	23
Slika 3: Povprečna masa stebela po sušenju v (g)	23
Slika 4: Povprečje suhe snovi poprove mete(celotna rastlina, steblo, list)	24
Slika 5: Povprečna masa stebel (večjih/manjših od 1,5mm)	25
Slika 6: Masa celotne rastline, stebela in listov	26
Slika 7: Povprečna masa stebela in listov po sušenju	26
Slika 8: Odstotek suhe snovi po sušenju na 105°C	27
Slika 9: Delež celokupnega pepela/netopnega pepela v HCl	28
Slika 10: Vsebnost eteričnega olja v ml/kg suhe snovi	29

OKRAJŠAVE IN SIMBOLI

Okrajšava	Pomen
s.s.	suha snov
pH	koncentracija hidrooksilnih ionov
EC	elektro konduktivnost/prevodnost
Eur. Ph. 8.0	Evropska farmakopeja, 8. Izdaja (2013)
ADC	Automatic Development Chamber (avtomatska razvijalna komora)
TLC	thin layer chromatography (tankoplastna kromatografija)
PVC	polivinil klorid
PE	Polietilen
GT	gredica na prostem
HR	hidroponska gredica v rastlinjaku
GR	gredica v rastlinjaku

1 UVOD

Vsakodnevno naraščanje populacije sveta nam na dnevni ravni narekuje povečevanje prehranskih virov, obenem pa se tovrstnemu povečevanju zoperstavljajo vse višji in bolj zahtevni standardi prehranske vrednosti dnevnega vnosa hranil za odraslo osebo. V tovrstne namene se znanost in tehnologija združujeta s skupnim ciljem, prehraniti vse večjo svetovno populacijo in odpraviti prehranski problem, ki pesti sodobno civilizacijo. Hidroponsko gojenje rastlin ni nekaj novega ali nepoznanega, saj njegovo uporabo zasledimo že v zgodnji zgodovini hortikulture. Ravno zaradi njegove enostavne uporabe, nenehnega dovajanja vode, in hranil, nizke stopnje okužb in napada škodljivcev, ter visokega donosa, je v moderni dobi pridobilo na veljavi in njegova vse večja dostopnost je pripeljala do rabe v tržnem pridelovanju vrtnin (Resh, 2013).

Prav tako z naraščanjem populacije ter daljšanjem življenjske dobe opažamo porast stopnje obolelih in števila bolezni, ki prizadenejo vsakdanje življenje posameznikov. Takšno stanje privede do večje količine sintetskih zdravil in zdravil rastlinskega izvora, ki jih uporabljamo za zdravljenje bolezni in lajšanje simptomov. Z razvojem farmacevtskih sredstev od druge polovice prejšnjega stoletja je staro izročilo zdravljenja z zdravilnimi zelišči postalo s stališča medicine nezaželeno, predvsem zaradi domnevno manjše uspešnosti in počasnejšega ter manj tarčnega delovanja v primerjavi s farmacevtskimi pripravki. V zadnjem desetletju se trend zdravljenja z zdravilnimi zelišči zopet uveljavlja in postaja del običajnega zdravnikovega priporočila (Baričevič, 1996).

Presečišče navedenih dveh tematik predstavlja ozadje našega diplomskega dela. Ker gojenje zdravilnih rastlin na breztalnih ali agregatnih sistemih v Sloveniji ni širše uveljavljena praksa, smo se odločili raziskati, kako se v primerjavi s tradicionalnimi načini gojenja obnese gojenje na hidroponskem sistemu, ki bi v prihodnosti lahko predstavljal enakovredno tehniko ostalim sistemom pridelave v hortikulturi.

1.1 NAMEN RAZISKAVE

Ker se hidroponski načini gojenja pojavljajo v vsakodnevni kmetijski rabi za veliko število vrtnin, smo hoteli ugotoviti, ali je gojenje na kameni volni, ki je sicer razširjeno za hidroponsko pridelovanje plodovk, primerno tudi za gojenje trajnih zdravilnih zelišč in dišavnic. Namen raziskave je bil ugotoviti, kako sistem gojenja vpliva na količino in kakovost pridelka poprove mete (*Mentha piperita* L.), ki smo jo pridelovali na hidroponskem sistemu, na ploščah kamene volne in klasično v tleh na dveh lokacijah: v rastlinjaku in na prostem. Zanimale so nas razlike v pridelku med posameznimi načini pridelave, tako po masi kot po vsebnosti eteričnega olja, in kako se pridelek poprove mete razlikuje v sestavi in vsebnosti tipičnih aromatičnih sestavin.

1.2 DELOVNE HIPOTEZE

Zaradi velike prilagodljivosti rastlin v hidroponskih sistemih smo pričakovali, da bo meta kot trajnica bolje uspevala in bo pridelek večji v agregatnem hidroponskem sistemu – na kameni volni v primerjavi z gojenjem v tleh.

Domnevali smo tudi da se bo pridelek poprove mete, gojene v tleh v rastlinjaku razlikoval od pridelka mete, gojene v tleh na prostem.

Predpostavili smo, da bo vsebnost eteričnega olja v rastlinah, ki smo jih gojili v rastlinjaku v tleh večja od hidroponsko pridelanih rastlin.

Domnevali smo, da bodo največjo vsebnost eteričnih olj vsebovale rastline, gojene na prostem.

2 PREGLED OBJAV

2.1 POPROVA META (*Mentha piperita* L.) - OPIS IN BOTANIČNA KLASIFIKACIJA

Klasifikacija povzeta po Martinčič in sod. (2007).

Red: Lamiales (ustnatičevci)

Družina: Lamiaceae (ustnatice)

Rod: *Mentha* (mete)

Vrsta: *Mentha piperita* (poprova meta)

2.2 SPLOŠNI OPIS *Mentha piperita* L.

Poprova meta je zelnata trajnica, ki izvira iz družine ustnatic - Lamiaceae, ki se uporablja po vsem svetu. Po ljudskem izročilu velja za zelišče, ki pomaga pri mnogih obolenjih, kot aromatična dišavnica pa je uporabna tudi v kulinariki. Njene zdravilne lastnosti poznamo iz zgodovine, sodobna medicina ji pripisuje dokazane učinke blaženja simptomov številnih bolezni. V zahodni Evropi je to ena najbolj razširjenih aromatičnih zdravilnih rastlin (Hoffman, 1998).

Mentha piperita L. je 4 kratni spontani hibrid, nastal z križanjem vrst rodov *Mentha*: *Mentha rotundifolia* x *M. silvestris* (*M. longifolia*) = *Mentha viridis* (*M. Spicata*); *M. viridis* (klasasta meta) x *M. aquatica* (vodna meta) = *Mentha piperita* (Baričevič, 1996).

V višino zraste od 50 do 100 cm. Štiri robo steblo je zeleno, pri vrhu ima rdečkast odtenek. Rastlina se razveja že pri tleh. Močno razrast ji omogoča veliko število živic, katerih glavna globina razvoja je 5 cm pod zemljo in na površini zemljišča. Živice, prisotne na površini, razvijejo nove koreninske sisteme v kolencih, in omogočajo hitro širjenje po terenu in s tem tudi razmnoževanje (Wagner, 1980). Listi so dolgi od 2 do 6 cm in široki do 2,5 cm, zraščeni nasprotno in pecljasto pritrjeni na steblo. Oblika je odvisna od sorte, poznamo oblike od suličastih do jajčastih. Vsi listi imajo nazobčan rob, so lahko goli ali porasli z dlačicami (trihomi). Cvetovi so drobni, od 3,5 mm do 7 mm, rdečkasto ali vijoličasto bele barve, zbrani v navideznih vretencih. Ti skupaj tvorijo podolgovato socvetje, ki spominja na klasje. Poprova meta cveti od junija do avgusta, kar je v veliki meri odvisno od temperatur in količine padavin (Martinčič in sod., 2007).

V nasadih poprove mete sta razširjeni dve glavni obliki. Ločujemo jih glede na habitus, obarvanost listov, odpornosti na bolezni in mraz ter vsebnost in sestavo prisotnih eteričnih olj v rastlinah (Baričevič, 1996).

Osnovni obliki *Mentha piperita* L. var. *officinalis* sta (Wagner, 1980; Baričević 1996):

- var. *piperita* f. *rubescens* – temno zelena (rahlo rdeče obarvane žile, jajčasti listi; prevladujoče lastnosti *Menthe aquaticae*)
- var. *piperita* f. *pallescens* – svetlo zelena (zeleno steblo, večji suličasti listi; prevladujoče lastnosti *Mentha viridis*).

2.3 PRIDELOVANJE POPROVE METE

2.3.1 Rastne zahteve

Poprova meta je križanec, ki se je leta 1696 pojavil na polju klasaste mete (*Mentha spicata* L.) v Angliji, in ga od tedaj gojijo v vrtovih. Zato mete, ki jo uporabljamo v zdravilne namene, ne puščamo rasti divje, saj se tudi divje rastline naravno križajo naprej v druge oblike. Pri načrtnem gojenju se temu izognemo tako, da jo razmnožujemo s koreniki in stebelnimi potaknjenci, ne pa s semenom (Pahlow, 1987; Foster in Tyler, 1998).

Meta dobro uspeva v rahlih, apnenčastih, humozno ali ilovnato peščenih ter barjanskih tleh. Ne ugajajo ji težka tla. Zgornja plast zemlje mora biti vedno vlažna. Je zelnata trajnica, ki ima raje zavetrje, sončno do polsenčno lego in toplo podnebje. Kot kulturno rastlino jo gojimo do tri leta, v kolobar pa jo umeščamo na 6 do 8 let (Pahlow, 1987; Baričević, 1996).

2.3.2 Razmnoževanje in sadilna razdalja

Poprovo meto v praksi razmnožujemo samo z živicami, nikoli s semenom, (zaradi možnosti ponovnega križanja v prvotne starševske oblike), običajno v času od aprila do septembra. Živice polagamo 10 cm globoko v zemljo, jih rahlo zagrnemo in povaljamo. Razdalja med vrstami naj znaša od 50 do 60 cm, v vrsti pa 20 cm (Valenčič in Spanring, 2000). Sajenje v jeseni ima ob ustrezni oskrbi prednost hitrejšega in kakovostnejšega pridelka (Baričević, 1996).

2.3.3 Oskrba nasada

Da ustrezno oskrbujemo nasad poprove mete, je potrebno skrbno in redno odstranjevati plevela, ki se razrastejo med gojenimi rastlinami. Pletje in okopavanje moramo v rastni sezoni opraviti večkrat. Pleveli lahko vplivajo na slabšo kakovost eteričnega olja, v primeru, da se pomešajo v rastlinsko drogo med procesom pridobivanja eteričnih olj. Če rastline gojimo v sušnem območju, je potrebno urediti namakanje. Po potrebi namakamo tudi v vlažnejših okoljih, odvisno od sezone (Valenčič in Spanring, 2000).

2.3.4 Čas spravila pridelka

Meto porežemo tik pred cvetenjem, ko je količina vsebnosti eteričnih olj v rastlini na višku. To je navadno junija, takrat porežemo celotne rastline do višine 5 cm. Na manjših površinah posamezne rastline porežemo s škarjami, na večjih površinah pa jih kosimo ali žanjemo. Pri tem je nujno, da so površine temeljito očiščene plevelov, da ne pride do mešanja pridelka z rastlinskimi ostanki plevelov. Žetev ne sme potekati v mokrem ali vlažnem vremenu, niti v zgodnjem jutranjem času, ko je še prisotna rosa na površini rastlin. Liste osmukamo takoj po žetvi in jih prepeljemo v sušilnico, lahko pa posušimo celotna zelišča in jih osmukamo kasneje (Valenčič in Spanring 2000; Bohinc in sod., 1984).

2.3.5 Način sušenja in shranjevanja pridelka poprove mete

Celotne rastline poprove mete ali samo liste sušimo v prezračevani sušilnici na 30 do 35 °C. Drug način sušenja je lahko na zračnem prostoru na lesu ali lesenih deskah, kjer se vlaga hitro izgublja. Prvi dve rezi sta najbogatejši z eteričnimi olji, tretja pa je občutno slabša (Valenčič in Spanring, 2000; Bohinc in sod., 1984).

2.4 ZDRAVILNE UČINKOVINE IN AROMATIČNE SPOJINE V RASTLINAH POPROVE METE (*Mentha piperita* L.)

2.4.1 Zdravilne učinkovine v rastlinah

Zdravilne učinkovine, ki se nahajajo v rastlinah, so po sestavi zelo različne in izhajajo iz različnih metabolnih poti (primarnih in sekundarnih), ki so nujne za rast, razvoj in razmnoževanje rastline. Delovanje zdravilnih rastlin temelji predvsem na medsebojnem delovanju teh sestavin, ki delujejo kot celota na tarčni organizem (Keršek, 2008).

Glavne skupine aktivnih snovi v zdravilnih rastlinah so (Keršek, 2008; Robbers in Tyler, 2000):

- ogljikovi hidrati (glukoza, fruktoza, invertni sladkor, manitol, sorbitol, skilitol, inozitol, sladkorni alkoholi, sladkorne kisline),
- maščobe (lipidi – nevtralni, lipoidi; rastlinske in živalske maščobe),
- flavonoidi (snovi, ki dajejo barvo tkivom, so najbolj razširjeni sekundarni metaboliti),
- saponini (triterpenski in steroidni glikozidi),
- kumarini (kumarin vezan na sladkor (glikozid),
- srčni glikozidi (steroidni glikozidi, z vplivom na dinamiko in ritmiko srca),
- antrakinonski glikozidi (purgativni glikozidi z delovanjem v črevesju),
- grenke snovi (terpenske in neterpenske),
- pekoče snovi (fenolne snovi, amidi, sulfidi),

- čreslovine (tanini) eterična olja (v vodi netopne aromatične sestavine z oljnato konsistenco),
- vitamini (kemične organske spojine, topne v vodi (B, C), topne v maščobi (A, D, E, K)).

2.4.2 Zdravilno učinkovanje poprove mete

Že Dioscorides, je v časih antične Grčije poprovo meto pojmoval kot močno kontracepcijsko sredstvo in ji pripisal lastnosti ustavljanja rasti tumorjev (Farrell, 1985). Meta po ljudskem izročilu blaži bolečine in krče, ureja želodčne ter črevesne težave in preprečuje napenjanje. Pospešuje delovanje jeter in izločanje žolča, rahlo odvaja vodo in razkužuje notranje organe. Širi koronarne žile, ob površinskem nanosu pa ima hladilen in blag razkuževalni učinek za kožo, ustno votlino in dihala (Rode, 2001).

Poprova meta deluje kot (Hoffman, 1998):

- antiseptik (deluje uničujoče na mikroorganizme),
- antibakterik (vpliva inhibitorno na razvoj bakterij),
- antiinflamatorik (delujejo protivnetno),
- spazmolitik (deluje, kot sredstvo za preprečevanje krčev),
- stomahik (povečuje stopnjo izločanja želodčne kisline in peristaltike),
- karminativ (zmanjšuje napenjanje in vetrove),
- holeretik (vpliva na uravnavanje žolča),
- sedativ (deluje kot pomirjevalo, uspavalo),
- rinologik (uravnava izločanje nosne sluznice),
- anestetik (proti bolečinski delovanje).

2.4.3 Eterično olje poprove mete

Kot vsa druga eterična olja ima eterično olje poprove mete močan vonj, na videz je podobno olju, je zelo hlapljivo na višjih sobnih temperaturah. Eterična olja določenih rastlinskih vrst vsebujejo aromatske spojine, kemično pa je njihova sestava v večini zmes monoterpenov in seskviterpenov, ter derivatov oksigenacije teh spojin. Glavne sestavine eteričnega olja poprove mete se preverjajo z različnimi kromatografskimi postopki. Glavne znane kemijske spojine, najdene v eteričnem olju poprove mete so: mentol, mentofuran, mentol mentil acetat (razmerje 5:1, 6:1), flavonski glikozidi, triterpenske kisline (ursolna, oleanolna), tanini tipa Lamiaceae (rožmarinska kislina), fenilkarboksilne kisline (Rode, 2001; Manley, 1993; Kromar 1992).

2.4.4 Postopki pridobivanja eteričnega olja

Eterična olja lahko iz zdravilnih rastlin pridobivamo na več načinov (Keršek, 2008):

- parna destilacija (za pridobivanje eteričnega olja uporabimo vodno paro),
- alkoholna ekstrakcija (eterično olje se raztaplja v alkoholu in nato alkohol odhlapimo),
- superkritična ekstrakcija (ekstrakcija pod visokimi tlaki, z različnimi plini),
- hladno stiskanje (rastlinsko drogo stisnemo svežo v stiskalnici),
- maceracija (namakanje rastlinske droge v maščobi, ki veže nase eterično olje).

Metoda, ki jo Evropska farmakopeja (European Pharmacopoeia 8.0, 2013) določa za določanje količine eteričnega olja v listih poprove mete, je destilacijska metoda, ki temelji na različnih parcialnih tlakih s ksilenom, za natančnejše določanje razlike med vodno fazo in eteričnim oljem. Parna destilacija deluje na principu parcialnih tlakov (European Pharmacopoeia 8.0, 2013).

2.4.5 Standardni testi za rastlinsko drogo poprove mete po Eur. Ph 8.0 (2013)

Evropska farmakopeja narekuje postopke za preverjanje kakovosti rastlinskih drog ali drugih zdravilnih učinkovin za farmacevtsko industrijo. Vsakdo, ki želi svoj pridelek prodajati za namene zdravilstva ali zdravljenja, mora po farmacevtskih priporočilih opraviti naslednja testiranja:

- **Količina tuje materije v rastlinski drogi** (največ 5 % stebel premera manjšega od 1,5 mm, največ 2 % tujih delcev, največ 8 % listov ima sledove metine rje) (European 8.0, 2013: pogl. 2.8.2.), stebela premera 1,5 mm in več spadajo v tujo materijo;
- **Količina vode v rastlinski drogi po sušenju** (max=110 ml (H₂O)/kg s.s.,- 89 % suha snov) (European Pharmacopoeia 8.0, 2013: pogl: 2.2.13);
- **Količina celokupnega pepela v rastlinski drogi** (manj kot 15 %) (European Pharmacopoeia 8.0, 2013: pogl. 2.4.16);
- **Količina pepela, netopnega v HCl** (največ 1,5 %) (European Pharmacopoeia 8.0, 2013: pogl. 2.8.1));
- **Količina eteričnega olja v rastlinski drogi** (ml/kg rastlinske droge) (European Pharmacopoeia 8.0, 2013: pogl. 2.8.12);
- **Dokazovanje prisotnosti značilnih sestavin v eteričnem olju**, pridobljenem iz listov poprove mete po metodi TLC (European Pharmacopoeia 8.0, 2013: pogl 2.2.27).

2.4.5.1 Količina vode v rastlinski drogi

Količina vode v rastlinski drogi se določa z drobljenjem zračno suhe zdrobljene rastlinske droge in določanjem izgube mase po sušenju 1h na 105 °C.

2.4.5.2 Količina celokupnega pepela v rastlinski drogi

Količina celokupnega pepela se določa z metodo suhega sežiga, kjer se vzorce predhodno suši na 105 °C, in nato postavi v žarilnih lončkih v sežigalnico na 600 °C, dokler ne pride do žarenja lončkov. Preostanek mase v lončku je količina celokupnega pepela v rastlini.

2.4.5.3 Količina pepela netopnega v HCl

Pepel, ki ostane v žarilnih lončkih po preizkusu (European Pharmacopoeia 8.0, 2013: pogl. 2.4.16) prelijemo s HCl in kuhamo do skorajšnjega izparevanja, nato filtriramo z destilirano vodo, čez filter, ki ne vsebuje pepela, dokler filtrat ni prozorne barve. Filter papir sežgemo na 600 °C. Ostanek mase je pepel, ki ne vsebuje več organske snovi.

2.4.5.4 Količina eteričnega olja v rastlinski drogi

Količino eteričnega olja v rastlinskem materialu določamo z metodo parne destilacije, kjer uporabimo suho ali pa svežo rastlinsko materijo. Metoda se izvaja z Clavengerjevimi aparatom za parno destilacijo uparjanja hlapov, nasičenih z eteričnim oljem, ki jih preko kondenzatorja ujamemo in v hladilniku ohladimo, da zamenjajo agregatno stanje. Kaplje, ki se nabirajo v graduirni cevi, se ločujejo na eterično olje in hidrolat (aromatizirana voda) zaradi različne stopnje maščobne nasičenosti.

2.4.5.5 Opis tankoplastne kromatografije (Thin Layer Chromatography - TLC) po standardih European Pharmacopoeia 8.0 (2013)

Metoda TLC v kemijsko-raziskovalnih krogih velja za zelo uporabno in preprosto tehniko za ločevanje zmesi vzorca. Snovi se ločujejo na stekleni ali aluminijski plošči, ki je premazana z adsorbcijskim materialom (silica gel). Plast mora biti debela 0,2 mm za analitične namene in 1-2 mm za preparativne tehnike. Vzorec, namenjen ločevanju, nanesemo na spodnji rob plošče kot črto ali točko. Po nanašanju se plošča potopi v topilo ali mešanico topil (tako imenovana mobilna faza). Mobilna faza potuje z dna proti vrhu in razklopi posamezne sestavne dele vzorcev. Ti pa potujejo z različnimi hitrostmi. Ko topilo doseže vrhnji del plošče, le to posušimo in popršimo z derivatizacijskim reagentom. Tako posamezne komponente postanejo vidne, in lahko vizualno ovrednotimo vsebnost. Spojine prepoznavamo s pomočjo standardiziranih spojin (kemijskih standardov), ki so nanešene na ploščo hkrati z vzorci.

2.4.5.6 Prednosti in slabosti TLC pri analizah biološko aktivnih spojin

Metoda omogoča hitro obravnavo vzorcev in ne zahteva poglobljenih znanj o kromatografskih postopkih. Prav tako kot prednost smatramo veliko možnost izbiranja,

kakšna bo mobilna faza za testiranje. Metoda omogoča hiter razvoj in prilagajanje za največjo izrabo njenih kapacitet. Pravilna izbira mobilne in stacionarne faze nam omogoči ločevanje katere koli spojine iz vzorca. Hitrost in zmožnost preučevanja več vzorcev hkrati pa nam prihranita veliko časa. Slabost TLC je nižja stopnja detekcije in manjša natančnost ločevanja snovi v primerjavi s sodobnimi tehnikami, kot je tehnika tekočinske kromatografije visoke ločljivosti (Baričevič, 1996; European Pharmacopoeia 8.0, 2013).

2.5 HIDROPONSKO GOJENJE

Hidroponsko gojenje je način gojenja rastlin v mediju ali v vodi, pri katerem so hranila dovajana preko hranilne raztopine, ki vsebuje bistvene elemente za rast in razvoj rastlin. V osnovi ločujemo dva glavna tipa sistemov. Agregatni ima za koreninjenje rastlin medij, ki je lahko sintetičen, mineralen ali organskega izvora. Glavni pogoj je, da nima izmenjalne kapacitete (je inerten). To pomeni, da ne vsebuje drugih elementov in jih ne veže nase. Običajno uporabljamo za medij kameno volno ali kokosova vlakna, pomešana s perlitom. V tekočinskem sistemu pa imamo bazen, ki je pokrit s plavajočimi ploščami z odprtini za rastlino, ki je usidrana v mrežastem lončku. Rastlina korenine postopoma razširja v vodo in sprejema hranila iz hranilne raztopine v vodi. Pogoj za uporabo tekočinskega sistema so zračne črpalke, ki imajo nalogo obogatiti vodo v bazenu s kisikom, saj tako preprečimo razvoj alg in anaerobnih bakterij, ki lahko povzročijo propad rastlin (Jakše, 2008).

2.5.1 Primerjava prednosti in slabosti agregatnega in tekočinskega hidroponskega sistema

Prednosti agregatnega hidroponskega sistema se razlikujejo od prednosti tekočinskega sistema. Predvsem je potrebno poudariti, da agregatni sistem omogoča večjo koncentracijo hranilne raztopine, saj medij deluje kot pufer za nihanja pH vrednosti v hranilni raztopini. Ker namakamo preko kapljačev iz cisterne s hranilno raztopino enkrat ali dvakrat dnevno, je poraba vode mnogo racionalnejša. Prav tako je vzdrževanje sistema omejeno na preverjanje delovanja kapljačev in kontrole analognih časovnih sprožilcev, ki omogoča redno namakanje ob isti uri. Ena od prednosti je tudi, da imajo rastline ločene koreninske sisteme, kar zavira hitro širjenje bolezni. V agregatnem sistemu imamo več časa, da se odzovemo na morebitno pomanjkanje vode in hranil, saj ostaja medij vlažen dlje časa. Poleg tega nam agregatni sistem omogoča sajenje rastlin z visokim nadzemnim delom, saj se korenine enostavno sidrajo v medij, kar ustvarja stabilnejše razmere za rastlino (Osvald, 2005).

Slabosti agregatnega sistema so velik vložek energije in sredstev v postavitve sistema. Nujno je strokovno znanje, ki vključuje namestitev celotnega sistema. Prav tako je

potrebno poznati recepture hranilnih raztopin in tedensko preverjanje nihanj v pH in EC vrednosti (elektroprevodnosti). Velika težava in slabost je nezanesljivo delovanje kapljačev, ki jih je treba dnevno preverjati, v nasprotnem primeru tvegamo izsušitev rastlin. Enako težavo imamo pri velikih nihanjih v hranilni raztopini, ker se lahko sestava znotraj zbiralnika spreminja glede na temperaturne razmere.

Prednosti tekočinskega sistema so predvsem lahka postavitve in enostavno sajenje v stiroporne plošče. Te imajo mrežast lonček, ki ga postavimo v sadilno luknjo, od koder rastlina razrašča korenine v bazen hranilne raztopine. Veliko prednost predstavlja stabilnost znotraj celotnega sistema, saj ni velikih nihanj v koncentraciji in pH hranilne raztopine. Plavajoč sistem zahteva manj dnevne oskrbe in dodatnega vzdrževanja po postavitvi (Jones, 2005).

Slabosti tekočinskega sistema pa so predvsem zračne črpalke, ki so pogoj, da lahko rastline rastejo brez vdora anaerobnih bakterij in preprečujejo posledično okuženje in propad rastlin. Enako velja za patogene, ki se lahko širijo nemoteno po bazenu s hranilno raztopino in tako uničijo celoten pridelek, saj so koreninski sistemi nenehno v stiku drug z drugim, kar omogoča prosto pot patogena preko vode. Zadnja negativna lastnost je omejenost kulture gojenja na nizke rastline s šibkim koreninskim sistemom. Mnogo težje gojimo plodovke, ki potrebujejo v času vegetacije drugačna hranila kot v času proizvodnje plodov, ker hranilne raztopine ne moremo preprosto menjati z zbiralnikom drugačne hranilne raztopine (Osvald, 2005).

2.5.2 Zahteve po strokovnem znanju pri gojenju na hidroponiki

Pri gojenju rastlin na hidroponskem sistemu potrebujemo znanje glede postavitve, kolikšne so priporočljive sadilne razdalje, katero kulturo izbrati, da bo najbolj primerna za izbrani sistem gojenja. Bistveno je znanje priprave hranilne raztopine in zakonitosti, ki jih je potrebno upoštevati pri mešanju sestavljenih in enostavnih vodotopnih gnojil. Ključno je tudi fitopatološko poznavanje simptomov pomanjkanja ali preobilja hranil v raztopini ter poznavanje bolezni in škodljivcev, ki bi potencialno ogrozili pridelke, da lahko pravočasno ukrepamo (Jakše, 2008).

2.5.3 Hidroponsko gojenje rastlin na kameni volni

Sistem s kameno volno je uvrščen pod agregatne hidroponske sisteme. Pri tovrstnem sistemu najprej gojimo sadike prvotno v ločkih, kasneje pa jih presadimo v kocke kamene volne. Rastline presajamo šele, ko pokažejo prve liste oz. ko prerastejo korenine kocko in pridejo do dna. Tako pripravljene sadike prestavimo na večje plošče kamene volne. Plošče so ovite v PVC folijo za preprečevanje širjenja alg in bolezni. Gredico tvorita običajno dve plošči v razmiku 30 cm. PVC folijo na kameni plošči pri robu na dnu zarezemo, da

omogočimo odtekanje odvečne vode. Rastline namakamo preko sistema kapljačev, ki so s črpalko povezani s cisterno, v kateri hranimo hranilno raztopino. Pomembno je, da imamo rastline na sistemu razporejene tako, da ima vsaka svoj kapljač na nosilcu, ki je zataknen v kocko kamene volne. Med gredicami imamo prav tako položeno PVC folijo, da lahko odvečna raztopina odteka in se po potrebi zbira v zbirni posodi (Osvald, 2005).

2.5.4 Kamena volna

Kamena volna je bila prvotno izdelana za namene izolacije, sestavljena iz bazalta, diabaza in koksa, ki jih stalijo na veliki temperaturi, da razpadejo na vlakna. Tem so dodana hidrofilna sredstva. Vsebuje vlakna velikosti 0,005 mm, ki se v rotacijski napravi nalagajo en na drugega in med seboj puščajo prostore zraka. Kamena volna je inertna, sterilna, biološko nerazgradljiva ter stabilna. Ne vsebuje primesi, gliv, bakterij, škodljivcev in semen plevelov (Osvald, 2005).

2.6 GOJENJE V RASTLINJAKU

Gojenje v rastlinjaki se razlikuje glede na material, ki pokriva rastlinjak. Rastlinjaki so sestavljeni iz trdih ali mehkih plastičnih mas ali stekla. Steklenjaki so dražji objekti, ki imajo višje stroške postavitve in so običajno bolj opremljeni, saj so namenjeni predvsem izvensezonski pridelavi vrtnin. Plastenjaki pa imajo kritino iz trdih plastičnih mas ali mehke, običajno dvoplastne polietilenske ali etilenvinilacetatne folije.

Prednost rastlinjaka je, da lahko posevke in rastline vanje posadimo veliko prej kot na prosto, saj se toplota sončnih žarkov ohranja in ne izgublja v zrak. Rastline v rastlinjaki rastejo bolj bujno in obenem je opaziti večje raztegotanje proti soncu, saj jih zaradi kritine dosega razpršeni žarki svetlobe s spremenjenimi spektri valovnih dolžin. Rastlinjak mora imeti urejeno namakanje, saj padavine ne pridejo do rastlin, ki jih v njem gojimo. Prav tako rastlinjak omogoča tudi gojenje rastlin pozno v jeseni, saj varuje pred pozebo in nizkimi temperaturami. Težavo lahko predstavlja visoka količina vlage v rastlinjaku, saj v zaprtem prostoru omogoča hitrejše širjenje boleznih in škodljivcev, poleg tega lahko zaradi večje toplote in vlage pričakujemo škodljivce kulturnih rastlin prej v sezoni. V rastlinjaku rastline zaradi večjega potenciala rasti in preprečevanja širjenja boleznih sadimo na večje sadilne razdalje (Bajec, 1988).

3 MATERIALI IN METODE DE LA

3.1 MATERIAL, UPORABLJEN V DIPLOMSKEM POSKUSU

V poskusu smo uporabili sledeč material:

- sadike rastlin poprove mete (vrtnarstvo Škofic),
- plošče in kocke kamene volne,
- namakalni sistem s kapljači za natančno namakanje rastlin na hidroponskem sistemu,
- črno PE zastirko za gojenje poprove mete na prostem,
- rastlinjak, prekrit s polikarbonatno trdo kritino,
- soli za pripravo hranilne raztopine,
- tehtnico za tehtanje soli in porezanih rastlin,
- jutaste vreče za sušenje rastlinskih vzorcev,
- sušilnik.

Pri preizkusih celokupnega pepela in netopnega pepela v HCl je bila uporabljena:

- pečica,
- sežigalna peč,
- žarilni lončki,
- digestorij,
- pinceta,
- HCl,
- destilirana voda,
- filter papir brez pepela,
- tehtnica (+/- 0,0001 g),
- stekleni pokrovi,
- zmleti vzorci poprove mete,
- odstavek za žarilne lončke.

Za destilacijo eteričnega olja smo uporabili:

- Clavenger destilacijsko napravo,
- etanol,
- ksilen,
- cevi za priklop vodnega hladilnika,
- vrelne kamenčke,
- grelec- kalota,
- bučke (500 ml),
- rastlinski material (20 g za 1 vzorec destilacije),

- viala (1 ml) za hranjenje eteričnega olja do postopka TLC,
- žlička za odmerjanje rastlinske droge,
- tehtnica,
- tehtalni pladenj,
- destilirana voda,
- menzura,
- podstavek za bučko.

Za določanje snovi po metodi TLC smo uporabili:

- eterično olje poprove mete,
- etanol,
- anisaldehydni derivatizacijski reagent,
- toluen (topilo za pripravo mobilne faze),
- etilacetat (topilo za pripravo mobilne faze),
- mentol,
- mentil acetat,
- timol,
- 1,8-cineol (eukaliptol),
- UV avtomatski nanašalec vzorcev (Linomat CAMAG),
- automatic developing chamber (ADC CAMAG, avtomaska razvijalna komora za razvijanje vzorcev v mobilni fazi),
- kromatografske plošče (TLC silica gel 254 nm),
- pršilko za nanašanje reagenta,
- peč za sušenje plošč.

3.2 METODE DELA

3.2.1 Postavitev poskusa

3.2.1.1 Priprava sadilnega materiala

Poskus je potekal na Laboratorijskem polju Biotehniške fakultete v Ljubljani, v rastlinjaku in na prostem. Spremljanje poskusa je trajalo od 15. 5. do 2. 8. 2016. Rastline za poskus so bile dostavljene na fakulteto 20. 4. 2016 in so bile vzgojene v vrtnarstvu Škofic. V sadilnih lončkih smo imeli 100 rastlin poprove mete, ki je bila presajena pred zimo, zaradi česar so le posamezne rastline že pričele z odganjanjem. Rastline smo imeli 14 dni v steklenjaku Oddelka za agronomijo. Po 14 dneh smo ocenili, da je razrast dovolj bujna za pričetek presajanja z metodo delitve koreninskega sistema. Vsako izmed 100 enot smo prikrajšali na drugi členek (nodij), in nadzemne dele potaknili v 6 gojitvenih plošč s po 84 setvenimi vdolbinami. Na tri plošče smo potaknili bazalne potaknjence, na druge tri pa terminalne

potaknjence, da bi imeli rezervni sadilni material v primeru propada rastlin. Rastline so bile za sajenje v zemljo pripravljene tako, da smo koreninske sisteme vsakega lončka ločili na tri enako velike enote, vsako enoto pa smo posebej presadili v nov lonček s substratom za potikanje Klasmann TS3. Predhodno smo vse rastline namočili v vodo, da smo sprali zemljo iz koreninskega sistema. Tako smo lažje vizualno določili volumen korenin in ga razdelili na enake dele. Na enak način smo ločevali koreninske sisteme, namenjene za hidroponsko gojenje, vendar je presajanje potekalo na kocke kamene volne, ki smo jim povečali izrezano sadilno votlino, da smo lažje premestili korenine, na katerih se je držalo še nekaj substrata. Rastline, ki so bile namenjene za gredico na prostem, smo še naprej hranili v rastlinjaku, do 15. maja, da bi se izognili morebitni pozebi rastlin. V tem času se je koreninski sistem pojavil na dnu sadilnih lončkov in na dnu kock kamene volne, kar je narekovalo presaditev na prosto in v gredice rastlinjaka.

3.2.1.2 Priprava gredice in urejanje namakanja in prehrane rastlin

Rastline smo spremljali v treh različnih gredicah, dve sta bili postavljeni v rastlinjaku in ena na prostem. V rastlinjaku smo postavili hidroponsko gredico z desetimi 1 meter dolgimi ploščami kamene volne znamke Cutilen. V vsako izmed njih smo zasadili rastline na 4 sadilna mesta, na razdalji 15 cm med rastlinami, tako da so bile od roba plošče kocke oddaljene 10 cm. Vzporedno z gredico, na kateri je bil postavljen hidroponski sistem, smo posadili rastline v tla, in te so predstavljale običajni način pridelave. V vrsti smo posadili 32 rastlin na razdaljo 15 cm. Na prostem smo na zastirko posadili rastline na razdaljo 30 cm x 30 cm. Predpriprava zemlje pred sajenjem je v rastlinjaku in na prostem potekala enako. Začeli smo z globoko obdelavo s krampom in lopato na globini 40 cm. Dodali smo štiri 70 L vreče substrata Klasmann TS3 z visokim deležem organske snovi za izboljševanje tal v rastlinjaku, in ga zadelali v gredico znotraj rastlinjaka ter v gredico na prostem. Prav tako smo opravili gnojenje z mineralnimi gnojili po normah za gojenje poprove mete skladno s smernicami za strokovno gnojenje, ki so bile podane v kg na hektar. Gnojilna norma na hektar znaša od 160 kg/ha N, 80 kg/ha P, 220kg/ha K, preračunano na 20 m² to znaša 320 g/20m² N, 160 g/20m² P, in 440 g/20m² K. Uporabili smo mineralna gnojila, KAN (27 %), KCl (50 %), P₂O₅(26 %), ki smo jih zadelali v prekopano gredico ter naknadno pograbili, da smo dodobra zakrili mineralno gnojilo z zemljo. Nato smo gredice ročno zalili, da smo ustvarili pogoje za raztapljanje soli in hitrejši dostop hranil. Rastline smo presajali en dan po pripravi in zalivanju gredice in jih po presajanju obilno zalili.

Za nemoten potek poskusa v rastlinjaku je bilo urejeno kapljično namakanje. Na gredici smo uporabili standardno kapljično cev znamke John Deere, ki je bila priklopljena na vodovod, ki smo ga vsakodnevno odprli za 30 min. Odprtine v cevi so bile na razdalji 10 cm, tako je bila vsaka posamezna rastlina enakovredno namakana. Za hidroponsko gredico je bilo namakanje urejeno posebej, in sicer iz 1000 litrske cisterne. Prazno cisterno smo

namestili na rob rastlinjaka in jo ovili v PVC folijo, zaradi preprečevanja rasti alg v cisterni. Hranilno raztopino smo pripravili po recepturi *Hoagland and Arnon no.2*, ki smo jo povzeli po študiji vpliva različnih konduktivnosti na pridelek poprove mete (Tabatabaie in sod., 2007). Za sestavo hranilne raztopine smo uporabili soli TKI Hrastnik. Soli uporabljene v eksperimentu so $\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$, KNO_3 , MgSO_4 , $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ in mešanica mikroelementov. Za pripravo hranilne raztopine smo za lažje hranjenje in nadaljnjo uporabo pripravili koncentrat v 10 l plastični posodi, ki smo ga po potrebi razredčili v razmerju: 2 l/1000 l vode (v cisterni). Količine soli smo predhodno izmerili na tehtnici Soehnle, kjer smo zatehtali 606,6 mg/l KNO_3 , 296,4 mg/l $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$, 115 mg/L $(\text{NH}_3\text{H}_2\text{PO}_4)$ in 492,6 mg/L $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$. Koncentrat s kalcijevim nitratom smo pripravili posebej, da ne bi prišlo do obarjanja soli pri mešanju koncentratov. V prazno cisterno smo najprej dodali koncentrat s solmi in šele nato smo napolnili cisterno do vrha, da bi se raztopina enakomerno zmešala. Na cisterno s hranilno raztopino je bilo treba namestiti enostopenjsko črpalko (Pedrollo PK), ki je bila priklopljena na digitalni števec; ta pa je dnevno skrbel za enakomerno zalivanje ob določeni uri. Nastavili smo 3 min zalivanja na dan in to vrednost povečali z dvigovanjem temperatur v rastlinjaku na 4 minute saj smo zaradi premajhne ovlaženosti kock kamene volne opazili nabiranje soli. Zbirna cisterna s hranilno raztopino je bila priključena na cev, preko katere je hranilna raztopina preko kapljačev, ki so imeli pretok 2 L/h, potovala do posamezne rastline. Na cev je bilo priklopljenih 40 kapljačev, ki so bili na kocko kamene volne pritrjeni z nosilcem za kapljač. Rastline na gredicah smo spremljali od 15. 5. 2016, ko je potekala presaditev na prosto oz. rastlinjak do vključno 2. 8. 2016. V tem času smo v mesecu juniju opravili krajšanje sadik na vseh gredicah, ko smo opazili prve znake cvetenja pri rastlinah. Krajšali smo jih na 7. členek (nodij), zato da smo podaljšali čas vegetacije v avgust, ko je bilo predvideno spravilo pridelka.

3.2.2 Spravilo pridelka poprove mete

Ob spravilu pridelka smo s škarjami porezali rastline 5 cm nad tlemi, zato da so lahko nadaljevale rast. Rastline smo shranili v jutastih vrečah, v katerih se je rastlinski material sušil. Vse rastline smo zaradi lažjega hranjenja, različnih velikosti in volumnov rastlinskega materiala razdelili na enote, sušene v vrečah in sicer po 600 g, 500 g, 400 g. Po 600 g na jutasto vrečo smo shranili rastline, ki smo jih pobrali na prostem, po 500 g rastlinskega materiala na jutasto vrečo smo shranili rastline iz hidroponskega sistema in po 400 g na jutasto vrečo rastline, pobrane pri talnem gojenju na gredici v rastlinjaku. Ves material, ki smo ga predhodno ločili (stebila od listov), smo tehtali s tehtnico firme Soehnle ter izmerili svežo maso materiala. Za vse ponovitve vseh obravnavanj smo porabili 24 jutastih vreč.

3.2.3 Količinska in kakovostna obravnava pridelka poprove mete

3.2.3.1 Priprava vzorcev za kemijske analize rastlinske droge

Po spravi vseh ponovitev iz vseh treh obravnavanj smo vzorce sušili v sušilnicah, namenjenih za sušenje trav in drugih poljedelskih rastlin, Oddelka za agronomijo. Tudi na tem mestu smo upoštevali načela dobre agronomske prakse in sušili rastline na 40 °C in stalnem zračnem pretoku. Rastline so se posušile do naslednjega dneva 3. 8. 2016, ko smo jih predstavili v strojno lopo Oddelka za agronomijo, kjer smo nadaljevali z procesom obdelave in preučevanjem kakovosti rastlinske droge.

V procesu pridobivanja rastlinske droge za ekstrakcijo eteričnega olja po farmakopeji je sledilo tehtanje suhe mase vzgojenih rastlin in ločevanje suhih listov in stebel. Po pravilih Evropske farmakopeje so pregledi za tuje delce v rastlinski drogi standardni, kar smo v našem poskusu sproti pregledali in odstranili. Sledilo je ločevanje stebel in listov po debelini. Steblom smo določili premer in jih sortirali na stebela debelejša od 1,5 mm in tanjša od 1,5 mm. Debelejša se smatrajo za tujo primes v rastlinski drogi, zato smo jih iz nadaljnega procesa pregledovanja rastlinske droge izločili. Prav tako smo stekali maso obeh sortiranih tipov stebel in določili razmerje tankih in debelih stebel na posamezno ponovitev.

Naslednja obravnava rastlinske droge je vsebovala vizualno določitev količine listov, ki so okuženi z metino rjo (*Puccinia menthae* Pers., (1801)), ki znatno znižuje kvaliteto rastlinskega materiala, eteričnih olj, in splošen izgled rastlinskega materiala. Liste smo glede na ponovitve ločili in določili maso obolelih listov. Po standardih evropske farmakopeje smo stekali maso obolelih listov in določili njihov odstotni delež v rastlinskem materialu, ter jih izločili iz nadaljnega obravnavanja.

3.2.3.2 Določevanje vsebnosti vode v suhem vzorcu rastlin poprove mete

Po standardnih testih evropske farmakopeje za rastlinsko drogo smo vrednotenje pridelka rastlinske droge nadaljevali v laboratoriju Katedre za aplikativno botaniko, ekologijo, fiziologijo rastlin in informatiko. Tam smo pripravili vzorce za laboratorijske analize rastlinske droge. Vzeli smo 5 gramske vzorce vsake ponovitve poskusa, kar pomeni 21 vzorcev, 7 za vsako obravnavanje poskusa. Namleli smo jih s kavnim mlinčkom do prašnate faze, in jih nato preselili v steklene čašice s pokrovom. V vzorcih smo najprej določili vsebnost vode, s sušenjem v peči na 105 °C za 2 uri. Posamezno ponovitev smo po sušenju stekali in ugotovili kolikšna je bila izguba celotne vode.

3.2.3.3 Določevanje celokupnega pepela in pepela netopnega v HCl

Izsušene vzorce smo prenesli v laboratorij na Katedri za pedologijo in varstvo okolja, kjer smo nadaljevali z analizo vsebnosti celokupnega pepela in netopnega pepela v HCl. V pedološkem laboratoriju smo zopet stehali mase suhega rastlinskega materiala in odvzeli 2 g vzorca +/- 0,001g, za določitev celokupnega pepela.

Postopek za določanje celokupnega pepela v rastlinski drogi smo povzeli po postopku, opisanem v Evropski farmakopeji. Vzorce smo postavili v žarilne keramične lončke in stehali njihovo maso in maso z vsebujočim vzorcem. Nato smo žarilne lončke postavili v digestorij, na indukcijsko pečico, ki je zažgala vzorce do pepela. Tako sežgane vzorce v keramičnih lončkih smo nato postavili v pirolizno peč, na 600 °C za 12 ur. Naslednji dan smo vzorce prestavili v eksikator, da so se vzorci ohladili, niso pa se mogli navzeti morebitne vlage v prostoru. Vzorce smo zopet stehali in določili izgubo mase glede na prvotno stanje. Razlika med obema vrednostnima je količina celokupnega pepela.

Postopek za določanje pepela, netopnega v HCl, se je nadaljeval s pepelom, ki smo ga pridobili z suhim sežigom in podatki, ki smo jih pridobili iz prejšnje meritve. Pepel, ki je ostal po noči prebiti v pirolizni peči, smo dodali 15 ml destilirane vode in 10 ml HCl, pokrili s stekelcem in zmes pustili rahlo vreti približno 10 min. Ostanek smo sprali z vročo vodo in filtrirali preko filtra, ki ne vsebuje pepela, dokler filtrat ni postal nevtralen. Nato smo filter papir posušili, segreti do žarenja in ohladili v eksikatorju, dokler dve zaporedni tehtanji nista pokazali razlike več kot 1 mg (0,001 g), do konstantne mase.

Vse podatke meritev celokupnega pepela in pepela topnega v HCl smo zabeležili povprečje vsake obravnave in primerjali rezultate v tabeli.

3.2.4 Določanje vsebnosti eteričnega olja v vzorcih poprove mete

Po določanju pepela v rastlinski drogi je sledila določitev vsebnosti eteričnega olja (ml/kg) v rastlinski drogi, s pomočjo Clavenger aparature, pri 21 vzorcih poprove mete (7 ponovitev za vsako obravnavanje poskusa). Delo je potekalo v laboratoriju na Katedri za aplikativno botaniko, ekologijo, fiziologijo rastlin in informatiko kjer smo postavili tri Clavenger destilatorje. Za vsako destilacijo posebej smo uporabili 20 g +/- 0,02 zdrobljene rastlinske droge in 200 ml deionizirane vode kot destilacijske tekočine, skupaj z 0,5 ml +/- 0,1 ml ksilena, za boljše ločevanje eteričnega olja od vodne faze. Destilirali smo pri hitrosti pretoka, ki smo jo predhodno nastavili na 3-4 ml/min, naslednjih 120 min. Ekstrakcija vzorcev je potekala skupno 63 ur. Vsak vzorec smo destilirali 2 uri, umeritev ksilena in nastavitve hitrosti destilacije pa nam je med ponovitvami vzela od 30 do 45 min. Vse meritve smo razdelili na 4 dni, zaradi hkratne uporabe treh aparatov, smo čas destilacije vseh vzorcev zmanjšali za tretjino. Za potek destilacije smo dan prej sestavili tri aparate

Clavenger, ki se sestoji iz kondenzorske cevi, ki se nadaljuje iz bučke, naprej v hladilnik, ki je vodno hlajen s cevko, priključeno na vodovod, bočno cev z oddušnikom, kjer je nastavljen zamašek, zbirnika z merilom, kamor se nateka eterično olje, trikotnega ventila in graduirane cevke. Bučko smo grela z grelnim aparatom - kaloto. Za uporabo Cavenger aparata je potrebno uporabiti 500 ml bučko za destilacijo rastlinske droge. Celotna naprava je priključena na vodovodno cev, ki je s plastično cevjo povezana na vrhu s hladilnikom na zgornji luknji, zato da je omogočeno vodno hlajenje pare, ki nastaja v bučki s segrevanjem rastlinske droge. Ta para pa se v hladilniku, ki je vodno hlajen, ohladi in v obliki majhnih kapljic nabira v graduirki skupaj z ločenim eteričnim oljem, ki plava na gladini vode, ujet skupaj z organskim topilom - ksilenom. Po dveh urah destiliranja izključimo grelec in obrnemo trostopenjski ventil, ter spustimo eterično olje z ksilenom v graduirano cevko, da lahko odčitamo skupni volumen. Volumen ksilena, ki smo ga pred začetkom destiliranja droge dodali v Clavenger aparat in 30 min destilirali samo z deionizirano vodo ter njegov volumen po 30 minutni destilaciji ponovno odčitali, odštejemo od količine celokupnega volumna ksilena in eteričnega olja, da dobimo volumen eteričnega olja v rastlinski drogi. Dobljeni rezultat smo preračunali na kg rastlinske droge v ml. Po odčitavanju prostornine eteričnega olja v cevki spustimo vodo iz cevi in plavajoči ksilen ter eterično olje ujamemo v 1 ml vialo, ki smo jih označili glede na obravnavo in ponovitev poskusa. Voda, ki ostane v destilatorju je tako imenovana aromatizirana voda ali hidrolat.

3.2.5 Določanje vsebnosti snovi v eteričnem olju

Za določanje sestave eteričnega olja smo uporabili metodo TLC, ki je opisana v postopku v Evropski farmakopeji. S to napravo lahko določimo, katere snovi sestavljajo eterično olje po posameznih delih. Uporabili smo TLC aparaturo na Katedri za aplikativno botaniko, ekologijo, fiziologijo rastlin in informatiko kjer smo nanesti na stekleno ploščo 8 vzorcev eteričnega olja naenkrat in 4 standarde po naključnem vzorcu nanašanja.

3.2.5.1 Priprava testne raztopine

Zmešali smo 0,1 g substance, eteričnega olja, ki jo bomo preučevali s toluenom in razredčili z 10 ml istega topila.

3.2.5.2 Priprava referenčne raztopine

Raztopili smo 50 mg mentola, 20 µl cineola, 10 mg timola, 10 µl mentil acetata in ga razredčili z toluenom 10 ml.

3.2.5.3 Priprava mobilne faze

Zmešali smo etil acetat in toluen v razmerju 5:95 (100 ml).

3.2.5.4 Razvijanje kromatografskih plošč

Plošče smo razvijali v avtomatski razvijalni komori (ADC). Ploščo smo postavili v komoro, v katero smo dodali mobilno fazo, in programsko nastavili dolžino poti razvijanja plošče 80 mm od spodnjega roba, pred kondicioniranje komore 10 min ter po razvijanju plošče sušenje 3 min. Po tem smo plošče popršili z anisaldehydnim derivatizacijskim reagentom in 5 min sušili v peči pri 105 °C.

3.2.6 Detekcijske metode pri TLC

Za prepoznavo smo uporabili dve detekcijske metodi. Detekcijska metoda a vključuje pregled pod UV lučjo pri 254 nm. Druga detekcijska metoda uporablja tretiranje z anisaldehydno raztopino, segrevanje plošče na 100-105 °C za 10 min. Sledi opazovanje v sončni svetlobi in ugotavljanje, katere spojine so prisotne v eteričnem olju preko identifikacije madežev, ki se v kolonah pojavijo na silica plošči.

3.2.7 Ocenjevanje plošč in retencijskega faktorja

Ocenjevanje plošč je potekalo z merjenjem razdalje od mesta nanosa do sredine lis posameznih spojin in z merjenjem razdalje od mesta nanosa do fronte mobilne faze. Po primerjanju izračunamo retencijske faktorje po enačbi:

$$R_f = d_x/d_f \quad \dots (1)$$

kjer so R_f = retencijski faktor,
 d_x = oddaljenost sredine lise od mesta nanosa,
 d_f = dolžina fronte.

Po preračunavanju smo iz navedene literature (Wagner, 1995) identificirali spojine, ki niso bile nanešene z standardi.

Preglednica 1: Shema testne in referenčne plošče v Eur Ph 8.0

Vrh plošče	Zaznana spojina
Mentil acetat (vijoličasto moder)	Intenzivna vijoličasto-rdeča (blizu raztopine) (monoterpenski ogljikovodiki) Vijolično moder (mentil acetat)
Timol (rožnat) 1,8-cineol (viola moder ali rjav)	Zelenkasto modra zona (menthon) Svetlo roza ali sivo modra ali sivo zelena zona je lahko prisotna (karvon, pulegon, izomenton)
Menthol (intenzivno modra ali vijoličast)	Rahlo modra in rjava zona (1,8-cineol) Intenzivno modra ali vijoličasta zona (mentol)
Referenčna raztopina	Testna raztopina

4 REZULTATI

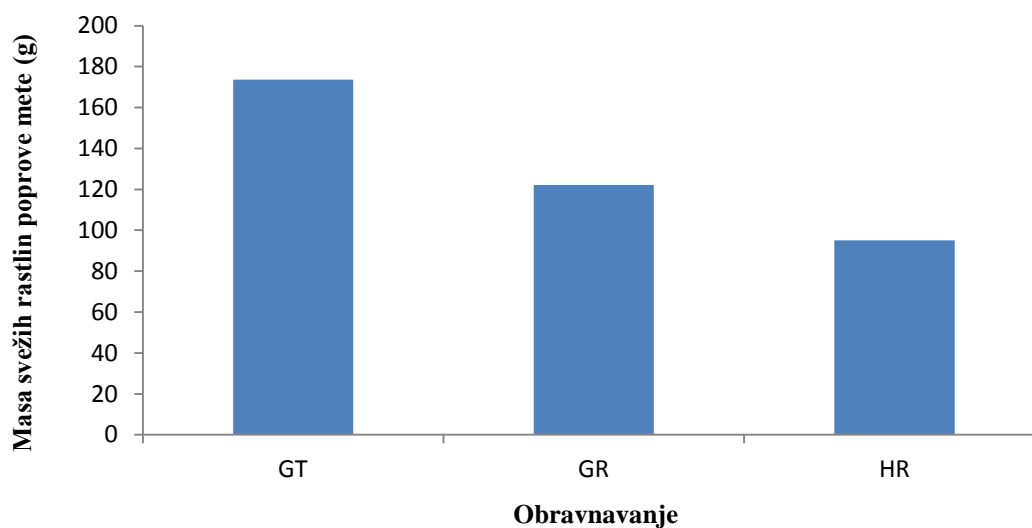
4.1 BIOMASA PRIDELKA

4.1.1 Pridelek sveže biomase poprove mete

Po prvem spraviu pridelka smo ugotovili, da je bil največji pridelek sveže biomase poprove mete pri gredici na prostem, za tem je bil po pridelku drugi hidroponski sistem in nazadnje gredica v tleh v rastlinjaku.

Posamezne rastline smo ob žetvi stehali in zabeležili njihovo svežo maso, nato smo stehali celotno svežo maso in preračunali povprečje sveže mase na posamezno ponovitev poskusa ter preračunali celotno povprečje sveže mase na obravnavo poskusa.

V gredici na prostem smo imeli posajenih 28 rastlin, na gredici v rastlinjaku 32 in v hidroponskem sistemu 40 rastlin. Ugotovili smo, da je bil pridelek sveže biomase na rastlino 173,57 g/rastlino pri gojenju na prostem, 122,21 g/rastlino pri gojenju v rastlinjaku v tleh in 95,02 g/rastlino pri hidroponskem gojenju (slika 1).



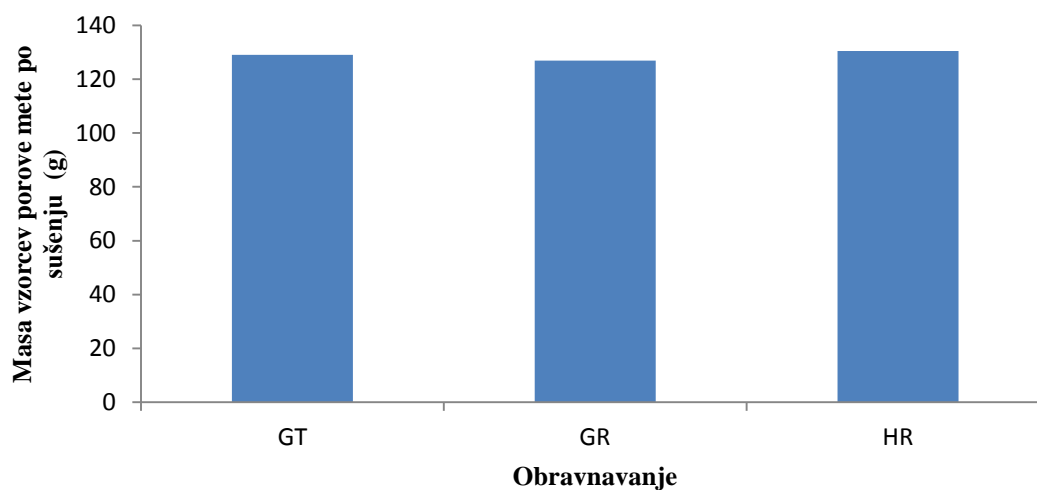
Slika 1: Povprečna sveža biomasa rastlin poprove mete (g/rastlino) pri različnih načinih gojenja, BF 2016

Preglednica 2: Pridetek (g/rastlino) sveže mase rastlin poprove mete, gojene v treh sistemih (hidroponski, tla – rastlinjak, tla – na prostem).

Sistem gojenja	Ponovitev	Masa svežih rastlin (g/rastlino)
Gojenje na prostem v tleh	1	171,84
	2	175,68
	3	183,10
	4	150,98
	5	173,69
	6	180,14
	7	178,17
	povprečje	173,37
Gojenje v rastlinjaku v tleh	1	125,51
	2	124,31
	3	115,79
	4	119,13
	5	122,60
	6	123,72
	7	120,69
	8	125,97
	povprečje	122,21
Rastlinjak - hidropon	1	96,72
	2	94,66
	3	95,47
	4	94,73
	5	86,87
	6	97,87
	7	96,37
	8	92,52
	9	94,01
	10	101,17
	povprečje	95,03

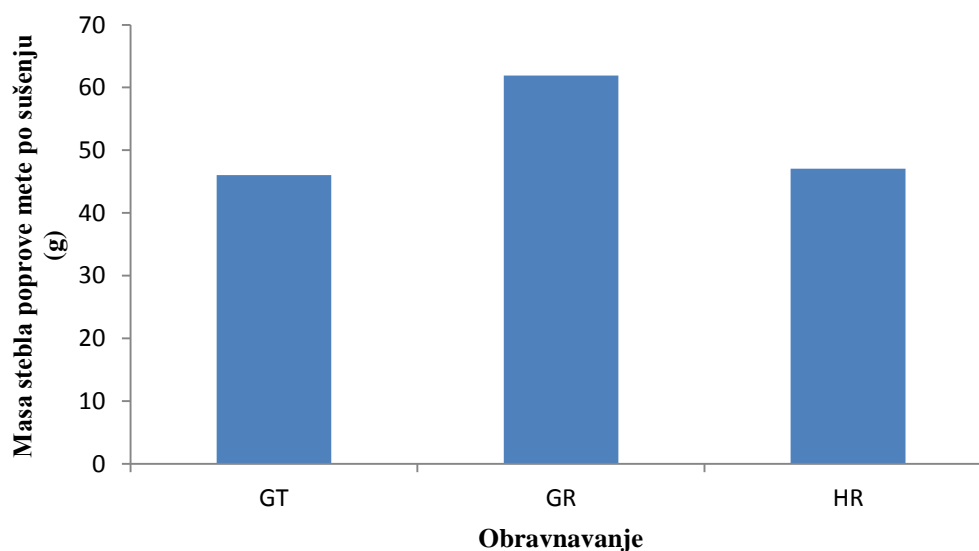
4.1.2 Odstotek suhe snovi v zračno suhih vzorcih poprove mete

Največji odstotek suhe snovi pri zračno suhih vzorcih poprove mete smo zabeležili pri hidroponskem sistemu (26 %, povprečno 130,04 g suhe snovi na celotno obravnavanje HR), za tem je sledila gredica na prostem s 25,8 % suhe snovi (povprečno 129,04 g suhe snovi na celotno obravnavanje GT) in nazadnje gredica v rastlinjaku s 25,4 % suhe snovi (povprečno 126,81 g suhe mase na celotno obravnavanje GR) (slika 2).



Slika 2: Povprečna masa (g) rastlin poprove mete po sušenju pri različnih načinih gojenja rastlin, BF 2016

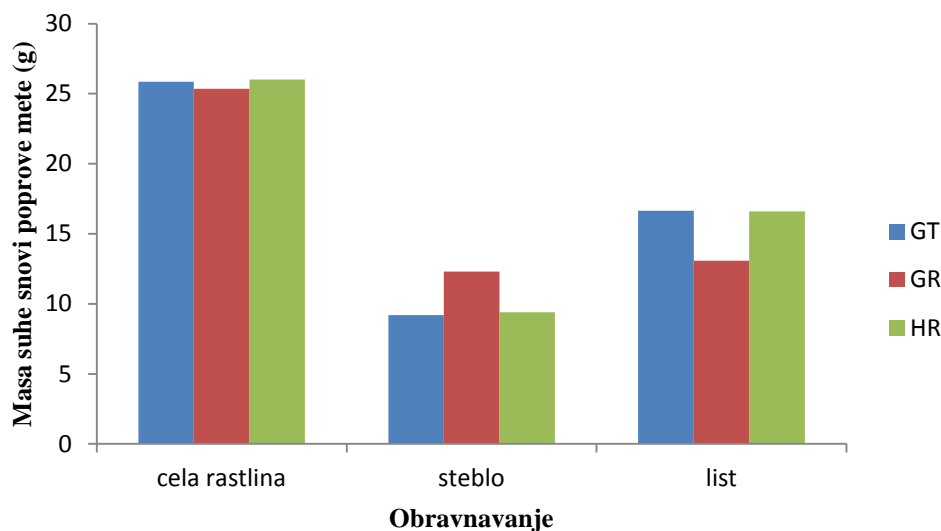
Odstotek suhih stebel po sušenju svežega pridelka je bil največji v gredici v rastlinjaku (12,3 % celotne sveže biomase) s povprečjem 62,39 g na ponovitev GR, v hidroponskem sistemu smo izmerili manjši odstotek (9,4 %), s povprečno maso 47,03 g na ponovitev, najmanjši odstotek suhih stebel pa smo izmerili pri rastlinah, ki smo jih gojili v tleh na prostem (9,2 %) s povprečno maso suhih stebel 46,03 g.



Slika 3: Povprečna masa (g) stebel rastlin poprove mete po sušenju pri različnih načinih gojenja, BF 2016

Pri merjenju suhe snovi v listih poprove mete, ki smo jo določili s sušenjem 100 g svežega rastlinskega vzorca listov, smo ugotovili, da so imele rastline, ki smo jih gojili v tleh na prostem, največjo vsebnosti suhe snovi (16,7 %), rastline, ki smo jih gojili na

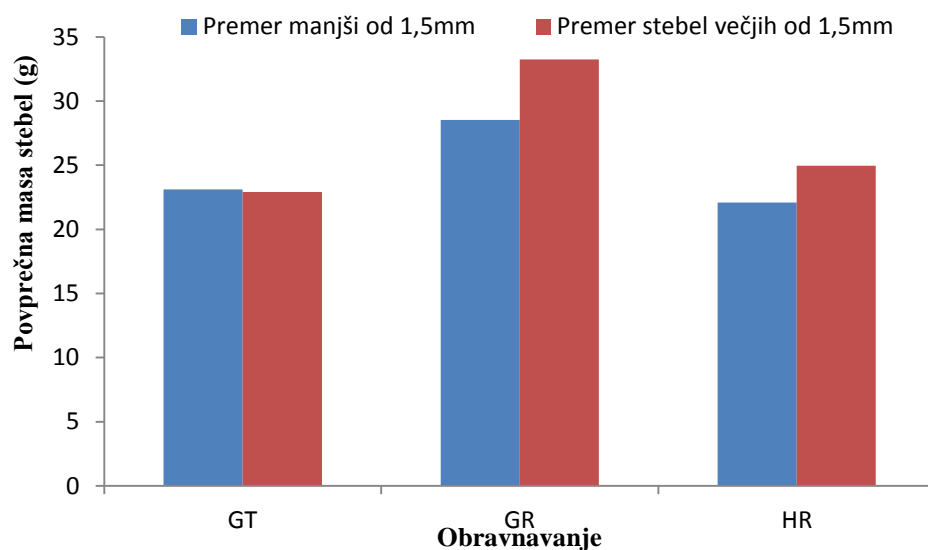
hidroponskem sistemu v rastlinjaku 16,6 % in najmanj (13,1 % suhe snovi) rastline, ki smo jih gojili v rastlinjaku v tleh (slika 4).



Slika 4: Povprečje suhe snovi poprove mete po sušenju 100 g (celotna rastlina, steblo, list) glede na različne načine gojenja, BF 2016

4.2 MASA STEBEL, KI SO PRESEGALA PREMER 1,5 mm

Pri količini stebel debelejših od 1,5 mm premera, smo ugotovili, da so imele rastline na hidroponski tehniki najmanj stebel z premerom, večjim od 1,5 mm. Povprečno je znašala masa stebela 22,08 g (stebela < 1,5 mm premera) in 24,95 g (stebela > 1,5 mm premera). Pri gredici na prostem smo izmerili 23,11 g stebel normalnega obsega (< 1,5 mm premera) in 22,91 g stebel prevelikega obsega (> 1,5 mm premera). V gredici v tleh pa smo izmerili največjo količino stebel (28,53 g) normalnega obsega (< 1,5 mm premera) in 33,24 g stebel prevelikega obsega (> 1,5 mm premera) (slika 5).



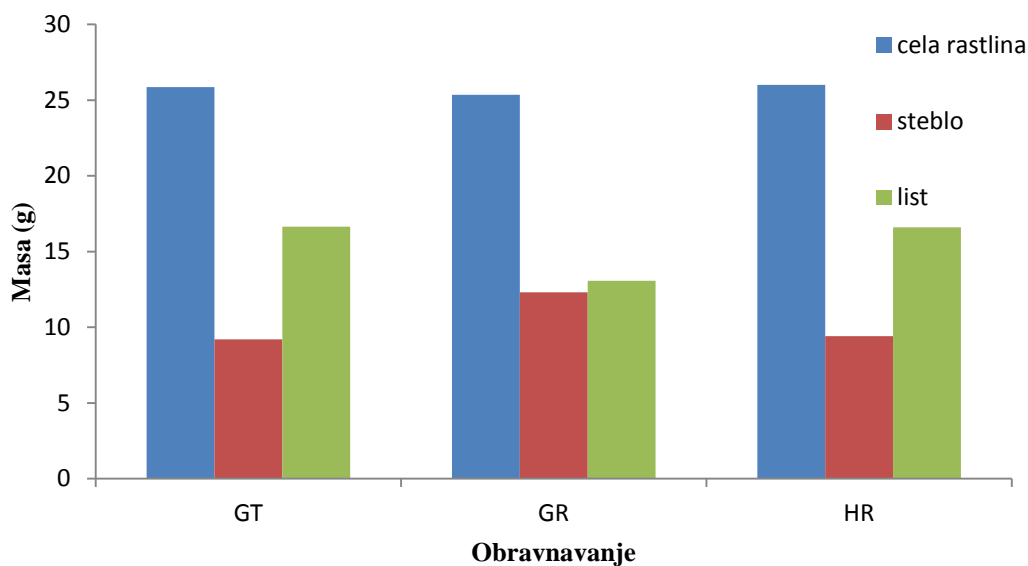
Slika 5: Povprečna masa stebel (večjih/manjših od 1,5 mm) poprove mete pri različnih načinih gojenja, BF 2016

Slika 6 prikazuje mase rastlinskega materiala (po sušenju 100 g svežega pridelka), celotne rastline, mase ločenih stebel in mase ločenih listov glede na celoten sušeni vzorec.

Največji delež celotne biomase rastlin je imel hidroponski sistem z 26,0 g/100 g sveže snovi, zatem je sledila gredica na prostem z 25,8 g/100 g sveže snovi, in gredica v rastlinjaku z 25,4 g/100 g sveže snovi.

Pri masi stebela je v povprečju imela največjo maso gredica v rastlinjaku z 12,3 g/100 g sveže snovi, naslednja je bila hidroponska gredica z 9,4 g/100 g sveže snovi, in nazadnje gredica na prostem z povprečjem 9,2 g/100 g sveže snovi.

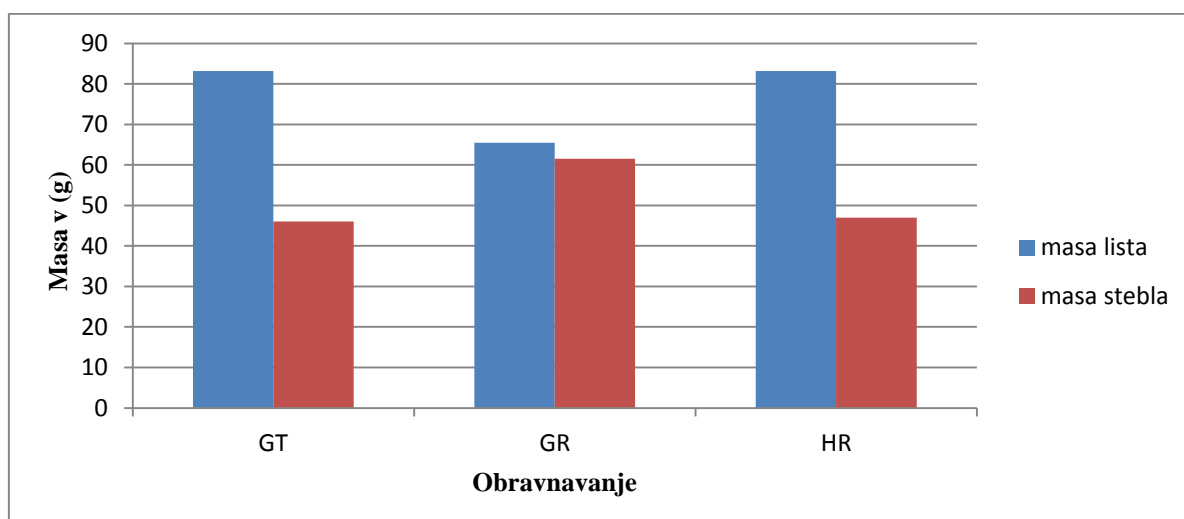
Meritve mase lista so pokazale, da je največ lista glede na preostali del rastline, po sušenju, proizvedla gredica v tleh s 16,6 g listov/100 g sveže snovi, za tem je sledil hidroponski sistem s 16,6 g listov/100 g sveže snovi, kot zadnja pa je bila gredica v rastlinjaku s 13,1 g listov/100 g sveže snovi.



Slika 6: Masa celotne rastline, stebela in listov (g) rastlin poprove mete pri različnih načinih gojenja, BF 2016

4.3 PRIMERJAVA MASE STEBLA IN LISTA V SUŠENEM PRIDELKU

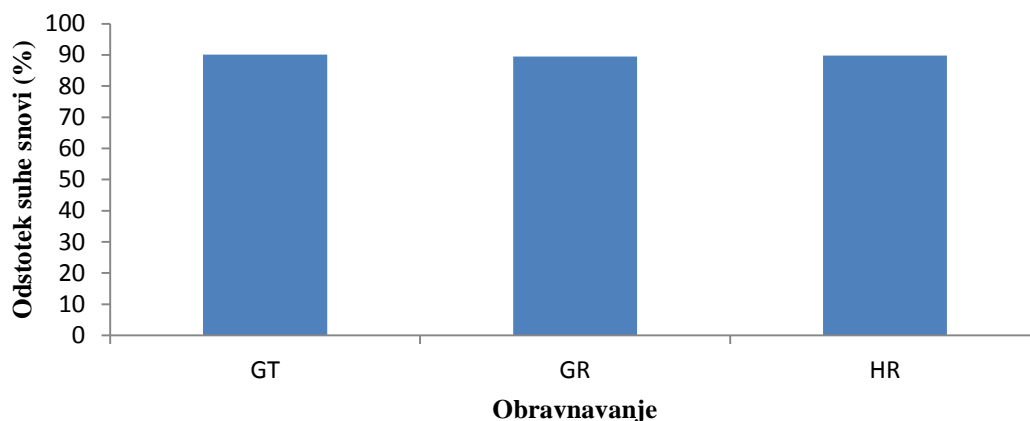
Pri primerjavi mase stebela in mase listov sušenega pridelka smo izmerili naslednje količine. Največjo razliko med maso listov in maso stebela je imela gredica na prostem s povprečjem 46 g stebel in 83,2 g listov na ponovitev. Sledila je hidroponska gredica s povprečjem 47 g stebel in 83,2 g listov in za tem gredica v tleh, ki pa je imela maso stebel 61,5 g in maso listov 65,3 g na ponovitev (slika 7).



Slika 7: Povprečna masa stebela in listov (g) rastlin poprove mete po sušenju pri različnem načinu gojenja, BF 2016

4.4 KOLIČINA CELOTNE SUHE SNOVI V PRIDELKU

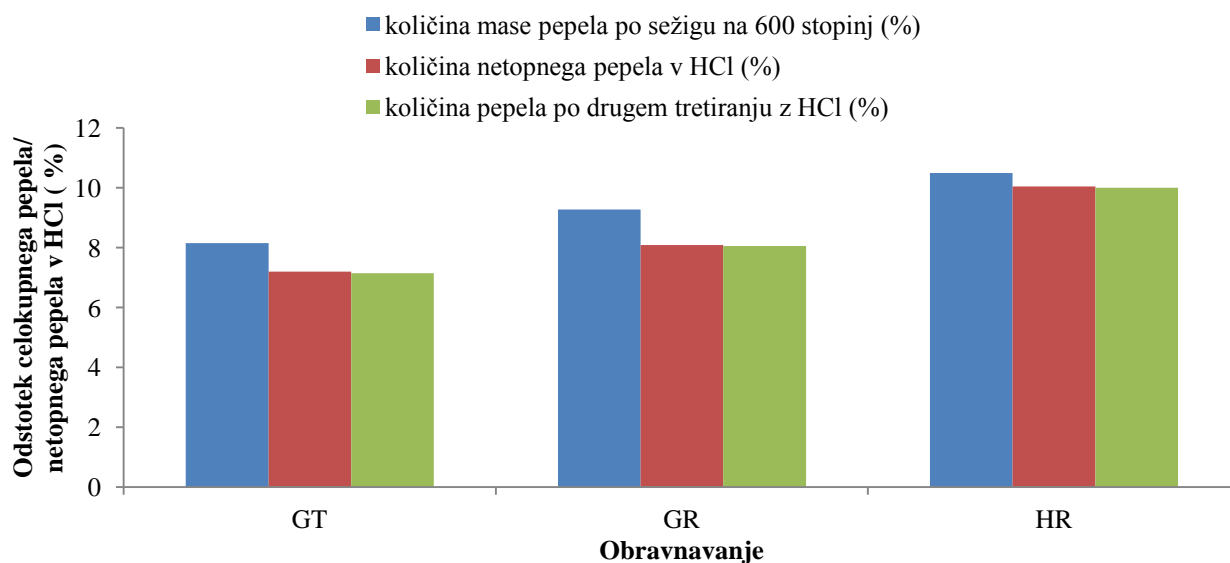
Sušenje suhih vzorcev pri 105 °C (določitev suhe snovi) je pokazalo, da so bile vsebnosti suhe snovi glede na obravnavanja zelo izenačene. Največjo vsebnost suhe snovi v zračno suhih vzorcih so imele rastline, ki smo jih gojili v gredici na prostem (90,05 %), nekoliko manj rastline, ki smo jih gojili v rastlinjaku na hidroponskem sistemu (89,77 %) in malenkost manj tiste, ki so rasle v rastlinjaku v tleh (89,47 %) (slika 8).



Slika 8: Odstotek (%) suhe snovi rastlin poprove mete po sušenju na 105 °C pri različnih načinih gojenja, BF 2016

4.5 KOLIČINA CELOKUPNEGA PEPELA IN PEPELA, NETOPNEGA V HCl

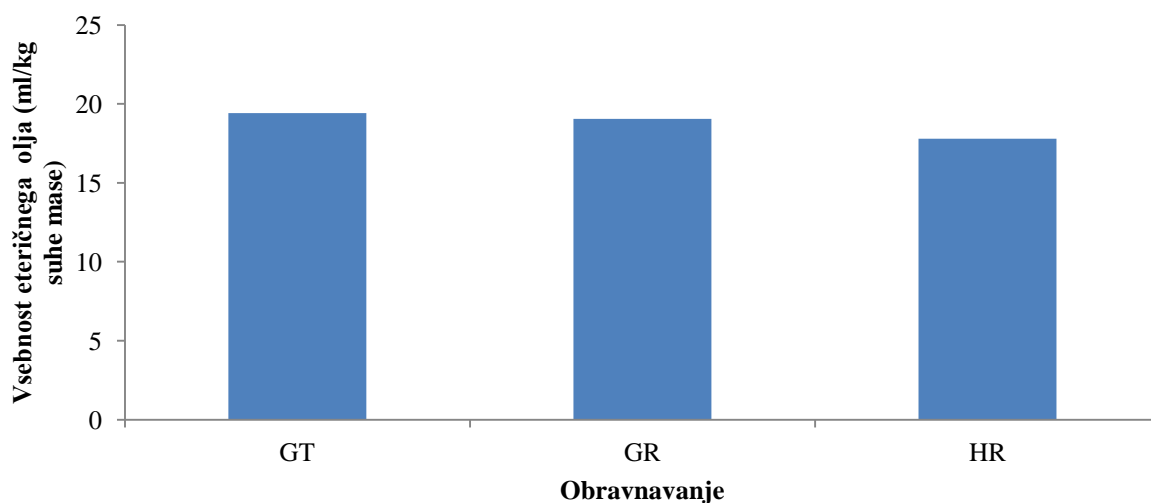
Pri merjenju celokupnega pepela in netopnega pepela v HCl smo ugotovili, da je največ ostanka celokupnega pepela po sežigu na 600 °C v povprečju pri rastlinah, gojenih na hidroponski gredici, in sicer 10,5 % mase vzorca (povprečno 0,20 g pepela po sežigu) pred sežigom, za tem je sledila gredica v tleh z 9,2 % mase vzorca pred sežigom (povprečno 0,18 g pepela po sežigu), in nazadnje gredica na prostem z 8,2 % (povprečje 0,16 g pepela po sežigu). Pri meritvah pepela, netopnega v HCl, smo ugotovili, da ga je imel največ hidroponski sistem z 10,1 % (povprečje 0,19 g na obravnavani vzorec), sledila je gredica v tleh z 8,1 % v HCl netopnega pepela (povprečje 0,16 g na obravnavani vzorec), gredica na prostem pa je imela 7,1 % v HCl netopnega pepela na sušeni vzorec (povprečno 0,14 g na obravnavani vzorec). Naslednja ponovitev tretiranja s HCl ni pokazala večjih razlik od 0,001 g, kar dokazuje točnost meritve (slika 9).



Slika 9: Delež celokupnega pepela/netopnega pepela v HCl v masi rastlin poprove mete pri različnih načinih gojenja, BF 2016

4.6 VSEBNOST ETERIČNEGA OLJA (ml/kg) V RASTLINAH POPROVE METE, GLEDE NA SISTEM GOJENJA

Obnavne ponovitev eteričnega olja so pokazale naslednje rezultate. Največ eteričnega olja je bilo določenega v rastlinah, ki so rasle na gredici na prostem (povprečje ponovitev GT je dalo 0,39 ml/20g suhe droge), sledile so rastline iz talnega pridelovanja v rastlinjaku (povprečje ponovitev GR je dalo 0,38 ml/20g suhe droge), najmanj eteričnega olja so vsebovale rastline, ki smo jih gojili na hidroponskem sistemu (povprečje ponovitev HR je dalo 0,35 ml/20g suhe droge). Gredica na prostem je bila prva z 19,41 ml eteričnega olja na kg suhe snovi, za tem je tesno sledila gredica v rastlinjaku z 19,05 ml eteričnega olja na kg suhe snovi in nazadnje hidroponski sistem s 17,79 ml eteričnega olja na kg suhe snovi.



Slika 10: Vsebnost eteričnega olja v ml/kg suhe snovi v rastlinah poprove mete pri različnih načinih gojenja, BF 2016

4.7 REZULTATI VREDNOTENJA TLC PLOŠČ

Po razvijanju silikagelnih plošč v razvijalni komori ADC (Automatic development chamber) smo prišli do naslednjih izsledkov glede kromatograma. Vsi standardi so bili videti zadovoljivo, vendar je bila detekcija pod 254 nm svetlobe premalo natančna, zato smo nadaljevali z detekcijsko metodo derivatizacijskega reagenta. Na plošče smo naključno nanašali standarde določenih spojin in vzorce vseh ponovitev eteričnega olja, ki smo ga pridobili iz pridelka vseh obravnavanj.

Po tretiranju z anisaldehydним derivatizacijskim reagentom in sušenju na 105 °C, smo dobili jasnejšo sliko, kjer so bili vsi standardi dobro vidni na vsaki od plošč z vzorci. Opazili smo jasne madeže pri vseh nanosih standarda v vseh obravnavanjih plošč, vendar pa se je mentil acetat slabše izrazil.

Prva plošča je prinesla sledeče rezultate:

Mentol je bil prisoten v ponovitvah GT1, GT2, GT3, GT5, GR1, GR2.

1,8-cineol je bil prisoten v ponovitvah GT1, GT2, GT3, GT5, GR1, GR5, GR6, GR7.

Mentil acetat smo opazili v ponovitvah GT1, GT2, GR2, GR5, GR5.

Timol pa smo zasledili samo na dveh ponovitvah, v mešanju z drugo spojino, in sicer v ponovitvah GT2, GR3 in GR5.

Druga plošča nam je pokazala naslednje rezultate:

Mentil acetat smo našli v ponovitvah GR3, GR7, HR6.

1,8- cineol smo zasledili v ponovitvah GR3, GR4, GR7, HR3, HR5, HR6, HR7.

Timol smo opazili v ponovitvah GR3, GR4, GR5, HR6, HR7.

Mentol pa je bil viden v ponovitvah GR2, GR3, GR7, HR3, HR6.

Tretja plošča je dala slednje rezultate:

Mentol je bil najden v ponovitvah HR1, HR2, HR3 in HR6.

1,8-cineol je bil najden v ponovitvah HR1, HR2, HR3, HR4, HR6 in GT1.

Timol je bil najden v ponovitvah HR1, HR2, HR3, HR6 in GT1.

Mentil acetat pa smo našli prav tako v ponovitvah HR1, HR2, HR3 HR6.

Prisotnost spojin v posameznih obravnavaх eteričnega olja:

Mentol: HR1, HR2, HR2, HR3, HR5, HR6, GR1, GR2, GR4, HR3, GT1, GT2, GT3, GT5.

Timol: HR1, HR2, HR2, HR5, HR6, HR6 in GT1, GT2, GR3, GR4, GR5, GR7.

1,8-cineol: GR1, GR3, GR4, GR5, GR7, GR8, GT1, GT2, GT3, HR1, HR2, HR3, HR4, HR5, HR6, HR7.

Mentil acetat: HR1, HR2, HR2, HR6, HR6, GR2, GR3, GR5, GR7, GT1, GT2, GT5.

Preglednica 3: Shematski prikaz pogostosti pojavljanja tipičnih kemičnih spojin v eteričnem olju glede na obravnavanje

Snov	GT	GR	HR
Mentil acetat	++	+++	+++
1,8-cineol	++++	+++++	+++++
Mentol	++++	++++	++++
Timol	++	++++	++++

Razmerje ponavljanja spojin v ponovitvah GT, GR in HR (št. opaženih ponovitev/število vseh ponovitev):

Mentil acetat: GT(2/7) (28,5 %), GR(3/7) (42,8 %), HR(3/7) (42,8 %)

1,8-cineol:GT(4/7) (57,1 %), GR (6/7) (85,7 %), HR(7/7) (100 %)

Mentol GT(4/7) (57,1 %), GR(4/7)(57,1 %), HR(4/7) (57,1 %)

Timol : GT(2/7) (28,5 %), GR(4/7)(57,1 %), HR(4/7) (57,1 %)

Iz slednjih rezultatov testiranja eteričnega olja, lahko razberemo da so obravnave v rastlinjakih dale v več kot polovici ponovitev večje vsebnosti sestavin mentola, timola in 1,8-cineola. Material pridelan na gredicah na prostem je pokazal vsebnost mentola in 1,8-cineola v 57,1 % ponovitev. Vsebnost timola in mentil acetata pa je bila najdena v 28,5 % ponovitev pri gredici v tleh. Vsebnosti mentil acetata so bile najdene v 28,5 % ponovitvah gredic na prostem, v obeh obravnavanjih v rastlinjaku pa se je timol znašel v 42,8 % primerov.

5 RAZPRAVA IN SKLEPI

5.1 RAZPRAVA

Cilj diplomske naloge je bil ugotoviti, ali rastlinska droga poprove mete (*Mentha piperita*), ki jo pridelamo na hidroponskem sistemu kamene volne, dosega kakovostne kriterije, ki jih predpisuje Evropska farmakopeja, za uporabo v zdravilnih pripravkih. V poskus smo vključili vse stopnje procesa, od pridelovanja rastlin poprove mete, žetve, sušenja in ugotavljanja kakovosti rastlinske droge. Primerjali smo gojenje rastlin na hidroponskem sistemu (na ploščah kamene volne) s klasičnim pridelovanjem zdravilnih zelišč v gredici v tleh. Ker sta bili obe gredici postavljeni v rastlinjaku, smo za primerjavo z obema obravnavanima sistemoma, posadili tudi gredico na prostem, ki je služila kot kontrolna skupina, saj se najbolj približa konvencionalni pridelavi poprove mete. Ob prejemu sadik smo rastline ustrezno oskrbovali do pojava prve razrasti listov. Rezultati so pokazali dokaj jasno prevlado vseh lastnosti, ki so ugodne za pridelovalca, pri kontrolni gredici zunaj, ki ni imela urejenega namakanja, vendar je zato bila uporabljena zastirka za preprečevanje izhlapevanja vode in širjenja plevelov. Že meritve mase svežih rastlin so pokazale v povprečju večji pridelek rastlin, gojenih na gredici na prostem (173,57 g/rastlino), nekoliko manjši na gredici v rastlinjaku (v povprečju 122,21 g/rastlino), in na hidroponskem sistemu, kjer smo zabeležili v povprečju 95,05 g sveže mase na rastlino. Sklepamo, da je pomemben dejavnik, ki vpliva na kakovost rastlinske droge, namakanje. Znano je, da na sekundarni metabolizem rastlin neposredno vpliva stopnja sušnega stresa, ki ga rastlina doživlja (Siegler, 1998). V večini izmerjenih parametrov so imele rastline iz gredice na prostem boljše rezultate. Domnevamo, da rastline v rastlinjaku ne dobijo vseh valovnih dolžin sončnega spektra svetlobe kar vpliva na rast, izdolževanje, absorpcijsko sposobnost korenin za hranila, ter seveda na celotno izrabo fotosintetskega aparata, zaslužnega pri tvorbi tako primarnih kot sekundarnih metabolitov (Siegler, 1998; Bajec, 1988). Seveda je tudi nujno omeniti, da so ravno stresne razmere, kot so visoka intenziteta svetlobe, sušni stres, ali stres pogojen z neravnovesjem hranil v tleh, glavni povod za spremenjeno tvorbo metabolnih poti v rastlinah in posledično večjo tvorbo sekundarnih metabolitov (v našem primeru eteričnih olj). Za rastline, ki so redno namakane in nimajo stresnih razmer, ki jih povzroči velika svetlobna intenziteta, suša in drugi dejavniki, ne tvorijo takih količin eteričnih olj ravno iz navedenega razloga (Siegler, 1998). Ravno zato ni presenetljivo, da je imela najmanjšo vsebnost eteričnega olja prav gredica na hidroponiki, ki rastlinam nudi vsakodnevno redno namakanje, kamena volna kot substrat pa ohranja vlago dolgo časa kljub visokim temperaturam (Osvald, 2005). Kljub vsemu pa lahko trdimo, da kvaliteta eteričnega olja dosega kriterije kakovosti za pridelavo v farmacevtski industriji (European Pharmacopoeia 8.0., 2013). Kljub spremenjenim svetlobnim razmeram v rastlinjaku, je gredica v tleh proizvedla primerljivo količino eteričnega olja (ml/kg), kakor gredica na prostem, vendar je razlika v povprečni sveži in suhi masi listov in stebel znatno večja.

Ugotovili smo tudi, da je hidroponska gredica v razmerju suhega stebela in lista, proizvedla primerljive rezultate gredici na prostem. Gredica v rastlinjaku je namreč v povprečju proizvedla slabše razmerje mase stebela in mase lista, kar pomeni, da je manj pridelka primerne za nadaljnjo obdelavo. Za tujo snov smatramo vsa stebela, večjega premera od 1,5 mm (European Pharmacopoeia 8.0, 2013). Prav tako lahko sklepamo, da razmerje stebel in listov vpliva na količino končne rastlinske droge za obdelavo, in po tem takem tudi eteričnega olja na kg suhe snovi. Prav tako večje število stebel otežuje postopek obdelave po pravilu in sušenju, saj je treba predebela stebela ločiti (European Pharmacopoeia 8.0, 2013), ker znižujejo celotno vsebnost eteričnega olja ob destilaciji. Če sodimo pridelek po teh parametrih je gredica v tleh v primerjavi z gredico na prostem in hidroponskim sistemom znatno zaostajala. Iz tega vidika je poskus v hidroponiki dal dobre rezultate, saj ohranja nižje razmerje mase listov in mase stebel v primerjavi z gredico v rastlinjaku, kar olajša sortiranje, končni pridelek pa ima večji delež uporabne snovi, za nadaljnjo predelavo v eterično olje.

Naslednja prednost, ki jo je imel hidroponski sistem v primerjavi z ostalima načinoma pridelave, je dejstvo, da ni prisotnih plevelov ob pravilu, ki otežujejo postopke vzdrževanja med rasto dobo (pletje gredic), spravilo je enostavno, saj so rastline jasno ločene med seboj in ni potrebno paziti na tuje primesi v pridelku. Pri sortiranju smo naleteli na veliko časovno oviro, saj je bila gredica v rastlinjaku zapleveljena (ki smo jih sproti odstranjevali), gredica na prostem pa je ta problem rešila z zastiranjem tal, kar je omogočilo, da so se grmički razrasli in prehiteli okoliške plevela, ter znatno znižali delež plevelov, prisotnih v rastlinski drogi (European Pharmacopoeia 8.0, 2013).

Ob rezultatih količine suhe snovi po sušenju na 105 °C smo ugotovili zelo majhne razlike med posameznimi obravnavanji. Dejstvo, da je hidroponski sistem dosegal enakovredne rezultate obeh gredic, bi lahko pripisali kvalitetni hranilni raztopini, ki je imela visoko elektroprevodnost in na tak način ustvarjala pogoje solnega stresa za tvorbo večje mase suhe snovi (Çoban in Baydar, 2016).

Na podlagi laboratorijskih preizkusov vsebnosti celokupnega pepela in pepela, netopnega v HCl, lahko vidimo, da so imele rastline iz hidroponskega sistema največji odstotek obeh pepelov (celokupnega in netopnega v HCl), kjer je v povprečju ostalo 10,4 % pepela, sledile so rastline iz gredice v tleh v rastlinjaku (8,05 %), najmanjše deleže pa rastline pridelane v tleh na prostem s 7,14 %, kar nakazuje, da so rastline v rastlinjaku nakopičile več mineralov v svojih tkivih, sklepamo kot posledica obilnejšega namakanja in manjše velikine gredic. Lahko bi, za dodatno poglobitev tematike raziskali, dejavnik, ki vpliva na zmanjšanje sposobnosti absorbiranja mineralnih delcev, in njegovo povezavo z delovanjem fotosintetskega aparata v pokritem prostoru (plastenjaku). V HCl netopni pepel je dal podobne rezultate. Hidroponska gredica je imela največ v HCl netopnega pepela z 10,04 % ostanka, za tem gredica v rastlinjaku z 8,08 % netopnega ostanka, in nazadnje gredica v

tleh, kjer je bil delež netopnega pepela najmanjši z 7,19 % ostanka. Sklepamo, da je tudi v HCl netopni ostanek posledica bolj obilnega namakanja in večje dostopnosti mineralnih snovi v substratu, ali tleh (Marschner, 1995).

Za količino eteričnih olj, ki smo jih izmerili, lahko trdimo, da vsa obravnavanja dosegajo kriterije kakovosti rastlin za nadaljnjo uporabo v farmacevtski industriji (European Pharmacopoeia 8.0, 2013). Vsebnost eteričnega olja je bila največja v rastlinah, gojenih na prostem (19,41 ml/kg ss), sledile so rastline iz talnega gojenja v rastlinjaku (19,05 ml/kg ss) in nazadnje rastline iz hidroponskega sistema (17,79 ml/kg ss). Sodeč po tem dejavniku bi bili vsi načini pridelave primerni, vendar bi morali manjše pridelke hidroponike, urediti z nasaditvijo večjega števila rastlin, ali pa celo z gojenjem v vertikalno, za optimizirano količino pridelka, ki ga je zlahka doseči v hidroponskih sistemih (Osvald, 2005). Sklepamo, da bi hranilna raztopina z večjim deležem fosforja lahko prinesla še boljše rezultate kot so ugotovili v navedenem znanstvenem članku (Souza in sod., 2014).

Glede na razvite kromatograme, kjer smo opazovali vsebnosti eteričnega olja v rastlinah iz različnih obravnavanj in prišli do zaključkov, da so vsa obravnavanja pokazala primerne vsebnosti snovi v eteričnem olju, ki jih predvideva standard v evropski farmakopeji (European Pharmacopoeia 8.0, 2013). Prisotnost spojin nakazuje, da bi eterična olja, določena v rastlinah vseh treh obravnavanj ustrezala kromatografskemu profilu, z zanemarljivimi odstopanji. Opazili smo jasne madeže pri vseh nanosih standarda v vseh obravnavanjih plošč, vendar pa se je mentil acetat slabše izrazil, tako da je njegova detekcija zahtevala več podrobnega pregleda. Kromatogram je pokazal majhne vsebnosti mentil acetata v ponovitvah saj v več kot polovici vzorcev vseh obravnav poskusa ni bil prisoten. Obratno lahko trdimo za 1,8-cineol, ki je bil v povprečju prisoten v več kot polovici vzorcev gredice v tleh (57,1 %), in skoraj vseh pri obeh obravnavah v rastlinjaku. Pri hidroponiki v vseh ponovitvah (100 %), in pri gredici v tleh v večini ponovitev (85,7 %). Mentol smo opazili v vseh obravnavah v več kot polovici primerov posameznih ponovitev. V obravnavanjih poskusa se je pojavil v 57,1 % ponovitev. Za timol opazamo, da je bil prisoten bolj znatno v gredici v tleh in hidroponiki, kjer smo njegovo prisotnost prav tako zasledili v 57,1 % primerov ponovitev pridobljenega eteričnega olja. V gredici na prostem pa se je pojavil v 28,5 %. Opazili smo tudi, da je količina vsebnosti naštetih spojin bila v večjem številu pri obravnavah v rastlinjaku. Mehanizem, ki je odgovoren za tovrsten specifičen odgovor sekundarnega metabolizma rastlin, za tvorbo specifičnih kemičnih elementov eteričnih olj bi bilo zelo zanimivo raziskati v prihodnje.

5.2 SKLEPI

V poskusu, ki je bil opravljen z namenom da preučimo kako gojenje poprove mete na različni način vpliva na njene morfološke kot tudi kemične lastnosti, prišli do sledečih sklepov:

- Gojenje rastlin na prostem je še vedno najbolj učinkovit način pridelave zdravilnih zelišč.
- V nasprotju z delovno hipotezo je najboljše rezultate dala gredica na prostem.
- Hidroponski sistem v primerjavi z gredico v rastlinjaku proizvede zadovoljive količine listne mase poprove mete.
- Kot smo pričakovali se je pridelek gojen na hidroponiki po sestavi razlikoval od gredice na prostem, prav tako pa se je tudi razlikoval pridelek gredice na prostem in gredice v rastlinjaku.
- Količina suhe snovi v hidroponskem sistemu je bila primerljiva z obema gredicama v tleh.
- Količina organske snovi po sežigu je najmanjša v rastlinah, ki so rastle v gredici na prostem.
- Količina v HCl netopnega pepela je bila največja v rastlinah, ki smo jih gojili na hidroponski gredici.
- Vsebnost eteričnega olja je v vseh obravnavanjih presegala farmacevtska priporočila za kakovost droge (liti poprove mete naj bi vsebovali vsaj 9 ml/kg suhe snovi eteričnega olja).
- Po pričakovanjih smo največje vsebnosti eteričnega olja našli pri gredicah v tleh, tako na prostem kot v rastlinjaku.
- Vrednotenje kromatografskih (TLC) plošč je pokazalo večjo prisotnost sestavin eteričnega olja poprove mete v gredici v rastlinjaku in hidroponskem sistemu, glede na rastline, gojene na prostem.

6 POVZETEK

Poprova meta (*Mentha piperita* L.) je širom sveta že tisočletja poznana aromatična in zdravilna rastlina, ki se jo uporablja v zdravilstvu, kulinariki, parfumski in prehranski industriji. O njenih zdravilnih učinkih poročajo že ljudska izročila, zdravstvena stroka pa potrjuje določene pozitivne učinke pri blaženju simptomov trebušnih in drugih obolenj.

V diplomskem delu smo primerjali gojenje poprove mete na dveh pridelovalnih sistemih, v tleh in hidroponsko gojenje na ploščah kamene volne. Zanimalo nas je, kako sistem pridelave vpliva na količino in kakovost pridelka, tako po masi kot po vsebnosti eteričnega olja.

Praktični poskus je bil sestavljen iz treh obravnavanj, gojenje v tleh na prostem (GT), gojenje v tleh v rastlinjaku (GR) in hidroponsko gojenje – na ploščah kamene volne (HR). Predhodno smo izenačili število rastlin in jih presadili v lončke in kocke kamene volne. Ukoreninjene rastline smo presadili na gredice oz. kocke kamene volne predstavili na plošče kamene volne. Spremljali in oskrbovali smo jih 70 dni in jih nato poželi in sušili 2 dni v sušilnicah na 40 °C. Iz sušene rastlinske droge smo izvedli preizkuse absolutne količine vode, celokupnega pepela in netopnega pepela v HCl. Prav tako smo iz analiziranih vzorcev pridobili eterično olje prek parne destilacije. Pridobljeno eterično olje smo analizirali z metodo tankoplastne kromatografije, da smo pridobili profile kemičnih spojin, prisotnih v eteričnem olju in opazovali razlike med njimi na razvitih kromatografskih ploščah.

Največji pridelek sveže biomase na rastlino (173,6 g/rastlino) smo dobili pri gojenju na prostem, nekoliko manjši (122,2 g/rastlino) pri gojenju v rastlinjaku v tleh in najmanjši (95,0 g/rastlino) pri hidroponskem gojenju. Ta je bila največja v GT (19,41 ml/kg), za tem v GR (19,05 ml/kg) in nato HR (17,79 ml/kg). Z metodo tankoplastne kromatografije smo določali prisotnost bistvenih spojin eteričnega olja in opazili večje vsebnosti v obeh gredicah v rastlinjaku (GT, HR), za razliko od gredice na prostem (GT).

Ugotovili smo, da so imele največji pridelek biomase in eteričnega olja rastline, ki so rastle na gredici na prostem (GT) (173,6 g sveže mase/rastlino in 19,41 ml/kg), prav tako pa sta zadovoljive rezultate dala preučevana sistema v rastlinjaku (122,2 g sveže mase/rastlino in 19,05 ml/kg) (GR), ter 95,0 g sveže mase/rastlino in 17,79 ml/kg HR). Na osnovi vrednotenja kromatografskih (TLC) plošč smo ugotovili večjo prisotnost sestavin eteričnega olja poprove mete v rastlinah, ki so rastle v gredici v rastlinjaku in hidroponskem sistemu, glede na rastline, gojene na prostem.

7 VIRI

- Bajec V. 1988. Vrtnarjenje pod folijo in steklom. Ljubljana, Kmečki glas: 419 str.
- Baričevič D. 1996. Rastlinske droge in njihovi sekundarni metaboliti – surovina rastlinskih zdravilnih pripravkov. Ljubljana, Univerza v Ljubljani, BF, Oddelek za agronomijo: 81 str.
- Bohinc P., Černelč D., Mesesnel J., Wagner T. 1984. Zdravilne rastline, dober dan!. Ljubljana, Zveza prijateljev mladine Slovenije: 127 str.
- Çoban Ö., Baydar, N. G. 2016. Brassinosteroid effects on some physical and biochemical properties and secondary metabolite accumulation in peppermint (*Mentha piperita* L.) under salt stress. *Industrial Crops and Products*, 86: 251-258
- European Pharmacopoeia 8.th Ed. 2013. Strasbourg, Council of Europe: 2 zv. (1-1456; 1457-3655)
- Farrell K. T. 1985. Spices, condiments and seasonings. New York, Van Nostrand Reinhold Company: 415 str.
- Foster S., Tyler V. E. 1998. Tyler's honest herbal: A sensible guide to the use of herbs and related remedies. New York, Haworth Herbal: 442 str.
- Hoffman D. 1998. Zelišča, Celostno zdravljenje. Ljubljana, Založba mladinska knjiga: 256 str.
- Jakše M. 2008. Hortikultura - gradivo za predavanje pri predmetu osnove hortikulture. Ljubljana, BF, Oddelek za agronomijo: 30 str.
- Jones J. B. 2005. Hydroponics, A practical guide for the soilless grower. 2nd ed. Florida, CRC press: 423 str.
- Keršek E. 2008. Zdravilna rastlinska in sadna žganja, Celostni priročnik o zdravilnih rastlinah, sadju, medu in žganjih. Tržič, Učila international: 301 str.
- Kromar J. 1992. Zdravilne rastline, Tisoč in en izbran recept. Ljubljana, Založba Grad: 289 str.
- Manley H. C. 1993. Flavour measurement. New York, Marcel Dekker inc.: 379 str.
- Marschner H. 1995. Mineral Nutrition of higher plants. 2nd ed. San diego, Academic press: 889 str.

- Martinčič A., Wraber T., Jogan N., Podobnik A., Turk B., Vreš B., Ravnik V., Frajman B., Strgulc-Krajšek S., Trčak B., Bačič T., Fischer M. A., Eler K., Surina B. 2007. Mala flora Slovenije, Ključ za določanje praprotnic in semenk. Ljubljana, Tehniška založba Slovenije: 967 str.
- Osvald J. 2005. Hidroponsko gojenje vrtnin. Ljubljana, Biotehniška fakulteta, Oddelek za agronomijo: 174 str.
- Pahlow M. 1987. Velika knjiga o zdravilnih rastlinah. Ljubljana, Cankarjeva založba: 465 str.
- Resh H. M. 2013. Hydroponic food production, A definitive guidebook for the advanced home gardner and the commercial Hydroponic Grower. 7th ed. Florida, CRC press: 513 str.
- Robbers J. E., Tyler V. E. 2000. Tyler's herbs of choice: The therapeutic use of phytomedicinals. New York, Haworth Herbal: 287 str.
- Rode J. 2001. Zeliščni vrt: domača lekarna. Ljubljana, Kmečki glas: 231 str.
- Siegler D. S. 1998. Plant secondary metabolism. Massachusetts, Kluwer Academic publishers: 759 str.
- Souza M., Araújo O., Brito D., Fernandes M., Castro R., Souza S. 2014. Chemical Composition of the Essential Oil and Nitrogen Metabolism of Menthol Mint under Different Phosphorus Levels. American Journal of Plant Sciences, 5: 2312-2322
- Tabatabaie S. J., Nazari J., Nazemiyeh H., Zehtab S., Azarmi F. 2007. Influence of various electrical conductivity levels on the growth and essential oil content of peppermint (*Mentha piperita* L.) grown in hydroponic. Acta Horticulturae: 747, 197-201
- Valenčič D., Spanring J. 2000. Gojenje zdravilnih rastlin in dišavnic. Portorož, Inštitut za kulturne stike: 173 str.
- Wagner T. 1980. Pridelovanje zdravilnih rastlin. Ljubljana, ČZP Kmečki glas: 169 str.
- Wagner H., Blatt S. 1995. Plant drug analysis, A thin layer chromatography atlas. Berlin, Springer Science and Business Media: 383 str.

ZAHVALA

Zahvala ponavadi zglada v tipičnem slogu, vendar je tu ena redkih možnosti, da se izrazijo misli študenta brez sledenja usidranih protokolov. Diploma je bila zanimiv proces, v katerega sem vključil mnogo posameznikov, tako strokovnjakov na Agronomski fakulteti, njihovih tehničnih sodelavcev in seveda kolegov, s katerimi sem preživel zadnja tri leta življenja.

Zato na posebnem mestu želim poudariti zahvalo skrbni in temeljiti mentorici prof. dr. Nini Kacjan- Maršič, za vse popravke in dodatno delo, ki sem ji ga povzročil. Naslednjič bom povzročil manj sivih las ☺. Rad bi se zahvalil somentorici, prof. dr. Dei Baričevič, ki je pokazala mnogo potrpljenja in me naučila natančnosti in doslednosti pri laboratorijskem delu. Prav tako se zahvaljujem ge. Rozaliji Ilc za vso pomoč in vodstvo pri delu na Katedri za Pedologijo.

Vsi ostali, ki ste kakorkoli pripomogli, tako kolegi kot profesorji, ste z zaključkom te zgodbe pridobili posebno mesto v mojem srcu upam, da tudi jaz v Vašem.

Za konec bi se rad zahvalil prednikom, Janji in Borisu in tistim zaslužnim za njihovo bivanje, podporo in kritiko.

Zadnja vendar prva pa je Lenka... Verjela si, in prišla sva tja ... Hvala Piko!