

Stanovení polyfenolů a antioxidační aktivity ve výluzích yerba maté

Bc. Jakub Svoboda

Diplomová práce
2024



Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně
Fakulta technologická

Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně

Fakulta technologická
Ústav technologie potravin

Akademický rok: 2023/2024

ZADÁNÍ DIPLOMOVÉ PRÁCE

(projektu, uměleckého díla, uměleckého výkonu)

Jméno a příjmení: Bc. Jakub Svoboda
Osobní číslo: T22422
Studijní program: N0721A210004 Technologie potravin
Forma studia: Prezenční
Téma práce: Stanovení polyfenolů a antioxidační aktivity ve vyluzích yerba maté

Zásady pro vypracování

I. Teoretická část

Charakterizovat rostlinu z níž se připravuje nápoj yerba maté a charakterizovat její biologicky aktivní látky.

II. Praktická část

Dle zadaných technologických podmínek připravit nápoje yerba maté a v nich stanovit polyfenolický profil a hodnoty antioxidační aktivity.

Provést senzorkou analýzu připravených vyluhů.

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

Seznam doporučené literatury:

[1] Bastos et al. (2018). Yerba mate: Nutrient levels and quality of the beverage depending on the harvest season. *Journal of Food Composition and Analysis*, 69, 1-6

[2] Kaltbach et al. (2020). New HPTLC methods for analysis of major bioactive compounds in mate (*Ilex paraguariensis*) tea. *Journal of Food Composition and Analysis*, 92, 103568

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

Datum zadání diplomové práce: **1. ledna 2024**

Termín odevzdání diplomové práce: **10. května 2024**

L.S.

prof. Ing. Roman Čermák, Ph.D.
děkan

Ing. Robert Gál, Ph.D.
ředitel ústavu

Ve Zlíně dne 10. února 2024

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

Cílem diplomové práce bylo v teoretické části shrnout poznatky o yerba maté, týkající se produkce suroviny, přípravy a konzumace, chemického složení a zdravotních benefitů a možných rizik. Cílem praktické části bylo připravit vodné výluhy při dvou odlišných teplotách a v nich stanovit obsah polyfenolů a celkové antioxidační aktivity. Vedlejším cílem bylo připravené nálevy a také suché vzorky podrobit senzoričkému hodnocení. Výsledky HPLC-UV ukazují, že v nálevech je nejvíce zastoupena kyselina chlorogenová (1870–22100 µg/g), neochlorogenová (275–14700 µg/g) a ethylester kyseliny protokatechinové (55,3–8160 µg/g). Celkový obsah polyfenolů stanovený metodou Folin-Ciocalteu se pohybuje v rozmezí 19–88 mg GAE/g. Hodnoty antioxidační aktivity byly stanoveny v rozmezí: 121–428 mg TE/g (ABTS); 48–290 mg TE/g (DPPH) a 41–139 mg TE/g (FRAP). U vzorků pražených byl zaznamenán pokles polyfenolických látek vlivem tohoto procesu. Dále byly charakterizovány preference posuzovatelů, kteří upřednostňují méně intenzivní vzorky yerba maté, co se týče atributů jako kouřové aroma, adstringentní a hořká chuť.

Klíčová slova: yerba maté, *Ilex paraguariensis*, antioxidační aktivita, polyfenoly, HPLC, senzoričká analýza

ABSTRACT

Regarding the theoretical part, the aim of the master thesis was to summarize the knowledge about yerba mate concerning the production of the raw material, preparation and consumption, chemical composition and health benefits, and possible consumption risks. The aim of the practical part was to prepare aqueous solutions at two different temperatures and to determine the polyphenol content and total antioxidant activity. A secondary objective was to subject the prepared infusions as well as the dry samples to sensory analysis. The results of the HPLC-UV determination showed that the most abundant phenolic compounds in beverages are chlorogenic acid (1870–22100 $\mu\text{g/g}$), neochlorogenic acid (275–14700 $\mu\text{g/g}$) and protocatechic acid ethylester (55,3–8160 $\mu\text{g/g}$). The total polyphenol content determined by the Folin-Ciocalteu method ranged between 19–88 mg GAE/g. The antioxidant activity values were determined in the range of 121–428 mg TE/g (ABTS); 48–290 mg TE/g (DPPH) and 41–139 mg TE/g for the FRAP method. For the roasted samples, a decrease in polyphenolic compounds was observed as a result of this process. The preferences of assessors who prefer less intense yerba mate samples were characterized in terms of attributes such as smoky aroma, astringent and bitter taste.

Keywords: yerba maté, *Ilex paraguariensis*, antioxidant activity, polyphenols, HPLC, sensory analysis

Mé největší díky patří vedoucí práce, paní doc. Ing. Daniele Sumczynski, Ph.D. za odborné vedení, veškeré konzultace, inspiraci a celkově příjemnou spolupráci.

Poděkovat bych chtěl rovněž paní doc. Ing. Zuzaně Lazárkové, Ph.D. za velikou pomoc při sestavování a vyhodnocování senzorické analýzy v rámci této práce.

Děkuji také paní Ing. Lence Fojtíkové za odbornou pomoc při laboratorní analýze.

Chci dále vyjádřit veliké poděkování rodině, která mě plně podporovala po celou dobu studia.

Prohlašuji, že odevzdaná verze diplomové práce a verze elektronická nahraná do IS/STAG jsou totožné.

OBSAH

ÚVOD	10
I TEORETICKÁ ČÁST	11
1 CHARAKTERISTIKA YERBA MATÉ	12
1.1 HISTORIE.....	12
1.2 POPIS ROSTLINY	12
1.3 PĚSTOVÁNÍ A PRODUKCE.....	13
2 ZPRACOVÁNÍ YERBA MATÉ	15
2.1 SKLIZEŇ A PŘÍJEM (COSECHA Y RECEPCIÓN)	16
2.2 ŽÍHÁNÍ (ZAPECADO).....	17
2.3 SUŠENÍ (SECADO).....	18
2.4 ŘEZÁNÍ (CANCHADO).....	18
2.5 ZRÁNÍ (MADURACIÓN).....	18
2.6 MLETÍ A TŘÍDĚNÍ (MOLIENDA).....	19
2.7 BALENÍ (ENVASADO)	20
3 CHEMICKÉ SLOŽENÍ NÁLEVU	21
3.1 FENOLICKÉ KYSELINY	21
3.2 FLAVONOIDY.....	22
3.3 XANTHINOVÉ ALKALOIDY	22
3.4 AMINOKYSELINY.....	23
3.5 VITAMINY	23
3.6 MINERÁLNÍ PRVKY	24
3.7 DALŠÍ SENZORICKY AKTIVNÍ LÁTKY.....	25
4 KONZUMACE YERBA MATÉ	26
4.1 ZPŮSOBY PŘÍPRAVY	26
4.2 PODPŮRNÉ ZDRAVOTNÍ BENEFITY	28
4.3 MOŽNÁ ZDRAVOTNÍ RIZIKA.....	30
II PRAKTICKÁ ČÁST	32
5 CÍLE EXPERIMENTÁLNÍ PRÁCE	33
6 METODIKA	34
6.1 CHEMIKÁLIE.....	34
6.2 POUŽITÉ PŘÍSTROJE A POMŮCKY.....	34
6.3 VZORKY YERBA MATÉ	35
6.4 POSTUPY PŘÍPRAVY NÁLEVŮ	38

6.5	STANOVENÍ CELKOVÉHO OBSAHU POLYFENOLŮ	39
6.6	STANOVENÍ JEDNOTLIVÝCH POLYFENOLŮ METODOU HPLC-UV	39
6.7	STANOVENÍ ANTIOXIDAČNÍ AKTIVITY	40
6.9	STATISTICKÉ VYHODNOCENÍ	43
7	VÝSLEDKY A DISKUSE	44
7.1	STANOVENÍ CELKOVÉHO OBSAHU POLYFENOLŮ	44
7.2	STANOVENÍ JEDNOTLIVÝCH POLYFENOLŮ METODOU HPLC-UV	46
	CHYBA! ZÁLOŽKA NENÍ DEFINOVÁNA.	
7.5	VÝSLEDKY SENZORICKÉ ANALÝZY	61
7.5.2	Zhodnocení barvy a vůně u sypaných vzorků	64
7.5.3	Zhodnocení barvy a vůně u nálevů	65
7.5.4	Popis intenzity adstringentní a hořké chutě a kouřového aroma u nálevů – stupnicová zkouška	66
	ZÁVĚR	69
	SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY	71
	SEZNAM POUŽITÝCH SYMBOLŮ A ZKRATEK	77
	SEZNAM OBRÁZKŮ	78
	SEZNAM TABULEK	79
	SEZNAM PŘÍLOH	80

ÚVOD

Praví jedno argentinské přísloví: „Maté je jednoduše maté, a je to zároveň daleko víc: spojuje, znovu dává dohromady, prolamuje ledy, doprovází, prospívá zdraví, stimuluje, tiší smutky, pomáhá přemýšlet, učí nás sdílet...“. Myslím, že tato věta dokonale vystihuje význam a podstatu nápoje yerba maté v latinskoamerické, a především v argentinské, uruguayské a paraguayské kultuře.

Yerba maté (*Ilex paraguariensis*) se dováží do Evropy ze zemí Latinské Ameriky, jako jsou Argentina, Paraguay, Uruguay anebo třeba Brazílie. Podobně jako je tomu u čajovníku čínského (*Camellia sinensis*) se jedná o keř, ze kterého se sbírají listy. Původní domorodí obyvatelé dříve listy pouze žvýkali a až později z nich připravovali výluh, který jim pomáhal překonat období hladu.

Na trhu se setkáváme s tinkturami, s instantní podobou nápoje, či rovnou s výtažky. Problémem, který v tomto zpracování může nastat, je možná destrukce, či chemická přeměna sensoricky aktivních látek, degradace mnoha biologicky aktivních látek, respektive možné narušení jejich fyziologického účinku. Je třeba brát na vědomí, že komplexy biologicky aktivních látek v matici potravin fungují společně (synergicky) a ovlivňují se navzájem. Mnohokrát se již ukázalo, že oddělení dané účinné látky od komplexu jiných, doprovodných látek, má za následek její neúčinnost, případně nežádoucí účinky.

Napříč populací se stále více setkáváme s rozvinutím civilizačních chorob. Znepokojujícím faktem je, že se tyto metabolické (a jiné) poruchy objevují čím dál častěji u mladších lidí. Velikou zásluhu má na tomto současném stavu také výživa a způsob stravování. Nápoj yerba maté nabízí hned několik benefitů, které by snad mohly mírnit negativa špatných stravovacích návyků, znečištěného životního prostředí a vyvolávaného stresu. Maté obsahuje značné množství kofeinu a dalších xantinových alkaloidů, celou řadu polyfenolických látek, které bojují proti škodlivému působení volných radikálů, dále to jsou minerální prvky aj. Konzumenti však mnohdy ani netuší, co vše se v nápoji ukrývá a popijí ho z kulturní zvyklosti a za účelem celkového povzbuzení. Spousta obsažených látek je totiž sensoricky aktivních a nabízí vsutku jedinečnou chuť a vůni nálevu. S ohledem na intenzivní hořkou chuť nápoje může být velkou částí populace odmítán. Právě obsah polyfenolických látek, antioxidační hodnoty výluhů yerba maté a jejich sensorický profil byl testován v této práci.

I. TEORETICKÁ ČÁST

1 CHARAKTERISTIKA YERBA MATÉ

1.1 Historie

Původním místem výskytu je kontinent Jižní Amerika, z čehož lze vyvodit, že Evropanům byla po dlouhou dobu tato bylina zcela neznámá. Domorodí obyvatelé však tuto rostlinu znali a využívali. Nejprve sbírali čerstvé listy a žvýkali je, podobně jako to dělali s dalšími bylinami. Později začali připravovat také odvary, které je udržely ve stavu bdělosti po dlouhou dobu a v důsledku tak mohli udělat více práce a překonávat těžší překážky i období hladu. Toho si v 16. století všimli také španělští conquistadoři. Velkou iniciativu projevili v této oblasti jezuité, kteří zakládali v těchto oblastech plantáže zhruba až do 18. století. Došlo tak k významnému rozšíření, které však skončilo s vyhnáním jezuitů. Dodnes na tuto epochu odkazuje jiné označení pro maté: „té de jesuitas“, tedy „jezuitský čaj“ (Burtník, 2006; Gawron-Gzella et al., 2021).

1.2 Popis rostliny

Taxonomické zařazení:

Rostliny: (*Plantae*) Podříše: cévnaté rostliny (*Tracheobionta*) Oddělení: krytosemenné (*Magnoliophyta*) Třída: vyšší dvouděložné (*Rosopsida*) Řád: cesmínovité (*Aquifoliales*) Čeleď: cesmínovité (*Aquifoliaceae*) Rod: cesmína (*Ilex*) Druh: paraguayská (*paraguariensis*).



Obrázek 1 – Rostlina *Ilex paraguariensis* [1]

1.3 Pěstování a produkce

Celý proces začíná ve fóliovnících nebo sklenících, kde se od semínek pěstují malé rostliny. Založení nové plantáže je tak potřeba plánovat nejméně rok a půl dopředu. Plody yerba maté se sklízí od druhé poloviny ledna až do dubna. Doporučuje se sbírat plody dobře vyvinuté, ideálně vyzrálé. Musíme rovněž přihlížet ke zdravotnímu stavu mateřské rostliny, a také k výnosům, které poskytuje. Sběr je tedy selektivní, manuální. Počítá se, že přibližně z 8 kg plodů získáme 1 kg semen, což činí zhruba 135 tisíc semen, ze kterých však vyklíčí pouze asi 20 až 30 tisíc. Pro uchování semen po delší dobu se doporučuje skladovat je v uzavřeném obalu při nižších teplotách. V případě potřeby lze osivo mořit vhodnými fungicidními prostředky. Rovněž je popsán proces stratifikace osiva, kdy jsou vydesinfikovaná semena uložena v nádobě s pískem do chladu po dobu nejméně 3 měsíců. Studie Souza et al. (2014) však ukázala vyšší klíčivost u semen, která nebyla vydesinfikována, tedy ošetřena roztokem ethanolu a chlornanu sodného (Buduba, 2011; Croge et al., 2021; Gawron-Gzella et al., 2021).

Semena se vysévají do předem připraveného substrátu v období od března do května. Hustota výsevu se pohybuje v rozmezí 250–500 g/m². Obecně se doporučuje následující složení výsevniho substrátu: 3 díly tamní červenozemě, 1 díl organické hmoty (kompostu) a 1 díl písku. Aby bylo zabráněno kontaminaci nežádoucími půdními mikroorganismy, zejména plísněmi rodu *Fusarium* sp., *Rhizoctonia* sp., *Pythium* sp., *Rhizopus* sp. nebo *Phytophthora* sp., je potřeba substrát sterilizovat. V praxi lze takto substrát propařit horkou vodou v množství alespoň 10 l/m². Existuje také metoda chemická, čili aplikace fungicidních přípravků, jako Basamid, či Dazomet. Mladé rostliny jsou rovněž chráněny před nepříznivými povětrnostními vlivy. Staví se konstrukce ze dřeva, či z hliníku, které jsou následně potaženy fólií. Fóliovníky chrání sazenice před poryvy větru, intenzivním slunečním zářením, či před náhlými vydatnými srážkami. Po vyklíčení se mladé rostliny udržují v optimálních podmínkách po dobu 9–12 měsíců, některé zdroje však uvádějí pouze 7–8 měsíců (Burtník, 2006; Croge et al., 2021).

Jakmile rostliny dostatečně zesílí, tedy dorostou do výšky cca 20–30 cm, jsou připraveny k zasazení na finální stanoviště, tzv. plantáž. V oblasti, kde se pěstuje yerba maté se nachází půdy bohaté na minerální prvky, jsou dobře propustné a úrodné zejména v horních vrstvách. Z těchto důvodů je nutné chránit tyto půdy před erozí. Jedná se o sedimenty, které obsahují vysoké množství sloučenin železa, manganu, hořčíku, fosforu, hliníku a dalších

prvků, což má za následek červené zbarvení půd (Buduba, 2011; Croge et al., 2021; Heck et al., 2007; Lutomski et al., 2020).

Původním stanovištěm *Ilex paraguariensis* jsou vlhkomilné pralesy s četným zastoupením araukárií (*Araucaria angustifolia*). Okolní stromy poskytují pro cesmíny ochranu před přímým sluncem, větrem a žijí tak v symbióze. Národní institut pro yerba maté v Argentině proto apeluje na pěstitele, aby nechávali růst okolní vegetaci a snažili se podporovat její druhovou rozmanitost. Plantáže nalezneme na jihu Brazílie (Mato Grosso do Sul, Minas Gerais, Parana, Rio Grande do Sul, Rio de Janeiro, Santa Catarina), v Argentině (Misiones a Corrientes) a dále v Paraguayi (Alto Parana, Amambay, Itapua). Roční úhrn srážek se zde pohybuje okolo 1800 mm a průměrná teplota se pohybuje v rozmezí 17–21 °C (Buduba, 2011; Croge et al., 2021; Heck et al., 2007; Lutomski et al., 2020).

2 ZPRACOVÁNÍ YERBA MATÉ

Zpracování yerba maté se v zásadě podobá zpracování čaje a kávy, má však některá vlastní specifika. Následuje souhrn všech kroků výroby a s ohledem na země původu jsou uváděny také názvy v latinskoamerické španělštině. Způsoby zpracování se liší dle požadavků na finální produkt v dané zemi. Dle typické úpravy tak může konzument odhadnout, ze které oblasti yerba maté pravděpodobně pochází (Burriss et al., 2012; Gawron-Gzella et al., 2021; Kaltbach et al., 2020). Průběh a jednotlivé kroky zpracování popisuje Obrázek 2.



Obrázek 2 – Schéma procesu výroby (Cardozo Junior a Morand, 2016)

2.1 Sklizeň a příjem (Cosecha y recepción)

Jakmile je materiál (primární surovina) sklizen, musí být v co možná nejkratším čase převezen na místo zpracování. Maximální povolená doba pro tyto operace je 5 hodin a po celou dobu je třeba surovinu chránit před přímým slunečním světlem a nadměrnou vlhkostí. Vozidla, která zajišťují transport, musí rovněž splňovat řadu podmínek. Nákladní prostor musí být prostý prachu a jiných nečistot, nesmí sloužit pro přepravu zvířat, či osob, musí být dobře větratelný a v pravidelných intervalech musí procházet sanitací. Listy by během transportu, nakládání a vykládání neměly utrpět větší mechanické poškození, ani by nemělo dojít k zapaření. Místo vykládky slouží výhradně k tomuto účelu. Mimo období sklizně je zde zakázaný pohyb osob i zvířat a nesmí sloužit jako skladiště.



Obrázek 3 – Transport materiálu z plantáže [2]

2.2 Žihání (Zapecado)

Tento krok, popisovaný v anglických zdrojích jako blanching, je prováděn maximálně do 24 hodin od proběhnutí sklizně. Cílem je deaktivovat oxidační enzymy (typicky polyfenoloxidázy), snížit obsah vody v listech, řapících a větvičkách a také snížit mikrobiální nálož na povrchu listů. V konečném důsledku jde o to produkt stabilizovat. Surovina se přivádí za pomoci pásových dopravníků do rotační bubnové sušárny. V ocelovém cylindrickém válci dochází k přímému styku listů s ohněm po dobu 10–30 s a celkový průchod netrvá déle než 2–3 minuty. Otáčky se zvolí dle plamene tak, aby nedocházelo ke spálení materiálu. Obecně zde panují teploty v rozmezí 400–700 °C. Plamen byl tradičně zajišťován spalováním dříví, které je dnes již většinou nahrazeno zemním plynem nebo směsí propan-butan. S přihlédnutím k produkci spalin a nežádoucích produktů někteří producenti ustupují od tohoto kroku a dávají přednost sušení horkým vzduchem. Výsledný produkt má zhruba o 40–60 % nižší obsah vlhkosti ve srovnání s čerstvou surovinou (Burriss et al., 2012; Castrillo et al., 2013; Croge et al., 2021; Gawron-Gzella et al., 2021; Isolabella et al., 2010; Kaltbach et al., 2020).



Obrázek 4 – Pásový dopravník a bubnová sušárna [3]

2.3 Sušení (Secado)

Po prvotním snížení vlhkosti následuje další sušení, jehož cílem je dosáhnout 3–6 % vlhkosti v produktu. Probíhá v rozpětí od 30 minut až do 24 hodin a sušící médium dosahuje teplot 90–120 °C. Ve výsledku tak získáme ze 100 kg čerstvé hmoty přibližně 23 kg finálního produktu. Jeden z původních způsobů sušení spočíval v dalším přímém působení ohně na produkt. Tento postup byl však již argentinskou vyhláškou zakázán. Také se začíná ustupovat od tradičního postupu *barbacué*, který spočívá v sušení horkým kouřem. Uvnitř kruhové stavby ze dřevěných trámů nebo z pálených cihel jsou listy vyskládány do vrstev o tloušťce 30–40 cm do jednotlivých pater a dole uprostřed je rozdělán doutnající oheň. Použití tohoto postupu obohacuje produkt o kouřové aroma, avšak také o nežádoucí spaliny. Modernizace postupu spočívá ve filtrování kouře. V současnosti se nejvíce používá nepřímé působení přehřátého vzduchu na sušící teplotu. Listy jsou sušárnou dopravovány na pásech v protiproudém uspořádání vzhledem k proudění vzduchu. Poměrně novou záležitostí je lyofilizované maté, kdy dochází k vysušení na principu sublimace přítomné vody za sníženého tlaku a teploty (Burris et al., 2012; Castrillo et al., 2013; Croge et al., 2021; Gawron-Gzella et al., 2021; Isolabella et al., 2010; Kaltbach et al., 2020; Lorenzo, 2010).

2.4 Řezání (Canchado)

Jedná se o první nařezání na menší částičky za účelem snazšího uskladnění. V minulosti byly větvičky s listy sekány manuálně, dnes tuto činnost plně zajišťují drtičky. Dle platné argentinské vyhlášky (normy *Resolución 287/2022*) musí produkt obsahovat nejméně 88 % částiček, které se zachytí na sítu s velikostí ok 420 µm. Nařezaný produkt se uskladní do jutových velkoobjemových pytlů a ty jsou přeneseny do skladů. Obsah jemných listů a hrubších větviček je totiž nevyvážený a liší se také vlhkost jednotlivých komponent. Během další fáze zrání bude produkt získávat na homogenitě (Castrillo et al., 2013; Croge et al., 2021; Gawron-Gzella et al., 2021; Isolabella et al., 2010; Kaltbach et al., 2020; Lorenzo, 2010).

2.5 Zrání (Maduración)

Důležitá etapa, která má zásadní vliv na charakter produktu. Někteří producenti, snad z ekonomických důvodů, tuto fázi úplně vynechávají. Typické je to například pro Brazílii, kdy výsledný produkt působí svěžím travnatým charakterem. Oproti tomu vyzrálé

argentinské maté má silný zemitý charakter většinou ještě s vyrovnaným kouřovým aroma. Co vše se děje během zrání je stále předmětem zkoumání. Například Gawron-Gzella et al. (2021) naznačuje, že dochází k uvolňování polyfenolických látek z komplexů a také ke změnám v rámci methylxanthinových alkaloidů. Záleží také na délce zrání, která může být 2–24 měsíců. Po celou dobu je nutné kontrolovat v pravidelných intervalech vlhkost produktu, která dle argentinské normy nesmí překročit 7 %. Pokud by k tomu došlo, mohl by nastat rozvoj nežádoucí mikroflóry, jako jsou kvasinky a mikromycety. Obsah vlhkosti je tak v pravidelných intervalech kontrolován. Zrání může rovněž probíhat ve skladech s regulovanou teplotou a vlhkostí. Tzv. proces urychleného zrání se začíná postupně rozšiřovat mezi producenty (Burris et al., 2012; Castrillo et al., 2013; Croge et al., 2021; Gawron-Gzella et al., 2021; Isolabella et al., 2010; Kaltbach et al., 2020).



Obrázek 5 – Odebrání vzorku yerba maté [4]

2.6 Mletí a třídění (Molienda)

Po dostatečném vyzrání, případně s přeskočením této etapy, je třeba produkt pomlít na menší částičky. Nejprve však dochází k prvotnímu třídění na hrubší větvičky a jemné lístky. Tyto se pomelou zvlášť, aby bylo snazší je později odlišit. Používají se kovové drtiče, mlýny a navazují síta. Na základě mletí získáme tři základní komponenty: jemný prach z listů a řapíků, jemně mleté listy a drcené větvičky. Podle požadavků výrobce lze vyrábět yerba maté pouze z listů (*despalada* nebo *sin palo*) bez příměsi větviček a prachu. Dále existuje varianta yerba maté s minimálním podílem prachových částiček. Samostatnou kategorií jsou

pak směsi yerba maté s bylinami nebo sušeným ovocem. Na trhu se objevuje rovněž pražené maté, kdy dochází k dodatečnému upražení mletého produktu (Castrillo et al., 2013; Croge et al., 2021; Gawron-Gzella et al., 2021; Isolabella et al., 2010; Kaltbach et al., 2020; Lorenzo, 2010).

2.7 Balení (Envasado)

Balení do spotřebitelských obalů je finálním krokem v rámci výroby yerba maté. Tradiční balení mají objem 250 nebo 500 g, nicméně lze zakoupit také 2 kg balení nebo i menší varianty. Přestože se nejedná o tradiční způsob konzumace, maté je distribuováno také v čajových sáčkích. Některé firmy používají vakuové balení, aby tak uchránili produkt před ztrátou aroma.

3 CHEMICKÉ SLOŽENÍ NÁLEVU

Sypká směs yerba maté sestává z makrokomponent jako jsou látky sacharidové povahy (80,7 %), proteiny (4,09 %) a látky lipidické povahy (0,90 %). Samotný nálev poté obsahuje sacharidy a polysacharidy (10,4 %), proteiny (1,2 %) a lipidy (0,8 %). Dalšími důležitými komponentami jsou sekundární rostlinné metabolity jako purinové alkaloidy (kofein, theobromin, theofylin), polyfenolické sloučeniny (polyfenolické kyseliny a flavonoidy), terpeny (saponiny, karotenoidy) a také vitaminy a minerální prvky (Mg, Cu, Fe, aj.) (Gawron-Gzella et al., 2021; Zielinski et al., 2020).

3.1 Fenolické kyseliny

Fenolické kyseliny patří mezi nejrozšířenější rostlinné neflavonoidní fenolické sloučeniny. Vyskytují se ve formě volné, konjugované a vázané (Shahidi et al., 2015). Základní stavební jednotkou těchto látek je benzenové jádro, na které jsou navázány hydroxylové skupiny, případně další substituenty. Dle počtu, pozice a dalších intermolekulárních efektů se poté odvíjí míra antioxidační aktivity těchto látek. Polyfenolické látky se v chuti nálevu projevují svíravou a hořkou chutí. V extraktech yerba maté byly identifikovány především kyselina kávová a její deriváty, jako kyseliny chlorogenová, isochlorogenová, neochlorogenová a pak také kyseliny kafeoylšikimová a dikafeoylšikimová v praženém maté. Studie Burris et al. (2012) popisuje, že yerba maté má vyšší obsah polyfenolických sloučenin ve srovnání se zeleným čajem a zároveň je tento obsah srovnatelný s kvalitním červeným vínem. V rámci studie Zielinski et al. (2020) bylo analyzováno celkem 69 vzorků yerba maté z Brazílie. Ty obsahovaly ponejvíce kyseliny neochlorogenovou (259–635 mg/l), chlorogenovou (204–359 mg/l) a kryptochlorogenovou (132–257 mg/l). Další studie prokázala, jak značný vliv má na obsah bioaktivních látek způsob zpracování. V nálevech z praženého maté byl zjištěn výrazně nižší obsah fenolických sloučenin (Gawron-Gzella et al., 2021; Heck et al., 2007; Isolabella et al., 2010; Rzaş-Duran et al., 2022; Souza et al., 2015).

3.2 Flavonoidy

Skupina flavonoidů se dále dělí do 7 podskupin: chalkony, anthokyaniny, flavony, isoflavony, flavanony, flavonoly a flavanoly (Segura-Campos, 2019). V rámci celkového obsahu polyfenolů zaujímají pouze asi 5 %. Jedná se především o rutin, kvercetin-3-rhamnosid a/nebo 3-glukosid derivát, kaempferol-3-rhamnosid a/nebo 3-glukosid, a dále luteolin diglykosid (de Vasconcellos et al., 2022). Na základě studie Isolabella et al. (2010) byl zjištěn nárůst obsahu rutinu po provedení žihání a sušení produktu. Dále byl v nálevu identifikován astragalin. Stanovuje se rovněž celkový obsah flavonoidů (TFC). Studie Zielinski et al. (2020) analyzovala celkem 69 vzorků yerba maté z Brazílie a v závěru vyhodnotila obsah flavonoidů v rozmezí 230–541 mg RE/l, přičemž střední hodnota byla 349 mg RE/l. Účinky flavonoidů na lidský organizmus jsou takřka totožné s výše popsanými pro fenolické kyseliny, tedy antioxidační, hypoglykemické, antiobesitní a kardioprotektivní (Isolabella et al., 2010; Rzaşa-Duran et al., 2022).

3.3 Xanthinové alkaloidy

Methylxanthinové deriváty jsou přírodní biologicky aktivní rostlinné alkaloidy. Jejich struktura se zakládá na purinovém skeletu. Do této skupiny patří kofein, theobromin a theofylin. Syntéza se v rostlinách uskutečňuje po dráze xanthosin, 7-methylxanthosin, 7-methylxanthin, a theobromin. Theobromin je pak dále methylován a dochází tak k syntéze kofeinu, jakožto konečného metabolitu. U kofeinu bylo prokázáno, že dochází k navázání na kyselinu chlorogenovou a vytváří tak komplex kofein-chlorogenát. Připisovány jsou jednoznačně stimulační účinky na nervovou soustavu, dále neuroprotektivní účinky, bronchodilatační účinky (zejména u theofylinu), vasodilatační, diuretické účinky a bylo pozorováno zlepšení krátkodobé paměti. Kofein ve vyšších dávkách může způsobovat celkový neklid, třes, migrénu a bušení srdce. Při konzumaci yerba maté jsou však tyto účinky daleko vzácnější v porovnání s konzumací kávy. Dále je nutné pamatovat na možné interakce s léčivy. Theobromin je hlavním alkaloidem nacházejícím se v kakau a čokoládě. Theofylin se používá jako samostatný léčivý přípravek pro astmatiky, jelikož způsobuje rozšíření průdušek a zlepšuje okysličení krve. Popisovány jsou také příspěvky k celkové antioxidační aktivitě. Z pohledu sensorické analýzy jsou tyto látky zodpovědné za hořkou chuť. Bylo zjištěno, že dochází k mírnému nárůstu obsahu těchto látek po procesu žihání a naopak k poklesu (až 20 %) během fáze sušení. Jeden šálek maté obsahuje přibližně stejné množství kofeinu jako káva (80 mg), avšak s ohledem na metodu přípravy může konzument

dosáhnout příjmu až 260 mg. V suchém produktu se obsah kofeinu pohybuje od 25 do 175 mg/g a obsah theobrominu od 6 do 28 mg/g. Jiná studie popisuje obsah kofeinu v nálevu v rozmezí 66–201 mg/l (střední hodnota 140 mg/l) a obsah theobrominu 334–904 mg/l (střední hodnota 542 mg/l). Tento obsah se však odvíjí od metody přípravy (použitého množství na objem, teploty a času luhování aj.) (Gawron-Gzella et al., 2021; Isolabella et al., 2010; Kaltbach et al., 2020; Lutomski et al., 2020; Zielinski et al., 2020). V rámci předchozí práce Svoboda (2022) byl stanoven obsah kofeinu 112–389 mg/l, theobrominu 12,0–79,9 mg/l a obsah theofylinu 16,8–227 mg/l.

3.4 Aminokyseliny

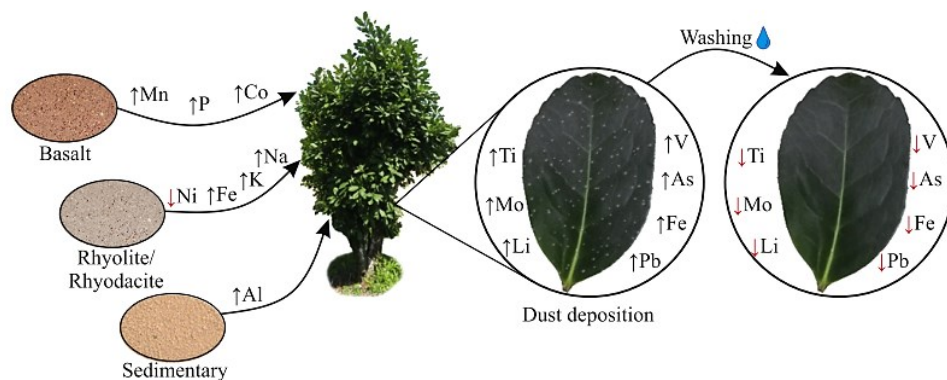
Aminokyseliny se v nálevech vyskytují ve volné formě. Přestože již bylo provedeno mnoho analýz u nálevů čaje (*Camellia sinensis*), pro yerba maté bližší výsledky stále chybí. Panovalo přesvědčení, že nálevy maté neobsahují na rozdíl od pravého čaje aminokyselinu L-theanin. Opak je však pravdou a tato aminokyselina přispívá k celkovému povzbuzujícímu efektu yerba maté i k samotné chuti nálevu. Z pohledu sensorické analýzy je tato kyselina zodpovědná za chuť umami, typickou pro zelené čaje připravené čínskou metodou. O významu a interakcích L-theaninu s polyfenoly a xanthinovými alkaloidy bylo napsáno několik podrobných studií. L-theanin má za následek pozvolnější nástup kofeinu, působí proti úzkosti a vyvolává vyplavování hormonů serotoninu a dopaminu. Na základě naměřených výsledků z předchozí práce je patrné, že nálevy obsahují okolo 1,0 až 1,5 mg L-theaninu/100 ml (Schuster et al., 2019; Svoboda, 2022).

3.5 Vitaminy

Nálevy yerba maté obsahují především vitaminy hydrofilní, konkrétně B₁, B₂, B₆ a C. Množství kyseliny askorbové se pohybuje okolo 22 mg/100 g suchých listů. Obsah vitaminů B je potom přibližně: 5,5 (B₁), 1,8 (B₂), 0,7 (B₆) v mg/100 g suchých listů. Dostupné zdroje popisují také přítomnost vitamínu E. Bylo prokázáno, že listy obsahují vyšší množství vitaminů v porovnání s řapíky a větvičkami. Množství však velmi závisí na metodě zpracování, na délce procesu zrání a také na klimatických podmínkách v daném roce (Croge et al., 2021; Gawron-Gzella et al., 2021; Heck et al., 2007; Lutomski et al., 2020; Souza et al., 2015).

3.6 Minerální prvky

Makrobiogenní, mikrobiogenní či stopové prvky se v produktu a poté v nálevech vyskytují řádově v množství mg až ng. Prvky jsou rostlinami absorbovány z půdy a vody a jsou transportovány do všech částí, kde se kumulují. Podobný děj se poté odehrává v lidském těle (Van Campen, 1991). V oblastech, ve kterých se yerba maté pěstuje, se vyskytují především horniny sedimentární, metamorfické a vulkanického původu. Všechny tyto druhy půd jsou bohaté na minerály a vyznačují se rovněž kyselým pH (3–4), což napomáhá rozpustnosti a vstřebatelnosti prvků rostlinami. Mezi nejvíce obsažené makroelementy se řadí K, Ca, Mg a P (11,4; 7,69; 6,99 a 1,37 mg/g produktu), z mikrobiogenních prvků je to především Fe (0,12 mg/g produktu) a ze stopových potom Mn (0,68 mg/g produktu). Na základě měření vybraných prvků je možné určit geografický původ yerba maté a také možné falšování přidáním cizích příměsí. Některé prvky se však na listy dostávají také spadem z atmosféry, jak bylo prokázáno u Fe, As, Ti, Mo, Li, V a Pb. Nežádoucí skupina těžkých kovů jako jsou Cd, As, Hg, Pb a další je kontrolována. Prvky se mohou do půdy dostat, mimo jiné, také závlahou s hnojivy a spolu s pesticidy. Platné vyhlášky v Argentině a Brazílii regulují obsah As, Pb a Cd na maximální obsahy 0,6; 0,6 a 0,4 mg/kg produktu. V rámci studie Santos et al. (2017) bylo publikováno, že se v nálevech vyskytuje nejvyšší množství Cd a Pb v prvním připraveném nálevu a dále postupně klesá. Celkové vyluhované množství však nepřekračuje 10 % z původního množství v listech (Gawron-Gzella et al., 2021; Heck et al., 2007; Motta et al., 2020).



Obrázek 6 – Přechod prvků z půdy do listů (Motta et al., 2020)

3.7 Další sensoricky aktivní látky

Ostatní látky, převážně v minoritním zastoupení, mají rovněž vliv na celkový profil chutí a vůní suchých listů i nálevů. Navzdory převažující adstringentní a hořké chuti obsahuje yerba maté rovněž jednoduché sacharidy. Jejich celkový obsah v suchých listech se pohybuje okolo 7,2 %, přičemž sacharóza tvoří zhruba 4,9 %, glukóza 1,1 % a dále trehalóza přibližně 0,5 % z celkové hmotnosti. Ze skupiny organických kyselin jsou nejvíce zastoupeny kyseliny citronová (2,8 %), askorbová (1,8 %) a jablečná (1,0 %) vyjádřeno opět v hmotnostních procentech na suchou hmotu. Na základě analýzy profilu lipofilních složek bylo zjištěno nejvyšší zastoupení polynenasycených mastných kyselin (PUFA) v množství 66,4 mg ve 100 g suchých listů a na druhém místě potom nasycené mastné kyseliny (SFA) v množství 28,0 mg/100 g. Jednotlivě se pak jednalo o kyseliny α -linolenovou (60,3 mg/100 g) a palmitovou (20,7 mg/100 g). V nálevech se dále vyskytují saponiny (5–10 % suché hmotnosti), které se také podílejí na hořké chuti. Yerba maté však také oplývá specifickou vůní, na které se podílí mnoho těkavých, sensoricky aktivních látek z řady monoterpenů, norisoprenoidů a karbonylových sloučenin. U vzorků z Argentiny a Paraguaye byl identifikován 6-methylhept-5-en-2-on, oktanal a oktan-1-ol. V rámci brazilských vzorků to pak byly například hepta-2,4-dienal a různé izomery, (*E*)-linalool a β -cyklocitral. Celkově již bylo identifikováno více než 70 těchto látek v nálevech. Většinou se jedná o degradační produkty například mastných kyselin, sacharidů nebo třeba karotenoidů. Látky jako furan, furanon, furfural a methylfurfural jsou typické pro pražené maté a dodávají nálevu karamelové, kávové, či kouřové aroma (Burriss et al., 2012; Heck et al., 2007; Márquez et al., 2013; Purcaro et al., 2009; Souza et al., 2015).

4 KONZUMACE YERBA MATÉ

Jak bylo naznačeno v úvodu, konzumace yerba maté je sociální akt. Lidé vzájemně sdílí své zážitky, pocity, kalabasu a termosku s horkou vodou. Dle statistik vyplývá, že 30 % obyvatel Jižní Ameriky vypije denně více než 1 litr tohoto nápoje. Uruguay není typickým producentem, zato však jsou největšími konzumenty, kdy připadá asi 8–10 kg yerba maté na osobu za rok. V Argentině je spotřeba zhruba 5–6 kg na osobu za rok a také se řadí mezi největší vývozce. Spotřeba v Brazílii se pohybuje v rozmezí 3–5 kg na osobu za rok. Zatímco tamní oblast Rio Grande do Sul je největším konzumentem chimarrão, město Rio de Janeiro nejvíce preferuje maté pražené. Konzumace yerba maté se však stává čím dál populárnější a dostává se tak i na trhy ostatních kontinentů (Croge et al., 2021; Gawron-Gzella et al., 2021; Lutomski et al., 2020; Souza et al., 2015).

4.1 Způsoby přípravy

4.1.1 Mate cocido

Jde o nejsnazší způsob přípravy maté vůbec. Suchý produkt je porcován do čajových sáčků a nálev se připraví zalitím horkou vodou. Ponechá se luhovat po dobu zhruba 4–6 minut, avšak tento čas je individuální (Gawron-Gzella et al., 2021).

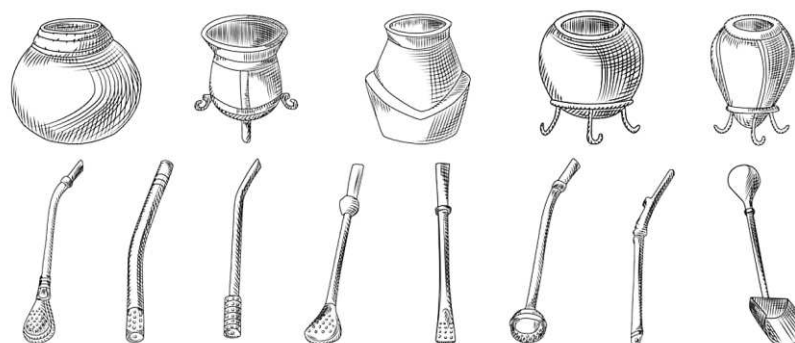


Obrázek 7 – Mate cocido (porcované) [5]

4.1.2 Yerba maté

Tradiční příprava yerba maté tak, jak se konzumuje v Latinské Americe má několik zásad. Podává se v nádobě, označované *calabaza* nebo *cuiá*, vytvořené nejčastěji z vydlabané tykve, plodu *Lagenaria vulgaris* z čeledi *Cucurbitaceae*. Plod je vydlabán a vysušen a stane se tak voděodolným. Existují rovněž varianty ze dřeva, keramiky nebo skla, které mají většinou delší životnost. Nápoj je nasáván pomocí speciální kovové slámky (*bombilla*), která je na druhém konci zakončena filtrem. Nejvíce užívaným materiálem pro

výrobu je dnes nekorozivní ocel, ale v minulosti se slámky vyráběly z dutých stébel travin. Při přípravě se kalabasa naplní do 1/2 až 2/3 yerba maté a postupně se přilévá horká voda. Doporučuje se také nejprve maté navlhčit vlažnou vodou, aby tak nedošlo ke „spálení“. Samotná horká voda by měla mít teplotu 70–80 °C. Při vyšší teplotě totiž, mimo jiné, hrozí nebezpečí popálení dutiny ústní a poškození sliznice. Takto lze připravit asi 7–10 nálevů, dle preference konzumenta (Croge et al., 2021; Gawron-Gzella et al., 2021; Kaltbach et al., 2020; Lutomski et al., 2020; Rzaşa-Duran et al., 2022; Souza et al., 2015).



Obrázek 8 – Kalabasa a bombilla (různá provedení) [6]

4.1.3 Tereré

Tereré je ideální variantou maté pro horké letní období, jelikož se jedná o přípravu za studena. Lístky maté jsou extrahovány studenou vodou s ledem, někdy také s přidávkem ovocného džusu (citrusový nebo ananasový). Takto připravené maté má osvěžující a povzbuzující efekt. Těší se oblibě především v Paraguayi a na jihu Brazílie. Studie Da Silveira et al. (2017) porovnála a dokázala, že navzdory nízké teplotě luhování přejde do nálevu srovnatelné nebo i vyšší množství bioaktivních látek jako jsou kofein, kyselina kafeoylchinová a její deriváty, kyselina chlorogenová a rutin (Croge et al., 2021; Gawron-Gzella et al., 2021; Kaltbach et al., 2020; Lutomski et al., 2020; Rzaşa-Duran et al., 2022; Souza et al., 2015).

4.1.4 Chimarrão

Posledním tradičním produktem je chimarrão, které je produkováno a konzumováno na jihu Brazílie. Pro přípravu se používá jemně mleté (až prachové) maté, které má svěží zelenou barvu, jelikož neprochází procesem zrání. Chybí rovněž kouřové aroma, přítomnost větviček a celkově má produkt jemnější chuť. Doporučuje se luhování vodou o teplotě 65–80 °C. Co se týče podávání, je používána opět tykev a bombilla, která však musí mít jemnější

otvory, aby nedošlo k zanesení prachovými částicemi (Croge et al., 2021; Gawron-Gzella et al., 2021; Kaltbach et al., 2020; Lutomski et al., 2020; Rzaşa-Duran et al., 2022; Souza et al., 2015).



Obrázek 9 – Chimarrão [7]

4.2 Podpůrné zdravotní benefity

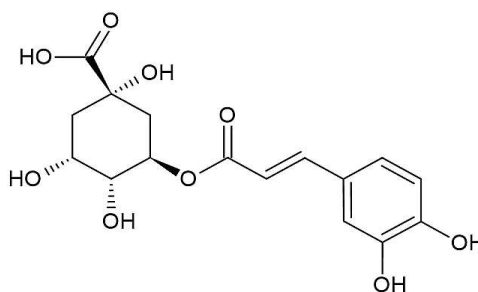
Teprve ke konci 20. století začaly probíhat vědecké výzkumy zabývající se příznivými zdravotními účinky yerba maté na lidský organismus. Kromě stimulačního efektu, zejména na nervovou soustavu, nabízí celou řadu benefitů, jako jsou: antioxidační aktivita, příznivý vliv na metabolismus lipidů a redukci tělesné hmotnosti, kardioprotektivní účinky, antidiabetické účinky, protizánětlivý a protirakovinný efekt (Burriss et al., 2012; Croge et al., 2021; Gawron-Gzella et al., 2021; Heck et al., 2007; Isolabella et al., 2010; Lutomski et al., 2020; Souza et al., 2015).

Antioxidační aktivita souvisí se schopností bioaktivních látek chránit lidský organismus před volnými radikály. Ty jsou zapojeny do celé řady dějů v lidském těle a podílejí se na rozvoji onemocnění, jako jsou veškerá zánětlivá onemocnění, kardiovaskulární choroby, nádorová onemocnění, metabolické poruchy a další. V nápoji yerba maté jsou to fenolické kyseliny, které zajišťují antioxidační aktivitu, přičemž převažuje kyselina chlorogenová, dále neochlorogenová a kryptochlorogenová, kyselina kávová, gallová a *p*-kumarová. Ze skupiny flavonoidů se v nálevech vyskytuje rutin, kvercetin, kaempferol a luteolin diglykosid. Nelze opomenout také zastoupení vitamínu C, téměř minimální obsah vitamínu E a dále stopové množství zinku a selenu. Několik studií se zakládá pouze na

metodách *in vitro* a tak doporučují následné ověření *in vivo* pokusy (Croge et al., 2021; Gawron-Gzella et al., 2021; Heck et al., 2007; Lutomski et al., 2020; Souza et al., 2015).

Uskutečněné *in vivo* experimenty na hlodavcích a na dobrovolnících ukazují, že organismus při delší pravidelné konzumaci yerba maté lépe odolává negativním vlivům tabákového kouře, snižuje se riziko obezity, aktivuje metabolismus lipidů, snižuje riziko inzulinové resistance, a zabraňuje nežádoucí oxidaci LDL částic v krvi (Burriss et al., 2012; Croge et al., 2021; Gawron-Gzella et al., 2021; Heck et al., 2007; Isolabella et al., 2010; Lutomski et al., 2020; Souza et al., 2015).

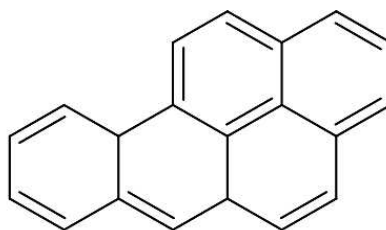
Kromě výše zmíněných účinků může maté přispívat k dobrému zdravotnímu stavu dutiny ústní skrze antimikrobiální působení na vybrané druhy bakterií a mikromycet. Pravděpodobně tento účinek zajišťují polyfenoly, methylxanthiny a terpeny. V nálevu se látky vyskytují v širokém spektru, avšak v nižších koncentracích. Kyseliny kávová a chlorogenová vykazují v čisté formě značné antimikrobní působení. Dále spolu s rutinem mají schopnost omezovat růst *Saccharomyces cerevisiae*, *Candida utilis*, *Pityrosporium ovale*, či *Penicillium chrysogenum*. Bylo dokázáno, že vyšší dávky extraktu mají schopnost inhibovat až usmrtit bakterie *E. coli* a *S. aureus* (Burriss et al., 2012; Gawron-Gzella et al., 2021; Lutomski et al., 2020).



Obrázek 10 – Struktura kyseliny chlorogenové

4.3 Možná zdravotní rizika

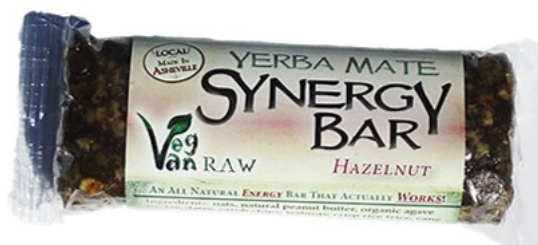
S ohledem na relativně vysoký obsah kofeinu a také s přihlédnutím ke způsobu zpracování nelze opomenout negativní stránku pravidelné konzumace. Vysoký obsah kofeinu (1–2 % v sušině a v nápoji poté v rozpětí 66–201 mg/l) může působit problémy u určitých skupin konzumentů, jako jsou děti, mladiství, těhotné a kojící ženy a celkově osoby citlivé na kofein (Gawron-Gzella et al., 2021; Gaspar et al., 2016). Nežádoucí efekty se pak mohou projevit jako nespavost, přechodné zvýšení krevního tlaku, zvýšení bazálního metabolismu a podpora diurézy. V rámci studie Santo et al. (2021) byla uskutečněna dekofeinizace yerba maté s použitím superkritické fluidní extrakce s CO₂. Navíc se může u některých konzumentů objevit překyselení žaludku s následným esofageálním refluxem (také gastroesofageální reflux). Toto onemocnění, stejně jako ostatní, se zakládá na mnoha faktorech, mezi nimi např. kouření, obezita, užívání dalších léků, zvýšená konzumace kofeinových a alkoholických nápojů a v neposlední řadě také stres. Několik studií se dále zabývalo možnou souvislostí mezi pravidelnou a dlouhodobou konzumací yerba maté a rozvojem rakoviny jícnu (Victoria et al., 1987; Loria, Barrios a Zanetti, 2009). Obě zmíněné studie se však v závěru shodují, že by bylo zapotřebí provést daleko rozsáhlejší a detailnější studii s přihlédnutím ke všem aspektům a rizikovým faktorům, jako je rovněž konzumace alkoholu, tabákových výrobků, nedostatečný příjem ovoce a zeleniny, či infekce high-risk HPV. Podezření na toto možné zdravotní riziko pochází z měření obsahu polycyklických aromatických uhlovodíků. V rámci studií Kamangar et al. (2019) a Oranuba et al. (2008) bylo detekováno celkem 21 PAU, mezi nimi rovněž velmi rizikový benzo[a]pyren. Přestože struktura těchto látek nemá typickou hydrofilní povahu, přesto bylo v nálevech analyzováno 37 % z původního množství nalezeného v listech a celkem 50 % benzo[a]pyrenu. Polycyklické aromatické uhlovodíky však nalezneme také například v masných produktech upravených na otevřeném ohni, či konzervované uzením (Kamangar et al., 2019).



Obrázek 11 – Struktura benzo[α]pyrenu

4.4 Další potravinářská využití

Nálevy yerba maté mají rovněž velký potenciál pro další potravinářské aplikace. Studie Rodríguez-Arzuaga et al. (2021) porovnávala enzymatické hnědnutí krájených jablek odrůdy Granny Smith během skladování při 2 a 10 °C. Závěrem bylo, že jablka ošetřená roztokem yerba maté v kombinaci s kyselinou askorbovou byla vyhodnocena jako vzhledově přijatelná ještě po dobu 2–5 dní. Antioxidační roztok také prodloužil lag-fázi u plísni, mesofilních a psychrotrofních mikroorganismů. Faccin et al. (2015) zase sledoval využití nálevů při přípravě těsta na chléb. Výrobek posuzovalo 60 hodnotitelů, přičemž míra akceptovatelnosti byla přes 80 %, což svědčí o tom, že výrobek byl velice dobře akceptován. Dále bylo potvrzeno, že chléb připravený s výluhem je méně náchylný vůči změnám během skladování, zahrnující napadení výrobku plísněmi. Podobné výsledky přinesla studie Berté et al. (2011), která se zabývala výrobou funkčních želatinových bonbonů. V rámci uskutečněné sensorické analýzy nebyly zaznamenány negativní vlivy na chuť, ani texturu cukrovinek. Kromě extraktu yerba maté byly navíc přidány fruktooligosacharidy, inulin a polydextróza. Dalším z příkladů využití mohou být cereální a ovocné tyčinky.



Obrázek 12 – Ovesná tyčinka s yerba maté [8]

II. PRAKTICKÁ ČÁST

5 CÍLE EXPERIMENTÁLNÍ PRÁCE

Experimentální část práce byla rozdělena do dvou samostatných, vzájemně navazujících sekcí:

V první části práce bylo cílem připravit dle zadaných technologických podmínek výluhy yerba maté. Následně v těchto nálevech stanovit profil polyfenolických látek, hodnoty celkových polyfenolů (TPC) a antioxidační aktivity (AOA) za použití metod spektrofotometrických a chromatografických.

Druhá část byla soustředěna na senzickou analýzu testovaných vzorků a z nich připravených výluhů.

6 METODIKA

6.1 Chemikálie

Pro jednotlivá stanovení byly použity následující chemikálie:

- Redestilovaná voda (Aqua Osmotic, Tišnov, ČR)
- Methanol (Ing. Petr Švec – Penta, s.r.o.)
- Standard troloxu (Merck, Darmstadt, Německo)
- Standard kyseliny gallové (Merck, Darmstadt, Německo)
- ABTS (Merck, Darmstadt, Německo)
- DPPH (Merck, Darmstadt, Německo)
- Na₂CO₃ (Ing. Petr Lukeš)
- Činidlo Folin-Ciocalteu (Merck, Darmstadt, Německo)
- K₂S₂O₈ (Ing. Petr Lukeš)
- CH₃COONa (Ing. Petr Lukeš)
- CH₃COOH (Ing. Petr Lukeš)

6.2 Použité přístroje a pomůcky

Pro jednotlivá stanovení byly použity následující přístroje a pomůcky:

- mikropipety s nastavitelným objemem
- analytické váhy Kern ABT 200 – 4NM
- ultrazvuková lázeň PS 04000A (Notus, SR)
- sušárna Venticell, BMT a.s., MMM-Group
- magnetická míchačka IKA (Verkon, Praha, ČR)
- syringe filtry s nylonovou membránou NY 0,22 μm (Chromservis, s.r.o., ČR)
- UV/VIS Spektrofotometr SPECORD 210 Plus (Analytik Jena, Německo)
- Chromatograf HPLC Dionex UltiMate 3000 (Thermo Scientific Inc., USA)

- Autosampler Dionex UltiMate 3000 WPS-3000 SL a WPS-3000 RS
- Pumpa Dionex UltiMate 3000 SD
- Kolona Phenomenex Kinetex C 18 (150 mm x 4,6 mm; 2,6 µm)
- Detektor Dionex Diode Array Detector DAD-3000 RS
- Vyhodnocovací program Chromeleon 7 (verze 7.2.1.5537)

6.3 Vzorky yerba maté

Pro analýzy bylo vybráno celkem 6 vzorků yerba maté. Vzorky se vzájemně liší zemí původu a tedy také metodou zpracování a dobou zrání. Byly zvoleny 4 vzorky nepražené a dva vzorky praženého maté. Dále se liší velikostí částecek a obsahem jednotlivých komponent (větvičky, listy a prach). Vzorky byly zakoupeny jako balení o deklarovaném obsahu 500 g, s výjimkou produktů od firmy Oxalis (jednalo se o 100 g balení) a dále s výjimkou Meta Mate Roasted „42“ (opět 100 g balení). Od zakoupení po provedení potřebných analýz byly vzorky uchovávány v původních obalech v prostorech klimatizované laboratoře (23 °C) analýzy potravin bez přístupu denního světla. Následují jednotlivé detailní popisy použitých vzorků yerba maté:



Vzorek 1 – **Mate Green Oxalis**, země původu: Brazílie

Vzorek 1: Jedná se o brazilské listové maté od firmy Oxalis. Produkt i nálev má spíše svěží zelenou barvu, která je typická pro yerba maté, které zrálo kratší dobu. Produkt obsahuje minimum větviček a téměř žádné prachové částičky.



Vzorek 2 – **Mate Rojo Tradicional**, země původu: Argentina

Vzorek 2: Tradiční argentinské maté produkované na rodinné farmě. Plantáže se nachází poblíž města Obera v provincii Misiones. Mate Rojo zaujme výraznou vůní, sladkým nálevem s příjemně nahořklými tóny a plnou chutí, čehož je dosaženo tradičním způsobem zrání po dobu 18 měsíců [9].



Vzorek 3 – **Pajarito Selección Especial**, země původu: Paraguay

Vzorek 3: Jedno z nejznámějších a vysoce ceněných paraguayských yerba maté. Označení „Especial“ se vztahuje k metodě zpracování, kdy se sušina po sklizni nechává zrát po dobu 24 měsíců. Tímto získává produkt ty správné chuťové vlastnosti. Varianta Especial se od té klasické liší také tím, že má o něco nižší obsah prachových částí. Vyznačuje se kouřovou chutí s tóny pražené kávy a s mírně sníženým (ve srovnání s tradiční verzí) hořkým nádechem [10].



Vzorek 4 – **Canarias Edición Especial**, země původu: Brazílie/Uruguay

Vzorek 4: V chuti lahodné maté, jedna z předních uruguayských značek. Canarias Edición Especial zraje déle než Canarias Traditional a díky tomu má vyváženější chuť. Listy stromu yerba maté používané k výrobě tohoto produktu pochází ze států Santa Catarina, Paraná a Rio Grande do Sul (Brazílie). Stromy rostou divoce v lesích, v mikroklimatu, který má vliv na výslednou kvalitu produktu [11].



Vzorek 5 – **Mate Roasted Oxalis**, země původu: Brazílie

Vzorek 5: Pražené maté původem z Brazílie od firmy Oxalis. Barva i chuť nálevu jsou spíše podobné slabší kávě s karamelovými tóny, chybí hořkost typická pro maté. Vzhledem na velikost částecek se lze domnívat, že jde o praženou podobu klasické verze yerba maté Oxalis.



Vzorek 6 – **Meta Mate „42“ Roasted**, země původu: Brazílie

Vzorek 6: Pražené maté z Brazílie s příjemnou oříškovou příchutí navíc bez hořké chuti klasického maté. Oblíbené jako osvěžující chlazený a sladký nápoj na brazilském pobřeží. Certifikace USDA Organic a ECOCERT zajišťují 100% organický původ a kvalitu [12].

6.4 Postupy přípravy nálevů

Výše specifikované vzorky yerba maté byly použity k přípravě nálevů následujícím způsobem. Vzorky byly v obchodním balení promíseny a bylo z nich odebráno reprezentativní množství. Od každého vzorku byly naváženy 2,4 g s přesností na 0,1 mg vždy ve třech opakováních. Vzorek byl převeden do kádinky a zalit redestilovanou vodou o objemu 100 ml. Bylo provedeno luhování při dvou odlišných teplotách, konkrétně 70 a 80 °C. Luhování probíhalo 5 minut za neustálého míchání na magnetické míchače, přičemž kádinka byla zakryta hodinovým sklem. Následně byly výluhy zfiltrány přes papírové filtry typu KA-4. Zvláště pro stanovení metodou HPLC byly nálevy ještě zfiltrány přes nylonové syring filtry o průměru 0,22 μm přímo do tmavých vialek.

Pro účely senzoričké analýzy byla příprava nálevů udělána dle platné normy ČSN ISO 3103, která specifikuje přípravu čajových nálevů pro senzoričké hodnocení. Do reagenčních lahví o objemu 1 litr bylo naváženo 20 g směsi a zalito vodou o teplotě 80 °C na finální objem 1 litr. Luhování probíhalo 4 minuty. Po uplynutí doby byly nálevy přefiltrovány skrz plastové sítko na čaj. Posuzovatelům byly následně výluhy podávány při teplotě obvyklé pro konzumaci, tedy v rozmezí teplot 60–70 °C.

6.5 Stanovení celkového obsahu polyfenolů

Celkový obsah polyfenolů (TPC) byl stanoven metodou s reakčním činidlem Folin-Ciocalteu. Do odměrné baňky o objemu 10 ml bylo napipetováno 5 ml redestilované vody. Postupně bylo přidáno 20 μ l extraktu vzorku, 0,5 ml činidla Folin-Ciocalteu a 1,5 ml 20% Na_2CO_3 . Nakonec byla baňka doplněna po rysku redestilovanou vodou. Obsah baňky byl promíchán a umístěn do temna na 30 minut. Po uplynutí doby byly u vzorků měřeny hodnoty absorbance při vlnové délce 765 nm pomocí UV/VIS spektrofotometru SPECORD 210 Plus. Jako slepý vzorek (blank) byla použita destilovaná voda. Celkový obsah polyfenolů byl pak vypočten na základě naměřených hodnot v kalibraci a ze získané rovnice kalibrační křivky po lineární regresi. Pro tyto účely byla připravena řada kalibračních roztoků standardu kyseliny gallové o koncentracích 0,6; 0,8; 1,4; 2,0 a 3,0 g/l. Výsledky jsou vyjádřeny jako ekvivalenty této kyseliny v mg na 100 ml vzorku (mg GAE/100 ml), přičemž tato hodnota byla dále přepočtena na 1 g sušené hmoty (Singleton, Orthofer a Lamuela-Raventós, 1999).

6.6 Stanovení jednotlivých polyfenolů metodou HPLC-UV

Na základě dostupných standardů polyfenolických látek běžně se vyskytujících v čajích byly polyfenolické sloučeniny stanovovány za použití vysokoúčinné kapalinové chromatografie na kapalinovém chromatografu HPLC Dionex Ultimate 3000 RS s následujícími chromatografickými podmínkami:

- nástřik na kolonu 10 μ l,
- teplota kolony 30 °C,
- průtok mobilní fáze 1 ml/min,
- složení mobilní fáze A: voda a kyselina octová v poměru 99:1
- složení mobilní fáze B: voda, acetonitril a kyselina octová v poměru 67:32:1,
- gradient: 0–10 minut (10–40 % B), 10–15 minut (20–50 % B), 15–20 minut (40–70 % B), 20–25 minut (50–60 % B), 25–30 minut (80 % B), 30–40 minut (70–20 % B), 40–45 minut (20 % B),
- čas analýzy 45 min,
- vlnová délka detekce 275 nm.

Pro stanovení přítomnosti a obsahu jednotlivých polyfenolů byly sestrojeny kalibrační řady standardů o koncentracích 0 až 150 µg/ml. Z rovnic lineární regrese byla následně vypočtena koncentrace jednotlivých analytů, které byly identifikovány na základě známých retenčních časů. Pro vyhodnocování ploch píků byl použit program LC Chromeleon™ 7.2 (Deng et al., 2012).

6.7 Stanovení antioxidační aktivity

Antioxidační aktivita (AOA) byla stanovena třemi odlišnými metodami za účelem dalšího vyhodnocení případné korelační závislosti hodnot AOA na obsahu TPC a jednotlivých polyfenolických látek.

6.7.1 Metoda se zhášením radikálu ABTS

Prvním krokem byla příprava samotného kation radikálu ABTS (2,2'-azino-bis(3-ethylbenzothiazolin-6-sulfonové kyseliny). Do 10ml odměrné baňky bylo naváženo 0,018 g této látky a baňka byla doplněna po rysku redestilovanou vodou. Dále byly k obsahu baňky přidány 0,2 ml 0,06 M peroxidisíranu draselného. Směs byla ponechána ve tmě při laboratorní teplotě po dobu 16 hodin k vygenerování radikálu a tento byl druhý den připraven k použití.

Dále byl připraven acetátový pufr smícháním 63,5 ml 0,2 M octanu sodného a 136,5 ml 0,2 M kyseliny octové. Finální pH tak bylo 4,3. Následně bylo smícháno 97,5 ml pufru s 2,5 ml roztoku radikálu ABTS. Hodnota absorbance této směsi byla změřena proti octanovému pufru (blank) při vlnové délce 734 nm a byla tak získána hodnota A_0 .

Pro samotné měření vzorků bylo do zkumavky napipetováno vždy 12 ml reakční směsi a bylo přidáno 10 µl vzorku. Směs byla ponechána v temnu po dobu 30 minut a po této době byl vzorek proměřen opět při 734 nm (získala se hodnota A_i). Na základě úbytku absorbance byla vypočtena inaktivace. Míra inaktivace byla prezentována v % (vzorec 1).

$$\text{Inaktivace} = \frac{A_0 - A_i}{A_0} \quad (1)$$

Jako srovnávací standard byl použit trolox (6-hydroxy-2,5,7,8-tetramethylchroman-2-karboxylová kyselina) a výsledek byl vyjadřován jako jeho ekvivalenty. Pracovní roztok byl připraven rozpuštěním 400 mg standardu troloxu ve 100 ml methanolu. Z pracovního

roztoku byla připravena řada kalibračních roztoků o koncentracích 0,25; 0,50; 1,00; 3,00 a 4,00 g/l. Kalibrační křivka byla sestrojena jako závislost inaktivace (%) na koncentraci troloxu (g/l), z rovnice lineární regrese byly vypočteny ekvivalenty troloxu (mg TE/100 ml nebo 1 g), které představují hodnotu antioxidační aktivity vzorku.

6.7.2 Metoda se zhášením radikálu DPPH

Byl připraven zásobní roztok DPPH (2,2-difenyl-1-pikrylhydrazylu) rozpuštěním 24 mg této látky v methanolu v odměrné baňce o celkovém objemu 100 ml. Pro dokonalé rozpuštění byla využita ultrazvuková lázeň. Z takto připraveného původního roztoku byl připraven pracovní roztok smícháním 34,9 ml tohoto s dalšími 157,0 ml methanolu. Následovalo změření absorbance tohoto roztoku oproti čistému rozpouštědлу (methanolu) při vlnové délce 515 nm. Tato hodnota byla zaznamenána jako A_0 .

Jako srovnávací standard byl znovu použit trolox a výsledek byl vyjadřován jako jeho ekvivalenty. Byly zvoleny koncentrace kalibračních roztoků 0,25; 0,50; 1,00; 2,00 a 3,00 g/l.

Pro změření vlastních vzorků byly do zkumavky napipetovány 4 ml pracovního roztoku DPPH a zvolené množství extraktu vzorku. Tato směs byla ponechána po dobu 60 minut bez přístupu světla a poté byla proměřena absorbance při 515 nm (A_i) za použití skleněných kyvet. Z naměřených hodnot byla vypočtena dle vzorce 1 hodnota inaktivace (%) (vzorec 1). Na základě rovnice lineární regrese byla vypočtena hodnota antioxidační aktivity a výsledek přepočten na ekvivalenty troloxu (mg TE/100 ml nebo 1 g).

6.7.3 Metoda FRAP s redukcí komplexu Fe^{3+} -TPTZ

Pro metodu FRAP byl připraven zásobní roztok obsahující železité ionty následujícím způsobem. Byl připraven acetátový pufr o finálním pH 3,6 smícháním 185 ml 0,2 M kyseliny octové a 15 ml 0,2 M octanu sodného. Dále byl připraven 20 mM roztok $FeCl_3$ okyselený několika kapkami koncentrované HCl. Naposled byl připraven roztok TPTZ (2,3,5-trifenyltetrazolium chloridu) o koncentraci 10 mM opět s pár kapkami HCl. Výsledná reakční směs byla připravena smícháním předchozích roztoků v poměru 10:1:1.

Pro vlastní měření byly připraveny 10ml odměrné baňky, do kterých byly pipetovány 2 ml reakční směsi, potřebné množství extraktů vzorků a baňka byla doplněna na finální objem redestilovanou vodou. Takto připravené vzorky byly ponechány po dobu 15 minut v temnu a poté byla změřena absorbance proti roztoku pufru při vlnové délce 593 nm.

Za standard byl i v tomto případě zvolen trolox a výsledek byl vyjadřován jako jeho ekvivalenty. Byla připravena řada kalibračních roztoků o koncentracích 0,90; 1,50; 2,40; 3,00 a 4,00 g/l. Na základě rovnice lineární regrese byla vypočtena hodnota antioxidační aktivity a výsledek byl přepočten na ekvivalenty troloxu (mg TE/100 ml nebo 1 g).

6.8 Senzorická analýza

Pro účely senzorické analýzy byl vypracován dotazník (Příloha II), byla navržena metoda přípravy nálevů (kapitola 7.4) a byli osloveni hodnotitelé z řad studentů, pracovníků a pedagogů FT UTB.

Senzorická analýza byla soustředěna na posouzení nejen nálevů, ale také samotných suchých vzorků yerba maté. Jako neutralizátor byla hodnotitelům k dispozici pitná voda. U vzorků byla zachována anonymita, kdy byly označeny náhodně kódy (Tabulka 5). Hodnocení se zúčastnilo celkem 26 posuzovatelů, kteří byli před začátkem proškolení a seznámení s dotazníkem (Příloha II). Senzorická analýza probíhala v laboratoři pro senzorické hodnocení na Ústavu technologie potravin, která splňuje požadavky normy ČSN EN ISO 8589. V laboratoři se nachází celkem 12 kójí oddělených přepážkami. Místnost byla klimatizována na teplotu v rozmezí 20–23 °C a byla uměle osvětlena.

Vybrané organoleptické vlastnosti (hrubost částec, barva, vůně, adstringentní a hořká chuť a kouřové aroma) byly zhodnoceny, výsledky byly zaznamenány, shrnuty a statisticky vyhodnoceny.

Tabulka 1 Označení vzorků pro účely senzorického hodnocení

Pořadí	1.	2.	3.	4.	5.	6.
Vzorek	Mate Green Oxalis	Mate Rojo Tradicional	Pajarito Selección Especial	Canarias Edición Especial	Mate Roasted Oxalis	Meta Mate „42“ Roasted
Označení	YM-40	YM-44	YM-41	YM-43	YM-45	YM-42

6.9 Statistické vyhodnocení

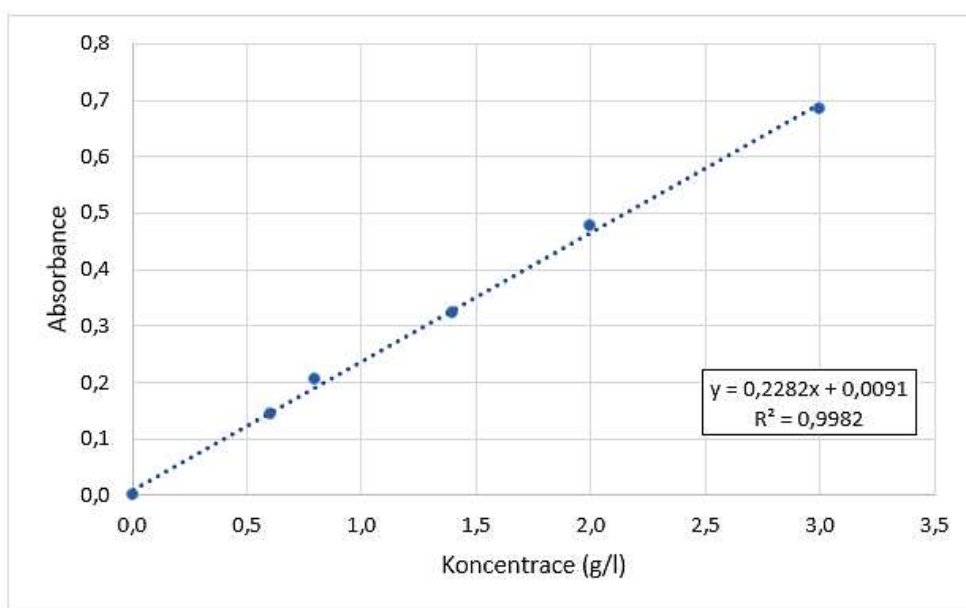
Celkový obsah polyfenolů, jednotlivé polyfenolické látky a hodnoty antioxidační aktivity byly vyhodnoceny vždy na základě 4–8 naměřených hodnot, ze kterých byl vypočten průměr a dále směrodatná odchylka. Pro srovnání středních hodnot dvou nezávislých souborů byl použit parametrický Studentův *t*-test při hladině významnosti 0,05. Pro vyhodnocení senzorické analýzy byly použity následující statistické metody: Kruskal-Wallisův test, Friedmanův test a Neményiho test vícenásobného porovnávání, vždy při hladině významnosti 0,05.

7 VÝSLEDKY A DISKUSE

7.1 Stanovení celkového obsahu polyfenolů

7.1.1 Kalibrační křivka pro stanovení celkového obsahu polyfenolů

Pro sestavení kalibrační křivky byly připraveny roztoky kyseliny gallové o koncentracích 0,6; 0,8; 1,4; 2,0 a 3,0 g/l a kalibrační křivka (Graf 1) byla sestrojena jako závislost absorbance na koncentraci kyseliny gallové. Z rovnice lineární regrese byl vypočten celkový obsah polyfenolů (TPC) pro jednotlivé vzorky a nálevy.



Graf 1 Kalibrační křivka pro stanovení TPC

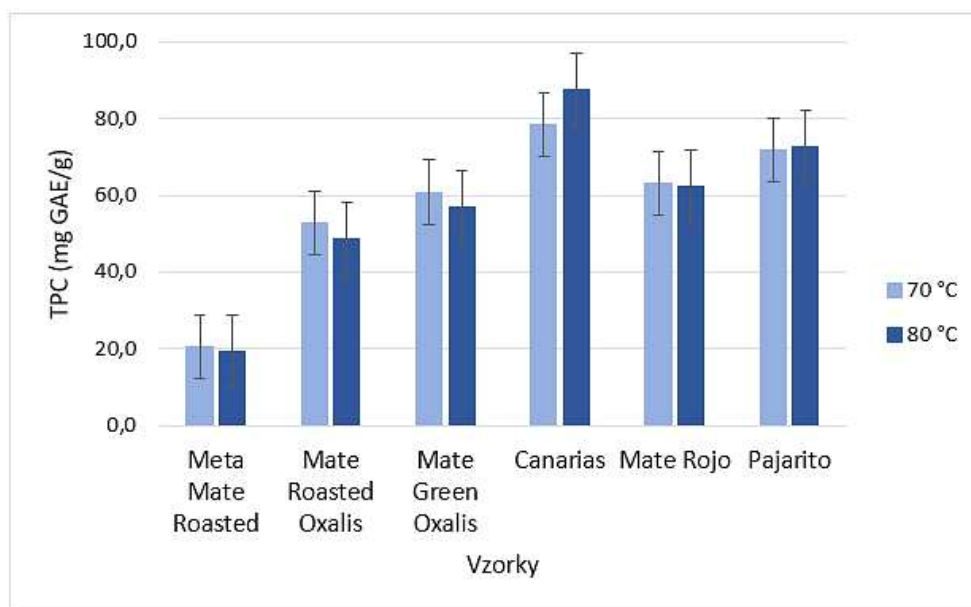
7.1.2 Stanovení TPC u jednotlivých vzorků

Výsledky stanovení celkových polyfenolů (TPC) jsou prezentovány v Tabulce 2 a na grafu 2.

Tabulka 2 Výsledky stanovení hodnot TPC pro nálevy yerba maté

Teplota	Meta Mate Roasted	Mate Roasted Oxalis	Mate Green Oxalis	Canarias	Mate Rojo	Pajarito
(mg GAE/100 ml)						
70 °C	49,7±2,8 ^{a,A}	127±9 ^{b,A}	146±9 ^{c,A}	188±4 ^{d,A}	151±9 ^{c,A}	172±6 ^{e,A}
80 °C	45,9±1,1 ^{a,B}	117±9 ^{b,B}	137±11 ^{c,B}	210±13 ^{d,B}	150±8 ^{e,A}	174±3 ^{f,A}

Výsledky jsou prezentovány jako střední hodnota ± SD (n=8). Výsledky v řádcích se stejným malým písmenným indexem (a výsledky mezi sebou ve sloupcích se stejným velkým písmenným indexem) mezi sebou nevykazují statisticky významné rozdíly ($p \geq 0,05$).



Graf 2 Naměřené hodnoty TPC vztažené na 1 g yerba maté

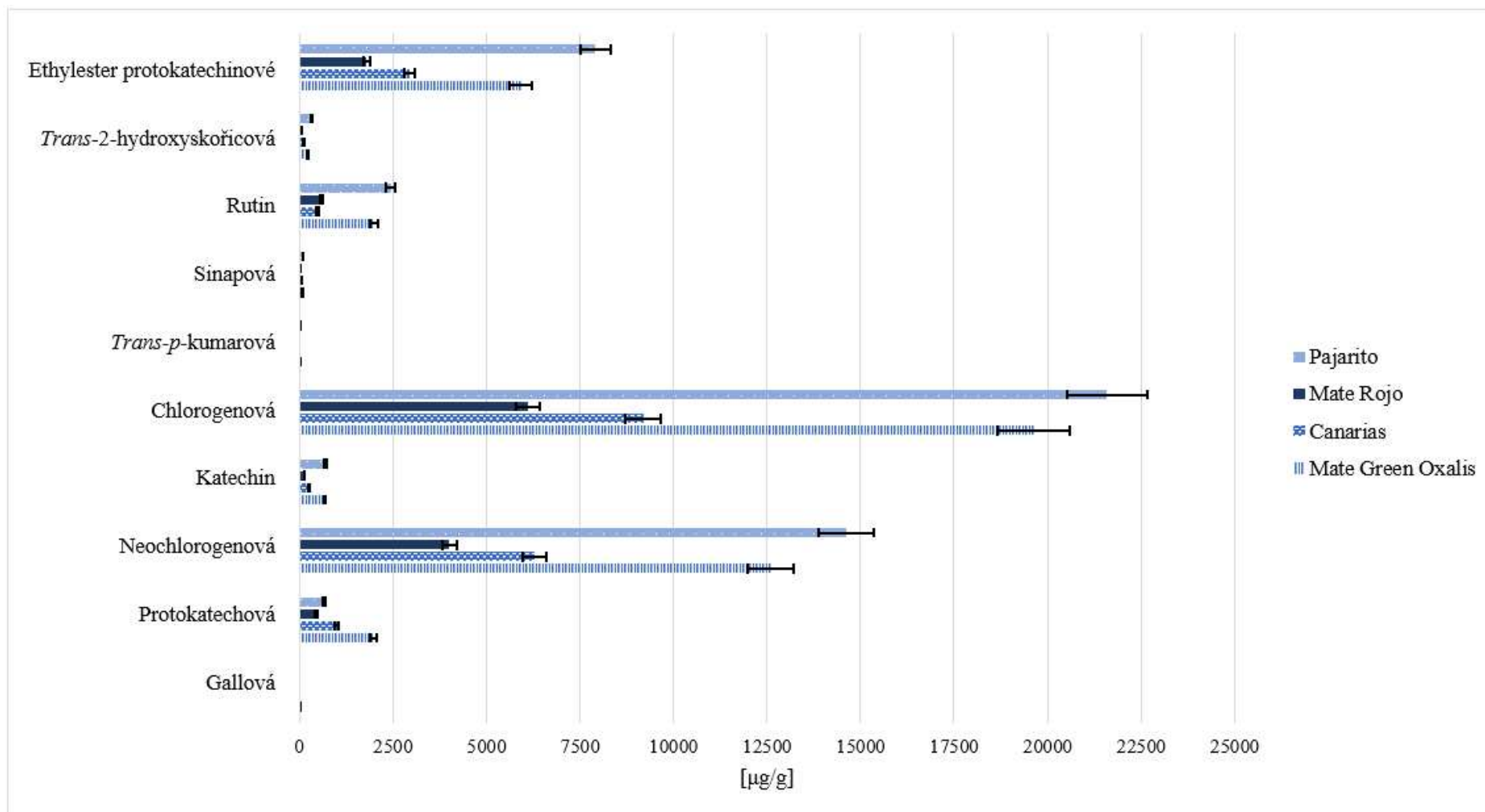
Na základě výsledků uvedených v Tabulce 2 a Grafu 2 je patrné, že nejvyšší obsah celkových polyfenolů obsahoval vzorek brazilského maté (188–210 mg GAE/100 ml), které pochází z divoce rostoucích stromů cesmíny paraguayské (Canarias Edición Especial). Druhým vzorkem, který oproti ostatním vykazoval vyšší hodnoty, je paraguayské maté Pajarito Selección Especial (172–174 mg GAE/100 ml). Tento vzorek se vyznačuje velmi dlouhou dobou zrání produktu a lze tedy vyvodit, že v průběhu zrání polyfenoly nedegradují, spíše naopak může jejich schopnost extrahovatelnosti do výluhu narůstat. Další dva vzorky

argentinského a brazilského maté vykazovaly přibližně stejné hodnoty, ačkoliv se jejich složení liší. Konkrétně Mate Rojo Tradicional obsahuje vyšší podíl zlomků větviček a řapíků a naproti tomu Mate Green Oxalis je typickým zástupcem tzv. listového maté. Nepříliš významný pokles obsahu polyfenolů byl zaznamenán u vzorku praženého Mate Roasted Oxalis (117–127 mg GAE/100 ml). Nicméně, vzorek Meta Mate Roasted vykazoval velmi nízké hodnoty TPC (45,9–49,7 mg GAE/100 ml), což lze přisuzovat delšímu procesu pražení při vyšších teplotách. Dalším faktorem, který je třeba brát v úvahu je, že tento vzorek je hrubě drcený (jak je popsáno dále v podkapitole 7.5.1.).

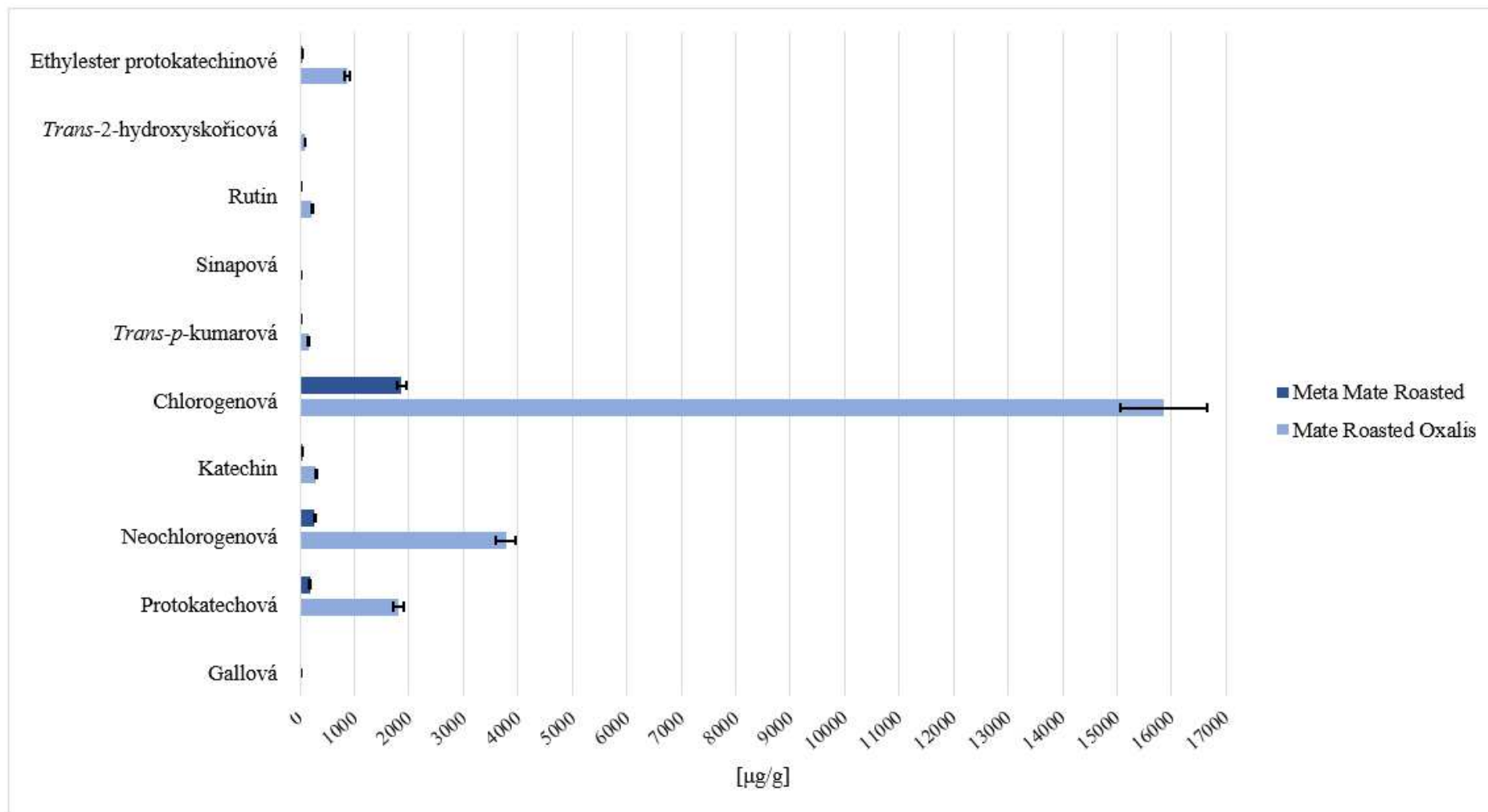
V rámci studie Rzaşa-Duran et al. (2022) byl stanoven průměrný obsah TPC ve výluzích 51,1 mg GAE/g suché hmoty, což je srovnatelné s výsledky v rámci této práce (Metodika: 4 g vzorku/60 ml, teplota vody: 85–95 °C, doba luhování: 20 min). Dále bylo zjištěno, že se vyšší obsah TPC vyskytuje v listech, v porovnání s větvičkami a řapíky (Souza et al., 2015).

7.2 Stanovení jednotlivých polyfenolů metodou HPLC-UV

Výsledky stanovení jednotlivých polyfenolických látek jsou prezentovány v Grafech 3 a 4 a následně v tabulkách 3 a 4. Obsahy polyfenolických látek ve výluzích jsou prezentovány zvlášť pro pražené a nepražené druhy yerba maté.



Graf 3 Stanovení jednotlivých polyfenolů v nepražených vzorcích yerba maté (teplota luhování 80 °C)



Graf 4 Stanovení jednotlivých polyfenolů v pražených vzorcích yerba maté (teplota luhování 80 °C)

Tabulka 3 Stanovení jednotlivých polyfenolů v nepražených vzorcích yerba maté
(teplota luhování 80 °C)

Analyty [mg/100 ml]	Vzorky			
	Mate Green Oxalis	Canarias	Mate Rojo	Pajarito
Gallová	0,05±0,01 ^a	0,03±0,01 ^b	0,03±0,01 ^b	≤ 0,02 ^b
Protokatechinová	4,83±0,03 ^a	2,43±0,01 ^b	1,17±0,04 ^c	1,66±0,03 ^d
Neochlorogenová	30,9±0,3 ^a	15,0±0,1 ^b	10,4±0,4 ^c	35,3±0,1 ^d
Katechin	1,65±0,01 ^a	0,61±0,01 ^b	0,37±0,03 ^c	1,73±0,02 ^d
Chlorogenová	48,0±0,4 ^a	22,4±0,2 ^b	16,1±0,7 ^c	52,9±0,6 ^d
<i>Trans-p</i> -kumarová	0,08±0,01 ^a	0,03±0,01 ^b	0,03±0,01 ^b	≤ 0,10 ^c
Sinapová	0,20±0,01 ^a	0,12±0,01 ^b	0,07±0,01 ^c	0,27±0,01 ^d
Rutin	4,89±0,05 ^a	1,20±0,01 ^b	1,60±0,08 ^c	5,98±0,06 ^d
<i>Trans</i> -2-hydroxyskořicová	0,54±0,01 ^a	0,30±0,01 ^b	0,17±0,01 ^c	0,88±0,04 ^d
Ethylester protokatechinu	14,9±0,3 ^a	7,07±0,01 ^b	4,66±0,17 ^c	19,6±0,3 ^d

Výsledky jsou prezentovány jako střední hodnota ± SD (n=8). Výsledky v řádcích se stejným malým písmenným indexem mezi sebou nevykazují statisticky významné rozdíly ($p \geq 0,05$).

Na základě Grafu 3 a Tabulky 3 výše lze zhodnotit, že se ve vyluzích (připravených z nepražených vzorků) v největší míře vyskytuje kyselina chlorogenová (16,1–52,9 mg/100 ml). V menším množství jsou poté zastoupeny kyselina neochlorogenová (10,4–35,3 mg/100 ml), ethylester kyseliny protokatechinové (7,07–19,6 mg/100 ml), samotná kyselina protokatechinová (1,17–4,83 mg/100 ml) a rutin (1,20–5,98 mg/100 ml). Zbývající fenolické sloučeniny, které byly identifikovány, se vyskytují v množství maximálně do 1,73 mg/100 ml (nebo-li 702 µg/g). Co se týče zhodnocení obsahu polyfenolických sloučenin, který byl kvantifikován metodou HPLC, pak se vyskytovalo nejvyšší množství ve vzorku Pajarito Selección Especial, poté Mate Green Oxalis, dále Canarias Edición Especial a s nejnižším obsahem vzorek Mate Rojo Tradicional. Ačkoliv je tedy vzorek Pajarito Selección Especial nejdéle zrajícím (24 měsíců), nelze shrnout, že by polyfenoly při tomto procesu významně

degradovaly. Proto je nezbytné pamatovat také na ostatní předchozí kroky při výrobě, jako je například žihání (*zapecado*).

Tabulka 4 Stanovení jednotlivých polyfenolů v pražených vzorcích yerba maté
(teplota luhování 80 °C)

Analyty [mg/100 ml]	Vzorky	
	Mate Roasted Oxalis	Meta Mate Roasted
Gallová	0,04±0,01 ^a	≤ 0,02 ^b
Protokatechinová	4,34±0,09 ^a	0,43±0,01 ^b
Neochlorogenová	9,06±0,15 ^a	0,66±0,01 ^b
Katechin	0,72±0,03 ^a	0,10±0,01 ^b
Chlorogenová	38,0±0,3 ^a	4,48±0,11 ^b
<i>Trans-p</i> -kumarová	0,38±0,01 ^a	0,06±0,01 ^b
Sinapová	0,05±0,01 ^a	≤ 0,01 ^b
Rutin	0,53±0,02 ^a	0,03±0,01 ^b
<i>Trans</i> -2-hydroxyskořicová	≤ 0,01	≤ 0,01
Ethylester protokatechinu	2,07±0,06 ^a	0,13±0,01 ^b

Výsledky jsou prezentovány jako střední hodnota ± SD (n=8). Výsledky v řádcích se stejným malým písmenným indexem mezi sebou nevykazují statisticky významné rozdíly ($p \geq 0,05$).

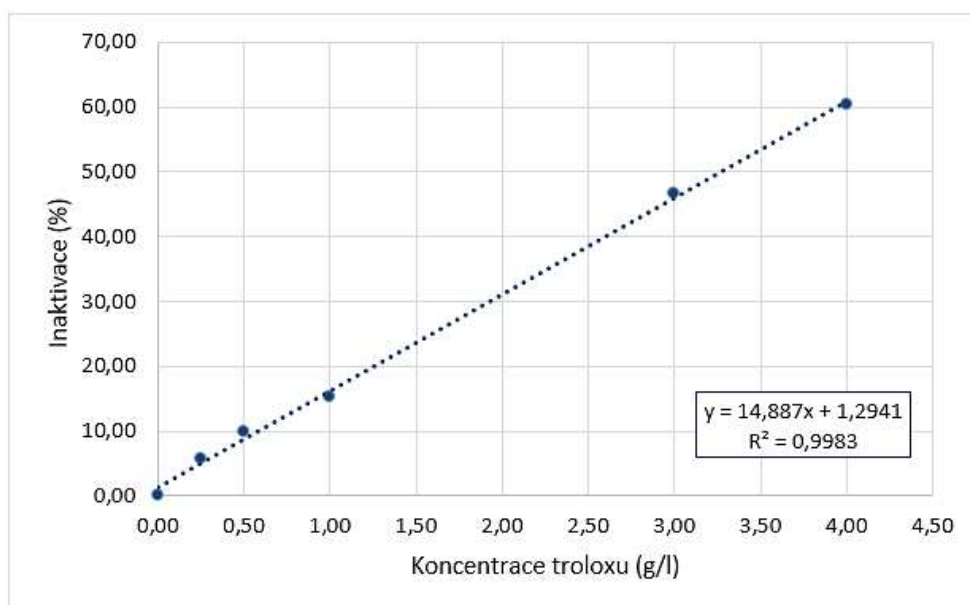
Výsledky stanovení polyfenolů u druhotně pražených vzorků yerba maté ukazují, že dochází k významné degradaci těchto biologicky aktivních látek. Přesto si však lze všimnout, že může záležet na parametrech a postupu pražení. Vzorek Mate Roasted Oxalis vykazuje vyšší hodnoty TPC (78,5–87,5 mg GAE/g), oproti druhému vzorku (19,1–20,7 mg GAE/g), přesto jsou však nižší v porovnání se vzorky nepraženými. Nejméně jsou degradovány kyseliny chlorogenová a neochlorogenová a poté ještě kyselina protokatechinová. Ve vzorku Mate Green Oxalis vyskytuje kyselina chlorogenová v množství 19,6–20,0 mg/g, kdežto u Mate Roasted Oxalis v rozmezí 15,9–16,1 mg/g. Na

druhou stranu byly velmi výrazně degradovány kyseliny sinapová, *trans*-2-hydroxyškořicová a dále rutin. Pražená varianta maté je velmi populární především v Brazílii. Značný pokles antioxidantů vlivem pražení popisují rovněž studie Rzaşa-Duran et al., 2022, Zielinski et al., 2020 a Isolabella et al., 2010. Výzkum dokazuje, že po procesu pražení došlo u vzorku brazilského maté ke snížení kyseliny neochlorogenové z průměrných hodnot 24,5–39,0 mg/g (suché hmoty) na hodnotu až 1,2 mg/g. Dále degradovala kyselina chlorogenová z hodnot 12,1–19,0 mg/g na hodnotu 1,8 mg/g (Rzaşa-Duran et al., 2022). Naproti tomu byly u pražených nálevů objeveny polyfenolické sloučeniny, které se u nepražených vzorků nevyskytují, konkrétně kyseliny kaffeoylšikimová a dikaffeoylšikimová (Bastos et al., 2007).

7.3 Stanovení antioxidační aktivity

7.3.1 Kalibrační křivka pro stanovení AOA se zhášením radikálu ABTS

Pro sestavení kalibrační křivky (Graf 5) pro výpočet antioxidační aktivity (AOA) se zhášením radikálu ABTS byly připraveny roztoky standardu troloxu o koncentracích 0,25; 0,50; 1,00; 3,00 a 4,00 g/l. Z rovnice lineární regrese, která byla sestrojena jako závislost inaktivace na koncentraci troloxu, byla vypočtena hodnota antioxidační aktivity.



Graf 5 Kalibrační křivka pro stanovení AOA se zhášením radikálu ABTS

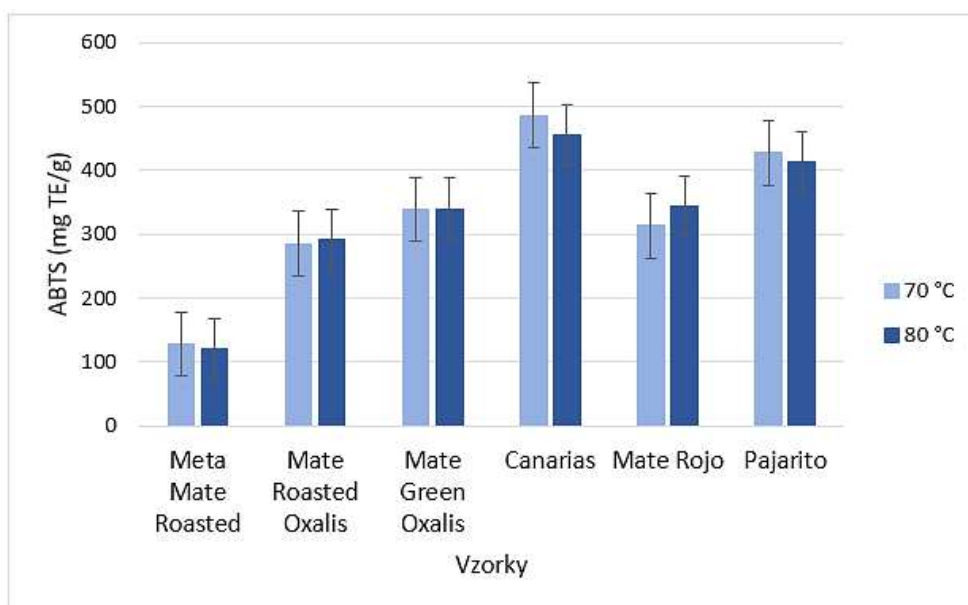
7.3.2 Výsledky stanovení hodnot antioxidační aktivity se zhášením radikálu ABTS

Výsledky stanovení hodnot AOA u vzorků výluhů yerba maté jsou prezentovány v Tabulce 5 a Grafu 6.

Tabulka 5 Výsledky stanovení hodnot AOA pro nálevy yerba maté při zhášení radikálu ABTS

	Meta Mate Roasted	Mate Roasted Oxalis	Mate Green Oxalis	Canarias	Mate Rojo	Pajarito
(mg TE/100 ml)						
70 °C	128±18 ^{a,A}	285±23 ^{b,A}	339±16 ^{c,A}	486±21 ^{d,A}	313±20 ^{e,A}	428±20 ^{f,A}
80 °C	121±7 ^{a,A}	291±27 ^{b,A}	340±6 ^{c,A}	456±27 ^{d,B}	344±14 ^{c,B}	414±23 ^{e,B}

Výsledky jsou prezentovány jako střední hodnota ± SD (n=8). Výsledky v řádcích se stejným malým písmenným indexem (a výsledky mezi sebou ve sloupcích se stejným velkým písmenným indexem) mezi sebou nevykazují statisticky významné rozdíly ($p \geq 0,05$).



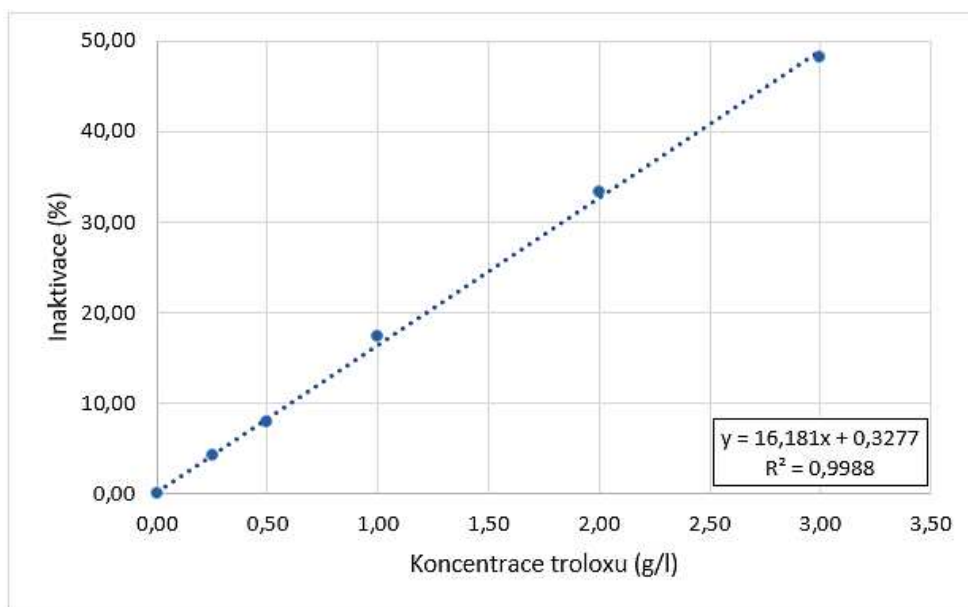
Graf 6 Hodnoty AOA se zhášením radiálu ABTS na 1 g yerba maté

Na základě Tabulky 5 a Grafu 6 lze zhodnotit, že nejvyšší míru antioxidační aktivity vykazuje vzorek Canarias Edición Especial. V souladu také s celkovým obsahem polyfenolů (TPC) vykazuje vzorek Pajarito Selección Especial druhou nejvyšší antioxidační kapacitu. Následují vzorky Mate Rojo Tradicional a Mate Green Oxalis. Jak bude zřejmé také u následujících metod, nebyl zjištěn signifikantní rozdíl mezi teplotami luhování při 70 a 80 °C, což se týče vlivu na antioxidační aktivitu. Metoda ABTS⁺ je založena na reakci

antioxidační látky, případně jejich směsi, s kation-radikálem ABTS. Ten je předtím uměle připraven reakcí ABTS s peroxodisíranem draselným. Antioxidanty v tomto případě působí jako donory vodíku (Paulová, Bochořáková, Táborská, 2004).

7.3.3 Kalibrační křivka pro stanovení AOA aktivity se zhášením radikálu DPPH

Pro sestavení kalibrační křivky (Graf 7) pro výpočet AOA se zhášením radikálu DPPH byly připraveny roztoky troloxu o koncentracích 0,25; 0,50; 1,00; 2,00 a 3,00 g/l. Kalibrační křivka byla sestrojena jako závislost inaktivace radikálu DPPH (%) na koncentraci troloxu. Z rovnic lineární regrese byla vypočtena hodnota AOA pro jednotlivé nálevy.



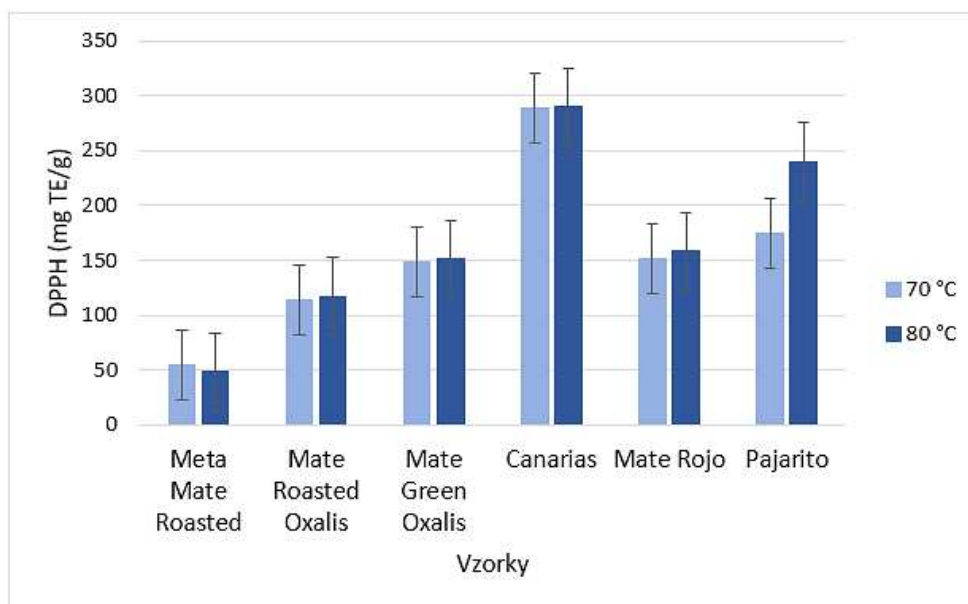
Graf 7 Kalibrační křivka pro stanovení AOA zhášením radikálu DPPH

7.3.4 Výsledky stanovení hodnot antioxidační aktivity se zhášením radikálu DPPH

Tabulka 6 Výsledky stanovení hodnot AOA pro nálevy yerba maté při zhášení radikálu DPPH

	Meta Mate Roasted	Mate Roasted Oxalis	Mate Green Oxalis	Canarias	Mate Rojo	Pajarito
(mg TE/100 ml)						
70 °C	130±12 ^{a,A}	273±10 ^{b,A}	356±18 ^{c,A}	694±13 ^{d,A}	364±23 ^{e,A}	417±22 ^{f,A}
80 °C	116±10 ^{a,B}	282±12 ^{b,B}	363±21 ^{c,A}	697±25 ^{d,A}	379±15 ^{e,B}	577±8 ^{f,B}

Výsledky jsou prezentovány jako střední hodnota ± SD (n=8). Výsledky v řádcích se stejným malým písmenným indexem (a výsledky mezi sebou ve sloupcích se stejným velkým písmenným indexem) mezi sebou nevykazují statisticky významné rozdíly ($p \geq 0,05$).



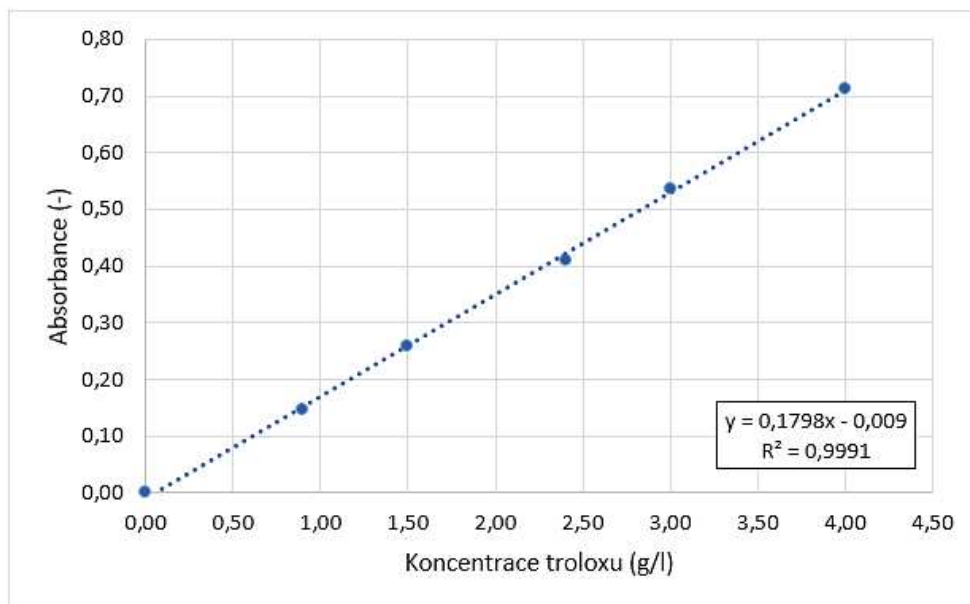
Graf 8 Hodnoty AOA se zhášením radikálu DPPH na 1 g yerba maté

Výsledky hodnocení antioxidační aktivity pomocí metody DPPH v podstatě kopírují výsledky získané předchozí metodou ABTS. Ačkoliv hodnoty nelze porovnávat, trend ukazuje, že nejvyšší míru antioxidační aktivity vykazuje vzorek brazilský-Canarias Edición Especial. Následuje vzorek Pajarito Selección Especial, u kterého byl zaznamenán rozdíl mezi výluhem připraveným při 70 a při 80 °C. S ohledem na ostatní výsledky se však může jednat spíše o pochybení při přípravě, či během měření. Vzorky Mate Green Oxalis a Mate Rojo Tradicional vykazovaly v podstatě shodnou míru antioxidační kapacity. Pokles byl zaznamenán u obou vzorků praženého yerba maté, nicméně Meta Mate Roasted má vůbec

nejnižší antioxidační schopnost. Metoda DPPH je založena na redukci poměrně stabilního radikálu 2,2-difenyl-1-pikrylhydrazyl na difenylpikrylhydrazin (DPPH-H). Antioxidant se tak stává radikálem, avšak mnohem stabilnějším. Kromě spektrofotometrického vyhodnocení lze použít také vyhodnocení pomocí HPLC (Paulová, Bochořáková, Táborská, 2004).

7.3.5 Kalibrační křivka pro stanovení AOA metodou FRAP

Pro sestavení kalibrační křivky (Graf 9) pro výpočet hodnoty antioxidační aktivity pomocí metody FRAP byly připraveny roztoky troloxu o koncentracích 0,90; 1,50; 2,40; 3,00 a 4,00 g/l. Kalibrační křivka byla sestrojena jako závislost absorbance na koncentraci troloxu. Z rovnice lineární regrese byla vypočtena hodnota AOA pro jednotlivé nálevy.



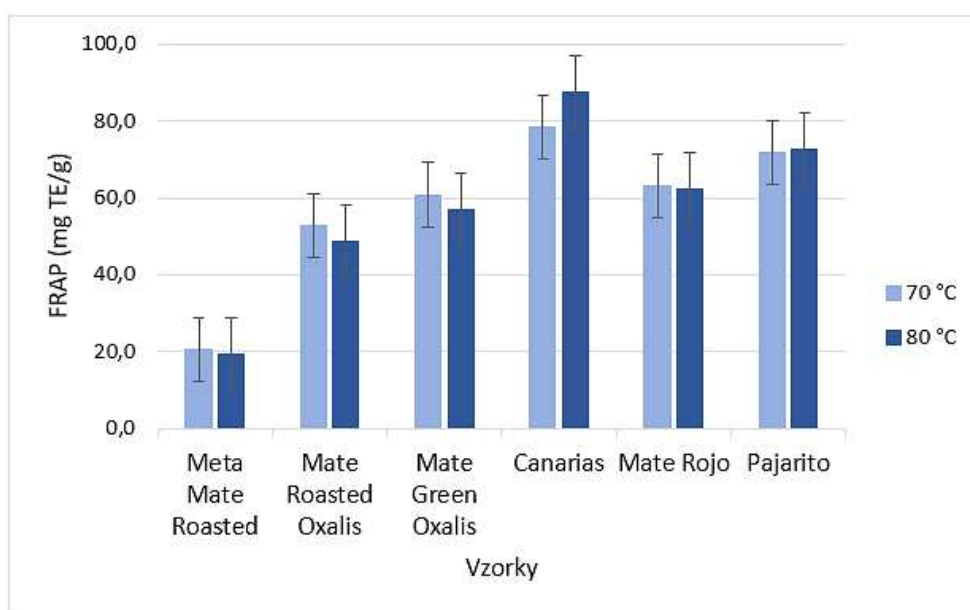
Graf 9 Kalibrační křivka pro stanovení AOA metodou FRAP

7.3.6 Výsledky stanovení hodnot antioxidační aktivity měřené metodou FRAP

Tabulka 7 Výsledky stanovení hodnot AOA pro nálevy yerba maté stanovené pomocí metody FRAP

	Meta Mate Roasted	Mate Roasted Oxalis	Mate Green Oxalis	Canarias	Mate Rojo	Pajarito
(mg TE/100 ml)						
70 °C	103±7 ^{a,A}	200±7 ^{b,A}	242±7 ^{c,A}	334±5 ^{d,A}	223±4 ^{e,A}	283±24 ^{f,A}
80 °C	99,4±0,4 ^{a,A}	184±5 ^{b,B}	244±10 ^{c,A}	309±7 ^{d,B}	242±7 ^{e,B}	284±15 ^{e,A}

Výsledky jsou prezentovány jako střední hodnota ± SD (n=8). Výsledky v řádcích se stejným malým písmenným indexem (a výsledky mezi sebou ve sloupcích se stejným velkým písmenným indexem) mezi sebou nevykazují statisticky významné rozdíly ($p \geq 0,05$).



Graf 10 Naměřené hodnoty AOA metodou FRAP na 1 g vzorku yerba maté

Na základě výsledků měření AOA metodou FRAP je opět zřetelné, že maximální míry antioxidační aktivity dosahuje vzorek Canarias Edición Especial. Zbytek vzorků také mírně převyšuje paraguayské maté-Pajarito Selección Especial. Dále sestupně následovaly vzorky Mate Rojo Tradicional, Mate Green Oxalis a Mate Roasted Oxalis. Nejnižší míru antioxidační aktivity i v tomto případě vykazoval vzorek praženého maté z Brazílie-Meta Mate Roasted. Metoda FRAP je založena na redukci Fe^{3+} iontů, které jsou součástí komplexu s TPTZ na ionty Fe^{2+} . Za nedostatek této metody je považováno nízké (nefyziologické) pH (3,6), při kterém reakce probíhá (Paulová, Bochořáková, Táborská, 2004).

Studie Zielinski et al. (2020) naměřila průměrné hodnoty AOA se zhášením radikálu DPPH a redukcí Fe^{3+} iontů metodou FRAP u vzorku yerba maté pocházejícího z Brazílie: DPPH: 403 mg TE/100 ml; FRAP: 297 mg TE/100 ml (Metodika: 2 g vzorku/100 ml, teplota vody: 80 °C, doba luhování: 8 min). Bohužel číselně nelze hodnoty AOA porovnávat navzájem, a to z důvodu odlišných metodických postupů v rámci jednotlivých metodik či studií

Z předchozích grafů a tabulek uvedených v kapitole 7.3 je na první pohled patrné, že mezi výsledky stanovenými různými metodami v rámci AOA existuje společný trend. Z rozdílu v teplotě vody použité pro luhování yerba maté není možné vyvodit jednoznačný závěr. Nebylo tedy ověřeno, že by luhování při teplotě 70 nebo 80 °C mělo pozitivní, či negativní vliv na vyluhovatelnost látek s vyšší či nižší hodnotou antioxidační aktivity. Napříč testovanými vzorky yerba maté se vyskytl jeden trend, dle kterého můžeme vzorky seřadit následovně. Nejvyšší antioxidační aktivitu vykazoval vzorek Canarias Edición Especial. Následoval vzorek paraguayský-Pajarito Selección Especial. Poměrně porovnatelné výsledky vykazovaly vzorky Mate Green Oxalis a Mate Rojo Tradicional. Naproti tomu u pražených vzorků byl zaznamenán významný pokles obsahu antioxidačních aktivit. Především pak u vzorku Meta Mate Roasted, který byl vzorkem vykazujícím nejnižší míru antioxidační aktivity. Je možné vyvodit, že druhý pražený vzorek Mate Roasted Oxalis prochází šetrnějším procesem pražení, neboť u tohoto vzorku nebyl zaznamenán pokles natolik výrazný. Nicméně předchozí jmenované studie se shodují na závěru, že pražením yerba maté ztrácí významné množství polyfenolických sloučenin, což má přímý dopad na snížení celkové antioxidační aktivity (Isolabella et al., 2010; Zielinski et al. 2020).

7.4 Korelační analýza

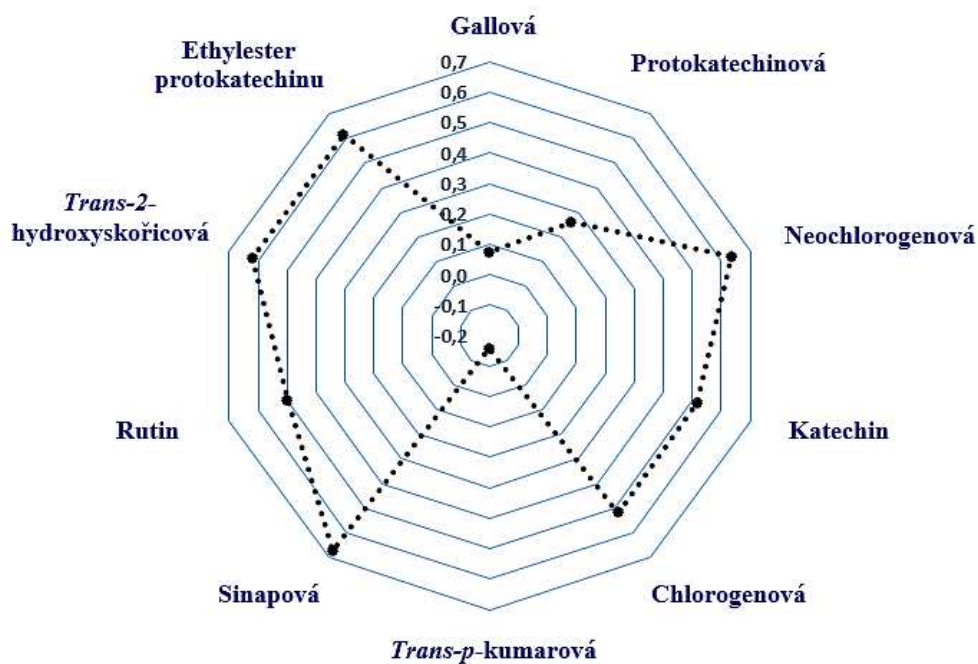
Na základě naměřených hodnot antioxidační aktivity, celkového obsahu polyfenolů a obsahu jednotlivých fenolických sloučenin byla provedena korelační analýza pro evaluaci dat pomocí Pearsonova korelačního koeficientu (r). Byla použita statistická funkce Pearson v Excelu a jednotlivé hodnoty r odpovídající korelaci mezi hodnotami TPC a AOA jsou prezentovány níže v Tabulce 8. Pearsonův korelační koeficient udává sílu lineární závislosti mezi sledovanými veličinami. Korelační koeficient nabývá hodnot z intervalu od -1 do +1 ($-1 \leq r \leq +1$). Kladné hodnoty r znamenají kladnou lineární korelaci, záporné hodnoty r potom negativní lineární korelaci. Čím je hodnota r blíže k +1 nebo -1, tím silnější korelace je mezi sledovanými veličinami. Korelace je míra souvislosti, a tak je možno sílu korelace

popsat i slovně. Používá se Evansova stupnice slovního vyjádření pro absolutní hodnotu r : 0–0,19 (velmi slabá), 0,20–0,39 (slabá), 0,40–0,59 (střední), 0,60–0,79 (silná), 0,80–1,00 (velmi silná) (Math and Stats Support Centre, 2024).

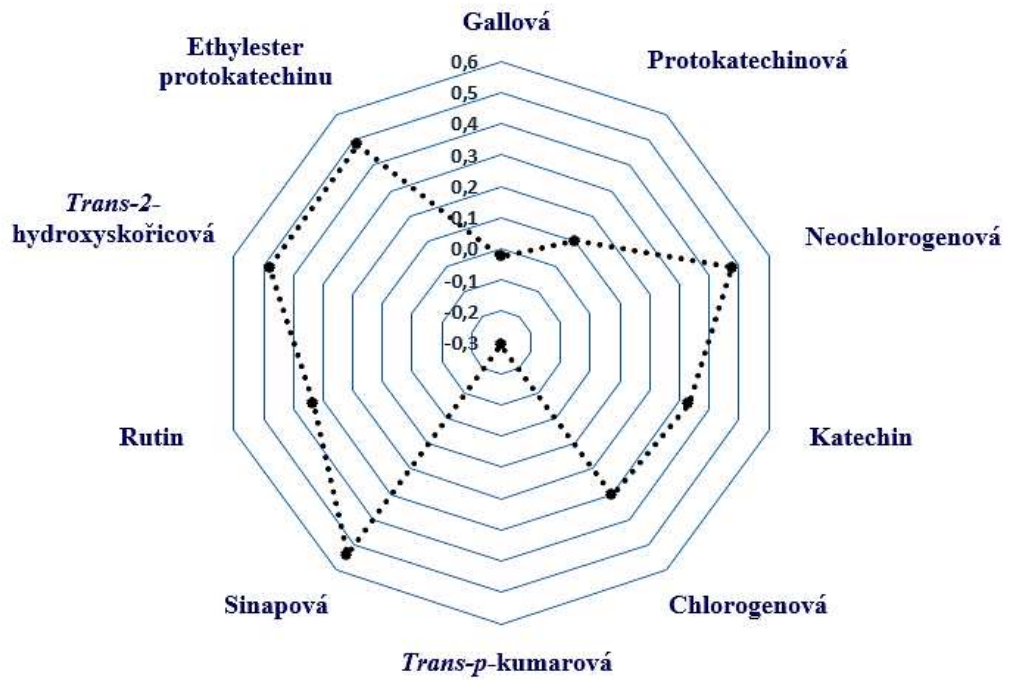
Tabulka 8 Jednotlivé korelační koeficienty r mezi hodnotami AOA a hodnotami TPC

TPC × ABTS	TPC × DPPH	TPC × FRAP
0,9611	0,9158	0,9653

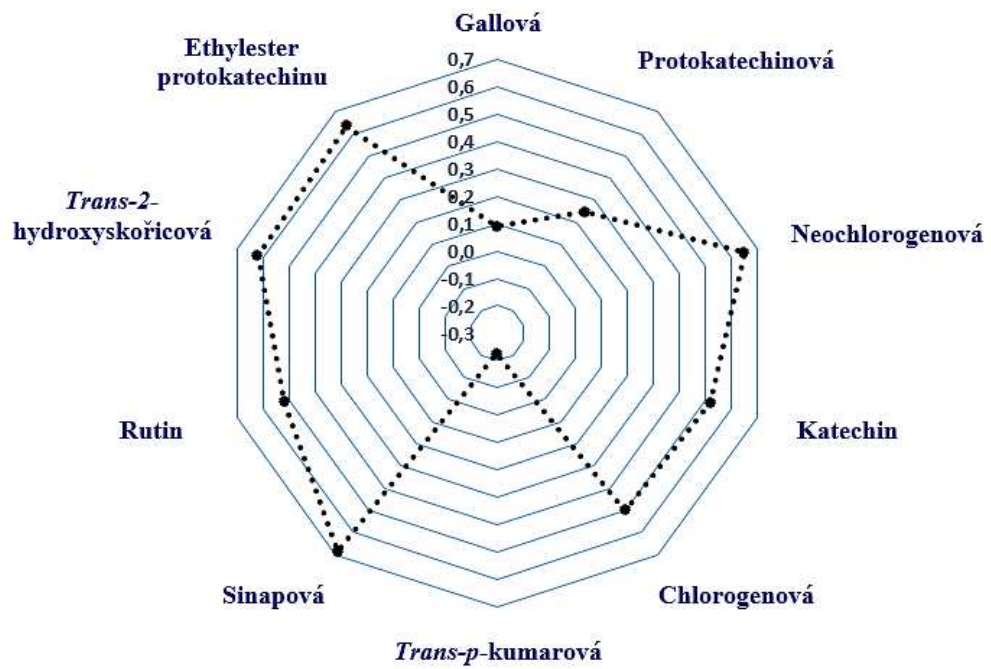
Z Tabulky 8 je zřejmé, že celkové polyfenoly přispívají k hodnotám antioxidačních aktivit velmi silně, tzn. jsou významnými antioxidanty výluhů vzorků yerba maté, a to při měření AOA všemi metodami.



Graf 11 Príspevky jednotlivých polyfenolů k AOA (metoda ABTS)



Graf 12 Príspevky jednotlivých polyfenolů k AOA (metoda DPPH)



Graf 13 Príspevky jednotlivých polyfenolů k AOA (metoda FRAP)

Za účelem ještě bližšího zhodnocení příspěvku jednotlivých polyfenolických látek k hodnotám antioxidační aktivity byly opět využity hodnoty korelačních koeficientů. Na grafech 11 až 13 lze teoreticky evaluovat, které konkrétní polyfenolické látky se nejvyšší mírou podílejí na celkové antioxidační aktivitě vzorku. U metody se zhášením radikálu ABTS jsou největšími přispěvateli k hodnotě AOA kyselina sinapová > neochlorogenová > *trans*-2-hydroxyskořicová \geq ethylester protokatechinu, u metody se zhášením DPPH potom kyselina sinapová > ethylester protokatechinu > neochlorogenová, u metody FRAP je pořadí následující: kyselina sinapová > neochlorogenová \geq ethylester protokatechinu > 2-hydroxyskořicová. Z naměřených dat lze vyhodnotit, že jednoznačně největším přispěvatelem k hodnotám AOA napříč všemi metodami je kyselina sinapová. Dále naměřená data ukazují, že ačkoliv se kyselina chlorogenová vyskytuje ve vzorku v nejvyšším množství, tak přesto největší podíl na příspěvku k celkové antioxidační aktivitě má kyselina sinapová (naopak jedna z koncentračně nejméně zastoupených kyselin. Tento závěr podporují rovněž výsledky studie Koláčková et al., (2022), kde bylo prokázáno, že v nálevech matcha čajů nejvíce přispívají k antioxidační aktivitě tyto látky (sestupně): kyselina sinapová > *trans*-2-hydroxyskořicová > ethylester protokatechinu > neochlorogenová > epigalokatechin-3-gallát a další. V nálevech matcha a obecně v čajích (*Camellia sinensis*) se vyskytuje vyšší obsah katechinů, oproti yerba maté (*Ilex paraguariensis*). Zatímco ve výluzích zeleného čaje se obsah epigallokatechingallátu pohybuje okolo hodnoty 306,6 mg/g (suché hmoty), yerba maté obsahuje asi 190,9 mg/g. Co se týče obsahu (+)-katechinu, byl naměřen v zeleném čaji v množství 137,2 mg/g a v nálevech maté 82,1 mg/g (Chandra a Gonzalez de Mejia, 2004).

7.5 Výsledky senzorické analýzy

Před samotným hodnocením byli respondenti dotazováni na obeznámenost s produktem yerba maté, na užívání tabákových výrobků a také na konzumentské preference v oblasti čajů. Čistě orientační charakter pak měly otázky na pohlaví a věk. Veškeré tyto údaje jsou shrnuty dále v Tabulce 9.

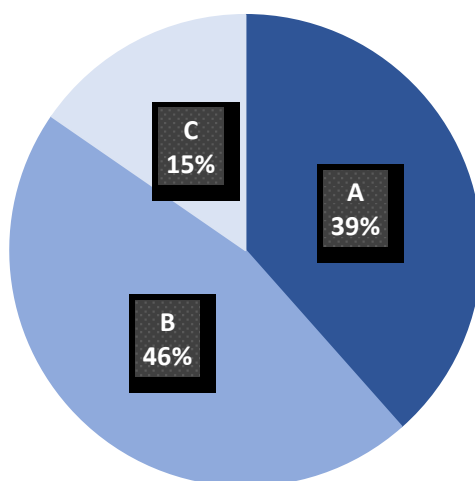
Tabulka 9 Složení účastníků hodnotícího panelu

Počet hodnotitelů	Věkové rozmezí	Muži	Ženy	Kuřák	Nekuřák
26	23–58	4	22	3	23

Dotazy týkající se konzumentských preferencí v oblasti pravých čajů a míry obeznámenosti s produktem yerba maté byly vyhodnoceny na základě jednoduchého dotazníku (Příloha II), v rámci kterého, museli respondenti vybrat právě jednu ze tří nabízených odpovědí.

První bylo vybrat mezi: A – Pravé čaje konzumuji pravidelně, B – Pravé čaje konzumuji spíše příležitostně a C – Nejsem vůbec příznivcem čajů, konzumuji je minimálně.

Výsledné odpovědi jsou uvedeny v Grafu 14.

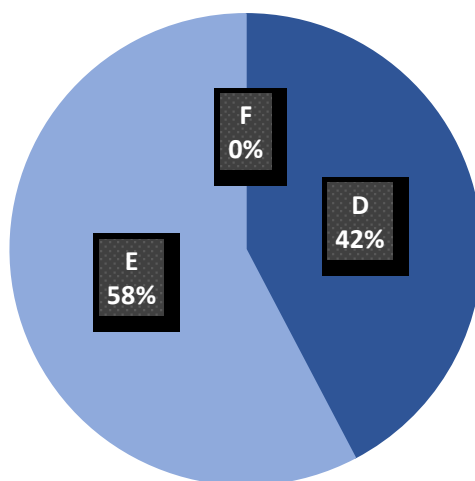


Graf 14 Data ukazující návyky hodnotitelů v oblasti konzumace čajů

Z grafu 14 je patrné, že většina posuzovatelů má ke konzumaci pravých čajů kladný vztah. Pouze 15 % uvedlo, že konzumuje čaje minimálně. Zbývajících 85 % se pak rozdělilo

na hodnotitele, kteří čaje konzumují pravidelně (39 %), anebo příležitostně (46 %). Tento fakt je pro sensorické hodnocení nápoje yerba maté pozitivní, neboť poukazuje na obeznámenost s chuťovými vjemy, které se u těchto nápojů do určité míry podobají.

Druhá otázka si kladla za cíl zjistit obeznámenost hodnotitelů s konzumací yerba maté, kde hodnotitelé měli za úkol vybrat jednu z možností: D – Yerba maté budu ochutnávat poprvé; E – Yerba maté jsem již dříve ochutnal a F – Jsem pravidelným konzumentem yerba maté. Výsledné odpovědi jsou uvedeny v Grafu 15.



Graf 15 Data ukazující zkušenosti hodnotitelů s konzumací yerba maté

Na první pohled je z Grafu 15 zřejmé, že se v dotazníku vyskytovaly pouze dvě odpovědi ze tří. Tedy konkrétně, že žádný z vybraných hodnotitelů není pravidelným konzumentem yerba maté. Tato informace je samozřejmě v souladu s lokálními zvyklostmi, jelikož yerba maté je stále méně známým a málo populárním produktem v rámci České republiky. Více než polovina posuzovatelů (58 %) uvedla, že již dříve měli možnost yerba maté ochutnat. Neméně podstatných 42 % hodnotitelů se pak setkalo s tímto výrobkem vůbec poprvé. Toto zjištění můžeme považovat za negativní pro přínos k celkovému sensorickému hodnocení, jelikož je yerba maté chuťově velmi specifický nápoj a je zde riziko negativního přístupu k celkovému hodnocení ze strany této části hodnotitelů.

7.5.1 Hodnocení velikosti částecek – pořadová zkouška

První úlohou byla pořadová zkouška s cílem seřadit suché sypané vzorky čaje na základě vizuálního hodnocení. Předmětem hodnocení byla velikost částecek, tedy seřazení od vzorku nejjemněji namletého (pořadí 1) po vzorek s nejhrubšími částeckami (pořadí 6). Jednalo se o pořadovou zkoušku s nuceným výběrem (hodnotitel nemůže označit dva vzorky stejným pořadovým číslem), provedenou dle platné normy ČSN ISO 8587.

Jednotlivé vzorky byly poskytnuty každému posuzovateli v kádinkách o objemu 50 ml, přičemž obsahovaly zhruba 3–4 g vzorku. Na základě součtu pořadí pak byly vzorky seřazeny dle vypočtených parametrů dle Kruskal-Wallisova testu. Po zamítnutí hypotézy, tedy že mezi vzorky navzájem neexistuje statisticky významný rozdíl, byla přijata alternativa (mezi vzorky se vyskytuje statisticky významný rozdíl ve velikosti částecek). Po aplikování Neményiho testu vícenásobného porovnávání bylo zjištěno, že se s 95% pravděpodobností neliší pouze vzorky Mate Rojo Tradicional (YM-44) a Meta Mate „42“ Roasted (YM-42). Hodnotitelé určili vzorek Canarias Edición Especial (YM-43) jako nejjemněji namletý, což odpovídá typickému zpracování v oblasti Brazílie. Tedy přestože se jedná o uruguayskou společnost, produkt je dovážen z Brazílie. Co se týče vzorků od firmy Oxalis (YM-40 a YM-45), mohli bychom se domnívat, že se jedná o identický výchozí produkt, který je pouze dodatečně opražen. Nejhruběji byl nadrcen vzorek Mate Rojo Tradicional (YM-44). Dle platné argentinské normy (IRAM 20514) musí yerba maté obsahovat nejméně 65 % hmotnostních sušených listů (včetně řapíků) a nejvýše 35 % větvíček a jejich zlomků. Tato charakteristika byla rovněž patrná při senzoričném hodnocení. V rámci České republiky (a celkově Evropy) neexistuje vyhláška, která by blíže specifikovala požadavky na senzoričné, případně fyzikálně chemické vlastnosti tohoto produktu. V Tabulce 10 se nachází přehled výsledků.

Tabulka 10 Vyhodnocení pořadí vzorků dle velikosti částecek

POŘADÍ	KÓD	VZOREK
1. (nejjemnější)	YM-43	Canarias Edición Especial
2.	YM-45	Mate Roasted Oxalis
3.	YM-40	Mate Green Oxalis
4.	YM-41	Pajarito Selección Especial
5.–6. (nejhrubší)	YM-42	Meta Mate „42“ Roasted
5.–6. (nejhrubší)	YM-44	Mate Rojo Tradicional

7.5.2 Zhodnocení barvy a vůně u sypaných vzorků

Pro hodnocení barvy a vůně u sypaných vzorků a také u nálevů byla použita 8-bodová nominální stupnice. Jednotlivé deskriptory jsou uvedeny v Tabulkách 11 a 12 níže a také jsou součástí protokolu pro senzorní hodnocení (Příloha II). Stupnicová zkouška je založena na subjektivním, zrakovém a čichovém posouzení. Hodnotitelé museli vždy vybrat pouze jednu z možností. Výsledky byly vyjádřeny v procentech a jsou uvedeny v tabulkách níže. Za výslednou barvu, respektive vůni, můžeme považovat nejčteněji volenou odpověď v rámci každého hodnocení. Tyto % hodnoty jsou v tabulkách označeny červenou barvou.

Tabulka 11 Výsledky hodnocení barvy u sypaných vzorků

ZNAČENÍ/BARVA		VZOREK					
		YM-40	YM-44	YM-41	YM-43	YM-45	YM-42
1	zeleno-šedá	23,1	26,9	26,9	15,4	0,0	0,0
2	bledě zelená	30,8	19,2	23,1	46,2	0,0	0,0
3	zeleno-žlutá	7,7	46,2	38,5	19,2	0,0	0,0
4	světle zelená	3,8	7,7	11,5	19,2	0,0	0,0
5	tmavě zelená	34,6	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
6	žluto-hnědá	0,0	0,0	0,0	0,0	7,7	0,0
7	hnědo-červená	0,0	0,0	0,0	0,0	38,5	15,4
8	hnědá	0,0	0,0	0,0	0,0	53,8	84,6

Tabulka 12 Výsledky hodnocení vůně u sypaných vzorků

ZNAČENÍ/VŮNĚ		VZOREK					
		YM-40	YM-44	YM-41	YM-43	YM-45	YM-42
1	typická	3,8	11,5	23,1	7,7	53,8	30,8
2	aromatická	46,2	61,5	11,5	57,7	0,0	7,7
3	svěží	0,0	7,7	53,8	3,8	15,4	23,1
4	kouřová	0,0	0,0	0,0	3,8	19,2	23,1
5	kávová	0,0	0,0	3,8	3,8	7,7	0,0
6	spálená	50,0	15,4	7,7	23,1	3,8	11,5
7	prázdna	0,0	3,8	0,0	0,0	0,0	3,8
8	cizí	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0

Na základě výsledků lze shrnout, že pražené vzorky jsou charakteristické nejen svou vůní, ale také hnědým zbarvením. Překvapivým výsledkem je hodnocení vzorku Mate Green Oxalis (YM-40), který polovina hodnotitelů označila za spálený, co se týče vůně. Nicméně, dalších 46,2 % vzorek označilo jako aromatický. Celkově jsou nepražené vzorky posuzovány jako aromatické a svěží, co se týče vůně. Suché sypané vzorky byly hodnoceny v barvě jako zelené (deskriptory 1, 2 a 3) s výjimkou vzorků pražených.

7.5.3 Zhodnocení barvy a vůně u nálevů

Tabulka 13 Výsledky hodnocení barvy u nálevů

ZNAČENÍ/BARVA		VZOREK					
		YM-40	YM-44	YM-41	YM-43	YM-45	YM-42
1	žlutá	7,7	65,4	19,2	11,5	0,0	0,0
2	žlutozelená	23,1	26,9	50,0	15,4	0,0	0,0
3	zeleno-žlutá	7,7	3,8	3,8	53,8	0,0	0,0
4	světle zelená	0,0	0,0	0,0	3,8	0,0	0,0
5	tmavě zelená	3,8	0,0	0,0	7,7	0,0	0,0
6	žluto-hnědá	57,7	3,8	26,9	7,7	0,0	7,7
7	hnědo-červená	0,0	0,0	0,0	0,0	34,6	42,3
8	hnědá	0,0	0,0	0,0	0,0	65,4	50,0

Tabulka 14 Výsledky hodnocení vůně u nálevů

ZNAČENÍ/VŮŇĚ		VZOREK					
		YM-40	YM-44	YM-41	YM-43	YM-45	YM-42
1	typická	23,1	7,7	0,0	15,4	30,8	15,4
2	aromatická	61,5	15,4	3,8	38,5	0,0	0,0
3	svěží	3,8	50,0	76,9	15,4	15,4	46,2
4	kouřová	0,0	3,8	0,0	0,0	50,0	15,4
5	kávová	0,0	0,0	11,5	3,8	3,8	15,4
6	spálená	11,5	11,5	0,0	23,1	0,0	3,8
7	prázdná	0,0	11,5	7,7	3,8	0,0	3,8
8	cizí	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0

V rámci hodnocení nálevů (Tabulky 13 a 14) byly nepražené vzorky hodnoceny jako pomezí barev zelené a žluté (deskripty 1, 2 a 3). Tomuto hodnocení se vymykal pouze vzorek Mate Green Oxalis, který byl častěji označen jako žluto-hnědý (57,7 %). Pražené nálevy byly poté popsány jako hnědé, až hnědo-červené. Vůně byla popisována u nepražených vzorků jako aromatická a svěží, nicméně objevoval se také deskriptor pro spálenou vůni. U pražených nálevů se posuzovatelé shodovali nejčastěji na svěží (YM-42) a kouřové vůni (YM-45).

7.5.4 Popis intenzity adstringentní a hořké chutě a kouřového aroma u nálevů – stupnicová zkouška

Pro popsání a vyhodnocení komplexu adstringentní a hořké chuti a dále pak kouřového aroma byla použita stupnicová zkouška s využitím ordinální 5-bodové stupnice (1-nejslabší intenzita až 5-nejvyšší intenzita). Ačkoliv jsou adstringentní a hořká chuť dva různé chuťové vjemy, v rámci dotazníku byly uvedeny jako jeden komplex, jelikož jsou tyto atributy složitě odlišitelné v rámci nálevů yerba maté. Do protokolu pro senzorní hodnocení měli posuzovatelé za úkol přiřadit ke každému vzorku (nálevu) vždy pouze jedno číslo dle vnímaného stupně intenzity. Na základě součtu pořadí a statistiky byly následně zjištěny statisticky významné rozdíly a to včetně směru těchto rozdílů mezi danými vzorky. V Tabulkách 15 a 16 níže jsou uvedeny jednotlivé počty hodnocení pro každý vzorek a bod stupnice. Červeně jsou vyznačeny nejčastěji zvolené body stupnice u každého ze vzorků.

Tabulka 15 Výsledky hodnocení komplexu adstringentní a hořké chuti

VZOREK	BODY STUPNICE				
	1	2	3	4	5
YM-40	11	8	6	1	0
YM-44	5	10	9	2	0
YM-41	0	1	15	9	1
YM-43	2	9	8	3	4
YM-45	10	9	6	1	0
YM-42	12	8	3	3	0

Za nejvíce hořký a svíravý byl hodnotiteli označen vzorek YM-41 (Pajarito Selección Especial). Následovaly poté sestupně vzorky YM-43, YM-44, YM-45 a YM-40. Nejméně hořký a svíravý v chuti byl poté vzorek YM-42 (Meta Mate „42“ Roasted). Je možné odvodit, že vzorky pražené ztrácejí procesem úpravy na hořkosti a trpkosti a naopak začnou

převažovat sladké chutě. Statisticky významný rozdíl se vyskytl s 95% spolehlivostí mezi vzorky YM-40, YM-41 a YM-44, přičemž YM-41>YM-40 a YM-41>YM-44*. Dále byl zaznamenán rozdíl mezi vzorky YM-41, YM-42 a YM-45, kdy YM-41>YM-42 a YM-41>YM-45. Vzorek YM-41 se tak statisticky významně nelišil v hořkosti a svíravosti pouze od vzorku YM-43.

**zde vyšší součet hodnocení označuje vzorek, který měl vyšší intenzitu adstringentní a hořké chuti*

Tabulka 16 Výsledky hodnocení kouřového aroma

VZOREK	BODY STUPNICE				
	1	2	3	4	5
YM-40	16	7	3	0	0
YM-44	9	7	9	1	0
YM-41	2	3	2	11	8
YM-43	5	8	8	4	1
YM-45	9	6	6	2	3
YM-42	7	7	8	1	3

Vzorek maté, který měl dle posuzovatelů nejintenzivnější kouřové aroma, byl vzorek YM-41. Za ním následovaly sestupně vzorky YM-43, YM-42, YM-45 a YM-44. Nejméně znatelné kouřové aroma měl pak vzorek YM-40 (Mate Green Oxalis). Tento vzorek je zpracováván v Brazílii, kde není tolik využíván proces sušení kouřem, v porovnání s ostatními zeměmi původu. Statisticky významný rozdíl se s 95 % spolehlivostí vyskytuje mezi vzorky YM-40, YM-41, YM-44 a YM-45, přičemž YM-41>YM-40, YM-41>YM-44 a YM-41>YM-45**. Vzorek YM-41 se tak statisticky významně nelišil v intenzitě kouřového aroma pouze od vzorků YM-42 a YM-43.

***zde vyšší součet hodnocení označuje vzorek, který měl vyšší intenzitu kouřového aroma*

7.5.5 Hodnocení preferencí – pořadová zkouška

V závěru dotazníku bylo úkolem hodnotitelů seřadit připravené nálevy dle vlastních chuťových preferencí. Jednalo se o pořadovou zkoušku s nuceným výběrem, provedenou dle platné normy ČSN ISO 8587.

Tabulka 17 Vyhodnocení pořadí vzorků dle preferencí hodnotitelů

POŘADÍ	KÓD	VZOREK
1.	YM-40	Mate Green Oxalis
2.-3.	YM-42	Meta Mate „42“ Roasted
2.-3.	YM-45	Mate Roasted Oxalis
4.	YM-44	Mate Rojo Tradicional
5.	YM-43	Canarias Edición Especial
6.	YM-41	Pajarito Selección Especial

Komentář (Tabulka 17): Na základě výsledků hodnocení preferencí hodnotitelů a také s ohledem na předchozí shromážděné výsledky lze vyvodit, že nejpříjemnějším vzorkem yerba maté byl Mate Green od firmy Oxalis (YM-40). Tento vzorek byl zároveň hodnocen jako nejméně intenzivní, co se týče kouřového aroma a druhý nejméně intenzivní, co se týče komplexu adstringentní a kouřové chuti nálevu. Velmi pozitivně byly hodnoceny také pražené varianty klasického yerba maté (YM-42 a YM-45), které nejsou až tolik populární v zemích původů, ale řekněme, že evropským konzumentům mohou vyhovovat svojí daleko méně hořkou a svíravou chutí. Na druhou stranu, vzorky YM-41 a YM-43, které byly vyhodnoceny jako nejvíce intenzivní v kouřovém aroma a v komplexní hořké a svíravé chuti, byly zároveň posuzovateli vyhodnoceny jako nejméně přijatelné. V Argentině se metodikou sensorické analýzy zabývá norma IRAM 20540, dle které připadá na objem 1 litru 70 g yerba maté a výsledný nápoj je tak chuťově ještě mnohem výraznější.

ZÁVĚR

V rámci diplomové práce bylo celkem 6 vybraných vzorků yerba maté podrobena stanovení celkové antioxidační aktivity, obsahu polyfenolických sloučenin a také sensorické analýze. Vzorky se lišily zemí původu a také způsobem zpracování, přičemž dva vzorky byly dodatečně pražené, dva vzorky pochází z ekologické produkce a dva vzorky se odlišují velmi dlouhou dobou zrání.

Hlavním cílem výzkumu bylo stanovení polyfenolických sloučenin a antioxidační aktivity ve výluzích, připravených dle zadaných podmínek. Pro extrahování byla použita voda o teplotách 70 a 80 °C, avšak nepodařilo se prokázat jednoznačný rozdíl, co se týče vyluhovatelnosti zmíněných analytů v tomto rozmezí teplot.

Celkový obsah fenolických látek byl stanoven metodou TPC, přičemž byly naměřeny hodnoty v rozpětí 19–88 mg GAE/g. Vzorek Canarias Edición Especial obsahoval nejvyšší množství polyfenolů (TPC): 78–88 mg GAE/g. Naproti tomu nejnižší obsah celkových polyfenolů vykazoval vzorek pražený Meta Mate Roasted (19–21 mg GAE/g). Je však nutné dodat, že předchozí dva vzorky byly v rámci sensorické analýzy vyhodnoceny jako nejjemnější (Canarias Edición Especial) a nejhrubší (Meta Mate Roasted), co se týče velikosti částec. Tato skutečnost může mít zásadní dopad na vyluhovatelnost bioaktivních látek do nálevu. Navíc byly jednotlivé polyfenoly identifikovány a kvantifikovány metodou HPLC-UV. Nejvíce zastoupenými analyty byly kyseliny chlorogenová (1870–22100 µg/g) a neochlorogenová (275–14700 µg/g) a dále ethylester kyseliny protokatechinové (55,3–8160 µg/g). Pro dosažení objektivního zhodnocení AOA byly použity celkem 3 metody, které jsou založeny na odlišných reakčních mechanismech (ABTS, DPPH a FRAP). Antioxidační aktivita determinovaná metodou ABTS se pohybovala v rozmezí 121–428 mg TE/g. Výsledky stanovení metodou DPPH byly v rozpětí 48–290 mg TE/g. Co se týče výsledků získaných metodou FRAP, tyto se pohybovaly v rozmezí 41–139 mg TE/g. Dále byly evaluovány korelace mezi hodnotami polyfenolů a antioxidačních aktivit. Vypočtené korelační koeficienty prokázaly velmi silnou pozitivní korelaci mezi jednotlivými metodami ($r > 0,9158$). Pomocí korelační analýzy byla kyselina sinapová vyhodnocena jako nejvíce přispívající k hodnotám AOA, a to u všech metod. Analýza ukázala, že není příliš podstatným faktorem koncentrační množství dané látky, ale spíše její chemická struktura, která má vliv na antioxidační kapacitu. Výsledky práce ukazují, že pravděpodobně procesem pražení jsou znatelně sníženy hodnoty antioxidačních aktivit a koncentrací polyfenolických látek, které jsou tímto procesem degradovány.

Senzorická analýza ukázala, že brazilský vzorek sypaného čaje Canarias Edición Especial byl hodnocen jako nejjemnější v mletí, což je v souladu s tanními zvyklostmi a preferencemi konzumentů. Navíc to byl právě tento vzorek, který vykazoval nejvyšší hodnoty antioxidační aktivity a obsah fenolických látek. S ohledem na různé způsoby produkce byla zkoumána intenzita adstringentní a hořké chuti a také intenzita kouřového aroma. Jednoznačně se potvrdilo, že vzorek paraguayského maté (Pajarito Selección Especial), který navíc vyniká velmi dlouhou dobou zrání (2 roky), byl hodnotiteli vybrán jako nejintenzivnější, co se týče předchozích aspektů. Poslední částí dotazníku byla preferenční zkouška. Hodnotitelé vybrali vzorek Mate Green Oxalis jako chuťově nejlepší, poté následovaly vzorky pražené. Na druhé straně, vzorek Pajarito Selección Especial byl v rámci preferencí hodnocen jako nejhorší. Tento výsledek se přímo odvíjí od konzumentských preferencí hodnotitelů v České republice.

Yerba maté je nápojem, který si v současnosti získává oblibu u evropských konzumentů. S ohledem na veškeré zmíněné skutečnosti je možné, že by nápoj mohl přispět k prevenci chorob a celkově k podpoře vitality a zdravého životního stylu. Kromě těchto benefitů nabízí chuťově zajímavou alternativu ke konzumaci kávy nebo pravého čaje *Camellia sinensis*.

SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY

- BASTOS, Deborah et al., 2007. Phenolic Antioxidants Identified by ESI-MS from Yerba Maté (*Ilex paraguariensis*) and Green Tea (*Camelia sinensis*) Extracts. *Molecules* [online]. **12**(3), 423-432 [cit. 2024-04-26]. ISSN 1420-3049. Dostupné z: doi:10.3390/12030423
- BERTÉ, Kleber Alves Santos et al., 2011. Desenvolvimento de gelatina funcional de erva-mate. *Ciência Rural* [online]. **41**(2), 354-360 [cit. 2023-10-31]. ISSN 0103-8478. Dostupné z: doi:10.1590/S0103-84782011000200029
- BUDUBA, Carolina Inés, 2011. *Mutagénesis y antimutagénesis en extractos acuosos, clorofórmicos y acetónicos de Ilex paraguariensis var. paraguariensis e Ilex dumosa var. dumosa*. Argentina. Diplomová práce. Universidad Nacional de La Plata.
- BURRIS, Kellie P et al., 2012. Composition and Bioactive Properties of Yerba Mate (*Ilex paraguariensis* A. St.-Hil.): A Review. *Chilean journal of agricultural research* [online]. **72**(2), 268-275 [cit. 2024-01-24]. ISSN 0718-5839. Dostupné z: doi:10.4067/S0718-58392012000200016
- CARDOZO JUNIOR, Euclides Lara a Christine MORAND, 2016. Interest of mate (*Ilex paraguariensis* A. St.-Hil.) as a new natural functional food to preserve human cardiovascular health – A review. *Journal of Functional Foods* [online]. **21**, 440-454 [cit. 2024-02-11]. ISSN 17564646. Dostupné z: doi:10.1016/j.jff.2015.12.010
- CAMOTTI BASTOS, Marília et al., 2018. Yerba mate: Nutrient levels and quality of the beverage depending on the harvest season. *Journal of Food Composition and Analysis* [online]. **69**, 1-6 [cit. 2023-10-16]. ISSN 08891575. Dostupné z: doi:10.1016/j.jfca.2018.01.019
- CASTRILLO, María L., Marta A. HORIANSKI a Gladis JERKE, 2013. Aislamiento de cepas de *Aspergillus* sección *Nigri* en la yerba mate comercializada en Posadas (Misiones, Argentina) y evaluación de su potencial ocratoxigénico. *Revista Argentina de Microbiología* [online]. **45**(2), 110-113 [cit. 2024-01-19]. ISSN 03257541. Dostupné z: doi:10.1016/S0325-7541(13)70009-9
- CROGE, Camila Pereira et al., 2021. Yerba mate: cultivation systems, processing and chemical composition. A review. *Scientia Agricola*. **78**(5), R138-R151. ISSN 1678-992X. Dostupné z: doi:10.1590/1678-992x-2019-0259
- DA SILVEIRA, Tayse Ferreira Ferreira et al., 2017. Chlorogenic acids and flavonoid extraction during the preparation of yerba mate based beverages. *Food Research*

International [online]. **102**, 348-354 [cit. 2024-01-26]. ISSN 09639969. Dostupné z: doi:10.1016/j.foodres.2017.09.098

DE VASCONCELLOS, Andreia Candal, Jeverson FRAZZON a Cacioano Pelayo ZAPATA NOREÑA, 2022. Phenolic Compounds Present in Yerba Mate Potentially Increase Human Health: A Critical Review. *Plant Foods for Human Nutrition* [online]. **77**(4), 495-503 [cit. 2024-02-02]. ISSN 0921-9668. Dostupné z: doi:10.1007/s11130-022-01008-8

DENG, Gui-Fang et al., 2012. Determination of antioxidant property and their lipophilic and hydrophilic phenolic contents in cereal grains. *Journal of Functional Foods* [online]. **4**(4), 906-914 [cit. 2024-03-07]. ISSN 17564646. Dostupné z: doi:10.1016/j.jff.2012.06.008

FACCIN, Christiane et al., 2015. Bread with Yerba Mate Aqueous Extract (*Ilex paraguariensis* A.St.-Hil.). *American Journal of Food Technology* [online]. **10**(5), 206-214 [cit. 2023-10-31]. ISSN 15574571. Dostupné z: doi:10.3923/ajft.2015.206.214

GASPAR, S. et al., 2016. Caffeine: Consumption and Health Effects. *Encyclopedia of Food and Health* [online]. Elsevier, **39**(6), 573-578 [cit. 2024-01-18]. ISBN 9780123849533. ISSN 0020-7136. Dostupné z: doi:10.1016/B978-0-12-384947-2.00099-4

GAWRON-GZELLA, Anna, Justyna CHANAJ-KACZMAREK a Judyta CIELECKA-PIONTEK, 2021. Yerba Mate—A Long but Current History. *Nutrients*. **13**(11). ISSN 2072-6643. Dostupné z: doi:10.3390/nu13113706

HECK, C.I., E.G. DE MEJIA a Magdalena FLOREK-ŁUSZCZKI, 2007. Yerba Mate Tea (*Ilex paraguariensis*): A Comprehensive Review on Chemistry, Health Implications, and Technological Considerations. *Journal of Food Science* [online]. **72**(9), 310-313 [cit. 2024-01-24]. ISSN 0022-1147. Dostupné z: doi:10.1111/j.1750-3841.2007.00535.x

CHANDRA, Sonia a Elvira GONZALEZ DE MEJIA, 2004. Polyphenolic Compounds, Antioxidant Capacity, and Quinone Reductase Activity of an Aqueous Extract of *Ardisia compressa* in Comparison to Mate (*Ilex paraguariensis*) and Green (*Camellia sinensis*) Teas. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* [online]. **52**(11), 3583-3589 [cit. 2024-04-26]. ISSN 0021-8561. Dostupné z: doi:10.1021/jf0352632

ISOLABELLA, Santiago et al., 2010. Study of the bioactive compounds variation during yerba mate (*Ilex paraguariensis*) processing. *Food Chemistry* [online]. **122**(3), 695-699 [cit. 2024-01-20]. ISSN 03088146. Dostupné z: doi:10.1016/j.foodchem.2010.03.039

KALTBACH, Pedro et al., 2020. New HPTLC methods for analysis of major bioactive compounds in mate (*Ilex paraguariensis*) tea: An international survey in South

America. *Journal of Food Composition and Analysis*. **92**(1), R138-R151. ISSN 08891575.

Dostupné z: doi:10.1016/j.jfca.2020.103568

KAMANGAR, Farin et al., 2008. High Levels of Carcinogenic Polycyclic Aromatic Hydrocarbons in Mate Drinks. *Journal of Environmental Science and Health, Part C* [online]. **17**(5), 1262-1268 [cit. 2024-01-18]. ISSN 1055-9965. Dostupné z: doi:10.1158/1055-9965.EPI-08-0025

KOLÁČKOVÁ, Tereza et al., 2022. The Effect of In Vitro Digestion on Matcha Tea (*Camellia sinensis*) Active Components and Antioxidant Activity. *Antioxidants* [online]. **11**(5) [cit. 2024-04-26]. ISSN 2076-3921. Dostupné z: doi:10.3390/antiox11050889

LORENZO, Karla Johan, 2010. *El libro de la yerba maté*. Buenos Aires: Editorial del Nuevo Extremo. ISBN 9789876092166.

LORIA, Dora, Enrique BARRIOS a Roberto ZANETTI, 2009. Cancer and yerba mate consumption: a review of possible associations. *Revista Panamericana de Salud Pública* [online]. **25**(6), 530-539 [cit. 2023-12-20]. ISSN 1020-4989. Dostupné z: doi:10.1590/S1020-49892009000600010

LUTOMSKI, Piotr, Małgorzata GOŹDZIEWSKA a Magdalena FLOREK-ŁUSZCZKI, 2020. Health properties of Yerba Mate. *Annals of Agricultural and Environmental Medicine* [online]. **27**(2), 310-313 [cit. 2024-01-24]. ISSN 1232-1966. Dostupné z: doi:10.26444/aaem/119994

Math and Stats Support Centre. (2024). Pearsonův korelační koeficient. *Statistika 2, I.* kapitola. Masarykova univerzita. Dostupné z: https://mathstat.econ.muni.cz/media/12657/pear_cor.pdf

MÁRQUEZ, Victoria et al., 2013. Characterization of aroma-impact compounds in yerba mate (*Ilex paraguariensis*) using GC-olfactometry and GC-MS. *Food Research International* [online]. **53**(2), 808-815 [cit. 2024-02-14]. ISSN 09639969. Dostupné z: doi:10.1016/j.foodres.2013.02.016

MOTTA, Antônio Carlos Vargas et al., 2020. Elemental composition of yerba mate (*Ilex paraguariensis* A.St.-Hil.) under low input systems of southern Brazil. *Science of The Total Environment* [online]. **736** [cit. 2024-02-03]. ISSN 00489697. Dostupné z: doi:10.1016/j.scitotenv.2020.139637

ORANUBA, Ebele et al., 2019. Polycyclic aromatic hydrocarbons as a potential source of carcinogenicity of mate. *Journal of Environmental Science and Health, Part*

C [online]. **37**(1), 26-41 [cit. 2024-01-18]. ISSN 1059-0501. Dostupné z: doi:10.1080/10590501.2019.1555323

PAULOVÁ, Hana, Hana BOCHOŘÁKOVÁ a Eva TÁBORSKÁ. Metody stanovení antioxidační aktivity přírodních látek in vitro. *Chemické listy*. Praha, ČR: Česká společnost chemická, 2004, roč. 98, č. 4, s. 174-179. ISSN 0009-2770.

PURCARO, Giorgia et al., 2009. Characterization of the yerba mate (*Ilex paraguariensis*) volatile fraction using solid-phase microextraction-comprehensive 2-D GC-MS. *Journal of Separation Science* [online]. **32**(21), 3755-3763 [cit. 2024-02-14]. ISSN 1615-9306. Dostupné z: doi:10.1002/jssc.200900343

RODRÍGUEZ-ARZUAGA, Mariana et al., 2021. Storage quality of fresh-cut apples treated with yerba mate (*Ilex paraguariensis*). *Journal of Food Science and Technology* [online]. **58**(1), 186-196 [cit. 2023-10-31]. ISSN 0022-1155. Dostupné z: doi:10.1007/s13197-020-04528-w

RZAŞA-DURAN, Elżbieta et al., 2022. Yerba Mate as a Source of Elements and Bioactive Compounds with Antioxidant Activity. *Antioxidants* [online]. **11**(2) [cit. 2024-01-26]. ISSN 2076-3921. Dostupné z: doi:10.3390/antiox11020371

SANTO, Alexandre Timm do Espirito et al., 2021. Decaffeination of yerba mate by supercritical fluid extraction: Improvement, mathematical modelling and infusion analysis. *The Journal of Supercritical Fluids* [online]. **168** [cit. 2023-12-20]. ISSN 08968446. Dostupné z: doi:10.1016/j.supflu.2020.105096

SANTOS, Lisia Maria Gobbo dos et al., 2017. Arsenic, cadmium and lead concentrations in Yerba mate commercialized in Southern Brazil by inductively coupled plasma mass spectrometry. *Ciência Rural* [online]. **47**(12) [cit. 2024-02-03]. ISSN 1678-4596. Dostupné z: doi:10.1590/0103-8478cr20170202

SEGURA-CAMPOS, Maira Rubi (ed.). *Bioactive compounds: health benefits and potential applications*. Kidlington, Oxford, United Kingdom: Woodhead Publishing is an imprint of Elsevier, 2019. ISBN 978-0-12-814774-0.

SHAHIDI, Fereidoon a Priyatharini AMBIGAIPALAN, 2015. Phenolics and polyphenolics in foods, beverages and spices: Antioxidant activity and health effects – A review. *Journal of Functional Foods* [online]. **18**, 820-897 [cit. 2024-01-29]. ISSN 17564646. Dostupné z: doi:10.1016/j.jff.2015.06.018

SCHUSTER, Julius a Ellen S. MITCHELL, 2019. More than just caffeine: psychopharmacology of methylxanthine interactions with plant-derived

phytochemicals. *Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry* [online]. **89**, 263-274 [cit. 2024-02-02]. ISSN 02785846. Dostupné z: doi:10.1016/j.pnpbp.2018.09.005

SINGLETON, Vernon L., Rudolf ORTHOFER a Rosa M. LAMUELA-RAVENTÓS, 1999. [14] Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of folin-ciocalteu reagent. *Oxidants and Antioxidants Part A* [online]. Elsevier, 152-178 [cit. 2024-03-07]. *Methods in Enzymology*. ISBN 9780121822002. Dostupné z: doi:10.1016/S0076-6879(99)99017-1

SOUZA, Aloisio H.P. et al., 2015. Phytochemicals and bioactive properties of *Ilex paraguariensis*: An in-vitro comparative study between the whole plant, leaves and stems. *Food Research International* [online]. **78**, 286-294 [cit. 2024-01-25]. ISSN 09639969. Dostupné z: doi:10.1016/j.foodres.2015.09.032

SVOBODA, Jakub. *Stanovení minerálních prvků a kofeinu ve vyluzích yerba mate*. Vedoucí Sumczynski, Daniela. Zlín: Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně. Fakulta technologická, Ústav technologie potravin, 2022.

VAN CAMPEN, Darrell R., 1991. Trace Elements in Human Nutrition. *Micronutrients in Agriculture* [online]. Madison, WI, USA: Soil Science Society of America, 663-701 [cit. 2024-02-03]. SSSA Book Series. ISBN 9780891188780. Dostupné z: doi:10.2136/sssabookser4.2ed.c17

VICTORA, Cesar G. et al., 1987. Hot beverages and oesophageal cancer in southern brazil: A case-control study. *International Journal of Cancer* [online]. **39**(6), 710-716 [cit. 2024-01-18]. ISSN 0020-7136. Dostupné z: doi:10.1002/ijc.2910390610

ČSN EN ISO 8589 (560036) Senzorická analýza. Obecné pokyny pro uspořádání senzorického pracoviště. Praha: Český normalizační institut, 2008.

ČSN ISO 8587 (560033) Senzorická analýza. Metodologie. Pořadová zkouška. Praha: Český normalizační institut, 2008.

IRAM 20514. *Yerba Mate - Determinación del contenido de palo*. Posadas, Misiones, 2020.

- [1] *Rostlina Ilex paraguariensis*. In: *Pinterest* [online]. [cit. 2024-02-12]. Dostupné z: <https://i.pinimg.com/474x/af/66/b0/af66b006c3c0e2023f51c655a55fdcdf.jpg>
- [2] *Transport materiálu z plantáže* [online]. [cit. 2024-02-12]. Dostupné z: <https://www.primeraedicion.com.ar/wp-content/uploads/2021/08/Yerba-mate-tareferos-Foto-JCM.jpg>
- [3] *Pásový dopravník a bubnová sušárna* [online]. In: . [cit. 2024-02-12]. Dostupné z: https://eagropecuario.com.py/wp-content/uploads/2019/06/595_446_1144095ma0.jpg
- [4] *Odebrání vzorku yerba maté* [online]. In: . [cit. 2024-02-12]. Dostupné z: <https://www.radiosudamericana.com/notix/multimedia/imagenes/fotos/2022-08-02/171381.jpg>
- [5] *Mate cocido (porcované)* [online]. In: . [cit. 2024-02-12]. Dostupné z: <https://mateenmano.com/wp-content/uploads/sites/15/2020/10/rosamonte-mate-cocido-1.jpg>
- [6] *Kalabasa a bombilla (různá provedení)* [online]. In: . [cit. 2024-02-12]. Dostupné z: https://static.vecteezy.com/system/resources/previews/005/497/511/non_2x/set-of-yerba-mate-tea-calabash-and-bombilla-accessory-for-drink-mate-vector.jpg
- [7] *Chimarrão* [online]. In: . [cit. 2024-02-12]. Dostupné z: https://s2.glbimg.com/01U0090fB4Zk6E0HuWvXTdU57oc=/620x413/smart/e.glbimg.com/og/ed/f/original/2022/06/03/chimarrao_cuia_1.jpg
- [8] *Ovesná tyčinka s yerba maté* [online]. In: . [cit. 2024-02-12]. Dostupné z: https://matefactor.com/cdn/shop/products/Hazelnut_1024x.jpg?v=1622086164
- [9] *PIJUMATE* [online]. [cit. 2024-02-22]. Dostupné z: <https://www.pijumate.cz/yerba-mate-mate-rojo-tradicional-500-g/>
- [10] *PIJUMATE* [online]. [cit. 2024-02-22]. Dostupné z: <https://www.pijumate.cz/yerba-mate-pajarito-especial-500-g/>
- [11] *PIJUMATE* [online]. [cit. 2024-02-22]. Dostupné z: <https://www.pijumate.cz/yerba-mate-canarias-edicion-especial-500-g/>
- [12] *PIJUMATE* [online]. [cit. 2024-02-22]. Dostupné z: <https://www.pijumate.cz/yerba-mate-meta-mate-42-roasted-100-g/>

SEZNAM POUŽITÝCH SYMBOLŮ A ZKRATEK

ABTS – 2,2'-azino-bis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid)

AOA – antioxidační aktivita

CAE – chlorogenic acid equivalent (ekvivalenty kyseliny chlorogenové)

DNA – deoxyribonukleová kyselina

ČSN – České technické normy

DPPH – 2,2-difenyl-1-pikrylhydrazyl

FRAP – ferric reducing antioxidant power assay

GAE – gallic acid equivalent (ekvivalenty kyseliny gallové)

HPLC – high performance liquid chromatography (vysokoučinná kapalinová chromatografie)

INYM – Instituto Nacional de la Yerba Mate je nestátní argentinská organizace zastřešující veškeré kroky produkce yerba maté, od pěstování až po distribuci. Cílem je podporovat a posilovat rozvoj výroby, zpracování, industrializace, komercializace a spotřeby yerba maté.

IRAM – Instituto Argentino de Normalización y Certificación (původně Instituto de Racionalización Argentino de Materiales) je orgán zajišťující technické normy na území Argentiny. Tento systém norem podléhá požadavkům ISO norem, je možné jej připodobnit k platným ČSN normám v ČR.

PAU – polycyklické aromatické uhlovodíky

RE – rutin equivalent (ekvivalenty rutinu)

TE – trolox equivalent (ekvivalenty troloxu)

TPC – total phenolic content (celkový obsah fenolických látek)

SEZNAM OBRÁZKŮ

Obrázek 1 – Rostlina <i>Ilex paraguariensis</i> [1].....	12
Obrázek 2 – Schéma procesu výroby (Cardozo Junior a Morand, 2016).....	15
Obrázek 3 – Transport materiálu z plantáže [2]	16
Obrázek 4 – Pásový dopravník a bubnová sušárna [3].....	17
Obrázek 5 – Odebrání vzorku yerba maté [4].....	19
Obrázek 6 – Přejítok prvků z půdy do listů (Motta et al., 2020).....	24
Obrázek 7 – Mate cocido (porcované) [5]	26
Obrázek 8 – Kalabasa a bombilla (různá provedení) [6]	27
Obrázek 9 – Chimarrão [7]	28
Obrázek 10 – Struktura kyseliny chlorogenové.....	29
Obrázek 11 – Struktura benzo[α]pyrenu.....	30
Obrázek 12 – Ovesná tyčinka s yerba maté [8]	31

SEZNAM TABULEK

Tabulka 1 Označení vzorků pro účely sensorického hodnocení	42
Tabulka 2 Výsledky stanovení hodnot TPC pro nálevy yerba maté.....	45
Tabulka 3 Stanovení jednotlivých polyfenolů v nepražených vzorcích yerba maté	49
Tabulka 4 Stanovení jednotlivých polyfenolů v pražených vzorcích yerba maté	50
Tabulka 5 Výsledky stanovení hodnot AOA pro nálevy yerba maté při zhášení radikálu ABTS	52
Tabulka 6 Výsledky stanovení hodnot AOA pro nálevy yerba maté při zhášení radikálu DPPH	54
Tabulka 7 Výsledky stanovení hodnot AOA pro nálevy yerba maté stanovené pomocí metody FRAP	56
Tabulka 8 Jednotlivé korelační koeficienty r mezi hodnotami AOA a hodnotami TPC.....	58
Tabulka 9 Složení účastníků hodnotícího panelu	61
Tabulka 10 Vyhodnocení pořadí vzorků dle velikosti částic	63
Tabulka 11 Výsledky hodnocení barvy u sypaných vzorků	64
Tabulka 12 Výsledky hodnocení vůně u sypaných vzorků	64
Tabulka 13 Výsledky hodnocení barvy u nálevů.....	65
Tabulka 14 Výsledky hodnocení vůně u nálevů.....	65
Tabulka 15 Výsledky hodnocení komplexu adstringentní a hořké chuti.....	66
Tabulka 16 Výsledky hodnocení kouřového aroma	67
Tabulka 17 Vyhodnocení pořadí vzorků dle preferencí hodnotitelů	68

SEZNAM PŘÍLOH

Příloha I: Požadavky na produkt yerba maté

Příloha II: Dotazník pro sensorické hodnocení

PŘÍLOHA I: POŽADAVKY NA PRODUKT YERBA MATÉ

Organoleptické vlastnosti		
Požadavek (atribut)	Hodnocení	Metoda
vůně (nebo aroma)	charakteristická pro výrobek	IRAM 20540-1
barva	zelená, charakteristická pro výrobek	
chuť	mírně hořká	

Fyzikálně-chemické parametry				
Požadavek (atribut)	Jednotka	Minimum	Maximum	Metoda
Ztráta hmotnosti při 103 °C ± 2 °C	g/100 g (hmot. %)	-	8,5	IRAM 20503
Celkový popel		-	9,0	IRAM 20505
Popel nerozpustný v 10% HCl		-	1,0	IRAM 20507
Vodný extrakt pro yerba maté se středním obsahem větviček		25	-	IRAM 20510
Vodný extrakt pro yerba maté s nízkým, či sníženým obsahem větviček, respektive bez nich		30	-	
Obsah kofeinu pro yerba maté se středním obsahem větviček		0,6	-	IRAM 20512
Obsah kofeinu pro yerba maté s nízkým, či sníženým obsahem větviček, respektive bez nich		0,7	-	
Cizí rostlinné příměsi		-	1,0	IRAM 20531
Semínka yerba maté		-	1,0	IRAM 20531

Mikrobiologické parametry						
Požadavek (atribut)	Jednotka	n	c	m	M	Metoda
Plísně a kvasinky	CFU/g	5	2	10^3	$2,5 \cdot 10^3$	IRAM 20517
Koliformní bakterie	MPN/g	5	2	50	10^2	
Fekální koliformní bakterie	MPN/g	5	2	6	15	
<i>Escherichia coli</i>	-	5	0	0/g		
Aerobní mesofilní mikroorganismy	CFU/g	5	2	10^3	$5,0 \cdot 10^3$	

Zdroj: Norma IRAM 20530:2006

INSTITUTO NACIONAL DE NORMALIZACIÓN Y CERTIFICACIÓN [IRAM],
2006. *Yerba mate elaborada*. Argentina.

PŘÍLOHA II: DOTAZNÍK PRO SENZORICKÉ HODNOCENÍ

FT UTB, Ústav technologie potravin Senzorická analýza yerba maté		
Jméno a příjmení:		Věk:
Datum:	kuřák / nekuřák	Pohlaví: M / Ž

1. Dotazník před senzorickým hodnocením

Před samotným zahájením senzorické analýzy vyplňte, prosím, tento krátký dotazník:

- Právě čaje konzumuji pravidelně.
- Právě čaje konzumuji spíše příležitostně.
- Nejsem vůbec příznivcem čajů, konzumuji je minimálně.

**zakřížkujte jednu z možností*

- Yerba maté budu ochutnávat poprvé.
- Yerba maté jsem již dříve ochutnal.
- Jsem pravidelným konzumentem yerba maté.

**zakřížkujte jednu z možností*

Vaším úkolem je sensoricky zhodnotit předložené sypané vzorky yerba maté a jejich výluhy.

Doporučuji mezi ochutnáváním jednotlivých nálevů udělat pauzu alespoň 2 minuty a dobře vypláchnout ústní dutinu vodou.

2. Senzorické hodnocení suchých sypaných čajů yerba maté

2.1. Hodnocení velikosti částecek – pořadová zkouška

Seřaďte vzorky podle velikosti částecek od vzorku nejjemněji namletého (1) po vzorek s nejhrubším mletím (6).

KÓD VZORKU	POŘADÍ
YM-40	
YM-44	
YM-41	
YM-43	
YM-45	
YM-42	

2.2. Zhodnocení barvy a vůně u sypaných vzorků

Visuálně zhodnoťte a přiřaďte ke každému vzorku odpovídající barvu (*viz. str. 4*).

Čichem zhodnoťte sypané vzorky a přiřaďte nejvhodnější popis (*viz. str. 4*).

KÓD VZORKU	YM-40	YM-44	YM-41	YM-43	YM-45	YM-42
BARVA						
VŮŇ						

3. Senzorické hodnocení nálevů yerba maté

3.1. Zhodnocení barvy a vůně u nálevů

Visuálně zhodnoťte a přiřaďte ke každému vzorku odpovídající barvu (*viz. str. 4*).

Čichem zhodnoťte nálevy a přiřaďte nejvhodnější popis (*viz. str. 4*).

KÓD VZORKU	YM-40	YM-44	YM-41	YM-43	YM-45	YM-42
BARVA						
VŮŇ						

3.2. Stupnicová zkouška – popis intenzity

Do připravené tabulky zaznačte intenzitu komplexu adstringentní a hořké chuti (1 – velmi slabá; 3 – střední; 5 – velmi silná).

Do připravené tabulky zaznačte intenzitu kouřového aroma (1 – velmi slabá; 3 – střední; 5 – velmi silná).

KÓD VZORKU	ADSTRINGENTNÍ+HOŘKÁ CHUŤ	KOUŘOVÉ AROMA
YM-40		
YM-44		
YM-41		
YM-43		
YM-45		
YM-42		

3.3. Pořadová (preferenční) zkouška.

Seřaďte nálevy podle vlastních celkových preferencí od nejlepšího (1) po nejhorší (6).

KÓD VZORKU	POŘADÍ
YM-40	
YM-44	
YM-41	
YM-43	
YM-45	
YM-42	

Detailní popis pro vizuální zhodnocení (úloha 2.1)

Suchý produkt yerba maté obsahuje (*většinou*) tři hlavní komponenty, kterými jsou:

- prachové částičky (nejjemněji namleté pupeny a lístky)
- listy (jemněji, či hruběji nařezané)
- řapíky a větvičky

Tyto jednotlivé komponenty od sebe můžeme rozpoznat pouhým okem a dokážeme také zhodnotit, jaké je jejich přibližné zastoupení. Velikost částiček (tedy hrubost mletí) má zásadní vliv na vyluhovatelnost, a tedy i na chuť výsledného nálevu.

Deskriptory pro senzoričné hodnocení (úloha 2.2)

Zhodnocení barvy u vzorku:

1 – zeleno-šedá 2 – olivově zelená 3 – zelenožlutá 4 – světle zelená
5 – tmavě zelená 6 – žlutohnědá 7 – hnědočervená 8 – hnědá

Zhodnocení vůně u vzorku:

1 – aromatická 2 – svěží (*travnatá*) 3 – kouřová 4 – kávová
5 – spálená 6 – prázdná 7 – cizí (*plesnivá*)

Deskriptory pro senzoričné hodnocení (úloha 3.1)

Zhodnocení barvy u nálevu:

1 – žlutá (*zlavá*) 2 – žlutozelená 3 – zelenožlutá 4 – světle zelená
5 – tmavě zelená 6 – žlutohnědá 7 – hnědočervená 8 – hnědá

Zhodnocení vůně u nálevu:

1 – aromatická 2 – svěží (*travnatá*) 3 – kouřová 4 – kávová
5 – spálená 6 – prázdná 7 – cizí (*plesnivá*)

Detailní popis pro stupnicové zkoušky (úloha 3.2)

Popis intenzity hořké a adstringentní chuti:

1 – velmi slabá: hořká i svíravá chuť zcela chybí, je nepatrná a nápoj se tak zdá spíše sladký nebo chuťově prázdný

2 – mírná: zaznamenáme hořkou chuť a také mírně svíravé tóny, nápoj tak celkově působí neutrálně a vyváženě

3 – střední: nálev je vyváženě hořký a svíravý, tato intenzita však nepůsobí nepříjemný požitek, po chvíli odeznívá

4 – silná: silně vnímáme hořkost a svíravost nálevu, jedná se o přední vnímané atributy, ostatní chutě jsou spíše v pozadí, takřka neznatelné

5 – velmi silná: nápoj působí velmi svíravě a hořce, tyto chutě jsou velmi dominantní, v ústech dlouho přetrvávají, ostatní chuťové vjemy je nemožné zachytit

Popis intenzity kouřového aroma:

1 – velmi slabá: nálev nevykazuje nejmenší známky kouřového aroma

2 – mírná: slabě zaznamenáme kouřové aroma

3 – střední: kouřové aroma je u vzorku jasně patrné, ale intenzita stále není příliš výrazná

4 – silná: smysly silně vnímáme kouřové aroma, které je intenzivnější než ostatní vjemy

5 – velmi silná: nálev má velmi intenzivní kouřové aroma, typické např. pro tabákové nebo uzené masné výrobky