

Příprava ledových čajů a stanovení jejich nutričních znaků

Bc. Kateřina Kolofíková

Diplomová práce
2020



Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně
Fakulta technologická

Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně

Fakulta technologická
Ústav technologie potravin

Akademický rok: 2019/2020

ZADÁNÍ DIPLOMOVÉ PRÁCE

(projektu, uměleckého díla, uměleckého výkonu)

Jméno a příjmení: Bc. Kateřina Kolofiková
Osobní číslo: T18266
Studijní program: N2901 Chemie a technologie potravin
Studijní obor: Technologie potravin
Forma studia: Prezenční
Téma práce: Příprava ledových čajů a stanovení jejich nutričních znaků

Zásady pro vypracování

I. Teoretická část

1. Stručně charakterizovat technologii výroby čajů, zaměřit se podrobněji na přípravu ledových čajů

II. Experimentální část

1. Připravit ledové čaje pomocí odlišných technologických operací a stanovit u nich vybrané nutriční parametry

Forma zpracování diplomové práce: **Tištěná/elektronická**

Seznam doporučené literatury:

- [1] JIANG, Hao, Feng YU, Li QIN, Na ZHANG, Qiong CAO, Wilfried SCHWAB, Daxiang LI a Chuankui SONG. Dynamic change in amino acids, catechins, alkaloids, and gallic acid in six types of tea processed from the same batch of fresh tea (*Camellia sinensis* L.) leaves. *Journal of Food Composition and Analysis* [online]. 2019, 77, 28-38 [cit. 2019-03-13]. DOI: 10.1016/j.jfca.2019.01.005. ISSN 08891575.
- [2] FENG, Zhihui, Yifan LI, Ming LI, Yijun WANG, Liang ZHANG, Xiaochun WAN a Xiaogen YANG. Tea aroma formation from six model manufacturing processes. *Food Chemistry* [online]. 2019, 285, 347-354 [cit. 2019-03-13]. DOI: 10.1016/j.foodchem.2019.01.174. ISSN 03088146.
- [3] WEISS, David J. a Christopher R. ANDERTON. Determination of catechins in matcha green tea by micellar electrokinetic chromatography. *Journal of Chromatography A*. 2003, (1011), 7.
- [4] ŠILAROVÁ, Petra, Lenka ČESLOVÁ a Milan MELOUN. Fast gradient HPLS/MS separation of phenolics in green tea to monitor their degradation. *Food Chemistry* [online]. 2017, 2017, 10 [cit. 2017-11-30].

Vedoucí diplomové práce: **doc. Ing. Daniela Sumczynski, Ph.D.**
Ústav analýzy a chemie potravin

Datum zadání diplomové práce: **17. února 2020**
Termín odevzdání diplomové práce: **15. května 2020**

L.S.

prof. Ing. Roman Čermák, Ph.D.
děkan

doc. RNDr. Iva Burešová, Ph.D.
ředitel ústavu

Ve Zlíně dne 17. února 2020

PROHLÁŠENÍ AUTORA

DIPLOMOVÉ PRÁCE

Beru na vědomí, že:

- diplomová práce bude uložena v elektronické podobě v univerzitním informačním systému a dostupná k nahlédnutí;
- na moji diplomovou práci se plně vztahuje zákon č. 121/2000 Sb. o právu autorském, o právech souvisejících s právem autorským a o změně některých zákonů (autorský zákon) ve znění pozdějších právních předpisů, zejm. § 35 odst. 3;
- podle § 60 odst. 1 autorského zákona má Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně právo na uzavření licenční smlouvy o užití školního díla v rozsahu § 12 odst. 4 autorského zákona;
- podle § 60 odst. 2 a 3 autorského zákona mohu užít své dílo – diplomovou práci nebo poskytnout licenci k jejímu využití jen s předchozím písemným souhlasem Univerzity Tomáše Bati ve Zlíně, která je oprávněna v takovém případě ode mne požadovat přiměřený příspěvek na úhradu nákladů, které byly Univerzitou Tomáše Bati ve Zlíně na vytvoření díla vynaloženy (až do jejich skutečné výše);
- pokud bylo k vypracování diplomové práce využito softwaru poskytnutého Univerzitou Tomáše Bati ve Zlíně nebo jinými subjekty pouze ke studijním a výzkumným účelům (tj. k nekomerčnímu využití), nelze výsledky diplomové práce využít ke komerčním účelům;
- pokud je výstupem diplomové práce jakýkoliv softwarový produkt, považují se za součást práce rovněž i zdrojové kódy, popř. soubory, ze kterých se projekt skládá. Neodevzdání této součásti může být důvodem k neobhájení práce.

Prohlašuji,

- že jsem na diplomové práci pracoval samostatně a použitou literaturu jsem citoval. V případě publikace výsledků budu uveden jako spoluautor.
- že odevzdaná verze diplomové práce a verze elektronická nahraná do IS/STAG jsou obsahově totožné.

Ve Zlíně dne:

Jméno a příjmení studenta:

.....
podpis studenta

ABSTRAKT

Diplomová práce je zaměřena na přípravu ledových čajů, jejich nutriční parametry v rámci různých postupů jejich přípravy. Teoretická část shrnuje pěstování čajovníků a výrobu matcha čaje. Dále pojednává o nutričním složení čajových listů či čajů. V praktické části byly vyrobeny ledové matcha čaje třemi rozdílnými technologickými postupy. U připravených vzorků byla provedena stravitelnost, obsah minerálních prvků, stanovení obsahu polyfenolů, polyfenolického profilu, kofeinu, theobrominu, theofylinu, theaninu a antioxidační aktivity. Cílem práce bylo zjistit, která z metod přípravy ledových matcha čajů bude pro jeho přípravu nejvhodnější z hlediska obsahu biologicky aktivních látek. Z výsledků experimentální části bylo zjištěno, že pro přípravu ledových matcha čajů by bylo nejlépe využít metodu 3.

Klíčová slova: ledový čaj, matcha, minerální prvky, antioxidační aktivita, kofein, theanin, polyfenoly, HPLC, AAS

ABSTRACT

The thesis is focused on the preparation of ice teas, especially on their nutritional parameters within the various procedures of their preparation. The theoretical part summarizes the cultivation of tea trees and the production of matcha tea. Furthermore, it deals with the nutritional composition of tea leaves or teas. Regarding experimental part, ice matcha teas were made by three different technological procedures. Digestibility, mineral content, determination of polyphenols, polyphenol profile, caffeine, theobromine, theophylline, theanine and antioxidant activity were measured. The aim of this work was to find out which method of preparation of ice matcha tea will be the most suitable for its preparation in terms of the content of biologically active substances. From the results, it was found that method 3 would be the best for the preparation of ice matcha teas.

Keywords: ice tea, matcha, mineral elements, antioxidant activity, caffeine, theanine, polyphenolics, HPLC, AAS

Ráda bych poděkovala vedoucí mé diplomové práce doc. Ing. Daniele Sumczynski, Ph.D. za její velice cenné rady, ochotu, trpělivost a čas, který mi věnovala při sestavování mé diplomové práce. Rovněž děkuji panu doc. Ing. Vratislavovi Bednaříkovi, Ph.D. za odbornou pomoc při měření a zpracování výsledků pro AAS techniku. Dále bych také ráda poděkovala Ing. Tereze Koláčkové za pomoc při práci v laboratořích.

Dále děkuji své rodině, zvláště svým rodičům, za nesmírnou trpělivost, ochotu a podporu během celého studia.

Prohlašuji, že jsem tuto diplomovou práci vypracovala samostatně a že veškeré materiály, které jsem při vypracování práce využila, jsou uvedeny v seznamu použité literatury. Dále prohlašuji, že odevzdaná verze diplomové práce a verze elektronická nahraná do IS/STAG jsou totožné.

OBSAH

| | |
|---|-----------|
| ÚVOD | 9 |
| I TEORETICKÁ ČÁST | 10 |
| 1 ZELENÝ ČAJ | 11 |
| 1.1 ČAJOVNÍK | 12 |
| 1.2 PĚSTOVÁNÍ A SKLIZEŇ ČAJOVÝCH LISTŮ A PUPENŮ | 13 |
| 1.2.1 Zpracování čajových listů a výroba zeleného čaje..... | 15 |
| 1.2.2 Ostatní čaje..... | 17 |
| 1.3 HISTORIE A VÝROBA MATCHA ČAJE..... | 18 |
| 2 NUTRIČNÍ SLOŽENÍ ZELENÝCH ČAJŮ | 21 |
| 2.1 NUTRIČNÍ ZNAKY ZELENÝCH ČAJŮ | 21 |
| 2.1.1 Volné cukry | 21 |
| 2.1.2 Polysacharidy, vláknina a lignin | 21 |
| 2.1.3 Bílkoviny a aminokyseliny | 22 |
| 2.1.4 Lipidy | 22 |
| 2.1.5 Stravitelnost..... | 22 |
| 2.1.6 Polyfenoly | 23 |
| 2.1.6.1 Flavonoidy..... | 23 |
| 2.1.6.2 Polyfenolické kyseliny | 24 |
| 2.1.6.3 Taniny..... | 24 |
| 2.1.7 Organické kyseliny..... | 24 |
| 2.1.8 Alkaloidy..... | 25 |
| 2.1.9 Vitaminy..... | 25 |
| 2.1.10 Minerální prvky..... | 25 |
| 3 PŘÍPRAVA LEDOVÝCH ČAJŮ A JEJICH VYUŽITÍ V GASTRONOMII | 28 |
| 4 CÍL PRÁCE | 30 |
| II PRAKTICKÁ ČÁST | 31 |
| 5 METODIKA | 32 |
| 5.1 POUŽITÉ CHEMIKÁLIE..... | 32 |
| 5.2 POUŽITÉ PŘÍSTROJE A POMŮCKY..... | 33 |
| 5.3 CHARAKTERISTIKA A PŘÍPRAVA VZORKŮ LEDOVÝCH ČAJŮ | 34 |
| 5.3.1 Metody přípravy ledových čajů | 35 |
| 5.4 STANOVENÍ ANTIOXIDAČNÍ AKTIVITY METODOU S DPPH | 35 |
| 5.4.1 Kalibrační křivka pro stanovení antioxidační aktivity metodou s DPPH..... | 36 |
| 5.5 STANOVENÍ ANTIOXIDAČNÍ AKTIVITY METODOU S ABTS | 36 |
| 5.5.1 Kalibrační křivka pro stanovení antioxidační aktivity metodou s ABTS..... | 37 |
| 5.6 STANOVENÍ CELKOVÉHO OBSAHU POLYFENOLŮ FOLIN-CIOCALTEUHO METODOU | 37 |
| 5.6.1 Kalibrační křivka pro stanovení obsahu polyfenolů Folin- Ciocalteuovou metodou | 37 |

| | | |
|----------|--|-----------|
| 5.7 | STANOVENÍ POLYFENOLICKÉHO PROFILU METODOU HPLC-UV | 38 |
| 5.7.1 | Příprava kalibračních křivek polyfenolických standardů pro měření pomocí HPLC-UV | 38 |
| 5.8 | STANOVENÍ KOFEINU, THEANINU, THEOBROMINU A THEOFYLINU POMOCÍ HPLC-UV..... | 39 |
| 5.8.1 | Příprava a měření kalibračních křivek standardů..... | 39 |
| 5.9 | STANOVENÍ MINERÁLNÍCH A STOPOVÝCH PRVKŮ METODOU AAS..... | 40 |
| 5.9.1 | Mineralizace matcha prášku..... | 40 |
| 5.9.2 | Příprava vodného výluhu ledového čaje | 40 |
| 5.9.3 | Správnost měření..... | 41 |
| 5.9.4 | Stanovení kalibračních křivek pro stanovení prvků..... | 41 |
| 5.9.5 | Měření na AAS | 41 |
| 5.10 | STANOVENÍ RTUTI | 42 |
| 5.11 | STANOVENÍ STRAVITELNOSTI..... | 43 |
| 5.12 | STATISTICKÉ VYHODNOCENÍ | 45 |
| 6 | VÝSLEDKY A DISKUZE..... | 46 |
| 6.1 | VÝSLEDKY STANOVENÍ ANTIOXIDAČNÍ AKTIVITY METODOU S DPPH A ABTS..... | 46 |
| 6.2 | VÝSLEDKY STANOVENÍ CELKOVÉHO OBSAHU POLYFENOLŮ..... | 49 |
| 6.3 | VÝSLEDKY STANOVENÍ POLYFENOLICKÉHO PROFILU | 50 |
| 6.4 | VÝSLEDKY STANOVENÍ KONCENTRACÍ KOFEINU, THEOBROMINU, THEOFYLINU A THEANINU..... | 55 |
| 6.5 | VÝSLEDKY MĚŘENÍ OBSAHU MINERÁLNÍCH A STOPOVÝCH PRVKŮ | 59 |
| 6.5.1 | Údaje o referenčním materiálu a výsledná výtěžnost | 59 |
| 6.5.2 | Kalibrace pro měření pomocí AAS..... | 59 |
| 6.5.3 | Výsledky stanovení minerálních a stopových prvků metodou AAS | 59 |
| 6.6 | VÝSLEDKY STANOVENÍ RTUTI NA PŘÍSTROJI AMA..... | 63 |
| 6.7 | VÝSLEDKY STANOVENÍ STRAVITELNOSTI | 64 |
| | ZÁVĚR | 66 |
| | SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY..... | 68 |
| | SEZNAM POUŽITÝCH SYMBOLŮ A ZKRATEK..... | 80 |
| | SEZNAM OBRÁZKŮ | 81 |
| | SEZNAM TABULEK..... | 82 |
| | SEZNAM PŘÍLOH..... | 83 |

ÚVOD

Zelené čaje jsou jeden z nejvíce konzumovaných nealkoholických nápojů. Mají bohatou historii, a to díky svým výborným účinkům na zdraví. Zelený čaj působí příznivě i na různé dermatické poškození pokožky. V dnešní době můžeme najít různé druhy čajů v rozličných formách, od sypaných až po práškové.

Zelené čaje tvoří přibližně 20 % světové produkce čaje. Jedná se o nefermentovaný produkt, bohatý na katechiny – flavonoidy z řad polyfenolů s antioxidační aktivitou. Vysoký antioxidační potenciál zelených čajů je podpořen také vyšším obsahem vitamínu C v něm. Tyto antioxidanty jsou významné pro inhibiční řetězové reakce, a také kvůli odstranění různých volných radikálů v těle člověka. Matcha čaje jsou konzumovány ve formě celých rozemletých listů. Čajové lístky matchy, které se nazývají tencha, jsou několik týdnů zastíněny, než jsou sbírány. Výrobní proces matchy je jedinečný, a to proto, že se listy suší bez válcování a melou v kamenném mlýně [78, 81]. Odlišný způsob zpracování matcha čaje a konzumace může přinést i změny ve složení minerálních prvků oproti jiným běžně konzumovaným čajům. Jistě mohou přinést také i další nutriční benefity. Vzhledem na možný pravidelný příjem tohoto nápoje, je nutno monitorovat obsah a příjem hlavně toxických prvků, mimo např. rezidua pesticidů.

Biologicky aktivní látky v čajích napomáhají k prevenci a snižování civilizačních chorob, např. kardiovaskulárních nemocí. Redukují cholesterol, stabilizují hladinu cukru v krvi a zmírňují vysoký krevní tlak. V posledních několika letech se neustále zvyšuje zájem o zdravou a vyváženou stravu, a to zejména kvůli zvyšujícímu se výskytu civilizačních onemocnění, jako je například obezita. Vzhledem k vyšší konzumaci ledových čajů převážně v letních obdobích, vyvstal i požadavek na přípravu ledového čaje připraveného z matchy v oboru gastronomie. Cílem bylo vybrat neoptimálnější postup přípravy vzhledem k obsahu biologicky aktivních látek.

I. TEORETICKÁ ČÁST

1 ZELENÝ ČAJ

Čaj je nejoblíbenějším a nejvíce konzumovaným nápojem po celém světě. Mezi nejznámější oblasti pěstování čaje můžeme zařadit Čínu, Japonsko, Indii, Srí Lanku, Vietnam, Indonésii, Turecko, Rusko a Nepál. Z pohledu legislativy se čaje dělí do tří skupin na: čaje pravé, bylinné a ovocné. Dle vyhlášky č. 330/1997 Sb. v aktuálním znění je pravý čaj definovaný jako čaj vyrobený z výhonků, listů, pupenů, nebo jemných částí zdřevnatělých stonků čajovníku *Camellia sinensis* (L.) O. Kunze [9, 12, 16].

Zeleným čajem se rozumí pravý čaj, ve kterém neproběhla fermentace, polofermentovaným čajem (oolongem) chápeme čaj pravý, ve kterém proběhla částečná fermentace a plně fermentovaným čajem je čaj černý. Podle způsobu fermentace se pravé čaje rozdělují na: nefermentované – zelené a bílé čaje, částečně fermentované – oolong a červené čaje, zcela fermentované – černé čaje [1, 12].

Všechny druhy pravých čajů, především zelených, které obsahují velké množství přírodních antioxidantů (flavonoidy, theaflaviny), mají mnoho prospěšných účinků na lidské zdraví. Matcha čaje jsou zelené čaje, které jsou konzumovány ve formě celých rozemletých listů, což přináší celou řadu benefitů. Pomáhají při boji proti rakovině, snižují hladinu lipoproteinů LDL, působí proti volným radikálům, a také slouží k prevenci v boji proti srdečně-cévním onemocněním [2, 18].

Matcha čaj (zelený prášek) je japonský tradiční zelený čaj, který se vyrábí ze speciálně pěstovaných výhonků čajovníku, které se při růstu zastíňují, poté se suší a rozemelou na jemný prášek. V Japonsku se každý rok prodá zhruba 2 550 t matchy, což odpovídá asi 85 až 90 % celkové každoroční produkce. U většiny čajů se na výrobu 1 kg čaje spotřebují 4 kg zelených lístků, zatímco na výrobu 1 kg mleté matchy se spotřebuje více než 6 kg čerstvých zelených lístků [7].



Obr. 1: Zelený čaj matcha [69]

1.1 Čajovník

Čaj matcha pochází z rostliny čajovníku čínského – *Camellia sinensis*. Z botanického hlediska se rozlišují dvě odrůdy čajovníku: *Camellia sinensis* var. *sinensis* (čajovník čínský) a *Camellia sinensis* var. *assamica* (čajovník assamský). Rozmanitost chutí čaje je dána jeho zeměpisnou oblastí, půdou, nadmořskou výškou a také typem podnebí [1, 23, 82].

Camellia sinensis, patřící do čeledi *Theaceae*, je zelený strom, případně keř, který dorůstá do výšky 10 – 15 m ve volné přírodě a 0,6 – 1,5 m při pěstování. Listy jsou světle zelené, krátké, střídavé, kopinaté, s vroubkovanými okraji s délkou od 5 do 30 cm a šířkou přibližně 4 cm. Zralé listy jsou zářivě zelené, hladké a kožovité. Květy jsou bílé, s charakteristickou vůní, průměrně mají 2,5 až 4,0 cm a šest až osm okvětních lístků. Květy nesou tyčinky se žlutým prašníkem a produkují nahnědlé červené tobolky. Plod je ve tvaru zploštěné, hladké, zaoblené kapsule. Semeno se nachází samostatně v každé kapsuli zvlášť a má velikost malého ořechu. Mladé lístky mají krátké bílé chloupky na spodní straně a mladé větve jsou šedo-žluté a hladké. Větve jsou v průběhu roku purpurově červené [22, 23].



Obr. 2: Čajové lístky [70]

Čajovník se pěstuje ze semen. Od třetího roku se začíná s tvarováním keře do žádaného tvaru a optimální výšky 70 – 100 cm. Pravidelným otháváním je keř nucen tvořit nové a nové lístky [2].

Varieta *sinensis* má keřovitý vzrůst s malými listy dlouhými od 5 do 12 cm, dobře snáší chlad ve vysokých nadmořských výškách. Listy variety *assamica* mohou měřit až 20 cm, mají stromovitý vzrůst a vyžadují teplé podnebí. Čajovníky se pěstují v tropických a subtropických oblastech v nadmořské výšce od 600 do 2800 m. Ideální podmínky pro růst mají čajovníky pěstované při teplotě od 18 do 28 °C a dostatečném slunečním svitu [2, 5].

Čajovníkové listy pocházející z vyšších nadmořských výšek dávají výraznější a kvalitnější nálev. Výslednou chuť a kvalitu čaje ovlivňuje mnoho důležitých faktorů, jako třeba podnebí, půda, nadmořská výška, prostředí, v němž se sklízí a zpracovává, mísení, balení, doprava a skladování [14, 22, 23, 82].

Ročně se vyprodukuje zhruba dva a půl milionů tun sušeného čaje. Z toho připadá 20 % na čaj zelený, asi 2 % na oolong a 78 % na čaj černý. Zelené, černé a oolong čaje se připravují ze stejného rostlinného druhu neboli čajovníku čínského [9].



Obr. 3: Čajovník čínský (*Camellia sinensis*) [71]

1.2 Pěstování a sklizeň čajových listů a pupenů

První čajová plantáž na světě se nacházela u největšího jezera Biwa-ko v Japonsku. V oblasti Shizuoka, která se nachází na úpatí hory Fuji, má původ téměř polovina veškeré japonské čajové produkce. Dnešnímu světovému trhu poskytuje velice ceněný japonský zelený čaj Gyokuro a nejlepší druhy Senchy. V Japonsku se produkuje prakticky jen zelený čaj [1, 7].

Pro vysazování a sběr se volí čajovníky s vysokou produkcí listů a dobrou odolností. Čajovník se může rozmnožovat několika způsoby. Dříve se vysévala semena nebo vysazovaly odnože, dnes se dává spíše přednost vysazování sazenic získaných řízkováním. Po roce se provádí první řez, aby se keř rozrůstal do šířky. Keře se nechají jeden rok v klidu bez sklizně dorůst do výšky výhonků asi 1 m. Poté se roztřídí a jednotlivě se zasadí do půdy, až zapustí kořeny a dosáhnou výšky asi 60 cm. Potom se přesadí do země, do hustých stejnoměrných řádků. Při vysazování čajovníku je nezbytné také vysazování stromů, neboť jej chrání před nadměrným slunečním zářením i větrem [6, 10]. Tři roky se rostliny opětovně seřezávají. Až získají rostliny svůj konečný tvar, mohou se z nich poprvé sklízet čajové lístky. Po 4 – 5 letech poskytnou keře čajovníku svou první sklizeň a v závislosti na poloze a klimatických podmínkách se čaj sklízí buď v průběhu celého roku, nebo se sklizeň řídí vegetačním cyklem rostliny. Cyklus zahrnuje 8 – 9 nejteplejších měsíců v roce, během kterých lze každých 10 – 14 dní sklízet nové listy a poupata [5, 6, 15].



Obr. 4: Sběr čajových lístků na plantáži [72]

Zelené čaje vybrané jakosti se sklízí ručně a dále se zpracovávají. Při ručním sběru se sklízí mladé výhonky v podobě dvou lístků a jednoho pupenu. V mnoha čajových plantážích se provádí sklizeň za pomoci strojů. Ruční sběr a strojová sklizeň se na mnoha čajových plantážích v Japonsku kombinují tak, že se první jarní úroda, velmi vysoce kvalitní sklizeň, sbírá ručně a pozdější sklizeň se provádějí strojově. Denně se sesbírá okolo 30 – 35 kg čerstvého čaje. Z tohoto množství se získá zhruba 7 – 9 kg sušeného čaje [4].

První sklizeň se vyznačuje svou aromaticností, téměř výhradně se provádí ručním sběrem. Existují také čaje nazývané „highgrown“, které rostou ve vyšších polohách a jejich doba růstu je delší, což podporuje bohaté aroma [6, 8].

1.2.1 Zpracování čajových listů a výroba zeleného čaje

Zpracování čaje je jedním z nejdůležitějších faktorů ovlivňující rozvoj aroma sloučenin, snižuje hořkost, inaktivuje enzymy, snižuje obsah vlhkosti a transformuje čajové listy do šesti různých barevných odstínů používaných na klasifikaci čaje. První kroky při zpracování zeleného čaje jsou rozložení listů čaje po sběru, fixování, rolování, formování a sušení. Čerstvě otrhané lístky se nechávají zavadnout na železné pánvi nad ohněm. Enzymy, které jsou obsažené v rostlinných buňkách, se podrobují denaturaci, aby nedošlo k fermentaci. Po sběru jsou čajové listy zpracovány tak, aby zabránily degradaci biochemických látek a znehodnocení [5, 6, 24].

Existuje mnoho druhů čaje, které podle způsobu zpracování čajových lístků můžeme rozdělit do následujících skupin: zelený, černý, bílý a oolong. Čaje mohou být rozděleny také podle jejich původu, způsobu výroby a velikosti listů [5, 8].

- Podle původu se mohou dělit na: čínské, indické, ceylonské, japonské a další.
- Podle způsobu výroby na: bílé, zelené, žluté, oolong, černé a červené.
- Podle velikosti listu na: celolistové (Whole leaf), zlomkové (Broken), drť, práškovité (Fannings, Dust).
- Typu CTC – Crushing (drcení), Tearing (trhání), Curling (rolování) [8, 11].

Výroba zeleného čaje zahrnuje sběr čajových lístků, fixování, rolování, formování a sušení. Po sběru jsou čajové listy rozloženy na bambusové rohože nebo jiné povrchy, na jednu až tři hodiny. V průběhu tohoto procesu se listy postupně obracejí a dochází k uvolnění trávnatého zápachu, který je charakteristický pro čerstvé čajové lístky a částečně se snižuje vlhkost. Velikost plochy a doba trvání rolování listů se liší od různých druhů čajů. V tisícileté čajové historii se na sesbírané listy aplikovaly tyto metody: sušení na slunci, vaření a sušení teplem, pražení v kulatých kovových pánvích na ohni a napařování [4, 24].

Čerstvé čajové listy jsou vystaveny působení tepla přibližně 10 – 15 minut v procesu známém jako fixování. Tento proces inaktivuje enzymy ve výhoncích listů, aby se

zabránilo oxidaci a fermentaci a zároveň pro zachování zelené barvy. Čajové výhonky obsahují enzymy, které jsou zodpovědné za metabolické a biochemické dráhy, způsobující růst čajovníků. Enzymy v těchto rostlinách jsou polyfenoloxidázy, katalázy, peroxidázy a askorbát oxidázy. Během procesu fixování se sníží obsah vody v listech až o 40 %. Metody fixace zeleného čaje se skládají z pražení a paření [25, 26, 27, 80].

Zelený čaj se vyrábí pařením listů, aby se inaktivovaly enzymy, které by mohly způsobovat fermentaci listů. Aroma, které je specifické pro pražený čaj, vzniká, když se listy praží při teplotě mezi 100 – 120 °C. Hořká a svíravá chuť v čajových listech nižší kvality se odstraňuje pražením při teplotě 200 °C, dochází k rozkladu polyfenolů na pyrolové a pyrazinové typy aromatických složek [28, 29].

Pražení na pánvi spočívá v sušení listů přímo na suché pánvi, která je vystavená vysokému zdroji tepla. Rozvívěla se v Číně a je hlavní cestou zpracovávání zeleného čaje. Zpracování pomocí páry se vykonává umístěním listů nad perforované pařáky, které uvolňují páru spod ohřívané vody. Tato metoda se uplatňuje v Japonsku. Při tomto procesu se zachovávají barvy, vyšší obsah polyfenolů a antioxidantů než při pražení. Rychlé, rovnoměrné a vysokoteplotní sušení je důležité pro vysoko kvalitní čaje. Teploty sušení se pohybují v rozmezí od 100 – 200 °C pro tradiční zpracování a 220 – 330 °C pro strojové zpracování čaje. Nízké teploty mohou způsobovat zčervenání listů a naopak nadměrně vysoké teploty spálení a vysušení listů, což vede k jejich zažloutnutí až zhnědnutí. Nevhodně zvolená teplota znemožňuje další zpracování jako například válcování, které by mohlo listy úplně znehodnotit [24].

Po ohřívání se listy válcují, aby se narušila struktura buněčné stěny, uvolnila se vlhkost listu a tvaroval se finální výrobek. Listy jsou svinuté ručně, anebo mechanickým válcem a hlavním cílem tohoto procesu je zvýraznění chuti čaje. Doba válcování se pohybuje v rozmezí několika minut až hodin. Mladé listy se válcují pod menším tlakem a v kratším trvání jako listy starší, aby se zabránilo žloutnutí, které je výsledkem hydrolýzy chlorofylu a autooxidace polyfenolů. Válcované čajové lístky jsou následně tvarované do různých forem. Válcované listy se nakonec suší působením ohně. Celý proces válcování a sušení se několikrát opakuje, až dokud nejsou listy úplně suché. Proces výroby zeleného čaje je velmi náročný, protože změna času sušení, případně válcování může vést k fermentaci listů, která má negativní dopad na chuť čaje. V závislosti od metody, sušení trvá od 20 minut až několik hodin. Sušení na pánvi vytváří čajový produkt s pevnějším tvarem,

který udržuje většinu aroma v porovnání s čajem, který se suší na vzduchu, nebo na slunečním světle [24, 28].



Obr. 5: Zelený čaj [73]

1.2.2 Ostatní čaje

I přesto, že černý čaj prospívá zdraví méně než čaj zelený, je zatím ve světě nejoblíbenějším druhem. Tvoří zhruba 80 % veškerého zpracovaného čaje. Černý čaj má výraznější vůni, chuť a je tmavší. Zpracování natrhaných listů na černý čaj zahrnuje čtyři pracovní kroky: zavadnutí, svinování, fermentaci a sušení [2, 5]. Lístky černého čaje se zpracovávají déle, součástí jeho zpracování je i autooxidace, která zapříčiňuje tmavě hnědou až načervenalou barvu lístků. Černý čaj vzniká tepelnou fermentací zavadlého a nasekaného popř. svinutého čajového lístku. Při svinování vychází látky obsažené uvnitř na povrch listu. Z chemického hlediska se jedná o částečnou fermentaci a zároveň proběhne i oxidace [2, 4]. Z prvotních, ve vodě rozpustných vstřebatelných polyfenolů vznikají nevstřebatelné a ve vodě nerozpustné sloučeniny, např. rubigeny, obsah kofeinu se při fermentaci a oxidaci mění jen velmi málo. Při fermentaci dochází ke snížení obsahu vitaminů (hlavně vitaminu C) a minerálních prvků [4, 6].



Obr. 6: Černý čaj [74]

Čaje oolong jsou polofermentované a mohou se lišit stupněm fermentace. Oolong je zčásti zoxidovaný, tudíž má výraznější chuť než čaj zelený. Z hlediska částečné oxidace obsahuje méně polyfenolů. Oolong je charakteristický svým jemným aroma [5, 6]. Natrhané listy se rozloží na velké kusy látky a vystaví se na slunci, a tím začne mírná fermentace. U některých oolongů se kvůli fermentaci listy protřásají v bambusových koších, aby se narušily okraje a mohla z nich unikat šťáva. Ve chvíli, kdy okraje listů začnou červenat, se ukončí fermentace sušením (zhruba 45 min při 70 °C). Horké listy se zabalí do kusů bavlněné látky a zabalené listy se zhruba 20 min hnětou a válcují. Poté se znovu suší. Tento postup se u některých čajů opakuje až desetkrát. Na konci zpracování jsou listy pevné a svinuté. Rozlišují se celkem čtyři typy čaje oolong: Pouchong, Zhen Cha, So Cha a Kao-Shan-Cha [3, 5].



Obr. 7: Oolong čaj [75]

1.3 Historie a výroba matcha čaje

Čaj se na japonské ostrovy rozšířil v 8. století n. l. zásluhou buddhistických mnichů, pocházejících z Číny. Matchu přivezl do Japonska japonský mnich Mjóan Eisai, který v 80. letech 12. století cestoval po Číně a objevil zelený čaj z mletých lístků. V roce 1191 se vrátil do Japonska i s několika semínky čajovníku a začal popularizovat pití matchy [1, 7].



Obr. 8: Matcha čaj [19]

Tajemství matchy spočívá v umletí zelených čajových lístků, a také ve složitém pěstitelském a výrobním procesu, kterým matcha prochází. Na začátku jara začínají na keřích rašit pupeny a v této fázi jsou čajovníková pole téměř zastíněná. Proces zastínování je pro čajovník velice stresující. Keře nejsou schopny fotosyntézy, a tudíž se vytvoří větší množství L-theaninu a zabrání se vzniku tříslovin, které způsobují trpkou chuť čaje.

Existují dva různé způsoby zastínění: tana a džikagise. Tana se používá na velkých, prvotřídních plantážích. Přes konstrukci jsou přehozeny sítě, které propustí jen 10 % světla, ale přitom umožní, aby k čajovníkům pronikl déšť a vlhkost. Džikagise používají drobní pěstitelé. Přes čajovníky rozprostřou velký kus látky, který rostliny zastíní [7, 8, 9].

Sklizeň čajových lístků na plantážích začíná 88. den od začátku léta. Lístky se při vysoké teplotě rychle napaří, tím se zastaví fermentační či oxidační proces a zůstává zachována zelená barva. Napařování trvá asi 20 sekund, potom se lístky usuší, aby se snížil obsah vlhkosti, a v této fázi jsou označovány jako arača. Arača znamená v japonštině „hrubý čaj“, který se následně zpracovává. Odstraní se stonky a lístky se prosejí, protřídí a v separátoru barev se odstraní všechny lístky, které nejsou naprosto jasně zelené.

Čaj tenča vybrané jakostní třídy se umele na dokonale jemný zelený prášek. V prostředí, kde proces mletí čaje probíhá, je udržována nízká a stabilní teplota a velmi nízká vlhkost. Proces probíhá ve tmě, aby lístky zůstaly jasně zelené a čerstvé. Umleté lístky jdou následně do balírny, kde se matcha při tlumeném světle přesype do obalu, který zabrání přístupu světla a vzduchu (sáčky se často vakuově uzavírají) a matcha tím zůstane déle čerstvá [7, 8].

Většina producentů vyrábí dva druhy prémiových čajů matcha, které se využívají při japonských čajových obřadech. Tyto čaje, nazývané usacha a koicha se liší intenzitou chuti a způsobem podávání. Koicha se vyrábí z listů starších čajových keřů a ve výsledku je dražší. Šálek čaje koicha má silnější chuť a hustější texturu. Při přípravě se používá menší množství vody a naopak větší množství čaje, nakonec se připravená směs hněte pomocí speciálních šlehačů na finální podobu [30].

2 NUTRIČNÍ SLOŽENÍ ZELENÝCH ČAJŮ

Listy čajovníku čínského obsahují určité množství chemických látek jako např. aminokyseliny, minerální prvky, kofein a polyfenoly, zejména flavonoidy. Ze 75 až 80 % je tvoří voda, jejíž obsah během zavádání – první fáze výrobního procesu – klesne na 60 až 70 % [15, 81]. Jedny z nejdůležitějších polyfenolů čajových listů jsou katechiny. Mezi ně řadíme katechin (C), epikatechin (EC), epikatechin gallát (ECG), epigallokatechin (EGC) a epigallokatechin-3-gallát (EGCG). Bylo prokázáno, že neúčinnější a nejvýznamnější z katechinů je EGCG, který je velmi silným antioxidantem. Matcha obsahuje vysoké koncentrace polyfenolů, volných aminokyselin, zejména L-theaninu a kofeinu. Obecně je matcha charakterizována spíše mírně svíravou a silnou chutí umami. Výrazná chuť zeleného čaje je způsobena volnými aminokyselinami (zejména L-theaninem a kyselinou glutamovou). Jsou důležitou složkou zelených čajů a podílí se na vytváření aroma a chuti čaje [1, 16, 31].

2.1 Nutriční znaky zelených čajů

2.1.1 Volné cukry

Pití zeleného čaje je spojeno se snížením hladiny glukózy v krvi. Čajový list obsahuje jednoduché sacharidy, které jsou produkty štěpení polysacharidů a pektinů. Jednoduché sacharidy mohou pak dále reagovat s volnými aminokyselinami při zpracování čaje a odpovídají za výsledné aroma čaje. V listech čaje se nachází cukry v nízkém množství, a to do 1,41 % v sušině čaje. Jsou to zejména fruktóza, glukóza a sacharóza [33, 50, 67].

2.1.2 Polysacharidy, vláknina a lignin

V čajové rostlině se nachází několik typů polysacharidů, přičemž škrob tvoří pouze 0,82 – 2,96 % hmotnosti čaje. Ze složitějších polysacharidů nacházejících se v čajovém listu jsou zastoupeny celulóza, hemicelulózy a polyfenolická látka lignin, která je doprovází [32, 51]. Vláknina čajových listů je zpravidla tvořena komplexními sacharidy, které lze označit jako neškrobové polysacharidy a patří sem celulóza, hemicelulózy, pektin a zmiňovaný polyfenol lignin. Dozráváním rostliny se zvyšuje obsah ligninu a celulózy, což odpovídá jejich úloze při poskytování struktury rostoucí rostliny. Pektiny jsou taktéž přítomné v listech, vyskytují se ve vyšším množství a tvoří až 6,1 % hmotnosti čaje.

Čajový výtěžek obsahuje přibližně 4 % ostatních polysacharidů a 0,15 % pektinu [32, 33, 50].

2.1.3 Bílkoviny a aminokyseliny

Čajový nápoj obsahuje přibližně 17 % dusíkatých látek ve formě proteinů, aminokyselin, nukleových kyselin a L-theaninu. Z proteinů obsažených v čaji jsou důležité enzymy, které jsou odpovědné za proces fermentace. Řadíme zde polyfenoloxidázy, peroxidázy a aminooxidázy [51].

Aminokyseliny vyskytující se v čaji jsou hlavně leucin, izoleucin, serin, kyselina glutamová, asparagová, glutamin, treonin a fenylalanin. Koncentrace aminokyselin v čaji se mění v průběhu zpracování čajového listu. L-theanin je jednou z nejdůležitějších volných aminokyselin v zeleném a černém čaji. Obsah theaninu ve 100 g čaje je 1,5 – 3,0 % a dodává čaji sladkou chuť [31, 52].

2.1.4 Lipidy

Zastoupení lipidové frakce v čajovém listu tvoří hlavně triacylglyceroly (tuky a oleje), terpenoidy, spinasteroly a vosky. Množství lipidů v zelených čajích se pohybuje přibližně do 5 %. Pro jejich nízkou rozpustnost ve vodě je jejich množství v čajovém výtěžku zanedbatelné [32, 53].

2.1.5 Stravitelnost

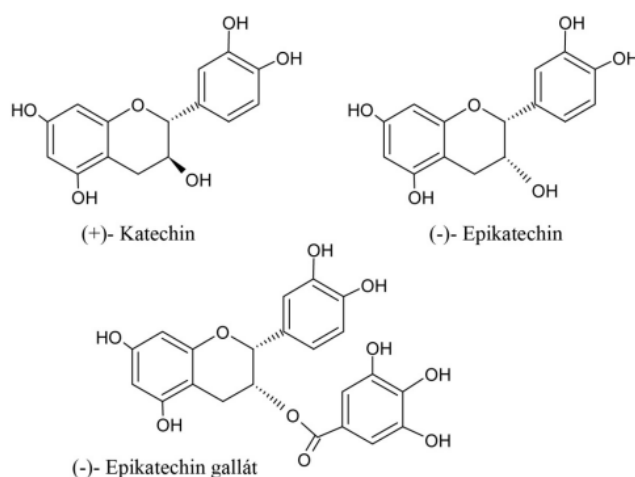
Nutriční hodnota každé potraviny zahrnuje stanovení nutričních faktorů, ale také je nutné zjistit využitelnost lidským organismem neboli stravitelnost. Stravitelnost je dána množstvím živin, které byly absorbovány zažívacím ústrojím. Zjištění stravitelnosti zahrnuje metody *in vivo* a *in vitro*. Metoda *in vivo* se provádí na pokusných objektech, kde je stanoveno množství spotřebovaného dusíku ve vztahu k přijatému a vyloučenému dusíku organismem. Metoda *in vitro* je založena na simulování podmínek *in vivo* v laboratorních podmínkách. Zde se stanovuje množství dusíku před a po působení proteolytických enzymů [34]. Mezi látky, které snižují stravitelnost, patří některé součásti vlákniny, třísloviny a fenolické látky běžně se vyskytující v ovoci a zelenině [35]. Vysoký obsah vlákniny ve stravě může způsobit nedostatečnou využitelnost stopových prvků, stejně jako kyselina fytová nebo taninová [36].

2.1.6 Polyfenoly

Polyfenoly můžeme najít v pravém čaji, ovoci, zelenině a mnoha bylinných čajích. Zastoupení polyfenolů v pravých čajích je ovlivněno procesem fermentace. Mezi hlavní polyfenoly čaje patří flavonoidy (převážně z nich pak katechiny). Polyfenoly mají pozitivní účinek na chuť a barvu čaje a přítomnost v čaji lze rozeznat podle trpké a hořké chuti v ústech, kterou vyvolávají. Chuť zeleného čaje je trpčí, což způsobují neoxidované polyfenoly. Většina polyfenolů nacházejících se v čaji jsou již zmiňované katechiny, které obvykle tvoří 30 – 42 % suché hmotnosti [3, 50, 54, 55].

2.1.6.1 Flavonoidy

Flavonoidy jsou podskupinou polyfenolů, které v zeleném čaji z této skupiny převládají. Flavonoidy jsou rostlinné sekundární metabolity, které se skládají z fenylobenzopyranu a zastoupení mají vyšší v pupenech než starších listech [37].



Obr. 9: Katechiny v zeleném čaji [16]

Tab. 1: Zastoupení katechinů zeleného čaje [1]

| Katechiny | Množství (%) |
|-----------------------------|--------------|
| (+)-Gallokatechin | 1,4 |
| (-)-Epigallokatechin | 17,6 |
| (-)-Epikatechin | 5,81 |
| (-)-Epigallokatechin gallát | 53,9 |
| (-)-Epikatechin gallát | 12,5 |
| Celkem | 91,2 |

Z flavonoidů jsou v čerstvých zelených listech zastoupeny hlavně katechiny. Tyto jsou ve vodě rozpustnými antioxidanty, které se snadno oxidují. Katechiny dávají zelenému čaji hořkou a trpkou chuť a mohou představovat více jako 30 % rozpuštěných pevných látek v roztocích a extraktech zeleného čaje. Poměr katechinů je důležitý nejen pro výslednou kvalitu čaje, ale taktéž pro zvýšenou efektivitu v prevenci proti rakovině. Obsah flavonoidů v čaji činí 10 – 25 mg.l⁻¹ [37, 55, 56]. Když se listy čaje v průběhu výroby zpracovávají, katechiny přicházejí do kontaktu s polyfenoloxidázami, což vede k jejich oxidaci a tvorbě dimerů a polymerů flavanolu, známých jako theaflaviny a thearubiginy. Ve výsledku, obsah katechinů dostupných z čaje matcha se očekává na jiné úrovni jako z klasického zeleného čaje, kde sluneční záření ovlivňuje množství a koncentraci katechinů v listech rostliny. Obsah katechinů v listech čaje se zvyšuje, čím je víc rostlina vystavována slunečnímu záření [16, 38, 39].

2.1.6.2 Polyfenolické kyseliny

Polyfenolické kyseliny jsou aromatické sekundární metabolity rostlin, nacházející se v širokém rozmezí v různých potravinách. Mají významné antioxidační vlastnosti a zdravotní benefity. Podle chemické struktury jsou polyfenolové kyseliny odvozené od kyselin benzoové a skořicové. Do třídy polyfenolických kyselin zahrnujeme kyselinu gallovou, kumarovou, deriváty kyselin chinové a kávové. Obsah polyfenolických kyselin v zelených čajích činí cca okolo 165 mg GAE.g⁻¹ (dle podmínek extrakce) [16, 40, 48, 57].

2.1.6.3 Taniny

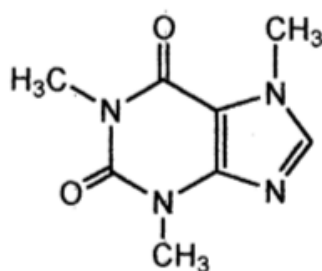
Extrakty ze zeleného čaje obsahují kondenzované a hydrolyzované třísloviny [37]. Taniny jsou různorodá skupina polyfenolů, která se tvoří jako sekundární metabolity v rostlinách a zahrnují širokou škálu oligomerních a polymerních polyfenolů. Nejčastější vyskytující se taniny jsou kondenzované taniny, z hydrolyzovatelných potom gallotaniny a ellagitaniny [41]. Obsah taninů v čajích se pohybuje cca do 1,5 mg.g⁻¹ [58].

2.1.7 Organické kyseliny

Organické kyseliny se podílí na organoleptických vlastnostech čajů. Mezi organické kyseliny vyskytující se v čajích patří kyselina šťavelová, malonová, citrónová, adipová a chinová [50, 56].

2.1.8 Alkaloidy

Čaje obsahují tři farmakologicky aktivní purinové (methylxantinové) alkaloidy: kofein, theofylin a theobromin. Alkaloidy mají velice silné fyziologické účinky a mezi nejznámější alkaloid čaje řadíme kofein. Kofein je hlavním původcem povzbuzujících účinků zeleného čaje, zvyšuje duševní aktivitu a fyzické výkony. Theofylin a theobromin pomáhají v léčbě astma a bradykardie [42, 59, 60]. Theobromin má podobné účinky jako kofein, ale má slabší účinek. Obsah theobrominu a theofylinu se v zelených čajích pohybuje v rozmezí cca 4 – 5 % [62, 65, 66]. Nejvíce kofeinu najdeme v mladých lístcích a pupenech, výtěžky z čerstvých čajových listů obsahují 3 – 4 % kofeinu. Hladiny kofeinu v zelených a černých čajových listech se liší odrůdami. Koncentrace těchto rostlinných alkaloidů je ukazatelem kvality čerstvých čajových listů [37, 43].



Obr. 10: Chemický vzorec kofeinu [16]

2.1.9 Vitaminy

Zelený čaj je jeden z významných zdrojů pro obsah vitaminů. Čerstvý čajový list obsahuje mnoho vitaminů, a to především vitaminy B₁, B₂, B₃, B₉, C, E a vitamin K. Množství vitaminů závisí na typu čaje a oblasti, ve které se čajovník pěstuje [63, 64]. Zelený čaj obsahuje vyšší množství vitamínu C a vitamínu E. Vitamin E se nachází v listech čajovníku a čajový list obsahuje převážně α -, β -, γ - a δ - tokoferoly. Vitamin C se nachází zejména v čerstvém čajovém listu, jeho koncentrace během zpracování a skladování klesá. Obsah vitamínu C v zelených čajích je přibližně 0,25 % [33, 54, 61].

2.1.10 Minerální prvky

V zeleném čaji se nachází cca 5 – 7 % minerálních prvků. Mezi hlavní minerální a stopové prvky patří draslík, vápník, zinek, fosfor, mangan, fluor, hořčík, železo a měď. Minerální prvky můžeme rozdělit na makrobiogenní, mikrobiogenní a stopové. Mezi makrobiogenní zařazujeme Na, K, Mg, Ca, Cl, P a S. Akumulace minerálních prvků v

čajových listech, je možné připsat ke kyselé půdě, ve které čajovníky rostou, protože uvolnění kovů je vyšší v kyselých půdách, než v půdách neutrálních [46, 52].

Tab. 2: Průměrný obsah makrobiogenních prvků ve vzorku čaje matcha [44]

| Makrobiogenní prvky (mg.kg⁻¹) | | | | |
|---|-----------|--------------|-------------|-------------|
| | Na | K | Mg | Ca |
| Koncentrace | 123 ± 9 | 10750 ± 700 | 2080 ± 215 | 1920 ± 140 |
| Rozsah | 105 – 138 | 9820 – 11990 | 1780 – 2460 | 1740 – 2190 |

V tabulce 2 je prezentovaný obsah makrobiogenních prvků v japonském čaji matcha. Vzhledem k výsledkům, můžeme pozorovat vysoký obsah K a Mg, což znamená, že tento čaj by mohl být i součástí lidské stravy, zejména pro podporu populace s kardiovaskulárním onemocněním [44]. Do skupiny mikrobiogenních prvků zařazujeme Fe a Zn. Tyto prvky se vyskytují v zelených čajích v nižších koncentracích. Zvýšená konzumace zeleného čaje, snižuje resorpci Fe a tím pádem jeho koncentraci v krevním séru, ledvinách a srdci. Hlavní sloučeniny podílející se na inhibici absorpce Fe v zeleném čaji jsou polyfenoly (katechiny, kyselina fytová, kyselina taninová). Mechanismus, pomocí kterého by výluh ze zeleného čaje zvyšoval koncentraci Zn v lidském těle, není známý. Organické kyseliny vyluhované ze zeleného čaje mají potenciál zvýšit rozpustnost, nebo pH a usnadnit tak absorpci Zn [46].

Do skupiny stopových prvků zahrnujeme B, Co, Cr, Cu, F, I, Mn, Mo, Ni, Se, Sn, Al, As, Cd, Hg, Pb aj. Čaj obsahuje stopové prvky, které jsou nevyhnutné pro lidské zdraví [47]. Zelený čaj je bohatý na Mn, F a Al. Anorganická složka čaje nemusí obsahovat jen esenciální minerální prvky, ale také neesenciální minerální prvky, kontaminanty jako jsou As, Cd a Pb. Hlavními zdroji těchto kontaminantů jsou kořeny čajovníku, pomocí kterých jsou kontaminanty ukládány v listech. Cd a As mohou být přítomné v hnojivech a odpadových vodách používaných v procesu pěstování [33, 45]. Čaj je i bohatým zdrojem Mn, který je součástí endogenních antioxidantů, proti reaktivním druhům kyslíku a oxidačnímu stresu. Uvádí se, že jeden šálek čaje přispívá zhruba ke 40 % průměrné denní dávce Mn v biologické formě. Cu je jeden z přírodních kovů, který se také často nachází v čaji. Obsah F v různých typech listů čaje je v rozmezí 170 – 878 mg.kg⁻¹. Nejvyšší koncentrace tohoto prvku byla ve starých listech čaje, v porovnání s mladými, kde je koncentrace až 2 krát nižší. F z kyselých půd do čajové rostliny difunduje velmi dobře.

Pokud se respektuje jeho referenční denní dávka, dokáže redukovat zubní kaz u dětí i dospělých. Proto jsou zelené čaje ceněny i z tohoto důvodu [30, 48, 49].

3 PŘÍPRAVA LEDOVÝCH ČAJŮ A JEJICH VYUŽITÍ V GASTRONOMII

Myšlenka ledového čaje se zrodila na Světovém obchodním veletrhu v St. Louis roku 1904. V této době Američané pili nejvíce čínský zelený čaj. Do roku 1992 spotřeba ledového čaje v Americe vzrostla na 1,6 až 1,8 bilionu sklenic ročně. Více než 80 % z celkové spotřeby čaje v USA se podává s ledem a téměř 80 % amerických domácností pije ledové čaje [15].

Při pití běžného zeleného čaje, ať už sypaného, nebo porcovaného, se po vyluhování čajové lístky vyhodí. Při pití matchy se smíchá jasně zelený prášek s tekutinou a dochází zároveň i ke konzumaci čajových listů, což je rozdíl oproti klasickým čajům [7].

Ledový čaj může vzniknout po zředění čajového extraktu s vodou. Obvykle se prodává v plechovkách nebo lahvích. Sypaný čaj, jako je černý či zelený čaj, se vyrábí z listů a poté se vaří, aby se získal extrakt, který se poté koncentruje odpařením vody, čímž se získá granulovaný pevný koncentrát. Granulovaný koncentrát může být zabalen do papírových sáčků a ponořen do horké vody pro rekonstituci před spotřebou. Čajový extrakt může být také prodáván jako "ledový čaj", např. v konzervovaném tekutém produktu. Sušení rozprašováním je rychlý proces a lze jej snadno regulovat. Produkty si obvykle zachovávají své kvalitativní vlastnosti, jako je barva, chuť a živiny, proto se rozprašovací sušičky široce používají při výrobě práškových a polotekutých potravin z extraktů [96].

Ledový čaj se připraví nejlépe z čajů pocházejících ze Srí Lanky nebo čínského Qimenu, které se vyznačují plnou chutí. Odměří se dvojnásobné množství lístků než obvykle a nechá se vyluhovat. Po přecezení se nálev osladí a teplým nálevem se zalijí kostky ledu ve sklenici. Ledový čaj lze doplnit lístky čerstvé máty s plátkem citrónu či pomeranče a může se podávat. Podle jiného receptu se dvojnásobně silný nálev přecedí, osladí a nechá v lednici několik hodin nebo přes noc vychladit. Servíruje se s ledem, lístky čerstvé máty, plátkem citrónu či pomeranče. Ledový čaj s matchou dodá člověku na konci dlouhého dne chybějící energii a je velice osvěžující [7, 15, 96].



Obr. 11: Ledový čaj matcha [76]

V posledních zhruba deseti letech záliba matchy roste i mimo Japonsko. Jenom v USA vzrostl v roce 2014 prodej matchy o 50 %. Matcha je nedílnou součástí kulinářského a společenského života Japonců. Ti začlenili matchu jako přísadu do úžasné rozmanité škály jídel a nápojů, protože velmi prospívá zdraví a její jedinečná chuť dokáže proměnit i naprosto nevýrazné pokrmy v zajímavý gastronomický zážitek. Matcha je nesmírně všestranná. Může se pít jako horký čaj, ale lze ji také přidat do ovocných džusů, smoothies, mléka, nebo dokonce i do koktejlů [7]. Na základě dostupné literatury obsahuje matcha čaj prospěšné sloučeniny (aminokyseliny, antioxidanty, vitaminy, minerální prvky), které mohou mít pozitivní vliv na lidské tělo [68].

4 CÍL PRÁCE

Cílem teoretické části práce bylo shrnout základní charakteristiku zeleného čaje, včetně pěstování a výroby zelených, speciálně matcha čajů. Nedílnou součástí teoretické části bylo shrnout základní nutriční a chemické složení zelených čajů či čajových listů, a také využití ledových čajů v gastronomii.

Cílem experimentální části práce bylo analyzovat vzorky ledových matcha čajů, u kterých se stanovovaly následující jakostní parametry: celkové polyfenoly, polyfenolický profil, antioxidační aktivita, kofein, theanin, theobromin, theofylin, stravitelnost, minerální a stopové prvky. Výsledky byly statisticky zpracovány a diskutovány.

II. PRAKTICKÁ ČÁST

5 METODIKA

5.1 Použité chemikálie

Pro jednotlivé stanovení byly použity tyto chemikálie:

- H_2O_2 30%, (Penta, ČR),
- CaCO_3 , (Penta, ČR),
- aceton 80 %, (Penta, ČR),
- methanol 20 %, (Lachner, s.r.o., ČR),
- Folin-Ciocalteuho činidlo, (Penta s.r.o., ČR),
- Na_2CO_3 20 %, (Lachema, ČR),
- pepsin z vepřové žaludeční sliznice, (Merck KGaA, Damstadt, Německo),
- pankreatin z vepřové slinivky, (Merck KGaA, Damstadt, Německo),
- KH_2PO_4 , (Ing. Petr Lukeš, Uherský Brod, ČR),
- $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12 \text{H}_2\text{O}$, (Ing. Petr Lukeš, Uherský Brod, ČR),
- DPPH (2,2-difenyl-1-pikrylhydrazyl), (Sigma Aldrich, Německo),
- ABTS (2,2-azinobis(3-etyl-2,3-dihydrobenzotiazol-6-sulfonátu)), (Sigma Aldrich, Německo),
- $\text{K}_2\text{S}_2\text{O}_8$, (Ing. Petr Lukeš, Uherský Brod, ČR),
- CH_3COONa , (Penta s.r.o., ČR),
- CH_3COOH , (Ing. Petr Lukeš, Uherský Brod, ČR),
- HCl , (Ing. Petr Lukeš, ČR),
- HNO_3 67%, (Analytika, spol. s r.o),
- H_3PO_4 , (Penta, ČR),
- acetonitril, (Sigma Aldrich, Německo),
- standard troloxu, (Sigma Aldrich, Německo),
- standard kyseliny gallové, (Sigma Aldrich, Německo),
- standard kyseliny 3,4-dihydroxybenzoové, (Sigma Aldrich, Německo),
- standard kyseliny neochlorogenové, (Sigma Aldrich, Německo),
- standard kyseliny 4-hydroxybenzoové, (Sigma Aldrich, Německo),
- standard epigallokatechinu, (Sigma Aldrich, Německo),
- standard katechinu, (Sigma Aldrich, Německo),
- standard kyseliny vanilové, (Sigma Aldrich, Německo),

- standard kyseliny chlorogenové, (Sigma Aldrich, Německo),
- standard kyseliny kávové, (Sigma Aldrich, Německo),
- standard kyseliny syringové, (Sigma Aldrich, Německo),
- standard epikatechinu, (Sigma Aldrich, Německo),
- standard kyseliny *trans-p*-kumarové, (Sigma Aldrich, Německo),
- standard kyseliny ferulové, (Sigma Aldrich, Německo),
- standard kyseliny sinapové, (Sigma Aldrich, Německo),
- standard kyseliny elagové, (Sigma Aldrich, Německo),
- standard rutinu, (Sigma Aldrich, Německo),
- standard kyseliny *trans-2*-hydroxyskořicové, (Sigma Aldrich, Německo),
- standard ethylesteru kyseliny protokatechové, (Sigma Aldrich, Německo),
- standard kvercetin, (Sigma Aldrich, Německo),
- standard theaninu, (Sigma Aldrich, Německo),
- standard theobrominu, (Sigma Aldrich, Německo),
- standard theofylinu, (Sigma Aldrich, Německo),
- standard kofeinu, (Sigma Aldrich, Německo),
- standard sodíku, (ČMI, Brno),
- standard hořčíku, (ČMI, Brno),
- standard draslíku, (ČMI, Brno),
- standard vápníku, (ČMI, Brno),
- standard manganu, (ČMI, Brno),
- standard železa, (ČMI, Brno),
- standard zinku, (ČMI, Brno),
- standard selenu, (ČMI, Brno),
- certifikovaný referenční materiál z čajových listů, (INCT-TL-1, Institut of Nuclear Chemistry and Technology, Polsko),
- ultra čistá voda, (Purelab Classic Elga, Labwater/VWS Ltd., UK),
- redestilovaná voda.

5.2 Použité přístroje a pomůcky

Pro jednotlivá stanovení byly použity následující přístroje a pomůcky:

- analytické váhy, (AFA 210 LC, Schoeller, ČR),

- elektrická sušárna, (Venticell 111 Comfort, BTM a.s., ČR),
- atomový absorpční spektrofotometr ContrAA 800, (Analytik Jena AG, Německo),
- analyzátor rtuti AMA 254, (Altec, ČR),
- spektrofotometr Lambda 25, (Perkin Elmer Inc., USA),
- Daisy^{II} inkubátor, (Ankom Technology, New York, USA),
- filtrační sáčky F57, velikost pórů 50 μm , (Ankom Technology, New York, USA),
- spektrofotometr Libra S6, (Bichrom Ltd., UK),
- filtrační papír KA 4, (Papírárna Keseg and Rathouzský),
- impulzní svářečka KF-200, (HC, ČR),
- kapalinový chromatograf, (Shimadzu LC-20AD),
- inkubační láhve Adam, AFA-210 LC, (Schoeller, ČR),
- muflová pec LM 112 10 ML W Elektro, (VEBF, Německo),
- mikrovlnný systém Milestone Ethos One, (Soriso, Itálie),
- aparatura pro HPLC Dionex UltiMate 3000, (Thermo Scientific Inc., USA),
 - Autosampler Dionex UltiMate 3000 WPS-3000 SL a WPS-3000 RS
 - Pumpa Dionex UltiMate 3000 SD o Kolona Phenomenex Kinetex C 18 (150 mm x 4,6 mm; 5 μm)
 - Detektor Dionex Diode Array Detector DAD-3000 RS
 - Vyhodnocovací program Chromeleon 7 (verze 7.2.1.5537)
- vortex V-1 plus, Biosan,
- nastavitelné mikropipety,
- stříkačkové filtry o průměru 0,22 μm Cronus,
- běžné laboratorní pomůcky a sklo.

5.3 Charakteristika a příprava vzorků ledových čajů

Pro jednotlivá stanovení byly použity celkem 3 vzorky matcha čajů: Japan tea – Matcha bio premium (země původu: Japonsko), Premium Matcha tea – Allnature (země původu: Čína) a Wolfberry – Bio matcha tea (země původu: Čína). Matcha čaje byly uchovávány v originálním balení (250 až 1000 g) při laboratorní teplotě 23 ± 2 °C v klimatizované laboratoři bez přístupu denního světla. Při jejich skladování bylo ověřeno, že obsah sušiny se nemění ($\alpha = 0,05$).

5.3.1 Metody přípravy ledových čajů

Metoda 1:

Do skleněných kádinek (v případě vzorků určených pro prvkovou analýzu byly vzorky vždy váženy do plastových PP kádinek v případě všech metod přípravy) byly naváženy 2 g vzorku matcha čaje (s přesností na 0,1 mg) a tyto byly zality 150 ml redestilované vody o teplotě 70 °C (v případě prvkové analýzy byly vzorky zality ultrapure vodou). Doba luhování (tedy přípravy čaje) činila 5 minut. Po 5 minutách bylo ke vzorku přidáno 100 g ledu. Ledové kostky byly vyrobeny opět z redestilované nebo ultrapure vody. Konečný objem čaje činil 250 ml.

Metoda 2:

Do skleněných kádinek byly naváženy 2 g vzorku matcha čaje s přesností na 0,1 mg a tyto byly zality 150 ml redestilované vody o teplotě 20 °C. Po 5 minutách bylo ke vzorku přidáno 100 g ledu. Doba luhování (tedy přípravy čaje) činila taktéž 5 minut. Konečný objem čaje byl 250 ml.

Metoda 3:

Do skleněných kádinek byly naváženy 2 g vzorku matcha čaje s přesností na 0,1 mg a tyto byly zality 150 ml redestilované vody o teplotě 20 °C. Doba luhování (tedy přípravy čaje) činila 12 hodin v lednici. Po 12 hodinách bylo ke vzorku přidáno 100 g ledu. Konečný objem čaje byl 250 ml.

5.4 Stanovení antioxidační aktivity metodou s DPPH

Pro stanovení je potřeba připravit pracovní roztok DPPH (2,2-difenyl-1-pikrylhydrazylu). Na zásobní roztok bylo rozpuštěno 24 mg DPPH ve 100 ml methanolu. Ze zásobního roztoku byl míchán pracovní roztok v poměru 10 ml zásobního roztoku DPPH a 45 ml methanolu. Byla změřena absorbance pracovního roztoku A_0 proti methanolu při 515 nm. Pro měření bylo do zkumavky pipetováno 8,55 ml pracovního roztoku DPPH a potřebné množství extraktu vzorku. Směs se nechala 60 minut reagovat v temnu. Po uplynutí doby byla změřena absorbance A_1 při vlnové délce 515 nm. Z naměřených hodnot úbytku absorbance, byla vypočtena dle vzorce 1 hodnota inaktivace. Výsledná antioxidační aktivita byla vypočtena na základě rovnice lineární regrese a byla vyjádřena jako ekvivalentní množství mg troloxu ve 100 ml vzorku. Stanovení bylo pro

všechny extrakty provedeno ve dvojitým opakování a každé opakování bylo proměřeno třikrát [20].

$$\text{Inaktivace (\%)} = \frac{A_0 - A_1}{A_0} \cdot 100 \quad (1)$$

5.4.1 Kalibrační křivka pro stanovení antioxidační aktivity metodou s DPPH

Jako standard byl použit trolox, jehož zásobní roztok byl připraven rozpuštěním v methanolu na koncentraci 800 mg.l^{-1} . Jeho ředěním byla připravena kalibrační řada o koncentracích 40; 60; 80; 100; 120; 160 a 200 mg.l^{-1} . Jednotlivé koncentrace byly přidávány k 8,55 ml pracovního roztoku v množství 10 a 40 μl a po 60 minutách v temnu měřeny hodnoty absorbance na spektrofotometru Lambda 25 při vlnové délce 515 nm. Z naměřených hodnot úbytku absorbance byla sestavena kalibrační křivka jako závislost inaktivace na koncentraci troloxu [mg.l^{-1}].

5.5 Stanovení antioxidační aktivity metodou s ABTS

Pro stanovení bylo nejdříve potřeba připravit radikál kationtu ABTS (2,2-azinobis(3-etyl-2,3-dihydrobenzotiazol-6-sulfonátu)) reakcí ABTS s peroxodisíranem draselným. Do odměrné baňky o objemu 10 ml bylo naváženo 0,018 g ABTS a doplněno destilovanou vodou po rysku. K tomuto roztoku bylo přidáno 0,2 ml $0,06 \text{ mol.dm}^{-3}$ peroxodisíranu draselného, který byl připraven rozpuštěním 0,162 g $\text{K}_2\text{S}_2\text{O}_8$ v 10 ml destilované vody. Reakční směs byla ponechána 16 hodin bez přístupu světla při laboratorní teplotě pro vytvoření radikálu ABTS. Na reakční směs byl připraven octanový pufr smícháním 63,5 ml $0,2 \text{ mol.dm}^{-3}$ CH_3COONa se 136,5 ml $0,2 \text{ mol.dm}^{-3}$ CH_3COOH . Octanový pufr byl smíchán s radikálem ABTS v poměru 39:1. Proti octanovému pufru byla proměřena absorbance reakční směsi A_0 při 734 nm. Na samotné měření bylo do zkumavky pipetováno 12 ml reakční směsi a dle potřeby extrakt vzorku. Směs se nechala reagovat po dobu 30 minut v temnu a poté byla proměřena absorbance A_1 při 734 nm. Z úbytku absorbance byla vypočtena inaktivace dle rovnice (1), antioxidační aktivita vzorku byla s pomocí rovnice kalibrační křivky vyjádřena jako ekvivalentní množství mg troloxu ve 100 ml vzorku. Stanovení bylo pro všechny extrakty provedeno ve dvojitým opakování a každé opakování bylo proměřeno třikrát [20].

5.5.1 Kalibrační křivka pro stanovení antioxidační aktivity metodou s ABTS

Jako standard byl použit trolox, jehož zásobní roztok byl připraven rozpuštěním v methanolu na koncentraci $0,5 \text{ mg.l}^{-1}$. Jeho ředěním byla připravena kalibrační řada o koncentracích 0,01; 0,05; 0,1; 0,15; 0,2; 0,25 a $0,3 \text{ mg.l}^{-1}$. Jednotlivé koncentrace byly přidávány ke 12 ml reakční směsi v množství 15 a 30 μl a po 30 minutách v temnu měřeny na spektrofotometru Lambda 25 při vlnové délce 734 nm. Z naměřených hodnot úbytku absorbance byla sestavena kalibrační křivka jako závislost inaktivace (%) na koncentraci troloxu [mg.l^{-1}].

5.6 Stanovení celkového obsahu polyfenolů Folin-Ciocalteuho metodou

Do 10 ml odměrné baňky bylo pipetováno 5 ml destilované vody, ke které bylo přidáno 200 μl extraktu vzorku, 0,5 ml Folin-Ciocalteuova činidla, 1,5 ml 20% Na_2CO_3 a baňka byla doplněna redestilovanou vodou po rysku. Obsah odměrné baňky byl promíchán a umístěn na 30 minut do temna. Po uplynutí této doby bylo provedeno měření absorbance při vlnové délce 765 nm na spektrofotometru Lambda 25 oproti blanku. Z naměřených hodnot byl s pomocí rovnice kalibrační křivky standardu vypočten celkový obsah polyfenolů ve vzorku, který byl vyjádřen jako ekvivalentní množství mg kyseliny gallové ve 100 ml vzorku ($\text{mg GAE.100 ml}^{-1}$). Stanovení bylo pro všechny extrakty provedeno ve dvojím opakování a každé opakování bylo proměřeno třikrát [20].

5.6.1 Kalibrační křivka pro stanovení obsahu polyfenolů Folin-Ciocalteuovou metodou

Jako standard byla použita kyselina gallová, jejíž zásobní roztok byl připraven rozpuštěním v methanolu na koncentraci $4\,000 \text{ mg.l}^{-1}$. Ředěním byla vytvořena kalibrační řada o koncentracích 50; 100; 200; 400; 600 a 800 mg.l^{-1} . Do 10 ml odměrné baňky bylo pipetováno 5 ml destilované vody, ke které bylo přidáno 200 μl standardu, 500 μl Folin-Ciocalteuova činidla, 1,5 ml 20% uhličitanu sodného a odměrná baňka byla doplněna po rysku. Obsah odměrné baňky byl promíchán a umístěn na 30 minut do temna. Poté byly jednotlivé koncentrace proměřeny na spektrofotometru Lambda 25 při vlnové délce 765 nm. Z naměřených hodnot byla sestavena kalibrační křivka jako závislost absorbance A na koncentraci kyseliny gallové [mg.l^{-1}].

5.7 Stanovení polyfenolického profilu metodou HPLC-UV

Pro stanovení přítomnosti a obsahu vybraných polyfenolů ve vzorcích byla použita metoda HPLC s UV detekcí a kolonou Phenomenex Kinetex C 18 (150 mm × 4,6 mm; 2,6 μm). Mobilní fáze byla tvořena dvěma složkami a eluce probíhala gradientově. Mobilní fáze A byla směsí vody a ledové kyseliny octové (99,8%) v poměru 99:1 a mobilní fáze B byla směsí vody, acetonitrilu a ledové kyseliny octové (99,8%) v poměru 67:32:1. Přesné složení poměrů mobilní fáze v průběhu měření je uvedeno v Tab. 3. Objem nástřiku byl 10 μl, teplota kolony byla nastavena na 30 °C, rychlost průtoku mobilní fáze byla 1 ml.min⁻¹ a délka analýzy činila 45 minut. Vyhodnocení bylo provedeno při vlnové délce 275 nm. Z naměřených hodnot byl s pomocí rovnice kalibrační přímky vypočten obsah jednotlivých látek ve vzorku, který byl vyjádřen v μg ve 100 ml vzorku. Každý extrakt byl proměřen 4x [20].

Tab. 3: Složení poměrů mobilních fází během gradientové eluce

| Čas (min) | Mobilní fáze A (%) | Mobilní fáze B (%) |
|-----------|--------------------|--------------------|
| 0 – 10 | 90 – 80 | 10 – 20 |
| 10 – 16 | 80 – 60 | 20 – 40 |
| 16 – 20 | 60 – 50 | 40 – 50 |
| 20 – 25 | 50 – 30 | 50 – 70 |
| 25 – 30 | 30 | 70 |
| 30 – 40 | 30 – 90 | 70 – 10 |
| 40 – 45 | 90 | 10 |

5.7.1 Příprava kalibračních křivek polyfenolických standardů pro měření pomocí HPLC-UV

Pro stanovení vybraných polyfenolů ve vzorcích bylo připraveno celkem 19 standardů fenolických látek – kyseliny gallová, 3,4-dihydroxybenzoová, neochlorogenová, 4-hydroxybenzoová, epigallokatechin, katechin, kyseliny vanilová, chlorogenová, kávová, syringová, epikatechin, kyseliny *trans-p*-kumarová, ferulová, sinapová, elagová, rutin, kyselina *trans*-2-hydroxyskořicová, ethylester kyseliny protokatechinové, kyselina a kvercetin. Ke stanovení rovnice kalibrační křivky byl připraven zásobní roztok standardu tak, že ho bylo naváženo 0,001 g ± 0,1 mg. Navážka byla kvantitativně převedena do odměrné baňky o objemu 10 ml a doplněna methanolem po rysku. Ze zásobního roztoku o koncentraci 100 μg.ml⁻¹ byla ředěním mobilní fází A připravena kalibrační řada roztoků o koncentracích 5; 20; 30 a 50 μg.ml⁻¹. Ze získaných hodnot byla sestavena kalibrační křivka

závislosti plochy píku (mAU) na koncentraci kalibračních roztoků. Z kalibračních bodů byla pro každý standard získána metodou lineární regrese regresní rovnice, podle které byl poté vypočítán obsah jednotlivých polyfenolických látek.

5.8 Stanovení kofeinu, theaninu, theobrominu a theofylinu pomocí HPLC-UV

Pro stanovení obsahu kofeinu, theaninu, theobrominu a theofylinu ve vzorcích ledových čajů byla použita metoda HPLC s UV detekcí a kolonou Phenomenex Kinetex EVO C 18 (150 mm × 4,6 mm; 5 μm). Mobilní fáze byla tvořena dvěma složkami a eluce probíhala gradientově. Mobilní fáze A byla směsí vody a kyseliny trihydrogenfosforečné (0,05%) a mobilní fáze B byl acetonitril. Přesné složení poměrů mobilních fází v průběhu eluce je uvedeno v Tab. 4. Objem nástřiku byl 10 μl, teplota kolony byla nastavena na 30 °C, rychlost průtoku mobilní fáze byla 0,5 – 0,8 ml.min⁻¹ a délka analýzy činila 54 minut. Měření probíhalo při vlnových délkách 210 a 275 nm a vyhodnocení bylo provedeno při vlnové délce 210 nm pro theanin a 275 nm pro theobromin, kofein a theofylin. Z naměřených hodnot byl s pomocí rovnice kalibrační přímky vypočten obsah jednotlivých látek ve vzorku, který byl vyjádřen v mg ve 100 ml vzorku. Každý vzorek byl proměřen 4x.

Tab. 4: Složení poměrů mobilních fází během gradientové eluce

| Čas (min) | Mobilní fáze A (%) | Mobilní fáze B (%) | Průtok (ml.min ⁻¹) |
|-----------|--------------------|--------------------|--------------------------------|
| 0 – 6 | 100 | 0 | 0,5 |
| 6 – 7 | 100 | 0 | 0,5 – 0,8 |
| 7 – 18 | 100 | 0 | 0,8 |
| 18 – 33 | 95 | 5 | 0,8 |
| 33 – 43 | 80 | 20 | 0,8 |
| 43 – 44 | 80 – 100 | 20 – 0 | 0,8 |
| 44 – 53 | 100 | 0 | 0,8 |
| 53 – 54 | 100 | 0 | 0,5 – 0,8 |

5.8.1 Příprava a měření kalibračních křivek standardů

Pro stanovení přítomnosti kofeinu, theaninu, theobrominu a theofylinu ve vzorcích byly připraveny kalibrační křivky standardů. Ke stanovení rovnice kalibrační křivky byl připraven zásobní roztok standardu tak, že ho bylo naváženo 0,001 g ± 0,1 mg. Navážka byla kvantitativně převedena do odměrné baňky o objemu 10 ml a doplněna destilovanou vodou po rysku. Ze zásobního roztoku o koncentraci 100 μg.ml⁻¹ pro theanin byla ředěním

mobilní fázi A připravena kalibrační řada roztoků o koncentracích 20; 60; 80 a 100 $\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$. Ze zásobního roztoku o koncentraci 100 $\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$ pro theobromin a theofylin byla ředěním mobilní fázi A připravena kalibrační řada roztoků o koncentracích 1; 3; 5; 7 a 10 $\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$. Ze zásobního roztoku o koncentraci 800 $\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$ pro kofein byla ředěním mobilní fáze A připravena kalibrační řada roztoků o koncentracích 50; 150; 300 a 600 $\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$. Ze získaných hodnot byla sestavena kalibrační křivka závislosti plochy píku (mAU) na koncentraci kalibračních roztoků. Z kalibračních bodů byla pro každý standard získána metodou lineární regrese regresní rovnice. Retenční časy jednotlivých standardů pak byly získány proměřením reálného vzorku a proměřením vzorku s přidavkem standardů.

5.9 Stanovení minerálních a stopových prvků metodou AAS

Stanovení vybraných minerálních a stopových prvků bylo provedeno u práškové formy matcha čaje a také ve vzorcích ice-tea.

5.9.1 Mineralizace matcha prášku

Vzorky (0,2 g s přesností na 0,1 mg) byly naváženy do teflonových nádobek a ke každému vzorku bylo přidáno 7 ml 67% Analpure ultra HNO_3 a 1 ml 30% Analpure ultra H_2O_2 . Vzorky byly rozloženy pomocí mikrovlnného systému Milestone Ethos One (Soriso, Itálie). Teplotní program vhodný pro práškový materiál byl nastavený na rozklad s následujícími parametry: 15 minut, 200 °C, 1500 W náběh a 15 minut, 200 °C, 1500 W výdrž. Vzorky mineralizátu byly v plastových zkumavkách doplněny na objem 25 ml ultrapure vodou. Takto připravené vzorky byly nastříkovány do AAS.

5.9.2 Příprava vodného výluhu ledového čaje

Vzorky ledových čajů byly připraveny podle postupu uvedeného v kapitole 5.3, s tím že byly připraveny v plastových odměrkách. K přípravě vzorků byla použita ultrapure voda (Purelab Classic Elga, Labwater/VWS Ltd., UK). Po uplynutí doby luhování se vzorky přefiltrovaly přes papírový filtr KA4 (Smith Filters, UK). Z přefiltrovaného extraktu bylo odebráno po 20 ml a k nim bylo přidáno 5 ml 67% Analpure ultra HNO_3 . Takto připravené vzorky byly nastříkovány do AAS.

5.9.3 Správnost měření

Byl použit certifikovaný referenční materiál z čajových listů (INCT-TL-1, Institut of Nuclear Chemistry and Technology, Polsko). Certifikovaný materiál byl připraven stejným postupem, jako je uvedeno v kapitole 5.9.1.

5.9.4 Stanovení kalibračních křivek pro stanovení prvků

Příslušné kalibrace byly připraveny zředěním komerčních standardních roztoků s koncentrací 1 g.l⁻¹ příslušného prvku. Ředěním byla vytvořena kalibrační řada o koncentracích 0,5; 2; 2,5; 5; 10; 15; 30; 50 a 150 mg.l⁻¹. Ze získaných hodnot byla sestavena kalibrační křivka závislosti absorbance na koncentraci kalibračních roztoků. Z kalibračních bodů byla pro každý standard získána metodou lineární regrese regresní rovnice. Příklady kalibrace jsou uvedeny v Příloze P II.

5.9.5 Měření na AAS

Pro stanovení minerálních prvků byl použit přístroj atomový absorpční spektrofotometr ContrAA 800 (Analytik Jena AG, Německo). Cd a Pb byly stanoveny metodou elektrotermické atomizace v grafitové kyvetě s detekcí na vlnových délkách 228,8018, resp. 283,3060 nm, s rozsahem koncentrací kalibračních roztoků 5 – 10, resp. 12,5 – 50,0 µg.l⁻¹. Ostatní prvky byly stanovovány metodou atomizace v plameni acetylen-vzduch. V následující tabulce 5 jsou uvedeny podmínky pro měření.

Tab. 5: AAS – Podmínky měření

| Prvek | Vlnová délka (nm) | Rozsah kalibrace (mg.l ⁻¹) | Výška hořáku (mm) | Průtok plynu (l.h ⁻¹) |
|-------|-------------------|--|-------------------|-----------------------------------|
| Na | 330,2370 | 5 – 15 | 6 | 60 |
| Mg | 202,5820 | 10 – 30 | 6 | 70 |
| K | 404,4140 | 50 – 150 | 8 | 80 |
| Ca | 422,6728 | 5 – 15 | 6 | 80 |
| Mn | 280,1081 | 2,5 – 10,0 | 6 | 70 |
| Fe | 248,3270 | 2,5 – 10,0 | 6 | 60 |
| Zn | 213,8570 | 0,5 – 2,0 | 6 | 80 |
| Se | 196,0267 | 2,5 – 10,0 | 6 | 50 |

Výsledkem analýzy byla koncentrace příslušného prvku v analyzovaném vzorku.

$$C_M = (C_A - BL) * f_D * V_0 / (1000 * m_0) \quad (2)$$

kde: C_M – koncentrace prvku v původním pevném vzorku (mg.g⁻¹),

C_A – koncentrace příslušného prvku zjištěná měřením (mg.l^{-1}),

BL – výsledek měření slepého pokusu (mg.l^{-1}); pouze u výluhů, u mineralizovaných vzorků dosazena hodnota 0,

f_D – zředovací faktor (bezrozměrný, v případě mineralizovaných vzorků 1, u výluhů 25/20),

V_0 – objem (ml), ve kterém byla rozpuštěna/vyluhována navážka pevného vzorku; v případě výluhů 250 ml, u mineralizovaných vzorků 20 ml,

m_0 – navážka pevného vzorku (g),

1000 – převod ml na l.

5.10 Stanovení rtuti

Stanovení rtuti bylo připraveno interní kalibrací v rozsahu 1 – 850 ng v analyzovaném množství vzorku. Vzorky ledových čajů byly připraveny pomocí metod, jak je uvedeno v kap. 5.3.1. K stanovení rtuti byl použit přístroj analyzátor rtuti AMA 254 (Altec, ČR). K analýze byly dávkovány objemy jednotlivých množství ledových čajů po 0,1 ml. Podmínky analýzy byly následující: sušení 60 s, rozložení 150 s, výdrž 45 s. Výsledkem analýzy je hmotnost rtuti (ng) v analyzovaném objemu roztoku vzorku, což bylo přepočteno následovně:

$$C_{\text{Hg}} = (m_{\text{Hg}} - \text{BL}) * f_D * V_0 / (1000 * V_A * m) \quad (3)$$

kde: C_{Hg} – koncentrace v původním pevném vzorku ($\mu\text{g.g}^{-1}$),

m_{Hg} – výsledek měření příslušného vzorku (ng),

BL – výsledek měření slepého pokusu (ng); pouze u výluhů, u mineralizovaných vzorků dosazena hodnota 0,

f_D – zředovací faktor (bezrozměrný, v případě mineralizovaných vzorků 1, u výluhů 25/20),

V_0 – objem (ml), ve kterém byla rozpuštěna/vyluhována navážka pevného vzorku; v případě výluhů 250 ml, u mineralizovaných vzorků 20 ml,

m_0 – navážka pevného vzorku (g),

1000 – převod ng na μg .

5.11 Stanovení stravitelnosti

Stanovení stravitelnosti bylo provedeno kombinovanou hydrolyzou pomocí pepsinu a pankreatinu (směs lipázy, amylázy a proteázy). Do předem zvážených, acetonem propraných a odvětraných filtračních sáčků F57 bylo naváženo 0,25 g vzorku s přesností na 0,1 mg. Poté byly sáčky zataveny a jeden sáček byl zataven prázdný – pro stanovení korekce. Tyto sáčky pak byly společně vloženy do inkubačních lahví. Do těchto lahví bylo nalito 1,7 l HCl o koncentraci 0,1 mol.l⁻¹ včetně 3 g pepsinu, které zde byly rozpuštěny. Láhve byly umístěny do inkubátoru Daisy^{II} a byly inkubovány po dobu 4 hodin při teplotě 37 °C. Sáčky byly několikrát propláchnuty destilovanou vodou, která poté byla pomocí filtračního papíru odstraněna. Bylo připraveno 1,7 l fosfátového pufru o pH 7,45, který byl připraven smícháním KH₂PO₄ (9,078 g na 1 l) s Na₂HPO₄.12 H₂O (23,889 g na 1 l). V inkubačním fosfátovém pufru byly rozpuštěny 3 g pankreatinu, byly přidány sáčky, pak se dalo vše do inkubačních lahví a vložilo do inkubátoru na 24 hodin. Poté byly sáčky vloženy do sušárny na 24 hodin při teplotě 105 °C. Po této době byly umístěny do exsikátoru a po vychladnutí zváženy. Sáčky byly nakonec vloženy do vyžíhaných a předem zvážených porcelánových kelímků a následně páleny v muflové peci při 550 ± 10 °C na 5,5 hodin. Kelímky byly po vychladnutí v exsikátoru opět zváženy. Stravitelnost byla vyjádřena v % jako stravitelnost organické hmoty OMD (Organic Matter Digestibility) a také jako stravitelnost sušiny vzorku DMD (Dry Matter Digestibility) a vypočtena dle vzorců 4 až 11 [21].

Výpočet stravitelnosti [%]:

$$DMD = 100 - \frac{100 \cdot DMR}{m_2 \cdot DM} \quad (4)$$

$$DMR = m_3 - m_1 \cdot c_1 \quad (5)$$

$$DM = \frac{S \cdot ms}{100} \quad (6)$$

$$OMD = 100 - \frac{100 \cdot (DMR - AR)}{m_2 \cdot DM \cdot OM} \quad (7)$$

$$AR = m_4 - m_1 \cdot c_1 \quad (8)$$

$$OM = S - P / 100 \quad (9)$$

- kde: DMD – stravitelnost sušiny vzorku čaje [%],
DMR – hmotnost vzorku (bez sáčku) po inkubaci a vysušení [g],
DM – obsah sušiny ve vzorku čaje [g],
OMD – hodnota stravitelnosti organické hmoty ve vzorku čaje [%],
AR – hmotnost popela vzorku (bez sáčku) [g],
OM – obsah organické hmoty v sušině vzorku čaje [g],
S – obsah sušiny ve vzorku čaje [%],
P – obsah popela ve vzorku čaje [%],
 m_S – hmotnost vzorku pro stanovení sušiny [g],
 m_1 – hmotnost prázdného sáčku [g],
 m_2 – hmotnost vzorku čaje [g],
 m_3 – hmotnost vysušeného sáčku se vzorkem čaje (po inkubaci) [g],
 m_4 – hmotnost popela vysušeného sáčku se vzorkem čaje (po inkubaci) [g],
 c_1 – korekce hmotnosti sáčku (po inkubaci) [g],
 c_2 – korekce hmotnosti sáčku (po spálení) [g].

Výpočet korekce [g]:

$$c_1 = \frac{m_S}{m_1} \quad (10)$$

$$c_2 = \frac{m_P}{m_1} \quad (11)$$

- kde: m_S – hmotnost vysušeného sáčku (po inkubaci) [g],
 m_P – hmotnost popela sáčku [g].

5.12 Statistické vyhodnocení

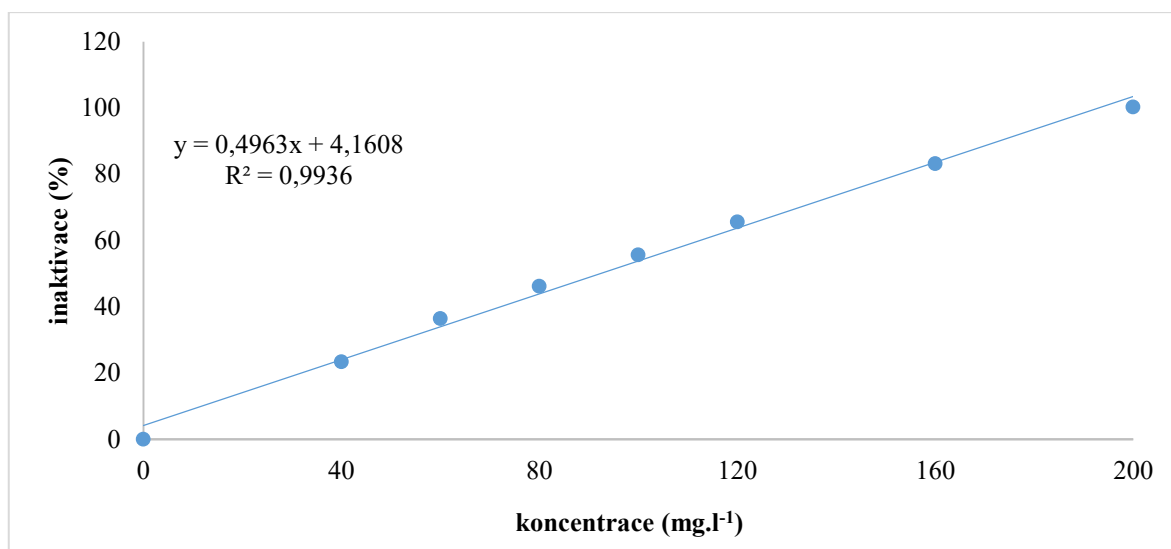
S pomocí Dean-Dixonova testu (Q-testu) byly z naměřených výsledků vyloučeny odlehlé hodnoty. Poté bylo provedeno statistické vyhodnocení pomocí parametrického testu, který srovnává střední hodnoty dvou nezávislých souborů (Studentův t -test) s hladinou významnosti 5 %. Výsledky byly vyjádřeny jako střední hodnota se směrodatnou odchylkou. Pro zpracování výsledků byl použit program StatK25.

6 VÝSLEDKY A DISKUZE

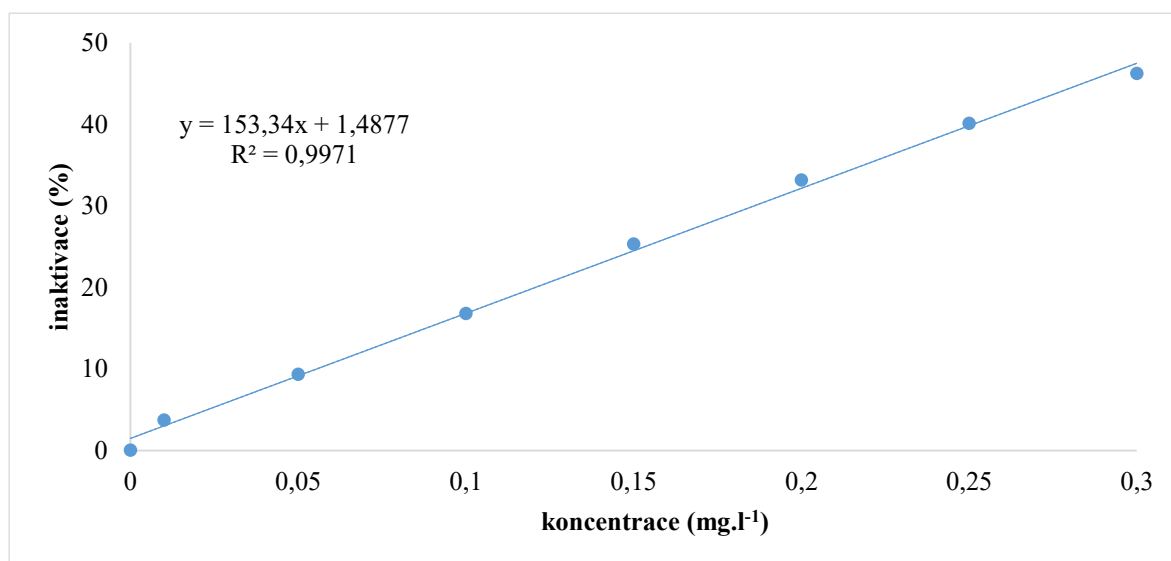
Výsledky stanovení jsou prezentovány jako střední hodnota \pm směrodatná odchylka. Všechny výsledky jsou prezentovány formou tabulek a kalibračních grafů.

6.1 Výsledky stanovení antioxidační aktivity metodou s DPPH a ABTS

Nejdříve byly proměřeny jednotlivé kalibrační body daných standardů a následně byly sestrojeny kalibrační křivky těchto standardů (obr. 12 a 13) pro trolox – metoda DPPH (koncentrace 40; 60; 80; 100; 120; 160 a 200 mg.l^{-1}) a pro trolox – metoda ABTS (koncentrace 0,01; 0,05; 0,10; 0,15; 0,20; 0,25 a 0,30 mg.l^{-1}). Z rovnic lineární regrese byly vypočítány hodnoty antioxidačních aktivit (AOA).



Obr. 12: Kalibrační křivka troloxu pro stanovení AOA s DPPH



Obr. 13: Kalibrační křivka troloxu pro stanovení AOA s ABTS

Výsledky stanovení antioxidačních aktivit (AOA, Antioxidant activity) pro metody s DPPH a ABTS jsou zapsány do tabulek 6 a 7. Výsledky stanovení antioxidačních aktivit jsou uvedeny v ekvivalentech troloxu (mg TE.100 ml^{-1}).

Tab. 6: Hodnota antioxidační aktivity – metoda s DPPH

| Vzorek | AOA s DPPH \pm SD (mg TE.100 ml^{-1}) | | |
|-----------|--|-----------------------|----------------------|
| | 1. metoda | 2. metoda | 3. metoda |
| Japan tea | $6,39 \pm 0,28^{a,A}$ | $4,37 \pm 0,20^{a,B}$ | $11,8 \pm 0,5^{a,C}$ |
| Allnature | $6,19 \pm 0,35^{a,b,A}$ | $5,08 \pm 0,26^{b,B}$ | $12,8 \pm 0,3^{b,C}$ |
| Wolfberry | $5,70 \pm 0,25^{c,A}$ | $5,22 \pm 0,26^{b,B}$ | $12,8 \pm 0,4^{b,C}$ |

Hodnoty ve sloupcích, které mají stejné malé písmenné indexy, mezi sebou nevykazují statisticky významný rozdíl ($P \geq 0,05$), hodnoty ve sloupcích, které mají odlišné malé písmenné indexy, se mezi sebou statisticky liší ($P < 0,05$). Hodnoty v řádcích, které mají stejné velké písmenné indexy, mezi sebou nevykazují statisticky významný rozdíl ($P \geq 0,05$), hodnoty v řádcích, které mají odlišné velké písmenné indexy, se mezi sebou statisticky liší ($P < 0,05$).

Tab. 7: Hodnoty antioxidační aktivity – metoda s ABTS

| Vzorek | AOA s ABTS \pm SD (mg TE.100 ml^{-1}) | | |
|-----------|--|----------------------|----------------------|
| | 1. metoda | 2. metoda | 3. metoda |
| Japan tea | $33,2 \pm 0,3^{a,A}$ | $24,0 \pm 1,2^{a,B}$ | $40,2 \pm 2,0^{a,C}$ |
| Allnature | $35,4 \pm 1,0^{b,A}$ | $29,6 \pm 0,7^{b,B}$ | $43,6 \pm 1,5^{b,C}$ |
| Wolfberry | $33,6 \pm 1,1^{a,A}$ | $29,2 \pm 1,4^{b,B}$ | $43,7 \pm 1,4^{b,C}$ |

Hodnoty ve sloupcích, které mají stejné malé písmenné indexy, mezi sebou nevykazují statisticky významný rozdíl ($P \geq 0,05$), hodnoty ve sloupcích, které mají odlišné malé písmenné indexy, se mezi sebou statisticky liší ($P < 0,05$). Hodnoty v řádcích, které mají stejné velké písmenné indexy, mezi sebou nevykazují statisticky významný rozdíl ($P \geq 0,05$), hodnoty v řádcích, které mají odlišné velké písmenné indexy, se mezi sebou statisticky liší ($P < 0,05$).

Antioxidační aktivita je schopnost směsi látek zhaset volné radikály nebo inhibovat oxidační degradaci různých sloučenin. Metoda s DPPH a ABTS posuzuje eliminaci syntetických stabilních radikálů DPPH a ABTS. Ačkoliv jsou obě metody založené na zhasení barevného radikálu antioxidanty přítomnými ve vzorku, jejich princip se lehce liší. U metody s DPPH dochází k neutralizaci radikálu pouze přenosem elektronu z antioxidantu, u ABTS dochází ke zhasení kation radikálu $\text{ABTS}^{+\cdot}$ přenosem elektronu nebo vodíkového atomu z antioxidantu. Který z přenosů převažuje, je dáno strukturou přítomných antioxidantů a pH media [97].

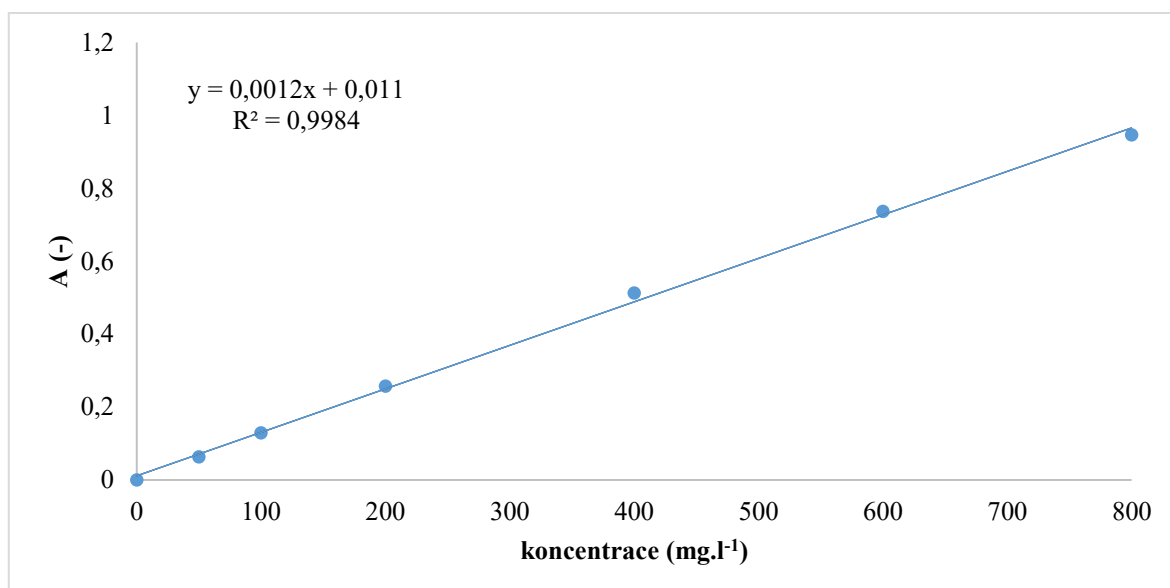
Nejvyšší hodnotu antioxidační aktivity měřenou metodou s DPPH u ledových matcha čajů vykazují vzorky Allnature (12,8 mg TE.100 ml⁻¹) a Wolfberry (12,8 mg TE.100 ml⁻¹). Zároveň je z naměřených vzorků patrné, že jako nevhodnější metoda přípravy se v tomto případě jeví metoda 3. Nejnižší antioxidační aktivita byla stanovena u vzorku Japan tea (4,37 mg TE.100 ml⁻¹), a to v případě druhé metody přípravy.

Z naměřených hodnot antioxidačních aktivit u vzorků ledových matcha čajů lze vyhodnotit, že nejvyšší antioxidační aktivitu (u metody s ABTS) mají taktéž vzorky Allnature (43,6 mg TE.100 ml⁻¹) a Wolfberry (43,7 mg TE.100 ml⁻¹), které byly připraveny také metodou 3. Výsledky měření dosažené s pomocí ABTS kopírují výsledky stanovené pomocí metody s DPPH. Opět vzorek čaje Japan tea, připravený metodou 2, měl nejnižší hodnotu AOA.

Provedenou analýzou s DPPH a ABTS bylo zjištěno, že antioxidační aktivita u ledových matcha čajů je nejvyšší u přípravy 3 metodou. Z hlediska hodnot AOA lze tuto metodu přípravy doporučit. V současné době nejsou v literatuře moc dostupná data o měření AOA u ledových matcha čajů. Farooq a Sehgal (2018) ve svém článku uvádí hodnoty AOA u zelených čajů pomocí metody DPPH a ABTS. Hodnoty s DPPH se pohybovaly v rozmezí (22,4 – 28,7 μg.ml⁻¹), u ABTS v rozmezí od 10,3 do 11,7 μg.ml⁻¹. U metod pro stanovení AOA nelze navzájem srovnávat, co do výsledku jejich naměřených hodnot, protože se liší nejen ve svém mechanismu účinku, ale také jejich výsledné hodnoty jsou závislé na mnoha dalších faktorech jako např. doba extrakce vzorku, extrakční rozpouštědlo, oblast pH, ve kterém reakce probíhala apod. Nicméně, nejvyšší hodnoty AOA, ve výše zmíněné studii, ze zelených čajů vykazoval právě matcha čaj (Wow and Gourmet matcha) [79]. Tento výsledek byl potvrzen i v další studii [101]. Ačkoliv čaje matcha vykazují různé funkční aktivity, závisí na specifitě aktivních biologických sloučenin, zejména pokud jde o jejich schopnost vylučovat volné radikály. Tato studie prokázala ochranu proti oxidačnímu stresu a byla korelována se zvyšující se kapacitou antioxidační/antimikrobiální ochrany *in vivo* [101]. Obecně se deklaruje, že hodnoty AOA jsou závislé na obsahu TPC, a proto nelze ani jednotlivé naměřené údaje relevantně porovnávat s již naměřenými daty jednotlivých autorů.

6.2 Výsledky stanovení celkového obsahu polyfenolů

Stanovení celkového obsahu polyfenolů (TPC, Total phenolic content) u ledových matcha čajů bylo provedeno metodou, která je popsána v kapitole 5.6. Byly proměřeny jednotlivé kalibrační body standardů a následně byla sestrojena kalibrační křivka (obr. 14) pro kyselinu gallovou (koncentrace 50; 100; 200; 400; 600 a 800 mg.l⁻¹). Z rovnice lineární regrese byl vypočítán obsah celkových polyfenolů. Výsledky stanovení celkových TPC jsou zapsány v tabulce 8. Výsledky obsahu TPC jsou uvedeny v ekvivalentech kyseliny gallové (mg GAE.100 ml⁻¹).



Obr. 14: Kalibrační křivka kyseliny gallové pro stanovení celkových polyfenolů

Tab. 8: Obsah celkových polyfenolů (TPC)

| Vzorek | TPC ± SD [mg GAE.100 ml ⁻¹] | | |
|-----------|---|----------------------------|----------------------------|
| | 1. metoda | 2. metoda | 3. metoda |
| Japan tea | 46,8 ± 0,6 ^{a, A} | 42,8 ± 1,5 ^{a, B} | 51,1 ± 2,3 ^{a, C} |
| Allnature | 41,8 ± 2,0 ^{b, A} | 39,5 ± 1,2 ^{b, A} | 40,6 ± 0,5 ^{b, A} |
| Wolfberry | 36,1 ± 1,0 ^{c, A} | 37,8 ± 0,5 ^{c, B} | 38,2 ± 0,8 ^{c, B} |

Hodnoty ve sloupcích, které mají stejné malé písmenné indexy, mezi sebou nevykazují statisticky významný rozdíl ($P \geq 0,05$), hodnoty ve sloupcích, které mají odlišné malé písmenné indexy, se mezi sebou statisticky liší ($P < 0,05$). Hodnoty v řádcích, které mají stejné velké písmenné indexy, mezi sebou nevykazují statisticky významný rozdíl ($P \geq 0,05$), hodnoty v řádcích, které mají odlišné velké písmenné indexy, se mezi sebou statisticky liší ($P < 0,05$).

Celkový obsah polyfenolů v jednotlivých vzorcích ledových matcha čajů se pohyboval v rozmezí 36,1 – 51,1 mg GAE.100 ml⁻¹. U vzorku Wolfberry byla koncentrace TPC nejnižší u všech tří metod než u zbývajících dvou vzorků ledových matcha čajů. Z pohledu stanovení celkových polyfenolů nelze jednoznačně usuzovat na nejvhodnější metodu pro přípravu ledových čajů. Navíc, výsledky nekorespondují lineárně ani s hodnotami antioxidačních aktivit. To může být zajisté i proto, že k hodnotám antioxidačních aktivit přispívají i další složky čaje jako barviva (chlorofyly, karotenoidy), vitamin C, alkaloidy (theofylin), volné aminokyseliny (theanin) aj. Dalším faktem je, že polyfenoly v zelených rostlinách jsou rozloženy nerovnoměrně, a proto může mít technologické zpracování čajových listů signifikantní vliv na jejich obsah v čajích [77]. Weiss a Anderton (2003) stanovovali celkový obsah polyfenolů v zelených čajích, které vyextrahovali 100 % methanolem a zjistili, že nejvyšší hodnota TPC byla ve vzorku matcha čaji [16].

V 80 % methanolových extraktech byly koncentrace TPC v matcha čajích stanoveny v rozmezí 169 – 273 mg GAE.g⁻¹ [102]. Tato studie potvrdila, že hodnoty TPC významně korelovaly s antioxidační aktivitou jak ve vodných, tak i methanolových extraktech. Obsah TPC, jakož i hodnoty antioxidační radikálové aktivity, byly vyšší, pokud byl použit proces extrakce v 80 % methanolu [68]. Obecně se deklaruje, že obsah polyfenolů je v rámci metod jejich stanovení závislý na extrakčním rozpouštědle, čase extrakce a také na metodě extrakce.

6.3 Výsledky stanovení polyfenolického profilu

Pro stanovení polyfenolického profilu ledových matcha čajů bylo vybráno 19 standardů polyfenolických látek náležících do 3 skupin. První skupinou jsou deriváty kyseliny hydroxybenzoové – tj. kyseliny gallová, 3,4-dihydroxybenzoová, 4-hydroxybenzoová, vanilová, syringová, elagová a etylester kyseliny protokatechové. Druhou skupinu tvoří deriváty kyselin hydroxyskořicové – tj. kyseliny neochlorogenová, chlorogenová, kávová, *trans-p*-kumarová, ferulová, sinapová, *trans*-2-hydroxyskořicová. Do třetí skupiny patří flavonoidy – tj. epigallokatechin, katechin, epikatechin, rutin a kvercetin. Z rovnic lineární regrese byly vypočítány obsahy jednotlivých polyfenolických látek v µg.100 ml⁻¹. Stanovení polyfenolického profilu bylo provedeno metodou popsanou v kapitole 5.7. V tabulkách 9 – 11 jsou uvedeny výsledky stanovení obsahu polyfenolických látek v ledových matcha čajích.

Tab. 9: Výsledky stanovení jednotlivých polyfenolů metodou HPLC u vzorku Japan tea

| Standard | Japan tea \pm SD ($\mu\text{g}\cdot 100 \text{ ml}^{-1}$) | | |
|---|---|----------------------------------|----------------------------------|
| | 1. metoda | 2. metoda | 3. metoda |
| <i>Deriváty kyseliny hydroxybenzoové</i> | | | |
| Gallová kyselina | 0,18 \pm 0,01 ^{a,A} | 0,18 \pm 0,01 ^{a,A} | 0,18 \pm 0,03 ^{a,A} |
| 3,4-Dihydroxybenzoová kyselina | 0,28 \pm 0,03 ^{b,A} | 0,27 \pm 0,01 ^{b,A} | 0,27 \pm 0,03 ^{b,A} |
| 4-Hydroxybenzoová kyselina | 0,06 \pm 0,01 ^{c,A} | 0,05 \pm 0,02 ^{c,e,A} | 0,06 \pm 0,02 ^{c,e,A} |
| Vanilová kyselina | 0,05 \pm 0,01 ^{c,A} | 0,05 \pm 0,01 ^{c,A} | 0,05 \pm 0,02 ^{c,e,A} |
| Syringová kyselina | 0,07 \pm 0,01 ^{c,e,A} | 0,04 \pm 0,01 ^{c,B} | 0,05 \pm 0,01 ^{c,B} |
| Elagová kyselina | 2,08 \pm 0,02 ^{d,A} | 2,07 \pm 0,02 ^{d,A} | 1,87 \pm 0,02 ^{d,B} |
| Etylester kyseliny protokatechové | 0,10 \pm 0,01 ^{e,A} | 0,09 \pm 0,01 ^{e,A} | 0,10 \pm 0,02 ^{e,A} |
| <i>Deriváty kyseliny hydroxykyskořičové</i> | | | |
| Neochlorogenová kyselina | 0,26 \pm 0,04 ^{a,A} | 0,25 \pm 0,01 ^{a,A} | 0,25 \pm 0,01 ^{a,A} |
| Chlorogenová kyselina | 36,3 \pm 0,1 ^{b,A} | 33,1 \pm 0,2 ^{b,B} | 33,7 \pm 0,5 ^{b,B} |
| Kávová kyselina | 0,04 \pm 0,01 ^{c,A} | 0,03 \pm 0,01 ^{c,A} | 0,03 \pm 0,01 ^{c,A} |
| <i>trans-p</i> -Kumarová kyselina | 0,09 \pm 0,02 ^{d,A} | 0,07 \pm 0,01 ^{d,A} | 0,07 \pm 0,01 ^{d,A} |
| Ferulová kyselina | 0,16 \pm 0,01 ^{e,A} | 0,11 \pm 0,01 ^{e,B} | 0,09 \pm 0,03 ^{d,B} |
| Sinapová kyselina | 1,13 \pm 0,02 ^{f,A} | 0,88 \pm 0,04 ^{f,B} | 0,71 \pm 0,01 ^{e,C} |
| <i>trans</i> -2-Hydroxykyskořičová kyselina | 0,11 \pm 0,01 ^{d,A} | 0,09 \pm 0,02 ^{d,A} | 0,09 \pm 0,02 ^{d,A} |
| <i>Flavonoidy</i> | | | |
| Epigallokatechin | 48,7 \pm 1,5 ^{a,A} | 42,0 \pm 1,6 ^{a,A} | 45,6 \pm 1,9 ^{a,A} |
| Katechin | 0,04 \pm 0,01 ^{b,A} | 0,17 \pm 0,01 ^{b,B} | 0,03 \pm 0,01 ^{b,A} |
| Epikatechin | 5,43 \pm 0,05 ^{c,A} | 4,91 \pm 0,17 ^{c,B} | 4,44 \pm 0,32 ^{c,B} |
| Rutin | 1,67 \pm 0,02 ^{d,A} | 1,18 \pm 0,01 ^{d,B} | 1,22 \pm 0,02 ^{d,B} |
| Kvercetin | 0,21 \pm 0,01 ^{e,A} | 0,14 \pm 0,01 ^{b,B} | 0,14 \pm 0,01 ^{e,B} |

Hodnoty ve sloupcích, které mají stejné písmenné indexy, mezi sebou nevykazují statisticky významný rozdíl ($P \geq 0,05$), hodnoty ve sloupcích, které mají odlišné písmenné indexy, se mezi sebou statisticky liší ($P < 0,05$). Hodnoty v řádcích, které mají stejné velké písmenné indexy, mezi sebou nevykazují statisticky významný rozdíl ($P \geq 0,05$), hodnoty v řádcích, které mají odlišné velké písmenné indexy, se mezi sebou statisticky liší ($P < 0,05$).

Tab. 10: Výsledky stanovení jednotlivých polyfenolů metodou HPLC u vzorku Allnature

| Standard | Allnature ± SD (µg.100 ml ⁻¹) | | |
|---|---|------------------------------|------------------------------|
| | 1. metoda | 2. metoda | 3. metoda |
| <i>Deriváty kyseliny hydroxybenzoové</i> | | | |
| Gallová kyselina | 0,33 ± 0,02 ^{a,A} | 0,32 ± 0,02 ^{a,A} | 0,36 ± 0,01 ^{a,A} |
| 3,4-Dihydroxybenzoová kyselina | 0,52 ± 0,03 ^{b,A} | 0,50 ± 0,04 ^{b,A} | 0,50 ± 0,01 ^{b,A} |
| 4-Hydroxybenzoová kyselina | 0,10 ± 0,02 ^{c,A} | 0,10 ± 0,01 ^{c,A} | 0,10 ± 0,01 ^{c,A} |
| Vanilová kyselina | 0,05 ± 0,01 ^{d,A} | 0,05 ± 0,01 ^{d,A} | 0,07 ± 0,01 ^{c,d,A} |
| Syringová kyselina | 0,06 ± 0,01 ^{c,d,A} | 0,05 ± 0,01 ^{d,A} | 0,06 ± 0,01 ^{d,A} |
| Elagová kyselina | 1,74 ± 0,04 ^{e,A} | 1,50 ± 0,01 ^{e,B} | 1,58 ± 0,01 ^{e,C} |
| Etylester kyseliny protocatechové | 0,07 ± 0,01 ^{c,d,A} | 0,07 ± 0,02 ^{d,A} | 0,05 ± 0,01 ^{d,A} |
| <i>Deriváty kyseliny hydroxyskořicové</i> | | | |
| Neochlorogenová kyselina | 0,12 ± 0,01 ^{a,A} | 0,11 ± 0,03 ^{a,A} | 0,10 ± 0,01 ^{a,A} |
| Chlorogenová kyselina | 29,6 ± 0,5 ^{b,A} | 27,8 ± 0,2 ^{b,A} | 28,8 ± 0,1 ^{b,A} |
| Kávoová kyselina | 0,03 ± 0,01 ^{c,A} | 0,03 ± 0,01 ^{c,A} | 0,03 ± 0,01 ^{c,A} |
| <i>trans-p</i> -Kumarová kyselina | 0,07 ± 0,01 ^{d,A} | 0,06 ± 0,01 ^{c,A} | 0,07 ± 0,01 ^{a,A} |
| Ferulová kyselina | 0,07 ± 0,01 ^{d,A} | 0,08 ± 0,01 ^{c,d,A} | 0,07 ± 0,02 ^{a,A} |
| Sinapová kyselina | 0,75 ± 0,02 ^{e,A} | 0,71 ± 0,04 ^{e,A} | 0,70 ± 0,01 ^{d,A} |
| <i>trans-2</i> -Hydroxyskořicová kyselina | 0,12 ± 0,01 ^{a,A} | 0,11 ± 0,03 ^{a,d,A} | 0,10 ± 0,02 ^{a,A} |
| <i>Flavonoidy</i> | | | |
| Epigallokatechin | 36,7 ± 0,4 ^{a,A} | 39,8 ± 0,1 ^{a,B} | 41,0 ± 0,1 ^{a,B} |
| Katechin | 0,03 ± 0,01 ^{b,A} | 0,26 ± 0,02 ^{b,B} | 0,05 ± 0,01 ^{b,A} |
| Epikatechin | 4,19 ± 0,04 ^{c,A} | 4,44 ± 0,06 ^{c,B} | 4,47 ± 0,04 ^{c,B} |
| Rutin | 0,67 ± 0,06 ^{d,A} | 0,77 ± 0,02 ^{d,A} | 0,70 ± 0,05 ^{d,A} |
| Kvercetin | 0,18 ± 0,02 ^{e,A} | 0,12 ± 0,01 ^{e,A} | 0,14 ± 0,01 ^{e,A} |

Hodnoty ve sloupcích, které mají stejné písmenné indexy, mezi sebou nevykazují statisticky významný rozdíl ($P \geq 0,05$), hodnoty ve sloupcích, které mají odlišné písmenné indexy, se mezi sebou statisticky liší ($P < 0,05$). Hodnoty v řádcích, které mají stejné velké písmenné indexy, mezi sebou nevykazují statisticky významný rozdíl ($P \geq 0,05$), hodnoty v řádcích, které mají odlišné velké písmenné indexy, se mezi sebou statisticky liší ($P < 0,05$).

Tab. 11: Výsledky stanovení jednotlivých polyfenolů metodou HPLC u vzorku Wolfberry

| Standard | Wolfberry ± SD (µg.100 ml ⁻¹) | | |
|---|---|------------------------------|------------------------------|
| | 1. metoda | 2. metoda | 3. metoda |
| <i>Deriváty kyseliny hydroxybenzoové</i> | | | |
| Gallová kyselina | 0,31 ± 0,03 ^{a,A} | 0,30 ± 0,01 ^{a,A} | 0,38 ± 0,02 ^{a,B} |
| 3,4-Dihydroxybenzoová kyselina | 0,42 ± 0,02 ^{b,A} | 0,40 ± 0,01 ^{b,A} | 0,39 ± 0,02 ^{a,A} |
| 4-Hydroxybenzoová kyselina | 0,10 ± 0,01 ^{c,A} | 0,09 ± 0,02 ^{c,A} | 0,09 ± 0,02 ^{b,A} |
| Vanilová kyselina | 0,03 ± 0,01 ^{d,A} | 0,03 ± 0,01 ^{d,A} | 0,03 ± 0,01 ^{d,A} |
| Syringová kyselina | 0,03 ± 0,01 ^{d,A} | 0,04 ± 0,01 ^{d,e,A} | 0,03 ± 0,01 ^{d,A} |
| Elagová kyselina | 1,84 ± 0,02 ^{e,A} | 1,59 ± 0,01 ^{f,B} | 1,55 ± 0,05 ^{e,B} |
| Etylster kyseliny protokatechové | 0,08 ± 0,02 ^{c,A} | 0,07 ± 0,01 ^{c,e,A} | 0,06 ± 0,01 ^{b,d,A} |
| <i>Deriváty kyseliny hydroxyskořicové</i> | | | |
| Neochlorogenová kyselina | 0,14 ± 0,02 ^{a,A} | 0,13 ± 0,03 ^{a,A} | 0,12 ± 0,02 ^{a,A} |
| Chlorogenová kyselina | 31,8 ± 0,4 ^{b,A} | 28,8 ± 0,6 ^{b,B} | 29,5 ± 0,6 ^{b,B} |
| Kávoová kyselina | 0,03 ± 0,01 ^{c,A} | 0,03 ± 0,01 ^{c,A} | 0,03 ± 0,01 ^{c,A} |
| <i>trans-p</i> -Kumarová kyselina | 0,07 ± 0,02 ^{c,d,A} | 0,06 ± 0,01 ^{c,d,A} | 0,06 ± 0,01 ^{c,d,A} |
| Ferulová kyselina | 0,10 ± 0,03 ^{a,d,A} | 0,07 ± 0,01 ^{d,A} | 0,07 ± 0,01 ^{d,e,A} |
| Sinapová kyselina | 0,92 ± 0,10 ^{e,A} | 0,69 ± 0,04 ^{e,B} | 0,70 ± 0,03 ^{f,B} |
| <i>trans-2</i> -Hydroxyskořicová kyselina | 0,13 ± 0,02 ^{a,A} | 0,10 ± 0,02 ^{a,d,A} | 0,11 ± 0,02 ^{a,e,A} |
| <i>Flavonoidy</i> | | | |
| Epigallokatechin | 43,2 ± 0,3 ^{a,A} | 39,8 ± 0,9 ^{a,B} | 39,8 ± 0,3 ^{a,B} |
| Katechin | 0,03 ± 0,01 ^{b,A} | 0,15 ± 0,01 ^{b,B} | 0,04 ± 0,01 ^{b,A} |
| Epikatechin | 4,75 ± 0,02 ^{c,A} | 4,50 ± 0,01 ^{c,B} | 4,27 ± 0,08 ^{c,C} |
| Rutin | 0,95 ± 0,01 ^{d,A} | 0,75 ± 0,01 ^{d,B} | 0,70 ± 0,03 ^{d,B} |
| Kvercetin | 0,18 ± 0,02 ^{e,A} | 0,13 ± 0,02 ^{b,A} | 0,14 ± 0,02 ^{e,A} |

Hodnoty ve sloupcích, které mají stejné písmenné indexy, mezi sebou nevykazují statisticky významný rozdíl ($P \geq 0,05$), hodnoty ve sloupcích, které mají odlišné písmenné indexy, se mezi sebou statisticky liší ($P < 0,05$). Hodnoty v řádcích, které mají stejné velké písmenné indexy, mezi sebou nevykazují statisticky významný rozdíl ($P \geq 0,05$), hodnoty v řádcích, které mají odlišné velké písmenné indexy, se mezi sebou statisticky liší ($P < 0,05$).

Mnoho studií ukázalo, že zelený čaj je bohatý na katechiny. Katechiny jsou hlavní flavan-3-oly v čaji a mohou představovat více než 30 % rozpuštěných pevných látek v roztocích a extraktech zeleného čaje. Katechin tvoří více než 10 % sušiny zelených čajů [37].

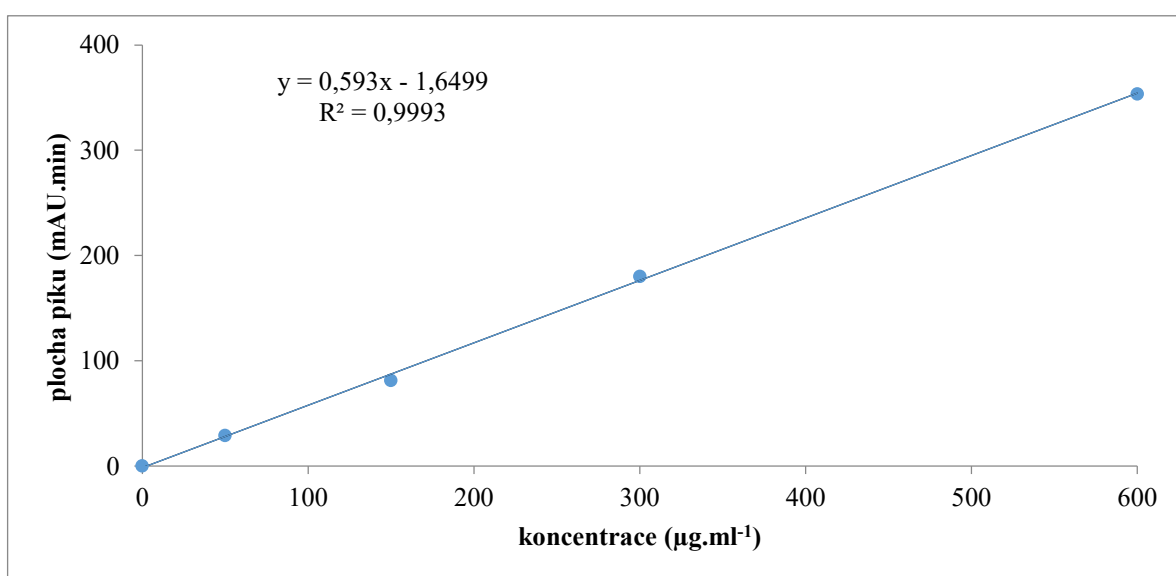
Ve třech zastoupených vzorcích byly mezi všemi vzorky ve vyšších koncentracích detekovány epigallokatechin, chlorogenová kyselina a epikatechin. Epigallokatechin a epikatechin patří do skupiny flavonoidů. Poměrně často se mezi zastoupenými vzorky objevovala také kyselina elagová a rutin. Naopak mezi polyfenolické látky, které byly ve vzorcích detekovány ve velmi malém množství, patří kyselina vanilová, syringová a kávová.

Nejvíce zastoupené polyfenolické látky u vzorku Japan tea byly epigallokatechin ($42,0 - 48,7 \mu\text{g} \cdot 100 \text{ ml}^{-1}$) a kyselina chlorogenová ($33,1 - 36,3 \mu\text{g} \cdot 100 \text{ ml}^{-1}$). Stejně tomu tak bylo i u vzorků Allnature a Wolfberry. Zastoupení epigallokatechinu u vzorku Allnature se pohyboval v rozmezí $36,7 - 41,0 \mu\text{g} \cdot 100 \text{ ml}^{-1}$ a u vzorku Wolfberry v rozmezí $39,8 - 43,2 \mu\text{g} \cdot 100 \text{ ml}^{-1}$. Kyselina chlorogenová byla u vzorku Allnature v množství $27,8 - 29,6 \mu\text{g} \cdot 100 \text{ ml}^{-1}$, u Wolfberry bylo množství této kyseliny v rozmezí $28,8 - 31,8 \mu\text{g} \cdot 100 \text{ ml}^{-1}$. Naopak nejnižší hodnoty koncentrací byly naměřeny u kyseliny vanilové a syringové. U vzorku Japan tea byly hodnoty pro kyselinu vanilovou ve všech třech metodách přípravy $0,05 \mu\text{g} \cdot 100 \text{ ml}^{-1}$. Vzorky Allnature a Wolfberry měly zastoupení kyseliny vanilové v množství od $0,03$ do $0,07 \mu\text{g} \cdot 100 \text{ ml}^{-1}$. Kyselina syringová byla u všech tří vzorků v rozmezí od $0,03$ do $0,07 \mu\text{g} \cdot 100 \text{ ml}^{-1}$. Nejvyšší hodnoty koncentrací kyseliny syringové byly naměřeny u vzorku Japan tea ($0,04 - 0,07 \mu\text{g} \cdot 100 \text{ ml}^{-1}$), oproti vzorkům Allnature a Wolfberry ($0,03 - 0,06 \mu\text{g} \cdot 100 \text{ ml}^{-1}$).

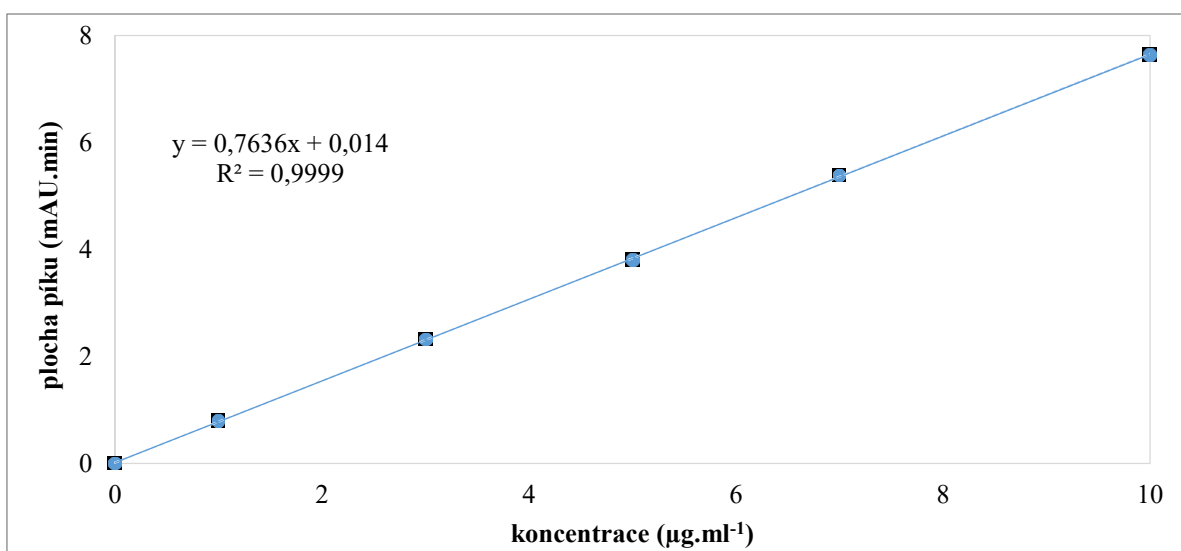
Konzumace matcha ledových čajů by mohla mít za následek výrazně vyšší příjem EGC ve srovnání s pitím jiných druhů zeleného čaje [16]. Po konzumaci zeleného čaje se flavan-3-oly rychle absorbují a dosahují maximální koncentrace mezi 0,5 a 2 h, následuje jejich rychlý metabolismus a vylučování (mezi 1 a 8 h) [84]. Dále je také známo, že fenolové kyseliny působí proti chorobám způsobeným oxidačním poškozením, jako je například mrtvice a rakovina [16, 23].

6.4 Výsledky stanovení koncentrací kofeinu, theobrominu, theofylinu a theaninu

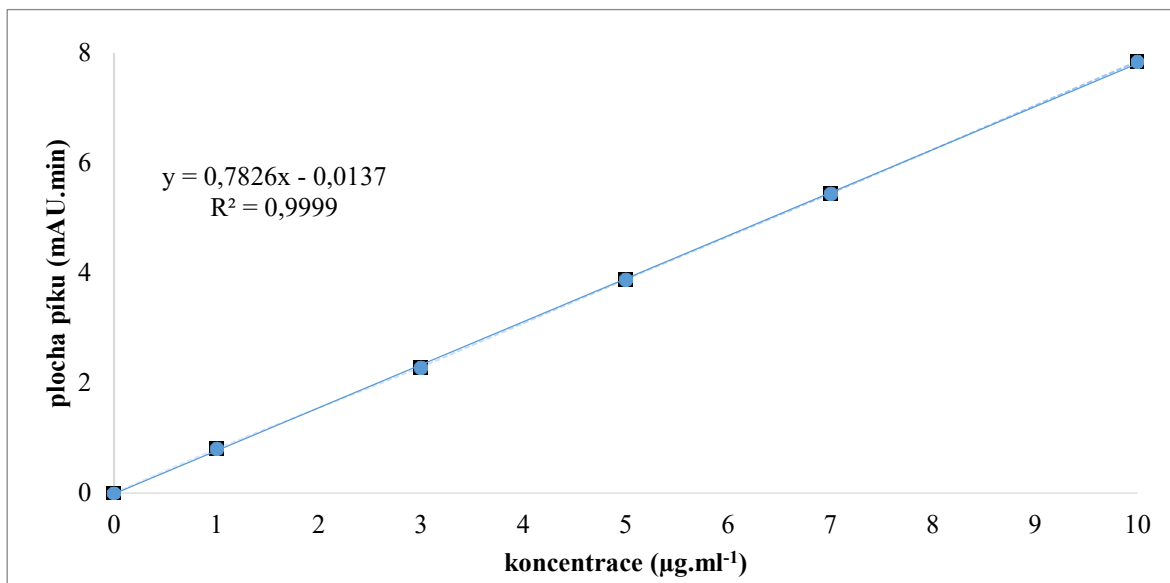
Nejprve byly proměřeny jednotlivé kalibrační body standardů a následně byly sestrojeny kalibrační křivky (obr. 15 až 18) v rozmezí koncentrací pro kofein od 50 do 600 $\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$ (koncentrace 50; 150; 300 a 600 $\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$), pro theobromin a theofylin od 1 do 10 $\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$ (koncentrace 1, 3, 5, 7 a 10 $\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$) a pro theanin od 20 do 100 $\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$ (koncentrace 20, 60, 80 a 100 $\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$). Z rovnic lineární regrese byly vypočítány obsahy kofeinu, theobrominu, theofylinu a theaninu v $\mu\text{g}\cdot 100\text{ ml}^{-1}$.



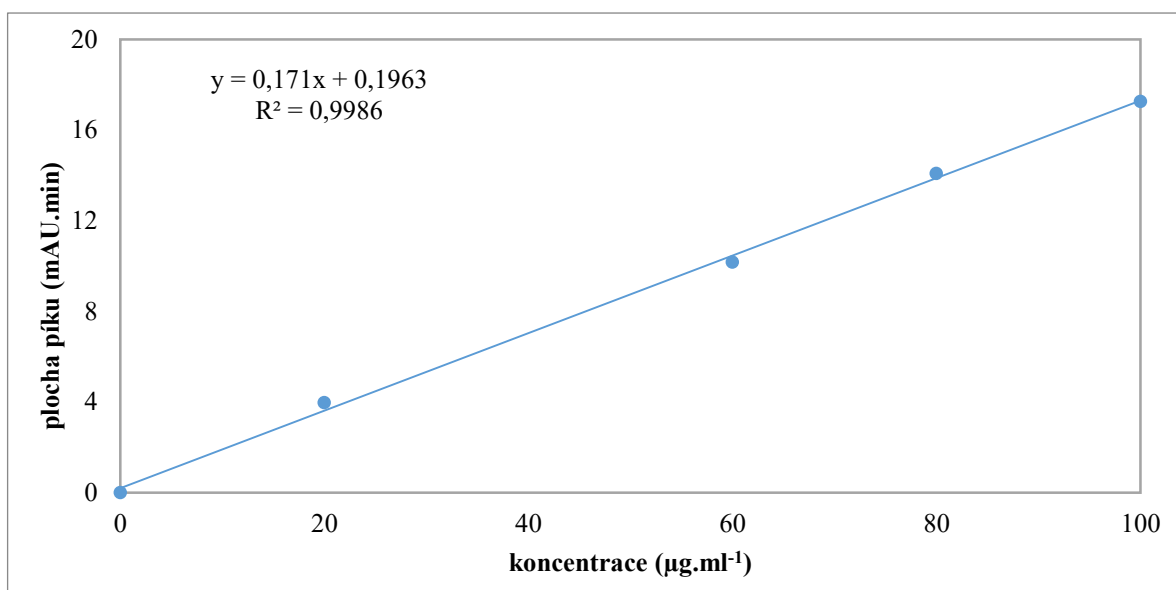
Obr. 15: Kalibrační křivka pro stanovení kofeinu



Obr. 16: Kalibrační křivka pro stanovení theobrominu



Obr. 17: Kalibrační křivka pro stanovení theofylinu



Obr. 18: Kalibrační křivka pro stanovení theaninu

Výsledky stanovení koncentrací kofeinu, theobrominu, theofylinu a theaninu jsou zapsány do tabulky 12. Výsledky stanovení obsahu jednotlivých látek ve vzorku jsou vyjádřeny v μg na 100 ml vzorku.

Tab. 12: Výsledky stanovení obsahu kofeinu, theobrominu, theofylinu a theaninu

| vzorek | Kofein \pm SD [$\mu\text{g}\cdot 100 \text{ ml}^{-1}$] | | |
|-----------|--|------------------------|-----------------------|
| | 1. metoda | 2. metoda | 3. metoda |
| Japan tea | $14,7 \pm 0,2^{a,A}$ | $12,7 \pm 0,6^{a,B}$ | $14,0 \pm 0,4^{a,A}$ |
| Allnature | $11,9 \pm 0,6^{b,A}$ | $11,1 \pm 0,1^{b,A}$ | $11,8 \pm 0,3^{b,A}$ |
| Wolfberry | $13,1 \pm 0,1^{c,A}$ | $11,7 \pm 0,1^{a,b,B}$ | $12,3 \pm 0,2^{b,B}$ |
| | Theobromin \pm SD [$\mu\text{g}\cdot 100 \text{ ml}^{-1}$] | | |
| | 1. metoda | 2. metoda | 3. metoda |
| Japan tea | $0,11 \pm 0,01^{a,A}$ | $0,11 \pm 0,03^{a,A}$ | $0,11 \pm 0,04^{a,A}$ |
| Allnature | $0,21 \pm 0,01^{b,A}$ | $0,22 \pm 0,03^{b,A}$ | $0,22 \pm 0,01^{b,A}$ |
| Wolfberry | $0,18 \pm 0,02^{b,A}$ | $0,17 \pm 0,01^{b,A}$ | $0,18 \pm 0,03^{b,A}$ |
| | Theofylin \pm SD [$\mu\text{g}\cdot 100 \text{ ml}^{-1}$] | | |
| | 1. metoda | 2. metoda | 3. metoda |
| Japan tea | < 0,01 | < 0,01 | < 0,01 |
| Allnature | < 0,02 | < 0,02 | < 0,01 |
| Wolfberry | < 0,02 | < 0,02 | < 0,01 |
| | Theanin \pm SD [$\mu\text{g}\cdot 100 \text{ ml}^{-1}$] | | |
| | 1. metoda | 2. metoda | 3. metoda |
| Japan tea | $5,13 \pm 0,05^{a,A}$ | $8,38 \pm 0,05^{a,B}$ | $5,20 \pm 0,07^{a,A}$ |
| Allnature | $3,60 \pm 0,05^{b,A}$ | $3,65 \pm 0,01^{b,A}$ | $3,74 \pm 0,08^{b,A}$ |
| Wolfberry | $3,74 \pm 0,01^{c,A}$ | $3,28 \pm 0,09^{c,B}$ | $3,48 \pm 0,09^{c,B}$ |

Hodnoty ve sloupcích, které mají stejné malé písmenné indexy, mezi sebou nevykazují statisticky významný rozdíl ($P \geq 0,05$), hodnoty ve sloupcích, které mají odlišné malé písmenné indexy, se mezi sebou statisticky liší ($P < 0,05$). Hodnoty v řádcích, které mají stejné velké písmenné indexy, mezi sebou nevykazují statisticky významný rozdíl ($P \geq 0,05$), hodnoty v řádcích, které mají odlišné velké písmenné indexy, se mezi sebou statisticky liší ($P < 0,05$).

Čajovníkové listy obsahují kofein (přibližně 3,5 % na sušinu vzorku), theobromin (0,15 – 0,20 %), theofylin (0,02 – 0,04 %) a theanin (4%) a mnoho dalších sloučenin. Sloučeniny, které přispívají k charakteristické chuti čaje, jsou polyfenolické sloučeniny, volné aminokyseliny a právě také kofein [83]. Ačkoli existuje zvýšený zájem o možné zdravotní přínosy spojené s L-theaninem z čaje, jen velmi málo studií studovalo účinky přítomnosti enantiomerů těchto sloučenin (D, L-theanin) na biologickou dostupnost. S L-theaninem bylo spojeno mnoho zdravotních výhod jako duševní relaxace, hypolipidemie, regulace krevního tlaku a potlačení stimulačního účinku kofeinu [84]. Kofein je hlavní bioaktivní složkou čaje matcha po EGCG a L-theaninu. Je to jeden z běžně nejrozšířenějších stimulantů CNS na světě. V závislosti na typu/druhu a přípravě čaje

obsahuje jeden šálek mezi 35 až 250 mg kofeinu. Bylo zjištěno, že již nízká množství jako 40 – 75 mg, vyvolávají významné pozitivní účinky na náladu a kognitivní schopnosti [86].

Obsah kofeinu se v jednotlivých vzorcích ledových matcha čajů pohyboval v rozmezí 11,1 – 14,7 $\mu\text{g}\cdot 100\text{ ml}^{-1}$, přičemž nejvyšší koncentraci kofeinu vykazoval vzorek Japan tea při přípravě první metodou. Nejnižší hodnota kofeinu byla naměřena u vzorku Allnature v druhé metodě přípravy. Z tabulky lze vyčíst, že celkově nejnižší hodnoty kofeinu byly detekovány u vzorku Allnature. Obsah theobrominu se v jednotlivých vzorcích pohyboval v rozmezí od 0,11 do 0,22 $\mu\text{g}\cdot 100\text{ ml}^{-1}$. Z naměřených hodnot, které můžeme vidět v tabulce 12, lze usoudit, že nejvyšší obsah theobrominu měly vzorky Allnature a Wolfberry (0,18 – 0,22 $\mu\text{g}\cdot 100\text{ ml}^{-1}$), naopak nejnižší obsah theobrominu byl naměřen u vzorků Japan tea. Z výsledků nelze jednoznačně určit, u které metody byl obsah theobrominu v ledových matcha čajích nejvyšší. Hicks a kol. (1996) ve své práci prezentují celkový obsah theobrominu u černých čajů (1,64 a 1,69 $\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$) a v oolong čajích (0,65 a 0,71 $\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$). Theobromin nebyl detekován ve vzorcích bylinného čaje [99]. Hodnoty koncentrací theofylinu v ledových matcha čajích byly velmi nízké. U vzorku Japan tea se obsah theofylinu pohyboval nižší než 0,01 $\mu\text{g}\cdot 100\text{ ml}^{-1}$. U vzorků Allnature a Wolfberry se množství theofylinu pohybovalo od 0,01 do 0,02 $\mu\text{g}\cdot 100\text{ ml}^{-1}$, přičemž u metody 3 se hodnoty pohybovaly nižší než 0,01 $\mu\text{g}\cdot 100\text{ ml}^{-1}$. Čajové listy obsahují mnoho sloučenin, z nichž jedna skupina jsou methylxantiny (kofein, theobromin a theofylin). Hicks a kol. (1996) ve svém výzkumu uvádí, že ani v jednom testovaném vzorku čaje (černý, zelený, oolong a bylinný) nebyl detekován theofylin. Spotřeba methylxantinu způsobuje sníženou ospalost a sníženou únavu při dávkách mezi 50 a 200 mg za den a může způsobit také zdravotní problémy, jako je bolest hlavy, třes, nervozita a podrážděnost v dávkách mezi 200 a 500 mg za den [99]. Vzorek Wolfberry obsahuje nejnižší množství theaninu, a to 3,28 $\mu\text{g}\cdot 100\text{ ml}^{-1}$, oproti vzorku Japan tea, který má nejvyšší obsah theaninu (8,38 $\mu\text{g}\cdot 100\text{ ml}^{-1}$) v případě druhé metody přípravy. Všechny vzorky se v obsahu theaninu navzájem statisticky lišily. L-theanin je farmakologicky významnou složkou čaje, zejména díky svým účinkům na centrální nervový systém. Theanin má relaxační účinek a zpracování čaje může ovlivnit jeho obsah v čajových listech. Boros a kol. (2016) ve svém výzkumu uvádí, že obsah L-theaninu v bílém, zeleném, oolong a černém čaji byl (6,26; 6,56; 6,09 a 5,13 $\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$) [100].

6.5 Výsledky měření obsahu minerálních a stopových prvků

6.5.1 Údaje o referenčním materiálu a výsledná výtěžnost

Certifikovaný materiál čajových listů byl připravený postupem uvedeným v kapitole 5.9.3. Následně byla vypočítána výtěžnost u stanovení jednotlivých prvků pomocí AAS.

Tab. 13: Referenční materiál a výtěžnost

| Referenční materiál | Prvek | Výsledek měření ^{a,b} (mg.kg ⁻¹) | Certifikovaný ^a materiál (mg.kg ⁻¹) | Výtěžnost (%) |
|--------------------------|-------|---|--|---------------|
| Čajové listy (INCT-TL-1) | Na | 23,8 ± 2,5 | 24,7 ± 3,2 | 96,4 |
| | Mg | 2190 ± 13 | 2240 ± 17 | 97,8 |
| | K | 1625 ± 70 | 1700 ± 120 | 95,6 |
| | Ca | 5805 ± 27 | 5820 ± 52 | 99,7 |
| | Mn | 1540 ± 10 | 1570 ± 11 | 98,1 |
| | Fe | 415 | 432 | 95,4 |
| | Zn | 33,2 ± 1,9 | 34,7 ± 2,7 | 95,7 |
| | Se | 0,073 | 0,076 | 96,1 |

^a střední hodnota ± směrodatná odchylka, ^b interval spolehlivosti: 95%

6.5.2 Kalibrace pro měření pomocí AAS

Byly připraveny a proměřeny jednotlivé kalibrační body standardů a následně byly sestrojeny jejich kalibrační křivky (ukázky kalibračních křivek jsou uvedeny v Příloze PII) v rozmezí koncentrací od 0,5 do 100 mg.l⁻¹ (koncentrace 0,5; 2; 2,5; 5; 10; 15; 30; 50 a 100 mg.l⁻¹). Z rovnic regresí byly vypočítány obsahy minerálních prvků v mg.g⁻¹. U železa byla použita regrese polynomem 2. stupně, u zinku a manganu se použila regrese lineární lomenou funkcí ve tvaru $y = (ax+b)/(1+cx)$. Ostatní prvky byly vyhodnoceny metodou lineární regrese.

6.5.3 Výsledky stanovení minerálních a stopových prvků metodou AAS

Tabulky 14 a 15 představují výsledné hodnoty obsahu minerálních prvků ve vzorcích matcha čajů. Příprava vzorků a stanovení bylo provedené metodami, které byly uvedené v kapitole 5.9. Jednotlivé prvky byly měřeny v práškové formě i ve vodných vyluzích.

Tab. 14: Obsahy minerálních prvků v práškové formě matcha čaje

| Prvek | Japan tea \pm SD (mg.g ⁻¹) | Allnature \pm SD (mg.g ⁻¹) | Wolfberry \pm SD (mg.g ⁻¹) |
|------------------|--|--|--|
| ²³ Na | 0,03 \pm 0,01 ^a | 0,03 \pm 0,01 ^a | 0,03 \pm 0,01 ^a |
| ²⁴ Mg | 2,68 \pm 0,09 ^b | 2,21 \pm 0,08 ^b | 1,96 \pm 0,07 ^b |
| ³⁹ K | 9,71 \pm 0,21 ^c | 9,63 \pm 0,05 ^c | 9,38 \pm 0,14 ^c |
| ⁴⁴ Ca | 0,76 \pm 0,02 ^d | 0,68 \pm 0,02 ^d | 0,58 \pm 0,05 ^d |
| ⁵⁵ Mn | 1,16 \pm 0,01 ^e | 1,55 \pm 0,01 ^e | 1,50 \pm 0,00 ^e |
| ⁵⁷ Fe | 0,07 \pm 0,01 ^f | 0,22 \pm 0,01 ^f | 0,17 \pm 0,01 ^f |
| ⁶⁶ Zn | 0,03 \pm 0,01 ^a | 0,04 \pm 0,01 ^a | 0,03 \pm 0,01 ^a |
| ⁷⁷ Se | 0,33 \pm 0,01 ^g | 0,33 \pm 0,01 ^g | 0,33 \pm 0,01 ^g |

Hodnoty ve sloupcích, které mají stejné písmenné indexy, mezi sebou nevykazují statisticky významný rozdíl ($P \geq 0,05$), hodnoty v řádcích, které mají odlišné písmenné indexy, se mezi sebou statisticky liší ($P < 0,05$).

Tab. 15: Obsahy minerálních a stopových prvků ve vodném výluhu přepočtené na vyluhování z 1 g

| Prvek | Metoda | Japan tea \pm SD (μg.g ⁻¹) | Allnature \pm SD (μg.g ⁻¹) | Wolfberry \pm SD (μg.g ⁻¹) |
|------------------|-----------|--|--|--|
| ²³ Na | 1. metoda | 1,94 \pm 0,65 ^{a,A} | 2,65 \pm 0,70 ^{a,A} | 1,16 \pm 0,56 ^{a,C} |
| | 2. metoda | 3,04 \pm 0,12 ^{b,A} | 2,13 \pm 0,11 ^{a,b,B} | 2,88 \pm 0,05 ^{b,A} |
| | 3. metoda | 3,61 \pm 0,09 ^{c,A} | 2,60 \pm 0,05 ^{a,B} | 2,96 \pm 0,12 ^{b,C} |
| | | (mg.g ⁻¹) | (mg.g ⁻¹) | (mg.g ⁻¹) |
| ²⁴ Mg | 1. metoda | 2,27 \pm 0,01 ^{a,A} | 1,93 \pm 0,15 ^{a,B} | 1,76 \pm 0,12 ^{a,B} |
| | 2. metoda | 2,05 \pm 0,08 ^{b,A} | 1,37 \pm 0,01 ^{b,B} | 1,45 \pm 0,04 ^{b,B} |
| | 3. metoda | 2,15 \pm 0,12 ^{b,A} | 1,44 \pm 0,05 ^{b,B} | 1,48 \pm 0,11 ^{b,B} |
| | | (μg.g ⁻¹) | (μg.g ⁻¹) | (μg.g ⁻¹) |
| ³⁹ K | 1. metoda | 9,43 \pm 0,01 ^{a,A} | 8,57 \pm 0,01 ^{a,B} | 8,11 \pm 0,03 ^{a,C} |
| | 2. metoda | 9,79 \pm 0,01 ^{b,A} | 8,39 \pm 0,15 ^{a,B} | 8,76 \pm 0,03 ^{b,C} |
| | 3. metoda | 9,81 \pm 0,01 ^{b,A} | 8,40 \pm 0,41 ^{a,B} | 8,39 \pm 0,05 ^{c,B} |
| | | (μg.g ⁻¹) | (μg.g ⁻¹) | (μg.g ⁻¹) |
| ⁴⁴ Ca | 1. metoda | 0,70 \pm 0,02 ^{a,A} | 0,77 \pm 0,01 ^{a,B} | 0,63 \pm 0,03 ^{a,A} |
| | 2. metoda | 0,52 \pm 0,05 ^{b,A} | 0,52 \pm 0,01 ^{b,A} | 0,57 \pm 0,08 ^{a,A} |
| | 3. metoda | 1,01 \pm 0,08 ^{c,A} | 0,53 \pm 0,03 ^{b,B} | 0,54 \pm 0,06 ^{a,B} |
| | | (mg.g ⁻¹) | (mg.g ⁻¹) | (mg.g ⁻¹) |
| ⁵⁵ Mn | 1. metoda | 0,25 \pm 0,01 ^{a,A} | 0,17 \pm 0,02 ^{a,B} | 0,18 \pm 0,01 ^{a,B} |
| | 2. metoda | 0,24 \pm 0,01 ^{a,A} | 0,22 \pm 0,02 ^{a,A} | 0,22 \pm 0,02 ^{a,A} |
| | 3. metoda | 0,26 \pm 0,04 ^{a,A} | 0,22 \pm 0,02 ^{a,A} | 0,21 \pm 0,03 ^{a,A} |
| | | (mg.g ⁻¹) | (mg.g ⁻¹) | (mg.g ⁻¹) |
| ⁵⁷ Fe | 1. metoda | < 0,01 | < 0,02 | < 0,01 |
| | 2. metoda | < 0,01 | < 0,02 | < 0,02 |
| | 3. metoda | < 0,02 | < 0,01 | < 0,02 |
| | | (mg.g ⁻¹) | (mg.g ⁻¹) | (mg.g ⁻¹) |
| ⁶⁶ Zn | 1. metoda | < 0,01 | < 0,02 | < 0,02 |

| | | | | |
|------------------|------------------|----------------------------|----------------------------|----------------------------|
| | 2. metoda | < 0,02 | < 0,02 | < 0,02 |
| | 3. metoda | < 0,02 | < 0,01 | < 0,01 |
| | | (mg.g⁻¹) | (mg.g⁻¹) | (mg.g⁻¹) |
| ⁷⁷ Se | 1. metoda | 0,03 ± 0,01 ^{a,A} | 0,03 ± 0,01 ^{a,A} | 0,05 ± 0,01 ^{a,A} |
| | 2. metoda | 0,08 ± 0,01 ^{b,A} | 0,08 ± 0,01 ^{b,A} | 0,05 ± 0,01 ^{a,A} |
| | 3. metoda | 0,11 ± 0,01 ^{b,A} | 0,13 ± 0,01 ^{c,A} | 0,12 ± 0,01 ^{b,A} |

Hodnoty ve sloupcích, které mají stejné malé písmenné indexy, mezi sebou nevykazují statisticky významný rozdíl ($P \geq 0,05$), hodnoty ve sloupcích, které mají odlišné malé písmenné indexy, se mezi sebou statisticky liší ($P < 0,05$). Hodnoty v řádcích, které mají stejné velké písmenné indexy, mezi sebou nevykazují statisticky významný rozdíl ($P \geq 0,05$), hodnoty v řádcích, které mají odlišné velké písmenné indexy, se mezi sebou statisticky liší ($P < 0,05$).

Obsahy makroprvků (Na, K, Ca, Mg) a mikroprvků (Mn, Fe, Zn, Se) jsou prezentovány v tabulkách 14 a 15. V tabulce 14 je prezentovaný obsah prvků v práškové formě čaje a tabulka 15 prezentuje obsah prvků ve vodném výluhu ledových matcha čajů (přepočteno na 1 gram použitého prášku). Mezi prvky, u nichž byla naměřena jejich vyšší koncentrace v práškové formě, lze jmenovat K, Mg a Mn, do vodného výluhu se ponejvíce uvolnily prvky K a Mn. Prvek Na je esenciální pro lidský organismus, reguluje krevní tlak. Nicméně, jeho vysoké koncentrace v potravinách jsou nežádoucí z hlediska výživy, způsobuje např. hypertenzi [86]. Koncentrace Na v prášku u všech matcha čajů byla 0,03 mg.g⁻¹, ve vodném výluhu byla jeho koncentrace 1,16 – 3,61 μg.g⁻¹. Bylinné čaje se vyznačují relativně vysokým obsahem Na 189 – 469 mg.kg⁻¹, obsah Na v zeleném čaji je 97 – 131 mg.kg⁻¹ [87]. Výsledky měření ukazují na nižší podíl Na v čaji matcha. Nedostatek Mg se projevuje především oslabením svalstva a kardiovaskulárním onemocněním. Jeho obsah v matcha čajích se pohyboval v rozmezí 1,96 – 2,68 mg.g⁻¹ u prášku a v rozmezí 1,37 – 2,27 mg.g⁻¹ ve vodném výluhu. Ve vzorcích černého čaje se obsah Mg pohybuje cca mezi 1,54 – 2,72 mg.kg⁻¹ [86]. Obsah K v práškové formě čaje dosahoval hodnoty 9,71 mg.g⁻¹ a ve vodném výluhu v rozmezí od 8,11 do 9,81 μg.g⁻¹. Vysoký obsah K je důležitý ve výživě člověka, zejména pro populaci s kardiovaskulárním onemocněním. V čajových listech jeho koncentrace může dosahovat až 21 600 mg.kg⁻¹ [86, 88].

Ca je velmi důležitý při svalových kontrakcích, aktivaci oocytů, budování kostí a zubů, srážení krve, regulaci srdečního rytmu a rovnováze tekutin v buňkách [89]. Obsah Ca byl v práškové formě od 0,58 do 0,76 mg.g⁻¹, ve vodném výluhu byl jeho obsah Ca 0,52 – 1,01 μg.g⁻¹. Obsah Ca v zelených čajích se pohybuje v rozmezí 2840 – 2960 mg.kg⁻¹. V

porovnání s bylinnými čaji je tato hodnota výrazně nižší, koncentrace Ca pro bylinné čaje je 19 700 – 36 150 mg.kg⁻¹ [86]. Deficit Mn v těle je vzácný. Nadměrné množství Mn má tendenci hromadit se v játrech, pankreatu, kostech, ledvinách a mozku. Mn se dostává do popředí i díky svojí neurotoxicitě. Mechanizmy toxicity zahrnují oxidační stres, mitochondriální dysfunkci a ztrátu proteinů. Obsah Mn byl v práškové formě do 1,55 mg.g⁻¹, ve vodném výluhu v rozmezí 0,17 – 0,26 mg.g⁻¹. Obsah Mn se v běžných vzorcích čaje pohybuje od 1,76 – 11,6 mg.l⁻¹ [25, 90]. Fe je základním prvkem pro téměř všechny živé organizmy. Podílí se na širokém spektru metabolických procesů včetně transportu kyslíku. Koncentrace Fe musí být v tělesných tkáních přísně regulovaná, protože v nadměrných koncentracích může vést k poškození tkániva. Poruchy metabolismu Fe patří mezi nejčastější onemocnění lidí, zahrnuje široké spektrum chorob od anémie až po neurodegenerativní onemocnění [91]. Koncentrace tohoto prvku byla v prášku naměřena v rozmezí od 0,07 do 0,22 mg.g⁻¹, u vodného výluhu se obsah Fe pohyboval pod 0,02 mg.g⁻¹. Nejvyšší koncentrace Fe byly naměřené u oolong čajů, naopak nejnižší pro černý čaj. Tato koncentrace se pohybovala v rozsahu od 180 – 320 µg.g⁻¹ [92]. Matcha by mohla být významným zdrojem Fe, avšak inhibiční účinek katechinových látek brání resorpci Fe v zažívacím traktu člověka. Studie uvádějí, že absorpci Fe brání polyfenolické sloučeniny, které by mohly interferovat s tímto prvkem, pak také kyselina fytová a taninová [93]. Zn byl zastoupený v koncentracích do 0,04 mg.g⁻¹ u práškové formy, ve vodném výluhu byla koncentrace Zn nižší než 0,02 mg.g⁻¹. Zn působí jako stabilizátor buněčných struktur a buněčných složek, zúčastňuje se mnohých metabolických pochodů v rostlinách, zejména jako hlavní komponent různých druhů enzymů – dehydrogenázy, proteinázy, peptidázy a fosfohydrolázy. Referenční denní dávka pro Zn je 8 – 11 mg za den [45, 88, 94]. Se se uplatňuje jako buněčný antioxidant a ochranný agens vůči toxickým prvkům [86]. Koncentrace tohoto prvku byla v práškové formě 0,33 mg.g⁻¹ u všech vzorků, obsah Se ve vodném výluhu se pohybovala v rozmezí od 0,03 do 0,13 mg.g⁻¹. Většina rostlin obsahuje nízké hladiny Se, okolo 25 µg.kg⁻¹ [94].

Porovnání vyluhovatelnosti jednotlivých prvků s literárními údaji je velmi obtížné, protože matcha čaj se konzumuje jak ve formě výluhu, tak také listů. Doposud nebyla relevantní studie o uvolňování minerálních prvků do výluhů z matcha čajů při přípravě ice-tea publikovaná. Hladiny makroprvků a mikroprvků v jednotlivých druzích čajů nejsou výrazně rozdílné, ale černé čaje jsou obvykle bohatší na stopové prvky než jiné druhy čajů, zejména díky specifickému způsobu výroby. Listy zeleného čaje se napařují, tento proces

může vést ke ztrátám některých prvků, zatím co listy černého čaje se suší vzduchem, takže ztráta prvků je nižší. Navíc, černé a tmavé čaje se vyrábějí ze starších listů, obohacených o vyšší koncentrace, zejména prvků ze skupiny kovů [95].

6.6 Výsledky stanovení rtuti na přístroji AMA

Tabulky 16 a 17 prezentují hodnoty koncentrací rtuti u jednotlivých vzorků ledových matcha čajů. Stanovení bylo provedeno metodou, která je uvedena v kapitole 5.10.

Tab. 16: Hodnoty koncentrací rtuti v práškové formě matcha čaje

| vzorek | Hg ± SD ($\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$) |
|-----------|---|
| Japan tea | $0,24 \pm 0,01^a$ |
| Allnature | $0,31 \pm 0,03^b$ |
| Wolfberry | $0,41 \pm 0,03^c$ |

Hodnoty ve sloupcích, které mají stejné písmenné indexy, mezi sebou nevykazují statisticky významný rozdíl ($P \geq 0,05$). Hodnoty ve sloupcích, které mají odlišné písemné indexy, se mezi sebou statisticky liší ($P < 0,05$).

Tab. 17: Hodnoty koncentrací rtuti v ledových matcha čajích přepočtené na vyluhování z 1 g

| vzorek | Hg ± SD ($\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$) | | |
|-----------|---|----------|----------|
| | 1 metoda | 2 metoda | 3 metoda |
| Japan tea | $0,15 \pm 0,02^a$ | ND | ND |
| Allnature | $0,20 \pm 0,01^b$ | ND | ND |
| Wolfberry | $0,25 \pm 0,02^c$ | ND | ND |

Hodnoty ve sloupcích, které mají stejné písmenné indexy, mezi sebou nevykazují statisticky významný rozdíl ($P \geq 0,05$). Hodnoty ve sloupcích, které mají odlišné písemné indexy, se mezi sebou statisticky liší ($P < 0,05$).

ND-nedetkováno, LOQ < 1 ng.g⁻¹

Tabulky 16 a 17 ukazují výsledky koncentrací rtuti v ledových matcha čajích, jak v práškové formě, tak ve vodném výluhu, kde byly výsledky vyjádřeny jako množství prvku vyluhovaného z 1 g prášku. Nejvyšší hodnota koncentrace Hg v práškové formě byla naměřena u vzorku čaje Wolfberry, a to $0,41 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$. Také u tohoto vzorku v případě metody 1 byla zaznamenána nejvyšší vyluhovatelnost tohoto prvku. U zbylých metod přípravy se hodnoty koncentrace Hg nenaměřily, resp. byly pod hladinou kalibrace přístroje.

Hg je charakteristická svou vysokou perzistencí v různých environmentálních kompartmentech a schopností bioakumulace v těle konzumenta, což způsobuje různé karcinogenní onemocnění a Alzheimerovu chorobu. Podle zjištění, obsah Hg pozitivně koreluje s hladinami katechinů nebo celkovým obsahem fenolů [98]. Toxicita prvku ovšem záleží na chemické formě, ve které se vyskytuje. Hg je velmi toxická, pokud se váže ve formě alkylortuťnatých sloučenin (např. methylrtuti). Hg má i vysokou afinitu k tiolovým skupinám peptidů a bílkovin [98].

6.7 Výsledky stanovení stravitelnosti

Stanovení stravitelnosti bylo provedeno podle metody, která je uvedena v kapitole 5.11. V tabulce 18 jsou prezentovány výsledky stanovení stravitelnosti matcha prášku.

Tab. 18: Výsledky stravitelnosti sušiny (DMD) a organické hmoty (OMD) matcha čajů

| vzorek | DMD [%] ± SD | OMD [%] ± SD |
|-----------|---------------------------|---------------------------|
| Japan tea | 92,8 ± 0,1 ^a | 94,0 ± 0,1 ^a |
| Allnature | 91,5 ± 0,8 ^b | 92,8 ± 0,7 ^b |
| Wolfberry | 89,8 ± 1,3 ^{b,c} | 91,3 ± 1,2 ^{b,c} |

Hodnoty ve sloupcích, které mají stejné písmenné indexy, mezi sebou nevykazují statisticky významný rozdíl ($P \geq 0,05$). Hodnoty ve sloupcích, které mají odlišné písmenné indexy, se mezi sebou statisticky liší ($P < 0,05$).

Stravitelnost byla vyjádřena jako stravitelnost sušiny (DMD) a organické hmoty (OMD) a byla stanovena dvoustupňovou hydrolyzou pomocí enzymů pepsinu a pankreatinu. Hodnoty stravitelnosti sušiny se pohybovaly od 89,8 do 92,8 %. Nejnižší stravitelnost vykazoval vzorek Allnature (91,5 – 92,8 %) a Wolfberry (89,8 a 91,3 %), naopak nejvyšší vzorek Japan tea (92,8 a 94,0 %).

Nejvyšší stravitelnost vzorku Japan tea může být způsobena díky nižšímu podílu vlákniny a vyššímu podílu hrubé bílkoviny, která byla u tohoto vzorku stanovena v rámci jiné práce, doposud nepublikované, na pracovišti UACHP. Z proteinů obsažených v čaji jsou důležité enzymy, které jsou odpovědné za proces fermentace. Stravitelnost bílkovin závisí na jejich struktuře, původu a zpracování [51]. Co se týče stravitelnosti organické hmoty ve vzorcích, pohybovala se cca o 1 až 2 % více, než je tomu u sušiny. Stravitelnost vzorků zvyšuje např. tepelná úprava, při které denaturují bílkoviny. Až do této chvíle je však většina studií o čaji v pokusech *in vitro* s velmi malým počtem intervenčních studií [84]. Pro metodu stanovení stravitelnosti potravin je nutné vzít v úvahu charakter

biologického materiálu pro zvolení vhodných podmínek při simulování trávení v lidském zažívacím ústrojí. Stravitelnost matchy závisí na jejím složení, ale také na typu použitého enzymu, který štěpí různé složky, které zůstávají po technologickém zpracování matchy v listech.

ZÁVĚR

Cílem práce bylo analyzovat nutriční látky v ledových matcha čajích. Teoretická část se věnuje pěstování a sklizni zeleného čaje. Dále se věnuje nutričním látkám zelených a matcha čajů a také přípravě ledových matcha čajů a jejich využití v gastronomii. Diplomová práce v experimentální části byla zaměřená na stanovení hodnot antioxidační aktivity pomocí metod s DPPH a ABTS, na stanovení celkového obsahu polyfenolů Folin–Ciocalteuho metodou, polyfenolického profilu metodou HPLC-UV, kofeinu, theaninu, theobrominu a theofylinu metodou HPLC-UV, minerálních a stopových prvků metodou AAS, rtuti a také stanovení stravitelnosti.

Z naměřených hodnot u jednotlivých vzorků ledových matcha čajů vyplynulo, že matcha čaje jsou bohatým zdrojem polyfenolů, mají také vysokou hodnotu antioxidační aktivity. Hodnoty antioxidační aktivity byly naměřeny v rozmezí 4,37 – 43,7 mg TE.100 ml⁻¹. Z výsledků lze usoudit, že způsob přípravy ledových matcha čajů má vliv na antioxidační aktivitu. Obsah celkových polyfenolů se pak pohyboval v rozmezí od 36,1 do 51,1 mg GAE.100 ml⁻¹.

Mezi prvními třemi polyfenolickými látkami s nejvyšším obsahem byly nejčastěji zastoupeny flavonoidy epigallokatechin, epikatechin a také kyselina chlorogenová z derivátů kyseliny hydroxyskořicové. Lze usuzovat, že polyfenolické kyseliny patří mezi látky, které se během tepelného zpracování možná snadněji degradují, jelikož v nejvyšším množství převažovaly právě flavonoidy. Dalšími zastoupenými fenolickými kyselinami byly kyselina elagová a sinapová.

Kofein, theanin, theobromin a theofylin byly u ledových matcha čajů stanoveny metodou HPLC-UV. Výsledky stanovení obsahu těchto látek se pohybovaly v širokém rozmezí. Obsah kofeinu byl v jednotlivých vzorcích ledových matcha čajů nejvyšší a pohyboval se v rozmezí 11,1 – 14,7 µg.100 ml⁻¹, přičemž nejvyšší koncentraci kofeinu vykazoval vzorek Japan tea při přípravě první metodou. Naopak nejnižší hodnoty byly naměřeny u theofylinu, a to v rozmezí od 0,01 do 0,02 µg.100 ml⁻¹, přičemž u metody 3 se hodnoty pohybovaly nižší než 0,01 µg.100 ml⁻¹.

Ledové matcha čaje jsou bohaté na prvky Mg, K a Mn, popř. Fe. Na druhé straně neobsahují významné množství Zn a Se. Ve všech vzorcích byly naměřeny velmi nízké koncentrace Hg. Čaj matcha je možné doporučit ke konzumaci zejména jako nápoje, díky

jeho mnohým zdravotním benefitům (hlavně z obsahu polyfenolů), obsahuje i vyšší koncentrace K a nižší Na.

Nejvyšší stravitelnost vykazovaly vzorky Japan tea a Allnature. Stravitelnost se zvyšuje s tepelnou úpravou, při které denaturují bílkoviny. Hodnota stravitelnosti může být v těchto produktech negativně ovlivněna i přítomností fenolových sloučenin, popř. vyšším podílem vlákniny.

Z dosažených výsledků lze shrnout, že ledové matcha čaje jsou zejména zdrojem polyfenolů, kofeinu a minerálních prvků. Matcha čaj lze doporučit ke konzumaci ve formě převážně nápoje, a to díky komplexu polyfenolů a vyšším hodnotám antioxidační aktivity. Matcha čaje se používají také jako surovinové komponenty do mnoha potravin, kde můžou plnit i funkci nutraceutické složky.

Z jednotlivých metod přípravy ledových matcha čajů vyplynulo, že pro jejich přípravu by bylo nejlepší využít metodu 3, jelikož se zdá jako nejvhodnější z hlediska obsahu biologicky aktivních látek.

SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY

- [1] HARA, Yukihiro. *Green tea: health benefits and applications*. New York: Marcel Dekker, c2001. Food science and technology (Marcel Dekker, Inc.), 106. ISBN 0-8247-0470-3.
- [2] MITSCHER, Lester A. a Victoria DOLBY TOEWS. *Kniha o zeleném čaji: čínský pramen mláďí: jak pomocí zeleného čaje předcházet rakovině a zpomalovat stárnutí*. Praha: ZEMS, 2006. ISBN 80-720-5153-9.
- [3] PRATT, James Norwood a Diana ROSEN. *Rádce milovníka čaje: průvodce pro pravého znalce o tom, jak kupovat, připravovat a vychutnávat čaj*. Praha: Pragma, 1999. ISBN 80-720-5672-7.
- [4] OPPLIGER, Peter a Diana ROSEN. *Nová kniha o zeleném čaji: průvodce pro pravého znalce o tom, jak kupovat, připravovat a vychutnávat čaj*. Praha: Pragma, 2000. ISBN 80-720-5758-8.
- [5] WACHENDORF, Viola von a Diana ROSEN. *Čaj: průvodce pro pravého znalce o tom, jak kupovat, připravovat a vychutnávat čaj*. Praha: Slovart, c2007. ISBN 978-80-7209-922-1.
- [6] RECMAN, Tomáš. *Zelený čaj*. 1. vyd. Praha: 2003, 133 s. ISBN 80-7237-651-9
- [7] CHEADLE, Louise a Nick KILBY. *Kniha o čaji matcha: vše, co jste o tomto úžasném zeleném superčaju chtěli vědět*. Praha: Euromedia, 2017. Esence. ISBN 978-80-7549-284-5.
- [8] VALTER, Karel a Nick KILBY. *Vše o čaji pro čajomily: vše, co jste o tomto úžasném zeleném superčaju chtěli vědět*. 3. aktualiz. vyd. Praha: Granit, 2001. Esence. ISBN 80-729-6013-X.
- [9] WU, Runjin a Erika Alice HAASE. *Léčíme se čínskými čaji: vše, co jste o tomto úžasném zeleném super čaji chtěli vědět*. Praha: Ivo Železný, 2003. Praktické recepty. ISBN 80-237-3802-X.
- [10] ROUPEC, Jiří a Erika Alice HAASE. *Okouzlující vůně čaje: Magazín o sběratelství, ale nejen pro sběratele*. Brno: Rovnost, 1993. Interes. ISBN 80-901-3547-1.
- [11] ŽAČEK, Z. *Nad šálkem plným vůně*. 1. Vyd. Praha: Merkur, 1977, 257 s. ISBN 51-219-77

- [12] Vyhláška: 330/1997 Sb. [online]. [cit. 2020-02-16]. Dostupné na stránce: <https://www.zakonyprolidi.cz/cs/1997-330>
- [13] KOCMAN, Jiří H. *Čajové minimum*. 6. korigované vyd. Tišnov: Sursum, 2000. ISBN 80-857-9934-0.
- [14] PÖSSL, Martin. *Čaj jako životní styl*. Praha: Grada, 2010. ISBN 978-80-247-2902-2.
- [15] PETTIGREW, Jane. *Čaj: rádce pro znalce*. Slovart, 2001. Průvodce pro znalce. ISBN 80-720-9212-X.
- [16] WEISS, David J. a Christopher R. ANDERTON. Determination of catechins in matcha green tea by micellar electrokinetic chromatography. *Journal of Chromatography A*. 2003, 1011(1-2). DOI: 10.1016/S0021-9673(03)01133-6. ISSN 00219673. Dostupné také z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0021967303011336>
- [17] IKEZAKI, Hidekazu, Nobuyuki HAYASHI a Tomomi UJIHARA. Objective Evaluation of Astringent and Umami Taste Intensities of Matcha using a Taste Sensor System. *Food Sci. Technol. Res.*, 2013, 19(6), 6.
- [18] DIETZ, Christina, Matthijs DEKKER a Betina PIQUERAS-FISZMAN. An intervention study on the effect of matcha tea, in drink and snack bar formats, on mood and cognitive performance. *Food Research International*. 2017, 99(99), 72-83. DOI: 10.1016/j.foodres.2017.05.002. ISSN 09639969. Dostupné také z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0963996917301941>
- [19] *Matcha čaj*: [online]. [cit. 2020-03-01]. Dostupný z WWW: <https://www.lady-first.me/article/what-are-the-benefits-of-matcha-tea,5386.html>
- [20] ŠŤASTNÁ, Kristýna. *Příprava netradičních druhů bezlepkových vloček a stanovení jejich polyfenolického profilu*. Zlín, 2017. Diplomová práce. Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně.
- [21] MIŠURCOVÁ, Ladislava. *Nové nutriční aspekty a využití mořských a sladkovodních řas ve výživě člověka*. Zlín, 2008. Dizertační práce. Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně.
- [22] ALAGAWANY, Mahmoud, Mohamed E. ABD EL-HACK, Muhammad SAEED, et al. Nutritional applications and beneficial health applications of green tea and l -theanine in some animal species: A review. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition*.

2019, 104(1), 245-256. DOI: 10.1111/jpn.13219. ISSN 0931-2439. Dostupné také z: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1111/jpn.13219>

[23] PRASANTH, Mani, Bhagavathi SIVAMARUTHI, Chaiyavat CHAIYASUT a Tewin TENCOMNAO. A Review of the Role of Green Tea (*Camellia sinensis*) in Antiphotaging, Stress Resistance, Neuroprotection, and Autophagy. *Nutrients*. 2019, 11(2). DOI: 10.3390/nu11020474. ISSN 2072-6643. Dostupné také z: <http://www.mdpi.com/2072-6643/11/2/474>

[24] AHMED, Selena a John Richard STEPP. Green Tea. Tea in Health and Disease Prevention [online]. Elsevier, 2013, 2013, s. 19-31 [cit. 2020-03-16]. DOI: 10.1016/B978-0-12-384937-3.00002-1. ISBN 9780123849373. Dostupné z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/B9780123849373000021>

[25] CHEN, Pan. Manganese in metabolism in humans. *Frontiers in bioscience*. 2018, [cit. 2020-03-17].

[26] XU, Jingyi, Mei WANG, Jianping ZHAO, Yan-Hong WANG, Qian TANG a Ikhlas A. KHAN. Yellow tea (*Camellia sinensis* L.), a promising Chinese tea: Processing, chemical constituents and health benefits. *Food Research International* [online]. 2018, 107, 567-577 [cit. 2020-03-17]. DOI: 10.1016/j.foodres.2018.01.063. ISSN 09639969. Dostupné z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0963996918300711>

[27] ZHEN, Yong-su, Zong-mao CHEN, Shu-jun CHENG a Miao-lan CHEN. Tea: bioactivity and therapeutic potential. New York: Taylor & Francis, 2002. ISBN 0415273455

[28] SARKAR, Satyajit, Anurag CHOWDHURY, Sanjay DAS, Bhaskar CHAKRABORTY, Palash MANDAL a Monoranjan CHOWDHURY*. Major tea processing practices in India. *International Journal of Bioassays* [online]. 2016, 5(11), 5071-5083 [cit. 2020-03-16]. DOI: 10.21746/ijbio.2016.11.0015. ISSN 2278-778X. Dostupné z: <http://ijbio.com/index.php/ijb/article/view/1148>

[29] SHAHIDI, Fereidoon a Priyatharini AMBIGAIPALAN. Phenolics and polyphenolics in foods, beverages and spices: Antioxidant activity and health effects – A review. *Journal of Functional Foods* [online]. 2015, 18, 820-897 [cit. 2020-03-16]. DOI: 10.1016/j.jff.2015.06.018. ISSN 17564646. Dostupné z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1756464615003023>

- [30] KARAK, Tanmoy a R.M. BHAGAT. Trace elements in tea leaves, made tea and tea infusion: A review. *Food Research International* [online]. 2010, 43(9), 2234-2252 [cit. 2020-03-17]. DOI: 10.1016/j.foodres.2010.08.010. ISSN 09639969. Dostupné z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0963996910002917>
- [31] BALENTINE, Douglas A., Sheila A. WISEMAN a Liesbeth C. M. BOUWENS. The chemistry of tea flavonoids. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition* [online]. 1997, 37(8), 693-704 [cit. 2020-03-15]. DOI: 10.1080/10408399709527797. ISSN 1040-8398. Dostupné z: <http://www.tandfonline.com/doi/abs/10.1080/10408399709527797>
- [32] HARBOWY, Matthew E., Douglas A. BALENTINE, Alan P. DAVIES a Ya CAI. Tea Chemistry. *Critical Reviews in Plant Sciences* [online]. 2010, 16(5), 415-480 [cit. 2020-03-17]. DOI: 10.1080/07352689709701956. ISSN 0735-2689. Dostupné z: <https://www.tandfonline.com/doi/full/10.1080/07352689709701956>
- [33] ENGELHARDT, U. H. Chemistry of Tea. Reference Module in Chemistry, Molecular Sciences and Chemical Engineering [online]. Elsevier, 2013, 2013 [cit. 2020-03-16]. DOI: 10.1016/B978-0-12-409547-2.02784-0. ISBN 9780124095472. Dostupné z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/B9780124095472027840>
- [34] WONG, K. H., CHEUNG, P. C. K.: Nutritional evaluation of some subtropical red and green seaweeds. Part II. In vitro protein digestibility and amino acid profiles of protein concentrates. *Food Chem.* 2001, 72, p. 11-17.
- [35] KOPEC, K.: Tabulky nutričních hodnot ovoce a zeleniny. ÚZPI Praha, 2001, 72 s., ISBN 80-86153-64-9
- [36] ZADÁK, Z.: Výživa v intenzivní péči. Grada Publishing a.s. Praha, 2002. 487 s., ISBN 80-247-0320-3
- [37] COPPOCK, Robert W. a Margitta DZIWENKA. Green Tea Extract. *Nutraceuticals* [online]. Elsevier, 2016, 2016, s. 633-652 [cit. 2020-03-04]. DOI: 10.1016/B978-0-12802147-7.00046-2. ISBN 9780128021477. Dostupné z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/B9780128021477000462>
- [38] WEI, Kang, Liyuan WANG, Jian ZHOU, Wei HE, Jianming ZENG, Yongwen JIANG a Hao CHENG. Catechin contents in tea (*Camellia sinensis*) as affected by cultivar and environment and their relation to chlorophyll contents. *Food Chemistry* [online]. 2011,

125(1), 44-48 [cit. 2020-03-15]. DOI: 10.1016/j.foodchem.2010.08.029. ISSN 03088146. Dostupné z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0308814610010174>

[39] FREI, Balz a Jane V. HIGDON. Antioxidant Activity of Tea Polyphenols In Vivo: Evidence from Animal Studies. *The Journal of Nutrition* [online]. 2003, 133(10), 3275S-3284S [cit. 2020-03-04]. DOI: 10.1093/jn/133.10.3275S. ISSN 0022-3166. Dostupné z: <https://academic.oup.com/jn/article/133/10/3275S/4687614>

[40] LORENZO, José Manuel a Paulo Eduardo Sichetti MUNEKATA. Phenolic compounds of green tea: Health benefits and technological application in food. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine* [online]. 2016, 6(8), 709-719 [cit. 2020-03-04]. DOI: 10.1016/j.apjtb.2016.06.010. ISSN 22211691. Dostupné z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S2221169116300272>

[41] FRAZIER, Richard A., Eddie R. DEAVILLE, Rebecca J. GREEN, Elisabetta STRINGANO, Ian WILLOUGHBY, John PLANT a Irene MUELLER-HARVEY. Interactions of tea tannins and condensed tannins with proteins. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis* [online]. 2010, 51(2), 490-495 [cit. 2020-03-05]. DOI: 10.1016/j.jpba.2009.05.035. ISSN 07317085. Dostupné z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0731708509003483>

[42] FRIEDMAN, Mendel, Carol E. LEVIN, Suk-Hyun CHOI, Etsuko KOZUKUE a Nobuyuki KOZUKUE. HPLC Analysis of Catechins, Theaflavins, and Alkaloids in Commercial Teas and Green Tea Dietary Supplements: Comparison of Water and 80% Ethanol/Water Extracts. *Journal of Food Science* [online]. 2006, 71(6), C328-C337 [cit. 2020-03-14]. DOI: 10.1111/j.1750-3841.2006.00090.x. ISSN 0022-1147. Dostupné z: <http://doi.wiley.com/10.1111/j.1750-3841.2006.00090.x>

[43] SCHULZ, H., U. H. ENGELHARDT, A. WEGENT, H.-H. DREWS a S. LAPCZYNSKI. Application of Near-Infrared Reflectance Spectroscopy to the Simultaneous Prediction of Alkaloids and Phenolic Substances in Green Tea Leaves. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* [online]. 1999, 47(12), 5064-5067 [cit. 2020-03-04]. DOI: 10.1021/jf9813743. ISSN 0021-8561. Dostupné z: <https://pubs.acs.org/doi/10.1021/jf9813743>

[44] KOCH, Wojciech, Wirginia KUKULA-KOCH, Łukasz KOMSTA, Zbigniew MARZEC, Wojciech SZWERC a Kazimierz GŁOWNIAK. Green Tea Quality Evaluation Based on Its Catechins and Metals Composition in Combination with Chemometric

Analysis. *Molecules* [online]. 2018, 23(7) [cit. 2020-03-14]. DOI: 10.3390/molecules23071689. ISSN 1420-3049. Dostupné z: <http://www.mdpi.com/1420-3049/23/7/1689>

[45] HAMDAOUI, Mohamed Hédi, Adel CHAHED, Soufia ELLOUZE-CHABCHOUB, Neïla MAROUANI, Zakia BEN ABID a Abderrazek HÉDHILI. Effect of Green Tea Decoction on Long-Term Iron, Zinc and Selenium Status of Rats. *Annals of Nutrition and Metabolism* [online]. 2005, 49(2), 118-124 [cit. 2020-03-14]. DOI: 10.1159/000084745. ISSN 0250-6807. Dostupné z: <https://www.karger.com/Article/FullText/84745>

[46] MILANI, Raquel F., Marcelo A. MORGANO a Solange CADORE. Trace elements in *Camellia sinensis* marketed in southeastern Brazil: Extraction from tea leaves to beverages and dietary exposure. *LWT - Food Science and Technology* [online]. 2016, 68, 491-498 [cit. 2020-03-01]. DOI: 10.1016/j.lwt.2015.12.041. ISSN 00236438. Dostupné z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0023643815303984>

[47] CABRERA, Carmen, Rafael GIMÉNEZ a M. Carmen LÓPEZ. Determination of Tea Components with Antioxidant Activity. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* [online]. 2003, 51(15), 4427-4435 [cit. 2020-03-14]. DOI: 10.1021/jf0300801. ISSN 0021-8561. Dostupné z: <https://pubs.acs.org/doi/10.1021/jf0300801>

[48] JESZKA-SKOWRON, Magdalena, Magdalena KRAWCZYK a Agnieszka ZGOŁAGRZEŚKOWIAK. Determination of antioxidant activity, rutin, quercetin, phenolic acids and trace elements in tea infusions: Influence of citric acid addition on extraction of metals. *Journal of Food Composition and Analysis* [online]. 2015, 40, 70-77 [cit. 2020-03-04]. DOI: 10.1016/j.jfca.2014.12.015. ISSN 08891575. Dostupné z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0889157515000290>

[49] KUMAR, A., A.G.C. NAIR, A.V.R. REDDY a A.N. GARG. Availability of essential elements in Indian and US tea brands. *Food Chemistry* [online]. 2005, 89(3), 441-448 [cit. 2020-03-08]. DOI: 10.1016/j.foodchem.2004.03.003. ISSN 03088146. Dostupné z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0308814604002316>

[50] SÁDECKÁ, J., POLONSKÝ, J. *Electrophoretic methods in the analysis of beverages*. *Journal of Chromatography A*. 2000, roč. 880, č. 1-2, s. 243-279.

[51] Y. H. HUI. *Handbook of Food and Beverage Fermentation Technology*, CRC Press, Stanfield, 2004. ISBN: 978-0-203-91355-0

- [52] CHACKO, Sabu M. et al. *Beneficial effects of green tea: A literature review*. Chinese Medicine, 2010, 5:13. DOI: 10.1186/1749-8546-5-13
- [53] MUNIVENKATAPPA, Nalina, Saroja SARIKONDA a Rajkumar RAJAGOPAL. Variations in quality constituents of green tea leaves in response to drought stress under south Indian condition. *Scientia Horticulturae*. 2018, (233), 10.
- [54] HORIE, H., KOHATA, K. *Analysis of tea components by high-performance liquid chromatography and high-performance capillary electrophoresis*. Journal of Chromatography A. 2000, roč. 881, č.1 – 2, s. 425-438.
- [55] KHAN, Naghma a Hasan MUKHTAR. *Tea polyphenols for health promotion*. Life Sciences. 2007, 81(7), 519-533]. DOI: 10.1016/j.lfs.2007.06.011. ISSN 00243205.
- [56] PROTIVA, Rani Das a Eun JONG-BANG. A comparative study of ultra-sonication and agitation extraction techniques on bioactive metabolites of green tea extract. *Food Chemistry*. 2018, 7.
- [57] DAVIS, L. A., LEWIS, J. R., CAI, Y., POWELL, C., DAVIS, A. P., WILKINS, J. P. G., PUDNEY, P., CLIFFORD, M. N. *A polyphenolic pigment from black tea*, *Phytochemistry*. 1997, roč. 46, č. 8, s. 1397-1402.
- [58] ZARGAR, Bisma, Darakshan MAJEED, Shaiq Ahmad GANAI, Shabir Ahmad MIR a B. N. DAR. Effect of different processing parameters on antioxidant activity of tea. *Journal of Food Measurement and Characterization*. 2018, 12(1), 527-534. DOI: 10.1007/s11694-017-9664-5. ISSN 2193-4126. Dostupné také z: <http://link.springer.com/10.1007/s11694-017-9664-5>
- [59] BULÁNKOVÁ, Iveta. *Léčivé rostliny na naší zahradě*. Praha: Grada, 2005. Česká zahrada. ISBN 80-247-1274-1.
- [60] KORBELÁŘ, J., ENDRIS, Z., KREJČA J. *Naše rostliny v lékařství*. 5. přeprac. vyd. Praha: Avicenum, 1981. 504 s. ISBN: 735 21-08/31 08-092-81.
- [61] ROSEN, Diana. *Rádce milovníka zeleného čaje*. Překlad Markéta Janouchová. Praha: Pragma, 2000. ISBN 80-7205-755-3.
- [62] LŮBECK, Walter. *Zelený čaj: [uzdravující požitek]*. Překlad Miroslav Hubáček. Vyd.1. Olomouc: Fontána, 2007. ISBN 978-80-7336-413-7.

- [63] SHARANGI, A. B. *Medicinal and therapeutic potentialities of tea (Camellia sinensis L.) – A review*. Food Research International. 2009, 42(5-6), 529-535. DOI: 10.1016/j.foodres.2009.01.007. ISSN 09639969.
- [64] PASTORE, Robert L. a Patrick FRATELLONE. *Potential Health Benefits of Green Tea (Camellia sinensis): A Narrative Review*. EXPLORE: The Journal of Science and Healing. 2006, 2(6), 531-539. DOI: 10.1016/j.explore.2006.08.008. ISSN 15508307.
- [65] CHEBY, T. O., *The Chinese green tea and cardiovascular health, Journal of Agricultural-and-Food-Chemistr*. 2006, roč. 108, č. 3, s. 301-308.
- [66] LI, Guizhen, Xiaoqin WANG a Kyung Ho ROW. Magnetic Solid-phase Extraction with Fe₃O₄/Molecularly Imprinted Polymers Modified by Deep Eutectic Solvents and Ionic Liquids for the Rapid Purification of Alkaloid Isomers (Theobromine and Theophylline) from Green Tea. *Molecules*. 2017, 22(7), 1061-. DOI: 10.3390/molecules22071061. ISSN 1420-3049. Dostupné také z: <http://www.mdpi.com/1420-3049/22/7/1061>
- [67] KOLÁČKOVÁ, Tereza, Kateřina KOLOFIKOVÁ, Irena SYTAŘOVÁ, Lukáš SNOPEK, Daniela SUMCZYNSKI a Jana ORSAVOVÁ. Matcha Tea: Analysis of Nutritional Composition, Phenolics and Antioxidant Activity. *Plant Foods for Human Nutrition*. 2020, 75(1), 48-53. DOI: 10.1007/s11130-019-00777-z. ISSN 0921-9668. Dostupné také z: <http://link.springer.com/10.1007/s11130-019-00777-z>
- [68] ŠKOPEK, M. a J. LOUN. Effects of matcha extract on simple and complex reaction times. *Journal of Physical Education and Sport*. 2018, 2020-03-04, 18(58), 5.
- [69] *Zelený čaj matcha*: [online]. [cit. 2020-03-24]. Dostupný z WWW: <https://vitasana.cz/blog-post/matcha-zeleny-caj/>
- [70] *Čajové lístky*: [online]. [cit. 2020-03-24]. Dostupný z WWW: <https://botanic.cz/magazin/caje-hubnuti>
- [71] *Čajovník čínský (Camellia sinensis)*: [online]. [cit. 2020-03-24]. Dostupný z WWW: <https://www.mundo.cz/cajovnik-cinsky>
- [72] *Sběr čajových lístků na plantáži*: [online]. [cit. 2020-03-24]. Dostupný z WWW: <https://www.dailynews.co.tz/news/2018-09-275bacbadd9504c.aspx>
- [73] *Zelený čaj*: [online]. [cit. 2020-03-24]. Dostupný z WWW:

<http://zivotplnyzivota.webmium.com/zeleny-caj>

[74] Černý čaj: [online]. [cit. 2020-03-24]. Dostupný z WWW:

<https://www.nestonej.cz/irish-cream-1-kg-sypany-cerny-caj-aromatizovany--ochuceny/>

[75] Oolong čaj: [online]. [cit. 2020-03-24]. Dostupný z WWW:

<https://www.nejlepsiceny.cz/caj/oxalis-ceylon-waldemar-oolong-1-kg.html>

[76] Ledový čaj matcha: [online]. [cit. 2020-03-24]. Dostupný z WWW:

<http://tvarohapovidla.cz/ledovy-zeleny-caj-s-matchou-kokosovym-kremem-a-vanilkou/>

[77] SCALBERT, Augustin a Gary WILLIAMSON. *Dietary intake and bioavailability of polyphenols*, 2000, 130 (8), s. 2073–2085

[78] RYOKO, Baba, Yohei AMANO, Yoshiyuki WADA a Kenji KUMAZAWA. Characterization of the Potent Odorants Contributing to the Characteristic Aroma of Matcha by Gas Chromatography– Olfactometry Techniques. *Journal of agricultural and food chemistry*. 2017, (65), 6. DOI: 10.1021/acs.jafc.7b00421.

[79] FAROOQ, Sumaya a Amit SEHGAL. Antioxidant Activity of Different Forms of Green Tea: Loose Leaf, Bagged and Matcha. *Current research in Nutrition and Food Scienc.* 2018, (1), 6. DOI: doi.org/10.12944/CRNFSJ.6.1.04. ISSN 2347-467X.

[80] ŠILAROVÁ, Petra, Lenka ČESLOVÁ a Milan MELOUN. *Fast gradient HPLS/MS separation of phenolics in green tea to monitor their degradation*. *Food Chemistry* [online]. 2017, 10 [cit. 2020-03-30]. Dostupné z: web of science

[81] JIANG, Hao, Feng YU, Li QIN, Na ZHANG, Qiong CAO, Wilfried SCHWAB, Daxiang LI a Chuankui SONG. Dynamic change in amino acids, catechins, alkaloids, and gallic acid in six types of tea processed from the same batch of fresh tea (*Camellia sinensis* L.) leaves. *Journal of Food Composition and Analysis* [online]. 2019, 77, 28-38 [cit. 2020-03-13]. DOI: 10.1016/j.jfca.2019.01.005. ISSN 08891575. Dostupné z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0889157518309207>

[82] FENG, Zhihui, Yifan LI, Ming LI, Yijun WANG, Liang ZHANG, Xiaochun WAN a Xiaogen YANG. Tea aroma formation from six model manufacturing processes. *Food Chemistry* [online]. 2019, 285, 347-354 [cit. 2020-03-13]. DOI: 10.1016/j.foodchem.2019.01.174. ISSN 03088146. Dostupné z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0308814619302638>

- [83] SENANAYAKE, S.P.J. Namal. Green tea extract: Chemistry, antioxidant properties and food applications – A review. *Journal of Functional Foods*. 2013, (5), 13. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jff.2013.08.011>.
- [84] PINTO, Marcia da Silva. Tea: A new perspective on health benefits. *Food Research International*. 2013, (53), 10. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2013.01.038>.
- [85] DIETZ, Christina, Matthijs DEKKER a Betina PIQUERAS-FISZMAN. An intervention study on the effect of matcha tea, in drink and snack bar formats, on mood and cognitive performance. *Food Research International*. 2019, (99), 12. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2017.05.002>.
- [86] SUMCZYNSKI, Daniela, Eva KOUBOVÁ, Lenka ŠENKÁROVÁ a Jana ORSAVOVÁ. Rice flakes produced from commercial wild rice: Chemical compositions, vitamin B compounds, mineral and trace element contents and their dietary intake evaluation. *Food Chemistry* [online]. 2018, 264, 386-392 [cit. 2020-04-16]. DOI: 10.1016/j.foodchem.2018.05.061. ISSN 03088146. Dostupné z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0308814618308586>
- [87] CHRISTINE, Ekissi Alice, Yao-Kouamé ALBERT a Kati-Coulibaly SÉRAPHIN. Determination of the Minerals of the Herbal Tea and Tea Green from *Lippia multiflora*. *American Journal of Plant Sciences* [online]. 2017, 08(11), 2608-2621 [cit. 2020-04-16]. DOI: 10.4236/ajps.2017.811176. ISSN 2158-2742. Dostupné z: <http://www.scirp.org/journal/doi.aspx?DOI=10.4236/ajps.2017.811176>
- [88] SALAHINEJAD, Maryam, AFLAKI, Fereydoon. Toxic and Essential Mineral Elements Content of Black Tea Leaves and Their Tea Infusions Consumed in Iran. *Humana Press*. 2009, 2010(134), 9. DOI: 10.1007/s12011-009-8449-z.
- [89] PISTE, Pravina, Didwagh SAYAJI a Mokashi AVINASH. Calcium and its role in human body. *International Journal of Research in Pharmaceutical and Biomedical Sciences*. 2013, 10. ISSN 2229-3701.
- [90] PREEDY, Victor R. Preedy. *Tea in Health and Disease Prevention*. Londýn: Academic Press, 2012. ISBN 9780123849380.
- [91] ABBASPOUR, Nazanin, Richard HURRELL a Roya KELISHADI. Review on iron and its importance for human health. *Journal of research in medical sciences*. 2014, 19(2), 10.

- [92] DAWODU O. Modupe, Samuel O. OBIMAKINDE, Godwin O. OLUTONA. Trace metal concentrations in some tea leaves consumed in Ibadan, Nigeria. *Africal Journal of Agricultural Reasearch*. 2013, 8 (46), 5771-5775 [cit. 2020-04-16].
- [93] FAN, Frank S. Iron deficiency anemia due to excessive green tea drinking. *Clinical Case Reports* [online]. 2016, 4(11), 1053-1056 [cit. 2020-04-16]. DOI: 10.1002/ccr3.707. ISSN 20500904. Dostupné z: <http://doi.wiley.com/10.1002/ccr3.707>
- [94] KABATA-PENDIAS, Alina. *Trace Elements in Soils and Plants*. 4th Edition. Boca Raton: Taylor and Francis group, 2010. ISBN 9780429192036.
- [95] BRZEZICHA-CIROCKA, Justyna, Małgorzata GREMBECKA a Piotr SZEFER. Oxalate, magnesium and calcium content in selected kinds of tea: impact on human health. *European Food Research and Technology* [online]. 2016, 242(3), 383-389 [cit. 2020-04-16]. DOI: 10.1007/s00217-015-2548-1. ISSN 1438-2377. Dostupné z: <http://link.springer.com/10.1007/s00217-015-2548-1>
- [96] PELVAN, Ebru a Mustafa ÖZILGEN. Assessment of energy and exergy efficiencies and renewability of black tea, instant tea and ice tea production and waste valorization processes. *Sustainable Production and Consumption*. 2017, 12, 18. DOI: 10.1016/j.spc.2017.05.003. ISSN 23525509.
- [97] SHAHIDI, Fereidoon a Ying ZHONG. Measurement of antioxidant activity. *Journal of Functional Foods* [online]. 2015, (18), 757-781 [cit. 2020-04-25]. ISSN 1756-4646. Dostupné z: <http://www.sciencedirect.com.proxy.k.utb.cz/science/article/pii/S1756464615000511>
- [98] JÚLIUS, Árvay, et al. Human exposure to heavy metals and possible public health risks via consumption of wild edible mushrooms from Slovak Paradise National Park, Slovakia. *Journal of Environmental Science and Health, Part B*. 2015, 50(11), 12. DOI: 10.1080/03601234.2015.1058107. ISSN 0360-1234.
- [99] HICKS, Monique B., Y-H. Peggy HSIEH a Leonard N. BELL. Tea preparation and its influence on methylxanthine concentration. *Food Research International*. 1996, 4(29), 6. DOI: [doi.org/10.1016/0963-9969\(96\)00038-5](http://doi.org/10.1016/0963-9969(96)00038-5).
- [100] BOROS, Klára, et al. Theanine and Caffeine content of infusions prepared from commercial tea samples. *Pharmacognosy magazine*. 2016, 45(12), 5. DOI: 10.4103/0973-1296.176061.

[101] BURCUS, A. et al. Antioxidant, Anti-Inflammatory, and Antibacterial Potential of Different Drinks Based on Matcha Tea. *IOP Publishing*. 2018, (374), 9. DOI: 10.1088/1757-899X/374/1/012072.

[102] KHAN, Naghma a Hasan MUKHTAR. Tea polyphenols for health promotion. *Life Sciences*. 2007, 81(7), 14. DOI: doi.org/10.1016/j.lfs.2007.06.011.

SEZNAM POUŽITÝCH SYMBOLŮ A ZKRATEK

AAS Atomová absorpční spektrometrie

ABTS 2,2-azinobis(3-etyl-2,3-dihydrobenzotiazol-6-sulfonát)

AOA Antioxidant activity (antioxidační aktivita)

AO_ABTS Antioxidační aktivita měřená s pomocí ABTS

AO_DPPH Antioxidační aktivita měřená s pomocí DPPH

C katechin

CTC Crushing, Tearing, Curling (drcení, trhání, rolování)

ČMI Český metrologický institut

DPPH 2,2-difenyl-1-pikrylhydrazyl

DMD Dry Matter Digestibility (stravitelnost sušiny vzorku)

EC epikatechin

ECG epikatechin gallát

EGC epigallotechnin

EGCG epigallokatechin-3-gallát

GAE Ekvivalent kyseliny gallové (Gallic acid equivalent)

GC gallokatechin

HPLC High Performance Liquid Chromatography (vysokoúčinná kapalinová chromatografie)

LDL Low density lipoprotein (nízkodenzitní lipoprotein)

OMD Organic Matter Digestibility (stravitelnost organické hmoty vzorku)

PP Polypropylén

TE Ekvivalent troloxu (Trolox equivalent)

TPC Total phenolic content (celkový obsah polyfenolů)

UV Ultrafialové záření

SEZNAM OBRÁZKŮ

| | |
|--|----|
| Obr. 1: Zelený čaj matcha [69] | 12 |
| Obr. 2: Čajové lístky [70] | 12 |
| Obr. 3: Čajovník čínský (<i>Camellia sinensis</i>) [71] | 13 |
| Obr. 4: Sběr čajových lístků na plantáži [72] | 14 |
| Obr. 5: Zelený čaj [73]..... | 17 |
| Obr. 6: Černý čaj [74] | 17 |
| Obr. 7: Oolong čaj [75]..... | 18 |
| Obr. 8: Matcha čaj [19]..... | 19 |
| Obr. 9: Katechiny v zeleném čaji [16]..... | 23 |
| Obr. 10: Chemický vzorec kofeinu [16] | 25 |
| Obr. 11: Ledový čaj matcha [76] | 29 |
| Obr. 12: Kalibrační křivka troloxu pro stanovení AOA s DPPH | 46 |
| Obr. 13: Kalibrační křivka troloxu pro stanovení AOA s ABTS | 46 |
| Obr. 14: Kalibrační křivka kyseliny gallové pro stanovení celkových polyfenolů | 49 |
| Obr. 15: Kalibrační křivka pro stanovení kofeinu | 55 |
| Obr. 16: Kalibrační křivka pro stanovení theobrominu | 55 |
| Obr. 17: Kalibrační křivka pro stanovení theofylinu | 56 |
| Obr. 18: Kalibrační křivka pro stanovení theaninu..... | 56 |
| Obr. 19: Kalibrační křivka pro prvek Zn | 85 |
| Obr. 20: Kalibrační křivka pro prvek Mn | 85 |

SEZNAM TABULEK

| | |
|--|----|
| Tab. 1: Zastoupení katechinů zeleného čaje [1] | 23 |
| Tab. 2: Průměrný obsah makrobiogenních prvků ve vzorku čaje matcha [44] | 26 |
| Tab. 3: Složení poměrů mobilních fází během gradientové eluce..... | 38 |
| Tab. 4: Složení poměrů mobilních fází během gradientové eluce..... | 39 |
| Tab. 5: AAS – Podmínky měření..... | 41 |
| Tab. 6: Hodnota antioxidační aktivity – metoda s DPPH..... | 47 |
| Tab. 7: Hodnoty antioxidační aktivity – metoda s ABTS..... | 47 |
| Tab. 8: Obsah celkových polyfenolů (TPC) | 49 |
| Tab. 9: Výsledky stanovení jednotlivých polyfenolů metodou HPLC u vzorku Japan tea..... | 51 |
| Tab. 10: Výsledky stanovení jednotlivých polyfenolů metodou HPLC u vzorku Allnature | 52 |
| Tab. 11: Výsledky stanovení jednotlivých polyfenolů metodou HPLC u vzorku Wolfberry..... | 53 |
| Tab. 12: Výsledky stanovení obsahu kofeinu, theobrominu, theofylinu a theaninu | 57 |
| Tab. 13: Referenční materiál a výtěžnost | 59 |
| Tab. 14: Obsahy minerálních prvků v práškové formě matcha čaje | 60 |
| Tab. 15: Obsahy minerálních a stopových prvků ve vodném výluhu přepočtené na vyluhování z 1 g..... | 60 |
| Tab. 16: Hodnoty koncentrací rtuti v práškové formě matcha čaje..... | 63 |
| Tab. 17: Hodnoty koncentrací rtuti v ledových matcha čajích přepočtené na vyluhování z 1 g..... | 63 |
| Tab. 18: Výsledky stravitelnosti sušiny (DMD) a organické hmoty (OMD) matcha čajů..... | 64 |

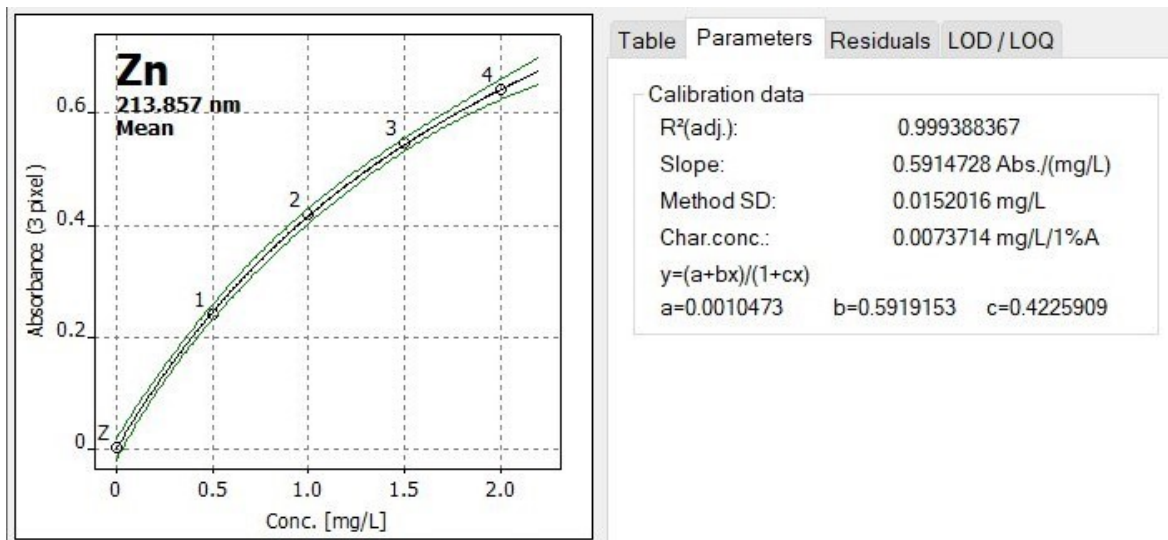
SEZNAM PŘÍLOH

| | |
|---|----|
| Příloha P I: Kalibrační rovnice polyfenolů..... | 74 |
| Příloha P II: Kalibrační rovnice minerálních prvků..... | 75 |

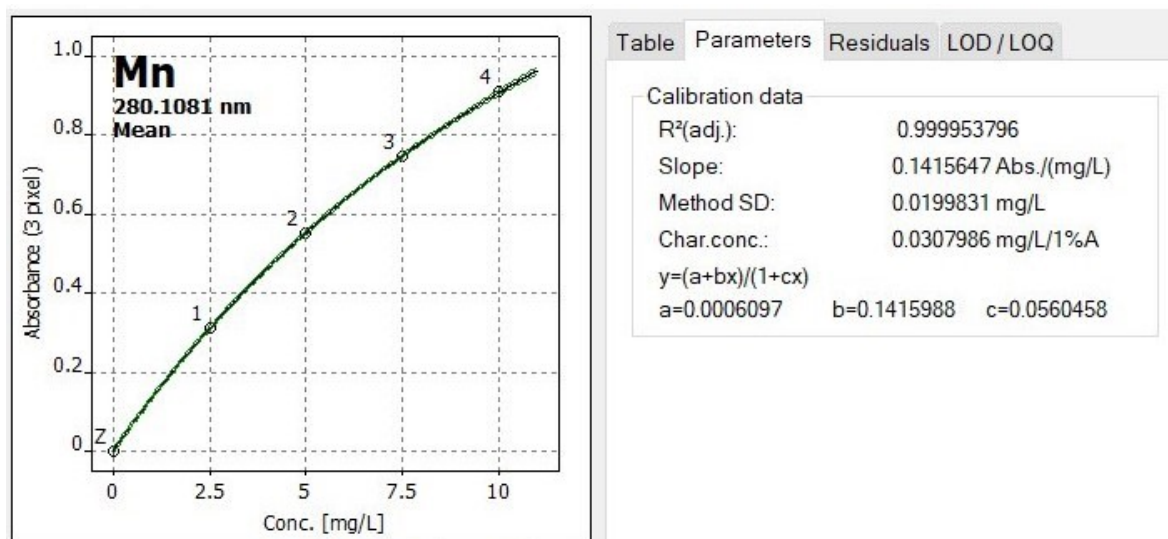
PŘÍLOHA P I: KALIBRAČNÍ ROVNICE POLYFENOLŮ

| Standard | rovnice kalibrace | r |
|---|-------------------|--------|
| <i>Deriváty kyseliny hydroxybenzoové</i> | | |
| Gallová kyselina | $y = 0,5896x$ | 0,9996 |
| 3,4-Dihydroxybenzoová kyselina | $y = 0,2359x$ | 0,9998 |
| 4-Hydroxybenzoová kyselina | $y = 0,5114x$ | 0,9998 |
| Vanilová kyselina | $y = 0,4383x$ | 0,9999 |
| Syringová kyselina | $y = 0,4632x$ | 0,9994 |
| Elagová kyselina | $y = 0,2005x$ | 0,9988 |
| Etylster kyseliny protokatechové | $y = 0,2618x$ | 0,9993 |
| <i>Deriváty kyseliny hydroxyskořicové</i> | | |
| Neochlorogenová kyselina | $y = 0,1559x$ | 0,9992 |
| Chlorogenová kyselina | $y = 0,2125x$ | 0,9989 |
| Kávová kyselina | $y = 0,4118x$ | 0,9995 |
| <i>trans-p</i> -Kumarová kyselina | $y = 0,6377x$ | 0,9995 |
| Ferulová kyselina | $y = 0,3616x$ | 0,9990 |
| Sinapová kyselina | $y = 0,1767x$ | 0,9994 |
| <i>trans</i> -2-Hydroxyskořicová kyselina | $y = 1,2589x$ | 0,9997 |
| <i>Flavonoidy</i> | | |
| Epigallokatechin | $y = 0,0221x$ | 0,9988 |
| Katechin | $y = 0,1076x$ | 0,9990 |
| Epikatechin | $y = 0,1366x$ | 0,9987 |
| Rutin | $y = 0,1653x$ | 0,9998 |
| Kvercetin | $y = 0,2074x$ | 0,9967 |

PŘÍLOHA P II: KALIBRAČNÍ ROVNICE MINERÁLNÍCH PRVKŮ



Obr. 19: Kalibrační křivka pro prvek Zn



Obr. 20: Kalibrační křivka pro prvek Mn